

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2004-527229
(P2004-527229A)

(43) 公表日 平成16年9月9日(2004.9.9)

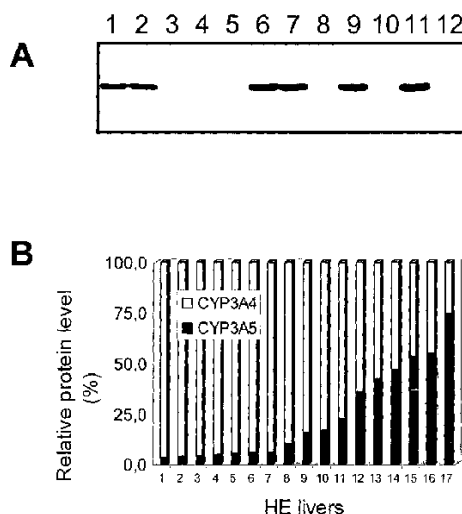
(51) Int. Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)	
C 1 2 N 15/09	C 1 2 N 15/00	Z N A A	2 G O 4 5
A O 1 K 67/027	A O 1 K 67/027		4 B O 2 4
A 6 1 K 38/00	A 6 1 K 39/395	D	4 B O 2 9
A 6 1 K 39/395	A 6 1 K 39/395	E	4 B O 5 0
A 6 1 P 3/10	A 6 1 K 39/395	N	4 B O 6 3
	審査請求 未請求 予備審査請求 有	(全 200 頁)	最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2002-555278 (P2002-555278)	(71) 出願人	502086968 エビダウロス バイオテクノロジー アク ツイエンゲゼルシャフト ドイツ連邦共和国 ベルンリード アン ニューランド 1
(86) (22) 出願日	平成13年12月21日 (2001.12.21)	(74) 代理人	100102978 弁理士 清水 初志
(85) 翻訳文提出日	平成15年6月30日 (2003.6.30)	(74) 代理人	100108774 弁理士 橋本 一憲
(86) 国際出願番号	PCT/EP2001/015290	(72) 発明者	ウォジノウスキー レスゼック ドイツ連邦共和国 ミュンヘン エベナウ エルストラーゼ 9
(87) 国際公開番号	W02002/053775	(72) 発明者	ハペール ミヒャエル ドイツ連邦共和国 ベルンリード ワクセ ンステインストラーゼ 24
(87) 国際公開日	平成14年7月11日 (2002.7.11)		最終頁に続く
(31) 優先権主張番号	00128627.7		
(32) 優先日	平成12年12月28日 (2000.12.28)		
(33) 優先権主張国	欧州特許庁 (EP)		
(31) 優先権主張番号	60/258, 684		
(32) 優先日	平成12年12月28日 (2000.12.28)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		
(31) 優先権主張番号	60/258, 952		
(32) 優先日	平成12年12月29日 (2000.12.29)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

(54) 【発明の名称】 多型CYP3A5発現の遺伝的決定基の同定

(57) 【要約】

本発明は、多型CYP3A5ポリヌクレオチドに関する。更に本発明は、本発明のポリヌクレオチドを含む遺伝子またはベクター、並びに本発明のポリヌクレオチドまたは遺伝子により遺伝子操作された宿主細胞に関する。更に本発明は、分子変異型ポリペプチドまたはそれらの断片の作製法、分子変異型ポリペプチドを発現することが可能な細胞の作製法、並びに本発明のポリヌクレオチドまたは遺伝子によりコードされたまたは本発明の方法によるもしくは本発明の方法により作製された細胞から入手可能なようなポリペプチドまたはそれらの断片に関する。更に本発明は、本発明のポリペプチドに特異的に結合する抗体にも関する。加えて本発明は、トランスジェニック非ヒト動物に関する。本発明は更に、1種または複数の前述のポリヌクレオチド、遺伝子、ベクター、ポリペプチド、抗体または宿主細胞を含む固形支持体にも関する。更に、多型を同定する方法、プロドラッグまたは薬物または阻害剤を同定しかつ入手する方法も、本発明に包含されている。加えて本発明は、薬学的組成物を製造する方法および疾患を診断する方法にも関する。更



【特許請求の範囲】

【請求項1】

下記からなる群より選択されるポリヌクレオチドを含むポリヌクレオチド：

- (a)配列番号:54、56、58、62、64、66、68、70、72、74、76、78、80、82、84、86、88、90、92、94、96、98、100、102、106、108、110、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、128、129、130、131、133、134、135、136、137、138、139、140、142、143、149、151、153、155、157、159、161、163、165、169、171、173、175、177、179、181、183、185、187、189、193、195、197、199、201、207、208、209、210、211、212、213、214、216、218、219、220、221、222、223、224、225、226、227、228、231、232、233、235または236の核酸配列を有するポリヌクレオチド； 10
- (b)配列番号:127、132、141、215、229、または234のアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードしているポリヌクレオチド；
- (c)CYP3A5遺伝子にハイブリダイズすることが可能なポリヌクレオチドであり、位置-20643、-20555、-20359、-20367、-20329、-20323、-20310、-6200、-6177、-4336、-3990、-3868、-3844、-3557、-1617、-795、-86、-74、136、174から176、230、3705、3709/3710、5215、5235、5516、7182、7207、7303、7424/7427、12907、13028、13077、13173、13226、13376、14720、14836、14903、15788、16079、16931/16932、16993、17163、19069、19165、19208、27050、27131/27132、27526、31499、31551または31611に対応する位置でのヌクレオチド交換、少なくとも1個のヌクレオチドのヌクレオチド欠失、または少なくとも1個の付加ヌクレオチドを有する、ポリヌクレオチド； 20
- (d)CYP3A5遺伝子にハイブリダイズすることが可能なポリヌクレオチドであり、CYP3A5遺伝子(アクセッション番号:AF280107.1、ここで位置166220が+1に番号付けられ、および位置174832が+8613に番号付けられ、並びにアクセッション番号:AC005020.2、ここで位置27341が+8614に番号付けられる)の位置-20555、-20329、-20323、-4336、-3868、-3844、-795、-86、230、5235、5516、7182、7303、12907、13028、13376、19069または19165に対応する位置に、Aを有し、CYP3A5遺伝子(アクセッション番号:AF280107.1、ここで位置166220が+1に番号付けられ、および位置174832が+8613に番号付けられ、並びにアクセッション番号:AC005020.2、ここで位置27341が+8614に番号付けられる)の位置-20367、-6200、-74、3705、5215、7207、14836、17163、19208または27526に対応する位置に、Tを有し、CYP3A5遺伝子(アクセッション番号:AF280107.1、ここで位置166220が+1に番号付けられ、および位置174832が+8613に番号付けられ、並びにアクセッション番号:AC005020.2、ここで位置27341が+8614に番号付けられる)の位置-6177、-3990、13077、14720、14903、16993または27050に対応する位置に、Gを有し、CYP3A5遺伝子(アクセッション番号:AF280107.1、ここで位置166220が+1に番号付けられ、および位置174832が+8613に番号付けられ、並びにアクセッション番号:AC005020.2、ここで位置27341が+8614に番号付けられる)の位置-20643、-20310、-3557、-1617、136、13173、13226、15788、16079、31499、31551または31611に対応する位置に、Cを有し、CYP3A5遺伝子(アクセッション番号:AF280107.1、ここで位置166220が+1に番号付けられ、および位置174832が+8613に番号付けられる)の位置174から176に対応する位置に、ヌクレオチド欠失を有し、CYP3A5遺伝子(アクセッション番号:AF280107.1、ここで位置166220が+1に番号付けられ、および位置174832が+8613に番号付けられ、並びにアクセッション番号:AC005020.2、ここで位置27341が+8614に番号付けられている)の位置3709/3710または27131/27132に対応する位置に、付加ヌクレオチドを有し、CYP3A5遺伝子(アクセッション番号:AF280107.1、ここで位置166220が+1に番号付けられ、および位置174832が+8613に番号付けられ、並びにアクセッション番号:AC005020.2、ここで位置27341が+8614に番号付けられる)の位置16931/16932に対応する位置に、3個の付加ヌクレオチドを有し、またはCYP3A5遺伝子(アクセッション番号:AF280107.1、ここで位置166220が+1に番号付けられ、および位置174832が+8613に番号付けられる)の位置7424から7427に対応する位置に、2個のヌクレオチドの欠失および挿入された9個の付加ヌクレオチドを有する、ポリヌクレオチド； 30
- (e)CYP3A5ポリペプチドをコードしているポリヌクレオチドまたはそれらの断片、ここで 40 50

ポリペプチドが、CYP3A5ポリペプチド(アクセッション番号:NP_000768.1)の位置30、100、130、149または488に対応する位置にアミノ酸置換、またはCYP3A5ポリペプチド(アクセッション番号:NP_000768.1)の位置30から34または346から348に対応する位置に少なくとも1個のアミノ酸交換もしくは終止コドンを含む、ポリヌクレオチド;ならびに
(f)CYP3A5ポリペプチドをコードしているポリヌクレオチドまたはその断片であり、ここでポリペプチドが、CYP3A5ポリペプチド(アクセッション番号:NP_000768.1)の位置30から34に対応する位置でのHGLFKからYGTF.へのアミノ酸置換(ピリオドが終結を意味する)、CYP3A5ポリペプチド(アクセッション番号:NP_000768.1)の位置100に対応する位置でのSからYへのアミノ酸置換、CYP3A5ポリペプチド(アクセッション番号:NP_000768.1)の位置130に対応する位置でのRからQへのアミノ酸置換、CYP3A5ポリペプチド(アクセッション番号:NP_000768.1)の位置149に対応する位置でのIからTのアミノ酸置換、CYP3A5ポリペプチド(アクセッション番号:NP_000768.1)の位置346から348に対応する位置でのTYDからYL.(ピリオドが終結を意味する)のアミノ酸置換、または、CYP3A5ポリペプチド(アクセッション番号:NP_000768.1)の位置488に対応する位置でのIからTへのアミノ酸置換を含む、ポリヌクレオチド。

10

【請求項2】

癌、または心臓血管疾患、糖尿病およびAIDSを含む疾患に関連している、請求項1記載のポリヌクレオチド。

【請求項3】

DNAまたはRNAである、請求項1から2のいずれか1項記載のポリヌクレオチド。

20

【請求項4】

請求項1から2のいずれか1項記載のポリヌクレオチドを含む遺伝子。

【請求項5】

ヌクレオチド欠失、付加および/または置換が、対応する野生型遺伝子と比べ、変異型遺伝子の変更された発現を生じる、請求項4記載の遺伝子。

【請求項6】

請求項1~3いずれか1項記載のポリヌクレオチドまたは請求項4または5記載の遺伝子を含む、ベクター。

【請求項7】

ポリヌクレオチドが、原核細胞もしくは真核細胞またはそれらの単離された画分において発現することができる発現制御配列に機能的に連結される、請求項6記載のベクター。

30

【請求項8】

請求項1~3のいずれか1項記載のポリヌクレオチド、請求項4もしくは5記載の遺伝子または請求項6または7記載のベクターにより遺伝子操作された宿主細胞。

【請求項9】

分子変異型CYP3A5ポリペプチドまたはそれらの断片を作製する方法であって、

(a)請求項8記載の宿主細胞を培養する工程;および

(b)タンパク質または断片を培養物から回収する工程を含む、方法。

【請求項10】

請求項1~3のいずれか1項記載のポリヌクレオチド、請求項4もしくは5記載の遺伝子または請求項6もしくは7記載のベクターを用いて細胞を遺伝子操作することを含む、分子変異型CYP3A5ポリペプチドを発現することが可能である細胞を作製する方法。

40

【請求項11】

請求項1~3のいずれか1項記載のポリヌクレオチド、請求項4または5記載の遺伝子によりコードされるか、もしくは、請求項9記載の方法によるかまたは請求項10記載の方法により作出された細胞から入手可能である、ポリペプチドまたはそれらの断片。

【請求項12】

請求項11記載のポリペプチドに特異的に結合する抗体。

【請求項13】

請求項1または5記載のヌクレオチド交換から生じる、1個または複数のアミノ酸置換を含

50

むエピトープを特異的に認識する、請求項12記載の抗体。

【請求項14】

モノクローナルまたはポリクローナルである、請求項12または13記載の抗体。

【請求項15】

請求項1~4のいずれか1項記載の少なくとも1個のポリヌクレオチド、請求項5もしくは6記載の遺伝子または請求項7もしくは8記載のベクターを含む、トランスジェニック非ヒト動物。

【請求項16】

マウス、ラットまたはゼブラフィッシュである、請求項15記載のトランスジェニック非ヒト動物。

【請求項17】

1種または複数種の請求項1~3のいずれか1項記載のポリヌクレオチド、請求項4もしくは5記載の遺伝子、請求項6もしくは7記載のベクター、請求項11記載のポリペプチド、請求項12もしくは13記載の抗体、または請求項8記載の宿主細胞を、固定化された形状で含む、固形支持体。

【請求項18】

膜、ガラスチップ、ポリプロピレンチップまたはシリコンチップであり、オリゴヌクレオチド複合したビーズまたは光学フィルター基板上に集成されたビーズアレイである、請求項17記載の固形支持体。

【請求項19】

多型を同定するインビトロ法であって、

(a)複数の個体亜群から、請求項1~3のいずれか1項記載のポリヌクレオチドまたは請求項4もしくは5記載の遺伝子を単離する工程であり、ここでひとつの亜群が、CYP3A5関連疾患を有病せず、かつ少なくともひとつまたは複数の更なる亜群が、CYP3A5関連疾患を有病している、工程；および

(b)CYP3A5関連疾患を有病していないひとつの亜群のポリヌクレオチドまたは遺伝子の核酸配列を、CYP3A5関連疾患を有病する少なくともひとつまたは複数の更なる亜群と比較することにより、多型を同定する工程を含む、方法。

【請求項20】

CYP3A5ポリペプチドの分子変異型の活性を変調することが可能なプロドラッグまたは薬物を同定しかつ入手する方法であって、

(a)請求項11記載のポリペプチド、請求項17もしくは18記載の固形支持体、請求項1~3のいずれか1項記載のポリヌクレオチドを含む分子変異型遺伝子を発現している細胞、請求項4もしくは5記載の遺伝子、または請求項6もしくは7記載のベクターを、プロドラッグまたは薬物活性に関してスクリーニングされる化合物と、薬物活性に反応して検出可能なシグナルを提供することが可能な成分の存在下で、接触させる工程；ならびに

(c)プロドラッグまたは薬物活性から生じたシグナルの存在もしくは非存在、またはシグナルの増加もしくは減少を検出する工程であり、ここでシグナルの非存在、存在、増加または減少が、プロドラッグまたは薬物の推定の指標である工程を含む、方法。

【請求項21】

CYP3A5ポリペプチドの分子変異型の活性阻害剤を同定しかつ入手する方法であって、

(d)請求項11記載のタンパク質、請求項17もしくは18記載の固形支持体、または請求項1~3のいずれか1項記載のポリヌクレオチドを含む分子変異型遺伝子を発現している細胞、または請求項4もしくは5記載の遺伝子、または請求項6もしくは7記載のベクターを、阻害活性に関してスクリーニングされる化合物と、薬物活性に反応して検出可能なシグナルを提供することが可能な成分の存在下で、接触させる工程；ならびに

(e)阻害活性から生じたシグナルの存在もしくは非存在、またはシグナルの増加もしくは減少を検出する工程であり、ここでシグナルの非存在または減少が、阻害活性の推定の指標である工程を含む、方法。

【請求項22】

10

20

30

40

50

細胞が、請求項10記載の方法により得られる請求項9記載の細胞であるか、もしくは請求項15または16記載のトランスジェニック非ヒト動物により得ることができる、請求項20または21記載の方法。

【請求項23】

CYP3A5ポリペプチドの分子変異型の活性を変調することが可能なプロドラッグまたは薬物を同定しかつ入手する方法であって、

(a)請求項8記載の宿主細胞、請求項10記載の方法により得られた細胞、請求項11記載のポリペプチドまたは請求項17もしくは18記載の固形支持体を、CYP3A5ポリペプチドにより結合されることがわかっている第一の分子と接触させ、ポリペプチドおよび第一の分子の第一の複合体を形成する工程；

10

(b)第一の複合体をスクリーニングされる化合物と接触させる工程；ならびに

(c)化合物が、該第一の複合体の該第一の分子と置き換わるかどうかを測定する工程を含む、方法。

【請求項24】

CYP3A5ポリペプチドの分子変異型またはその遺伝子産物の活性を変調することが可能な阻害剤を同定しかつ入手する方法であって、

(a)請求項8記載の宿主細胞、請求項10記載の方法により得られた細胞、請求項11記載のタンパク質または請求項17もしくは18記載の固形支持体を、CYP3A5ポリペプチドにより結合されることがわかっている第一の分子と接触させ、タンパク質および第一の分子の第一の複合体を形成する工程；

20

(b)第一の複合体をスクリーニングされる化合物と接触させる工程；および

(c)化合物が、該第一の複合体の該第一の分子と置き換わるかどうかを測定する工程を含む、方法。

【請求項25】

測定工程が、タンパク質および化合物の第二の複合体の形成を測定することを含む、請求項23または24記載の方法。

【請求項26】

測定工程が、タンパク質に結合していない第一の分子の量を測定することを含む、請求項23～25のいずれか1項記載の方法。

【請求項27】

第一の分子が標識されている、請求項23～26のいずれか1項記載の方法。

30

【請求項28】

請求項20～27のいずれか1項記載の方法の工程；および、薬学的に許容できる形状に、同定されかつ入手された化合物またはそれらの誘導体を製剤化する更なる工程を含む、薬学的組成物の製造法。

【請求項29】

被験者からの試料中の請求項1～3のいずれか1項記載のポリヌクレオチドまたは請求項4もしくは5記載の遺伝子の存在を決定することを含む、CYP3A5遺伝子の分子変異型の存在に関連した障害、またはこのような障害の易罹患性を診断する方法。

【請求項30】

請求項11記載のポリペプチドまたは請求項12～14のいずれか1項記載の抗体の存在を決定することを更に含む、請求項29記載の方法。

40

【請求項31】

被験者からの試料中の請求項11記載のポリペプチドまたは請求項12～14のいずれか1項記載の抗体の存在を決定することを含む、CYP3A5遺伝子の分子変異型の存在に関連した障害、またはこのような障害の易罹患性を診断する方法。

【請求項32】

障害が、癌または心臓血管系疾患、糖尿病およびAIDSを含む疾患である、請求項29～31のいずれか1項記載の方法。

【請求項33】

50

PCR、リガーゼ連鎖反応、制限酵素消化、直接的配列決定、核酸増幅技術、ハイブリダイゼーション技術、質量分析またはイムノアッセイ法を含む、請求項29～32のいずれか1項記載の方法。

【請求項34】

試料中の請求項1～3のいずれか1項記載のポリヌクレオチドまたは請求項4もしくは5記載の遺伝子の検出法であって、

(a)請求項1～3のいずれか1項記載のポリヌクレオチドまたは請求項4もしくは5記載の遺伝子と固形支持体上の固定化された標的の間の相互作用を可能にする条件下で、請求項17または18記載の固形支持体を、試料と接触させる工程；および

(b)ポリヌクレオチドまたは遺伝子の、固形支持体上の固定化された標的への結合を決定する工程を含む、方法。

10

【請求項35】

請求項34記載の方法の工程を含む、疾患を診断するインビトロ法であって、ポリヌクレオチドまたは遺伝子の、固形支持体上の固定化された標的との結合が、疾患の存在もしくは非存在または該疾患有病の指標である、方法。

【請求項36】

請求項1～4のいずれか1項記載のポリヌクレオチド、請求項3もしくは4記載の遺伝子、請求項6もしくは7記載のベクター、請求項11記載のポリペプチドまたは請求項12もしくは13記載の抗体を含む、診断用組成物。

【請求項37】

請求項1～3のいずれか1項記載のポリヌクレオチド、請求項4もしくは5記載の遺伝子、請求項6もしくは7記載のベクター、請求項11記載のポリペプチドまたは請求項12もしくは13記載の抗体を含む、薬学的組成物。

20

【請求項38】

疾患の診断のための診断用組成物を調製するための、請求項1～3のいずれか1項記載のポリヌクレオチド、配列番号:104を含むポリヌクレオチド、配列番号:145を含むポリペプチドをコードしているポリヌクレオチド、請求項4もしくは5記載の遺伝子、請求項6もしくは7記載のベクター、請求項11記載のポリペプチド、配列番号:145を含むポリペプチド、または請求項12もしくは13記載の抗体の使用。

【請求項39】

疾患の治療のための薬学的組成物を調製するための、請求項1～3のいずれか1項記載のポリヌクレオチド、配列番号:104を含むポリヌクレオチド、配列番号:145を含むポリペプチドをコードしているポリヌクレオチド、請求項4もしくは5記載の遺伝子、請求項6もしくは7記載のベクター、請求項11記載のポリペプチド、配列番号:145を含むポリペプチド、または請求項12もしくは13記載の抗体の使用。

30

【請求項40】

CYP3A5遺伝子の変異型アリルを含むゲノムを有する被験者において疾患を診断するための診断用組成物を調製するための：

(a)配列番号:82、88、104または112の核酸配列を有するポリヌクレオチド；

(b)配列番号:127、132、141または145のアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードしているポリヌクレオチド；

40

(c)CYP3A5遺伝子にハイブリダイズすることが可能なポリヌクレオチドであり、CYP3A5遺伝子(アクセッション番号:AF280107.1、ここで位置166220が+1に番号付けられ、および位置174832が+8613に番号付けられ、並びにアクセッション番号:AC005020.2、ここで位置27341が+8614に番号付けられている)の位置3709/3710または27131/27132に対応する位置に、少なくとも1個の追加ヌクレオチドを、もしくはCYP3A5遺伝子(アクセッション番号:AF280107.1、ここで位置166220が+1に番号付けられ、および位置174832が+8613に番号付けられ、並びにアクセッション番号:AC005020.2、ここで位置27341が+8614に番号付けられる)の位置7303または27289に対応する位置に、ヌクレオチド交換を有する、ポリヌクレオチド；

50

(d)CYP3A5遺伝子にハイブリダイズすることが可能なポリヌクレオチドであり、CYP3A5遺伝子(アクセッション番号:AF280107.1、ここで位置166220が+1に番号付けられ、および位置174832が+8613に番号付けられ、並びにアクセッション番号:AC005020.2、ここで位置27341が+8614に番号付けられている)の位置3709/3710に対応する位置に、追加のGヌクレオチドを、CYP3A5遺伝子(アクセッション番号:AF280107.1、ここで位置166220が+1に番号付けられ、および位置174832が+8613に番号付けられ、並びにアクセッション番号:AC005020.2、ここで位置27341が+8614に番号付けられている)の位置27131/27132に対応する位置に、追加のTヌクレオチドを、または、CYP3A5遺伝子(アクセッション番号:AF280107.1、ここで位置166220が+1に番号付けられ、および位置174832が+8613に番号付けられ、並びにアクセッション番号:AC005020.2、ここで位置27341が+8614に番号付けられている)の位置7303もしくは27289に対応する位置にAを有する、ポリヌクレオチドからなる群より選択されたポリヌクレオチドの使用であって、

10

ここでアリルが、CYP3A5遺伝子(アクセッション番号:AF280107.1、ここで位置166220が+1に番号付けられ、および位置174832が+8613に番号付けられ、並びにアクセッション番号:AC005020.2、ここで位置27341が+8614に番号付けられている)の位置6986に対応する位置にAを有するポリヌクレオチドの、使用。

【請求項41】

CYP3A5遺伝子の変異型アリルを含むゲノムを有する被験者において疾患を診断するための診断用組成物の調製するための、CYP3A5遺伝子(アクセッション番号:AF280107.1、ここで位置166220が+1に番号付けられ、および位置174832が+8613に番号付けられ、並びにアクセッション番号:AC005020.2、ここで位置27341が+8614に番号付けられている)の位置14690に対応する位置にAを有するポリヌクレオチドを含む、ポリヌクレオチドの使用であって、

20

アリルが、CYP3A5遺伝子(アクセッション番号:AF280107.1、ここで位置166220が+1に番号付けられ、および位置174832が+8613に番号付けられ、並びにアクセッション番号:AC005020.2、ここで位置27341が+8614に番号付けられている)の位置6986に対応する位置にAを有するポリヌクレオチドの、使用。

【請求項42】

被験者がアフリカ系アメリカ人である、請求項40または41記載の使用。

【請求項43】

疾患が、癌または心臓血管系疾患、糖尿病およびAIDSを含む疾患である、請求項38～41のいずれか1項記載の使用。

30

【請求項44】

請求項1～3のいずれか1項記載のポリヌクレオチド、請求項4もしくは5記載の遺伝子、請求項6もしくは7記載のベクター、請求項11記載のポリペプチド、請求項12または13記載の抗体、請求項8記載の宿主細胞、請求項15もしくは16記載のトランスジェニック非ヒト動物、または、請求項17もしくは18記載の固形支持体を含む、一塩基多型の検出のための、診断キット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

40

【0001】

本発明は、多型CYP3A5ポリヌクレオチドに関する。更に本発明は、本発明のポリヌクレオチドを含む遺伝子またはベクター、並びに本発明のポリヌクレオチドまたは遺伝子で遺伝子操作された宿主細胞に関する。更に本発明は、分子変異型ポリペプチドまたはそれらの断片の作出法、分子変異型ポリペプチドを発現することが可能な細胞の作出法、並びに本発明のポリヌクレオチドまたは遺伝子によりコードされたポリペプチドまたはそれらの断片、もしくはこの方法によりまたは本発明の方法により作出された細胞から入手可能なものに関する。更に本発明は、本発明のポリペプチドに特異的に結合する抗体に関する。更に本発明は、トランスジェニック非ヒト動物に関する。本発明は同じく、1個または複数の前述のポリヌクレオチド、遺伝子、ベクター、ポリペプチド、抗体または宿主細胞を含

50

む固形支持体にも関する。更に、多型を同定する方法、プロドラッグまたは薬物または阻害剤を同定しかつ入手する方法も、本発明に包含されている。加えて本発明は、薬学的組成物の製造法および疾患の診断法に関する。更に本発明は、本発明のポリヌクレオチドの検出法に関する。更に本発明は、診断用組成物および薬学的組成物が含まれる。更にまた本発明は、本発明のポリヌクレオチド、遺伝子、ベクター、ポリペプチドまたは抗体の使用にも関する。最後に本発明は、診断キットに関する。

【背景技術】

【0002】

CYP3A酵素は、薬物代謝において特に重要な役割を果たす。これは、広い物質スペクトルと組合わせた、肝におけるそれらの豊富な発現に起因している。実際、CYP3Aアイソザイムは、集合的に肝CYPタンパク質の最大部分を含み(Thummel, *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 38:389-430(1998))、およびこれらは現在使用されている全薬物の45%~60%の代謝に関与している(Li, *Toxicology*, 104:1-8(1995); Evans, *Science*, 286:487-91(1999))と推定されている。CYP3Aアイソザイムは、薬物に加え、ステロイドホルモン、毒物および発癌性物質を含む、様々な他の化合物を代謝する。例えば、CYP3Aアイソザイムは、肝癌の病因に強力に関与したマイコトキシンであり、アフリカおよびアジアの多くの地域において若年死の主要な原因となっている(Henry, *Science*, 286:2453-4(1999))、アフラトキシンB₁(Wang, *Biochemistry*, 37:12536-45(1998); Gillam, *Arch Biochem Biophys*, 317:374-84(1995); Li, *Cancer Res*, 57:641-5(1997))を代謝する。

10

【0003】

CYP3Aアイソザイムの肝発現および活性は、個人間で変動があり、この変動性は、CYP3A基質である薬物の開発および適用において頻繁に遭遇する有害な相互作用の理由である。変動するCYP3A発現は、CYP3Aにより代謝される環境の発癌性物質によって引き起された癌に対する個人の背景因子に影響を及ぼすことも自明のことと見なされる。個人のCYP3A活性を制御する因子の解明は、その基質による療法において個人向けの用量調節を可能にし、更にいくつかの一般的癌に対して増大したリスクを持つ亜集団の同定にもつながると考えられる。しかしかなりの努力が払われたにも関わらず、CYP3Aの活性および発現を左右する因子に関する理解は限られたものである。これにはいくつかの理由がある。平均的ヒト肝臓は、最大4種のCYP3A遺伝子産物を発現することができる(Gellner, *Pharmacogenetics*, 11:111-121(2001))が、肝CYP3Aプールに対するそれらの各々の寄与は、依然議論的である。酵素的方法による個人のCYP3Aタンパク質間の識別は、基質特異性の重複のため、およびそれらの触媒活性に対し再構成条件がかなり影響を及ぼすために困難であることが証明されている。RNAおよびタンパク質の分析から、CYP3A4は、バルク量の肝CYP3Aタンパク質を産生し、かつその発現は高度に変動することが示されている(Thummel, *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 38:389-430(1998))。他のCYP3A遺伝子の寄与は、余りわかっていない。CYP3A5は、肝臓における第二の最も重要なCYP3Aタンパク質であるが、入手できるデータには矛盾があり、その理由は、その発現はヒト肝臓の10%~97%に存在することが報告されているからであると広く考えられている(Aoyama, *J Biol Chem*, 264:10388-95(1989); Wrighton, *Mol Pharmacol*, 38:207-13(1990); Schuetz, *Pharmacogenetics*, 4:11-20(1994); Jounaidi, *Biochem Biophys Res Commun*, 221:466-70(1996); Boobis, *Br J Clin Pharmacol*, 42:81-9(1996))。これらの不一致の考えられる理由は、小さい試料サイズ、人種間差およびCYP3A5発現の測定に使用したプローブの貧弱な特異性である。第三のCYP3AであるCYP3A7は、当初、ヒト胎児肝において説明され、そこでは総CYPタンパク質の約50%を占めていた(Wrighton, *Biochem Pharmacol*, 37:3053-5(1988))。より最新の研究は、成人肝におけるCYP3A7の構成的または誘導的発現を示しているが、その定量は、特異的抗体がないことが足枷となっている。同様に最近同定されたファミリーの第四のメンバーであるCYP3A43に関する入手可能な、タンパク質発現データはない(Gellner, *Pharmacogenetics*, 11:111-121(2001))。

20

30

40

【0004】

臨床試験は、個体間のCYP3A変動性の主要部分が遺伝的要因により引き起されることを示

50

している(Ozdemir、Pharmacogenetics、10:373-88(2000))が、遺伝的要因の正体は依然不明である。CYP3A5に関して、タンパク質変異型(Thr398Asn)が、CYP3A5発現欠損の個体5名中2名において発見された(Jounaidi、Biochem Biophys Res Commun、221:466-70(1996))が、その意義については、非常に多数の肝試料についておよび機能試験においては証明されていない。加えてこの遺伝子の増大した発現および活性に関連しているふたつの連結した多型からなるハプロタイプが、CYP3A5遺伝子の5'隣接領域において説明されている(Paulussen、Pharmacogenetics、10:415-24(2000))。しかし、少数の試料セット(n=29)が、遺伝子型および表現型について分析されたのみである。更に前述の文献において明らかにされている一塩基多型(SNP)は、CYP3A5の機能障害および/または調節不能(dysregulation)の並びにそれらにより引き起される問題点の信頼できる予測には適していない。この文献は、更なるハプロタイプの存在を示唆していない。

10

【0005】

従って、薬物代謝の機能障害または調節不能を基にした様々な疾患および障害を診断および治療するための改善された手段および方法は、依然使用可能ではないが、しかしそれにも関わらず非常に望まれている。従って本発明の基礎となる技術的課題は、先に特定した必要性を満たすものである。

【発明の開示】

【0006】

この技術的課題の解決は、「特許請求の範囲」に特徴付けられた態様を提供することにより達成される。

20

【0007】

従って、本発明は、下記からなる群より選択されるポリヌクレオチドを含むポリヌクレオチドに関する：

(a)配列番号:54、56、58、62、64、66、68、70、72、74、76、78、80、82、84、86、88、90、92、94、96、98、100、102、106、108、110、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、128、129、130、131、133、134、135、136、137、138、139、140、142、143、149、151、153、155、157、159、161、163、165、169、171、173、175、177、179、181、183、185、187、189、193、195、197、199、201、207、208、209、210、211、212、213、214、216、218、219、220、221、222、223、224、225、226、227、228、231、232、233、235または236の核酸配列を有するポリヌクレオチド；

30

(b)配列番号:127、132、141、215、229、または234のアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードしているポリヌクレオチド；

(c)CYP3A5遺伝子にハイブリダイズすることが可能なポリヌクレオチドであり、CYP3A5遺伝子(アクセッション番号:AF280107.1、ここで位置166220は+1に番号付けられ、および位置174832は+8613に番号付けられ、並びにアクセッション番号:AC005020.2、ここで位置27341は+8614に番号付けられる)の位置-20643、-20555、-20359、-20367、-20329、-20323、-20310、-6200、-6177、-4336、-3990、-3868、-3844、-3557、-1617、-795、-86、-74、136、174から176、230、3705、3709/3710、5215、5235、5516、7182、7207、7303、7424/7427、12907、13028、13077、13173、13226、13376、14720、14836、14903、15788、16079、16931/16932、16993、17163、19069、19165、19208、27050、27131/27132、27526、31499、31551または31611に対応する位置のヌクレオチド交換、少なくとも1個のヌクレオチドのヌクレオチド欠失、または少なくとも1個の付加ヌクレオチドを有する、ポリヌクレオチド；

40

(d)CYP3A5遺伝子にハイブリダイズすることが可能なポリヌクレオチドであり、ここでポリヌクレオチドが、CYP3A5遺伝子(アクセッション番号:AF280107.1、ここで位置166220は+1に番号付けられ、および位置174832は+8613に番号付けられ、並びにアクセッション番号:AC005020.2、ここで位置27341は+8614に番号付けられる)の位置-20555、-20329、-20323、-4336、-3868、-3844、-795、-86、230、5235、5516、7182、7303、12907、13028、13376、19069または19165に対応する位置に、Aを有し、CYP3A5遺伝子(アクセッション番号:AF280107.1、ここで位置166220は+1に番号付けられ、および位置174832は+8613に番号付

50

けられ、並びにアクセッション番号:AC005020.2、ここで位置27341は+8614に番号付けられる)の位置-20367、-6200、-74、3705、5215、7207、14836、17163、19208または27526に対応する位置に、Tを有し、CYP3A5遺伝子(アクセッション番号:AF280107.1、ここで位置166220は+1に番号付けられ、および位置174832は+8613に番号付けられ、並びにアクセッション番号:AC005020.2、ここで位置27341は+8614に番号付けられる)の位置-6177、-3990、13077、14720、14903、16993または27050に対応する位置に、Gを有し、CYP3A5遺伝子(アクセッション番号:AF280107.1、ここで位置166220は+1に番号付けられ、および位置174832は+8613に番号付けられ、並びにアクセッション番号:AC005020.2、ここで位置27341は+8614に番号付けられる)の位置-20643、-20310、-3557、-1617、136、13173、13226、15788、16079、31499、31551または31611に対応する位置に、Cを有し、CYP3A5遺伝子(アクセッション番号:AF280107.1、ここで位置166220は+1に番号付けられ、および位置174832は+8613に番号付けられる)の位置174から176に対応する位置に、ヌクレオチド欠失を有し、CYP3A5遺伝子(アクセッション番号:AF280107.1、ここで位置166220は+1に番号付けられ、および位置174832は+8613に番号付けられ、並びにアクセッション番号:AC005020.2、ここで位置27341は+8614に番号付けられる)の位置3709/3710または27131/27132に対応する位置に、付加ヌクレオチドを有し、CYP3A5遺伝子(アクセッション番号:AF280107.1、ここで位置166220は+1に番号付けられ、および位置174832は+8613に番号付けられ、並びにアクセッション番号:AC005020.2、ここで位置27341は+8614に番号付けられる)の位置16931/16932に対応する位置に、3個の付加ヌクレオチドを有し、またはCYP3A5遺伝子(アクセッション番号:AF280107.1、ここで位置166220は+1に番号付けられ、および位置174832は+8613に番号付けられる)の位置7424から7427に対応する位置に、2個のヌクレオチド欠失および挿入された9個の付加ヌクレオチドを有する、ポリヌクレオチド;

(e)CYP3A5ポリペプチドをコードしているポリヌクレオチドまたはそれらの断片、ここでポリペプチドは、CYP3A5ポリペプチド(アクセッション番号:NP_000768.1)の位置30、100、130、149または488に対応する位置にアミノ酸置換、またはCYP3A5ポリペプチド(アクセッション番号:NP_000768.1)の位置30から34または346から348に対応する位置に少なくとも1個のアミノ酸交換もしくは終止コドンを含むポリヌクレオチド;ならびに

(f)CYP3A5ポリペプチドをコードしているポリヌクレオチドまたはその断片であり、CYP3A5ポリペプチド(アクセッション番号:NP_000768.1)の位置30から34に対応する位置でのHGLFKからYGTF.へのアミノ酸置換(ピリオドは終結を意味する)、CYP3A5ポリペプチド(アクセッション番号:NP_000768.1)の位置100に対応する位置でのSからYへのアミノ酸置換、CYP3A5ポリペプチド(アクセッション番号:NP_000768.1)の位置130に対応する位置でのRからQへのアミノ酸置換、CYP3A5ポリペプチド(アクセッション番号:NP_000768.1)の位置149に対応する位置でのIからTへのアミノ酸置換、CYP3A5ポリペプチド(アクセッション番号:NP_000768.1)の位置346から348に対応する位置でのTYDからYL.(ピリオドは終結を意味する)へのアミノ酸置換、または、CYP3A5ポリペプチド(アクセッション番号:NP_000768.1)の位置488に対応する位置でのIからTへのアミノ酸置換を含むポリヌクレオチド。

【0008】

本発明の状況において、「ポリヌクレオチド」という用語または「ポリペプチド」という用語は、ポリヌクレオチドまたはポリペプチドの様々な変異型を意味する。該変異型は、本発明のポリヌクレオチドまたはポリペプチドの参照または野生型配列に加え、構造または組成がそれらから異なる変異型を含む。これらのポリヌクレオチドの参照または野生型配列は、アクセッション番号:AF280107.1およびAC005020.2である。本発明のポリペプチドの参照または野生型配列は、アクセッション番号:NP_000768.1である。構造または組成の差異は、通常、ヌクレオチドまたはアミノ酸の1つまたは複数の置換、1つまたは複数の付加および/または1つまたは複数の欠失によって生じる。好ましくは該ヌクレオチドの1つまたは複数の置換、1つまたは複数の付加または1つまたは複数の欠失は、本発明のポリペプチドの対応する1つまたは複数のアミノ酸の1種または複数の変化を生じる。この変異型ポリヌクレオチドおよびポリペプチドは、本発明の該ポリヌクレオチドまたはポリペプチドの断片も含む。本発明のポリヌクレオチドまたはポリペプチドに加え前述のそれらの

断片は、CYP3A5機能不全または調節不能に関連づけられるという特徴がある。好ましくは、本発明において言及される該機能不全または調節不能は、疾患もしくは障害または該疾患もしくは障害の有病を引き起す。好ましくは、以下に詳細に説明するように、該疾患は、癌、もしくは心臓血管系疾患、糖尿病およびAIDSを含む疾患、または本発明のポリヌクレオチドもしくはポリペプチドに起因した機能不全または調節不能により引き起される他の疾患である。

【0009】

本発明ポリヌクレオチドは、CYP3A5遺伝子と少なくとも70%、好ましくは少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%または少なくとも95%の配列同一性を有するポリヌクレオチドを含み、ここで該ポリヌクレオチドは、ヌクレオチド交換、少なくとも1個のヌクレオチドのヌクレオチド欠失、または少なくとも1個の付加ヌクレオチドを、CYP3A5遺伝子(アクセッション番号:AF280107.1、ここで位置166220は+1に番号付けられ、および位置174832は+8613に番号付けられ、並びにアクセッション番号:AC005020.2、ここで位置27341は+8614に番号付けられる)の位置-20643、-20555、-20359、-20367、-20329、-20323、-20310、-6200、-6177、-4336、-3990、-3868、-3844、-3557、-1617、-795、-86、-74、136、174から176、230、3705、3709/3710、5215、5235、5516、7182、7207、7303、7424/7427、12907、13028、13077、13173、13226、13376、14720、14836、14903、15788、16079、16931/16932、16993、17163、19069、19165、19208、27050、27131/27132、27526、31499、31551または31611に対応する位置に有する。

【0010】

本明細書において使用される「ハイブリダイズ」という用語は、CYP3A5の機能不全または調節不能に関連している本発明のポリヌクレオチドまたはその一部にハイブリダイズすることが可能なポリヌクレオチドを意味する。従って該ハイブリダイズするポリヌクレオチドは、該機能不全および調節不能にも関連している。その結果、該ポリヌクレオチドは、RNAまたはDNA調製の、各々、ノーザンブロットまたはサザンブロット分析におけるプローブとして有用であることもでき、もしくはそれらの各サイズに応じて、PCR分析におけるオリゴヌクレオチドプライマーとして使用することができる。同じく本発明は、例えば電気泳動移動度シフト分析(EMSA)による、DNA-タンパク質相互作用の分析に有用であるハイブリダイズするポリヌクレオチドも含む。好ましくは、該ハイブリダイズするポリヌクレオチドは、長さが少なくとも10個、より好ましくは少なくとも15個のヌクレオチドを含む一方で、プローブとして使用される本発明のハイブリダイズするポリヌクレオチドは、長さが好ましくは少なくとも100個、より好ましくは少なくとも200個、または最も好ましくは少なくとも500個のヌクレオチドを含む。いかにして核酸分子とのハイブリダイゼーション実験を行うかは、当該技術分野において周知であり、すなわち当業者は、どのハイブリダイゼーション条件を、本発明により使用すべきかを知っている。このようなハイブリダイゼーション条件は、「Molecular Cloning A Laboratory Manual」(Cold Spring Harbor Laboratory(1989)ニューヨーク)のような標準的教科書において言及されている。本発明では、ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下、すなわち本発明のCYP3A5ポリペプチドとは異なるポリペプチドをコードしているポリヌクレオチドのような無関係のポリヌクレオチドとはクロスハイブリダイズしない条件下で、CYP3A5機能不全または調節不能に関連している本発明のポリヌクレオチドまたはその一部にハイブリダイズすることが可能なポリヌクレオチドが好ましい。

【0011】

核酸ハイブリダイゼーションは、当業者には容易に理解されるように、塩濃度、温度または有機溶媒などの条件に加え、塩基組成、相補鎖の長さおよびハイブリダイズする核酸の間のヌクレオチド塩基ミスマッチの数により影響を受けると考えられる。ストリンジェントな温度条件は一般に、30℃、典型的には37℃を超える温度を含み、および好ましくは45℃を超える。ストリンジェントな塩条件は、通常1000mM未満、典型的には500mM未満、および好ましくは200mM未満である。しかし、これらのパラメータの組合せは、いずれか単独のパラメータの測定よりもはるかに重要であると考えられる。例えばWetmurおよびDavi

dsonの論文(1968)を参照のこと。プローブ配列も、ある条件下で二重鎖DNAに特異的にハイブリダイズし、三重鎖またはより高次のDNA複合体を形成することができる。このようなプローブの調製および適当なハイブリダイゼーション条件は、当該技術分野において周知である。

【0012】

「配列同一性の割合(%)」または「同一」という用語は核酸配列の状況において、最大に対応になるように並置した場合に同じであるふたつの配列内の残基を指す。配列長の同一性の比較は、少なくとも9個のヌクレオチド、一般的には少なくとも20個のヌクレオチド、より一般的には少なくとも24個のヌクレオチド、典型的には少なくとも28個のヌクレオチド、より典型的には少なくとも32個のヌクレオチド、および好ましくは少なくとも36個のヌクレオチドまたはそれ以上の一続きのヌクレオチドを超えることができる。ヌクレオチド配列同一性を測定するために使用することができる当該技術分野において公知の多くの様々なアルゴリズムが存在する。例えば、ポリヌクレオチド配列は、GCG Ver.6.6のプログラムにおいてFastaを用い比較することができる。Fastaは、クエリー配列とサーチ配列の間の最も良く重複した領域のアラインメントおよび%配列同一性を提供する(Pearson、1980、本明細書に参照として組入れられている)。例えば、核酸配列間の%配列同一性は、GCG Ver.6.1で提供されたように、Fastaをそのデフォルトのパラメータで用い決定することができる(ワードサイズ6およびスコア化マトリックスのためのNOPAM因子)、これは本明細書に参照として組入れられている。

10

【0013】

本明細書において使用される「対応する」という用語は、位置が、各々先行するヌクレオチドおよびアミノ酸の数によってのみ決定されないことを意味する。欠失され、置換されまたは1個または複数の付加ヌクレオチドを含むことがある本発明の所定のヌクレオチドまたはアミノ酸の位置は、遺伝子またはポリペプチドのどこかで欠失または付加されたヌクレオチドまたはアミノ酸のために変動し得る。従って本発明の「対応する位置」に従い、ヌクレオチドまたはアミノ酸は示された数と異なることはあるが、依然類似した近傍のヌクレオチドまたはアミノ酸を有し得ることは理解されなければならない。交換され、欠失されるかまたは付加されたヌクレオチドもしくはアミノ酸を含み得る該ヌクレオチドまたはアミノ酸も、「対応する位置」という用語に含まれる。該ヌクレオチドまたはアミノ酸は例えば近隣と一緒に、遺伝子発現の調節、対応するRNAの安定性またはRNAの編集に関与し、並びに本発明のタンパク質の機能ドメインまたはモチーフをコードし得る配列を形成することができる。

20

30

【0014】

例えば「位置3709/3710」は、該ポリヌクレオチドは、該ポリヌクレオチドの対応する野生型バージョンの位置3709と位置3710の間に挿入された1個または複数の付加ヌクレオチドを含むことを意味する。同じことが、同じ様式で描かれた前述の態様、すなわち斜線(/)で区切られた2個の連続する位置番号に関して、必要な変更を加えて、他の位置番号全てに当てはまる。例えば「位置7424から7427」は、該ポリヌクレオチドが、該ポリヌクレオチドの対応する野生型バージョンの位置7424と位置7427の間に欠失された、1個または複数の欠失ヌクレオチドを、および/または、該ポリヌクレオチドの対応する野生型バージョンの位置7424と位置7427の間に挿入されている1個または複数の付加ヌクレオチドを含むことを意味する。同じことが、同じ様式で描かれた前述の態様に関して、必要な変更を加えて、他の位置番号全てに当てはまる。

40

【0015】

多型の番号付けは、並置されかつ連結されたゲノム配列AF280107.1およびAC005020.2にあてはめられ、ここで配列AF280107.1の位置174832(これは+8613と番号付けられている)でのTは、配列AC005020.2の位置27340に関係している。配列AC005020.2の位置27341のヌクレオチドAは+8614と番号付けられている。最大+8613までの位置に対応する位置への多型の番号付けは、ゲノム配列AF280107.1に言及し、位置+8614およびそれ以上に対応する位置への多型の番号付けは、ゲノム配列AC005020.2を指す。

50

【0016】

本発明に従い、CYP3A5遺伝子の遺伝的変異の様式および集団分布は、多くの異なる個体からのヒト該遺伝子の関連領域の配列分析により分析される。CYP3A5遺伝子を含む全ての遺伝子の個別の遺伝的構成(makeup)を収容している個体のゲノムDNAは、個体の血液試料から容易に精製することができるという事実は周知である。これらの個体のDNA試料は、次にその血液試料を提供した個体に存在するCYP3A5遺伝子のアレルの配列組成の分析に使用される。この配列分析は、該遺伝子の関連領域のPCR増幅、それに続くPCR産物の精製、引き続きの確立された方法(例えば、ABIダイターミネーターサイクルシーケンシング)による自動DNA配列決定により行われた。

【0017】

ヒト血液ゲノムDNAからのPCR産物の直接DNA-配列決定により、個々の遺伝子型を決定しかつ新規CYP3A5遺伝子の変異型を同定する試みにおいて考慮されるべき重要なパラメータのひとつは、ヒトは各々、各常染色体遺伝子の2つの遺伝子コピー(二倍性)を収容している(通常、非常に稀な異常な例外がある)という事実である。そのために、ホモ接合型配列変種のみではなく、ヘテロ接合型変種も明白に同定できるように配列の評価には多大な注意が払われなければならない。CYP3A5遺伝子(ホモ接合型およびヘテロ接合型)の新規多型の同定および特徴付けの様々な工程の詳細は、下記「実施例」に説明されている。

【0018】

過去20年以上にわたり、遺伝的不均質性が、薬物応答の変動の重大な原因として次第に認められてきている。多くの科学情報(Meyer, *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 37:269-296(1997)およびWest, *J. Clin. Pharmacol.*, 37:635-648(1997))が、いくつかの薬物は、一部の患者において、他のものよりもより良く作用するかまたは高度に毒性であることさえあり得ることをこと、並びにこれらの患者の薬物に対する応答の変動は、分子的基礎に関連し得ることを明確に示している。この「薬理遺伝学」的概念は、薬物に対する応答と患者の遺伝的プロファイルの間の相関関係に照準を合わせている(Marshall, *Nature Biotechnology*, 15:954-957(1997); Marshall, *Nature Biotechnology*, 15:1249-1252(1997))。この薬物療法に関する集団変動性の概念において、薬理遺伝学は、副作用を伴わずに特定の薬物に反応する患者の同定および選択に有用な道具を提唱している。この同定/選択は、例えば患者の血液白血球からのDNA遺伝子型決定による、遺伝的多型の分子診断、並びに疾患の特徴付けを基にすることができる(Bertz, *Clin. Pharmacokinet.*, 32:210-256(1997); Engel, *J. Chromatogr. B. Biomed. Appl.*, 678:93-103(1996))。米国における民間健康保険医療団体およびヨーロッパの多くの国々における政府の公衆衛生サービスなどの保健医療基金に関して、この薬理遺伝学的アプローチは、不必要な薬物、無効な薬物および副作用のある薬物の膨大なコストが存在することが原因となっている、保健医療の改善および間接費の低下の両方針を提示することができる。

【0019】

本発明の変異型遺伝子の突然変異は、時々、単独でまたは組合せのいずれかにおいて、アミノ酸の1つまたは複数の欠失、1つまたは複数の挿入および特に1つまたは複数の置換を生じる。当然、野生型遺伝子または他の突然変異体型においてこのような突然変異を遺伝子操作することも可能である。該遺伝子のDNA配列へこのような修飾を導入する方法は、当業者には周知であり;例えば、Sambrookの「*Molecular Cloning A Laboratory Manual*」Cold Spring Harbor Laboratory(1989)ニューヨークを参照のこと。

【0020】

本発明のポリペプチドのアミノ酸配列の変更の性質を調査するために、インターネットから入手することが可能であるRASMOLなどのソフトウェアプログラムを使用することができる。更に構造モチーフの折畳みのシミュレーションおよびコンピュータによる再設計を、他の適当なコンピュータプログラムを用いて行うことができる(Olszewski, *Proteins*, 25:286-299(1996); Hoffman, *Comput. Appl. Biosci.*, 11:675-679(1995))。コンピュータは、詳細なタンパク質モデルの立体配置的およびエネルギー的分析のために使用されう

10

20

30

40

50

る(Monge, J. Mol. Biol., 247:995-1012(1995); Renouf, Adv. Exp. Med. Biol., 376:37-45(1995))。これらの分析は、特定の突然変異の薬物の結合および/またはプロセッシングに対する影響の同定に使用することができる。

【0021】

通常、本発明のポリヌクレオチドによりコードされたタンパク質のアミノ酸配列における該アミノ酸の欠失、付加または置換は、1個または複数のヌクレオチドの置換、挿入または欠失、もしくはそれらの組合せに起因している。好ましくは、該ヌクレオチドの置換、挿入または欠失は、CYP3A5ポリペプチド(アクセッション番号:NP_000768.1)の30から34の位置に対応する位置での、HGLFKからYGTF.へのアミノ酸置換(ピリオドは終結を意味する)、CYP3A5ポリペプチド(アクセッション番号:NP_000768.1)の位置100に対応する位置でのS
10
からYへのアミノ酸置換、CYP3A5ポリペプチド(アクセッション番号:NP_000768.1)の位置346から348に対応する位置でのTYDからYL.へのアミノ酸置換(ピリオドは終結を意味する)、またはCYP3A5ポリペプチド(アクセッション番号:NP_000768.1)の位置398に対応する位置でのTからNへのアミノ酸置換をもたらす得る。

【0022】

本発明に従い検出されたCYP3A5遺伝子の突然変異を、表2A-Eに列記している。突然変異分析の方法は、標準プロトコールに従い、かつ「実施例」に詳細に説明している。一般にこのような方法は、表現型スペクトルに加え、機能不全に関連した疾患または状態並びに薬物代謝に関連した疾患の重複する臨床特性の評価に関し、本発明に従い使用される。有利なことに、該突然変異体の特徴付けは、例えば癌療法並びに心臓血管系疾患、糖尿病およびAIDSを含む疾患において使用される薬物のような、改善された薬物開発の基礎を成すことができる。この方法は、例えばハプロタイプ分析、一本鎖高次構造多型分析(SSCA)、PCRおよび直接配列決定、またはTaqMan(登録商標)分析を包含している。多くの患者の徹底的な臨床特徴付けを基に、次に表現型をこれらの突然変異に加え、例えばJounaidiの論文(Biochem Biophys Res Commun, 221:466-470(1996))など、先に説明されている突然変異と相関させることができる。

【0023】

同じく本発明で言及したポリヌクレオチドには、先に特定したポリヌクレオチド、すなわち前述のポリヌクレオチドにより構成されたまたは下記表に列記された突然変異を少なくとも2個、好ましくは3個含むヌクレオチド配列を有するポリヌクレオチドを、少なくとも
30
2個、好ましくは少なくとも3個を含むポリヌクレオチドも含まれる。従って、本発明に従い決定されたハプロタイプは、CYP3A5座位において少なくとも2個、好ましくは3個の該突然変異により特徴付けすることができる。更に本発明のポリヌクレオチドは、先に特定された、例えば先行技術において説明されたもの以外に、少なくとも1個のヌクレオチド欠失、付加および/または置換を含むことができる;例えば、Jounaidi、Biochem Biophys Res Commun, 221:466-470(1996)、Paulussen、Pharmacogenetics, 10:415-424(2000)、Kuehl、Nature Genetics, 27:383-391(2001)、またはChou、Drug Metab Dispos, 29:1205-1209(2001)。

【0024】

これは、CYP3A5遺伝子および/または該ポリヌクレオチドによりコードされたポリペプチドにおける該突然変異の、遺伝子のこのような突然変異体型または先に説明されたタンパク質により模倣され得る類似の突然変異体型を生じる患者における薬物の薬理的プロファイルに対する相乗作用の研究を可能にする。この相乗作用の分析は、先に説明したような薬物代謝に関連した機能不全または疾患の発症へのより深い洞察を提供することが期待される。このより深い洞察から、薬物代謝に関連した機能不全または疾患に関連した診断用組成物および薬学的組成物の開発は、大きな利益を得ると考えられる。

【0025】

更に驚くべきことに、CYP3A5の機能不全または調節不能に関するいわゆる陽性予測力は、本発明のポリヌクレオチドを基に顕著に増大することができ、その結果先行技術を基にした陽性陽性力とは対照的に信頼できる予測ができることが発見された。本発明に従い同定
50

されかつ下記実施例において詳細に説明されているひとつの肝試料を除いて全ての増大したCYP3A5タンパク質発現(17/18例)は、この遺伝子座の内側または上流の個別の位置での少なくとも3種の変異型(ch-v-021、ch-v-026、ch-v-015)からなるハプロタイプと同時分離する。これら3種の変異型の遺伝子型同定は、いかなる場合にも擬陽性予測を生じることとはなく、推定された陽性予測力は、これら3変異遺伝子型については約99.95%になる。これは、Paulussenの論文(Pharmacogenetics、10:415-424(2000))に説明されたハプロタイプについて決定された陽性予測力約65%とは著しい対照をなしている。更に本発明のポリヌクレオチドを基におよび下記実施例に説明されたように、Paulussenの論文(Pharmacogenetics、10:415-424(2000))に説明されたSNPは、該文献において報告されたものとは対照的に、CYP3A5偽遺伝子座位に対し5'側の配列中のCYP3A5遺伝子の転写開始部位のおよそ20kb上流に位置することがわかっている。

10

【0026】

従って本発明のポリヌクレオチドを基に特徴付けられたこれらのハプロタイプは、CYP3A5発現の信頼できるマーカーから予想された基準を満たしている。当業者には明らかであるように、本発明から推定された遺伝的知識を使用し、ここでは患者の遺伝子型の正確かつ信頼できる特徴付けがなされる。有利なことに、癌、心臓血管系疾患、糖尿病およびAIDSを含む疾患などの、CYP3A5の機能不全または調節不能に関連した疾患または疾患有病を予測することができ、従って予防的または治療的措置を適用することができる。更に前述に従い、所定の薬物が通常でない作用をもたらす場合、適切な個体の療法を、本発明のポリヌクレオチドに関する被験者個体の遺伝的構成の知識を基に設計することができ、かつ改善された療法を、以下に更に考察されるように開発することができる。

20

【0027】

最後に、本発明により言及されたポリヌクレオチドおよびポリペプチドは、法医学的マーカーとしても有用であり、これは、例えば暴力犯罪またはいずれか他の暴力により殺害または死傷され、かつ周知の通常の法医学的方法では識別することができない対象の識別を改善する。対象のゲノム内の本発明のポリヌクレオチドにより構成された多型の検出を基にした法医学的方法の適用は、顔面の特徴のような他の身体特徴による識別が不可能であるような深刻な状況で(死)体の外観が損なわれている場合に特に良く適している。これは、例えば、通常完全に外観が損なわれる水中で死骸が発見されたような場合である。本発明のポリヌクレオチドの供給を基にした有利な方法は、実行のためには組織または細胞の最小量のみを必要としている。この組織または細胞は、血痕、毛根、上皮鱗屑、唾液滴、精液などであることができる。このような最小量の組織または細胞が対象の識別に必要とされるので、本発明のポリヌクレオチドにより構成された多型は、暴力または強姦のような犯罪の有罪者を立証するための法医学的マーカーとして使用することもできる。更に、本発明のポリヌクレオチドで構成されたポリヌクレオチドを使用し、父子鑑定を証明することができる。本明細書において言及した法医学的方法に従い、本発明のポリヌクレオチドの存在または非存在が決定され、かつ識別されるべき対象から明らかに得られた参照試料と比較される。本発明のポリヌクレオチドにより構成された多型を、対象試料中の本発明のポリヌクレオチドの存在または非存在の検出を必要とする法医学的方法は、例えば、組織または細胞の最小量のみが法医学的試料として入手可能であるような場合に特に良く適したPCRを用いた技術であることができる。他方で、十分な組織または細胞が入手可能な場合、本発明のポリヌクレオチドの存在または非存在を検出するために、ハイブリダイゼーションを用いた技術を行うことができる。これらの技術は、当業者に周知であり、かつ更に骨折ることなく本明細書において言及された個別の目的に適合することができる。結論として、前述の局面が使用可能であることに関しては、改善されかつ信頼できる予測を可能にする本発明の法医学的手段のおかげである。

30

40

【0028】

前述のことを踏まえて、好ましくは本発明のポリヌクレオチドは、癌、または心臓血管系疾患、糖尿病およびAIDSを含む疾患に関連している。

【0029】

50

本明細書において使用される「癌」という用語は、当該技術分野においてよく知られておりかつ特徴付けられている。いくつかの癌の変種が存在し、本発明に準じた意味として該用語が構成されている。癌の指標となる症状の詳細なリストは、例えばPschyrembelのような教科書的知識を参照のこと。

【0030】

更なる態様において、本発明は、DNAまたはRNAであるポリヌクレオチドに関連している。

【0031】

本発明のポリヌクレオチドは、例えば、DNA、cDNA、ゲノムDNA、RNA、または合成により作製されたDNAもしくはRNA、またはこれらのポリヌクレオチドのいずれかを単独または組合せのいずれかで含む組換えにより作製されたキメラ核酸分子であることができる。好ましくは、該ポリヌクレオチドは、本発明のポリヌクレオチドを含むように従来型の遺伝子操作において使用された、ベクターの、特にプラスミド、コスミド、ウイルスおよびバクテリオファージの一部である。このようなベクターは、更に適当な宿主細胞における適当な条件下での該ベクターの選択を可能にするマーカー遺伝子のような遺伝子を含むことができる。

【0032】

本発明は更に、本発明のポリヌクレオチドを含む遺伝子に関する。遺伝子は、アミノ酸配列をコードしている構造エレメントに加え、該遺伝子の発現の調節に関与した調節エレメントを含むことは、当該技術分野において周知である。構造エレメントは、アミノ酸配列をコードしているか、もしくはアミノ酸配列をコードしていないが、それにもかかわらずRNAの安定性またはRNAの核外輸送を調節することによりRNA機能に関与しているようなRNAをコードしているエキソンにより表わされる。

【0033】

遺伝子の調節エレメントは、プロモーターエレメントまたはエンハンサーエレメントを含むことができ、これらは両者とも遺伝子発現の転写制御に関連している。プロモーターは、遺伝子の構造エレメントの上流に見いだされることは当該技術分野において十分周知である。しかしエンハンサーエレメントのような調節エレメントは、遺伝子の全遺伝子座に分布して見いだされる。このエレメントは、例えばイントロン中、遺伝子のエキソンを分離しているゲノムDNA領域に存在することができる。このイントロンは、更に適切な遺伝子発現に必要とされる調節エレメントを含むことができる。イントロンは、通常遺伝子のエキソンと共に転写され、エキソン配列およびイントロン配列の両方を含む新生RNA転写産物を生じる。このイントロンをコードしたRNA配列は、通常、RNAスプライシングとして既知のプロセッシングにより除去される。しかし、該プロセスは、RNA転写産物上に存在する調節配列も必要とし、該調節配列はイントロンによりコードされ得る。

【0034】

加えて、転写制御および適切なRNAプロセッシングおよび/または安定性の制御におけるそれらの機能に加え、遺伝子の調節エレメントは、遺伝子座位の遺伝的安定性の制御にも関与している。該エレメントは、例えば組換え事象を制御するか、もしくは染色体におけるDNAのある構造またはDNAの配置を維持するために使用する。

【0035】

従って多型は、前述のアミノ酸配列をコードしている遺伝子のエキソンに加え、先に考察したプロセスに関与した調節領域において生じることができる。例えばイントロンを含むその全体内の遺伝子座位のヌクレオチド配列の分析は、先の望ましさを踏まえている。本発明のポリヌクレオチドにより構成された多型を基に、下記実施例において説明されたほとんどの白人種の肝臓におけるCYP3A5タンパク質の発現増大の機序は、増大された転写および遺伝子転写産物の安定化に関与する可能性があることはわかっている。

【0036】

従って、本発明の遺伝子のより好ましい態様において、ヌクレオチドの欠失、付加および/または置換は、変異型遺伝子の、対応する野生型遺伝子と比べ変更された発現を生じる。

10

20

30

40

50

【0037】

別の態様において、本発明は、本発明のポリヌクレオチドまたは本発明の遺伝子を含むベクターに関する。

【0038】

このベクターは、例えば、ファージ、プラスミド、ウイルスまたはレトロウイルスベクターであることができる。レトロウイルスベクターは、複製コンピテントまたは複製欠損であることができる。後者の場合、ウイルス増殖は、一般に相補的である宿主/細胞においてのみ生じると考えられる。

【0039】

本発明のポリヌクレオチドまたは遺伝子は、宿主において増殖するための選択マーカを含むベクターに結合することができる。一般に、プラスミドベクターは、リン酸カルシウム沈殿などの沈殿物中に、または帯電した脂質または炭素ベースのクラスターとの複合体中に導入される。ベクターがウイルスであるならば、宿主細胞へ適用する前に、適当なパッケージング細胞株を用い、インビトロにおいてパッケージングすることができる。

【0040】

より好ましい本発明のベクターの態様において、ポリヌクレオチドは、発現制御配列に機能可能に連結され、原核細胞もしくは真核細胞またはそれらの単離された画分における発現を可能にする。

【0041】

該ポリヌクレオチドの発現は、好ましくは翻訳可能なmRNAへの、ポリヌクレオチドの転写を含む。真核細胞、好ましくは哺乳類細胞における発現を確実にする調節エレメントは、当業者に周知である。これらは通常、転写開始を確実にする調節配列、並びに選択的に転写終結および転写産物の安定化を確実にするポリ-Aシグナルを含む。追加の調節エレメントは、転写に加え翻訳のエンハンサーを含むことができる。原核宿主細胞における発現を許容する可能性のある調節エレメントは、例えば、大腸菌におけるlac、trpまたはtacプロモーターを含み、真核宿主細胞における発現を許容する調節エレメントの例は、酵母におけるAOX1またはGAL1プロモーター、または哺乳類および他の動物細胞におけるCMVプロモーター、SV40プロモーター、RSVプロモーター(ラウス肉腫ウイルス)、CMVエンハンサー、SV40エンハンサーまたはグロビンイントロンである。このような調節エレメントは、転写開始に寄与するエレメントの他にも、該ポリヌクレオチドの下流に、転写終結シグナル、例えばSV40-ポリ-A部位またはtk-ポリ-A部位なども含むことができる。この状況において、Okayama-Berg cDNA発現ベクター pcDV1(Pharmacia)、pCDM8、pRc/CMV、pcDNA1、pcDNA3(Invitrogene)、pSPORT1(GIBCO BRL)のような適当な発現ベクターが当該技術分野において公知である。好ましくは、該ベクターは、発現ベクターおよび/または遺伝子導入もしくは標的化ベクターである。レトロウイルス、ワクシニアウイルス、アデノ随伴ウイルス、ヘルペスウイルス、またはウシパピロウイルスなどのウイルス由来の発現ベクターは、本発明のポリヌクレオチドまたはベクターの標的化された細胞集団への送達に使用することができる。当業者に周知の方法を用い、組換えウイルスベクターを構築することができる；例えば、Sambrookの「Molecular Cloning A Laboratory Manual」Cold Spring Harbor Laboratory(1989)ニューヨークおよびAusubelの「Current Protocols in Molecular Biology」Green Publishing Associates and Wiley Interscience、ニューヨーク(1994)に説明された技術を参照のこと。または、本発明のポリヌクレオチドおよびベクターは、標的細胞へ送達するためにリポソームへ再構成することができる。

【0042】

「それらの単離された画分」という用語は、本発明のベクターからRNAを転写するまたは転写および翻訳することが可能な、真核細胞もしくは原核細胞または該細胞を含む組織の画分を意味する。該画分は、RNAの転写またはRNAの転写およびそのRNAのポリペプチドへの翻訳に必要とされるタンパク質を含む。該単離された画分は、例えば赤血球のような真核細胞の核および細胞質画分であることができる。

【0043】

本発明は更に、本発明のポリヌクレオチド、本発明の遺伝子または本発明のベクターにより遺伝子操作された宿主細胞に関する。

【0044】

この宿主細胞は、原核または真核細胞であることができる；前記参照。宿主細胞中に存在する本発明のポリヌクレオチドまたはベクターは、宿主細胞のゲノムに組込まれるか、もしくはこれは染色体外で維持され得る。この局面において、本発明の組換えDNA分子は、「遺伝子標的化」および/もしくは「遺伝子置換」のために、突然変異体遺伝子の回復のために、または相同組換えによる突然変異体遺伝子の作出のために使用することができることも理解されると考えられる；例えば、Mouellic、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、87:4712-4716(1990)；Joyner、Gene Targeting, A Practical Approach、Oxford University Press参照のこと。

【0045】

宿主細胞は、原核細胞または真核細胞のいずれか、例えば細菌、昆虫、真菌、植物、動物またはヒト細胞であることができる。好ましい真菌細胞は、例えば、サッカロミセス属 (*Saccharomyces*) のものであり、特に *S. セレビシア* 工種のものである。「原核」という用語は、本発明の変異型ポリペプチドの発現のためのポリヌクレオチドにより形質転換またはトランスフェクションされ得る全ての細菌を含むことを意味する。原核生物宿主は、例えば、大腸菌、ネズミチフス菌 (*S. typhimurium*)、セラチア・マルセスセンス (*Serratia marcescens*) および枯草菌 (*Bacillus subtilis*) のように、グラム陰性菌に加えグラム陽性菌を含む。本発明の変異型ポリペプチドの突然変異体型をコードしているポリヌクレオチドを、当業者に一般に公知の技術のいずれかを用い、宿主を形質転換またはトランスフェクションするために使用することができる。

【0046】

融合された機能的に連結された遺伝子の調製および細菌または動物細胞におけるそれらの発現の方法は、当該技術分野において周知である (Sambrook、前記)。そこに説明された遺伝子構築体および方法を、例えば原核生物宿主における、本発明の変異型ポリペプチドの発現に使用することができる。一般に、挿入されたポリヌクレオチドの効率的転写を促進するプロモーター配列を含む発現ベクターは、その宿主と一緒に使用される。この発現ベクターは典型的には、複製起点、プロモーター、およびターミネーター、更には形質転換された細胞の表現型選択を提供することが可能である特異的遺伝子を含む。形質転換された原核生物宿主は、最適細胞増殖を達成するために発酵槽において増殖され、かつ当該技術分野において公知の技術に従い培養することができる。本発明のタンパク質は、その後、増殖培地、細胞溶解液、または細胞膜画分から単離することができる。微生物的にまたは別のやり方で発現された本発明のポリペプチドの単離および精製は、例えば、分取的クロマトグラフィー分離およびモノクローナル抗体またはポリクローナル抗体の使用に関連したもののような免疫学的分離などの、いずれか通常的手段によることができる。

【0047】

従って更なる態様において、本発明は、前述の宿主細胞を培養すること；および、培養物から該タンパク質または断片を回収することを含む、分子変異型ポリペプチドまたはそれらの断片を作出する方法に関連している。

【0048】

別の態様において、本発明は、本発明のポリヌクレオチド、本発明の遺伝子または本発明のベクターで細胞を遺伝子操作することを含む、分子変異型ポリペプチドを発現することが可能な細胞を作出する方法に関連している。

【0049】

本発明の方法により入手可能な細胞は、例えば、D. L. Spector、R. D. Goldman、L. A. Leinwandの著書(「Cells, a Lab manual」CSH Press、1998)に記された方法に従い薬物を試験するために使用することができる。更にこれらの細胞を使用し、既知の薬物およびそれらの未知の誘導体を、それらのCYP3A5遺伝子における突然変異により引き起された欠損を補完する能力について試験することができる。これらの態様について、宿主細胞は、好

10

20

30

40

50

ましくは野生型アリル、好ましくはCYP3A5遺伝子の両アリルを欠き、および/またはそれらから突然変異されたものを少なくとも1種有する。理想的には、本発明のポリヌクレオチドにより構成されたアリルを含む遺伝子は、相同置換により、野生型遺伝子座に導入される。または、突然変異されたアリルの正常アリルに勝る強力な過剰発現および同様のレベルで正常アリルを過剰発現している組換え細胞株との比較は、スクリーニングおよび分析システムとして使用することができる。前述の方法により入手可能な細胞は、以下に言及したスクリーニング法に使用することもできる。

【0050】

更に、本発明は、本発明のポリヌクレオチド、本発明の遺伝子によりコードされた、もしくは前述の方法によるかまたは前述の方法により作製された細胞から入手可能な、ポリペプチドまたはそれらの断片に関する。

10

【0051】

この状況において、本発明の変異型ポリペプチドは更に当該技術分野において公知の常法により修飾することができることも理解される。本発明に従い該変異型タンパク質を提供することにより、それらの生物学的活性またはそれらの阻害に関連した部分を決定することも可能である。本明細書において使用される「ポリペプチド」および「タンパク質」という用語は交換可能である。更に、これらの用語により含まれるものは、標準的教科書的知識である。

【0052】

本発明は更に、本発明のポリペプチドに特異的に結合する抗体に関する。

20

【0053】

有利なことに、抗体は、先に定義したように1個または複数のアミノ酸置換を含むエピトープを特異的に認識または結合する。本発明の変異型ポリペプチドに対する抗体は、本発明に従い精製されたタンパク質またはそれらに由来した(合成的)断片を抗原として用い、周知の方法により調製することができる。モノクローナル抗体は、例えば、KohlerおよびMilstein、Nature、256:495(1975)、並びにGalfré、Meth. Enzymol.、73:3(1981)に最初に説明された技術により調製することができ、これは、マウス骨髄腫細胞の免疫感作した哺乳類から得た脾細胞への融合を含んでいる。本発明の好ましい態様において、該抗体は、該ペプチドまたはポリペプチドへ特異的に結合する、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、一本鎖抗体、ヒトまたはヒト化された抗体、霊長類化された、キメラ化されたまたはそれらの断片であり、更に、二重特異性抗体、合成抗体、抗体断片、例えばFab、FvもしくはscFv断片など、またはこれらのいずれかの化学修飾された誘導体を含む。更に、前述のポリペプチドの抗体またはそれらの断片は、例えば、HarlowおよびLaneの「Antibody, A Laboratory Manual」CSH Press、コールドスプリングハーバー、1988に説明された方法を用いて得ることができる。これらの抗体は、例えば、本発明の変異型ポリペプチドの免疫沈降および免疫局在化に加え、例えば、組換え生物内における該変異型ポリペプチドの存在のモニタリング、並びに本発明に係るタンパク質と相互作用する化合物の同定に使用することができる。例えば、ピアコア(BIAcore)システムにおいて使用されるような表面プラスモン共鳴を用い、本発明のタンパク質のエピトープに結合するファージ抗体の効率を増大することができる(Schier、Human Antibodies Hybridomas、7:97-105(1996); Malmberg、J. Immunol. Methods、183:7-13(1995))。

30

40

【0054】

好ましい態様において、本発明の抗体は、先に定義したようなヌクレオチド交換から得られた1個または複数のアミノ酸置換を含むエピトープを特異的に認識する。

【0055】

ホスホチロシン残基のような修飾されたアミノ酸を特異的に認識する抗体は、当該技術分野において周知である。同様に、本発明において、エピトープ内の単独のアミノ酸交換であっても特異的に認識する抗体を、前述の周知の方法により作製することができる。

【0056】

前述のことを考慮し、より好ましい態様において、本発明の抗体は、モノクローナルまた

50

はポリクローナルである。

【0057】

本発明は、前述のような、少なくとも1種の本発明のポリヌクレオチド、本発明の遺伝子または本発明のベクターを含むトランスジェニック非ヒト動物にも関する。

【0058】

本発明は同じく、本発明のポリヌクレオチドまたはベクターの、生殖細胞、胚細胞、幹細胞または卵またはそれらに由来した細胞への導入を含むトランスジェニック非ヒト動物を作出する方法も包含している。非ヒト動物は、以下に説明した本発明の方法に従い使用することができ、かつ非トランスジェニックの健常動物であるか、もしくは疾患または障害を、好ましくは本発明の遺伝子の少なくとも1個の突然変異により引き起された疾患を有することができる。このようなトランスジェニック動物は、これらのポリペプチドまたは少なくともそれらの機能ドメインは高等真核生物、特に哺乳類の種間で保存されているので、例えば、前述の変異型ポリペプチドの変異型形と関連させた薬物の薬理的試験に良く適している。トランスジェニック胚の作製およびそれらのスクリーニングは、例えば、A. L. Joyner編集の「Gene Targeting, A Practical Approach」(1993)、Oxford University Pressに説明されているように行うことができる。胚のDNAは、例えば適当なプローブによるまたはPCR技術を基にしたサザンブロットを用いて分析することができる。

10

【0059】

本発明のトランスジェニック非ヒト動物は、本発明のポリヌクレオチドもしくはベクターを含むかまたは前述の方法により得られた、トランスジェニックマウス、ラット、ハムスター、イヌ、サル、ウサギ、ブタ、カエル、線虫(*Caenorhabditis elegans*)などの線形動物、キイロショウジョウバエ(*Drosophila melanogaster*)のようなショウジョウバエ、またはシビレイまたはゼブラフィッシュのような魚類であることができ、好ましくはここで該ポリヌクレオチドまたはベクターは、該非ヒト動物のゲノムに安定して組込まれ、その結果、該ポリヌクレオチドまたはベクターの存在が、本発明の変異型ポリペプチドの発現につながることを好ましい。これは、同じまたは異なる本発明のポリヌクレオチドまたは遺伝子の1種または数種のコピーを含むことができる。この動物は、癌、または心臓血管系疾患、糖尿病およびAIDSを含む疾患、または本発明の研究のポリヌクレオチドまたはポリペプチドの機能不全もしくは調節不能により引き起される任意の他の疾患に関する研究モデルを含む、多くの実用性を有し、その結果、癌疾患、または心臓血管系疾患、糖尿病およびAIDSを含む疾患、または本発明の研究のポリヌクレオチドまたはポリペプチドの機能不全もしくは調節不能により引き起される任意の他の疾患に関する療法、治療などの開発において新規で価値のある動物を提供する。従って、この場合、マウスまたはラットのような哺乳類が、好ましい実験動物である。

20

30

【0060】

従って、好ましい態様において、本発明のトランスジェニック非ヒト動物は、マウス、ラットまたはゼブラフィッシュである。

【0061】

多くの報告により、該動物が、薬物代謝およびその欠損または癌の研究のためのモデル生物として特に良く適していることを明らかにされた。有利なことに、トランスジェニック動物は、当該技術分野において周知の様々な適当な技術の利用可能性のために、該モデル生物を使用し容易に作出することができる。

40

【0062】

本発明は更に、1個または複数の本発明のポリヌクレオチド、遺伝子、ベクター、ポリペプチド、抗体または宿主細胞を固定化された形で含む固形支持体にも関する。

【0063】

本明細書において使用される「固形支持体」という用語は、該固定化された標的を担持するのに適した柔軟性のあるまたは柔軟性のない支持体を指す。該固形支持体は、均質または非均質であることができる。例えば、該固形支持体は、柔軟性および固定化に関して同じまたは異なる特性を有する異なる物質からなることができるか、もしくは例えば該固形

50

支持体は、同じく柔軟性および固定化特性を含む複数の特性を示すひとつの物質からなることができる。該固形支持体は、ガラスチップ、ポリプロピレンチップまたはシリコンチップ、膜、オリゴヌクレオチドが複合したビーズまたはビーズアレイを含むことができる。

【0064】

「固定化された」という用語は、関心対象の分子種が、固形支持体に、好ましくはそれへの共有結合により、固定されていることを意味する。この共有結合は、分子種の分子の性質に応じて決まる様々な手段により達成することができる。更に、この分子種は、静電気力、疎水性もしくは親水性相互作用、またはファンデルワールス力により、固形支持体上に固定することもできる。前述の物理化学的相互作用は、典型的には分子間の相互作用において生じる。例えば、ピオチン化されたポリペプチドは、アビジンで被覆された固形支持体上に、前述の種類の相互作用により固定され得る。更に抗体のようなポリペプチドは、抗体被覆された固形支持体上に固定することができる。更に固定化は、固形支持体の化学特性によって左右される。例えば核酸分子は、UV架橋または加熱のような標準技術により膜上に固定化することができる。

10

【0065】

本発明の好ましい態様において、該固形支持体は、膜、ガラスチップまたはポリプロピレンチップまたはシリコンチップであり、オリゴヌクレオチドが複合したビーズまたは光学フィルター基板上に集成されているビーズアレイである。

【0066】

更に本発明は、多型を同定するためのインビトロ法に関し、該方法は：

(a)複数の個体亜群から、本発明のポリヌクレオチドまたは遺伝子を単離する工程であり、ここでひとつの亜群は、CYP3A5関連疾患を有病せず、かつ少なくともひとつまたは複数の更なる亜群は、CYP3A5関連疾患を有病する、工程；および

20

(b)CYP3A5関連疾患を有病しない該ひとつの亜群の該ポリヌクレオチドまたは該遺伝子の核酸配列を、CYP3A5関連疾患を有病する少なくともひとつまたは複数の更なる亜群と比較することによる、多型を同定する工程を含む。

【0067】

本明細書において使用される「有病」という用語は、個体が、CYP3A5機能不全または調節不能に関連している1種または複数の疾患に罹患しやすいか、もしくは既に1種または複数の該疾患に罹患していることを意味する。これにより、ひとつのCYP3A5関連疾患は、別のCYP3A5関連疾患についての易罹患性を決定するために使用することができ、例えば、損なわれた薬物代謝は、例えば癌などの有病の指標となり得る。更に該疾患を発症することに関する有病の指標である症状は、当該技術分野において非常に良く知られており、かつPschyrembelのような標準の教科書において十分に説明されている。

30

【0068】

有利なことに、CYP3A5の機能不全もしくは調節不能に関連した本発明の多型またはそれを基にした1種または複数の疾患は、該疾患非有病の亜群に対して、該疾患有病の個体亜群において強化(enrich)されるはずである。従って前述の方法は、1種または複数のCYP3A5関連疾患またはそれらの易罹患性の指標である多型の迅速かつ信頼できる検出を可能にする。有利なことに、表現型の予備選択のために、非常に多数の非有病の個体を、全般的に多型についてスクリーニングすることができる。これにより、1種または複数のCYP3A5関連疾患に相関していない多型を含む参照配列を得ることができる。該参照配列を基に、関連する多型を効果的かつ信頼できるように決定することが可能である。

40

【0069】

更なる態様において、本発明は、下記工程を含む、CYP3A5ポリペプチドの分子変異型の活性を変調することが可能なプロドラッグまたは薬物を同定しかつ入手する方法に関する：

(a)本発明のポリペプチド、固形支持体、または本発明のポリヌクレオチドを含む分子変異型遺伝子を発現している細胞、本発明の遺伝子もしくはベクターを、プロドラッグまたは薬物活性に関してスクリーニングされる化合物と、薬物活性に反応して検出可能なシグ

50

ナルを提供することが可能な成分の存在下で、接触させる工程；および

(b)プロドラッグまたは薬物の活性から生じたシグナルの存在もしくは非存在、またはシグナルの増加もしくは減少を検出する工程を含み、ここでシグナルの非存在、存在、増加または減少は、プロドラッグまたは薬物の推定の指標である工程。

【0070】

本発明の方法において「化合物」という用語は、単独の物質または同一であるかもしくは同一でない複数の物質を含む。

【0071】

1つまたは複数の該化合物は、化学的に合成されるかまたは微生物発酵により産生することができるが、これは、例えば、植物、動物または微生物などからの細胞抽出物のような試料中に含まれることもできる。更に該化合物は、当該技術分野において公知であるが、これまでのところ各々阻害剤として有用であることはわかっていなくともよい。複数の化合物は、培地に添加、または本発明の細胞もしくは非ヒト動物へ注射することができる。

10

【0072】

本発明の方法において1つまたは複数の化合物を含有する試料が同定される場合は、結果として、問題の化合物を含有することが同定された当初の試料から化合物を単離すること、または更に例えば当初の試料が複数の異なる化合物からなる場合は、それを再分割し、その結果1試料当りの異なる物質の数を低下し、かつ当初の試料の再分割でこの方法を反復することのいずれかが可能である。その後、該試料または化合物が望ましい特性を示すかどうかを、例えば本明細書または文献(Spectorら、「Cells manual」；前記)に説明された方法により、決定することができる。これらの試料の複雑性に依りて、前述の工程は数回、好ましくは本発明の方法により同定された試料が限定数のまたはただひとつの物質のみを含むようになるまで行うことができる。好ましくは、該試料は、化学的および/または物理的特性が類似した物質を含み、かつ最も好ましくは該物質は、同一である。本発明の方法は、当業者は、例えば先行技術において説明されたその他の細胞ベースのアッセイ法に従うか、または本明細書に記された方法を用いかつ変更することにより、容易に実行しかつ設計することができる。更に当業者は、例えば必要に応じてある種の化合物を前駆体に転換する酵素のような、本発明の方法を行うためには更にどの化合物を使用することができるかを容易にわかると思われる。本発明の方法のこのような適合は、十分当業者の技術内であり、かつ過剰な実験を伴わずに行うことができる。

20

30

【0073】

本発明に従い使用することができる化合物は、ペプチド、タンパク質、核酸、抗体、小有機化合物、リガンド、ペプチド模倣体、PNAなどを含む。該化合物は、本発明の作用物質または拮抗物質として作用してもよい。該化合物は更に、既知の薬物の機能的誘導体または類似体であることもできる。化学誘導体および類似体の調製法は、当業者に周知であり、例えば、Beilstein、「Handbook of Organic Chemistry」Springer編集、New York(175、Fifth Avenue, New York, N.Y. 10010 U.S.A.)および「Organic Synthesis」、Wiley(New York, USA)に説明されている。更に該誘導体および類似体は、当該技術分野において公知の方法または説明された方法に従いそれらの作用を試験することができる。更に、ペプチド模倣体および/または適当な薬物誘導体および類似体のコンピュータを使った設計を、例えば以下に説明した方法に従い、使用することができる。このような類似体は、公知のCYP3A5基質および/または阻害剤および/または修飾因子の基本的構造を有する可能性のある分子を含む；下記参照。

40

【0074】

適当なコンピュータプログラムを、相補的構造モチーフのコンピュータを使用した検索により、推定の阻害剤と本発明のポリペプチドの相互作用部位の同定に使用することができる(Fassina、Immunomethods、5:114-120(1994))。タンパク質およびペプチドのコンピュータを使用した設計のための更なる適当なコンピュータシステムは、例えば、Berry、Biochem. Soc. Trans.、22:1033-1036(1994)；Wodak、Ann. N. Y. Acad. Sci.、501:1-13(1987)；Pabo、Biochemistry、25:5987-5991(1986)などの、先行技術において説明されてい

50

る。前述のコンピュータ解析から得られた結果は、例えば公知の阻害剤、類似体、拮抗物質または作用物質の最適化に関する本発明の方法と組合わせて使用することができる。適当なペプチド模倣体および他の阻害剤も、連続的的化学修飾による、ペプチド模倣体コンビナトリアルライブラリーの合成および得られた化合物の例えば本発明に記された方法による試験により同定することができる。ペプチド模倣体コンビナトリアルライブラリーの製造法および使用法は、例えば、Ostreshの論文(Methods in Enzymology、267:220-234(1996))およびDornerの論文(Bioorg. Med. Chem.、4:709-715(1996))などの先行技術に説明されている。更に、該化合物および本発明のポリペプチドの三次元構造および/または結晶構造は、ペプチド模倣薬物の設計に使用することができる(Rose、Biochemistry、35:12933-12944(1996); Rutenber、Bioorg. Med. Chem.、4:1545-1558(1996))。該化合物を、例
10

【0075】

先の定義は、必要な変更を加えて、下記に説明された全ての方法に適用される。

【0076】

更なる態様において、本発明は、CYP3A5ポリペプチドの分子変異型の活性の阻害剤を同定しかつ入手する方法に関し、これは下記工程を含む：

(a)本発明のタンパク質、固形支持体、もしくはポリヌクレオチドを含む分子変異型遺伝子を発現している細胞または本発明の遺伝子もしくはベクターを、阻害活性に関してスクリーニングされる化合物と、薬物活性に反応して検出可能なシグナルを提供することが可能な成分の存在下で、接触させる工程；および
20

(b)阻害活性から生じたシグナルの存在もしくは非存在、またはシグナルの増加もしくは減少を検出する工程を含み、ここでシグナルの非存在または減少は、阻害活性の推定の指標である工程。

【0077】

本発明の方法の好ましい態様において、該細胞は、本発明の方法により得られた細胞であるか、または前述のようなトランスジェニック非ヒト動物から得ることができる。

【0078】

より更なる態様において、本発明は、CYP3A5ポリペプチドの分子変異型の活性を変調することが可能なプロドラッグまたは薬物を同定しかつ入手する方法に関し、これは下記の工程を含む：

(a)宿主細胞、本発明の方法により得られた細胞、本発明のポリペプチドまたは固形支持体を、CYP3A5ポリペプチドにより結合されることがわかっている第一の分子と接触させ、該ポリペプチドと該第一の分子の第一の複合体を形成する工程；

(b)該第一の複合体をスクリーニングされる化合物と接触させる工程；並びに

(c)該化合物が、該第一の複合体の該第一の分子と置き換わるかどうかを測定する工程。

【0079】

有利なことに、この方法において、該測定工程は、該タンパク質と該阻害剤候補の第二の複合体の形成を測定する工程を含む。好ましくは、該測定工程は、該タンパク質に結合していない該第一の分子の量の測定を含む。
40

【0080】

特に好ましい前述の方法の態様において、該第一の分子は、例えば放射性標識または蛍光標識を伴う、本発明のポリペプチドの作用物質または拮抗物質または基質および/または阻害剤および/または修飾因子である。

【0081】

更に別の態様において、本発明は、CYP3A5ポリペプチドの分子変異型の活性を変調することが可能な阻害剤を同定しかつ入手する方法に関し、これは下記の工程を含む：

(a)宿主細胞または本発明の方法により得られた細胞、本発明のタンパク質または固形支
50

持体を、CYP3A5ポリペプチドにより結合されることがわかっている第一の分子と接触させ、該タンパク質と該第一の分子の第一の複合体を形成する工程；

(b)該第一の複合体をスクリーニングされる化合物と接触させる工程；並びに

(c)該化合物が、該第一の複合体の該第一の分子と置き換わるかどうかを測定する工程。

【0082】

本発明の方法の好ましい態様において、該測定工程は、該タンパク質および該化合物の第二の複合体の形成を測定することを含む。

【0083】

別の好ましい本発明の方法の態様において、該測定工程は、該タンパク質に結合していない該第一の分子の量を測定することを含む。

10

【0084】

更に好ましい本発明の方法の態様において、該第一の分子は、標識されている。

【0085】

本発明は更に、前述の方法の工程；並びに、同定されかつ得られた化合物またはそれらの誘導体を薬学的に許容できる形状内に製剤化する更なる工程を含む、薬学的組成物の製造法に関する。

【0086】

本発明の方法に従い同定された治療に有用な化合物は、前述のような患者に処方しかつ投与することができる。用法および治療量は、当業者は適切に決定することができ、かつ「薬学的組成物」という用語の定義に関しては下記参照のこと。

20

【0087】

更に本発明は、前述の方法の工程；並びに、薬物またはプロドラッグを、本発明の方法で診断された被験者の疾患の治療的適用および予防または緩和に適した形状に製剤化する工程を含む、薬学的組成物の調製法を包含している。

【0088】

薬物またはプロドラッグは、それらのインビボ投与後、排泄により、または1個もしくは複数の活性または不活性代謝産物への代謝により除去されるかのいずれかである(Meyer, J. Pharmacokinetic, Biopharm., 24:449-459(1996))。従って本発明の方法に従い同定されかつ入手された実際の化合物または阻害剤の使用よりもむしろ、患者内でその活性型に転換されるプロドラッグとしての対応する製剤を用いることができる。プロドラッグおよび薬物の適用に関して行われる予防的測定は、文献に説明されている；Ozama, J. Toxicol. Sci., 21:323-329(1996)の総説参照。

30

【0089】

本発明の方法の好ましい態様において、該薬物またはプロドラッグは、下記に定義されるような医薬品の誘導体である。

【0090】

本発明は、被験者からの試料中の本発明のポリヌクレオチドまたは遺伝子の存在を決定することを含む、CYP3A5遺伝子の分子変異型の存在に関連する障害またはこのような障害の易罹患性の診断法にも関する。

【0091】

本発明のこの態様に従い、障害の状態またはこのような障害の易罹患性を試験する方法は、例えば、サザンプロットまたはノーザンプロットまたはインサイチュ分析の形で、本発明のポリヌクレオチド遺伝子または核酸を用いることにより実施することができる。該核酸配列は、この遺伝子のコード領域、または例えばイントロンのような非コード領域のいずれかにハイブリダイズすることができる。相補配列が本発明の方法において使用される場合は、再度該核酸分子を、ノーザンプロットに使用することができる。加えて、該試験は、例えば遺伝子転写の実際のブロックと一緒に行うことができ、従って治療との関連性があると予想される。更に、プライマーまたはオリゴヌクレオチドも、前述のCYP3A5遺伝子または対応するmRNAのひとつへのハイブリダイズに使用することができる。当然、ハイブリダイゼーションに使用される核酸は、例えば放射性または他のマーカーの取込みまた

40

50

は結合により都合良く標識することができる。このようなマーカ-は、当該技術分野において周知である。該核酸分子の標識は、常法により実施することができる。

【0092】

加えて、変異型CYP3A5遺伝子の存在または発現は、対応する核酸配列のいずれかに特異的にハイブリダイズするプライマー対を用い、かつ標準の手法に従いPCR反応を実行することにより、モニタリングすることができる。前述のプロ-ブまたはプライマーの特異的ハイブリダイゼ-ションは、ストリンジェントなハイブリダイゼ-ション条件で生じることが好ましい。「ストリンジェントなハイブリダイゼ-ション条件」という用語は、当該技術分野において周知であり；例えば、Sambrookらの「Molecular Cloning-A Laboratory Manual」第二版、(CSH Press、コ-ールドスプリングハーバー、1989)；「Nucleic Acids Hybridisation, A Practical Approach」HamesおよびHiggins編集、(IRL Press、オックスフォード、1985)を参照のこと。更に被験者から得られたmRNA、cRNA、cDNAまたはゲノムDNAは、配列決定し、本発明のポリヌクレオチドまたは遺伝子における突然変異の特徴的フィンガープリントであり得る突然変異を同定することができる。本発明は更に、このようなフィンガープリントを、被験者から得たDNAまたはRNAのRFLPにより作製する方法を含み、選択的にこのDNAまたはRNAは、分析前に増幅してもよく、この方法は当該技術分野において周知である。RNAフィンガープリントは、例えば、適当なRNA-酵素、例えばRNase T₁、RNase T₂などまたはリボザ-ムによる、被験者から得たRNA試料の消化、並びに前述のようなRNA断片の例えば電気泳動による分離および検出により行うことができる。

10

20

【0093】

更なる前述の本発明の態様の変更は、当業者は、本開示から過剰な実験を伴わず；例えば実施例を参照することで、容易に考案することができる。本発明の追加の態様は、該決定が、本発明の抗体またはそれらの断片の使用により実施される方法に関する。本発明の方法において使用される抗体は、ヒスチジンフラッグまたはビオチン分子などの検出可能なタグにより標識することができる。

【0094】

本発明は、被験者からの試料中の本発明のポリペプチドまたは抗体の存在を決定することを含む、CYP3A5遺伝子の分子変異型の存在に関連した障害またはこのような障害に対する易罹患性を診断する方法に関する。

【0095】

前述の方法の好ましい態様において、該障害は、癌、または心臓血管系疾患、糖尿病およびAIDSを含む疾患である。

30

【0096】

本発明の好ましい態様において、前述の方法は、PCR、リガ-ゼ連鎖反応(LCR)、制限酵素消化、直接的配列決定、核酸増幅技術、ハイブリダイゼ-ション技術またはイムノアッセイ法を含む。これらの技術は当該技術分野において十分に周知である。

【0097】

更に本発明は、試料中の本発明のポリヌクレオチドまたは遺伝子を検出する方法に関し、これは下記の工程を含む：

(a)本発明のポリヌクレオチドもしくは遺伝子と固形支持体上の固定化された標的の相互作用を可能にする条件下で、前述の固形支持体を、試料と接触させる工程；および

(b)該ポリヌクレオチドまたは該遺伝子の、固形支持体上の該固定化された標的への結合を決定する工程。

40

【0098】

本発明は更に、前述の方法の工程を含む疾患を診断するインビトロ法に関し、ここで該ポリヌクレオチドまたは遺伝子の、該固形支持体上の固定化された該標的との結合は、該疾患の存在もしくは非存在または該疾患有病の指標である。

【0099】

本発明は更に、本発明のポリヌクレオチド、遺伝子、ベクター、ポリペプチドまたは抗体を含む、診断用組成物に関する。

50

【0100】

加えて本発明は、本発明のポリヌクレオチド、遺伝子、ベクター、ポリペプチドまたは抗体を含む、薬学的組成物に関する。

【0101】

例えば抗体を含有するこれらの薬学的組成物は、例えば、経口、局所的、非経口または吸入などの、薬物投与に一般的に使用されるいずれかの経路により、簡便に投与することができる。許容できる塩は、酢酸塩、メチルエステル、塩酸塩、硫酸塩、塩化物などを含む。これらの化合物は、一般的な手法に従い薬物を標準の薬学的担体と一緒にすることにより調製された一般的な剤形で投与することができる。これらの手法は、所望の調製に適するような成分の混合、顆粒化および圧縮または溶解を含む。薬学的に許容できる特性または希釈剤の形状および特性は、それと一緒にされる活性成分の量、投与経路または他の周知の変動量により決定付けられることは理解されると思われる。1つまたは複数の担体は、その製剤中の他の成分と相溶性があり、かつそのレシピエントに有害でないという意味で、「許容でき」なければならない。使用される薬学的担体は、例えば、固体または液体のいずれかであることができる。固体担体の例は、乳糖、白土、シヨ糖、タルク、ゼラチン、寒天、ペクチン、アラビアゴム、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸などである。液体担体の例は、リン酸緩衝生理食塩水、シロップ、ピーナツ油およびオリーブ油のような油分、水、乳液、様々な種類の湿潤剤、滅菌液などである。同様に、担体または希釈剤は、当該技術分野において周知の徐放性物質、例えばモノステアリン酸グリセリルまたはジステアリン酸グリセリルなどを単独でまたはワックスと共に含むこともできる。

【0102】

用量用法は、担当医および他の臨床の要因により；好ましくは、先に説明された方法のいずれかひとつに従い、決定されると考えられる。医療分野においては周知であるように、ある患者に関する用量は、多くの要因により決まり、これは患者のサイズ、体表面積、年齢、投与される具体的化合物、性別、投与時間および経路、全身の健康状態、並びに同時に投与される他の薬物を含む。進行は定期的評価により経過観察することができる。

【0103】

更に、本発明のポリヌクレオチドまたは遺伝子の突然変異された変種をコードしているRNAに特異的にハイブリダイズするアンチセンス-オリゴヌクレオチドを含有するか、もしくは突然変異された本発明のポリペプチドを特異的に認識するが機能的野生型は実質的に認識しない抗体を含むような薬学的組成物の使用は、細胞内の突然変異型の濃度が低下されるべき症例において考慮される。

【0104】

本発明のおかげで、具体的な薬物選択、用量用法および治療を受ける対応する患者を、本発明に従い決定することができる。誤薬の誤患者への誤投与量での処方避ける情報と共に、処方者が考慮している患者群によって決まる用量調節を予測することができる推奨用量が、製品表示に記載されている。

【0105】

別の態様において、本発明は、疾患の診断のための診断用組成物を調製するための、ポリヌクレオチド、配列番号:104を含むポリヌクレオチド、配列番号:145を含むポリペプチドをコードしているポリヌクレオチド、本発明の遺伝子、ベクターまたはポリペプチド、配列番号:145を含むポリペプチド、または本発明の抗体の使用に関する。

【0106】

本発明の機能的および発現可能なポリペプチドをコードしている遺伝子は、次に関心対象のタンパク質を産生する細胞へ導入することができる。遺伝子治療は、エキスピボまたはインピボ技術による治療用遺伝子の細胞への導入を基にしているが、これは遺伝子導入の最も重要な用途のひとつである。インピボまたはインピボ遺伝子治療に適したベクターおよび方法は、文献に説明されており、これらは当業者に公知であり；例えば、Giordano、Nature Medicine、2:534-539(1996)；Schaper、Circ. Res.、79:911-919(1996)；Anderson、Science、256:808-813(1992)；Isner、Lancet、348:370-374(1996)；Muhlhauser、C

irc. Res., 77:1077-1086(1995); Wang, Nature Medicine, 2:714-716(1996); 国際公開公報第94/29469号; 国際公開公報第97/00957号、またはSchaper, Current Opinion in Biotechnology, 7:635-640(1996)およびそこに引用された文献を参照のこと。この遺伝子は、細胞への直接導入またはリポソームもしくはウイルスベクター(例えばアデノウイルス、レトロウイルス)による導入のために、設計することができる。好ましくは、該細胞は、生殖系列細胞、胚細胞、もしくは卵細胞、またはそれら由来のものであり、最も好ましくは該細胞は幹細胞である。前述のことから明らかであるように、本発明の用途において、核酸配列が調節エレメントに機能可能に連結され、特異的細胞への本発明のポリペプチドの発現および/または標的化が可能になることが好ましい。本発明に従って使用することができる適当な遺伝子送達系は、リポソーム、受容体媒介型送達系、裸のDNA、並びにヘルペスウイルス、レトロウイルス、アデノウイルスおよびアデノ随伴ウイルスなどのようなウイルスベクターなどを含み得る。遺伝子治療のための核酸の体内の特定部位への送達は、同じくWilliams(Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 88:2726-2729(1991))に説明されたような、遺伝子送達系を用いて達成される。組換えDNAにより細胞をトランスフェクションする標準的方法は、分子生物学の当業者に周知であり、例えば国際公開公報第94/29469号を参照し; 更に前述のものを参照のこと。遺伝子治療は、本発明の組換えDNA分子またはベクターの患者への直接的投与によるか、またはエクスピボにおける本発明のポリヌクレオチドまたはベクターによる細胞のトランスフェクションおよび患者へのトランスフェクションした細胞の注入により行うことができる。

10

20

【0107】

配列番号:104を含むポリヌクレオチドおよび配列番号:145を含むポリペプチドは既に、Jounaidiらの論文に記されている(Jounaidi, Biochem Biophys Res Commun, 221:466-70(1996))。しかし、Jounaidiらは、単に各アミノ酸およびヌクレオチド配列を開示したに過ぎず、特に前記障害および疾患に関する、該ポリヌクレオチドまたはポリペプチドの薬学的および診断的価値については何ら示唆していない。

30

【0108】

更なる態様において、本発明は、疾患を治療するための薬学的組成物の調製に関する、ポリヌクレオチド、配列番号:104を含むポリヌクレオチド、配列番号:145を含むポリペプチドをコードしているポリヌクレオチド、本発明の遺伝子、ベクター、ポリペプチド、配列番号:145を含むポリペプチドまたは本発明の抗体の使用に関係する。

40

【0109】

別の態様において、本発明は:

(a)配列番号:082、088、104、112、126、131または140の核酸配列を有するポリヌクレオチド;

(b)配列番号:127、132、141または145のアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードしているポリヌクレオチド;

(c)CYP3A5遺伝子にハイブリダイズすることが可能なポリヌクレオチドであり、CYP3A5遺伝子(アクセッション番号:AF280107.1、ここで位置166220は+1に番号付けられ、および位置174832は+8613に番号付けられ、並びにアクセッション番号:AC005020.2、ここで位置27341は+8614に番号付けられている)の位置3709/3710または27131/27132に対応する位置に、少なくとも1個の付加ヌクレオチドを、もしくはCYP3A5遺伝子(アクセッション番号:AF280107.1、ここで位置166220は+1に番号付けられ、および位置174832は+8613に番号付けられ、並びにアクセッション番号:AC005020.2、ここで位置27341は+8614に番号付けられる)の位置7303または27289に対応する位置に、ヌクレオチド交換を有する、ポリヌクレオチド;

(d)CYP3A5遺伝子にハイブリダイズすることが可能なポリヌクレオチドであり、CYP3A5遺伝子(アクセッション番号:AF280107.1、ここで位置166220は+1に番号付けられ、および位置174832は+8613に番号付けられ、並びにアクセッション番号:AC005020.2、ここで位置27341は+8614に番号付けられている)の位置3709/3710に対応する位置に、追加のGヌクレオチドを、CYP3A5遺伝子(アクセッション番号:AF280107.1、ここで位置166220は+1に番号付

50

けられ、および位置174832は+8613に番号付けられ、並びにアクセッション番号:AC005020.2、ここで位置27341は+8614に番号付けられている)の位置27131/27132に対応する位置に、追加のTヌクレオチドを、または、CYP3A5遺伝子(アクセッション番号:AF280107.1、ここで位置166220は+1に番号付けられ、および位置174832は+8613に番号付けられ、並びにアクセッション番号:AC005020.2、ここで位置27341は+8614に番号付けられている)の位置7303もしくは27289に対応する位置にAを有する、ポリヌクレオチドからなる群より選択されたポリヌクレオチドの、

CYP3A5遺伝子の変異型アリルを含むゲノムを有する被験者において疾患を診断するための診断用組成物の調製ための使用であり、

ここで該アリルが、CYP3A5遺伝子(アクセッション番号:AF280107.1、ここで位置166220は+1に番号付けられ、および位置174832は+8613に番号付けられ、並びにアクセッション番号:AC005020.2、ここで位置27341は+8614に番号付けられている)の位置6986に対応する位置にAを有するものを包含している。 10

【0110】

本明細書において言及された用語の定義は、前述の使用に必要な変更を加えて適用する。

【0111】

特に「被験者」という用語は、動物を意味する。好ましくは、該動物は、先に言及した動物種に属する。更に「被験者」という用語は、ヒトを包含している。本発明における使用に従いヒトは、全ての存在する人種群および亜群、例えば、白人種、アフリカ系アメリカ人またはアジア人から選択される。しかし本発明の使用に特に良く適しているのは、CYP3A5遺伝子(アクセッション番号:AF280107.1、ここで位置166220は+1に番号付けられおよび位置174832は+8613に番号付けられ、並びにアクセッション番号:AC005020.2、位置27341は+8614に番号付けられている)の位置6986に対応する位置でのCYP3A5アリルのAの存在または非存在のモニタリングを基にした疾患の診断または疾患有病が、かなりの数の被験者におけるCYP3A5発現に関して偽陽性の推定を生じることが明らかにされているアフリカ系アメリカ人である。このCYP3A5アリルは、Kuehlの論文(Nature Genetics、27:383-391(2001))に、CYP3A5^{*}1アリルとして詳細に説明されている。CYP3A5^{*}1アリルは、前記引用のKuehlの論文において言及された、CYP3A5核酸配列の位置22893でのAの存在により特徴付けられる。該アリルの対立遺伝子頻度は、アフリカ系アメリカ人において特に高いが、これは他の人種群または亜群においても存在する。しかし本発明に従い、CYP3A5^{*}1アリルを基にした診断試験において擬陽性の結果が得られた被験者のCYP3A5発現は、本発明の使用に従う(a)から(d)において定義したようなポリヌクレオチドの存在または非存在の更なる診断により正確に予測することができることがわかった。例えば、先に定義したように付加ヌクレオチドをCYP3A5遺伝子の位置27131/27132に対応する位置に有するポリヌクレオチドは、本発明に従い、アフリカ系アメリカ人のおよそ10%に存在し、これはエキソン11にフレームシフト突然変異を生じていることがわかっている。本発明は、CYP3A5^{*}1アリルの1つまたは複数の多型を含むCYP3A5の改善された発現を生じるハプロタイプと、低下した発現を生じるハプロタイプの間を識別する手段および方法を提供し、ここで前述のようなハプロタイプは、CYP3A5^{*}1アリルの1つまたは複数の多型に加え、先に(a)から(d)において言及されたポリヌクレオチドにより構成された同時分離する多型を含む。従って、前述の本発明の使用を基に、被験者のCYP3A5活性の信頼できる診断を行うことができる。 20 30 40

【0112】

本発明は更に、CYP3A5遺伝子の変異型アリルを含むゲノムを有する被験者の疾患の診断のための診断用組成物の調製のための、CYP3A5遺伝子(アクセッション番号:AF280107.1、ここで位置166220は+1に番号付けられ、および位置174832は+8613に番号付けられ、並びにアクセッション番号:AC005020.2、ここで位置27341は+8614に番号付けられている)の位置14690に対応する位置にAを有するポリヌクレオチドを含む、ポリヌクレオチドの使用にも関し、ここで該アリルは、CYP3A5遺伝子(アクセッション番号:AF280107.1、ここで位置166220は+1に番号付けられ、および位置174832は+8613に番号付けられ、並びにアクセッション番号:AC005020.2、ここで位置27341は+8614に番号付けられている)の位置6986に対応 50

する位置にAを有する。

【0113】

本明細書において言及された用語の定義は、前述の使用に必要な変更を加えて適用する。

【0114】

本発明に従い、前記引用のKuehlの論文において説明された、CYP3A5^{*}1およびCYP3A5^{*}6アリルを構成している1つまたは複数の多型は、かなりの数の被験者において同時分離され、かつこれにより低下したCYP3A5発現を生じる他のハプロタイプを構成することも示されている。CYP3A5^{*}6アリルは、CYP3A5のエキソン7の不適切なスプライシング、CYP3A5タンパク質の位置184にフレームシフトおよび未熟終結を生じることも示されている。結果的に、被験者におけるCYP3A5の発現レベルに関する偽陽性の結果が、CYP3A5^{*}1アリルを基にした診断試験において得られうる。しかしこの偽陽性の結果は、CYP3A5^{*}6アリルの1つまたは複数の多型の存在または非存在の更なる診断により、本発明の使用に従い避けることができる。従って、本発明の前述の使用を基に、被験者のCYP3A5活性の信頼できる診断を行うことができる。

【0115】

前述のことを考慮し、好ましい前述の用途の態様において、被験者は、アフリカ系アメリカ人である。

【0116】

先に考察したように、偽陽性と診断される被験者の数は、フレームシフト突然変異を生じる前記(a)から(d)の下で定義されたポリヌクレオチドを含むもの、またはCYP3A5^{*}6アリルにより構成されたものを含むもののような、CYP3A5アリルの高い対立遺伝子頻度に起因している。この対立遺伝子頻度は、アフリカ系アメリカ人の群において特に高い。本発明に従い、CYP3A5^{*}6アリルはアフリカ系アメリカ人の約13.3%に存在することがわかった。従ってこの人種群内で、CYP3A5発現の予測不良から浮かび上がる問題点は、他の人種群よりもより深刻である。

【0117】

本発明の使用のより好ましい態様において、該疾患は、癌、または心臓血管系疾患、糖尿病およびAIDSを含む疾患である。

【0118】

最後に、本発明は、本発明のポリヌクレオチド、遺伝子、ベクター、ポリペプチド、抗体、宿主細胞、トランスジェニック非ヒト動物または固形支持体を含む、多型を検出するための診断キットに関する。

【0119】

本発明のキットは、更に選択マーカーのような成分およびトランスジェニック細胞および動物の作出に適した選択培地用の成分を含んでも良い。本発明のキットは、本発明の方法を実行するために行うことができ、かつとりわけ、例えば診断分野におけるまたは研究道具としてのように、様々な用途において使用される。本発明のキットの部品は、バイアル内に個別包装されるか、もしくは適当な容器または多容器ユニット内に組合わせて包装されることができる。キットの製造は、当業者に公知の標準の手法に従うことが好ましい。このキットは、本発明の前述の方法のいずれに従い、例えばラジオイムノアッセイ法または酵素イムノアッセイ法のようなイムノアッセイ技術、または好ましくは、先におよび「実施例」中で本明細書において説明されたような核酸ハイブリダイゼーションおよび/もしくは増幅技術を使用し、ポリペプチド、遺伝子、またはポリヌクレオチドの突然変異型の発現を検出する方法に加え、本発明の非ヒトトランスジェニック動物を使用する場合の薬物動態学試験に使用することができる。

【0120】

ここで本発明を、下記の生物学的「実施例」を参照し説明するが、これらは単に例証的なものであり、本発明の範囲の限定として構成されるものではない。

【0121】

実施例1：ヒト血液からのゲノムDNAの単離、CYP3A5遺伝子断片の作製および精製

10

20

30

40

50

ゲノムDNAは、キアゲン (Qiagen) 血液および組織DNA単離キットを用い、血液または肝の試料から単離した。スクリーニングに使用したオリゴヌクレオチドは、ヒトCYP3A遺伝子座の最近決定された配列および編成 (organisation) を基に設計した (Gellner、Pharmacogenetics、11:111-121(2001))。プライマー配列およびPCR断片長は、表1Aに示した。増幅された断片を、PCR精製カラム (Qiagen) を用いてプロセッシングし、かつPE ABI 3700 DNA解析器 (PE ABI 3700 DNA Analysers) において、PCRと同じプライマーを用い配列決定した。これらの配列は、PHRED/PHRAP/POLYPHRED/CONSEDソフトウェアパッケージ (University of Washington、シアトル、WA、米国) を用い、多型の存在について分析した。

【0122】

総RNAを、追加のDNase I消化を直接カラム上で行った以外は、RNイーザー (RNeasy) キット (Qiagen) を製造業者の指示に従い使用し、肝試料から単離した。cDNAプールを、ランダムヘキサマープライマーおよびスーパースクリプト (Superscript) 逆転写酵素 (Life Technologies) を用い、総RNAの1 μ gから作製した。1回のTaqManアッセイ法に使用したcDNAは、総RNAの40ngに由来した。CYP3A5 mRNAの発現レベルは、ABI 7700配列検出システム (ABI 7700 Sequence Detection System) (PE Biosystems) を用い、リアルタイム定量的PCRにより定量した。オリゴヌクレオチドおよびプローブは、プライマーエクスプレス (Primer Express) (PE Biosystems) プログラムにより設計した。定量的PCRに使用したオリゴヌクレオチドは、以下のものであった：フォワード5'- TTG TTG GGA AAT GTT TTG TCC TAT C -3' (配列番号:237) およびリバース5'- ACA GGG AGT TGA CCT TCA TAC GTT -3' (配列番号:238)。TaqManプローブ (5'- TCA GGG TCT CTG GAA ATT TGA CAC AGA GTG CTA-3' ; 配列番号:239) は、5'側レポーター色素6-カルボキシ-フルオロセイン (FAM) および3'側消光剤6-カルボキシ-テトラメチルローダミン (TAMRA) で標識した。この実験は、PEバイオシステムズ (PE Biosystems) により開発された標準のプロトコールに従い行った。CYP3A5に対するアッセイ特異性は、インビトロにおいて発現した等量のCYP3A4、CYP3A5、CYP3A7およびCYP3A43 cDNA種を用いて行った。プローブの特異性は、CYP3A5 cDNAの方がCYP3A7 cDNAよりも10⁴倍高かったが、CYP3A4 cDNAおよびCYP3A43 cDNAは、全く検出されなかった。CYP3A5アッセイ法の直線範囲を、10⁻⁶標的分子の間で決定した。CYP3A5発現レベルは、先に開発されたTaqManアッセイ法 (PE Biosystems) により決定された18S mRNA種の発現を用いて正規化した。

【0123】

実施例2：CYP3A5遺伝子座内の遺伝的変種の決定

CYP3A5遺伝子座内の配列の多型を、ゲノムDNA (断片サイズ：264-997bp) からのPCR増幅、並びに白人種起源の19-217試料、アフリカ系アメリカ人起源の36-45試料、中国人起源の34-47試料、日本人起源の41-50試料、および韓国人起源の31-47試料の各PCR産物の配列決定により決定した。これらのPCR断片は、CYP3A5の全タンパク質-コード領域、3'-UTRの一部、5'-UTRの全てに加え、CYP3A5転写開始部位とこの遺伝子上流に位置したL1_5'UTR_0RF反復単位の間6203bp配列を包含している (図3)。加えて本発明者らは、CYP3A5プロモーターとして当初説明され、増大したCYP3A5タンパク質発現と同時分離することが最近報告されたような配列内に局在化したふたつの連鎖した一塩基多型 (SNPs、ch-v-020、ch-v-021、表2A-E) を遺伝子型同定した (Paulussen、Pharmacogenetics、10:415-24(2000))。これらの結果は更に、両変異型の同時分離を示している。最近決定された全CYP3A遺伝子座の配列を用い (Gellner、Pharmacogenetics、11:111-121(2000))、本発明者らは、CYP3A偽遺伝子の5'側に隣接した配列において、CYP3A5の第一のエキソンの上流およそ20kbにこれらの変異型を配置した (図3のPS2)。更に本発明者らは、表1Bに列記したプライマーおよびプローブを用いるTaqMan (登録商標) アッセイ法により、CYP3A5遺伝子のイントロン3に位置した一塩基多型を遺伝子型同定した (ch-v-048 ; Kuehl、Nature Genetics、27:383-391(2001))。この分析は、配列検出システム (PE Biosystems) において行った。

【0124】

Paulussenらにより説明されたふたつの連鎖したSNPを含む全部で29種の変異型 (Paulussen、Pharmacogenetics、10:415-24(2000)) を、白人種試料のスクリーニングにおいて検出し

10

20

30

40

50

、およびそれらのアレル頻度を、0.3% ~ 11.9%の間と推定した(表2A)。6種の変異型は、CYP3A5の転写開始部位の上流6kb配列内に位置する。14種の変異型は、イントロン内、または5'-UTRまたは3'-UTR内に位置するが、4種は、タンパク質-コード配列内に認められた。後者において、3種の変異型は、アミノ酸置換を生じ、かつひとつはCYP3A5タンパク質の未熟終結を生じている(表2A)。g.7303C>A変異型(ch-v-009、表2A)は、エキソン4におけるS100Yアミノ酸交換を生じている。g.3705C>T変異型(ch-v-005)は、エキソン2におけるH30Yアミノ酸交換につながっている。クローニングおよび配列決定は、この変異型のg.3709-3710insG変異型(ch-v-006)への物理的連結を明らかにした。後者の変異型は、オープンリーディングフレームのシフトを生じ、これはタンパク質配列の位置34(K34.)における切断につながる。T398N変異型(ch-v-001、表2A)は、最初にJounaidi(Jounaidi、Biochem Biophys Res Commun、221:466-70(1996))により説明されたが、これは試験した80個体の中の3種において認められた。

【0125】

白人種において認められた4種のタンパク質変更する変異型のいずれもが、アフリカ系アメリカ人、中国人、日本人および韓国人の試料においては見つからなかった(表2A-E)。しかし、とりわけ、本発明者らは、変更されたCYP3A5アミノ酸配列を生じるこれらの試料において、4種の新規変異型を見つけた(ch-v-017、ch-v-043、ch-v-045、ch-v-068、表2B-E)。エキソン11のg.27131-27132insT(ch-v-017)変異型(ch-v-017、表2B、2D)は、45種のアフリカ系アメリカ人試料中の9種および50種の日本人試料中の1種において発見された。この変異型は、オープンリーディングフレームのシフトを生じ、これはタンパク質配列の位置348(D348.)における切断につながる。変異型ch-v-043、ch-v-045およびch-v-068は、アミノ酸交換につながる。

【0126】

実施例3：CYP3A5タンパク質発現の遺伝的決定因子の同定

下記において、白人種のCYP3A5遺伝子変異型の頻度を、CYP3A5タンパク質発現の関数として分析した。この目的のために、表2Aに示した変異型のアレル頻度を、HE肝およびLE肝について個別に計算した(図3)。9種の変異型(ch-v-020、ch-v-021、ch-v-026、ch-v-034、ch-v-007、ch-v-008、ch-v-011、ch-v-014およびch-v-015)の頻度は、HE肝において有意に増大した(全て $\chi^2 > 13.3$ 、df = 1、p < 0.01、Bonferroni相関)。1種を除き、全ての試験したHE肝(17/18、94%)は、3種の変異型(ch-v-021、ch-v-026およびch-v-015)についてヘテロ接合型であった。これらの試料の16種は、更にch-v-020についてもヘテロ接合型であった。1種のHE試料は、この変異型については遺伝子型同定しなかった。対照的に、LE肝は、野生型(155/168、92.3%)、変異型ch-v-021およびch-v-26についてのヘテロ接合型(9/168、5.4%)、または変異型ch-v-015についてのヘテロ接合型(4/168、2.4%)のみであった。しかし、LE肝において、3種全ての変異型は、同時に生じることはなかった(表3)。これらの結果は、これら3種の変異型のいずれかを、増大したCYP3A5発現の有用であるが不完全なマーカーとして定義した。これらの変異型ch-v-034、ch-v-008、ch-v-011およびch-v-14は、前述の3種の変異型(ch-v-021、ch-v-026およびch-v-015)についてヘテロ接合型の試料のサブセットにおいてのみ生じた。

【0127】

スクリーニングした試料中の変異型ch-v-021、ch-v-026およびch-v-015の分布は、これらがハプロタイプを構成していることを、強力に示唆している。以下において、これら3種の変異型が、独立して組換えられるかまたは組換えられないかの仮説を検証した。それらの独立した遺伝形質を推定し、変異型の全ての組合せの予想される3遺伝子座の遺伝子型頻度を算出し、かつそれらを認められた頻度と比較した。その差異には、高度に有意性がある($\chi^2 = 93.6$ ；クラスは「全て野生型」、「単独の変異型ヘテロ接合型またはホモ接合型」、「2種または3種の変異型ヘテロ接合型またはホモ接合型」；df = 1；p < 0.001)。予想されたよりもより多くの2または3種の変異型を伴う個体およびより少ない1種の変異型のみを伴う個体が存在した。この結果は、これら3種の変異型中の連鎖を示唆している。変異型の3種の対に関する連鎖不均衡パラメータDにより、連鎖の程度を推定した。ハブ

ロタイプ頻度に関する最大尤度の推定値を用い、変異型対ch-v-021 / ch-v-015およびch-v-026 / ch-v-015については、Dは0.041と算出され、これはその理論上の最大値の80%であり、並びに変異型ch-v-021およびch-v-026については0.065と算出され、これはその理論上の最大値の100%に相当する。

【0128】

各変異遺伝子型を示している個体がHE(陽性予測値)である確率は、変異型ch-v-021およびch-v-026については、各々65%であると推定され、およびch-v-015変異型については81%であると推定される。3種の変異型の組合せ全てについて、陽性予測値は、本発明者らの試料セットにおいては100%である。しかしこれらの変異型は、増大したタンパク質発現のためにシスの位置にあることが必要であると想定すると、3種の変異型全てを示している個体がLEである確率が若干存在することは明らかである。これらの結果は、少なくともアレルch-v-021 / ch-v-026およびアレルch-v-015は実際に存在し(遺伝子型2および3参照、表3)、その結果これら2種のアレルの組合せを伴う遺伝子型の存在が前提であることを示している。シスで3種の変異型全てを有さないこれらの3倍のヘテロ接合型の頻度に関する最大尤度の推定値は、スクリーニングした全ての試料の0.05%または3種の変異型全てについてヘテロ接合型もしくはホモ接合型試料の0.61%である。別の表現をすると、スクリーニングした白人種100名について、統計学的に、その中の約9名が3種の変異型全てについてヘテロ接合型もしくはホモ接合型であり、かつこれらの約0.05がシスで3種の変異型全てを有しないと考えられる。従って、3変異遺伝子型の陽性予測力は約99.95%であると予想することができる。当然、わずかに2種の変異型、ch-v-021 / ch-v-015またはch-v-26 / ch-v-15のいずれかの組合せについて同じ値が達成されることが考えられる。

【0129】

単独のHE肝において、他の17のHE試料において認められた先の9種の変異型のいずれも、検出されなかった。この試料中において認められた変異型のより周到的な試験は、各々、イントロン4内の変異型(ch-v-018)およびイントロン5内のそれ(ch-v-019)を明らかにした。これらの変異型は、この試料に特有であり、その理由はこれらはあらゆる他のスクリーニングされた試料においては認められないからである。これらは、あらゆる他のスクリーニングされた人種においても認められなかった。これらの変異型はそれら自身が転写産活性化の原因物質であるかどうか、もしくはこれらは他の現時点で未検出の変異型に連結されているかどうかは、依然不明である。

【0130】

実施例4: CYP3A5タンパク質発現の検出

白人種肝試料中のCYP3A4およびCYP3A5のタンパク質発現を、CYP3A4およびCYP3A5特異的抗体(Gentest)を用いウェスタンブロットにより決定した。肝ミクロソームは、既報のように調製した(Zanger, Biochemistry, 27:5447-54(1988))。総タンパク質のホモジネイトを得るために、粉末化した肝組織を、0.1M トリス-Cl(pH7.4)、1mM EDTA、1mM Pefa Bloc S C、1μg/mlロイペプチン、1μg/mlペプスタチン中で、ポッターエルページャムホモジナイザー(Potter Elvehjem homogenisator)(ガラス/テフロン)を用い、1000rpmで2分間均質化した。次にホモジネイトを、バンデリン ソノプラスHD 200(Bandelin Sonoplus HD 200)で音波処理し、-80 で保存した。ウェスタンブロットのために、ミクロソームタンパク質ホモジネイト12.5μgまたは総タンパク質ホモジネイト40μgを、10%SDS-ポリアクリルアミドゲルにおいて分離した。PVDF膜への電気泳動による転写を、タンクブロットセル(TankBlot Cell)(BioRad)において1.5時間定圧(100V)および10で行った。転写後、これらの膜を、5%ミルク、TBS、0.1%ツイーン(Tween)20中で60分間インキュベーションし、非特異的抗体結合を低下した。一次抗体(Gentest、1:500希釈)のいずれかとのインキュベーションは、1%ミルク、TBS、0.1%ツイーン20中で60分間行い、これらを、同じ溶液中の二次抗体(抗-ウサギIgG-POD Fab-断片、Dianova、1:10000希釈)で30分間行った。CYP3A4またはCYP3A5タンパク質バンドを、スーパーシグナルデュラ(Supersignal Du ra)(Pierce)およびデジタルCCDカメラ(LAS-1000、Fuji)により検出した。シグナルの定量は、AIDA(Raytest)により行なった。タンパク質発現レベルは、組換えCYP3A4およびCYP3A

10

20

30

40

50

5タンパク質を発現しているマイクロソーム(Gentest)から得た検量線を基に算出した。

【0131】

ホモジネイトまたはマイクロソーム画分は、186例のヒト肝から調製し、かつCYP3A5特異的抗体を用いるウェスタンブロットにより調べた。CYP3A5タンパク質は、分析した全ての試料において検出され、その発現は明らかな2峰性を示した(図1A)。168例の肝(~90%)で、更にLE(低発現)と称されるものは、このアッセイ法の定量下限(LL0Q)に近いまたはそれ以下の発現を示した(0.3pmol/1mgのホモジネイトタンパク質および1.0pmol/1mgのマイクロソームタンパク質)。18種の試料(~10%)で、更にHE(高発現)と称されるものは、非常に高いCYP3A5発現レベルを示した。この発現は、1.6~2.9pmol/1mgのホモジネイトタンパク質(2.3±0.5; n=6)および3.9~15.5pmol/1mgのマイクロソームタンパク質(9.7±4.1; n=12)であった。LE肝におけるCYP3A5発現レベルとしてのこのアッセイ法のLL0Qを考慮すると、HE肝は、LE肝よりも平均8~10倍多いCYP3A5タンパク質を発現している。

【0132】

次に、HE肝における一緒にしたCYP3A5およびCYP3A4タンパク質発現に対するCYP3A5の貢献を調べた。これらの肝におけるCYP3A4発現は、0.9~82.6pmol/1mgのホモジネイトタンパク質(n=6)および4.5~295pmol/1mgのマイクロソームタンパク質(n=11)であった。HE肝におけるCYP3A4変動性のレベルおよび範囲は、LE肝におけるものと類似していた(データ示さず)。図1Bは、17種のHE肝における一緒にしたCYP3A5およびCYP3A4タンパク質プールにおけるCYP3A5の分担を示している。CYP3A5の貢献は、3%~74%の範囲を変動する。平均的HE肝において、両タンパク質を一緒にしたプールにおけるCYP3A5の分担は、24%である。LE肝におけるこのタンパク質の実際の発現レベルとしてのCYP3A5アッセイ法のLL0Qを考慮すると、これらの肝の対応する値はおよそ1.6%である。

【0133】

実施例5: CYP3A5 mRNA発現の決定

8種の白人種HE肝および8種のLE肝におけるCYP3A5 mRNAの発現を、CYP3A5特異的TaqManプローブを用いて調べた。図2Aに図示したように、CYP3A5 mRNAレベルの分布は2峰性を示し、これはCYP3A5タンパク質の発現において認められたものと完全に一致した(Fisherの直説法、 $p < < 0.001$)。HE肝(n=8)における、総RNA 1ng当りの3A5転写産物の数は、LE肝(n=8)のものよりも平均8.5倍高かった。

【0134】

下記のように、HEおよびLE肝のCYP3A5転写産物のアリル起源を調べた。この目的のために、この遺伝子の3'-UTR(非翻訳領域)の一部を、PCRにより増幅し、かつこの領域に位置したT>C変異型(表2Aの変異型ch-v-015;)についてヘテロ接合型である鋳型として、ゲノムまたはcDNA試料を用いて配列決定した。予想されたように、両アリルが、ゲノムDNAを鋳型として用いた配列において示される(図2B)。両アリルは、LE(ch-v-021およびch-v-26)についてホモ接合型野生型、ch-v-015についてヘテロ接合型)肝からPCR増幅したcDNAの配列においても同等に示された。対照的に、Cアリルのみが、HE肝由来のCYP3A5 3'-UTR cDNAの同じ部分で認められた。このことは、HE肝のCYP3A5転写産物の総プールにおけるCアリルを収容している染色体由来の転写産物の過剰発現を示している。

【0135】

実施例6: 組換えCYP3A5タンパク質のインビトロ突然変異誘発および発現

タンパク質配列の変化につながる白人種の5種の多型を検出した。それらの中のふたつはch-v-006およびch-v-017であり、これらは、タンパク質の切断につながり、従って機能タンパク質は恐らくコードしていない。ch-v-005はch-v-006へ物理的に連結してのみ発見されたので、得られたタンパク質変異型は同じく恐らく機能しないと考えられる。タンパク質変異型ch-v-009およびch-v-001の作用を決定するために、これらの変異型を、異種細菌発現系において分析した。

【0136】

原核生物発現ベクター-pKK233-2(Pharmacia)において、修飾したCYP3A5 cDNAを、インビトロ突然変異誘発の出発物質として用いた(図5)。変異型ch-v-009およびch-v-001は、各々

、QuikChange突然変異誘発キット(Stratagene)を使用する、インビトロ突然変異誘発により、プラスミドへ導入した。突然変異のうまくいった導入および他の望ましくない突然変異が存在しないことは、配列決定により確認した。当初のプラスミドに加え、2種の突然変異誘発されたプラスミドを用い、CYP3Aタンパク質の最適発現が既に得られている株の大腸菌TOPP3細胞を形質転換した。各突然変異体プラスミドの8種の個別のコロニー全てを、発現試験のために選択した。Eiseltらの論文に説明されたように、細菌を増殖および誘導した(Eiselt、Pharmacogenetics、11:447-58(2001))。発現は、IPTG/ -ALAによる誘導後48時間および72時間で分析した。Domanskiらの論文に説明されたように細胞を収集した(Domanski、Arch Biochem Biophys、350:223-32(1998))。最終的P450含量は、還元した一酸化炭素(CO)の差スペクトルにより測定した(Omura、J. Biol. Chem.、239:2370-2378(1964))。 10

【0137】

可溶化したCYP3A5の30~50nmolを突然変異誘発していないCYP3A5の培養物1Lから回収できたにもかかわらず、2種のCYP3A5変異型 S100YおよびT398Nの発現は、培養物1L当り3nmol P450タンパク質よりも低いことが決定された。多くの例において、「P450」ピークは、予想された典型的448~450nmピークよりもむしろ454~458nmにシフトしていた。突然変異誘発されたコロニーにおける低レベルの発現は、タンパク質精製に際する無駄な試みであった。先の実験は、これらのCYP3A5変異型により示された発現レベルと同程度に低い発現レベルが、他の細菌株の使用または増殖温度の調節により、顕著に改善できないことを示唆している。従って、これらの結果は、S100YまたはT398N置換を含むCYP3A5タンパク質変異型は、大腸菌発現系において安定していないこと、およびch-v-009またはch-v-001を含む変異型は、機能タンパク質をコードしていないことを強く示唆している。変異型ch-v-001(T398N)の陰性発現の結果は、5種のCYP3A5欠損個体の中の2種でこの多型を最初に検出した研究(Jounaidi、Biochem Biophys Res Commun、221:466-70(1996))と一致している。 20

【0138】

実施例7：CYP3A5遺伝子型により予想される薬物代謝の推定

CYP3A5タンパク質は、酸化により多くの薬物を分解し、その結果これらは最早治療的活性はない。従って、CYP3A5基質である薬物は、増強されたCYP3A5活性を持つ患者において、適当な時間間隔においては、治療的活性血漿中濃度に到達しない。これらの患者においては、これらの薬物はより高い投与量でなければならない。他方で、低下したCYP3A5活性を有する患者において、これらの薬物は、薬物の毒性レベルを避けるために、より低い用量で投与されなければならない。表4にCYP3A5遺伝子型および推奨用量の指定を示す。 30

【0139】

CYP3A5代謝が薬理的活性物質の形成につながる場合において、増強された酵素活性は、低減された用量により中和されるにも関わらず、低下されたCYP3A5活性は、増大された用量により合致される。

【0140】

(表1A) CYP3A5上流領域内の多型のスクリーニングに使用したプライマーおよびCYP3A5遺伝子

Ref.	プライマー 配列 (5'-3')			位置 (nt)	(bp)
	ID	名称			
chzk	001	694	ACAGGCACAGAAACCCACAAG	145448-145468 ¹	630
	002	711	ATCGCCACTTGCCCTTCTTC	146077-146059 ¹	
chzl	003	794	CCCTGCTTCGGCTTGTGCA	159915-159933 ¹	575
	004	750	CACAGCCTGCTTTATTTGTGATGA	160489-160466 ¹	
chzj	005	751	GATCCTTGGTAGGACAAGCCT	160351-160371 ¹	844
	006	754	CAAGCACTGATTGGTCACCTCCCT	161194-161171 ¹	
chzb	007	819	GGGATGGGACCGTAAGTGGAAAC	160951-160972 ¹	618
	008	820	TAATCACATTGGAGTTCTGACAAATG	161568-161543 ¹	
chzi	009	736	AAAAACCTCTTACAAAAGTATCATCGGATA	161419-161448 ¹	910
	010	737	CCTACTAGTCTCTGACTTGGAAACCAT	162328-162302 ¹	
chzh	011	784	GCCGAGACGCACCATTACACT	161876-161896 ¹	637
	012	785	CACCCATCCCTTCCCACTCAT	162512-162492 ¹	
chzg	013	740	TGATGGTTCCAAGTCAGAGACCTAGTAG	162300-162327 ¹	997
	014	741	AATTGTAGACATCTTTCTCTTAAGTTAATTCCCAG	163296-163262 ¹	
chzf	015	786	TCTGCATGCCAACAGTGAACAATCT	163182-163206 ¹	824
	016	789	GGCACGCACCAGCATGTCC	164005-163987 ¹	
chze	017	790	CTGGCTGAGTGCCGTGGCT	163845-163863 ¹	591
	018	791	TGAGCGCTTCATGTATTCTGGCTAT	164435-164411 ¹	
chza	019	824	AAATATTTTCAAAGTCACACTCTGACAACAG	164376-164406 ¹	617
	020	822	TAACAGGATCTCATGCTTTTTTCATGGCT	164992-164964 ¹	
chzd	021	747	CACTCCAATATTCACAATAGCCACTATTCA	164843-164872 ¹	926
	022	748	ACTCCTACGTATCCTTCCAAGCCC	165768-165745 ¹	
chzc	023	728	GCTAAGGGAAACAGGCATAGAAACTTAC	165586-165613 ¹	557
	024	729	GGAGCTTCCCTGCCCTGC	166142-166125 ¹	
chzy	025	323	TCCTTCTCCAGCACATAAATC	166076-166096 ¹	424
	026	325	AAATTAGAAGGTGGATGGGAG	166499-166479 ¹	
chzx	027	335	GAGTAACTCACCAGCCCTCTG	169838-169858 ¹	264
	028	336	AAACCTCAGAACTCCCTCCCA	170101-170081 ¹	
chzw	029	338	GACATCTCTGAATAGCTTCCTTC	171392-171414 ¹	402
	030	341	GCACATAGTTTATAACGGCAA	171793-171773 ¹	
chzv	031	346	AGAACCTAAGGTTGCTGTGTGTC	173303-173325 ¹	394
	032	348	TGCAAGATGTTACCCTGGGC	173696-173676 ¹	
chzu	033	354	CGCCCCACATACACTCAGAA	31376-31395 ²	426
	034	357	AGACCATTTTATAGGAAGCTCG	31801-31781 ²	
chzt	035	379	CAAGGGGTAGTCCACTGAGTTC	31760-31781 ²	403
	036	381	CTCTTTGGAGTTGCAGCG	32162-32145 ²	
chzs	037	362	AGGTGAGTCTAACTCAGCTTG	33081-33101 ²	578
	038	365	GACAGCTAAAGTGTGTGAGGG	33658-33638 ²	
chzr	039	371	AATGGGTTCAGTTGAGAATC	34411-34431 ²	470
	040	373	ATTGTTGTGCCCTGATTTCAAG	34880-34860 ²	
chzq	041	387	AGAAGCCATAGGGAGGTTG	35627-35645 ²	423
	042	389	GACTGTCTCCCAAGCATTTCT	36049-36030 ²	
chzp	043	394	GATGCCATGATGAGGAGTGTG	37724-37744 ²	626
	044	397	ACCAGGGCCAGCAATATTG	38349-38331 ²	
chzm	045	403	AAATACTTCACGAATACTATGATCA	45711-45735 ²	595
	046	405	CAGGGACATAATTGATTATCTTTG	46305-46282 ²	
chzo	047	411	TACTGGTTGGGAGGTGGAG	48290-48308 ²	456
	048	412	CATGATGTTCTTAATGCTACAGG	48745-48723 ²	
chzn	049	419	GAAGAGTTCAAGATACATGGTGTTA	50088-50112 ²	416
	050	420	TGCACAACACTCTACACAGACTC	50503-50481 ²	

10

20

30

40

Ref.: 参照配列。プライマーの位置は、アクセッション番号(1)AF280107.1および(2)AC005020.2のGenBank配列を指す。

【0141】

(表1B) TaqManアッセイ法による多型部位 ch-v-048(g.6986G>A)でのヌクレオチド状態の決定に使用したプライマー(配列番号:202および203)およびプローブ(配列番号:204および205)

Ref.	プライマー			位置 (nt)	(bp)
	ID	名称	配列 (5'-3')		
chyu	202	TQPi_ch-v-048_F	GCTCTACTGTCATTTCTAACCATAAT CTCTTTA	173152-173184	99
	204	TQPo_ch-v- 048_AI1_G_VIC	VIC-TGTCTTTCAGTATCTCTT- MGB-DQ	173196-173213	
	205	TQPo_ch-v- 048_AI2_A_FAM	FAM-TGTCTTTC AATATCTCTTC- MGB-DQ	173196-173214	
	203	TQPi_ch-v-048_R	GCTTCATATGATGAAGGGTAATGTGG T	173250-173224	

Ref.: 参照配列。プライマーの位置は、アクセッション番号AF280107.1のGenBank配列を指す。プローブは、5'末端で蛍光色素により標識し、かつ暗色消光物質(DQ)で標識し、かつ副溝バインダー(MGB)を用いている。

10

【 0 1 4 2 】

(表2A) 白人種起源の試料中に検出されたCYP3A5多型

変異型ID	参照配列	変異型の位置		配列状況	遺伝子エレメント	推定される作用	白人種	
		参照配列上	gDNA上				N	変異型アレル頻度 (%)
ch-v-020	chzk	254T>G	g.-20619T>G	051 TGGGCTTGCAA 052G.....	PS2の5'側		211	6.6
ch-v-031	chzk	318G>A	g.-20555G>A	053 GCATGGGTAAA 054A.....	PS2の5'側		189	0.3
ch-v-032	chzk	544G>A	g.-20329G>A	055 GGGTGTGTGC 056A.....	PS2の5'側		186	0.3
ch-v-033	chzk	550G>A	g.-20323G>A	057 TGTGCGATTCT 058A.....	PS2の5'側		186	0.3
ch-v-021	chzk	582A>G	g.-20291A>G	059 GCCCCACCTCC 060G.....	PS2の5'側		215	6.7
ch-v-026	chzi	229A>G	g.-6177A>G	061 CTCACACTGGG 062G.....	エキソン1 の5'側		208	7.0
ch-v-027	chzi	566G>A	g.-4336G>A	063 GAGACGCACCA 064A.....	エキソン1 の5'側		19	2.7
ch-v-028	chzh	601G>A	g.-3844G>A	065 TGTGTGTGGGA 066A.....	エキソン1 の5'側		20	10.0
ch-v-029	chzg	464T>C	g.-3557T>C	067 ATCCATGTATA 068C.....	エキソン1 の5'側		20	2.5
ch-v-034	chza	328T>C	g.-1617T>C	069 CATCTTACCCC 070C.....	エキソン1 の5'側		93	2.2
ch-v-030	chzd	683T>A	g.-795T>A	071 TCTATTGCTAT 072A.....	エキソン1 の5'側		20	5.0
ch-v-002	chzy	159G>A	g.-86G>A	073 GGCAGGGAAGC 074A.....	エキソン1 (5' UTR)		106	0.5
ch-v-003	chzy	171C>T	g.-74C>T	075 CCAGGCAACA 076T.....	エキソン1 (5' UTR)		106	4.3
ch-v-004	chzy	418-420delGAG	g.174-176delGAG	077 TCAAGGAGAAG 078	イントロン1		106	0.5
ch-v-005	chzx	187C>T	g.3705C>T	079 GTACACATGGA 080T.....	エキソン2	H30Y	104	1.4
ch-v-006	chzx	191-192insG	g.3709-3710insG	081 CATGG-ACTTT 082G.....	エキソン2	(K34.) ¹	104	1.4
ch-v-007	chzw	143C>T	g.5215C>T	083 GATAGCAGGCC 084T.....	イントロン2		105	6.7

ch-v-048	chyu	206G>A			g.6986G>A	146 147	TTTCAGTATCTA.....	イントロン3	217	4.6
ch-v-008	chzv	199C>A			g.7182C>A	085 086	AGAAATCGGGCTA.....	イントロン3	107	1.9
ch-v-009	chzv	320C>A			g.7303C>A	087 088	TTATTCTGTCTA.....	エキソン4 S100Y	107	0.5
ch-v-018	chzv	441- 444insCTAAAAAAT			g.7424- 7427insCTAAAAAAT	089 090	C--AG-----G CCTAAAAAATG	イントロン4	107	0.5
ch-v-016	chzt	145T>G			g.13077T>G	091 092	TCTTTTATCTTG.....	イントロン5	105	0.5
ch-v-019	chzt	241T>C			g.13173T>C	093 094	GAGTCTGCACAC.....	イントロン5	105	0.5
ch-v-010	chzq	132-133insGTC			g.16931- 16932insGTC	095 096	AGTC---AAGAGTC.....	イントロン8	95	0.5
ch-v-011	chzq	364G>T			g.17163G>T	097 098	AGGAAGTATTCT.....	イントロン9	95	3.2
ch-v-012	chzp	269G>A			g.19165G>A	099 100	AGAGAGCTTCAA.....	イントロン9	106	0.5
ch-v-013	chzm	167A>G			g.27050A>G	101 102	CTTCAATAGTAG.....	イントロン10	80	11.9
ch-v-001	chzm	406C>A			g.27289C>A	103 104	TCCAACTTATGA.....	エキソン11 T398N	80	1.9
ch-v-014	chzm	643C>T			g.27526C>T	105 106	CGAAACTACATT.....	イントロン11	80	3.8
ch-v-015	chzn	351T>C			g.31611T>C	107 108	AAGGATTTCTAC.....	エキソン13 (3' UTR)	197	5.6

10

20

30

40

において検出された。¹変異型は、究極的には未熟終結につながるフレームシフトを生じている。

【 0 1 4 3 】

(表 2 B) アフリカ系アメリカ人起源の試料中に検出されたCYP3A5多型

変異ID	参照配列	変異型の位置		配列状況		遺伝子エレメント	推定される作用	N	変異型アレル頻度 (%)
		参照配列上	gDNA上	配列ID	参照配列、 変異型配列				
ch-v-037	chzk	230T>C	g.-20643T>C	148 149	TTTAATAGAAGC.....	PS2の5'側		42	3.6
ch-v-020	chzk	254T>G	g.-20619T>G	051 052	TGGGCTTGCAAG.....	PS2の5'側		41	69.5
ch-v-038	chzk	506C>T	g.-20367C>T	150 151	ATTCCCCATAGT.....	PS2の5'側		44	1.1
ch-v-039	chzk	514T>C	g.-20359T>C	152 153	TAGAAATATGAAC.....	PS2の5'側		44	1.1
ch-v-021	chzk	582A>G	g.-20291A>G	059 060	GCCCCACCTCCG.....	PS2の5'側		45	66.7
ch-v-026	chzl	229A>G	g.-6177A>G	061 062	CTCACACTGGGG.....	エキソン1 の5'側		43	65.1
ch-v-051	chzh	455T>G	g.-3990T>G	154 155	GTAACCTTATCCG.....	エキソン1 の5'側		44	2.3
ch-v-052	chzh	577G>A	g.-3868G>A	156 157	TTCACGTGGAGA.....	エキソン1 の5'側		44	3.4
ch-v-028	chzh	601G>A	g.-3844G>A	065 066	TGTGTGTGGGAA.....	エキソン1 の5'側		44	17.1
ch-v-034	chyz	328T>C	g.-1617T>C	069 070	CATCTTACCCCC.....	エキソン1 の5'側		45	42.2
ch-v-002	chzy	159G>A	g.-86G>A	073 074	GGCAGGGAAGCA.....	エキソン1 (5' UTR)		45	1.1
ch-v-003	chzy	171C>T	g.-74C>T	075 076	CCAGGCAACAT.....	エキソン1 (5' UTR)		45	1.1
ch-v-007	chzw	143C>T	g.5215C>T	083 084	GATAGCAGGCCT.....	イントロン2		44	3.4
ch-v-053	chzw	163G>A	g.5235G>A	158 159	TGGACGCAACTA.....	イントロン2		45	2.2
ch-v-054	chzw	444T>A	g.5516T>A	160 161	GAGGATAATTAA.....	イントロン3		43	3.5
ch-v-048	chyu	206G>A	g.6986G>A	146 147	TTTCAGTATCTA.....	イントロン3		45	73.3

ch-v-025	chzv	224C>T		g.7207C>T	109 110	AGCTCCGGTTGTT.....	イントロン3		43	7.0
ch-v-043	chzt	294T>C		g.132226T>C	162 163	CATCATGGCCCC.....	エキソン6 I149T		45	1.1
ch-v-055	chzt	444G>A		g.13376G>A	164 165	CAGTCGCACCTGA.....	イントロン6		45	1.1
ch-v-050	chzs	437G>A		g.14690G>A	166 167	ACTAAGAAGTTA.....	エキソン7 スプラインング欠損		45	13.3
ch-v-056	chzs	467A>G		g.14720A>G	168 169	GATCCATTATTG.....	エキソン7 P218P		45	6.7
ch-v-057	chzs	583C>T		g.14836C>T	170 171	CAATCCATTGT.....	イントロン7		45	1.1
ch-v-058	chzs	650A>G		g.14903A>G	172 173	TGTCAATCTAGG.....	イントロン7		45	6.7
ch-v-059	chzr	205T>C		g.15788T>C	174 175	TTGTTTGTTTTC.....	イントロン7		44	3.4
ch-v-060	chzr	496A>C		g.16079A>C	176 177	AAATAAAGAAGC.....	イントロン8		44	1.1
ch-v-011	chzq	364G>T		g.17163G>T	097 098	AGGAAGTATTCT.....	イントロン9		43	7.0
ch-v-062	chzp	173G>A		g.19069G>A	178 179	TTTGGGTCATCA.....	イントロン9		45	1.1
ch-v-063	chzp	312C>T		g.19208C>T	180 181	TTGACCTGATTT.....	イントロン9		45	2.2
ch-v-013	chzm	167A>G		g.27050A>G	101 102	CTTCAATAGTAG.....	イントロン10		36	1.4
ch-v-017	chzm	248-249insT		g.27131-27132insT	111 112	CACCT-ACCTAT.....	エキソン11 (D348.) ¹		45	10.0
ch-v-014	chzm	643C>T		g.27526C>T	105 106	CGAAACTACATT.....	イントロン11		42	11.9
ch-v-044	chzn	239T>C		g.31499T>C	182 183	TATTGTAGATCC.....	イントロン12		45	5.6
ch-v-015	chzn	351T>C		g.31611T>C	107 108	AAGGATTTCTAC.....	エキソン13 (3' UTR)		44	68.2

¹ 変異型は、究極的には未熟終結につながるフレームシフトを生じている。

【 0 1 4 4 】

(表 2 C) 中国人起源の試料中に検出された CYP3A5 多型

10

20

30

40

50

変異型ID	参照配列	変異型の位置		配列状況	遺伝子エレメント	推定される作用	N	変異型アレル頻度 (%)
		参照配列上	gDNA上					
ch-v-020	chzk	254T>G	g.-20619T>G	051 TGGGCTTGCAA 052G..... 059 GCCCCACCTCC 060G..... 061 CTCACACTGGG 062G..... 069 CATCTTACCCC 070C..... 184 CCTTTTCCTT 185C..... 186 CTTATGCAGAT 187A..... 146 TTTCAGTATCT 147A..... 089 C--AG-----G 090 CCTAAAAAATG 188 AATACGGTTCAT 189A..... 190 GGAGGTATGAA 191C..... 192 AGTCCGTTTCC 193A..... 097 AGGAAGTATTC 098T..... 105 CGAAACTACAT 106T..... 107 AAGGATTTCTA 108C.....	PS2の5'側		42	23.8
ch-v-021	chzk	582A>G	g.-20291A>G		PS2の5'側		45	26.7
ch-v-026	chzl	229A>G	g.-6177A>G		エキソン1の5'側		47	26.6
ch-v-034	chyz	328T>C	g.-1617T>C		エキソン1の5'側		47	21.3
ch-v-066	chzy	380T>C	g.136T>C		イントロン1		45	1.1
ch-v-067	chzy	474G>A	g.230G>A		イントロン1		44	1.14
ch-v-048	chyu	206G>A	g.6986G>A		イントロン3		47	26.6
ch-v-018	chzv	441-444insCTAAAAAAT	g.7424-7427insCTAAAAAAT		イントロン4		47	2.1
ch-v-068	chzu	359G>A	g.12907G>A		エキソン5	R130Q	45	3.3
ch-v-047	chzu	404T>C	g.12952T>C		イントロン5	スプライング欠損	44	1.1
ch-v-069	chzu	480G>A	g.13028G>A		イントロン5		44	1.1
ch-v-011	chzq	364G>T	g.17163G>T		イントロン9		40	21.3
ch-v-014	chzm	643C>T	g.27526C>T		イントロン11		47	5.3
ch-v-015	chzn	351T>C	g.31611T>C		エキソン13(3' UTR)		47	26.6

10

20

30

40

【 0 1 4 5 】

(表 2 D) 日本人起源の試料中に検出された CYP3A5 多型

変異型ID	参照配列	変異型の位置		配列状況	遺伝子エレメント	推定される作用	N	変異型アレル頻度 (%)
		参照配列上	gDNA上					
ch-v-020	chzk	254T>G	g.-20619T>G	051 TGGGCTTCGCAA 052G..... 059 GCCCCACCTCC 060G..... 061 CTCACACTGGG 062G..... 065 TGTGTGTGGGA 066A..... 069 CATCTTACCCC 070C..... 083 GATAGCAGGCC 084T..... 146 TTTTCAGTATCT 147A..... 190 GGAGGTATGAA 191C..... 194 TCTGCCAAAGA 195G..... 097 AGGAAGTATTC 098T..... 111 CACCT-ACCTA 112T..... 105 CGAAACTACAT 106T..... 196 ACCCAATTGTC 197C..... 107 AAGGATTTCTA 108C.....	PS2の5'側		42	29.8
ch-v-021	chzk	582A>G	g.-20291A>G		PS2の5'側		49	28.6
ch-v-026	chzl	229A>G	g.-6177A>G		エキソン1 の5'側		46	28.3
ch-v-028	chzh	601G>A	g.-3844G>A		エキソン1 の5'側		50	2.0
ch-v-034	chyz	328T>C	g.-1617T>C		エキソン1 の5'側		50	26.0
ch-v-007	chzw	143C>T	g.5215C>T		イントロン2		48	3.1
ch-v-048	chyu	206G>A	g.6986G>A		イントロン3		50	29.0
ch-v-047	chzu	404T>C	g.12952T>C		イントロン5	ヌブラインシング欠損	50	1.0
ch-v-061	chzq	194C>G	g.16993C>G		イントロン8		49	1.0
ch-v-011	chzq	364G>T	g.17163G>T		イントロン9		49	26.5
ch-v-017	chzm	248-249insT	g.27131-27132insT		エキソン11	(D348.) ¹	48	1.0
ch-v-014	chzm	643C>T	g.27526C>T		イントロン11		49	3.1
ch-v-045	chzn	291T>C	g.31551T>C		エキソン13	1488T	50	3.0
ch-v-015	chzn	351T>C	g.31611T>C		エキソン13 (3' UTR)		50	31.0

10

20

30

40

【 0 1 4 6 】

(表 2 E) 韓国人起源の試料中に検出された CYP3A5 多型

50

変異型 ID	参照配列	変異型の位置		配列状況	遺伝子エレメント	N	変異型アレル頻度(%)
		参照配列上	gDNA 上				
ch-v-020	chzk	254T>G	g.-20619T>G	051 TGGGCTTGCAA 052G.....	PS2の5'側	47	29.8
ch-v-065	chzk	563T>C	g.-20310T>C	198 GCTACTGGCTG 199C.....	PS2の5'側	47	1.1
ch-v-021	chzk	582A>G	g.-20291A>G	059 GCCCCACCTCC 060G.....	PS2の5'側	47	29.8
ch-v-040	chzl	206C>T	g.-6200C>T	200 GAAATCACCCG 201T.....	エキソン1の5'側	43	1.2
ch-v-026	chzl	229A>G	g.-6177A>G	061 CTCACACTGGG 062G.....	エキソン1の5'側	43	31.4
ch-v-034	chyz	328T>C	g.-1617T>C	069 CATCTTACCCC 070C.....	エキソン1の5'側	47	27.7
ch-v-007	chzw	143C>T	g.5215C>T	083 GATAGCAGGCC 084T.....	イントロン2	47	2.1
ch-v-048	chyu	206G>A	g.6986G>A	146 TTTCAGTATCT 147A.....	イントロン3	47	29.8
ch-v-061	chzq	194C>G	g.16993C>G	194 TCTGCCAAAGA 195G.....	イントロン8	47	2.1
ch-v-011	chzq	364G>T	g.17163G>T	097 AGGAAGTATTC 098T.....	イントロン9	47	27.7
ch-v-014	chzm	643C>T	g.27526C>T	105 CGAAACTACAT 106T.....	イントロン11	47	2.1
ch-v-015	chzn	351T>C	g.31611T>C	107 AAGGATTTCTA 108C.....	エキソン13 (3' UTR)	43	36.1

10

20

30

40

表2A-E: 変異型は、各人種群別について個別に、遺伝子に沿ったそれらの局在に従い列記している。多型の専門語は、Antoarakisらの論文(Antonarakis, Hum Mutat, 11:1-3(1998

50

))を基にし、ゲノム参照配列として一緒にした配列AF280107.1およびAC005020.2を用い、ここでAF280107.1における位置166220のATGのAは+1である。配列状況：上側に示した参照アレル配列と下側に示した変異型配列の多型部位でのローカルアラインメント。点は、各位置のヌクレオチドが同一であることを示している。N：分析した試料の数。

【0147】

(表3) CYP3A5遺伝子型および表現型

	ch-v-021	ch-v-026	ch-v-015	表現型	肝
遺伝子型1	A/A	A/A	T/T	LE	155
遺伝子型2	A/G	A/G	T/T	LE	9
遺伝子型3	A/A	A/A	T/C	LE	4
遺伝子型4	A/G	A/G	T/C	HE	17
遺伝子型5	A/A	A/A	T/T	HE	1

10

3種の変異型は全て、ヘテロ接合状態においてのみ検出された。HE = 高く発現している肝、LE = 低く発現している肝、数字は、各々特有の遺伝子型を有するLEおよびHE肝を示す。増大したCYP3A5発現は、個別の遺伝子型と共に同時分離する。

【0148】

(表4) CYP3A5による期待される薬物代謝

20

遺伝子型 No	アレル組合せ	酵素活性	用量設定	
			薬物分解	薬物活性化
I	高発現者アレル/ 高発現者アレル	190 %	1.90	0.53
II, III	低発現者アレル/ 高発現者アレル	100 %	1.00	1.00
IV - VII	nullアレル/ 高発現者アレル	95 %	0.95	1.05
VIII, IX, X	低発現者アレル/ 低発現者アレル	10 %	0.10	10
XI - XVIII	nullアレル/ 低発現者アレル	5 %	0.05	20
XIX - XXV	nullアレル/ nullアレル	0 %	< 0.05	> 20
遺伝子型 No	遺伝子座での遺伝子型(配列番号) 1 - 2 - 3 - 4 - 5 - 6 - 7 - 8	酵素活性	用量設定	
			薬物分解	薬物活性化
I	060-062-079-081-087-111-103-108 / 060-062-079-081-087-111-103-108	190 %	1.90	0.53
II	0xx-06x-079-081-087-111-103-107 / 060-062-079-081-087-111-103-108	100 %	1.00	1.00
III	059-061-079-081-087-111-103-10x / 060-062-079-081-087-111-103-108	100 %	1.00	1.00
IV	0xx-06x-080-082-08x-11x-10x-10x / 060-062-079-081-087-111-103-108	95 %	0.95	1.05
V	0xx-06x-0xx-08x-088-11x-10x-10x / 060-062-079-081-087-111-103-108	95 %	0.95	1.05
VI	0xx-06x-0xx-08x-08x-112-10x-10x / 060-062-079-081-087-111-103-108	95 %	0.95	1.05
VII	0xx-06x-0xx-08x-08x-11x-104-10x / 060-062-079-081-087-111-103-108	95 %	0.95	1.05
VIII	060-062-079-081-087-111-103-107 / 059-061-079-081-087-111-103-108	10 %	0.10	10
IX	0xx-06x-079-081-087-111-103-107 / 0xx-06x-079-081-087-111-103-107	10 %	0.10	10
X	059-061-079-081-087-111-103-10x / 059-061-079-081-087-111-103-10x	10 %	0.10	10
XI	059-061-079-081-087-111-103-10x / 0xx-06x-080-082-08x-11x-10x-10x	5 %	0.05	20
XII	0xx-06x-079-081-087-111-103-107 / 0xx-06x-080-082-08x-11x-10x-10x	5 %	0.05	20
XIII	059-061-079-081-087-111-103-10x / 0xx-06x-0xx-08x-088-11x-10x-10x	5 %	0.05	20
XIV	0xx-06x-079-081-087-111-103-107 / 0xx-06x-0xx-08x-088-11x-10x-10x	5 %	0.05	20
XV	059-061-079-081-087-111-103-10x / 0xx-06x-0xx-08x-08x-112-10x-10x	5 %	0.05	20
XVI	0xx-06x-079-081-087-111-103-107 /	5 %	0.05	20

10

20

30

40

	0xx-06x-0xx-08x-08x-112-10x-10x			
XVII	059-061-079-081-087-111-103-10x / 0xx-06x-0xx-08x-08x-11x-104-10x	5 %	0.05	20
XVIII	0xx-06x-079-081-087-111-103-107 / 0xx-06x-0xx-08x-08x-11x-104-10x	5 %	0.05	20
XIX	0xx-06x-080-082-08x-11x-10x-10x / 0xx-06x-0xx-08x-088-11x-10x-10x	0 %	< 0.05	> 20
XX	0xx-06x-080-082-08x-11x-10x-10x / 0xx-06x-0xx-08x-08x-112-10x-10x	0 %	< 0.05	> 20
XXI	0xx-06x-080-082-08x-11x-10x-10x / 0xx-06x-0xx-08x-08x-11x-104-10x	0 %	< 0.05	> 20
XXII	0xx-06x-080-082-08x-11x-10x-10x / 0xx-06x-080-082-08x-11x-10x-10x	0 %	< 0.05	> 20
XXIII	0xx-06x-0xx-08x-088-11x-10x-10x / 0xx-06x-0xx-08x-088-11x-10x-10x	0 %	< 0.05	> 20
XXIV	0xx-06x-0xx-08x-08x-112-10x-10x / 0xx-06x-0xx-08x-08x-112-10x-10x	0 %	< 0.05	> 20
XXV	0xx-06x-0xx-08x-08x-11x-104-10x / 0xx-06x-0xx-08x-08x-11x-104-10x	0 %	< 0.05	> 20

10

No. : 試行する (running) 遺伝子型番号

遺伝子型 : アリル組合せから生じる可能性のある CYP3A5 遺伝子型。上側の表に、使用した正確なアリル名の原則を示した。下側の表はより詳細なアリルのリストであり、各々、ふたつの相同染色体における 8 種の座での変異型の全ての組合せを示している (座 1-8 は、各々、CYP3A5 遺伝子 (アクセッション番号 : AF280107.1) の位置 -20291、-6177、3705、3709/3710、7303、27131/27132、27289 および 31611 に対応する位置を意味し、ここで位置 166220 は +1 と番号付けられ、かつ位置 174832 は +8613 と番号付けられる。)。各変異型は、表 2A-E に列記された 3 文字配列番号により定義される。配列番号中のワイルドカード (x) は、その表現型がこの染色体のこの遺伝子座では、変異型とは無関係であることを示している。x で置換され得る各遺伝子座について可能性のある変異型は、表 2A-E から抽出することができる。例えば、遺伝子座 4 の 08x は、配列番号 081 または 082 を意味し、遺伝子座 5 の 08x は、配列番号 087 または 088 のいずれかを意味する。

30

酵素活性 : タンパク質濃度から算出した酵素活性であり、これにより遺伝子型 059-061-079-081-111-107/060-062-079-081-111-108 の平均タンパク質濃度を、100% と定義した。

用量設定 : CYP3A5 により分解 / 活性化される薬剤の用量設定要因は、遺伝子型 059-061-079-081-111-107/060-062-079-081-111-108 に必要な用量に相関している。要因は、専ら CYP3A5 によって代謝されることのない薬剤については、CYP3A5 酵素の活性分担に応じて、重みを付ける必要があると考えられる。

【図面の簡単な説明】

【0149】

本発明は図面により説明される。

【図 1】A : 6 名の LE (低発現) および 6 名の HE (高発現) している白人種肝から調製したミクロソームにおける CYP3A5 タンパク質発現のウェスタンブロット分析。B : ウェスタンブロットにより決定された 17 個の HE 肝における一緒にされた CYP3A5/CYP3A4 タンパク質プールに対する CYP3A5 および CYP3A4 の相対的寄与。

40

【図 2】LE および HE 白人種肝の CYP3A5 転写産物の発現レベルおよびアリル供給源。A : 8 名の LE (低発現、白棒) および 8 名の HE (高発現、灰色棒) の肝試料中の CYP3A5 mRNA の TaqMan 分析。B : 変異型 ch-v-015 (表 2A) について異種の試料中の CYP3A5 の 3' -UTR 部分の配列。PCR に使用した鋳型は、ゲノム DNA (左側パネル)、LE 肝由来の cDNA (中央パネル) および HE 肝由来の cDNA (右側パネル) であった。

【図 3】白人種における CYP3A5 遺伝変異型の対立遺伝子頻度。A : 8-168 LE 個体由来の DNA 試料中。B : 7-18 HE 個体由来の DNA 試料中。図の下側の棒は、CYP3A5 遺伝子の偽エキソン P

50

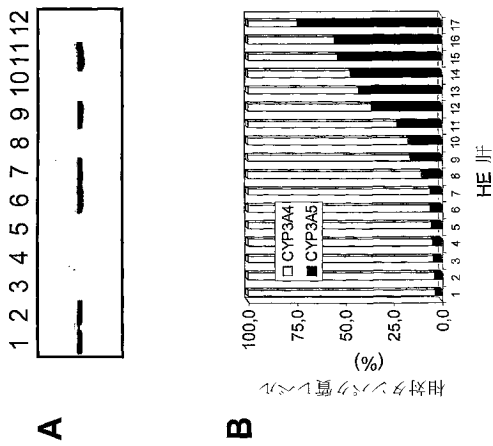
S2、エキソン1および2並びにエキソン1-13の局在化を概略的を示している。矢印は、重複境界を示す(Gellner、Pharmacogenetics、11:111-121(2001))。

【図4】ゲノム配列およびペプチド配列：多型が検出された増幅された領域を含むゲノムDNA配列、並びにアミノ酸置換を伴うポリペプチド配列。ヌクレオチド配列は、5'-3'方向に列記されている。小文字で記した文字は、非コード配列を示し、大文字で記した文字は、コード配列を示す。プライマー領域は下線を付けている。変異部位は枠で囲んでいる。ペプチド配列は1文字コードで示した。印は、欠失が生じる位置を示す。配列番号:198において、TaqMan(登録商標)プローブのハイブリダイズ部位は、太字で示している。

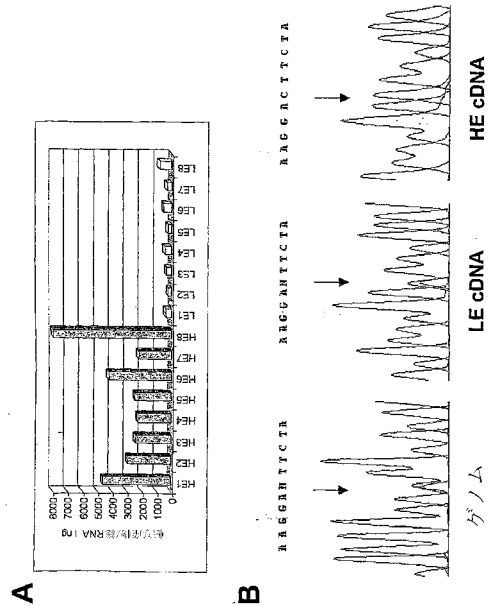
【図5】インビトロ突然変異誘発のための出発物質として使用されるプラスミドのCYP3A5 cDNA挿入領域。クローニング部位には、下線を付けている。CYP3A5 cDNAの修飾された5'および3'領域は、小文字で示している。タンパク質レベルでの5'側修飾MALLLAVFアミノ酸配列は、大腸菌における発現を増大するために導入した(Gillam、Arch Biochem Biophys、317:374-84(1995))。タンパク質レベルでの3'側修飾His₆タグは、その後の精製を向上させるために導入した。CYP3A5挿入断片の未修飾部分は、配列決定によりNP_000768.1の基礎となるヌクレオチド配列であるアクセッション番号NM_000777.1に相当するCYP3A5 cDNAと同じであることが証明された。ch-v-009およびch-v-001に対応する位置は、枠で囲んでいる。

10

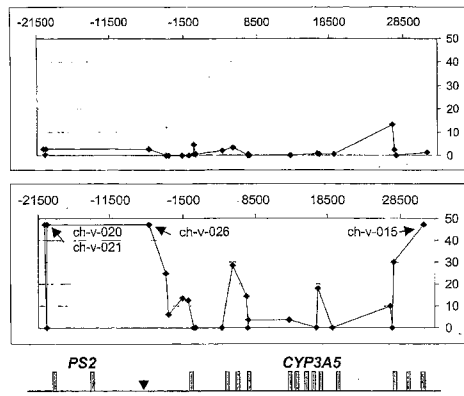
【図1】



【図2】



【 図 3 】



【 図 4 - 1 】

配列番号: 113
 >chzk_ch-v-020_254T>G_ch-v-021_582A>G
 1 tggtaaccca ccatgtgtac agtaccctgc tagggctccag ggtcatgaaa gtaataata
 61 ccagactgtg cccttgagga actcaacctc gtaaggaa acaggcacag aaaccacaa
 121 ggggtgtaga gaggaatag gacaatagga ctgtgtgagg gggataggag gaaccagag
 181 gggaaatgg ttacatctgt gtgaggagt ttgtaaggaa agactttaat agaagggtc
 241 tgtctggctg gcttgcgaag gatgttagg agtcatctag gggcaacaag taactccag
 301 gcagaggaaa ttgcactggt aaagatctgc agtctgtgct tgtgggtagt gattccaagt
 361 attctggaat gaagacagcc atggaaacaa gggcagtgta gaggatattt aagaggcttc
 421 atgcgaatgg ctccacttca gttcttgata agaacctcag ttccatggac tccctgata
 481 aactgattaa gtgttttatg attcccata gaatgaaac tcaaggagg taagcaagg
 541 ggtgtgtgct attcttggct actggtgca gctgcagccc caactcttc tccagcaat
 601 aaacatttca gcagcttgac ctaagactgc tgtgcagggc agggatgctc caggcagca
 661 gccacgaaa caacagaca cagctgaaag taagactcag aggagacagt tgaagaagg
 721 aagtgccgat ggaacctc acaaatttg cggtgaaaac ctggctctc ctggctgta
 781 gctgtgtgct cctctatctg taagtaactg tccagattcc tctctctgt

配列番号: 114
 >chzk_ch-v-031_318>A
 1 tggtaaccca ccatgtgtac agtaccctgc tagggctccag ggtcatgaaa gtaataata
 61 ccagactgtg cccttgagga actcaacctc gtaaggaa acaggcacag aaaccacaa
 121 ggggtgtaga gaggaatag gacaatagga ctgtgtgagg gggataggag gaaccagag
 181 gggaaatgg ttacatctgt gtgaggagt ttgtaaggaa agactttaat agaagggtc
 241 tgtctggctg gcttgcgaag gatgttagg agtcatctag gggcaacaag taactccag
 301 gcagaggaaa ttgcactggt aaagatctgc agtctgtgct tgtgggtagt gattccaagt
 361 attctggaat gaagacagcc atggaaacaa gggcagtgta gaggatattt aagaggcttc
 421 atgcgaatgg ctccacttca gttcttgata agaacctcag ttccatggac tccctgata
 481 aactgattaa gtgttttatg attcccata gaatgaaac tcaaggagg taagcaagg
 541 ggtgtgtgct attcttggct actggtgca gctgcagccc caactcttc tccagcaat
 601 aaacatttca gcagcttgac ctaagactgc tgtgcagggc agggatgctc caggcagca
 661 gccacgaaa caacagaca cagctgaaag taagactcag aggagacagt tgaagaagg
 721 aagtgccgat ggaacctc acaaatttg cggtgaaaac ctggctctc ctggctgta
 781 gctgtgtgct cctctatctg taagtaactg tccagattcc tctctctgt

配列番号: 115
 >chzk_ch-v-032_546>A
 1 tggtaaccca ccatgtgtac agtaccctgc tagggctccag ggtcatgaaa gtaataata
 61 ccagactgtg cccttgagga actcaacctc gtaaggaa acaggcacag aaaccacaa
 121 ggggtgtaga gaggaatag gacaatagga ctgtgtgagg gggataggag gaaccagag
 181 gggaaatgg ttacatctgt gtgaggagt ttgtaaggaa agactttaat agaagggtc
 241 tgtctggctg gcttgcgaag gatgttagg agtcatctag gggcaacaag taactccag
 301 gcagaggaaa ttgcactggt aaagatctgc agtctgtgct tgtgggtagt gattccaagt
 361 attctggaat gaagacagcc atggaaacaa gggcagtgta gaggatattt aagaggcttc
 421 atgcgaatgg ctccacttca gttcttgata agaacctcag ttccatggac tccctgata
 481 aactgattaa gtgttttatg attcccata gaatgaaac tcaaggagg taagcaagg
 541 ggtgtgtgct attcttggct actggtgca gctgcagccc caactcttc tccagcaat
 601 aaacatttca gcagcttgac ctaagactgc tgtgcagggc agggatgctc caggcagca
 661 gccacgaaa caacagaca cagctgaaag taagactcag aggagacagt tgaagaagg
 721 aagtgccgat ggaacctc acaaatttg cggtgaaaac ctggctctc ctggctgta
 781 gctgtgtgct cctctatctg taagtaactg tccagattcc tctctctgt

【 図 4 - 2 】

配列番号: 116
 >chzk_ch-v-033_550>A
 1 tggtaaccca ccatgtgtac agtaccctgc tagggctccag ggtcatgaaa gtaataata
 61 ccagactgtg cccttgagga actcaacctc gtaaggaa acaggcacag aaaccacaa
 121 ggggtgtaga gaggaatag gacaatagga ctgtgtgagg gggataggag gaaccagag
 181 gggaaatgg ttacatctgt gtgaggagt ttgtaaggaa agactttaat agaagggtc
 241 tgtctggctg gcttgcgaag gatgttagg agtcatctag gggcaacaag taactccag
 301 gcagaggaaa ttgcactggt aaagatctgc agtctgtgct tgtgggtagt gattccaagt
 361 attctggaat gaagacagcc atggaaacaa gggcagtgta gaggatattt aagaggcttc
 421 atgcgaatgg ctccacttca gttcttgata agaacctcag ttccatggac tccctgata
 481 aactgattaa gtgttttatg attcccata gaatgaaac tcaaggagg taagcaagg
 541 ggtgtgtgct attcttggct actggtgca gctgcagccc caactcttc tccagcaat
 601 aaacatttca gcagcttgac ctaagactgc tgtgcagggc agggatgctc caggcagca
 661 gccacgaaa caacagaca cagctgaaag taagactcag aggagacagt tgaagaagg
 721 aagtgccgat ggaacctc acaaatttg cggtgaaaac ctggctctc ctggctgta
 781 gctgtgtgct cctctatctg taagtaactg tccagattcc tctctctgt

配列番号: 117
 >chz1_ch-v-026_229>G
 1 ggagtgacct gattttccag gtgtgtgtg toaccctttt ctttgtactg gaaggggaac
 61 tccctgacct cttggtcttc tcaagtggg caatgctctg ccctgtcttg ctttggccac
 121 agcacctgac acccaactgc ctgacccacc gtctctggac tccctagtga gatgaaccg
 181 gtaactcaga tgaanaatgc gaactcacc gtctctgtgt tcaactcactg tgggagctgt
 241 agaccggagc tgttccattt cggccatttt gctccacc cccagatgtt gcttttaatt
 301 tgaagtgtga ttgatgtgg aagaagata ttgcactgat ttatgagcac atattaga
 361 gctctgagca atgatgtga taaaggtca cctaaggagg aaaaagaaga caagggaaga
 421 cactggaaag aactgtgatg tggggtccc tgggcacca aagtctggag aaaaagtcta
 481 accaaaggc tccagctga gttactaga agactcacc actggtgagc ctatggagc
 541 cttgtataga caagcctga aaagtcttc aatgcaat gtggagctg tcaagcaaa
 601 atgatgtcac gtgtgattt gttgtgtgt gcaagtgtg gttttaaaa atgagaca
 661 taaagcagc cttggagagc gggatcccca tctctgtgt cctgataaca caactcacc
 721 aaagcctttg gaaaccaca agtttgaca aaggcaatcc caacttaca caaa

配列番号: 118
 >chzi_ch-v-027_566>A
 1 taatgaaat agaattatt ttgatggctc taacagtac atttatatc tctgttttat
 61 ctggagcatt ctataatag ttatattaaa gcaatcaat aaaaacctct tacaagaagta
 121 ccaactgata cttctgtgac ctttaaggag aaactctatg aactgaaatg atgagaacaa
 181 caagttaatt atgtgtgat atgttaacca ttgtgtgtg gggcattctg tcaagacctc
 241 atgtgtgata ttaactagat tgaataaaa tcaactgtga ctttgcccat tgtttgaaa
 301 gaactcaat agtttaatta gctctttttt gaaccaagc agtggctcat gctgtatct
 361 ccagcaactt gggaggcaga gttgggtgga tcaactgagg tcaagagttc gagccagcc
 421 tgcacaacat ggtgaaaccc cactctctc aaaaatacaa aacttagtca ggtgtgtgtg
 481 tatgcaacta taactcagc taccagagag cgtgagcagc gagaatcaact tgaactgga
 541 ggacagaggt gcagtgagcc gagacacccc atcaactcc agcctgggtg acagagttag
 601 atctcactc aaaaaaaa aaaaaaaa atgccttttt gaagcacata catttataa
 661 cacaacagc aatcccttat tatattatta gttttgattt aatgttttca acaactctc
 721 cctgatattt cttggagatg ggaacatgtt ttctctacc ctcttgcatt ccaattccaa
 781 ctcccactg tcttactgca atgaacactt aatagaaac agtcaattg cbaattgatt
 841 gggcaaaagg ctaaaacac tcaactcttg tctgttcca ctctctctc tcaactctc
 901 tctgtatgac ctatctacca agtcaattg cagtgtgag ccaagtgtgt gcaaacat
 961 aagtgagaaa agagagctgc atgtgtgtg caactcagc aactagttag gtggagaca
 1021 agtaggtgtt cactgtgaga aaagccccc cctgtgtgtg ggaatccaag caacagaga
 1081 aatgtgtgac acagaggggt ggcctgaaaa

【 図 4 - 3 】

配列番号: 119
 >chz1_ch-v-028_601>A
 1 caaaaattg actggtgtg ttgatgtgac ctataatcc agctaccagc gaggtctgag
 61 caggagaatc actggaact gaggagagc gttgcagtga cccagagcgc accatbaacc
 121 ccagcctctg gtagcagagc gagatccaat ctcaaaaa aaaaaaaa attagcctt
 181 ttgagagcac atcaatttca taactataca ctgaatcctc tatatactta ctgatttga
 241 ttaaatgttc tcaaacatc tccctgtata ttctgtggag atggaaaaca tgtttctta
 301 cactcttgct atccacttc caactccca ctgcttact gcaatgaaca cttaataga
 361 aacgtcaat tggccaattg atggccaac agtcaataca caactatcc tgtctgttc
 421 ccaactcttt ctttaacttc cctctctgag taactatcc tcaagcatt aggtgtgtg
 481 ccagcagatg gttggccacc attaagttag aaaaagagc gttcatggtg tccaagta
 541 agaacctagt aggtgagga tcaagttagt ttcaactgag gaacaacgc cggcctgtgt
 601 tttggagctc aagcaagcag aaaaattgtc gacacagagc gttggctgga aaaaagcgc
 661 agagcctaaa caggctctg agaacatatt taaggctaga gttgagagga gcacccaag
 721 tgggaaggc atgggtgag tttcaacta taaagggatg tgaataata agtaataaa
 781 ctatactgga agccaggtg gtaacttttg cagaanaagc tcaatgattc

配列番号: 120
 >chz1_ch-v-029_464>C
 1 tctttbottt actttccctt cctgagtaac ttatctaaa gtcattaggt ggttggcagc
 61 cagatggttg ccaacatta agttagaaa gagaggttca tgaatgltcc aagtcagaga
 121 cctagttagg ttagatgcaa gtatgtgttc acgtggagaa acagcccgcc cttgtgtgtg
 181 gttlccaagc aagcagagaa aatgtgaca cagaggggtg gctgaaaaa gcagccagag
 241 cctaaacagg ccatggagaa catattagg ccatgaggtg agagagcct caataggtg
 301 gaaggatgg gtgaggttct actacataa gggatgctg agaaacagta aaaaagatt
 361 actggagacc aggtgtgtca cttttgca gaaagatcat ggtatcaga agggagaaaa
 421 ctacagagaa tcaatgaaa ttgatgaaa atgaggttat ccaagtatat taactccct
 481 ctgatgatg aatggctag ataggtgata aaaaagtaac aagagacaa gataataga
 541 tctgatata ttgatgtg ttgtttgtg tgtgtatca aaaaataca cctccactt
 601 cttctcaact atagggctag gtaaacagc calttcaata caaagagca cacttagtg
 661 ccaactttg gttattat acatttcc actgaagga accagagctt tttagagtc
 721 ttgtgtatt cagggcccag ctaagaatg tccaagata cctagacta cactttgtg
 781 caggaagcaa gaagatgct aatgatctc caagtatgt ttgaaatga ttttgaaa
 841 tttttccaa atgatattt caatgattt ccaatgata ttgaaaca ctaaaagc
 901 ccaataaga actattagat ctgataaca aatcagtaa ttgtctgga tacaataca
 961 acatacaaaa accagtaca tttctgcatg ccaacagta caactctgc aaaaataaa
 1021 atgtatacc cttttcaat aaccacaa aaaaataat actgggat taacttaaga
 1081 gaagatgct caaatat atytaaac actgatgag gaaatgag aagacaaa
 1141 aagaagatg atccaatg tatabattg agacttaat atgttaaa atgtcca

配列番号: 121
 >chza_ch-v-034_328>C
 1 caaagcaaaa atggcaaat ggtatgac aagttaaaa gcttctgtac caaaaagaa
 61 caatcaaca aagtgaagc aaaaacaca gaatgggaga aatatttctt aagtccacac
 121 tctgcaaca gattaatag cagaataca gaagcctca caaactctc taagaaaaa
 181 tcaataatc caatcaaaa atgggcaaa ttgataga catlttcca aagaagatc
 241 caaatgcca catagcata tgataagga ctcaacata ctgtgata ggaataagc
 301 aatcaaaa accatgagat atcatctgac ccaagtaaa atgttltta tcaaaaagc
 361 agccaacac aatgcccagc gagaatggtg agaaaagga accctgtgac actgtgtgtg
 421 caatgtggt caactcaat agagaacat tggagctca ccaaacatc taagattac
 481 tcaaatagc gtaacocaa tcccactgct ggtatgac ctggagaa cttgagaa
 541 gaaatcctt tattgaagc ataacatc tcaatltc caaatgca cacttcaaa
 601 atgccaag ttggaagca ctaagtgtc ctcaacaga tgaatgata aagaagatc
 661 tcaaatata caaatggag caaatctag ccaatgaaa agctagat cctgtatct
 721 gtaataat ggtggaact ggaagtatc atgttaagt aaaaagca ggcacagaa
 781 cacagatatt gcaagtctc acatactgt gggatct

【 図 4 - 4 】

```

配列番号: 122
>chzd_ch-v-030_683T-A
1 cattaataat aacatataat agugctacca caatatccag aaatccccat gctgggtgata
61 taactgggaag aagaagaatc atatatatgaa gagataaacat cactccaata ttacaatag
121 ccaactattca caaattgocaa gatitgggaag caacctaaat gcccactcaac agatgaatgg
181 ataaagaag taactccaatt atacaacatg gaccacaatt cagccatgaa aaaaagatg
241 gatcctgtta tctgtataaa tatggatgga acggagagtc atcatgttaa gtgaaataa
301 ccaggacacag aaacacagat attcccaatc ctacataact tgtgggtctc acaaatcaa
361 caactgagc taatgtctgg gctctagcca gttgtgtacc caagtactgg gagacacag
421 tttaaaatc atcatgaatg cttaataaca ttgacagatt cagtacaact ctcaaacgt
481 tgggtgtctc tctgataaac agtatcttcc ttgacagatt cagtacaact ctcaaacgt
541 aagtcctctc atgtatgtt acctcatagg gaattaaagc gcagacaatg atttcaata
601 tttctcttg cagacaaga ccaacttbat tagtggggc acastgtggc tgcatttgg
661 kcccaagcaa caattagact atggtatoba ccaagagtc agaggggatg agagcccaag
721 caactcacc caactgactc caaacaact ctctggtacc caaccatgtg tacatgacc
781 tgcaggaac csggtctatg aaatgaata ataccagct gtgccctgga gtagctacc
841 tctgtaagg gaacacagga tagaaacta caatggtgtg agagagaaa gaggacaata
901 ggactgtgtg aggggatag gaggcacca gaggaggaaa tggttacat ttgtgagga
961 gttgtgtaag gaaaaatltt agcacaagg gtcctctgg ctgggcttgg aaggaatcg
1021 agagctcctc tagagtcac aggtactca caggacaggy gaattctgtt gytaaatg
1081 tgtagggttg cctgtgag atgatttca atbatctag aatgaa

```

```

配列番号: 123
>chzy_ch-v-002_159G-A
1 gattaagctt tcaatgattc ctcatagaac atgaactcaa aagaggtcag caaaggggtg
61 tgtgcatcct ttgtctattg gctgcaacta tagccctgcc tccctctcca gcaataaat
121 ctttcacagc cttggctgaa gatcctgtg cagggcaagc aagctccagc caaacagccc
181 agcaaacagc agcactcagc taaaaggaag actcacagaa cacagtgaa gaagaaagt
241 ggcgATGGAC CTCATCCCAA ATTGGCGGT GGAACCTGG CTCTCTCTGG CTGACACCT
301 GGTGCTCCTC TATCTgtgag taactgtcaa aactcctctc ttgtttctct tggactgg
361 gttgtaactg gcccctcttt ccttatactg tttagaagt caaaagagat gttcaaggag
421 aagtagctga agtgttggac gtlacaaagc atgaagtt atattatct taagaag
481 tatgaatga taataaaga ttctccact ccaacttcta attttgtgga ctgagaggt
541 taaggagcag cacttggtag tgggaatgat ttgattagct tagactgac gaagactaat
601 caatgaaac atgcccagc caga

```

```

配列番号: 124
>chzy_ch-v-003_171C-T
1 gattaagctt tcaatgattc ctcatagaac atgaactcaa aagaggtcag caaaggggtg
61 tgtgcatcct ttgtctattg gctgcaacta tagccctgcc tccctctcca gcaataaat
121 ctttcacagc cttggctgaa gatcctgtg cagggcaagc aagctccagc caaacagccc
181 agcaaacagc agcactcagc taaaaggaag actcacagaa cacagtgaa gaagaaagt
241 ggcgATGGAC CTCATCCCAA ATTGGCGGT GGAACCTGG CTCTCTCTGG CTGACACCT
301 GGTGCTCCTC TATCTgtgag taactgtcaa aactcctctc ttgtttctct tggactgg
361 gttgtaactg gcccctcttt ccttatactg tttagaagt caaaagagat gttcaaggag
421 aagtagctga agtgttggac gtlacaaagc atgaagtt atattatct taagaag
481 tatgaatga taataaaga ttctccact ccaacttcta attttgtgga ctgagaggt
541 taaggagcag cacttggtag tgggaatgat ttgattagct tagactgac gaagactaat
601 caatgaaac atgcccagc caga

```

【 図 4 - 6 】

```

配列番号: 130
>chzv_ch-v-025_224C-T
1 cagtatctct tccctgtttg gaccacatta ccccttcaaca tatgaagcct tgggtggctc
61 ctggtgaga cctctgtctg gttgcaaac ctatgaact agaactcaag gttgctgtgt
121 ctggtcaaac taggggtatg gattacataa cataatgato aaagctctggc ttccctgggtg
181 tggctccagc tgcagaatcg ggtcagtgaa gtttaactcag ctctgtgtgccc cccacacagA
241 ACGRATGAAG GTCAACTCCC TGTCCTGGCC ATCACAGAT CCGACGTGAT CAGAACAGT
301 CTAGTGAAG AATGTATTTC TGCTCTCACA AATCGAAGG taagatccca tttttgaaa
361 ttaataaat gattgacca ctgattaaat ttttattttg aaaaaaacat abattccag
421 aaggtacct aaaaaatgta caggaagtt ccaagtactc tctactctgt cctcccaag
481 ggttaactct tgcactcttg tatattgcaa tatatctca gtatattcat attatcaggt
541 tggcacaana gttaaaatgg caaactacag gctgggcata atggtctatg cctg

```

```

配列番号: 131
>chzv_ch-v-009_320C-A
1 cagtatctct tccctgtttg gaccacatta ccccttcaaca tatgaagcct tgggtggctc
61 ctggtgaga cctctgtctg gttgcaaac ctatgaact agaactcaag gttgctgtgt
121 ctggtcaaac taggggtatg gattacataa cataatgato aaagctctggc ttccctgggtg
181 tggctccagc tgcagaatcg ggtcagtgaa gtttaactcag ctctgtgtgccc cccacacagA
241 ACGRATGAAG GTCAACTCCC TGTCCTGGCC ATCACAGAT CCGACGTGAT CAGAACAGT
301 CTAGTGAAG AATGTATTTC TGCTCTCACA AATCGAAGG taagatccca tttttgaaa
361 ttaataaat gattgacca ctgattaaat ttttattttg aaaaaaacat abattccag
421 aaggtacct aaaaaatgta caggaagtt tctactctgt cctcccaag
481 ggttaactct tgcactcttg tatattgcaa tatatctca gtatattcat attatcaggt
541 tggcacaana gttaaaatgg caaactacag gctgggcata atggtctatg cctg

```

```

配列番号: 132
>ch-v-009_320C-Aのハンチド
1 MMTYBGLP VLAITDHDVI RVLVKRECVI VFNRRSLGP VGFMSAISL AEDEEWKLR

```

```

配列番号: 133
>chzv_ch-v-018_441-444insCTAAAAAT
1 cagtatctct tccctgtttg gaccacatta ccccttcaaca tatgaagcct tgggtggctc
61 ctggtgaga cctctgtctg gttgcaaac ctatgaact agaactcaag gttgctgtgt
121 ctggtcaaac taggggtatg gattacataa cataatgato aaagctctggc ttccctgggtg
181 tggctccagc tgcagaatcg ggtcagtgaa gtttaactcag ctctgtgtgccc cccacacagA
241 ACGRATGAAG GTCAACTCCC TGTCCTGGCC ATCACAGAT CCGACGTGAT CAGAACAGT
301 CTAGTGAAG AATGTATTTC TGCTCTCACA AATCGAAGG taagatccca tttttgaaa
361 ttaataaat gattgacca ctgattaaat ttttattttg aaaaaaacat abattccag
421 aaggtacct aaaaaatgta caggaagtt tctactctgt cctcccaag
481 ggttaactct tgcactcttg tatattgcaa tatatctca gtatattcat attatcaggt
541 atcaggttgg cacaanaagt aaaaatgcta actacaggt gggcataatg gctcactat
601 g

```

```

配列番号: 134
>chzt_ch-v-016_145T-G
1 agcggaaac tcaagggagt atgaataaa gatgagtctt aattagaat gtaagaagt
61 aactctggga caggtgaaa gaaatgactc atgctcgttc caagggatg tccactgact
121 tgcagcttcc taaaatgggt ctttctattc tatgtacaga aagacatca csaatctcat
181 tcaaaaatg cactctcttc tccatgctgt agaagcact atctctctg gatgctgga
241 tgcacatcta actacagcta ctgatctgtt ttgtgctbag ATGTCCCCA TCATTGCCA
61 GTATGGAGAT GTATTGTGTA GAAACTGAG GGGGAAGCA GAGAAGGCA AOCCTCCAC
361 CTTCGAAAG taagttagg acacagcagt ggtttctgag ctgtcatgag cctctccagc
421 tgcctgcat gtagtcgaa gtcgcactgt tgggttactc cagtccagc acaaaagagt
481 gpcagcgtg caactccaaa gtcacactga agagpagtg gctcccaaga gpgpcaggt
541 cagcaaggga aagggcctt cctctctgtg cacaggacc aggttbaact tatctgttaa
601 ctt

```

【 図 4 - 5 】

```

配列番号: 125
>chzy_ch-v-004_418-420delGAG
1 gattaagct tcaatgattc ctcatagaac atgaactcaa aagaggtcag caaaggggtg
61 tgtgcatcct ttgtctattg gctgcaacta tagccctgcc tccctctcca gcaataaat
121 ctttcacagc cttggctgaa gatcctgtg cagggcaagc aagctccagc caaacagccc
181 agcaaacagc agcactcagc taaaaggaag actcacagaa cacagtgaa gaagaaagt
241 ggcgATGGAC CTCATCCCAA ATTGGCGGT GGAACCTGG CTCTCTCTGG CTGACACCT
301 GGTGCTCCTC TATCTgtgag taactgtcaa aactcctctc ttgtttctct tggactgg
361 gttgtaactg gcccctcttt ccttatactg tttagaagt caaaagagat gttcaaggag
421 aagtagctga agtgttggac gtlacaaagc atgaagtt atattatct taagaag
481 tatgaatga taataaaga ttctccact ccaacttcta attttgtgga ctgagaggt
541 taaggagcag cacttggtag tgggaatgat ttgattagct tagactgac gaagactaat
601 caatgaaac atgcccagc caga

```

```

配列番号: 126
>chzx_ch-v-005_187C>T_ch-v-006_191-192insG
1 aggaagaagc ctgatgagt atgcaatta ctgattgttg agttgctgtt atattttatc
61 gttgacatct taccctcttc tcttgacctc tccacttctc cactctttag ATATGGGACC
121 gatctataaa gtcacaatc ctgtgacctg atttctgttt caactttag ATATGGGACC
181 CTCATCTGAT GCACTTTTAA AGAGACTGGG AATTCACAGG CCACACACTC TGCCTTTGT
241 GGGAATGTT TTGCTCATC CTCAGgtgag tgcctgtag tctctctttt gctctcttag
301 gtgcaaaa ctagcttagt tccactcaga aaaaatgccc tctctggagc aggtttctga
361 ggtttccatc tttcagaat ggtggactg ggtgcaagt atcaactgct taactccagc
421 cctctggagg caaactgct caaattgctt gacccaaga gtttg

```

```

配列番号: 127
>ch-v-005_ch-v-006のハンチド
1 MDLILNLAIVE TWLLLAIVSL LLLVYGRIVY GTF
配列番号: 128
>chzw_ch-v-007_143C>T
1 atagacaag ggtgagctct tcaagtacta gagaataatc aagatgact taaatctcc
61 cacttcaat atattctctg tttctctgct tttcccttaa gactctctg aatgactcc
121 tccaactgcc agtgaagat agttagctgt atttctagt agcgaactgt ttccgctccc
181 aattagaggt aggtttatt ctatttaaaa taataatcaa ctgtattttt ttctctctc
241 ccaagctctc TGGAATTTC ACACAGAGTG CTATAAAAGG TATGGAAAAA TTGGGGGGg
301 agtatctga aaactcact tgcagacac tgcactctg agagagttac ccaactcag
361 gatgctctc gcccaggtc tctgaggtg agctctctg caactaaat acaaacagag
421 aagagttctc tgaagaaga ggaataatc ttggagtag aatattgca ttggactctg
481 ctctggctta taactatgt gcaattgag ggaagttaa agacaaga tgcctcag
541 aaaaatctg aagaactcra taactgtttt gagaataa ttgttagcta asaagactaa
601 ta

```

```

配列番号: 129
>chzy_ch-v-008_199C>A
1 cagtatctct tccctgtttg gaccacatta ccccttcaaca tatgaagcct tgggtggctc
61 ctggtgaga cctctgtctg gttgcaaac ctatgaact agaactcaag gttgctgtgt
121 ctggtcaaac taggggtatg gattacataa cataatgato aaagctctggc ttccctgggtg
181 tggctccagc tgcagaatcg ggtcagtgaa gtttaactcag ctctgtgtgccc cccacacagA
241 ACGRATGAAG GTCAACTCCC TGTCCTGGCC ATCACAGAT CCGACGTGAT CAGAACAGT
301 CTAGTGAAG AATGTATTTC TGCTCTCACA AATCGAAGG taagatccca tttttgaaa
361 ttaataaat gattgacca ctgattaaat ttttattttg aaaaaaacat abattccag
421 aaggtacct aaaaaatgta caggaagtt ccaagtactc tctactctgt cctcccaag
481 ggttaactct tgcactcttg tatattgcaa tatatctca gtatattcat attatcaggt
541 tggcacaana gttaaaatgg caaactacag gctgggcata atggtctatg cctg

```

【 図 4 - 7 】

```

配列番号: 135
>chzt_ch-v-019_241T>C
1 agcggaaac tcaagggagt atgaataaa gatgagtctt aattagaat gtaagaagt
61 aactctggga caggtgaaa gaaatgactc atgctcgttc caagggatg tccactgact
121 tgcagcttcc taaaatgggt ctttctattc tatgtacaga aagacatca csaatctcat
181 tcaaaaatg cactctcttc tccatgctgt agaagcact atctctctg gacttctgct
241 gttcaactta actcacagta ctgatctgt ttgtgtctt TGATTTGCCA TCATTTGCCA
301 GTATGGAGAT GTATTGTGTA GAAACTGAG GGGGAAGCA GAGAAGGCA AOCCTCCAC
361 CTTCGAAAG taagttagg acacagcagt ggtttctgag ctgtcatgag cctctccag
421 tgcctgcat gtagtcgaa gtcgcactg tgcactctg caactaaat acaaacagag
481 gpcagcgtg caactccaaa gtcacactga agagpagtg gctcccaaga gpgpcaggt
541 cagcaaggga aagggcctt cctctctgtg cacaggacc aggttbaact tatctgttaa
601 ctt

```

```

配列番号: 136
>chzv_ch-v-010_132-133insGTC
1 atggacatg atagctagat ttgttccag aaaaactcct gctttccaag gatttagatg
61 aatgtttttg tccactgggt actcaagtaa caagctctca agaagccta gggaggttga
121 gggagggagg tcttgaaga gggaggttga ggaactctt ttgtactctc ttctactctc
181 agagctcttc tttgcaaaa gaaactctc cttttgctc tagaccctcc tttttttctc
241 CTAGTGAAG AATGTATTTC TGCTCTCACA AATCGAAGG taagatccca tttttgaaa
301 agtctctg aggtctactg gggggacac taagagggag gctctctg taataattg
361 caggaagtat tccagaga tgagaattt tgccaactg gacacaaca ccaatttga
421 ttttataaat gtagctgga ggcactctc agaagccc aggtatgccc atgttccagg
481 ctgaaagggc aacctaaag caactagaa tcttgaaga caagctagtg ttgttggat
541 caactcaatg agtcaaat ccaactctca gctccctca gatcccaaa gtagaactc
601 ctacttggaa atttatata aacata

```

```

配列番号: 137
>chzy_ch-v-011_364G>T
1 atggacatg atagctagat ttgttccag aaaaactcct gctttccaag gatttagatg
61 aatgtttttg tccactgggt actcaagtaa caagctctca agaagccta gggaggttga
121 gggagggagg tcttgaaga gggaggttga ggaactctt ttgtactctc ttctactctc
181 agagctcttc tttgcaaaa gaaactctc cttttgctc tagaccctcc tttttttctc
241 CTAGTGAAG AATGTATTTC TGCTCTCACA AATCGAAGG taagatccca tttttgaaa
301 agtctctg aggtctactg gggggacac taagagggag gctctctg taataattg
361 caggaagtat tccagaga tgagaattt tgccaactg gacacaaca ccaatttga
421 ttttataaat gtagctgga ggcactctc agaagccc aggtatgccc atgttccagg
481 ctgaaagggc aacctaaag caactagaa tcttgaaga caagctagtg ttgttggat
541 caactcaatg agtcaaat ccaactctca gctccctca gatcccaaa gtagaactc
601 ctacttggaa atttatata aacata

```

```

配列番号: 138
>chzp_ch-v-012_269G>A
1 agataaagta ctttttagat ctttcaagg acacacccat aacactgagt atgtaagaca
61 gaaatgctct ccttggaaat tacagcagtg ctggtgctga gaagcactga tggagctgt
121 tgggcccaca atcatgtaga ccttgggaaa acctggttga aatgatatt tgcctatct
181 ggcctctgat aagatacata tcagaatgaa aacactcctc agtctgat tgaattgctt
241 ttccattttt tcttctggg attagaga tctactaga tttactcaa gcttctctg
301 tgcactgtga cctgatttac ctaaaatgc tttcctctcc ttccagctct GTCTGATCTG
361 GAGCTGGAG CCGAGTAAAT AACCTCAAT TTTCGAGCT ATGAAGCAC CAGCTGTGT
421 CTTCGAAAG taagttagg acacagcagt ggtttctgag ctgtcatgag cctctccagc
481 GAGATGATGAT CAGTTTTCX CAATAGCTG agggaggtc cctctgagt aagaaaga
541 ggtgaaagct tagoaaaa gctcctcag cactccccag gagaattttt gaaagggg
601 taatcactga tctcttact gacataagt aggaactct tggaggaaga aacaaaggg
661 gaaacataga gaaggttgc tactgctag atcaatagat cttgtgaaa taatgtgaa
721 cctggtctcag ctgttactg ttatacaat aatgctaagt aaaaaaaa aaaaaaaa

```

【 図 4 - 8 】

781 aaaaaaaaa aggagtggtg cgagaagatg gccaaacagg aacagc

配列番号: 139
>chzn_ch-v-013_167A>G

1 gtccctgggg tgaggatggt ottgaatc tectacattc ataactcttc cacacatctc
61 agtaggtcac tsgacacatc aatgacatg ccagttatta aataacttca cgaatactat
121 gatcatttac cagtagtagt tattctctgg acgtcttaat acttcaatag tactgctagg
181 actcagttga gagttaactt aaaaactcag attatccaat tctgtttctt tccctccagG
241 CACCACCTAC CTATGATGCC GTGCTACAGA TGGATGACCT TGACATGGTG GTGAATGAAA
301 CACTCAGATT ATTCCAGATT GCTATTAGC TTGAGAGGC TTGCAAGAAA GATPTGAAA
361 TCAATGGGGT ATTCAATCCC AAAGGTCAAA TGGTGGTGA TCCCACTTAT GCCTTCACC
421 ATGACCCAAA GTACTGAGCA GAGCTGAGG AGTTCGCCC TGAAGAGtca aagttccagG
481 ggaatggag ctcaccctga cccagctctg tccaagcata tctctctctt cttaactctc
541 atgacacatg tgggtttgta caatcattg ctgttaagtc ttittatcac aaaaaagtga
601 taattatcaa actttacaaa cccacagacta gaaaaaacga aactacatcc atcccagtc
661 ccagcacagc acaaaagata tcaattatgt cctctggggc attttctcac gccatatag
721 attttcaaaa attagaatgg taccactttt tatttggttt gaattgtctg ttacttgatt
781 taacaggaaa ctatc

配列番号: 140
>chzn_ch-v-017_248-249inst

1 gtccctgggg tgaggatggt ottgaatc tectacattc ataactcttc cacacatctc
61 agtaggtcac tsgacacatc aatgacatg ccagttatta aataacttca cgaatactat
121 gatcatttac cagtagtagt tattctctgg acgtcttaat acttcaatag tactgctagg
181 actcagttga gagttaactt aaaaactcag attatccaat tctgtttctt tccctccagG
241 CACCACCTAC CTATGATGCC GTGCTACAGA TGGATGACCT TGACATGGTG GTGAATGAAA
301 CACTCAGATT ATTCCAGATT GCTATTAGC TTGAGAGGC TTGCAAGAAA GATPTGAAA
361 TCAATGGGGT ATTCAATCCC AAAGGTCAAA TGGTGGTGA TCCCACTTAT GCCTTCACC
421 ATGACCCAAA GTACTGAGCA GAGCTGAGG AGTTCGCCC TGAAGAGtca aagttccagG
481 ggaatggag ctcaccctga cccagctctg tccaagcata tctctctctt cttaactctc
541 atgacacatg tgggtttgta caatcattg ctgttaagtc ttittatcac aaaaaagtga
601 taattatcaa actttacaaa cccacagacta gaaaaaacga aactacatcc atcccagtc
661 ccagcacagc acaaaagata tcaattatgt cctctggggc attttctcac gccatatag
721 attttcaaaa attagaatgg taccactttt tatttggttt gaattgtctg ttacttgatt
781 taacaggaaa ctatc

配列番号: 141
>ch-v-017_248-249inst のヘソチド

1 ALSDELEAAQ SIIPFAYGE TISSVLSFTL YELATHPDVQ QLKQKLDIV LPNKAPH[...]

配列番号: 142
>chzn_ch-v-014_643C>T

1 gtccctgggg tgaggatggt ottgaatc tectacattc ataactcttc cacacatctc
61 agtaggtcac tsgacacatc aatgacatg ccagttatta aataacttca cgaatactat
121 gatcatttac cagtagtagt tattctctgg acgtcttaat acttcaatag tactgctagg
181 actcagttga gagttaactt aaaaactcag attatccaat tctgtttctt tccctccagG
241 CACCACCTAC CTATGATGCC GTGCTACAGA TGGATGACCT TGACATGGTG GTGAATGAAA
301 CACTCAGATT ATTCCAGATT GCTATTAGC TTGAGAGGC TTGCAAGAAA GATPTGAAA
361 TCAATGGGGT ATTCAATCCC AAAGGTCAAA TGGTGGTGA TCCCACTTAT GCCTTCACC
421 ATGACCCAAA GTACTGAGCA GAGCTGAGG AGTTCGCCC TGAAGAGtca aagttccagG
481 ggaatggag ctcaccctga cccagctctg tccaagcata tctctctctt cttaactctc
541 atgacacatg tgggtttgta caatcattg ctgttaagtc ttittatcac aaaaaagtga
601 taattatcaa actttacaaa cccacagacta gaaaaaacga aactacatcc atcccagtc
661 ccagcacagc acaaaagata tcaattatgt cctctggggc attttctcac gccatatag
721 attttcaaaa attagaatgg taccactttt tatttggttt gaattgtctg ttacttgatt
781 taacaggaaa ctatc

【 図 4 - 10 】

配列番号: 208
>chzh_ch-v-038_506C>T

1 tggtaacca ccaatggtac agtaccctgc taggttccag ggtcatgaaa gtaataata
61 ccagcactgt cccitgagga actaccctgc cctgaaggaa acagccacagc aaaccacaaa
121 ggggtgtaga gaggaaatag gacaatagga ctgtgtgagg gggataggag gccaccagag
181 gggaaatgg ttacactctg gtgaggaggt tggtaaggaa agactttaat agaaggggtc
241 tgtctgctgc gctctgcaag gtagtctgag agtcaactag ggggcaaac tactactccg
301 ccagagggaa ttgacttggg aagatctgag agtttggctg tgggggtag gatttcaagt
361 atctggaaat gaagcactgc atgaaacaaa gggcagctga gaggatattt aaagcctctg
421 atgccaatgg ctccacttca gtttctgata agactcaagg tccctgggac tccctgataa
481 aactgattaa gttgtttatg atccccata gaa[...]
541 ggtgtgtag atctcttctg actgctgca ccaactcttc caactctctc caccagcaat
601 gcccagaaa caacagcaca cagctgaaag taagactag agggacagt tgaagaaagc
661 aagtgagaa ggaccctcact caaatttgg cggtagaac atcgctcttc ctggctgca
721 gctgtgtgct cctcatatcg tcaagtaactg tccagatctc tctctctgt
781 gctgtgtgct cctcatatcg tcaagtaactg tccagatctc tctctctgt

配列番号: 209
>chzh_ch-v-039_514D>C

1 tggtaacca ccaatggtac agtaccctgc taggttccag ggtcatgaaa gtaataata
61 ccagcactgt cccitgagga actaccctgc cctgaaggaa acagccacagc aaaccacaaa
121 ggggtgtaga gaggaaatag gacaatagga ctgtgtgagg gggataggag gccaccagag
181 gggaaatgg ttacactctg gtgaggaggt tggtaaggaa agactttaat agaaggggtc
241 tgtctgctgc gctctgcaag gtagtctgag agtcaactag ggggcaaac tactactccg
301 ccagagggaa ttgacttggg aagatctgag agtttggctg tgggggtag gatttcaagt
361 atctggaaat gaagcactgc atgaaacaaa gggcagctga gaggatattt aaagcctctg
421 atgccaatgg ctccacttca gtttctgata agactcaagg tccctgggac tccctgataa
481 aactgattaa gttgtttatg atccccata gaa[...]
541 ggtgtgtag atctcttctg actgctgca ccaactcttc caactctctc caccagcaat
601 gcccagaaa caacagcaca cagctgaaag taagactag agggacagt tgaagaaagc
661 aagtgagaa ggaccctcact caaatttgg cggtagaac atcgctcttc ctggctgca
721 gctgtgtgct cctcatatcg tcaagtaactg tccagatctc tctctctgt
781 gctgtgtgct cctcatatcg tcaagtaactg tccagatctc tctctctgt

配列番号: 210
>chzh_ch-v-051_455T>G

1 caaaaatag ctagggtggt tggatgac ctataatctc agtaccagc gagggtgagc
61 caggagaaic acttgaacct ggagcagag gttgcaatga gccagacgc accattacac
121 tccagcctgg gtgacagagt gagatctcat ctgaaaaaaa aaaaaaaa atcttgccct
181 ttgaaagc acacatttca tacatcaaa ctgaaacctc tatlatacta ttgattttga
241 tttaagttt tcaaacatc tccctgata ttctgggaa agggaaaca ttgttttca
301 caactctg acttcaatct caactctca actgtttact gcatagaca cttaataaga
361 aacagtcaat tggttcaatt ttgggcaac aggttaaaa ccaactctcc ttgtctgtc
421 caactctctt cttaacttct tctctcag taactctatc taagtcaat aggttgggtg
481 agccagatg gtggccacac attaagtag aaaaagagt gtcactgatg ttccaagtc
541 gagactgat aggtgagga tcaagttag gtccactgg gaaacagcc ccgctctgct
601 gttggagttc aagcagagc acaaaagat gacacagag gttggccta aaaaagcagc
661 agagcctaaa ccggcctgag agacatatt taagcagta gttgagagg gcatctagc
721 gttggaggg atggttggg ttctcatca taaaagggat tgatgaaata agtaataaa
781 gtatactgga accagaggtt gtcactttg cagaanaag tcaatgattc

【 図 4 - 9 】

配列番号: 143
>chzn_ch-v-015_351T>C

1 caggccctgc acagatcag tgcctccata atabttttgt aaacagatga tgggtgagtc
61 tcttaccatc cngtatttac ccagctata gabaatttca agatcactgg
121 tctcaaatg ccttttata cgtttgcaaa gaatttttgt catattttt cactttgtc
181 tccaactttt ctctttcac tcttttatt aattctcaat atgtgtttt aactattga
241 tcttcccttg AAMTAGACA CCGAAGGACT TCTTCAACA GAAAACCCA TTGTTTAAA
301 GGTGGATTCA AGAGATGGA CCGTAAGTG AGAATAGtt attotaaga ttttacttt
361 gttcttcaag aaagctgtgc cccagaaac cagagattc aacttagtca ataaacttt
421 gaaaataaga tgggttcat ctaagtact ccatgattg ttgtgtatt ttgacttca
481 ttgactctc ccagactgt ttgactgtg ttgactgtc gtatgataa gggatgacc
541 agtaagtaga cagatagta gactcagct ctctgtctc catagacta cccatcca
601 cctcagata goatta

配列番号: 145
>ch-v-001_406C>A のヘソチド

.. IFAIRLERTC KKVVEINGVF IPKGMVVIF [...]

配列番号: 206
>chyu_ch-v-048_206G>A

1 catttagtcc ttgtggacc ttgatgatt accctgcttc aatttttcc tgaactaata
61 ttcttttga taatgaatg ttttaaacat ataaacatc atggagatg gcaatagga
121 taccacagta tgtcaacc agcttaacga agcttctact gtcatttca accatctc
181 cttaaaagag cctttttgtc ttca[...]
241 tcatatgag ccttgggtg tctctgtg agactctg tctgtgact accctatga
301 actagaact aggttctg ttgtgtgac aactagatg atgattaca taacataag
361 atcaaatgt ccttctctg gttggctcc agctcgagaa tcgggtagt gaatttaat
421 cagctcctt gcccacac agaa

配列番号: 207
>chzk_ch-v-037_230T>C

1 tggtaacca ccaatggtac agtaccctgc taggttccag ggtcatgaaa gtaataata
61 ccagcactgt cccitgagga actaccctgc cctgaaggaa acagccacagc aaaccacaaa
121 ggggtgtaga gaggaaatag gacaatagga ctgtgtgagg gggataggag gccaccagag
181 gggaaatgg ttacactctg gtgaggaggt tggtaaggaa agactttaat agaaggggtc
241 tgtctgctgc gctctgcaag gtagtctgag agtcaactag ggggcaaac tactactccg
301 ccagagggaa ttgacttggg aagatctgag agtttggctg tgggggtag gatttcaagt
361 atctggaaat gaagcactgc atgaaacaaa gggcagctga gaggatattt aaagcctctg
421 atgccaatgg ctccacttca gtttctgata agactcaagg tccctgggac tccctgataa
481 aactgattaa gttgtttatg atccccata gaa[...]
541 ggtgtgtag atctcttctg actgctgca ccaactcttc caactctctc caccagcaat
601 gcccagaaa caacagcaca cagctgaaag taagactag agggacagt tgaagaaagc
661 aagtgagaa ggaccctcact caaatttgg cggtagaac atcgctcttc ctggctgca
721 gctgtgtgct cctcatatcg tcaagtaactg tccagatctc tctctctgt
781 gctgtgtgct cctcatatcg tcaagtaactg tccagatctc tctctctgt

【 図 4 - 11 】

配列番号: 211
>chzh_ch-v-052_577G>A

1 caaaaatag ctagggtggt tggatgac ctataatctc agtaccagc gagggtgagc
61 caggagaaic acttgaacct ggagcagag gttgcaatga gccagacgc accattacac
121 tccagcctgg gtgacagagt gagatctcat ctgaaaaaaa aaaaaaaa atcttgccct
181 ttgaaagc acacatttca tacatcaaa ctgaaacctc tatlatacta ttgattttga
241 tttaagttt tcaaacatc tccctgata ttctgggaa agggaaaca ttgttttca
301 caactctg acttcaatct caactctca actgtttact gcatagaca cttaataaga
361 aacagtcaat tggttcaatt ttgggcaac aggttaaaa ccaactctcc ttgtctgtc
421 caactctctt cttaacttct tctctcag taactctatc taagtcaat aggttgggtg
481 agccagatg gtggccacac attaagtag aaaaagagt gtcactgatg ttccaagtc
541 gagactgat aggtgagga tcaagttag gtccactgg gaaacagcc ccgctctgct
601 gttggagttc aagcagagc acaaaagat gacacagag gttggccta aaaaagcagc
661 agagcctaaa ccggcctgag agacatatt taagcagta gttgagagg gcatctagc
721 gttggaggg atggttggg ttctcatca taaaagggat tgatgaaata agtaataaa
781 gtatactgga accagaggtt gtcactttg cagaanaag tcaatgattc

配列番号: 212
>chzw_ch-v-053_163G>A

1 catagacaag ggtgagctct tcaacttca gaaaaatc aagagtact ttaattccc
61 cacttcaaat atattctctg tttttctgtc ttcccttaa gactctctg aatagcttcc
121 ttaactgccc agtgaagaat agcagcctg atttcaatg ad[...]
181 aatgaggt aggtttatt ctattttaa taataatca ctgtatttt ttctctctc
241 ccaggtctct TGAAMTTG ACACAGAGTG CTATAAAG TAGGAAAAA TTGGGGGtg
301 agtattctga aaactctcat tggtagagc gttcactgg agaaacagc cccactcag
361 gatgtctct gccaggtct tcatggatg aagctctgt caacttca acaaacagag
421 agagttctc tgaagaaga ggaatattc ttggagtag aatattgca ttgactatg
481 ctgctgcta tcaactctg gaaactctg gaaactctg agaaactca agcaagaa
541 aaaaatag aagaactca taactttt gagataata ttgttagcta caaagatca
601 ta

配列番号: 213
>chzw_ch-v-054_444T>A

1 catagacaag ggtgagctct tcaacttca gaaaaatc aagagtact ttaattccc
61 cacttcaaat atattctctg tttttctgtc ttcccttaa gactctctg aatagcttcc
121 ttaactgccc agtgaagaat agcagcctg atttcaatg ad[...]
181 aatgaggt aggtttatt ctattttaa taataatca ctgtatttt ttctctctc
241 ccaggtctct TGAAMTTG ACACAGAGTG CTATAAAG TAGGAAAAA TTGGGGGtg
301 agtattctga aaactctcat tggtagagc gttcactgg agaaacagc cccactcag
361 gatgtctct gccaggtct tcatggatg aagctctgt caacttca acaaacagag
421 agagttctc tgaagaaga ggaatattc ttggagtag aatattgca ttgactatg
481 ctgctgcta tcaactctg gaaactctg gaaactctg agaaactca agcaagaa
541 aaaaatag aagaactca taactttt gagataata ttgttagcta caaagatca
601 ta

配列番号: 214
>chzt_ch-v-043_294T>C

1 agcggaaac tcaaggaggt atgaaataa gatgagttt aabtagaat gtaaaagt
61 aactctggga caggtgaaa gtaagatcc actctcttc caagggtag tcaactgagt
121 tggagcttc caaaaaggt ctcttctctc tagtacaga aagacatca caaactctc
181 tacaatgt cactctctc tcaatctg agaaagcct abctctctg gactctctg
241 tgcacatta actacagga ggttattac ttgtctgtc aatattgca ttgactatg
301 GTATGGAGT GTATTGTA GAAACTTCA CCGGAGCA GAAAGGCA AGCTTCAAC
361 TTGAAAGAG taagtagg caccagcag ggttctgag ctgtcagc cctctcagc
421 tgcctgccat ggaactgca gtcagctgt ttgttactc cagtaccag aaaaagcag
481 ggcagcctg caactcaaa gggccacta agagggagt gctccatga ggcggcagt
541 cagcaagga aagggcctc ctctctgt ccaagagcc aggatttact tctctgta

【 図 4 - 1 2 】

601 ett

配列番号: 215

>ch-v-043_294T>C のヘンテド

1 SLARDEEWKR IRSLLSPIET SGLKLEMPFI TAQYGDVIVR NLRREARKGK PVTLKIDIFGA

配列番号: 216

>cnst_ch-v-055_444G>A

1 agcggaaaac tcaaggaggf atgaaataaa gatgagtcct aattagaat gtaagaatg
61 aatctggggg caaaagagaa agtccgtttt caaagggtat ccaaatcgtt
121 tgcaggtctc caaaaalgt cttttatctt tatgtacaga taaggatcca caaatctaat
181 tcaaaaatgt cactctactc tccatgctgg agaagcccat atctctctgg gatctgatg
241 tgcacattta actacaggtt ctgatctgtt ttgtgcttag ATGTTCOCCA TCATTCOCCA
301 GTATGGAGAT GTATTGGTA GAAACTGGAG CGGGGAAGCA GAGAAAGCCA AGCCTGTCCAC
361 CTGMAAGAG taagtggag caagccatgt ggggtctgag ctgtcatgag cccctccagc
421 tgcctgccat gtagctgcaa gtcctactgt tgggttactc cagtgcacag acaaaagcag
481 ggcagcctgt caactccaaa ggcaccacta agaggagtg gctccatga gggggcaagt
541 cagaacagga aaaggccctt ctctcctgtg caagagagcc agggattact tatctgttaa
601 ett

配列番号: 217

>chzz_ch-v-050_437G>A

1 cagagcttac atatcttata tcatccacac tcaacacatg ctactgtagt tgtctgataa
61 ttgggtctctg tcttctctat agtgggtctc ttgacctcag aactcagctt taaccacttt
121 gytgtctcca tcaaccccag catagggcca gctccatcac tggcaccaga tggcaccaga
181 ctgaggaggat agatggagga gatctcagca gctccatcac tggcaccaga taaccacttt
241 tctcttgact ggatattgtg gtttctctgt gcatgtatag tggagagcag taaaggggag
301 ctgatattaa ttttccatat ctttctccac teagCACTCT TGGGCGCTAC AGCCTGTCCAC
361 TGATTACTGG CACTATCAAT GGAGTGAACA TCGACTCTCT CACAATCCA CAAGACCCCT
421 TTGTGGAGAG CACTAAAGA TCCATAAAT TTGGTTCTTT AGATCCATTA TTCTCTCAA
481 TAAGtatgtg ggcattactt tctttctctc tttttaaaaa taacgctctt ctgtacat
541 aattccacata tctgtacatc aatagttaca aaggtacata tttccatggt ttaagataa
601 tcaaaaatat gtagtaccat tactattgta actaaaaatg ttittgtcaa tctagagccc
721 tcaaacactt tagctgtcaa caccocacca caaacccacc tgccttaagc atccataat
761 caactttctg cctctataga ttgtctatct ctggadactt catagaaata atactatt

配列番号: 218

>chzz_ch-v-056_467A>G

1 cagagcttac atatcttata tcatccacac tcaacacatg ctactgtagt tgtctgataa
61 ttgggtctctg tcttctctat agtgggtctc ttgacctcag aactcagctt taaccacttt
121 gytgtctcca tcaaccccag catagggcca gctccatcac tggcaccaga tggcaccaga
181 ctgaggaggat agatggagga tgatctcagca gctccatcac tggcaccaga taaccacttt
241 tctcttgact ggatattgtg gtttctctgt gcatgtatag tggagagcag taaaggggag
301 ctgatattaa ttttccatat ctttctccac teagCACTCT TGGGCGCTAC AGCCTGTCCAC
361 TGATTACTGG CACTATCAAT GGAGTGAACA TCGACTCTCT CACAATCCA CAAGACCCCT
421 TTGTGGAGAG CACTAAAGA TCCATAAAT TTGGTTCTTT AGATCCATTA TTCTCTCAA
481 TAAGtatgtg ggcattactt tctttctctc tttttaaaaa taactgtctt ctgtacat
541 aattccacata tctgtacatc aatagttaca aaggtacata tttccatggt ttaagataa
601 tcaaaaatat gtagtaccat tactattgta actaaaaatg ttittgtcaa tctagagccc
661 tcaaacactt tagctgtcaa caccocacca caaacccacc tgccttaagc atccataat
721 caactttctg cctctataga ttgtctatct ctggadactt catagaaata atactatt

【 図 4 - 1 4 】

配列番号: 222

>chzp_ch-v-060_496A>C

1 agaaggtgcc atgatctca ctctgtagt ggtgtttctt atgtatagac ctgcccttgc
61 tccgtctccg gctcgaaga agggcaaaa cgtgaaagg aatgggtccc agttagaagt
121 ctgatgtctc ttattcttat tcaaccccag catagggcca gctccatcac tggcaccaga
181 ctgaggaggat agatggagga tgatctcagca gctccatcac tggcaccaga taaccacttt
241 cactttcaat gattcctttt ttttttcccc cagTCACTCT TCATTCCTTT
241 ACCCCAGTTT CTGAACACT AAATGATCTT GGTCTCTCAA AAGATTAATTA AAATTTTAA
301 ACTAAATCTG TAACAGAGAT GAGAAAAGT CSCCTCAACG AAACACAAA gtaaaactt
361 gatgggtggt aaatgcagat gtttaggttt tgaataaatt agattttata ccatgtagg
421 agcatgtatc tgtattttta aaataaaga cagagaactt atgtttagaa caagsgaagc
481 catttgtag aaataagaa gtagagctgg gaagagatg agaatgagtc agagaagatg
541 cattaataac ttagaactgc gacaacaat tagtatgta tgaataaacc agtatgaga
601 taaaatttta ccaactctct tccctttaat aaattgtcaa aggataaagt tctctgttg
661 aaaaatatt

配列番号: 223

>chzp_ch-v-062_173G>A

1 agataaagta ctttttagat ctttcaagc acacacccat aacactgagt atgtaagaca
61 gaaatgctct ccttgaaat tcaagcagt ctctgtctgg gatgccaaga ttagggaggtt
121 gggcccaca atcatgtaga ccttgggaaa acctgagta aaatgatttt ggtctatctt
181 ggcctctgat aagatacala tcaagatgaa aaccactccc agtggactt tgaattgctt
241 ttcctttttt tcttctggg attagagagc ttcacttaga ttccatataa gctgtgatg
301 tgtacgttga cctgatttac ctaaaatgtc ttctctctcc ttccagCTCT CTCTGATCTG
361 GAGCTCGCAG CCGAGCAAT AATCTCAAT TTTCGCGCTC ATGAAACCAC CAGCACTGPT
421 CTTTCTTCA CTTTATATGA ACTGCCACT CACCCTGATG TCCAGCAGAA ACTGCAAAA
481 GAGATTGATG CAGTGTTCGC CAATAAGctg agggatgac cctctggagat gaaggaaga
541 ggtgagacct tagcaaaaat gctctccac cactcccag gagaattttt ataaaagca
601 taactactga tctcttcaat gacataagat aggaagcctc tggagagaaa acaaaagagc
661 gaaacataga gaacggttgc tactgcaaga agcataagat ctttctcaa tatctctg
721 cctggltcac ctgtttctg tttaccatc aatgcctagt aaaaagaaa aaaaaaaaaa
761 aaaaaaaaaa agaggtgtgg cgaagaagat gccacaacgg aacagc

配列番号: 224

>chzp_ch-v-063_312C>T

1 agataaagta ctttttagat ctttcaagc acacacccat aacactgagt atgtaagaca
61 gaaatgctct ccttgaaat tcaagcagt ctctgtctgg gatgccaaga ttagggaggtt
121 tggcccaca atcatgtaga ccttgggaaa acctgagta aaatgatttt ggtctatctt
181 ggcctctgat aagatacala tcaagatgaa aaccactccc agtggactt tgaattgctt
241 ttcctttttt tcttctggg attagagagc ttcacttaga ttccatataa gctgtgatg
301 tgtacgttga cctgatttac ctaaaatgtc ttctctctcc ttccagCTCT CTCTGATCTG
361 GAGCTCGCAG CCGAGCAAT AATCTCAAT TTTCGCGCTC ATGAAACCAC CAGCACTGPT
421 CTTTCTTCA CTTTATATGA ACTGCCACT CACCCTGATG TCCAGCAGAA ACTGCAAAA
481 GAGATTGATG CAGTGTTCGC CAATAAGctg agggatgac cctctggagat gaaggaaga
541 ggtgagacct tagcaaaaat gctctccac cactcccag gagaattttt ataaaagca
601 taactactga tctcttcaat gacataagat aggaagcctc tggagagaaa acaaaagagc
661 gaaacataga gaacggttgc tactgcaaga agcataagat ctttctcaa tatctctg
721 cctggltcac ctgtttctg tttaccatc aatgcctagt aaaaagaaa aaaaaaaaaa
761 aaaaaaaaaa agaggtgtgg cgaagaagat gccacaacgg aacagc

【 図 4 - 1 3 】

配列番号: 219

>chz_ch-v-057_583C>G

1 cagagcttac atatcttata tcatccacac tcaacacatg ctactgtagt tgtctgataa
61 ttgggtctctg tcttctctat agtgggtctc ttgacctcag aactcagctt taaccacttt
121 gytgtctcca tcaaccccag catagggcca gctccatcac tggcaccaga tggcaccaga
181 ctgaggaggat agatggagga tgatctcagca gctccatcac tggcaccaga taaccacttt
241 tctcttgact ggatattgtg gtttctctgt gcatgtatag tggagagcag taaaggggag
301 ctgatattaa ttttccatat ctttctccac teagCACTCT TGGGCGCTAC AGCCTGTCCAC
361 TGATTACTGG CACTATCAAT GGAGTGAACA TCGACTCTCT CACAATCCA CAAGACCCCT
421 TTGTGGAGAG CACTAAAGA TCCATAAAT TTGGTTCTTT AGATCCATTA TTCTCTCAA
481 TAAGtatgtg ggcattactt tctttctctc tttttaaaaa taactgtctt ctgtacat
541 aattccacata tctgtacatc aatagttaca aaggtacata tttccatggt ttaagataa
601 tcaaaaatat gtagtaccat tactattgta actaaaaatg ttittgtcaa tctagagccc
661 tcaaacactt tagctgtcaa caccocacca caaacccacc tgccttaagc atccataat
721 caactttctg cctctataga ttgtctatct ctggadactt catagaaata atactatt

配列番号: 220

>chzz_ch-v-058_650A>G

1 cagagcttac atatcttata tcatccacac tcaacacatg ctactgtagt tgtctgataa
61 ttgggtctctg tcttctctat agtgggtctc ttgacctcag aactcagctt taaccacttt
121 gytgtctcca tcaaccccag catagggcca gctccatcac tggcaccaga tggcaccaga
181 ctgaggaggat agatggagga tgatctcagca gctccatcac tggcaccaga taaccacttt
241 tctcttgact ggatattgtg gtttctctgt gcatgtatag tggagagcag taaaggggag
301 ctgatattaa ttttccatat ctttctccac teagCACTCT TGGGCGCTAC AGCCTGTCCAC
361 TGATTACTGG CACTATCAAT GGAGTGAACA TCGACTCTCT CACAATCCA CAAGACCCCT
421 TTGTGGAGAG CACTAAAGA TCCATAAAT TTGGTTCTTT AGATCCATTA TTCTCTCAA
481 TAAGtatgtg ggcattactt tctttctctc tttttaaaaa taactgtctt ctgtacat
541 aattccacata tctgtacatc aatagttaca aaggtacata tttccatggt ttaagataa
601 tcaaaaatat gtagtaccat tactattgta actaaaaatg ttittgtcaa tctagagccc
661 tcaaacactt tagctgtcaa caccocacca caaacccacc tgccttaagc atccataat
721 caactttctg cctctataga ttgtctatct ctggadactt catagaaata atactatt

配列番号: 221

>chzz_ch-v-059_205T>C

1 agagagtgcc atactctca ctctgtagt ggtgttctct atgtatagac ctgcccttgc
61 tcaagtgcgc gcttgaaga agggcaaaa tgaataaagc aatgggttcc agttagaagt
121 gatagtgttc ttattcttat tcaagtaga gaaataata altyctctgc gtaagcttgc
181 cactttcaat gatttcttct ttttttcccc cagTCACTCT TCATTCCTTT
241 ACCCCAGTTT CTGAACACT AAATGATCTT GGTCTCTCAA AAGATTAATTA AAATTTTAA
301 ACTAAATCTG TAACAGAGAT GAGAAAAGT CSCCTCAACG AAACACAAA gtaaaactt
361 gatgggtggt aaatgcagat gtttaggttt tgaataaatt agattttata ccatgtagg
421 agcatgtatc tgtattttta aaataaaga cagagaactt atgtttagaa caagsgaagc
481 catttgtag aaataagaa gtagagctgg gaagagatg agaatgagtc agagaagatg
541 cattaataac ttagaactgc gacaacaat tagtatgta tgaataaacc agtatgaga
601 taaaatttta ccaactctct tccctttaat aaattgtcaa aggataaagt tctctgttg
661 aaaaatatt

【 図 4 - 1 5 】

配列番号: 225

>chzn_ch-v-044_239T>C

1 cagggctggc acagagtcag tgcctcaata atattttgtt aaacgatgga tggtagtgc
61 ttttactatc cagtatctac ccaacttata gattaagat gtagagttca agatatactg
121 ttttaagagt cgtttttata tggctgcaa gaattttgt catatttttt ctactttgt
181 tccatttttt cttctttcaa tccatttttt aatttccat atgtgttttt aactatttga
241 gATCCCTCTG AAATGATCTT GGTCTCTCAA CCGAAGTGG AGAATGAGT attctagaa tttctactt
301 gctctcaaga aagctgtgac cccagaacac cagagagttc aactatgca ataaactt
421 gaaataaaga tggccttaat ctaagtgtc ctgagtagt tgggtgtttt tgcacttca
481 ttgagctctc ccagagctgc ttagagagtt tggcttatc tagtatataa ggaagtacc
541 aggtaagtga cagatagga gactcagctt ctctctttat atcagactca cctctagacc
601 cctctagta gatta

配列番号: 226

>chzy_ch-v-066_380T>C

1 gattaagctt ttcactgatc ctcatagac atgaactcaa aagaggtcag caaaggggtg
61 ttggcagatc ttgtctatg gctgcagta tagccctgcc tcttttcca gcaataaact
121 gttctcagc ctgtctgaa gactgctg cagggcaggg agctccagg caaacagccc
181 agcaaacagc agcaactcag taaaagaa actccacaga cacagttaga gaagaaagt
241 ggcagAGGAC CTCATCCCAA ATTTGGCGGT GGAACACCTG CTCTCTCTG CTCTGACCT
301 GGTGCTCTCT TACTTgtgag taactgtcca aactcctctc tttgttctct tggacttggg
361 ggtcaatgc ggcctctttt ccttatctg ttttgaagat aaaaagatg gttcaagag
421 aagtactgca agtgttggac gtcacaacg catagaactt atttatctt tatgcagat
481 tatgaatgaa taaaatagca tttctccat aactcctctc attttgtga ctagagaggt
541 ttgaggagc catttgtag tggaaatgat ttgattagt tagatctgac gaagactaat
601 caatgaaac atggcagcgg caga

配列番号: 227

>chzy_ch-v-067_474G>A

1 gattaagctt ttcactgatc ctcatagac atgaactcaa aagaggtcag caaaggggtg
61 ttggcagatc ttgtctatg gctgcagta tagccctgcc tcttttcca gcaataaact
121 gttctcagc ctgtctgaa gactgctg cagggcaggg agctccagg caaacagccc
181 agcaaacagc agcaactcag taaaagaa actccacaga cacagttaga gaagaaagt
241 ggcagAGGAC CTCATCCCAA ATTTGGCGGT GGAACACCTG CTCTCTCTG CTCTGACCT
301 GGTGCTCTCT TACTTgtgag taactgtcca aactcctctc tttgttctct tggacttggg
361 ggtcaatgc ggcctctttt ccttatctg ttttgaagat aaaaagatg gttcaagag
421 aagtactgca agtgttggac gtcacaacg catagaactt atttatctt tatgcagat
481 tatgaatgaa taaaatagca tttctccat aactcctctc attttgtga ctagagaggt
541 ttgaggagc catttgtag tggaaatgat ttgattagt tagatctgac gaagactaat
601 caatgaaac atggcagcgg caga

配列番号: 228

>chzu_ch-v-068_359G>A

1 gaacagttcc atcacaacgt gagcatttgc aataaaggg agactgagat atagagagc
61 gagaccacac cagatggctg ggtctcccca cctccacucc cggcccacat acactcaata
121 gagcctagcc atctaggat tccattgag atcttgagca tggcttcca taatactga
181 tacaatcaat aaatatttct taataaagga tgccttcca atatttttt tgcaccactt
241 agabaacca caactaagct gaaaaaaat gttctgttg aactctagtc TTTCGCGCTC
301 CTGCGATTA TGAARATGTC CACTCTCTTA CTGCGAGAT GAGATAGAA GAGATAGAA
361 TCACTCTCTT CCAACACTCT CACCACCGGA AAACCAAGG AGtatgaaa atagatgag
421 tcttaatag aaatgaaag aatgaactg gggcagctga gaagtagaa tcaagctccg
481 tttccaaagg gtagctcact ggttgcag tttccaaaa tttcttcta tctttatga
541 cagaaaagac atcacaact tcaatacaa atgtcacta atgtcctact ctggagaaag
601 ceatatctt ctggagctg agtctg

【 図 4 - 1 6 】

```

配列番号: 229
>ch-v-068_3590>Aのヘフド
1 SVFTNRRSLG PVGFKSAS LAEDEENKRI [S]LLSPTPTS GKIKEMFPII AQYGDVLRVN

配列番号: 230
>chzu_ch-v-047_404T<C
1 gaacagttcc ctaccaagtg gagcatttgc aattaaagg agactgagat atagaggcaag
61 gagaccacac cagatggctg ggcttcccca ctcccacccc cgcaccacat acactcagaa
121 gaggtcagcg atctaggatc tccattgagc atcttgaaata tggcttgcca taatatcata
181 tacagtcaat aatatttggg taataaagga tgcctcttca atattattttg tgcacacatg
241 aagatcaccg caactaatgt gagaaaaaat gttctgtgtg aactctagTC TTTAGGCCCA
301 GTGGGATTTA TGA AAAAGTGC CACTCTTTTA GCTGAGGATG AAGAATGGAA GAGAATACGG
361 TCATTTGCTGT CTCCAACCTT CACCAGCGGA AAATCAAGG AGGatgaaa ataatgatgag
421 tcttaatttg aaatytaaa aatgaatctg gggacagga gaaagtgaag tccactgctg
481 tttccaaagg gtagtccact gagttggggc tttcctaaaa tggctctttaa tctttatgta
541 cagaaaagac atocaaaat tcaatacaaa atgtcactta ctgctccatg ctggagaag
601 ccatatcctt ctgggacttg agtctg

配列番号: 231
>chzu_ch-v-069_480C>A
1 gaacagttcc ctaccaagtg gagcatttgc aattaaagg agactgagat atagaggcaag
61 gagaccacac cagatggctg ggcttcccca ctcccacccc cgcaccacat acactcagaa
121 gaggtcagcg atctaggatc tccattgagc atcttgaaata tggcttgcca taatatcata
181 tacagtcaat aatatttggg taataaagga tgcctcttca atattattttg tgcacacatg
241 aagatcaccg caactaatgt gagaaaaaat gttctgtgtg aactctagTC TTTAGGCCCA
301 GTGGGATTTA TGA AAAAGTGC CACTCTTTTA GCTGAGGATG AAGAATGGAA GAGAATACGG
361 TCATTTGCTGT CTCCAACCTT CACCAGCGGA AAATCAAGG AGGatgaaa ataatgatgag
421 tcttaatttg aaatytaaa aatgaatctg gggacagga gaaagtgaag tccactgctg
481 tttccaaagg gtagtccact gagttggggc tttcctaaaa tggctctttaa tctttatgta
541 cagaaaagac atocaaaat tcaatacaaa atgtcactta ctgctccatg ctggagaag
601 ccatatcctt ctgggacttg agtctg

配列番号: 232
>chzu_ch-v-061_194C>G
1 attggacatg atagctagat ttgtttcagg aaaaatcctt gctttccaaag gatttagatg
61 aatgtrtttg tbaactgctg acctcaggtaa cagctcttcca ggaagccaba ggaagyltga
121 gggagggaa tcaagatgag agtttgagga ctgcaactttt gcttctctc tgaactcaag
181 agtcaacttt tgdgaagaa atctctctt ttgtctctag CACCACCTAG ATTTCCTTCA
241 GCTGATGATT GACTCCAGA ATTCGAAGA ACCTGATTC CACAAGTGA accaagagat
301 gcttctgagg gctactggcg gggacactaa gggggggggc ctgttctgta aaatgtcag
361 gaagtattcc aggaagatga gaatttttgc cacatagcag acaacacac acattagatg
421 tataaatgtt agctggaggc actttccaga agcccacagg tatagccatg ttcagagctg
481 aaagggcaac ctaagccaaa cctagaatgc ttggaggaca gtcagtggtt tglggatcac
541 ctacatgaga tcaaatgcca gttctcagoc tctccagat ccacaagtg agaacctcta
601 cttggaattt tatacaaac ata

配列番号: 233
>chzu_ch-v-045_291T<C
1 caggcctggc acagagtcag tgctccataa atattttgtt aaacagtga tggtagtgc
61 ttttactatc cagatattac ccagcttata gattaatgat gaaagttca agatacatg
121 ttttaagagt cgttttata tgcttgcaa gcaattttgtt catatttttt ctactttgct
181 tccatctttt ctcttttcc ttcatttatt aatttccat atgcttggtt aactattgta
241 gATCCCCCTG AATTAGACA CCGAAGGACT TCTTCAACCA GAAAACCCA CTTCCTTAAA
301 GGTGGATTTA AGAGATGGAA CCTAAGTGG AGAATGagtt attotaagga tttactttt
361 gytctcaag aaagctgtc ccagaacac cagagatttc aacttagtca ataaaactt

```

【 図 4 - 1 7 】

```

421 gaaataaaga tggcctaat ctaatgact gcatgagtag ttgggtattt tgtacattca
481 ttgagctctc ccagagctctg ttttagatgt tttgcaattat ttagtataaa ggggtgacc
541 agttaaagta cagataggtg gactcagctt ctctgtcttt catagagcta cctcaccaca
601 cctctagtta gcaatta

配列番号: 234
>ch-v-045_291T<Cのヘフド
1 MRPALMMMKL ALIRVLQNF8 FKPKETQIP LKLDLQGLLQ PEKE[V]LKVLD SRDGLTSGE.

配列番号: 235
>chz_k_ch-v-065_563T<C
1 ttgtcaocca ccaatgttac agtaccctgc tagygtccag ggtcatgaaa gtaataata
61 ccagactgtg cctctgagga actccactct gctaaaggaa acaggcacag aaaccacaa
121 ggggtgtaga gagaaaatag gacaatagga ctgtgtgagg gggataggag tccaccagag
181 gaaagaaatg ttaacatctg gtgaggagg ttgtaaggaa agactttaat agaagggctc
241 ttctctggctg gcttgcaag gatgtgtagg agtcatctag ggggcaaacg tacactccag
301 cagagaggaa ttgcaatggg aaagatctgc agttgtggct gggggatgatt gattcaagt
361 attctggaaat gaagacagcc atggaacaa gggcaggtag gaggatattt agaggtctt
421 atgcaaaag ctccacttca gtttctgata agaactcagg ttcctggac tccctgataa
481 aactgattaa gtgtttatg atctcccaaa gaattatgac tcaaggaag taagcaaac
541 ggtgatgagc attcttctg actggtctga adggctgca cactctctc tccagacat
601 aaacttttca gcaagctgac ctaagactgc tgtcagcggc agggatgctc caggacaga
661 acccagcaaa caacagcaca cagctgaag taagactcac agggagcagt tgaagagggc
721 aagtggcagc ggaactcac ccaaatltag cgggtgaaac ctggtctctc ctggcgttca
781 gctctgtgct cctctatctg tcaagtaact tccagattcc tctctctgt

配列番号: 236
>chz1_ch-v-040_206C>T
1 ggaatgacat gattttccag gtgctgctg tcaacccttt ctttgactg gaaagggaa
61 tctctgacc ctgagcttc tcaagtgagg caatgctctc cctctctc gcttgagcac
121 agcaagctgc accactgttc ctgaccacc tgtctggac tccctagtga gatganccg
181 gtacctca tgaataatgca gaaat[accr] gttcttctgt tcaactcac tggagctgt
241 agaccggagc tgttctatlt cggcctatlt gctctcaact ccagatgatt gcttttat
301 tgaagatgta ttgatgtgg aagagataa tgcactgca ttatgacac acattagagg
361 gctctgagca atgcatgtga taaaagttca cctaaggaca aaaaaagaa caagggagta
421 cactggaaag aactgtatgc tgggggtccc tgggcaoca aagtctggag aaagtggta
481 accaaagcc tcccagccta gttctcacta agactctcac actaggtgac ttagtggatc
541 ctgttagga caagccttga aaagtttac aatgacaa gtggagcttg tcaagaacca
601 atgattgac gtgtgtatt gtgtgtgt gtcaagtggt gtgtttaaa atcaatcaaa
661 ataaagcagc ctgtgagag gggatttcca tgtctgtgt cctgtataca caactatcac
721 aaacgcttg cyaaaccaca agtttgaca aaggcaatcc caacttaca caaaa

```

【 図 5 】

```

>PKK233-21 におけるCYP3A5 挿入断片(配列番号:144)
1 ccATGgtctc gttattagca gttctctcgg tgcctctcta tctatfagg ACCCGTACAC
61 ATGGACTTTT TAAGAGATCG GGAATTCOAG GGCCCAACAC TCTGCTTTG TGGGAAATG
121 TTTTCTCTTA TCGTCAGGCT CTCTGGAAAT TTGACACAGA GTGCTATAA AAGTATGGAA
181 AAATGTGGGG ACGTATGAAA GGTCAACTCC CTGTGCRGGC CATCACAGAT CCCGAGTGA
241 TCAGAACAGT GCTATGAAA GAATGTTATT TGTCTTTCAC AAATCGAAGG TCTTTAGGCC
301 CAGTGGGATT TATGAAAAGT GCCATCTCTT TAGCTGAGGA TGAAGAATGG ARGAGAATC
361 GGTCAATGCT GTCTCAACC TTCACAGCGG GAAAACCAA GGAGATGTC CCCATCATTG
421 CCCGATATGG AGATGTATG GTGAAAACCT TGAGCGGGA AGCAGAGAAA GGCAAGCCTG
481 TCACCTTAAA AGACTCTCTT GGGCCCTACA GATGGATGT GATTAGTGGC ACATCATTTG
541 GATGACACT CACTCTCTC ACATATCCAC AACGCCCTTT TGTGGAGAC ACTAAGACT
601 TCTAATAATT TGGTTCCTTA GATCCATPAT TTCTCTCAAT AAHACTTCTT CCAATCTTAA
661 CCCAGTTT TGAAACATAA AATGTCTCTC TGTTCCAA AAAGACATA AATTTTAAA
721 GTAAATCTGT AAACAGATG AAGAAAAGTC GCCTCAACGA CAAACAAAAG CACCAGCTAG
781 ATTTCCITCA GCTGATGATT GACTCCAGA ATTCGAAGA AACTGATGCC CACAAAGCTC
841 TGCTGATCTT GAGCTCGCA GCCCAGTCAA TAATCTTCAT TTTTCTGGC TATGAAACCA
901 CCAGCAGTGT TCTTCTCTC ACTTTATATG AACTGGCCAC TCACCCTGAT GTCCACAGA
961 AACTGCARAA GGAGATGAT GCAGTTTTCG CCAATAAGCC ACCACCTAAC TATGATCCCG
1021 TGATACAGAT GGAATACCTT GACTGTTGG TGAATGAAAC ACTCAGATTA TCCCGTGTG
1081 CTATTAGACT TGAGAGACT TGCAGAAAG ATGTTGAAAT CATGGGATA TCCATGCCA
1141 AAGGCTCAAT GGTGGTATT CCAATTTATG CTCTTCAACA TGACCAAAAG TACTGACAG
1201 AGCTCAGAGA CTTCGCCCTT GAAAGTTC AATAAGAAA GACAGACATA GATCTTACA
1261 TATACACACC CTFTGAACT GACCCAGAA ACTGCATTCG CATGAGTGT GCTCTCAGA
1321 ACATGAAACT TGCCTTACT AGACTCTTC AGAACTTCTC CTTCAAACT TGTAAAGAAA
1381 CACAGATCCC CTGAAATTA GACACGCAAG GACTTCTTCA ACCAGAAAA CCATTTGTC
1441 TAAAGTGA TTCAAGAGAT GGAACCTTAA GTGGAGACA tcaaccac ccaatcTGA
1501 atctgag

```

【国際公開パンフレット】

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau(43) International Publication Date
11 July 2002 (11.07.2002)

PCT

(10) International Publication Number
WO 02/053775 A2

- (51) International Patent Classification: C12Q 1/68 24, 82347 Bernried (DE); HUSTERT, Elisabeth [DE/DE]; Geschwister Scholl Ring 2, 82110 Giermering (DE).
- (21) International Application Number: PCT/EP01/15290 (74) Agent: VOSSIUS & PARTNER; Sieberstrasse 4, 81675 Munich (DE).
- (22) International Filing Date: 21 December 2001 (21.12.2001) (81) Designated States (national): AE, AG, AI, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GL, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LI, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, NG, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (25) Filing Language: English (84) Designated States (regional): ARIPO patent (GH, GM, KI, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW); Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM); European patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR); OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NI, SN, TD, TG).
- (26) Publication Language: English
- (30) Priority Data:
001286277 28 December 2000 (28.12.2000) EP
60258.684 28 December 2000 (28.12.2000) US
60258.952 29 December 2000 (29.12.2000) US
01100172.4 16 January 2001 (16.01.2001) EP
60262.859 18 January 2001 (18.01.2001) US
01118884.4 16 August 2001 (16.08.2001) EP
60312.825 16 August 2001 (16.08.2001) US
- (71) Applicant (for all designated States except US): EPIDAU-ROS BIOTECHNOLOGIE AG [DE/DE]; Am Neuland 1, 82347 Bernried (DE).
- (72) Inventors: and
(75) Inventors/Applicants (for US only): WOJNOWSKI, Leszek [DE/DE]; Ubenauerstrasse 9, 80637 München (DE); HABERL, Michael [DE/DE]; Waxensteinstrasse
- Published:**
without international search report and to be republished upon receipt of that report
- For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.*

(54) Title: IDENTIFICATION OF THE GENETIC DETERMINANTS OF THE POLYMORPHIC CYP3A5 EXPRESSION

WO 02/053775 A2

(57) Abstract: The present invention relates to a polymorphic CYP3A5 polynucleotide. Moreover, the invention relates to genes or vectors comprising the polynucleotides of the invention and to a host cell genetically engineered with the polynucleotide or gene of the invention. Further, the invention relates to methods for producing molecular variant polypeptides or fragments thereof, methods for producing cells capable of expressing a molecular variant polypeptide and to a polypeptide or fragment thereof encoded by the polynucleotide or the gene of the invention or which is obtainable by the method or from the cells produced by the method of the invention. Furthermore, the invention relates to an antibody which binds specifically the polypeptide of the invention. Moreover, the invention relates to a transgenic non-human animal. The invention also relates to a solid support comprising one or a plurality of the above mentioned polynucleotides, genes, vectors, polypeptides, antibodies or host cells. Furthermore, methods of identifying a polymorphism, identifying and obtaining a product or an inhibitor are also encompassed by the present invention. In addition, the invention relates to methods for producing a pharmaceutical composition and methods of diagnosing a disease. Further, the invention relates to a method of detection of the polynucleotide of the invention. Furthermore, comprised by the present invention are a diagnostic and a pharmaceutical composition. Even more the invention relates to uses of the polynucleotides, genes, vectors, polypeptides or antibodies of the invention. Finally, the invention relates to a diagnostic kit.

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

Identification of the genetic determinants of the polymorphic CYP3A5 expression

The present invention relates to a polymorphic CYP3A5 polynucleotide. Moreover, the invention relates to genes or vectors comprising the polynucleotides of the invention and to a host cell genetically engineered with the polynucleotide or gene of the invention. Further, the invention relates to methods for producing molecular variant polypeptides or fragments thereof, methods for producing cells capable of expressing a molecular variant polypeptide and to a polypeptide or fragment thereof encoded by the polynucleotide or the gene of the invention or which is obtainable by the method or from the cells produced by the method of the invention. Furthermore, the invention relates to an antibody which binds specifically the polypeptide of the invention. Moreover, the invention relates to a transgenic non-human animal. The invention also relates to a solid support comprising one or a plurality of the above mentioned polynucleotides, genes, vectors, polypeptides, antibodies or host cells. Furthermore, methods of identifying a polymorphism, identifying and obtaining a pro-drug or drug or an inhibitor are also encompassed by the present invention. In addition, the invention relates to methods for producing of a pharmaceutical composition and to methods of diagnosing a disease. Further, the invention relates to a method of detection of the polynucleotide of the invention. Furthermore, comprised by the present invention are a diagnostic and a pharmaceutical composition. Even more, the invention relates to uses of the polynucleotides, genes, vectors, polypeptides or antibodies of the invention. Finally, the invention relates to a diagnostic kit.

The CYP3A enzymes play a particularly important role in drug metabolism. This is due to their abundant expression in the liver combined with a broad substrate spectrum. Indeed, it is estimated that CYP3A isozymes collectively comprise the largest portion of the liver CYP protein (Thummel, *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 38 (1998), 389-430) and that they are involved in the metabolism of 45 % - 60 % of all currently used drugs (Li, *Toxicology* 104 (1995), 1-8; Evans, *Science* 286 (1999), 487-91). In addition to drugs, CYP3A isozymes metabolise a variety of other compounds including steroid hormones, toxins and carcinogens. For example, CYP3A isozymes metabolise aflatoxin B₁ (Wang, *Biochemistry*

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

37 (1998), 12536 - 45; Gillam, Arch Biochem Biophys 317 (1995), 374-84; Li, Cancer Res 57 (1997), 641-5), a mycotoxin strongly implicated in the etiology of liver cancer, which is a major cause of premature death in many areas of Africa and Asia (Henry, Science 286 (1999), 2453-4).

The hepatic expression and activity of CYP3A isozymes is inter-individually variable and this variability is the reason for harmful interactions frequently encountered in development and application of drugs that are CYP3A substrates. It has also been postulated that variable CYP3A expression could affect an individual's predisposition to cancers caused by environmental carcinogens which are metabolised by CYP3A. The elucidation of factors controlling an individual's CYP3A activity could permit personalised dose adjustments in therapies with its substrates and also lead to the identification of sub-populations at increased risk for several common cancers. However, despite considerable efforts, our understanding of factors governing CYP3A activity and expression is limited. There are several reasons for this: An average human liver may express products of up to four CYP3A genes (Gellner, Pharmacogenetics 11 (2001), 111 - 121), but their respective contributions to the hepatic CYP3A pool are still a matter of debate. The differentiation between the individual CYP3A proteins by enzymatic methods has proven difficult due to overlapping substrate specificities and due to the considerable effect of reconstitution conditions on their catalytic activities. RNA and protein analysis indicate that CYP3A4 forms the bulk of the hepatic CYP3A protein and its expression is highly variable (Thummel, Annu Rev Pharmacol Toxicol 38 (1998), 389-430). Less well understood are the contributions of the other CYP3A genes. CYP3A5 is widely considered the second most important CYP3A protein in the liver, but the available data are conflicting, since its expression has been reported to be present in 10 % to 97 % of human livers (Aoyama, J Biol Chem 264 (1989), 10388-95; Wrighton, Mol Pharmacol 38 (1990), 207-13; Schuetz, Pharmacogenetics 4 (1994), 11-20; Jounaidi, Biochem Biophys Res Commun 221 (1996), 466-70; Boobis, Br J Clin Pharmacol 42 (1996), 81-9). The possible reasons for these discrepancies include small sample sizes, interethnic differences and poor specificity of probes used to measure CYP3A5 expression. The third CYP3A, CYP3A7, was originally described in the human fetal liver where it accounts for about 50 % of the total CYP protein (Wrighton, Biochem Pharmacol 37 (1988), 3053-5). More recent studies indicate constitutive or induced expression of CYP3A7 in adult human livers, but its quantification has been hampered by the lack of specific antibodies. Similarly, no protein expression

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

data are available for the recently identified fourth member of the family, CYP3A43 (Gellner, Pharmacogenetics 11 (2001), 111 - 121).

Clinical studies indicate that a major portion of the inter-individual CYP3A variability is caused by genetic factors (Ozdemir, Pharmacogenetics 10 (2000), 373-88), but the identities of the latter remain unknown. In respect of CYP3A5, a protein variant (Thr398Asn) has been found in 2 out of 5 individuals deficient in CYP3A5 expression (Jounaidi, Biochem Biophys Res Commun 221 (1996), 466-70), but its significance has not been verified on a larger number of liver samples and in functional studies. In addition, a haplotype consisting of two linked polymorphisms has been described in the 5' flanking region of the CYP3A5 gene which is associated with increased expression and activity of the gene (Paulussen, Pharmacogenetics 10 (2000), 415-24). However, only a small sample set (n=29) was analysed for the genotype and the phenotype. Moreover, the single nucleotide polymorphisms (SNPs) which have been disclosed in said document are not suitable for a reliable prediction of CYP3A5 dysfunction and/or dysregulation and the problems caused thereby. This document does not suggest the existence of further haplotypes.

Thus, improved means and methods for diagnosing and treating a variety of diseases and disorders based on dysfunctions or dysregulations of drug metabolism were not available yet but are nevertheless highly desirable. Thus, the technical problem underlying the present invention is to comply with the above specified needs.

The solution to this technical problem is achieved by providing the embodiments characterized in the claims.

Accordingly, the present invention relates to a polynucleotide comprising a polynucleotide selected from the group consisting of:

- (a) a polynucleotide having the nucleic acid sequence of SEQ ID NO: 54, 56, 58, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 106, 108, 110, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 128, 129, 130, 131, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 142, 143, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 193, 195, 197, 199, 201, 207, 208,

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

- 209, 210, 211, 212, 213, 214, 216, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 231, 232, 233, 235, or 236;
- (b) a polynucleotide encoding a polypeptide having the amino acid sequence of SEQ ID NO: 127, 132, 141, 215, 229, or 234;
- (c) a polynucleotide capable of hybridizing to a CYP3A5 gene, wherein said polynucleotide is having a nucleotide exchange, a nucleotide deletion of at least one nucleotide, or at least one additional nucleotide at a position corresponding to position -20643, -20555, -20359, -20367, -20329, -20323, -20310, -6200, -6177, -4336, -3990, -3868, -3844, -3557, -1617, -795, -86, -74, 136, 174 to 176, 230, 3705, 3709/3710, 5215, 5235, 5516, 7182, 7207, 7303, 7424/7427, 12907, 13028, 13077, 13173, 13226, 13376, 14720, 14836, 14903, 15788, 16079, 16931/16932, 16993, 17163, 19069, 19165, 19208, 27050, 27131/27132, 27526, 31499, 31551 or 31611 of the CYP3A5 gene (Accession No: AF280107.1, wherein position 166220 has been numbered +1 and position 174832 has been numbered +8613, and Accession No: AC005020.2, wherein position 27341 has been numbered +8614);
- (d) a polynucleotide capable of hybridizing to a CYP3A5 gene, wherein said polynucleotide is having an A at a position corresponding to position -20555, -20329, -20323, -4336, -3868, -3844, -795, -86, 230, 5235, 5516, 7182, 7303, 12907, 13028, 13376, 19069 or 19165 of the CYP3A5 gene (Accession No: AF280107.1, wherein position 166220 has been numbered +1 and position 174832 has been numbered +8613, and Accession No: AC005020.2, wherein position 27341 has been numbered +8614), a T at a position corresponding to position -20367, -6200, -74, 3705, 5215, 7207, 14836, 17163, 19208 or 27526 of the CYP3A5 gene (Accession No: AF280107.1, wherein position 166220 has been numbered +1 and position 174832 has been numbered +8613, and Accession No: AC005020.2, wherein position 27341 has been numbered +8614), a G at a position corresponding to position -6177, -3990, 13077, 14720, 14903, 16993 or 27050 of the CYP3A5 gene (Accession No: AF280107.1, wherein position 166220 has been numbered +1 and position 174832 has been numbered +8613, and Accession No: AC005020.2, wherein position 27341 has been numbered +8614), a C at a position corresponding to position -20643, -20310, -3557, -1617, 136, 13173, 13226, 15788, 16079, 31499, 31551 or

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

- 31611 of the CYP3A5 gene (Accession No: AF280107.1, wherein position 166220 has been numbered +1 and position 174832 has been numbered +8613, and Accession No: AC005020.2, wherein position 27341 has been numbered +8614), nucleotide deletions at positions corresponding to positions 174 to 176 of the CYP3A5 gene (Accession No: AF280107.1, wherein position 166220 has been numbered +1 and position 174832 has been numbered +8613), an additional nucleotide at a position corresponding to position 3709/3710 or 27131/27132 of the CYP3A5 gene (Accession No: AF280107.1, wherein position 166220 has been numbered +1 and position 174832 has been numbered +8613, and Accession No: AC005020.2, wherein position 27341 has been numbered +8614), three additional nucleotides at a position corresponding to position 16931/16932 of the CYP3A5 gene (Accession No: AF280107.1, wherein position 166220 has been numbered +1 and position 174832 has been numbered +8613, and Accession No: AC005020.2, wherein position 27341 has been numbered +8614), or a deletion of two nucleotides and nine additional nucleotides inserted at a position corresponding to position 7424 to 7427 of the CYP3A5 gene (Accession No: AF280107.1, wherein position 166220 has been numbered +1 and position 174832 has been numbered +8613);
- (e) a polynucleotide encoding a CYP3A5 polypeptide or fragment thereof, wherein said polypeptide comprises an amino acid substitution at a position corresponding to position 30, 100, 130, 149 or 488 of the CYP3A5 polypeptide (Accession No: NP_000768.1), or at least one amino acid exchange or a stop codon at a position corresponding to position 30 to 34 or 346 to 348 of the CYP3A5 polypeptide (Accession No: NP_000768.1); and
- (f) a polynucleotide encoding a CYP3A5 polypeptide or fragment thereof, wherein said polypeptide comprises amino acid substitutions of HGLFK to YGTF. (with the period meaning termination) at a position corresponding to position 30 to 34 of the CYP3A5 polypeptide (Accession No: NP_000768.1, an amino acid substitution of S to Y at a position corresponding to position 100 of the CYP3A5 polypeptide (Accession No: NP_000768.1), an amino acid substitution of R to Q at a position corresponding to position 130 of the CYP3A5 polypeptide (Accession No: NP_000768.1), an amino acid substitution of I to T at a position corresponding to position 149 of the CYP3A5 polypeptide (Accession No: NP_000768.1), an amino acid

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

substitutions of TYD to YL. (with the period meaning termination) at position corresponding to position 346 to 348 of the CYP3A5 polypeptide (Accession No: NP_000768.1), or an amino acid substitution of I to T at a position corresponding to position 488 of the CYP3A5 polypeptide (Accession No: NP_000768.1).

In the context of the present invention the term "polynucleotides" or the term "polypeptides" refers to different variants of a polynucleotide or polypeptide. Said variants comprise a reference or wild type sequence of the polynucleotides or polypeptides of the invention as well as variants which differ therefrom in structure or composition. Reference or wild type sequences for the polynucleotides are Accession No: AF280107.1 and AC005020.2. Reference or wild type sequence for the polypeptides of the invention is Accession No: NP_000768.1. The differences in structure or composition usually occur by way of nucleotide or amino acid substitution(s), addition(s) and/or deletion(s). Preferably, said nucleotide substitution(s), addition(s) or deletion(s) result(s) in one or more changes of the corresponding amino acid(s) of the polypeptides of the invention. The variant polynucleotides and polypeptides also comprise fragments of said polynucleotides or polypeptides of the invention. The polynucleotides and polypeptides as well as the aforementioned fragments thereof of the present invention are characterized as being associated with a CYP3A5 dysfunction or dysregulation. Preferably, said dysfunctions or dysregulations referred to in the present invention cause a disease or disorder or a prevalence for said disease or disorder. Preferably, as will be discussed below in detail, said disease is cancer or diseases including cardiovascular diseases, diabetes and AIDS or any other disease caused by a dysfunction or dysregulation due to a polynucleotide or polypeptides of the invention.

The polynucleotides of the invention include polynucleotides that have at least 70%, preferably at least 75%, at least 80%, at least 85%, at least 90% or at least 95% sequence identity to a CYP3A5 gene, wherein said polynucleotide is having a nucleotide exchange, a nucleotide deletion of at least one nucleotide, or at least one additional nucleotide at a position corresponding to position -20643, -20555, -20359, -20367, -20329, -20323, -20310, -6200, -6177, -4336, -3990, -3868, -3844, -3557, -1617, -795, -86, -74, 136, 174 to 176, 230, 3705, 3709/3710, 5215, 5235, 5516, 7182, 7207, 7303, 7424/7427, 12907, 13028, 13077, 13173, 13226, 13376, 14720, 14836, 14903, 15788, 16079, 16931/16932, 16993, 17163, 19069, 19165, 19208, 27050, 27131/27132, 27526, 31499, 31551 or 31611

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

of the CYP3A5 gene (Accession No: AF280107.1, wherein position 166220 has been numbered +1 and position 174832 has been numbered +8613, and Accession No: AC005020.2, wherein position 27341 has been numbered +8614).

The term "hybridizing" as used herein refers to polynucleotides which are capable of hybridizing to the polynucleotides of the invention or parts thereof which are associated with a CYP3A5 dysfunction or dysregulation. Thus, said hybridizing polynucleotides are also associated with said dysfunctions and dysregulations. Therefore, said polynucleotides may be useful as probes in Northern or Southern Blot analysis of RNA or DNA preparations, respectively, or can be used as oligonucleotide primers in PCR analysis dependent on their respective size. Also comprised by the invention are hybridizing polynucleotides which are useful for analysing DNA-Protein interactions via, e.g., electrophoretic mobility shift analysis (EMSA). Preferably, said hybridizing polynucleotides comprise at least 10, more preferably at least 15 nucleotides in length while a hybridizing polynucleotide of the present invention to be used as a probe preferably comprises at least 100, more preferably at least 200, or most preferably at least 500 nucleotides in length.

It is well known in the art how to perform hybridization experiments with nucleic acid molecules, i.e. the person skilled in the art knows what hybridization conditions s/he has to use in accordance with the present invention. Such hybridization conditions are referred to in standard text books such as *Molecular Cloning A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory (1989) N.Y. Preferred in accordance with the present inventions are polynucleotides which are capable of hybridizing to the polynucleotides of the invention or parts thereof which are associated with a CYP3A5 dysfunction or dysregulation under stringent hybridization conditions, i.e. which do not cross hybridize to unrelated polynucleotides such as polynucleotides encoding a polypeptide different from the CYP3A5 polypeptides of the invention.

Nucleic acid hybridization will be affected by such conditions as salt concentration, temperature, or organic solvents, in addition to the base composition, length of the complementary strands and the number of nucleotide base mismatches between the hybridizing nucleic acids, as will be readily appreciated by those skilled in the art. Stringent temperature conditions will generally include temperatures in excess of 30°C, typically 37°C, and preferably in excess of 45°C. Stringent salt conditions will ordinarily be less than 1000 mM, typically less than 500 mM and preferably less than 200 mM. However, the combination of parameters is much more important than the measure of any single parameter. See, e.g., Wetmur and Davidson, 1968. Probe sequences may also hybridize

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

specifically to duplex DNA under certain conditions to form triplex or higher order DNA complexes. The preparation of such probes and suitable hybridization conditions are well known in the art.

The term "percent sequence identity" or "identical" in the context of nucleic acid sequences refers to the residues in the two sequences which are the same when aligned for maximum correspondence. The length of sequence identity comparison may be over a stretch of at least nine nucleotides, usually at least 20 nucleotides, more usually at least 24 nucleotides, typically at least 28 nucleotides, more typically at least 32 nucleotides, and preferably at least 36 nucleotides or more nucleotides. There are a number of different algorithms known in the art which can be used to measure nucleotide sequence identity. For instance, polynucleotide sequences can be compared using Fasta, a program in GCG Version 6.6. Fasta provides alignments and percent sequence identity of the regions of the best overlap between the query and the search sequence (Pearson, 1980, herein incorporated by reference). For instance, percent sequence identity between nucleic acid sequences can be determined using Fasta with its default parameters (a word size of 6 and the NOPAMfactor for the scoring matrix) as provided in GCG Version 6.1, herein incorporated by reference.

The term "corresponding" as used herein means that a position is not only determined by the number of the preceding nucleotides and amino acids, respectively. The position of a given nucleotide or amino acid in accordance with the present invention which may be deleted, substituted or comprise one or more additional nucleotide(s) may vary due to deletions or additional nucleotides or amino acids elsewhere in the gene or the polypeptide. Thus, under a "corresponding position" in accordance with the present invention it is to be understood that nucleotides or amino acids may differ in the indicated number but may still have similar neighboring nucleotides or amino acids. Said nucleotides or amino acids which may be exchanged, deleted or comprise additional nucleotides or amino acids are also comprised by the term "corresponding position". Said nucleotides or amino acids may for instance together with their neighbors form sequences which may be involved in the regulation of gene expression, stability of the corresponding RNA or RNA editing, as well as encode functional domains or motifs of the protein of the invention.

By, e.g., "position 3709/3710" it is meant that said polynucleotide comprises one or more additional nucleotide(s) which are inserted between positions 3709 and position 3710 of

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

the corresponding wild type version of said polynucleotide. The same applies mutatis mutandis to all other position numbers referred to in the above embodiment which are drafted in the same format, i.e. two consecutive position numbers separated by a slash (/). By, e.g., "position 7424 to 7427" is meant that said polynucleotide comprises one or more deleted nucleotides which are deleted between positions 7424 and position 7427 of the corresponding wild type version of said polynucleotide and/or one or more additional nucleotide(s) which are inserted between positions 7424 and position 7427 of the corresponding wild type version of said polynucleotide. The same applies mutatis mutandis to all other position numbers referred to in the above embodiment which are drafted in the same format.

The numbering of the polymorphisms refers to the aligned and joined genomic sequences AF280107.1 and AC005020.2, wherein the T at position 174832 (which has been numbered +8613) of the sequence AF280107.1 refers to position 27340 of the sequence AC005020.2. The nucleotide A at position 27341 of the sequence AC005020.2 has been numbered +8614. Numbering of polymorphisms to a position corresponding to a position up to +8613 refers to the genomic sequence AF280107.1, numbering of polymorphisms to a position corresponding to position +8614 and greater refer to the genomic sequence AC005020.2.

In accordance with the present invention, the mode and population distribution of genetic variations in the CYP3A5 gene has been analyzed by sequence analysis of relevant regions of the human said gene from many different individuals. It is a well known fact that genomic DNA of individuals, which harbor the individual genetic makeup of all genes, including the CYP3A5 gene, can easily be purified from individual blood samples. These individual DNA samples are then used for the analysis of the sequence composition of the alleles of the CYP3A5 gene that are present in the individual which provided the blood sample. The sequence analysis was carried out by PCR amplification of relevant regions of said genes, subsequent purification of the PCR products, followed by automated DNA sequencing with established methods (e.g. ABI dyeterminator cycle sequencing).

One important parameter that had to be considered in the attempt to determine the individual genotypes and identify novel variants of the CYP3A5 gene by direct DNA-sequencing of PCR-products from human blood genomic DNA is the fact that each human harbors (usually, with very few abnormal exceptions) two gene copies of each autosomal gene (diploidy). Because of that, great care had to be taken in the evaluation of the sequences to be able to identify unambiguously not only homozygous sequence variations

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

but also heterozygous variations. The details of the different steps in the identification and characterization of novel polymorphisms in the CYP3A5 gene (homozygous and heterozygous) are described in the Examples below.

Over the past 20 years, genetic heterogeneity has been increasingly recognized as a significant source of variation in drug response. Many scientific communications (Meyer, *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 37 (1997), 269-296 and West, *J. Clin. Pharmacol.* 37 (1997), 635-648) have clearly shown that some drugs work better or may even be highly toxic in some patients than in others and that these variations in patient's responses to drugs can be related to molecular basis. This "pharmacogenomic" concept spots correlations between responses to drugs and genetic profiles of patient's (Marshall, *Nature Biotechnology*, 15 (1997), 954-957; Marshall, *Nature Biotechnology*, 15 (1997), 1249-1252). In this context of population variability with regard to drug therapy, pharmacogenomics has been proposed as a tool useful in the identification and selection of patients which can respond to a particular drug without side effects. This identification/selection can be based upon molecular diagnosis of genetic polymorphisms by genotyping DNA from leukocytes in the blood of patient, for example, and characterization of disease (Bertz, *Clin. Pharmacokinet.* 32 (1997), 210-256; Engel, *J. Chromatogr. B. Biomed. Appl.* 678 (1996), 93-103). For the founders of health care, such as health maintenance organizations in the US and government public health services in many European countries, this pharmacogenomics approach can represent a way of both improving health care and reducing overheads because there is a large cost to unnecessary drugs, ineffective drugs and drugs with side effects.

The mutations in the variant genes of the invention sometime result in amino acid deletion(s), insertion(s) and in particular in substitution(s) either alone or in combination. It is of course also possible to genetically engineer such mutations in wild type genes or other mutant forms. Methods for introducing such modifications in the DNA sequence of said genes are well known to the person skilled in the art; see, e.g., Sambrook, *Molecular Cloning A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory (1989) N.Y.

For the investigation of the nature of the alterations in the amino acid sequence of the polypeptides of the invention software programs may be used such as RASMOL that are obtainable from the Internet. Furthermore, folding simulations and computer redesign of structural motifs can be performed using other appropriate computer programs (Olszewski,

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

Proteins 25 (1996), 286-299; Hoffman, Comput. Appl. Biosci. 11 (1995), 675-679). Computers can be used for the conformational and energetic analysis of detailed protein models (Monge, J. Mol. Biol. 247 (1995), 995-1012; Renouf, Adv. Exp. Med. Biol. 376 (1995), 37-45). These analysis can be used for the identification of the influence of a particular mutation on binding and/or processing of drugs.

Usually, said amino acid deletion, addition or substitution in the amino acid sequence of the protein encoded by the polynucleotide of the invention is due to one or more nucleotide substitution, insertion or deletion, or any combinations thereof. Preferably said nucleotide substitution, insertion or deletion may result in amino acid substitutions of HGLFK to YGTF. (with the period meaning termination) at a position corresponding to position 30 to 34 of the CYP3A5 polypeptide (Accession No: NP_000768.1), in an amino acid substitution of S to Y at a position corresponding to position 100 of the CYP3A5 polypeptide (Accession No: NP_000768.1), in amino acid substitutions of TYD to YL. (with the period meaning termination) at a position corresponding to position 346 to 348 of the CYP3A5 polypeptide (Accession No: NP_000768.1), or in an amino acid substitution of T to N at a position corresponding to position 398 of the CYP3A5 polypeptide (Accession No: NP_000768.1).

The mutations in the CYP3A5 gene detected in accordance with the present invention are listed in Table 2A-E. The methods of the mutation analysis followed standard protocols and are described in detail in the Examples. In general such methods are to be used in accordance with the present invention for evaluating the phenotypic spectrum as well as the overlapping clinical characteristics of diseases or conditions related to dysfunctions and diseases related to the drug metabolism. Advantageously, the characterization of said mutants may form the basis of the development of improved drugs, such as drugs which are used e.g. in cancer therapy and diseases including cardiovascular diseases, diabetes and AIDS. Said methods encompass for example haplotype analysis, single-strand conformation polymorphism analysis (SSCA), PCR and direct sequencing, or TaqMan® analysis. On the basis of thorough clinical characterization of many patients the phenotypes can then be correlated to these mutations as well as to mutations that had been described earlier, for example in Jounaidi, Biochem Biophys Res Commun, 221, pp. 466-470, 1996.

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

Also comprised by the polynucleotides referred to in the present invention are polynucleotides which comprise at least two, preferably at least three, of the polynucleotides specified hereinabove, i.e. polynucleotides having a nucleotide sequence which contains at least two, preferably three of the mutations comprised by the above polynucleotides or listed in the tables below. Thus, the haplotype determined in accordance with the present invention can be characterized by at least two, preferably three of said mutations in the CYP3A5 locus. Further, the polynucleotide of the invention may further comprise at least one nucleotide deletion, addition and/or substitution other than those specified hereinabove, for example those described in the prior art; e.g., in Jounaidi, *Biochem Biophys Res Commun*, 221, pp. 466-470, 1996, in Paulussen, *Pharmacogenetics* 10, pp. 415-424, 2000, in Kuehl, 2001, *Nature Genetics* 27: 383-391, or in Chou, 2001, *Drug Metab Dispos* 29: 1205-1209.

This allows the study of synergistic effects of said mutations in the CYP3A5 gene and/or a polypeptide encoded by said polynucleotide on the pharmacological profile of drugs in patients who bear such mutant forms of the gene or similar mutant forms that can be mimicked by the above described proteins. It is expected that the analysis of said synergistic effects provides deeper insights into the onset of dysfunctions or diseases related to drug metabolism as described supra. From said deeper insight the development of diagnostic and pharmaceutical compositions related to dysfunctions or diseases related to drug metabolism will greatly benefit.

Moreover, it has been surprisingly found that the so called positive predictive power for CYP3A5 dysfunctions or dysregulations can be significantly increased based on the polynucleotides of the present invention and thus allows a reliable prediction in contrast to positive predictive power based on the prior art. The increased CYP3A5 protein expression in all except one liver samples (17/18) identified in accordance with the present invention and described in detail in the examples below co-segregates with a haplotype which consists of at least three variants (ch-v-021, ch-v-026, ch-v-015) with distinct locations within or upstream of the gene locus. Genotyping these three variants has in no case led to the generation of false-positive predictions resulting in an estimated positive predictive power for the 3-variant genotype of about 99.95 %. This is in striking contrast to the positive predictive power determined for the haplotype described by Paulussen, *Pharmacogenetics* 10, pp. 415-424, 2000 which is about 65 %. Moreover, based on the polynucleotides of the invention and as described in the examples below, it has been found that the SNPs described by Paulussen, *Pharmacogenetics* 10, pp. 415-424, 2000

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

are located in contrary to what is reported in said document approximately 20 kb upstream of the transcriptional start site of the CYP3A5 gene in a sequence 5' to a CYP3A5 pseudogene locus.

Therefore, the haplotypes characterized on the basis of the polynucleotides of the present invention fulfill the criteria expected from a reliable marker of CYP3A5 expression. As is evident to the person skilled in the art, the genetic knowledge deduced from the present invention can now be used to exactly and reliably characterize the genotype of a patient. Advantageously, diseases or a prevalence for a disease which are associated with CYP3A5 dysfunction or dysregulation, such as cancer, diseases including cardiovascular diseases, diabetes and AIDS, can be predicted and preventive or therapeutical measures can be applied accordingly. Moreover in accordance with the foregoing, in cases where a given drug takes an unusual effect, a suitable individual therapy can be designed based on the knowledge of the individual genetic makeup of a subject with respect to the polynucleotides of the invention and improved therapeutics can be developed as will be further discussed below.

Finally, the polynucleotides and polypeptides referred to in accordance with the present invention are also useful as forensic markers, which improve the identification of subjects which have been murdered or killed by, for example, a crime of violence or any other violence and can not be identified by the well known conventional forensic methods. The application of forensic methods based on the detection of the polymorphisms comprised by the polynucleotides of this invention in the genome of a subject are particularly well suited in cases where a (dead) body is disfigured in a severe manner such that identification by other body characteristics such as the features of the face is not possible. This is the case, for example, for corpse found in water which are usually entirely disfigured. Advantageously methods which are based on the provision of the polynucleotides of the invention merely require a minimal amount of tissues or cells in order to be carried out. Said tissues or cells may be blood droplets, hair roots, epidermal scales, saliva droplets, sperms etc. Since only such a minimal amount of tissues or cells are required for the identification of a subject, the polymorphisms comprised by the polynucleotides of this invention can be also used as forensic markers in order to prove someone guilt of a crime, such as a violation or a ravishment. Moreover, the polymorphisms comprised by the polynucleotides of this invention can be used to proof paternity. In accordance with the forensic methods referred to herein the presence or absence of the polynucleotides of the invention is determined and compared with a reference sample which is unambiguously derived from the subject to be identified. The

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

forensic methods which require detection of the presence or absence of the polynucleotides of the invention in a sample of a subject the polymorphisms comprised by the polynucleotides of this invention can be for example PCR-based techniques which are particularly well suited in cases where only a minimal amount of tissues or cells are available as forensic samples. On the other hand, where enough tissue or cells are available, hybridization based techniques may be performed in order to detect the presence or absence of a polynucleotide of this invention. These techniques are well known by the person skilled in the art and can be adopted to the individual purposes referred to herein without further ado. In conclusion, thanks to the present invention forensic means which allow improved and reliable predictions as regards the aforementioned aspects are now available.

In line with the foregoing, preferably, the polynucleotide of the present invention is associated with cancer or diseases including cardiovascular diseases, diabetes and AIDS.

The term "cancer" used herein is very well known and characterized in the art. Several variants of cancer exist and are comprised by said term as meant in accordance with the invention. For a detailed list of symptoms which are indicative for cancer it is referred to text book knowledge, e.g. Pschyrembel.

In a further embodiment the present invention relates to a polynucleotide which is DNA or RNA.

The polynucleotide of the invention may be, e.g., DNA, cDNA, genomic DNA, RNA or synthetically produced DNA or RNA or a recombinantly produced chimeric nucleic acid molecule comprising any of those polynucleotides either alone or in combination. Preferably said polynucleotide is part of a vector, particularly plasmids, cosmids, viruses and bacteriophages used conventionally in genetic engineering that comprise a polynucleotide of the invention. Such vectors may comprise further genes such as marker genes which allow for the selection of said vector in a suitable host cell and under suitable conditions.

The invention furthermore relates to a gene comprising the polynucleotide of the invention.

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

It is well known in the art that genes comprise structural elements which encode an amino acid sequence as well as regulatory elements which are involved in the regulation of the expression of said genes. Structural elements are represented by exons which may either encode an amino acid sequence or which may encode for RNA which is not encoding an amino acid sequence but is nevertheless involved in RNA function, e.g. by regulating the stability of the RNA or the nuclear export of the RNA.

Regulatory elements of a gene may comprise promoter elements or enhancer elements both of which could be involved in transcriptional control of gene expression. It is very well known in the art that a promoter is to be found upstream of the structural elements of a gene. Regulatory elements such as enhancer elements, however, may be found distributed over the entire locus of the gene. Said elements could be reside, e.g., in introns, regions of genomic DNA which separate the exons of a gene. Said introns may comprise further regulatory elements which are required for proper gene expression. Introns are usually transcribed together with the exons of a gene resulting in a nascent RNA transcript which contains both, exon and intron sequences. The intron encoded RNA sequences are usually removed by a process known as RNA splicing. However, said process also requires regulatory sequences present on a RNA transcript, said regulatory sequences may be encoded by the introns.

In addition, besides their function in transcriptional control and control of proper RNA processing and/or stability, regulatory elements of a gene could be also involved in the control of genetic stability of a gene locus. Said elements control, e.g., recombination events or serve to maintain a certain structure of the DNA or the arrangement of DNA in a chromosome.

Therefore, polymorphisms can occur in exons of a gene which encode an amino acid sequence as discussed supra as well as in regulatory regions which are involved in the above discussed process. The analysis of the nucleotide sequence of a gene locus in its entirety including, e.g., introns is in light of the above desirable. It has been found based on the polymorphisms comprised by the polynucleotides of the present invention that the mechanism of the increased expression of CYP3A5 protein in most Caucasians livers described in the examples below may involve enhanced transcription and stabilisation of the gene's transcripts.

Therefore, in a furthermore preferred embodiment of the gene of the invention a nucleotide deletion, addition and/or substitution results in altered expression of the variant gene compared to the corresponding wild type gene.

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

In another embodiment the present invention relates to a vector comprising the polynucleotide of the invention or the gene of the invention.

Said vector may be, for example, a phage, plasmid, viral or retroviral vector. Retroviral vectors may be replication competent or replication defective. In the latter case, viral propagation generally will occur only in complementing host/cells.

The polynucleotides or genes of the invention may be joined to a vector containing selectable markers for propagation in a host. Generally, a plasmid vector is introduced in a precipitate such as a calcium phosphate precipitate, or in a complex with a charged lipid or in carbon-based clusters. Should the vector be a virus, it may be packaged in vitro using an appropriate packaging cell line prior to application to host cells.

In a more preferred embodiment of the vector of the invention the polynucleotide is operatively linked to expression control sequences allowing expression in prokaryotic or eukaryotic cells or isolated fractions thereof.

Expression of said polynucleotide comprises transcription of the polynucleotide, preferably into a translatable mRNA. Regulatory elements ensuring expression in eukaryotic cells, preferably mammalian cells, are well known to those skilled in the art. They usually comprise regulatory sequences ensuring initiation of transcription and optionally poly-A signals ensuring termination of transcription and stabilization of the transcript. Additional regulatory elements may include transcriptional as well as translational enhancers. Possible regulatory elements permitting expression in prokaryotic host cells comprise, e.g., the *lac*, *trp* or *tac* promoter in *E. coli*, and examples for regulatory elements permitting expression in eukaryotic host cells are the *AOX1* or *GAL1* promoter in yeast or the CMV-, SV40-, RSV-promoter (Rous sarcoma virus), CMV-enhancer, SV40-enhancer or a globin intron in mammalian and other animal cells. Beside elements which are responsible for the initiation of transcription such regulatory elements may also comprise transcription termination signals, such as the SV40-poly-A site or the tk-poly-A site, downstream of the polynucleotide. In this context, suitable expression vectors are known in the art such as Okayama-Berg cDNA expression vector pcDV1 (Pharmacia), pCDM8, pRc/CMV, pcDNA1, pcDNA3 (In-vitro gene), pSPORT1 (GIBCO BRL). Preferably, said vector is an expression vector and/or a gene transfer or targeting vector. Expression vectors derived from viruses such as retroviruses, vaccinia virus, adeno-associated virus, herpes viruses, or bovine

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

papilloma virus, may be used for delivery of the polynucleotides or vector of the invention into targeted cell population. Methods which are well known to those skilled in the art can be used to construct recombinant viral vectors; see, for example, the techniques described in Sambrook, Molecular Cloning A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory (1989) N.Y. and Ausubel, Current Protocols in Molecular Biology, Green Publishing Associates and Wiley Interscience, N.Y. (1994). Alternatively, the polynucleotides and vectors of the invention can be reconstituted into liposomes for delivery to target cells.

The term "isolated fractions thereof" refers to fractions of eukaryotic or prokaryotic cells or tissues comprising said cells which are capable of transcribing or transcribing and translating RNA from the vector of the invention. Said fractions comprise proteins which are required for transcription of RNA or transcription of RNA and translation of said RNA into a polypeptide. Said isolated fractions may be, e.g., nuclear and cytoplasmic fractions of eukaryotic cells such as of reticulocytes.

The present invention furthermore relates to a host cell genetically engineered with the polynucleotide of the invention, the gene of the invention or the vector of the invention.

Said host cell may be a prokaryotic or eukaryotic cell; see supra. The polynucleotide or vector of the invention which is present in the host cell may either be integrated into the genome of the host cell or it may be maintained extrachromosomally. In this respect, it is also to be understood that the recombinant DNA molecule of the invention can be used for "gene targeting" and/or "gene replacement", for restoring a mutant gene or for creating a mutant gene via homologous recombination; see for example Mouellic, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87 (1990), 4712-4716; Joyner, Gene Targeting, A Practical Approach, Oxford University Press.

The host cell can be any prokaryotic or eukaryotic cell, such as a bacterial, insect, fungal, plant, animal or human cell. Preferred fungal cells are, for example, those of the genus *Saccharomyces*, in particular those of the species *S. cerevisiae*. The term "prokaryotic" is meant to include all bacteria which can be transformed or transfected with a polynucleotide for the expression of a variant polypeptide of the invention. Prokaryotic hosts may include gram negative as well as gram positive bacteria such as, for example, *E. coli*, *S. typhimurium*, *Serratia marcescens* and *Bacillus subtilis*. A polynucleotide coding for a mutant form of variant polypeptides of the invention can be used to transform or transfect the host using any of the techniques commonly known to those of ordinary skill in the art.

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

Methods for preparing fused, operably linked genes and expressing them in bacteria or animal cells are well-known in the art (Sambrook, supra). The genetic constructs and methods described therein can be utilized for expression of variant polypeptides of the invention in, e.g., prokaryotic hosts. In general, expression vectors containing promoter sequences which facilitate the efficient transcription of the inserted polynucleotide are used in connection with the host. The expression vector typically contains an origin of replication, a promoter, and a terminator, as well as specific genes which are capable of providing phenotypic selection of the transformed cells. The transformed prokaryotic hosts can be grown in fermentors and cultured according to techniques known in the art to achieve optimal cell growth. The proteins of the invention can then be isolated from the grown medium, cellular lysates, or cellular membrane fractions. The isolation and purification of the microbially or otherwise expressed polypeptides of the invention may be by any conventional means such as, for example, preparative chromatographic separations and immunological separations such as those involving the use of monoclonal or polyclonal antibodies.

Thus, in a further embodiment the invention relates to a method for producing a molecular variant polypeptide or fragment thereof comprising culturing the above described host cell; and recovering said protein or fragment from the culture.

In another embodiment the present invention relates to a method for producing cells capable of expressing a molecular variant polypeptide comprising genetically engineering cells with the polynucleotide of the invention, the gene of the invention or the vector of the invention.

The cells obtainable by the method of the invention can be used, for example, to test drugs according to the methods described in D. L. Spector, R. D. Goldman, L. A. Leinwand, Cells, a Lab manual, CSH Press 1998. Furthermore, the cells can be used to study known drugs and unknown derivatives thereof for their ability to complement the deficiency caused by mutations in the CYP3A5 gene. For these embodiments the host cells preferably lack a wild type allele, preferably both alleles of the CYP3A5 gene and/or have at least one mutated from thereof. Ideally, the gene comprising an allele as comprised by the polynucleotides of the invention could be introduced into the wild type locus by homologous replacement. Alternatively, strong overexpression of a mutated allele over the normal allele and comparison with a recombinant cell line overexpressing the normal

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

allele at a similar level may be used as a screening and analysis system. The cells obtainable by the above-described method may also be used for the screening methods referred to herein below.

Furthermore, the invention relates to a polypeptide or fragment thereof encoded by the polynucleotide of the invention, the gene of the invention or obtainable by the method described above or from cells produced by the method described above.

In this context it is also understood that the variant polypeptide of the invention can be further modified by conventional methods known in the art. By providing said variant proteins according to the present invention it is also possible to determine the portions relevant for their biological activity or inhibition of the same. The terms "polypeptide" and "protein" as used herein are exchangeable. Moreover, what is comprised by said terms is standard textbook knowledge.

The present invention furthermore relates to an antibody which binds specifically to the polypeptide of the invention.

Advantageously, the antibody specifically recognizes or binds an epitope containing one or more amino acid substitution(s) as defined above. Antibodies against the variant polypeptides of the invention can be prepared by well known methods using a purified protein according to the invention or a (synthetic) fragment derived therefrom as an antigen. Monoclonal antibodies can be prepared, for example, by the techniques as originally described in Köhler and Milstein, *Nature* 256 (1975), 495, and Galfré, *Meth. Enzymol.* 73 (1981), 3, which comprise the fusion of mouse myeloma cells to spleen cells derived from immunized mammals. In a preferred embodiment of the invention, said antibody is a monoclonal antibody, a polyclonal antibody, a single chain antibody, human or humanized antibody, primatized, chimerized or fragment thereof that specifically binds said peptide or polypeptide also including bispecific antibody, synthetic antibody, antibody fragment, such as Fab, Fv or scFv fragments etc., or a chemically modified derivative of any of these. Furthermore, antibodies or fragments thereof to the aforementioned polypeptides can be obtained by using methods which are described, e.g., in Harlow and Lane "Antibodies, A Laboratory Manual", CSH Press, Cold Spring Harbor, 1988. These antibodies can be used, for example, for the immunoprecipitation and immunolocalization of the variant polypeptides of the invention as well as for the monitoring of the presence of

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

said variant polypeptides, for example, in recombinant organisms, and for the identification of compounds interacting with the proteins according to the invention. For example, surface plasmon resonance as employed in the BIAcore system can be used to increase the efficiency of phage antibodies which bind to an epitope of the protein of the invention (Schier, Human Antibodies Hybridomas 7 (1996), 97-105; Malmborg, J. Immunol. Methods 183 (1995), 7-13).

In a preferred embodiment the antibody of the present invention specifically recognizes an epitope containing one or more amino acid substitution(s) resulting from a nucleotide exchange as defined supra.

Antibodies which specifically recognize modified amino acids such as phospho-Tyrosine residues are well known in the art. Similarly, in accordance with the present invention antibodies which specifically recognize even a single amino acid exchange in an epitope may be generated by the well known methods described supra.

In light of the foregoing, in a more preferred embodiment the antibody of the present invention is monoclonal or polyclonal.

The invention also relates to a transgenic non-human animal comprising at least one polynucleotide of the invention, the gene of the invention or the vector of the invention as described supra.

The present invention also encompasses a method for the production of a transgenic non-human animal comprising introduction of a polynucleotide or vector of the invention into a germ cell, an embryonic cell, stem cell or an egg or a cell derived therefrom. The non-human animal can be used in accordance with the method of the invention described below and may be a non-transgenic healthy animal, or may have a disease or disorder, preferably a disease caused by at least one mutation in the gene of the invention. Such transgenic animals are well suited for, e.g., pharmacological studies of drugs in connection with variant forms of the above described variant polypeptides since these polypeptides or at least their functional domains are conserved between species in higher eukaryotes, particularly in mammals. Production of transgenic embryos and screening of those can be performed, e.g., as described by A. L. Joyner Ed., Gene Targeting, A Practical Approach

WO 02/053775 PCT/EP01/15290
(1993), Oxford University Press. The DNA of the embryos can be analyzed using, e.g., Southern blots with an appropriate probe or based on PCR techniques.

A transgenic non-human animal in accordance with the invention may be a transgenic mouse, rat, hamster, dog, monkey, rabbit, pig, frog, nematode such as *Caenorhabditis elegans*, fruitfly such as *Drosophila melanogaster* or fish such as torpedo fish or zebrafish comprising a polynucleotide or vector of the invention or obtained by the method described above, preferably wherein said polynucleotide or vector is stably integrated into the genome of said non-human animal, preferably such that the presence of said polynucleotide or vector leads to the expression of the variant polypeptide of the invention. It may comprise one or several copies of the same or different polynucleotides or genes of the invention. This animal has numerous utilities, including as a research model for cancer or diseases including cardiovascular diseases, diabetes and AIDS or any other disease caused by as dysfunction or dysregulation of the polynucleotides or polypeptides of the invention research and therefore, presents a novel and valuable animal in the development of therapies, treatment, etc. for cancer diseases or diseases including cardiovascular diseases, diabetes and AIDS or any other disease caused by as dysfunction or dysregulation of the polynucleotides or polypeptides of the invention. Accordingly, in this instance, the mammal is preferably a laboratory animal such as a mouse or rat.

Thus, in a preferred embodiment the transgenic non-human animal of the invention is a mouse, a rat or a zebrafish.

Numerous reports revealed that said animals are particularly well suited as model organisms for the investigation of the drug metabolism and its deficiencies or cancer. Advantageously, transgenic animals can be easily created using said model organisms, due to the availability of various suitable techniques well known in the art.

The invention also relates to a solid support comprising one or a plurality of the polynucleotide, the gene, the vector, the polypeptide, the antibody or the host cell of the invention in immobilized form.

The term "solid support" as used herein refers to a flexible or non-flexible support that is suitable for carrying said immobilized targets. Said solid support may be homogenous or

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

inhomogeneous. For example, said solid support may consist of different materials having the same or different properties with respect to flexibility and immobilization, for instance, or said solid support may consist of one material exhibiting a plurality of properties also comprising flexibility and immobilization properties. Said solid support may comprise glass-, polypropylene- or silicon-chips, membranes, oligonucleotide-conjugated beads or bead arrays.

The term "immobilized" means that the molecular species of interest is fixed to a solid support, preferably covalently linked thereto. This covalent linkage can be achieved by different means depending on the molecular nature of the molecular species. Moreover, the molecular species may be also fixed on the solid support by electrostatic forces, hydrophobic or hydrophilic interactions or Van-der-Waals forces. The above described physico-chemical interactions typically occur in interactions between molecules. For example, biotinylated polypeptides may be fixed on a avidin-coated solid support due to interactions of the above described types. Further, polypeptides such as antibodies, may be fixed on an antibody coated solid support. Moreover, the immobilization is dependent on the chemical properties of the solid support. For example, the nucleic acid molecules can be immobilized on a membrane by standard techniques such as UV-crosslinking or heat.

In a preferred embodiment of the invention said solid support is a membrane, a glass- or polypropylene- or silicon-chip, or oligonucleotide-conjugated beads or a bead array, which is assembled on an optical filter substrate.

Moreover, the present invention relates to an in vitro method for identifying a polymorphism said method comprising the steps of:

- (a) isolating a polynucleotide or the gene of the invention from a plurality of subgroups of individuals, wherein one subgroup has no prevalence for a CYP3A5 associated disease and at least one or more further subgroup(s) do have prevalence for a CYP3A5 associated disease; and
- (b) identifying a polymorphism by comparing the nucleic acid sequence of said polynucleotide or said gene of said one subgroup having no prevalence for a CYP3A5 associated disease with said at least one or more further subgroup(s) having a prevalence for a CYP3A5 associated disease.

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

The term "prevalence" as used herein means that individuals are susceptible for one or more disease(s) which are associated with CYP3A5 dysfunction or dysregulation or could already have one or more of said disease(s). Thereby, one CYP3A5 associated disease can be used to determine the susceptibility for another CYP3A5 associated disease, e.g. impaired drug metabolism may be indicative for a prevalence for, e.g. cancer. Moreover, symptoms which are indicative for a prevalence for developing said diseases are very well known in the art and have been sufficiently described in standard textbooks such as Pschyrembel.

Advantageously, polymorphisms according to the present invention which are associated with CYP3A5 dysfunction or dysregulation or one or more disease(s) based thereon should be enriched in subgroups of individuals which have a prevalence for said diseases versus subgroups which have no prevalence for said diseases. Thus, the above described method allows the rapid and reliable detection of polymorphisms which are indicative for one or more CYP3A5 associated disease(s) or a susceptibility therefor. Advantageously, due to the phenotypic preselection a large number of individuals having no prevalence might be screened for polymorphisms in general. Thereby, a reference sequences comprising polymorphisms which do not correlate to one or more CYP3A5 associated disease(s) can be obtained. Based on said reference sequences it is possible to efficiently and reliably determine the relevant polymorphisms.

In a further embodiment the present invention relates to a method for identifying and obtaining a pro-drug or a drug capable of modulating the activity of a molecular variant of a CYP3A5 polypeptide comprising the steps of:

- (a) contacting the polypeptide, the solid support of the invention, a cell expressing a molecular variant gene comprising a polynucleotide of the invention, the gene or the vector of the invention in the presence of components capable of providing a detectable signal in response to drug activity with a compound to be screened for pro-drug or drug activity; and
- (b) detecting the presence or absence of a signal or increase or decrease of a signal generated from the pro-drug or the drug activity, wherein the absence, presence, increase or decrease of the signal is indicative for a putative pro-drug or drug.

The term "compound" in a method of the invention includes a single substance or a plurality of substances which may or may not be identical.

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

Said compound(s) may be chemically synthesized or produced via microbial fermentation but can also be comprised in, for example, samples, e.g., cell extracts from, e.g., plants, animals or microorganisms. Furthermore, said compounds may be known in the art but hitherto not known to be useful as an inhibitor, respectively. The plurality of compounds may be, e.g., added to the culture medium or injected into a cell or non-human animal of the invention.

If a sample containing (a) compound(s) is identified in the method of the invention, then it is either possible to isolate the compound from the original sample identified as containing the compound in question or one can further subdivide the original sample, for example, if it consists of a plurality of different compounds, so as to reduce the number of different substances per sample and repeat the method with the subdivisions of the original sample. It can then be determined whether said sample or compound displays the desired properties, for example, by the methods described herein or in the literature (Spector et al., Cells manual; see supra). Depending on the complexity of the samples, the steps described above can be performed several times, preferably until the sample identified according to the method of the invention only comprises a limited number of or only one substance(s). Preferably said sample comprises substances of similar chemical and/or physical properties, and most preferably said substances are identical. The methods of the present invention can be easily performed and designed by the person skilled in the art, for example in accordance with other cell based assays described in the prior art or by using and modifying the methods as described herein. Furthermore, the person skilled in the art will readily recognize which further compounds may be used in order to perform the methods of the invention, for example, enzymes, if necessary, that convert a certain compound into a precursor. Such adaptation of the method of the invention is well within the skill of the person skilled in the art and can be performed without undue experimentation.

Compounds which can be used in accordance with the present invention include peptides, proteins, nucleic acids, antibodies, small organic compounds, ligands, peptidomimetics, PNAs and the like. Said compounds may act as agonists or antagonists of the invention. Said compounds can also be functional derivatives or analogues of known drugs. Methods for the preparation of chemical derivatives and analogues are well known to those skilled in the art and are described in, for example, Beilstein, Handbook of Organic Chemistry, Springer edition New York Inc., 175 Fifth Avenue, New York, N.Y. 10010 U.S.A. and Organic Synthesis, Wiley, New York, USA. Furthermore, said derivatives and analogues

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

can be tested for their effects according to methods known in the art or as described. Furthermore, peptide mimetics and/or computer aided design of appropriate drug derivatives and analogues can be used, for example, according to the methods described below. Such analogs comprise molecules may have as the basis structure of known CYP3A5 substrates and/or inhibitors and/or modulators; see *infra*.

Appropriate computer programs can be used for the identification of interactive sites of a putative inhibitor and the polypeptides of the invention by computer assistant searches for complementary structural motifs (Fassina, *Immunomethods* 5 (1994), 114-120). Further appropriate computer systems for the computer aided design of protein and peptides are described in the prior art, for example, in Berry, *Biochem. Soc. Trans.* 22 (1994), 1033-1036; Wodak, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 501 (1987), 1-13; Pabo, *Biochemistry* 25 (1986), 5987-5991. The results obtained from the above-described computer analysis can be used in combination with the method of the invention for, e.g., optimizing known inhibitors, analogs, antagonists or agonists. Appropriate peptidomimetics and other inhibitors can also be identified by the synthesis of peptidomimetic combinatorial libraries through successive chemical modification and testing the resulting compounds, e.g., according to the methods described herein. Methods for the generation and use of peptidomimetic combinatorial libraries are described in the prior art, for example in Ostresh, *Methods in Enzymology* 267 (1996), 220-234 and Dörner, *Bioorg. Med. Chem.* 4 (1996), 709-715. Furthermore, the three-dimensional and/or crystallographic structure of said compounds and the polypeptides of the invention can be used for the design of peptidomimetic drugs (Rose, *Biochemistry* 35 (1996), 12933-12944; Rutenber, *Bioorg. Med. Chem.* 4 (1996), 1545-1558). It is very well known how to obtain said compounds, e.g. by chemical or biochemical standard techniques. Thus, also comprised by the method of the invention are means of making or producing said compounds. In summary, the present invention provides methods for identifying and obtaining compounds which can be used in specific doses for the treatment of specific forms of CYP3A5 associated diseases, e.g. dysfunctions of the drug metabolism or cancer.

The above definitions apply *mutatis mutandis* to all of the methods described in the following.

In a further embodiment the present invention relates to a method for identifying and obtaining an inhibitor of the activity of a molecular variant of a CYP3A5 polypeptide comprising the steps of:

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

- (a) contacting the protein, the solid support of the invention or a cell expressing a molecular variant gene comprising a polynucleotide or the gene or the vector of the invention in the presence of components capable of providing a detectable signal in response to drug activity with a compound to be screened for inhibiting activity; and
- (b) detecting the presence or absence of a signal or increase or decrease of a signal generated from the inhibiting activity, wherein the absence or decrease of the signal is indicative for a putative inhibitor.

In a preferred embodiment of the method of the invention said cell is a cell, obtained by the method of the invention or can be obtained from the transgenic non-human animal as described supra.

In a still further embodiment the present invention relates to a method of identifying and obtaining a pro-drug or drug capable of modulating the activity of a molecular variant of a CYP3A5 polypeptide comprising the steps of:

- (a) contacting the host cell, the cell obtained by the method of the invention, the polypeptide or the solid support of the invention with the first molecule known to be bound by a CYP3A5 polypeptide to form a first complex of said polypeptide and said first molecule;
- (b) contacting said first complex with a compound to be screened, and
- (c) measuring whether said compound displaces said first molecule from said first complex.

Advantageously, in said method said measuring step comprises measuring the formation of a second complex of said protein and said inhibitor candidate. Preferably, said measuring step comprises measuring the amount of said first molecule that is not bound to said protein.

In a particularly preferred embodiment of the above-described method of said first molecule is a agonist or antagonist or a substrate and/or a inhibitor and/or a modulator of the polypeptide of the invention, e.g., with a radioactive or fluorescent label.

In a still another embodiment the present invention relates to a method of identifying and obtaining an inhibitor capable of modulating the activity of a molecular variant of a CYP3A5 polypeptide comprising the steps of:

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

- (a) contacting the host cell or the cell obtained by the method of the invention, the protein or the solid support of the invention with the first molecule known to be bound by a CYP3A5 polypeptide to form a first complex of said protein and said first molecule;
- (b) contacting said first complex with a compound to be screened, and
- (c) measuring whether said compound displaces said first molecule from said first complex.

In a preferred embodiment of the method of the invention said measuring step comprises measuring the formation of a second complex of said protein and said compound.

In another preferred embodiment of the method of the invention said measuring step comprises measuring the amount of said first molecule that is not bound to said protein.

In a more preferred embodiment of the method of the invention said first molecule is labeled.

The invention furthermore relates to a method for the production of a pharmaceutical composition comprising the steps of the method as described supra; and the further step of formulating the compound identified and obtained or a derivative thereof in a pharmaceutically acceptable form.

The therapeutically useful compounds identified according to the methods of the invention can be formulated and administered to a patient as discussed above. For uses and therapeutic doses determined to be appropriate by one skilled in the art and for definitions of the term "pharmaceutical composition" see infra.

Furthermore, the present invention encompasses a method for the preparation of a pharmaceutical composition comprising the steps of the above-described methods; and formulating a drug or pro-drug in the form suitable for therapeutic application and preventing or ameliorating the disorder of the subject diagnosed in the method of the invention.

Drugs or pro-drugs after their *in vivo* administration are metabolized in order to be eliminated either by excretion or by metabolism to one or more active or inactive

WO 02/053775 PCT/EP01/15290
metabolites (Meyer, J. Pharmacokinet. Biopharm. 24 (1996), 449-459). Thus, rather than using the actual compound or inhibitor identified and obtained in accordance with the methods of the present invention a corresponding formulation as a pro-drug can be used which is converted into its active in the patient. Precautionary measures that may be taken for the application of pro-drugs and drugs are described in the literature; see, for review, Ozama, J. Toxicol. Sci. 21 (1996), 323-329).

In a preferred embodiment of the method of the present invention said drug or prodrug is a derivative of a medicament as defined hereinafter.

The present invention also relates to a method of diagnosing a disorder related to the presence of a molecular variant of the CYP3A5 gene or susceptibility to such a disorder comprising determining the presence of a polynucleotide or the gene of the invention in a sample from a subject.

In accordance with this embodiment of the present invention, the method of testing the status of a disorder or susceptibility to such a disorder can be effected by using a polynucleotide gene or nucleic acid of the invention, e.g., in the form of a Southern or Northern blot or *in situ* analysis. Said nucleic acid sequence may hybridize to a coding region of either of the genes or to a non-coding region, e.g. intron. In the case that a complementary sequence is employed in the method of the invention, said nucleic acid molecule can again be used in Northern blots. Additionally, said testing can be done in conjunction with an actual blocking, e.g., of the transcription of the gene and thus is expected to have therapeutic relevance. Furthermore, a primer or oligonucleotide can also be used for hybridizing to one of the above mentioned CYP3A5 gene or corresponding mRNAs. The nucleic acids used for hybridization can, of course, be conveniently labeled by incorporating or attaching, e.g., a radioactive or other marker. Such markers are well known in the art. The labeling of said nucleic acid molecules can be effected by conventional methods.

Additionally, the presence or expression of variant CYP3A5 gene can be monitored by using a primer pair that specifically hybridizes to either of the corresponding nucleic acid sequences and by carrying out a PCR reaction according to standard procedures. Specific hybridization of the above mentioned probes or primers preferably occurs at stringent hybridization conditions. The term "stringent hybridization conditions" is well known in the art; see, for example, Sambrook et al., "Molecular Cloning, A Laboratory Manual" second

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

ed., CSH Press, Cold Spring Harbor, 1989; "Nucleic Acid Hybridisation, A Practical Approach", Hames and Higgins eds., IRL Press, Oxford, 1985. Furthermore, the mRNA, cRNA, cDNA or genomic DNA obtained from the subject may be sequenced to identify mutations which may be characteristic fingerprints of mutations in the polynucleotide or the gene of the invention. The present invention further comprises methods wherein such a fingerprint may be generated by RFLPs of DNA or RNA obtained from the subject, optionally the DNA or RNA may be amplified prior to analysis, the methods of which are well known in the art. RNA fingerprints may be performed by, for example, digesting an RNA sample obtained from the subject with a suitable RNA-Enzyme, for example RNase T₁, RNase T₂ or the like or a ribozyme and, for example, electrophoretically separating and detecting the RNA fragments as described above.

Further modifications of the above-mentioned embodiment of the invention can be easily devised by the person skilled in the art, without any undue experimentation from this disclosure; see, e.g., the examples. An additional embodiment of the present invention relates to a method wherein said determination is effected by employing an antibody of the invention or fragment thereof. The antibody used in the method of the invention may be labeled with detectable tags such as a histidine flag or a biotin molecule.

The invention relates to a method of diagnosing a disorder related to the presence of a molecular variant of a CYP3A5 gene or susceptibility to such a disorder comprising determining the presence of a polypeptide or the antibody of the invention in a sample from a subject.

In a preferred embodiment of the above described method said disorder is cancer or diseases including cardiovascular diseases, diabetes and AIDS.

In a preferred embodiment of the present invention, the above described method is comprising PCR, ligase chain reaction, restriction digestion, direct sequencing, nucleic acid amplification techniques, hybridization techniques or immunoassays. Said techniques are very well known in the art.

Moreover, the invention relates to a method of detection of the polynucleotide or the gene of the invention in a sample comprising the steps of

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

- (a) contacting the solid support described supra with the sample under conditions allowing interaction of the polynucleotide or the gene of the invention with the immobilized targets on a solid support and;
- (b) determining the binding of said polynucleotide or said gene to said immobilized targets on a solid support.

The invention also relates to an in vitro method for diagnosing a disease comprising the steps of the method described supra, wherein binding of said polynucleotide or gene to said immobilized targets on said solid support is indicative for the presence or the absence of said disease or a prevalence for said disease.

The invention furthermore relates to a diagnostic composition comprising the polynucleotide, the gene, the vector, the polypeptide or the antibody of the invention.

In addition, the invention relates to a pharmaceutical composition comprising the polynucleotide, the gene, the vector, the polypeptide or the antibody of the invention.

These pharmaceutical compositions comprising, e.g., the antibody may conveniently be administered by any of the routes conventionally used for drug administration, for instance, orally, topically, parenterally or by inhalation. Acceptable salts comprise acetate, methylester, HCl, sulfate, chloride and the like. The compounds may be administered in conventional dosage forms prepared by combining the drugs with standard pharmaceutical carriers according to conventional procedures. These procedures may involve mixing, granulating and compressing or dissolving the ingredients as appropriate to the desired preparation. It will be appreciated that the form and character of the pharmaceutically acceptable character or diluent is dictated by the amount of active ingredient with which it is to be combined, the route of administration and other well-known variables. The carrier(s) must be "acceptable" in the sense of being compatible with the other ingredients of the formulation and not deleterious to the recipient thereof. The pharmaceutical carrier employed may be, for example, either a solid or liquid. Exemplary of solid carriers are lactose, terra alba, sucrose, talc, gelatin, agar, pectin, acacia, magnesium stearate, stearic acid and the like. Exemplary of liquid carriers are phosphate buffered saline solution, syrup, oil such as peanut oil and olive oil, water, emulsions, various types of wetting agents, sterile solutions and the like. Similarly, the carrier or diluent may include time delay

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

material well known to the art, such as glyceryl mono-stearate or glyceryl distearate alone or with a wax.

The dosage regimen will be determined by the attending physician and other clinical factors; preferably in accordance with any one of the above described methods. As is well known in the medical arts, dosages for any one patient depends upon many factors, including the patient's size, body surface area, age, the particular compound to be administered, sex, time and route of administration, general health, and other drugs being administered concurrently. Progress can be monitored by periodic assessment.

Furthermore, the use of pharmaceutical compositions which comprise antisense-oligonucleotides which specifically hybridize to RNA encoding mutated versions of the polynucleotide or gene according to the invention or which comprise antibodies specifically recognizing a mutated polypeptide of the invention but not or not substantially the functional wild-type form is conceivable in cases in which the concentration of the mutated form in the cells should be reduced.

Thanks to the present invention the particular drug selection, dosage regimen and corresponding patients to be treated can be determined in accordance with the present invention. The dosing recommendations will be indicated in product labeling by allowing the prescriber to anticipate dose adjustments depending on the considered patient group, with information that avoids prescribing the wrong drug to the wrong patients at the wrong dose.

In another embodiment the present invention relates to the use of the polynucleotide, a polynucleotide comprising SEQ ID No: 104, a polynucleotide encoding a polypeptide comprising SEQ ID No: 145, the gene, the vector or the polypeptide of the invention, a polypeptide comprising SEQ ID No: 145 or the antibody of the invention for the preparation of a diagnostic composition for diagnosing a disease.

A gene encoding a functional and expressible polypeptide of the invention can be introduced into the cells which in turn produce the protein of interest. Gene therapy, which is based on introducing therapeutic genes into cells by *ex-vivo* or *in-vivo* techniques is one of the most important applications of gene transfer. Suitable vectors and methods for *in-vitro* or *in-vivo* gene therapy are described in the literature and are known to the person skilled in the art; see, e.g., Giordano, Nature Medicine 2 (1996), 534-539; Schaper, Circ. Res. 79 (1996), 911-919; Anderson, Science 256 (1992), 808-813; Isner, Lancet 348 (1996), 370-374; Muhlhauser, Circ. Res. 77 (1995), 1077-1086; Wang, Nature Medicine 2

WO 02/053775 PCT/EP01/15290
(1996), 714-716; WO94/29469; WO 97/00957 or Schaper, Current Opinion in Biotechnology 7 (1996), 635-640, and references cited therein. The gene may be designed for direct introduction or for introduction via liposomes, or viral vectors (e.g. adenoviral, retroviral) into the cell. Preferably, said cell is a germ line cell, embryonic cell, or egg cell or derived therefrom, most preferably said cell is a stem cell. As is evident from the above, it is preferred that in the use of the invention the nucleic acid sequence is operatively linked to regulatory elements allowing for the expression and/or targeting of the polypeptides of the invention to specific cells. Suitable gene delivery systems that can be employed in accordance with the invention may include liposomes, receptor-mediated delivery systems, naked DNA, and viral vectors such as herpes viruses, retroviruses, adenoviruses, and adeno-associated viruses, among others. Delivery of nucleic acids to a specific site in the body for gene therapy may also be accomplished using a biolistic delivery system, such as that described by Williams (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88 (1991), 2726-2729). Standard methods for transfecting cells with recombinant DNA are well known to those skilled in the art of molecular biology, see, e.g., WO 94/29469; see also supra. Gene therapy may be carried out by directly administering the recombinant DNA molecule or vector of the invention to a patient or by transfecting cells with the polynucleotide or vector of the invention *ex vivo* and infusing the transfected cells into the patient. A polynucleotide comprising SEQ ID No: 104 and a polypeptide comprising SEQ ID No: 145 have already been described in Jounaidi *et al.* (Jounaidi, Biochem Biophys Res Commun 221 (1996), 466-70). However, Jounaidi *et al.* have merely disclosed the respective amino acid and nucleotide sequences without making any suggestion towards the pharmaceutical and diagnostic value of said polynucleotide or polypeptide, in particular for those disorders and diseases referred to *infra*.

In a further embodiment the present invention relates to the use of the polynucleotide, a polynucleotide comprising SEQ ID No: 104, a polynucleotide encoding a polypeptide comprising SEQ ID No: 145, the gene, the vector, the polypeptide of the invention, a polypeptide comprising SEQ ID No.: 145 or the antibody of the invention for the preparation of a pharmaceutical composition for treating a disease.

In another embodiment the present invention encompasses the use of a polynucleotide selected from the group consisting of:

- (a) a polynucleotide having the nucleic acid sequence of SEQ ID NO: 082, 088, 104, 112, 126, 131, or 140;

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

- (b) a polynucleotide encoding a polypeptide having the amino acid sequence of SEQ ID No: 127, 132, 141 or 145;
- (c) a polynucleotide capable of hybridizing to a CYP3A5 gene, wherein said polynucleotide is having at least one additional nucleotide at a position corresponding to position 3709/3710 or 27131/27132 of the CYP3A5 gene (Accession No: AF280107.1, wherein position 166220 has been numbered +1 and position 174832 has been numbered +8613, and Accession No: AC005020.2, wherein position 27341 has been numbered +8614) or a nucleotide exchange at a position corresponding to position 7303 or 27289 of the CYP3A5 gene (Accession No: AF280107.1, wherein position 166220 has been numbered +1 and position 174832 has been numbered +8613, and Accession No: AC005020.2, wherein position 27341 has been numbered +8614);
- (d) a polynucleotide capable of hybridizing to a CYP3A5 gene, wherein said polynucleotide is having an additional G nucleotide at a position corresponding to position 3709/3710 of the CYP3A5 gene (Accession No: AF280107.1, wherein position 166220 has been numbered +1 and position 174832 has been numbered +8613, and Accession No: AC005020.2, wherein position 27341 has been numbered +8614), an additional T nucleotide at a position corresponding to position 27131/27132 of the CYP3A5 gene (Accession No: AF280107.1, wherein position 166220 has been numbered +1 and position 174832 has been numbered +8613, and Accession No: AC005020.2, wherein position 27341 has been numbered +8614), or an A at a position corresponding to position 7303 or 27289 of the CYP3A5 gene (Accession No: AF280107.1, wherein position 166220 has been numbered +1 and position 174832 has been numbered +8613, and Accession No: AC005020.2, wherein position 27341 has been numbered +8614);

for the preparation of a diagnostic composition for diagnosing a disease in a subject having a genome comprising a variant allele of the CYP3A5 gene, wherein said allele is having an A at a position corresponding to position 6986 of the CYP3A5 gene (Accession No: AF280107.1, wherein position 166220 has been numbered +1 and position 174832 has been numbered +8613, and Accession No: AC005020.2, wherein position 27341 has been numbered +8614).

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

The definitions of the terms referred to in this specification apply mutatis mutandis to the aforementioned use.

The term "subject" *inter alia* refers to animals. Preferably, said animals belong to the animal species referred to above. Moreover, the term "subject" encompasses humans. The humans in accordance with the use of the present invention are selected from all existing ethnical groups and subgroups, e.g. Caucasians, African Americans or Asians. However, particular well suited for the use of the invention are African Americans for which it could be demonstrated that diagnosing a disease or a prevalence for a disease based on monitoring the presence or absence of a CYP3A5 allele having at a position corresponding to position 6986 of the CYP3A5 gene (Accession No: AF280107.1, wherein position 166220 has been numbered +1 and position 174832 has been numbered +8613, and Accession No: AC005020.2, wherein position 27341 has been numbered +8614) an A results in a false positive prediction for CYP3A5 expression in a considerable number of subjects. This allele of CYP3A5 has been described in detail in Kuehl, 2001, Nature Genetics 27: 383-391 as CYP3A5*1 allele. The CYP3A5*1 allele is characterized by the presence of an A at position 22893 of the CYP3A5 nucleic acid sequence referred to in Kuehl, loc.cit. The allelic frequency of said allele is particularly high in African Americans although it is also present in other ethnical groups or subgroups. However, it was found in accordance with the present invention that the CYP3A5 expression of subjects for which a false positive result was obtained in diagnostic studies based on the CYP3A5*1 allele could be correctly predicted by further diagnosing the presence or absence of a polynucleotide as defined under (a) to (d) in accordance with the use of the present invention. For example, a polynucleotide having an additional nucleotide at a position corresponding to position 27131/27132 of the CYP3A5 gene as defined supra has been found in accordance with this invention to be present in approximately 10% of the African Americans resulting in a frameshift mutation in exon 11. The present invention provides means and methods to distinguish between the haplotype resulting in improved expression of CYP3A5 comprising the polymorphism(s) of the CYP3A5*1 allele and the haplotype resulting in decreased expression, wherein said haplotype as set forth above comprises in addition to the polymorphism(s) of the CYP3A5*1 allele co-segregating polymorphisms comprised by a polynucleotide referred to under (a) to (d) supra. Thus, based on the aforementioned use of the present invention a reliable diagnosis of the CYP3A5 activity of a subject is achieved.

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

The invention also relates to the use of a polynucleotide comprising a polynucleotide having an A at a position corresponding to position 14690 of the CYP3A5 gene (Accession No: AF280107.1, wherein position 166220 has been numbered +1 and position 174832 has been numbered +8613, and Accession No: AC005020.2, wherein position 27341 has been numbered +8614) for the preparation of a diagnostic composition for diagnosing a disease in a subject having a genome comprising a variant allele of the CYP3A5 gene, wherein said allele is having an A at a position corresponding to position 6986 of the CYP3A5 gene (Accession No: AF280107.1, wherein position 166220 has been numbered +1 and position 174832 has been numbered +8613, and Accession No: AC005020.2, wherein position 27341 has been numbered +8614).

The definitions of the terms referred to in this specification apply *mutatis mutandis* to the aforementioned use.

In accordance with the present invention it could also be shown that the polymorphism(s) constituting the CYP3A5*1 and the CYP3A5*6 allele as described in Kuehl, *loc.cit.*, co-segregate in a considerable number of subjects and thereby constitute another haplotype resulting in decreased CYP3A5 expression. It has been shown that the CYP3A5*6 allele results in inappropriate splicing of exon 7 of CYP3A5, a frameshift and a premature termination at position 184 of the CYP3A5 protein. Consequently, false positive result as regards the expression level of CYP3A5 in a subject can be obtained in diagnostic studies based on the CYP3A5*1 allele. Said false positive results, however, can be avoided according to the use of this invention by further diagnosing the presence or absence of the polymorphism(s) of the CYP3A5*6 allele. Thus, based on the aforementioned use of the present invention a reliable diagnosis of the CYP3A5 activity of a subject is achieved.

In light with the foregoing, in a preferred embodiment of the aforementioned use said subject is an African American.

As has been discussed above, the number of subjects which are diagnosed false positive is due to the high allelic frequency of CYP3A5 alleles such as those comprising a polynucleotide as defined under (a) to (d) above resulting in a frame shift mutation or those comprised by the CYP3A5*6 allele. Said allelic frequency is particularly high within the group of African Americans. In accordance with the present invention it has been found that the CYP3A5*6 allele is present in about 13.3% of the African Americans. Thus within this ethnic group the problems emerging from a wrong prediction of CYP3A5 expression are more severe than for other ethnical groups.

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

In a more preferred embodiment of the use of the present invention said disease is cancer or diseases including cardiovascular diseases, diabetes and AIDS.

Finally, the present invention relates to a diagnostic kit for detection of a polymorphism comprising the polynucleotide, the gene, the vector, the polypeptide, the antibody, the host cell, the transgenic non-human animal or the solid support of the invention.

The kit of the invention may contain further ingredients such as selection markers and components for selective media suitable for the generation of transgenic cells and animals. The kit of the invention can be used for carrying out a method of the invention and could be, inter alia, employed in a variety of applications, e.g., in the diagnostic field or as research tool. The parts of the kit of the invention can be packaged individually in vials or in combination in suitable containers or multicontainer units. Manufacture of the kit follows preferably standard procedures which are known to the person skilled in the art. The kit may be used for methods for detecting expression of a mutant form of the polypeptides, genes or polynucleotides in accordance with any one of the above-described methods of the invention, employing, for example, immunoassay techniques such as radioimmunoassay or enzymeimmunoassay or preferably nucleic acid hybridization and/or amplification techniques such as those described herein before and in the Examples as well as pharmacokinetic studies when using non-human transgenic animals of the invention.

WO 02/053775

PCT/EP01/15290 - -

The figures illustrate the invention.

Figure 1: **A.** Western blot analysis of CYP3A5 protein expression in microsomes prepared from 6 LE (low expressing) and 6 HE (high expressing) Caucasian livers. **B.** The relative contributions of CYP3A5 and CYP3A4 to the combined CYP3A5/CYP3A4 protein pool in 17 HE livers as determined by Western blot.

Figure 2: Expression levels and the allelic source of CYP3A5 transcripts in LE and HE Caucasian livers. **A.** TaqMan analysis of CYP3A5 mRNA in 8 LE (low expressing, white bars) and 8 HE (high expressing, grey bars) liver samples. **B.** Sequences of a portion of the 3'-UTR of CYP3A5 in samples heterozygous for variant ch-v-015 (Table 2A). Templates used for PCR were genomic DNA (left panel), cDNA from a LE liver (middle panel) and cDNA from an HE liver (right panel).

Figure 3: Allelic frequencies of CYP3A5 genetic variants in Caucasians. **A.** in DNA samples derived from 8-168 LE individuals **B.** in DNA samples derived from 7-18 HE individuals. The bars at the bottom of the figure indicate schematically the localisation of the pseudoexons PS2 exon 1 and 2 and exons 1 – 13 of the CYP3A5 gene. The arrowhead marks the duplication boundary (Gellner, Pharmacogenetics 11 (2001), 111 - 121).

Figure 4: Genomic and peptide sequences: genomic DNA sequences containing the amplified regions in which polymorphisms were detected and polypeptide sequences with amino acid substitutions. Nucleotide sequences are listed in 5' - 3' orientation. Letters in lowercase indicate non-coding sequences, letters in uppercase indicate coding sequences. Primer regions are underlined. Variant sites are shown framed. Peptide sequences are shown in one letter code. || marks a site where a deletion has occurred. In Seq ID 198, the hybridizing site of the TaqMan® probe is shown in bold.

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

Figure 5: CYP3A5 cDNA insert region of the plasmid that was used as starting material for in vitro mutagenesis. Cloning sites are shown underlined. Modified 5' and 3' regions of the CYP3A5 cDNA are shown in lowercase letters. The 5' modification, a MALLLAVF amino acid sequence on protein level, has been introduced in order to increase expression in *E. coli* (Gillam, Arch Biochem Biophys 317 (1995), 374-84). The 3' modification, a His₆ tag on protein level, has been introduced in order to enhance subsequent purification. The unmodified part of the CYP3A5 insert was verified to be identical to the CYP3A5 cDNA corresponding to accession no. NM_000777.1 by sequencing, which is the underlying nucleotide sequence for NP_000768.1. Sites corresponding to ch-v-009 and ch-v-001 are shown framed.

The invention will now be described by reference to the following biological Examples which are merely illustrative and are not constructed as a limitation of the scope of the present invention.

Example 1: Isolation of genomic DNA from human blood, generation and purification of CYP3A5 gene fragments

Genomic DNA was isolated from blood or liver samples using Qiagen blood and tissue DNA isolation kits. Oligonucleotides used in the screen were designed based on the recently determined sequence and organisation of the human *CYP3A* locus (Gellner, Pharmacogenetics 11 (2001), 111 - 121). Primer sequences and PCR fragment lengths are given in Table 1A. Amplified fragments were processed through PCR purification columns (Qiagen) and sequenced on PE ABI 3700 DNA Analysers using the same primers as in PCR. The sequences were analysed for the presence of polymorphisms using the PHRED/PHRAP/POLYPHRED/CONSED software package (University of Washington, Seattle, WA, USA).

Total RNA was isolated from liver samples using the RNeasy kit (Qiagen) according to the manufacturers instructions except that an additional DNase I digestion was performed directly on the column. cDNA pools were generated from 1 µg of total RNA using random hexamer primers and Superscript reverse transcriptase (Life Technologies). The cDNA used for one TaqMan assay was derived from 40 ng total RNA. *CYP3A5* mRNA expression levels were quantified by real time quantitative PCR using the ABI 7700

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

Sequence Detection System (PE Biosystems). Oligonucleotides and probes were designed with the Primer Express (PE Biosystems) programme. Oligonucleotides used for the quantitative PCR were: forward 5'- TTG TTG GGA AAT GTT TTG TCC TAT C -3' (Seq ID: 237) and reverse 5'- ACA GGG AGT TGA CCT TCA TAC GTT -3' (Seq ID: 238). The TaqMan probe (5'- TCA GGG TCT CTG GAA ATT TGA CAC AGA GTG CTA-3'; Seq ID: 239) was labelled with the 5' reporter dye 6-carboxy-fluorescein (FAM) and the 3' quencher 6-carboxy-tetramethylrhodamin (TAMRA). The experiments were performed according to a standard protocol developed by PE Biosystems. The specificity of the assay for *CYP3A5* was determined using equal amounts of *CYP3A4*, *CYP3A5*, *CYP3A7* and *CYP3A43* cDNA species expressed *in vitro*. The specificity of the probe was 10^4 times higher for *CYP3A5* than for *CYP3A7* cDNA whereas *CYP3A4* and *CYP3A43* cDNAs were not detectable at all. The linear range of the *CYP3A5* assay was determined to be between 10 and 10^6 target molecules. *CYP3A5* expression levels were normalised using the expression of *18S* mRNA species determined with pre-developed TaqMan assays (PE Biosystems).

Example 2: Determination of genetic variations within the *CYP3A5* locus

Sequence diversity within the *CYP3A5* locus was determined by PCR amplification from genomic DNA (fragment size: 264 – 997 bp) and sequencing each PCR-product of 19 - 217 samples of Caucasian origin, 36 - 45 samples of African American origin, 34 - 47 samples of Chinese origin, 41 - 50 samples of Japanese origin, and 31 - 47 samples of Korean origin. The PCR-fragments encompass the entire protein-coding region of *CYP3A5*, a portion of the 3'-UTR, the entire 5'-UTR as well as 6203 bp sequence between the *CYP3A5* transcriptional start site and a L1_5'UTR_ORF repeat located upstream of the gene (Fig. 3). In addition, we genotyped two linked single nucleotide polymorphisms (SNPs, ch-v-020, ch-v-021, Table 2A-E) located in a sequence originally described as *CYP3A5* promoter that were recently reported to co-segregate with increased *CYP3A5* protein expression (Paulussen, Pharmacogenetics 10 (2000), 415-24). The results also indicate co-segregation of both variants. Using the recently determined sequence of the entire *CYP3A* locus (Gellner, Pharmacogenetics 11 (2001), 111 - 121), we place these variants approximately 20 kb upstream of the first exon of *CYP3A5*, in a sequence 5' adjacent to a *CYP3A* pseudogene (PS2 in Fig. 3). Furthermore, we additionally genotyped a single nucleotide polymorphism located in intron 3 of the *CYP3A5* gene (ch-v-048;

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

Kuehl, 2001, *Nature Genetics* 27: 383-391) by TaqMan® assay using the primers and probes listed in Table 1B. The analysis were performed on a Sequence Detection System (PE Biosystems).

A total of 29 variants including the two linked SNPs described by Paulussen *et al.* (Paulussen, *Pharmacogenetics* 10 (2000), 415-24) were detected in the screen of Caucasian samples and their allelic frequencies were estimated to be between 0.3 % and 11.9 % (Table 2A). 6 variants are located within the 6 kb sequence upstream of the transcriptional start site of *CYP3A5*. 14 variants are located in introns, or in the 5'-UTR or 3'-UTR, whereas 4 have been found in the protein-coding sequence. Among the latter ones, three variants result in amino acid substitutions and one in a premature termination of the *CYP3A5* protein (Table 2A). The g.7303C>A variant (ch-v-009, Table 2A) results in a S100Y amino acid exchange in exon 4. The g.3705C>T variant (ch-v-005) leads to a H30Y amino acid exchange in exon 2. Cloning and sequencing revealed a physical linkage of this variant to the g.3709-3710insG variant (ch-v-006). The latter variant results in a shift of the open reading frame leading to a truncation of the protein sequence at position 34 (K34.). The T398N variant (ch-v-001, Table 2A), originally described by Jounaidi (Jounaidi, *Biochem Biophys Res Commun* 221 (1996), 466-70), was found in 3 out of 80 individuals tested.

Neither of the four protein altering variants found in Caucasians have been found in the African-Americans, Chinese, Japanese or Korean samples (Table 2A-E). However, among others we have found 4 new variants in these samples that result in an altered *CYP3A5* amino acid sequence (ch-v-017, ch-v-043, ch-v-045, ch-v-068, Table 2B-E). The g.27131-27132insT (ch-v-017) variant in exon 11 (ch-v-017, Table 2B, 2D) has been found in 9 out of 45 African-American samples and in one out of 50 Japanese samples. The variant results in a shift of the open reading frame which leads to a truncation of the protein sequence at position 348 (D348.). Variants ch-v-043, ch-v-045 and ch-v-068 lead to amino acid exchanges.

Example 3: Identification of genetic determinants of *CYP3A5* protein expression

In the following, the frequencies of Caucasian *CYP3A5* gene variants have been analyzed as a function of *CYP3A5* protein expression. For this purpose, allelic frequencies of

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

variants shown in Table 2A were calculated separately for HE and LE livers (Fig. 3). The frequencies of 9 variants (ch-v-020, ch-v-021, ch-v-026, ch-v-034, ch-v-007, ch-v-008, ch-v-011, ch-v-014 and ch-v-015) were significantly increased in HE livers (all $\chi^2 > 13.3$, $df = 1$, $p < 0.01$, Bonferroni corrected). Except one, all tested HE livers (17/18, 94 %) were heterozygous for three variants (ch-v-021, ch-v-026 and ch-v-015). 16 of those samples were heterozygous for ch-v-020 as well. One HE sample could not be genotyped for this variant. In contrast, LE livers were either wildtype (155/168, 92.3 %), heterozygous for variants ch-v-021 and ch-v-26 (9/168, 5.4 %) or heterozygous for the variant ch-v-015 (4/168, 2.4 %) only. However, in LE livers all three variants never occurred simultaneously (Table 3). These results defined either of the three variants as a useful but imperfect marker of increased CYP3A5 expression. The variants ch-v-034, ch-v-008, ch-v-011 and ch-v-14 only occurred in a subset of the samples heterozygous for the above three variants (ch-v-021, ch-v-026 and ch-v-015).

The distribution of variants ch-v-021, ch-v-026 and ch-v-015 in the samples screened strongly suggest that they constitute a haplotype. In the following, the hypotheses whether these three variants recombine independently or not has been tested. Assuming their independent inheritance, the expected 3-loci-genotype frequencies for all combinations of variants and compared them with the observed frequencies have been calculated. The difference is highly significant ($\chi^2 = 93.6$; classes 'all wildtype', 'single variant hetero- or homozygous', 'two or three variants hetero- or homozygous'; $df = 1$; $p \ll 0.001$). There were more individuals with two or three of the variants than expected and less individuals with only one of the variants. This result suggests linkage among the three variants. The degree of linkage with the linkage disequilibrium parameter D for the three pairs of variants was estimated. Using maximum likelihood estimates for haplotype frequencies, D was calculated to be 0.041 for the variant pairs ch-v-021/ch-v-015 and ch-v-026/ch-v-015, which is 80 % of its theoretical maximum, and 0.065 for variants ch-v-021 and ch-v-026 which corresponds to 100 % of its theoretical maximum.

The probability that individuals showing the respective variant genotype are HE (positive predictive value) is estimated to be 65 % for variants ch-v-021 and ch-v-026, respectively, and 81 % for the ch-v-015 variant. For the combination of all three variants the positive predictive value is 100 % in our sample set. However, assuming that these variants need to be located in *cis* for increased protein expression, it is clear that there is some probability for individuals showing all three variants to be LE. The results show that at least the allele ch-v-021/ch-v-026 and the allele ch-v-015 actually exist (see genotype 2 and 3,

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

Table 3) and therefore the existence of a genotype with a combination of these two alleles has to be postulated. The maximum likelihood estimate for the frequency of these 3-fold heterozygotes having not all three variants in *cis* is 0.05 % of all samples screened or 0.61 % of samples hetero- or homozygote for all three variants. In other words, of 100 Caucasians screened statistically about 9 of them will be hetero- or homozygous for all three variants and about 0.05 of these will have not all three variants in *cis*. Therefore, it can be expected that the positive predictive power of the 3-variant genotype to be about 99.95 %. Of course, the same values would be achieved for a combination of only two variants, either ch-v-021/ch-v-015 or ch-v-26/ch-v-15.

In a single HE liver none of the above 9 variants that were found in the other 17 HE samples could be detected. A closer examination of variants found in this sample revealed a variant within intron 4 (ch-v-018) and one within intron 5 (ch-v-019), respectively. These variants were unique to this sample, since they were not found in any other of the samples screened. Neither were they found in any of the other ethnic groups screened. It remains to be shown whether these variants are themselves causative for transcriptional activation or whether they are linked to another, so far undetected variant.

Example 4: Determination of CYP3A5 protein expression

Protein expression of CYP3A4 and CYP3A5 in Caucasian liver samples was determined by Western blotting using CYP3A4- and CYP3A5-specific antibodies (Gentest). Liver microsomes were prepared as previously described (Zanger, *Biochemistry* 27 (1988), 5447-54). To obtain total protein homogenate, powdered liver tissue was homogenised in 0.1 M Tris-Cl pH 7.4, 1 mM EDTA, 1 mM Pefa Bloc SC, 1 µg/ml leupeptin, 1 µg/ml pepstatin with a Potter Elvehjem homogenisator (glass/Teflon) for 2 min at 1000 rpm. Homogenates were then sonified with a Bandelin Sonoplus HD 200 and stored at -80°C. For Western blotting, 12.5 µg microsomal protein homogenate or 40 µg total protein homogenate were separated in a 10 % SDS-polyacrylamide gel. Electrophoretic transfer onto PVDF membranes was carried out in a TankBlot Cell (BioRad) for 1.5 hours at constant voltage (100 V) and at 10 °C. Following the transfer, the membranes were incubated for 60 min in 5 % milk, TBS, 0.1 % Tween 20 to reduce the unspecific antibody binding. Incubations with either primary antibody (Gentest, dilution 1:500) were performed in 1 % milk, TBS, 0.1 % Tween 20 for 60 min, those with the secondary antibody (anti-

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

rabbit IgG-POD Fab-fragments, Dianova, dilution 1:10000 in the same solution for 30 min. CYP3A4 or CYP3A5 protein bands were detected with Supersignal Dura (Pierce) and a digital CCD-camera (LAS-1000, Fuji). Signal quantification was performed with AIDA (Raytest). Protein expression levels were calculated based on calibration curves obtained with microsomes expressing recombinant CYP3A4 and CYP3A5 proteins (Gentest).

Homogenates or microsomal fractions were prepared from 186 human livers and investigated by Western blotting using a CYP3A5-specific antibody. CYP3A5 protein was detected in all samples analysed and its expression showed a clear bimodality (Fig. 1A). 168 livers (~ 90 %), further referred to as LE (low-expressing), showed expression close to or below the lower limit of quantification (LLOQ) of the assay (0.3 pmol/mg homogenate protein and 1.0 pmol/mg microsomal protein). Eighteen samples (~ 10 %), further referred to as HE (high-expressing), exhibited much higher CYP3A5 expression levels. The expression was in the range between 1.6 and 2.9 pmol/mg homogenate protein (2.3 ± 0.5 ; $n = 6$) and between 3.9 and 15.5 pmol/mg microsomal protein (9.7 ± 4.1 ; $n = 12$). Taking the LLOQ of the assay as the expression level of CYP3A5 in LE livers, HE livers express on average 8 to 10 times more CYP3A5 protein than LE livers.

In the following, the contribution of CYP3A5 to the combined CYP3A5 and CYP3A4 protein expression in HE livers was investigated. CYP3A4 expression in these livers was between 0.9 and 82.6 pmol/mg homogenate protein ($n = 6$) and between 4.5 and 295 pmol/mg microsomal protein ($n = 11$). The levels and the range of CYP3A4 variability in HE livers were similar to those in LE livers (not shown). Fig. 1B shows the share of CYP3A5 in the combined CYP3A5 and CYP3A4 protein pool in 17 HE livers. CYP3A5 contribution varies between 3 % and 74 %. In an average HE liver, the share of CYP3A5 in the combined pool of both proteins is 24 %. Taking the LLOQ of the CYP3A5 assay as the actual expression level of the protein in LE livers, the corresponding value in these livers is approximately 1.6 %.

Example 5: Determination of CYP3A5 mRNA expression

The expression of *CYP3A5* mRNA in 8 Caucasian HE and 8 LE livers was investigated using a CYP3A5-specific TaqMan probe. As illustrated in Fig. 2A, the distribution of *CYP3A5* mRNA levels exhibited a bimodality which was in complete agreement with that

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

observed in the expression of CYP3A5 protein (Fisher's exact test, $p = \ll 0.001$). The number of 3A5 transcripts per ng of total RNA in HE livers ($n = 8$) was on average 8.5 times higher than those in LE livers ($n = 8$).

In the following, the allelic origin of CYP3A5 transcripts in HE and LE livers was investigated. To this end, by PCR a portion of the 3'-UTR (untranslated region) of the gene was amplified and sequenced using genomic or cDNA samples as templates which were heterozygous for a T>C variant located in this region (variant ch-v-015 in Table 2A.). As expected, both alleles are represented in the sequence using genomic DNAs as template (Fig. 2B). Both alleles were also equally represented in a sequence of PCR-amplified cDNA from a LE (homozygous wildtype for ch-v-021 and ch-v-26, heterozygous for ch-v-015) liver. In contrast, only the C allele was found in the same portion of CYP3A5 3'-UTR cDNA from a HE liver. This indicates an overrepresentation of transcripts derived from the chromosome harbouring the C allele in the total pool of CYP3A5 transcripts in HE livers.

Example 6: In vitro mutagenesis and expression of recombinant CYP3A5 proteins

Five polymorphisms in Caucasians have been detected that lead to changes in the protein sequence. Two of them, ch-v-006 and ch-v-017, lead to a truncation of the protein and therefore are unlikely to code for a functional protein. As ch-v-005 has only been found physically linked to ch-v-006, the resulting protein variant is not likely to be functional as well. To determine the effect of the protein variants ch-v-009 and ch-v-001 these variants were analysed in a heterologous bacterial expression system.

A modified CYP3A5 cDNA in the prokaryotic expression vector pKK233-2 (Pharmacia) was used as starting material for in vitro mutagenesis (Fig. 5). Variants ch-v-009 and ch-v-001, respectively, were introduced into the plasmid by in vitro mutagenesis using the QuikChange mutagenesis kit (Stratagene). The successful introduction of the mutations and the absence of other, undesired mutations was confirmed by sequencing. The original plasmid as well as the two mutagenised plasmids were used to transform *E. coli* TOPP3 cells, a strain in which optimal expression of CYP3A proteins has previously been obtained. A total of 8 separate colonies of each mutant plasmid were chosen for expression studies. The bacteria were grown and induced as described in Eiselt *et al.* (Eiselt, Pharmacogenetics 11 (2001), 447-58.). Expression was analysed 48 h and 72 h after induction with IPTG/ δ -ALA. Cells were harvested as described in Domanski *et al.*

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

(Domanski, Arch Biochem Biophys 350 (1998), 223-32). The final P450 content was measured by reduced carbon monoxide (CO) difference spectra (Omura, J. Biol. Chem. 239 (1964), 2370-2378).

Whereas 30 to 50 nmol solubilised CYP3A5 could be recovered per litre culture of the non-mutagenised CYP3A5, expression in the two CYP3A5 variants S100Y and T398N was determined to be lower than 3 nmol P450 protein per litre culture. In many instances, the "P450" peak was shifted to 454 - 458 nm rather than the typical 448 - 450 nm peak expected. The low level of expression in mutagenised colonies made any attempts at protein purification futile. Previous experiments suggest that expression levels as low as those demonstrated by these CYP3A5 variants can not be significantly improved by utilising other bacterial strains or adjusting growth temperature. Therefore, the results strongly suggest that the CYP3A5 protein variants comprising the S100Y or the T398N substitutions are unstable in an *E. coli* expression system and that the variants comprising ch-v-009 or ch-v-001 may not code for functional proteins. The result of negative expression for variant ch-v-001 (T398N) is in agreement with the study in which this polymorphism was initially detected in two of five CYP3A5 deficient individuals (Jounaidi, Biochem Biophys Res Commun 221 (1996), 466-70).

Example 7: Prediction of expected drug metabolism by CYP3A5 genotypes

The CYP3A5 protein degrades many drugs by oxidation so that they are not therapeutically active anymore. Therefore, drugs that are CYP3A5 substrates might not reach therapeutically active plasma concentrations for an adequate time span in patients with enhanced CYP3A5 activity. In these patients these drugs have to be dosed higher. On the other side, in patients with reduced CYP3A5 activity, these drugs have to be administered at lower dosage in order to avoid toxic drug levels. Table 4 gives an assignment for CYP3A5 genotypes and recommended dosages.

In cases in which CYP3A5 metabolism leads to the formation of pharmacologically active substance, enhanced enzyme activity has to be counteracted by reduced dosage whereas reduced CYP3A5 activity has to be met by increased dosage.

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

Table 1A: Primers used to screen for polymorphisms within the *CYP3A5* upstream regions and the *CYP3A5* gene.

Ref.	ID	Primer		Position (nt)	(bp)
		Name	Sequence (5'-3')		
chzk	001	694	ACAGGCACAGAAACCACAAG	145448-145468 ¹	630
	002	711	ATCGCCACTTGCCTTCTTC	146077-146059 ¹	
chzl	003	794	CCCTGCCTTCGGCTTGTGCA	159915-159933	575
	004	750	CACAGCCCTGCCTTATTTGTCATGA	160489-160466	
chzj	005	751	GATCCTTGGTAGGACAAAGCCT	160351-160371 ¹	844
	006	754	CAAGCACTGATTTGGTCACTTCCT	161194-161171 ¹	
chzb	007	819	GGGATGGGACCGTAAGTGGAAC	160951-160972 ¹	618
	008	820	TAATCACATTTGGAGTCTGACAAATG	161568-161543 ¹	
chzi	009	736	AAAACCTCTTACAAAGTATCATCGGATA	161419-161448 ¹	910
	010	737	CCTACTAGCTCTCTGACTTGGAAACAT	162328-162302 ¹	
chzh	011	784	GCCGAGAGCCGACCACTTACACT	161876-161896	637
	012	785	CACCCATCCCTTCCCACTCAT	162512-162492 ¹	
chzg	013	740	TGATGGTTCAGAGTCAGAGACCTAGTAG	162300-162327 ¹	997
	014	741	AAATGTAGACATCTTCTCTTAAGTTAATTCCTCCRG	163296-163262 ¹	
chzf	015	786	TCTGCATGCCAAGAGTGAACAATCT	163182-163205 ¹	824
	016	789	GGCAGCCACAGCATGTGCC	164005-163987 ¹	
chze	017	790	CTGGCTGAGTCCCGTGGCT	163945-163963 ¹	591
	018	791	TGAGCCCTTCATGTAATCTGGCTAT	164435-164411 ¹	
chza	019	824	AAATATTTTCAAGTCCACACTTGACACAG	164376-164406 ¹	617
	020	822	TAACAGGATCTCAGCTTTTTCATGGCT	164992-164964 ¹	
chzd	021	747	CACCTCAATATTCACAAATGCCACTATICA	164843-164872 ¹	926
	022	748	ACTCTACGTTATCCCTTCCAAGCCC	165768-165745 ¹	
chzc	023	728	GCTAAGGGAAACAGGCATGAAACTTAC	165586-165613 ¹	557
	024	729	GGAGCTTCCCTGCCCTGC	166142-166125 ¹	
chzy	025	323	TCCCTTCTCCAGCACATAAATC	166076-166098 ¹	424
	026	325	AAATTAGAAAGTGGATGGGAG	166499-166479 ¹	
chzx	027	385	GAGTAACTCACCAGCCCTCTG	168838-168858 ¹	264
	028	336	AAACCTCAGAACTCCCTCCCA	170101-170081 ¹	
chzw	029	338	GACATCTCTGAATAGCTTCCCTTC	171382-171414 ¹	402
	030	341	GCACATAGTTTTATAACGGCAA	171793-171773 ¹	
chzv	031	346	AGAACCTAAGTGTCTGTGTGTCTC	173303-173325 ¹	394
	032	348	TGCAAGATGTTTACCCTGGGC	173696-173676 ¹	
chzu	033	354	CGCCCCACATCACTCAGAA	31376-31395 ²	426
	034	357	AGACCAATTTTAGGAAGCTCG	31801-31781 ²	
chzt	035	379	CAAGGGTATGCTCCATGAGTTC	31760-31781 ²	403
	036	381	CTCTTTGGAGTTGCAAGCG	32162-32145 ²	
chzs	037	362	AGGTGAGTCTAACTCAGCTTG	33081-33101 ²	578
	038	365	GACAGCTAAAGTGTGTGAGGG	33658-33638 ²	
chzr	039	371	AAATGGTTCAGTTGAGAAATC	34411-34431 ²	470
	040	373	ATTTGTTGCTGATTTCAAG	34880-34860 ²	
chzq	041	387	AGTAGCCTAAGGAGGTTG	35627-35645 ²	423
	042	389	GACTGCTCTCCAGCAATTC	36049-36030 ²	
chzp	043	394	GATGCCATGATGAGGAGTGTG	37724-37744 ²	626
	044	397	ACCAGGCCCGCAATATTG	38349-38331 ²	
chzm	045	403	AAATCTTCCAGAACTACTATGATCA	45711-45735 ²	595
	046	405	CAAGGACATATTTGATTTATCTTTG	46305-46282 ²	
chzo	047	411	TACTGGTTCGGAGGTGGAG	48290-48308 ²	456
	048	412	CATGATGTTCTTAAATGCTACAGG	48745-48723 ²	
chzn	049	419	GAGAGTTCAAGATACATGGTGTTA	50088-50112 ²	416
	050	420	TCCACACACTTACACAGACTC	50503-50481 ²	

Ref.: Reference sequence. The positions of primers refer to GenBank sequences with accession numbers (1) AF280107.1 and (2) AC005020.2.

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

Table 1B: Primers (Seq IDs 202 and 203) and probes (Seq IDs 204 and 205) used to determine the nucleotide status at the polymorphic site ch-v-048 (g.6986G>A) by TaqMan assay.

Ref.	ID	Name	Primer		Position (nt)	(bp)
			Sequence (5'-3')			
chyu	202	TQPI_ch-v-048_F	GCTCTACTGTCATTTCCTAACCATAT CTCCTTA		173152-173184	99
	204	TQPo_ch-v-048_AI1_G_VIC	VIC-TGTCCTTCAGTATCTCTT-	MGB-DQ	173196-173213	
		TQPo_ch-v-048_AI2_A_FAM	FAM-TGTCCTTCATATCTCTTC-	MGB-DQ	173198-173214	
	203	TQPI_ch-v-048_R	GCTTCATATGATGAAGGTAATGTGG T		173250-173224	

Ref.: Reference sequence. The positions of the primers refer to the GenBank sequence with accession number AF280107.1. Probes are labelled with a fluorescent dye at the 5' end and labelled with a dark quencher (DQ) and using a minor groove binder (MGB).

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

Table 2A: CYP2A5 polymorphisms detected in samples of Caucasian origin.

Variant ID	Reference sequence	Variant position on		Sequence context		Genetic element	Predicted effect	Caucasian	
		Reference sequence	gDNA	Seq ID	Reference seq. Variant seq.			N	Variant allele frequency (%)
ch-v-020	ch2k	254T>G	g-20618T>G	051	TGGGCTTGCAAG.....	5' of PS2		211	6.6
ch-v-031	ch2k	318G>A	g-20555G>A	053	GCAATGGGTAAAA.....	5' of PS2		189	0.3
ch-v-032	ch2k	544G>A	g-20329G>A	055	GGGGCTGTGTCA.....	5' of PS2		186	0.3
ch-v-033	ch2k	550G>A	g-20323G>A	057	TGTGGCATTCA.....	5' of PS2		186	0.3
ch-v-021	ch2k	582A>G	g-20281A>G	059	GCCCGACCTCCG.....	5' of PS2		215	6.7
ch-v-026	ch2l	229A>G	g-6177A>G	061	CTCAGACTVGGG.....	5' of Exon 1		208	7.0
ch-v-027	ch2l	566G>A	g-4386G>A	063	GAGAGCGACCAA.....	5' of Exon 1		19	2.7
ch-v-028	ch2h	601G>A	g-3844G>A	065	TGNGHTGAGGAA.....	5' of Exon 1		20	10.0
ch-v-029	ch2g	464T>C	g-3857T>C	067	ATCCATGTATAC.....	5' of Exon 1		20	2.5
ch-v-034	ch2a	328T>C	g-1617T>C	069	CACTCTACCCCC.....	5' of Exon 1		93	2.2
ch-v-030	ch2d	683T>A	g-795T>A	071	TCTATGCTATA.....	5' of Exon 1		20	5.0
ch-v-002	ch2y	159G>A	g-86G>A	073	GCGAGGAAAGCA.....	Exon 1 (5' UTR)		106	0.5
ch-v-003	ch2y	177C>T	g-74C>T	075	CCAGGCAACAT.....	Exon 1 (5' UTR)		106	4.3
ch-v-004	ch2y	418-420delGAG	g-174-176delGAG	077	TCCAGGAGGAGT.....	Intron 1		106	0.5
ch-v-005	ch2x	187C>T	g-3705C>T	079	CTTACCTGGAT.....	Exon 2	H30Y	104	1.4
ch-v-006	ch2x	191-192insG	g-3709-3710insG	081	CATGG-ACCTTG.....	Exon 2	(K34.) ¹	104	1.4
ch-v-007	ch2w	143C>T	g-5215C>T	083	GATAGCAGGCCT.....	Intron 2		105	6.7

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

chr-v-048	ch1v1	206G>A	g.6986G>A	147A.....	Intron 3	splice defect	217	4.6
chr-v-008	ch2v	199C>A	g.7182C>A	085	AGAAATCGGGCT	Intron 3		107	1.9
chr-v-009	ch2v	320C>A	g.7303C>A	087	TGATTCCTGCT	Exon 4	S100Y	107	0.5
chr-v-018	ch2v	441- 444insCTAAAAAAT	g.7424- 7427insCTAAAAAAT	089	C--AG-----G	Intron 4		107	0.5
chr-v-016	ch2l	145T>G	g.1307T>G	090	CTCTAAATAATG	Intron 5		105	0.5
chr-v-019	ch2l	241T>C	g.13173T>C	092	TCTTTTATCTTT	Intron 5		105	0.5
chr-v-010	ch2q	132-133insGTC	g.16831- 16832insGTC	093	GAGTCTCCACA	Intron 8		95	0.5
chr-v-011	ch2q	364G>T	g.17763G>T	094	AGTC---AAGA	Intron 9		95	3.2
chr-v-012	ch2p	289G>A	g.19165G>A	095	AGAGAGCTTCA	Intron 9		106	0.5
chr-v-013	ch2m	167A>G	g.27050A>G	096A.....	Intron 10		80	11.9
chr-v-001	ch2m	406C>A	g.27289C>A	101	CTTCAATAGTA	Exon 11	T398N	80	1.9
chr-v-014	ch2m	643C>T	g.27526C>T	102	TCCCACTATATG	Intron 11		80	3.8
chr-v-015	ch2n	351T>C	g.31611T>C	104A.....	Exon 13 (3' UTR)		197	5.6
				105	CGAAATCTACAT				
				106T.....				
				107	AAGGATTTCTTA				
				108C.....				

All variants were detected in the heterozygous state except for 1 homozygous individual for variant chr-v-013. ¹ variant results in a frame shift which ultimately leads to a premature termination.

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

Table 2B: CYP3A5 polymorphisms detected in samples of African-American origin.

Variant ID	Reference sequence	Variant position on		Seq ID	Sequence context reference seq. variant seq.	Genetic element	Predicted effect	N	Variant allele frequency (%)
		Reference sequence	gDNA						
ch-v-037	chzk	230T>C	g.-20643T>C	148 149	TTTAATAGAGC.....	5' of PS2		42	3.6
ch-v-020	chzk	254T>G	g.-20819T>G	051	TGGGCTTGCDAG.....	5' of PS2		41	69.5
ch-v-038	chzk	506C>T	g.-20367C>T	150 151	ATTTCCCATAGT.....	5' of PS2		44	1.1
ch-v-039	chzk	514T>C	g.-20359T>C	152 153	TAGAAATAGAAC.....	5' of PS2		44	1.1
ch-v-021	chzk	562A>G	g.-20291A>G	059 060	GCCCGACCTCCG.....	5' of PS2		45	66.7
ch-v-026	chzl	229A>G	g.-6177A>G	061	CTCAGACTGAGG.....	5' of Exon 1		43	65.1
ch-v-051	chzh	455T>G	g.-3990T>G	154 155	GTAAGTATACCG.....	5' of Exon 1		44	2.3
ch-v-052	chzh	577G>A	g.-3868G>A	156 157	TTGACGTTGAGA.....	5' of Exon 1		44	3.4
ch-v-028	chzh	601G>A	g.-3844G>A	066 068	TGTTGTTGAGGAA.....	5' of Exon 1		44	17.1
ch-v-034	chyz	328T>C	g.-1617T>C	068 070	CACTCTACCCCC.....	5' of Exon 1		45	42.2
ch-v-002	chzy	159G>A	g.-86G>A	073 074	GCCAGGAGACA.....	Exon 1 (5' UTR)		45	1.1
ch-v-003	chzy	171C>T	g.-74C>T	075 076	CCAGGCAACAT.....	Exon 1 (5' UTR)		45	1.1
ch-v-007	chzw	143C>T	g.5215C>T	083 084	GATACAGGCCT.....	Intron 2		44	3.4
ch-v-053	chzw	163G>A	g.5235G>A	158 159	TGGAGGCACTA.....	Intron 2		45	2.2
ch-v-054	chzw	444T>A	g.5516T>A	160 161	GAGGATAATTAA.....	Intron 3		43	3.5
ch-v-048	chyu	206G>A	g.6886G>A	146 147	TTTCAGTACTA.....	Intron 3		45	73.3

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

chv-v-025	chzv	224C>T	g.7207C>T	109 110	AGTCCCGTTGTT.....	Intron 3	43	7.0
chv-v-043	chzl	294T>C	g.13226T>C	162 163	CATCATTTGCCC.....	Exon 6	I148T	1.1
chv-v-055	chzl	444G>A	g.13376G>A	164 165	CAGTCGGACTGA.....	Intron 6		1.1
chv-v-050	chzs	437G>A	g.14680G>A	166 167	ACTRAGAAGTTA.....	Exon 7	splice defect	13.3
chv-v-056	chzs	467A>G	g.14720A>G	168 169	GATCCATTATTG.....	Exon 7	P218P	6.7
chv-v-057	chzs	583C>T	g.14836C>T	170 171	CAATTCCTATTT.....	Intron 7		1.1
chv-v-058	chzs	650A>G	g.14903A>G	172 173	TGTCAACTTAGG.....	Intron 7		6.7
chv-v-059	chzr	205T>C	g.15788T>C	174 175	TTCCTTTTCTTC.....	Intron 7		3.4
chv-v-060	chzr	498A>C	g.16079A>C	176 177	AAATATAAAGC.....	Intron 8		1.1
chv-v-011	chzq	364G>T	g.17163G>T	097 098	AGGAAGTATTCT.....	Intron 9		7.0
chv-v-062	chzp	173G>A	g.19069G>A	178 179	TTTAGCGTCAATCA.....	Intron 9		1.1
chv-v-063	chzp	312C>T	g.19208C>T	180 181	TTGACCTGATTTT.....	Intron 9		2.2
chv-v-013	chzm	167A>G	g.27050A>G	101 102	CTTCAATAGTAG.....	Intron 10		1.4
chv-v-017	chzm	248-249insT	g.27131-27132insT	111 112	CACCT-ACCTAT.....	Exon 11	(D348.) ¹	10.0
chv-v-014	chzm	643C>T	g.27526C>T	105 106	CGAATCTACATT.....	Intron 11		11.9
chv-v-044	chzn	239T>C	g.31499T>C	182 183	TATCTTAGATCC.....	Intron 12		5.6
chv-v-015	chzn	351T>C	g.31611T>C	107 108	AAGATTTCTTAC.....	Exon 13 (3' UTR)		68.2

¹ variant results in a frame shift which ultimately leads to premature termination.

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

Table 2C: CYP3A5 polymorphisms detected in samples of Chinese origin.

Variant ID	Reference sequence	Variant position on		Seq ID	Sequence context reference seq. variant seq.	Genetic element	Predicted effect	N	Variant allele frequency (%)
		Reference sequence	gDNA						
ch-v-020	chr2k . 254T>G	g.-20619T>G	051 052	TGGGCTTCGCAAG.....	5' of PS2		42	23.8	
ch-v-021	chr2k 582A>G	g.-20281A>G	059 060	GCCCGACCTCCG.....	5' of PS2		45	26.7	
ch-v-026	chr2l 228A>G	g.-6177A>G	061 062	CTCAGACTGGGG.....	5' of Exon 1		47	26.6	
ch-v-034	chr2z 528T>C	g.-1617T>C	069 070	GACCTTACCCCC.....	5' of Exon 1		47	21.3	
ch-v-066	chr2y 380T>C	g.136T>C	184 185	CTTTTCCCTTTC.....	Intron 1		45	1.1	
ch-v-067	chr2y 474G>A	g.230G>A	186 187	CTTATGGGAGATA.....	Intron 1		44	1.14	
ch-v-048	chr2y 206G>A	g.6986G>A	146 147	TTTCAGTATCTA.....	Intron 3		47	26.6	
ch-v-018	chr2v 441-444insCTAAAAAAT	g.742A-742TinsCTAAAAAAT	089 090	C-AG-----G CCTAAAAAATG	Intron 4		47	2.1	
ch-v-068	chr2u 359G>A	g.12907G>A	188 189	AAATACGGTCATA.....	Exon 5	R130Q	45	3.3	
ch-v-047	chr2u 404T>C	g.12652T>C	190 191	GAGAGATGAAC.....	Intron 5	splice defect	44	1.1	
ch-v-069	chr2u 480G>A	g.13028G>A	192 193	AGTCCGTTTTCCA.....	Intron 5		44	1.1	
ch-v-011	chr2q 364G>T	g.17183G>T	087 088	AGGACCTTATTCT.....	Intron 9		40	21.3	
ch-v-014	chr2m 643C>T	g.27528C>T	106 107	CGAAACTACCATT.....	Intron 11		47	5.3	
ch-v-015	chr2n 351T>C	g.31611T>C	107 108	AGGATTTCTAC.....	Exon 13 (3' UTR)		47	26.6	

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

Table 2D: CYP2A5 polymorphisms detected in samples of Japanese origin.

Variant ID	Reference sequence	Variant position on		Sequence context		Genetic element	Predicted effect	N	Variant allele frequency (%)
		Reference sequence	gDNA	Seq ID	reference seq. variant seq.				
ch-v-020	ch2k	254T>G	g-20619T>G	051	TGGGGTTGGCAAG.....	5' of PS2		42	29.8
ch-v-021	ch2k	582A>G	g-20291A>G	059	GCCCGACCTCCG.....	5' of PS2		49	28.6
ch-v-026	ch2l	229A>G	g-6177A>G	061	CTCAGACTGGGG.....	5' of Exon 1		46	28.3
ch-v-028	ch2h	601G>A	g-3844G>A	065	TCTCTGTGGGAA.....	5' of Exon 1		50	2.0
ch-v-034	ch2y	328T>C	g-1617T>C	069	CATCTTACGCCC.....	5' of Exon 1		50	26.0
ch-v-007	ch2w	143C>T	g-5215C>T	083	GATAGCAGGCCT.....	Intron 2		48	3.1
ch-v-048	ch2u	206G>A	g-6886G>A	146	TTTTCAGTATCTA.....	Intron 3		50	29.0
ch-v-047	ch2z	404T>C	g-12952T>C	190	GGAGGTATGAAC.....	Intron 5	splice defect	50	1.0
ch-v-061	ch2q	194C>G	g-16993C>G	194	TCTGCGAAGAG.....	Intron 8		49	1.0
ch-v-011	ch2q	364G>T	g-17163G>T	087	AGGAAATATTCT.....	Intron 9		49	26.5
ch-v-017	ch2m	248-249insT	g-27131-27132insT	111	CACCT-ACCTAT.....	Exon 11	(D34E) ¹	48	1.0
ch-v-014	ch2m	643C>T	g-27526C>T	106	CGAAACACGATT.....	Intron 11		49	3.1
ch-v-045	ch2n	291T>C	g-31551T>C	186	ACCCATGGTTCC.....	Exon 13	(488T)	50	3.0
ch-v-015	ch2n	351T>C	g-31611T>C	107	AAGSRTCTCAC.....	Exon 13 (3' UTR)		50	31.0

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

Table 2E: CYP3A5 polymorphisms detected in samples of Korean origin.

Variant ID	Reference sequence	Variant position on		Sequence context		Genetic element	Predicted effect	N	Variant allele frequency (%)
		Reference sequence	gDNA	Seq ID	reference seq. variant seq.				
ch-v-020	ch2k	254T>G	g-20618T>G	051 TGGGCTTGCA 052G.....	5' of PS2	47	29.8		
ch-v-065	ch2k	563T>C	g-20310T>C	198 GCTACTGGCTG 199C.....	5' of PS2	47	1.1		
ch-v-021	ch2k	582A>G	g-20291A>G	059 GCCCCACCTCC 060G.....	5' of PS2	47	29.8		
ch-v-040	ch2l	206C>T	g-6200C>T	200 GAAATCACCCG 201T.....	5' of Exon 1	43	1.2		
ch-v-026	ch2l	229A>G	g-6177A>G	061 CTCACACTGGG 062G.....	5' of Exon 1	43	31.4		
ch-v-034	ch2z	328T>C	g-1617T>C	069 CACTFTACCC 070C.....	5' of Exon 1	47	27.7		
ch-v-007	ch2w	143C>T	g-5215C>T	083 GATGACAGGCC 084T.....	Intron 2	47	2.1		
ch-v-046	ch2y	206G>A	g-6986G>A	146 TITTCAGTAICT 147A.....	Intron 3	47	29.8		
ch-v-061	ch2q	194C>G	g-16893C>G	194 TCGAGCAAAGA 195G.....	Intron 8	47	2.1		
ch-v-011	ch2q	364G>T	g-17163G>T	097 AGGAAGTATTC 098T.....	Intron 9	47	27.7		
ch-v-014	ch2m	648C>T	g-27526C>T	105 CGAAACTACAT 106T.....	Intron 11	47	2.1		
ch-v-015	ch2n	351T>C	g-31611T>C	107 AAGGATTTCTA 108C.....	Exon 13 (3' UTR)	43	36.1		

Table 2A-E: Variants are listed according to their localisation along the gene, separately for each ethnic group. Polymorphism nomenclature is based on Antiochakis *et al.* (Antiochakis, Hum Mutat 11 (1998), 1-3) using the joined sequences AF280107.1 and ACC05020.2 as genomic reference sequences wherein the A of the ATG at position 166220 in AF280107.1 is +1. Sequence context: local alignment at the polymorphic site with the reference allele sequence given at the top and the variant sequence given below. Dots indicate nucleotide identity at the respective position. N: number of samples analysed.

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

Table 3: CYP3A5 genotypes and phenotypes.

	ch-v-021	ch-v-026	ch-v-015	Phenotype	Livers
Genotype 1	A/A	A/A	T/T	LE	155
Genotype 2	A/G	A/G	T/T	LE	9
Genotype 3	A/A	A/A	T/C	LE	4
Genotype 4	A/G	A/G	T/C	HE	17
Genotype 5	A/A	A/A	T/T	HE	1

All three variants were observed only in the heterozygous state. HE = high expressing livers, LE = low expressing livers. Numbers indicate LE and HE livers with each particular genotype. The increased CYP3A5 expression co-segregates with a distinct genotype.

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

Table 4: Expected drug metabolism by CYP3A5

Geno- type No.	Allelic combination	Enzyme Activity	Dose Adjustment	
			drug degradation	drug activation
I	high expressor allele/ high expressor allele	190 %	1.90	0.53
II, III	low expressor allele/ high expressor allele	100 %	1.00	1.00
IV - VII	null allele/ high expressor allele	95 %	0.95	1.05
VIII, IX, X	low expressor allele/ low expressor allele	10 %	0.10	10
XI - XVIII	null allele/ low expressor allele	5 %	0.05	20
XIX - XXV	null allele/ null allele	0 %	< 0.05	> 20
Geno- type No.	Genotype (SeqID) at Locus 1 - 2 - 3 - 4 - 5 - 6 - 7 - 8	Enzyme Activity	Dose Adjustment	
			drug degradation	drug activation
I	060-062-079-081-087-111-103-108 / 060-062-079-081-087-111-103-108	190 %	1.90	0.53
II	0xx-06x-079-081-087-111-103-107 / 060-062-079-081-087-111-103-108	100 %	1.00	1.00
III	059-061-079-081-087-111-103-10x / 060-062-079-081-087-111-103-108	100 %	1.00	1.00
IV	0xx-06x-080-082-08x-11x-10x-10x / 060-062-079-081-087-111-103-108	95 %	0.95	1.05
V	0xx-06x-0xx-08x-088-11x-10x-10x / 060-062-079-081-087-111-103-108	95 %	0.95	1.05
VI	0xx-06x-0xx-08x-08x-112-10x-10x / 060-062-079-081-087-111-103-108	95 %	0.95	1.05
VII	0xx-06x-0xx-08x-08x-11x-104-10x / 060-062-079-081-087-111-103-108	95 %	0.95	1.05
VIII	060-062-079-081-087-111-103-107 / 059-061-079-081-087-111-103-108	10 %	0.10	10
IX	0xx-06x-079-081-087-111-103-107 / 0xx-06x-079-081-087-111-103-107	10 %	0.10	10
X	059-061-079-081-087-111-103-10x / 059-061-079-081-087-111-103-10x	10 %	0.10	10
XI	059-061-079-081-087-111-103-10x / 0xx-06x-080-082-08x-11x-10x-10x	5 %	0.05	20
XII	0xx-06x-079-081-087-111-103-107 / 0xx-06x-080-082-08x-11x-10x-10x	5 %	0.05	20
XIII	059-061-079-081-087-111-103-10x / 0xx-06x-0xx-08x-088-11x-10x-10x	5 %	0.05	20
XIV	0xx-06x-079-081-087-111-103-107 / 0xx-06x-0xx-08x-088-11x-10x-10x	5 %	0.05	20
XV	059-061-079-081-087-111-103-10x / 0xx-06x-0xx-08x-08x-112-10x-10x	5 %	0.05	20
XVI	0xx-06x-079-081-087-111-103-107 /	5 %	0.05	20

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

	0xx-06x-0xx-08x-08x-112-10x-10x			
XVII	059-061-079-081-087-111-103-10x / 0xx-06x-0xx-08x-08x-11x-104-10x	5 %	0.05	20
XVIII	0xx-06x-079-081-087-111-103-107 / 0xx-06x-0xx-08x-08x-11x-104-10x	5 %	0.05	20
XIX	0xx-06x-080-082-08x-11x-10x-10x / 0xx-06x-0xx-08x-088-11x-10x-10x	0 %	< 0.05	> 20
XX	0xx-06x-080-082-08x-11x-10x-10x / 0xx-06x-0xx-08x-08x-112-10x-10x	0 %	< 0.05	> 20
XXI	0xx-06x-080-082-08x-11x-10x-10x / 0xx-06x-0xx-08x-08x-11x-104-10x	0 %	< 0.05	> 20
XXII	0xx-06x-080-082-08x-11x-10x-10x / 0xx-06x-080-082-08x-11x-10x-10x	0 %	< 0.05	> 20
XXIII	0xx-06x-0xx-08x-088-11x-10x-10x / 0xx-06x-0xx-08x-088-11x-10x-10x	0 %	< 0.05	> 20
XXIV	0xx-06x-0xx-08x-08x-112-10x-10x / 0xx-06x-0xx-08x-08x-112-10x-10x	0 %	< 0.05	> 20
XXV	0xx-06x-0xx-08x-08x-11x-104-10x / 0xx-06x-0xx-08x-08x-11x-104-10x	0 %	< 0.05	> 20

No.: running genotype number.

Genotype: Possible CYP3A5 genotypes that result from combinations of alleles. At the top of the table concise allele names have been used to indicate the principle. The lower table lists the alleles in greater detail, giving all combinations of variants at 8 loci in the two homologous chromosomes (loci 1-8 refer to positions corresponding to positions -20291, -6177, 3705, 3709/3710, 7303, 27131/27132, 27289 and 31611, respectively, of the CYP3A5 gene (Accession No: AF280107.1, wherein position 166220 has been numbered +1 and position 174832 has been numbered +8613), respectively. Each variant is defined by a 3-digit Seq ID as listed in Table 2A-E. A wildcard (x) in Seq IDs indicates that the phenotype is independent from the variant at this locus in this chromosome. The possible variants for each locus that can be substituted for x can be extracted from Table 2A-E. For example, 08x at locus 4 stands for Seq IDs 081 or 082, whereas 08x at locus 5 indicates either Seq ID 087 or 088.

Enzyme Activity: enzyme activity as calculated from protein concentration whereby the average protein concentration of genotype 059-061-079-081-111-107/060-062-079-081-111-108 was defined as 100 %.

Dose Adjustment: dose adjustment factors for drugs that are degraded/activated by CYP3A5 relative to the dosis required for genotype 059-061-079-081-111-107/060-062-079-081-111-108. Factors may need to be weighted according to the activity share of the CYP3A5 enzyme for drugs which are not exclusively metabolised by CYP3A5.

CLAIMS

1. A polynucleotide comprising a polynucleotide selected from the group consisting of:
 - (a) a polynucleotide having the nucleic acid sequence of SEQ ID NO: 54, 56, 58, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 106, 108, 110, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 128, 129, 130, 131, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 142, 143, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 193, 195, 197, 199, 201, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 216, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 231, 232, 233, 235, or 236;
 - (b) a polynucleotide encoding a polypeptide having the amino acid sequence of SEQ ID NO: 127, 132, 141, 215, 229, or 234;
 - (c) a polynucleotide capable of hybridizing to a CYP3A5 gene, wherein said polynucleotide is having a nucleotide exchange, a nucleotide deletion of at least one nucleotide, or at least one additional nucleotide at a position corresponding to position -20643, -20555, -20359, -20367, -20329, -20323, -20310, -6200, -6177, -4336, -3990, -3868, -3844, -3557, -1617, -795, -86, -74, 136, 174 to 176, 230, 3705, 3709/3710, 5215, 5235, 5516, 7182, 7207, 7303, 7424/7427, 12907, 13028, 13077, 13173, 13226, 13376, 14720, 14836, 14903, 15788, 16079, 16931/16932, 16993, 17163, 19069, 19165, 19208, 27050, 27131/27132, 27526, 31499, 31551 or 31611;
 - (d) a polynucleotide capable of hybridizing to a CYP3A5 gene, wherein said polynucleotide is having an A at a position corresponding to position -20555, -20329, -20323, -4336, -3868, -3844, -795, -86, 230, 5235, 5516, 7182, 7303, 12907, 13028, 13376, 19069 or 19165 of the CYP3A5 gene (Accession No: AF280107.1, wherein position 166220 has been numbered +1 and position 174832 has been numbered +8613, and Accession No: AC005020.2, wherein position 27341 has been numbered +8614), a T at a position corresponding to position -20367, -6200, -74, 3705, 5215, 7207, 14836, 17163, 19208 or 27526 of

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

- the CYP3A5 gene (Accession No: AF280107.1, wherein position 166220 has been numbered +1 and position 174832 has been numbered +8613, and Accession No: AC005020.2, wherein position 27341 has been numbered +8614), a G at a position corresponding to position -6177, -3990, 13077, 14720, 14903, 16993 or 27050 of the CYP3A5 gene (Accession No: AF280107.1, wherein position 166220 has been numbered +1 and position 174832 has been numbered +8613, and Accession No: AC005020.2, wherein position 27341 has been numbered +8614), a C at a position corresponding to position -20643, -20310, -3557, -1617, 136, 13173, 13226, 15788, 16079, 31499, 31551 or 31611 of the CYP3A5 gene (Accession No: AF280107.1, wherein position 166220 has been numbered +1 and position 174832 has been numbered +8613, and Accession No: AC005020.2, wherein position 27341 has been numbered +8614), nucleotide deletions at positions corresponding to positions 174 to 176 of the CYP3A5 gene (Accession No: AF280107.1, wherein position 166220 has been numbered +1 and position 174832 has been numbered +8613), an additional nucleotide at a position corresponding to position 3709/3710 or 27131/27132 of the CYP3A5 gene (Accession No: AF280107.1, wherein position 166220 has been numbered +1 and position 174832 has been numbered +8613, and Accession No: AC005020.2, wherein position 27341 has been numbered +8614), three additional nucleotides at a position corresponding to position 16931/16932 of the CYP3A5 gene (Accession No: AF280107.1, wherein position 166220 has been numbered +1 and position 174832 has been numbered +8613, and Accession No: AC005020.2, wherein position 27341 has been numbered +8614), or a deletion of two nucleotides and nine additional nucleotides inserted at a position corresponding to position 7424 to 7427 of the CYP3A5 gene (Accession No: AF280107.1, wherein position 166220 has been numbered +1 and position 174832 has been numbered +8613);
- (e) a polynucleotide encoding a CYP3A5 polypeptide or fragment thereof, wherein said polypeptide comprises an amino acid substitution at a position corresponding to position 30, 100, 130, 149 or 488 of the

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

- CYP3A5 polypeptide (Accession No: NP_000768.1), or at least one amino acid exchange or a stop codon at a position corresponding to position 30 to 34 or 346 to 348 of the CYP3A5 polypeptide (Accession No: NP_000768.1); and
- (f) a polynucleotide encoding a CYP3A5 polypeptide or fragment thereof, wherein said polypeptide comprises amino acid substitutions of HGLFK to YGTF. (with the period meaning termination) at a position corresponding to position 30 to 34 of the CYP3A5 polypeptide (Accession No: NP_000768.1), an amino acid substitution of S to Y at a position corresponding to position 100 of the CYP3A5 polypeptide (Accession No: NP_000768.1), an amino acid substitution of R to Q at a position corresponding to position 130 of the CYP3A5 polypeptide (Accession No: NP_000768.1), an amino acid substitution of I to T at a position corresponding to position 149 of the CYP3A5 polypeptide (Accession No: NP_000768.1), an amino acid substitutions of TYD to YL. (with the period meaning termination) at position corresponding to position 346 to 348 of the CYP3A5 polypeptide (Accession No: NP_000768.1), or an amino acid substitution of I to T at a position corresponding to position 488 of the CYP3A5 polypeptide (Accession No: NP_000768.1).
2. A polynucleotide of claim 1, wherein said polynucleotide is associated with cancer or diseases including cardiovascular diseases, diabetes and AIDS.
 3. A polynucleotide of any one of claims 1 to 2 which is DNA or RNA.
 4. A gene comprising the polynucleotide of any one of claims 1 to 2.
 5. The gene of claim 4 wherein a nucleotide deletion, addition and/or substitution results in altered expression of the variant gene compared to the corresponding wild type gene.
 6. A vector comprising a polynucleotide of any one of claims 1 to 3 or the gene of claim 4 or 5.

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

7. The vector of claim 6, wherein the polynucleotide is operatively linked to expression control sequences allowing expression in prokaryotic or eukaryotic cells or isolated fractions thereof.
8. A host cell genetically engineered with the polynucleotide of any one of claims 1 to 3, the gene of claim 4 or 5 or the vector of claim 6 or 7.
9. A method for producing a molecular variant CYP3A5 polypeptide or fragment thereof comprising
 - (a) culturing the host cell of claim 8; and
 - (b) recovering said protein or fragment from the culture.
10. A method for producing cells capable of expressing a molecular variant CYP3A5 polypeptide comprising genetically engineering cells with the polynucleotide of any one of claims 1 to 3, the gene of claim 4 or 5 or the vector of claim 6 or 7.
11. A polypeptide or fragment thereof encoded by the polynucleotide of any one of claims 1 to 3, the gene of claim 4 or 5 or obtainable by the method of claim 9 or from cells produced by the method of claim 10.
12. An antibody which binds specifically to the polypeptide of claim 11.
13. The antibody of claim 12 which specifically recognizes an epitope containing one or more amino acid substitution(s) resulting from a nucleotide exchange as defined in claim 1 or 5.
14. The antibody of claim 12 or 13 which is monoclonal or polyclonal.
15. A transgenic non-human animal comprising at least one polynucleotide of any one of claims 1 to 4, the gene of claim 5 or 6 or the vector of claim 7 or 8.

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

16. The transgenic non-human animal of claim 15 which is a mouse, a rat or a zebrafish.
17. A solid support comprising one or a plurality of the polynucleotide of any one of claims 1 to 3, the gene of claim 4 or 5, the vector of claim 6 or 7, the polypeptide of claim 11, the antibody of claim 12 or 13 or the host cell of claim 8 in immobilized form.
18. The solid support of claim 17, wherein said solid support is a membrane, a glass-, polypropylene- or silicon-chip, are oligonucleotide conjugated beads or bead array, which is assembled on an optical filter substrate.
19. An in vitro method for identifying a polymorphism said method comprising the steps of:
 - (a) isolating a polynucleotide of any one claims 1 to 3 or the gene of claim 4 or 5 from a plurality of subgroups of individuals, wherein one subgroup has no prevalence for a CYP3A5 associated disease and at least one or more further subgroup(s) do have prevalence for a CYP3A5 associated disease; and
 - (b) identifying a polymorphism by comparing the nucleic acid sequence of said polynucleotide or said gene of said one subgroup having no prevalence for a CYP3A5 associated disease with said at least one or more further subgroup(s) having a prevalence CYP3A5 associated disease.
20. A method for identifying and obtaining a pro-drug or a drug capable of modulating the activity of a molecular variant of a CYP3A5 polypeptide comprising the steps of:
 - (a) contacting the polypeptide of claim 11, the solid support of claim 17 or 18, a cell expressing a molecular variant gene comprising a polynucleotide of any one of claims 1 to 3, the gene of claim 4 or 5 or the vector of claim 6 or 7 in the presence of components capable of providing a detectable signal in response to drug activity with a compound to be screened for pro-drug or drug activity; and

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

- (c) detecting the presence or absence of a signal or increase or decrease of a signal generated from the pro-drug or the drug activity, wherein the absence, presence, increase or decrease of the signal is indicative for a putative pro-drug or drug.
21. A method for identifying and obtaining an inhibitor of the activity of a molecular variant of a CYP3A5 polypeptide comprising the steps of:
- (d) contacting the protein of claim 11, the solid support of claim 17 or 18 or a cell expressing a molecular variant gene comprising a polynucleotide of any one of claims 1 to 3 or the gene of claim 4 or 5 or the vector of claim 6 or 7 in the presence of components capable of providing a detectable signal in response to drug activity with a compound to be screened for inhibiting activity; and
- (e) detecting the presence or absence of a signal or increase or decrease of a signal generated from the inhibiting activity, wherein the absence or decrease of the signal is indicative for a putative inhibitor.
22. The method of claim 20 or 21, wherein said cell is a cell of claim 9, obtained by the method of claim 10 or can be obtained by the transgenic non-human animal of claim 15 or 16.
23. A method of identifying and obtaining a pro-drug or drug capable of modulating the activity of a molecular variant of a CYP3A5 polypeptide comprising the steps of:
- (a) contacting the host cell of claim 8, the cell obtained by the method of claim 10, the polypeptide of claim 11 or the solid support of claim 17 or 18 with the first molecule known to be bound by a CYP3A5 polypeptide to form a first complex of said polypeptide and said first molecule;
- (b) contacting said first complex with a compound to be screened, and
- (c) measuring whether said compound displaces said first molecule from said first complex.

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

24. A method of identifying and obtaining an inhibitor capable of the activity of a molecular variant of a CYP3A5 polypeptide or its gene product comprising the steps of:
- (a) contacting the host cell of claim 8, the cell obtained by the method of claim 10, the protein of claim 11 or the solid support of claim 17 or 18 with the first molecule known to be bound by a CYP3A5 polypeptide to form a first complex of said protein and said first molecule;
 - (b) contacting said first complex with a compound to be screened, and
 - (c) measuring whether said compound displaces said first molecule from said first complex.
25. The method of claim 23 or 24, wherein said measuring step comprises measuring the formation of a second complex of said protein and said compound.
26. The method of any one of claim 23 to 25, wherein said measuring step comprises measuring the amount of said first molecule that is not bound to said protein.
27. The method of any one of claims 23 to 26, wherein said first molecule is labeled.
28. A method for the production of a pharmaceutical composition comprising the steps of the method of any one of claims 20 to 27; and the further step of formulating the compound identified and obtained or a derivative thereof in a pharmaceutically acceptable form.
29. A method of diagnosing a disorder related to the presence of a molecular variant of a CYP3A5 gene or susceptibility to such a disorder comprising determining the presence of a polynucleotide of any one of claims 1 to 3 or the gene of claim 4 or 5 in a sample from a subject.
30. The method of claim 29 further comprising determining the presence of a polypeptide of claim 11 or the antibody of any one of claims 12 to 14.

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

31. A method of diagnosing a disorder related to the presence of a molecular variant of a CYP3A5 gene or susceptibility to such a disorder comprising determining the presence of a polypeptide of claim 11 or the antibody of any one of claims 12 to 14 in a sample from a subject.
32. The method of any one of claims 29 to 31, wherein said disorder is cancer or diseases including cardiovascular diseases, diabetes and AIDS.
33. The method of any one of claims 29 to 32 comprising PCR, ligase chain reaction, restriction digestion, direct sequencing, nucleic acid amplification techniques, hybridization techniques mass spectroscopy or immunoassays.
34. A method of detection of the polynucleotide of any one of claims 1 to 3 or the gene of claim 4 or 5 in a sample comprising the steps of
 - (a) contacting the solid support of claim 17 or 18 with the sample under conditions allowing interaction of the polynucleotide of claim 1 to 3 or the gene of claim 4 or 5 with the immobilized targets on a solid support and;
 - (b) determining the binding of said polynucleotide or said gene to said immobilized targets on a solid support.
35. An in vitro method for diagnosing a disease comprising the steps of the method of claim 34, wherein binding of said polynucleotide or gene to said immobilized targets on said solid support is indicative for the presence or the absence of said disease or a prevalence for said disease.
36. A diagnostic composition comprising the polynucleotide of any one of claims 1 to 4, the gene of claim 3 or 4, the vector of claim 6 or 7, the polypeptide of claim 11 or the antibody of claim 12 or 13.
37. A pharmaceutical composition comprising the polynucleotide of any one of claims 1 to 3, the gene of claim 4 or 5, the vector of claim 6 or 7, the polypeptide of claim 11 or the antibody of claim 12 or 13.

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

38. Use of the polynucleotide of any one of claims 1 to 3, a polynucleotide comprising SEQ ID No: 104, a polynucleotide encoding a polypeptide comprising SEQ ID No: 145, the gene of claim 4 or 5, the vector of claim 6 or 7, the polypeptide of claim 11, a polypeptide comprising SEQ ID No: 145 or the antibody of claim 12 or 13 for the preparation of a diagnostic composition for diagnosing a disease.
39. Use of the polynucleotide of any one of claims 1 to 3, a polynucleotide comprising SEQ ID No: 104, a polynucleotide encoding a polypeptide comprising SEQ ID No: 145, the gene of claim 4 or 5, the vector of claim 6 or 7, the polypeptide of claim 11, a polypeptide comprising SEQ ID No: 145 or the antibody of claim 12 or 13 for the preparation of a pharmaceutical composition for treating a disease.
40. Use of a polynucleotide selected from the group consisting of:
- (a) a polynucleotide having the nucleic acid sequence of SEQ ID NO: 82, 88, 104 or 112;
 - (b) a polynucleotide encoding a polypeptide having the amino acid sequence of SEQ ID No: 127, 132, 141 or 145;
 - (c) a polynucleotide capable of hybridizing to a CYP3A5 gene, wherein said polynucleotide is having at least one additional nucleotide at a position corresponding to position 3709/3710 or 27131/27132 of the CYP3A5 gene (Accession No: AF280107.1, wherein position 166220 has been numbered +1 and position 174832 has been numbered +8613, and Accession No: AC005020.2, wherein position 27341 has been numbered +8614) or a nucleotide exchange at a position corresponding to position 7303 or 27289 of the CYP3A5 gene (Accession No: AF280107.1, wherein position 166220 has been numbered +1 and position 174832 has been numbered +8613, and Accession No: AC005020.2, wherein position 27341 has been numbered +8614);
 - (d) a polynucleotide capable of hybridizing to a CYP3A5 gene, wherein said polynucleotide is having an additional G nucleotide at a position

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

corresponding to position 3709/3710 of the CYP3A5 gene (Accession No: AF280107.1, wherein position 166220 has been numbered +1 and position 174832 has been numbered +8613, and Accession No: AC005020.2, wherein position 27341 has been numbered +8614), an additional T nucleotide at a position corresponding to position 27131/27132 of the CYP3A5 gene (Accession No: AF280107.1, wherein position 166220 has been numbered +1 and position 174832 has been numbered +8613, and Accession No: AC005020.2, wherein position 27341 has been numbered +8614), or an A at a position corresponding to position 7303 or 27289 of the CYP3A5 gene (Accession No: AF280107.1, wherein position 166220 has been numbered +1 and position 174832 has been numbered +8613, and Accession No: AC005020.2, wherein position 27341 has been numbered +8614);

for the preparation of a diagnostic composition for diagnosing a disease in a subject having a genome comprising a variant allele of the CYP3A5 gene, wherein said allele is having an A at a position corresponding to position 6986 of the CYP3A5 gene (Accession No: AF280107.1, wherein position 166220 has been numbered +1 and position 174832 has been numbered +8613, and Accession No: AC005020.2, wherein position 27341 has been numbered +8614).

41. Use of a polynucleotide comprising a polynucleotide having an A at a position corresponding to position 14690 of the CYP3A5 gene (Accession No: AF280107.1, wherein position 166220 has been numbered +1 and position 174832 has been numbered +8613, and Accession No: AC005020.2, wherein position 27341 has been numbered +8614) for the preparation of a diagnostic composition for diagnosing a disease in a subject having a genome comprising a variant allele of the CYP3A5 gene, wherein said allele is having an A at a position corresponding to position 6986 of the CYP3A5 gene (Accession No: AF280107.1, wherein position 166220 has been numbered +1 and position 174832 has been numbered +8613, and Accession No: AC005020.2, wherein position 27341 has been numbered +8614).

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

42. The use of claim 40 or 41, wherein said subject is an African American.
43. The use of any one of claims 38 to 41, wherein said disease is cancer or diseases including cardiovascular diseases, diabetes and AIDS.
44. A diagnostic kit for detection of a single nucleotide polymorphism comprising the polynucleotide of any one of claims 1 to 3, the gene of claim 4 or 5, the vector of claim 6 or 7, the polypeptide of claim 11, the antibody of claim 12 or 13, the host cell of claim 8, the transgenic non-human animal of claim 15 or 16 or the solid support of claim 17 or 18.

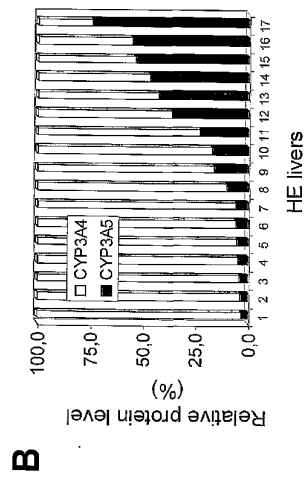
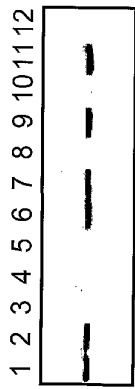
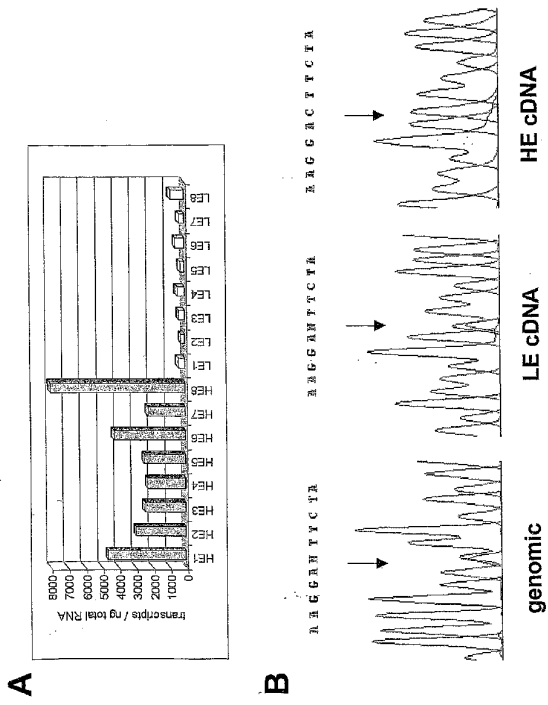


Fig. 1

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

2/21
Figure 2

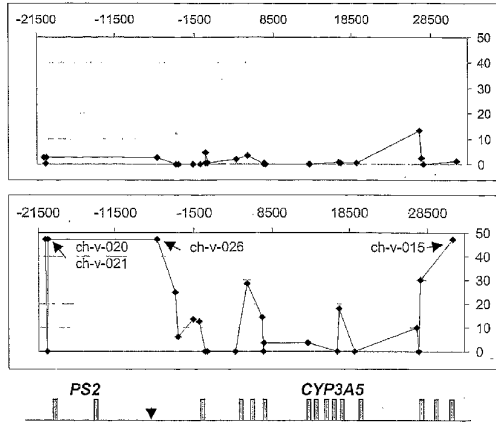


WO 02/053775

3/21

PCT/EP01/15290

Figure 3



WO 02/053775

PCT/EP01/15290

4/21

Figure 4

```

Seq ID: 113
>chzk_ch-v-020_254T>G_ch-v-021_582A>G
1  tggtcaccca  ccattgtgtac  agtaccctgc  taggggtccag  ggatcatgaaa  gtaataataa
61  ccagactgtg  cccttgagga  actcaacctc  gctaagggaa  acaggcacag  aaaccacaaa
121  ggggtgtaga  gaggaatag  gacaatagga  ctgtgtgagg  gggataggag  gaaccacagag
181  gaggaatgg  ttacatctgt  gtgaggaggt  tggtaaggaa  agactttaat  agaagggttc
241  tgtctggctg  ggcgttgcag  gatgttagg  agtcatctag  ggggcacaag  tacactccag
301  gcagaggaaa  ttgcattggg  aaagatctgc  agtttggct  tgggggatg  gatttcaagt
361  atcttgggat  gaagacagcc  atggaacaaa  gggcaggtga  gaggatattt  aagaggcttc
421  atgccaatgg  ctccacttca  gtttctgata  agaactcagg  ttccgtggac  tccctgataa
481  aactgattaa  gttgtttatg  attcccata  gaatatgaac  tcaaggagg  taagcaaaag
541  ggtgtgtgcg  attctttgct  actggctgca  gctgcagccc  cgcctcttc  tccagacat
601  aaacatttca  gcagcttgac  ctaagactgc  tgtgcagggc  agggatgctc  caggcagaca
661  gccccagaaa  caacagcaca  cagctgaaag  taagactcag  agggacagt  tgaagaggcc
721  aagtgccgat  ggaacctcacc  ccaaatbtgg  cggtagaaac  ctggcttctc  ctggctgtca
781  gctctgtgct  cctctatctg  tcagtaactg  tccagattcc  tctctctgt

```

```

Seq ID: 114
>chzk_ch-v-031_318G>A
1  tggtcaccca  ccattgtgtac  agtaccctgc  taggggtccag  ggatcatgaaa  gtaataataa
61  ccagactgtg  cccttgagga  actcaacctc  gctaagggaa  acaggcacag  aaaccacaaa
121  ggggtgtaga  gaggaatag  gacaatagga  ctgtgtgagg  gggataggag  gaaccacagag
181  gaggaatgg  ttacatctgt  gtgaggaggt  tggtaaggaa  agactttaat  agaagggttc
241  tgtctggctg  ggcgttgcag  gatgttagg  agtcatctag  ggggcacaag  tacactccag
301  gcagaggaaa  ttgcattggg  aaagatctgc  agtttggct  tgggggatg  gatttcaagt
361  atcttgggat  gaagacagcc  atggaacaaa  gggcaggtga  gaggatattt  aagaggcttc
421  atgccaatgg  ctccacttca  gtttctgata  agaactcagg  ttccgtggac  tccctgataa
481  aactgattaa  gttgtttatg  attcccata  gaatatgaac  tcaaggagg  taagcaaaag
541  ggtgtgtgcg  attctttgct  actggctgca  gctgcagccc  cacctcttc  tccagacat
601  aaacatttca  gcagcttgac  ctaagactgc  tgtgcagggc  agggatgctc  caggcagaca
661  gccccagaaa  caacagcaca  cagctgaaag  taagactcag  agggacagt  tgaagaggcc
721  aagtgccgat  ggaacctcacc  ccaaatbtgg  cggtagaaac  ctggcttctc  ctggctgtca
781  gctctgtgct  cctctatctg  tcagtaactg  tccagattcc  tctctctgt

```

```

Seq ID: 115
>chzk_ch-v-032_544G>A
1  tggtcaccca  ccattgtgtac  agtaccctgc  taggggtccag  ggatcatgaaa  gtaataataa
61  ccagactgtg  cccttgagga  actcaacctc  gctaagggaa  acaggcacag  aaaccacaaa
121  ggggtgtaga  gaggaatag  gacaatagga  ctgtgtgagg  gggataggag  gaaccacagag
181  gaggaatgg  ttacatctgt  gtgaggaggt  tggtaaggaa  agactttaat  agaagggttc
241  tgtctggctg  ggcgttgcag  gatgttagg  agtcatctag  ggggcacaag  tacactccag
301  gcagaggaaa  ttgcattggg  aaagatctgc  agtttggct  tgggggatg  gatttcaagt
361  atcttgggat  gaagacagcc  atggaacaaa  gggcaggtga  gaggatattt  aagaggcttc
421  atgccaatgg  ctccacttca  gtttctgata  agaactcagg  ttccgtggac  tccctgataa
481  aactgattaa  gttgtttatg  attcccata  gaatatgaac  tcaaggagg  taagcaaaag
541  ggtgtgtgcg  attctttgct  actggctgca  gctgcagccc  cacctcttc  tccagacat
601  aaacatttca  gcagcttgac  ctaagactgc  tgtgcagggc  agggatgctc  caggcagaca
661  gccccagaaa  caacagcaca  cagctgaaag  taagactcag  agggacagt  tgaagaggcc
721  aagtgccgat  ggaacctcacc  ccaaatbtgg  cggtagaaac  ctggcttctc  ctggctgtca
781  gctctgtgct  cctctatctg  tcagtaactg  tccagattcc  tctctctgt

```

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

5/21

Figure 4 continued

```

Seq ID: 116
>chzk_ch-v-033_550G>A
1  tggtcaccca  ccattgtgtac  agtaccctgc  tagggctccag  ggtcatgaaa  gtaataataa
61  ccagactgtg  cccttgagga  actcaccctc  gctaaggaaa  acaggcacag  aaacccacaa
121  gagtggtaga  gaggaatag  gacaatagga  ctgtgtgagg  gggataggag  gcaccacag
181  gaggaatgg  ttacalctgt  gtgaggaggt  tggtaaggaa  agactttaat  agagggggtc
241  tgtctggctg  ggcttgcagg  gatgtgtagg  agtcatctag  ggggcacaag  taaactccag
301  ccagagggaa  ttgcattggg  aaagatctgc  agttgtgct  tgggggatg  gatttcaagt
361  attctggaat  gaagacagcc  atggaacaaa  gggcaggtga  gaggatatt  aagaggcttc
421  atgccaatgg  ctccacttca  gttctctgata  agaactcagg  ttccgtggac  tccctgataa
481  aactgattaa  gttgtttatg  atccccata  gaatatgaac  tcaaggagg  taagcaaaag
541  ggtgtgtgct  attcttggct  actggctgca  gctgcagccc  cacctcctc  tccagcacat
601  aaacatttca  gcagcttgac  ctaagactgc  tgtgcagggc  agggatgctc  caggcagaca
661  gcccaagaaa  caacagcaca  cagctgaag  taagactcag  agggacagt  tgaagagggc
721  aagtgccgat  ggaactcact  ccaaatgtg  cgttggaaac  ctggctctc  ctggtgtcta
781  gctgtgtgct  cctctatctg  tcagtaactg  tccagatccc  tctcctctg

```

```

Seq ID: 117
>chzl_ch-v-026_229A>G
1  ggaatgacct  gattttccag  gtgctgtctg  tcaccocctt  ctttgactag  gaaagggaaac
61  tccctgaccc  ctgagccttc  tcaagttagg  caatgcctcg  cctgcttcg  gcttctgac
121  agcacctgac  acccaactgt  ctgcaccacc  tgtctggcac  tccctagtga  gatgaacccg
181  gtaacctaga  tgaaaatgca  gaaatcacc  gtctctgtg  tcaactcagc  ctggagctgt
241  agaccggagc  tgttccatatt  gggccacttt  ggctccaccc  cccgagtttt  ggcttttaat
301  tgaagtgta  ttgatgtggg  aaggagataa  tgcacatgat  ttatggacac  atattagagg
361  gcttgagaca  atgctgtgga  taaaaggtaa  cctaaggaaag  aaaaaagaa  caagggagaa
421  cactggaaag  aactgtatgc  tggaggtccc  tgggccaaca  aagctctgag  aaaagtggta
481  acccaagagc  tccagccta  gttccactga  agacctcagc  actagtgac  ttatgggatc
541  ctgtgtgaga  caagccttga  aagttttac  atagcaaat  gtgttcaaaa  atcattgaca
601  atgattcacc  gtgtgtatct  gtgtgtgtgt  gtgtgtgtgt  gtgtgtgtgt  ctgtgtgtgt
661  ataaacagag  ctgtgagag  ggaattccca  tgcctgtgtg  ctgtgtgtgt  caactatcac
721  aaacgctttg  cgaaccacca  agtttgaca  aaggcaatcc  caaccttaca  caaaa

```

```

Seq ID: 118
>chzi_ch-v-027_566G>A
1  taatgaaaat  aagaattatt  ttgatggctc  taacagtgac  atttatatca  tctgttttat
61  ctgggcaatt  ctataataag  ttatatttaa  gcaaatcaat  aaaaacctct  tacaaaagta
121  tcatgggata  ctttccctgaa  cattaagvag  aaatctatag  aactgaatga  atgagaacca
181  acagtaaat  atattgtatc  attgtaacca  ttgttgggtg  ggggcaattg  tcagactccc
241  aatgtgatta  ttaecatagg  tggcaattaa  tccaactgta  ctttgcccat  tgcattagaaa
301  gaacattcat  agtttaatta  tgcctttttt  gaccaagcac  agtggctcat  gctgtatctc
361  ccagcaacttt  gggagggcga  ggtgggtgga  tcacctgagg  ccaggagctc  gagaccagcc
421  tgaccaacat  ggtgaaaccc  catctctact  aaaaatcaaa  aaattgctga  ggtgtgtgtg
481  tatgcaccta  taatctcagc  taaccaggag  gctgagggag  gagaatacct  tgaacctgga
541  ggagaggtt  gcagtgcacc  gagacacacc  attacactcc  agcctgggtg  acagrtgtgag
601  attcactctc  aaaaaaaa  aaaaaaatt  atgctttttt  gaagcacata  cattttataa
661  catacaactg  aatcccttat  tatattatta  gttttgattt  aatgttttca  aacctctccc
721  cctgatattt  ctgggagatg  ggaacaatgt  tttctaacac  ctcttgcaat  ccattctcaa
781  ctccaactg  tottaactga  atgaacactt  aataagaaac  agtcaattgg  tcaattgatt
841  gggcaacagg  ctaaacacac  tcattccttg  tctgttccca  ctttctctt  taacttccct
901  tctctgata  cttaactcaa  agtcaattgg  tgggtggcag  ccagatgggt  gccacacatt
961  aaggtagaaa  agagagtgtc  atgatgggtc  caagtccagag  acctagtagg  gtgaggatca
1021  agtaggtggt  cacgtggaga  aacagccggg  cctgtgtgtg  gtagtccaag  caagcagaga
1081  aaatgtgcac  acagaggggt  ggctgaaaa

```

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

6/21

Figure 4 continued

```

Seq ID: 119
>chzh_ch-v-028_601G>A
1 caaaaattag ctagggtggtg tggatgcaac ctataatctc agctaccocag gaggtcgagg
61 caggagaatc acttgaacct ggaggcagag gttgcagtgga gccgagacgc accattacac
121 tccagcctgg gtgacagagt gagattccat ctcaaaaaaa aaaaaaaa abtatgcctt
181 tttgaagcac atacatttba taacatacaa ctgtaacctc tattatatta ttgtttttga
241 ttttaagtgtt tcaaacaccac tcccctgata tttctggggag atgggaaaca tggtttttta
301 cacctcttgc atccactctc caactcccaa ctgtcttact gcaatgaaca cttaataaga
361 aacagcctaat tgggtcaattg attgggcaac aggtcaaaac cactcattcc ttgtctgttc
421 ccactctctt ctctactctc ccttctctgag taacttatcc taagtcatc aggtgggtgg
481 cagccagatg gtggccacac attaaggtag aaaagagagt gtcattgatg tccaagtca
541 gagacctagt aggtgtgaga tcaataggtg gttcacgtgg agaaacagcc cggcctgtgt
601 tggggagtcc aagcaagcag agaaaatgct gacacagagg gttggcctga aaaagcagcc
661 agagcctaaa cagggtctgg agaactattt tagggcatga ggtgaggagg gcatccatga
721 gtgggaaggg atgggtgagg tttcaactaca taaaagggat tgatgaata agtaataaaa
781 gtactactgga agccaggtgt gtcacttttg cagaaaagag tcatggattc agaaagg

```

```

Seq ID: 120
>chzg_ch-v-029_464T>C
1 ttctttcttt actttccctt cctgagtaac ttatcctaaa gtcattaggt ggtggcagc
61 cagatgggtgg ccacacatta aggtagaaaa gagagtgtca tggatggtcc aatcagaga
121 gctatagagg ttaggatcaa gtagggtctc acgtggagaa acagccggcg ctgtgtgtgg
181 gactccaaagc aagcagagaa aatgtcgaca cagaggggtg gctgaaaaa gcagccagag
241 cctcaaacagg gcatggagaa catatttagg gcatggagtg aggaggcatc ccatgagtgg
301 gaaggatgg gtgggtttc actacataaa sgggattgat gaaataagta aataaagtat
361 actggagcc aggtgtgca cttttgcaga aaagagtcac ggaatcagaa agggaaaaa
421 ctgaaaggaa tccatgaaa ttgattaaa atggatgat ccaatgatat tcataccctt
481 ctgatatgat aaatgggttag atagggtgata aaaagataac aagaggacaa gataattaga
541 tagcaataaa tgtatgtatg tttttgtgtg tgtgtacaaa aaaacatata ctccctactt
601 ctctccactg atagggttag gtaacatgg catttccata gcaatgagca cacttagtgg
661 ccagatcttg gcttattaat accatlttcc actgaaagga ccagagctt tttagagaaa
721 tggctgattc cagggccagg attaagaatg ttaagataaa gcttaggata cattttgtgc
781 ccgaaagcaa gaagatgttc aaatgatttc caagtaatgt ttggaaatga tattgaaaa
841 tggatttcaa atgatttttc caaatgattt ccaatgata tatgaaaca cttaagact
901 ccactaaaga actatttagat ctgataaaca aattcagtaa tgttctgga tacaataata
961 acatacaaaa accagtagca tttctgcatg ccacagtgta acaactggc aaaaataaaa
1021 aatgtaatcc catttacaat acccccaaat anaactaaat acctgggagt taacttaaga
1081 gaaagatgct taceattaat attgtaaac actgtagag gaaattgaag aagcacana
1141 aagagaggtt attccatggt tatatttgtt aagcattaat attgttaaaa atgtcca

```

```

Seq ID: 121
>chza_ch-v-034_328T>C
1 caaagcaaaa atggacaat ggatcagatc aagttaaaaa gttctgtac cacaaagaaa
61 gcaatcaaca aagtgaagac acaaccaca gaatgggaga aatatlttc aaagtccac
121 tctgacaaca gattaatagc cagaatacat gaagcgccta acaactctg taaggaaaa
181 tctaaatcct caatcaaaaa atggcaaaa ttgaaataga caltttcaa agnaagacat
241 acaaatgccca catagccata tgataagtg ctcaacatca ctggtcaata gagaatgca
301 aatcaaaaacc acaatgagat atcatctgac cccagctaaa atggttttia tccaaaagac
361 agcaacaac aatgcccagc gagaatggtg agaaaagga accctgtac actgttggtg
421 taaattagtg caaccactat agagaacaat ttggaggttc ctcaaacat taaattaac
481 ataaataga gotaccacaa taccagaaa tcccctgct gggtatatac ctggaagaaa
541 gaaaatcata tatyaagag ataacatcac tccaatltc acaatagcca ctattocaa
601 atccaagat ttggaagcaa cctaagtgct catcaacaga tgaatgata aagaaagtc
661 tccaattata cacaatggag cacaattcag ccatgaaaaa agcatgagat cctgttatct
721 gtaataatat ggaatggaact ggaggtcact atgtaaatgt aaataagcca ggcacagaaa
781 cacagatatt goaagtcttc acatactgtt gggatct

```

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

7/21

Figure 4 continued

Seq ID: 122
 >chzd_ch-v-030_683T>A
 1 cattaaatt aacattaat agagotacca caatatccag aaatccocat gctgggtata
 61 tacctggaag aaaggaaatc atatatbga gagataacat cactccaata ttcacaatag
 121 ccactatca caaatgcaa gatttgaag caacctaat gtccacaac agatgaatg
 181 ataagaag tactccaatt atacacaat gagacaatt cagccatgaa anaagcatg
 241 gatcctgta tctgtaataa tatggatgga actggaggtc atcatgttaa gtgaaataag
 301 caaggcacag aaacacagat attgcaagtt ctcacatact tgtgggatct acaaatcaaa
 361 acaactgagc taatgtctgg cccttagtca gtgtgtgtacc caagtactgg gagcacagct
 421 tttaaatcac atcatgaatg ctttaataca ggaatgaata gatgagaggg acaactggg
 481 tgggtgttct tctgatacac agtatcttcc tggacagatt cagtacaact ctaacaggt
 541 aagtctcttc atgttatggt accttatgag gaattaagtg gcagaacatg atttctatta
 601 tttctcttgg cagaacaaga ccaactttat tagttgggac acagtgtggc tgcatttgg
 661 tccaagcaaa ccattagtct atgctatca ccacagagtc agaggggatg agacgcccag
 721 caatctcacc caagacaact ccaccaacat tcttggtacc ccacctgtg tacagtacc
 781 tgctaggaac caggtcatg aaagtaata ataccagact gtcccctga gtagctacc
 841 tctgctaaag gaaacagga tagaaactta caatgggtgt agagagaaaa gaggacaata
 901 gtagctgtg aggggatag gaggcaccca gaggagaaaa tggttacatt tgtgtgagga
 961 ggttggtaag gaaaaatctt agcagaagg gtctgtctgg ctgggcttgg aaggtacgt
 1021 agggctcacc tagagggcac aggtacactc caggcagag gaatttctg ggtaaagatg
 1081 tgtaggtgtg ccttgtgag atggatttca atttcttag aatgaa

Seq ID: 123
 >chzy_ch-v-002_159G>A
 1 gattaagett ttcattgatt ctcatalaac atgaactcaa agaggtcag caaaggggtg
 61 tttgagattc tttgctattg gctgcagcta tagccctgcc tcccttcca gcacataaat
 121 ctttcagcag cttggctgaa gactgctgtg cagggcaggg aagctccagc caaacagccc
 181 agcaaacagc agcactcagc taaaaggaag actcacagaa cacagttgaa gaaggaaagt
 241 ggcgatggac ctcatcccaa atttggcggg gaaacctgg cttctccctg cttctagcct
 301 gttctctcct tttctgtgag taactgtcca aactcctctc tttgttctct tggacttggg
 361 gtgtaaatag gcccctctt ccttatctg ttttgaagat caaaagagat gttcaagag
 421 aagtagctga agtgttggac gctacaaaag catagaagtt attattatct tatgcagatc
 481 tatgaatgaa taataagca tttctcccat ccaccttcta attttgtgta ctaggaggt
 541 ttagggacag catttggtag tgggaatgat ttgattagct tagatctgac gaagactaat
 601 caatgaaac atggcagcgg caga

Seq ID: 124
 >chzy_ch-v-003_171C>T
 1 gattaagett ttcattgatt ctcatalaac atgaactcaa agaggtcag caaaggggtg
 61 tttgagattc tttgctattg gctgcagcta tagccctgcc tcccttcca gcacataaat
 121 ctttcagcag cttggctgaa gactgctgtg cagggcaggg aagctccagc caaacagccc
 181 agcaaacagc agcactcagc taaaaggaag actcacagaa cacagttgaa gaaggaaagt
 241 ggcgatggac ctcatcccaa atttggcggg gaaacctgg cttctccctg cttctagcct
 301 gttctctcct tttctgtgag taactgtcca aactcctctc tttgttctct tggacttggg
 361 gtgtaaatag gcccctctt ccttatctg ttttgaagat caaaagagat gttcaagag
 421 aagtagctga agtgttggac gctacaaaag catagaagtt attattatct tatgcagatc
 481 tatgaatgaa taataagca tttctcccat ccaccttcta attttgtgta ctaggaggt
 541 ttagggacag catttggtag tgggaatgat ttgattagct tagatctgac gaagactaat
 601 caatgaaac atggcagcgg caga

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

8/21

Figure 4 continued

```

Seq ID: 125
>chzy_ch-v-004_418-420delGAG
1 gattaagctt ttcattgattc ctcatagaac atgaactcaa aagaggtcag caaaggggtg
61 tgtgcgattc tttgtctattg gctgcagcta tagccctgcc tccttctcca gcacataaat
121 gtttcagcag cttggctgaa gactgctgtg cagggcaggg aagctccagg caaacagccc
181 agcaaacagc agcactcagc taaaaggaag actcacagaa cacagttgaa gaaggaagct
241 ggcgATGGAC CTCATCCCA ATTGGGGGT GGAAACCTGG CTTCTCTGG CTGTCAGCCT
301 GGTGCTCCTC TATCTgtgag taactgtcca aactcctctc tttgttctct tggacttggg
361 gtgtcaatcg ggccctcttt cccttatctg ttttgaagat caaaagagat gttcaag|aag
421 tagctgaagt gttggagcgt acaaacgcat agaagttatt attatcttat gcagatctat
481 gaatgaataa ataagcattt ctcccatcca ccttctaatt ttggtgacta ggagggttta
541 ggagcagcat ttgtgtgtgg gaatgatttg attagcttag atctgcagaa gactaatcaa
601 tgaaaacatg gcagggggcag a

Seq ID: 126
>chzx_ch-v-005_187C>F_ch-v-006_191-192insE
1 aggaaggac ctgatgagtg aatgaatta cgaagttag agttgctgtt attattttac
61 gttgacatc tacctccctc ttgtgacct tccagttctc ggtaacloa ccagccctct
121 gactataaaa gtcaaatcc ctgtgacctg atttctgttt cacttctgag ATAIGGGACC
181 CGTACATTC CGACTTTT AGAGACTGG AATTCAGGG CCAGACCTC TGCCCTTFTT
241 GGGAAATGTT TTGTCCTATC CTCAGgtgag ttcctctctt gctctctatg
301 gttgcacaaca taagcttagt tcctcngta aaaatgccc tccttggag ggagttctga
361 ggtttcccat ttcagaagt ggtgggactg ggtgcagtg atcatgctg taatctcag
421 ctctgtggag ccaagactgg caaatgctt gagcccagga gthtg

Seq ID: 127
>peptide of ch-v-005_ch-v-006
1 MDLIPNLAVE TWLLLAVSLV LLYLYGTRV V GTF

Seq ID: 128
>chzx_ch-v-007_143C>F
1 catagacaag ggtgagctct tcagtaacta gagaaaatc aagagtgact ttaaattccc
61 cacttcaaat atattctctg ttttcttctc ttcccttaa gacatctctg aatagttccc
121 ttcaactgcc agtgaaagt ag|aggcctg atttctctgg acgcaactgt tttcagccc
181 aattagaggt aggttttatt ctattaaaa taataatcaa ctgttatttt gtttctctc
241 ccagGGTCTC TGGAAATTTG ACACAGAGTG CTATAAAAAG TATGCAAAA TGTGGGGgtg
301 agtatctctg aaacctccat tgtgatagac tgctactgtg aggaggttac cccactgca
361 gatagctctc gcccaggtct tcattgggat aagctctctg caactcaat acaaacagag
421 agaggttctc tgaagaaga ggataatca ttgggagtag aatattgcaa tgggaatctg
481 cttggcgtta taaaactatg gcaaatccag ggaggtlaac aagcaaaaga tgctccatag
541 aaaatatgag agaatctca taactgtttt gagataatta ttgttagcta caaagatcaa
601 ta

Seq ID: 129
>chzv_ch-v-008_199C>A
1 cagtatctct tccctgtttg gaccacatta cccttcatca tatgaagcct tgggtggctc
61 ctgtgtgaga ctcttctctg gtgtcacacc ctaatgaaat agaacctaa gttctgtgtg
121 gtgtctcaac taggggtatg gattacataa cataatgac aaagtctggc ttctgggtg
181 tggctccagc tgcagaatgg ggctagttaa gtttaatcag ctccgttctc cccacacagA
241 ACGTATCAAG GTCAACTCC TGTCTGGCC ATCACAGATC CCGACGTGAT CAGAACAGTG
301 CTAGTCAAG AATGTATTC TGCTTCACA AATCGAAGG taagcatcca ttttttgaaa
361 tttaataaat gattgatcca ctgataaat ttttattttg aaaaaaacat atattacag
421 aaggttacct aaaaaatgta caggaaggtt ccatgtactc ttcatctctg cccgccagt
481 ggtcaactct tgcaatcttg tatatgcaa tatatatcta gtatatctat atattcaggt
541 tggcacaana gttaaaatgg caaaactacg gctgggcata atggctcatg ctg

```

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

9/21
Figure 4 continued

```

Seq ID: 130
>chzv_ch-v-025_224C>T
1  cagtatctct  tccttgtttg  gaccacatta  cccttcatca  tatgaagcct  tgggtggctc
61  ctggtgtaga  ctcttgctgt  gtgtcacacc  ctaatgaact  agaacctaag  gttgctgtgt
121  gtgtgtaaac  taggggtatg  gattacataa  cataatgac  aaagtctggc  ttcttgggtg
181  tgggtccagc  tgcagaatcg  ggctagttaa  gttaaatcag  ctccgtttgc  cccacacagA
241  ACGTATGAAG  GTCAACTCCC  TGTGCTGGCC  ATCAGAGATC  CCGACGTGAT  CAGAACAGTG
301  CTAGTGAAG  AATGTTATTC  TGTCTTCACA  AATCGAAGGG  taagcatcca  ttttttgaaa
361  tttaaataat  gattgatcca  ctgattaaat  ttttattttg  aaaaaaacat  atattccacg
421  aaggttaact  aaaaaatgta  caggaaggtt  caatgtactc  ttcacctgtt  cccgcccagt
481  ggttaactct  tgcgaatctt  tatattgcaa  tatatactta  gtatattcat  attatcaggt
541  tggcacaana  gttaaatggt  caaactacag  gctgggcata  atggctcatg  cctg

Seq ID: 131
>chzv_ch-v-009_320C>A
1  cagtatctct  tccttgtttg  gaccacatta  cccttcatca  tatgaagcct  tgggtggctc
61  ctggtgtaga  ctcttgctgt  gtgtcacacc  ctaatgaact  agaacctaag  gttgctgtgt
121  gtgtgtaaac  taggggtatg  gattacataa  cataatgac  aaagtctggc  ttcttgggtg
181  tgggtccagc  tgcagaatcg  ggctagttaa  gttaaatcag  ctccgtttgc  cccacacagA
241  ACGTATGAAG  GTCAACTCCC  TGTGCTGGCC  ATCAGAGATC  CCGACGTGAT  CAGAACAGTG
301  CTAGTGAAG  AATGTTATTC  TGTCTTCACA  AATCGAAGGG  taagcatcca  ttttttgaaa
361  tttaaataat  gattgatcca  ctgattaaat  ttttattttg  aaaaaaacat  atattccacg
421  aaggttaact  aaaaaatgta  caggaaggtt  caatgtactc  ttcacctgtt  cccgcccagt
481  ggttaactct  tgcgaatctt  tatattgcaa  tatatactta  gtatattcat  attatcaggt
541  tggcacaana  gttaaatggt  caaactacag  gctgggcata  atggctcatg  cctg

Seq ID: 132
>peptide of ch-v-009_320C>A
1  MNGTYGQLP  VLAIYDPPVI  RTVLVKECY  VFNRRSLGP  VGFMKSAISL  AEDEFWKRIK

Seq ID: 133
>chzv_ch-v-018_441-444insCTAAAAAAT
1  cagtatctct  tccttgtttg  gaccacatta  cccttcatca  tatgaagcct  tgggtggctc
61  ctggtgtaga  ctcttgctgt  gtgtcacacc  ctaatgaact  agaacctaag  gttgctgtgt
121  gtgtgtaaac  taggggtatg  gattacataa  cataatgac  aaagtctggc  ttcttgggtg
181  tgggtccagc  tgcagaatcg  ggctagttaa  gttaaatcag  ctccgtttgc  cccacacagA
241  ACGTATGAAG  GTCAACTCCC  TGTGCTGGCC  ATCAGAGATC  CCGACGTGAT  CAGAACAGTG
301  CTAGTGAAG  AATGTTATTC  TGTCTTCACA  AATCGAAGGG  taagcatcca  ttttttgaaa
361  tttaaataat  gattgatcca  ctgattaaat  ttttattttg  aaaaaaacat  atattccacg
421  aaggttaact  aaaaaatgta  ctaaaaaat  gaaggttcca  tgtactcttc  atcctgtccc
481  gcccagttgt  aacatctctt  aatcttgtat  attgcaatat  atatctagtta  tattcatatt
541  atcaggttgg  cacaaaagtt  aaaaatggcna  actacaggct  gggcataatg  gctcatgctt
601  g

Seq ID: 134
>chzt_ch-v-016_145T>G
1  agcgaaaaac  tcaaggaggt  atgaaaataa  gatgagtctt  aattagaat  gtaaagaatg
61  aatctgggga  caggtageaa  gtaagatcac  agtccgttcc  caaggggtag  tccactgagt
121  tgcagctccc  taaaaatggt  ctttctatctt  tatgtacaga  aaagacatca  caaaatctat
181  tacaanaatg  cacttactgc  tccctgctgg  agaagccat  atcctcttgg  gacttgaatc
241  tgcacattta  actacaggtt  ctgactctgt  ttgtgcttag  ATGTTCCCCA  TCATPGCCCA
301  GTATGGAGAT  GTATTGGTGA  GAAACTTGAG  CCGGGANGCA  GAGAAAAGCA  AGCCTGTCCAC
361  CTGAAAGAG  taagtaggag  cacagccatg  gggttcttag  ctgtcatgag  cccttccagc
421  tgcctgccat  ggaatcgaaa  gtgcactgt  tgggttactc  cagtaccag  acaaaaagca
481  ggcaggtctg  caactccaaa  gggccaacta  agagggagtg  gctcccata  ggcgccaagt
541  cagcaagggg  aaagggcctt  ctctctctgt  cacaggagcc  aggatttact  tatctgttaa
601  ctt

```

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

10/21
Figure 4 continued

```

Seq ID: 135
>chzt_ch-v-019_241T>C
1 agcggaaaac tcaaggaggt atgaaaataa gatgagtcct aattagaat gtaaaagaat
61 aatctgggga caggtagaaa gtaagatcac agtccgtttc caagggtag tccactgagt
121 tccagcttcc taaaaatggt cttttatctt tatgtacaga aaagacatca caaaactcat
181 tcaaaaatgt caacttactgc tccatgctgg agaaagccat atcctttcgg gacttgagtc
241 ctccacattta actacaggtc ctgatctggt ttgtgcttag ATGTTCCCCA TCATTGCCCA
301 GTATGGAGAT GTATTTGGTGA GAAACTTGAG GCGGGAAGCA GAGAAAGCCA AGCCTGTCCAC
361 CTTGAAACAG taagtaggag caagccatg gggttctgag ctgtoatgag ccctccagc
421 tgctgacct ggagctgaca gtgcactgt tggtttactc cagtgaccag acaaaagcag
481 ggcagcctg caactccaaa gagccaccta agagggagtg gctcccatga ggcggcagt
541 cagcaagggg aaagggcctt ctctctctgt caacagagcc aggatttact tatctgttaa
601 ctt

```

```

Seq ID: 136
>chzq_ch-v-010_132-133insGTC
1 attggacatg atagctagat ttgtttcagg aaaacatcct gotttccaag gatttagatg
61 aatgtttttg ttcactgggt actcaggtaa cacgtcttca agaagccata gggaggltga
121 gggggggaag tcctcagaaa gggagggtga ggcctgacct ttgtatttac ttctgacctc
181 acgagcactc ttctgcaaaa gaaactctct cttttgcttc tagcaccacc TAGATTTCCCT
241 TCACCTGATG ATTCACTCCC AGAATTCGAA AGAAACAGAG TCCCACAAAG glaaccaag
301 agtgcttctg agggctactg gccgggacac taagagggag ggccttgctc tgaaaatgty
361 caggaagtat tccaggaaga tggagaahttt tgcccactag cagaaacaca cacatttga
421 gttataaat ggtagctgga ggcactttcc agaagccacc agttatagcc atgttccag
481 ctgaaagggc aacctaaagc aaactagaaa tgctggagag acagtcagtg gtttgtgat
541 cactcacatg agatcaaatg ccagttctca gcctcttcca gatccacaaa gtggagaact
601 ctacttggaa atttatatca aacata

```

```

Seq ID: 137
>chzq_ch-v-011_364G>T
1 attggacatg atagctagat ttgtttcagg aaaacatcct gotttccaag gatttagatg
61 aatgtttttg ttcactgggt actcaggtaa cacgtcttca agaagccata gggaggltga
121 gggggggaag tcaagaaggg aggttgagga ctgcactttt gatltacttc tgacttcacg
181 agtactcttc tgccaaagaa atctctcctt ttgctctag CACCGACTAG ATTTCCTTCA
241 GCTGATGATT GACTCCCAGA ATTCGAAAGA AACTGAGTCC CACAAAGGta accaaggagt
301 gcttctgagg gctactggcg gggacactaa gagggagggc ctgttctga aaatgtcgag
361 gaatctattcc aggaagatga gaatttttgc cacatagcag aaacaacac atttagatgt
421 tataaatggt agctggaggg actttccaga agcccacag tatagccatg tcccagctg
481 aaagggcaac cctaagcaaa cctagaatgc ttggagaca gtcagtggtt tggtgatcac
541 ctacatgaga tcaaatgcca gttctagcc tcctccagat ccaccaagtg agaaccteta
601 cttggaaatt tatacaaac ata

```

```

Seq ID: 138
>chzp_ch-v-012_269G>A
1 agataaagta cttttaggat ctttcaagcc acacaccat aacactgagt atgtaagaca
61 gaaatgctct ctctggaatc tacagcagtg ctggtgctgg gatgcatga tgaggaggt
121 gtggcccaca atcatgtaga ccttgggaaa acctggatta aaatgatltt gggtcatcct
181 ggccctgtat aagatacata tcagaatgaa aaccactccc agtgtgactt tgaatgtctt
241 ttccattttt tcttctggg attagagagc ttccattaga ttcatctaa gctgtgatgt
301 tgtaacttga ctgattttac ctaaaatgct tttctctcc ttcagCTCT GTCTGATCTG
361 GAGCTCCGAG CCAGTCAAT AATCTCATTT TTTGCTGGCT ATGAAACCAC CAGCAGTGT
421 CTTTCTCTCA CTTTATATGA ACTGGCCACT CACCTGTGAT TCCAGCAGAA ACTGCAAAAG
481 GAGATTGATG CAGTTTTCGC CAATAAGTg aggggatgac ccctggagat gaagggaga
541 ggtgaagcct tagcaaaaat gcctctctac cactccccag gagaattttt ataaaaagca
601 taactactga ttccttact gaataaatgt aggaagcctc tgaggagaaa acaaaagga
661 gaacacataga gaacggttgc tactggcaga agcataagat ctttgacaa tattgtgtgg
721 cctgggtccac ctgtttactg ttatcaaat aatgctaagt aaaaaaaaa aaaaaaaaa

```

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

11/21
Figure 4 continued

```

781 aaaaaaaaaa aggagtggt cgagaagatg gccaaacagg aacagc

Seq ID: 139
>chzm_ch-v-013_167a>G
1 gtcccgggg lgaggatggt cttgaatgc tctacatcc ataatcctc cacacatctc
61 agtaggtcac lgagcacatc aatggacatg ccagttatta aaatacttca cgaatactat
121 gatcatttac cagtatgagt tattctctgg agcttctaata acttcaatag tactgcatgg
181 actcagttga gaggtaatc aaaaatcag attatccoat tctgtttctt tecttccagG
241 CACCACCTAC CTATGATGCC CTGGTACAGA TGGAGTACCT TGACATGGTG GTGAATGAAA
301 CACTCAGATT ATCCACAGTT GCATATTAGC TTGAGAGGAC TTGCAAGAAA GATGTTGAAA
361 TCAATGGGGT ATTCATTCOC AAAGGTCAA TGGTGGTAT TCCACTTAT GCTCTTCACC
421 ATGACCCAAA GTACTGGACA GACCCTGAGG AGTCCGCCOC TGAAAGTtac aagtctccag
481 ggaatggag ctcaccctga cccagctggt ttcagcata ttctgctct cttaatctac
541 atgacaatcg tgtggttgta caatcattg cttgtaagtc tttttatcac aaaaaagtga
601 taattatcaa actttacaaa ccacagacta gaaaaaacga aactacatcc atcccagtc
661 ccagcacaaG acaagataa tcaattatgt cctgtgggc atttttctac gcctaratag
721 attttataaa attagaatgg taccactttt tatttggttt gaattgctgc ttacttgatt
781 taacaggaaa ctatc

Seq ID: 140
>chzm_ch-v-017_248-249insT
1 gtcccgggg lgaggatggt cttgaatgc tctacatcc ataatcctc cacacatctc
61 agtaggtcac lgagcacatc aatggacatg ccagttatta aaatacttca cgaatactat
121 gatcatttac cagtatgagt tattctctgg agcttctaata acttcaatag tactgcatgg
181 actcagttga gaggtaatc aaaaatcag attatccoat tctgtttctt tecttccagG
241 CACCACCTAC CTATGATGCC CTGGTACAGA TGGAGTACCT TGACATGGTG GTGAATGAAA
301 ACATCAGATT TATTCACAGT TGCTATTAGA CTGAGAGGAC CTGCAAGAA AGATGTTGAA
361 ATCAATGGGG TATTCATTCOC CAAAGGTCAC ATGGTGGTGA TTCCAAGTTA TGCTCTTCAC
421 CATGACCCAA AGTACTGGAC AGACCCTGAG GAGTCCGCCOC CTGAAAGTta caagtctcca
481 ggaatggag ctcaccctga cccagctggt ttcagcata ttctgctct cttaatctac
541 atgacaatcg tgtggttgta caatcattg cttgtaagtc tttttatcac aaaaaagtga
601 ataattatca aactttacaa accacagact agaaaaaacg aaactacatc catccacagt
661 ccagcacaaG acaagataa tcaattatgt cctgtgggc atttttctac gcctaratag
721 gattttataa aattagaatg gtatcacttt ttatttggtt tgaattgctg cttacttgat
781 taacaggaaa actatc

Seq ID: 141
>peptide of ch-v-017_248-249insT
1 ALSDLELAAG SIIFIFAGVE TTSSVLSFTL YELATHPDVQ QKLQKEIDAV LPNKAPFVLI

Seq ID: 142
>chzm_ch-v-014_643C>T
1 gtcccgggg lgaggatggt cttgaatgc tctacatcc ataatcctc cacacatctc
61 agtaggtcac lgagcacatc aatggacatg ccagttatta aaatacttca cgaatactat
121 gatcatttac cagtatgagt tattctctgg agcttctaata acttcaatag tactgcatgg
181 actcagttga gaggtaatc aaaaatcag attatccoat tctgtttctt tecttccagG
241 CACCACCTAC CTATGATGCC CTGGTACAGA TGGAGTACCT TGACATGGTG GTGAATGAAA
301 CACTCAGATT ATCCACAGTT GCATATTAGC TTGAGAGGAC TTGCAAGAAA GATGTTGAAA
361 TCAATGGGGT ATTCATTCOC AAAGGTCAA TGGTGGTAT TCCACTTAT GCTCTTCACC
421 ATGACCCAAA GTACTGGACA GACCCTGAGG AGTCCGCCOC TGAAAGTtac aagtctccag
481 ggaatggag ctcaccctga cccagctggt ttcagcata ttctgctct cttaatctac
541 atgacaatcg tgtggttgta caatcattg cttgtaagtc tttttatcac aaaaaagtga
601 taattatcaa actttacaaa ccacagacta gaaaaaacga aaactacatc atcccagtc
661 ccagcacaaG acaagataa tcaattatgt cctgtgggc atttttctac gcctaratag
721 attttataaa attagaatgg taccactttt tatttggttt gaattgctgc ttacttgatt
781 taacaggaaa ctatc

```

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

12/21
Figure 4 continued

```

Seq ID: 143
>chzn_ch-v-015_351T>C
1 caggcctggc acagagtcag tgcctcataa atattttggt aaacgatgga tgggtgagtc
61 ttttactabc cagtatttac ccagcttata gattaagtat gaaggttca agatacatgg
121 ttttaagagt cgtttttata tgcctgcaaa gcatttttgt catatttttt ctactttgct
181 tccatctttt ctcttttcaac ttcattttat aattctccat atgcttgttt aactattgta
241 gATCCCTTG AAATTAGACA CGCAAGGACT TCTTCAACCA GAAAAACCA TTGTTCTAAA
301 GGTGGATTCA AGAGATGGAA CCTAAGTGG AGAATGAGtt attctaagga tttctacttt
361 gytcttcaag aaagcttggc cccagaacac cagagatttc aacttagtca ataaaacctt
421 gaataaaga tgggcttaat ctaagtact gcctgagtag ttggtgattt tgtacattca
481 ttgagctctc ccagagctctg tctagagttg ttgctattat gtagtataaa ggaggtgacc
541 agtgaagtga cagataggtg gactcagctt ctctgtcttc cataggacta cctctaccaca
601 cctctagtta gcatta

Seq ID: 145
>peptide of ch-v-001_406C>A
..1 FVAIRLERKX KKDVEINGVF IPKGSVVVIP NYALHHDPKY WTEPEEFRPE RFSKKRDSID

Seq ID: 206
>chy1_ch-v-048_206G>A
1 catttagtcc ttgtgagcac ttgatgattt acctgccttc aatttttcc tgaactaata
61 ttcttttga taatgaagta ttttaacct ataaacatt atggagagt gcataggaga
121 taocacagta tglaccaccc agettaacg agtctctact ttcabltcta accataactt
181 cttaaaagag ctcttttggc tttoa tate ttttctctgt ttgacacaa ttaccttca
241 tcaatagaag ccttgggtgg ctctctgtg agactcttgc tctgtctc acctaataga
301 actagaacct aaggttctgt ttgtctgtac aactaggggt atggattaca taacataatg
361 atcaaatctt ggtctctctg gtgtggctcc agctgcagaa tgggctagt gaagtttaat
421 cagctcctgt gtcccccac agAA

Seq ID: 207
>chzk_ch-v-037_230T>C
1 tggtcaccca coatgtgtac agtaccctgc tagggctcag ggtcatgaaa gtaataata
61 coagactgtg ccoctgagga actcacctct gctaaggaaa acaggcacaq aaacccacea
121 ggggtgtaga gaggaaatag gaoaatagya ctgtgtgagg gggatggag geacccagag
181 gaggaaatgg ttacatctgt gtgagagyt tggtaaggaa agactttaa agaagggttc
241 tctctggctg ggcctgcaag gatgtgtagg agtcatctag gggcacaag tacactcag
301 caagagggaa ttgatgggtt aaagatctgc agttgtggtt tctgggatgt gatttcaagt
361 attctggaat gaagacagcc atggaacaaa ggcaggtgga gagatattt aagaggttc
421 atgccaatgg ctccacttca gttttcgata agaactcagg ttccgtggac tccctgataa
481 aactgattaa gttgtttatg attcccata gaatatgeac tcaaggagg taagcaaaag
541 ggtgtgtgct attctttgct actgctgca gctgcagccc cactctctc tccagcacat
601 aaacatttca gaagcttgac ctaagactgc tgtcagggc agggatgctc caggcagaca
661 gccacagaaa caacagcaca cagctgaaag taagactcag agggagcagt tgaagaaggc
721 aagtgccgat ggaacctcact ccaaatctgg cgttggaaac ctggctctc ctggctgta
781 gccrctgct cctctatctg tcaagtaact tccagattcc tctctctgt

```

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

13/21

Figure 4 continued

```

Seq ID: 208
>chzk_ch-v-038_506C>T
1  tggtcaccca  ccattgtgtac  agtaccctgc  tagggctccag  ggtcatgaaa  gtaataata
61  ccagactgtg  cccttgagga  actcacctct  gctaaggaaa  acaggcacag  aaaccacaa
121  ggggtgtaga  gaggaatatg  gcaaatagga  ctgtgtgagg  gggataggag  gcaccagag
181  gaggaatagg  ttacatctgt  gtggaggagt  tgttaaggaa  agactttaat  agaagggtc
241  tgtctggctg  ggcctgcaag  gatgtgtacg  agtcatctag  ggggcacaag  tacactccag
301  ccagaggaaa  ttgcctgggt  aaagactctg  agttgtgctt  tgtggggatg  gatttcaagt
361  attctggaat  gaagcagccc  atggaacaaa  gggcaggtga  gaggatattt  aagaggcttc
421  atgccaatgg  ctccacttca  gtttctgata  agaactcagg  ttcctgtggc  tccctgataa
481  aactgattaa  gttgtttatg  attcctcata  gaatatgaac  tcaaaagggg  taagcaaaag
541  ggtgtgtgct  attctttgct  actggctgca  gctgcagccc  cacctccttc  tccagcacat
601  aaacatttca  gcagcttgac  ctaagactgc  tgtgcagggc  agggatgctc  caggcagaca
661  gccccagaaa  caacagcaca  cagctgaag  taagactcag  agggagcagt  tgaagaggcc
721  aagtggcgat  ggaacctcct  ccaaatctgg  cggtggaaac  ctggctcttc  ctggctgtca
781  gcctgggtgt  cctctatctg  tcagtaactg  tccagattcc  tctcctctgt

```

```

Seq ID: 209
>chzk_ch-v-039_514T>C
1  tggtcaccca  ccattgtgtac  agtaccctgc  tagggctccag  ggtcatgaaa  gtaataata
61  ccagactgtg  cccttgagga  actcacctct  gctaaggaaa  acaggcacag  aaaccacaa
121  ggggtgtaga  gaggaatatg  gcaaatagga  ctgtgtgagg  gggataggag  gcaccagag
181  gaggaatagg  ttacatctgt  gtggaggagt  tgttaaggaa  agactttaat  agaagggtc
241  tgtctggctg  ggcctgcaag  gatgtgtacg  agtcatctag  ggggcacaag  tacactccag
301  ccagaggaaa  ttgcctgggt  aaagactctg  agttgtgctt  tgtggggatg  gatttcaagt
361  attctggaat  gaagcagccc  atggaacaaa  gggcaggtga  gaggatattt  aagaggcttc
421  atgccaatgg  ctccacttca  gtttctgata  agaactcagg  ttcctgtggc  tccctgataa
481  aactgattaa  gttgtttatg  attcctcata  gaatatgaac  tcaaaagggg  taagcaaaag
541  ggtgtgtgct  attctttgct  actggctgca  gctgcagccc  cacctccttc  tccagcacat
601  aaacatttca  gcagcttgac  ctaagactgc  tgtgcagggc  agggatgctc  caggcagaca
661  gccccagaaa  caacagcaca  cagctgaag  taagactcag  agggagcagt  tgaagaggcc
721  aagtggcgat  ggaacctcct  ccaaatctgg  cggtggaaac  ctggctcttc  ctggctgtca
781  gcctgggtgt  cctctatctg  tcagtaactg  tccagattcc  tctcctctgt

```

```

Seq ID: 210
>chzh_ch-v-051_455T>G
1  caaaaattag  ctagggtgtg  tggatagcac  ctataatctc  agotaccagg  gaggtgagg
61  ccagagaatc  acttgaacct  ggaggcagag  gttgcagtga  gccgagacgc  accattcac
121  tccagcctgg  gtgacagagt  gagatccat  ctcaaaaaaa  aaaaaaaaaa  attatgcctt
181  ttgaagcac  atacatttta  taacatcaaa  ctgaatccct  tatttatatta  ttagttttga
241  tttaatgttt  tcaaacatbc  tcccctgata  ttctgtggag  atgggaacaa  tgttttttta
301  caactcttgg  attccattct  caactcccaa  ctgtcttact  gcaatgaaca  cttataaaga
361  aacagtcagt  tggtaatttg  attgggcaac  aggttaaaca  caactcattc  ttgtctgttc
421  caactctttt  ctttaacttc  ccttctctag  taagttatcc  taaagtattt  agtgggtgg
481  ccagccagat  gggccacac  aitaaggtag  aaaagagagt  gtcattgatg  ttccaagtca
541  gagacctagt  aggtgagga  tcaagttagt  gttcaagtgg  agaaaccagc  cggcctgtgt
601  gttggagctc  aagcaagcag  agaaatgttc  gccaccaggg  gctggcctga  aaaaagagcc
661  agagcctaaa  cagggcatgg  agaacatctt  tagggcatga  ggttaggggg  gcatccatga
721  gttggagagg  atgggtgagg  ttctactaca  taaggggat  tgatgaataa  agtaaaataa
781  gtactactga  agccaggtgt  gtaacttttg  cagaaaagag  toatggattc  agnaagg

```

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

14/21

Figure 4 continued

```

Seq ID: 211
>chzh_ch-v-052_577G>A
  1 caaaaattag ctagggtggt tggatgacac ctataatctc agctaccacg gaggctgag
  61 caggagaatc acttgaacct ggaggcagag gttgcaatga gccgagccgc accatllacac
 121 tccagcctgg gtgacagagt gagattocat ctcaaaaaaa aaaaaaaaaa attatgcctt
 181 tttagaacac atacatttta taacatacaa ctgaatccct tattatatta ttggttttga
 241 tttaatgttt tcaaaccttc tcccctgata ttctcgggag atgggaaaca tgttttctta
 301 cacctcttgc atccattctc caactcccaa ctgtcttact gcaatgaaca cttaataaga
 361 aacagctaat tggtaaatg attgggcaac agctaaaca cactcatccc ttgtctgttc
 421 ccactcttct ctttactctc cttctcctg taacttatcc taaagtcatc aggtgggttg
 481 aagccagatg gtggccacac attaagtagt aaaagagagt gtcattgatg ttccaagtca
 541 gagaccatgt aggtgagga tcaagtaggt gttcacctgg agaaacagcc cggcctgtgt
 601 gtggagctcc aagcaagcag agaaaatgtc gacacagagg ggtggcctga aaaagcagcc
 661 agagccataa cagggcacag agaaatattt tagggcatga ggtgaggagg gcaatccatga
 721 gtgggaaggg atgggtgag tttcaactaca taaaggggat tgatgaata agtanaataa
 781 gtatactgga agccaggtgt gtcacttttg cagaaaagag tcatggatcc agaaagg

```

```

Seq ID: 212
>chzw_ch-v-053_163G>A
  1 catagacaag ggtgagtcct tcagtactta gagaaaatc aagagtgact ttaaattccc
  61 cacttcaaat atattctctg ttttctgttc ttcccttaa gacatctctg aatagcttcc
 121 ttcaactgcc agtgaagat agcaggcctg atttcaatgg acpbaactgt tttaagcccc
 181 aattagaggt aggttttatt ctatttaaaa taataatcaa ctgtatctt gtttctctc
 241 ccaagccttc TGGAAATTG ACACAGAGTG CTATAAALAG TATGGAALAA TGTGGGgtg
 301 agtattctga aaactccat tggatagacc tgctacttgg aggaggttac cccactgcag
 361 gatagctctc gccccagctc tcatgggatg aagctcttgt caacctaaat acaaacagag
 421 agaggtcttc tgaagaaga ggataattac ttgggagtag aatattgcaa tgggaatctg
 481 ctggccttta taaactatgt gcaaatcag ggaggtaaac aagacaaga tgcctcatag
 541 aaaatagag aagaatctca taactgtttt gagataatta ttggttagct caaagatcaa
 601 ta

```

```

Seq ID: 213
>chzw_ch-v-054_444T>A
  1 catagacaag ggtgagtcct tcagtactta gagaaaatc aagagtgact ttaaattccc
  61 cacttcaaat atattctctg ttttctgttc ttcccttaa gacatctctg aatagcttcc
 121 ttcaactgcc agtgaagat agcaggcctg atttcaatgg acpbaactgt tttaagcccc
 181 aattagaggt aggttttatt ctatttaaaa taataatcaa ctgtatctt gtttctctc
 241 ccaagccttc TGGAAATTG ACACAGAGTG CTATAAALAG TATGGAALAA TGTGGGgtg
 301 agtattctga aaactccat tggatagacc tgctacttgg aggaggttac cccactgcag
 361 gatagctctc gccccagctc tcatgggatg aagctcttgt caacctaaat acaaacagag
 421 agaggtcttc tgaagaaga ggataattac ttgggagtag aatattgcaa tgggaatctg
 481 ctggccttta taaactatgt gcaaatcag ggaggtaaac aagacaaga tgcctcatag
 541 aaaatagag aagaatctca taactgtttt gagataatta ttggttagct caaagatcaa
 601 ta

```

```

Seq ID: 214
>chzt_ch-v-043_294T>C
  1 agcggaaaac tcaaggaggt atgaaaataa gatgagcttt aattagaaat gtaagaagt
  61 aatctgggga caggtagaaa gtaagatcac agtccgtttc caagggtag tccactgagt
 121 tggagcttcc taaaaatggt cttttatctt tatgtacaga aaagacatca caaattctat
 181 tcaaaaatgt cacttactgc tccatctgtg agaagccat atcctctctg gacttgatc
 241 tgcacattta actacaggtc ctgatctgtt ttgtgcttag ATGTTCCTCA TCAATTCCTCA
 301 GTATGGAGAT GTATTGCTGA GAAACTTGAG GCGGAAGCA GAGAAAGCA AGCCTGTCC
 361 CTTGAAAGAG taagtaggag cacagccatg gggttctgag ctgtcatgag cccttccagc
 421 tgcctgccat ggagtgaca gtgcactgt tgggttactc cagtaccag acaaaagcag
 481 ggcagggctg caactccaaa gagccacctc agagggagtg gctccatga ggcggcaat
 541 cagcaagggg aaagggcctt ctctctctgt cacaggagcc aggatttact tatctgta

```

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

15/21

Figure 4 continued

601 ctt

Seq ID: 215

>peptide of ch-v-043_294T>C

1 SLARDEEMKR TRSLLSPTFT SGKLRMPFI HTAQYGDVLR NLRREARKGK PVTLKDLFGA

Seq ID: 216

>chzt_ch-v-055_444G>A

1 agcggaaaac tcaaggaggt atgaaataa gatgagtcct aattagaaat gtaagaatg
 61 aatctgggga caggtagaaa gtaagatcac agtccgtttc caaggggtag tccactgagt
 121 tggagcttcc taaaaatggt cttttatcct tatgtacaga aaagacatca caaattcat
 181 tacaataatgt cactactcgc tccatgctgg agaaagccat atcctctcgg gacttgagtc
 241 tgcacattta actacaggtg ctgactcgtt ttgtgcttag ATGPTCCCA TCATTGCCA
 301 GTATGGAGAT GTATTGGTGA GAAACTTGAG GCGGGAGCA GAGAAAGCA AGCTGTCCAC
 361 CTATGAAAGAG taagtaggag cacagccatg gggttctgag ctgtcatgag cccttcacg
 421 tgcctgccat ggagtgcaca gtcactcactg tgggttactc cagtgaccag acaaaagcag
 481 ggcagggctg caactccaaa gggccactta agaggagtg gctcccatga ggcggcaagt
 541 cgcgaagggg aaagggcctt ctctctctg cagaggagcc aggtattact tatctgttaa
 601 ctt

Seq ID: 217

>chzs_ch-v-050_437G>A

1 cagagcttac atactttata tcatccacac tcaacacatg ctactgtagt tgtctgataa
 61 tgggtctctg tcttctctatg actgggctcc ttgacctcag aggtagtct aactcagctt
 121 ggtgtctcca tcaaccccag catagggccg gctccatcac tggcaccaga taaccacctt
 181 ctgggggagt agatggaaga tgattcagca gatagtctg aaagtctgtg gctctttatg
 241 tgtcttgact ggatatgtgg gttctctgct gcatgtatag tggaaaggag gtaagaggtg
 301 ctgattttaa ttttccatg ctctctccac tcaagcattct TGGGGCTAC AGCATGGAG
 361 TGATTTACTGG CACATCATTT GGAGTGAACA TCGACTCTCT CAACAATCCA CAAGACCCCT
 421 TTGTGGAGAG CACTAAGAAAG TTCTTAAAT TTGCTTCTT AGATCCATTA TTCTCTCAA
 481 TAGtatgtg ggtattatt tcttctctc tttttaaaa taactcctt cttgacata
 541 aattcacata tegtataatt catccactta aaaggtacaa ttccattggt ttaagataa
 601 tcaaaaaatg gtatgacct tactatgtg aactaaaatg tttttgtcaa tctagagccc
 661 tcaacacact tagctgtcaa caccocacca caaacccac tgccttaagc atccaataa
 721 caactttctg cctctataga ttgctctatt ctggacactt catagaata atactatt

Seq ID: 218

>chzs_ch-v-056_467A>G

1 cagagcttac atactttata tcatccacac tcaacacatg ctactgtagt tgtctgataa
 61 tgggtctctg tcttctctatg actgggctcc ttgacctcag aggtagtct aactcagctt
 121 ggtgtctcca tcaaccccag catagggccg gctccatcac tggcaccaga taaccacctt
 181 ctgggggagt agatggaaga tgattcagca gatagtctg aaagtctgtg gctctttatg
 241 tgtcttgact ggatatgtgg gttctctgct gcatgtatag tggaaaggag gtaagaggtg
 301 ctgattttaa ttttccatg ctctctccac tcaagcattct TGGGGCTAC AGCATGGAG
 361 TGATTTACTGG CACATCATTT GGAGTGAACA TCGACTCTCT CAACAATCCA CAAGACCCCT
 421 TTGTGGAGAG CACTAAGAAAG TTCTTAAAT TTGCTTCTT AGATCCATTA TTCTCTCAA
 481 TAGtatgtg ggtattatt tcttctctc tttttaaaa taactcctt cttgacata
 541 aattcacata tegtataatt catccactta aaaggtacaa ttccattggt ttaagataa
 601 tcaaaaaatg gtatgacct tactatgtg aactaaaatg tttttgtcaa tctagagccc
 661 tcaacacact tagctgtcaa caccocacca caaacccac tgccttaagc atccaataa
 721 caactttctg cctctataga ttgctctatt ctggacactt catagaata atactatt

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

16/21

Figure 4 continued

```

Seq ID: 219
>chzs_ch-v-057_583C>T
1 cagagcttac atatcttata tcatccacac tcaacacatg ctactgtagt tgtctgataa
61 tgggtctctg tcttctctatg actgggctcc ttgacctcag aggtgagtct aactcagctt
121 ggtgtctcca tcaccccag catagggcca gctccatcac tggcaccaga taaccacott
181 ctgaggaggt agatggaaga tgattcagca gatagtcttg aaagtctctg gctctttatg
241 tgtcttgact ggatagtggg gtttcttgct gcatgtatag tggaggagcg gtaagaggtg
301 ctgattttaa ttttccatct ctttctccac tcagCATCTT TGGGGCTAC AGCATGGATG
361 TGATTACTGG CACATCATTT GGAGTGAAAC TCGACTCTCT CAACAATCCA CAAGACCCCT
421 TTGTGGAGAG CACTAAGAAG TTCTTAAAT TTGGTTCTCT AGATCCATTA TTTCCTCAA
481 TAAGtatgtg ggctattatt tcttctctct tttttaaaaa taactgcttt cttagacatg
541 aattcacata tctataatt catccactta aaaggtacaa ttccattggt ttttaagataa
601 tcaaaaaaat gtatgacctt tactattgta aactaaaaag tttttgtcaa tctagagccc
661 tcaacacactt tagctgtcaa cacccccaca caaaccccac tgcctaaagc atccaataat
721 caactttctg cctctataga ttgacctatt ctggacactt catagaataa atatcatt

Seq ID: 220
>chzs_ch-v-058_650A>G
1 cagagcttac atatcttata tcatccacac tcaacacatg ctactgtagt tgtctgataa
61 tgggtctctg tcttctctatg actgggctcc ttgacctcag aggtgagtct aactcagctt
121 ggtgtctcca tcaccccag catagggcca gctccatcac tggcaccaga taaccacott
181 ctgaggaggt agatggaaga tgattcagca gatagtcttg aaagtctctg gctctttatg
241 tgtcttgact ggatagtggg gtttcttgct gcatgtatag tggaggagcg gtaagaggtg
301 ctgattttaa ttttccatct ctttctccac tcagCATCTT TGGGGCTAC AGCATGGATG
361 TGATTACTGG CACATCATTT GGAGTGAAAC TCGACTCTCT CAACAATCCA CAAGACCCCT
421 TTGTGGAGAG CACTAAGAAG TTCTTAAAT TTGGTTCTCT AGATCCATTA TTTCCTCAA
481 TAAGtatgtg ggctattatt tcttctctct tttttaaaaa taactgcttt cttagacatg
541 aattcacata tctataatt catccactta aaaggtacaa ttccattggt ttttaagataa
601 tcaaaaaaat gtatgacctt tactattgta aactaaaaag tttttgtcaa tctagagccc
661 tcaacacactt tagctgtcaa cacccccaca caaaccccac tgcctaaagc atccaataat
721 caactttctg cctctataga ttgacctatt ctggacactt catagaataa atatcatt

Seq ID: 221
>chzr_ch-v-059_205T>C
1 agaaggtgcc attgatctca ctgctgtagt ggtgttctct atgtatagac ctgcccttgc
61 tcagctgccc gcttgaaga agggcaaaaca tgataaaagg aatgggtccc agtggagaat
121 catgatgttc ttatctctat tactggtaga gaaaattata attgctccag gtaaagtctg
181 cactttcaat gatttctctt tgtctgtttt gtttttccca cagTACTCTT TCCATTCCTT
241 ACCCCAGTTT TTGAGCATAT AATCTCTCT CTGTTCCAA AAGATACCAT AAATTTTTTA
301 AATAAATCTG TAAACAGAAAT GAAGAAAAGT CCGCTCACC AGCAACAAA Ggtaaaatct
361 gatgggggtt aatgacgat gtttaggttt tgataaattt agattllata cacatgatag
421 acatgtatct tgaattttta aaataaaga cagagaactt atgtllagaa caagagaagc
481 cactttgtag aaataaaga gtagatggg gaagagatg agatgagctc agatggaga
541 cactttaaac ttgaaatcag gcacaacaat tagtatgca tgatataaac agtatggaga
601 taaattttta ccacttctct tccctttaat aaattgtcaa aggataaagt ttctgtttg
661 aaaaatattt

```

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

17/21

Figure 4 continued

```

Seq ID: 222
>chr_ch-v-060_496A>C
1 agaagtgccc attgatctca ctgctgtagt ggtgtttcct atgtatagac ctgccottgc
61 tcaagtgcgcc gccctgaaaga agggcaaca tgataaaagg aatgggtccc agtggagat
121 gatgatgttc ttattcttat taactgtaga gaaaattata attgctccag gtaaaagtgt
181 cattttcaat gatttccctt tgtttgtttt gtttttccca cagTACTCTT TCCATTCCTT
241 ACCCCAGTTC TTGAAGCATT AATGTCTCT CTGTTTCCAA AAGATCCAT AAATTTTFTA
301 AGTAAATCTG TAACACAGAT GAAGAAAAGT CGCTCAACG ACAACAAAA Ggtaaaatct
361 gatgggtgtt aaatgacgat gtttaggttt tgataaatt agattttata cacatgatag
421 agcatgtatc tgtattttta aaaaataaga cagagaactt atgttttaga: caagagaagc
481 caattggtag aataaCagaa ggagattggg gaaggagatg agaatgagtc agagagatag
541 catttaaac ttgaaatcag gcccaacaat tagtatgtca tgatataaac agtattgaga
601 taaaaattta ccaattctct tcccttaat aaattgtcaa aggataaagt ttcctgtttg
661 aaaaatatt

```

```

Seq ID: 223
>chrp_ch-v-062_173G>A
1 agataaagta ctlttaggat cattcaaggc acacacccat aacactgagt atgtaagaca
61 gaaatgctct ctctggaat tacagcagtg ctggtgctgg gatgcatga tgaggagtgt
121 gtggcccaca atcatgtaga ccttgggaaa acctggatta aaatgatttt gcgtcatcct
181 ggccctgtat aagatacata tcagaatgaa aaccactccc agtgtgactt tgaattgctt
241 ttccattttt tcttcttggg attagagagc ttcacttaga tttcatctaa cgtgtgatgt
301 ggtacgttga cctgatttac ctaaaatgct tttcctctcc tttcagCTCT GTCTGATCTG
361 GAGTCGCAG CCCAGTCAAT AATCTTCATT TTTGCTGGCT ATGAAACCAC CAGCAGTCTT
421 CTTTCTTCA CTTTATATGA ACTGGCCACT CACCCTGATG TCCAGCAGAA ACTGCAAAAAG
481 GAGATGATG CAGTTTTCGC CATATAGGtg aggggatgac ccttgagat gaaggaaga
541 ggtgaagcct tagcaaaaat gccctctcac cactcccag gagaattttt ataaaaagca
601 taatcactga ttccttaact gacataatgt aggaagcctc tgaggagaaa acaaaaagga
661 gaaacataga gaacggttgc tactggcaga agcataagat ctttgtacaa latgtctggc
721 cctggttccac ctgtttactg ttatcacaat aatgctaagt aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa
781 aaaaaaaaaa aggagtgtgg cgagaagatg gccaaacagg aacagc

```

```

Seq ID: 224
>chrp_ch-v-063_312C>T
1 agataaagta ctlttaggat cattcaaggc acacacccat aacactgagt atgtaagaca
61 gaaatgctct ctctggaat tacagcagtg ctggtgctgg gatgcatga tgaggagtgt
121 gtggcccaca atcatgtaga ccttgggaaa acctggatta aaatgatttt gcgtcatcct
181 ggccctgtat aagatacata tcagaatgaa aaccactccc agtgtgactt tgaattgctt
241 ttccattttt tcttcttggg attagagagc ttcacttaga tttcatctaa cgtgtgatgt
301 ggtacgttga cctgatttac ctaaaatgct tttcctctcc tttcagCTCT GTCTGATCTG
361 GAGTCGCAG CCCAGTCAAT AATCTTCATT TTTGCTGGCT ATGAAACCAC CAGCAGTCTT
421 CTTTCTTCA CTTTATATGA ACTGGCCACT CACCCTGATG TCCAGCAGAA ACTGCAAAAAG
481 GAGATGATG CAGTTTTCGC CATATAGGtg aggggatgac ccttgagat gaaggaaga
541 ggtgaagcct tagcaaaaat gccctctcac cactcccag gagaattttt ataaaaagca
601 taatcactga ttccttaact gacataatgt aggaagcctc tgaggagaaa acaaaaagga
661 gaaacataga gaacggttgc tactggcaga agcataagat ctttgtacaa latgtctggc
721 cctggttccac ctgtttactg ttatcacaat aatgctaagt aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa
781 aaaaaaaaaa aggagtgtgg cgagaagatg gccaaacagg aacagc

```

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

18/21

Figure 4 continued

```

Seq ID: 225
>chzn_ch-v-044_239T>C
1 caggcctggc acagagtcag tgctccataa atattttgtt aaacagatgga tggtagtgc
61 ttttaactatc cagtatttac ccagcctata gattaagtat gaagagttca agatacatgg
121 tggtaagagt cgtttttata tgottgcaaa gcattttgt catattttt ctactttgct
181 tccatotttt ctttcttccac ttcatttatt aattctocat atgcttgttt aactattgga
241 gATCCCCCTG AAATTAGACA CGCAAGGACT TCTTCARCCA GAAAAACCCA TTGTTCTAAA
301 GGTGGATTCA AGAGATGGAA CCTTAAGTGG AGAATGAgTt attctaagga tttctacttt
361 ggtcttcaag aaagctgtgc cccagaacac cagagatttc aacttagtca ataaaacctt
421 gaaataaaga tgggcttaac ctaatgtact gcattgagtg ttggtgattt tgtacattca
481 ttgagctctc ccagagctgt tgtagagtg tgtgcattat gtagtataaa ggaggtgacc
541 agttagtgta cagataggta gactcagctt ctctgcttt catagactca cctctaccca
601 cctctagtta gcatta

Seq ID: 226
>chzy_ch-v-066_380T>C
1 gattaagctt ttcattgatt ctcatagaac atgaactcaa aagaggtcag caaaggggtg
61 tgtgcgattc ttgtctattg gctgcagcta tagccctgcc tccctctcca gcacataaat
121 ctttcagcag cttggctgaa gactgctgtg cagggcaggg aagctccagg caaacagccc
181 agcaaacagc agcactcagc taaaaggaag actccacagaa cacagttgaa gaaggaagt
241 ggcgATGGAC CTCATCCCAA ATTGGCCGGT GGAACCTGG CTTCCTCGG CTGTACGCT
301 GGTGCTCCTC TATCTgtgag taactgtcca aactcctctc tttgtttcct tggacttggg
361 gtgctaactg gcccctttt cccttatctg ttttgaagat caaaagagat gttcaaggag
421 aagtagctga agtgttggac gctacaaaag catagaagtt attattatct tatcagatc
481 tatgaatgaa taataaagca tttctcccat ccacctctca attttggtag ctaggagggt
541 ttaggacag catttggtag tgggaatgat ttgattagct tagatctgac gaagactaat
601 caatgaaaac atggcagcgg caga

Seq ID: 227
>chzy_ch-v-067_474G>A
1 gattaagctt ttcattgatt ctcatagaac atgaactcaa aagaggtcag caaaggggtg
61 tgtgcgattc ttgtctattg gctgcagcta tagccctgcc tccctctcca gcacataaat
121 ctttcagcag cttggctgaa gactgctgtg cagggcaggg aagctccagg caaacagccc
181 agcaaacagc agcactcagc taaaaggaag actccacagaa cacagttgaa gaaggaagt
241 ggcgATGGAC CTCATCCCAA ATTGGCCGGT GGAACCTGG CTTCCTCGG CTGTACGCT
301 GGTGCTCCTC TATCTgtgag taactgtcca aactcctctc tttgtttcct tggacttggg
361 gtgctaactg gcccctttt cccttatctg ttttgaagat caaaagagat gttcaaggag
421 aagtagctga agtgttggac gctacaaaag catagaagtt attattatct tatcagatc
481 tatgaatgaa taataaagca tttctcccat ccacctctca attttggtag ctaggagggt
541 ttaggacag catttggtag tgggaatgat ttgattagct tagatctgac gaagactaat
601 caatgaaaac atggcagcgg caga

Seq ID: 228
>chzu_ch-v-068_359G>A
1 gaaacagtcc ctaccacgtg gagcatttgc aattaaaagg agactgagat atagagcag
61 gagaccacac cagatggctg ggtctcccca ctcccacccc gcccacagat acactcagaa
121 gaggctagcc atctaggatc tccattgagc atcttgaata tggcttggca taatactata
181 tacagtcaat aaatatttgt taataaagga tgcctcttca atatattttg tgoaacctg
241 agataccaca caactaatgt gagaaaaaat gtttctgtt aactctagTC TTTAGCCCA
301 GTGGGATTTA TGAAGAAGTC CATCTCTTIA GCTGAGGATG AAGAAATGAA GAGAAATCAG
361 TCAATGCTGT CTTCAACCTT CACCAGCGGA AACTCAAGG AGtatgaaa ataatgag
421 tcttaattag aaagttaag aatgaatctg gggcagctg gaaagtaaga tcaacgtccg
481 tttccaaagg gtagtccact gaggctggcc ttcctcaaaa tggcttttta tctttatgta
541 cagaaaaagc atcacaaaat tcaatcaaaa atgtcaacta ctgctccatg ctggagaag
601 coatatcctt ctgggacttg agtctg

```

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

19/21

Figure 4 continued

```

Seq ID: 229
>peptide of ch-v-068_359G>A
1 SVF1INRRSLG PVGPMKSAIS LAEDEEWKRI QSLLSPTFTS GKLKEMFPPI AQYGDVLRVN

Seq ID: 230
>chzu_ch-v-047_404T>C
1 gaacagttcc ctaccacgtg gagcatttgc aattaaagg agactgagat atagaggcaag
61 gagaccacac cagatggctg ggtctcccca ctcccacccc CGCCCCACAT acactcagaa
121 gaggtcaggc atctaggalc tccattgagc atcttgaata tggcttgcca taatacata
181 tacagtcaat aaatatttgt taataaaggc tgcctcttca atatatattg tgaaccatg
241 aagatcacca caactaatgt gagaaaaaat gttctctgtg aactctagTC TTTAGGCCCA
301 GTGGGATTTA TGAAGAAGTC CATCTCTTTA GCTGAGGATG AAGAATGGAA GAGAAATCCG
361 TCMTTCTGT CTCCAACCTT CACCAGCGGA AAAC2TCAAAG AGgC3atgaaa ataagatgag
421 tcttaattag aatgtaaaag aatgaatctg gggacaggtg gaaagttaaga tcaagtcocg
481 tttccaaggg gtatccact gagttc4gagc ttccta5aaaa tggctctt6ta tctttatgta
541 cagaaaaagc atcaca7aat tcaata8aaa atg9tca10cta ctgctccatg ctggagaaag
601 ccaatccctt ctgggacttg agtctg

Seq ID: 231
>chzu_ch-v-069_480G>A
1 gaacagttcc ctaccacgtg gagcatttgc aattaaagg agactgagat atagaggcaag
61 gagaccacac cagatggctg ggtctcccca ctcccacccc CGCCCCACAT acactcagaa
121 gaggtcaggc atctaggalc tccattgagc atcttgaata tggcttgcca taatacata
181 tacagtcaat aaatatttgt taataaaggc tgcctcttca atatatattg tgaaccatg
241 aagatcacca caactaatgt gagaaaaaat gttctctgtg aactctagTC TTTAGGCCCA
301 GTGGGATTTA TGAAGAAGTC CATCTCTTTA GCTGAGGATG AAGAATGGAA GAGAAATCCG
361 TCMTTCTGT CTCCAACCTT CACCAGCGGA AAAC2TCAAAG AGg3atgaaa ataagatgag
421 tcttaattag aatgtaaaag aatgaatctg gggacaggtg gaaagttaaga tcaagtcocg
481 tttccaaggg gtatccact gagttc4gagc ttccta5aaaa tggctctt6ta tctttatgta
541 cagaaaaagc atcaca7aat tcaata8aaa atg9tca10cta ctgctccatg ctggagaaag
601 ccaatccctt ctgggacttg agtctg

Seq ID: 232
>chzg_ch-v-061_194C>G
1 abtgacatg atagctagat ttgtttcagg aaaacatcct gctttccag gatttagatg
61 aatgtttttg tteactggtg actcaggtaa cacgtcttea gaaagccata gggaggttg
121 gggagggaaag tcaagaaggg agygttngga ctgcactttt gatttacttc tgacttcag
181 agtcaactttc tgc1aaagaa atctctcctt tggcttetag CACCAGCTAG AMTTCCTPCA
241 GCTGATGAT2 GACTCCCGA MPTCGAAGA AACTGAGTCC CACAAAGGta accaaggagt
301 gctctctgagg gctactggcg gggacactaa ggggagggc cttgtctga aatgtctag
361 gaagtattcc aggaagatga gaatttttgc cacatagcag aacaacacac atttagatg
421 tataaatggg agctggaggc actttccaga agcccacagg tatagccatg tccaggctg
481 aaagggcaac cctaagcaaa ctaga3atgc tggag4aca gtc5agtt tgtggatcac
541 ctacatgaga tcaaatgcca gttctcagcc tctccagat ccaacaagtg agaactcta
601 cttgaaatt tataccaac ata

Seq ID: 233
>chzn_ch-v-045_291T>C
1 caggcctggc acagagtcag tgcctcataa atattttgtt aaacgatgga tgytcaagtgc
61 ttttactatc cagtatttac ccagcttata gattaagtat gaagagttca agatacatgg
121 tgttaagagt cgtttttata tgcctgcaaa gcatttttgt catatttttt ctactttgt
181 tccacttttt cttctttcac ttcatttatt aattctccat atgctgtttt aactattgta
241 gATCCCTTC AAATTAGACA CGCAAGGACT TCTTCAACCA GAAAAACCA TCTTCTAA
301 GGTGGATTCA AGAGATGGAA CCTAAGTGG AGAATGAgtt attctaagga tttctacttt
361 ggtcttcaag aaagctgtgc cccagaacac cagagatttc aacttagtca ataaaacctt

```

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

20/21

Figure 4 continued

```

421 gaaataaaga tgggcttaat ctaatgtao ccatgagtag ttgggtattt tgtacattca
481 ttgagctctc ccagcgtctg tgltagagtg tglgcattat gtagtataaa gtaggtgacc
541 agtlaagtga cagataggta gactagott ctctgcttat cataggacta cctctaccaca
601 cctctagtta gcatta

```

Seq ID: 234

>peptide of ch-v-045_291T>C

```

1 MRPALMMMKL ALIRVLQNFV FKPKETQIP LKLDLQGLLQ PEKPLVLRKVD SRDGLSGE.

```

Seq ID: 235

>chzk_ch-v-065_563T>C

```

1 tggtaacca ccatgtgtac agtaccctgc tagggccag ggtcatgaaa gtaataata
61 ccagactgtg cccttgagga actcaactct gctaaggaaa acagccacag aaaccacaa
121 ggggtgtaga gaggaaatag gacaatagga ctgtgtgagg gggataggag gcaccacag
181 gaggaaatgg ttacatctgt gtgaggaggt tggtaaggaa agactttaat agaaggggtc
241 tgtctggctg gcttgcagg gatgtgtagg agtcatctag gggccacag tacactccag
301 gtagagggaa tgcacaggt aaagalctgc agttctggct tgtgggatg gattcaagt
361 attctgaaat gtagacagcc atggaacaa gggcagctga gaggatattt aagaggcttc
421 atgccaatgg ctccacttca gttctctgata agactcagg ttccgtggac tccctgataa
481 aactgabttaa gttgtttatg attcccata gaatatgac tcaaggagg taagcaaaag
541 ggtgtgtgag atctctgtgc gctgagccc caccctctc tccagcacat
601 aacatltca gtagctgac ctcaactgc tgtgcaggc aggatgtct caggcagaca
661 gccacgaaa caacagaca cagctgaag taagactcag aggagcagt tgaagaggc
721 agtggcagat gtagctctc ccaatttg cggtagaac ctgctcttc ctggctgtca
781 gcttggctct cctctatctg tcagtaactg tccagattcc tctctctgt

```

Seq ID: 236

>chzl_ch-v-040_206C>T

```

1 gtagtgacct gattttccag gtgctgtctg tcacccttt ctttgactag gaaagggaac
61 tctctgacct ctgctcttc tcaagttag caatgctcg cctgctctg gctgtgacc
121 agcactctgc acccaatgct ctgaccacc tgtctggacc tccctatgta gatgaccgc
181 gtaccctcaga tgaaaatgca gaaatgacc gtctctgtg tcaactcaac tgggagctgt
241 agaccggagc tgtctctatt cggccatctt ggtccacc ccagagttt ggttttaat
301 tgaagtgta ttgatgtgg aaggagataa tgcctgcat ttagagcac atattagag
361 gctcggagca atgcatgtga taaaagctc cctaaggag aaaaaagaa caagggaga
421 cactggaaag aactgtagc tgggagctcc tggccacca aagtctggag aaaagtgtg
481 accacaagc tccagccta gttcactga agactctga actagttac ttatgggatc
541 ctggtagga caagccttga aaagtttac aatagcaat gtggagctg tcagaaccaa
601 atgtagtca cgtgttatt gtgtgtgt gtctgtgt gtgtttaaa atcatgaca
661 ataaagcag ctgtgaaag gggattccca tctctgtgt cctgataca caactatcc
721 aaagctttg cgaaccaca agtttgaca aaggaatcc caacttaca caaaa

```

WO 02/053775

PCT/EP01/15290

21/21
Figure 5

```

>CYP3A5 insert in pKK233-2 (Seq ID 144)
  1  ccattgctct gttattagca gtttctctgg tgcctcctcta tctatmtggg acccgtagac
  61  atggactttt taagagactg ggaattccag gcccacacc tctgcttttg ttgggaatag
 121  ttttgtccta tgcctcaggt cttcggaaat ttgacacaga gtgctatpaa aagatpghaa
 181  aatgtgggg aactgatgaa ggtcaactcc ctgctgctggc cmtcagagt cccgactgga
 241  tcagAACAGT GCTAGTGAAA GAATGTTATF [ ]TGTCTTCAC AATCGAAGG TCTTTAGGCC
 301  CAGTGGGATT TATGAAAAGT GCCATCTCTT TAgCTGAGGA TGAAGAATG AAGCAATTC
 361  GGTCAATFGCT GTCTCCAACG TTCACCAGCG GAANACTCAA GGAGATGTTG CCCATCATTG
 421  CCCAGTATGG AGATGATTTG GTGAGAAACT TGAGGGGGGA AGCAGAGAAA GGCAGCCCTG
 481  TCACCTTGAa AGACATCTTT GGGGCCATCA GCATGGAGTT GATTAGTGGC ACATCAPTTG
 541  GAGTGAACAF CGACTCTCTC AACCAATCCAC AAGACCCCTT TGTGGAGAGC ACTAAGAAGT
 601  TCCTAAAAAT TGCCTCTCTC GATCCATTAAT TFCCTCRAAT AATTCCTITT CCATTCCTTA
 661  CCCAGPTTTT TGAAGCATTa AATGTCCTCT TGTTCOCRAA AGATACCMTA AATTTPTTAA
 721  GTAATCTCTT AAACAGAAAT AAGAAAAGTC GCCTCAACGA CAACAAAGG CACCGACTAG
 781  ATTTCTTCA GCATGATGAT GACTCCCRGA ATTCGAAGA AACTGAGTCC CACAAAGCTC
 841  TGTCTGATCT GGAGCTCGCA GCCCAGTCAA TAATCTTCAT TTTTGTGGC TATGAAACCA
 901  CCAGCAGTGT ICTTTCTCTC ACTTTATATG AACTGGCCAC TCACCTGAT GTCCAGCAGA
 961  AACTGCAAAA GGAGATTGAT GCATTTTTC CCAATBAAGC ACCACCTACC TATGATGCCG
1021  TGTACAGAT GGAGTACCCT GACATGGTGG TGAATGAAC ACTCAGATTA TTCCAGTTG
1081  CTATTAGACT TGAGAGGACT TGCAAGAAAG ATGTTGAAAT CAATGGGTA TTTCTCCCA
1141  AAGGTCAAT GATGGTGAAT CCAATTTATG CTCTTCACCA TGACCCAAAG TACTGGACAG
1201  AGCCTGAGGA GTTCCGCCCT GAAAGGTTCA GTAAGAAGAA GGACAGCATA GATCCTTACA
1261  TATACACACC CTTTGGAACT GGACCCAGAA ACTGCATGG CATGAGGTTT GCTCTCATGA
1321  ACATCAAACT TGTCTAAACT AGAGTCCATC AGRACCTTCT CTTCBAACCT TGTAAAGAAA
1381  CACAGATCCC CTTGAAATTA GACACGCAAG GACTTCTTCA ACCAGAAAA CCAATGTATC
1441  TAAGGTGGA TTCAAGAGAT GGAACCTTAA GTGGAGAAca tcaccatcac catcacTGag
1501  atctgag

```

WO 02/053775

1/47

PCT/EP01/15290

SEQUENCE LISTING

<110> EPIDAUROS Biotechnologie AG
<120> Identification of the genetic determinants of the polymorphic CYP3A5 expression
<130> E 3103 PCT
<140>
<141>
<150> EP 00 12 8627.7
<151> 2000-12-28
<150> EP 01 10 0172.4
<151> 2001-01-16
<150> EP 01 11 8884.4
<151> 2001-08-16
<150> US 60/258,684
<151> 2000-12-28
<150> US 60/258,952
<151> 2000-12-29
<150> US 60/262,859
<151> 2001-01-18
<150> US 60/312,825
<151> 2001-08-16
<160> 239
<170> PatentIn Ver. 2.1
<210> 1
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens
<400> 1
acaggcacag aaaccacaa g 21

<210> 2
<211> 19
<212> DNA
<213> Homo sapiens
<400> 2
ategccactt gccttcttc 19

<210> 3
<211> 19
<212> DNA
<213> Homo sapiens
<400> 3
ccctgcttcg gcttgtgca 19

WO 02/053775	2/47	PCT/EP01/15290
<210> 4 <211> 24 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 4 cacagcctgc tttatttgtc atga		24
<210> 5 <211> 21 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 5 gatccttgggaggacaagcc t		21
<210> 6 <211> 24 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 6 caagcactga ttgggtcact tect		24
<210> 7 <211> 22 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 7 gggatgggac cgtaagtgga ac		22
<210> 8 <211> 26 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 8 taatcacatt ggagttctga caaatg		26
<210> 9 <211> 30 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 9 aaaaacctct tacaagaagta tcatcgata		30
<210> 10 <211> 27 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 10 octactaggt ctctgacttg gaaccat		27

WO 02/053775

3/47

PCT/EP01/15290

<210> 11
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 11
gccgagagc accattacac t

21

<210> 12
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 12
caccatccc ttccaactca t

21

<210> 13
<211> 28
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 13
tgatggttcc aagtcagaga cctagtag

28

<210> 14
<211> 35
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 14
aattgtagac atctttctct taagttaatt cccag

35

<210> 15
<211> 25
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 15
tctgcatgcc aacagtgaac aatct

25

<210> 16
<211> 19
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 16
ggcacgcacc agcatgtcc

19

<210> 17
<211> 19
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 17
ctggctgagt gccgtggct

19

WO 02/053775	4/47	PCT/EP01/15290
<210> 18 <211> 25 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 18 tgagcgcttc atgtattctg gctat		25
<210> 19 <211> 31 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 19 aaatattttc aaagtcacac tctgacaaca g		31
<210> 20 <211> 29 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 20 taacaggatc tcatgctttt ttcattggt		29
<210> 21 <211> 30 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 21 cactccaata ttcacaatag ccaattatca		30
<210> 22 <211> 24 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 22 actcctacgt atccttccaa gcc		24
<210> 23 <211> 28 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 23 gctaaggaa acaggcatag aaacttac		28
<210> 24 <211> 18 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 24 ggagcttccc tgccctgc		18

WO 02/053775

5/47

PCT/EP01/15290

<210> 25
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 25
tcctctcca gcacataaat c

21

<210> 26
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 26
aaattagaag gtggatggga g

21

<210> 27
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 27
gagtaactca ccagccctct g

21

<210> 28
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 28
aaacctcaga actcctccc a

21

<210> 29
<211> 23
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 29
gacatctctg aatagcttcc ttc

23

<210> 30
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 30
gcacatagtt tataacggca a

21

<210> 31
<211> 23
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 31
agaaacctaaag gttgctgtgt gtc

23

WO 02/053775	6/47	PCT/EP01/15290
<210> 32 <211> 21 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 32 tgcaagatgt taccactggg c		21
<210> 33 <211> 20 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 33 cgccccacat aactcagaa		20
<210> 34 <211> 21 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 34 agaccatttt taggaagctc g		21
<210> 35 <211> 22 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 35 caagggtag tccactgagt tc		22
<210> 36 <211> 18 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 36 ctctttggag ttgcagcg		18
<210> 37 <211> 21 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 37 aggtgagtct aactcagctt g		21
<210> 38 <211> 21 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 38 gacagctaaa gtgtgtgaggg g		21

WO 02/053775

7/47

PCT/EP01/15290

<210> 39
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 39
aatgggttcc agttgagaat c

21

<210> 40
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 40
attgttgtgc ctgatttcaa g

21

<210> 41
<211> 19
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 41
agaagccata gggaggttg

19

<210> 42
<211> 20
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 42
gactgtcctc caagcattct

20

<210> 43
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 43
gatgccatga tgaggagtgt g

21

<210> 44
<211> 19
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 44
accagggcca gcaatattg

19

<210> 45
<211> 25
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 45
aaatactca cgaatactat gatca

25

WO 02/053775

8/47

PCT/EP01/15290

<210> 46
<211> 24
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 46
cagggacata attgattatc ttg

24

<210> 47
<211> 19
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 47
tactggttg gaggtggag

19

<210> 48
<211> 23
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 48
catgatgttc ttaatgctac agg

23

<210> 49
<211> 25
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 49
gaagagttca agatacatgg tgтта

25

<210> 50
<211> 23
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 50
tgcacaacac tctacacaga ctc

23

<210> 51
<211> 11
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 51
tgggcttgca a

11

<210> 52
<211> 11
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 52
tgggcttgca a

11

WO 02/053775	9/47	PCT/EP01/15290
<210> 53 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 53 gcatgggtaa a		11
<210> 54 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 54 gcatgagtaa a		11
<210> 55 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 55 gggggtgtgtg c		11
<210> 56 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 56 ggggtatgtg c		11
<210> 57 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 57 tgtgcgattc t		11
<210> 58 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 58 tgtgcaattc t		11
<210> 59 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 59 gccccacctc c		11

WO 02/053775	10/47	PCT/EP01/15290
<210> 60 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 60 gccccgcctc c		11
<210> 61 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 61 ctcactgg g		11
<210> 62 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 62 ctcagctgg g		11
<210> 63 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 63 gagacycacc a		11
<210> 64 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 64 gagacacacc a		11
<210> 65 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 65 tgtgtgtggg a		11
<210> 66 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 66 tgtgtatggg a		11

WO 02/053775	11/47	PCT/EP01/15290
<210> 67 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 67 atccatgtat a		11
<210> 68 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 68 atccacgtat a		11
<210> 69 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 69 catcttacc c		11
<210> 70 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 70 catctcacc c		11
<210> 71 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 71 tctattgcta t		11
<210> 72 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 72 tctatagcta t		11
<210> 73 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 73 ggcaggggaag c		11

WO 02/053775	12/47	PCT/EP01/15290
<210> 74 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 74 ggcagagaag c		11
<210> 75 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 75 ccaggcaaac a		11
<210> 76 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 76 ccaggtaac a		11
<210> 77 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 77 tcaaggagaa g		11
<210> 78 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 78 tcaagaagta g		11
<210> 79 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 79 gtacacatgg a		11
<210> 80 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 80 gtacatatgg a		11

WO 02/053775	13/47	PCT/EP01/15290
<210> 81 <211> 10 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 81 catggacttt		10
<210> 82 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 82 catgggactt t		11
<210> 83 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 83 gatagcagcc c		11
<210> 84 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 84 gatagtaggc c		11
<210> 85 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 85 agaatcgggc t		11
<210> 86 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 86 agaatagggc t		11
<210> 87 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 87 ttattctgtc t		11

WO 02/053775	14/47	PCT/EP01/15290
<210> 88 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 88 ttattatgtc t		11
<210> 89 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 89 gtacaggaag g		11
<210> 90 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 90 cctaaaaaat g		11
<210> 91 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 91 tcctttatct t		11
<210> 92 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 92 tctttgatct t		11
<210> 93 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 93 gagctcgcac a		11
<210> 94 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 94 gagtcgcac a		11

WO 02/053775	15/47	PCT/EP01/15290
<210> 95 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 95 gaagtcaga a		11
<210> 96 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 96 agtcgtcaag a		11
<210> 97 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 97 aggaagtatt c		11
<210> 98 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 98 aggaattatt c		11
<210> 99 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 99 agagagcttc a		11
<210> 100 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 100 agagaacttc a		11
<210> 101 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 101 cttcaatagt a		11

WO 02/053775	16/47	PCT/EP01/15290
<210> 102 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 102 cttcagtagt a		11
<210> 103 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 103 tccaacttat g		11
<210> 104 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 104 tccaaattat g		11
<210> 105 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 105 cgaaactaca t		11
<210> 106 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 106 cgaaattaca t		11
<210> 107 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 107 aaggatttct a		11
<210> 108 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 108 aaggacttct a		11

WO 02/053775

17/47

PCT/EP01/15290

<210> 109
<211> 11
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 109
agctccgttg t 11

<210> 110
<211> 11
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 110
agctctgttg t 11

<210> 111
<211> 10
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 111
caectaccta 10

<210> 112
<211> 11
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 112
caecttacct a 11

<210> 113
<211> 830
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 113
tggtcaccca ccatgtgtac agtaccctgc tagggccag ggtcatgaaa gtaaataata 60
ccagactgtg cccttgagga actcactctc gctaaagggaa acaggcacag aaaccocaaa 120
gggtggtaga gaggaaatag gacaatagga ctgtgtgagg gggataggag gcacccagag 180
gaggaatgg ttacatctgt gtagggaggt tggtaaggaa agactttaat agaaggggac 240
tgtctggctg ggcgtgcaag gatgtgtagg agtcatctag ggggcacaag tacactccag 300
gagagggaaa ttgatgggt aaagatctgc agttgtggct tgtgggatg gatttcaagt 360
attctggaat gaagacagcc atggaacaa gggcaggtga gaggatatt aagaggcttc 420
atgcaatgg ctccacttca gttctgata agaactcagc ttccgtggac tccctgataa 480
aactgattaa gttgtttatg attcccata gaatatgaac tcaagggag taagcaag 540
gggtgtggg attctttgct actggctgca gctgcagccc cgcctctctc tccagcaat 600
aaacatltca gcagcttgac ctaagaetgc tgtgcagggc egggatgctc caggcagaca 660
gccacgcaaa caacagcaca cagctgaaag taagactcag aggagacagt tgaagaaggc 720
aagtggcgal gacactcctc ccaaatgttg cgttggaaac ctggctctc ctggctgtca 780
gcctgggtgt cctctactctg tcagtaactg tccagatctc tctctctgt 830

<210> 114
<211> 830
<212> DNA
<213> Homo sapiens

WO 02/053775

18/47

PCT/EP01/15290

```

<400> 114
tggtcaacca ccatgtgtac agtacccctgc taggggtccag ggtcatgaaa gtaataata 60
ccagactgtg ccttgaggga actcaacctct gctaagggaa acaggcacag aaaccacaa 120
gggtggtaga gaggaatatg gacaatagga ctgtgtgagg gggataggag gcaccagag 180
gaggaatatg ttacatctgt gtgaggaggt tggtaaggaa agactttaat agaaggggtc 240
tgtctggctg gcttgcgaag gatgtgtagg agtcatctag ggggcaaacg tacactccag 300
gcagagggaa ttgcatgagt aaagatctgc agttgtggct tgtgggatg gatttcaagt 360
atcttggaat gaagacagcc atggaaacaa gggcaggtag gaggatatt aagaggttc 420
atgccaatgg ctccacttca gtttctgata agaactcagg ttccgtggac tccctgata 480
aactgatata gttgtttatg attcccata gaalatgaac tcaagaggag taagcaaaag 540
gggtggtaga gaggaatatg gacaatagga ctgtgtgagg gggataggag gcaccagag 600
aaacatttca gcagcttgac ctaagactgc tgtgcagggc agggatgctc caggcagaca 660
gccacgcaa caacagcaca cagctgaaag taagactcag aggagacagt tgaagaaggc 720
aagtggcgat ggacotcatic ccaaatttgg cggtggaac ctggttctc ctggctgtca 780
gcctggtgct cctctatctg tcaagtaactg tccagattcc tctcctctg 830

```

```

<210> 115
<211> 830
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

```

<400> 115
tggtcaacca ccatgtgtac agtacccctgc taggggtccag ggtcatgaaa gtaataata 60
ccagactgtg ccttgaggga actcaacctct gctaagggaa acaggcacag aaaccacaa 120
gggtggtaga gaggaatatg gacaatagga ctgtgtgagg gggataggag gcaccagag 180
gaggaatatg ttacatctgt gtgaggaggt tggtaaggaa agactttaat agaaggggtc 240
tgtctggctg gcttgcgaag gatgtgtagg agtcatctag ggggcaaacg tacactccag 300
gcagagggaa ttgcatgagt aaagatctgc agttgtggct tgtgggatg gatttcaagt 360
atcttggaat gaagacagcc atggaaacaa gggcaggtag gaggatatt aagaggttc 420
atgccaatgg ctccacttca gtttctgata agaactcagg ttccgtggac tccctgata 480
aactgatata gttgtttatg attcccata gaalatgaac tcaagaggag taagcaaaag 540
gggtggtaga gaggaatatg gacaatagga ctgtgtgagg gggataggag gcaccagag 600
aaacatttca gcagcttgac ctaagactgc tgtgcagggc agggatgctc caggcagaca 660
gccacgcaa caacagcaca cagctgaaag taagactcag aggagacagt tgaagaaggc 720
aagtggcgat ggacotcatic ccaaatttgg cggtggaac ctggttctc ctggctgtca 780
gcctggtgct cctctatctg tcaagtaactg tccagattcc tctcctctg 830

```

```

<210> 116
<211> 830
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

```

<400> 116
tggtcaacca ccatgtgtac agtacccctgc taggggtccag ggtcatgaaa gtaataata 60
ccagactgtg ccttgaggga actcaacctct gctaagggaa acaggcacag aaaccacaa 120
gggtggtaga gaggaatatg gacaatagga ctgtgtgagg gggataggag gcaccagag 180
gaggaatatg ttacatctgt gtgaggaggt tggtaaggaa agactttaat agaaggggtc 240
tgtctggctg gcttgcgaag gatgtgtagg agtcatctag ggggcaaacg tacactccag 300
gcagagggaa ttgcatgagt aaagatctgc agttgtggct tgtgggatg gatttcaagt 360
atcttggaat gaagacagcc atggaaacaa gggcaggtag gaggatatt aagaggttc 420
atgccaatgg ctccacttca gtttctgata agaactcagg ttccgtggac tccctgata 480
aactgatata gttgtttatg attcccata gaalatgaac tcaagaggag taagcaaaag 540
gggtggtaga gaggaatatg gacaatagga ctgtgtgagg gggataggag gcaccagag 600
aaacatttca gcagcttgac ctaagactgc tgtgcagggc agggatgctc caggcagaca 660
gccacgcaa caacagcaca cagctgaaag taagactcag aggagacagt tgaagaaggc 720
aagtggcgat ggacotcatic ccaaatttgg cggtggaac ctggttctc ctggctgtca 780
gcctggtgct cctctatctg tcaagtaactg tccagattcc tctcctctg 830

```

<210> 117

WO 02/053775

19/47

PCT/EP01/15290

<211> 775
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 117
ggagtgacct gattttccag gtgctgtctg tcaccccttt ctttgactag gaaagggaac 60
tccttgacc cttgggcttc tcaagtgagg caatgcctcg cctgcttcg gcttgtgac 120
agcactgtgc acccactgtc ctgaccccaac tgtctggcac tcctagtgga gatgaaccg 180
gtacctcaga tgaaatgca gaaatcaccg gtcttctgtg tcaactcacc tgggagctgt 240
agaccggagc tgttcttatt cggccatctt ggctccaccc ccagagtttt ggctttaa 300
tgaaglgta ttgatgtgg agggagata tgcctatgat ttatgagcac atattagagg 360
gtctgagaca atcctatgta taaaaggta cctaaaggag aaaaaagac caagggaa 420
cactggaag aacgtgatg tggagtcctc tgggccacca aagctggag aaaaagtga 480
accacaagg tcccagccta gtttcaactg agactctgac actaggtgac ttatgggac 540
cttgtagga caagccttga aaagtthtac aatgcaaat gtggaggtg tcagaacca 600
atgatgtcac gtgtgtattt gtgtgtgtgt gtcagtgtgt gtgttanaa atcatgaca 660
ataaagcag ctgtgagag gggattccca tgcctgtgtg cctgataaca caactatca 720
aaacgctttg cgaaccaca agtltgcaca aaggcaatcc caaactaca caaaa 775

<210> 118
<211> 1110
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 118
taatgaaat aagaattatt ttgatggctc taacagtgac atttatatca tctgttttat 60
ctggagcatt ctataataag ttatattaa gcaaatcaat aaaaacctct tcaaaaagta 120
tcactggata ctttctgaa cattaaggag aaatctatag aactgaatga atgagaacca 180
acaagtaaat atatgtgac atgttaacca ttgtttgtgt ggggcatttg tcagaactcc 240
aatgtgatta ttaacatagg tgagaattaa tccactgtga ctttgcccat tgccttagaa 300
gaacatccat agtttaatta tgcctttttt gaccaagcac agtgctcat gcctgtaac 360
ccagactctt gggaggccga ggtgggtgga tcaactgagg tcaggagttc gagaccagcc 420
tgaccaacat ggtgaaacc catctctact aaaaatacaa aaattagctc ggtgtgggtg 480
tatgcaacta taatctcagc taccaggag gctgaggcag gagaatcaat tgaacctgga 540
ggcagaggtt gcaagtgacc gagacacacc atcacactcc agcctgggtg acagagtgag 600
atccatctc aaaaaaaaa aaaaaaatt atgccttttt gaagcaata cttttataa 660
cacaacactg aatcccttat tatattatta gttttgattt aatgtttca aaccatctcc 720
cctgatattt ctgggagatg ggaacatgt tttcttacac ctcttcatt ccattctca 780
ctccaactg tcttactgca atgaacactt aataagaac agtcaattg tcaattgatt 840
gggcaacag ctaaacacac tcatctctg tctgttccca cttcttctt taacttccct 900
tctctagtaa cttatcccaa agtcattagg tgggtggcag ccagatgggt gccacacatt 960
aaggtagaaa agagagltc atgatggttc caagtccag acctagtagg gtgaggatca 1020
agtaggtgtt cacgtggaga aacagcccg cctgtgtgtg ggagtccaag caagcagaga 1080
aaatgtcgac acagaggggt gccctgaaaa 1110

<210> 119
<211> 837
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 119
caaaaattag ctagggtggtg tggatgac ctataatctc agctaaccag gaggctgagg 60
caggagaatc acttgaacct gtaggcagag gttgcagtga gccgagacc accattacac 120
tccgcctggt gtagcaggt gagatccat ctcaaaaaa aaaaaaaaaa attatgcttt 180
ttgagcac atacattta taacatacaa ctgaatccct tattatatta ttatgttga 240
tttaatgtht tcaaacctc tcccctgaba ttctgggag atgggaaca tgtttctba 300
caactcttc atctctctc caactccaa ctgtcttact gcaatgaaca cttataaga 360
aacagtcaat tggtaattg atgggcaac aggcataaca caactctcc ttgtctgttc 420
ccactcttt ctttacttcc ccttctlgag taacttatcc taaagtcaat agtgggtg 480
cagccagatg gtggccacac attaaggtag aaaaagagt gtcattgatg ttccaagta 540
gagactagt agggtaggga tcaagtaggt gttcaogtgg aaaaacagcc cggcctgtgt 600

WO 02/053775

20/47

PCT/EP01/15290

```

atggggatgcc agcaagcagc agaaaatgtc gacacagagg ggtggcctga aaaaacagcc 600
agagcctaaa cagggcatgg agaacaattt tagggcatga ggtgaggagg gcatccatga 720
gtgggaaggg atgggtgagg ttctactaca taaaggggat tgatgaaata agtaaataaa 780
gtatactgga agccagtggt gtcacttttg cagaaaagag tcatggattc agaaagg 837

```

```

<210> 120
<211> 1197
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

```

<400> 120
ttttttttt actttccctt cctgagtaac ttatcctaaa gtcattaggt gggctggcagc 60
cagatggtgg ccacacatta aggtagaaaa gagagtgtca tgatggttcc aagtcagaga 120
cctagtaggg tgaggtatcaa gtagggtgtc acgtgggaaa acagcccggc ctgtgtgtgg 180
gggtccaaagc aagcagagaa aatgtcgaca cagaggggtg gcctgaaaaa gcagccagag 240
cctaaaacagg gcalggagaa catatttagg ccatgaggty aggagggcat ccatgagtyg 300
gaagggatgg gtgaggtttc actacataaa ggggatgtat gaaataagta aataaagtat 360
actggaagcc aggtgtgtca cttttgcaga aaagagtcac ggaatcagaa agggagaaaa 420
ctagcaggaa tccatgaaa ttgatataaa atggatgtat ccacgabat tcatccctct 480
ctagatagat aatgggttag atagtgataa aaaagataac aagagacaaa gataattaga 540
tagacataaa tgtatgtatg tgtttgtgtg tgtgtacaaa aaaacatata cctccactct 600
ctctcaactg atagggctag gtaacaatgg calttcaata caaatgagca caettagtgy 660
ccagatcttg gcttattaat accattttcc actgaaagga accagagctt tttagagaaa 720
tggctgattc cagggccagg attaagaatg ttcaagataa gcctaggata cttttgtgct 780
cagaaagcaa gaagatgttc aaatgatctc caagtaatgt ttggaatga tattttgaaa 840
tgatttccaa atgatatttc caaatgattt ccaaatgata tatggaaaca cttaaaagct 900
ccactaaaag actatttagat ctgataaaca aattcagtaa tgttctgtga tacaanaatca 960
acatacaaaa accagtagca tttctgcatg ccaacagtga acbatctggc aaaaaataaa 1020
aatgtaatcc catttacaat aaccccaaat aaaactaaat accctgggaat taacttaaga 1080
gaaagatgtc tacaattaat attgtaaac actgatgaag gaaattgaag aagacacaaa 1140
aaagaaggat attccatggt tatatattgt aagcattaat attgttaaaa atgtcca 1197

```

```

<210> 121
<211> 817
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

```

<400> 121
caagcaaaa atggacaaat ggatcagatc aagttaaaaa gcttctgtac cacaaagaaa 60
gcaatcaaca aagtgaagac acaaacacac gaatgggaga aaatattttc aaagtcacac 120
tctgacaaca gattaatagc cagaatacat gaagcgtca aacaactctg taaggaaaaa 180
tctaataatc caatcaaaaa atgggcaaaa ttgaaataga catttttcaa aagaagacat 240
acaaaagcca calaggcata tgataaggtg ctcaacatca ctggtcaltg gagaaatgca 300
aatcaaaaac caaatgagat atcatctcac cccagctaaa atggttttta tccaaaagac 360
aggcaacaac aaatgccagc gagaatgagg agaaaagggg acccttgtac actgttggg 420
taaatattag gctaccacaa tatccagaaa tccccatgct ggytatatac ctggagaaaa 540
ggaatcata tattgaagag ataacatcac tccaatattc acaatagcca ctattcacia 600
atgccaagat ttggaagcaa cctaagtytc catcaacaga tgaatggata aagaaagtac 660
tccaattata cacaatggag cacaattcag ccatgaaaaa agcaatgagat cctgttatct 720
gtaataatag gcatggaact ggaggtcacc atgttaagty aaataagcca ggcacagaaa 780
cacagatatt gcaagttctc acatacttgt gggatct 817

```

```

<210> 122
<211> 1126
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

```

<400> 122
cattaataat aacattaat agagctacca caatatccag aaatcccaat gctgggtata 60

```

WO 02/053775

21/47

PCT/EP01/15290

```

tacctggaag aaaggaatc atatattgaa gagataacat cactcccaata ccccaactay 120
ccactattca caaatgcoaa gatttggag caacctaaat gtccatcaac agatgaatg 180
ataaagaag tctccaatt atacacaatg gagcacaatt cagccatgaa aaaagcatg 240
gacctgtta tctgcaataa tatggatgga actggaggtc atcatgttaa gcaaatcaag 300
ccaggcacag aaacacagat atggcaagtt ctcacatact tgtgggatct acaaatcaaa 360
acaaactgagc taatgtctgg gecttagtca gtgtgtacc caagtagctg gagcacagct 420
tttaaatbc atcatgaag ctttaabca ggaatgaata gatgagaggc acaactggt 480
tgggtgtct tctgatacag agtatctcc ttgacagatt cagtacaact ctcaacaggt 540
aagtctctc atggtatgtt accttatgag gaabtaagtg ccagaacaat atttctatta 600
tttctcttg cagaacaga ccaactttat tagttggagc acagtgtggc tgcatttgag 660
tcccaagcaa ccattagtct atagctatca ccaacaggtc agaggggatg agcgcocag 720
caatctcacc caagacaact ccaccaacat tctgtgttac ccaccatgtg tacagtacc 780
tgcagggaac cagggtcatg aaagtaata ataccagact gtgcoctga gagctcacc 840
ctgtctaagc gaaacagcca tagaaacta caatggtggt agagagaaa gaggacaata 900
ggactgttg aggggatag gaggcaccca gaggagaaa tggttacat tgttgagga 960
ggttggttaag gaaaaatbt agcagaagg gtctgtctg ctggcttg aggatagct 1020
agggctcctc tagagggcac agttacactc caggcagag gaattctg ggtaaagat 1080
tgtagggtg gotttgagg atggattca attattctag aatgaa 1120

```

```

<210> 123
<211> 624
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

```

<400> 123
gattaagctt ttcattgattc ctcatagaac atgaactcaa aagaggtoag caaaggggtg 60
tggcgattc ttgtctattg gctgcagcta tagccctgcc tccttctcca gcacataaat 120
cttccagcag ctggctgaa gactgctgtg cagggcagag aagctccagg caaacagccc 180
agcaaacagc agcaactcagc taaaaggaag actccagaaa cacagttgaa gaaggaaagt 240
ggcgatggac ctcatcccaa atttggcgtt ggaaccttgg cttctctctg ctgtcagcct 300
ggtgtctctc tatctgtgag taactgtcca aactctctctc tttgttctct tggacttggc 360
gtgctaabtg gcccctttt ccttatctg tttgaagat caaaagagat gttcaaggag 420
aagttagctga agtgttggac gctacaacag catagaagtt attattatct tatgcagatc 480
tatgaatgaa taaataagca tttctcccat ccaccttcta attttggta ctaggaggtt 540
ttagggcagc catttggtag tgggaatgat ttgattagct tagatctgac gaagactaat 600
caatgaaac atggcagcgg caga 624

```

```

<210> 124
<211> 624
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

```

<400> 124
gattaagctt ttcattgattc ctcatagaac atgaactcaa aagaggtoag caaaggggtg 60
tggcgattc ttgtctattg gctgcagcta tagccctgcc tccttctcca gcacataaat 120
cttccagcag ctggctgaa gactgctgtg cagggcagag aagctccagg caaacagccc 180
agcaaacagc agcaactcagc taaaaggaag actccagaaa cacagttgaa gaaggaaagt 240
ggcgatggac ctcatcccaa atttggcgtt ggaaccttgg cttctctctg ctgtcagcct 300
ggtgtctctc tatctgtgag taactgtcca aactctctctc tttgttctct tggacttggc 360
gtgctaabtg gcccctttt ccttatctg tttgaagat caaaagagat gttcaaggag 420
aagttagctga agtgttggac gctacaacag catagaagtt attattatct tatgcagatc 480
tatgaatgaa taaataagca tttctcccat ccaccttcta attttggta ctaggaggtt 540
ttagggcagc catttggtag tgggaatgat ttgattagct tagatctgac gaagactaat 600
caatgaaac atggcagcgg caga 624

```

```

<210> 125
<211> 621
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

WO 02/053775

22/47

PCT/EP01/15290

```

<400> 125
gattaagcctt ttcctgattc ctcatagaac atgaactcoa aagaggtcag caaaggggtg 60
tggcgatttc ttgctattg gctgcagcta tagccctgcc tccttctcca gcacataaat 120
ctttcagcag cttggctgaa gactgctgtg cagggcaggg aagctccagg caaacaagccc 180
agcaaacagc agcactcagc taaaaggaag actcacagaa cacagttgaa gaaggaagt 240
gggatggac ctatcccaa atttggcggg ggaacacctg ctctctctgg ctgtcagct 300
gtgtctctc tatctgtggg taactgtcaa aactcctctc ttctctctct tggacttggg 360
gtgttaatcg gcccctttt ccttatactg ttttgaagat caaagagat gttcaagaag 420
tagctgaagt gttgacgct acaaacgcat agaagttatt atatatat gcagatctat 480
gaatgataa ataacatctt ctccatcca ccttctaatt ttggtgacta gtaggttta 540
gggacagcat ttggtagtgg gaatgattg attagcttag atctgacgaa gactaatcaa 600
tgaaacatg gcagcggcag a 621

```

```

<210> 126
<211> 465
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

```

<400> 126
aggaaaggac ctgatgagt aatgcaatta ctgatgttg agttgctgtt attatttacc 60
gtgtacatat tacctcctc tcttgaccat tccagttctt gactaactca ccagccctct 120
gactataaaa gtcaacaatc ctgtgacctg attctctgtt cactttgtag atatgggacc 180
cgtacatagt ggacttttta agagactggg aattccaggg cccacacctc tgcctttgtt 240
gggaatgtt ttgtcctatc gtcaggtgag ttgcttgagc ttctctttt gcttcttatg 300
gttgcaaac tcaagcttag tccatcagta aaaatcccc tccttgggg gtagttctga 360
ggttcaacat ttccagaat ggtgggactg ggtgcagttg atcatgctg taatctcagc 420
ctctgtgagg ccaagactgg caaattgctt gagcccagga gtttg 465

```

```

<210> 127
<211> 33
<212> PRT
<213> Homo sapiens

```

```

<400> 127
Met Asp Leu Ile Pro Asn Leu Ala Val Glu Thr Tyr Leu Leu Leu Ala
1 5 10 15
Val Ser Leu Val Leu Leu Tyr Leu Tyr Gly Thr Arg Thr Tyr Gly Thr
20 25 30
Phe

```

```

<210> 128
<211> 602
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

```

<400> 128
catagacaag ggtgagtcct tcaagtacta gaganaattc aagagtgaact ttaaattccc 60
cacttcaaat atattctctg ttttcttctg ttcccttaa gacatctctg aatagcttcc 120
ttcaactgcc agtgaagat agtaggcctg atttcatctg acgcaactgt ttccagccc 180
aattagaggt agggtttatt ctatttaaaa taataaaoaa ctgtatttt gttctctc 240
ccaggtctc tggaaatttg acacagagt ctataaaaag tatgaaaaa tgggggggtg 300
agtattctga aaacctccat tggatagacc tgcactctgt aggagttac ccaactcag 360
gatagctctc gcccggtct tcatgggatg aagctctgt caacctaat caaacagag 420
agaggttctc tgaagaaga ggataattac ttgggagtag aatattgcaa tgggaatctg 480
ctgcccgtta taaactatgt gcaaatcag ggagtaaac aagacaaaga tgcctcatag 540
aaaatatgag aagaatctca taactgtttt gagataatta ttgtagcta caaagatcaa 600
ta 602

```

WO 02/053775

23/47

PCT/EP01/15290

<210> 129
<211> 594
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 129
cagtatctct tccttggttg gaccacatta ccttcatca tatgaagcct tgggtggctc 60
ctgtgtgaga ctcttgctgt gtgtcacacc ctaatgaact agaacctaaag gttgctgtgt 120
gtcgtacaac taggggtatg gattacataa cataatgac aaagtctggc ttctgggtg 180
tggctccagc tgcagaatcg ggttagttaa gtttaacag ctctgttgc cccacacaga 240
acgtatgaag gtcaactccc tgtctggcc atcacagatc cgcagtgat cagaacagt 300
ctagtgaag aatgttattc tgtcttccca aatcgaagg taagcatcca tttttgaaa 360
tttaataat gattgatcca ctgattaaat ttttattttg aaaaaaacat atattcacag 420
aaggttacct aaaaaatgta caggaaggtt ccatgtactc ttcacctctg cccgccagt 480
ggtaacatct tgcactcttg tatattgcaa tatatata gtatattcat attatcagg 540
tggcacaaaa gttaaaatgg caaactacag gctgggcata atggctcatg cctg 594

<210> 130
<211> 594
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 130
cagtatctct tccttggttg gaccacatta ccttcatca tatgaagcct tgggtggctc 60
ctgtgtgaga ctcttgctgt gtgtcacacc ctaatgaact agaacctaaag gttgctgtgt 120
gtcgtacaac taggggtatg gattacataa cataatgac aaagtctggc ttctgggtg 180
tggctccagc tgcagaatcg ggttagttaa gtttaacag ctctgttgc cccacacaga 240
acgtatgaag gtcaactccc tgtctggcc atcacagatc cgcagtgat cagaacagt 300
ctagtgaag aatgttattc tgtcttccca aatcgaagg taagcatcca tttttgaaa 360
tttaataat gattgatcca ctgattaaat ttttattttg aaaaaaacat atattcacag 420
aaggttacct aaaaaatgta caggaaggtt ccatgtactc ttcacctctg cccgccagt 480
ggtaacatct tgcactcttg tatattgcaa tatatata gtatattcat attatcagg 540
tggcacaaaa gttaaaatgg caaactacag gctgggcata atggctcatg cctg 594

<210> 131
<211> 594
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 131
cagtatctct tccttggttg gaccacatta ccttcatca tatgaagcct tgggtggctc 60
ctgtgtgaga ctcttgctgt gtgtcacacc ctaatgaact agaacctaaag gttgctgtgt 120
gtcgtacaac taggggtatg gattacataa cataatgac aaagtctggc ttctgggtg 180
tggctccagc tgcagaatcg ggttagttaa gtttaacag ctctgttgc cccacacaga 240
acgtatgaag gtcaactccc tgtctggcc atcacagatc cgcagtgat cagaacagt 300
ctagtgaag aatgttatta tgtcttccca aatcgaagg taagcatcca tttttgaaa 360
tttaataat gattgatcca ctgattaaat ttttattttg aaaaaaacat atattcacag 420
aaggttacct aaaaaatgta caggaaggtt ccatgtactc ttcacctctg cccgccagt 480
ggtaacatct tgcactcttg tatattgcaa tatatata gtatattcat attatcagg 540
tggcacaaaa gttaaaatgg caaactacag gctgggcata atggctcatg cctg 594

<210> 132
<211> 60
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 132
Met Trp Gly Thr Tyr Glu Gly Gln Leu Pro Val Leu Ala Ile Thr Asp

WO 02/053775

25/47

PCT/EP01/15290

```

tgcobgccat ggaatgcgaca gtgcactgt tgggttactc cagtgaccag cccaaagcag 500
ggcagggctg caactccaaa gagccacctc agagggagtg gctcccctga ggcggcaagt 540
cagcaaggga aaagggcctt ctctcctgtg cacaggagcc aggatttact tatctgttaa 600
ctt 603

```

<210> 136
 <211> 626
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

```

<400> 136
attggacatg atagctagat ttgtttcag aaaaacatcct gctttccaag gatttagatg 60
aatgtttttg ttcactgggt actcaggtaa cagctcttca agaagccata gggaggttga 120
gggaggggag tcgtcaagaa gggaggttga ggaactcact ttgatttac ttctgatttc 180
acgagctcact ttctgccaaa gaaatctctc cttttgtctc tagcaccgac tagatttctc 240
tcagctgatg attgactccc agaattcgaa agaaaactgag tcccacaag gtaaccaagg 300
agtgctttctg agggctactg gcggggacac taagaggagag ggcctgttct tgaaaatgtg 360
caggaagtat tccaggaaga tgagaatttt tgccacatag cagaacaaca cacatttaga 420
tgtataaat ggtagctgga ggcactttcc agaaagccac aggtatagcc atgttccag 480
ctgaaagggc aaccctaagc aaacctagaa tgcttggag acagtcagtg gtttggatg 540
cacctacatg agatcaaatg ccagttctca gcttcctcca gatcccaca gtgagaacct 600
ctacttggaa atttatatca aacata 626

```

<210> 137
 <211> 623
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

```

<400> 137
attggacatg atagctagat ttgtttcag aaaaacatcct gctttccaag gatttagatg 60
aatgtttttg ttcactgggt actcaggtaa cagctcttca agaagccata gggaggttga 120
gggaggggag tcagaaaggg aggttgagga ctgcactttt gatttacttc tgacttcaag 180
agtcaclttc tgccaaagaa atctctcctt ttgttcttag caccagactg atttcttca 240
gctgatgatt gactcccaga attogaagaa aactgagctc cacaagagta accaaggagt 300
gctttgagtg gctactggcg gggacactaa gaggggaggg cttgttctga aaatgtcag 360
gaattatccc aggsagatga gaatttttgc cacatagcag acaaacacac atttagatgt 420
tataaalggt agctggagcg actttccaga agcccacagg tatagccatg ttccaggctg 480
aaagggcaac cctaagcaaa cctagaaatg ttggaggaca gtcagtggt ttgtgatcac 540
ctacatgaga tcaaatgcca gttctcagcc tcttccagat ccaccaagtg agaacctca 600
cttggaaatt tatatcaaac ata 623

```

<210> 138
 <211> 826
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

```

<400> 138
agataaagta cttttaggat cattoaggc acacnccat aacactgagt atgtaagaca 60
gaaatgctct ctctggaaat taacgcagtg ctgggtctgg gatgccatga tgaggagtgt 120
gtgcccaca atcatgtaga ccttgggaaa aacctgatga aatgatattt gcgtcatcct 180
ggcctgtat aagatacata tcagaaatgaa aaccactccc agtgtgactt tgaattgctt 240
ttccattttt tctcttggg attagagaac ttactctaga ttccatctaa gctgtgatgt 300
tgtacgttga cctgatttac ctaaaaatg tttctctccc ttcaagctct gctgatctg 360
gagctgcag cccagtcgat aatctcatt ttgtctgctc atgaaaccc cagcagtggt 420
ctttccttca ctttatatga actggccact caccctgatg tccagcagaa actgcaaaag 480
gagattgatg cagttttgoc caataaggtg aggggatgac cctgggatg gaagggaaga 540
gggaaagcct tagcaaaaat gcctctcac cactcccag gagaattttt ataaaaagca 600
taatcactga ttctctcact gacataatgt aggaagcctc tgaggagaaa acaaaaagga 660
gaaacataga gaacggttgc tactggcaga agcataagat ctttgtacaa tattgctggc 720
cctggttcaac ctgtttactg ttatccaat aatgctaagt aaaaaaaaa aaaaaaaaa 780

```

WO 02/053775

26/47

PCT/EP01/15290

aaaaaaaa aggagtgagg cgagaagatg gccaaacagg aacage

uuu

<210> 139
<211> 795
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 139
gtccctgggg tgaggatggt ctggaatate tctacatc ataactctc cacacatctc 60
agtaggtcac tgagcacatc aatggacatg ccagttatta aaatactca cgaatactat 120
gatcatttac cagtatgagt tattctctgg agcttctaact acttcagttag tactgcatgg 180
actcagttga gegttaattc aaaatctcag attatccaat tctgtttctt tctctccagg 240
caccacctac ctatgatgcc gtggtacaga tggagtacct tgacatgggt gtgaatgaaa 300
cactcagatt attcccagtt gctattagac ttggaggagc ttgcaagaaa gatgttgaaa 360
tcaatggggt attcattccc aaagggtcaa tgggtgggat tccaacttat gctcttcacc 420
atgaccocaaa gtactggaca gagcctgagg agttccgcc ttgaaaggtag agtctccag 480
ggaaatgggg ctaccctcga ccagcctgg ttcaagcata ttctgctctt cttaactctac 540
atgacaatcg tgggtgtgta caatcatttg ctgttaagtc tttttatcac aaaaagtga 600
taattatcaa actttacaaa ccacagacta gaaaaaacga aactacatcc atcccagtc 660
ccagcacag acaaaagataa tcaattatgt cctgtggggc atttttctac gccatatag 720
atttttaaaa attagaatgg taccactttt tatttgggtt gaattgctgc ttacttgatt 780
taacaggaaa ctatc 795

<210> 140
<211> 796
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 140
gtccctgggg tgaggatggt ctggaatate tctacatc ataactctc cacacatctc 60
agtaggtcac tgagcacatc aatggacatg ccagttatta aaatactca cgaatactat 120
gatcatttac cagtatgagt tattctctgg agcttctaact acttcagttag tactgcatgg 180
actcagttga gegttaattc aaaatctcag attatccaat tctgtttctt tctctccagg 240
caccacctca cctatgatgc cytggtacag atggagtacc ttgacatggt ggtgaatgaa 300
acactcagat tattcccagt tgcatttaga cttgagagga ctgcaagaaa agatgttga 360
atcaatgggg tattcattcc caaagggtca atgtgggtga ttccaactta tgcctctcac 420
cattgaccocaa agtactggac agagcctgag gagttccgcc ctgaaaggta caagtctca 480
ggaaatgggg gttcactggc acccagcctg gttcaagcat attctgcctc tcttaactca 540
cattgacatc ggtgtgtgtt acatcattt gcttgaagt cttttatca caaaaagtga 600
ataattatca aactttacaa accacagact agaaaaaacg aaactacatc catccacagt 660
cccagocaaa gacaaagata atcaattatg tccctgtggg catttttota cgcctatata 720
gatttttaaa aattagaatg gtatcacttt ttatttgggt tgaattgctg ctacttgat 780
ttaacaggaa actatc 796

<210> 141
<211> 59
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 141
Ala Leu Ser Asp Leu Glu Leu Ala Ala Gln Ser Ile Ile Phe Ile Phe
1 5 10 15
Ala Gly Tyr Glu Thr Thr Ser Ser Val Leu Ser Phe Thr Leu Tyr Glu
20 25 30
Leu Ala Thr His Pro Asp Val Gln Gln Lys Leu Gln Lys Glu Ile Asp
35 40 45
Ala Val Leu Pro Asn Lys Ala Pro Pro Tyr Leu

WO 02/053775

27/47

PCT/EP01/15290

50

55

<210> 142
 <211> 795
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 142
 gtccctgggg tgggatggg ctggaatgc tctacatgc ataactctc cacacatgc 60
 agtagtccac tgggcaatc aatggacatg ccagtkatta aaatactca cgaatactat 120
 galkaatctac cagratgagt tattctctgg agcttctaat aactcaatag tactgcatgg 180
 actcagttga gaggtaattc aaatctcag attatccaat tctgtttctc tctctccagg 240
 caaccactac ctatgatgcc gtgttacaga tggagtacct tgacatgggt gtgaatgaaa 300
 cahtcagatt attccagtt gctattagac ttgagaggac ttgcaagaaa gatgttgaaa 360
 tcaatggggt atccattccc aaaggtcaa tgggtgggat tccaacttat gctctccacc 420
 atgacccaaa gtactggaca gagcctgagg agttccgccc tgaagggtac aagtctccag 480
 ggaatggagg ctcaacctga cccagcctgg tccaagcata ttctgctctc cttaactac 540
 atgacaatcg tgggttgta caatcattg ctgttaagtc tttttatcac aaaaaagtg 600
 taatatacaa actttacaaa cacagacta gaaaaacga aattacatcc atccacagtc 660
 ccagcacaag acaagataa tcaattatgt cctgtgggc atttttctac gcctatag 720
 attttaaaa attagaatgg tatcactttt tatttggtt gaattgctgc ttacttgalt 780
 taacagaaa ctatc 795

<210> 143
 <211> 616
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 143
 caggcctggc acagagtcag tctccataa atattttgtt aaacgatga tggtagtgc 60
 ttttactatc cagtatttac ccagcttata gattaagtat gaagagtca agatacatgg 120
 tgttaagagt cgtttttata tgcctgcaaa gcatttttgt catatttttt ctactttgct 180
 tccatctttt ctcttttcc ttcatttatt aattctccat atgcttggtt aactattgta 240
 gatccctttg aaattagaca cgcaggact tcttcaacca gaaaaacca ttgtctaaa 300
 ggtggattca agagatggaa ccctaagtg agaatgatt attctaagga ctctacttt 360
 ggtcttcaag aaagctgtgc ccagaacac cagagattc aacttagtca ataaaacct 420
 gaaataaaga tgggcttaat ctaatgtact gcctgagtag ttggtgatt tctacattca 480
 ttgagctctc ccagagtcgt tgtagatgt tctgattat gtatataaa gtaggtgacc 540
 agtlaagtga cagataggtg gactcagctt ctctgcttct cataggacta cctctacca 600
 cctctagtta gcatta 616

<210> 144
 <211> 1508
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 144
 ccattgctct gttattaga gttttctgg tctctctca tctatatgg acccgtaac 60
 atggactttt taagagactg ggaattccag ggcccaaac tctgctttg ttgggaatg 120
 lttttctcta tctgtagggt ctctggaatc ttgacacaga gtgctataa aagtatgaa 180
 aaatgtgggg aacttatgaa ggtcaactcc ctglctggc catccagat cccgactga 240
 tcaagacagt gctatgaaa gaatgttatt ctgtcttcc aaatcgagg tcttttagcc 300
 cagtgaggatt tatgaaaagt gccatctctt tagctgagga tgaagaatgg aagagaatc 360
 ggtcattgct gtctccaaac ttcaaccagc gaaaactcaa gtagatgttc cccatcatg 420
 ccaagtatgg agatgtattg gtgagaaact tgaggcggga agcagagaaa gccaagcctg 480
 tcaacttgaa agactctctt ggggctaca gcattgatgt gattactggc acatcattg 540
 gagtgaacat cgaactctctc aacaatccac aagaccctt tgtggagagc actaagaag 600
 tcttaaaatt tggttctcta gatccattat tctctcaat aatactctt ccattctta 660
 cccagtttt tgaagcatta aatgtctctc tgtttccaaa agataccata aatttttta 720
 gtaaatctgt aaacagaatg aagaaaagtc gctcaacga caaacaagg caccgactag 780

WO 02/053775

28/47

PCT/EP01/15290

```

atttcttca gctgatgatt gactcccaga attcgaaga aactgagtc cacaaaagtc 840
tgtctgatct ggagctcgca gccagtcaca taatcttcat ttttgcctgc tatgaaacca 900
ccagcaggtt tctttctctc actttatatt aactggccac tcacctgat gtcagcaga 960
aactgcaaaa ggagattgat gcagtttgc ccaataaggc accacctacc tatgatgccy 1020
tggtacagat ggagtaoctt gcaatgttg ccaatgaac accctagata ttccagittg 1080
ctattagact tgagaggact tgcaagaag atgttgaat caatgggta ttcaatpcca 1140
aaggtcaat gttggtgatt ccaacttatg ctcttaacca tgaccocaaq bactggcacg 1200
agcttgaggg gttcgcctct gaaagttca gbaagaaga ggacagcata gatcttaca 1260
tatcaaacac ctttggactt ggaaccagaa actgcattgg catgaggttt gctctcatga 1320
acatgaaact tgcctaatc agagtccttc agaactctct ctccaacct tgtaaagaaa 1380
cacagatccc ctgaaatta gacagcnaag gaettcttca accagaaaa cccattgttc 1440
taangtggg tccaagagat gaaacctaa gtggagaaca tcaccatca cactactgag 1500
atctgcag 1508

```

```

<210> 145
<211> 60
<212> PRT
<213> Homo sapiens

```

```

<400> 145
Pro Val Ala Ile Arg Leu Glu Arg Thr Cys Lys Lys Asp Val Glu Ile
1 5 10 15
Asn Gly Val Phe Ile Pro Lys Gly Ser Met Val Val Ile Pro Asn Tyr
20 25 30
Ala Leu His His Asp Pro Lys Tyr Trp Thr Glu Pro Glu Glu Phe Arg
35 40 45
Pro Glu Arg Phe Ser Lys Lys Lys Asp Ser Ile Asp
50 55 60

```

```

<210> 146
<211> 11
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

```

<400> 146
tttcagtatc t 11

```

```

<210> 147
<211> 11
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

```

<400> 147
tttcaatata t 11

```

```

<210> 148
<211> 11
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

```

<400> 148
tttaatagaa g 11

```

```

<210> 149
<211> 11

```

WO 02/053775	29/47	PCT/EP01/15290
<212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 149 ttaaacagaa g		11
<210> 150 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 150 attccccata g		11
<210> 151 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 151 attcctcata g		11
<210> 152 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 152 tagaatatga a		11
<210> 153 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 153 tagaacatga a		11
<210> 154 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 154 gtaacttata c		11
<210> 155 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 155 gtaacgtata c		11
<210> 156 <211> 11		

WO 02/053775	30/47	PCT/EP01/15290
<212> DNA		
<213> Homo sapiens		
<400> 156		
ttcacgtgga g		11
<210> 157		
<211> 11		
<212> DNA		
<213> Homo sapiens		
<400> 157		
ttcacatgga g		11
<210> 158		
<211> 11		
<212> DNA		
<213> Homo sapiens		
<400> 158		
tggacgcaac t		11
<210> 159		
<211> 11		
<212> DNA		
<213> Homo sapiens		
<400> 159		
tggacacaac t		11
<210> 160		
<211> 11		
<212> DNA		
<213> Homo sapiens		
<400> 160		
gaggataatt a		11
<210> 161		
<211> 11		
<212> DNA		
<213> Homo sapiens		
<400> 161		
gaggaaaatt a		11
<210> 162		
<211> 11		
<212> DNA		
<213> Homo sapiens		
<400> 162		
catcattgcc c		11
<210> 163		
<211> 11		

WO 02/053775	31/47	PCT/EP01/15290
<212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 163 catcactgcc c		11
<210> 164 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 164 cagtcgcact g		11
<210> 165 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 165 cagtcacact g		11
<210> 166 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 166 actaagaagt t		11
<210> 167 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 167 actaaaaagt t		11
<210> 168 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 168 gatccattat t		11
<210> 169 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 169 gatccgttat t		11
<210> 170 <211> 11		

WO 02/053775	32/47	PCT/EP01/15290
<212> DNA		
<213> Homo sapiens		
<400> 170		
caattccatt g		11
<210> 171		
<211> 11		
<212> DNA		
<213> Homo sapiens		
<400> 171		
caatbtccatt g		11
<210> 172		
<211> 11		
<212> DNA		
<213> Homo sapiens		
<400> 172		
tgccaatcta g		11
<210> 173		
<211> 11		
<212> DNA		
<213> Homo sapiens		
<400> 173		
tgccagtcta g		11
<210> 174		
<211> 11		
<212> DNA		
<213> Homo sapiens		
<400> 174		
ttgtttgttt t		11
<210> 175		
<211> 11		
<212> DNA		
<213> Homo sapiens		
<400> 175		
ttgttcgttt t		11
<210> 176		
<211> 11		
<212> DNA		
<213> Homo sapiens		
<400> 176		
aaataaagaa g		11
<210> 177		
<211> 11		

WO 02/053775	33/47	PCT/EP01/15290
<212> DNA		
<213> Homo sapiens		
<400> 177		
aaatacagaa g		11
<210> 178		
<211> 11		
<212> DNA		
<213> Homo sapiens		
<400> 178		
tttgcgtcat c		11
<210> 179		
<211> 11		
<212> DNA		
<213> Homo sapiens		
<400> 179		
tttgcacat c		11
<210> 180		
<211> 11		
<212> DNA		
<213> Homo sapiens		
<400> 180		
ttgacctgat t		11
<210> 181		
<211> 11		
<212> DNA		
<213> Homo sapiens		
<400> 181		
ttgacttgat t		11
<210> 182		
<211> 11		
<212> DNA		
<213> Homo sapiens		
<400> 182		
tattgtagat c		11
<210> 183		
<211> 11		
<212> DNA		
<213> Homo sapiens		
<400> 183		
tattgcagat c		11
<210> 184		
<211> 11		

WO 02/053775	34/47	PCT/EP01/15290
<212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 184 ccttttccct t		11
<210> 185 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 185 ccttttccct t		11
<210> 186 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 186 cttatgcaga t		11
<210> 187 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 187 cttatacaga t		11
<210> 188 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 188 aatacggcca t		11
<210> 189 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 189 aatacagtca t		11
<210> 190 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 190 ggaggatga a		11
<210> 191 <211> 11		

WO 02/053775	35/47	PCT/EP01/15290
<212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 191 ggaggcatga a		11
<210> 192 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 192 agtccgtttc c		11
<210> 193 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 193 agtccatttc c		11
<210> 194 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 194 tctgccaag a		11
<210> 195 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 195 tctgcaag a		11
<210> 196 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 196 accattggt c		11
<210> 197 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 197 accactggt c		11
<210> 198 <211> 11		

WO 02/053775	36/47	PCT/EP01/15290
<212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 198 gctactggct g		11
<210> 199 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 199 gctaccggct g		11
<210> 200 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 200 gaaatcaccg g		11
<210> 201 <211> 11 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 201 gaaattaccg g		11
<210> 202 <211> 33 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 202 gctctactgt catttctaac cataatctct tta		33
<210> 203 <211> 27 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 203 gctctatag atgaaggta atgtggt		27
<210> 204 <211> 18 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 204 tgtctttcag tatctctt		18
<210> 205 <211> 19		

WO 02/053775

37/47

PCT/EP01/15290

<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 205
tgcctttcaa tatcbcttc

19

<210> 206
<211> 444
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 206
catttagtcc ttgtgagcac ttgatgatt acctgocctc aatthttcac tgccttaata 60
ttctttttga taatgaagta tttaaacat ataaaacatt atggagagtg gcataaggaga 120
taaccaagta tgtaccaccc agcttaacga atgctctact gtcatttcta accataatct 180
ctttaaagag ctctttttgc ttcaaatatc tottccctgt ttggaccaca ttacccttca 240
tcctatgaag ccttgggtgg ctctctgtgt agactcttgc tgtgtgtcac acctaatga 300
actagaacct aaggttgtct tgtgtctgtac aactaggggt atggattaca taacataatg 360
atcaaatctt ggcttctctg gtgtgtctcc agctgcagaa tcgggtagt gaagttaat 420
cagctcctgt gtcaccacac agaa 444

<210> 207
<211> 830
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 207
tggtcaccca ccattgtgtac agtaccctgc tagggctccag ggtcatgaaa gtaataata 60
ccagactgtg cccttgagga actcactctc gctaaggaaa acaggcacag aaaccacaa 120
gggtgtaga gaggaatatg gacaatagga ctgtgtgagg gggataggag gcacccagag 180
gaggaatatg ttacatctgt gtgaggagt ttgtaaggaa agactttaac agaaggggtc 240
tctctggctg ggcttgcaag gatgtgtagg agtcatctag ggggcacaag tacaactcag 300
gcagagggaa ttgcatgggt aaagatctgc agttgtggct tgtggggatg gatttcaagt 360
attctggaaat gaagacagcc atggaacaaa gggcagggtg gaggatattt aagaggcttc 420
atgccaatgg ctccacttca gtttctgata agaactcagg ttccgtggac tccctgataa 480
aactgattaa gttgtttatg attcctcata gaatacgaac tcaaaaggag taagcaagg 540
gggtgtgtcg attctttgct actggctgca gctgcagccc caactcctc tccagcacat 600
aaacatttca gcagcttgac ctaagactgc tgtgcagggc agggatgctc caggcagaca 660
gcccagcaaa caacagcaca cagctgaaag taagactcag aggagacagt tgaagaaggc 720
aagtggcagat ggcactcacc ccaaatctgg cgttgyaaac ctggcttctc ctggctgtca 780
gcttggctct cctctatctg tcagtaactg tccagattcc tctctctctg 830

<210> 208
<211> 830
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 208
tggtcaccca ccattgtgtac agtaccctgc tagggctccag ggtcatgaaa gtaataata 60
ccagactgtg cccttgagga actcactctc gctaaggaaa acaggcacag aaaccacaa 120
gggtgtaga gaggaatatg gacaatagga ctgtgtgagg gggataggag gcacccagag 180
gaggaatatg ttacatctgt gtgaggagt ttgtaaggaa agactttaac agaaggggtc 240
tctctggctg ggcttgcaag gatgtgtagg agtcatctag ggggcacaag tacaactcag 300
gcagagggaa ttgcatgggt aaagatctgc agttgtggct tgtggggatg gatttcaagt 360
attctggaaat gaagacagcc atggaacaaa gggcagggtg gaggatattt aagaggcttc 420
atgccaatgg ctccacttca gtttctgata agaactcagg ttccgtggac tccctgataa 480
aactgattaa gttgtttatg attcctcata gaatacgaac tcaaaaggag taagcaagg 540
gggtgtgtcg attctttgct actggctgca gctgcagccc caactcctc tccagcacat 600
aaacatttca gcagcttgac ctaagactgc tgtgcagggc agggatgctc caggcagaca 660
gcccagcaaa caacagcaca cagctgaaag taagactcag aggagacagt tgaagaaggc 720

WO 02/053775

58/47

PCT/EP01/15290

```

aagtggegat ggacctcacc ccaaatbttg cgggtggaac ctggcttctc ctggctgtca 780
gcctgggtct cctctatctg tcagtaactg tccagattcc tctcctctgt 830

```

```

<210> 209
<211> 830
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

```

<400> 209
tggtcaacca ccatgtgtac agtaccctgc tagggtoacg ggtcatgaaa gtaaataata 60
ccagactgtg cctctgagga actcaactct gctaaggaaa acaggcacag aaaccocaa 120
gggtgttaqa gaggaaatag gacaatagga ctgtgtgagc ggatagagag gcaccocagag 180
gaggaaatgg ttacatctgt gtgaggaggt tggtaaggaa agacttbaat agaggggctc 240
tgtctggctg ggcttgcaag gatgtgtagg agtcatctag ggggcacaag tacactocag 300
gcagaggaaa ttgcatgggt aaagatctgc agttgtggct tgtggggatg gatttcaagt 360
attctggaat gaagacagcc atggaaaaca gggcaggtga gaggatatt aagaggcttc 420
atgccaatgg ctccacttca gttctgata agaactcagg tccctgggac tccctgataa 480
aactgattaa gttgtttatg attccccata gaacatgaac tcaaaggagg taagcaagg 540
ggltgtctgg attctttgtc actggctgca gctgcagccc caactccttc tccagcacat 600
aaacatttca gcagcttgac ctaagactgc tgtgcagggc agggatgcto caggcagaca 660
gccagcaaaa caacagcaca cagctgaag taagactcag aggagacagt tgaagaaggc 720
aagtggegat ggacctcacc ccaaatbttg cgggtggaac ctggcttctc ctggctgtca 780
gcctgggtct cctctatctg tcagtaactg tccagattcc tctcctctgt 830

```

```

<210> 210
<211> 837
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

```

<400> 210
caaaaattag ctagggtgtg ttgtatgcac ctataatctc agctaccocag gaggtgagg 60
caggagaatc acttgaacct ggaggcagag gttgcagtga gccgagacgc accattacac 120
tccagctctg gtgacagagt gagattccat ctcaaaaaaa aaaaaaaaaa attatgcttt 180
tttgaagcac atacatttta taacatacaa ctgaaatccct tattatatta ttagttttga 240
tttaagtgtt tcaaaccttc tcccctgata tttctgggag atgggaaca tgtttttcta 300
caactcttgc attccattct caactcccaa ctgtcttact gcaatgaaca cttaataaga 360
aacagtcaat tggccaattg attgggcaac aggcataaca cactcattcc ttgtctgttc 420
cagccagatg gtggccacac attaaggtag aaaaagaggt gtcattgatg ttccaaagta 480
gagacctagt aggtgagga tcaagtaggt gttcaagtgg agaacagcc cggctgtgtt 600
gtggactcc aagcaagcag agaaatgttc gacccagaga ggtgctgga aaaaagacc 660
agagctaaa caggcatagg agaacatatt tagggcatga ggtgagagg gcattcaatg 720
gtggaagggt atgggtgagg ttcaactaca taaggggat tgatgaata agtaataaaa 780
gtatactgga agccaggtgt gtcacttttg cagaaagag tcatggatgc agaaagy 837

```

```

<210> 211
<211> 837
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

```

<400> 211
caaaaattag ctagggtgtg ttgtatgcac ctataatctc agctaccocag gaggtgagg 60
caggagaatc acttgaacct ggaggcagag gttgcagtga gccgagacgc accattacac 120
tccagctctg gtgacagagt gagattccat ctcaaaaaaa aaaaaaaaaa attatgcttt 180
tttgaagcac atacatttta taacatacaa ctgaaatccct tattatatta ttagttttga 240
tttaagtgtt tcaaaccttc tcccctgata tttctgggag atgggaaca tgtttttcta 300
caactcttgc attccattct caactcccaa ctgtcttact gcaatgaaca cttaataaga 360
aacagtcaat tggccaattg attgggcaac aggcataaca cactcattcc ttgtctgttc 420
ccactctttt ctttactttc ccttctgag taacttatcc taaagtcatt aggtgggtgg 480
cagccagatg gtggccacac attaaggtag aaaaagaggt gtcattgatg ttccaaagta 540

```

WO 02/053775

39/47

PCT/EP01/15290

```

gagacctagt agggtaggga tcaagtaggt gttccatgg agaacacgcc -----g-- --
gtgggagtc cc aagcaagcag agaaatgtc gacacaggg ggtggcctga aaagcagcc 660
agagcctaaa cagggcatgg agaactatc tagggcatga ggtgaggag gcatccatga 720
gtgggaaggg atgggtgagg ttccactaca taaggggat tgatgaata agtaaataa 780
gtatactgga agccagggtg gtcacttttg cagaaaagag tcatggatcc agaaagg 837

```

```

<210> 212
<211> 602
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

```

<400> 212
catagacaag ggtgagtcc tcaagtacta gagaaaatc aagagtgact ttaaatccc 60
cacttcaaat atattctctg ttttcttgc ttcccttaa gacatctctg aatagcttcc 120
ttcaactgcc agtgaagat agcaggcctg atttcattgg acacaactgt ttccagcccc 180
aattagaggt agggtttatt ctatttaaaa taataatcaa ctgtattttt gtttcccttc 240
ccagggtctc tggaaatttg acacagagtg ctataaaaag tatggaaaaa tgtgggggtg 300
agtattctga aaactccat tggatagacc tgctactgtg agggggttac cccactgcag 360
gatagtctct gccacaggtc tcatgggatg aagctcttgt caacctaaat acaaacagag 420
agaggtcttc tgaagaaga ggaataatc ttgggagtag aatattgcaa tgggaatctg 480
cttgccttta taaactatgt gcaaatccag gtaggtaaac aagacaaaga tgcctcatag 540
aaaatatgag aagaatctca taactgtttt gagataatta ttgttagcta caaagatcaa 600
ta 602

```

```

<210> 213
<211> 602
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

```

<400> 213
catagacaag ggtgagtcc tcaagtacta gagaaaatc aagagtgact ttaaatccc 60
cacttcaaat atattctctg ttttcttgc ttcccttaa gacatctctg aatagcttcc 120
ttcaactgcc agtgaagat agcaggcctg atttcattgg acgcaactgt ttccagcccc 180
aattagaggt agggtttatt ctatttaaaa taataatcaa ctgtattttt gtttcccttc 240
ccagggtctc tggaaatttg acacagagtg ctataaaaag tatggaaaaa tgtgggggtg 300
agtattctga aaactccat tggatagacc tgctactgtg agggggttac cccactgcag 360
gatagtctct gccacaggtc tcatgggatg aagctcttgt caacctaaat acaaacagag 420
agaggtcttc tgaagaaga ggaataatc ttgggagtag aatattgcaa tgggaatctg 480
cttgccttta taaactatgt gcaaatccag gtaggtaaac aagacaaaga tgcctcatag 540
aaaatatgag aagaatctca taactgtttt gagataatta ttgttagcta caaagatcaa 600
ta 602

```

```

<210> 214
<211> 603
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

```

<400> 214
agcggaaaac tcaaggaggt atgaaaataa gatgagtctt aattagaat gtaaagaatg 60
aatctgggga caggtagaaa gtaagatcac agtccgttcc caagggtag tccactgagt 120
tcgagcttcc taaaatgggt ctlttactct tatgtacaga aaagcatca caaatatcat 180
tacaattatg cacttactgc tccatgctgg agaaagccat atccttctgg gacttgagtc 240
tgcacattta actacaggta ctgatctgtt ttgtgcttag atgttccca tcaactgccca 300
gtatggagat gtattggtga gaaacttgag gctggaaaga gagaaagca agcctgtcac 360
ctgaaagag taagtggag cacagccatg gggttctgag ctgtcatgag ccttccagc 420
tgctgccat ggaatcgaca gtcgcaactg tgggttactc cagtaccag acaaaagcag 480
ggcagcctg caactccaaa gagccacctg agagggagtg gctcccatga ggcggcaagt 540
cagcagggga aaagggcctt ctctctctgt cacaggagcc aggatttact tatctgttaa 600
ctt 603

```

WO 02/053775

40/47

PCT/EP01/15290

<210> 215
<211> 60
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 215
Ser Leu Ala Glu Asp Glu Glu Trp Lys Arg Ile Arg Ser Leu Leu Ser
1 5 10 15
Pro Thr Phe Thr Ser Gly Lys Leu Lys Glu Met Phe Pro Ile Thr Ala
20 25 30
Gln Tyr Gly Asp Val Leu Val Arg Asn Leu Arg Arg Glu Ala Glu Lys
35 40 45
Gly Lys Pro Val Thr Leu Lys Asp Ile Phe Gly Ala
50 55 60

<210> 216
<211> 603
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 216
agcggaaaac tcaaggaggt atgaaaaata gatgagtctt aattagaat gtaaagaatg 60
aatctgggga caggtagaaa gtaagatcac agtccgttbc caagggtag tccactgagt 120
tcgagcttcc taaaaatggt cttttatctt tatgtacaga aaagacatca caaaatccat 180
tcaaaaatgt cacttactgc tccatctctg aaaaagccat atcctctctg gacttgagtc 240
tgcaaattta actacaggta ctgatctggt ttgtgcttag atgttcccca tcattgcca 300
gtatggagat gtattgggga gaaactgag gccggaaaca gagaaggca agcctgtcac 360
cttgaagag taagtgggag cacagccatg gggttctgag ctgtcatgag cccttcacg 420
tgcttccat ggaatgaca gtcacactgt tgggttactc cagtaccag acaaaagcag 480
ggcagcctg caactccaaa gagccaccta agaggagtg gctccatga ggcggcaagt 540
cagcaaggga aaagggcctt ctctcctgtg cacaggacc aggatttact tatctgttaa 600
ctt 603

<210> 217
<211> 778
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 217
cagagcttac atatcttata tcatcccccac tcaacacatg ctactgtagt tgtctgataa 60
tgggtctctg tcttctctatg actgggtctc ttgacctcag aggtgagctc aactcagctt 120
gggtctctca tcaaccccag cataggcca gctccatcac tggcaccaga taaccacctt 180
ctgaggagat agatggaaga tgaatcagca gatagttctg aaagtctgtg gctctttatg 240
tgccttgact ggatagtgtg gtttcttctg gcatgtatag tggaggagac gtaagaggtg 300
ctgattttaa ttttccatct ctttctccac tccgcatctt tggggcctac agcatggatg 360
tgattactgg cacatcattt ggagtgaaca tccactctct caacaatca caagaccctt 420
ttgtggagag cactaaaaag tctctaaaat ttggtttctt agatccatta tttctcccaa 480
taagtatgtg ggtattattt tctttctctc tttttaaaaa taactgcltt cttagacata 540
aatccaatat tcttataatt catccactta aaaggtacaa ttccattggt ttaagataa 600
tcaaaaatat gtatgacct tactattgta aactaaaaatg tttttgcaa tctagagccc 660
tcacacactt tagctgtcaa caccaccaca caaacccac tgccttaagc atccaataa 720
caactttctg cctctataga tttgctatt ctggacactt catagaaata atactatt 778

<210> 218
<211> 778
<212> DNA

WO 02/053775

41/47

PCT/EP01/15290

<213> Homo sapiens

```

<400> 218
cagagcttac  atatcttata  tcatccacac  tcaacacatg  ctactgtagt  tgtctgataa  60
tgggtctctg  tcttccctatg  actgggctcc  ttgacctcag  aggtgagtct  aactcagctt  120
gggtctctca  tcacccccag  catagggccca  gctccatcac  tggcaccaga  taaccacctt  180
ctgaggaggt  agatggaaga  tgattcagca  gatagttctg  aaagtctgtg  gctctttatg  240
tgccttgact  ggatagtgg  gtttcttgct  gcatgtatag  tgggaaggacg  gtaagaggtg  300
ctgattttaa  ttttccatat  ctttctccac  tcagcatctt  tggggcctac  agcatggatg  360
tgattactgg  cacatcattt  ggagtgaaca  tcgactctct  caacaatcca  caagaccctt  420
ttgtggagag  cactaagaag  ttcttaaaat  ttggtttctt  agatccgtta  tttctctcaa  480
taagtatgtg  ggctattatt  tcttctcttc  tttttaaaaa  taactgtctt  cttgacatat  540
aattcacata  tegtataatt  catccactta  aaaggtacaa  ttctattggt  ttttagataa  600
tcaaaaatat  gtatgacct  tactattgta  aactaaaatg  tttttgtcaa  tctagagccc  660
tcacacacct  tagctgtcaa  caccaccaca  caaccccac  tggcctaagc  atccaataat  720
caactttctg  cctctataga  tttgcttatt  ctggacactt  catagaata  atatcatt  778

```

<210> 219
 <211> 778
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

```

<400> 219
cagagcttac  atatcttata  tcatccacac  tcaacacatg  ctactgtagt  tgtctgataa  60
tgggtctctg  tcttccctatg  actgggctcc  ttgacctcag  aggtgagtct  aactcagctt  120
gggtctctca  tcacccccag  catagggccca  gctccatcac  tggcaccaga  taaccacctt  180
ctgaggaggt  agatggaaga  tgattcagca  gatagttctg  aaagtctgtg  gctctttatg  240
tgccttgact  ggatagtgg  gtttcttgct  gcatgtatag  tgggaaggacg  gtaagaggtg  300
ctgattttaa  ttttccatat  ctttctccac  tcagcatctt  tggggcctac  agcatggatg  360
tgattactgg  cacatcattt  ggagtgaaca  tcgactctct  caacaatcca  caagaccctt  420
ttgtggagag  cactaagaag  ttcttaaaat  ttggtttctt  agatccgtta  tttctctcaa  480
taagtatgtg  ggctattatt  tcttctcttc  tttttaaaaa  taactgtctt  cttgacatat  540
aattcacata  tegtataatt  catccactta  aaaggtacaa  ttctattggt  ttttagataa  600
tcaaaaatat  gtatgacct  tactattgta  aactaaaatg  tttttgtcaa  tctagagccc  660
tcacacacct  tagctgtcaa  caccaccaca  caaccccac  tggcctaagc  atccaataat  720
caactttctg  cctctataga  tttgcttatt  ctggacactt  catagaata  atatcatt  778

```

<210> 220
 <211> 778
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

```

<400> 220
cagagcttac  atatcttata  tcatccacac  tcaacacatg  ctactgtagt  tgtctgataa  60
tgggtctctg  tcttccctatg  actgggctcc  ttgacctcag  aggtgagtct  aactcagctt  120
gggtctctca  tcacccccag  catagggccca  gctccatcac  tggcaccaga  taaccacctt  180
ctgaggaggt  agatggaaga  tgattcagca  gatagttctg  aaagtctgtg  gctctttatg  240
tgccttgact  ggatagtgg  gtttcttgct  gcatgtatag  tgggaaggacg  gtaagaggtg  300
ctgattttaa  ttttccatat  ctttctccac  tcagcatctt  tggggcctac  agcatggatg  360
tgattactgg  cacatcattt  ggagtgaaca  tcgactctct  caacaatcca  caagaccctt  420
ttgtggagag  cactaagaag  ttcttaaaat  ttggtttctt  agatccgtta  tttctctcaa  480
taagtatgtg  ggctattatt  tcttctcttc  tttttaaaaa  taactgtctt  cttgacatat  540
aattcacata  tegtataatt  catccactta  aaaggtacaa  ttctattggt  ttttagataa  600
tcaaaaatat  gtatgacct  tactattgta  aactaaaatg  tttttgtcaa  tctagagccc  660
tcacacacct  tagctgtcaa  caccaccaca  caaccccac  tggcctaagc  atccaataat  720
caactttctg  cctctataga  tttgcttatt  ctggacactt  catagaata  atatcatt  778

```

<210> 221
 <211> 670
 <212> DNA

WO 02/053775

42/47

PCT/EP01/15290

<213> Homo sapiens

```

<400> 221
agaaggtgcc attgatctca ctgctgtagt ggtgtttcct atgtatagac ctgcccttgc 60
tcagtcgccg gcttgaaga agggcaaca tgataaaagg aatgggttcc agttgagaat 120
catgatgttc ttattcttat tacttggtaga gaaaattata attgctccag gtaaaagtty 180
catttccaat gatttccctt tgttctgttt gtttttccca cagtactctt tccattcctt 240
accocagttt tgaagcatt aaatgtctct ctgtttccca agtaccatt aaatttttta 300
agttaactgt taacagaaat gaagaaaagt cgcctcaacg acaaacaaaa ggtaaaatct 360
gatgggtggt aaatgacgat gtttaggttt tgataaattt agattttata cacatgatag 420
agcattgtat tgtattttta aaaataaaga cagagaactt atgtttagaa caagagaagc 480
catttggtag aaatacagaa gtagattggg gaaggagatg agaatgagtc agagagatag 540
catttaaac ttgaatcag gccacaacat tagtatgtca tgatataaac agtattgaga 600
taaaatttta ccacttctct tccctttaat aaattgtcaa aggataaagt ttccctgttg 660
aaaatatatt
670

```

<210> 222

<211> 670

<212> DNA

<213> Homo sapiens

```

<400> 222
agaaggtgcc attgatctca ctgctgtagt ggtgtttcct atgtatagac ctgcccttgc 60
tcagtcgccg gcttgaaga agggcaaca tgataaaagg aatgggttcc agttgagaat 120
catgatgttc ttattcttat tacttggtaga gaaaattata attgctccag gtaaaagtty 180
catttccaat gatttccctt tgttctgttt gtttttccca cagtactctt tccattcctt 240
accocagttt tgaagcatt aaatgtctct ctgtttccca agtaccatt aaatttttta 300
agttaactgt taacagaaat gaagaaaagt cgcctcaacg acaaacaaaa ggtaaaatct 360
gatgggtggt aaatgacgat gtttaggttt tgataaattt agattttata cacatgatag 420
agcattgtat tgtattttta aaaataaaga cagagaactt atgtttagaa caagagaagc 480
catttggtag aaatacagaa gtagattggg gaaggagatg agaatgagtc agagagatag 540
catttaaac ttgaatcag gccacaacat tagtatgtca tgatataaac agtattgaga 600
taaaatttta ccacttctct tccctttaat aaattgtcaa aggataaagt ttccctgttg 660
aaaatatatt
670

```

<210> 223

<211> 826

<212> DNA

<213> Homo sapiens

```

<400> 223
agataaagta cttttaggat cattcaaggc acacaccocat aacactgagt atgtaagaca 60
gaaaactctc ctctggaat tacagcagtg ctggtcttgg gatgocatga tggaggatgt 120
gtggccacac atcagtaga ccttgggaaa acctggatta aatgatattt gcatcactct 180
ggccctgaaat aagatacata tcagaatgaa aacctctccc agtgtgactt tgaattgctt 240
ttccattttt ccttcttggg attagagagc ttoactttaga ttcaatctaa gctgtgatgt 300
tgtactgttg cctgatttac ctaaaatgto ttctctctcc ttctagctct cctctgctctg 360
gactcagcag cccagtcnat aatcttcaat ttgtctgctt atgaacoac cagcagtggt 420
ctttctctca ctttatatga actggccact caccctgatg tccagcagaa actgcaaaag 480
gagattgatg cagttttgcc caataaagtg agggatgac ccctggagat gaagggaaga 540
ggtgaagcct tagcaaaat gctctctcac cactcccocg gaaattttt ataaaagca 600
taatcaactga ttcttctact gactataatgt aggaagcctc tgaggagaaa aacaaaagga 660
gaaacataga gaacggttgc tactggcaga gcaataagat ctttgcacaa tattgtctgc 720
cctggtctcc ctggttactg ttatcacaat aatgctaagt aaaaaaaaa aaaaaaaaa 780
aaaaaaaaaa aggagtgtgg cgagaagatg gccaaacagc aacagc
826

```

<210> 224

<211> 826

<212> DNA

<213> Homo sapiens

WO 02/053775

43/47

PCT/EP01/15290

```

<400> 224
agataaagta cttttaggat cattcaaggc acacacccat aaoactgagt atgtaagaca 60
gaatgctctt ctctggaaat tacagcagtg ctggtgctgg gatgccatga tgaggagtgt 120
gtggcccaca atcctgtaga cctbgggaaa acctggatta aaatgatitit ggcctatcct 180
ggccctgtat aagatacata ccagaatgaa aaccoactcc agtbtgactt tgaattgctt 240
ttccattttt tctctctggg attagagagc ttcactttaga ttccatctaa gctgtgatgt 300
tgaagttga ctgatttac ctaaaatgct ttctctctcc ttccagctct gctgtatctg 360
gagctcgcag ccaggtcaat aatcttcaat ttgtctggct atgaaccac cagcagtgtt 420
ctttccttca ctttatatga actggccact caccctggat lccagcagaa actgcaaaag 480
gagattgatg cagttttgoc caataaggty agggatgac ccttgagat gaagggaaga 540
ggtagagctt tagcaaaaat goctcctcac cactcccag gagaattitit ataaaagca 600
taatcacaga ttcttctact gacataatgt aggaagctc tgaggagaaa aacnaagga 660
gaaacataga gaacggttg cactggcaga agcataagat ctttgtcaaa tattctggc 720
cctggttca cgttttactg ttatcaccaat aatgctaagt aaaaaaaaa aaaaaaaaa 780
aaaaaaaaa aggagtgtgg cgagaagatg gccaaacagg aacagc 826

```

```

<210> 225
<211> 616
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

```

<400> 225
caggcctggc acagagtcag tgcctcataa atattttggt aaacgatgga tggtagatgc 60
ttttactatc cagtatttac ccagcttata gattaagtat gaagagttca agatacatgg 120
tgttaagagt cgtttttata tgcctgcaaa gcattttgtt catatttttt ctactttgct 180
tccatctttt cttcttcaac ttcattttat aattctccat atgctgtttt aactattgca 240
gatccccctg aaattagaca cgaaggact tcttcaacca gaaaaacca ttgttctaaa 300
ggtggattca agagatgaa cctaagtgg agaatgatit atlctaaagga ttctactttt 360
ggtcttcaag aaagctgtgc ccagaacac cagagatttc aacttagtca ataaaacct 420
gaataaaga tggccttaat ctaagtact gcatgagtag ttggtgatit tgtaacttca 480
ttgagctctc ccagagctctg tgtagagtgt tgtgcattat gtagtataaa ggaggtgacc 540
aggtaagtga cagataggta gactcagctt ctctgcttct cataggacta cctctacca 600
cctctagttt gcatta 616

```

```

<210> 226
<211> 624
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

```

<400> 226
gattaagctt ttcaltgatc ctcatagaac atgaactcaa aagaggtcag caaaggggtg 60
tgytgatttc ttgtctatgg gctgcagcta tagccctgcc tctctctcca gcacataaat 120
ctttcagcag ctggctgaa gactgctgty cagggcaggy aagctccag caacagccc 180
agcaaacagc agcactcagc taaaaggag actcaagaa cacagttgaa gaaggaaagt 240
ggcagatggac ctcaaccas atttggcgtt ggaaacctgg cttctctcgg ctgtcagctt 300
ggtgctcttc taktctgtg baactgtcaa aactctctc ttgtttctct tggacttggg 360
gtgtcaatcg agccctttc cccttatctg ttttgaagat caaaagagat gttcaaggag 420
aagtagctga agtgttggac gctcaaaac catagaagtt attattatct tatgcagatc 480
tatgaatgaa taataagca ttctcccat ccaccttcta attttggta ctaggaggtt 540
ttggggcag callttgtag tgggaatgat ttgattagct tagatctgac gaagactaat 600
caatgaaaac atggcagcgg caga 624

```

```

<210> 227
<211> 624
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

```

<400> 227
gattaagctt ttcaltgatc ctcatagaac atgaactcaa aagaggtcag caaaggggtg 60

```

WO 02/053775

44/47

PCT/EP01/15290

```

tgtgcgattc tttgctattg gctgcagcta tggccctgcc tcctttctca gacataaaa 129
ctttcaagcag ctgggctgaa gactgctgag cagggcaggg aagctccagg caaacagccc 180
agcaaacacag agcactccag caaaaggaaag actcacagaa cacagttgaa gaaggaaagt 240
ggcgatggac ctactcccaa atttggcggg ggaacactgg ctctctctgg ctgtcagcct 300
gggtctcctc taactgtgag taactgttca aactcctctc ttgtttctct tggacttggg 360
gtgctaactc ggccctttt ccttatctg ttttgaagat caaaagagat gttcaaggag 420
aagtgcctga agtgttggc gctcaaacg catagaagtt attattatct tatacagatc 480
tatgaatgaa taataaaga tttctccact ccactctcta abtttggta ctaggaggt 540
ttagggaacg catttggtag tgggaatgat ttgattagct tagactgac gaagactaat 600
caatgaaac atggcagcgg caga
624

```

<210> 228
 <211> 626
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

```

<400> 228
gaacagttcc ctaccacgtg gagcatttgc aattaaaagg agactgagat atagaggcag 60
gagaccacac cagatggctg ggtctcccca ctccccccc cgccccacat acactcagaa 120
gaggttaggc atctaggatc tccattgagc atcttgaata tggcttgcca taatacata 180
tacagtcaat aaatatttgt taataaagga tgcctcttca atatatattg tgaaccatg 240
aagatcacca caactaatgt gagaanaaat gttctgttg aactctagtc tttaggcccc 300
gtgggattta tgaaaagtgc catctcttta gctgaggatg aagaatgaa gagaatacag 360
tcattgctgt ctccaacctt caccagcggg aaactcaagg aggtatgaaa ataagatgag 420
tcctaatag aaatgtaag atgaatctg gggacaggta gaaatgaaa tcacagtccc 480
tttccaaagg gtatccact gagttcgagc tctcaaaa tggctcttta tcttatgta 540
cagaaaagac atcacaaaat tcattcaaaa atgtcactta ctgctccatg ctggagaag 600
ccatactctt ctgggacttg agtctg
626

```

<210> 229
 <211> 60
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

```

<400> 229
Ser Val Phe Thr Asn Arg Arg Ser Leu Gly Pro Val Gly Phe Met Lys
1 5 10 15
Ser Ala Ile Ser Leu Ala Glu Asp Glu Glu Trp Lys Arg Ile Gln Ser
20 25 30
Leu Leu Ser Pro Thr Phe Thr Ser Gly Lys Leu Lys Glu Met Phe Pro
35 40 45
Ile Ile Ala Gln Tyr Gly Asp Val Leu Val Arg Asn
50 55 60

```

<210> 230
 <211> 626
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

```

<400> 230
gaacagttcc ctaccacgtg gagcatttgc aattaaaagg agactgagat atagaggcag 60
gagaccacac cagatggctg ggtctcccca ctccccccc cgccccacat acactcagaa 120
gaggttaggc atctaggatc tccattgagc atcttgaata tggcttgcca taatacata 180
tacagtcaat aaatatttgt taataaagga tgcctcttca atatatattg tgaaccatg 240
aagatcacca caactaatgt gagaanaaat gttctgttg aactctagtc tttaggcccc 300
gtgggattta tgaaaagtgc catctcttta gctgaggatg aagaatgaa gagaatacag 360
tcattgctgt ctccaacctt caccagcggg aaactcaagg aggtatgaaa ataagatgag 420

```

WO 02/053775

45/47

PCT/EP01/15290

```

tcttaattag aaatgtaaa aatgaatctg gggacaggta gaaagtaaga tcacagtcag 480
tttccaaggg gtagtccact gagttcggagc ttccataaaa tggctcttta tctttatgta 540
cagaaaagac atccacaaat tcattacaaa atgtcactta ctgctccatg ctggagaaag 600
ccatatcctt ctgggacttg agtctg 626

```

```

<210> 231
<211> 626
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

```

<400> 231
gaacagtcc ctaccacgtg gagcatttgc aattaaaagg agactgagat atagagggcag 60
ggaccacac cagatggctg ggtctcccca ctcccacccc cgcccacacat acactcagaa 120
gagctagagc atctaggatc tccattgagc atcttgaata tggcttgcca taatatcata 180
tcacgtcaat aaatatttgt taataaagga tgcctcttca atatatcttg tgcacacatg 240
aagatcacca caactaatgt gagaaaaaat gttctctgtt aactctagtc tttaggccca 300
gtgggattta tgaaaagtgc catctcttta gctgaggatg aagaatgaaa gagaatcggg 360
tcattgctgt ctccaacctt caccagcgga aaactcaagg aggtatgaaa ataagatgag 420
tcttaattag aaatgtaaa aatgaatctg gggacaggta gaaagtaaga tcacagtcga 480
tttccaaggg gtagtccact gagttcggagc ttccataaaa tggctcttta tctttatgta 540
cagaaaagac atccacaaat tcattacaaa atgtcactta ctgctccatg ctggagaaag 600
ccatatcctt ctgggacttg agtctg 626

```

```

<210> 232
<211> 623
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

```

<400> 232
attggacatg atagctagat ttgttccagg aaaacatcct gctttccaag gatttagatg 60
aatgtttttg ttcactggtg actcaggtaa cagctcttca agaagccata gggaggttga 120
gggagggagc tcaagaaggg aggttgagga ctgcaacttt gatttacttc tgaactcagc 180
agtcaclttc tgggaaagaa atctctcctt ttgctcttag caccgactag atttcttca 240
gctgatgatt gactcccaga attcgaagaa aactgagtcc cacaaaggtg accaaggagt 300
gcttctgagg gctactggcg gggacaactaa gagggagggc cttgttctga aaatgtccag 360
gaagtattcc aggaagatga gaatttttgc cacatagcag aacaacacac atttagatgt 420
tataaalggg agctggagcg actttccaga agcccacagg tatagccatg ttcccaggctg 480
aaagggcaac cctaagcaaa cctagaatgc ttggaggaca gtcagtgtt ttgggatcac 540
ctacatgaga tcaaatgcca gttctcagcc tctctcagat ccaccaagtg agaacctcta 600
cttggaaatt tatatcaaac ata 623

```

```

<210> 233
<211> 616
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

```

<400> 233
caggcctggc acgagtcagc tgcctcataa atattttgtt aaacgatgga tggtagtgc 60
tlttactatc cagtatttac ccagcttata gattaagtat gaagagtca agatcacatg 120
tgtaagagat cgtttttata tgcctgcaaa gcatttttgt catatttttt ctactttgct 180
tccatctttt cttctttcac ttcatttact aattctccat atgcttgttt aactatgta 240
gatccccctg aaattagaca cgcaggactc tctcaacca gaaaaacca ctgttctaaa 300
ggtgattca agagatgaaa cctaagtgag agaatgagtt attctaagga ttctacttt 360
ggtctcaagc aagctgtgc cccagaacac cagagatttc aacttagtca ataaaacctt 420
gaaataaaga tgggcttaat ctaatgtact gcatgagtag ttggtgatt tgtacattca 480
ttgagctctc ccagagctctg tgtagatgtg tgtcattat gtagtataaa gggagtgacc 540
aggtaagtga cagataggta gactcaagctt ctctgcttct cataggacta cctctacca 600
cctctagtta gcatta 616

```

WO 02/053775

46/47

PCT/EP01/15290

<210> 234
<211> 59
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 234
Met Arg Phe Ala Leu Met Asn Met Lys Leu Ala Leu Ile Arg Val Leu
1 5 10 15
Gln Asn Phe Ser Phe Lys Pro Cys Lys Glu Thr Gln Ile Pro Leu Lys
20 25 30
Leu Asp Thr Gln Gly Leu Leu Gln Pro Glu Lys Pro Thr Val Leu Lys
35 40 45
Val Asp Ser Arg Asp Gly Thr Leu Ser Gly Glu
50 55

<210> 235
<211> 830
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 235
tggtcaccca ccattgtgtac agtaccctgc tagggctccag ggctcatgaaa gtaaaataa 60
ccagactgtg cccttgagga actcacctct gctaagggaa acaggcacag aaaccacaa 120
gggtggtaga gaggaaatag gacaatagga ctgtgtgagg gggataggag gcaccagag 180
gaggaatggt ttacatctgt gtgaggaggt tggtaaggaa agactttaat agaaggggtc 240
tgtctggctg ggcttgcaag gatgtgtagg agtcatctag ggggcacaag tacactccag 300
gcagagggaa ttgcatgggt aaagatctgc agttgtggct tgtggggatg gatttcaagt 360
attctggaat gaagacagcc atggaaacaa gggcaggtag gaggatattt aagaggcttc 420
atgccaatgg ctocacttca gtttctgata agaactcagg tcccgtagac tccctgataa 480
aacctgattaa gttgtttatg attccccata gaatatgaac tcaaggaggg taagcaagg 540
gggtgtgtcg attctttgct accggctgca gctgcagccc cacctccttc tccagcaat 600
aaacatttca gcagcttgac ctaagactgc tgtgcagggc agggatcttc caggcagaca 660
gcccagcaaa caacagcaca cagctgaaag taagactcag aggagacagt tgaagaaggc 720
aagttggcat ggacctcacc ccaaatctgg cggctggaac ctggttcttc ctggctgaca 780
gctctggctc cctctatctg tcagtaactg tccagatccc tctctctgt 830

<210> 236
<211> 775
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 236
ggagtgaact gattttccag gtgctgtotg tcaccctttt ctttgaactag gaaaggaac 60
tcctlgaccg cttgcgcttc tcaagtgagg caatgctctg ccctgctcg gcttgtgcac 120
agcacgctgc accactgtc ctgcacccac tgtctggcac tccctagtga gatgaaccg 180
gtacctcaga tgaaatgca gaattaccg gctctctgtg tcaactcacg tgggagctgt 240
agaccggagc tgttctctatt cggccatctt ggctccaccg cccgagtttt ggttttbaat 300
tgaagtgtat ttgatctggg aaggagataa tgccatgcat tlatgagcac atattagagg 360
gtctgagaca atgcatgtga taaaaggtca cctaaggaag aaaaaagaa caagggaga 420
cactggaag aacgtgatc tggagctccc tggccaccac aactctggag aaaagtgta 480
accacaaggc tcccagccta gtttcaactga agacctcagc actagtgac ttatgggato 540
cttgttagga caagccttga aaagtcttac aatagcaaat gtggactgtg tcaagaccaa 600
atgatgtcac gtgtgtattt gtgtgtgtgt gtcagtgtgt gtttttaaaa atcatgacaa 660
ataaagcagg ctgtgaagag gggattccca tgcctgtgtg cctgataaca caactatcac 720
aaacgctttg cgaaccaca agtttgcaca aagycatcc caaccttaca caaaa 775

<210> 237

WO 02/053775	47/47	PCT/EP01/15290
<211> 25 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 237 ttggtgggaa atgttttgc ctatc		25
<210> 238 <211> 24 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 238 acagggagtt gaccttcata cgtt		24
<210> 239 <211> 33 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 239 tcagggtctc tggaaatttg acacagagtg cta		33
1		
49/49		
\\Ntvoossius1\Allgemein\Daten-1\sg\sequencelisting\E3103PCT\E3103PCT.APP		
1		
47/47		
1		
4/47		

【国際公開パンフレット(コレクション)】

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
11 July 2002 (11.07.2002)

PCT

(10) International Publication Number
WO 02/053775 A3

(51) International Patent Classification: C12Q 1/68, C12N 15/00, 5/10, 9/02, C07K 16/00, C12Q 1/26, G01N 33/573, A61K 39/00, 38/00, 48/00
(71) Applicant (for all designated States except US): EPIDAUROS BIOTECHNOLOGIE AG [DE/DE]; Am Neuland 1, 82347 Bernried (DE).

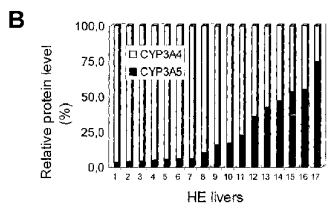
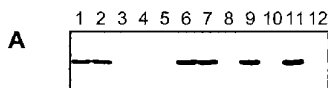
(21) International Application Number: PCT/EP01/15290
(72) Inventors; and (75) Inventors/Applicants (for US only): WOJNOWSKI, Leszek [DE/DE]; Ebenanerstrasse 9, 80637 München (DE); HABERL, Michael [DE/DE]; Waxensteinstrasse 24, 82347 Bernried (DE); HUSTERT, Elisabeth [DE/DE]; Geschwister Scholl Ring 2, 82110 Garmring (DE).

(22) International Filing Date: 21 December 2001 (21.12.2001)
(25) Filing Language: English
(26) Publication Language: English
(74) Agent: VOSSIUS & PARTNER; Sieberstrasse 4, 81675 Munich (DE).

(30) Priority Data: 00128627.7 28 December 2000 (28.12.2000) EP
60258.684 28 December 2000 (28.12.2000) US
60258.952 29 December 2000 (29.12.2000) US
01100172.4 16 January 2001 (16.01.2001) EP
60262.859 18 January 2001 (18.01.2001) US
01118884.4 16 August 2001 (16.08.2001) EP
60312.825 16 August 2001 (16.08.2001) US
(81) Designated States (national): AH, AG, AI, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GI, GM, GR, GU, HK, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SI, SG, SK, SL, ST, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

[Continued on next page]

(54) Title: IDENTIFICATION OF GENETIC DETERMINANTS OF POLYMORPHIC CYP3A5 EXPRESSION



(57) Abstract: The present invention relates to a polymorphic CYP3A5 polynucleotide. Moreover, the invention relates to genes or vectors comprising the polynucleotides of the invention and to a host cell genetically engineered with the polynucleotide or gene of the invention. Further, the invention relates to methods for producing molecular variant polypeptides or fragments thereof, methods for producing cells capable of expressing a molecular variant polypeptide and to a polypeptide or fragment thereof encoded by the polynucleotide or the gene of the invention or which is obtainable by the method or from the cells produced by the method of the invention. Furthermore, the invention relates to an antibody which binds specifically the polypeptide of the invention. Moreover, the invention relates to a transgenic non-human animal. The invention also relates to a solid support comprising one or a plurality of the above mentioned polynucleotides, genes, vectors, polypeptides, antibodies or host cells. Furthermore, methods of identifying a polymorphism, identifying and obtaining a peptid or drug or an inhibitor are also encompassed by the present invention. In addition, the invention relates to methods for producing of a pharmaceutical composition and methods of diagnosing a disease. Further, the invention relates to a method of

detection of the polynucleotide of the invention. Furthermore, comprised by the present invention are a diagnostic and a pharmaceutical composition. Even more the invention relates to uses of the polynucleotides, genes, vectors, polypeptides or antibodies of the invention. Finally, the invention relates to a diagnostic kit.

WO 02/053775 A3

WO 02/053775 A3 

(84) Designated States (regional): ARIPO patent (GH, GM, KI, LS, MW, MZ, SD, SI, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI patent (BI, BJ, CI, CG, CL, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NI, SN, TD, TG).

before the expiration of the time limit for amending the claims, and to be republished in the event of receipt of amendments

(88) Date of publication of the international search report:
4 September 2003

Published:
— with international search report

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		Int. Application No. PCT/EP 01/15290
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 C12Q1/68 C12N15/00 C12N5/10 C12N9/02 C07K16/00 C12Q1/26 G01N33/573 A61K39/00 A61K38/00 A61K48/00		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 C12N C12Q C07K G01N A61K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) BIOSIS, EPO-internal, EMBL, MEDLINE, EMBASE, PAJ, WPI Data, CHEM ABS Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	PAULUSSEN AIMEE ET AL: "Two linked mutations in transcriptional regulatory elements of the CYP3A5 gene constitute the major genetic determinant of polymorphic activity in humans." PHARMACOGENETICS, vol. 10, no. 5, July 2000 (2000-07), pages 415-424, XP000015489 ISSN: 0960-314X cited in the application the whole document abstract page 415, line 15 - line 18	1,3-20, 22-24, 29, 33-35, 38, 44
Y	---	1-39, 43, 44
	--/--	
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.		
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document relating to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principles or theory underlying the invention "X" document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the documents combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. "S" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 25 March 2003		Date of mailing of the international search report 03 JUL 2003
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel: (+31-70) 340-2040, Tx: 31 051 epo nl, Fax: (+31-70) 340-9016		Authorized officer Tuytman, A

Form PCT/ISA/210 (second sheet) July 1999

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 Int. Application No.
 PCT/EP 01/15290

C (Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indicator, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 00 39332 A (JANSSEN PHARMACEUTICA NV ;PAULUSSEN AIMEE D'YMPHNE CATHER (BE); ARM) 6 July 2000 (2000-07-06) the whole document	1-20, 22-24, 29, 33-35, 38,44
Y	---	1-39,43, 44
Y	WO 98 44939 A (WANG REGINA W ;LU ANTHONY Y H (US); MERCK & CO INC (US)) 15 October 1998 (1998-10-15) example 1	1-39,43, 44
X	WO 98 24914 A (INST NAT SANTE RECH MED ;GENSET SA (FR); TCHOUMAKOV ILIA (FR); BAC) 11 June 1998 (1998-06-11) fragment2.FMOx nucleotides 3450-3460 figure 19	1,3-8, 11-18, 34,44
P,X	HUSTERT ELISABETH ET AL: "The genetic determinants of the CYP3A5 polymorphism." PHARMACOGENETICS, vol. 11, no. 9, December 2001 (2001-12), pages 773-779, XP008015487 ISSN: 0960-314X the whole document	1-35,38, 43,44

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/EP 01/15290
Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)		
This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:		
1.	<input type="checkbox"/>	Claims Nos.: because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2.	<input checked="" type="checkbox"/>	Claims Nos.: 41 (fully) ; 1-40,42-44 (in part) because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically: see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210
3.	<input type="checkbox"/>	Claims Nos.: because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).
Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)		
This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:		
see additional sheet		
1.	<input type="checkbox"/>	As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.
2.	<input type="checkbox"/>	As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3.	<input type="checkbox"/>	As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4.	<input checked="" type="checkbox"/>	No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.: 1-39, 43, 44 partially
Remark on Protest		<input type="checkbox"/> The additional search fees were accompanied by the applicant's protest. <input type="checkbox"/> No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/EP 01/15290

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Continuation of Box I.2

Claims Nos.: 41 (fully) ; 1-40,42-44 (in part)

The search has been not been carried out for claim 41 and those parts of claims 1-40 and 42-44 that refer back to accession numbers, because a molecule which is only identified by reference to a disclosure outside the application filed, which is not a sequence listing according to Rule 5.2, cannot fulfill the requirement of sufficiency of disclosure of Article 5 PCT.

The applicant's attention is drawn to the fact that claims, or parts of claims, relating to inventions in respect of which no international search report has been established need not be the subject of an international preliminary examination (Rule 66.1(e) PCT). The applicant is advised that the EPO policy when acting as an International Preliminary Examining Authority is normally not to carry out a preliminary examination on matter which has not been searched. This is the case irrespective of whether or not the claims are amended following receipt of the search report or during any Chapter II procedure.

International Application No. PCT/EP 01/15290

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

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

Inventions 1-102: Claims: 1-39,43,44 (partially)

Each of the polynucleotides comprising a polynucleotide according to SEQ 54,55,58,62,64,66,68,70,72,74, 76,78,80,84,86,90,92,94,96,98,100,102,106,108,110,113,114,115,116,117,118,119,120,121,122,123,124,125,126,128,129,130,131,133,134,135,136,137,138,139,140,142,143,149,151,153,155,157,159,161,163,165,169,171,173,175,177,179,181,183,185,187,189,193,195,197,199,201,207,208,209,210,211,212,213,214,216,218,219,220,221,222,223,224,225,226,227,228,231,232,233,235, or 236, respectively, and methods and uses involving these.

Inventions 103-105: claims 1-40,42-44 (partially)

Each of the polynucleotides comprising a polynucleotide according to SEQ 82,88 or 112, respectively, and methods and uses involving these.

Inventions 106-108: claims 1-40,42-44 (partially)

A polynucleotide encoding a polypeptide according to SEQ ID 127,132, or 141, respectively, and methods and uses involving these.

Inventions 109-111: claims 1-39,43,44 (partially)

A polynucleotide encoding a polypeptide according to SEQ ID 215,229, or 234, respectively, and methods and uses involving these.

Invention 112: 38-40,42-44 (partially)

A polynucleotide comprising a polynucleotide according to SEQ ID NO: 104 and the use thereof.

Invention 113: Claims 38-40,42-44 (partially)

A polynucleotide encoding a polypeptide comprising SEQ ID 145 and the use thereof.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No
PCT/EP 01/15290

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 0039332 A	06-07-2000	AU 1878300 A	31-07-2000
		CA 2355658 A1	06-07-2000
		CN 1331756 T	16-01-2002
		EP 1141398 A1	10-10-2001
		WO 0039332 A1	06-07-2000
		JP 2002533136 T	08-10-2002
WO 9844939 A	15-10-1998	EP 1011708 A1	28-06-2000
		JP 2000513742 T	17-10-2000
		US 6300476 B1	09-10-2001
		WO 9844939 A1	15-10-1998
WO 9824914 A	11-06-1998	FR 2756845 A1	12-06-1998
		AU 746293 B2	18-04-2002
		AU 5327198 A	29-06-1998
		EP 0941341 A1	15-09-1999
		WO 9824914 A1	11-06-1998
		JP 2001505430 T	24-04-2001
		US 6551792 B1	22-04-2003

Form PCT/ISA/Z10 (patent family annex) (July 1992)

フロントページの続き

(51) Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 P 9/00	A 6 1 K 39/395	T 4 B 0 6 4
A 6 1 P 31/18	A 6 1 P 3/10	4 B 0 6 5
A 6 1 P 35/00	A 6 1 P 9/00	4 C 0 8 4
C 0 7 K 16/40	A 6 1 P 31/18	4 C 0 8 5
C 1 2 M 1/00	A 6 1 P 35/00	4 H 0 4 5
C 1 2 N 1/15	C 0 7 K 16/40	
C 1 2 N 1/19	C 1 2 M 1/00	A
C 1 2 N 1/21	C 1 2 N 1/15	
C 1 2 N 5/10	C 1 2 N 1/19	
C 1 2 N 9/02	C 1 2 N 1/21	
C 1 2 Q 1/68	C 1 2 N 9/02	
G 0 1 N 33/15	C 1 2 Q 1/68	A
G 0 1 N 33/50	G 0 1 N 33/15	Z
G 0 1 N 33/53	G 0 1 N 33/50	Z
G 0 1 N 33/547	G 0 1 N 33/53	D
G 0 1 N 33/566	G 0 1 N 33/53	M
// C 1 2 P 21/08	G 0 1 N 33/547	
	G 0 1 N 33/566	
	C 1 2 N 5/00	A
	C 1 2 N 15/00	F
	A 6 1 K 37/02	
	C 1 2 P 21/08	

- (31)優先権主張番号 01100172.4
(32)優先日 平成13年1月16日(2001.1.16)
(33)優先権主張国 欧州特許庁(EP)
(31)優先権主張番号 60/262,859
(32)優先日 平成13年1月18日(2001.1.18)
(33)優先権主張国 米国(US)
(31)優先権主張番号 01118884.4
(32)優先日 平成13年8月16日(2001.8.16)
(33)優先権主張国 欧州特許庁(EP)
(31)優先権主張番号 60/312,825
(32)優先日 平成13年8月16日(2001.8.16)
(33)優先権主張国 米国(US)

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

(特許庁注：以下のものは登録商標)

テフロン

- (72)発明者 ハツアート エリザベス
ドイツ連邦共和国 ジャーメリング ジェスウィスター スコール リング 2

F ターム(参考) 2G045 AA40 BB03 BB20 CB01 CB17 CB21 DA12 DA13 DA14 DA36
FB01 FB02 FB03
4B024 AA01 AA11 BA08 BA41 CA01 GA11 HA12
4B029 AA07 AA23 BB16 BB17 BB20 CC03 FA01 FA15
4B050 CC03 EE10 LL01 LL03
4B063 QA05 QA19 QQ02 QQ08 QQ22 QQ43 QQ79 QQ91 QR32 QR48
QR55 QR82 QS28 QS33 QS34 QX01
4B064 AG27 CA19 CC24 DA01 DA13
4B065 AA93Y AB01 AC14 BA02 CA25 CA28 CA44 CA46
4C084 AA02 AA07 BA01 BA22 CA53 NA14 ZA361 ZB261 ZC351 ZC551
4C085 AA13 BB11 CC04 DD63
4H045 AA11 BA10 CA40 DA76 DA89 EA23 EA28 EA29 EA50 EA51
EA53 FA74

【要約の続き】

に本発明は、本発明のポリヌクレオチドを検出する方法に関する。更に診断的および薬学的組成物が本発明に含まれる。その上さらに本発明は、本発明のポリヌクレオチド、遺伝子、ベクター、ポリペプチドまたは抗体の使用に関する。最後に本発明は、診断キットに関する。

专利名称(译)	<无法获取翻译>		
公开(公告)号	JP2004527229A5	公开(公告)日	2005-10-27
申请号	JP2002555278	申请日	2001-12-21
[标]申请(专利权)人(译)	外延道洛生物科技股份有限公司		
申请(专利权)人(译)	埃皮达鲁斯生物科技股份有限公司		
[标]发明人	ウオジノウスキーレスゼック ハペールミヒヤエル ハツアートエリザベス		
发明人	ウオジノウスキー レスゼック ハペール ミヒヤエル ハツアート エリザベス		
IPC分类号	A01K67/027 A61K38/00 A61K39/00 A61K39/395 A61K48/00 A61P3/10 A61P9/00 A61P31/18 A61P35/00 C07K16/00 C07K16/40 C12M1/00 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C12N9/02 C12N15/00 C12N15/09 C12P21/08 C12Q1/26 C12Q1/68 G01N33/15 G01N33/50 G01N33/53 G01N33/547 G01N33/566 G01N33/573		
CPC分类号	C12Q1/6827 C12N9/0077 C12Q1/6883 C12Q1/6886 C12Q2600/156 C12Q2600/158 C12Q2600/172 G01N2333/90258 G01N2500/04		
FI分类号	C12N15/00.ZNA.A A01K67/027 A61K39/395.D A61K39/395.E A61K39/395.N A61K39/395.T A61P3/10 A61P9/00 A61P31/18 A61P35/00 C07K16/40 C12M1/00.A C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N9/02 C12Q1/68.A G01N33/15.Z G01N33/50.Z G01N33/53.D G01N33/53.M G01N33/547 G01N33/566 C12N5/00.A C12N15/00.F A61K37/02 C12P21/08		
F-TERM分类号	2G045/AA40 2G045/BB03 2G045/BB20 2G045/CB01 2G045/CB17 2G045/CB21 2G045/DA12 2G045/DA13 2G045/DA14 2G045/DA36 2G045/FA01 2G045/FA02 2G045/FA03 4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/BA08 4B024/BA41 4B024/CA01 4B024/GA11 4B024/HA12 4B029/AA07 4B029/AA23 4B029/BB16 4B029/BB17 4B029/BB20 4B029/CC03 4B029/FA01 4B029/FA15 4B050/CC03 4B050/EE10 4B050/LL01 4B050/LL03 4B063/QA05 4B063/QA19 4B063/QQ02 4B063/QQ08 4B063/QQ22 4B063/QQ43 4B063/QQ79 4B063/QQ91 4B063/QR32 4B063/QR48 4B063/QR55 4B063/QR82 4B063/QS28 4B063/QS33 4B063/QS34 4B063/QX01 4B064/AG27 4B064/CA19 4B064/CC24 4B064/DA01 4B064/DA13 4B065/AA93Y 4B065/AB01 4B065/AC14 4B065/BA02 4B065/CA25 4B065/CA28 4B065/CA44 4B065/CA46 4C084/AA02 4C084/AA07 4C084/BA01 4C084/BA22 4C084/CA53 4C084/NA14 4C084/ZA361 4C084/ZB261 4C084/ZC351 4C084/ZC551 4C085/AA13 4C085/BB11 4C085/CC04 4C085/DD63 4H045/AA11 4H045/BA10 4H045/CA40 4H045/DA76 4H045/DA89 4H045/EA23 4H045/EA28 4H045/EA29 4H045/EA50 4H045/EA51 4H045/EA53 4H045/FA74		
代理人(译)	清水初衷		
优先权	2000128627 2000-12-28 EP 60/258684 2000-12-28 US 60/258952 2000-12-29 US 2001100172 2001-01-16 EP 60/262859 2001-01-18 US 2001118884 2001-08-16 EP 60/312825 2001-08-16 US		
其他公开文献	JP2004527229A		
摘要(译)			

本发明涉及多态性CYP3A5多核苷酸。本发明进一步涉及包含本发明多核苷酸的基因或载体，以及用本发明的多核苷酸或基因遗传工程改造的宿主细胞。此外，本发明提供了产生分子变体多肽或其片段的方法，产生能够表达分子变体多肽的细胞的方法，以及由本发明的多核苷酸或基因或本发明编码的方法。本发明涉及可通过本发明方法或本发明方法产生的细胞获得的此类多肽或其片段。本发明进一步涉及特异性结合本发明多肽的抗体。此外，本发明涉及转基因非人动物。本发明进一步涉及包含一种或多种前述多核苷酸，基因，载体，多肽，抗体或宿主细胞的固体支持物。此外，本发明还包括鉴定多态性的方法，鉴定和获得前药或药物或抑制剂的方法。此外，本发明还涉及制备药物组合物的方法和诊断疾病的方法。本发明还涉及检测本发明多核苷酸的方法。其他诊断和药物组合物包括在本发明中。此外，本发明涉及本发明的多核苷酸，基因，载体，多肽或抗体的用途。最后，本发明涉及诊断试剂盒。