

(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2005-511021

(P2005-511021A)

(43) 公表日 平成17年4月28日(2005.4.28)

(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
A 6 1 K 38/00	A 6 1 K 45/00	2 G O 4 5
A 6 1 K 45/00	A 6 1 K 49/00	A
A 6 1 K 49/00	A 6 1 P 1/04	4 B O 2 4
A 6 1 P 1/04	A 6 1 P 1/18	4 B O 2 9
		4 B O 6 3
		4 B O 6 4

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 152 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2003-529121 (P2003-529121)	(71) 出願人	301005050
(86) (22) 出願日	平成14年9月19日 (2002. 9. 19)		インサイト・ゲノミックス・インコーポレイテッド
(85) 翻訳文提出日	平成16年3月19日 (2004. 3. 19)		アメリカ合衆国カリフォルニア州94304・パロアルト・ポータードライブ 3160
(86) 国際出願番号	PCT/US2002/029979	(74) 代理人	100089266
(87) 国際公開番号	W02003/025542		弁理士 大島 陽一
(87) 国際公開日	平成15年3月27日 (2003. 3. 27)	(72) 発明者	ホー、アン
(31) 優先権主張番号	60/324, 034		アメリカ合衆国カリフォルニア州94086・サニーベイル・#114・ポプラアベニュー 1279
(32) 優先日	平成13年9月21日 (2001. 9. 21)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		
(31) 優先権主張番号	60/327, 395		
(32) 優先日	平成13年10月5日 (2001. 10. 5)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		
(31) 優先権主張番号	60/328, 923		
(32) 優先日	平成13年10月12日 (2001. 10. 12)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 免疫応答関連タンパク質

(57) 【要約】

本発明の種々の実施例は、ヒトの免疫応答関連タンパク質 (IRAP) 及び、IRAP を同定しコードするポリヌクレオチドを提供する。本発明の実施例はまた、発現ベクター、宿主細胞、抗体、アゴニスト及びアンタゴニストをも提供する。本発明の別の実施態様はまた、IRAPの異常発現に関連する疾患を、診断、治療又は予防する方法をも提供する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

以下の (a) 乃至 (l) からなる群から選択した単離されたポリペプチド。

(a) SEQ ID NO:1-35 (配列番号 1 乃至 3 5) からなる群から選択したアミノ酸配列を含むポリペプチド

(b) SEQ ID NO:2-4、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:19-20、SEQ ID NO:25-26、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:30及び SEQ ID NO:32-35からなる群から選択した或るアミノ酸配列に対して少なくとも 9 0 % が同一であるような天然アミノ酸配列を含むポリペプチド

(c) SEQ ID NO:1のアミノ酸配列に対して少なくとも 9 5 % 同一であるような天然アミノ酸配列を含むポリペプチド 10

(d) SEQ ID NO:5のアミノ酸配列に対して少なくとも 9 7 % が同一であるような天然アミノ酸配列を含むポリペプチド

(e) SEQ ID NO:9のアミノ酸配列に対して少なくとも 9 1 % が同一であるような天然アミノ酸配列を含むポリペプチド

(f) SEQ ID NO:10のアミノ酸配列に対して少なくとも 9 8 % が同一であるような天然アミノ酸配列を持つポリペプチド

(g) SEQ ID NO:12のアミノ酸配列に対して少なくとも 9 6 % 同一であるような天然アミノ酸配列を含むポリペプチド

(h) SEQ ID NO:16のアミノ酸配列に対して少なくとも 9 9 % が同一であるような天然アミノ酸配列を含むポリペプチド 20

(i) SEQ ID NO:27のアミノ酸配列と少なくとも 9 4 % が同一であるような天然のアミノ酸配列を有するポリペプチド

(j) SEQ ID NO:14-15、SEQ ID NO:17-18、SEQ ID NO:21-24、SEQ ID NO:29、及び SEQ ID NO:31からなる群から選択した或るアミノ酸配列に対して少なくとも 9 0 % が同一であるような天然アミノ酸配列を含むポリペプチド

(k) SEQ ID NO:1-35からなる群から選択したアミノ酸配列を有するポリペプチドの生物学的活性断片、及び

(l) SEQ ID NO:1-35からなる群から選択したアミノ酸配列を有するポリペプチドの免疫原性断片 30

【請求項 2】

SEQ ID NO:1-35からなる群から選択したアミノ酸配列を含む、請求項 1 に記載の単離されたポリペプチド。

【請求項 3】

請求項 1 に記載のポリペプチドをコードする単離されたポリヌクレオチド。

【請求項 4】

請求項 2 に記載のポリペプチドをコードする単離されたポリヌクレオチド。

【請求項 5】

SEQ ID NO:36-70からなる群から選択したポリヌクレオチド配列を含む請求項 4 に記載の単離されたポリヌクレオチド。 40

【請求項 6】

請求項 3 に記載のポリヌクレオチドに機能的に連結したプロモーター配列を含む組換えポリヌクレオチド。

【請求項 7】

請求項 6 に記載の組換えポリヌクレオチドを用いて形質転換した細胞。

【請求項 8】

請求項 6 に記載の組換えポリヌクレオチドを含む遺伝形質転換体。

【請求項 9】

請求項 1 のポリペプチドを生産する方法であって、

(a) 前記ポリペプチドの発現に好適な条件下で、請求項 1 のポリペプチドをコードする 50

ポリヌクレオチドに機能的に連結したプロモーター配列を含む組換えポリヌクレオチドで形質転換される細胞を培養する過程と、

(b) そのように発現した前記ポリペプチドを回収する過程とからなる方法。

【請求項 10】

前記ポリペプチドが、SEQ ID NO:1-35からなる群から選択した或るアミノ酸配列を含むことを特徴とする、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】

請求項 1 に記載のポリペプチドと特異的に結合する単離された抗体。

【請求項 12】

以下の (a) 乃至 (m) からなる群から選択した単離されたポリヌクレオチド。

10

(a) SEQ ID NO:36-70からなる群から選択したポリヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド

(b) SEQ ID NO:36-39、SEQ ID NO:41-55、SEQ ID NO:57-65及びSEQ ID NO:67-68からなる群から選択した或るポリヌクレオチド配列に対して少なくとも90%が同一であるような天然ポリヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド

(c) SEQ ID NO:40のポリヌクレオチド配列に対して少なくとも99%が同一であるような天然ポリヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド

(d) SEQ ID NO:56のポリヌクレオチド配列に対して少なくとも92%が同一であるような天然ポリヌクレオチド配列を持つポリヌクレオチド

(e) SEQ ID NO:66のポリヌクレオチド配列に対して少なくとも99%が同一であるような天然ポリヌクレオチド配列を本来有するポリヌクレオチド

20

(f) SEQ ID NO:69-70を有する群から選択したポリヌクレオチド配列と少なくとも97%が同一であるような天然のポリヌクレオチド配列を有するポリヌクレオチド

(g) : (a) のポリヌクレオチドに相補的なポリヌクレオチド

(h) : (b) のポリヌクレオチドに相補的なポリヌクレオチド

(i) : (c) のポリヌクレオチドに相補的なポリヌクレオチド

(j) : (d) のポリヌクレオチドに相補的なポリヌクレオチド

(k) : (e) のポリヌクレオチドに相補的なポリヌクレオチド

(l) : (f) のポリヌクレオチドに相補的なポリヌクレオチド、及び

(m) : (a) ~ (l) のRNA等価物

30

【請求項 13】

請求項 12 に記載のポリヌクレオチドの少なくとも60の連続したヌクレオチドを含む単離されたポリヌクレオチド。

【請求項 14】

請求項 12 に記載のポリヌクレオチドの配列を有する標的ポリヌクレオチドをサンプル中から検出する方法であって、

(a) 前記サンプル中の前記標的ポリヌクレオチドに相補的な配列を持つ少なくとも20の連続したヌクレオチドを持つプローブを用いて前記サンプルをハイブリダイズする過程と、

(b) 前記ハイブリダイゼーション複合体の有無を検出し、該複合体が存在する場合にはオプションでその量を検出する過程とを含む方法。

40

【請求項 15】

前記プローブが少なくとも60の連続したヌクレオチドを含むことを特徴とする請求項 14 に記載の方法。

【請求項 16】

請求項 12 に記載のポリヌクレオチドの配列を有する標的ポリヌクレオチドをサンプル中から検出する方法であって、

(a) ポリメラーゼ連鎖反応増幅を用いて前記標的ポリヌクレオチド又はその断片を増幅する過程と、

(b) 前記の増幅した標的ポリヌクレオチド又はその断片の有無を検出し、該標的ポリヌ

50

クレオチド又はその断片が存在する場合にはオプションでその量を検出する過程を含むことを特徴とする方法。

【請求項 17】

請求項 1 に記載のポリペプチドと、薬剤として許容できる賦形剤とを含む組成物。

【請求項 18】

前記ポリペプチドが、SEQ ID NO:1-35からなる群から選択されたアミノ酸配列を持つことを特徴とする、請求項 17 の組成物。

【請求項 19】

機能的な I R A P の発現の低下に関連する疾患や病態の治療方法であって、そのような治療が必要な患者に請求項 17 の組成物を投与することを含むことを特徴とする治療方法

10

【請求項 20】

請求項 1 のポリペプチドのアゴニストとしての有効性を確認するために化合物をスクリーニングする方法であって、

(a) 請求項 1 のポリペプチドを含むサンプルを化合物に曝すステップと、

(b) 前記サンプルにおいてアゴニスト活性を検出する過程を含むことを特徴とする方法

。

【請求項 21】

請求項 20 に記載の方法によって同定したアゴニスト化合物と、薬剤として許容できる賦形剤とを含むことを特徴とする組成物。

20

【請求項 22】

機能的な I R A P の発現の低下に関連する疾患や病態の治療方法であって、そのような治療が必要な患者に請求項 21 の組成物を投与することを含むことを特徴とする治療方法

。

【請求項 23】

請求項 1 に記載のポリペプチドのアンタゴニストとして有効性を確認するために化合物をスクリーニングする方法であって、

(a) 請求項 1 のポリペプチドを含むサンプルを化合物に曝すステップと、

(b) 前記サンプルにおいてアンタゴニスト活性を検出する過程とを含むことを特徴とする方法。

30

【請求項 24】

請求項 23 に記載の方法によって同定したアンタゴニスト化合物と、薬剤として許容できる賦形剤とを含む組成物。

【請求項 25】

機能的 I R A P の過剰発現に関連する疾患や病態の治療方法であって、そのような治療が必要な患者に請求項 24 の組成物を投与する過程を含むことを特徴とする治療方法。

【請求項 26】

請求項 1 のポリペプチドに特異結合する化合物をスクリーニングする方法であって、

(a) 請求項 1 のポリペプチドを適切な条件下で少なくとも 1 つの試験化合物と混合する過程と、

(b) 請求項 1 のポリペプチドの試験化合物との結合を検出し、それによって請求項 1 のポリペプチドに特異結合する化合物を同定する過程を含む方法。

40

【請求項 27】

請求項 1 に記載のポリペプチドの活性を調節する化合物をスクリーニングする方法であって、

(a) 請求項 1 のポリペプチドの活性が許容される条件下で、請求項 1 のポリペプチドを少なくとも 1 つの試験化合物と混合する過程と、

(b) 請求項 1 に記載のポリペプチドの活性を試験化合物の存在下で算定する過程と、

(c) 試験化合物の存在下での請求項 1 に記載のポリペプチドの活性を、試験化合物の不存在下での請求項 1 に記載のポリペプチドの活性と比較する過程を含み、試験化合物の存

50

在下での請求項 1 に記載のポリペプチドの活性の変化が、請求項 1 に記載のポリペプチドの活性を調節する化合物を標示することを特徴とする方法。

【請求項 28】

請求項 5 の配列を持つ標的ポリヌクレオチドの発現を改変するのに効果的な化合物をスクリーニングする方法であって、

(a) 前記標的ポリヌクレオチドの発現に好適な条件下で、該標的ポリヌクレオチドを含むサンプルを化合物に曝露する過程と、

(b) 前記標的ポリヌクレオチドの発現改変を検出する過程と、

(c) 可変量の前記化合物の存在下と前記化合物の不存在下で、前記標的ポリヌクレオチドの発現を比較する過程とを含むことを特徴とする方法。

10

【請求項 29】

試験化合物の毒性を算定する方法であって、

(a) 核酸を含む生物学的サンプルを前記試験化合物で処理する過程と、

(b) 処理した前記生物学的サンプルの核酸と、請求項 12 のポリヌクレオチドの少なくとも 20 の連続するヌクレオチドを持つプローブをハイブリダイズさせる過程であって、このハイブリダイゼーションゼーションが、前記プローブと前記生物学的サンプル中の標的ポリヌクレオチドとの間で特異的なハイブリダイゼーション複合体が形成される条件下で行われ、前記標的ポリヌクレオチドが、請求項 12 のポリヌクレオチド又はその断片のポリヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドである、前記過程と、

(c) ハイブリダイゼーション複合体の収量を定量する過程と、

20

(d) 前記処理された生物学的サンプル中のハイブリタイゼーション複合体の量を、処理されていない生物学的サンプル中のハイブリタイゼーション複合体の量と比較する過程とを含み、前記処理された生物学的サンプル中のハイブリタイゼーション複合体の量の差が、前記試験化合物の毒性を標示するような方法。

【請求項 30】

生体サンプル中の I R A P の発現に関連する症状又は疾患に対する診断試験法であって

(a) 前記生物学的サンプルと請求項 11 の抗体との混合を、前記抗体が前記ポリペプチドに結合し、抗体とポリペプチドとの複合体を形成するのに適した条件下で行う過程と、

(b) 前記複合体を検出する過程とを含み、前記複合体の存在が、前記生物学的サンプル中の前記ポリペプチドの存在と相関することを特徴とする方法。

30

【請求項 31】

請求項 11 に記載の抗体であって、

(a) キメラ抗体

(b) 単鎖抗体

(c) F a b 断片

(d) F (a b ')₂ 断片

(e) ヒト化抗体のいずれかである抗体。

【請求項 32】

請求項 11 に記載の抗体と、許容できる賦形剤とを含む組成物。

40

【請求項 33】

被検者の I R A P の発現に関連する病状又は疾患の診断方法であって、請求項 32 に記載の組成物の有効量を前記被検者に投与する過程を含むことを特徴とする方法。

【請求項 34】

前記抗体が標識されることを特徴とする請求項 32 に記載の組成物。

【請求項 35】

被検者の I R A P の発現に関連する病状又は疾患の診断方法であって、請求項 34 に記載の組成物の有効量を前記被検者に投与する過程を含むことを特徴とする方法。

【請求項 36】

請求項 11 に記載の抗体の特異性を有するポリクローナル抗体を調製する方法であって

50

、
 (a) 抗体反応を誘発する条件下で、SEQ ID NO:1-35からなる群から選択したアミノ酸配列又はその免疫原性断片を含むポリペプチドを用いて動物を免疫化する過程と、

(b) 前記動物から抗体を単離する過程と、

(c) 前記単離された抗体を前記ポリペプチドでスクリーニングし、それによって、SEQ ID NO: 1-35からなる群から選択したアミノ酸配列を含むポリペプチドに特異結合するポリクローナル抗体を同定する過程とを含むような方法。

【請求項 37】

請求項 36 の方法で産生したポリクローナル抗体。

【請求項 38】

請求項 37 のポリクローナル抗体と好適なキャリアとを有る組成物。

10

【請求項 39】

請求項 11 に記載の抗体の特異性を有するモノクローナル抗体を作製する方法であって

、
 (a) 抗体反応を誘発する条件下で、SEQ ID NO:1-35からなる群から選択したアミノ酸配列又はその免疫原性断片を含むポリペプチドを用いて動物を免疫化する過程と、

(b) 前記動物から抗体産出細胞を単離する過程と、

(c) 前記抗体産出細胞と不死化した細胞とを融合して、モノクローナル抗体を産出するハイブリドーマ細胞を形成する過程と、

(d) 前記ハイブリドーマ細胞を培養する過程と、

20

(e) SEQ ID NO: 1-35からなる群から選択したアミノ酸配列を含むポリペプチドに特異結合するようなモノクローナル抗体を前記培養物から単離する過程とを含むことを特徴とする方法。

【請求項 40】

請求項 39 に記載の方法で産出したモノクローナル抗体。

【請求項 41】

請求項 40 に記載のモノクローナル抗体と適切なキャリアとを含む組成物。

【請求項 42】

F a b 発現ライブラリをスクリーニングすることにより産出されることを特徴とする請求項 11 に記載の抗体。

30

【請求項 43】

組換え免疫グロブリンライブラリのスクリーニングにより前記抗体を産出することを特徴とする請求項 11 に記載の抗体。

【請求項 44】

サンプル中のSEQ ID NO: 135からなる群から選択したアミノ酸配列を含むポリペプチドを検出する方法であって、

(a) 請求項 11 に記載の抗体と前記ポリペプチドとの特異結合を許容する条件下で、前記抗体と 1 サンプルとをインキュベートする過程と、

(b) 特異結合を検出する過程とを含み、該特異結合が、SEQ ID NO: 135からなる群から選択したアミノ酸配列を有するポリペプチドがサンプル中に存在することを標示することを特徴とする方法。

40

【請求項 45】

SEQ ID NO:1-35 からなる群から選択したアミノ酸配列を有するポリペプチドを精製する方法であって、

(a) 請求項 11 に記載の抗体と前記ポリペプチドとの特異結合を許容する条件下で、前記抗体と 1 サンプルとをインキュベートする過程と、

(b) 前記サンプルから前記抗体を分離し、SEQ ID NO:1-35からなる群から選択したアミノ酸配列を含む精製ポリペプチドを得る過程とを含むことを特徴とする方法。

【請求項 46】

マイクロアレイの少なくとも 1 つのエLEMENTが請求項 13 に記載のポリヌクレオチド

50

であることを特徴とするマイクロアレイ。

【請求項 4 7】

ポリヌクレオチドを含むサンプルの発現プロファイルを作製する方法であって、

- (a) サンプル中のポリヌクレオチドを標識化する過程
- (b) ハイブリダイゼーション複合体が形成されるのに適した条件下で請求項 4 6 のマイクロアレイの要素とサンプル中の標識化ポリヌクレオチドとを接触させる過程と、
- (c) サンプル中のポリヌクレオチドの発現を定量する過程を含む方法

【請求項 4 8】

或る固体基板上的固有の物理的位置に付着された種々のヌクレオチド分子を有するアレイであって、少なくとも 1 つの前記ヌクレオチド分子が、或る標的ポリヌクレオチドの少なくとも 3 0 の連続したヌクレオチド群と特異的にハイブリダイズ可能な最初のオリゴヌクレオチド又はポリヌクレオチド配列を有し、前記の標的ポリヌクレオチドが請求項 1 2 に記載のポリヌクレオチドであることを特徴とするアレイ。

10

【請求項 4 9】

請求項 4 8 に記載のアレイで、前記の最初のオリゴヌクレオチド又はポリヌクレオチドの配列が前記の標的ポリヌクレオチドの少なくとも 3 0 の連続したヌクレオチドに完全に相補的であることを特徴とするアレイ。

【請求項 5 0】

請求項 4 8 に記載のアレイで、前記の最初のオリゴヌクレオチド又はポリヌクレオチドの配列が前記の標的ポリヌクレオチドの少なくとも 6 0 の連続したヌクレオチドに完全に相補的であることを特徴とするアレイ。

20

【請求項 5 1】

請求項 4 8 に記載のアレイで、前記のオリゴヌクレオチド又はポリヌクレオチドの最初の配列が前記の標的ポリヌクレオチドに完全に相補的であることを特徴とするアレイ。

【請求項 5 2】

請求項 4 8 に記載のアレイで、マイクロアレイであることを特徴とするアレイ。

【請求項 5 3】

請求項 4 8 に記載のアレイで、前記のオリゴヌクレオチド又はポリヌクレオチドの最初の配列を有する或るヌクレオチド分子にハイブリダイズした前記の標的ポリヌクレオチドを更に有することを特徴とするアレイ。

30

【請求項 5 4】

請求項 4 8 に記載のアレイで、或るリンカーが前記のヌクレオチド分子の少なくとも 1 つと前記の固体基板とを連結していることを特徴とするアレイ。

【請求項 5 5】

請求項 4 8 に記載のアレイで、該基板上的固有の物理的位置の各々が複数のヌクレオチド分子を含み、任意の単一の固有の物理的位置でのその複数のヌクレオチド分子は同一の配列を有し、該基板上的固有の物理的位置の各々は、該基板上的別の固有の物理的位置でのヌクレオチド分子群の配列とは異なる或る配列を有するヌクレオチド分子群を含むことを特徴とするアレイ

【請求項 5 6】

SEQ ID NO:1 のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。

40

【請求項 5 7】

SEQ ID NO:2 のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。

【請求項 5 8】

SEQ ID NO:3 のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。

【請求項 5 9】

SEQ ID NO:4 のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。

【請求項 6 0】

SEQ ID NO:5 のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。

【請求項 6 1】

50

- SEQ ID NO:6のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。
【請求項 6 2】
- SEQ ID NO:7のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。
【請求項 6 3】
- SEQ ID NO:8のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。
【請求項 6 4】
- SEQ ID NO:9のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。
【請求項 6 5】
- SEQ ID NO:10のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。
【請求項 6 6】 10
- SEQ ID NO:11のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。
【請求項 6 7】
- SEQ ID NO:12のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。
【請求項 6 8】
- SEQ ID NO:13のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。
【請求項 6 9】
- SEQ ID NO:14のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。
【請求項 7 0】
- SEQ ID NO:15のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。
【請求項 7 1】 20
- SEQ ID NO:16のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。
【請求項 7 2】
- SEQ ID NO:17のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。
【請求項 7 3】
- SEQ ID NO:18のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。
【請求項 7 4】
- SEQ ID NO:19のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。
【請求項 7 5】
- SEQ ID NO:20のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。
【請求項 7 6】 30
- SEQ ID NO:21のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。
【請求項 7 7】
- SEQ ID NO:22のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。
【請求項 7 8】
- SEQ ID NO:23のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。
【請求項 7 9】
- SEQ ID NO:24のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。
【請求項 8 0】
- SEQ ID NO:25のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。
【請求項 8 1】 40
- SEQ ID NO:26のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。
【請求項 8 2】
- SEQ ID NO:27のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。
【請求項 8 3】
- SEQ ID NO:28のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。
【請求項 8 4】
- SEQ ID NO:29のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。
【請求項 8 5】
- SEQ ID NO:30のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。
【請求項 8 6】 50

- SEQ ID NO:31のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。
【請求項 8 7】
- SEQ ID NO:32のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。
【請求項 8 8】
- SEQ ID NO:33のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。
【請求項 8 9】
- SEQ ID NO:34のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。
【請求項 9 0】
- SEQ ID NO:35のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。
【請求項 9 1】
- SEQ ID NO:36のポリヌクレオチド配列を含む請求項 1 2 に記載のポリヌクレオチド。
【請求項 9 2】
- SEQ ID NO:37のポリヌクレオチド配列を含む請求項 1 2 に記載のポリヌクレオチド。
【請求項 9 3】
- SEQ ID NO:38のポリヌクレオチド配列を含む請求項 1 2 に記載のポリヌクレオチド。
【請求項 9 4】
- SEQ ID NO:39のポリヌクレオチド配列を含む請求項 1 2 に記載のポリヌクレオチド。
【請求項 9 5】
- SEQ ID NO:40のポリヌクレオチド配列を含む請求項 1 2 に記載のポリヌクレオチド。
【請求項 9 6】
- SEQ ID NO:41のポリヌクレオチド配列を含む請求項 1 2 に記載のポリヌクレオチド。
【請求項 9 7】
- SEQ ID NO:42のポリヌクレオチド配列を含む請求項 1 2 に記載のポリヌクレオチド。
【請求項 9 8】
- SEQ ID NO:43のポリヌクレオチド配列を含む請求項 1 2 に記載のポリヌクレオチド。
【請求項 9 9】
- SEQ ID NO:44のポリヌクレオチド配列を含む請求項 1 2 に記載のポリヌクレオチド。
【請求項 1 0 0】
- SEQ ID NO:45のポリヌクレオチド配列を含む請求項 1 2 に記載のポリヌクレオチド。
【請求項 1 0 1】
- SEQ ID NO:46のポリヌクレオチド配列を含む請求項 1 2 に記載のポリヌクレオチド。
【請求項 1 0 2】
- SEQ ID NO:47のポリヌクレオチド配列を含む請求項 1 2 に記載のポリヌクレオチド。
【請求項 1 0 3】
- SEQ ID NO:48のポリヌクレオチド配列を含む請求項 1 2 に記載のポリヌクレオチド。
【請求項 1 0 4】
- SEQ ID NO:49のポリヌクレオチド配列を含む請求項 1 2 に記載のポリヌクレオチド。
【請求項 1 0 5】
- SEQ ID NO:50のポリヌクレオチド配列を含む請求項 1 2 に記載のポリヌクレオチド。
【請求項 1 0 6】
- SEQ ID NO:51のポリヌクレオチド配列を含む請求項 1 2 に記載のポリヌクレオチド。
【請求項 1 0 7】
- SEQ ID NO:52のポリヌクレオチド配列を含む請求項 1 2 に記載のポリヌクレオチド。
【請求項 1 0 8】
- SEQ ID NO:53のポリヌクレオチド配列を含む請求項 1 2 に記載のポリヌクレオチド。
【請求項 1 0 9】
- SEQ ID NO:54のポリヌクレオチド配列を含む請求項 1 2 に記載のポリヌクレオチド。
【請求項 1 1 0】
- SEQ ID NO:55のポリヌクレオチド配列を含む請求項 1 2 に記載のポリヌクレオチド。
【請求項 1 1 1】

- SEQ ID NO:56のポリヌクレオチド配列を含む請求項 1 2 に記載のポリヌクレオチド。
 【請求項 1 1 2】
 SEQ ID NO:57のポリヌクレオチド配列を含む請求項 1 2 に記載のポリヌクレオチド。
 【請求項 1 1 3】
 SEQ ID NO:58のポリヌクレオチド配列を含む請求項 1 2 に記載のポリヌクレオチド。
 【請求項 1 1 4】
 SEQ ID NO:59のポリヌクレオチド配列を含む請求項 1 2 に記載のポリヌクレオチド。
 【請求項 1 1 5】
 SEQ ID NO:60のポリヌクレオチド配列を含む請求項 1 2 に記載のポリヌクレオチド。
 【請求項 1 1 6】
 SEQ ID NO:61のポリヌクレオチド配列を含む請求項 1 2 に記載のポリヌクレオチド。
 【請求項 1 1 7】
 SEQ ID NO:62のポリヌクレオチド配列を含む請求項 1 2 に記載のポリヌクレオチド。
 【請求項 1 1 8】
 SEQ ID NO:63のポリヌクレオチド配列を含む請求項 1 2 に記載のポリヌクレオチド。
 【請求項 1 1 9】
 SEQ ID NO:64のポリヌクレオチド配列を含む請求項 1 2 に記載のポリヌクレオチド。
 【請求項 1 2 0】
 SEQ ID NO:65のポリヌクレオチド配列を含む請求項 1 2 に記載のポリヌクレオチド。
 【請求項 1 2 1】
 SEQ ID NO:66のポリヌクレオチド配列を含む請求項 1 2 に記載のポリヌクレオチド。
 【請求項 1 2 2】
 SEQ ID NO:67のポリヌクレオチド配列を含む請求項 1 2 に記載のポリヌクレオチド。
 【請求項 1 2 3】
 SEQ ID NO:68のポリヌクレオチド配列を含む請求項 1 2 に記載のポリヌクレオチド。
 【請求項 1 2 4】
 SEQ ID NO:69のポリヌクレオチド配列を含む請求項 1 2 に記載のポリヌクレオチド。
 【請求項 1 2 5】
 SEQ ID NO:70のポリヌクレオチド配列を含む請求項 1 2 に記載のポリヌクレオチド。

10

20

30

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

本発明は新規な核酸、これらの核酸によってコードされる免疫応答関連タンパク質に関する。またこれらの核酸及びタンパク質の、免疫系疾患、神経疾患、発達障害、筋疾患及び細胞増殖異常の診断、治療及び予防における利用に関する。本発明はまた、核酸及び免疫応答関連タンパク質の発現に対する外因性化合物の作用の評価に関する。

【背景技術】

【0 0 0 2】

すべての脊椎動物ではウイルス、細菌、真菌及び寄生虫の感染から保護する極めて複雑な免疫系が発達している。これらの免疫系には体液性免疫、補体カスケード及び炎症応答のプロセスが含まれる (Paul, W.E. (1993) Fundamental Immunology, Raven Press, Ltd., New York NY 1-20ページ参照)。

【0 0 0 3】

免疫系の細胞成分には6つの異なった型の白血球、すなわち、単球、リンパ球、多型核顆粒球 (好中球、好酸球及び好塩基球) 及び形質細胞が含まれる。さらに、骨髄で白血球の7番目の型である巨核球の断片は、血小板として血中に多数生じる。

【0 0 0 4】

40

50

白血球は骨髄で二つの幹細胞系から形成される。骨髄球性幹細胞系は顆粒球と単球を産生し、リンパ球性幹細胞系はリンパ球を産生する。リンパ細胞は胸腺、脾臓及びリンパ節に移行し、そこで成熟し、リンパ球に分化する。白血球は侵入する病原体からの体の防衛を担う。好中球及び単球は侵入細菌、ウイルス及びその他の病原体を攻撃し、貪食作用によってこれらを破壊する。単球は組織に入り、極めて貪食作用の強いマクロファージに分化する。リンパ球及び形質細胞は免疫系の一部であり、この免疫系は特殊な外来分子及び生物体を認識し、それらを不活性化し、また侵入体を攻撃する他の細胞にシグナルを送る。

【0005】

顆粒球及び単球は骨髄で形成され、必要になるまで骨髄で保存される。巨核球は骨髄で産生され、そこで血小板に断片化され、血流中に放出される。血小板の主な機能は血液凝固機構を活性化することである。リンパ球と形質細胞は、リンパ節、脾臓、胸腺及び扁桃腺などの種々のリンパ行性臓器 (lymphogenous organs) で産生される。

10

【0006】

好中球とマクロファージは共に炎症部位に対して走化性を示す。病原侵入に応答した組織炎症によって、エンドトキシン又は他の細菌産物、プロスタグランジン及び白血球又は血小板の産物などの白血球化学誘因物質を産生する。微生物の免疫認識には特異的細菌タンパク質に結合するパターン認識分子が関与する。例えば、ペプチドグリカン認識タンパク質は、多くの細菌の細胞壁の構成成分であるペプチドグリカンを結合し、細菌に対する免疫防衛を誘発する (Liu, C 他 (2001) J. Biol. Chem. 276:34686-34694)。

20

【0007】

好塩基球は炎症過程に関与する化学物質の放出に関与する。好塩基球の主要機能はこれらの化学物質を「単細胞内分泌腺」と称されるほど分泌することである。好塩基球分泌の異なっている面は、好中球、好酸球及び単球の場合のように、液胞中にでなく、細胞外環境に直接入ることである。好塩基球は他の白血球に存在しない免疫グロブリン E (I g E) の F c 断片の受容体を有する。抗 I g E 又は他のリガンドを有する膜 I g E の架橋によって脱顆粒が誘発される。

【0008】

好酸球は好酸性顆粒を含む二核性又は多核性白血球である。これらの原形質膜は I g 受容体、特に I g G 及び I g E を特徴とする。好酸球は一般に骨髄に保存され、炎症部位又は侵入部位での使用に動員される。これらは寄生虫感染やアレルギー反応において特殊な作用を有しており、炎症を引き起こす肥満細胞や好塩基球によって放出される物質のいくらかを解毒すると考えられている。さらに、これらは抗原抗体複合体を貪食し、さらに炎症の拡大の防御を助ける。

30

【0009】

単核貪食細胞機構は骨髄の前駆細胞、循環中の単球、及びマクロファージで構成されている。マクロファージは血流を出て組織に常駐する単球である。一旦、単球が組織に移行すると、血流に戻ることはない。単球は数倍の大きさに増大し、進入した組織に特徴的なマクロファージに変換し、組織内で数ヶ月生存する。単核貪食細胞機構は極めて迅速かつ広範囲の貪食作用を示すことができる。マクロファージは 100 個以上の細菌を貪食し、それらを消化し、残留物を噴出し、その後、何ヶ月も生存する。マクロファージはまた赤血球やマラリア寄生虫などの大きい粒子を消化する能力を有する。

40

【0010】

単核貪食細胞は外来病原体、特に結核菌、リステリア、リーシュマニア及びトキソプラズマのような細胞内微生物による侵入から体を防衛するのに必須である。マクロファージはまた、貪食作用及び加水分解性酵素類を介して腫瘍細胞の増殖を制御することもできる。マクロファージの他の重要な機能は抗原プロセッシング及び抗原を生化学的に修飾した形態でリンパ球に提示する機能である。

【0011】

免疫系は、二つの主な方法、すなわち、抗体産生と細胞媒介応答で微生物の侵入に応答

50

する。抗体は、Bリンパ球によって産生される免疫グロブリンタンパク質であるが、Bリンパ球は、特異抗原に結合し、不活化し、又は他の細胞による抗原破壊を促進する。細胞媒介免疫応答には感染宿主細胞の表面で外来抗原と反応するTリンパ球(T細胞)が関与する。T細胞のタイプによって、T細胞自体が感染細胞を殺すか、又は感染細胞を破壊するマクロファージや他の細胞を活性化するシグナルを分泌する(Paul、前出)。

【0012】

Tリンパ球は骨髓、又は胎児の肝臓で発生する。前駆細胞は血液を介して胸腺に移行し、そこでプロセッシングされて成熟化してTリンパ球になる。このプロセッシングは、外来抗原と反応し、自己分子には反応しないようなT細胞の正と負の選択に関わるため重大である。プロセッシングの後、T細胞は持続的に血中及び二次リンパ組織内を循環する。二次リンパ組織とはリンパ節、脾臓、特定の胃腸管内上皮随伴組織、呼吸器官及び皮膚である。Tリンパ球が相補的抗原(complementary antigen)で提示された場合、これらは刺激されてリンパ系や血液系に多数の活性化T細胞を増殖し、放出する。これらの活性化されたT細胞は数日間生存し、循環する。同時に、T免疫記憶細胞が産生されて、これは数ヶ月から数年間リンパ組織中に留まる。これらの記憶細胞がその特異的抗原に次に露出されると、最初の抗原によって誘発されたときよりも速く、より強い応答で反応する。これによって、何年もの間免疫を提供することができる「免疫記憶」を作成する。

10

【0013】

成人の肝臓は胸腺外T細胞、ナチュラルキラー(NK)細胞及び顆粒球を生じる。マウス肝で産生された胸腺外T細胞ハNK1.1+TCR(int)(NKT)及びNK1.1TCR(int)細胞ヲ含む中間体T細胞受容体(TCR(int))細胞である。細胞外T細胞は老化、或いは、感染、悪性腫瘍、妊娠、自己免疫疾患、慢性移植片対宿主病などのストレスで数が増加する。これらの条件の下では、通常のT細胞を産生する胸腺でのT細胞分化が抑制される。胸腺外T細胞は自己反応性クローンを含んでおり、異常な自己細胞(例えば、悪性腫瘍細胞、微生物感染した肝細胞及び再生中の肝細胞)に対する細胞毒性を媒介する。

20

【0014】

T細胞には主な二つのタイプがある。つまり、細胞毒性T細胞は感染宿主細胞を破壊し、ヘルパーT細胞は化学的シグナルを介して他の白血球を活性化する。一つのクラスのヘルパー細胞、 $T_H 1$ はマクロファージを活性化して消化した微生物を破壊し、他方、もう一つの $T_H 2$ はB細胞による抗体産生を刺激する。

30

【0015】

細胞毒性T細胞は感染した標的細胞を直接攻撃する。T細胞表面の受容体は感染細胞表面のMHC分子によって提示された抗原に結合する。抗原に結合することによって一旦活性化されると、T細胞はシグナル分子であるインターフェロンを分泌する。このシグナル分子は細胞毒性T細胞に対してウイルス性(又は他の)抗原を示すために必要な遺伝子の発現を誘発する。細胞毒性T細胞はプログラムされた細胞死を刺激することによって感染細胞を殺す。

【0016】

ヘルパーT細胞は全T細胞集団の75%までを構成する。ヘルパーT細胞は、免疫系の他の細胞や骨髓に働く種々のリンホカインを産生して免疫機能を制御する。これらのリンホカインの中にはインターロイキン2~6、顆粒-単球コロニー刺激因子及びインターフェロンがある。

40

【0017】

ほとんどのB細胞が抗原に応答するためにヘルパーT細胞を必要とする。活性化されたヘルパー細胞がB細胞に接触すると、その中心体とゴルジ装置(内網装置)はB細胞の方に志向し、CD40と呼ばれる膜貫通結合タンパク質のようなシグナル分子をB細胞の表面に配向するのを助けてCD40膜貫通タンパク質と相互作用する。分泌されたシグナルはまた、B細胞が増殖し、成熟し、場合によっては、産生される抗体のクラスを切り替えるのを助ける。

50

【0018】

Bリンパ球（B細胞）は病原体によって提示される特異的抗原性タンパク質と反応する抗体を産生する。B細胞は一旦活性化されると、広範囲の粗面小胞体で満たされるようになり、これは形質細胞として知られている。T細胞では、B細胞と抗原との相互作用によって、その抗原に特異的な抗体を産生するこれらのB細胞のみの増殖が刺激される。免疫グロブリンとして知られる抗体の5つのクラスがあり、これらを合わせると、全血漿タンパク質の約20%を構成する。各々のクラスは抗原結合後に特徴的生物反応を仲介する。特異的抗原によって活性化されると、B細胞はその抗体の膜結合抗体から分泌型抗体を産製することにスイッチする。

【0019】

抗体又は免疫グロブリンは免疫グロブリン（Ig）スーパーファミリーと体液性免疫応答の中心的成分の基礎的メンバーである。抗体はB細胞表面に発現されるか、或いは、B細胞によって循環中に分泌されるかのいずれかである。抗体は血液によって運ばれる外来抗原に結合し、中和する。プロトタイプの抗体は、ジスルフィド結合によって連結された2つの同じポリペプチド重鎖（H鎖）と2つの同じポリペプチド軽鎖（L鎖）からなる四量体である。この配列は、抗体分子に対して特徴的なY型を形成する。抗体はH鎖組成に基づいて分類される。抗体の5つのクラスであるIgA、IgD、IgE、IgG及びIgMは、 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 、及び μ のH鎖型によって定義される。L鎖には κ と λ の2つのタイプがあり、どちらも、対としていずれかのH鎖対に会合し得る。血液循環中に見られる抗体の最も一般的なクラスであるIgGは四量体であるが、抗体の他のクラスのものは一般にこの基本的構造の変異体か、又は多量体である。

【0020】

H鎖とL鎖は各々、N末端可変領域とC末端定常領域を有する。定常領域はL鎖の約110のアミノ酸と、H鎖の約330又は440のアミノ酸から構成される。定常領域のアミノ酸配列は、或る特定クラスのH鎖又はL鎖群の内では、ほぼ同一である。可変領域は約110のアミノ酸からなり、H鎖とL鎖の両方にある。しかし、可変領域のアミノ酸配列は、特定クラスのH鎖又はL鎖群の中でも異なる。H鎖又はL鎖の可変領域のそれぞれに、広範な配列多様性を持つ3つの高頻度可変領域があり、各々約5～10のアミノ酸からなる。抗体分子において、H鎖及びL鎖の高頻度可変領域は1つになり、抗原認識部位を形成する（Alberts, B.他（1994）*Molecular Biology of the Cell*, Garland Publishing, New York, NY, 1206-1213及び1216-1217ページに概説されている）。

【0021】

免疫系は体内に入る外来分子を認識し、それに応答する能力を持っている。したがって、免疫系はすべての可能性のある抗原に対する抗体の完全な蓄積で武装していなければならない。このような抗体の多様性は、可変領域と定常領域とをコードする遺伝子セグメント群の体細胞性再配列によって作られる。これらの遺伝子セグメント群は、各々の遺伝子セグメントが隣接する高度に保存されたDNA配列間で生じる、部位特異的組換えによって連結されている。何百という異なった遺伝子セグメントがあるため、何百万という独自の遺伝子が、組み合わせにより作成され得る。その上、これらのセグメントの不正確な連結とこれらのセグメント内での異常に高頻度の体細胞性突然変異が、多様な抗体集団の産生に更に寄与している。

【0022】

H鎖とL鎖は両方とも反復されるIgドメインを含む。例えば、典型的なH鎖は4つのIgドメインを含んでおり、そのうちの3つは定常領域内に発生し、1つは可変領域内に発生して抗原認識部位の形成に寄与している。同様にして、典型的なL鎖は2つのIgドメインを含み、そのうちの1つは定常領域内に発生し、他の1つは可変領域内に発生する。さらに、 μ のようなH鎖はB細胞が分化するとき他のポリペプチドと会合することがわかっている。

【0023】

抗体は、その2つの主要な機能ドメインの面から説明され得る。抗原認識を仲介するの

10

20

30

40

50

は抗体の F a b (抗原結合フラグメント)領域であり、エフェクター機能を仲介するのは F c (結晶可能フラグメント)領域である。細菌のような抗原への抗体の結合は、食作用白血球、例えばマクロファージ及び好中球による抗原の破壊を誘起する。これらの細胞は抗体の F c 領域に特異結合する表面受容体を発現し、食細胞に抗体結合抗原を取り込み、消化し、破壊させる。貪食細胞によって発現された F c 受容体は約 3 0 0 から 4 0 0 のアミノ酸の一回膜貫通糖タンパク質である (Sears, D.W. 他 (1990) J. Immunol. 144:371-378)。F c 受容体の細胞外部分は通常二つ又は三つの I g ドメインを含む。

【 0 0 2 4 】

どのタイプの白血球でもその一つのタイプの白血球が過剰又は不足するような疾患では、通常、免疫防衛機構全体が関わることになる。最も、有名な自己免疫疾患はエイズ (後天性免疫不全症候群) である。この疾患ではヘルパー細胞の数が枯渇し、患者が微生物や寄生虫による感染に罹りやすくなる。

10

【 0 0 2 5 】

他の免疫系に起因しうる広汎な病状は特定の抗原に対するアレルギー反応状態である。遅延反応型アレルギーは多くの遺伝子的に正常な人々にも経験される。アトピー性アレルギーの場合では、大量の I g E 抗体が産生されると言うような遺伝的起源がある。I g E は肥満細胞と好塩基球に強く付着する傾向があり、各々最高 5 0 万個 (I g E / 肥満細胞) まで付着し、次に破裂し、ヒスタミン、ロイコトリエン、好酸球走化物質、プロテアーゼ、好中球走化物質、ヘパリン及び血小板活性化因子を放出する。組織はこれらの物質に多くの形態で応答することができ、その結果、一般にアレルギー反応、つまり、枯草熱、喘息、アナフィラキシー及び蕁麻疹を生じる。

20

【 0 0 2 6 】

白血病は白血球の過剰産生であり、この過剰産生は、体の代謝源の主な部分が白血球の増殖のみへと誘導され、他の組織が飢餓状態になるまで行われる。リンパ行性白血病では、癌性リンパ行性細胞がリンパ節から他の体の部分へと広がる。過剰な T リンパ球と B リンパ球が産生される。骨髄性白血病では、癌性の若年型骨髄性細胞が骨髄から他の組織、特に脾臓、肝臓、リンパ節及び他の高度に血管新生化された領域に広がる。通常、放出された余分な白血病細胞は未熟で、機能できず、分化されていない。時折、部分的に分化された細胞が産生され、好中球性白血病、好酸球性白血病、好塩基球性白血病或いは、単球性白血病のような疾患になる。白血病は放射線、毒性化学薬品などの環境因子に暴露されることによって、或いは遺伝的異常によって引き起こされ得る。

30

【 0 0 2 7 】

白血球減少症又は無顆粒球症は、骨髄が白血球の産生を停止した場合に発症する。これは身体を外來細菌 (通常、皮膚、粘膜及び胃腸管に存在する細菌など) から保護しなくなる。すべての白血球産生が完全に停止すると、感染症を二日以内に発症し、1 - 4 日後には死亡し得る。急性白血球減少病は放射線又はベンゼンを含む化学薬品への暴露によって引き起こされ得る。しばしば、クロラムフェニコール及びチオウラシルのような薬物が骨髄による血液細胞産生を抑制し、無顆粒球症の発症を惹起し得る。単芽球性白血病の場合では、血液中及び骨髄内の幼稚な単球は成熟しない。臨床症状 (高レベルの血清中リゾチームレベル、腎尿細管機能不全及び高熱) はこの異常性を反映する。

40

【 0 0 2 8 】

単球性白血病、全身性狼瘡及び肉芽腫性疾患などの幾つかの疾患において貪食作用の障害が生じる。このような状態において、マクロファージは正常に貪食作用を行うことができるが、取り込んだ細菌を殺すことができない。原形質膜酵素に或る欠損があり、この欠損によって酸素が致死的な反応形態に変換される。これによって、肝臓、肺、脾臓、リンパ節及び皮下で膿瘍が生じる。

【 0 0 2 9 】

好酸球増加症は通常、アレルギー患者 (枯草熱、喘息)、薬物アレルギー、関節リウマチ及び癌 (ホジキンス病、肺癌及び肝臓癌) 患者に見られる好酸球の増加である。これらの疾患での好酸球レベルが増加する機序は不明である (Isselbacher, K.J. 他 (1994) H

50

arrison's Principles of Internal Medicine, McGraw-Hill, Inc. New York, NY)。

【0030】

宿主防衛は補体系によってさらに補強される。補体系は作動体機構として働き、感染物質の認識に参与する。補体系は独立した免疫ネットワークとして働くか、又は、他の液性免疫応答と共に働く。補体系は、一つの成分が次の成分を活性化して、カスケード状の一連の反応で作用する多くの血漿タンパク質や膜タンパク質から構成されている。その結果として、炎症応答又は、貪食作用の増加によって感染に迅速で増幅された応答となる。

【0031】

補体系は30以上のタンパク質成分を有しており、これらは、修飾されたセリンプロテアーゼ、膜結合タンパク質及び補体活性化の制御因子を含む機能的グループに分けることが出来る。活性化は二つの異なった経路、すなわち、古典経路と第二経路によってなされる。どちらの経路も、異なった誘発機構による感染物質の破壊に参与し、最終的に補体C3の関与で合流する。

【0032】

アナフィラトキシンC5aは補体系が活性化される時に産生される炎症誘発性ペプチドである。C5aの構造には、4つの逆平行ヘリックスからなる中心部があり、これらのヘリックスは三つのジスルフィド結合と構造化されたC末端尾部によって結合されている。C5a受容体は、膜7回貫通Gタンパク質結合受容体の大きいクラスに属する。C5a受容体は血液顆粒球(好中球、好酸球及び好塩基球)及び組織炎症細胞(マクロファージ、肥満細胞、ミクログリア)に集中している。C5a受容体はまた、内皮細胞や平滑筋細胞などの非骨髄性細胞上(ここでさらに血液細胞の遊出や組織浮腫のような炎症反応に影響を与える)に、より少ない濃度で存在する。C5aは多くの急性、慢性疾患に参与すると考えられている(Pellas TC, Wennogle LP. (1999) Curr. Pharm. Des. 5:737755)。ヒトC5aアナフィラトキシン由来のペプチドアゴニストはC5a受容体媒介機能のペプチド/ペプチド擬態修飾因子の開発にとって興味深い。抗原特異的体液性及び細胞性免疫応答の発生が可能な応答選択的C5aアゴニストは治療薬として興味深い(Taylor, S.M. 他(2001) Curr. Med. Chem. 8:675684)。

【0033】

古典経路は感染物質抗原に結合する抗体を必要とする。抗体は標的の定義に参与し、補体系カスケードを開始し、感染病原体の破壊を完結させる。この経路では、抗体がプロセスを先導するため、補体系は体液性免疫系の作動体の武器として見なされ得る。

【0034】

補体系の第二経路は感染病原体破壊用の既存の抗体の存在は必要でない。むしろ、この経路では、低レベルの活性化成分によって、常に準備刺激を受けており、また、非免疫宿主で監視して、感染病原体を標的とし、破壊することができる。この場合は、外来物質によって、カスケードが惹起され、これによって、貪食作用又は溶解が促進される(Paul, 前出、918-919ページ)。

【0035】

宿主防衛の他の重要な要素は、炎症のプロセスである。炎症応答は病原に基づいて4つのカテゴリーに分けられ、これらは、アレルギー性炎症、細胞毒性抗体媒介炎症、免疫複合体媒介炎症及び単球媒介炎症である。炎症は、これらの型の各々の組み合わせで、一型が優性となるように表れる。

【0036】

アレルギー性急性炎症は、特異的抗原によってIgE抗体産生が刺激される個人において観察される。IgE抗体産生の後、抗原IgE複合体の付着によって肥満細胞と好塩基球が活性化され、その結果、ヒスタミンのような細胞質顆粒内容物が放出される。活性化された肥満細胞の産物によって血管透過性が増加され、呼吸器系の平滑筋が収縮し、アナフィラキシー又は喘息にいたる。

【0037】

急性炎症はまた、細胞毒性抗体によって仲介され、補体結合性(complement-fixing)

10

20

30

40

50

抗体の細胞への結合によって組織の破壊が生じ得る。この場合、関与する抗体はI g G又はI g M型であり、その結果生じる臨床疾患は自己免疫溶血性貧血及び血小板減少（全身性エリテマトーデスに伴う）がある。

【0038】

免疫複合体媒介急性炎症には、抗原と結合して補体カスケードを活性化するタイプの抗体、I g G又はI g Mが関与している。このような免疫複合体が好中球やマクロファージと結合すると、呼吸バーストが活性化されて、過酸化水素、水酸化遊離基、次亜塩素酸及びクロラミン等のタンパク質と血管を損傷する物質が形成される。臨床的発症には関節リウマチ及び全身性エリテマトーデスがある。

【0039】

慢性炎症又は遅延型過敏症においては、マクロファージが活性化し、抗原をプロセシングしてT細胞に提示し、そのようなT細胞がリンホカインやモノカインを産生する。このタイプの炎症応答は細胞内寄生虫や特定のウイルスに対する防衛にとって重要と考えられる。臨床的に関連するものとして、肉芽腫症、結核、ハンセン病及びサルコイドーシスが含まれる（Paul、前出、1017-1018ページ）。

【0040】

認識、接着又は結合などの機能を仲介する多くの細胞表面分子及び可溶性分子は、進化における1つの共通の前駆体から進化したものである（すなわち、これらのタンパク質は構造的類似性を示す）。同様の機能を持つ免疫系以外の数多くの分子も、この同じ進化上の前駆体に由来する。これらの分子は、免疫グロブリン（I g）スーパーファミリのメンバーとして分類化される。タンパク質がI gスーパーファミリのメンバーであるための基準は、1つ以上のI gドメインを持ち、それが70～110アミノ酸残基の長さの領域であり、I g可変領域様（V）ドメイン又はI g定常領域様（C）ドメインと相同であることである。I gスーパーファミリのメンバーには抗体（Ab）、T細胞受容体（TCR）、クラスI及びIIの主要組織適合性（MHC）タンパク質、CD2、CD3、CD4、CD8、ポリI g受容体、Fc受容体、神経細胞接着分子（NCAM）及び血小板由来成長因子受容体（PDGFR）などが含まれる。

【0041】

I gドメイン（V及びC）は、ポリペプチドに免疫グロブリン（又は抗体）フォールド（折畳み）と呼ばれる球状三次構造を与える保存されたアミノ酸残基の領域である。免疫グロブリン（又は抗体）フォールドはほぼ平行になった2層のシートからなる55～75アミノ酸残基の長さをもつ、鎖内ジスルフィド結合ループを保存的なシステイン残基が形成し、2層のシートを接続する。各シートは、3又は4本の逆平行ストランドを持ち、各ストランドは5～10アミノ酸残基の長さである。ストランド群内のアミノ酸残基の疎水性及び親水性の相互作用がI gフォールドを安定化させる（疎水性領域はストランドの内向きに面しているアミノ酸残基にあり、親水性領域は外向きに面している部分のアミノ酸残基にある）。VドメインはCドメインより長いポリペプチドで構成され、I gフォールド内に、付加的な1対のストランドを持つ。

【0042】

I gスーパーファミリ遺伝子の一貫した特徴は、あるI gドメインの各配列が1つのエキソンによってコードされることである。I gスーパーファミリは、細胞間相互作用の仲介に関与する1つのI gドメインをコードする遺伝子から進化した可能性がある。そしてスーパーファミリの新たなメンバーは、エキソン及び遺伝子の複製によって生じた。現代のI gスーパーファミリタンパク質は、異なる数のVドメイン及び/又はCドメインを有する。このスーパーファミリの進化上の別の特徴は、DNAの再編成を起こす能力である。これは独自の機能で、ファミリの抗原受容体メンバーが保持している。

【0043】

I gスーパーファミリのメンバーの多くは膜内在性の形質膜タンパク質であり、細胞外I gドメインを持つ。それらの膜貫通ドメイン及びそれらの細胞質内尾部の疎水性アミノ酸残基は非常に多様で、I gファミリのメンバー内又は既知のシグナル伝達をする構造と

10

20

30

40

50

の相同性は少ないか又は欠いている。スーパーファミリーに関するこの一般的な記述には例外がいくつかある。例えば、PDGFRの細胞質内尾部は、チロシンキナーゼ活性を持つ。また、Thy-1は、胸腺細胞及びT細胞で見られる糖タンパク質である。このタンパク質は細胞質内尾部を持たないが、その代わりに原形質膜に共有結合によるグリコシルホスファチジルイノシトール結合で固着している。

【0044】

Igスーパーファミリータンパク質の多くはまた、これらの分子の機能に必須の、Igドメイン間の相互作用という別の共通の特徴を持っている。多量体タンパク質のIgドメイン間の相互作用には、同種親和性のものと異種親和性(すなわち、同じIgドメイン間の作用、又は異なるIgドメイン間の作用)のものがある。抗体は多量体タンパク質であり、Igドメイン間の同種親和性と異種親和性の双方の相互作用を持つ。重鎖の定常領域の対が抗体のFc領域を形成し、軽鎖及び重鎖の可変領域の対が抗体の抗原結合部位を形成する。異種親和性の相互作用はまた、異なる分子のIgドメイン間でも起こる。これらの相互作用は免疫系における、又は発生中及び成熟した神経系における重要な細胞間相互作用のための細胞間の接着を提供する(Abbas, A.K. 他(1991) *Cellular and Molecular Immunology*, W.B. Saunders Company, Philadelphia, PA, 142-145ページ)。

10

【0045】

神経細胞接着タンパク質

神経細胞接着タンパク質(NCAP)は、神経系の発生及び再生中の神経ネットワークの確立に役割を果たしている(Uyemura, K. 他(1996) *Essays Biochem.* 31:37-48; Brummendorf and Rathjen (1996) *Curr. Opin. Neurobiol.* 6:584-593)。NCAPは神経細胞の遊走、細胞接着、突起進展、軸索の繊維束形成、経路発見、シナプス認識、シナプス形成、髄鞘形成及び再生に関与する。NCAPは学習と記憶に関連するニューロンの表面で発現されている。NCAPSをコードする遺伝子の突然変異は、遺伝性の神経障害であるCharcotMarieToo病、DejerineSOTTAS病、X遺伝子連鎖の水頭症、MASA症候群(精神薄弱、失語症、引きずり歩行、及び親指の内転)及びタイプIの痙性対麻痺等の神経疾患に関連付けられている。NCAPの発現は神経系に限られていない場合もある。例えば、L1は黒色腫細胞及び造血腫瘍細胞で発現していて、細胞の伸展と遊走に関与しているとされ、腫瘍の進行に役割を果たしている可能性がある(Montgomery 他(1996) *J. Cell. Biol.* 132:475-485)。

20

30

【0046】

NCAPは少なくとも一つの免疫グロブリンの定常ドメイン又は可変ドメインを有する(Uyemura 他、前出)。これらは一般に膜貫通型ドメイン及び/又はグリコシルホスファチジルイノシトール(GPI)アンカーを通じて原形質膜に結合されている。GPI結合はGPIホスホリパーゼCによって切断されうる。ほとんどのNCAPは、1つ以上の免疫グロブリンドメインからなる細胞外領域、1つの膜貫通ドメイン、及び1つの細胞内領域からなる。多くのNCAPは、共有結合によって付いたオリゴ糖、グルクロン酸、及び硫酸を含む翻訳後修飾を有する。NCAPは、シンプルタイプ、コンプレックスタイプ及びミックスタイプという3つのサブグループに分かれる。シンプルタイプNCAPは一つ以上の可変免疫グロブリンドメイン又は定常免疫グロブリンドメインを含むが、その他のドメインを欠いている。シンプルタイプサブグループのメンバーとしては、シュワン細胞ミエリンタンパク質(Schwann cell myelin protein: SMP)、辺縁系関連膜タンパク質(limbic system-associated membrane protein: LAMP)、アヘン剤結合細胞接着分子(opiate-binding cell-adhesion molecule: OBCAM)等が挙げられる。コンプレックスタイプNCAPは免疫グロブリンドメインに加えてフィブロネクチンタイプIIIドメインを含んでいる。コンプレックスタイプサブグループは神経細胞接着分子(NCAM)、axonin-1、F11、Bravo及びL1を含んでいる。ミックスタイプNCAPは、免疫グロブリンドメインと他のモチーフ(チロシンキナーゼ、上皮成長因子様ドメイン、セマドメイン、PSI(プレキシン、セマフォリン、インテグリン)ドメイン)を組み合わせて含んでいる。このサブグループは、神経成長因子(NGF)及びノイロトロピン4(

40

50

N T 4) 等の神経成長因子の T r k 受容体、グリア成長因子 I I (G G F I I) 及びアセチルコリン受容体誘導因子 (A R I A) 等の N e u 分化因子、セマフォリン B 及びコラプシン等のセマフォリン / コラプシンファミリー、及びプレキシン等のセマフォリン / コラプシンファミリーのメンバ - の受容体 (プレキシンについては下記を参照) を含んでいる。

【 0 0 4 7 】

N C A P サブファミリーの一つである N C A P - L O N サブグループは、脳のニューロンの固有の小集団において発現される細胞接着タンパク質を含んでいる。N C A P - L O N サブグループのメンバーは 3 つの免疫グロブリンドメインを持ち、G P I アンカーを通じて細胞膜に結合する。例えば、k i l o n (N C A P - L O N の近縁) は脳の脳皮質と海馬で発現する (Funatsu 他 (1999) J. Biol. Chem. 274:8224-8230)。 (1999) J. Biol. Chem. 274:8224-8230)。免疫染色によると、K i l o n は垂体ニューロンの樹状突起と細胞体に局在している。K i l o n は 3 つの C 2 タイプ免疫グロブリン様ドメイン、6 つの予想されるグリコシル化部位及び 1 つの G P I アンカーを持っている。K i l o n の発現は発生的に調節されている。胚及び出産後初期の脳と比べて、成人の脳で発現レベルが高くなっている。共焦点顕微鏡により、K i l o n は神経ペプチド、オキシトシン又はアルギニンバソプレッシンを分泌する視床下部大細胞ニューロンの樹状突起に存在することが示されている (Miyata 他 (2000) J. Comp. Neurol. 424:74-85)。アルギニンバソプレッシンは体液のホメオスタシス、細胞外のモル浸透圧濃度及び血管内容積を調節する。オキシトシンは出産時の子宮平滑筋及び授乳時の乳腺の筋上皮細胞の収縮を誘発する。大細胞ニューロンにおいて、K i l o n は神経ペプチド分泌時の樹状突起接続の再構成に役割を果たしている」と提唱されている。

【 0 0 4 8 】

サイドキック (S D K) は N C A P ファミリのメンバーである。S D K の細胞外領域は、6 つの免疫グロブリンドメインと 1 3 のフィブロネクチンタイプ I I I ドメインを含んでいる。S D K はショウジョウバエの眼の発達中に細胞 - 細胞相互作用に参与する (Nguyen, D. N. T. 他 (1997) Development 124: 3303)。

【 0 0 4 9 】

シナプス膜糖タンパク質

特殊な細胞接着が、細胞 - 細胞接触のポイントで起こり得る。これらの細胞接着の中には、細胞間の化学及び電気信号の通過を仲介する連絡結合がある。中枢神経系では、神経間の連絡結合はシナプス結合として知られる。それらはシナプス前及びシナプス後ニューロンの膜と細胞骨格から成る。シナプス膜 (S M) 及びシナプス後密度 (P S D) 分画のような生化学的に単離されたシナプス亜分画に存在するいくつかの糖タンパク質が同定され、その機能が確立されている。一つの例は、 $N a^{+} / K^{+}$ - A T P アーゼの 2 サブユニットとして同定された S M 糖タンパク質の g p 5 0 である。

【 0 0 5 0 】

2 つの糖タンパク質である g p 6 5 と g p 5 5 は、ラットの前脳から作製したシナプス膜の主要な成分である。それらは、それぞれ 3 つ及び 2 つの I g ドメインを含む I g スーパーファミリーのメンバーのメンバーである。I g スーパーファミリーのメンバ - として、これらのタンパク質の可能性のある機能がシナプス結合における接着相互作用を仲介するためのものであると提起されている (Langnaese, K. 他 (1997) J. Biol. Chem. 272:821-827)。

【 0 0 5 1 】

レクチン

レクチンは、細胞表面の糖質に特異的かつ可逆的に結合し、細胞の凝集をもたらす普遍的な細胞外糖タンパク質ファミリーである (Drickamer, K. 及び Taylor, M. E. (1993) Annu. Rev. Cell Biol. 9:237-264 の概説を参照)。

【 0 0 5 2 】

この機能は、免疫反応の活性化に特に重要である。レクチンは炎症部位におけるリンパ球の凝集と分裂誘起刺激を仲介する (Lasky, L. A. (1991) J. Cell. Biochem. 45:139-1

46、Paietta, E. 他(1989) J. Immunol. 143: 2850-2857)。

【0053】

シアリン酸結合Ig様レクチン(SIGLEC)は、糖タンパク質と糖脂質のシアリン酸に結合するIgスーパーファミリのメンバーである。SIGLECには、シアロアドヘシン(sialoadhesin)、CD22、CD33、ミエリン結合性糖タンパク質(MAG)、SIGLEC-5、SIGLEC-6、SIGLEC-7、SIGLEC-8が含まれる。SIGLECの細胞外領域は、膜末端V-セットドメインを有し、次いで異なる数のC2-セットドメインがその後続く。シアリン酸結合ドメインは、V-セットドメインにマッピングされる。神経系だけで発現するMAGを除いて、ほとんどのSIGLECは造血細胞の固有のサブセット上で発現する。例えばSIGLEC-8は、多形核白血球(顆粒球)の1つの形態である好酸球だけで発現する(Floyd, H. 他(2000) J. Biol. Chem. 275:861-866)。

【0054】

ロイシンリッチリピータンパク質

ロイシンリッチリピータンパク質(LRRP)は、タンパク質-タンパク質相互作用に参与する。哺乳動物神経のロイシンリッチリピータンパク質(NLLR-1及びNLLR-2)、ショウジョウバエのコネクチン、slit、chaopin、toll等のLRRPは全て神経の発達に参与する。LRRPの細胞外領域には、様々な数のロイシンリッチリピート、免疫グロブリン様ドメイン、フィブロネクチンタイプIIIドメインが含まれる(Taguchi, A. 他(1996) Brain Res. Mol. Brain Res. 35:31-40)。

【0055】

免疫グロブリン様ドメインのV及びC2セットに加えて、IPT/TIG(immunoglobulin-like fold shared by plexins and transcription factorsの略)と名付けられた1つのDセット免疫グロブリン様ドメインがある。IPT/TIGを含むタンパク質にはプレキシン、MET/RON/SEA(肝細胞成長因子受容体ファミリー)及び転写因子Xcoe2(アフリカツメガエルの初代神経細胞の特殊化に参与するCol/Olf1/EBFファミリーの或る転写因子)が含まれる(Bork, P. 他(1999) Trends in Biochem. 24:261-263; Santoro, N.M. 他(1996) Mol. Cell Biol. 16:7072-7083; Dubois L. 他(1998) Curr. Biol. 8:199209)。プレキシンA等のプレキシンとVESPRは、軸索ガイダンスを制御するニューロンセマフォリン受容体であることが示されてきた(Winberg M. L. 他(1998) Cell 95:903-916)。

【0056】

補体制御タンパク質(CCP)モジュール、又は短いコンセンサスリピートとも呼ばれるSushidメインは、広範囲の補体及び接着タンパク質の中に存在する。CD21(C3d受容体、CR2、EBウイルス受容体又はEBV-Rとも呼ばれる)はEBVの受容体並びにC3d、C3dg及びiC3bの受容体である。補体成分はCD21によってB細胞を活性化し得る。

【0057】

CD21はCD19、CD81及びLeu13をも含む大きいシグナル伝達複合体の一部である。このグループのタンパク質には、赤血球細胞膜の外部の表面マーカーである血液型抗原の分子的基礎に参与するものもある。これらのマーカーの大部分はタンパク質であるが、いくつかは脂質又はタンパク質に付着した糖質である(総説はReid, M.E. 及びC. LomasFrancis (1977) The Blood Group Antigen FactsBook Academic Press, San Diego, CAを参照されたい)。補体崩壊促進因子(抗原CD55)はCromer血液型システムに属しており、Cr(a)、Dr(a)、Es(a)、Tc(a/b/c)、Wd(a)、WES(a/b)、IFC及びUMC抗原と関連している。補体受容体1型(C3b/C4b受容体)(抗原CD35)はKnops血液型システムに属しており、Kn(a/b)、McC(a)、Sl(a)及びYk(a)抗原と関連している。

【0058】

ヒト白血球特異的転写物1(LST1)は免疫応答と細胞形態形成を変調する小さいタ

ンパク質である。L S T 1 は樹状突起細胞において高いレベルで発現される。D N A 結合部位と複数の制御的要素の相互作用は L S T 1 m R N A の種々の形態の発現の仲介に関与し得る (Yu, X. 及び Weissman, S.M. (2000) J. Biol. Chem. 275:3459734608)。

【0059】

S p a l p h a はタンパク質のスカベンジャー受容体システインリッチ (S R C R) ファミリのメンバーである。S p a l p h a はリンパ節組織にのみ発現され、そこで単球の活性化に関与すると考えられている。このようなドメインもまた、アテローム発生時の動脈壁におけるコレステロールの病的沈着に関与する膜糖タンパク質である哺乳類マクロファージスカベンジャー受容体タイプ I の C 末端部にも発見されている (Freeman, M. 他 (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:8810-8814)。

10

【0060】

パーキンソン病

パーキンソン病はドーパミン作動性黒質線条体経路の進行性変性とレビー小体の存在を特徴とする神経変性疾患である。染色体の 2 p 4、4 p 5 及び 1 q 6 ~ 8 上の三つの遺伝子座に対する遺伝的連鎖が同定されている (Gwinn-Hardy K. (2002) Mov. Disord. 17:64 5656)。パーキンソンニズムとして分類される臨床疾患には P D、レビー小体を伴う痴呆 (D L B)、進行性核上性麻痺 (P S P) 及び本態性振戦が含まれる。いくつかの神経変性疾患はタウ又はシヌクレインの凝集を含む病原性機序を共有する。これらの疾患にはアルツハイマー病、ピック病と P D 及び進行性核上性麻痺が含まれる (Hardy, J. (2001) J. Alzheimers Dis. 3:109116)。P D のいくつかの遺伝的に異なった形態は単一遺伝子の突然変異によって引き起こされ得る。パーキンソン病 (P D) の一遺伝子的遺伝形態の遺伝子がマップ及び / 或いはクローンされている。常染色体優性遺伝と典型的レビー小体病理のいくつかの家族における突然変異が - シヌクレインの遺伝子で同定された。レビー小体におけるこのタンパク質の凝集は家族性及び散発性 P D の分子的発生機序における重要な段階であり得る。反対に、パーキンソン遺伝子における突然変異は黒質変性がレビー小体形成によって伴われない早期発症型常染色体劣性パーキンソン病の原因となる。パーキンソン突然変異は極めて早期に発症する患者における P D の一般的な原因であると思われる。パーキンソンがユビキチンリガーゼとして働くことが示されているので、パーキンソンは細胞タンパク質変性経路に関与すると考えられている。この経路におけるユビキチン C 末端ヒドロラーゼ L 1 の遺伝子における突然変異は P D の別の小さいファミリーにおいて同定された。他の遺伝子座は優性遺伝の P D のファミリーにおいてそれぞれ染色体の 2 p と 4 p にマップされた。これらの早期発症形態は P D の一般的散発的形態とは異なる。この大部分の P D 症例において遺伝的原因と環境的原因の組み合わせが関与していると広く考えられている (Gasser, T. (2001) J. Neurol. 2001 248:833840)。

20

30

【0061】

発現プロファイル作成

マイクロアレイは、生体分析で用いられる分析ツールである。マイクロアレイは複数の分子を有し、それらは或る固体支持体の表面で空間的に分布し、その表面と安定して結合している。ポリペプチド、ポリヌクレオチド、そして / 或いは抗体のマイクロアレイが開発されており、その種々の用途には遺伝子シーケンシング、遺伝子発現のモニタリング、遺伝子マッピング、細菌同定、薬剤発見、コンビナトリアルケミストリがある。

40

【0062】

特にマイクロアレイの使用として見出された 1 つの分野は、遺伝子発現分析である。アレイ技術は、単一の多型遺伝子の発現や、多数の関連遺伝子又は無関係の遺伝子の発現プロファイルを探求する、簡単な方法を提供し得る。単一遺伝子の発現を試験するときは、アレイを用いて、或る特定遺伝子又はその変異体の発現を検出する。発現プロファイルを試験するときは、アレイは次のような遺伝子を同定するプラットフォームを提供する。即ちどの遺伝子が組織特異的か、毒性アッセイにおいてテストされる物質に影響されるか、シグナル伝達カスケードの一部であるか、ハウスキーピング機能を実行するか、又は、特定の遺伝的素因や、条件、疾患、又は障害に、特異的に関連する遺伝子であるかの同定で

50

ある。

【0063】

癌

結腸癌はアメリカ合衆国における癌死亡の第二の主要原因であり、その症例の90%が55才以上の人に発症しているため、老化による疾患であるとみなされている。広く認められている仮説は、長年にわたる幾つかの突然変異の蓄積によってこの疾患が発症するとされている。結腸直腸癌における遺伝子変化の本質を理解するために、遺伝性疾患を重視した多くの研究がなされている。第一に、家族性大腸腺腫症(FAP)は、タンパク質の短縮された形態又は不活性な形態につながる大腸腺腫様ポリポーシス遺伝子(APC)の変異により引き起こされる。この癌抑制遺伝子は染色体5qにマップされている。二番目

10

によく知られている遺伝性疾患は遺伝性非ポリープ症結腸直腸癌(HNPCC)で、これはミスマッチの修復遺伝子における突然変異によって生じる。遺伝性大腸癌の発症率は低く、大部分の結腸直腸癌は散発的であるが、遺伝性疾患の研究から理解されることが一般に適用され得る。例えば、APCにおける体細胞の突然変異は散発的結腸腫瘍の少なくとも80%に発生する。APC突然変異は疾患における開始現象であると考えられている。他の突然変異が引き続いて発生する。結腸直腸癌の約50%はrasを活性化する変異を含み、他方85%はp53の不活性化変異を含む。これらの遺伝子のすべての変化によって、結腸癌における遺伝子発現変化が生じる。これらの突然変異の下流の標的と、これらが癌の発症と進行において果たす役割についてはあまり理解されていない。

【0064】

乳癌は米国婦人での最も頻りに診断される癌のタイプであり、二番目に頻度の高い癌死因である。米人女性が乳癌を発症する生涯リスクは8人に1人であり、乳癌と診断された婦人の三分の一が乳癌で死亡する。ホルモン因子、遺伝因子などの多くの危険因子が同定されている。乳癌に伴う一つの遺伝的欠損はp53、Rb、BRCA1及びBRCA2のように複数の遺伝子座でヘテロ接合性(LOH)の欠損を生じる。他の遺伝子欠陥はc-mycとc-erbB2(Her2-neugene)のような遺伝子を含む遺伝子増幅である。ステロイド及び成長因子経路、特にエストロゲン、プロゲステロン及び表皮成長因子(EGF)経路もまた乳癌では変異される。乳癌の発達には複数の段階があり、これらの段階の中で前癌乳腺上皮細胞が比較的順序の決まったイベントを経て腫瘍を形成する。早期の腫瘍発達イベントとして導管過形成がある。急速な新生物成長中の細胞は次第に

30

浸潤性の癌に進行し、肺、骨、そして潜在的には他の臓器へ転移するようになる。腫瘍進行と悪性転換との過程に影響しうる変数としては、遺伝因子、環境因子、成長因子、及びホルモンがある。

【0065】

肺癌は、米国男性の癌死の主因であり、女性の癌死の第2の原因である。肺癌は、4つの組織病理的に異なる群に分けられる。3群(扁平上皮癌、腺癌、大細胞癌)は、非小細胞肺癌(NSCLC)に分類される。第4群の癌は、小細胞肺癌(SCLC)という。3番染色体での欠失は肺癌に一般的であり、この領域に腫瘍抑制遺伝子の存在を示すと思われる。K-rasの活性化突然変異は肺癌で一般的に見られ、この疾患の1つのマウスモデルの基礎である。

【0066】

骨肉腫は小児の最も一般的な悪性骨腫瘍である。患者の約80%が非転移性の疾患を患っている。最初の生検による診断が行われた後、治療には3~4コースのネオアジュバント化学療法後に決定的手術を行い、術後の化学療法が行われる。非転移性骨肉腫患者の結果を予測する最も有意な予後因子は決定的手術の時点で切除される原発腫瘍の組織病理学的応答である。

【0067】

脂肪細胞

脂肪組織は摂食時と空腹時の脂肪の保存及び放出を行う。白色脂肪組織は過剰エネルギー使用時のための主なエネルギー備蓄部位であり、その第一目的は、エネルギー欠乏時の

50

動員性 (mobilization) である。脂肪組織はまた、インスリンの重要な標的組織の 1 つである。脂肪生成と I I 型糖尿病におけるインスリン耐性は関連している。I I 型糖尿病の殆どの患者は肥満であり、肥満は次にインスリン耐性を生じる。

【0068】

インスリンへの感受性を増加するペルオキシソーム増殖因子活性化受容体 (PPAR) アゴニスト薬物の一つのファミリーであるチアゾリジンジオンは、前脂肪細胞の成熟脂肪細胞への分化を誘発することができる。今日までの脂肪細胞生物学における研究の過半数は形質転換マウス前脂肪細胞細胞株を用いて行われていた。マウス前脂肪細胞の分化を刺激する培養条件はヒト細胞における初代前脂肪細胞の分化を誘発する条件とは異なっている。チアゾリジンジオン又は PPAR - アゴニストは、I I 型糖尿病患者でのインスリン感受性を改善し、血漿グルコース及び血圧を下げる、新しいクラスの抗糖尿病薬である。これらの薬剤はオーファン核受容体、(PPAR -) と結合し、活性化することができ、またそれらのいくつかはヒト脂肪細胞の分化を誘発することが証明された。

10

【0069】

ホルボールミリスチン酸アセテート

ジャーカットは、外的刺激なしに活性的に成長する急性 T 細胞白血病細胞株である。ジャーカットは、ヒトの T 細胞でのシグナル伝達を研究するために広く使用されている。ホルボールミリスチン酸アセテート (PMA) はプロテインキナーゼ C 依存性経路の広範な活性化因子である。イオノマイシンはカルシウムの細胞への流入を可能にし、したがって、細胞質内カルシウム濃度を増加するカルシウムイオン透過孔である。PMA とイオノマイシンの併用によって、環境と相互作用する哺乳類細胞によって使用される主要シグナル伝達経路のうちの 2 つが活性化される。T 細胞では、PMA とイオノマイシンの併用が、最適な B 細胞活性化中に誘発される二次的シグナル伝達イベントを模倣する。

20

【0070】

当分野には、免疫系疾患、神経疾患、発達障害、筋疾患及び細胞増殖異常の診断、予防、及び治療のための、核酸とタンパク質とを含む新規組成の要望がある。

【発明の開示】

【発明の効果】

【0071】

本発明の種々の実施態様は、総称して「IRAP」、個別にはそれぞれ「IRAP - 1」、「IRAP - 2」、「IRAP - 3」、「IRAP - 4」、「IRAP - 5」、「IRAP - 6」、「IRAP - 7」、「IRAP - 8」、「IRAP - 9」、「IRAP - 10」、「IRAP - 11」、「IRAP - 12」、「IRAP - 13」、「IRAP - 14」、「IRAP - 15」、「IRAP - 16」、「IRAP - 17」、「IRAP - 18」、「IRAP - 19」、「IRAP - 20」、「IRAP - 21」、「IRAP - 22」、「IRAP - 23」、「IRAP - 24」、「IRAP - 25」、「IRAP - 26」、「IRAP - 27」、「IRAP - 28」、「IRAP - 29」、「IRAP - 30」、「IRAP - 31」、「IRAP - 32」、「IRAP - 33」、「IRAP - 34」及び「IRAP - 35」、と呼ぶ、免疫応答関連タンパク質である、精製ポリペプチドを提供し、また、これらのタンパク質とそれらをコードするポリヌクレオチドとを利用した疾患と病状との検出、診断、及び治療の方法を提供する。実施態様は精製された免疫応答関連タンパク質や、それをコードするポリヌクレオチドを、効果、投与量、毒性及び薬物学的特徴の決定を含む薬物発見プロセスに利用する方法も提供する。関連する実施態様は精製された免疫応答関連タンパク質やそれをコードするポリヌクレオチドを疾患及び病状の病原性の研究に利用する方法を提供する。

30

40

【0072】

或る実施態様は、(a) SED ID NO:1-35 からなる群から選択されたアミノ酸配列を含むポリペプチドと、(b) SED ID NO:1-35 からなる群から選択されたアミノ酸配列と 90% 以上同一である或いは少なくとも約 90% 同一である天然のアミノ酸配列を含むポリペプチドと、(c) SED ID NO:1-35 からなる群から選択されたアミノ酸配列を有するポリペ

50

チドの生物学的活性断片と、(d) SED ID NO:1-35とからなる群から選択されたアミノ酸配列を有するポリペプチドの免疫原性断片とで構成される群から選択された単離したポリペプチドを提供する。別の実施態様は、SED ID NO:1-35のアミノ酸配列を含む単離したポリペプチドを提供する。

【0073】

また別の実施態様は(a) SED ID NO:1-35からなる群から選択した或るアミノ酸配列を持つポリペプチド、(b) SED ID NO:1-35からなる群から選択した或るアミノ酸配列との少なくとも90%の同一性を持つ或る天然アミノ酸配列を有するポリペプチド、(c) SED ID NO:1-35からなる群から選択した或るアミノ酸配列を持つポリペプチドの生物学的活性断片、又は(d) SED ID NO:1-35からなる群から選択した或るアミノ酸配列を持つポリヌクレオチドの免疫原性断片、からなる群から選択した或るポリペプチドをコードする、単離されたポリヌクレオチドを提供する。一実施態様では、該ポリヌクレオチドは、SED ID NO:1-35からなる群から選択した或るポリペプチドをコードする。別の実施態様では、ポリヌクレオチドはSED ID NO:36-70からなる群から選択される。

10

【0074】

更に別の実施態様は、(a) SED ID NO:1-35からなる群から選択したアミノ酸配列を含むポリペプチド、(b) SED ID NO:1-35からなる群から選択したアミノ酸配列と少なくとも90%同一である或いは少なくとも約90%同一である天然のアミノ酸配列を含むポリペプチド、(c) SED ID NO:1-35からなる群から選択したアミノ酸配列を有するポリペプチドの生物学的活性断片、又は(d) SED ID NO:1-35からなる群から選択したアミノ酸配列を有するポリペプチドの免疫原性断片、からなる群から選択されたポリペプチドをコードするポリヌクレオチドと機能的に連結したプロモーター配列を含む組換えポリヌクレオチドを提供する。別の実施態様では、本発明は組換えポリヌクレオチドを用いて形質転換した細胞を提供する。しかし別の実施態様は、組換えポリヌクレオチドを含む遺伝形質転換生物体を提供する。

20

【0075】

別の実施態様は、(a) SED ID NO:1-35からなる群から選択したアミノ酸配列を含むポリペプチド、(b) SED ID NO:1-35からなる群から選択したアミノ酸配列と少なくとも90%同一である或いは少なくとも約90%同一である天然のアミノ酸配列を含むポリペプチド、(c) SED ID NO:1-35からなる群から選択したアミノ酸配列を有するポリペプチドの生物学的活性断片、又は(d) SED ID NO:1-35からなる群から選択したアミノ酸配列を有するポリペプチドの免疫原性断片、からなる群から選択したポリペプチドを製造する方法を提供する。製造方法は、(a) 組換えポリヌクレオチドを用いて形質転換した細胞をポリペプチドの発現に適した条件下で培養する過程と、(b) そのように発現したポリペプチドを受容する過程とを有し、組換えポリヌクレオチドはポリペプチドをコードするポリヌクレオチドに機能的に結合したプロモーター配列を有する。

30

【0076】

更に別の実施態様は、(a) SED ID NO:1-35からなる群から選択したアミノ酸配列を含むポリペプチド、(b) SED ID NO:1-35からなる群から選択したアミノ酸配列と少なくとも90%同一である或いは少なくとも約90%同一である天然のアミノ酸配列を含むポリペプチド、(c) SED ID NO:1-35からなる群から選択したアミノ酸配列を有するポリペプチドの生物学的活性断片、又は(d) SED ID NO:1-35からなる群から選択したアミノ酸配列を有するポリペプチドの免疫原性断片、から構成される群から選択されたポリペプチドに特異結合するような単離された抗体を提供する。

40

【0077】

また更に別の実施態様は、(a) SED ID NO:36-70からなる群から選択したポリヌクレオチド配列を持つポリヌクレオチド、(b) SED ID NO:36-70からなる群から選択した或るポリヌクレオチド配列との少なくとも90%の同一性を有する或る天然ポリヌクレオチド配列を持つポリヌクレオチド、(c) : (a) に相補的なポリヌクレオチド、(d) : (b) に相補的なポリヌクレオチド、及び(e) : (a) ~ (d) のRNA等価物、から

50

なる群から選択した、単離されたポリヌクレオチドを提供する。別の実施様態では、ポリヌクレオチドは少なくとも20、30、40、60、80、或いは100の連続したヌクレオチドを含むことができる。

【0078】

また別の実施様態は、サンプル中の標的ポリヌクレオチドを検出する方法を提供する。ここで標的ポリヌクレオチドは、(a) SED ID NO:36-70からなる群から選択したポリヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド、(b) SED ID NO:36-70からなる群から選択したポリヌクレオチド配列と少なくとも90%同一である或いは少なくとも約90%同一である天然のポリヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド、(c) : (a)のポリヌクレオチドに相補的なポリヌクレオチド、(d) : (b)のポリヌクレオチドに相補的なポリ
10
ヌクレオチド、及び(e) : (a) ~ (d)のRNA等価物、からなる群から選択される。検出方法は、(a) サンプル中の上記標的ポリヌクレオチドに相補的な或る配列からなる少なくとも20の連続したヌクレオチド群からなる或るプローブを用いて該サンプルをハイブリダイズする過程と、(b) 該ハイブリダイゼーション複合体の有無を検出する過程を含む。該プローブと該標的ポリヌクレオチド或いはその断片との間でハイブリダイゼーション複合体が形成されるような条件下で、プローブは、該標的ポリヌクレオチドに対し特異的にハイブリダイズする。関連する或る実施様態では、方法にはハイブリダイゼーション複合体の量を検出することが含まれ得る。別の実施様態では、プローブは少なくとも約20、30、40、60、80、或いは100の連続したヌクレオチドを含むことができる。
20

【0079】

更にまた別の実施様態は、サンプル中の標的ポリヌクレオチドを検出する方法を提供する。ここで標的ポリヌクレオチドは、(a) SED ID NO:36-70からなる群から選択したポリヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド、(b) SED ID NO:36-70からなる群から選択したポリヌクレオチド配列と少なくとも90%同一である或いは少なくとも約90%同一である天然のポリヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド、(c) : (a)のポリヌクレオチドに相補的なポリヌクレオチド、(d) : (b)のポリヌクレオチドに相補的な
30
ポリヌクレオチド、及び(e) : (a) ~ (d)のRNA等価物、からなる群から選択される。検出方法は、(a) ポリメラーゼ連鎖反応増幅を用いて標的ポリヌクレオチド又はその断片を増幅する過程と、(b) 増幅した標的ポリヌクレオチド又はその断片の存在・不
30
存在を検出する過程を含む。関連する或る実施様態では、検出方法には増幅した標的ポリヌクレオチド又はその断片の量を検出することが含まれ得る。

【0080】

別の実施様態は、有効量のポリペプチドと薬剤として許容できる賦形剤とを含む成分を提供する。有効量のポリペプチドは、(a) SED ID NO:1-35からなる群から選択したアミノ酸配列を含むポリペプチド、(b) SED ID NO:1-35からなる群から選択したアミノ酸配列と少なくとも90%同一である或いは少なくとも約90%同一である天然のアミノ酸配列を含むポリペプチド、(c) SED ID NO:1-35からなる群から選択したアミノ酸配列を有するポリペプチドの生物学的活性断片、又は(d) SED ID NO:1-35からなる群から選択したアミノ酸配列を有するポリペプチドの免疫原性断片、からなる群れから選択される。一
40
実施態様では、その組成物は、SED ID NO:1-35からなる一群から選択されたアミノ酸配列を含むことができる。

【0081】

他の実施態様は、機能的IRAPの発現の低下に関連した疾患やその症状の治療方法を提供し、その内にはそのような治療を必要とする患者にこの組成物を投与することが含まれる。

【0082】

また別の実施様態は、(a) SED ID NO:1-35からなる群から選択したアミノ酸配列を含むポリペプチド、(b) SED ID NO:1-35からなる群から選択したアミノ酸配列と少なくとも90%同一である或いは少なくとも約90%同一である天然のアミノ酸配列を含むポリ
50

ペプチド、(c) SED ID NO:1-35からなる群から選択したアミノ酸配列を有するポリペプチドの生物学的活性断片、又は(d) SED ID NO:1-35からなる群から選択したアミノ酸配列を有するポリペプチドの免疫原性断片、からなる群から選択したポリペプチドのアゴニストとしての有効性を確認するために、或る化合物をスクリーニングする方法を提供する。スクリーニング方法は、(a) 該ポリペプチドを含むサンプルを或る化合物に曝す過程と、(b) サンプル中のアゴニスト活性を検出する過程からなる。別の実施様態は、この方法で同定したアゴニスト化合物と許容される医薬用賦形剤を含む、或る組成物を提供する。また別の実施様態は、機能的IRAPの発現の低下を伴う疾患や症状の治療を要する患者への、この組成物の投与方法を提供する。

【0083】

さらにまた別の実施様態は、(a) SED ID NO:1-35からなる群から選択したアミノ酸配列を含むポリペプチド、(b) SED ID NO:1-35からなる群から選択したアミノ酸配列と少なくとも90%同一である或いは少なくとも約90%同一である天然のアミノ酸配列を含むポリペプチド、(c) SED ID NO:1-35からなる群から選択したアミノ酸配列を有するポリペプチドの生物学的活性断片、又は(d) SED ID NO:1-35からなる群から選択したアミノ酸配列を有するポリペプチドの免疫原性断片、からなる群から選択したポリペプチドのアンタゴニストとしての有効性を確認するために、或る化合物をスクリーニングする方法を提供する。スクリーニング方法は、(a) 該ポリペプチドを含むサンプルを或る化合物に曝す過程と、(b) サンプル中のアンタゴニスト活性を検出する過程からなる。別の実施様態は、この方法で同定したアンタゴニスト化合物と許容される医薬用賦形剤を含む、或る組成物を提供する。また別の実施様態は、機能的IRAPの過剰発現を伴う疾患や症状の治療を要する患者への、該組成物の投与方法を提供する。

【0084】

別の実施様態は、(a) SED ID NO:1-35からなる群から選択した或るアミノ酸配列を含むポリペプチド、(b) SED ID NO:1-35からなる群から選択した或るアミノ酸配列との少なくとも90%或いは少なくとも約90%の同一性を有する天然アミノ酸配列を持つポリペプチド、(c) SED ID NO:1-35からなる群から選択したアミノ酸配列を有するポリペプチドの生物学的活性断片、及び(d) SED ID NO:1-35からなる群から選択した或るアミノ酸配列を有するポリペプチドの免疫原性断片、からなる群から選択したポリペプチドに特異結合する化合物をスクリーニングする方法を提供する。スクリーニング方法は、(a) 該ポリペプチドを少なくとも1つの試験化合物と適切な条件下で混合する過程と、(b) 該ポリペプチドと該試験化合物との結合を検出し、該ポリペプチドに特異結合する化合物を同定する過程からなる。

【0085】

さらにもう1つの実施例は、(a) SED ID NO:1-35を有する群から選択したアミノ酸配列、(b) SED ID NO:1-35を有する群から選択したアミノ酸配列と少なくとも90%の同一性或いは少なくとも約90%の同一性を有する天然のアミノ酸配列、(c) SED ID NO:1-35を有する群から選択したアミノ酸配列の生物学的活性断片、又は(d) SED ID NO:1-35を有する群から選択したアミノ酸配列の免疫原性断片を含むポリペプチドの活性を調節する化合物をスクリーニングする方法を提供する。

【0086】

スクリーニング方法は、(a) ポリペプチドの活性が許容された条件下で、ポリペプチドを少なくとも1つの試験化合物と混合させる過程と、(b) ポリペプチドの活性を試験化合物の存在下で算定する過程と、(c) 試験化合物の存在下でのポリペプチドの活性を試験化合物の不存在下でのポリペプチドの活性と比較する過程とを含み、試験化合物の存在下でのポリペプチドの活性の変化は、ポリペプチドの活性を調節する化合物であることを意味する。

【0087】

更に別の実施様態は、SED ID NO:36-70からなる群から選択した或るポリヌクレオチド配列を含む標的ポリヌクレオチドの発現を改変する効果につき、或る化合物をスクリーニ

10

20

30

40

50

ングする一方法を提供する。この方法は、(a)この標的ポリヌクレオチドを含むサンプルを或る化合物に曝露する過程と、(b)この標的ポリヌクレオチドの発現の改変を検出する過程と、(c)可変量のこの化合物の存在下でのこの標的ポリヌクレオチドの発現と、この化合物の不在下での発現とを比較する過程とからなる。

【0088】

別の実施様態は、試験化合物の毒性の算定方法を提供する。この方法には、以下の過程がある。(a)核酸を有する生体サンプルを試験化合物で処理する過程、(b)処理済み生体サンプルの核酸をハイブリダイズする過程。この過程には、次のようなプローブを用いる。(i)SED ID NO:36-70からなる群から選択した或るポリヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド、(ii)SED ID NO:36-70からなる群から選択した或るポリヌクレオチド配列との少なくとも90%の同一である或いは少なくとも約90%同一である天然ポリヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド、(iii):(i)に相補的な配列を有するポリヌクレオチド、(iv):(ii)のポリヌクレオチドに相補的なポリヌクレオチド、(v):(i)~(iv)のRNA等価物、からなる群から選択した或るポリヌクレオチドの少なくとも20の連続したヌクレオチド群からなるプローブである。ハイブリダイゼーションは、上記プローブと生体サンプル中の標的ポリヌクレオチドとの間に特異的ハイブリダイゼーション複合体が形成されるような条件下で生じる。上記標的ポリヌクレオチドは、(i)SED ID NO:36-70からなる群から選択した或るポリヌクレオチド配列を持つポリヌクレオチド、(ii)SED ID NO:36-70からなる群から選択した或るポリヌクレオチド配列との少なくとも90%又は少なくとも約90%の同一性を有する天然ポリヌクレオチド配列を持つポリヌクレオチド、(iii):(i)のポリヌクレオチドに相補的なポリヌクレオチド、(iv):(ii)のポリヌクレオチドに相補的なポリヌクレオチド、(v):(i)~(iv)のRNA等価物、からなる群から選択する。或いは標的ポリヌクレオチドは、上記(i)~(v)からなる群から選択したポリヌクレオチド配列の断片を持つ場合がある。毒性の算定方法には更に、以下の過程がある。(c)ハイブリダイゼーション複合体の量を定量する過程と、(d)処理済み生体サンプル中のハイブリダイゼーション複合体の量を、非処理の生体サンプル中のハイブリダイゼーション複合体の量と比較する過程である。処理済み生体サンプル中のハイブリダイゼーション複合体の量の差異が、試験化合物の毒性を示す。

10

20

【発明を実施するための最良の形態】

30

【0089】

(本発明の記載について)

タンパク質、核酸及び方法について説明するが、その前に、説明した特定の装置、機器、材料及び方法に本発明の実施様態が限定されるものではなく、変更され得ることを理解されたい。また、ここで使用する専門用語は特定の実施様態を説明する目的で用いたものであり、本発明の範囲を限定することを意図したものではないことも併せて理解されたい。

【0090】

補足請求及び明細書中で用いている単数形の「或る」及び「その(この)」の表記は、文脈から明らかにそうでないとされる場合を除いて複数のもを指す場合もあることに注意されたい。したがって、例えば「或る宿主細胞」と記されている場合にはそのような宿主細胞が複数あることもあり、「或る抗体」と記されている場合には1個以上の抗体、及び、当業者に公知の抗体の等価物などについても言及している。

40

【0091】

本明細書中で用いる全ての技術用語及び科学用語は、特に定義されている場合を除き、当業者に一般に理解されている意味と同じ意味を有する。本明細書で説明するものと類似或いは同等の任意の装置、材料及び方法を用いて本発明の実施又は試験を行うことができるが、ここでは好適な装置、材料、方法について説明する。本発明で言及する全ての刊行物は、刊行物中で報告されていて且つ本発明の実施様態に関係して用い得る、細胞株、プロトコル、試薬及びベクターについて説明及び開示する目的で引用しているものである。

50

本明細書のいかなる開示内容も、本発明が先行技術の効力によってこのような開示に対して先行する権利を与えられていないことを認めるものではない。

【0092】

(定義)

用語「IRAP」は、天然、合成、半合成或いは組換え体など全ての種(特にウシ、ヒツジ、ブタ、マウス、ウマ及びヒトを含む哺乳動物)から得られる実質的に精製されたIRAPのアミノ酸配列を指す。

【0093】

「アゴニスト」という用語は、IRAPの生物活性を強化或いは模倣する分子を指す。このアゴニストは、IRAPに直接相互作用するか、或いはIRAPが関与する生物学的経路の成分と作用して、IRAPの活性を調節するタンパク質、核酸、糖質、小分子、任意の他の化合物や組成物を含み得る。

10

【0094】

用語「対立遺伝子変異配列」は、IRAPをコードする遺伝子の別の形を指す。対立遺伝子変異体は、核酸配列における少なくとも1つの突然変異から作製し得る。また、変容したmRNA又はポリペプチドを作製し得る。その構造又は機能は、変容することもしないこともある。或る遺伝子は、その天然型の対立遺伝子変異体を全く持たない場合もあり、1個以上持つこともある。対立遺伝子変異体を生じさせる通常の突然変異性変化は一般に、ヌクレオチドの自然な欠失、付加又は置換に帰するものである。これら各変化は、単独或いは他の変化と共に、所定の配列内で1回若しくは数回生じ得る。

20

【0095】

IRAPをコードする「変容した/改変された」核酸配列としては、様々なヌクレオチドの欠失、挿入、或いは置換がありながら、IRAPと同じポリペプチド、或いはIRAPの機能特性の少なくとも1つを備えるポリペプチドをもたらす配列もある。この定義には、IRAPをコードするポリヌクレオチドにとり正常な染色体の遺伝子座ではない位置での、対立遺伝子変異体群への不適當或いは予期しないハイブリダイゼーションを含み、また、IRAPをコードするポリヌクレオチドの或る特定オリゴヌクレオチドプローブを用いて容易に検出可能な或いは検出困難な多型性を含む。コードされたタンパク質も「変異」し得るものであり、サイレント変化を生ぜしめて結果的に機能的に等価なIRAPとなるようなアミノ酸残基の欠失、挿入又は置換を含み得る。意図的なアミノ酸置換は、生物学的或いは免疫学的にIRAPの活性が保持される範囲で、残基の、極性、電荷、溶解度、疎水性、親水性、及び/又は両親媒性、についての1つ以上の類似性に基づいて成され得る。例えば、負に帯電したアミノ酸にはアスパラギン酸及びグルタミン酸があり、正に帯電したアミノ酸にはリジン及びアルギニンがある。親水性値が近似した非荷電極性側鎖を持つアミノ酸としては、アスパラギンとグルタミン、及びセリンとトレオニンを含みうる。親水性値が近似した非荷電側鎖を持つアミノ酸としては、ロイシンとイソロイシンとバリン、グリシンとアラニン、及びフェニルアラニンとチロシンを含みうる。

30

【0096】

用語「アミノ酸」及び「アミノ酸配列」は、オリゴペプチド、ペプチド、ポリペプチド、タンパク質配列、或いはそれらのいずれかの断片を指し、天然分子又は合成分子を指し得る。ここで「アミノ酸配列」は天然のタンパク質分子のアミノ酸配列を指すものであり、「アミノ酸配列」及び類似の語は、アミノ酸配列を、列挙したタンパク質分子に関連する完全な本来のアミノ酸配列に限定しようとするものではない。

40

【0097】

「増幅」は、或る核酸配列の付加的複製物を作製する行為に関する。増幅は、ポリメラーゼ連鎖反応法(PCR)技術又は当分野でよく知られている他の核酸増幅技術を用いて実行される。

【0098】

用語「アンタゴニスト」は、IRAPの生物学的活性を阻害或いは減弱する分子を指す。アンタゴニストとしては、IRAPと直接相互作用すること、或いはIRAPが関与す

50

る生物学的経路の各成分に作用することによってI R A Pの活性をモジュレートする、抗体などタンパク質、 anticalin、 核酸、 糖質、 小分子、 又は任意の他の化合物や組成物があり得る。

【0099】

「抗体」の語は、抗原決定基と結合することができる、無傷の免疫グロブリン分子やその断片、例えばFab、F(ab')₂及びFv断片を指す。I R A Pポリペプチド群と結合する抗体類の作製には、免疫抗原として、無傷ポリペプチド群を用いることができ、又は、当該の小ペプチド群を有する断片群を用い得る。動物(マウス、ラット、ウサギ等)を免疫化するために用いるポリペプチド又はオリゴペプチドは、RNAの翻訳、又は化学合成によって得られるポリペプチド又はオリゴペプチドに由来し得るもので、所望によりキャリアタンパク質に抱合することも可能である。通常用いられるキャリアであってペプチドと化学結合するものは、ウシ血清アルブミン、サイログロブリン及びスカシガイのヘモシアニン(KLH)等がある。結合その結合ペプチドは、動物を免疫化するために用いる。

10

【0100】

「抗原決定基」の語は、特定の抗体と接触する、分子の領域(即ちエピトープ)を指す。タンパク質又はタンパク質断片を用いて宿主動物を免疫化する場合、タンパク質の多数の領域が、抗原決定基(タンパク質の特定の領域又は3次元構造)に特異結合する抗体の産生を誘発し得る。抗原決定基は、抗体への結合において無損傷抗原(即ち免疫応答を誘発するために用いられる免疫原)と競合し得る。

20

【0101】

用語「アプタマー」は、特定の分子標的に結合する核酸又はオリゴヌクレオチドを指す。アプタマーはin vitroでの進化プロセスに由来する(例えば、SELEX(Systematic Evolution of Ligands by EXponential Enrichmentの略、試験管内選択法)、米国特許第5,270,163号に記述)。これは、大規模な組み合わせライブラリ群から標的的特異のアプタマー配列を選択するプロセスである。アプタマーの構成は二本鎖又は一本鎖であり、デオキシリボヌクレオチド、リボヌクレオチド、ヌクレオチド誘導体又は他のヌクレオチド様分子を含み得る。アプタマーのヌクレオチド構成要素は修飾された糖基(例えば、リボヌクレオチドの2'-OH基が2'-F又は2'-NH₂で置換されている)を有することが可能で、これらの糖基は、例えば、ヌクレアーゼに対する耐性或いは血中でのより長い寿命など、望む性質を改善しうる。循環系からアプタマーが除去される速度を遅くするために、アプタマーを高分子量キャリア等の分子に抱合させることができる。アプタマーは、例えば架橋剤の光活性化によって各々のリガンドと特異的に架橋させることができる(Brody, E.N. 及びL. Gold (2000) J. Biotechnol. 74:5-13)。

30

【0102】

「intramer」の用語はin vivoで発現されるアプタマーを意味する例えば、ワクシニアウイルスに基づく或るRNA発現系を用いて、白血球の細胞質内で特定のRNAアプタマー類が高レベルに発現されている(Blind, M. 他(1999) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 96:3606-3610)。

【0103】

「スピーゲルマー(spiegelmer)」の語はL-DNA、L-RNAその他の左旋性ヌクレオチド誘導体又はヌクレオチド様分子を含むアプタマーを指す。左旋性ヌクレオチドを含むアプタマーは、右旋性のヌクレオチドを含む基質に通常作用する天然の酵素による分解に耐性がある。

40

【0104】

用語「アンチセンス」は、或る特定の核酸配列を有するポリヌクレオチドの「センス」(コーディング)鎖との塩基対を形成し得る任意の組成物を指す。アンチセンス組成物としては、DNAや、RNAや、ペプチド核酸(PNA)や、修飾されたバックボーン連結例えばホスホロチオ酸、メチルホスホン酸又はベンジルホスホン酸などを有するオリゴヌクレオチドや、修飾された糖基例えば2'-メトキシエチル糖又は2'-メトキシエトキ

50

シ糖などを有するオリゴヌクレオチドや、或いは修飾された塩基例えば5 - メチルシトシン、2' - デオキシウラシル又は7 - デアザ - 2' - デオキシグアノシンなどを有するオリゴヌクレオチドがあり得る。アンチセンス分子は、化学合成又は転写など、任意の方法で製造することができる。相補的アンチセンス分子は、細胞に導入されると、細胞が産生した天然核酸配列との塩基対を形成し、二重鎖を形成して転写又は翻訳を妨害する。「負」又は「マイナス」という表現は、ある参考DNA分子のアンチセンス鎖を意味し、「正」又は「プラス」という表現は、ある参考DNA分子のセンス鎖を意味する。

【0105】

「生物学的に活性」の語は、天然分子の構造的機能、調節機能又は生化学的機能を有するタンパク質を指す。同様に、「免疫学的に活性」又は「免疫原性」は、天然、組換え体、又は合成のIRAP又はそれらの任意のオリゴペプチドが、適当な動物或いは細胞の特定の免疫応答を誘発して特定の抗体と結合する能力を指す。

10

【0106】

「相補(的)」又は「相補性」の語は、塩基対形成によってアニーリングする2つの一本鎖核酸の間を指す。例えば、配列「5' A - G - T 3'」は、相補配列「3' T - C - A 5'」と対を形成する。

【0107】

「~のポリヌクレオチドを含む(持つ)組成物」又は「~のポリペプチドを含む(持つ)組成物」は、所定のポリヌクレオチド配列若しくはポリペプチドを持つ、任意の組成物を指す。この組成物には、乾燥製剤又は水溶液が含まれ得る。IRAPをコード、若しくはIRAPの断片群をコードするポリヌクレオチド群を有する組成物類は、ハイブリダイゼーションプローブとして使用され得る。これらプローブは、凍結乾燥形態で貯蔵でき、また、糖質などの安定化剤と結合させ得る。ハイブリダイゼーションにおいては、塩(例えばNaCl)、界面活性剤(例えばドデシル硫酸ナトリウム; SDS)及びその他の構成要素(例えばデンハート液、粉乳、サケの精子のDNA等)を含む水溶液中にプローブを分散させることができる。

20

【0108】

「コンセンサス配列」は、不要な塩基を分離するためにDNA配列の解析を繰り返し行い、XL-PCRキット(Applied Biosystems, Foster City CA)を用いて5'及び/又は3'の方向に伸長され、再度シーケンシングされた核酸配列、又はGELVIEW断片アセンブリシステム(GCG, Madison, WI)か、或いはPhrap(University of Washington, Seattle WA)等の断片アセンブリ用のコンピュータプログラムを用いて1つ或いはそれ以上の重複するcDNAやEST、又はゲノムDNA断片からアセンブリされた核酸配列を指す。伸長及びアセンブリの両方を行ってコンセンサス配列を作製する配列もある。

30

【0109】

「保存的なアミノ酸置換」は、置換がなされた時に元のタンパク質の特性を殆ど損なわないと予測されるような置換、即ちタンパク質の構造と特に機能が保存され、そのような置換による大きな変化がない置換を指す。下表は、タンパク質中で元のアミノ酸と置換可能で、保存アミノ酸置換と認められるアミノ酸を示している。

40

元の残基	保存的な置換	
Ala	Gly, Ser	
Arg	His, Lys	
Asn	Asp, Gln, His	
Asp	Asn, Glu	
Cys	Ala, Ser	
Gln	Asn, Glu, His	
Glu	Asp, Gln, His	
Gly	Ala	
His	Asn, Arg, Gln, Glu	10
Ile	Leu, Val	
Leu	Ile, Val	
Lys	Arg, Gln, Glu	
Met	Leu, Ile	
Phe	His, Met, Leu, Trp, Tyr	
Ser	Cys, Thr	
Thr	Ser, Val	
Trp	Phe, Tyr	20
Tyr	His, Phe, Trp	
Val	Ile, Leu, Thr	

【0110】

保存アミノ酸置換では通常、(a)置換領域におけるポリペプチドのバックボーン構造、例えばシートや螺旋構造、(b)置換部位における分子の電荷又は疎水性、及び/又は(c)側鎖の大部分を保持する。

【0111】

「欠失」は、結果的に1個若しくは数個のアミノ酸残基又はヌクレオチドが失われてなくなるようなアミノ酸又はヌクレオチド配列における変化を指す。 30

【0112】

「誘導体」の語は、ポリペプチド又はポリヌクレオチドの化学修飾を指す。例えば、アルキル基、アシル基、ヒドロキシル基又はアミノ基による水素の置換は、ポリヌクレオチドの化学修飾に含まれ得る。ポリヌクレオチド誘導体は、天然分子の生物学的又は免疫学的機能を少なくとも1つは保持しているポリペプチドをコードする。ポリペプチド誘導体は、グリコシル化、ポリエチレングリコール化(pegylation)、或いは任意の同様なプロセスであって誘導起源のポリペプチドの、少なくとも1つの生物学的若しくは免疫学的機能を保持するプロセスによって修飾されたポリペプチドである。 40

【0113】

「検出可能な標識」は、測定可能なシグナルを生成することができ、ポリヌクレオチド又はポリペプチドに共有結合又は非共有結合するようなレポーター分子又は酵素を指す。 40

【0114】

「差次的発現」は少なくとも2つの異なったサンプルを比較することによって決められる、増加(上方調節)、或いは減少(下方調節)、又は遺伝子発現又はタンパク発現の欠損を指す。このような比較は例えば、処理済サンプルと不処理サンプル、又は病態サンプルと健常サンプルとの間で行われ得る。

【0115】

「エキソンシャフリング」は、異なるコード領域(エキソン)の組換えを意味する。1つのエキソンはコードされるタンパク質の1つの構造的又は機能的ドメインを代表し得る 50

ため、安定したサブストラクチャー群の新たな組み合わせによって、新しいタンパク質がアセンブリされることが可能であり、新しいタンパク質機能の進化を促進できる。

【0116】

用語「断片」は、IRAP又はIRAPをコードするポリヌクレオチドの、固有の部分であって、その親配列 (parent sequence) と配列は同一でありうるが親配列より長さが短いものを指す。或る断片は、定義された配列の全長から1ヌクレオチド/アミノ酸残基を差し引いた長さよりも短い長さを有し得る。例えば或る断片は、約5～約1000の連続したヌクレオチド又はアミノ酸残基を有し得る。プローブ、プライマー、抗原、治療用分子として、或いはその他の目的のために用いられる断片は、少なくとも5、10、15、16、20、25、30、40、50、60、75、100、150、250若しくは500の連続したヌクレオチド或いはアミノ酸残基長さであり得る。断片は、或る分子の特定領域から優先的に選択し得る。例えば、或るポリペプチド断片は、定義された或る配列内に見られるような或るポリペプチドの最初の250又は500アミノ酸 (又は最初の25%又は50%) から選択した、或る長さの連続したアミノ酸を持ち得る。これらの長さは明らかに例として挙げているものであり、本発明の実施態様では、配列表、表及び図面を含む本明細書が支持する任意の長さであり得る。

10

【0117】

SED ID NO:36-70の断片は、例えば、この断片を得たゲノム内の他の配列とは異なる、SED ID NO:36-70を特異的に同定する固有のポリヌクレオチド配列の領域を持ちうる。SED ID NO:36-70のある断片は、本発明の例えば、ハイブリダイゼーションや増幅技術の1つ以上の実施態様、又はSED ID NO:36-70を関連ポリヌクレオチドから区別する類似の方法に有用である。SED ID NO:36-70の断片の正確な長さ及び断片に対応するSED ID NO:36-70の領域は、断片に対する意図した目的に基づき当業者が慣例的に決定することが可能である。

20

【0118】

SED ID NO:1-35の断片はSED ID NO:36-70の断片によってコードされている。SED ID NO:1-35の断片はSED ID NO:1-35を特異的に同定する固有のアミノ酸配列の領域を含む。例えば、SED ID NO:1-35の断片は、SED ID NO:1-35を特異認識する抗体を産出するための免疫原性ペプチドとして有用である。SED ID NO:1-35の断片及び断片に対応するSED ID NO:1-35の領域の正確な長さは、断片に対する意図した目的に基づき、本明細書に記載されている、或いは当分野で知られている1つ以上の分析方法を用いて当業者が慣例的に決定することが可能である。

30

【0119】

「完全長」ポリヌクレオチドとは、少なくとも1つの翻訳開始コドン (例えばメチオニン) と、それに続く1オープンリーディングフレーム及び翻訳終止コドンを有する配列である。或る「完全長」ポリヌクレオチド配列は、或る「完全長」ポリペプチド配列をコードする。

【0120】

「相同性」の語は、2つ以上のポリヌクレオチド配列又は2つ以上のポリペプチド配列の配列類似性、選択性、又は配列同一性を意味する。

40

【0121】

ポリヌクレオチド配列に適用される「一致率」又は「～%同一」の語は、標準化されたアルゴリズムを用いてアラインメントされた少なくとも2つ以上のポリヌクレオチド配列間で一致する同一残基の割合を意味する。標準化アルゴリズムは、2配列間のアラインメントを最適化するため、標準化された再現性のある方法で比較対象の2配列内にギャップ群を挿入し得るので、2つの配列をより有意に比較できる。

【0122】

ポリヌクレオチド配列間の一一致率は、当分野で知られている或いは本明細書に記載されている1つ以上のコンピュータアルゴリズム又はプログラムを用いて決定し得る。例えば、一致率は、MEGALIGN version 3.12e配列アラインメントプログラムに組込まれているよ

50

うなCLUSTAL Vアルゴリズムのデフォルトのパラメータを用いて決定できる。このプログラムは、LASERGENEソフトウェアパッケージ（一組の分子生物学的分析プログラム）（DNA STAR, Madison WI）の一部である。CLUSTAL Vは、Higgins, D.G. 及びP.M. Sharp (1989; CABIOS 5:151-153)、並びにHiggins, D.G. 他 (1992; CABIOS 8:189-191) に記載がある。ポリヌクレオチド配列を2つ1組でアラインメントする際のデフォルトパラメータは、Ktuple=2、gap penalty=5、window=4、「diagonals saved」=4と設定する。デフォルトとして「重みづけされた」残基の重みづけ表を選択する。

【0123】

或いは、米国国立バイオテクノロジー情報センター（NCBI）のBasic Local Alignment Search Tool（BLAST）が、一般的に用いられ、且つ、無料で利用可能な用い得る配列比較アルゴリズム一式を提供している（Altschul, S.F. 他(1990)J. Mol. Biol. 215:403-410）。BLASTアルゴリズムは、幾つかの情報源から入手可能であり、メリーランド州ベセスダにあるNCBI及びインターネット（<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>）からも入手可能である。BLASTソフトウェア一式には様々な配列分析プログラムが含まれており、既知のポリヌクレオチド配列を種々のデータベースから得た別のポリヌクレオチド配列とアラインメントする「Blastn」もその1つである。その他にも、2つのヌクレオチド配列をペアワイズで直接比較するために用いる「BLAST 2 Sequences」と称されるツールも利用可能である。「BLAST 2 Sequences」は、<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gorf/bl2.html>にアクセスして、対話形式で利用ができる。「BLAST 2 Sequences」ツールは、Blastn及びBlastp（以下に記載）の両方に用いることができる。BLASTプログラムは、一般的には、ギャップ及び他のパラメータをデフォルト設定に設定して用いる。例えば、2つのヌクレオチド配列を比較するには、デフォルトパラメータに設定した「BLAST 2 Sequences」ツールVersion 2.0.12(2000年4月21日)を用いてBlastnを実行し得る。デフォルトパラメータの設定例を以下に示す。

【0124】

Matrix: BLOSUM62
 Reward for match: 1
 Penalty for mismatch: -2
 Open Gap: 5 and Extension Gap: 2 penalties
 Gap x drop-off: 50
 Expect: 10
 Word Size: 11
 Filter: on

【0125】

一致率は、ある定義された配列の全長（例えば特定のSEQ IDナンバーで定義された配列）について測定し得る。或いは、より短い長さ、例えば、定義された、より大きな配列から得られた断片（例えば少なくとも20、30、40、50、70、100又は200の連続したヌクレオチドの断片）の長さについて一致率を測定してもよい。ここに挙げた長さは単なる例示的なものに過ぎず、表、図及び配列リストを含めた本明細書に記載された配列が支持する任意の断片長を用いて、一致率を測定し得る或る長さを説明し得ることを理解されたい。

【0126】

高度の同一性を示さない核酸配列が、それにもかかわらず遺伝子コードの縮重が原因で、類似のアミノ酸配列をコードする場合がある。この縮重を利用して核酸配列内で変化を生じさせて、全ての核酸配列が実質上同一のタンパク質をコードするような多数の核酸配列を生成し得ることを理解されたい。

【0127】

ポリペプチド配列に用いられる用語「一致率」又は「～%一致」とは、標準化されたアルゴリズムを用いてアラインメントされる2つ以上のポリペプチド配列間の一致する同じ残基の百分率のことである。ポリペプチド配列アラインメントの方法は公知である。保存

10

20

30

40

50

的アミノ酸置換を考慮するアラインメント方法もある。既に詳述したこのような保存的置換は通常、置換部位の電荷及び疎水性を保存するので、ポリペプチドの構造を(したがって機能も)保存する。ポリペプチド配列に用いられる用語「類似率」又は「~%類似」とは、標準化されたアルゴリズムを用いてアラインメントされる2つ以上のポリペプチド配列間の同じ残基の一致及び保存的置換を含む残基の一致率を意味する。一方、保存的置換は、ポリペプチド配列間の一致率の計算には含まれない。

【0128】

ポリペプチド配列間の一致率は、MEGALIGN version 3.12e配列アラインメントプログラムに組み込まれているようなCLUSTAL Vアルゴリズムのデフォルトのパラメータを用いて決定できる(既に説明したのでそれを参照されたい)。CLUSTAL Vを用いて、ポリペプチド配列をペアワイズアラインメントする際のデフォルトパラメータは、Ktuple=1、gap penalty=3、window=5、「diagonals saved」=5と設定される。PAM250マトリクスが、デフォルトの残基重み付け表として選択される。

10

【0129】

或いは、NCBI BLASTソフトウェア一式を用いてもよい。例えば、2つのポリペプチド配列をペアワイズで比較する場合、「BLAST 2 Sequences」ツールVersion 2.0.12(2000年4月21日)のBlastpをデフォルトパラメータに設定して用い得る。デフォルトパラメータの設定例を以下に示す。

【0130】

Matrix: BLOSUM62
Open Gap: 11 and Extension Gap: 1 penalties
Gap x drop-off: 50
Expect: 10
Word Size: 3
Filter: on

20

【0131】

一致率は、ある定義されたポリペプチド配列の全長(例えば特定のSEQ IDナンバーで定義された配列)について測定し得る。或いは、より短い長さ、例えば、定義された、より大きなポリペプチド配列から得られた断片(例えば少なくとも15、20、30、40、50、70、又は150の連続した残基の断片)の長さについて一致率を測定してもよい。ここに挙げた長さは単なる例示的なものに過ぎず、表、図及び配列リストを含めた本明細書に記載された配列が支持する任意の断片長を用いて、一致率を測定し得る或る長さを説明し得ることを理解されたい。

30

【0132】

「ヒト人工染色体(HAC)」は、約6kb(キロベース)~10MbのサイズのDNA配列を含み得る、染色体の複製、分離及び維持に必要な全ての要素を含む直鎖状の微小染色体である。

【0133】

用語「ヒト化抗体」は、もとの結合能力を保持しつつよりヒトの抗体に似せるために、非抗原結合領域のアミノ酸配列が変えられた抗体分子を指す。

40

【0134】

「ハイブリダイゼーション」とは、所定のハイブリダイゼーション条件下で、ある一本鎖ポリヌクレオチドがある相補的な一本鎖と塩基対を形成するアニーリングのプロセスである。特異的ハイブリダイゼーションは、2つの核酸配列が高い相補性を共有することの指標である。特異的ハイブリダイゼーション複合体は許容されるアニーリング条件下で形成され、1回以上の「洗浄」ステップ後もハイブリダイズされたままである。洗浄ステップは、ハイブリダイゼーションプロセスのストリンジェンシーを決定する際に特に重要であり、よりストリンジェントな条件では、非特異結合(すなわち完全には一致しない核酸鎖対間の結合)が減少する。核酸配列のアニーリングに対する許容条件は、当業者が慣例的に決定できる。許容条件は、どのハイブリダイゼーション実験でも一定でありうるが、

50

洗浄条件は所望のストリンジェンシーを得るように、従ってハイブリダイゼーション特異性も得るように実験によって変更することができる。アニーリングが許容される条件は、例えば、温度が68で、約6×SSC、約1% (w/v)のSDS、並びに約100 μg/mlのせん断して変性したサケ精子DNAが含まれる。

【0135】

一般に、ハイブリダイゼーションのストリンジェンシーは或る程度、洗浄ステップを実行する温度を基準にして表すことができる。このような洗浄温度は通常、所定のイオン強度及びpHにおける特定の配列の融点(T_m)より約5~20低くなるように選択する。このT_mは、所定のイオン強度及びpHの下で、完全に一致するプローブに標的配列の50%がハイブリダイズする温度である。T_mを計算する式及び核酸のハイブリダイゼーション条件はよく知られており、Sambrook, J. 他(1989) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 第2版, 1-3巻, Cold Spring Harbor Press, Plainview NYに記載されており、特に2巻の9章を参照されたい。

10

【0136】

本発明のポリヌクレオチドとポリヌクレオチドのハイブリダイゼーションに対する高ストリンジェンシー条件には、約0.2×SSC及び約0.1%のSDS存在下で約68において1時間の洗浄条件が含まれる。或いは、約65、60、55又は42の温度で行ってもよい。SSC濃度は、約0.1%のSDS存在下で、約0.1~2×SSCの範囲で変化し得る。通常は、ブロッキング剤を用いて非特異ハイブリダイゼーションを阻止する。このようなブロッキング剤には、例えば、約100~200 μg/mlの、せん断した変性サケ精子DNAがある。特定条件下で、例えばRNAとDNAのハイブリダイゼーションでは、有機溶剤、例えば約35~50% v/vの濃度のホルムアミドを用いることもできる。洗浄条件の有用なバリエーションは、当業者には自明であろう。ハイブリダイゼーションは、特に高ストリンジェント条件下では、ヌクレオチド間の進化的な類似性を示唆し得る。進化的類似性は、ヌクレオチド群、及びヌクレオチドがコードするポリペプチド群について、或る同様の役割を強く示唆する。

20

【0137】

用語「ハイブリダイゼーション複合体」は、相補的な塩基間の水素結合の形成によって形成された、2つの核酸配列の複合体を指す。ハイブリダイゼーション複合体は、溶解状態で形成し得る(C₀t又はR₀t解析など)。或いは、一方の核酸が溶解状態で存在し、もう一方の核酸が固体支持体(例えば紙、膜、フィルタ、チップ、ピン又はガラススライド、或いは他の適切な基板であって細胞若しくはその核酸が固定される基板)に固定されているような2つの核酸間に形成され得る。

30

【0138】

用語「挿入」或いは「付加」は、1個以上のアミノ酸残基或いはヌクレオチドがそれぞれ追加されるアミノ酸配列或いはポリヌクレオチド配列の変化を指す。

「免疫応答」は、炎症、外傷、免疫異常症、伝染性疾患又は遺伝性疾患に関連する症状を指し得る。これらの症状は、細胞及び全身の防御系に作用し得る種々の因子、例えばサイトカイン、ケモカイン、その他のシグナル伝達分子の発現によって特徴づけることができる。

40

【0139】

「免疫原性断片」は、例えば哺乳動物などの生物に導入すると免疫応答を引き起こす、IRAPのポリペプチド断片又はオリゴペプチド断片を指す。用語「免疫原性断片」はまた、本明細書で開示する又は当分野で周知のあらゆる抗体生産方法に有用な、IRAPの任意のポリペプチド断片又はオリゴペプチド断片をも指す。

【0140】

用語「マイクロアレイ」は、基板上の複数のポリヌクレオチド、ポリペプチド、抗体又はその他の化合物の構成を指す。

【0141】

用語「エレメント」又は「アレイエレメント」は、マイクロアレイ上に固有の指定され

50

た位置を有する、ポリヌクレオチド、ポリペプチド、抗体又はその他の化合物を指す。

【0142】

用語「モジュレート」又は「活性を調節」は、IRAPの活性を変化させることを指す。例えば、調節によって、IRAPのタンパク質活性、或いは結合特性、又はその他の生物学的特性、機能的特性或いは免疫学的特性の変化が起こる。

【0143】

「核酸」及び「核酸配列」の語は、ヌクレオチド、オリゴヌクレオチド、ポリヌクレオチド又はこれらの断片を指す。「核酸」及び「核酸配列」の語はまた、ゲノム起源又は合成起源のDNA又はRNAであって一本鎖又は二本鎖であるか或いはセンス鎖又はアンチセンス鎖を表し得るようなDNA又はRNAや、ペプチド核酸(PNA)や、任意のDNA様又はRNA様物質を指すこともある。

10

【0144】

「機能的に連結した」は、第1の核酸配列と第2の核酸配列が機能的な関係にある状態を指す。例えば、或るプロモーターが或るコード配列の転写又は発現に影響を及ぼす場合には、そのプロモーターはそのコード配列に機能的に連結している。機能的に連結したDNA配列群は非常に近接するか連続的に隣接することがあり、また、2つのタンパク質コード領域を結合するために必要な場合は同一リーディングフレーム内にあり得る。

【0145】

「ペプチド核酸(PNA)」は、末端がリジンで終わるアミノ酸残基のペプチドのバックボーンに結合した、少なくとも約5ヌクレオチドの長さのオリゴヌクレオチドを含む、アンチセンス分子又は抗遺伝子剤を指す。末端のリジンは、この組成に溶解性を与える。PNAは、相補的一本鎖DNA又はRNAに優先的に結合して転写の伸長を停止するものであり、ポリエチレングリコール化して細胞におけるPNAの寿命を延長し得る。

20

【0146】

IRAPの「翻訳後修飾」としては、脂質化、グリコシル化、リン酸化、アセチル化、ラセミ化、タンパク質分解切断及びその他の当分野で既知の修飾を含み得る。これらのプロセスは、合成或いは生化学的に生じ得る。生化学的修飾は、IRAPの酵素環境に依存し、細胞の種類によって異なることとなる。

【0147】

「プローブ」とは、同一核酸、対立遺伝子核酸、又は関連核酸の検出に用いる、IRAPやそれらの相補配列、又はそれらの断片をコードする核酸を指す。プローブは、単離されたオリゴヌクレオチド又はポリヌクレオチドであって、検出可能な標識又はレポーター分子に接着した配列である。典型的な標識には、放射性アイソトープ、リガンド、化学発光試薬及び酵素がある。「プライマー」は、短い核酸、通常はDNAオリゴヌクレオチドであり、相補的塩基対を形成することで標的ポリヌクレオチドにアニーリングされ得る。プライマーは次に、DNAポリメラーゼ酵素によって標的DNA鎖に沿って伸長し得る。プライマー対は、例えばポリメラーゼ連鎖反応(PCR)による、核酸の増幅(及び同定)に用い得る。

30

【0148】

本発明に用いるようなプローブ及びプライマーは通常、既知の配列の、少なくとも15の連続したヌクレオチドを含んでいる。特異性を高めるため、長めのプローブ及びプライマー、例えば開示した核酸配列の少なくとも20、25、30、40、50、60、70、80、90、100又は少なくとも150の連続したヌクレオチドからなるようなプローブ及びプライマーも用い得る。これよりもかなり長いプローブ及びプライマーもある。表、図面及び配列リストを含む本明細書が支持する、任意の長さのヌクレオチドを用い得るものと理解されたい。

40

【0149】

プローブ及びプライマーの調製及び使用方法については、Sambrook, J. 他(1989; Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 第2版, 1-3巻, Cold Spring Harbor Press, Plainview NY)、Ausubel, F.M. 他(1999; Short Protocols in Molecular Biology, 第4版,

50

John Wiley & Sons, New York NY)、及び Innis, M. 他 (1990; PCR Protocols, A Guide to Methods and Applications, Academic Press, San Diego CA) などの参考文献に記載がある。PCRプライマー対は、その目的のためのコンピュータプログラム、例えば Primer (Version 0.5, 1991, Whitehead Institute for Biomedical Research, Cambridge MA) を用いるなどして既知の配列から得ることができる。

【0150】

プライマーとして用いるオリゴヌクレオチドの選択は、そのような目的のために本技術分野でよく知られているソフトウェアを用いて行う。例えば OLIGO 4.06 ソフトウェアは、各 100 ヌクレオチドまでの PCR プライマー対の選択に有用であり、オリゴヌクレオチド及び、最大 5,000 までの大きめのポリヌクレオチドであって 32 キロベースまでのインプットポリヌクレオチド配列から得た配列を分析するのにも有用である。類似のプライマー選択プログラムには、拡張能力のための追加機能が組込まれている。例えば、Primer3 プライマー選択プログラム (テキサス州ダラスにあるテキサス大学南西部医療センターのゲノムセンターから一般向けに入手可能) は、メガベース配列から特定のプライマーを選択することが可能であり、したがってゲノム全体の範囲でプライマーを設計するのに有用である。Primer3 プライマー選択プログラム (Whitehead Institute/MIT Center for Genome Research (マサチューセッツ州ケンブリッジ) より入手可能) によって、ユーザーは、プライマー結合部位として避けたい配列を指定できる「非プライミングライブラリ (mispriming library)」を入力できる。Primer3 は特に、マイクロアレイのためのオリゴヌクレオチドの選択に有用である (後二者のプライマー選択プログラムのソースコードは、それぞれの情報源から得てユーザー固有のニーズを満たすように修正し得る)。PrimerGen プログラム (英国ケンブリッジ市の英国ヒトゲノムマッピングプロジェクト - リソースセンターから一般向けに入手可能) は、多数の配列アラインメントに基づいてプライマーを設計し、それによって、アラインメントされた核酸配列の最大保存領域又は最小保存領域のいずれかとハイブリダイズするようなプライマーの選択を可能にする。従って、このプログラムは、固有であって保存されたオリゴヌクレオチド及びポリヌクレオチドの断片の同定に有用である。上記選択方法のいずれかによって同定したオリゴヌクレオチド及びポリヌクレオチド断片は、ハイブリダイゼーション技術において、例えば PCR 又はシーケンシングプライマーとして、マイクロアレイエレメントとして、或いは核酸のサンプルにおいて完全又は部分的相補的ポリヌクレオチドを同定する特異プローブとして有用である。オリゴヌクレオチドの選択方法は、上記の方法に限定されるものではない。

【0151】

本明細書における「組換え核酸」は天然の配列ではなく、2つ以上の配列の離れたセグメントを人工的に組み合わせた核酸である。この人為的組み合わせはしばしば化学合成によって達成するが、より一般的には核酸の単離セグメントの人為的操作によって、例えば Sambrook の文献 (前出) に記載されているような遺伝子工学的手法によって達成する。組換え核酸の語は、単に核酸の一部が付加、置換又は欠失により改変された核酸も含む。しばしば組換え核酸には、プロモーター配列に機能的に連結した核酸配列が含まれる。このような組換え核酸は、例えばある細胞を形質転換するために使用されるベクターの一部と成し得る。

【0152】

或いはこのような組換え核酸は、ウイルスベクターの一部と成すことができ、ベクターは例えばワクシニアウイルスに基づくものであり得る。そのようなベクターは哺乳類に接種され、その組換え核酸が発現されて、その哺乳類内で防御免疫応答を誘導するように使用することができる。

【0153】

「調節因子」は、通常は遺伝子の非翻訳領域に由来する核酸配列であり、エンハンサー、プロモーター、イントロン及び 5' 及び 3' の非翻訳領域 (UTR) を含む。調節エレメントは、転写、翻訳又は RNA 安定性を制御する宿主タンパク質又はウイルスタンパク質と相互作用する。

10

20

30

40

50

【0154】

「レポーター分子」は、核酸、アミノ酸又は抗体の標識に用いられる化学的又は生化学的部分である。レポーター分子には、放射性核種、酵素、蛍光剤、化学発光剤、発色剤、基質、補助因子、阻害因子、磁気粒子及びその他の当分野で既知の成分がある。

【0155】

DNA分子に対する「RNA等価物」は、基準となるDNA分子と同じ直鎖の核酸配列から構成されるが、全ての窒素性塩基のチミンがウラシルで置換され、糖鎖のバックボーンがデオキシリボースではなくリボースからなる。

【0156】

用語「サンプル」は、その最も広い意味で用いられている。IRAP、IRAPをコードする核酸、又はその断片を含むと推定されるサンプルは、体液と、細胞からの抽出物や細胞から単離された染色体や細胞内小器官、膜と、細胞と、溶液中に存在する又は基板に固定されたゲノムDNA、RNA、cDNAと、組織と、組織プリント等を含み得る。

10

【0157】

用語「特異的結合」及び「特異的に結合する」は、タンパク質若しくはペプチドと、アゴニスト、抗体、アンタゴニスト、小分子、若しくは任意の天然若しくは合成の結合組成物との間の相互作用を指す。この相互作用は、タンパク質の特定の構造（例えば抗原決定基即ちエピトープ）であって結合分子が認識するものが存在するか否かに依存している。例えば、抗体がエピトープ「A」に対して特異的である場合、遊離した標識A及びその抗体を含む反応において、エピトープA（つまり遊離した、標識されていないA）を含むポリペプチドの存在が、抗体に結合する標識されたAの量を低減させる。

20

【0158】

用語「実質的に精製された」は、自然の環境から取り除かれてから、単離或いは分離された核酸配列或いはアミノ酸配列であって、自然に結合している組成物が少なくとも約60%除去されたものであり、好ましくは約75%以上の除去、最も好ましくは約90%以上除去されたものを指す。

【0159】

「置換」とは、一つ以上のアミノ酸又はヌクレオチドをそれぞれ別のアミノ酸又はヌクレオチドに置き換えることである。

【0160】

用語「基板」は、任意の好適な固体或いは半固体の支持物を指し、膜及びフィルタ、チップ、スライド、ウエハ、ファイバー、磁気又は非磁気ビーズ、ゲル、チューブ、プレート、ポリマー、微小粒子、毛細管が含まれる。基板は、ウェル、溝、ピン、チャネル、孔など、様々な表面形態を有することができ、基板表面にはポリヌクレオチドやポリペプチドが結合する。

30

【0161】

「転写イメージ (transcript image)」又は「発現プロファイル (プロフィール)」は、所定条件下での所定時間における特定の細胞の種類又は組織による集合的遺伝子発現のパターンを指す。

【0162】

「形質転換 (transformation)」とは、外来DNAが受容細胞に導入されるプロセスのことである。形質転換は、本技術分野で知られている種々の方法に従って自然条件又は人工条件下で生じ得るものであり、外来性の核酸配列を原核宿主細胞又は真核宿主細胞に挿入する、任意の既知の方法を基にし得る。形質転換の方法は、形質転換する宿主細胞の種類によって選択する。限定するものではないが形質転換方法には、バクテリオファージ或いはウイルス感染、電気穿孔法 (エレクトロポレーション)、熱ショック、リポフェクション及び微粒子銃を用いる方法がある。「形質転換された細胞」には、導入されたDNAが自律的に複製するプラスミドとして或いは宿主染色体の一部として複製可能である安定的に形質転換された細胞が含まれる。さらに、限られた時間に一過的に導入DNA若しくは導入RNAを発現する細胞も含まれる。

40

50

【0163】

ここで用いる「遺伝形質転換生物体 (transgenic organism)」とは任意の生物体であり、限定するものではないが動植物を含み、生物体の1個以上の細胞が、ヒトの関与によって、例えば本技術分野でよく知られているトランスジェニック (transgenic) 技術によって導入された異種核酸を有する。核酸の細胞への導入は、直接又は間接的に、細胞の前駆物質に導入することによって、計画的な遺伝子操作によって、例えば微量注射法によって或いは組換えウイルスでの感染によって行う。別の実施態様で核酸の導入は、組換えウイルスベクター、例えばレンチウイルスベクターを感染させて成し得る (Lois, C. 他 (2002) Science 295:868-872)。遺伝子操作の語は、古典的な交雑育種或いは *in vitro* 受精を指すものではなく、組換え DNA 分子の導入を指す。本発明に基づいて予期される遺伝形質転換生物体には、バクテリア、シアノバクテリア、真菌及び動植物がある。本発明の単離された DNA は、本技術分野で知られている方法、例えば感染、形質移入、形質転換又はトランス接合によって宿主に導入することができる。本発明の DNA をこのような生物体に移入する技術はよく知られており、前出の Sambrook 他 (1989) などの参考文献に記載されている。

10

【0164】

特定の核酸配列の「変異体」は、核酸配列1本全部の長さに対して特定の核酸配列と少なくとも40%の相同性を有する核酸配列であると定義する。その際、デフォルトパラメータに設定した「BLAST 2 Sequences」ツールVersion 2.0.9(1999年5月7日)を用いて Blastn を実行する。このような核酸対は、所定の長さに対して、例えば少なくとも50%、60%、70%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%又はそれ以上の相同性を示し得る。或る変異体は、例えば「対立遺伝子」変異体(前述)、「スプライス」変異体、「種」変異体又は「多型性」変異体として記載し得る。スプライス変異体は参照分子とかなりの相同性を有し得るが、mRNA プロセッシング中のエキソンの選択的スプライシングによって通常、より多く又はより少数のヌクレオチドを有することになる。対応するポリペプチドは、追加機能ドメイン群を有するか、或いは参照分子には存在するドメイン群が欠落していることがある。種変異体は、種によって異なるポリヌクレオチドである。結果的に生じるポリペプチドは通常、相互にかなりのアミノ酸相同性を有する。多型性変異体は、所与の種の個体間で特定の遺伝子のポリヌクレオチド配列が異なる。多型変異配列はまた、ポリヌクレオチド配列の1つのヌクレオチドが異なる「1塩基多型性」(SNP)も含み得る。SNPの存在は、例えば特定の集団、病状又は病状性向を示し得る。

20

30

【0165】

特定のポリペプチド配列の「変異体」は、ポリペプチド配列の1本の長さ全体で特定のポリペプチド配列に対して少なくとも40%の配列相同性又は配列類似性を有するポリペプチド配列として定義される。定義づけには、デフォルトパラメータに設定した「BLAST 2 Sequences」ツールVersion 2.0.9(1999年5月7日)を用いて Blastp を実行する。このようなポリペプチド対は、そのポリペプチドの一方の所定の長さに対して、例えば少なくとも50%、60%、70%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%又はそれ以上の配列同一性又は配列類似性を示し得る。

40

【0166】

(発明)

本発明の様々な実施態様は、新規のヒト免疫応答関連タンパク質 (IRAP) 及び、IRAP をコードするポリヌクレオチドに基づく。また、これらの組成物を利用した免疫系疾患、神経系疾患、発達障害、筋疾患及び細胞増殖異常の、診断、治療、又は予防を含む。

【0167】

表1は、本発明の完全長ポリヌクレオチド及びポリペプチド実施態様の命名の概略である。各ポリヌクレオチド及びその対応するポリペプチドは、1つの Incyte プロジェクト識

50

別番号 (IncyteプロジェクトID) に関連する。各ポリペプチド配列は、ポリペプチド配列識別番号 (ポリペプチドSED ID NO:) とIncyteポリペプチド配列番号 (IncyteポリペプチドID) によって表示した。各ポリヌクレオチド配列は、ポリヌクレオチド配列識別番号 (ポリヌクレオチドSED ID NO:) とIncyteポリヌクレオチドコンセンサス配列番号 (IncyteポリヌクレオチドID) によって表示した。

【0168】

表2は、GenBankタンパク質 (genpept) データベースとPROTEOMEデータベースとに対するBLAST分析で同定した、本発明のポリペプチド群に相同な配列群を示す。列1及び列2はそれぞれ、本発明の各ポリペプチドに対するポリペプチド配列識別番号 (ポリペプチドSED ID NO:) と、それに対応するIncyteポリペプチド配列番号 (IncyteポリペプチドID) を示す。列3は、GenBankの最も近い相同体のGenBank識別番号 (Genbank ID NO:) と最も近いPROTEOMEデータベース相同体のPROTEOMEデータベース識別番号 (PROTEOME ID NO:) を示す。列4は、各ポリペプチドとその相同体1つ以上との間の一致に関する確率スコアを示す。列5は、GenBankとPROTEOMEデータベースの相同体の注釈を示し、更に該当箇所には関連する引用文献も示す。これらを引用することを以って本明細書の一部とする。

10

【0169】

表3は、本発明のポリペプチドの多様な構造的特徴を示す。列1及び列2はそれぞれ、本発明の各ポリペプチドに対するポリペプチド配列識別番号 (SED ID NO:) と、それに対応するIncyteポリペプチド配列番号 (IncyteポリペプチドID) を示す。列3は、各ポリペプチドのアミノ酸残基数を示す。列4及び列5はそれぞれ、GCG配列分析ソフトウェアパッケージのMOTIFSプログラム (Genetics Computer Group, Madison WI) によって決定された、リン酸化及びグリコシル化の可能性のある部位を示す。列6は、シグネチャ配列、ドメイン、及びモチーフを含むアミノ酸残基を示す。列7は、タンパク質の構造/機能の分析のための分析方法を示し、該当箇所には更に、分析方法に利用した検索可能なデータベースを示す。

20

【0170】

表2及び表3は共に、本発明の各々のポリペプチドの特性を要約しており、それらの特性が請求の範囲に記載されたポリペプチドが免疫応答関連タンパク質であることを確立している。

【0171】

例えば、SED ID NO:2は、E88残基からK306残基まで、ヒト補体c1q腫瘍壊死因子関連タンパク質 (GenBank ID g13274520) と100%同一であることがBasic Local Alignment Search Tool (BLAST) によって示された (表2参照)。BLAST確率スコアは 1.1×10^{-137} であり、これは観察されたポリペプチド配列アラインメントが偶然に得られる確率を示している。SED ID NO:2はまた、1つのC1qドメインと1つのコラーゲン三重らせん体リピートドメインを有することが、隠れマルコフモデル (HMM) を基にした保存されたタンパク質ファミリドメインのPFAMデータベースにおいて、統計的に有意な一致を検索して決定された (表3参照)。BLIMPS、BLAST、及びMOTIFS解析よりのデータは、SED ID NO:2が免疫応答関連タンパク質であるという、さらに確証的な証拠を提供する。

30

40

【0172】

また他の例として、SED ID NO:3はヒトT細胞受容体鎖-c6.1A融合タンパク質 (GenBank ID g7717235) とD45残基からS408残基まで99%同一であることがBasic Local Alignment Search Tool (BLAST) によって示された (表2参照)。BLAST確率スコアは 3.5×10^{-193} であり、これは観測されたポリペプチド配列アラインメントが偶然に得られる確率を示している。SED ID NO:3はまた、1つのMov34/MPN/PAD-1ファミリドメインを有するが、これは隠れマルコフモデル (HMM) を基にした保存されたタンパク質ファミリドメイン群のPFAMデータベースにおいて、統計的に有意な一致を検索して決定された (表3参照)。BLAST-DOMO及びBLAST-PRODOM解析からのデータは、SED ID NO:3が免疫応答関連タンパク質である、更なる確証を提供する。

50

【 0 1 7 3 】

別の例でSED ID NO: 5は、残基 M 2 5 から残基 E 5 9 3 まで、ヒト補体因子H関連タンパク質 5 (GenBank ID g13195239) と 1 0 0 % の同一性を有することがBasic Local Alignment Search Tool (BLAST) によって示された (表 2 参照) 。 BLAST確率スコアは 0 . 0 であるが、これは観測されたポリペプチド配列が偶然に得られる確率を示す。 SED ID NO: 5はまた、1つのSushiドメインを有するが、これは、隠れマルコフモデル (H M M) を基にした保存されたタンパク質ファミリドメインの P F A M データベースにおいて、統計的に有意な一致を検索して決定された (表 3 参照) 。 BLAST-DOMO及びBLAST-PRODOM解析からのデータは、SED ID NO: 5が免疫応答関連タンパク質である、更なる確証を提供する。

【 0 1 7 4 】

他の例でSED ID NO: 6は、M 1 残基から L 4 1 残基までヒト C 5 a アナフィラトキシン受容体 (GenBank ID g179700) と 9 5 % の同一性を有することがBasic Local Alignment Search Tool (BLAST) によって示された (表 2 参照) 。 BLAST確率スコアは $1 . 4 e - 1 6$ であり、これは観察されたポリペプチド配列アラインメントが偶然に得られる確率を示している。 SED ID NO: 6は、アナフィラキシー並びに、好中球とマクロファージの遊走及び活性化を仲介する、或る原形質膜 G タンパク質共役受容体であるが、これはPROTEOMEデータベースを用いたBLAST解析で決定された (表 3 参照) 。 PRODOMデータベースを用いたBLAST解析からのデータは、SED ID NO: 6が或る G タンパク質共役受容体であることを示す更に確証的な証拠を提供する。

【 0 1 7 5 】

また他の例として、SED ID NO: 8は、P 2 1 残基から W 2 7 7 残基まで、また M 1 残基から A 1 9 残基までヒト C D 1 E 抗原、アイソフォーム 2 (GenBank ID g8249471) と 1 0 0 % 同一であることがBasic Local Alignment Search Tool (BLAST) によって示された (表 2 参照) 。 BLAST確率スコアは $3 . 4 e - 1 4 0$ であり、これは観察されたポリペプチド配列アラインメントが偶然に得られる確率を示している。 SED ID NO: 8は非古典的主要組織適合性複合体クラス I 分子の C D 1 ファミリの一つのメンバーであることがPROTEOMEデータベースを用いたBLAST解析によって決定された。 SED ID NO: 8もまた、1つの免疫グロブリンドメインを有するが、これは、隠れマルコフモデル (H M M) を基にした保存されたタンパク質ファミリドメインの P F A M データベースにおいて、統計的に有意な一致を検索して決定された (表 3 参照) 。 更なるBLAST解析から得られたデータによって、SED ID NO: 8が C D 1 E 分子であることを裏づける証拠を提供する。

【 0 1 7 6 】

また他の例として、SED ID NO: 13はマウス F c a / m 受容体 (GenBank ID g11071950) と Q 3 4 残基から A 2 1 7 残基まで 5 9 % 同一であることがBasic Local Alignment Search Tool (BLAST) によって示された (表 2 参照) 。 BLAST確率スコアは $5 . 5 e - 5 6$ であり、これは観測されたポリペプチド配列アラインメントが偶然に得られる確率を示している。 SED ID NO: 13は原形質膜に局在し、I g M でコーティングされた微生物のエンドサイトーシスを仲介する F c a / m 受容体に関連しており、また、微生物への免疫応答に関与する或る F c 受容体であることがPROTEOMEデータベースを用いたBLAST解析によって決定された。 SED ID NO: 13もまた、1つの免疫グロブリンドメインを有するが、これは、隠れマルコフモデル (H M M) を基にした保存されたタンパク質ファミリドメインの P F A M データベースにおいて、統計的に有意な一致を検索して決定された (表 3 参照) 。 D O M O データベースのBLAST解析からのデータは、SED ID NO: 13が免疫応答関連タンパク質である、さらに実証的な証拠を提供する。

【 0 1 7 7 】

また他の例として、SED ID NO: 15はヒト S P (GenBank ID g2702314) と D 1 9 残基から G 2 4 0 残基まで 9 9 % 同一であることがBasic Local Alignment Search Tool (BLAST) によって示された (表 2 参照) 。 BLAST確率スコアは $2 . 2 e - 1 2 9$ であり、これは保存されたポリペプチド配列アラインメントが偶然に得られる確率を示している。 SED ID NO: 15はまた、スカベンジャー受容体である細胞外タンパク質と相同性を有するこ

10

20

30

40

50

とがPROTEOMEデータベースを使ったBLAST解析によって決定された。SED ID NO: 15はまた、一つのスカベンジャー受容体システインリッチ受容体ドメインを有するが、これは、隠れマルコフモデル(HMM)を基にした保存されたタンパク質ファミリドメインのPFAMデータベースにおいて、統計的に有意な一致を検索して決定された(表3参照)。BLIMPS、MOTIFS、及びPROFILESCAN解析よりのデータは、SED ID NO: 15がスカベンジャー受容体と相同性を共有する、更なる確証を提供する。

【0178】

また他の例として、SED ID NO: 23はヒトRING7タンパク質(GenBank ID g313002)とM1残基からG208残基まで99%同一であることがBasic Local Alignment Search Tool (BLAST)によって示された(表2参照)。BLAST確率スコアは 5.1×10^{-124} であり、これは観測されたポリペプチド配列アラインメントが偶然に得られる確率を示している。SED ID NO: 23はまた、さらに原形質膜に局在し、HLA遺伝子機能を有し、またRING7HLAタンパク質であるタンパク質と相同性を有することがPROTEOMEデータベースを使ったBLAST解析によって示された。SED ID NO: 23はまた、一つのクラスII組織適合性抗原、ドメインを有するが、これは、隠れマルコフモデル(HMM)を基にした保存されたタンパク質ファミリドメインのPFAMデータベースにおいて、統計的に有意な一致を検索して決定された(表3参照)。BLIMPS、MOTIFS、及びPROFILESCAN解析よりのデータは、SED ID NO: 23が或る組織適合性抗原である、さらに実証的な証拠を提供する。

【0179】

別の例でSED ID NO: 27は、P21残基からK80残基まで、ヒトCD1E抗原(GenBank ID g8249469)と100%の同一性を有することがBasic Local Alignment Search Tool (BLAST)によって決定された(表2参照)。BLAST確率スコアは 5.9×10^{-147} であり、これは観察されたポリペプチド配列アラインメントが偶然に得られる確率を示している。SED ID NO: 27はまた、細胞質膜に局在し、抗原提示機能を有し、またCD1E抗原であるタンパク質と相同性を有することがPROTEOMEデータベースを使ったBLAST解析によって決定された。SED ID NO: 27はまた、一つの免疫グロブリンドメインを有するが、これは、隠れマルコフモデル(HMM)を基にした保存されたタンパク質ファミリドメインのPFAMデータベースにおいて、統計的に有意な一致を検索して決定された(表3参照)。他のBLAST解析からのデータは、SED ID NO: 27が細胞表面抗原であることを示す更なる確証を提供する。SED ID NO: 1、SED ID NO: 4、SED ID NO: 7、SED ID NO: 9-12、SED ID NO: 14、SED ID NO: 16-22、SED ID NO: 24-26、及びSED ID NO: 28-35は同様にして解析し、注釈付けをされた。SED ID NO: 1-35の解析のためのアルゴリズム及びパラメータは表7に記述する。

【0180】

表4に示すように、完全長ポリヌクレオチドの具体例は、cDNA配列又はゲノムDNA由来のコード(エキソン)配列を用いて、或いはこれら2種類の配列を任意に組み合わせてアセンブリした。列1は本発明の各ポリヌクレオチドに対するポリヌクレオチド配列識別番号(ポリヌクレオチドSED ID NO:)及び対応するIncyteポリヌクレオチドコンセンサス配列番号(Incyte ID)、及び塩基対の各ポリヌクレオチド配列の長さを示している。列2は、完全長ポリヌクレオチド実施態様のアセンブリに使われたcDNA配列及び/又はゲノム配列のヌクレオチド開始位置(5')と停止位置(3')、及びSED ID NO: 36-70を同定するか、又はSED ID NO: 36-70と、関連するポリヌクレオチド配列とを区別する技術(例えば、ハイブリダイゼーション技術又は増幅技術)に有用なポリヌクレオチドの断片のヌクレオチド開始位置(5')と終了位置(3')を示す。

【0181】

表4の列2で記述されたポリヌクレオチド断片は、具体的には例えば組織特異的なcDNAライブラリ又はプールされたcDNAライブラリに由来するIncyte cDNAを指す場合がある。或いは列2に記載したポリヌクレオチド断片は、完全長ポリヌクレオチドのアセンブリに寄与したGenBank cDNA又はESTを指す場合もある。さらに、列2のポ

10

20

30

40

50

リヌクレオチド断片は、E N S E M B L (The Sanger Centre、英国ケンブリッジ) データベースから由来した配列 (即ち「E N S T」命名を含む配列) を同定し得る。或いは、列2で記述されたポリヌクレオチド断片は、NCBI RefSeq Nucleotide Sequence Records データベースから由来する場合もあり (即ち「N M」又は「N T」の命名を含む配列)、またNCBI RefSeq Protein Sequence Recordsから由来する場合もある (即ち「N P」の命名を含む配列)。又は列2のポリヌクレオチド断片は、「エキソンスティッチング (exon-stitching)」アルゴリズムにより結び合わせたc D N A及びGenscan予想エキソンの両方のアセンブリ体を意味する場合がある。例えば、F L _ X X X X X X _ N₁ _ N₂ _ Y Y Y Y _ N₃ _ N₄と同定されるポリヌクレオチドは、アルゴリズムが適用される配列のクラスタの識別番号がX X X X X Xであり、アルゴリズムにより生成される予測の番号がY Y Y Y Yであり、(もし存在すれば) N₁, N₂, N₃が解析中に手動で編集された可能性のある特定のエキソンであるような「縫合された (stitched)」配列である (実施例5参照)。又は、列2のポリヌクレオチド断片は「エキソンストレッチング (exon-stretching)」アルゴリズムにより結び合わせたエキソンのアセンブリ体を指す場合もある。例えば、F L X X X X X X _ g A A A A A _ g B B B B B _ 1 _ Nとして同定されるポリヌクレオチド配列は、「ストレッチされた」配列である。X X X X X XはI n c y t eプロジェクト識別番号、g A A A A Aは「エキソンストレッチング」アルゴリズムを適用したヒトゲノム配列のGenBank識別番号、g B B B B Bは一番近いGenBankタンパク質相同体のGenBank識別番号又はNCBI RefSeq 識別番号であり、Nは特定のエキソンを指す (実施例5を参照)。あるRefSeq配列が「エキソンストレッチング」アルゴリズムのためのタンパク質相同体として使用された場合には、RefSeq識別子 (「N M」、「N P」、又は「N T」によって表される) が、GenBank識別子 (即ち、g B B B B B) の代わりに使用される場合もある。

10

20

【0182】

或いは、接頭コードは手作業で編集されたか、ゲノムD N A配列から予測されたか、又は配列解析方法の組み合わせから由来している構成配列を同定する。次の表は構成配列の接頭コードと、接頭コードに対応する同じ配列の分析方法の例を列記する (実施例4と5を参照)。

接頭コード	解析タイプやプログラムの例
G N N、G F G、E N S T	例えば、GENSCAN (Stanford University, CA, USA) 又は FGENES (Computer Genomics Group, The Sanger Centre, Cambridge, UK) を用いた、ゲノム配列群からのエキソン予測
G B I	手動で編集された、ゲノム配列群の解析
F L	スティッチ又はストレッチゲノム配列 (実施例5参照)
I N C Y	E S T配列群の、ゲノムへのマッピングからの、完全長転写物とエキソンとの予想。エキソン群と生じる転写物とを予測するために、ゲノム位置とE S T構成とのデータが組み合わされる。

30

40

【0183】

50

場合によっては、最終コンセンサスポリヌクレオチド配列を確認するために、表4に示すような配列の適用範囲と重複するIncyte cDNA適用範囲が得られたが、該当するIncyte cDNA識別番号は示さなかった。

【0184】

表5は、Incyte cDNA配列を用いてアセンブリされた完全長ポリヌクレオチドのための代表的なcDNAライブラリを示している。代表的なcDNAライブラリとはIncyte cDNAライブラリであり、これは、最も頻繁にはIncyte cDNA配列群によって代表されるが、これら配列は、上記のポリヌクレオチドをアセンブリ及び確認するために用いられた。cDNAライブラリを作製するために用いた組織及びベクターを表5に示し、表6で説明している。

10

【0185】

表8は、本発明のポリヌクレオチド配列に見られる一塩基多型((SNP))を、種々のヒト集団での対立遺伝子(アレル)頻度と共に示す。列1及び列2はそれぞれ、本発明の各ポリヌクレオチドのポリヌクレオチド配列識別番号(SED ID NO:)及びそれに対応するIncyteプロジェクト識別番号(PID)を示す。列3はSNPが検出されたESTのIncyte識別番号(EST ID)を示し、列4はSNPの識別番号(SNP ID)を示す。列5はSNPが存在するEST配列内の位置(EST SNP)を示し、列6は完全長ポリヌクレオチド配列内のSNPの位置(CB1 SNP)を示す。列7はEST配列内に存在する対立遺伝子を示す。列8及び列9はSNP部位に存在する2つの対立遺伝子を示す。列10はESTに存在する対立遺伝子に基づいてSNP部位に含まれるコドンによってコードされるアミノ酸を示す。列11~14は四つの異なったヒト母集団における対立遺伝子1の発生頻度を示す。n/d(検出されない)の項目は母集団における対立遺伝子1の発生頻度が低すぎて検出されなかったことを示し、また、n/a(利用不可)はその母集団において対立遺伝子の発生頻度が決定されなかったことを示す。

20

【0186】

本発明はまた、IRAPの変異体も含む。好適なIRAP変異体は、IRAPの機能的或いは構造的特徴の少なくとも1つを有し、かつ該IRAPアミノ酸配列に対して少なくとも約80%のアミノ酸配列同一性、或いは少なくとも約90%のアミノ酸配列同一性、更には少なくとも約95%のアミノ酸配列同一性を有する配列である。

【0187】

種々の実施態様はまた、IRAPをコードするポリヌクレオチドを含む。特定の実施例において、本発明は、IRAPをコードするSED ID NO: 36-70からなる一群から選択された配列を含むポリヌクレオチド配列を提供する。配列表に示したSED ID NO: 36-70のポリヌクレオチド配列は、窒素系塩基のチミンがウラシルに置換され、糖鎖のバックボーンがデオキシリボースではなくリボースからなる等価RNA配列を含む。

30

【0188】

本発明はまた、IRAPをコードするポリヌクレオチドの変異体群を含む。詳細には、このような変異体ポリヌクレオチドは、IRAPをコードするポリヌクレオチドとの、少なくとも約70%のポリヌクレオチド配列同一性、或いは少なくとも約85%のポリヌクレオチド配列同一性、更には少なくとも約95%ものポリヌクレオチド配列同一性を持つこととなる。本発明の或る態様では、SED ID NO: 36-70からなる群から選択されたアミノ酸配列と少なくとも約70%、或いは少なくとも約85%、又は少なくとも約95%もの一致率を有するようなSED ID NO: 36-70からなる群から選択された配列を有するポリヌクレオチドの変異体を含む。上記の任意のポリヌクレオチドの変異体は、IRAPの機能的若しくは構造的特徴を少なくとも1つ有するポリペプチドをコードし得る。

40

【0189】

更に或いは別法では、本発明の或るポリヌクレオチド変異体は、IRAPをコードするポリヌクレオチドのスプライス変異体である。或るスプライス変異体はIRAPをコードするポリヌクレオチドとの顕著な配列同一性を持つ部分複数を有し得るが、mRNAプロセッシング中のエキソン群の選択的スプライシングによって生ずる、配列の数ブロックの

50

付加又は欠失により、通常、より多数又はより少数のポリヌクレオチドを有することになる。或るスプライス変異体には、約70%未満、又は約60%未満、或いは約50%未満のポリヌクレオチド配列同一性が、IRAPをコードするポリヌクレオチドとの間で全長に渡って見られるが、このスプライス変異体の幾つかの部分には、IRAPをコードするポリヌクレオチドの各部との、少なくとも約70%、或いは少なくとも約85%、又は少なくとも約95%、なお又は100%の、ポリヌクレオチド配列同一性を有することとなる。例えば、SED ID NO: 64の配列を持つポリヌクレオチド、SED ID NO: 43の配列を持つポリヌクレオチド、及びSED ID NO: 62の配列を持つポリヌクレオチドは互いのスプライス変異体であり、SED ID NO: 49の配列を持つポリヌクレオチドとSED ID NO: 65の配列を持つポリヌクレオチドは互いのスプライス変異体であり、SED ID NO: 59の配列を持つポリヌクレオチドと、SED ID NO: 66の配列を持つポリヌクレオチドは互いのスプライス変異体であり、SED ID NO: 60、SED ID NO: 67、SED ID NO: 68、SED ID NO: 69及びSED ID NO: 70の配列を持つポリヌクレオチドは互いのスプライス変異体であり、SED ID NO: 51の配列を持つポリヌクレオチドとSED ID NO: 57の配列を持つポリヌクレオチドは互いのスプライス変異体であり、SED ID NO: 54の配列を持つポリヌクレオチドと、SED ID NO: 55の配列を持つポリヌクレオチドは互いのスプライス変異体である。上記のスプライス変異体は何れも、IRAPの機能的或いは構造的特徴の少なくとも1つを有する或るポリペプチドをコードし得る。

10

【0190】

IRAPをコードする種々のポリヌクレオチド配列が遺伝暗号の縮重によって作り出され、中には、既知のいかなる天然遺伝子のポリヌクレオチド配列群とも最小の類似性しか有しない配列もあることは、当業者には理解されよう。したがって本発明には、可能コドン選択に基づく組み合わせの選択によって産出し得るあらゆる可能なポリヌクレオチド配列のバリエーションを企図する。これらの組み合わせは、天然IRAPのポリヌクレオチド配列に適用される標準的なトリプレット遺伝暗号を基に作られる。このような全ての変異が明確に開示されていると考慮されたい。

20

【0191】

IRAPとその変異体とをコードするポリヌクレオチドは一般に、好適に選択されたストリンジェンシー条件下で天然IRAPのポリヌクレオチドとハイブリダイズ可能であるが、非天然コドン群を含めるなどの実質的に異なるコドン使用を有するIRAP或いはその誘導体をコードするポリヌクレオチドを作り出すことは、有益であり得る。宿主が特定コドンを利用する頻度に基づいて、特定の真核宿主又は原核宿主に発生するペプチドの発現率を高めるようにコドンを選択し得る。コードされたアミノ酸配列を変えないで、IRAP及びその誘導体をコードするヌクレオチド配列を実質的に変更する別の理由は、天然の配列から作られる転写物より例えば長い半減期など好ましい特性を備えるRNA転写物を作ることにある。

30

【0192】

本発明はまた、IRAP及びその誘導体をコードするポリヌクレオチド又はそれらの断片を完全に合成化学によって作り出すことも含む。作製後、当分野で周知の試薬を用いて、この合成ポリヌクレオチドを任意の様々な入手可能な発現ベクター及び細胞系中に挿入し得る。更に、合成化学を用いてIRAP又はその任意の断片をコードする或るポリヌクレオチドに突然変異を誘導し得る。

40

【0193】

本発明の実施態様には、種々のストリンジェンシー条件下で、請求項に記載のポリヌクレオチド、特に、SED ID NO: 36-70に示す配列を持つポリヌクレオチド、及びそれらの断片群にハイブリダイズ可能なポリヌクレオチド群が含まれる(Wahl, G.M及びS.L. Berger (1987) Methods Enzymol.152:399-407、Kimmel, A.R.(1987)Methods Enzymol.152:507-511)。アニーリング及び洗浄条件を含むハイブリダイゼーションの条件は、「定義」に記載した。

【0194】

50

DNAシーケンシングの方法は当分野では公知であり、本発明のいずれの実施例もDNAシーケンシング方法を用いて実施可能である。DNAシーケンシング方法には酵素を用い得る。例えばDNAポリメラーゼ1のクレノウ断片、SEQUENASE (US Biochemical, Cleveland OH)、Taqポリメラーゼ (Applied Biosystems)、熱安定性T7ポリメラーゼ (Amersham Biosciences, Piscataway NJ) を用い得る。或いは、例えばELONGASE増幅システム (Invitrogen, Carlsbad CA) において見られるように、ポリメラーゼと校正エキソヌクレアーゼとを併用し得る。好適には、MICROLAB2200液体転移システム (Hamilton, Reno, NV)、PTC200サーマルサイクラー (MJ Research, Watertown MA) 及びABI CATALYST 800サーマルサイクラー (Applied Biosystems) などの装置を用いて配列の準備を自動化する。次に、ABI 373或いは377 DNAシーケンシングシステム (Applied Biosystems)、MEGABACE 1000 DNAシーケンシングシステム (Amersham Biosciences) 又は当分野で既知の他のシステムを用いてシーケンシングを行う。結果として得た配列を、当分野で周知の種々のアルゴリズムを用いて分析する (Ausubel他、前出、7章; Meyers, R.A. (1995) Molecular Biology and Biotechnology, Wiley VCH, New York NY, 856-853ページ)。

【0195】

当分野で周知の、PCR法をベースにした種々の方法と、部分的ヌクレオチド配列とを利用して、IRAPをコードする核酸を伸長し、プロモーターや調節エレメントなど、上流にある配列を検出し得る。例えば、使用し得る方法の1つである制限部位PCR法は、ユニバーサルプライマー及びネステッドプライマーを用いてクローニングベクター内のゲノムDNAからの未知の配列を増幅する方法である (Sarkar, G. (1993) PCR Methods Applic.2:318-322)。別の方法にインバースPCR法があり、これは広範な方向に伸長させたプライマーを用いて環状化した鋳型から未知の配列を増幅する方法である。鋳型は、或る既知のゲノム遺伝子座及びその周辺の配列群からなる制限酵素断片群から得る (Triglia, T. 他(1988) Nucleic Acids Res.16:8186)。

【0196】

第3の方法としてキャプチャPCR法があり、これはヒト及び酵母菌人工染色体DNAの既知の配列に隣接するDNA断片をPCR増幅する方法に参与している (Lagerstrom, M. 他(1991) PCR Methods Applic.1:111119)。

【0197】

この方法では、PCRを行う前に複数の制限酵素の消化及びライゲーション反応を用いて未知の配列領域内に組換え二本鎖配列を挿入することが可能である。未知の配列群を検索するために用い得る他の複数の方法も当分野で既知である (Parker, J.D 他(1991) Nucleic Acids Res.19:30553060)。更に、PCR、ネステッドプライマー及びPromoterFinderライブラリ (Clontech, Palo Alto CA) を用いてゲノムDNAをウォーキングすることができる。この手順は、ライブラリ類をスクリーニングする必要がなく、イントロン/エキソン接合部の発見に有用である。全てのPCRベースの方法では、市販ソフトウェア、例えばOLIGO 4.06プライマー分析ソフトウェア (National Biosciences, Plymouth MN) 或いは別の好適なプログラムを用いて、長さが約22~30ヌクレオチド、GC含有率が約50%以上で、温度約68~72で鋳型に対してアニーリングするように、プライマー群を設計し得る。

【0198】

完全長cDNA群をスクリーニングする際は、より大きなcDNA群を含むようにサイズ選択されたライブラリ群を用いるのが好ましい。更に、ランダムプライマーのライブラリは、遺伝子群の5'領域を有する配列をしばしば含んでおり、オリゴd(T)ライブラリが完全長cDNAを作製できない状況に対して好適である。ゲノムライブラリ群は、5'非転写調節領域への、配列の伸長に有用であろう。

【0199】

市販のキャピラリー電気泳動システムを用いて、シーケンシング又はPCR産物のサイズを分析し、又はそのヌクレオチド配列を確認することができる。具体的には、キャピ

ラリーシーケンシングは、電気泳動による分離のための流動性ポリマーと、4つの異なるヌクレオチドに特異的であるような、レーザーで刺激される蛍光色素と、発光された波長の検出に利用するCCDカメラとを有し得る。出力/光の強度は、適切なソフトウェア（Applied Biosystems社のGENOTYPER、SEQUENCE NAVIGATOR等）を用いて電気信号に変換し得る。サンプルのロードからコンピュータ分析及び電子データ表示までの全プロセスがコンピュータ制御可能である。キャピラリー電気泳動法は、特定のサンプルに少量しか存在しないようなDNA小断片のシーケンシングに特に適している。

【0200】

本発明の別の実施例では、IRAPをコードするポリヌクレオチド又はその断片を組換えDNA分子にクローニングして、適切な宿主細胞内にIRAP、その断片又は機能的等価物を発現させることが可能である。遺伝暗号固有の縮重により、実質的に同じ或いは機能的に等価のポリペプチドをコードする別のポリヌクレオチドを産生し、これらの配列をIRAPの発現に利用し得る。

10

【0201】

種々の目的でIRAPがコードする配列を変えるために、本発明のヌクレオチドを当分野で通常知られている方法を用いて組み換えることができる。ここで目的には、限定するものではないが遺伝子産物のクローニング、プロセッシング、発現の調節がある。遺伝子断片及び合成オリゴヌクレオチドのランダムなフラグメンテーション及びPCR再アセンブリによるDNAシャッフリングを用い、ヌクレオチド配列を組み換えることが可能である。例えば、オリゴヌクレオチドを介した部位特異的変異誘導を利用して、新規な制限部位の作製、グリコシル化パターンの変更、コドン優先の変更、スプライス変異体の生成等を起こす突然変異を導入し得る。

20

【0202】

本発明のヌクレオチドを、MOLECULARBREEDING (Maxygen Inc., Santa Clara CA; 米国特許第5,837,458号; Chang, C.-C. 他(1999) Nat. Biotechnol. 17:793-797; Christians, F.C. 他(1999) Nat. Biotechnol. 17:259-264; Cramer, A. 他(1996) Nat. Biotechnol. 14:315-319)などのDNAシャッフリング技術を用いてシャッフリングして、IRAPの生物学的又は酵素的な活性、或いは他の分子や化合物と結合する能力などのIRAPの生物学的特性を変更或いは改良することができる。DNAシャッフリングは、遺伝子断片のPCRを介する組換えを用いて遺伝子変異体のライブラリを作製するプロセスである。ライブラリはその後、所望の特性を持つ遺伝子変異体群を同定する、選択又はスクリーニングの手順を経る。続いて、これら好適な変異体をプールし、更に反復してDNAシャッフリング及び選択/スクリーニングを行い得る。従って、「人工的な」育種及び急速な分子の進化によって遺伝的多様性が生み出される。例えば、ランダムポイント突然変異を持つ単一の遺伝子の断片を組換えて、スクリーニングし、その後所望の特性が最適化されるまでシャッフリングし得る。或いは、所与の遺伝子を同種又は異種のいずれかから得た同一遺伝子ファミリーの相同遺伝子と組み換え、それによって天然に存在する複数の遺伝子の遺伝多様性を、管理され制御可能な方法で、最大化させることができる。

30

【0203】

別の実施態様では、IRAPをコードするポリヌクレオチドは、当分野で周知の化学的方法を用いて、全体或いは一部を合成可能である（例えば、Caruthers, M.H. 他(1980) Nucleic Acids Symp. Ser. 7:215-223; Horn, T. 他(1980) Nucleic Acids Symp. Ser. 7:225-232）。或いはIRAP自体又はその断片の合成に、当分野で既知の化学的方法を用い得る。例えば種々の液相又は固相技術を用いてペプチド合成を行い得る（Creighton, T. (1984) Proteins, Structures and Molecular Properties, WH Freeman, New York NY, 55-60ページ; Roberge, J.Y. 他(1995) Science 269:202-204）。自動合成はABI 431Aペプチドシンセサイザ（Applied Biosystems）を用いて達成し得る。IRAPのアミノ酸配列、又は任意のその一部は更に、直接合成の際に改変することにより、及び/又は他のタンパク質からの配列群又は任意のその一部と組み合わせることにより、変異体ポリペプチドを作製、又は、或る天然ポリペプチドの1配列を有するポリペプチドを作製し得る。

40

50

【0204】

このペプチドは分取用高速液体クロマトグラフィーで実質的に精製し得る (Chiez, R.M. 及び F.Z. Regnier (1990) *Methods Enzymol.* 182:392-421)。この合成ペプチドの組成は、アミノ酸分析又はシーケンシングで確認できる (前出 Creighton、28-53 ページ)。

【0205】

生物学的に活性な I R A P を発現させるために、I R A P をコードするポリヌクレオチド又はその誘導体を好適な発現ベクターに挿入し得る。好適な発現ベクターとは、好適な宿主に挿入されたコーディング配列の転写及び翻訳の制御に必要なエレメント群を持つベクターである。必要なエレメントとしては、ベクター内及び I R A P をコードするポリヌクレオチドにおける調節配列 (例えばエンハンサー、構成型及び発現誘導型のプロモーター、5' 及び 3' の非翻訳領域など) が含まれる。必要なエレメント群は、強度及び特異性が様々である。開始シグナルの例には、A T G 開始コドンと、コザック配列など近傍の配列とが含まれる。I R A P をコードするポリヌクレオチド配列、及びその開始コドンや、上流の調節配列が好適な発現ベクターに挿入された場合は、更なる転写制御シグナルや翻訳制御シグナルは必要ないこともある。しかしながら、コード配列或いはその断片のみが挿入された場合は、インフレーム A T G 開始コドンなど外来性の翻訳制御シグナルが発現ベクターに含まれるようにすべきである。外来性の翻訳エレメント及び開始コドンは、様々な天然物及び合成物を起源とし得る。用いられる特定の宿主細胞系に好適なエンハンサーを含めることで発現の効率を高めることが可能である (Scharf, D. 他 (1994) *Results Probl. Cell Differ.* 20:125162)。

10

20

【0206】

当業者に周知の方法を用いて、I R A P をコードするポリヌクレオチド配列と好適な転写及び翻訳制御エレメントとを持つ発現ベクターを作製し得る。これらの方法としては、*in vitro* 組換え D N A 技術、合成技術、及び *in vivo* 遺伝子組換え技術がある (Sambrook, J. 他 (1989) *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Press, Plainview NY, 4, 8, 及び 16-17 章; Ausubel 他、前出、1, 3 及び 15 章)。

【0207】

種々の発現ベクター/宿主系を利用して、I R A P をコードするポリヌクレオチドの保持及び発現が可能である。限定するものではないがこのような発現ベクター/宿主系には、組換えバクテリオファージ、プラスミド又はコスミド D N A 発現ベクターで形質転換させた細菌や、酵母菌発現ベクターで形質転換させた酵母菌などの微生物や、ウイルス発現ベクター (例えばバキュロウイルス) に感染した昆虫細胞系や、ウイルス発現ベクター (例えばカリフラワーモザイクウイルス: C a M V 又はタバコモザイクウイルス: T M V) 又は細菌発現ベクター (例えば T i 又は p B R 3 2 2 プラスミド) で形質転換させた植物細胞系、動物細胞系等がある (Sambrook、前出、Ausubel 他、前出、Van Heeke, G. 及び S.M. Schuster (1989) *J. Biol. Chem.* 264:55035509; Engelhard, E.K. 他 (1994) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91:3224-3227、Sandig, V. 他 (1996) *Hum. Gene Ther.* 7:1937-1945、Takamatsu, N. (1987) *EMBO J.* 6:307-311; 『マグローヒル科学技術年鑑』 (*The McGraw Hill Yearbook of Science and Technology*) (1992) McGraw Hill, New York NY, 191-196 ページ、Logan, J. 及び T. Shenk (1984) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81:3655-3659、Harrington, J.J. 他 (1997) *Nat. Genet.* 15:157-355)。レトロウイルス、アデノウイルス、ヘルペスウイルス又はワクシニアウイルス由来の発現ベクター、又は種々の細菌性プラスミド由来の発現ベクターを用いて、ポリヌクレオチドを標的器官、組織又は細胞集団へ送達することができる (Di Nicola, M. 他 (1998) *Cancer Gen. Ther.* 5:350-356; Yu, M. 他 (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:6340-6344; Buller, R.M. 他 (1985) *Nature* 317:813-815; McGregor, D.P. 他 (1994) *Mol. Immunol.* 31:219-226; Verma, I.M. 及び N. Somia (1997) *Nature* 389:239-242)。本発明は使用する宿主細胞によって限定されない。

30

40

【0208】

細菌系では、I R A P をコードするポリヌクレオチドの使用目的に応じて多数のクロー

50

ニングベクター及び発現ベクターを選択し得る。例えば、I R A Pをコードするポリヌクレオチドの日常的なクローニング、サブクローニング及び増殖は、PBLUESCRIPT (Stratagene, La Jolla CA) 又はPSPORT1プラスミド (Invitrogen) などの多機能の大腸菌ベクターを用いて達成することができる。I R A Pをコードするポリヌクレオチドをベクターのマルチクローニング部位にライゲーションするとlacZ遺伝子が破壊され、組換え分子を含む形質転換された細菌の同定のための比色スクリーニング法が可能となる。更にこれらのベクターは、クローニングされた配列における*in vitro*転写、ジデオキシのシーケンシング、ヘルパーファージによる一本鎖のレスキュー、入れ子状態の欠失の生成にも有用であろう (Van Heeke, G. 及び S.M. Schuster (1989) J. Biol. Chem. 264:5503-5509)。

例えば抗体の産生などに多量のI R A Pが必要な場合は、I R A Pの発現を高いレベルで指示するベクター類が使用できる。例えば、強力な誘導S P 6バクテリオファージプロモーター又は誘導T 7バクテリオファージプロモーターを含むベクターが使用できる。

10

【0209】

酵母の発現系を使用してI R A Pを産出することもできる。因子、アルコールオキシダーゼ、P G Hプロモーター等の構成型或いは誘導型のプロモーターを含む多数のベクターが、出芽酵母菌 (*Saccharomyces cerevisiae*) 又はピキア酵母 (*Pichia pastoris*) に使用可能である。更に、このようなベクターは、発現したタンパク質の、分泌か細胞内での保持かのどちらかを指示するものであり、安定した増殖のために宿主ゲノムの中に外来ポリヌクレオチド配列群を組み込むことを可能にする (Ausubel 他、前出; Bitter, G.A. 他、(1987) Methods Enzymol. 153:516-544; Scorer, C.A.他(1994) Bio/Technology 12

20

:181-184)。

【0210】

植物系を使用してI R A Pを発現することも可能である。I R A Pをコードするポリヌクレオチドの転写は、ウイルスプロモーター、例えば単独或いはT M V (Takamatsu, N. (1987) EMBO J 6:307-311) 由来のオメガリーダー配列と組み合わせて用いられるようなC a M V由来の35S及び19Sプロモーターによって促進される。或いは、RUBISCOの小サブユニットなどの植物プロモーター、又は熱ショックプロモーターを用い得る (Coruzzi, G. 他(1984) EMBO J. 3:1671-1680; Broglie, R.他(1984) Science 224:838-843; 及びWinter, J. 他(1991) Results Probl. Cell Differ. 17:85105)。これらの作成物を、植物細胞に、直接DNA形質転換又は病原体を媒介した形質移入で導入できる (『マグローヒル科学技術年鑑』 (The McGraw Hill Yearbook of Science and Technology) (1992) McGraw Hill, New York NY, 191-196ページ)。

30

【0211】

哺乳類細胞においては、多数のウイルスベースの発現系を利用し得る。アデノウイルスが発現ベクターとして用いられる場合、後期プロモーターと3連リーダー配列とからなるアデノウイルス転写/翻訳複合体に、I R A Pをコードするポリヌクレオチド群をライゲーションし得る。ウイルスのゲノムの非必須のE 1又はE 3領域への挿入により、感染した宿主細胞にI R A Pを発現する生ウイルスを得ることが可能である (Logan, J. 及びShenk, T. (1984) Proc. Natl. Acad. Sci. 81:3655-3659)。更に、ラウス肉腫ウイルス (R S V) エンハンサー等の転写エンハンサーを用いて、哺乳動物宿主細胞における発現を増大させ得る。S V 40又はE B Vをベースにしたベクターを用いてタンパク質を高レベルで発現させることもできる。

40

【0212】

また、ヒト人工染色体 (H A C) 類を用いて、或るプラスミドに含まれ得る断片やプラスミドから発現し得る断片より大きなDNAの断片群を送達し得る。治療のために約6 kb ~ 10 MbのH A C sが作製され、従来の送達方法 (リポソーム、ポリカチオンアミノポリマー、又はベシクル) で送達されている (Harrington, J.J. 他(1997) Nat. Genet. 15:157-355)。

【0213】

長期にわたり哺乳動物系内で組換えタンパク質を産生するためには、細胞株内の、I R

50

A Pの安定な発現が望ましい。例えば、I R A Pをコードするポリヌクレオチドを細胞株に形質転換するために、発現ベクター類と、同じベクター上の或いは別のベクター上の選択可能マーカー遺伝子とを用い得る。用いる発現ベクターは、ウイルス起源の複製要素、及び/又は内因性の発現要素を持ち得る。ベクターの導入後、選択培地に移す前に強化培地で約1~2日間、細胞を増殖させ得る。選択可能マーカーの目的は選択剤への抵抗性を与えることであり、選択可能マーカーの存在により、導入した配列をうまく発現するような細胞の成長及び回収が可能となる。安定的に形質転換された細胞の耐性クローンは、その細胞型に適した組織培養技術を用いて増殖できる。

【0214】

任意の数の選択系を用いて、形質転換細胞株を回収できる。限定するものではないがこのような選択系には、t k⁻細胞のために用いられる単純ヘルペスウイルスのチミジンキナーゼ遺伝子と、a p r⁻細胞のために用いられる単純ヘルペスウイルスのアデニンホスホリボシルトランスフェラーゼ遺伝子がある(Wigler, M. 他(1977) Cell 11:223-232; Lowy, I. 他(1980) Cell 22:817-823)。また、選択の基礎として代謝拮抗物質、抗生物質或いは除草剤への耐性を用いることができる。例えばd h f rはメトトレキサートに対する耐性を与え、n e oはアミノグリコシドであるネオマイシン及びG - 4 1 8に対する耐性を与え、a l sはクロルスルフロンに対する耐性を、p a tはホスフィノトリシアセチルトランスフェラーゼに対する耐性を各々与える(Wigler, M. 他(1980) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:35673570, Colbere-Garapin, F. 他(1981) J. Mol. Biol. 150:1-14)。この他の選択可能な遺伝子、例えば、代謝のための細胞の必要条件を変えるt r p B及びh i s Dは、文献に記載されている(Hartman, S.C. 及び R.C. Mulligan (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:8047-8051)。可視マーカー、例えばアントシアニン、緑色蛍光タンパク質(GFP;Clontech)、グルクロニダーゼ及びその基質 グルクロニド、又はルシフェラーゼ及びその基質ルシフェリン等を用いてもよい。これらのマーカーを用いて、形質転換体を同定するだけでなく、特定のベクター系に起因しうる一過性或いは安定したタンパク質発現を定量することも可能である(Rhodes, C.A. (1995) Methods Mol. Biol. 55:121-131)。

【0215】

マーカー遺伝子発現の有無によって目的の遺伝子の存在が示唆されても、その遺伝子の存在及び発現の確認が必要な場合もある。例えば、I R A Pをコードする配列が或るマーカー遺伝子配列の中に挿入された場合、I R A Pをコードするポリヌクレオチド群を有する形質転換された細胞群は、マーカー遺伝子機能の欠落により特定できる。又は、1つのプロモーターの制御下でマーカー遺伝子がI R A Pをコードする配列とタンデムに配置することも可能である。誘導又は選択に応答したマーカー遺伝子の発現は通常、タンデム遺伝子の発現も示す。

【0216】

一般に、I R A Pをコードするポリヌクレオチドを持ち、I R A Pを発現する宿主細胞は、当業者に周知の種々の方法を用いて特定できる。これらの方法には、DNA - DNA或いはDNA - RNAハイブリダイゼーションや、PCR法、核酸或いはタンパク質の検出及び/又は数量化のための膜系、溶液ベース、或いはチップベースの技術を含むタンパク質生物学的試験法又は免疫学的アッセイが含まれるが、これらに限定されるものではない。

【0217】

I R A Pの発現の検出及び計測のための、特異的なポリクローナル抗体又はモノクローナル抗体のどちらかを用いる免疫学的方法は、当分野で既知である。このような技法の例には、酵素に結合した免疫吸着剤検定法(ELISA)、ラジオイムノアッセイ(RIA)、蛍光活性化細胞選別(FACS、フローサイトメトリー)などがある。I R A P上の2つの非干渉エピトープに反応するモノクローナル抗体群を用いた、2部位のモノクローナルベースイムノアッセイ(two-site, monoclonal-based immunoassay)が好ましいが、競合結合試験を用いることもできる。これらのアッセイ及び他のアッセイは、当分野で

10

20

30

40

50

周知である (Hampton, R. 他 (1990) Serological Methods, a Laboratory Manual, APS Press, St. Paul MN, Sect. IV、Coligan, J.E.他 (1997) Current Protocols in Immunology, Greene Pub. Associates and Wiley-Interscience, New York NY; Pound, J.D. (1998) Immunochemical Protocols, Humana Press, Totowa NJ)。

【 0 2 1 8 】

多岐にわたる標識方法及び抱合方法が、当業者に知られており、様々な核酸アッセイ及びアミノ酸アッセイにこれらの方法を用い得る。I R A Pをコードするポリヌクレオチドに関連する配列を検出するための、標識されたハイブリダイゼーションプローブ或いはP C Rプローブを生成する方法には、オリゴ標識化、ニックトランスレーション、末端標識化、又は標識されたヌクレオチドを用いるP C R増幅が含まれる。或いはI R A Pをコードするポリヌクレオチド、又はその任意の断片を、m R N Aプローブを生成するためのベクターにクローニングしうる。このようなベクターは、当分野において知られており、市販もされており、T 7、T 3又はS P 6などの好適なR N Aポリメラーゼ及び標識されたヌクレオチドを加えて、in vitroでR N Aプローブの合成に用いることができる。これらの方法は、例えばAmersham Biosciences、Promega (Madison WI)、U.S. Biochemicalなどの種々の市販キットを用いて実行できる。検出を容易にするために用い得る好適なレポーター分子或いは標識には、基質、補助因子、インヒビター、磁気粒子のほか、放射性核種、酵素、蛍光剤、化学発光剤、発色剤などがある。

10

【 0 2 1 9 】

I R A Pをコードするポリヌクレオチドで形質転換した宿主細胞を、細胞培地での該タンパク質の発現と回収とに好適な条件下で培養しうる。形質転換細胞から製造されたタンパク質が分泌されるか細胞内に留まるかは、使用される配列、ベクター、或いはその両者に依存する。I R A Pをコードするポリヌクレオチドを持つ発現ベクターは、原核細胞膜又は真核細胞膜を通してのI R A Pの分泌を誘導するシグナル配列群を持つように設計できることは、当業者には理解されよう。

20

【 0 2 2 0 】

更に、宿主細胞株の選択は、挿入したポリヌクレオチドの発現をモジュレートする能力、又は発現したタンパク質を所望の形に処理する能力によって行い得る。限定するものではないがこのようなポリペプチドの修飾には、アセチル化、カルボキシル化、グリコシル化、リン酸化、脂質化及びアシル化がある。タンパク質の「プレプロ」又は「プロ」形を切断する翻訳後のプロセッシングを利用して、タンパク質の標的への誘導、折りたたみ及び/又は活性を特定することが可能である。翻訳後の活性のための、特定の細胞装置及び特徴的な機序を持つ、種々の宿主細胞 (例えばCHO、HeLa、MDCK、HEK293、WI38など) は、American Type Culture Collection (ATCC, Manassas, VA) から入手可能であり、外来タンパク質の正しい修飾及びプロセッシングを確実にするように選択し得る。

30

【 0 2 2 1 】

本発明の別の実施態様では、I R A Pをコードする、天然ポリヌクレオチド、修飾ポリヌクレオチド、又は組換えポリヌクレオチドを或る異種配列に結合させることにより、上記した任意の宿主系内で、融合タンパク質の翻訳を生じ得る。例えば、市販の抗体によって認識できる異種部分を含むキメラI R A Pタンパク質は、I R A Pの活性のインヒビターに対するペプチドライブラリのスクリーニングを促進し得る。また、異種タンパク質部分及び異種ペプチド部分も、市販されている親和性マトリックスを用いて融合タンパク質の精製を促進し得る。限定されるものではないがこのような部分には、グルタチオンSトランスフェラーゼ (G S T)、マルトース結合タンパク質 (M B P)、チオレドキシン (T r x)、カルモジュリン結合ペプチド (C B P)、6 - H i s、F L A G、c - m y c、赤血球凝集素 (H A) がある。G S Tは固定化グルタチオン上で、M B Pはマルトース上で、T r xはフェニルアルシンオキシド上で、C B Pはカルモジュリン上で、そして6 - H i sは金属キレート樹脂上で、同族の融合タンパク質の精製を可能にする。F L A G、c - m y c及び赤血球凝集素 (H A) は、これらのエピトープ標識を特異的に認識する市販のモノクローナル抗体及びポリクローナル抗体を用いた、融合タンパク質の免疫親和

40

50

性精製を可能にする。また、I R A Pをコードする配列と異種タンパク質配列との間に、タンパク質分解切断部位を融合タンパク質が持つように遺伝子操作すると、I R A Pが、精製後に異種部分から切断され得る。融合タンパク質の発現及び精製方法は、前出のAusubel 他(前出、10及び16章)に記載がある。市販されている種々のキットを用いて融合タンパク質の発現及び精製を促進することもできる。

【0222】

別の実施態様では、T N Tウサギ網状赤血球可溶化液又はコムギ胚芽抽出系(Promega)を用いて*in vitro*で、放射標識I R A Pを合成しうる。これらの系は、T7、T3又はSP6プロモーターと機能的に連結したタンパク質コード配列の転写及び翻訳をカップルさせる。翻訳は、例えば³⁵Sメチオニンのような放射能標識したアミノ酸前駆体の存在下で起こる。

10

【0223】

I R A P或いはその断片又は変異体を用いて、I R A Pに特異結合する化合物をスクリーニングすることができる。1つ以上の試験化合物を用いて、I R A Pへの特異的な結合をスクリーニングすることが可能である。種々の実施態様で、1、2、3、4、5、10、20、50、100、又は200個の試験化合物をI R A Pへの特異結合につきスクリーニングできる。試験化合物の例として、抗体、アンティカリン(anticalins)、オリゴヌクレオチド、タンパク質(例えばリガンドや受容体)、又は小分子が挙げられる。

【0224】

関連の実施態様で、I R A P変異体を用いて試験化合物例えば抗体の、I R A Pへの結合や、I R A P変異体へ、又は組み合わせたD M E及び/又は1つ以上のI R A P変異体への結合をスクリーニングできる。或る実施態様で或るI R A P変異体を用いて、I R A P変異体に結合するがS E D I D N O:1-35の正確な配列を持つI R A Pには結合しない化合物をスクリーニングできる。こうしたスクリーニングの実施に用いるI R A P変異体は、約50%~約99%のD M Eへの配列同一性の範囲を持つ場合があり、種々の実施態様は60%、70%、75%、80%、85%、90%、及び95%の配列同一性を持ち得る。

20

【0225】

或る実施態様でI R A Pへの特異結合スクリーニングで同定された化合物はI R A Pの天然リガンドに密接に関連する場合があり、例えばリガンドやその断片であり、又は天然基質や、構造的又は機能的な擬態物質(mimetic)、或いは自然結合パートナーである(Coligan, J.E. 他(1991) *Current Protocols in Immunology* 1(2):5章)。別の実施態様では、こうして同定した化合物は、受容体I R A Pの天然リガンドでありうる(Howard, A. D. 他(2001) *Trends Pharmacol.Sci.* 22:132-140; Wise, A. 他(2002) *Drug Discovery Today* 7:235-246)。

30

【0226】

別の実施態様でI R A Pへの特異結合スクリーニングで同定した化合物は、I R A Pが結合する天然受容体に、或いは少なくとも該受容体の或る断片に、又は例えばリガンド結合部位や結合ポケットの全体又は一部を含む該受容体の或る断片に、密接に関連し得る。例えば該化合物は、シグナルを伝播可能なI R A P受容体の場合や、シグナルを伝播できないI R A Pおとり受容体の場合がある(Ashkenazi, A. 及びV.M. Divit (1999) *Curr. Opin. Cell Biol.* 11:255-260、Mantovani, A. 他(2001) *Trends Immunol.* 22:328-336)。該化合物は既知の技術を用いて合理的に設計できる。こうした技術の例としては、化合物エタネルセプト(etanercept)(ENBREL; Immunex Corp., Seattle WA)作製に用いた技術を含む。エタネルセプトは、ヒトリウマチ様関節炎の治療に有効である。エタネルセプトは遺伝子操作されたp75腫瘍壊死因子(TNF)受容体ダイマーであり、ヒトIgG₁のFc部分に連結されている(Taylor, P.C. 他(2001) *Curr. Opin. Immunol.* 13:611-616)。

40

【0227】

1つの実施態様で、2種以上の、同様の又は或いは異なる特異性を持つ抗体を、I R A P又はその断片或いは変異体への特異結合につきスクリーニングできる。こうしてスクリ

50

ーニングした抗体の結合特異性を選択し、I R A Pの特定の断片又は変異体を同定できる。1つの実施態様で、I R A Pの特定の断片又は変異体を優先的に同定できる結合特異性を持つ抗体を選択できる。他の実施態様においては、I R A P産生の増加、減少或いはその他の異常産生を伴う特定疾患又は状態を優先的に診断できるように抗体の結合特異性を選ぶことができる。

【0228】

ある実施態様においては、I R A P、その断片又は変異体へのanticalinの結合についてスクリーニングすることができる。anticalinはリポカリン足場に基づいて作成されたリガンド結合タンパク質である(Weiss, G.A. 及びH.B. Lowman (2000) Chem. Biol. 7:R177-R184、Skerra, A. (2001) J. Biotechnol. 74:257-275)。リポカリンのタンパク質構造には、8つの逆平行ベータストランドを持つバレルが含まれ得り、それらのストランドはバレルの開放末端に4つのループを支持する。これらのループはリポカリンの天然リガンド結合部位を形成し、この部位は*in vitro*でアミノ酸置換によって再度人工操作して、新規な結合特異性を与えることができる。このアミノ酸置換は当分野で既知の方法又は本明細書に記載の方法を用いて行うことができる。また、保存的置換(例えば、結合特異性を変えないような置換)、或いは、結合特異性を少し、中等度、又は大きく変えるような置換を行うこともできる。

10

【0229】

一実施例では、I R A Pへの特異的な結合、刺激又は阻害を行う化合物に対するスクリーニングには、分泌タンパク質或いは細胞膜上のタンパク質の何れか一方としてI R A Pを発現する好適な細胞の作製が含まれる。好適な細胞には、哺乳動物、酵母、ショウジョウバエ、又は大腸菌からの細胞が含まれる。I R A Pを発現する細胞、又はI R A Pを含有する細胞膜断片を試験化合物と接触させて、結合や、I R A P又は該化合物の何れかの、刺激又は活性の阻害を分析する。

20

【0230】

あるアッセイは、単に試験化合物をポリペプチドに実験的に結合させ、結合を、蛍光色素、放射性同位体、酵素抱合体又はその他の検出可能な標識により検出することができる。例えば、このアッセイは、少なくとも1つの試験化合物を、溶液中の、或いは固体支持物に固定されたI R A Pと混合するステップと、I R A Pとこの化合物との結合を検出するステップを含み得る。別法では、標識された競合物の存在下での試験化合物の結合の検出及び測定を行うことができる。更にこのアッセイは、無細胞再構成標本、化学ライブラリ、又は、天然産物の混合物を用いて実施でき、試験化合物(群)は、溶液中で遊離させるか固体支持体に固定する。

30

【0231】

アッセイを用いて、或る化合物が、その天然リガンドに結合する能力、及び/又は、その天然リガンドの、その天然受容体への結合を阻害する能力を評価しうる。こうしたアッセイの例としては、米国特許第5,914,236号及び第6,372,724号に記載されたような放射ラベルアッセイを含む。関連した実施態様では、1つ以上のアミノ酸置換が或るポリペプチド化合物(受容体など)に導入され、その天然リガンドに結合する能力を向上又は改変しうる(Matthews, D.J. 及びJ.A. Wells. (1994) Chem. Biol. 1:25-30)。もう一つの関連する実施態様においては、ポリペプチド化合物(例えばリガンド)に1つ以上のアミノ酸置換を行うことにより、天然受容体への結合能力を改善又は改変することができる(Cunningham, B.C. 及びJ.A. Wells (1991) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:3407-3411; Lowman, H.B. 他 (1991) J. Biol. Chem. 266:10982-10988)。

40

【0232】

I R A P、或いはその断片又は変異体を用いて、I R A Pの活性をモジュレートする化合物をスクリーニングしうる。このような化合物としては、アゴニスト、アンタゴニスト、部分的アゴニスト又は逆アゴニストなどが含まれ得る。一実施態様では、I R A Pが少なくとも1つの試験化合物と混合される、I R A P活性が許容される諸条件下で或るアッセイを実施し、試験化合物の存在下でのI R A Pの活性を試験化合物不在下でのI R A P

50

の活性と比較する。試験化合物の存在下での I R A P の活性の変化は、I R A P の活性をモジュレートする化合物の存在を示唆する。別法では、試験化合物を、I R A P の活性に適した条件下で、I R A P を有する *in vitro* 系すなわち無細胞系と混合してアッセイを実施する。I R A P の活性を調節する試験化合物は、これらアッセイの何れにおいても間接的に調節する場合があり、その際は試験化合物と直接接触する必要がない。少なくとも 1 つ、又は複数の試験化合物をスクリーニングすることができる。

【0233】

別の実施態様では、胚性幹細胞 (E S 細胞) における相同組換えを用いて動物モデル系内で、I R A P 又はその哺乳動物相同体をコードするポリヌクレオチドを「ロックアウト」する。このような技術は当技術分野において周知であり、ヒト疾患動物モデルの作製に有用である (米国特許第 5,175,383 号及び第 5,767,337 号等を参照)。例えば 129 / S v J 細胞系などのマウス E S 細胞は初期のマウス胚に由来し、培地で増殖させることができる。この E S 細胞は、ネオマイシンホスホトランスフェラーゼ遺伝子 (neo: Capecchi, M. R. (1989) *Science* 244:1288-1292) などのマーカー遺伝子で破壊した、目的の遺伝子を持つベクターで形質転換される。このベクターは、相同組換えにより、宿主ゲノムの対応する領域に組込まれる。或いは、C r e - L o x P 系を用いて相同組換えを行い、組織特異的又は発生段階特異的に目的遺伝子をロックアウトする (Marth, J. D. (1996) *Clin. Invest.* 97:1999-2002、Wagner, K. U. 他 (1997) *Nucleic Acids Res.* 25:4323-4330)。形質転換した E S 細胞を同定し、例えば C 5 7 B L / 6 マウス株などから採取したマウス細胞胚盤胞に微量注入する。これらの胚盤胞を偽妊娠メスに外科的に導入し、得られるキメラ子孫の遺伝形質を特定し、これらを交配させてヘテロ接合性系又はホモ接合性系を作製する。このようにして作製した遺伝子組換え動物は、潜在的な治療薬や毒性薬物で検査されうる。

10

20

【0234】

I R A P をコードするポリヌクレオチドを *in vitro* でヒト胚盤胞由来の E S 細胞において操作することが可能である。ヒト E S 細胞は、内胚葉、中胚葉及び外胚葉の細胞タイプを含む、少なくとも 8 つの別々の細胞系統に分化する可能性を有する。これらの細胞系統は、例えば神経細胞、造血系統及び心筋細胞に分化する (Thomson, J. A. 他 (1998) *Science* 282:1145-1147)。

【0235】

I R A P をコードするポリヌクレオチドを用いて、ヒト疾患をモデルとした「ロックイン」ヒト化動物 (ブタ) 又は遺伝子組換え動物 (マウス又はラット) を作製することが可能である。ロックイン技術を用いて、I R A P をコードするポリヌクレオチドのある領域を動物 E S 細胞に注入し、注入した配列を動物細胞ゲノムに組み込ませる。形質転換細胞を胞胚に注入し、胞胚を上記のように移植する。遺伝子組換え子孫又は近交系について試験し、潜在的医薬品を用いて処理し、ヒトの疾患の治療に関する情報を得る。別法では、例えば I R A P を乳汁内に分泌するなど I R A P を過剰発現する哺乳動物近交系は、便利なタンパク質源となり得る (Janne, J. 他 (1998) *Biotechnol. Annu. Rev.* 4:55-74)。

30

【0236】

(治療)

I R A P の領域と免疫応答タンパク質の領域との間には、例えば配列及びモチーフの内容における、化学的及び構造的類似性が存在する。さらに、I R A P の発現は乳房腫瘍、食道、胎性脾臓、膝軟骨、肝臓、前立腺腫瘍、胸腺及び腫瘍随伴卵巣組織、アルツハイマー病患者の松果体組織及びヒト奇形癌腫由来 h N T 2 細胞と密接に関連している。さらに、I R A P を発現する組織の例が、表 6 及び実施例 11 にも見られる。従って、I R A P は、免疫系疾患、神経疾患、発生又は発達障害、筋疾患及び細胞増殖異常においてある役割を果たすと考えられる。I R A P の発現又は活性の、亢進に関連する疾患の治療においては、I R A P の発現又は活性を低下させることが望ましい。I R A P の発現又は活性の低下に関連する疾患の治療においては、I R A P の発現又は活性を亢進させることが望ましい。

40

50

【 0 2 3 7 】

従って、一実施例において、I R A Pの発現又は活性の低下に関連した疾患の治療又は
 予防のために、患者にI R A P又はその断片や誘導体を投与することが可能である。限定
 するものではないが、このような疾患としては、免疫系の疾患の中には、後天性免疫不全症
 候群（A I D S）、ブルートン型伴性無ガンマロブリン血症、分類不能型免疫不全（C V
 I）、ディジョージ症候群（胸腺形成不全症）、胸腺異型性、I g A単独欠損症、重症複
 合型免疫不全（S C I D）、血小板減少及び湿疹を伴う免疫不全症（ウイスコット アル
 ドリッチ症候群）、チェディアック 東症候群、慢性肉芽腫症、遺伝性血管神経性浮腫、
 クッシング病に関連した免疫不全症、アジソン病、成人呼吸窮迫症候群、アレルギー、強
 直性脊椎炎、アミロイド症、貧血症、喘息、アテローム性動脈硬化症、自己免疫性溶血性
 貧血、自己免疫性甲状腺炎、自己免疫性多腺性内分泌カンジダ性外胚葉ジストロフィー（
 A P E C E D）、気管支炎、胆嚢炎、接触皮膚炎、クローン病、アトピー皮膚炎、皮膚筋
 炎、真性糖尿病、肺気腫、リンパ球毒素性一時性リンパ球減少症、胎児赤芽球症、結節性
 紅斑、萎縮性胃炎、糸球体腎炎、グッドパスチャー症候群、痛風、グレーブス病、橋本甲
 状腺炎、過好酸球増加症、過敏性大腸症候群、多発性硬化症、重症筋無力症、心筋又は心
 膜炎、骨関節炎、骨粗しょう症、膝炎、乾癬、ライター症候群、慢性関節リウマチ炎、
 硬皮症、シェーグレン症候群、全身性アナフィラキシー、全身性エリテマトーデス、全身
 性硬化症、血小板減少症、潰瘍性大腸炎、ウェルナー症候群、癌合併症、血液透析、体外
 循環、ウイルス感染症、細菌感染症、真菌感染症、寄生虫感染症、原虫感染症、蠕虫感染
 症、外傷が含まれ、神経の疾患の中には、癲癇、虚血性脳血管障害、脳卒中、大脳新生物
 、アルツハイマー病、ピック病、ハンチントン病、痴呆、パーキンソン病及びその他の錐体
 外路障害、筋萎縮性側索硬化及びその他の運動ニューロン障害、進行性神経性筋萎縮症、
 色素性網膜炎、遺伝性運動失調、多発性硬化症及び他の脱髄疾患、細菌性及びウイルス性
 髄膜炎、脳膿瘍、硬膜下蓄膿症、硬膜外膿瘍、化膿性頭蓋内血栓性静脈炎、脊髄炎及び神
 経根炎、ウイルス性中枢神経系疾患、プリオン病（クールー、クロイツフェルト ヤコブ
 病、ゲルストマン症候群、及びGerstmann-Straussler-Scheinker症候群を含む）、致死性
 家族性不眠症、神経系性栄養病及び代謝病、神経線維腫症、結節硬化症、小脳網膜血管芽
 腫（cerebelloretinal hemangioBlastomatosis）、脳3叉神経血管症候群、ダウン症候群
 を含む中枢神経系の精神薄弱及び他の発生障害、脳性麻痺、神経骨格異常症、自律神経
 系障害、脳神経障害、脊髄障害、筋ジストロフィー及びその他の神経筋障害、末梢神経疾
 患、皮膚筋炎及び多発性筋炎、遺伝性、代謝性、内分泌性、及び中毒性の筋疾患、重症筋
 無力症、周期性四肢麻痺、精神病（気分性、不安性の障害、分裂病性疾患）、季節性障害
 （S A D）、静座不能、健忘症、緊張病、糖尿病性ニューロパシー、錐体外路性終末欠陥
 症候群、ジストニー、分裂病性精神障害、帯状疱疹後神経痛、及びトゥレット病と、進
 行性核上麻痺、大脳皮質基底核部変性症、及び家族性の前頭側頭性健忘症とが含まれ、発
 生又は発達障害の中には尿細管性アシドーシス、貧血、クッシング症候群、軟骨形成不全
 性小人症、デュシェンヌ ベッカー型筋ジストロフィー、癲癇、性腺形成異常、W A G R
 症候群（ウィルムス腫瘍、無虹彩症、尿生殖器異常、精神薄弱）、スミス マジェニス症
 候群（Smith-Magenis syndrome）、脊髄形成異常症候群、遺伝性粘膜上皮異形成、遺伝性
 角皮症、シャルコー マリー ツース病及び神経線維腫症などの遺伝性神経病、甲状腺機
 能低下症、水頭症、Syndenham舞蹈病（Syndenham's chorea）及び脳性小児麻痺などの発
 作障害、脊髄二分裂、無脳症、頭蓋脊椎披裂、先天性緑内障、白内障、感覚神経性聴力損
 失が含まれ、筋疾患には、心筋症、心筋炎、デュシェンヌ型筋ジストロフィー、ベッカー
 型筋ジストロフィー、筋緊張（強直）性ジストロフィー、セントラルコア病、ネマリンミ
 オパシー、中心核ミオパシー、脂質ミオパシー、ミトコンドリアミオパシー、感染性筋炎
 、多発性筋炎、皮膚筋炎、封入体筋炎、甲状腺中毒性ミオパシー及びエタノールミオパシ
 ーが含まれる。細胞増殖異常の中には日光性角化症、動脈硬化、アテローム性動脈硬化、
 滑液包炎、硬変、肝炎、混合型結合組織病（M C T D）、骨髄線維症、発作性夜間ヘモグ
 ロビン尿症、真性多血症、乾癬、原発性血小板血症、並びに腺癌及び白血病、リンパ腫、
 黒色腫、骨髄腫、肉腫、及び奇形癌、具体的には、副腎、膀胱、骨、骨髄、脳、乳房、頸

10

20

30

40

50

部、胆嚢、神経節、消化管、心臓、腎臓、肝臓、肺、筋肉、卵巣、膵臓、副甲状腺、陰茎、前立腺、唾液腺、皮膚、脾臓、精巣、胸腺、甲状腺、子宮の癌が含まれる。

【0238】

別の実施態様では、限定するものではないが上に列記した疾患を含む、I R A Pの発現又は活性の低下に関連した疾患の治療又は予防のために、I R A P又はその断片や誘導体を発現し得るベクターを被験者に投与し得る。

【0239】

更に別の実施態様では、限定するものではないが上に列記した疾患を含む、I R A Pの発現又は活性の低下に関連した疾患の治療又は予防のために、実質的に精製されたI R A Pを有する組成物を好適な医薬用キャリアと共に被験者に投与し得る。

10

【0240】

更に別の実施態様では、限定するものではないが上に列記した疾患を含む、I R A Pの発現又は活性の低下に関連した疾患の治療又は予防のために、I R A Pの活性を調節するアゴニストを被験者に投与し得る。

【0241】

更なる実施態様では、I R A Pの発現又は活性の増大に関連した疾患の治療又は予防のために、被験者にI R A Pのアンタゴニストを投与し得る。限定するものではないが、このような疾患の例には、上記した免疫系の疾患、神経の疾患、発生又は発達障害、筋疾患及び細胞増殖異常が含まれる。一実施態様では、I R A Pと特異的に結合する抗体が直接アンタゴニストとして、或いはI R A Pを発現する細胞又は組織に薬剤を運ぶターゲティング或いは送達機構として間接的に用いられ得る。

20

【0242】

別の実施態様では、I R A Pをコードするポリヌクレオチドの相補配列を発現するベクターを被験者に投与して、限定するものではないが上記した疾患を含む、I R A Pの発現又は活性の増大に関連した疾患の治療又は予防も可能である。

他の実施態様において、タンパク質、アゴニスト、アンタゴニスト、抗体、相補的配列、又はベクターは他の適切な治療剤と併用して投与し得る。併用療法で用いる好適な治療薬は、当業者が従来 of 医薬原理に従って選択し得る。治療薬と組み合わせることにより、上記した種々の疾患の治療又は予防に相乗効果をもたらし得る。この方法により、少量の各薬物で医薬効果をあげることが可能となり、それによって副作用の可能性を低減し得る。

30

【0243】

I R A Pのアンタゴニストは、当分野で一般的な方法を用いて製造することが可能である。詳しくは、精製されたI R A Pを用いて抗体を作ったり、治療薬のライブラリをスクリーニングしてI R A Pと特異的に結合するものの同定が可能である。I R A Pへの抗体も、当分野で周知の方法を用いて産生され得る。限定するものではないがこのような抗体には、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、キメラ抗体、一本鎖抗体、F a b断片、及びF a b発現ライブラリによって作られた断片が含まれ得る。中和抗体(すなわち二量体の形成を阻害する抗体)は通常、治療用に好適である。一本鎖抗体(例えばラクダ又はラマ由来)は強力な酵素阻害剤である可能性があり、ペプチド擬態物質の設計において利点を持つようであり、免疫吸着剤とバイオセンサーとの開発においても利点を持つよう

40

【0244】

抗体の産生のためには、ヤギ、ウサギ、ラット、マウス、ラクダ、ヒトコブラクダ、ラマ、ヒト及びその他のものを含む種々の宿主が、I R A P又は任意の断片、又は免疫原性の特性を備えるそのオリゴペプチドの注入によって免疫化され得る。宿主の種に応じて、種々のアジュバントを用いて免疫応答を高めることもできる。限定するものではないがこのようなアジュバントには、フロイントアジュバントと、水酸化アルミニウムなどのミネラルゲルアジュバントと、リゾレシチン、プルロニックポリオール、ポリアニオン、ペプチド、油性乳剤、スカシガイのヘモシアニン(K L H)、ジニトロフェノールなどの界面活性剤とがある。ヒトに用いられるアジュバントの中では、B C G(カルメット グラン杆

50

菌)及びコリネバクテリウム パルバム (*Corynebacterium parvum*) が特に好ましい。

【0245】

I R A P に対する抗体を誘発するために用いられるオリゴペプチド、ペプチド、又は断片は、少なくとも約5個のアミノ酸からなり、一般的には約10個以上のアミノ酸からなるものが好ましい。これらのオリゴペプチド、ペプチド又は断片はまた、天然のタンパク質のアミノ酸配列の一部と同一であることが望ましい。I R A P アミノ酸類の短いストレッチ群は、K L H など他のタンパク質の配列と融合され、このキメラ分子に対する抗体群が産生され得る。

【0246】

I R A P に対するモノクローナル抗体は、培地内の連続した細胞株によって、抗体分子を産生する任意の技術を用いて作製することが可能である。限定するものではないがこのような技術には、ハイブリドーマ技術、ヒトB細胞ハイブリドーマ技術、及びE B V - ハイブリドーマ技術がある (Kohler, G. 他(1975) *Nature* 256:495-497; Kozbor, D. 他(1985) *J. Immunol. Methods* 81:31-42; Cote, R.J. 他(1983) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 80:2026-2030; Cole, S.P. 他(1984) *Mol. Cell Biol.* 62:109-120)。

10

【0247】

更に、「キメラ抗体」作製のために開発された技術、例えば、ヒト抗体遺伝子にマウス抗体遺伝子をスプライシングするなどの技術が、好適な抗原特異性及び生物学的活性を有する分子を得るために用いられる (Morrison, S.L. 他(1984) *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* 81:6851-6855; Neuberger, M.S. 他(1984) *Nature* 312:604-608; Takeda, S. 他(1985) *Nature* 314:452-454)。又は、I R A P 特異的一本鎖抗体を、当分野で既知の方法を用いて、一本鎖抗体の産生のための記載された技術を適用して生成し得る。関連特異性を有するがイデオタイプ組成が異なるような抗体を、ランダムな組み合わせの免疫グロブリンライブラリからチェーンシャッフリングによって産生することもできる (Burton D.R. (1991) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:10134-10137)。

20

【0248】

抗体の産生は、リンパ球集団における *in vivo* 産生の誘導によって、或いは文献に開示されているように非常に特異的な結合試薬の免疫グロブリンのライブラリ又はパネルのスクリーニングによっても行い得る (Orlandi, R. 他(1989) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:3833-3837、Winter, G. 他(1991) *Nature* 349:293-299)。

30

【0249】

I R A P に対する特異的な結合部位を持つ抗体断片も産生され得る。例えば、限定するものではないが、このような断片には、抗体分子のペプシン消化によって作製される $F(a b')$ 断片と、 $F(a b')$ 断片のジスルフィド架橋を還元することによって作製される $F a b$ 断片とがある。或いは、 $F a b$ 発現ライブラリを作製することによって、所望の特異性を持つモノクローナル $F a b$ 断片を迅速且つ容易に同定することが可能となる (Huse, W.D. 他(1989) *Science* 246:1275-1281)。

【0250】

種々の免疫学的検定(イムノアッセイ)を用いてスクリーニングすることにより、所望の特異性を有する抗体を同定し得る。確立された特異性を有するポリクローナル抗体又はモノクローナル抗体の何れかを用いる競合的結合アッセイ、又は免疫放射定量測定法のための数々のプロトコルが、当分野では周知である。通常このような免疫測定法には、I R A P とその特異性抗体との間の複合体の計測が含まれる。二つの非干渉性 I R A P エピトープに対して反応性のモノクローナル抗体を用いる、2部位モノクローナルベースのイムノアッセイが一般に利用されるが、競合的結合アッセイも利用することができる (Pound、前出)。

40

【0251】

I R A P に対する抗体の親和性を、ラジオイムノアッセイ技術と共に Scatchard 分析などの様々な方法を用いて算定する。親和性を結合定数 $K a$ で表すが、この $K a$ は、平衡状態の下で I R A P - 抗体複合体のモル濃度を遊離抗体と遊離抗原のモル濃度で除して得ら

50

れる値である。I R A P エピトープ多数に対してポリクローナル抗体類は親和性が不均一であり、或るポリクローナル抗体製剤に関して判定した K_a は、I R A P に対する抗体群の平均の親和性又は結合活性を表す。特定の I R A P エピトープに単一特異的なモノクローナル抗体試薬の K_a は、親和性の真の測定値を表す。 K_a 値が $10^9 \sim 10^{12} \text{ L/mol}$ の高親和性抗体試薬は、I R A P - 抗体複合体が激しい操作に耐えなければならないイムノアッセイに用いるのが好ましい。 K_a 値が $10^6 \sim 10^7 \text{ L/mol}$ の低親和性抗体製剤は、I R A P が抗体から最終的に（好ましくは活性化状態で）解離する必要がある免疫精製（immunopurification）及び類似の処理に用いるのが好ましい（Catty, D. (1988) Antibodies, Volume 1: A Practical Approach, IRL Press, Washington, DC; Liddell, J. E. 及び Cryer, A. (1991) A Practical Guide to Monoclonal Antibodies, John Wiley & Sons, New York NY）。

【0252】

ポリクローナル抗体製剤の抗体価及び結合活性を更に評価して、後に使う或る適用例に対するこのような試薬の品質及び適性を決定することができる。例えば、少なくとも $1 \sim 2 \text{ mg/ml}$ の特異的な抗体、好ましくは $5 \sim 10 \text{ mg/ml}$ の特異的な抗体を含むポリクローナル抗体製剤は一般に、I R A P 抗体複合体を沈殿させなければならない処理に用いられる。抗体の特異性、抗体価、結合活性、様々な適用例における抗体の品質や使用に対する指針については、一般に入手可能である（Catty、前出、Coligan 他、前出）。

【0253】

本発明の別の実施態様では、I R A P をコードするポリヌクレオチド、又はその任意の断片や相補配列を治療目的で使用できる。ある態様では、I R A P をコードする遺伝子のコーディング領域や調節領域に相補的な配列やアンチセンス分子（DNA、RNA、PNA、又は修飾したオリゴヌクレオチド）を設計して遺伝子発現を変更することができる。このような技術は当分野では周知であり、センス又はアンチセンスオリゴヌクレオチド又は大きな断片が、I R A P をコードする配列の制御領域、又はコード領域に沿ったさまざまな位置から設計可能である（Agrawal, S., 編集（1996）Antisense Therapeutics, Humana Press Inc., Totawa NJ 等を参照）。

【0254】

治療に用いる場合、アンチセンス配列を適切な標的細胞に導入するのに好適な、任意の遺伝子送達系を用いることができる。アンチセンス配列は、転写時に標的タンパク質をコードする細胞配列の少なくとも一部に相補的な配列を作製する発現プラスミドの形で、細胞内に送達し得る（Slater, J.E. 他（1998）*J. Allergy Clin. Immunol.* 102:469-475; Scanlon, K.J. 他（1995）9:1288-1296）。アンチセンス配列はまた、例えばレトロウイルスやアデノ関連ウイルスベクター等のウイルスベクターを用いて細胞内に導入することもできる（Miller, A.D. (1990) *Blood* 76:271、前出の Ausubel, Uckert, W. 及び W. Walther (1994) *Pharmacol. Ther.* 63:323-347）。その他の遺伝子送達機構には、リポソーム系、人工的なウイルスエンベロープ及び当分野で公知のその他のシステムが含まれる（Rossi, J.J. (1995) *Br. Med. Bull.* 51:217-225; Boado, R.J. 他（1998）*J. Pharm. Sci.* 87(11):1308-1315; Morris, M.C. 他（1997）*Nucleic Acids Res.* 25:2730-2736）。

【0255】

本発明の別の実施態様では、I R A P をコードするポリヌクレオチドを、体細胞若しくは生殖細胞の遺伝子治療に用いることが可能である。遺伝子治療を行うことにより、(i) 遺伝子欠損症（例えば X 染色体連鎖遺伝（Cavazzana-Calvo, M. 他（2000）*Science* 288:669-672）により特徴付けられる重症複合型免疫不全（SCID）-X1 病の場合）、先天性アデノシンデアミナーゼ（ADA）欠損症に関連する重症複合型免疫不全症候群（Blaese, R.M. 他（1995）*Science* 270:475-480、Bordignon, C. 他（1995）*Science* 270:470-475）、囊胞性繊維症（Zabner, J. 他（1993）*Cell* 75:207-216; Crystal, R.G. 他（1995）*Hum. Gene Therapy* 6:643-666、Crystal, R.G. 他（1995）*Hum. Gene Therapy* 6:667-703）、サラセミア（thalassamia）、家族性高コレステロール血症、第 VIII 因子若しくは第 IX 因子欠損に起因する血友病（Crystal, R.G. (1995) *Science* 270:404-410、Verma, I.M.

. and Somia. N. (1997) Nature 389:239-242) を治療し、(i i) 条件的致死性遺伝子産物を発現させ(例えば制御不能な細胞増殖に起因する癌の場合)、(i i i) 細胞内の寄生生物(例えばヒト免疫不全ウイルス(HIV)(Baltimore, D. (1988) Nature 335:395-396、Poeschla, E.他(1996) Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 93:11395-11399)などヒトレトロウイルス、B型若しくはC型肝炎ウイルス(HBV、HCV)、Candida albicans及びParacoccidioides brasiliensis等の真菌寄生菌、並びにPlasmodium falciparum及びTrypanosoma cruzi等の原生動物寄生体に対する防御機能を有するタンパク質を発現させることができる。IRAPの発現若しくは調節に必要な遺伝子の欠損が疾患を引き起こす場合、導入した細胞の好適な集団からIRAPを発現させて、遺伝子欠損によって起こる症状の発現を緩和することが可能である。

10

【0256】

本発明の更なる実施例では、IRAPの欠損による疾患や異常症は、IRAPをコードする哺乳動物発現ベクターを作製して、これらのベクターを機械的手段によってIRAP欠損細胞に導入することによって治療する。in vivo或いはex vitroの細胞に用いる機械的導入技術には、(i) 個々の細胞内への直接的なDNA微量注射法、(i i) 遺伝子銃、(i i i) リポソームを介した形質移入、(i v) 受容体を介した遺伝子導入、及び(v) DNAトランスポゾンの使用がある(Morgan, R.A. 及びW.F. Anderson(1993)Annu. Rev. Biochem. 62:191-217、Ivics, Z.(1997)Cell 91:501-510; Boulay, J-L. 及びH. Recipon(1998)Curr. Opin. Biotechnol. 9:445-450)。

【0257】

限定するものではないがIRAPの発現に有効でありうる発現ベクターには、PCDNA 3.1、EPITAG、PRCCMV2、PREP、PVAX、PCR2-TOPOTAベクター(Invitrogen, Carlsbad CA)、PCMV-SCRIPT、PCMV-TAG、PEGSH/PERV(Stratagene, La Jolla CA)及びPTET-OFF、PTET-ON、PTRE2、PTRE2-LUC、PTK-HYG(Clontech, Palo Alto CA)がある。IRAPを発現させるために、(i) 恒常的に活性なプロモーター(例えば、サイトメガロウイルス(CMV)、ラウス肉腫ウイルス(RSV)、SV40ウイルス、チミジンキナーゼ(TK)、若しくは - アクチン遺伝子等)、(i i) 誘導性プロモーター(例えば、市販されているT-REXプラスミド(Invitrogen)に含まれている、テトラサイクリン調節性プロモーター(Gossen, M. 及びH. Bujard (1992) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 89:5547-5551; Gossen, M. 他(1995) Science 268:1766-1769; Rossi, F.M.V. 及びH.M. Blau (1998) Curr. Opin. Biotechnol. 9:451-456)、エクジソン誘導性プロモーター(市販されているプラスミドPVGRXR及びPINDに含まれている:Invitrogen)、FK506/ラマイシン誘導性プロモーター、又はRU486/ミフェプリストーン誘導性プロモーター(Rossi, F.M.V. 及びH.M. Blau, 前出)、又は(i i i) 正常な個体に由来するIRAPをコードする内在性遺伝子の天然のプロモーター若しくは組織特異的プロモーターを用いることが可能である。

20

30

【0258】

市販のリポソーム形質転換キット(例えばInvitrogen社のPERFECT LIPID TRANSFECTION KIT)を用いれば、当業者は経験にそれほど頼らないでもポリヌクレオチドを培養中の標的細胞に導入することが可能になる。別法では、リン酸カルシウム法(Graham, F.L. 及びA.J. Eb(1973)Virology 52:456-467)若しくは電気穿孔法(Neumann, E. 他(1982)EMBO J. 1:841-845)。初代培養細胞にDNAを導入するためには、標準化された哺乳類の形質移入プロトコルの修正が必要である。

40

【0259】

本発明の別の実施態様では、IRAPの発現に関連する遺伝子欠損によって起こる疾患や障害は、(i) レトロウイルス末端反復配列(LTR)プロモーター若しくは独立したプロモーターの調節の下でNAAPをコードするポリヌクレオチドと、(i i) 好適なRNAパッケージングシグナルと、(i i i) 追加のレトロウイルス・シス作用性RNA配列及び効率的なベクターの増殖に必要なコード配列を伴うRev応答性エレメント(RRE)と、からなるレトロウイルスベクターを作製して治療することができる。レトロウイ

50

ルスベクター（例えば P F B 及び P F B N E O）は Stratagene 社から市販されており、刊行データ（Riviere, I. 他 (1995) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92:6733-6737）に基づく。上記データを引用することを以って本明細書の一部とする。このベクターは、好適なベクター産生細胞株（V P C L）において増殖される。V P C L は、各標的細胞上の受容体への親和性を持つエンベロープ遺伝子を、又は V S V g など汎親和性エンベロープタンパク質を発現する（Armentano, D. 他 (1987) J. Virol. 61:1647-1650; Bender, M.A. 他 (1987) J. Virol. 61:1639-1646; Adam, M.A. 及び A.D. Miller (1988) J. Virol. 62:3802-3806; Dull, T. 他 (1998) J. Virol. 72:8463-8471; Zufferey, R. 他 (1998) J. Virol. 72:9873-9880）。R i g g に付与された米国特許第 5,910,434 号（「Method for obtaining retrovirus packaging cell lines producing high transducing efficiency retroviral supernatant」）において、レトロウイルスパッケージング細胞株を得るための方法が開示されており、引用することをもって本明細書の一部とする。レトロウイルスベクター類の繁殖や、細胞集団（例えば C D 4⁺ T 細胞群）の形質導入、及び形質導入した細胞群の患者への戻しは、遺伝子治療分野では当業者に周知の手法であり、多数の文献に記載がある（Ranga, U. 他 (1997) J. Virol. 71:7020-7029; Bauer, G. 他 (1997) Blood 89:2259-2267; Bonyhadi, M.L. (1997) J. Virol. 71:4707-4716; Ranga, U. 他 (1998) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95:1201-1206; Su, L. (1997) Blood 89:2283-2290）。

【 0 2 6 0 】

或る実施態様では、アデノウイルス系遺伝子治療の送達系を用いて、I R A P の発現に関連する 1 或いは複数の遺伝子異常を有する細胞に I R A P をコードするポリヌクレオチドを送達する。アデノウイルス系ベクター類の作製及びパッケージングについては、当業者に周知である。複製欠損型アデノウイルスベクター類は、種々の免疫調節タンパク質をコードする遺伝子群を、無損傷の臍島内に導入する目的で多様に利用し得ることが証明された（Csete, M.E. 他 (1995) Transplantation 27:263-268）。使用できる可能性のあるアデノウイルスベクターは、Armentano に付与された米国特許第 5,707,618 号（「Adenovirus vectors for gene therapy」）に記載されており、引用することをもって本明細書の一部とする。アデノウイルスベクター類については、Antinozzi, P.A. 他 (1999; Annu. Rev. Nutr. 19:511-544) 並びに、Verma, I.M. 及び N. Somia (1997; Nature 18:389:239-242)。

【 0 2 6 1 】

別の実施態様では、ヘルペス系遺伝子治療の送達系を用いて、I R A P の発現に関連する 1 つ以上の遺伝子異常を有する標的細胞に、I R A P をコードするポリヌクレオチドを送達する。I R A P を単純疱疹ウイルス（H S V）が向性を持つ中枢神経細胞に導入するには、H S V 系ベクターの利用が特に有用たり得る。ヘルペス系ベクター類の作製及びパッケージングは、当業者に公知である。或る複製適格性単純ヘルペスウイルス（H S V）1 型系のベクターが、或るレポーター遺伝子の、霊長類の眼への送達に用いられている（Liu, X. 他 (1999) Exp. Eye Res. 169:385395）。H S V - 1 ウイルスベクターの作製についても、DeLuca に付与された米国特許第 5,804,413 号（「Herpes simplex virus strains for gene transfer」）が開示されており、該特許の引用をもって本明細書の一部とする。米国特許第 5,804,413 号には、ヒト遺伝子治療を含む目的のために好適なプロモーターの制御下において細胞に導入される少なくとも 1 つの外在性遺伝子を有するゲノムを含む組換え H S V d 9 2 の使用についての記載がある。上記特許はまた、I C P 4、I C P 2 7 及び I C P 2 2 を欠失した組換え H S V 系統の作製及び使用について開示している。H S V ベクター類については、Goins, W.F. 他 (1999; J. Virol. 73:519532)、Xu, H. 他 (1994; Dev. Biol. 163:152161)。クローン化ヘルペスウイルス配列の操作、巨大ヘルペスウイルスのゲノムの異なったセグメント群を含む多数のプラスミドを形質移入した後の組換えウイルスの産生、ヘルペスウイルスの成長及び増殖、並びにヘルペスウイルスの細胞への感染は、当業者に公知の技術である。

【 0 2 6 2 】

別の実施態様では、ウイルス（正の一本鎖 R N A ウイルス）ベクターを用いて I R A

Pをコードするポリヌクレオチドを標的細胞に送達する。プロトタイプの ウイルスであるセムリキ森林熱ウイルス (Semliki Forest Virus, SFV) の生物学的研究が広範に行われており、遺伝子導入ベクターはSFVゲノムに基づいている (Garoff, H. 及びK.-J. Li (1998) *Cun. Opin. Biotech.* 9:464-469)。 ウイルスRNAの複製中に、通常はウイルスのカプシドタンパク質をコードするサブゲノムRNAが作り出される。このサブゲノムRNAは、完全長のゲノムRNAより高いレベルに複製されるため、酵素活性 (例えばプロテアーゼ及びポリメラーゼ) を有するウイルスタンパク質に比べてカプシドタンパク質が過剰産生される。同様に、IRAPをコードする配列を ウイルスゲノムのカプシドをコードする領域に導入することによって、ベクター導入細胞において多数のIRAPをコードするRNAが産生され、高いレベルでIRAPが合成される。通常、 ウイルスの感染は、数日以内の細胞溶解を伴う。一方、シンドビスウイルス (SIN) の或る変異体を有するハムスター正常腎臓細胞 (BHK-21) 群が持続的な感染を確立する能力は、 ウイルス類の溶解複製を、遺伝子治療に応用し得るように好適に改変可能であることを示唆する (Dryga, S.A. 他 (1997) *Virology* 228:74-83)。 IRAPの様々なタイプの細胞への導入を、 ウイルスの広い宿主域が可能にする。或る集団における或るサブセットの細胞群の特異的形質導入は、形質導入前に細胞の選別を必要とし得る。 ウイルスの感染性cDNAクローンの処置方法、 ウイルスのcDNA及びRNAの形質移入方法及び ウイルスの感染方法は、当業者に公知である。転写開始部位 (transcription initiation site) 由来のオリゴヌクレオチドを用いて遺伝子発現を阻害することも可能である。この位置は、例えばスタート部位 (start site) から数えて約 - 10と約 + 10の間である。同様に、三重らせん塩基対の形成方法を用いて阻害が可能となる。三重らせん塩基対形成は、ポリメラーゼ、転写因子又は調節分子と結合できるように十分に開こうとする、二重らせんの能力を阻害するため有用である。三重らせんDNAを用いる最近の治療の進歩については文献に記載がある (Gee, J.E. 他 (1994) in Huber, B.E. and B.I. Carr, *Molecular and Immunologic Approaches*, Futura Publishing, Mt. Kisco NY, pp.163-177)。相補配列又はアンチセンス分子もまた、転写物がリボソームに結合するのを阻止することによってmRNAの翻訳を阻止するように設計することができる。

10

20

30

40

50

【0263】

リボザイムは酵素的RNA分子であり、RNAの特異的切断を触媒するためにリボザイムを用いることもできる。リボザイム作用のメカニズムは、相補的標的RNAへのリボザイム分子の配列特異的ハイブリダイゼーションとその後起こる内ヌクレオチド鎖切断に参与している。例えば、人為操作されたハンマーヘッド型リボザイム分子は、IRAPをコードするRNA分子のヌクレオチド鎖切断を、特異的且つ効果的に触媒する可能性がある。

【0264】

任意のRNA標的内の特異的リボザイム切断部位は、GUA、GUU、GUC配列を含めたリボザイム切断部位に対して標的分子をスキャンすることによって先ず同定される。一度同定されると、切断部位を持つ標的遺伝子の領域に対応する15~20リボヌクレオチドの短いRNA配列が、そのオリゴヌクレオチドを機能不全にするような2次構造の特徴をもっていないかを評価することが可能になる。候補標的の適合性の評価も、リボヌクレアーゼ保護アッセイを用いて相補的オリゴヌクレオチド群とのハイブリダイゼーションへのアクセス可能性をテストすることによって行い得る。

【0265】

相補リボ核酸分子及びリボザイムは、核酸分子の合成のために当分野で既知の任意の方法を用いて作製し得る。作製方法には、固相ホスホラミダイト化学合成など、オリゴヌクレオチドを化学的に合成する方法がある。或いは、IRAPをコードするDNA分子の *in vitro* 及び *in vivo* 転写によってRNA分子を作成し得る。このようなDNA配列は、T7やSP6などの好適なRNAポリメラーゼプロモーターを用いて多様なベクター内に取り込むことが可能である。或いは、相補的RNAを構成的或いは誘導的に合成するようなこれらcDNA産物を、細胞株、細胞又は組織内に導入することができる。

【0266】

細胞内の安定性を高め、半減期を長くするために、RNA分子を修飾し得る。限定するものではないが可能な修飾としては、分子の5'末端、3'末端、或いはその両方において隣接配列群を追加することや、分子の主鎖内においてホスホジエステラーゼ結合ではなくホスホリボチオエート又は2'-O-メチルを使用することが含まれる。この概念は、本来はPNA群の産出におけるものであるが、これら全ての分子に拡大することができる。そのためには、内因性エンドヌクレアーゼによって容易には認識されない、アデニン、シチジン、グアニン、チミン、及びウリジンにアセチル-、メチル-、チオ-及び同様の修飾をしたものや、非従来型塩基、例えばイノシン、クエオシン (queosine)、ワイブトシン (wybutosine) を加える。

10

【0267】

IRAPをコードするポリヌクレオチドの発現の改変に有効な化合物をスクリーニングする方法が、本発明の更なる実施態様に含まれる。限定するものではないが特異ポリヌクレオチドの発現の改変に効果的な化合物には、オリゴヌクレオチド、アンチセンスオリゴヌクレオチド、三重らせん形成オリゴヌクレオチド、転写因子その他のポリペプチド転写制御因子、及び特異ポリヌクレオチド配列と相互作用し得る非高分子化学的実体がある。有効な化合物は、ポリヌクレオチド発現のインヒビター又はエンハンサーのいずれかとして作用することによりポリヌクレオチド発現を改変し得る。従って、IRAPの発現又は活性の増加に関連する疾患の治療においては、IRAPをコードするポリヌクレオチドの発現を特異的に阻害する化合物が治療上有用であり、IRAPの発現又は活性の低下に

20

【0268】

特異ポリヌクレオチドの発現改変における有効性に対して、少なくとも1個から複数個の試験化合物をスクリーニングし得る。試験化合物は、当分野で通常知られている任意の方法により得られる。このような方法には、ポリヌクレオチドの発現を変異させる場合と、既存の、市販の又は私的な、天然又は非天然の化合物ライブラリから選択する場合と、標的ポリヌクレオチドの化学的及び/又は構造的特性に基づく化合物を合理的にデザインする場合と、組み合わせ的に又は無作為に生成した化合物のライブラリから選択する場合に有効であることが知られているような化合物の化学修飾がある。IRAPをコードする

ポリヌクレオチドを含むサンプルは、このようにして得られた試験化合物の少なくとも1つに曝露する。サンプルは例えば、無傷細胞、透過化処理した細胞、或いはin vitro無細胞系すなわち再構成生化学系があり得る。IRAPをコードするポリヌクレオチドの発現における変化は、当分野で通常知られている任意の方法でアッセイする。通常、IRAPをコードするポリヌクレオチドの配列に相補的なヌクレオチド配列を有するプローブを用いたハイブリダイゼーションにより、特異ヌクレオチドの発現を検出する。ハイブリダイゼーション量を定量し、それによって1つ以上の試験化合物に曝露される及び曝露されないポリヌクレオチドの発現の比較に対する基礎を形成し得る。試験化合物に曝露されるポリヌクレオチドの発現における変化の検出は、ポリヌクレオチドの発現を改変する際に試験化合物が有効であることを示している。或る特定ポリヌクレオチドの改変発現に有効な

30

40

【0269】

ベクターを細胞又は組織に導入する多数の方法が利用可能であり、*in vivo*、*in vitro*

50

及び *ex vivo* の使用に対して同程度に適している。*ex vivo* 治療の場合、ベクターを、患者から採取した幹細胞内に導入し、クローニング増殖して同患者に自家移植で戻すことができる。トランスフェクションによる、又はリポソーム注入やポリカチオンアミノポリマーによる送達は、当分野で周知の方法を用いて実行することができる (Goldman, C.K. 他 (1997) *Nat. Biotechnol.* 15:462-466)。

【0270】

上記の治療方法はいずれも、例えば、ヒト、イヌ、ネコ、ウシ、ウマ、ウサギ、サルなどの哺乳類を含めて治療が必要な全ての被験体に適用できる。

【0271】

本発明の或る更なる実施態様は、薬物として許容できる或る賦形剤と共に製剤される或る活性成分を一般に有する、或る組成物の投与に関する。賦形剤には例えば、糖、でんぷん、セルロース、ゴム及びタンパク質がある。様々な剤型が広く知られており、詳細は *Remington's Pharmaceutical Sciences* (Maack Publishing, Easton PA) の最新版に記載されている。このような組成物は、IRAP、IRAPの抗体、擬態物質、アゴニスト、アンタゴニスト、又はインヒビターなどからなる。

【0272】

本発明に用いられる組成物は、任意の数の経路によって投与することができ、限定するものではないが経路には、経口、静脈内、筋肉内、動脈内、骨髄内、クモ膜下腔内、心室内、肺、経皮、皮下、腹腔内、鼻腔内、腸内、局所、舌下又は直腸がある。

【0273】

肺から投与する組成物は、液状又は乾燥粉末状で調製し得る。このような組成物は通常、患者が吸入する直前にエアロゾル化する。小分子 (例えば伝統的な低分子量有機薬) の場合には、速効製剤のエアロゾル送達は当分野で公知である。高分子 (例えばより大きなペプチド及びタンパク質) の場合には、当該分野において肺の肺泡領域を介しての肺送達が最近向上したことにより、インスリンなどの薬物を実質的に血液循環へ輸送することを可能にした (Patton, J.S. 他, 米国特許第5,997,848号などを参照)。肺送達は、針注射なしに投与する点で優れており、有毒な可能性のある浸透エンハンサーの必要性をなくす。

【0274】

本発明での使用に適した組成物には、所定の目的を達成するために必要なだけの量の活性成分を含有する組成物が含まれる。有効投与量の決定は、当業者の能力の範囲内で行う。

【0275】

IRAPを有する、又はその断片群を有する高分子群を直接、細胞内に送達すべく、特殊な種々の形状の組成物群が調製され得る。例えば、細胞不透過性高分子を含むリポソーム製剤は、その高分子の細胞融合と細胞内送達とを促進し得る。別法では、IRAP又はその断片を HIV Tat-1 タンパク質の短い陽イオン N 末端部に結合することもできる。このようにして生成された融合タンパク質類は、或るマウスモデル系の、脳を含む全ての組織の細胞群に形質導入することがわかっている (Schwarze, S.R. 他 (1999) *Science* 285:1569-1572)。

【0276】

任意の化合物に対して、細胞培養アッセイ、例えば新生物性細胞の細胞培養アッセイにおいて、或いは、動物モデル、例えばマウス、ウサギ、イヌ又はブタ等において、先ず治療有効投与量を推定することができる。動物モデルはまた、好適な濃度範囲及び投与経路を決定するためにも用い得る。このような情報を用いて、次にヒトに対する有益な投与量及び投与経路を決定することができる。

【0277】

治療有効投与量とは、症状や容態を回復させる、例えば、IRAP又はその断片、IRAPの抗体、IRAPのアゴニスト又はアンタゴニスト、インヒビターなど活性処方成分の量を指す。治療有効性及び毒性は、細胞培養又は動物実験における標準的な薬剤手法に

10

20

30

40

50

よって、例えば ED_{50} （集団の50%の治療有効量）又は LD_{50} （集団の50%の致死量）を測定するなどして決定することができる。毒性効果の治療効果に対する投与量の比が治療指数であり、 LD_{50} / ED_{50} 比として表すことができる。高い治療指数を示すような組成物が望ましい。細胞培養アッセイと動物実験とから得られたデータは、ヒトに用いる投与量の範囲の策定に用いられる。このような組成物に含まれる投与量は、毒性を殆ど或いは全く持たず、 ED_{50} を含むような血中濃度の範囲にあることが好ましい。投与量は、用いられる投与形態、患者の感受性及び投与の経路によってこの範囲内で変わる。

【0278】

正確な投与量は、治療が必要な被験者に関する要素を考慮して、現場の医者が決定することになる。十分なレベルの活性成分を与え、或いは所望の効果を維持すべく、用法及び用量を調整する。被験者に関する要素としては、疾患の重症度、患者の全身の健康状態、患者の年齢、体重及び性別（ジェンダー）、投与の時間及び頻度、併用薬、反応感受性及び治療に対する応答等を考慮しうる。作用期間が長い組成物は、特定の製剤の半減期及びクリアランス率によって3～4日毎に1度、1週間に1度、或いは2週間に1度の間隔で投与し得る。

10

【0279】

通常、投与量は、投与の経路にもよるが約0.1～100.000 μ gであり、合計で約1gまでとする。特定の投与量及び送達方法に関するガイダンスは文献に記載されており、現場の医者は通常それを利用することができる。当業者は、ヌクレオチドの処方では、タンパク質又はそれらのインヒビター類とは異なる処方を利用することになる。同様に、ポリヌクレオチド又はポリペプチドの送達は、特定の細胞、症状、部位などに特異的なものとなる。

20

【0280】

（診断）

別の実施態様では、IRAPに特異結合する抗体類が、IRAPの発現によって特徴付けられる疾患の診断、又はIRAPやIRAPのアゴニスト又はアンタゴニスト、インヒビターで治療を受けている患者をモニターするためのアッセイ類に用いられる。診断目的に有用な抗体は、上記の治療の箇所で記載した方法と同じ方法で作成される。IRAPの診断アッセイには、抗体及び標識を用いて、ヒトの体液において、或いは細胞や組織の抽出物において、IRAPを検出する方法が含まれる。この抗体は修飾されたものも、されていないものも可能であり、レポーター分子との共有結合又は非共有結合で標識化できる。レポーター分子としては広くさまざまな種類が本分野で知られており、また使用可能であるが、そのうちのいくつかは上記で説明されている。

30

【0281】

IRAPを測定するためのELISA、RIA、及びFACSを含む種々のプロトコルは、当分野では周知であり、変わった或いは異常なレベルのIRAPの発現を診断する元となるものを提供する。正常或いは標準的なIRAPの発現の値は、複合体の形成に適した条件下で、正常な哺乳動物、例えばヒトなどの被験者から採取した体液又は細胞とIRAPに対する抗体とを結合させることによって決定する。標準複合体形成量は、種々の方法、例えば測光法で定量できる。IRAPの被験体、対照及び、生検組織からの疾患サンプルでの発現量を、標準値と比較する。標準値と被験体との偏差が、疾患を診断するパラメータを確定する。

40

【0282】

本発明の別の実施態様では、IRAPをコードするポリヌクレオチドを、診断目的で用い得る。用いることができるポリヌクレオチドには、オリゴヌクレオチド配列、相補的RNA及びDNA分子、そしてPNAが含まれる。これらのポリヌクレオチドを用いて、IRAPの発現が疾患と相関し得る生検組織での遺伝子発現を、検出し定量し得る。この診断アッセイを用いて、IRAPの存在の有無、更には過剰な発現を調べ、治療時のIRAPレベルの調節を監視する。

50

【0283】

一実施形態では、例えばIRAPをコード又は近縁の分子群をコードするゲノム配列群など、ポリヌクレオチド群を検出できるPCRプローブ類とのハイブリダイゼーションを用いて、IRAPをコードする核酸配列群を同定できる。IRAPをコードする天然配列のみをプローブが同定するか、又は対立遺伝子変異体や関連配列を同定するかは、プローブが高度に特異的な領域（例えば5'調節領域）から作られているか、又はやや特異性の低い領域（例えば保存されたモチーフ）から作られているかという、そのプローブの特異性と、ハイブリダイゼーションの又は増幅のストリンジェンシーとによって決まることになる。

【0284】

プローブはまた、関連する配列の検出に利用され、IRAPをコードする任意の配列と少なくとも50%の配列同一性を有し得る。目的の本発明のハイブリダイゼーションプローブには、DNA或いはRNAが可能であり、SED ID NO: 36-70の配列、或いはIRAP遺伝子のプロモーター、エンハンサー、イントロンを含むゲノム配列に由来し得る。

【0285】

IRAPをコードするポリヌクレオチド群に対して特異的なハイブリダイゼーションプローブ群の作製手段としては、IRAP又はIRAP誘導体群をコードするポリヌクレオチド群を、mRNAプローブ群の作製のためのベクター類にクローニングする方法を含む。mRNAプローブ作製のためのベクターは、当業者に知られており、市販されており、好適なRNAポリメラーゼ及び好適な標識されたヌクレオチドを加えることによって、*in vitro*でRNAプローブを合成するために用いられ得る。ハイブリダイゼーションプローブは、種々のレポーター集団によって標識され得る。レポーター集団の例としては、³²P又は³⁵S等の放射性核種、或いはアビジン/ビオチン結合系を介してプローブに結合されたアルカリホスファターゼ等の酵素標識などが挙げられる。

【0286】

IRAPをコードするポリヌクレオチドを用いて、IRAPの発現に関連する疾患を診断することが可能である。限定するものではないが、このような疾患として、免疫系の疾患の中には、後天性免疫不全症候群(AIDS)、ブルトン型伴性無ガンマグロブリン血症、分類不能型免疫不全(CVI)、ディジョージ症候群(胸腺形成不全症)、胸腺異型性、IgA単独欠損症、重症複合型免疫不全(SCID)、血小板減少及び湿疹を伴う免疫不全症(ウスコット-アルドリッチ症候群)、チェディアック-東症候群、慢性肉芽腫症、遺伝性血管神経性浮腫、クッシング病に関連した免疫不全症、アジソン病、成人呼吸窮迫症候群、アレルギー、強直性脊椎炎、アミロイド症、貧血症、喘息、アテローム性動脈硬化症、自己免疫性溶血性貧血、自己免疫性甲状腺炎、自己免疫性多腺性内分泌カンジダ性外胚葉ジストロフィー(APECED)、気管支炎、胆嚢炎、接触皮膚炎、クローン病、アトピー皮膚炎、皮膚筋炎、真性糖尿病、肺気腫、リンパ球毒素性一時性リンパ球減少症、胎児赤芽球症、結節性紅斑、萎縮性胃炎、糸球体腎炎、グッドパスチャー症候群、痛風、グレーブス病、橋本甲状腺炎、過好酸球増加症、過敏性大腸症候群、多発性硬化症、重症筋無力症、心筋又は心膜炎、骨関節炎、骨粗しょう症、脾炎、乾癬、ライター症候群、慢性関節リウマチ炎、硬皮症、シェーグレン症候群、全身性アナフィラキシー、全身性エリテマトーデス、全身性硬化症、血小板減少症、潰瘍性大腸炎、ウェルナー症候群、癌合併症、血液透析、体外循環、ウイルス感染症、細菌感染症、真菌感染症、寄生虫感染症、原虫感染症、蠕虫感染症、外傷が含まれ、神経の疾患の中には、癲癇、虚血性脳血管障害、脳卒中、大脳新生物、アルツハイマー病、ピック病、ハンチントン病、痴呆、パーキンソン病及びその他の錐体外路障害、筋萎縮性側索硬化及びその他の運動ニューロン障害、進行性神経性筋萎縮症、色素性網膜炎、遺伝性運動失調、多発性硬化症及び他の脱髄疾患、細菌性及びウイルス性髄膜炎、脳膿瘍、硬膜下蓄膿症、硬膜外膿瘍、化膿性頭蓋内血栓性静脈炎、脊髄炎及び神経根炎、ウイルス性中枢神経系疾患、プリオン病(クールー、クロイツフェルト-ヤコブ病、ゲルストマン症候群、及びGerstmann-Straussler-Scheinker症候群を含む)、致死性家族性不眠症、神経系性栄養病及び代謝病、神経線維腫症

10

20

30

40

50

、結節硬化症、小脳網膜血管芽腫 (cerebelloretinal hemangioblastomatosis)、脳3叉神経血管症候群、ダウン症候群を含む中枢神経系性の精神薄弱及び他の発生障害、脳性麻痺、神経骨格異常症、自律神経系障害、脳神経障害、脊髄障害、筋ジストロフィー及びその他の神経筋障害、末梢神経疾患、皮膚筋炎及び多発性筋炎、遺伝性、代謝性、内分泌性、及び中毒性の筋疾患、重症筋無力症、周期性四肢麻痺、精神病 (気分性、不安性の障害、分裂病性疾患)、季節性障害 (SAD)、静座不能、健忘症、緊張病、糖尿病性ニューロパシー、錐体外路性終末欠陥症候群、ジストニー、分裂病性精神障害、帯状疱疹後神経痛、及びトゥレット病と、進行性核上麻痺、大脳皮質基底核部変性症、及び家族性の前頭側頭性健忘症とが含まれ、発生又は発達障害の中には尿細管性アシドーシス、貧血、クッシング症候群、軟骨形成不全性小人症、デュシェンヌ ベッカー型筋ジストロフィー、癲癇、性腺形成異常、WAGR症候群 (ウィルムス腫瘍、無虹彩症、尿生殖器異常、精神薄弱)、スミス マジェニス症候群 (Smith-Magenis syndrome)、脊髄形成異常症候群、遺伝性粘膜上皮異形成、遺伝性角皮症、シャルコー マリエ ツース病及び神経線維腫症などの遺伝性神経病、甲状腺機能低下症、水頭症、Sydenham's chorea) 及び脳性小児麻痺などの発作障害、脊髄二分裂、無脳症、頭蓋脊椎披裂、先天性緑内障、白内障、感覚神経性聴力損失が含まれ、筋疾患には、心筋症、心筋炎、デュシェンヌ型筋ジストロフィー、ベッカー型筋ジストロフィー、筋緊張 (強直) 性ジストロフィー、セントラルコア病、ネマリンミオパシー、中心核ミオパシー、脂質ミオパシー、ミトコンドリアミオパシー、感染性筋炎、多発性筋炎、皮膚筋炎、封入体筋炎、甲状腺中毒性ミオパシー及びエタノールミオパシーが含まれる。細胞増殖異常の中には日光性角化症、動脈硬化、アテローム性動脈硬化、滑液包炎、硬変、肝炎、混合型結合組織病 (MCTD)、骨髓線維症、発作性夜間ヘモグロビン尿症、真性多血症、乾癬、原発性血小板血症、並びに腺癌及び白血病、リンパ腫、黒色腫、骨髄腫、肉腫、及び奇形癌、具体的には、副腎、膀胱、骨、骨髄、脳、乳房、頸部、胆嚢、神経節、消化管、心臓、腎臓、肝臓、肺、筋肉、卵巣、膵臓、副甲状腺、陰茎、前立腺、唾液腺、皮膚、脾臓、精巣、胸腺、甲状腺、子宮の癌が含まれる。IRAPをコードするポリヌクレオチドは、サザン法やノーザン法、ドットプロット法、或いはその他の膜系の技術、PCR法、ディップスティック (dipstick)、ピン (pin)、及びマルチフォーマットのELISA式アッセイ、及び、変容したIRAP発現を検出するために患者から採取した体液或いは組織を利用するマイクロアレイに使用可能である。このような定性方法又は定量方法は、当分野で公知である。

【0287】

或る特定の態様では、IRAPをコードするヌクレオチド群を、関連する障害、特に上記した障害を検出するアッセイ類に用い得る。IRAPをコードする配列に相補的なポリヌクレオチドは、標準的な方法で標識化され、ハイブリダイゼーション複合体の形成に好適な条件下で、患者から採取した体液或いは組織のサンプルに加えることができるであろう。好適なインキュベーション期間が経過したらサンプルを洗浄し、シグナルを定量して標準値と比較する。患者サンプル中のシグナルの量が、対照サンプルと較べて著しく変化している場合は、該サンプル内の、IRAPをコードするポリヌクレオチドのレベル変化の存在が、関連する疾患の存在を示す。このようなアッセイは、動物実験、臨床試験における特定の治療効果を評価するため、或いは個々の患者の治療をモニターするために用いることもできる。

【0288】

IRAPの発現に関連する疾患の診断基準を提供するために、発現のための正常或いは標準プロフィールを確立する。これは、ハイブリダイゼーション或いは増幅に好適な条件下、動物或いはヒトのいずれかの正常な被験体から抽出された体液或いは細胞とIRAPをコードする配列或いはその断片とを混合することにより達成され得る。実質的に精製されたポリヌクレオチドを既知量で用いて行った実験から得た値を正常な被験者から得た値と比較することにより、標準ハイブリダイゼーションを定量することができる。このようにして得た標準値は、疾患の徴候を示す患者から得たサンプルから得た値と比較することができる。標準値からの偏差を用いて疾患の存在を確定する。

【0289】

疾患の存在が確定されて治療プロトコルが開始されると、患者の発現レベルが正常な被検者に観察されるレベルに近づき始めたかどうかを測定するため、ハイブリダイゼーションアッセイを定期的に繰り返し得る。連続アッセイから得られた結果を用いて、数日から数ヶ月の期間にわたる治療の効果を示し得る。

【0290】

癌に関しては、個体からの生体組織における異常な量の転写物（過少発現又は過剰発現）の存在は、疾患の発生素質を示したり、実際に臨床的症狀が現れる前に疾患を検出する方法を提供し得る。この種のより明確な診断により、医療の専門家が予防方法又は積極的な治療法を早くから利用し、それによって癌の発生又は更なる進行を防止することが可能となる。

10

【0291】

I R A Pをコードする配列群から設計したオリゴヌクレオチド群の更なる診断的利用には、P C Rの利用を含み得る。これらのオリゴマーは、化学的に合成するか、酵素により生産するか、或いは*in vitro*で産出し得る。オリゴマーは、好ましくはI R A Pをコードするポリヌクレオチドの断片、或いはI R A Pをコードするポリヌクレオチドと相補的なポリヌクレオチドの断片を含み、最適化した条件下で、特定の遺伝子や条件を識別するために利用される。また、オリゴマーは、やや緩いストリンジェンシー条件下で、近縁のD N A或いはR N A配列の検出、定量、或いはその両方のため用いることが可能である。

【0292】

特定態様においては、I R A Pをコードするポリヌクレオチド配列群に由来するオリゴヌクレオチドプライマー類を用いて、一塩基多型（S N P）を検出し得る。S N Pは、多くの場合にヒトの先天性又は後天性遺伝病の原因となるような置換、挿入及び欠失である。限定するものではないがS N Pの検出方法には、S S C P（single-stranded conformation polymorphism）及び蛍光S S C P（f S S C P）がある。S S C Pでは、I R A Pをコードするポリヌクレオチド群に由来のオリゴヌクレオチドプライマー類とポリメラーゼ連鎖反応法（P C R）を用いD N Aを増幅する。このD N Aは例えば、病変組織又は正常組織、生検サンプル、体液などに由来し得る。D N A内のS N Pによって、一本鎖形状のP C R生成物の2次及び3次構造に差異が生じる。この差異は非変性ゲル中でのゲル電気泳動法を用いて検出可能である。f S S C Pでは、オリゴヌクレオチドプライマーを蛍光性に標識する。それによってD N Aシーケンシング機などの高処理機器でアンプリマー（amplimer）の検出が可能になる。更に、インシリコS N P（*in silico* SNP, *is*SNP）と呼ばれる配列データベース分析法は、一般的なコンセンサス配列へアセンブリされるような個々のオーバーラップするD N A断片の配列を比較することにより、多型性を同定し得る。これらのコンピュータベースの方法は、D N Aの実験室での調製に、また統計モデル及びD N A配列クロマトグラムの自動分析を用いたシーケンシングのエラーに起因する配列の変異をフィルタリングして除去する。別の態様では、例えば高処理M A S S A R R A Yシステム（Sequenom, Inc., San Diego CA）を用いた質量分析によりS N Pを検出し、特徴付ける。

20

30

【0293】

S N Pを利用して、ヒト疾患の遺伝的基礎を研究しうる。例えば、少なくとも16の一般的なS N Pが非インスリン依存型真性糖尿病と関連がある。S N Pはまた、嚢胞性線維症、鎌状赤血球貧血、慢性肉芽腫性疾病等の単一遺伝子病の転帰の違いを研究するために有用である。例えば、マンノース結合レクチンでの変異体（M B L 2）は、嚢胞性線維症の肺での有害な転帰と相関することがわかっている。S N Pはまた、生命を脅かす毒性等の薬剤への患者の反応に影響する遺伝変異体の同定という薬理ゲノミクスにおいても有用性がある。例えば、N - アセチルトランスフェラーゼにおける変異は抗結核剤、イソニアジドに应答した末梢神経障害の発生率が高くなるが、A L O X 5遺伝子のコアプロモータの変異は5 - リポキシゲナーゼ経路を標的とする抗喘息薬での治療に対する臨床的反応を減少する。異なった集団でのS N Pの分布についての分析は遺伝的浮動、突然変異、組み

40

50

換え及び選択の研究に有用であると共に、集団の起源と移動の調査にも有用である (Taylor, J.G. 他(2001) Trends Mol. Med. 7:507-512、Kwok, P.-Y. 及びZ. Gu (1999) Mol. Med. Today 5:538-543、Nowotny, P. 他(2001) Curr. Opin. Neurobiol. 11:637-641)。

【0294】

I R A Pの発現を定量するために用い得る別の方法の例としては、ヌクレオチド群の放射標識又はビオチン標識、対照核酸の共増幅 (coamplification)、及び、標準曲線から得た結果の補間もある (Melby, P.C. 他(1993) J. Immunol. Methods 159:235-244、Dupl aa, C.他(1993) Anal. Biochem. 212:229-236)。目的のオリゴマーが種々の希釈液中に存在し、分光光度法又は比色反応によって定量が迅速になるような高処理フォーマットのアッセイを行うことによって、複数のサンプルの定量速度を加速することができる。

10

【0295】

更に別の実施様態では、本明細書に記載した任意のポリヌクレオチドに由来するオリゴヌクレオチド又はより長い断片を、或るマイクロアレイにおけるエレメント群として用いることができる。大多数の遺伝子の相対発現レベルを同時にモニターする転写イメージング技術にマイクロアレイを用いることが可能である。これについては、以下に記載する。マイクロアレイはまた、遺伝変異体、突然変異及び多型性の同定に用いることができる。この情報を用いることで、遺伝子機能を決定し、疾患の遺伝的根拠を理解し、疾患を診断し、遺伝子発現の機能としての疾病の進行/後退をモニターし、疾病治療における薬物の活性を開発及びモニターすることができる。特に、患者にとって最もふさわしく、有効な治療法を選択するために、この情報を用いて患者の薬理ゲノムプロファイルを開発することができる。例えば、患者の薬理ゲノムプロファイルに基づき、患者に対して高度に効果的で副作用の最も少ない治療薬を選択することができる。

20

【0296】

別の実施例では、I R A P、I R A Pの断片、I R A Pに特異的な抗体をマイクロアレイ上のエレメントとして用いることができる。マイクロアレイを用いて、上記のようなタンパク質-タンパク質相互作用、薬物-標的相互作用及び遺伝子発現プロファイルをモニター又は測定することが可能である。

【0297】

或る実施態様は、或る組織又は細胞タイプの転写イメージを作製する、本発明のポリヌクレオチドの使用に関連する。転写イメージは、特定の組織又は細胞タイプによる遺伝子発現の包括的パターンを表す。包括的遺伝子発現パターンは、所与の条件下で所与の時間に発現した遺伝子の数及び相対存在量を定量することにより分析し得る (Seilhamer 他(2001) 米国特許第5,840,484号「Comparative Gene Transcript Analysis」は特に引用することを以って本明細書の一部となす)。従って、特定の組織又は細胞タイプの転写物又は逆転写物全体に本発明のポリヌクレオチド又はその相補体をハイブリダイズすることにより、転写イメージを生成し得る。或る実施例では、本発明のポリヌクレオチド又はその相補体がマイクロアレイ上のエレメントのサブセットを複数含むような高処理フォーマットでハイブリダイゼーションを発生させる。結果として得られる転写イメージは、遺伝子活性のプロファイルを提供し得る。

30

【0298】

転写イメージは、組織、細胞株、生検又はその生体サンプルから単離した転写物を用いて作製し得る。転写イメージはしたがって、組織又は生検サンプルの場合にはin vivo、細胞株の場合にはin vitroでの遺伝子発現を反映する。

40

【0299】

本発明のポリヌクレオチドの発現のプロファイルを作製する転写イメージはまた、工業的又は天然の環境化合物の毒性試験のみならず、in vitroモデル系及び薬剤の前臨床評価と併せて使用し得る。全ての化合物は、作用及び毒性のメカニズムを標示し、しばしば分子フィンガープリント又は毒性シグネチャ (toxicant signatures) と称される、特徴的な遺伝子発現パターンを惹起する (Nuwaysir, E.F. 他(1999) Mol. Carcinog. 24:153-159; Steiner, S. 及びN.L. Anderson (2000) Toxicol. Lett. 112-113:467-471)。試験化

50

化合物が、既知の毒性を有する化合物のシグネチャと同様のシグネチャを有する場合には、毒性特性を共有している可能性がある。フィンガープリント又はシグネチャは、多数の遺伝子及び遺伝子ファミリーからの発現情報を含んでいる場合に、最も有用且つ正確である。理想的には、ゲノム全域にわたる発現の測定が、最高品質のシグネチャを提供する。たとえば、発現が任意の試験された化合物によって変容しない遺伝子があったとしても、それらの発現レベルを残りの発現データをノーマライズするために使用できるため、それらの遺伝子は重要である。ノーマライズ手順は、種々の化合物で処理した後の発現データの比較に有用である。毒性シグネチャの要素への遺伝子機能を割り当てることは毒性機構の解明に役立つが、毒性の予測につながるシグネチャの統計的な一致には遺伝子機能の知識は必要ではない（例えば2000年2月29日に米国国立環境健康科学研究所（National Institute of Environmental Health Sciences）より2000年2月29日に発行されたPress Release 00-02を参照されたい。これについては<http://www.niehs.nih.gov/oc/news/toxchip.htm>で入手可能である）。したがって、毒性シグネチャを用いる中毒学的スクリーニングの際に、全ての発現した遺伝子配列を含めることは、重要且つ望ましい。

【0300】

或る実施例では、核酸を有する生体サンプルを試験化合物で処理することにより、この試験化合物の毒性を算定する。処理した生物学的サンプル中で発現した核酸は、本発明のポリヌクレオチドに特異的な1つ以上のプローブでハイブリダイズし、それによって本発明のポリヌクレオチドに対応する転写物レベルを定量し得る。処理した生体サンプル中の転写レベルを、未処理生体サンプル中のレベルと比較する。両サンプルの転写物レベルの差は、処理されたサンプル中で試験化合物が引き起こす毒性反応を示す。

【0301】

別の実施態様は、本明細書に開示するポリペプチド配列群を用いて或る組織又は細胞タイプのプロテオームを分析することに関する。プロテオームの語は、特定の組織又は細胞タイプでのタンパク質発現の包括的パターンを指す。プロテオームの各タンパク質成分は、個々に更なる分析にかけることができる。プロテオーム発現パターンすなわちプロファイルは、所与の条件下で所与の時間に発現したタンパク質の数及び相対存在量を定量することにより分析し得る。したがって、或る細胞のプロテオームのプロファイルは、特定の組織又は細胞タイプのポリペプチドを分離及び分析することにより作成し得る。或る実施例では、1次元等電点電気泳動によりサンプルからタンパク質を分離し、2次元ドデシル硫酸ナトリウムスラブル電気泳動により分子量に応じて分離するような2次元ゲル電気泳動により、分離が達成される（前出のSteiner及びAnderson）。タンパク質は、通常はクーマシーブルー、或いは銀染色液又は蛍光染色液などの物質を用いてゲルを染色することにより、分散した、独自の位置にある点としてゲル中で可視化される。各タンパク質スポットの光学密度は、通常、サンプル中のタンパク質レベルに比例する。異なるサンプル、例えば試験化合物又は治療薬で処理又は未処理のいずれかの生体サンプルからの、同等に位置したタンパク質スポットの光学密度を比較し、処理に関連するタンパク質スポット密度の変化を同定する。スポット内のタンパク質は、例えば化学的又は酵素的切断とそれに続く質量分析を用いる標準的な方法を用いて部分的にシーケンシングする。或るスポット内のタンパク質の同一性は、その部分配列を、好適には少なくとも5個の連続するアミノ酸残基を、目的のポリペプチド配列と比較することにより決定し得る。場合によっては、決定的なタンパク質同定のための更なる配列データが得られる。

【0302】

プロテオームのプロファイルは、IRAPに特異的な抗体類を用いてIRAPの発現レベルを定量することによっても作成できる。或る実施態様では、マイクロアレイ上のエレメントとしてこれら抗体を用い、マイクロアレイをサンプルに曝して各アレイエレメントへのタンパク質結合レベルを検出することにより、タンパク質発現レベルを定量する（Lueking, A. 他(1999) Anal. Biochem. 270:103-111, Mendozze, L.G. 他(1999) Biotechniques 27:778-788）。検出は当分野で既知の様々な方法で行うことができ、例えば、チオール反応性又はアミノ反応性蛍光化合物とサンプル中のタンパク質を反応させ、各アレイエ

レメントにおける蛍光結合の量を検出し得る。

【0303】

プロテオームレベルでの毒性シグネチャも中毒学的スクリーニングに有用であり、転写レベルでの毒性シグネチャと並行に分析するべきである。いくつかの組織のいくつかのタンパク質については、転写物の存在量とタンパク質の存在量との相関が乏しいので (Anderson, N.L. 及び J. Seilhamer (1997) *Electrophoresis* 18:533-537)、転写イメージにはそれ程影響しないがプロテオームのプロファイルを変更するような化合物の分析において、プロテオーム毒性シグネチャは有用たり得る。更に、体液中の転写物の分析は mRNA の急速な分解のために困難なので、プロテオームのプロファイル作成はこのような場合により信頼でき、情報価値があり得る。

10

【0304】

別の実施形態では、タンパク質を含有する生体サンプルを試験化合物で処理することにより試験化合物の毒性を算定する。処理された生体サンプル中で発現したタンパク質は、各タンパク質の量を定量し得るように分離する。各タンパク質の量を、未処理生物学的サンプル中の対応するタンパク質の量と比較する。両サンプルのタンパク質量の差は、処理サンプル中の試験化合物に対する毒性反応を示す。個々のタンパク質は、個々のタンパク質のアミノ酸残基をシーケンシングし、これら部分配列を本発明のポリペプチドと比較することにより同定する。

【0305】

別の実施形態では、タンパク質を含有する生体サンプルを試験化合物で処理することにより試験化合物の毒性を算定する。生体サンプルから得たタンパク質は、本発明のポリペプチドに特異的な抗体を用いてインキュベートする。抗体により認識されたタンパク質の量を定量する。処理された生物学的サンプル中のタンパク質の量を、未処理生物学的サンプル中のタンパク質の量と比較する。両サンプルのタンパク質量の差は、処理サンプル中の試験化合物に対する毒性反応を示す。

20

【0306】

マイクロアレイは、本技術分野で既知の方法で調製し、使用し、分析する (例えば Brennan, T.M. 他 (1995) 米国特許第 5,474,796 号、Schena, M. 他 (1996) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93:10614-10619、Baldeschweiler 他 (1995) PCT 出願第 W095/251116 号、Shalon, D. 他 (1995) PCT 出願第 W095/35505 号、Heller, R.A. 他 (1997) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94:2150-2155、Heller, M.J. 他 (1997) 米国特許第 5,605,662 号)。様々なタイプのマイクロアレイが公知であり、詳細については、Schena, M 編集 DNA Microarrays: A Practical Approach, Oxford University Press, London に記載されている)。

30

【0307】

本発明の別の実施形態では、IRAP をコードする核酸配列群を用いて、天然ゲノム配列をマッピングするのに有用なハイブリダイゼーションプローブ群を作製できる。コード配列又は非コード配列のいずれかを用いることができ、或る例では、コード配列より非コード配列の方が好ましい。例えば、多重遺伝子族のメンバー内でのコード配列の保存により、染色体マッピング中に望ましくないクロスハイブリダイゼーションが生じる可能性がある。核酸配列は、特定の染色体、染色体の特定領域又は人工形成の染色体、例えば、ヒト人工染色体 (HAC)、酵母人工染色体 (YAC)、細菌人工染色体 (BAC)、細菌 P1 産物、或いは単一染色体 cDNA ライブラリに対してマッピングされる (Harrington, J.J. 他 (1997) *Nat. Genet.* 15:345-355; Price, C.M. (1993) *Blood Rev.* 7:127-134; Trask, B.J. (1991) *Trends Genet.* 7:149-154)。一度マッピングすると、核酸配列を用いて、例えば病状の遺伝と特定の染色体領域や又は制限酵素断片長多型 (RFLP) の遺伝とが相関するような遺伝子連鎖地図を作成可能である (Lander, E.S. 及び D. Botstein (1986) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 83:7353-7357)。

40

【0308】

蛍光原位ハイブリッド形成法 (FISH) は、他の物理的及び遺伝的地図データと相関し得る (Heinz-Ulrich 他 (1995) in Meyers、前出、965-968 ページ)。遺伝的地図データ

50

の例は、種々の科学雑誌或いはOnline Mendelian Inheritance in Man (O M I M) のウェブサイトに見ることができる。物理的な染色体地図上の I R A P をコードする遺伝子の位置と、特定の疾患との相関性、或いは特定の疾患に対する素因との相関性は、この疾患と関連する D N A の領域の決定に役立ち得るため、位置を決定するクローニングの作業を促進し得る。

【 0 3 0 9 】

確定した染色体マーカーを用いた連鎖分析等の物理的マッピング技術及び染色体標本原位ハイブリッド形成法を用いて、遺伝地図を拡張することができる。例えばマウスなど別の哺乳類の染色体上に遺伝子を配置することにより、正確な染色体上の遺伝子座が未知でも、関連するマーカー類をしばしば明らかにし得る。この情報は、ポジショナルクローニング、又はその他の遺伝子発見技術を用いて疾患遺伝子を探す研究者にとって価値がある。疾患又は症候群に關与する遺伝子が、血管拡張性失調症の 1 1 q 2 2 - 2 3 領域等、特定の遺伝子領域への遺伝的結合によって大まかに位置決めがなされると、該領域にマップされる任意の配列は、更なる調査のための関連遺伝子或いは調節遺伝子を提示している可能性がある (Gatti, R.A. 他 (1988) Nature 336:577-580)。転座、反転などに起因する、健常者、保有者、罹病者の三者間における染色体位置の相違を検出する場合にも、本発明のヌクレオチド配列を用い得る。

10

【 0 3 1 0 】

本発明の別の実施態様では、I R A P、その触媒作用断片群、或いは免疫原断片群、又はそのオリゴペプチド群を、種々の任意の薬物スクリーニング技術における、化合物群のライブラリ類のスクリーニングに用い得る。薬剤スクリーニングに用いる断片は、溶液中に遊離しているか、固体支持物に固定されるか、細胞表面上に保持されるか、細胞内に位置しうる。I R A P とテストする薬剤と、結合複合体の形成を測定し得る。

20

【 0 3 1 1 】

別の薬物スクリーニング方法は、目的のタンパク質に対して好適な結合親和性を有する化合物を高い処理能力でスクリーニングするために用いられる (Geysen 他 (1984) PCT 出願 W084/03564)。この方法においては、多数の様々な低分子の試験用化合物を固体基板上で合成する。試験用化合物は、I R A P、或いはその断片と反応してから洗浄される。次に、本技術分野でよく知られている方法で、結合した I R A P を検出する。精製した I R A P はまた、上記した薬剤のスクリーニング技術において用いるプレート上で直接コーティングすることもできる。別法では、非中和抗体を用いてペプチドを捕捉し、ペプチドを固体支持物に固定することもできる。

30

【 0 3 1 2 】

別の実施例では、I R A P と特異結合可能な中和抗体が I R A P との結合について試験用化合物と競合する、競合的薬剤スクリーニングアッセイを用いることができる。この方法では、抗体を用いて、1 つ以上の抗原決定基を I R A P と共有するどのペプチドの存在をも検出できる。

【 0 3 1 3 】

別の実施例では、将来に開発される分子生物学技術が、現在知られているヌクレオチド配列の特性 (限定はされないが、トリプレット遺伝コード、特異的な塩基対相互作用等を含む) に依存しているならば、I R A P をコードするヌクレオチド配列をその新技術に用い得る。

40

【 0 3 1 4 】

更に詳細説明をしなくとも、当業者であれば以上の説明を以って本発明を最大限に利用できるであろう。従って、これ以下に記載する実施例は単なる例示目的にすぎず、いかようにも本発明を限定するものではない。

【 0 3 1 5 】

本明細書において開示した全ての特許、特許出願及び刊行物、特に米国特許第 60/324、034号、第 60/327、395号、第 60/328、923号、第 60/342、810号、第 60/344、468号、第 60/332、140号、第 60/340、282号、第 60/347、693号、第 60/361、088号、第 60/358、279号

50

、第60/364、494号、第60/379、876号及び第60/388、180は言及することをもって本明細書の一部となす。

【実施例】

【0316】

1 cDNAライブラリの作製

Incyte cDNA群の由来は、LIFSEQ GOLDデータベース (Incyte Genomics, Palo Alto CA) に記載されたcDNAライブラリ群である。幾つかの組織はホモジナイズしてグアニジニウムイソチオシアネート溶液に溶解し、他の組織はホモジナイズしてフェノールに又は変性剤群の好適な混合液に溶解した。混合液の1例であるTRIZOL (Invitrogen) は、フェノールとグアニジンイソチオシアネートとの単相溶液である。結果として得た溶解物は、塩化セシウムのクッション液の上に重層して遠心分離するか、クロロフォルムで抽出した。イソプロパノールか、酢酸ナトリウムとエタノールか、いずれか一方、或いは別の方法を用いて、溶解物からRNAを沈殿させた。

10

【0317】

RNAの純度を高めるため、RNAのフェノールによる抽出及び沈殿を必要な回数繰り返した。場合によっては、DNA分解酵素でRNAを処理した。殆どのライブラリでは、オリゴd(T)連結常磁性粒子 (Promega)、OLIGOTEXラテックス粒子 (QIAGEN, Chatsworth CA) 又はOLIGOTEX mRNA精製キット (QIAGEN) を用いて、ポリ(A)+RNAを単離した。別法では、別のRNA単離キット、例えばPOLY(A)PURE mRNA精製キット (Ambion, Austin TX) を用いて、組織溶解物からRNAを直接単離した。

20

【0318】

場合によってはStratagene社へのRNA提供を行い、対応するcDNAライブラリをStratagene社が作製することもあった。そうでない場合は、UNIZAPベクターシステム (Stratagene) 又はSUPERSCRIPトプラスミドシステム (Invitrogen) を用いて本技術分野で公知の推奨される方法又は類似の方法でcDNAを合成し、cDNAライブラリを作製した (前出のAusubel、他、5章)。逆転写は、オリゴd(T)又はランダムプライマーを用いて開始した。合成オリゴヌクレオチドアダプターを二本鎖cDNAに連結反応させ、好適な制限酵素又は酵素群でcDNAを消化した。殆どのライブラリに対しcDNAのサイズ選択 (300~1000bp) は、SEPHACRYL S1000、SEPHAROSE CL2B又はSEPHAROSE CL4Bカラムクロマトグラフィ (Amersham Biosciences)、或いは分取用アガロースゲル電気泳動法を用いて行った。cDNAは好適なプラスミドのポリリンカーの、適合する制限酵素部位にライゲーションされた。好適なプラスミドは、例えばPBLUESCRIPTプラスミド (Stratagene)、PSPORT1プラスミド (Invitrogen) PCDNA2.1プラスミド (Invitrogen, Carlsbad CA)、PBK-CMVプラスミド (Stratagene)、PCR2-TOPOTAプラスミド (Invitrogen)、PCMV-ICISプラスミド (Stratagene)、pIGEN (Incyte Genomics, Palo Alto CA)、pRARE (Incyte Genomics)、又はpINCY (Incyte Genomics)、又はこれらの誘導体である。組換えプラスミドは、Stratagene社のXL1-Blue、XL1-BlueMRF又はSOLR、或いはInvitrogen社のDH5、DH10B又はELECTROMAX DH10Bを含むコンピテントな大腸菌細胞に形質転換した。

30

【0319】

2 cDNAクローンの単離

UNIZAPベクターシステム (Stratagene) を用いた*in vivo*切除によって、或いは細胞溶解によって、実施例1のようにして得たプラスミドを宿主細胞から回収した。プラスミドを精製する方法は、Magic又はWIZARD Minipreps DNA精製システム (Promega)、AGTC Miniprep精製キット (Edge Biosystems, Gaithersburg MD)、QIAGEN社のQIAWELL 8 Plasmid、QIAWELL 8 Plus Plasmid及びQIAWELL 8 Ultra Plasmid精製システム、R.E.A.L. Prep 96プラスミド精製キットの中から少なくとも1つを用いた。プラスミドは、沈殿させた後、0.1mlの蒸留水に再懸濁して、凍結乾燥して或いは凍結乾燥せずに4℃で保管した。

40

【0320】

別法では、高処理フォーマットにおいて直接結合PCR法を用いて宿主細胞溶解物から

50

プラスミドDNAを増幅した(Rao, V.B. (1994) Anal. Biochem. 216:1-14)。宿主細胞の溶解及び熱サイクリング過程は、単一反応混合液中で行った。サンプルを処理し、それを384穴プレート内で保管し、増幅したプラスミドDNAの濃度をPICOGREEN色素(Molecular Probes, Eugene OR)及びFLUOROSKAN2蛍光スキャナ(Labsystems Oy, Helsinki, Finland)を用いて蛍光分析的に定量した。

【0321】

3 シークエンシング及び分析

実施例2に記載したようにプラスミドから回収したIncyte cDNAを、以下に示すようにシークエンシングした。cDNAのシークエンス反応は、標準的方法或いは高処理装置、例えばABI CATALYST 800サーマルサイクラー(Applied Biosystems)又はPTC-200サーマルサイクラー(MJ Research)を、HYDRAマイクロディスペンサー(Robbins Scientific)又はMICROLAB 2200(Hamilton)液体転移システムと併用して処理した。cDNAのシークエンス反応は、Amersham Biosciences社が提供する試薬、又はABIシークエンシングキット、例えばABI PRISM BIGDYE Terminator cycle sequencing ready reaction kit(Applied Biosystems)の試薬を用いて準備した。cDNAのシークエンス反応の電気泳動的分離及び標識したポリヌクレオチドの検出には、MEGABACE 1000 DNAシークエンシングシステム(Applied Biosystems)か、標準ABIプロトコル及び塩基呼び出し(base calling)ソフトウェアを用いるABI PRISM 373又は377シークエンシングシステム(Applied Biosystems)か、或いはその他の本技術分野で既知の配列解析システムを用いた。cDNA配列内のリーディングフレームは、標準的方法(前出のAusubel, 7章)を用いて決定した。cDNA配列の幾つかを選択して、実施例8に記載した方法で配列を伸

10

20

【0322】

Incyte cDNA配列に由来するポリヌクレオチド配列は、ベクター、リンカー及びポリ(A)配列を除去し、あいまいな塩基をマスクすることによって有効性を確認した。その際、BLAST、動的プログラミング及び隣接ジヌクレオチド頻度分析に基づくアルゴリズム及びプログラムを用いた。次に、Incyte cDNA配列又はそれらの翻訳の問い合わせを、以下のデータベース群に対して行った。すなわち、選抜した公共のデータベース群(例えばGenBankの霊長類、げっ歯類、哺乳類、脊椎動物、真核生物のデータベースと、BLOCKS、PRINTS、DOMO、PRODOM)と、ヒト、ラット、マウス、線虫(*Caenorhabditis elegans*)、出芽酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)、分裂酵母(*Schizosaccharomyces pombe*)及び*Candida albicans*からの配列群を持つPROTEOMEデータベース群(Incyte Genomics, Palo Alto CA)、及び、隠れマルコフモデル(HMM)ベースのタンパク質ファミリーデータベース群、例えばPFAM、INCY、及びTIGRFAM(Haft, D.H. 他(2001) Nucleic Acids Res. 29:41-43)、並びにHMMベースのタンパク質ドメインデータベース例えばSMART(Schultz, J. 他(1998) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95:5857-5864; Letunic, I. 他(2002) Nucleic Acids Res. 30:242-244)。HMMは、遺伝子ファミリーのコンセンサス1次構造を分析する確率的アプローチである(Eddy, S.R. (1996) Cuff. Opin. Struct. Biol. 6:361-365等を参照)。問い合わせは、BLAST、FASTA、BLIMPS、及びHMMERに基づくプログラムを用いて行った。Incyte cDNA配列は、完全長のポリヌクレオチド配列を産出するようにアセンブリした。或いは、GenBank cDNA群、GenBank EST群、スティッチされた配列群、ストレッチされた配列群、又はGenscan予測コード配列群(実施例4及び5を参照)を用い、Incyte cDNAのアセンブリ体群を完全長まで伸長させた。PhredとPhrapとConsedとに基づくプログラムを用いてアセンブリし、GenMarkとBLASTとFASTAとに基づくプログラムを用いて、cDNAのアセンブリ体を、オープンリーディングフレームについてスクリーニングした。完全長ポリヌクレオチド配列を翻訳し、対応する完全長ポリペプチド配列を得た。或いは、或るポリペプチドは、完全長翻訳ポリペプチドの任意のメチオニン残基で開始し得る。完全長ポリペプチド配列群の続いての分析としての問い合わせを、GenBankタンパク質データベース群(genpept)、SwissProt、PROTEOMEデータベース群、BLOCKS、PRINTS、DOMO、PRODOM及びProsites等のデータベースや、PFAM、INCY

30

40

50

、及びTIGRFAM等の隠れマルコフモデル (HMM) ベースのタンパク質ファミリーデータベース群、並びにSMART等のHMMベースのタンパク質ドメインデータベース群に対して行った。完全長ポリヌクレオチド配列はまた、MACDNASIS PROソフトウェア (MiraiBio, Alameda CA) 及びLASERGENEソフトウェア (DNASTAR) を用いて分析する。ポリヌクレオチド及びポリペプチド配列アラインメントは、アラインメントした配列間の一致率も計算するMEGALIGNマルチシーケンズアラインメントプログラム (DNASTAR) に組み込まれているようなCLUSTALアルゴリズムによって指定されるデフォルトパラメータを用いて作製する。

【0323】

Incyte cDNA 及び完全長配列の分析及びアセンブリに利用したツール、プログラム及びアルゴリズムの概略と、適用可能な説明、参照文献、閾値パラメータを表7に示す。用いたツール、プログラム及びアルゴリズムを表7の列1に、それらの簡単な説明を列2に示す。列3は好適な参照文献であり、全ての文献は全体の引用を以って本明細書の一部となす。適用可能な場合には、列4は2つの配列が一致する強さを評価するために用いたスコア、確率値その他のパラメータを示す (スコアが高いほど、又は確率値が低いほど、2配列間の相同性が高くなる)。

10

【0324】

完全長ポリヌクレオチド配列及びポリペプチド配列のアセンブリ及び分析に用いる上記のプログラムは、SED ID NO:36-70のポリヌクレオチド配列断片の同定にも利用できる。ハイブリダイゼーション及び増幅技術に有用である約20~約4000ヌクレオチドの断片を表4の列2に示した。

20

【0325】

4 ゲノムDNAからのコード配列の同定及び編集

推定上の免疫応答関連タンパク質は、公共のゲノム配列データベース (例えば、gbpri やgbhtg) においてGenscan遺伝子同定プログラムを実行して初めに同定された。Genscanは、様々な生物からのゲノムDNA配列を分析する汎用遺伝子同定プログラムである (Burge, C. 及びS. Karlin (1997) J. Mol. Biol. 268:78-94、Burge, C. 及びS. Karlin (1998) Curr. Opin. Struct. Biol. 8:346-354)。プログラムは予測エキソンを連結し、メチオニンから停止コドンに及ぶアセンブリされたcDNA配列を形成する。Genscanの出力は、ポリヌクレオチド及びポリペプチド配列のFASTAデータベースである。Genscanが一度に分析する配列の最大範囲は、30kbに設定した。これらのGenscan推定cDNA配列の内、どの配列が免疫応答関連タンパク質をコードするかを決定するために、コードされたポリペプチドをPFAMモデルにおいて免疫応答関連タンパク質について問い合わせて分析した。潜在的な免疫応答関連タンパク質はまた、免疫応答関連タンパク質として注釈が付けられていたIncyte cDNA配列への相同性を基に同定された。こうして選択されたGenscan予測配列は、次にBLAST分析により公共データベースgenpept及びgbpriと比較した。必要であれば、genpeptからのトップBLASTヒットと比較することによりGenscan予測配列を編集し、余分な又は省略されたエキソンなど、Genscanが予測した配列におけるエラーを補正した。BLAST分析はまた、Genscan予測配列の、いかなるIncyte cDNA又は公共cDNAカバレッジ (coverage) の発見にも用いられ、したがって転写の証拠を提供した。Incyte cDNAカバレッジが利用できた場合には、この情報を用いてGenscan予測配列を補正又は確認した。完全長ポリヌクレオチド配列は、実施例3に記載したアセンブリプロセスを用いて、Incyte cDNA配列及び/又は公共cDNA配列でGenscan予測コード配列をアセンブリして得た。或いは、完全長ポリヌクレオチド配列は、編集した、又は非編集のGenscan予測コード配列に完全に由来する。

30

40

【0326】

5 cDNA配列データを使ったゲノム配列データのアセンブリ

《スティッチ配列 (Stitched Sequence)》

部分cDNA配列は、実施例4に記載のGenscan遺伝子同定プログラムにより予測されたエキソンを用いて伸長させた。実施例3に記載されたようにアセンブリされた部分cD

50

NAは、ゲノムDNAにマッピングし、関連するcDNA及び1つ以上のゲノム配列から予測されたGenscanエキソンを含むクラスタに分解した。cDNA及びゲノム情報を統合するべくグラフ理論及び動的プログラミングに基づくアルゴリズムを用いて各クラスタを分析し、引き続いて確認、編集又は伸長して完全長配列を産出するような潜在的スプライス変異体を生成した。区間の全長が、2つ以上の配列に在るような配列区間群をクラスタ内で同定し、そのように同定された区間群は、推移性により、等しいと考えた。例えば、1つのcDNAと2つのゲノム配列上に或る区間が存在する場合、この3つの区間は全て等しいと考えられた。このプロセスは、無関係であるが連続したゲノム配列をcDNA配列により結び合わせて架橋し得る。このようにして同定された区間を、親配列 (parent sequence) に沿って現れる順にステッチアルゴリズムで縫い合わせ、可能な最も長い配列及び変異配列を作製する。1種類の親配列に沿って発生した区間間の連鎖 (cDNA - cDNA又はゲノム配列 - ゲノム配列) は、親の種類を変える連鎖 (cDNA - ゲノム配列) に優先した。結果として得たステッチ配列群を翻訳し、BLAST分析で公共データベースgenpept及びgbpriと比較した。Genscanが予測した不正確なエキソン群は、genpeptからのトップBLASTヒットとの比較により補正した。必要な場合には、追加cDNA配列を用いるかゲノムDNAの検査により配列を更に伸長させた。

10

【0327】

《ストレッチ配列 (Stretched Sequence)》

部分DNA配列は、BLAST分析に基づくアルゴリズムにより完全長まで伸長された。先ず、BLASTプログラムを用いて、GenBankの霊長類、げっ歯類、哺乳動物、脊椎動物及び真核生物のデータベースなどの公共データベースに対し、実施例3に記載したようにアセンブリされた部分cDNAを問い合わせた。次に、最も近いGenBankタンパク質相同体を、BLAST分析により、Incyte cDNA配列又は実施例4に記載のGenScanエキソン予測配列のいずれかと比較した。結果として得られる高スコアリングセグメント対 (HSP) を用いてキメラタンパク質を産出し、翻訳した配列をGenBankタンパク質相同体上にマッピングした。元のGenBankタンパク質相同体に対し、キメラタンパク質内では挿入又は欠失が起こり得る。GenBankタンパク質相同体、キメラタンパク質又はその両方をプローブとして用い、公共のヒトゲノムデータベースから相同ゲノム配列を検索した。このようにして、部分的なDNA配列を、相同ゲノム配列の付加によりストレッチすなわち伸長した。結果として得られるストレッチ配列を検査し、完全遺伝子を含んでいるか否かを判定した。

20

30

【0328】

6 IRAPをコードするポリヌクレオチドの染色体マッピング

SED ID NO:36-70をアセンブリするために用いた配列を、BLAST及びSmith-Watermanアルゴリズムを用いて、Incyte LIFESEQデータベース及び公共のドメインデータベースの配列と比較した。SED ID NO:36-70と一致するこれらのデータベースの配列を、Phrapなどのアセンブリアルゴリズム (表7) を使用して、連続及びオーバーラップした配列のクラスタにアセンブリした。スタンフォード・ヒトゲノムセンター (SHGC)、ホワイトヘッド・ゲノム研究所 (WIGR)、Genethonなどの公的な情報源から入手可能な放射線ハイブリッド及び遺伝地図データを用いて、いずれかのクラスタ化された配列が既にマッピングされているかを判定した。マッピングされた配列が或るクラスタに含まれている場合、そのクラスタの全配列が、個々の配列番号と共に、地図上の位置に割り当てられた。

40

【0329】

地図上の位置は、ヒト染色体の範囲又は区間として表される。センチモルガン単位での或る区間の地図上の位置は、染色体の短腕 (p-arm) の末端に対して測定する (センチモルガン (cM) は、染色体マーカー間の組換え頻度に基づく計測単位である。平均して、1cMは、ヒト中のDNAの1メガベース (Mb) にほぼ等しい。もっとも、この値は、組換えのホットスポット及びコールドスポットによって広範囲に変化する)。cM距離は、各クラスタ内に配列が含まれる放射線ハイブリッドマーカー類に対して境界を提供するGenethonによってマッピングされた遺伝マーカー群に基づく。NCBI「GeneMap'99」 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genemap/>) などの一般個人が入手可能なヒト遺伝子マップ及

50

びその他の情報源を用いて、既に同定されている疾患遺伝子群が、上記した区間内若しくは近傍に位置するかを決定できる。

【0330】

《IRAPポリヌクレオチドとパーキンソン病との関連》

いくつかの遺伝子はパーキンソン病(PD)の常染色体優性形態との連鎖を示すことがわかっている。パーキンソン病は運動緩徐、安静時振戦、筋硬直性、体位不安定性を生じる通常の神経変性疾患である。レビー小体と呼ばれる細胞質性好酸性封入体及び特に黒質緻密部での神経細胞喪失はパーキンソン病の病理学的特徴である(Valente, E.M. 他(2001) Am. J. Hum. Genet. 68:895-900)。レビー小体パーキンソン病は特異的な常染色体優性疾患であると考えられて来た(Wakabayashi, K. 他(1998) Acta Neuropath. 96:207-210)。若年性パーキンソン症は特異的な常染色体劣性疾患であり得る(Matsumine, H. 他(1997) Am. J. Hum. Genet. 60: 588596, 1997)。(Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM. Johns Hopkins University, Baltimore, MD. MIM Number: 168600: 2002年9月9日: World Wide Web URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/>)

10

【0331】

ある疾患と染色体遺伝子座との関係はLodスコアで決めることができる。Lodスコアは遺伝病を有する家族内で二つ以上の遺伝子座の連鎖をテストするために使われる統計的方法である。Lodスコアは、連鎖が存在する確率の対数(基数10)である。連鎖は、減数分裂によって共に受け継がれた同じ染色体上に位置する二つの遺伝子の傾向として定義される(Genetics in Medicine, 第5版(1991) Thompson, M.W. 他W.B. Saunders Co. Philadelphia)。Lodスコアが+3以上の場合、特定のマーカーがその患者に偶然に発見される確率が1000分の1であることを示し、これは、二つの遺伝子座が連鎖している強力な証拠である。

20

【0332】

パーキンソン病に関連すると考えられている、このような遺伝子は、2p13にマップされるPARK3である(Gasser, T. 他(1998) Nature Genet.18:262-265)。

【0333】

染色体位置D2S441の或るマーカーは、PARK3の領域で3.2のLodスコアを持つことが発見された。このマーカーはD2S134からD2S286までの染色体の区間でPARK3と疾患の連鎖を支持した(Gasser等、前出)。第2染色体短腕上の83.88と94.05センチモルガンの間にマップされる染色体区間D2S134とD2S286内に位置するマーカーは、D2S134とD2S286の間の領域にマップされる遺伝子を同定するために使った。

30

【0334】

早期発症の劣性パーキンソン病に関与すると考えられる第二PD遺伝子はPARK6であり、p35-p36にて第1染色体上に位置する。D1S199、D1S2732、D1S2828、D1S478、D1S2702、D1S2734、D1S2674などのいくつかのマーカーはLodスコアが3より大きかった。これらのマーカーは染色体遺伝子座のPDの関連範囲を決定し、D1S199とD1S2885間の第1染色体にマップされる配列を同定するのに使った。IRAPポリヌクレオチドは、疾患又は関心のある他の生理学的過程に関連するマーカーが位置する染色体領域内にマップされることが発見された。NCBIから入手できるゲノムコンティグを疾患遺伝子座にマップされるIRAPポリヌクレオチドの同定に使った。1Mbより長いコンティグは100kbの重複区分のある1Mbの長さのサブコンティグに分解した。予備段階として、MEGABLAST(NCBI)に類似するアルゴリズムを用いてmRNA配列/マスクされたゲノムDNAコンティグ対形成を同定した。SIM4(Florea, L. 他(1998) Genome Res. 8:967-74, 2000年5月版)は高速処理用とストランド(鎖)指定の信頼度のため最適化され、さらにcDNA/ゲノム対形成の選択に用いた。SIM4によって選択されたmRNA配列/ゲノムコンティグ対はさらに処理されて、ゲノムコンティグ上のIRAPポリヌクレオチドの正しい位置の決定とそのストランド同定を行った。

40

50

【0335】

SED ID NO:56は2002年2月のNCBIリリースからコンティグGBI:NT_004359_001.8の領域にマップされ、第1番染色体上のp35p36の14.8Mbのパーキンソン病遺伝子座内にSED ID NO:56を局在化した。したがって、SED ID NO:56はパーキンソン病と一貫して関連することを示す遺伝子座に近接している。

【0336】

7 ポリヌクレオチド発現の分析

ノーザン分析は、遺伝子の転写物の存在を検出するために用いられる実験用技術であり、特定の細胞種或いは組織からのRNAが結合されている膜への標識されたヌクレオチド配列のハイブリダイゼーションを伴う(Sambrook 他,前出,7章; Ausubel 他,前出,4章)。

10

【0337】

BLASTを応用した、類似のコンピュータ技術を用いて、GenBankやLIFESEQ (Incyte Genomics)などのデータベースにおいて、同一又は関連分子を検索した。ノーザン分析は、多数の膜系ハイブリダイゼーションよりも非常に速い。更に、任意の特定の一致を厳密な或いは相動的なものとして分類するか否かを決定するため、コンピュータ検索の感度を修正することができる。検索の基準は積スコアであり、次式で定義される。

【0338】

【数1】

(BLASTスコア×配列一致率)

20

$5 \times (\text{長さ(配列1)}, \text{長さ(配列2)}) \text{の最小値}$

積スコアは、2つの配列間の類似度と、配列が一致する長さとの両方を考慮している。積スコアは、0~100のノーマライズされた値であり、次のようにして求める。BLASTスコアにヌクレオチドの配列一致率を乗じ、その積を2つの配列の短い方の長さの5倍で除する。BLASTスコアを計算するには、或る高スコアリングセグメント対(HSP)内の一致する各塩基に+5のスコアを割り当て、各不一致塩基に-4を割り当てる。2つの配列は、2以上のHSPを共有し得る(ギャップにより隔離される)。2以上のHSPがある場合には、最高BLASTスコアのセグメント対を用いて積スコアを計算する。積スコアは、断片的オーバーラップとBLASTアラインメントの質とのバランスを表す。例えば積スコア100は、比較した2つの配列の短い方の長さ全体にわたって100%一致する場合のみ得られる。積スコア70は、一端が100%一致し、70%オーバーラップしているか、他端が88%一致し、100%オーバーラップしているかのいずれかの場合に得られる。積スコア50は、一端が100%一致し、50%オーバーラップしているか、79%一致し、100%オーバーラップしているかのいずれかの場合に得られる。

30

【0339】

或いは、IRAPをコードするポリヌクレオチドを、由来する組織源に対して分析する。例えば幾つかの完全長配列は、少なくとも一部は、オーバーラップするIncyte cDNA配列群を用いてアセンブリされる(実施例3を参照)。各cDNA配列は、ヒト組織から作製されたcDNAライブラリに由来する。各ヒト組織は、以下の臓器/組織カテゴリーの1つに分類される。すなわち心血管系、結合組織、消化器系、胎芽構造、内分泌系、外分泌腺、女性生殖器、男性生殖器、生殖細胞、血液及び免疫系、肝、筋骨格系、神経系、膵臓、呼吸器系、感覚器、皮膚、顎口腔系、非分類性/混合性又は尿路である。各カテゴリーのライブラリ数を数えて、全カテゴリーの総ライブラリ数で除する。同様に、各ヒト組織は、以下の疾患/条件カテゴリー即ち癌、細胞株、発達、炎症、神経性、外傷、心血管、プール、その他の1つに分類される。各カテゴリーのライブラリ数を数えて、全カテゴリーの総ライブラリ数で除する。得られるパーセンテージは、IRAPをコードするcDNAの、組織特異的発現及び疾患特異的発現を反映する。cDNA配列及びcDNAライブラリ/組織の情報は、LIFESEQ GOLDデータベース(Incyte Genomics, Palo Alto C

40

50

A) から取得できる。

【0340】

8 IRAPをコードするポリヌクレオチドの伸長

完全長のポリヌクレオチドもまた、完全長分子の適切な断片から設計したオリゴヌクレオチドプライマーを用いて該断片を伸長させて生成した。或るプライマーは既知の断片の5'伸長を開始するべく合成し、別のプライマーは既知の断片の3'伸長を開始するべく合成した。開始プライマー群の設計にはOLIGO 4.06ソフトウェア(National Biosciences)或いは別の適切なプログラムを用い、長さが約22~30ヌクレオチド、GC含量が約50%以上となり、約68~約72の温度で標的配列にアニーリングするようにした。ヘアピン構造及びプライマー-プライマー二量体を生ずるようなヌクレオチド群の伸長は、全て回避した。

10

【0341】

選択したヒトcDNAライブラリ群を用い、配列を伸長した。2段階以上の伸長が必要又は望ましい場合には、付加的プライマー或いはプライマーのネステッドセットを設計した。

【0342】

高忠実度の増幅が、当業者によく知られている方法を利用したPCR法によって得られた。PCRは、PTC-200サーマルサイクラー(MJ Research, Inc.)を用いて96ウェルプレート内で行った。反応混合液は、鋳型DNA及び200nmolの各プライマーを有する。また、 Mg^{2+} と $(NH_4)_2SO_4$ と2-メルカプトエタノールを含む反応バッファ、Taq DNAポリメラーゼ(Amersham Biosciences)、ELONGASE酵素(Invitrogen)、Pfu DNAポリメラーゼ(Stratagene)を含む。プライマーの組、PCI AとPCI Bに対して以下のパラメータで増幅を行った。ステップ1: 94, 3分、ステップ2: 94, 15秒、ステップ3: 60, 1分、ステップ4: 68, 2分、ステップ5: ステップ2、3及び4を20回反復する。ステップ6: 68, 5分、ステップ7: 4で保存する。別法では、プライマーの組、T7とSK+に対して以下のパラメータで増幅を行った。ステップ1: 94, 3分、ステップ2: 94, 15秒、ステップ3: 57, 1分、ステップ4: 68, 2分、ステップ5: ステップ2、3及び4を20回反復する。ステップ6: 68, 5分、ステップ7: 4で保存する。

20

【0343】

各ウェルのDNA濃度は、1xTE及び0.5µlの希釈していないPCR産物に溶解した100µlのPICOGREEN定量試薬(0.25%(v/v) PICOGREEN; Molecular Probes, Eugene OR)を不透明な蛍光光度計プレート(Corning Costar, Acton MA)の各ウェルに分配し、DNAが試薬と結合できるようにして判定した。サンプルの蛍光を計測してDNAの濃度を定量すべく、プレートをFluoroskan II(Labsystems Oy, Helsinki, Finland)でスキャンした。反応混合物のアリコット5~10µlを1%アガロースゲル上で電気泳動法によって解析し、どの反応が配列の伸長に成功したかを判定した。

30

【0344】

伸長したヌクレオチドは、脱塩及び濃縮して384穴プレートに移し、CviJIコラウイルスエンドヌクレアーゼ(Molecular Biology Research, Madison WI)を用いて消化し、音波処理又はせん断し、pUC18ベクター(Amersham Biosciences)への再連結を行った。ショットガン・シーケンシングのために、消化したヌクレオチドを低濃度(0.6~0.8%)のアガロースゲル上で分離し、断片を切除し、寒天をAgarose ACE(Promega)で消化した。伸長したクローンをT4リガーゼ(New England Biolabs, Beverly MA)を用いてpUC18ベクター(Amersham Biosciences)に再連結し、Pfu DNAポリメラーゼ(Stratagene)で処理して制限部位のオーバーハング部分を満たし、大腸菌細胞に形質移入した。形質移入した細胞を選択して抗生物質を有する培地に移し、それぞれのコロニーを切りとってLB/2xカルベニシリン培養液の384穴プレートに37で一晩培養した。

40

【0345】

50

細胞を溶解して、Taq DNAポリメラーゼ (Amersham Biosciences) 及び Pfu DNAポリメラーゼ (Stratagene) を用いて以下の手順でDNAをPCR増幅した。ステップ1: 94℃, 3分、ステップ2: 94℃, 15秒、ステップ3: 60℃, 1分、ステップ4: 72℃, 2分、ステップ5: ステップ2、3及び4を29回反復する。ステップ6: 72℃、5分、ステップ7: 4℃で保存する。上記のようにPICOGREEN試薬 (Molecular Probes) でDNAを定量した。DNAの回収率が低いサンプルは、上記と同一の条件を用いて再増幅した。サンプルは20%ジメチルスルホキシド (1:2, v/v) で希釈し、DYENAMICエネルギートランスファー・シーケンシングプライマー、及びDYENAMIC DIRECT kit (Amersham Biosciences) 又はABI PRISM BIGDYEターミネーターサイクル・シーケンシング反応キット (Terminator cycle sequencing ready reaction kit) (Applied Biosystems) を用いてシーケンシングした。 10

【0346】

同様に、上記手順を用いて完全長ポリヌクレオチドを検証した。或いは、完全長ポリヌクレオチドを用い、上記手順で、そのような伸長のために設計したオリゴヌクレオチド類と、或る適切なゲノムライブラリとを用いて5'調節配列を得た。

【0347】

9 IRAPをコードするポリヌクレオチドにおける1塩基多型性の同定

一塩基多型性 (SNP) として知られる一般的なDNA配列変異体は、LIFESEQデータベース (Incyte Genomics) を用いてSED ID NO:36-70において同定された。実施例3に記述されているように、同じ遺伝子からの配列を共にクラスタにしてアセンブリし、これによって遺伝子内のすべての配列変異体の同定ができた。一連のフィルタからなるアルゴリズムを使って、SNPを他の配列変異体から区別した。前段フィルタは、最小限Phredクオリティスコア15を要求することにより大多数のベースコールのエラーを除去し、また、配列アライメントエラーや、ベクター配列、キメラ及びスプライス変異体の不適当なトリミングにより生じるエラーを取り除いた。染色体の高度解析の自動化手順により、推定SNPの近傍におけるオリジナルのクロマトグラムファイルが解析された。クローンエラーフィルタは統計的に生み出されたアルゴリズムを用いて、逆転写酵素、ポリメラーゼ、又は体細胞突然変異によって引き起こされるエラーのような、実験処理時に導入されるエラーを識別した。クラスタエラーフィルタは、統計的に生み出されたアルゴリズムを用いて、近縁の相同体又は偽遺伝子のクラスタ化に起因するエラー、又は非ヒト配列によるコンタミネーションにより生じたエラーを同定した。最後のフィルタ群によって、免疫グロブリン又はT細胞受容体に存在する重複 (duplicates) とSNPが除去された。 20

【0348】

異なる4つのヒト集団のSNP部位における対立遺伝子頻度を分析するために、高処理MASSARRAYシステム (Sequenom, Inc.) を用いる質量分析によって、更なる特徴付けのためにいくつかのSNPが選択された。白人母集団は、ユタ州の83人、フランス人4人、ベネズエラ3人及びアーミッシュ派2人を含む92人 (男性46人、女性46人) で構成された。アフリカ人母集団はすべてアフリカ系アメリカ人である194人 (男性97人、女性97人) からなる。ヒスパニック母集団はすべてメキシコ系ヒスパニックの324人 (男性162人、女性162人) からなる。アジア人母集団は126人 (男性64人、女性62人) からなり、親の内訳は中国人43%、日本人31%、コリアン13%、ベトナム人5%及びその他のアジア人8%と報告されている。対立形質の発生頻度は最初に白人母集団において分析し、いくつかの例において、この母集団で対立形質分散を示さなかったSNPは他の三つの母集団においてさらに検査しなかった。 40

【0349】

10 個々のハイブリダイゼーションプローブの標識化及び使用

SED ID NO:36-70から導き出されたハイブリダイゼーションプローブを用いて、cDNA、mRNA、又はゲノムDNAをスクリーニングする。約20塩基対からなるオリゴヌクレオチドの標識について特に記載するが、より大きなヌクレオチド断片に対しても本質 50

的に同一の手順が用いられる。オリゴヌクレオチドは、OLIGO 4.06ソフトウェア (National Biosciences) 等の最新ソフトウェアを用いて設計し、各オリゴマー 50 pmol と、 $[- ^3 ^2 P]$ アデノシン 3 リン酸 (Amersham Biosciences) 250 μ Ci と、T4 ポリヌクレオチドキナーゼ (DuPont NEN, Boston MA) とを混合することにより標識する。標識したオリゴヌクレオチドは、SEPHADEX G-25 超細繊維分子サイズ排除デキストラン・ビーズカラム (Amersham Biosciences) を用いて実質的に精製する。Ase I、Bgl II、Eco RI、Pst I、Xba I 又は Pvu II (DuPont NEN) のいずれか 1 つのエンドヌクレアーゼで消化されたヒトゲノム DNA の典型的な膜ベースのハイブリダイゼーション解析において、毎分 10^7 カウントの標識されたプローブを含むアリコットを用いる。

【0350】

各消化物から得た DNA は、0.7% アガロースゲル上で分画してナイロン膜 (Nytran Plus, Schleicher & Schuell, Durham NH) に移す。ハイブリダイゼーションは、40 で 16 時間行う。非特異的シグナルを除去するため、例えば 0.1 M クエン酸ナトリウム食塩水及び 0.5% ドデシル硫酸ナトリウムに一致する条件下で、プロットを室温で順次洗浄する。オートラジオグラフィ又はそれに代わるイメージング手段を用いてハイブリダイゼーションパターンを視覚化し、比較する。

【0351】

1.1 マイクロアレイ

マイクロアレイの表面上でアレイエレメントの結合又は合成は、フォトリソグラフィ、ピエゾ式印刷 (インクジェット印刷、前出の Baldeschweiler 他等を参照)、機械的マイクロスポッティング技術及びこれらから派生したものをを用いて達成することが可能である。上記各技術において基板は、均一且つ無孔の固体とするべきである (Schena, M., ed. (1999) DNA Microarrays: A Practical Approach, Oxford University Press, London に記載されている)。推奨する基板には、シリコン、シリカ、スライドガラス、ガラスチップ及びシリコンウェハがある。或いは、ドットプロット法又はスロットプロット法に類似した手順を利用し、熱的、紫外線的、化学的又は機械的結合手順を用いて基板の表面にエレメントを配置及び結合させてもよい。通常のアレイは、利用可能な、当業者に公知の方法と機械とを用いて作製でき、任意の適正数のエレメントを有し得る (Schena, M. 他 (1995) *Science* 270:467-470; Shalon, D. 他 (1996) *Genome Res.* 6:639-645; Marshall, A. 及び J. Hodgson (1998) *Nat. Biotechnol.* 16:27-31 を参照)。

【0352】

完全長 cDNA、発現配列タグ (EST)、又はその断片又はオリゴマーが、マイクロアレイのエレメントと成り得る。ハイブリダイゼーションに好適な断片又はオリゴマーを、LASERGENE ソフトウェア (DNASTAR) など本技術分野で公知のソフトウェアを用いて選択することが可能である。アレイエレメント群を、生体サンプル中のポリヌクレオチド群とハイブリダイズする。生体サンプル中のポリヌクレオチドは、検出を容易にするために蛍光標識などの分子タグに抱合させる。ハイブリダイゼーション後、生体サンプルからのハイブリダイズされていないヌクレオチドを除去し、蛍光スキャナを用いて各アレイエレメントでのハイブリダイゼーションを検出する。或いは、レーザー脱離及び質量スペクトロメトリを用いてもハイブリダイゼーションを検出し得る。マイクロアレイ上の或るエレメントにハイブリダイズする各ポリヌクレオチドの、相補性の度合と相対存在度とを算定し得る。一実施態様におけるマイクロアレイの調製及び使用について、以下に詳述する。

【0353】

《組織又は細胞サンプルの調製》

全 RNA を組織サンプルから単離するためグアニジニウムチオシアネート法を用い、ポリ (A)⁺ RNA 精製にオリゴ (dT) セルロース法を用いる。各ポリ (A)⁺ RNA サンプルを、MMLV 逆転写酵素、0.05 μ g / μ l のオリゴ (dT) プライマー (21 mer)、1x 第一鎖合成バッファー、0.03 unit / μ l の RNアーゼ阻害因子、500 μ M の dATP、500 μ M の dGTP、500 μ M の dTTP、40 μ M の dCTP、40 μ M の dCTP - Cy3 (BDS) 又は dCTP - Cy5 (Amersham Bioscience

10

20

30

40

50

nces) を用いて逆転写する。逆転写反応は、GEMBRIGHTキット (Incyte Genomics) を用い、200 ng のポリ(A)⁺RNA を含有する体積 25 ml で行う。特異的対照ポリ(A)⁺RNA は、非コード酵母ゲノムDNA から *in vitro* 転写により合成する。37 °C で 2 時間インキュベートした後、各反応サンプル (1 つは Cy 3、もう 1 つは Cy 5 標識) は、2.5 ml の 0.5 M 水酸化ナトリウムで処理し、85 °C で 20 分間インキュベートし、反応を停止させて RNA を分解させる。サンプル精製には、2 つの連続する CHROMA SPIN 30 ゲル濾過スピンカラム (Clontech, Palo Alto CA) を用いる。混合後、2 つの反応サンプルをエタノール沈殿させるため、1 ml のグリコーゲン (1 mg/ml)、60 ml の酢酸ナトリウム、及び 300 ml の 100% エタノールを用いる。サンプルは次に、Speed Vac (Savant Instruments Inc., Holbrook NY) を用いて乾燥して仕上げ、14 µl 5 × SSC / 0.2% SDS 中で再懸濁する。 10

【0354】

《マイクロアレイの調製》

本発明の配列を用いて、アレイエレメントを作製する。各アレイエレメントは、クローン化した cDNA インサート群と、ベクター群とを含有する細菌細胞群から増幅する。PCR 増幅は、cDNA インサートに隣接するベクター配列に相補的なプライマーを用いる。30 サイクルの PCR で 1 ~ 2 ng の初期量から 5 µg より大きい最終量までアレイエレメントを増幅する。増幅したアレイエレメントは、SEPHACRYL-400 (Amersham Biosciences) を用いて精製する。

【0355】

精製したアレイエレメントは、ポリマーコートされたスライドガラス上に固定する。顕微鏡スライドガラス (Corning) は、0.1% の SDS 及びアセトン中で超音波洗浄し、処理の間及び処理後に十分に蒸留水で洗浄する。スライドガラスは、4% フッ化水素酸 (VWR Scientific Products Corporation (VWR), West Chester PA) 中でエッチングし、十分に蒸留水中で洗浄し、95% エタノール中で 0.05% アミノプロピルシラン (Sigma) を用いてコーティングする。コーティングしたスライドは、110 °C のオーブンで硬化させる。 20

【0356】

米国特許第 5,807,522 号に記載されている方法を用いて、コーティングしたガラス基板にアレイエレメントを付加する。この特許に引用することを以って本明細書の一部とする。平均濃度 100 ng/µl のアレイエレメント DNA 1 µl を、高速ロボット装置 (robotic apparatus) により、開放型キャピラリープリンティングエレメント (open capillary printing element) に充填する。装置はここで、スライド毎に約 5 nl のアレイエレメントサンプルを置く。 30

【0357】

マイクロアレイには、STRATALINKER UV 架橋剤 (Stratagene) を用いて UV 架橋する。マイクロアレイは、室温において 0.2% SDS で 1 度洗浄し、蒸留水で 3 度洗浄する。リン酸緩衝生理食塩水 (PBS) (Tropix, Inc., Bedford MA) 中の 0.2% カゼイン中において 60 °C で 30 分間マイクロアレイをインキュベートした後、前に行ったように 0.2% SDS 及び蒸留水で洗浄することにより、非特異結合部位をブロックする。 40

【0358】

《ハイブリダイゼーション》

ハイブリダイゼーション反応に用いる 9 µl のサンプル混合体には、Cy 3 又は Cy 5 で標識した cDNA 合成産物群の各 0.2 µg を、5 × SSC, 0.2% SDS ハイブリダイゼーション緩衝液中に含む。サンプル混合体は、65 °C まで 5 分間加熱し、マイクロアレイ表面上で等分して 1.8 cm² のカバーガラスで覆う。アレイは、顕微鏡スライドより僅かに大きい空洞を有する防水チェンバーに移す。チェンバーのコーナーに 140 µl の 5 × SSC を加えることにより、チェンバー内部を湿度 100% に保持する。アレイを含むチェンバーは、60 °C で約 6.5 時間インキュベートする。アレイは、第 1 洗浄緩衝液中 (1 × SSC, 0.1% SDS) において 45 °C で 10 分間洗浄し、第 2 洗浄緩衝 50

液中 (0 . 1 × S S C) において各々 4 5 で 1 0 分間、 3 度洗浄して乾燥させる。

【 0 3 5 9 】

《 検出 》

レポーター標識したハイブリダイゼーション複合体を検出するには、C y 3 の励起のために 4 8 8 n m、C y 5 の励起のために 6 3 2 n m でスペクトル線を発生し得る Innova70 混合ガス 1 0 W レーザー (Coherent, Inc., Santa Clara CA) を備えた顕微鏡を用いる。励起レーザー光の焦点をアレイ上に置くため、2 0 × 顕微鏡対物レンズ (Nikon, Inc., Melville NY) を用いる。アレイを含むスライドを、顕微鏡の、コンピュータ制御の X - Y ステージに置き、対物レンズを通してラスタースキャンする。本実施例で用いる 1 . 8 c m × 1 . 8 c m のアレイは、解像度 2 0 μ m でスキャンする。

10

【 0 3 6 0 】

2 回の異なるスキャンで、混合ガスマルチラインレーザーは 2 つのフルオロフォアを連続的に励起する。発光された光は、波長に基づき分離され、2 つのフルオロフォアに対応する 2 つの光電子増倍管検出器 (PMT R1477, Hamamatsu Photonics Systems, Bridgewater NJ) に送られる。好適なフィルタ群をアレイと光電子増倍管との間に設置して、シグナルをフィルタする。用いるフルオロフォアの最大発光の波長は、C y 3 では 5 6 5 n m、C y 5 では 6 5 0 n m である。装置は両方の蛍光色素からのスペクトルを同時に記録し得るが、レーザー源において好適なフィルタを用いて、蛍光色素 1 つにつき 1 度スキャンし、各アレイを通常 2 度スキャンする。

【 0 3 6 1 】

スキャンの感度は通常、既知濃度のサンプル混合体に添加される c D N A 対照種により生成されるシグナル強度を用いて較正する。アレイ上の特定の位置には相補的 D N A 配列が含まれ、その位置におけるシグナルの強度を、ハイブリダイズする種の重量比 1 : 1 0 0 , 0 0 0 に相関させる。

20

【 0 3 6 2 】

異なる源泉 (例えば試験される細胞及び対照細胞など) からの 2 つのサンプルを、各々異なる蛍光色素で標識し、他と異なって発現した遺伝子を同定するために単一のアレイにハイブリダイズする場合には、その較正を、較正する c D N A のサンプルを 2 つの蛍光色素で標識し、ハイブリダイゼーション混合体に各々等量を加えることによって行う。

【 0 3 6 3 】

光電子増倍管の出力は、I B M コンパチブル P C コンピュータにインストールされた 1 2 ビット R T I - 8 3 5 H アナログ - デジタル (A / D) 変換ボード (Analog Devices, Inc., Norwood MA) を用いてデジタル化される。デジタル化したデータは、青色 (低シグナル) から赤色 (高シグナル) までの擬似カラースケールへのリニア 2 0 色変換を用いて、シグナル強度がマッピングされたイメージとして表示される。データは、定量的にも分析される。2 つの異なるフルオロフォアを同時に励起及び測定する場合には、各フルオロフォアの発光スペクトルを用いて、データは先ずフルオロフォア間の光学的クロストーク (発光スペクトルの重なり起因する) を補正される。

30

【 0 3 6 4 】

グリッドが蛍光シグナルイメージ上に重ねられ、それによって各スポットからのシグナルはグリッドの各エレメントに集められる。各エレメント内の蛍光シグナルは統合され、シグナルの平均強度に応じた数値が得られる。シグナル分析に用いるソフトウェアは、GE MT00LS 遺伝子発現分析プログラム (Incyte Genomics) である。少なくとも約 2 倍の発現変化、2 . 5 以上の S B 比、及び少なくとも 4 0 % のエレメントスポットサイズを示したアレイエレメントが、差次的発現を示したとして同定された。

40

【 0 3 6 5 】

《 発現 》

脂肪組織は脂肪を保存し、遊離する。脂肪組織はまた、インスリンの重要な標的組織の 1 つである。脂肪生成と I I 型糖尿病におけるインスリン耐性は関連する。I I 型糖尿病の殆どの患者は肥満であり、肥満は次にインスリン耐性を生じる。これらの R N A 発現の

50

実験のために、肥満度指数 (BMI) が 32.47 の女性 (40 才) の脂肪組織からヒト初代皮下前脂肪細胞を単離した。前脂肪細胞を培養して、それらを活性成分 PPAR - アゴニストとヒトインスリンを含む分化培養液中で培養することによって脂肪細胞に分化するように誘導した。チアゾリジンジオン又は PPAR - アゴニストは新しいクラスの抗糖尿病薬であり、これは、II 型糖尿病患者において、インスリン感受性を改善し、また血漿中ブドウ糖及び血圧を下げる。これらの薬剤はオファン核受容体に結合し、活性化し、これらの中のいくつかはヒト脂肪細胞分化を誘発できることが証明されている。

【0366】

これらの実験の場合、ヒト前脂肪細胞はヒトインスリンと PPAR - アゴニストで三日間処理し、引き続いてインスリンのみを含む培養液に切り替えた。分化した脂肪細胞が誘発剤の入っていない培養液中で維持された未処理の前脂肪細胞と比較された。SED ID NO: 37 の発現は少なくとも 2 分の 1 に減少した。これらの実験で、SED ID NO: 37 が有意な差次的発現パターンを示すことが、マイクロアレイ技術を使って示された。したがって、様々な実施様態で SED ID NO: 37 は以下の 1 つ以上の目的で使用することができる。すなわち、i) 免疫疾患、及び関連する疾患、症状の治療のモニタリング、ii) 免疫疾患、及び関連する疾患、症状の診断アッセイ、そして iii) 免疫疾患、及び関連する疾患、症状の治療及び / 或いは他の療法の開発である。

10

【0367】

他の実施例では、結腸癌の進行に関与する分子経路を理解する試みとして、正常結腸組織と同じドナーの結腸腫瘍の遺伝子発現パターンを比較した。7 人のドナーの中一人に SED ID NO: 45 が少なくとも二倍上方制御されていることがわかった。したがって、様々な実施様態で SED ID NO: 45 は以下の 1 つ以上の目的で使用することができる。すなわち、i) 結腸癌の治療のモニタリング、ii) 結腸癌の診断アッセイ、そして iii) 結腸癌の治療法そして / 或いは他の療法の開発である。

20

【0368】

他の実施例として、SED ID NO: 50 は、分化誘導培養液で処理された前脂肪細胞での発現が未処理の前脂肪細胞に対して減少することが、マイクロアレイ分析によって決定された。肥満指数 (BMI) が 27.7 (肥満であるが、それ以外は健常な) の女性 (36 才) の脂肪組織からヒト初代前脂肪細胞を単離した。前脂肪細胞を培養し、ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体 (PPAR) - アゴニストとヒトインスリン (Zen-Bio) のような活性成分を含む自家製の分化培養液で培養して脂肪細胞に分化させた。ヒト前脂肪細胞をヒトインスリンと PPAR アゴニストで三日間処理し、引き続き、インスリンのみを含む培養液に切り替えて 5 日間、9 日間、及び 12 日間処理した。分化した脂肪細胞を、誘発剤の入っていない培養液中で維持された未処理の前脂肪細胞と比較した。全体の分化率が 60% 以上のものは 15 日間の培養の後に観察した。したがって、様々な実施様態で SED ID NO: 50 は以下の 1 つ以上の目的で使用することができる。すなわち、i) 糖尿病の治療のモニタリング、ii) 糖尿病の診断アッセイ、そして iii) 糖尿病の治療法及び / 或いは他の療法の開発である。

30

【0369】

別の例で SED ID NO: 50 は骨肉腫にかかった骨組織での発現が、正常な骨芽細胞に対して減少したが、これはマイクロアレイ分析で判定した。正常ヒト骨芽細胞からのメッセンジャー RNA を骨肉腫組織、又は初代培養又は転移組織の生検検体からの mRNA と比較した。正常骨芽細胞初代培養、NH0st 5488 を基準として使用した。生検検体からの mRNA の比較は同じ患者の最終的外科的検体 (definitive surgical specimen) の mRNA と比較した。この基本的組み合わせの拡大研究には、同じ患者の最終的外科的検体、筋組織、又は軟骨組織、並びに、異なった個人からの生検検体、最終的外科的検体、又は肺転移組織からの初代細胞培養の mRNA が含まれる。したがって、様々な実施様態で SED ID NO: 50 は以下の 1 つ以上の目的で使用することができる。すなわち、i) 骨肉腫の治療のモニタリング、ii) 骨肉腫の診断アッセイ、そして iii) 骨肉腫の治療法及び / 或いは他の療法の開発である。

40

50

【0370】

他の実施例として、ホルボールミリスチン酸アセテート（PMA）とイオノマイシンで処理して活性化したジャーカット細胞では、未処理のジャーカット細胞に対して、SED ID NO: 50の発現が減少することがマイクロアレイ分析で決定された。ジャーカットは急性T細胞白血病細胞株である。ジャーカット細胞は段階的用量のホルボールミリスチン酸アセテート（PMA）とイオノマイシンの併用で処理し、1時間で収集した。T細胞では、PMAとイオノマイシンの併用が、最適なB細胞活性化中に誘発される二次的シグナル伝達イベントを模倣する。処理された細胞を刺激の不在下で培養された未処理のジャーカット細胞と比較した。したがって、様々な実施様態でSED ID NO: 50は以下の1つ以上の目的で使用することができる。すなわち、i) 免疫疾患、及び関連する疾患、症状の治療のモニタリング、ii) 免疫疾患、及び関連する疾患、症状の診断アッセイ、そしてiii) 免疫疾患、及び関連する疾患、症状の治療及び/或いは他の療法の開発である。

【0371】

別の実施例として、ヒト結腸腫瘍組織でのSED ID NO:56の発現が正常結腸組織と比べて差次的であった。

【0372】

結腸癌は多段階の過程で発症し、これらの段階の中で前悪性結腸細胞が比較的明確な一連のイベントを経て腫瘍形成にいたる。腫瘍進行と悪性転換との過程に寄与する因子としては、遺伝因子、突然変異、及び選択がある。結腸癌にいたる分子的イベントを特徴付ける努力にもかかわらず、腫瘍の発症や進行の過程は明らかにされていない。結腸癌で差次的に発現される遺伝子を同定するために、正常組織と腫瘍組織の遺伝子発現パターンを比較した。同じ個人の対応する正常サンプルと腫瘍サンプルを競合的ハイブリダイゼーションによって比較した。この過程は、遺伝子バックグラウンドによる一部の個体変異を排除する。また疾患の過程による相違を高める。

【0373】

したがって、様々な実施様態でSED ID NO: 56は以下の1つ以上の目的で使用することができる。すなわち、i) 結腸癌の治療のモニタリング、ii) 結腸癌の診断アッセイ、そしてiii) 結腸癌の治療法そして/或いは他の療法の開発である。

【0374】

別の実施例として、乳房腫瘍組織でのSED ID NO: 67の発現が、同じドナーの正常乳房組織と比べて差次的であることがマイクロアレイ分析によって確認された。右乳房からの腫瘍を、同じドナー（生体内原位置で浸潤性小葉癌と診断された女性（43才））の肉眼的に見て腫瘍を伴わない乳房組織と比べた。SED ID NO: 67の発現は、対応する非腫瘍組織に比べると腫瘍組織において少なくとも2分の1減少した。したがって、様々な実施様態でSED ID NO: 67は以下の1つ以上の目的で使用することができる。すなわち、i) 乳癌の治療のモニタリング、ii) 乳癌の診断アッセイ、そしてiii) 乳癌の治療法及び/或いは他の療法の開発である。

【0375】

別の実施例として、肺腫瘍組織でのSED ID NO: 67の発現が、同じドナーの正常肺組織と比べて差次的であることがマイクロアレイ分析によって確認された。4人の異なったドナーについて、正常肺のサンプルを同じドナーの肺腫瘍と比較した（Roy Castle International Centre for Lung Cancer Research, Liverpool, UK）。SED ID NO: 67の発現は、対応する非腫瘍組織に比べると腫瘍組織において少なくとも2分の1減少した。したがって、様々な実施様態でSED ID NO: 67は以下の1つ以上の目的で使用することができる。すなわち、i) 肺癌の治療のモニタリング、ii) 肺癌の診断アッセイ、そしてiii) 肺癌の治療法及び/或いは他の療法の開発である。

【0376】

12 相補的ポリヌクレオチド

IRAPをコードする配列或いはその任意の一部に対して相補的な配列は、天然のIRAPの発現を検出、低下、又は阻害するために用いられる。約15~30塩基対を含むオ

リゴヌクレオチドの使用について記すが、これより小さな或いは大きな配列の断片の場合でも、本質的に同じ手順を用いる。Oligo 4.06ソフトウェア (National Biosciences) 及び I R A P のコーディング配列を用いて、適切なオリゴヌクレオチドを設計する。転写を阻害するためには、最も独特な 5' 配列から相補的オリゴヌクレオチドを設計し、これを用いて、プロモーターがコーディング配列に結合するのを防止する。翻訳を阻害するためには、相補的なオリゴヌクレオチドを設計して、リボソームが I R A P をコードする転写物に結合するのを阻害する。

【0377】

13 I R A P の発現

I R A P の発現及び精製は、細菌若しくはウイルスを基にした発現系を用いて行うことができる。細菌内で I R A P を発現させるためには、抗生物質耐性遺伝子と、c D N A 転写レベルを高める誘導性プロモーターとを持つ、好適なベクターに c D N A をサブクローニングする。このようなプロモーターとしては、l a c オペレーター調節エレメントと併用する T 5 又は T 7 バクテリオファージプロモーター、及び t r p - l a c (t a c) ハイブリッドプロモーターが含まれるが、これらに限定するものではない。組換えベクターを、B L 2 1 (D E 3) などの好適な細菌宿主に形質転換する。抗生物質耐性細菌が、イソプロピル - D チオガラクトピラノシド (I P T G) で誘発されると I R A P を発現する。真核細胞での I R A P の発現は、昆虫細胞株又は哺乳動物細胞株に一般にバキュロウイルスとして知られている *Autographica californica* 核多角体病ウイルス (A c M N P V) の組換え型を感染させて行う。バキュロウイルスの非必須の多角体遺伝子を、相同組換え或いは転移プラスミドの媒介を伴う細菌の媒介による遺伝子転移のどちらかによって、I R A P をコードする c D N A と置換する。ウイルスの感染力は維持され、強力なポリヘドリンプロモーターによって高レベルの c D N A 転写が行われる。組換えバキュロウイルスは、多くの場合は *Spodoptera frugiperda* (S f 9) 昆虫細胞への感染に用いられるが、ヒト肝細胞の感染にも用いられることもある。後者の感染の場合は、バキュロウイルスへの更なる遺伝的修飾が必要になる (Engelhard, E.K 他、(1994) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91:3224-3227、Sandig, V. 他 (1996) Hum. Gene Ther. 7:1937-1945)。

【0378】

殆どの発現系では、I R A P が、例えばグルタチオン S トランスフェラーゼ (G S T) 、又は F L A G や 6 - H i s などのペプチドエピトープ標識で合成された融合タンパク質となるため、未精製の細胞溶解物からの組換え融合タンパク質の親和性ベースの精製が素早く 1 回で行うことができる。G S T は日本住血吸虫からの 26 k D a の酵素であり、タンパク質の活性及び抗原性を維持した状態で、固定化したグルタチオン上での融合タンパク質の精製を可能とする (Amersham Biosciences)。精製の後、G S T 部分を特定の操作部位で I R A P からタンパク質的に切断できる。F L A G は 8 アミノ酸のペプチドであり、市販されているモノクローナル及びポリクローナル抗 F L A G 抗体 (Eastman Kodak) を用いた免疫親和性精製を可能にする。6 ヒスチジン残基が連続して伸長した 6 - H i s は、金属キレート樹脂上での精製を可能にする (QIAGEN)。タンパク質の発現及び精製の方法は、Ausubel 他 (前出、10 及び 16 章) に記載がある。これらの方法で精製した I R A P を直接用いて、以下の 実施例 17 及び 18 の、適用可能なアッセイを行える。

【0379】

14 機能的アッセイ

I R A P 機能は、哺乳動物細胞培養系において生理学的に高められたレベルでの I R A P をコードする配列の発現によって評価する。c D N A を高いレベルで発現する強いプロモーターを含む哺乳動物発現ベクターに c D N A をサブクローニングする。選択されるベクターとしては、PCMV SPORT (Invitrogen, Carlsbad CA) 及び P C R 3 . 1 プラスミド (Invitrogen) があり、どちらもサイトメガロウイルスプロモーターを持つ。リボソーム製剤或いは電気穿孔法を用いて、5 ~ 10 μ g の組換えベクターをヒト細胞株、例えば内皮由来又は造血由来の細胞株に、一過的に形質移入する。更に、標識タンパク質をコードする配列を含む 1 ~ 2 μ g のプラスミドを同時に形質移入する。標識タンパク質の発現

により、形質移入細胞と非形質移入細胞を区別する手段が与えられる。また、標識タンパク質の発現によって、cDNAの組換えベクターからの発現を正確に予想できる。標識タンパク質は、例えば緑色蛍光タンパク質(GFP; Clontech)、CD64又はCD64-GFP融合タンパク質から選択できる。自動化された、レーザー光学に基づく技術であるフローサイトメトリー(FCM)を用いて、GFP又はCD64-GFPを発現する形質移入された細胞を同定し、その細胞のアポトーシス状態や他の細胞特性を評価する。FCMは、細胞死に先行するか或いは同時に発生する現象を診断する蛍光分子の取り込みを検出して計量する。このような現象として挙げられるのは、ヨウ化プロピジウムによるDNA染色によって計測される核DNA含量の変化、前方散乱光と90°側方散乱光によって計測される細胞サイズと粒度の変化、プロモデオキシウリジンの取込量の低下によって計測されるDNA合成の下方調節、特異抗体との反応性によって計測される細胞表面及び細胞内におけるタンパク質の発現の変容、及びフルオレセイン抱合したアネキシンVタンパク質の細胞表面への結合によって計測される原形質膜組成の変容とがある。フローサイトメトリー法については、Ormerod, M.G. (1994; Flow Cytometry, Oxford, New York NY) に記述がある。

10

【0380】

遺伝子発現におけるIRAPの影響は、IRAPをコードする配列とCD64又はCD64-GFPのどちらかが形質移入された、高度に精製された細胞集団を用いて評価することができる。CD64又はCD64-GFPは、形質移入された細胞表面で発現し、ヒト免疫グロブリンG(IgG)の保存された複数の領域に結合する。形質転換された細胞と形質転換されない細胞とは、ヒトIgGがCD64に対する抗体のどちらかで被覆された磁気ビードを用いて分離することができる(DYNAL, Lake Success, NY)。mRNAは、当分野で周知の方法で細胞から精製することができる。IRAP及び目的の他の遺伝子をコードするmRNAの発現は、ノーザン分析やマイクロアレイ技術で分析することができる。

20

【0381】

15 IRAPに特異的な抗体の作製

実質的に精製されたIRAPを、ポリアクリルアミドゲル電気泳動法(PAGE; 例えば、Harrington, M.G. (1990) *Methods Enzymol.* 182:488-495を参照)又は他の精製技術で行い、これを用いて標準的なプロトコルで動物(例えばウサギ、マウスなど)を免疫化して抗体を作り出す。

30

【0382】

或いは、LASERGENEソフトウェア(DNASTAR)を用いてIRAPアミノ酸配列を解析し、免疫原性の高い領域を決定する。そして対応するオリゴペプチドを合成し、このオリゴペプチドを用いて当業者によく知られている方法で抗体を生成する。C末端付近或いは親水性領域などの、適切なエピトープの選択方法については、当分野に記述が多い(前出のAusubel他、11章)。

【0383】

通常は、長さ約15残基のオリゴペプチドを、FMOC化学法を用いるABI 431Aペプチドシンセサイザ(Applied Biosystems)を用いて合成し、N-マレイミドベンゾイル-N-ヒドロキシスクシンイミドエステル(MBS)を用いた反応によってKLH(Sigma-Aldrich, St. Louis MO)に結合させて、免疫原性を高める(前出のAusubel他)。完全フロイントアジュバントにおいて、オリゴペプチド-KLH複合体を用いてウサギを免疫化する。得られた抗血清の抗ペプチド活性及び抗IRAP活性を試験するには、ペプチド又はIRAPを基板に結合し、1%BSAを用いてブロッキング処理し、ウサギ抗血清と反応させて洗浄し、さらに放射性ヨウ素標識されたヤギ抗ウサギIgGと反応させる。

40

【0384】

16 特異的な抗体を用いる天然IRAPの精製

天然IRAP或いは組換えIRAPをIRAPに特異的な抗体を用いるイムノアフィニ

50

ティークロマトグラフィにより実質的に精製する。イムノアフィニティーカラムは、CNBr-活性化したSEPHAROSE (Amersham Biosciences) のような活性化クロマトグラフィ用レジンと抗IRAP抗体とを共有結合させることにより形成する。結合後に、製造者の使用説明書に従ってこのレジンをブロックし、洗浄する。

【0385】

IRAPを含む培養液をイムノアフィニティーカラムに通し、IRAPを優先的に吸着できる条件で(例えば、界面活性剤の存在下において高イオン強度のバッファーで)そのカラムを洗浄する。そのカラムを、抗体とIRAPとの結合を切るような条件で(例えば、或るpH2~3のバッファー、或いは高濃度の、例えば尿素又はチオシアン酸イオンなどのカオトロップで)溶出させIRAPを収集する。

10

【0386】

17 IRAPと相互作用する分子の同定

IRAP又は生物学的に活性なその断片を、¹²⁵I ボルトンハンター試薬で標識する(Bolton A.E. 及びW.M. Hunter (1973) Biochem. J. 133: 529-539)。マルチウェルプレートの各ウェルに予め配列しておいた候補の分子群を、標識したIRAPと共にインキュベートし、洗浄して、標識されたIRAP複合体を有する全てのウェルをアッセイする。様々なIRAP濃度で得られたデータを用いて、候補分子と結合したIRAPの数量及び親和性、会合についての値を計算する。

【0387】

別法では、IRAPと相互作用する分子を、Fields, S. 及びO. Song (1989; Nature 340:245-246) に記載の酵母2-ハイブリッドシステム(yeast two-hybrid system)や、MATCHMAKERシステム(Clontech)などの2-ハイブリッドシステムに基づく市販キットを用いて分析する。

20

【0388】

IRAPは又はイスルーブット型の酵母2ハイブリッドシステムを使用するPATHCALLINGプロセス(CuraGen Corp., New Haven CT)に用いて、遺伝子の2大ライブラリによってコードされるタンパク質間の全ての相互作用を判定できる(Nandabalan, K. 他(2000) 米国特許第6,057,101号)。

【0389】

18 IRAP活性の実証

IRAP活性のアッセイは、IRAPが血清からの抗原類を認識し沈殿させる能力を測定する。この活性は定量沈降反応によって測定される(Golub, E. S. 他(1987) Immunology: A Synthesis, Sinauer Associates, Sunderland, MA, pages 113-115)。IRAPを当分野で既知の方法で同位体標識する。一定量の標識IRAPに種々の血清濃度を加える。IRAP抗原複合物が溶液から沈殿し、これを遠心分離によって回収する。沈殿性IRAP抗原複合物の量は沈殿物中に検出される放射性同位元素の量に比例する。沈殿性IRAP抗原複合物の量を血清濃度に対してプロットする。異なった血清濃度の特徴的沈降曲線が得られ、沈殿性IRAP抗原複合物の量は最初は血清中濃度の増加に比例して増加し、等価点を頂点とし、その後は血清中濃度の増加に比例して減少する。このように、沈殿性IRAP抗原複合物の量は、抗原の制限量と過剰量に対する感受性を特徴とするIRAP活性の測定方法となる。

30

40

【0390】

別法として、IRAP活性の或るアッセイは、細胞表面におけるIRAPの発現を測定する。IRAPをコードするcDNAを、非白血球細胞株に形質移入する。細胞表面タンパク質は、ビオチンで標識する(de la Fuente, M.A. 他(1997) Blood 90:2398-2405)。IRAP特異的抗体群を用いて免疫沈降を行い、免疫沈降したサンプルをSDS-PAGEと免疫プロット法で分析する。標識された免疫沈降素と非標識免疫沈降素との比が、細胞表面に発現されたIRAPの量に比例する。

【0391】

代替例として、IRAP活性のアッセイは、IRAPの過剰発現によって誘発される細

50

胞の凝集量を測定することで行われる。このアッセイにおいては、NIH3T3等の培養細胞にIRAPをコードするcDNAで形質移入する。このcDNAは強いプロモーターの制御下にある適切な哺乳動物発現ベクターに含まれている。緑色蛍光タンパク質(CLONTECH)などの蛍光標識タンパク質をコードするcDNAとの共形質移入を行うと、安定な形質移入体を同定するのに役立つ。形質移入された細胞と形質移入されない細胞で細胞の凝集(塊化)量を比較する。細胞の癒着量によりIRAPの活性を直接的に測定できる。

【0392】

或いは、IRAP活性の試験はIRAPの細菌への結合を測定する(Liu, C他、前出)。IRAPを細菌とインキュベートし、細菌結合タンパク質を遠心分離によって単離し、洗浄し、ウエスタンブロットによって検出する。

10

【0393】

当業者には、本発明の要旨及び精神から逸脱しない範囲での、本発明の記載した組成物、方法及びシステムの種々の修正及び変更の手段は自明であろう。本発明が新規であり、有用なタンパク質及びそのコードするポリヌクレオチドを提供することは高く評価されるであろう。また、これらは薬物発見及び疾患及び症状の検出、診断及び治療にこれらの組成物を使用する方法に用いられ得る。本発明について説明するにあたり幾つかの実施例に関連して説明を行ったが、本発明の請求の範囲が、そのような特定の実施例に不当に制限されるべきではないことを理解されたい。また、本発明をこのような実施態様の説明によって、開示した形態だけに網羅されるか、或いは、制限されるものと見なされるべきでもない。さらに、一実施態様の要素は他の実施態様の一つ以上の要素と容易に組み合わせられ得る。このような組み合わせによって本発明の範囲内で多数の実施態様が形成され得る。本発明の範囲は下記の請求項及びそれに相当するものによって定義することを意図するものである。

20

【0394】

(表の簡単な説明)

表1は、本発明の完全長ポリヌクレオチド及びポリペプチド実施態様の命名の概略である。

【0395】

表2は、本発明のポリペプチド実施例のGenBank識別番号と、最も近いGenBank相同体の注釈(annotation)と、PROTEOMEデータベース識別番号と、PROTEOMEデータベース相同体群の注釈とを示す。各ポリペプチドとそのGenBank相同体が一致する確率スコアも併せて示す。

30

【0396】

表3は、予測されるモチーフ及びドメインを含む本発明のポリペプチド実施態様の構造的特徴を、ポリペプチドの分析に用いるための方法、アルゴリズム及び検索可能なデータベースと共に示す。

【0397】

表4は、ポリヌクレオチド実施態様をアセンブリするために用いたcDNAやゲノムDNA断片を、ポリヌクレオチドの選択した断片と共に示す。

【0398】

表5は、ポリヌクレオチド実施態様の代表的なcDNAライブラリを示す。

40

【0399】

表6は、表5に示したcDNAライブラリの作製に用いた組織及びベクターを説明する付表である。

【0400】

表7は、ポリヌクレオチドとポリペプチドの分析に用いたツール、プログラム、アルゴリズムを、適用可能な説明、引用文献及び閾値パラメータと共に示す。

【0401】

表8は、本発明のポリヌクレオチド配列に見られる一塩基多型を、種々のヒト集団での対立遺伝子(アレル)頻度と共に示す。

50

【 0 4 0 2 】
【 表 1 - 1 】

表 1-1

Incyte プロ ジェクト ID	ポリペプ チド SEQ ID NO:	Incyte ポリペ プチド ID	ポリヌク レオチド SEQ ID NO:	Incyte ポ リヌクレオチ ド ID	Incyte 完全長
7499453	1	7499453CD1	36	7499453CB1	
7499815	2	7499815CD1	37	7499815CB1	95017273CA2
3165346	3	3165346CD1	38	3165346CB1	
5092954	4	5092954CD1	39	5092954CB1	1859004CA2, 4209127CA2, 90133145CA2, 90133229CA2, 90133245CA2
7499560	5	7499560CD1	40	7499560CB1	
70243658	6	70243658CD1	41	70243658CB1	60210458CA2
7500196	7	7500196CD1	42	7500196CB1	90027016CA2, 90027024CA2, 90027032CA2, 90027124CA2, 90027132CA2, 90027148CA2
7500351	8	7500351CD1	43	7500351CB1	90206067CA2, 90206435CA2, 90215217CA2
7500923	9	7500923CD1	44	7500923CB1	

10

20

30

【 0 4 0 3 】

表 1-2

Incyte プロ ジェクト ID	ポリペプ チド SEQ ID NO:	Incyte ポリペ プチド ID	ポリヌク レオチド SEQ ID NO:	Incyte ポ リヌクレオチ ド ID	Incyte 完全長
2258292	10	2258292CD1	45	2258292CB1	
7500283	11	7500283CD1	46	7500283CB1	
7600263	12	7600263CD1	47	7600263CB1	90196025CA2
7503686	13	7503686CD1	48	7503686CB1	90034204CA2, 90034220CA2, 90034236CA2, 90034244CA2, 90034284CA2, 90173787CA2
7504791	14	7504791CD1	49	7504791CB1	6571458CA2
7504885	15	7504885CD1	50	7504885CB1	3796648CA2
7504915	16	7504915CD1	51	7504915CB1	
7504926	17	7504926CD1	52	7504926CB1	
7505049	18	7505049CD1	53	7505049CB1	90208355CA2, 95084027CA2
90034212	19	90034212CD1	54	90034212CB1	90034212CA2
7503683	20	7503683CD1	55	7503683CB1	90034268CA2

表 1-3

Incyte プロジェクト ID	ポリペプチド SEQ ID NO:	Incyte ポリペプチド ID	ポリヌクレオチド SEQ ID NO:	Incyte ポリヌクレオチド ID	Incyte 完全長
71616365	21	71616365CD1	56	71616365CBI	
7505047	22	7505047CD1	57	7505047CBI	3377315CA2
7505779	23	7505779CD1	58	7505779CBI	90179707CA2, 90179916CA2
7505782	24	7505782CD1	59	7505782CBI	90051960CA2, 90052052CA2, 90052057CA2
7500207	25	7500207CD1	60	7500207CBI	90056836CA2, 90056928CA2, 90057028CA2
7500208	26	7500208CD1	61	7500208CBI	90056736CA2
7500313	27	7500313CD1	62	7500313CBI	90206203CA2
1436493	28	1436493CD1	63	1436493CBI	3402768CA2
7501101	29	7501101CD1	64	7501101CBI	90206165CA2, 90206390CA2
7504972	30	7504972CD1	65	7504972CBI	
7511788	31	7511788CD1	66	7511788CBI	

10

20

【 表 1 - 4 】

表 1-4

Incyte プロジェクト ID	ポリペプチド SEQ ID NO:	Incyte ポリペプチド ID	ポリヌクレオチド SEQ ID NO:	Incyte ポリヌクレオチド ID	Incyte 完全長
7504642	32	7504642CD1	67	7504642CB1	90056744CA2, 90056920CA2, 90056936CA2, 90057004CA2, 90057020CA2, 90066705CA2, 90066729CA2
7504643	33	7504643CD1	68	7504643CB1	
7504745	34	7504745CD1	69	7504745CB1	90056744CA2, 90056920CA2, 90056936CA2, 90057004CA2, 90057020CA2, 90066705CA2, 90066729CA2
7504746	35	7504746CD1	70	7504746CB1	

10

20

【 0 4 0 6 】

表 2-1

ポリペプチド SEQ ID NO:	Incyte ポリ ペプチド ID	GenBank ID NO: または PROTEOME ID NO:	確率スコア	注釈
1	7499453CD1	g8117977	5.8E-191	[ヒト] キラー細胞免疫グロブリン様受容体 KIR2DL5.1 Vilches, C. 他 (2000) J. Immunol. 164:5797-5804
2	7499815CD1	g13274520	1.1E-137	[ヒト] 補体-clq 腫瘍壊死因子関連タンパク質
3	3165346CD1	g7717235	3.5E-193	[ヒト] T-細胞受容体 α 鎖-c6.1A 融合タンパク質 (1994) Leukemia 8:564-573
4	5092954CD1	g188479	8.4E-41	[ヒト] HLA-DPB1
5	7499560CD1	g13195239	0.0	Korioth, F. 他 (1992) Tissue Antigens 39:216-219 [ヒト] 補体因子 H 関連タンパク質 5
6	70243658CD1	g179700	1.4E-16	McRae, J.L. (2001) J. Biol. Chem. 276:6747-6754 [ヒト] C5a アナフィラトキシン受容体 Boulay, F. 他 Expression cloning of a receptor for C5a anaphylatoxin on differentiated HL-60 cells. Biochemistry 30 (12), 2993-2999 (1991)
7	7500196CD1	g7406952	7.4E-77	[ヒト] [受容体(シグナル伝達)] [原形質膜] C5a 化学誘因物質(アナ フィラトキシン)受容体、Gタンパク質共役受容体で、アナフィラ キナー、および好中球とマクロファージの遊走と活性化を仲介す る。 [ヒト] 8D6 抗原 (Li, L. 他 Identification of a human follicular dendritic cell molecule that stimulates germinal center B cell growth. J. Exp. Med. 191 (6), 1077- 1084 (2000))
		4760338D6A	6.6E-78	[ヒト] 濾胞性樹状細胞によって発現される抗原、胚中心 B 細胞 の増殖を刺激する。

10

20

30

表 2-2

ポリペプチド SEQ ID NO:	Incyte ポリ ペプチド ID	GenBank ID NO: または PROTEOME ID NO:	確率スコア	注釈
		608328 425018 -1	4.1E-29	[マウス][小分子結合タンパク質]2つの低密度リポタンパク質受容体クラス A ドメインを含むタンパク質。アルツハイマー病に対する罹患性に関連する、超低密度リポタンパク質受容体(ヒト VLDLR)の領域に類似性が高い領域を有する。
8	750035 CD1	g8249471	3.4E-140	[ヒト] CD1E 抗原、アイソフォーム 2 Angenieux, C. 他 (2000) J. Biol. Chem. 275 (48), 37757-37764
		697353 CD1E	1.0E-115	[ヒト][ゴルジ; エンドソーム/エンドソーム小胞; 細胞質] CD1E 抗原、e ポリペプチド、非古典的組織適合複合体クラス I 分子の CD1 ファミリのメンバー
		347492 CD1A	1.4E-70	[ヒト][小分子結合タンパク質][抗原提示] 抗原提示に関与する CD1 ファミリのメンバー。皮質性胸腺細胞、および T 細胞白血病の $\beta 2$ -ミクログロブリン結合ヘテロ二量体として発現される。CD1b、CD1c および CD8 と関連する。
		334518 CD1D	3.8E-70	[ヒト][リガンド][抗原提示] 抗原提示に関与する CD1 ファミリのメンバー。 $\beta 2$ -ミクログロブリン結合ヘテロ二量体として細胞表面に発現される
		334514 CD1B	1.6E-64	[ヒト][小分子結合タンパク質][エンドソーム/エンドソーム小胞; 細胞質; 抗原提示] T 細胞への、細菌脂質や自己スフィンゴ糖脂質の抗原提示に関与する CD1 ファミリのメンバー。皮質性胸腺細胞上に、また T 細胞白血病に $\beta 2$ -ミクログロブリン結合ヘテロ二量体として発現される。CD1b、CD1c および CD8 と結合する

10

20

30

表 2-3

ポリペプチド SEQ ID NO:	Incyte ポリ ペプチド ID	GenBank ID NO: または PROTEOME ID NO:	確率スコア	注釈
		334516 CD1C	3.8E-63	[ヒト][エンドソーム/エンドソーム小胞;細胞質;原形質膜] 抗原提示に関与する CD1 ファミリのメンバ。皮膚性胸腺細胞、および T 細胞白血症の β 2-ミクログロブリン結合ヘテロ二量体として発現される。CD1b、CD1c および CD8 と関連する。
9	7500923CD1	g16506269 g4973116 584771 Fcgr1	1.0E-129 2.1E-23 5.4E-24	[ヒト][ヒト] FCRLc1 [マウス] 高親和性免疫グロブリン γ Fc 受容体 I (Gavin, A.L. 他 (2000) Immunogenetics 51 (3), 206-211) [マウス][受容体(シグナル伝達)][原形質膜]Fc γ R1。免疫グロブリンスーパーファミリのメンバで IgG の Fc ドメインの受容体。IgG の免疫複合体と高い親和性で結合しており、骨髄系の細胞で発現される。
10	2258292CD1	618340 FCGR1 A	1.8E-22	[ヒト][受容体(シグナル伝達)][原形質膜]Fc γ R1。IgG の Fc ドメイン受容体で、骨髄系の細胞にのみ発現される免疫グロブリンスーパーファミリのメンバ。マイトゲン(IFN- γ)によって誘導され、免疫応答に関与している。
11	7500283CD1	g13898390 424812 KIAA0029 g7406952	2.5E-89 9.2E-166 1.4E-75	[マウス] TARPP Kisielw, J. 他 (2001) Eur. J. Immunol. 31 (4), 1141-1149 [ヒト] ssDNA の結合を仲介する R3H ドメインを含むタンパク質
		476033 8D6A	1.2E-76	[ヒト] 8D6 抗原 Li, L. 他 (2000) J. Exp. Med. 191 (6), 1077-1084 [ヒト] 濾胞性樹状細胞によって発現される抗原。胚中心 B 細胞の増殖を刺激する。

10

20

30

表 2-4

ポリペプチド SEQ ID NO:	Incyte ポリ ペプチド ID	GenBank ID NO: または PROTEOME ID NO:	確率スコア	注釈
		608328 425018.1.1E-28 -1		[マウス][小分子結合タンパク質]2つの低密度リポタンパク質受容体クラスAドメインを含むタンパク質。アルツハイマー病に対する罹患性に関連する、超低密度のリポタンパク質受容体(ヒトVLDLR)の領域に類似性が高い領域を有する。
12	7600263CD1	g15590684	8.0E-180	[ヒト](AY035376)ペプチドグリカン認識タンパク質-I- α 前駆体 Liu, C. 他 Peptidoglycan recognition proteins: a novel family of four human innate immunity pattern recognition molecules. J. Biol. Chem. 276, 34686-34694 (2001)
		610930 LOC57115	5.7E-115	[ヒト]タンパク質はマウス Pglyrp に中等度の類似性のある領域を有する。マウス Pglyrp は生得的免疫に関与するサイトカインであり、NF-kappaB 非依存性機構によるアポトーシスを惹起する。
		341898 PGLYR2.8E-42 P	2.8E-42	[ヒト]受容体(シグナル伝達)生得的免疫に関与し、主に骨髄と脾臓に発現されるペプチドグリカンに親和性を有するタンパク質。 Kang, D. 他 A peptidoglycan recognition protein in innate immunity conserved from insects to humans. Proc Natl Acad Sci U S A 95, 10078-82 (1998).
		582443 Pglyrp	2.4E-38	[マウス][リガンド] ペプチドグリカンに親和性を有するサイトカイン。生得的免疫に関与し、NF-kappaB 非依存性機構によるアポトーシスを惹起する。
13	7503686CD1	g16580799 g11071950	3.0E-43 5.5E-56	[5' incm][マウス] Fca/m 受容体 [マウス] Fca/m 受容体 Shibuya, A. 他 Fcalpha/mu receptor mediates endocytosis of IgM-coated microbes. Nat. Immunol. 1, 441-446 (2000)

10

20

30

表 2-5

ポリペプチド SEQ ID NO:	Incyte ポリ ペプチド ID	GenBank ID NO: または PROTEOME ID NO:	確率スコア	注釈
		629070 Fcαr1	4.8E-57	[マウス][受容体(シグナル伝達)[原形質膜] Fcα/μ 受容体。IgA と IgM のどちらにも中程度あるいは高い親和性で結合し、大部分の B リンパ球やマクロファージ上に発現され、IgM で被膜された微生物のエンドサイトーシスを仲介する。 Shibuya, A. 他(前出)
		623902 PIGR	8.0E-21	[ヒト][受容体(タンパク質移行); 輸送体][原形質膜] 重合体免疫グロブリン受容体 (Polymeric immunoglobulin receptor) (膜貫通分泌成分)。J鎖含有重合体 IgA および五量体 IgM を粘膜上皮を通過して外部体液に輸送するタンパク質。肺炎球菌の侵入に関与し得る。 Blanch, V. J. 他 Cutting edge: coordinate regulation of IFN regulatory factor-1 and the polymeric Ig receptor by proinflammatory cytokines. J Immunol 162, 1232-5 (1999). Piskurich, J. F. 他 Interferon-gamma induces polymeric immunoglobulin receptor mRNA in human intestinal epithelial cells by a protein synthesis dependent mechanism. Mol. Immunol. 30, 413-21 (1993). [ラット][受容体(タンパク質移行)][細胞外(細胞壁を除く); 原形質膜] 重合体免疫グロブリン受容体(分泌成分)。J鎖含有重合体 IgA および IgM を粘膜上皮を通過して外部体液に輸送するタンパク質。抗菌性体液性応答に関与し得る。
14	7504791CD1	g2145066	3.5E-37	[ヒト] cL232ST1/A スプライス変異体 de Baey, A. 他 (1997) Genomics 45:591-600 Complex expression pattern of the TNF region gene LST1 through differential regulation, initiation, and alternative splicing.

10

20

30

表 2-6

ポリペプチド SEQ ID NO:	Incyte ポリ ペプチド ID	GenBank ID NO: または PROTEOME ID NO:	確率スコア	注釈
15	7504885CD1	568854 LY117 325492 Lst1 g2702314	9.8E-17 5.8E-12 2.2E-129	[ヒト][不特定膜]白血球で発現され、IFN- γ によって誘発されるタンパク質。単球およびT細胞の免疫応答において作用すると思われる。 [マウス]単球で発現されるタンパク質。インターフェロロン- γ によって上方制御され、多くのスプライス変異体として存在する。 [ヒト] Sp a Gebe, J.A. 他 (1997) J. Biol. Chem. 272:6151-6158 Molecular cloning, mapping to human chromosome 1 q21-q23, and cell binding characteristics of Sp alpha, a new member of the scavenger receptor cysteine-rich (SRCR) family of proteins.
		342958 CD5L	1.9E-130	[ヒト][細胞外(細胞壁を除く)]CD5 抗原様タンパク質 (Sp- α)、B グループスカベンジャー受容体システインリッチファミリーのメンバー、単球の活性化、作用および生存を制御し得る。
		584265 Api6	5.1E-91	[マウス][受容体(タンパク質移行)]リンパ様 sp α (ヒト CD5L)に類似性の高いタンパク質。sp α は単球の活性化、作用および生存の制御に関与し得る。また、タンパク質間相互作用を仲介するスカベンジャー受容体システインリッチドドメインを含む。
		340878 CD163	2.8E-51	[ヒト][受容体(タンパク質移行); 受容体(シグナル伝達)][原形質膜]マクロファージ関連抗原、動脈壁のコレステロールの病的沈着に関与するとされる膜糖タンパク質であるスカベンジャー受容体スーパーファミリーの推定メンバー。
		743982 M160	7.2E-49	[ヒト]スカベンジャー受容体システインリッチスーパーファミリーのメンバー。単球-マクロファージ系内の細胞によって発現される。

表 2-7

ポリペプチド SEQ ID NO:	Incyte ポリ ペプチド ID	GenBank ID NO: または PROTEOME ID NO:	確率スコア	注釈
		568386 DMBT1	3.1E-47	[ヒト] [阻害因子または抑制因子; 受容体(タンパク質移行); 受容体(シグナル伝達)] 悪性脳腫瘍 1 内で欠失している。スカベンジャー受容体システインリッチスーパファミリーのメンバー。サーファクタントタンパク質 D(SFTPD) のオプソニン受容体として働き得る。癌に対する免疫応答を変調し得る腫瘍抑制因子タンパク質の可能性がある。
16	750491 SCD1	g183763	6.5E-139	[ヒト] 因子 II 相同体 Estaller, C. 他 (1991) J. Immunol. 146:3190-3196 Cloning of the 1.4-kb mRNA species of human complement factor H reveals a novel member of the short consensus repeat family related to the carboxy terminal of the classical 150-kDa molecule.
		623836 HFL1	5.6E-140	[ヒト] [構造的タンパク質] [細胞外(細胞壁を除く)] 補体因子 H に類似性のあるタンパク質。短いコンセンサスリピート (SCR) を含む。
		335768 HF1	2.0E-112	[ヒト] [細胞外(細胞壁を除く)] 因子 H (補体因子 H)。短いコンセンサスリピート (SCR) を有するタンパク質。対応する遺伝子での突然変異により、因子 H 欠損症が生じる。 Ault, B. H. 他 (1997) J. Biol. Chem. 272:25168-25175 Human factor H deficiency. Mutations in framework cysteine residues and block in H protein secretion and intracellular catabolism.
		477286 CFHRB	7.0E-78	[マウス] 補体因子 H に類似のタンパク質。短いコンセンサスリピート (SCR) を含み、C3b/C4b 結合タンパク質のスーパーファミリーのメンバーである。
		343468 HFL3	2.6E-71	[ヒト] [細胞外(細胞壁を除く)] H 因子 (補体) 様 3。短いコンセンサスリピート (SCR) を含む推定補体成分。

10

20

30

表 2-8

ポリペプチド SEQ ID NO:	Incyte ポリ ペプチド ID	GenBank ID NO: または PROTEOME ID NO:	確率スコア	注釈
17	7504926CD1	422126 Cth g3342533	3.9E-68 2.0E-38	[マウス] [阻害因子または抑制因子] 補体因子 H ₂ 。補体活性化の抑制因子として働き得る。発現はチキサメサゾンおよびインターフェロニアによって上方制御される。 [ヒト] ペプチドグリカン認識タンパク質前駆体 Kang, D. (1998) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 95:10078-10082 A peptidoglycan recognition protein in innate immunity conserved from insects to humans.
		341898 PGLYR P	1.7E-39	[ヒト] 受容体(シグナル伝達) 生得的免疫に関与し、主に骨髄と脾臓に発現されるペプチドグリカンに親和性を有するタンパク質。
18	7505049CD1	582443 Pglyrp g180056	4.0E-11 5.0E-132	[マウス] [リガンド] ペプチドグリカンに親和性を有するサイトカイン。生得的免疫に関与し、NF-kappaB 非依存性機構によるアポトーシスを惹起する。 [ヒト] CD1b 抗原前駆体 Aruffo, A. および Seed, B. (1989) J. Immunol. 143:1723-1730 Expression of cDNA clones encoding the thymocyte antigens CD1a, b, c demonstrates a hierarchy of exclusion in fibroblasts
		334514 CD1B	4.3E-133	[ヒト] [小分子結合タンパク質] [エンドソーム/エンドソーム小胞; 細胞質; 原形質膜] 細菌脂質や、自己スフィンゴ糖脂質の抗原を T 細胞に提示することに関与する CD1 ファミリのメンバ。皮質性胸腺細胞上に、また T 細胞白血病に $\beta 2$ -ミクログロブリン結合ヘテロ二量体として発現される。CD1b, CD1c および CD8 と結合する

【表 2 - 9】

表 2-9

ポリペプチド SEQ ID NO:	Incyte ポリ ペプチド ID	GenBank ID NO:または PROTEOME ID NO:	確率スコア	注釈
		334516 CD1C	1.3E-83	[ヒト][小分子結合タンパク質][エンドソーム/エンドソーム小胞;細胞質;原形質膜] 抗原提示に関与するCD1 ファミリのメンバー、皮質性胸腺細胞、およびT細胞白血病のβ2-ミクログロブリン結合ヘテロ二量体として発現される。CD1b、CD1c およびCD8 と結合する。
		697353 CD1E	1.9E-68	[ヒト][ゴルジ;エンドソーム/エンドソーム小胞;細胞質] CD1E 抗原、eポリペプチド、非古典的組織適合複合体クラスI分子のCD1ファミリのメンバー
		347492 CD1A	1.4E-63	[ヒト][小分子結合タンパク質][原形質膜] 抗原提示に関与するCD1 ファミリのメンバー、皮質性胸腺細胞、およびT細胞白血病のβ2-ミクログロブリン結合ヘテロ二量体として発現される。CD1b、CD1c およびCD8 と結合する。
		334518 CD1D	2.0E-57	[ヒト][リガンド][原形質膜]抗原提示に関与するCD1 ファミリのメンバー、β2-ミクログロブリン結合ヘテロ二量体として細胞表面に発現される
19	900342 2CD1	g16580799 g11071950	4.0E-43 4.0E-65	[5・incom][マウス] Fca/m 受容体 [マウス] Fca/m 受容体 Shibuya, A. (2000) Nat. Immunol. 1:441-446 Fca/mu receptor mediates endocytosis of IgM-coated microbes.
		629070 Fcamr	3.5E-66	[マウス][受容体(シグナル伝達)][原形質膜] Fc α/μ 受容体。IgA とIgM のどちらにも、中程度あるいは高い親和性で結合する。大部分のBリンパ球やマクロファージ上に発現され、IgMで被膜された微生物のエンドサイトーシスを仲介する。

【 0 4 1 5 】

表 2-10

ポリペプチド SEQ ID NO:	Incyte ポリ ペプチド ID	GenBank ID NO: または PROTEOME ID NO:	確率スコア	注釈
20	7503683CD1	623902 PIGR ID NO:	8.0E-21	[ヒト][受容体(タンパク質転座);輸送体][原形質膜]重合体免疫グロブリン受容体 (Polymetric immunoglobulin receptor) (膜貫通分泌)、J鎖含有重合体 IgA および五量体 IgM を粘膜上皮を通過して外部体液中に輸送するタンパク質。肺炎球菌の侵入に関与し得る。
		329908 Pigr	1.0E-20	[ラット][受容体(タンパク質転座)][細胞外(細胞壁を除く);原形質膜]重合体免疫グロブリン受容体(分泌成分)、J鎖含有重合体 IgA および IgM を粘膜上皮を通過して外部体液中に輸送するタンパク質。抗菌性体液性応答に関与し得る。
		58649 Pigr	1.7E-20	[マウス][受容体(タンパク質移行)][原形質膜]重合体免疫グロブリン受容体(膜貫通分泌成分)、J鎖含有重合体 IgA および五量体 IgM を粘膜上皮を通過して外部体液中に輸送するタンパク質。
20		342258 TOSO	2.8E-10	[ヒト][阻害因子または抑制因子] Toso、リンパ球での Fas(TNFRSF6)の媒介によるアポトーシスを阻害する。cFLIP の活性化により作用し、その結果、カスパーゼ 8 (CASP8)活性を阻害し得る。
		g11071950	1.6E-44	[マウス] Fca/m 受容体 Shibuya, A. 他. (2000) (supra)

10

20

30

【表 2 - 1 1】

表 2-11

ポリペプチド SEQ ID NO:	Incyte ポリ ペプチド ID	GenBank ID NO: または PROTEOME ID NO:	確率スコア	注釈
21	71616365CD1	g14290438	8.1E-116	[マウス] [受容体(シグナル伝達) [原形質膜] Fc α/μ 受容体. IgA と IgM のどちらにも、中程度あるいは高い親和性で結合する。大部分の Bリンパ球やマクロファージ上で発現し、IgM で被膜された微生物のエンドサイトーシスを仲介する。 Shibuya, A. (2000) Fc alpha/mu receptor mediates endocytosis of IgM-coated microbes. Nat. Immunol. 1:441-446. [ヒト] 補体成分 1, q 亜成分、 β ポリペプチド
		623754C1QB	1.9E-116	[ヒト] [細胞外 (細胞壁を除く)] 補体亜成分 C1q の B 鎖。1 つのクラーゲン様領域を有する。 Seljar, G. C. 他 (1991) Characterization and organization of the genes encoding the A-, B- and C-chains of human complement subcomponent C1q. The complete derived amino acid sequence of human C1q. Biochem. J. 481-490.
22	7505047CD1	g180056	3.0E-130	[ヒト] CD1b 抗原前駆体 Aruffo, A. および Seed, B. (1989) Expression of cDNA clones encoding the thymocyte antigens CD1a, b, c demonstrates a hierarchy of exclusion in fibroblasts J. Immunol. 143:1723-1730
		334514CD1B	2.6E-131	[ヒト] [小分子結合タンパク質] [エンドソーム/エンドソーム小胞; 細胞質; 原形質膜] CD1B 抗原 b ポリペプチド。脂質および糖脂質。抗原に結合し、T 細胞に提示する。 β 2-ミクログロブリン(B2M)-結合ヘテロ二量体として発現される。多発性硬化症や、その他の自己免疫疾患の発症に関与し得る。 Balk, S. P. 他 (1991) Isolation and expression of cDNA encoding the murine homologues of CD1. J. Immunol. 146:768-774.

10

20

30

【表 2 - 1 2】

表 2-12

ポリペプチド SEQ ID NO:	Incyte ポリ ペプチド ID	GenBank ID NO:または PROTEOME ID NO:	確率スコア	注釈
23	7505779CD1	g313002	5.1E-124	[ヒト] RING 7 Kelly, A.P. 他 (1991) A new human HLA class II-related locus, DM. Nature 353:571-573. [ヒト][シヤペロン][リソソーム/液胞][エンドソーム/エンドソーム小胞;細胞質;原形質膜]ペプチド類の MHC クラス II 分子への結合を促進するヘテロ二量体のβ鎖。 Doebele, R.他 (2000) Determination of the HLA-DM Interaction Site on HLA-DR Molecules. Immunity 13:517-527.
24	7505782CD1	g1000997	5.3E-174	[ヒト] N ramp Kishi, F. および Nobumoto, M. (1995) Identification of natural resistance-associated macrophage protein in peripheral blood lymphocytes. Immunol. Lett. 47: 93-96 [ヒト][活性輸送体, 二次的, 輸送体][不特定膜;原形質膜]鉄輸送体タンパク質。正常な腸の鉄吸収およびトランスフェリンサイクル内のエンドソームからの鉄の輸送のどちらにも必須である。 Tabuchi, M. 他 (2000) Human NRAMP2/DMT1, which mediates iron transport across endosomal membranes, is localized to late endosomes and lysosomes in HEp-2 cells. J. Biol. Chem. 275:22220-22228.
25	7500207CD1	g3323609	3.1E-94	[ヒト] KE04p [ヒト][不特定膜]SPPH ドメイン/Band 7 ファミリを含むタンパク質。SPPH ドメイン/Band 7 ファミリは膜タンパク質の標的化代謝回転の制御に関与していると考えられる。

10

20

30

【表 2 - 1 3】

表 2-13

ポリペプチド SEQ ID NO:	Incyte ポリ ペプチド ID	GenBank ID NO: または PROTEOME ID NO:	継率スコア	注釈
26	7500208CD1	g3323609	1.1E-90	[ヒト] KE04p [ヒト] [不特定膜] SPFH ドメイン/Band 7 ファミリを含むタンパク質。SPFH ドメイン/Band 7 ファミリは膜タンパク質の標的化代謝回転の制御に関与していると考えられる。
27	7500313CD1	g21655223 g8249469 6973333CD1E	1.0E-146 5.9E-147 1.1E-115	[m][アカザザル] (AY094979) CD1e [ヒト] CD1E 抗原, アイソフォーム 1 Angenieux, C. 他 (2000) J. Biol. Chem. 275: 37757-37764. [ヒト] [ゴルジ; エンドソーム/エンドソーム小胞; 細胞質] CD1 (Cluster of differentiation 1) 抗原 pombe ポリペプチド。非古典的 MHC クラス I 糖タンパク質の CD1 ファミリのメンバ。非ペプチド抗原プロセッシングに関与する。細胞の局在化と抗原提示特性によって CD1 グループから区別される。 Woolfson, A. および Milstein, C. (1994) Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 91:6683-6687.
28	1436493CD1	g1262852	2.9E-40	[ヒト] [リガンド] [原形質膜] 抗原提示に関与する CD1 ファミリのメンバ、 β 2-ミクログロブリン結合ヘテロ二量体として細胞表面に発現される。 Jenkinson, H. J. 他 (1999) Immunology 96:649-655. [マウス] M17 タンパク質 Christoph, T. 他 (1994) Int. Immunol. 6:1203-1211.

10

20

30

【 0 4 1 9】

【表 2 - 1 4】

表 2-14

ポリペプチド SEQ ID NO:	Incyte ポリ ペプチド ID	GenBank ID NO:または PROTEOME ID NO:	確率スコア	注釈
		322342 Gcset	2.6E-41	[マウス][小分子結合タンパク質][細胞質]胚中心で発現される転写物。胚中心B細胞でシグナル伝達に関与し得る推定脂質結合タンパク質。
29	7501101CD1	g8249475	3.6E-172	Christoph, T. 他 (1994) 前出 [ヒト] CD1E 抗原、アイソフォーム 4 Angenieux, C. 他 (2000) J. Biol. Chem. 275:37757-37764. [ヒト][ゴルジ; エンドソーム/エンドソーム小胞; 細胞質]CD1 (Cluster of differentiation 1) 抗原 pombe ポリペプチド。非古典的 MHC クラス I 糖タンパク質の CD1 ファミリのメンバー。非ペプチド抗原プロセッシングに関与する。細胞の高酸化と抗原提示特性によって CD1 グループから区別される。 Woolfson, A. および Milstein, C. (1994) Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 91:6683-6687. [ヒト] Lst-1 遺伝子産物
30	7504972CD1	g1127546	2.3E-32	Holzinger, I. 他 (1995) Cloning and genomic characterization of LST1: a new gene in the human TNF region. Immunogenetics 42:315-322.
		568854 LY117	1.9E-33	[ヒト][不特定膜]リンパ球抗原 117(白血球特異的転写物 1)。細胞表面抗原。代替形態は種々の部位に局在する。リンパ球の増殖を抑制する。免疫応答や細胞の形態形成に関与し得る。糸状仮足形成を誘発する。 de Baey, A. 他. (1997) Complex expression pattern of the TNF region gene LST1 through differential regulation, initiation, and alternative splicing. Genomics 45:591-600.

10

20

30

表 2-15

ポリペプチド SEQ ID NO:	Incyte ポリ ペプチド ID	GenBank ID NO:または PROTEOME ID NO:	確率スコア	注釈
31	7511788CD1	g1000999	3.9E-227	<p>Rollinger-Holzinger, I. 他 (2000) LST1: a gene with extensive alternative splicing and immunomodulatory function. J. Immunol. 164:3169-3176.</p> <p>Raghunathan, A. 他 (2001) Functional analysis of B144/LST1: a gene in the tumor necrosis factor cluster that induces formation of long filopodia in eukaryotic cells. Exp. Cell Res. 268:230-244.</p> <p>[ヒト] Nramp</p> <p>Kishi, F. 他. Identification of natural resistance-associated macrophage protein in peripheral blood lymphocytes. Immunol. Lett. 47, 93-96 (1995).</p> <p>[ヒト] [輸送体] [不特定膜; 原形質膜] 溶質担体ファミリー 11 (プロトン共役二価金属イオン輸送体) メンバー 1。細胞骨格アンカータンパク質として働く水素イオン-二価カチオン対向輸送体。マウス Slc11a1 での突然変異は感染に罹患しやすくなる。</p>
32	7504642CD1	g3323609	7.8E-28	<p>Goswami, T. 他 Natural-resistance-associated macrophage protein 1 is an H+/bivalent cation antiporter. Biochem J 354, 511-9. (2001).</p> <p>[マウス] [輸送体] [不特定膜; 原形質膜] 溶質担体ファミリー 11 (プロトン共役二価金属イオン輸送体) メンバー 1。細胞内マクロプロアーヂ寄生虫に対する耐性を与える水素イオン-二価カチオン対向輸送体。突然変異によって感染に罹患しやすくなる。</p> <p>Vidal, S. 他. Natural resistance to infection with intracellular parasites: molecular genetics identifies Nramp1 as the Bcg/Ity/Lsh locus. J Leukoc Biol 58, 382-90 (1995).</p> <p>[ヒト] KE04p</p>

10

20

30

表 2-16

ポリペプチド SEQ ID NO:	Incyte ポリ ペプチド ID	GenBank ID NO.または PROTEOME ID NO:	確率スコア	注釈
		343494 KEO4	6.6E-29	[ヒト][不特定膜] SPFH ドメイン/Band 7 ファミリーを含むタンパク質。このファミリーは膜タンパク質の標的化された代謝回転の制御に関与するとされる。
33	7504643CD1	g3323609 343494 KEO4	5.1E-95 4.3E-96	[ヒト] KE04p [ヒト][不特定膜] SPFH ドメイン/Band 7 ファミリーを含むタンパク質。このファミリーは膜タンパク質の標的化された代謝回転の制御に関与するとされる。
34	7504745CD1	343494 KEO4	6.6E-29	[ヒト] SPFH ドメイン/Band 7 ファミリーを含むタンパク質。このファミリーは膜タンパク質の標的化された代謝回転の制御に関与するとされる。
35	7504746CD1	343494 KEO4	4.3E-96	[ヒト] SPFH ドメイン/Band 7 ファミリーを含むタンパク質。このファミリーは膜タンパク質の標的化された代謝回転の制御に関与するとされる。

10

20

30

【表 3 - 1】

表 3-1

SEQ ID NO.	Incyte ポリペプチド ID	アミノ酸残基数	シグネチャ配列、ドメインおよびモチーフ	分析方法及びデータベース
1	7499453CD1 375		<p>Signal_cleavage: M1-T21</p> <p>シグナルペプチド: M4-T21; M1-T21; M4-D27; M4-Q26</p> <p>免疫グロブリンドメイン: G42-G97, G137-G195</p> <p>サイトゾル内ドメイン: C264-I375;</p> <p>膜貫通ドメイン: A241-W263; Non-cytosolic domain: M1-H240</p> <p>受容体細胞 NK GLYCOPR PD01652 G119-H154, P109-E160, W204-A248, F252-Y298</p> <p>受容体 NK 細胞 キラー 前駆体 シグナル 白血球 免疫グロブリン様 ナチュラル 抑制性 PD000659: P109-P277</p> <p>受容体 NK 細胞 キラー ナチュラル MHC クラス I 前駆体シグナル PD001851: A278-S338</p> <p>受容体 NK 細胞 キラー 抑制性 MHC ナチュラル クラス I 前駆体 PD002456: G24-I75</p> <p>受容体 NK MHC 細胞 ナチュラルキラー抑制性 クラス I 前駆体 PD003172: K232-P277</p> <p>免疫グロブリン DM00001P43627 I31-208: L126-W204P43629 226-303: L126-W204P43629 31-105: L31-W106S531 51 32-211: L126-Y202</p> <p>潜在的リン酸化部位: S102 S145 S148 S200 S225 S230 S265 S315 S353 T92 T133 T186 T190</p> <p>潜在的グリコシル化部位: N139 N173</p>	<p>SPSCAN</p> <p>HMMER</p> <p>HMMER_PFAM</p> <p>TMHMMER</p> <p>BLIMPS_PRODOM</p> <p>BLAST_PRODOM</p> <p>BLAST_PRODOM</p> <p>BLAST_PRODOM</p> <p>BLAST_PRODOM</p> <p>BLAST_PRODOM</p> <p>MOTIFS</p> <p>MOTIFS</p>
2	7499815CD1 306		<p>Signal_cleavage: M1-C22</p> <p>シグナルペプチド: M1-C22; M1-D24</p> <p>C1q ドメイン: A179-L302</p> <p>コラーゲントリプルヘリックスリピート (20 コピー): G114-P173</p> <p>C1q ドメインタンパク質 BL01113:</p> <p>G194-M229, D262-R281, S295-E304, G114-E140</p>	<p>SPSCAN</p> <p>HMMER</p> <p>HMMER_PFAM</p> <p>HMMER_PFAM</p> <p>BLIMPS_BLOCKS</p>

【表 3 - 2】

表 3-2

SEQ ID NO:	Incyte ポリペプチド ID	アミノ酸残基数	シグネチャ配列、ドメインおよびモチーフ	分析方法及びデータベース
3	3165346CDI 408		補体 C1q ドメインシグネチャ PR00007: F188-R214, F215-D234, D262-G283, R293-F303	BLAST_PRODUM
			前駆体 シグナル コラーゲン α 3I1 鎖 細胞外マトリックス 結合組織	BLAST_PRODUM
			PD028299 G105-G171	
			クタクコラーゲンに類似 PD067228: P115-EI75	BLAST_PRODUM
			プレコラーゲン (Precollagen) 前駆体 シグナル PD072959: G111-G171	BLAST_PRODUM
			前駆体 シグナル コラーゲン リピート ヒドロキシ化 糖タンパク質 鎖 血漿	BLAST_PRODUM
			細胞外マトリックス	
			PD002992: N192-L302	
			C1q ドメイン DM00777 P23206 477-673; R110-L302 S23297 465-674; R110-L301 P9808 S222-418; G123-K306 P27658 S51-743; G111-F303	BLAST_DOMO
			潜在的リン酸化部位: S30 S52 S78 S108 S198 T33 T47 T72 T137 T212	MOTIFS
潜在的グリコシル化部位: F11N70 N71	MOTIFS			
4	5092954CDI 157		Mov34/MPN/PAD-1 ファミリー: Q7-G149	HMMER_PFAM
			C6.1A タンパク質 プロトオンコジゲン 染色体転座 PD004392: M1-S267	BLAST_PRODUM
			α ; T-細胞; 免疫グロブリン; 組織適合性; DM01841 S57494 109-269; D268-S407 S18893 113-275; D268-S407 S25117 93-267; D268-S407 S03715 112-269; T261-S407	BLAST_DOMO
			潜在的リン酸化部位: S47 S84 S133 S232 S285 S333 S360 T29 T46 T56 T62 T103 T112 T166 T255 T293 T312 T315 T402	MOTIFS
			潜在的グリコシル化部位: F20N265 N300 N334 N345 N381	MOTIFS
			Signal_cleavage: M1-A31	MOTIFS
			シグナルペプチド: M2-S29; M1-A31; M1-S29	SPSCAN
			クラス II 組織適合性抗原, β : Y59-D103	HMMER
				HMMER_PFAM

表 3-3

SEQ ID NO: ID	glycopeptide	Amino acid residue	glycan chain, domain, and motif	analysis method and database
5	7499560CD1 593		サイトソル内ドメイン: Q28-S157 膜貫通ドメイン: P10-V27 非サイトソル内ドメイン: M1-G9 クラス II histocompatibil PF00969: T12-V54, G56-Q91, M95-K144, R30-Y64 MIC クラス II 抗原鎖 前駆体 シグナル 組織適合性 膜貫通 糖タンパク質 PD009130; M2-I58 MIC II クラス 前駆体 シグナル鎖 β 抗原組織適合性 膜貫通 PD000328; Y59-D103 クラス II 組織適合性 抗原 DM00134 P04440 4-121: L4-R121 P15982 7-128: L4-R121 B60404 7-128: L4-R121 P15983 4-125: L4-R121 細胞接着配列: R121-D123 潜在的リン酸化部位: S90 T50 Y38 Y59 潜在的グリコシル化部位: N48 Signal_cleavage: M1-G42 シグナルペプチド: M25-T39; M25-G42 スドメイン (SCR リピート): C111-C164, C171-C225, C47-C107, C355-C405, C232-C286, C473-C527, C413-C466, C293-C346 サイトソル内ドメイン: M1-R19 膜貫通ドメイン: L20-G42 非サイトソル内ドメイン: E43-E593 補体因子 H 関連タンパク質 PD012214; E170-S231 因子 補体 前駆体 シグナル タンパク質 糖タンパク質 リピート SUSHI H 関連 血漿 PD004248; C47-F115 補体因子 H 前駆体 第二経路 血漿 糖タンパク質 リピート PD020831; V347-K408 タンパク質 F36H2.3A F36H2.3B PD004794; F373-S522 補体因子 H リピート DM00010 I56100 21-88: T45-F113 Q03591 21-86: T45-C111 G35070 25-91: T45-C111 Q03591 88-144: F113-T167	TMMMER BLIMPS_PFAM BLAST_PRODOM BLAST_PRODOM BLAST_PRODOM BLAST_DOMO MOTIFS MOTIFS MOTIFS SPSCAN HMMER HMMER_PFAM TMMMER BLAST_PRODOM BLAST_PRODOM BLAST_PRODOM BLAST_DOMO

表 3-4

SEQ ID NO:	inocyte 抗体 ID	アミノ酸 残基数	シグネチャ配列、ドメインおよびモチーフ	分析方法及びデータベース
6	70243658CD158	1	潜在的リン酸化部位: S152 S188 S198 S239 S369 T45 T95 T104 T167 T224 T285 T406 T499 T515 Y389 Y472 Y554 潜在的グリコシル化部位: N150 N424 無機ピロフオスファターゼシグネチャ: M1-L41 C5A アナフィラトキシン走化性受容体 C5AR CD88 抗原 G タンパク質 共役 膜貫通 糖タンパク質 走化性 PD051119: M1-K28	MOTIFS MOTIFS PROFILESSCAN BLAST_PROBDM
7	7500196CD1162		潜在的リン酸化部位: T7 T24 T32 潜在的グリコシル化部位: N5 Signal_cleavage: M1-G30 シグナルペプチド: M6-G28, M6-G30, M6-A35 サイトソール内ドメイン: M1-Q8, RL34-P162 膜貫通ドメイン: V9-L31, V111-L133 非サイトソール内ドメイン: E32-G110 ロイシンジッパーパターン: L17-L38 潜在的リン酸化部位: S72 S98 潜在的グリコシル化部位: N75 N93	MOTIFS MOTIFS SPSCAN HMMER TMHMMER
8	7500351CD1277		Signal_cleavage: M1-N17 シグナルペプチド: M1-A19 免疫グロブリン ドメイン: P124-V188 サイトソール内ドメイン: V225-W277 膜貫通ドメイン: W202-V224; 非サイトソール内ドメイン: M1-H201 前駆体 シグナル T細胞 糖タンパク質 表面 免疫グロブリンフォールド 抗原 膜貫通 多重遺伝子 PD004615: P21-K107 免疫グロブリン DM00001 P15812 202-285: E113-D197	MOTIFS SPSCAN HMMER HMMER_PFAM TMHMMER BLAST_PROBDM BLAST_DOMO

表 3-5

SEQ ID NO.	Incyte ポリペプチド ID	アミノ酸残基数	シグネチャ配列、ドメインおよびモチーフ	分析方法及びデータベース
9	7500923CD1 242		クラス I 組織適合性抗原 DM00083P15812 2-192: P21-S104 免疫グロブリン DM00001P29016 206-289: E113-D197 免疫グロブリン DM00001P15813 206-289: E113-D197 潜在的リン酸化部位: S185 S234 T155 Signal_cleavage: M1-A49 シグナルペプチド: M25-A44, M25-G46, M25-A49 免疫グロブリン ドメイン: G68-A125 サイトソール内ドメイン: M1-K19 膜貫通ドメイン: L20-L42 非サイトソール内ドメイン: L43-E242 細胞表面糖タンパク質 GP42 前駆体シグナル GPI アンカー膜 PD116497: V35-L155 BLAST_PROD0M	BLAST_DOMO BLAST_DOMO BLAST_DOMO MOTIFS SPSCAN HMIMER HMIMER_PFAM TMIMER
10	2258292CD1 1027		IG-様 C2-型ドメイン DM03427P12314 189-331: F52-G145 IG-様 C2-型ドメイン DM03427P4847 199-336: E50-A150 IG-様 C2-型ドメイン DM03427P2615 198-339: F52-A150 IG-様 C2-型ドメイン DM03427P23505 16-198: E50-L155 潜在的リン酸化部位: S6 S183 T17 T112 T167 T236 R3H ドメイン: Q214-N264 タンパク質 リビートシグナル 前駆体 プリオン糖タンパク質 核内 GPI アンカー 脳主要 PD001091: G534-P770 潜在的リン酸化部位: S18 S54 S74 S86 S96 S146 S153 S158 S179 S320 S361 S365 S380 S387 S390 S415 S445 S484 S639 S997 T43 T91 T187 T198 T257 T367 T382 T408 T930 T932 潜在的グリコシル化部位: N37 N42 N264 N541 N711 N868 N995 N1001 Signal_cleavage: M1-G30 シグナルペプチド: M6-G28, M6-G30, M6-A35	BLAST_DOMO BLAST_DOMO BLAST_DOMO BLAST_DOMO MOTIFS HMIMER_PFAM BLAST_PROD0M MOTIFS SPSCAN HMIMER
11	7500283CD1 162			

表 3-6

SEQ ID NO:	Incyte 保 リペプチド ID	アミノ酸 残基数	シグネチャ配列、ドメインおよびモチーフ	分析方法及びデータベース
12	7600263CD1 339		サイトゾル内ドメイン: M1-R8, R134-P162 膜貫通ドメイン: V9-L31, V111-L133 非サイトゾル内ドメイン: E32-G110 ロイシンジッパーパターン: L17-L38 潜在的リン酸化部位: S72 S98 N75 N93 タンパク質 ペプチドグリカン 認識前駆体 シグナル 腫関連 CSP PD090970: C176-K282, P19-N121	TMHMMER MOTIFS MOTIFS MOTIFS BLAST_PRODOM
13	7503686CD1 265		潜在的リン酸化部位: S23 S133 S149 S183 T162 Y240 潜在的グリコシル化部位: N111 signal_cleavage: M1-A61 シグナルペプチド: M46-A61 免疫グロブリン ドメイン: G120-I200 (E-value= 0.0013)	MOTIFS MOTIFS SPSCAN HMMER HMMER_PFAM
14	7504791CD1 82		免疫グロブリン DM00001: P01833 41-120: H128-G201; P15083 41-120: H128-F208; P01832 28-125: G120-G201; S4884 41-120: H128-G201 潜在的リン酸化部位: S39 S108 S189 S251 T6 T38 T88 Y24 潜在的グリコシル化部位: F89N212 Signal_cleavage: M1-C32 シグナルペプチド: M1-L34 サイトゾル内ドメイン: W33-T82; 膜貫通ドメイン: H10-C32; 非サイトゾル内ド メイン: M1-C9 LST1 (白血球特異的転写物 1) PD014831: R46-T82 潜在的リン酸化部位: S3 S44 T65 Y11	MOTIFS MOTIFS SPSCAN HMMER TMHMMER BLAST_PRODOM MOTIFS

10

20

30

【表 3 - 7】

表 3-7

SBQ ID NO: ID	glycyl peptide 残基数	アミノ酸	シグネチャ配列、ドメインおよびモチーフ	分析方法及びデータベース
15	7504885CD1240		ロイシンジッパーパターン: L20-L41 Signal_cleavage: M1-T13 シグナルペプチド: M1-L18, M1-P20 スカベンジャー受容体システインリッチドメイン: V140-S239, A34-E132 スベラクト (Speract) 受容体リピータンパク質ドメインタンパク質 BL00420: C228-C238, D35-Y89 スベラクト(スカベンジャー)受容体 リピートしたドメインシグネチャ: N122-W202, D19-W95 スベラクト受容体シグネチャ PR00258: V31-K47, G156-G167, A65-G75, D204-C218, D227-S239 抗原前駆体シグナル M130 膜貫通 糖タンパク質 リピート 変異体 細胞質タンパク質 PD000767: V140-S239, G36-C131 前駆体 シグナル受容体 ペプチド 精子 活性化 スベラクト リピート 糖タンパク質 I-架橋 C06B8.7 PD002499: D136-H220, S25-P134 スベラクト受容体アミノ末端 DM00148 P30205 I145-1256 : T127-G240, E29-C131; JC436 452-565: L137-S239, E21-C131; P30205 926-1031: D133-S239, V31-D133; P30205 971-476: D133-S239, V31-D133 潜在的リン酸化部位: S61 S102 S147 S160 S187 S209 T80 T107 T127 T229 スベラクト受容体 リピートしたドメインシグネチャ: G142-G179	MOTIFS SPSCAN HMMER HMMER_PFAM BLIMPS_BLOCKS PROFILESCAN BLIMPS_PRINTS BLAST_PRODUM BLAST_PRODUM BLAST_PRODUM BLAST_PRODUM
16	7504915CD1265		Signal_cleavage: M1-S15 シグナルペプチド: M1-G18 スシドメイン(SCR リピート): C143-C197, C82-C136, C22-C75, C201-C262 因子前駆体 シグナル 補体 糖タンパク質 リピート SUSHI タンパク質 血漿 H 関連 PD004223: L198-C262 補体制御血漿タンパク質 PD101668: C49-W191	MOTIFS MOTIFS SPSCAN HMMER HMMER_PFAM BLAST_PRODUM BLAST_PRODUM

10

20

30

【表 3 - 8】

表 3-8

SEQ ID NO:	Incyte ポリペプチド ID	アミノ酸残基数	シグネチャ配列、ドメインおよびモチーフ	分析方法及びデータベース
17	7504926CD1 77		補体因子 H リポート DM00010 I56100 207-267; K142-I203; Q03591 207-267; K142-I203; I56100 144-205; D79-G141; Q03591 146-205; S81-G141 潜在的リン酸化部位: S63 S113 S166 S242 T38 T140 T183 T218 T247 T251 潜在的グリコシル化部位: N61 N129 Signal_cleavage: M1-A21 シグナルペプチド: M6-A21, M6-E23, M1-A21, M1-T24, M1-C30, M1-E23 潜在的リン酸化部位: S2 Signal_cleavage: M1-S18 シグナルペプチド: M1-S18 サイトゾル内ドメイン: M269-P278; 膜貫通ドメイン: I246-Y268; 非サイトゾル内ドメイン: M1-S245 前駆体 シグナル T細胞 糖タンパク質 表面 免疫グロブリン フォールド抗原膜貫通 多重伝子 PD004615; P14-Q200 クラス I 組織適合性抗原 DM00083 P29016 2-196; L2-A197; S47246 2-196; L2-A197; P29017 2-197; L2-K196; P06126 2-195; L2-A197 潜在的リン酸化部位: S77 S143 S273 T175 潜在的グリコシル化部位: N38 N75 N146 Signal_cleavage: M1-A61	BLAST_DOMO MOTIFS MOTIFS SPSCAN HMMER MOTIFS SPSCAN HMMER TMMMER BLAST_PRODOR BLAST_DOMO MOTIFS MOTIFS SPSCAN HMMER BLAST_DOMO MOTIFS
18	7505049CD1 278		シグナルペプチド: M46-A61 免疫グロブリン DM00001 P01833 41-120; H128-G201; P15083 41-120; H128-F208; P01832 28-125; G120-G201; S4884 41-120; H128-G201 潜在的リン酸化部位: S39 S108 S189 S251 T6 T38 T88 T300 Y24	
19	90034212CD 308 1			

10

20

30

【表 3 - 9】

表 3-9

SEQ ID NO:	IncYTE ポリペプチド ID	アミノ酸残基数	シグネチャ配列、ドメインおよびモチーフ	分析方法及びデータベース
20	7503683CD1184		潜在的グリコシル化部位: N212 Signal_cleavage: M1-A61 シグナルペプチド: M46-A61, M46-P63 免疫グロブリン DM00001 P01833 41-120: H128-V183; P01832 28-125: G120-T184; S4884 41-120: H128-V183	MOTIFS SPSCAN HMMER BLAST_DOMO
21	71616365CD226		潜在的リン酸化部位: S39 S108 T6 T38 T88 Y24 Signal_cleavage: M1-A27 シグナルペプチド: M3-I24, M3-A27, M3-L29, M1-A27 C1q ドメイン: A96-L220 コラーゲントリプルヘリックスリピート (20 コピー) : G33-T92 サイトゾル内ドメイン: M1-K4; 膜貫通ドメイン: I5-A27; 非サイトゾル内ドメイン: Q28-A226 C1q ドメインタンパク質 BL01113: A36-K62, T112-A147, Q179-Q198, S213-P222 補体 C1q ドメインシグネチャ PR00007: P106-K132, F133-N152, Q179-T200, A211-F221 前駆体 シグナル コラーゲン リピート ヒドロキシル化 糖タンパク質 血漿 細胞外 マトリックス PD002992: A96-L220 コラーゲン α 前駆体 鎖 反復 シグナル 結合 組織 細胞外 マトリックス PD000007: G33-D88	MOTIFS SPSCAN HMMER HMMER_PFAM HMMER_PFAM TMEHMER BLIMPS_BLOCKS BLIMPS_BLOCKS BLAST_PRODUM BLAST_PRODUM

【 0 4 3 1 】

10

20

30

【表 3 - 1 0】

表 3-10

SEQ ID NO:	Incycle ポリペプチド ID	アミノ酸残基数	シグネチャ配列、ドメインおよびモチーフ	分析方法及びデータベース
			プロコラーゲン α 3 IV 鎖 前駆体 細胞外基質 結合組織 リポート 水酸化 糖タンパク質 基底膜 コラーゲン シグナル 細胞接着 選択的スプライシング多型 PD051097; P34-P82	BLAST_PRODOM
			C10 ドメイン DM00777 P02746 70-250 G45-A226; S49158 70-253; G45-E225; O02105 71-245; G45-D223; P02747 104-244; P80-D223 Clq ドメインシグネチャ: F115-Y145 潜在的リン酸化部位: S130 S148 T92 T112 T134 T169 T200 Signal_cleavage: M1-S18 シグナルペプチド: M1-S18 サイトゾル内ドメイン: M231-P240; 膜貫通ドメイン: I208-Y230; 非サイトゾル内ドメイン: M1-S207 IG ドメイン P124-V188 免疫グロブリン L143-Q150, L184-Y201 前駆体 シグナル T細胞 糖タンパク質 表面 免疫グロブリンフォールド 抗原膜貫通 多重遺伝子 PD004615; P14-G119 クラス I 組織適合性抗原 DM00083 P29016 2-196; L2-K109; S47246 2-196; L2-K109 免疫グロブリン DM00001 P29016 206-289; E113-D197; P15812 202-285; E113-D197 潜在的リン酸化部位: S77 S185 S191 S235 潜在的グリコシル化部位: F93N38 N75 N165 Signal_cleavage: M1-G17 シグナルペプチド: M1-G17, M1-G19, M1-G20, M1-A18, M1-A23	BLAST_DOMO MOTIFS MOTIFS SPSCAN HMMER TMHMMER HMMER_PFAM BLIMPS_BLOCKS BLAST_PRODOM BLAST_DOMO BLAST_DOMO MOTIFS MOTIFS SPSCAN HMMER
22	7505047CD1240			
23	7505779CD1224			

10

20

30

【表 3 - 1 1】

表 3-11

SEQ ID NO:	Incyte ポリペプチド ID	アミノ酸残基数	シグネチャ配列、ドメインおよびモチーフ	分析方法及びデータベース
24	7503782CD1.330		クラス II 組織適合性抗原、β : E26-T109 免疫グロブリン ドメイン : R128-V194 免疫グロブリンと主要組織適合性複合体タンパク質 BL00290 : M132-K154, Y190-W207 免疫グロブリンと主要組織適合性複合体タンパク質シグネチャ : D171-W221 MHC クラス II 組織適合性 座位 抗原 前駆体 シグナル 鎖β PD002846: C15-N110 MHC クラス前駆体 シグナル 抗原 I 鎖 組織適合性 糖タンパク質 膜貫通 PD000014: R111-W207 複合体 ; 組織適合性 ; 主要 ; 免疫グロブリン ; DM08805 P28068 I-114; M1-P115; P35737 I-114; L7-P115 免疫グロブリン DM00001 P28068 I16-202; S116-I203; P35737 I16-201; S116-P202 免疫グロブリンと主要組織適合性複合体タンパク質シグネチャ : Y190-HI96 潜在的リン酸化部位 : S185 T36 T52 T109 T148 潜在的グリコシル化部位 : F170N110 N216 細菌感染抵抗性タンパク質 (Natural resistance-associated macrophage pro) : A84-L243 サイトゾル内ドメイン : G152-R180, M236-N241, T297-G330 膜貫通ドメイン : G129-A151, V181-F198, V213-L235, G242-Y264, P274-W296 非サイトゾル内ドメイン : M1-G128, R199-N212, V265-H273 細菌感染抵抗性タンパク質シグネチャ PR00447: G152-L171, R180-V197, N212-S231 タンパク質 輸送 膜貫通 細菌感染抵抗性 糖タンパク質 N-ramp 輸送体 耐性 PD001861: A97-M167	HMER_PFAM HMER_PFAM BLIMPS_BLOCKS PROFILESCAN BLAST_PRODOM BLAST_PRODOM BLAST_DOMO BLAST_DOMO MOTIFS MOTIFS MOTIFS HMER_PFAM TMHMMER BLIMPS_PRINTS BLAST_PRODOM

10

20

30

【表 3 - 1 2】

表 3-12

SEQ ID NO:	Incyte ポリペプチド ID	アミノ酸残基数	シグネチャ配列、ドメインおよびモチーフ	分析方法及びデータベース
25	7500207CD1 198		自然 (Natural) N-ramp 輸送 膜貫通 タンパク質 耐性関連 (Resistance-associated) N-ramp 輸送 膜貫通 タンパク質 耐性関連 PD005040: L244-E321	BLAST_PRODOM
			細菌感染抵抗性タンパク質 N-ramp 輸送 膜貫通 タンパク質 多型 PD009944: M1-F53	BLAST_PRODOM
26	7500208CD1 245		タンパク質 輸送 膜貫通 自然 マクロファージ 耐性関連 糖タンパク質 N-ramp 耐性関連 PD002480: E168-L243	BLAST_PRODOM
			耐性; MALVOLIO; マクロファージ; 自然; DM01594 P49279 49-492; M68-P272; I48693 46-489; M68-H273; P51027 54-497; L82-L271; P49282 61-503; A84-L271	BLAST_DOMO
25	7500207CD1 198		潜在的リン酸化部位: S40 S54 S106	MOTIFS
			潜在的グリコシル化部位: N104 N118	MOTIFS
26	7500208CD1 245		Signal_cleavage: M1-A23	SPSCAN
			シグナルペプチド: M3-A23, M1-A23, M3-K27	HMMER
26	7500208CD1 245		サイトソール内ドメイン: M1-A6	TMHMMER
			膜貫通ドメイン: R7-H26	
26	7500208CD1 245		非サイトソール内ドメイン: K27-G198	
			リボソームタンパク質 L33 シグネチャ: A104-P154	PROF ILESCAN
26	7500208CD1 245		C 42C1.9 タンパク質 KE04P PD156143: K27-F149, S24-R38	BLAST_PRODOM
			KE04P PD182878: G150-G198	BLAST_PRODOM
26	7500208CD1 245		潜在的リン酸化部位: S95 S123 T61 T90 T171 Y114	MOTIFS
			潜在的グリコシル化部位: N2	MOTIFS
26	7500208CD1 245		Signal_cleavage: M1-A66	SPSCAN
			シグナルペプチド: M3-A23, M1-A23, M3-K27	HMMER

10

20

30

【表 3 - 1 3】

表 3-13

SEQ ID NO: ID	アミノ酸残基数	シグネチャ配列、ドメインおよびモチーフ	分析方法及びデータベース
27	7500313CD1 289	<p>サイトソル内ドメイン: M1-A6; 膜貫通ドメイン: R7-H26; 非サイトソル内ドメイン: K27-G245 リボソームタンパク質 L33 シグネチャ: A151-P201 C42C1.9 タンパク質 KE04P PDI56143; V64-F196, S24-T70 KE04P PD182878; G197-G245 S142 S170 T60 T108 T137 T218 Y161 潜在的グリコシル化部位: F196N2 Signal_cleavage: M1-N17 シグナルペプチド: M1-A19 免疫グロブリン ドメイン: P124-V188 サイトソル内ドメイン: D227-W289,膜貫通ドメイン: G204-V226; 非サイトソル内ドメイン: M1-G203 前駆体 シグナル T 細胞 糖タンパク質 表面 免疫グロブリンフォールド抗原膜貫通 多重遺伝子 PD004615; P21-K107 免疫グロブリン DM00001 P15812 202-285; E113-D197; P29016 206-289; E113-D197; P15813 206-289; E113-D197 クラス I 組織適合性抗原 DM00083 P15812 2-192; P21-S104 潜在的リン酸化部位: D232S185 S234 S235 T155 胚中心で発現される転写物 M17 PROTEIN PD093901; Q29-H177</p>	<p>TMHMMER PROF_ILESCAN BLAST_PRODUM BLAST_PRODUM MOTIFS MOTIFS SPSCAN HMMER HMMER_PFAM TMHMMER BLAST_PRODUM BLAST_PRODUM BLAST_PRODUM MOTIFS MOTIFS MOTIFS BLAST_PRODUM</p>
28	1436493CD1 178	<p>潜在的リン酸化部位: S26 S60 S102 S143 T31 T79 T124 Y148 Signal_cleavage: M1-L24 シグナルペプチド: M1-A19 サイトソル内ドメイン: D271-W333;膜貫通ドメイン: G248-V270; 非サイトソル内ドメイン: M1-G247</p>	<p>MOTIFS BLAST_PRODUM MOTIFS BLAST_PRODUM MOTIFS BLAST_PRODUM MOTIFS SPSCAN HMMER TMHMMER</p>
29	7501101CD1 333	<p>潜在的リン酸化部位: S26 S60 S102 S143 T31 T79 T124 Y148 Signal_cleavage: M1-L24 シグナルペプチド: M1-A19 サイトソル内ドメイン: D271-W333;膜貫通ドメイン: G248-V270; 非サイトソル内ドメイン: M1-G247</p>	<p>MOTIFS BLAST_PRODUM MOTIFS BLAST_PRODUM MOTIFS BLAST_PRODUM MOTIFS SPSCAN HMMER TMHMMER</p>

【表 3 - 1 4】

表 3-14

SEQ ID NO:	incyte ポリペプチド ID	アミノ酸残基数	シグネチャ配列、ドメインおよびモチーフ	分析方法及びデータベース
30	7504972CD1116		前駆体 シグナル T細胞 糖タンパク質 表面 免疫グロブリンフォールド 抗原	BLAST_PRODOM
			膜貫通 多重遺伝子 PD004615: A30-K206	BLAST_DOMO
			クラス I 組織適合性抗原 DM00083	
			D236P15812[2-192: L2-S203; P29017[2-197: A30-E202; P29016[2-196: S26-S203; P06126[2-195: E32-S203	
			潜在的リン酸化部位: S36 S86 S278 S279 T73	MOTIFS
			潜在的グリコシル化部位: N47 N84	MOTIFS
			スンドメイン(SCR リピート):	BLIMPS_PFAM
			PF00084: W64-C73	
			B144 アイソフォーム LST1 特異的白血球転写物 LST-1	BLAST_PRODOM
			PD014831: E79-T116	
31	7511788CD1427		LST-1 LST1 アイソフォーム	BLAST_PRODOM
			PD026827: I49-E79	MOTIFS
			潜在的リン酸化部位: F240S46 T99	
			細菌感染抵抗性タンパク質: I78-K265, G266-L340	HMMER_PFAM
			NRAMP ファミリー Mn2+/Fe2+輸送体: R56-M333	HMMER_TIGRFA M
			サイトゾル内ドメイン: M1-K57, C106-R167, A217-R277, M333-N338, T394-G427	TMHMMER
			膜貫通ドメイン: L58-L73, O83-L105, I168-L187, A197-V216, V278-F295, V310-L332, G339-V361, P371-W393	
			非サイトゾル内ドメイン: D74-L82, D188-E196, R296-N309, V362-H370	
			細菌感染抵抗性タンパク質シグネチャ PR00447: L137-L163, R167-F186, L192-E213, A244-F267, N309-S328	BLIMPS_PRINTS
			タンパク質輸送 膜貫通 自然 マクロファージ 耐性関連 糖タンパク質 N-ramp 輸送体 耐性 PD001861: S54-K265	BLAST_PRODOM

10

20

30

【表 3 - 1 5】

表 3-15

SEQ ID NO: ID	Incyte ポリペプチド ID	アミノ酸残基数	シグネチャ配列、ドメインおよびモチーフ	分析方法及びデータベース
32	7504642CD181		自然 マクロファージ タンパク質 耐性関連 N-ramp 輸送 膜貫通 糖タンパク質 多型 PD000944: M1-F53	BLAST_PRODOM
			細菌感染抵抗性タンパク質 N-ramp 輸送 膜貫通 糖タンパク質 多型 PD000944: M1-F53	BLAST_PRODOM
33	7504643CD1209		タンパク質 輸送 膜貫通 自然 マクロファージ 耐性関連 糖タンパク質 N-ramp 耐性関連 PD002480: K265-L340	BLAST_PRODOM
			自然 耐性 マクロファージ MALVOLIO DM01594 I4869346-489: G51-K265 G235-H370; P4928261-503: F53-K265 G235-L368; P5102754-497: P50-F295 G235-L368; P4927949-492: K49-K265 G235-F369 潜在的リン酸化部位: S40 S54 T117 T177	BLAST_DOMO
32	7504642CD181		Signal_cleavage: M1-A23	MOTIFS
			シグナルペプチド: M1-1A23, M3-A23, M3-K27 サイトソル内ドメイン: M1-A6, V64-K81; 膜貫通ドメイン: R7-H26, A41-S63; D258Nnon- サイトソル内ドメイン: K27-G40 C 42C1.9 タンパク質 KE04P PD156143: S24-O65 潜在的リン酸化部位: S79 T60 潜在的グリコシル化部位: F222N2	SPSCAN HMMER TMHMMER
33	7504643CD1209		Signal_cleavage: M1-A23	MOTIFS
			シグナルペプチド: M1-A23, M3-A23, M3-K27 サイトソル内ドメイン: M1-A6; 膜貫通ドメイン: R7-H26; 非サイトソル内ドメイン: K27-N209 プロヒビチン (Prohibitin) ホモログドメイン: A23-S189	BLAST_PRODOM MOTIFS MOTIFS SPSCAN HMMER TMHMMER HMMER_SMART

10

20

30

【表 3 - 1 6】

表 3-16

SEQ ID NO:	Incyte ポリペプチド ID	アミノ酸残基数	シグネチャ配列、ドメインおよびモチーフ	分析方法及びデータベース
34	7504745CD181		C42C1.9 タンパク質 KE04P PDI56143; S24-E191 タンパク質 secE/sec61- γ シグネチャ: M161-S189 潜在的リン酸化部位: F270S189 S195 T60 T134 潜在的グリコシル化部位: N2 N108 Signal_cleavage: M1-A23 シグナルペプチド: M3-A23 シグナルペプチド: M1-A23 シグナルペプチド: M3-K27 サイトゾル内ドメイン: M1-A6, V64-K81; 膜貫通ドメイン: R7-H26, A41-S63; 非サイトゾル内ドメイン: K27-G40 G-タンパク質 α サブユニット PR00442: K27-Y36 潜在的リン酸化部位: S79 T60 潜在的グリコシル化部位: F247N2	BLAST_PRODOM MOTIFS MOTIFS MOTIFS SPSCAN HMHER HMHER HMHER TMHMER BLIMPS_PRINTS MOTIFS MOTIFS
35	7504746CD1209		Signal_cleavage: M1-A23 シグナルペプチド: M3-A23 シグナルペプチド: M1-A23 シグナルペプチド: M3-K27 プロヒビチンホモログ: A23-S189 サイトゾル内ドメイン: M1-A6; 膜貫通ドメイン: R7-H26; 非サイトゾル内ドメイン: K27-N209 G-タンパク質 α サブユニット PR00442: K27-Y36 タンパク質 secE/sec61- γ シグネチャ: M161-S189 潜在的リン酸化部位: S189 S195 T60 T134 潜在的グリコシル化部位: N2 N108	SPSCAN HMHER HMHER HMHER HMHER_SMRT TMHMER BLIMPS_PRINTS MOTIFS MOTIFS MOTIFS

10

20

30

【表 4 - 1】

表 4-1

ボリヌクレオチド SEQ ID NO/ Incyte ID/配列 長	配列断片
36/7499453CB1/1596	1-1596, 255-766, 255-775, 255-776, 448-991
37/7499815CB1/1468	1-72, 1-149, 1-240, 3-309, 3-329, 181-333, 331-669, 331-725, 331-981, 334-705, 334-719, 348-618, 367-899, 373-989, 378-1065, 397-1075, 405-861, 442-995, 444-737, 455-923, 479-1089, 488-986, 500-1020, 513-867, 517-841, 529-1176, 543-1197, 547-1073, 548-970, 554-1132, 557-733, 557-895, 563-1226, 599-734, 605-1089, 617-893, 617-999, 636-1195, 637-887, 639-1138, 647-1268, 663-1130, 675-1336, 681-1058, 684-1280, 689-1193, 698-1148, 721-1127, 742-1406, 758-1367, 762-1035, 776-1146, 781-1145, 787-1228, 793-1280, 818-1403, 820-1300, 822-1426, 839-1283, 866-1332, 879-1468, 882-1415, 897-1466, 909-1173, 941-1038
38/3165346CB1/1954	1-648, 78-218, 88-347, 90-218, 93-643, 98-202, 99-648, 237-1874, 291-382, 291-526, 329-501, 906-1029, 906-1067, 906-1071, 906-1087, 906-1089, 906-1097, 906-1111, 906-1113, 906-1146, 906-1159, 906-1160, 906-1403, 906-1438, 906-1454, 909-1131, 972-1269, 973-1232, 998-1243, 1020-1179, 1026-1241, 1044-1227, 1046-1828, 1078-1335, 1102-1246, 1122-1353, 1122-1872, 1127-1311, 1148-1427, 1168-1391, 1169-1399, 1191-1523, 1191-1954, 1196-1863, 1237-1796, 1275-1495, 1289-1857, 1476-1863, 1508-1729, 1508-1742, 1508-1873
39/5092954CB1/1169	1-127, 1-241, 1-408, 1-452, 1-530, 1-636, 1-663, 1-999, 2-384, 14-298, 23-408, 24-288, 24-712, 69-527, 110-713, 138-339, 181-870, 239-805, 266-977, 280-735, 321-942, 327-587, 327-867, 349-806, 430-809, 449-977, 467-1166, 483-807, 492-807, 609-1157, 611-1073, 664-1161, 704-968, 721-1169, 725-968
40/7499560CB1/2830	1-682, 24-2830, 66-639, 102-471, 1170-1685, 2331-2670
41/70243658CB1/685	1-193, 56-191, 56-193, 57-190, 58-193, 60-183, 60-685, 81-193, 126-193
42/7500196CB1/891	1-838, 1-852, 1-880, 2-882, 10-880, 24-195, 194-821, 199-752, 200-814, 200-864, 203-461, 206-832, 214-881, 215-799, 218-803, 222-283, 223-283, 228-283, 231-283, 236-283, 240-283, 240-509, 240-883, 243-283, 247-283, 250-283, 253-478, 265-520, 272-337, 274-863, 276-336, 276-337, 282-456, 282-564, 290-560, 294-336, 294-337, 294-839, 294-891, 297-870, 301-838, 304-578, 307-792, 323-594, 328-889, 329-891, 335-607, 336-566, 356-890, 363-891, 375-498, 401-891, 408-890, 408-891, 409-891, 411-876, 412-882, 413-876, 421-875, 423-682, 432-891, 433-881, 433-885, 437-876, 439-891, 443-877, 446-877, 453-881, 460-656, 460-711, 460-723, 462-881, 464-691, 472-890, 479-891, 488-891, 494-747, 521-843, 526-891, 532-872, 542-827, 556-891, 583-891, 585-803, 789-891

【 0 4 3 9 】

10

20

30

表 4-2

ポリヌクレオチド SEQ ID NO/ Incyte ID/配列 長	配列断片
43/7500351CBI/1049	1-314, 3-1040, 22-444, 32-482, 163-667, 177-697, 181-753, 191-714, 192-732, 206-805, 213-755, 220-730, 232-477, 243-537, 258-752, 265-805, 269-518, 270-547, 308-484, 311-440, 311-547, 323-564, 349-620, 363-623, 371-620, 399-605, 402-657, 416-805, 418-704, 438-681, 457-630, 465-591, 565-805, 609-805, 816-1049, 865-1031
44/7500923CBI/1881	1-692, 1-1881, 330-746, 338-670, 339-959, 352-898, 353-882, 359-670, 362-882, 362-898, 364-896, 381-812, 404-872, 414-898, 437-848, 437-898, 470-1088, 471-898, 482-872, 487-872, 515-810, 529-1021, 534-1089, 560-971, 560-973, 560-1089, 560-1113, 582-1089, 591-1010, 599-1047, 613-1078, 616-972, 633-973, 656-1164, 661-907, 663-916, 663-1132, 671-1066, 671-1074, 671-1089, 671-1103, 671-1114, 671-1143, 671-1234, 671-1240, 672-1083, 672-1089, 672-1156, 672-1195, 674-1089, 698-1210, 731-1014, 747-1227, 747-1310, 748-1215, 748-1264, 771-1089, 798-1066, 801-1341, 831-1227, 843-1443, 861-1314, 866-1443, 872-1405, 873-1405, 873-1440, 886-1443, 887-1405, 893-1405, 894-1340, 897-1215, 899-1089, 899-1276, 899-1301, 899-1314, 899-1334, 899-1341, 899-1360, 899-1396, 899-1405, 899-1416, 899-1443, 901-1405, 907-1405, 908-1405, 911-1442, 911-1466, 917-1443, 947-1341, 958-1236, 963-1522, 972-1405, 974-1443, 977-1512, 977-1522, 980-1522, 989-1512, 990-1340, 990-1405, 992-1443, 994-1443, 1040-1522, 1053-1512, 1063-1550, 1090-1405, 1090-1443, 1090-1506, 1090-1512, 1090-1522, 1090-1527, 1090-1564, 1090-1596, 1090-1598, 1090-1602, 1090-1637, 1091-1674, 1091-1720, 1092-1405, 1094-1512, 1112-1522, 1122-1598, 1152-1512, 1152-1550, 1155-1727, 1200-1598, 1225-1727, 1231-1598, 1257-1869, 1270-1680, 1275-1717, 1306-1825, 1362-1841, 1406-1881, 1410-1867, 1445-1793, 1446-1881, 1500-1727, 1554-1752, 1656-1723
45/2258292CBI/3829	1-129, 1-503, 130-445, 276-925, 276-937, 278-853, 302-531, 302-629, 313-735, 382-1098, 387-1098, 405-1100, 473-781, 474-747, 564-1119, 711-1293, 831-1169, 853-1448, 887-1399, 1041-1383, 1047-1310, 1051-1485, 1089-1746, 1117-1384, 1128-1475, 1152-1818, 1197-1746, 1204-1619, 1217-1474, 1222-1485, 1248-1553, 1262-1454, 1296-1676, 1305-1698, 1390-1834, 1396-1698, 1417-1745, 1505-1690, 1532-1666, 1553-1846, 1561-1904, 1588-1698, 1588-1954, 1706-2440, 1773-2353, 1788-2336, 1793-2343, 1795-2300, 1803-2423, 1827-2093, 1827-2313, 1834-2343, 1882-2234, 1904-2510, 1914-2544, 1934-2321, 2009-2622, 2015-2258, 2037-2673, 2080-2672, 2188-2745, 2209-2637, 2216-2629, 2231-2882, 2290-2951, 2342-2627, 2356-2593, 2454-2744, 2535-2830, 2570-2839, 2577-3102, 2588-3135, 2664-3093, 2790-3251, 2840-3090, 2840-3314, 2909-3406, 2979-3461, 2980-3127, 3028-3309, 3121-3421, 3219-3448, 3257-3450, 3264-3524, 3273-3511, 3273-3829, 3281-3477, 3281-3559, 3296-3473, 3321-3554

【表 4 - 3】

表 4-3

ボリヌクレオチド SEQ ID NO/ Incyte ID/配列 長	配列断片
46/7500283CB1/925	1-729, 1-797, 1-848, 1-880, 1-881, 17-580, 44-879, 222-283, 229-865, 276-337, 325-568, 432-877, 446-877, 451-606, 508-785, 687-925, 689-925
47/7600263CB1/1474	1-463, 1-1474, 396-1034, 705-808, 1176-1279
48/7503686CB1/1489	1-606, 1-762, 1-1450, 1-1489, 40-275, 40-542, 61-820, 61-831, 61-858, 61-908, 64-687, 64-736, 64-748, 64-778, 64-789, 64-791, 64-795, 64-852, 64-883, 64-884, 64-885, 64-892, 64-894, 64-895, 64-913, 64-949, 64-954, 64-972, 64-1025, 65-852, 66-891, 67-734, 67-770, 67-792, 67-800, 537-1447, 562-1446, 586-1446, 593-1447, 612-1447, 614-1447, 631-1447, 633-1447, 639-1447, 660-1442, 693-1446, 736-882, 945-1447, 1031-1450, 1048-1219, 1215-1408
49/7504791CB1/672	1-281, 1-329, 1-672, 11-236, 23-259, 42-270, 50-196, 96-308, 96-321, 97-308, 143-526, 187-331, 222-486, 331-526, 388-526, 389-525
50/7504885CB1/1567	1-298, 1-552, 1-627, 1-646, 1-647, 1-650, 1-657, 1-674, 1-675, 1-696, 1-701, 1-729, 1-744, 1-759, 1-764, 1-786, 1-815, 1-864, 4-691, 4-1540, 6-849, 7-673, 19-633, 162-888, 172-580, 191-697, 203-1154, 206-946, 208-412, 223-357, 226-357, 230-708, 283-699, 343-1029, 360-923, 388-600, 388-605, 388-881, 393-674, 402-787, 427-601, 446-659, 491-1139, 516-1043, 523-1114, 528-1241, 536-825, 546-1343, 561-1230, 563-814, 594-1186, 603-1169, 620-1288, 640-1169, 641-1245, 645-733, 645-1288, 652-1005, 664-1279, 671-1288, 681-1271, 706-1215, 709-1274, 714-1288, 728-1339, 739-1540, 746-985, 751-1027, 758-959, 758-1186, 758-1257, 759-1287, 763-1049, 765-1288, 788-1300, 797-1274, 798-1283, 810-1263, 843-1259, 865-1394, 867-1065, 877-1288, 878-1288, 880-1497, 881-1288, 883-1258, 893-1061, 897-1155, 900-1280, 908-1242, 928-1208, 943-1541, 964-1273, 971-1166, 985-1544, 1003-1285, 1053-1305, 1082-1522, 1092-1388, 1101-1254, 1123-1327, 1123-1539, 1123-1540, 1202-1563, 1221-1544, 1222-1567, 1230-1542, 1374-1537, 1375-1549
51/7504915CB1/1136	1-1106, 6-343, 34-133, 65-659, 272-525, 277-622, 344-460, 344-526, 344-549, 344-566, 344-570, 344-580, 344-590, 344-599, 344-603, 344-775, 344-902, 349-585, 359-690, 377-719, 381-1007, 390-525, 391-658, 392-714, 393-794, 395-653, 398-649, 399-958, 403-639, 406-943, 407-735, 408-685, 411-840, 415-682, 417-1010, 420-530, 422-703, 424-683, 425-651, 425-694, 428-671, 428-1083, 430-663, 431-705, 432-920, 437-1075, 439-711, 441-693, 441-699, 451-976, 453-752, 455-1084, 460-702, 460-1056, 463-644, 463-746, 466-737, 467-715, 467-756, 469-729, 470-710, 470-747, 472-752, 473-724, 483-1028, 483-1105, 485-638, 499-981, 500-778, 501-787, 505-1118, 509-1121, 520-1051, 522-1114, 530-767, 531-901, 531-1044, 533-1115, 534-896, 536-1075, 542-1086, 556-858, 559-871, 562-1112, 563-967, 564-1044, 566-968, 573-829, 573-854, 589-837, 589-1040, 590-1126, 593-1044, 604-1108, 607-

10

20

30

【 0 4 4 1 】

【表 4 - 4】

表 4-4

ボリヌクレオチド SEQ ID NO/ Incyte ID/配列 長	配列断片
	1100, 608-818, 620-805, 623-1110, 624-829, 624-1043, 624-1095, 624-1124, 624-1136, 626-675, 626-1109, 628-1050, 629-1114, 634-1099, 641-895, 642-1114, 645-1096, 647-1096, 654-1111, 655-914, 655-918, 655-1091, 659-1090, 664-1096, 664-1097, 665-1098, 666-893, 666-924, 666-1099, 666-1105, 674-789, 674-1114, 676-1091, 677-1096, 677-1114, 678-969, 688-1096, 688-1097, 689-1090, 693-915, 696-878, 697-1099, 699-1097, 699-1123, 701-1096, 705-1114, 709-1084, 710-1090, 711-1122, 713-988, 713-1096, 716-1090, 717-1096, 718-1089, 720-1098, 721-1096, 722-995, 723-1096, 725-1096, 727-1096, 739-1096, 752-1084, 757-964, 764-980, 765-1034, 773-958, 775-1069, 784-1054, 784-1095, 788-1097, 792-1047, 798-1096, 798-1097, 802-1117, 806-1091, 806-1096, 817-1097, 828-1068, 828-1090, 828-1108, 837-1095, 846-1098, 850-1114, 852-1032, 857-1096, 858-1110, 868-1096, 874-1093, 875-1118, 876-1096, 894-1126, 899-1127, 911-1124, 913-1136, 914-1111, 930-1112, 947-1126, 966-1077, 969-1097, 1004-1126
52/7504926CBI/364	1-241, 28-358, 115-364
53/7505049CBI/1546	1-1546, 145-448, 270-739, 271-554, 306-568, 347-592, 354-640, 365-637, 656-873, 737-1198, 751-1203, 767-1214, 810-1183, 814-1087, 814-1229, 817-1217, 845-1229, 856-1203, 866-1005, 907-1084, 965-1196, 968-1221, 972-1132
54/90034212CBI/1376	1-850, 597-1376
55/7503683CBI/998	1-606, 1-762, 1-817, 40-275, 40-542, 61-785, 64-687, 64-736, 64-748, 64-778, 64-789, 64-791, 64-793, 65-793, 67-734, 67-770, 67-792, 67-793, 465-998
56/71616365CBI/1061	1-163, 1-406, 90-352, 105-347, 108-303, 111-345, 119-368, 122-327, 122-368, 123-321, 129-322, 153-383, 198-508, 198-560, 198-656, 198-676, 198-693, 198-705, 198-717, 198-728, 198-741, 198-747, 198-762, 198-768, 198-801, 198-802, 200-745, 208-891, 285-986, 395-979, 396-986, 401-920, 402-886, 407-663, 407-991, 414-544, 415-624, 425-600, 439-667, 463-662, 467-687, 467-816, 467-841, 472-1006, 487-745, 521-845, 523-881, 523-931, 540-989, 547-822, 549-805, 555-804, 555-810, 555-819, 556-762, 560-761, 561-821, 561-826, 561-884, 561-891, 563-786, 568-823, 568-862, 569-1026, 571-991, 575-842, 582-817, 599-888, 602-837, 602-876, 605-825, 605-829, 606-810, 609-983, 610-896, 625-844, 625-911, 627-861, 643-991, 658-885, 671-923, 701-922, 737-1008, 747-934, 773-1015, 789-1061, 823-991, 838-991

10

20

30

【表 4 - 5】

表 4-5

ポリヌクレオチド SEQ ID NO/ Incyte ID/配列 長	配列断片
	57/7505047CBI/1435 1-280, 1-393, 1-397, 1-445, 1-462, 1-469, 1-474, 1-477, 1-494, 1-495, 1-498, 1-505, 1-507, 1-522, 1-528, 1-530, 1-561, 1-564, 1-610, 1-632, 1-646, 1-675, 1-699, 1-706, 1-709, 1-788, 1-807, 1-808, 1-839, 1-857, 1-908, 2-294, 3-1122, 3-1435, 6-535, 12-530, 17-421, 20-561, 22-561, 28-561, 46-595, 64-607, 67-952, 70-607, 85-961, 98-372, 134-330, 138-668, 146-409, 146-415, 146-422, 151-397, 153-408, 160-677, 179-665, 240-792, 285-854, 285-914, 296-806, 336-902, 351-562, 351-864, 390-1072, 391-886, 399-1073, 400-923, 401-627, 428-778, 428-951, 433-1106, 446-891, 454-736, 512-837, 517-779, 518-742, 538-723, 591-1072, 633-1098, 860-1020
	58/7505779CBI/1540 1-32, 1-43, 1-74, 1-86, 1-89, 1-90, 1-98, 1-99, 1-103, 1-108, 1-112, 1-115, 1-118, 1-119, 1-120, 1-121, 1-123, 1-124, 1-129, 1-132, 1-134, 1-135, 1-138, 1-139, 1-142, 1-144, 1-145, 1-146, 1-149, 1-150, 1-151, 1-153, 1-154, 1-155, 1-156, 1-157, 1-158, 1-162, 1-163, 1-164, 1-165, 1-166, 1-167, 1-168, 1-169, 1-170, 1-171, 1-172, 1-173, 1-177, 1-179, 1-180, 1-183, 1-184, 1-185, 1-186, 1-187, 1-188, 1-192, 1-197, 1-198, 1-200, 1-201, 1-202, 1-203, 1-204, 1-206, 1-207, 1-219, 1-222, 1-224, 1-228, 1-233, 1-241, 1-252, 1-253, 1-256, 1-263, 1-305, 1-332, 1-345, 1-351, 1-363, 1-370, 1-375, 1-381, 1-387, 1-394, 1-405, 1-408, 1-411, 1-414, 1-440, 1-445, 1-456, 1-457, 1-464, 1-476, 1-488, 1-502, 1-513, 1-539, 1-543, 1-548, 1-555, 1-624, 1-693, 1-1098, 2-427, 2-488, 3-446, 7-171, 7-446, 13-282, 23-275, 23-279, 45-129, 63-96, 72-335, 73-346, 79-708, 80-329, 100-651, 109-341, 116-428, 118-656, 124-446, 130-427, 133-486, 136-433, 139-379, 139-437, 148-446, 152-637, 154-414, 155-394, 156-272, 156-394, 156-427, 156-446, 156-589, 159-589, 159-652, 163-462, 165-476, 174-436, 188-482, 189-490, 222-431, 223-463, 223-506, 223-547, 238-476, 252-710, 254-505, 259-534, 268-534, 273-710, 294-539, 295-709, 297-610, 301-394, 301-427, 301-589, 301-691, 311-584, 313-553, 314-603, 321-565, 326-560, 334-514, 342-599, 348-604, 353-627, 357-1056, 368-550, 368-643, 384-678, 384-710, 395-682, 396-710, 400-577, 408-692, 421-705, 425-656, 425-696, 426-705, 448-712, 475-652, 477-710, 489-691, 501-710, 503-660, 515-1092, 521-710, 540-753, 544-685, 565-812, 710-886, 710-949, 710-978, 710-979, 710-1029, 710-1034, 710-1091, 710-1094, 710-1095, 710-1098, 710-1109, 710-1169, 712-1100, 718-1095, 718-1098, 719-1058, 723-1098, 725-1098, 727-1015, 728-1002, 728-1098, 728-1102, 729-1095, 730-1098, 734-1109, 736-

10

20

30

【表 4 - 6】

表 4-6

ポリヌクレオチド SEQ ID NO/ Incyte ID/配列 長	配列断片
	1095, 741-1018, 745-1099, 747-1093, 747-1109, 750-1004, 750-1074, 752-1003, 753-997, 755-1013, 769-1056, 774-993, 783-1032, 792-1098, 797-1079, 802-1095, 810-1047, 810-1099, 815-1094, 831-1093, 839-1085, 840-1098, 842-1085, 860-1044, 860-1047, 872-1098, 874-1098, 878-1098, 886-1095, 903-1109, 904-1098, 907-1063, 907-1098, 909-1103, 909-1109, 914-1095, 921-1060, 926-1098, 931-1109, 936-1107, 939-1096, 955-1109, 960-1109, 965-1109, 980-1115, 981-1540, 992-1103, 993-1107, 999-1098, 1024-1093, 1035-1115, 1174-1526, 1223-1456, 1223-1468, 1223-1491, 1223-1532
59/7505782CB1/1717	1-269, 2-1399, 28-265, 56-350, 67-333, 86-324, 90-389, 102-758, 102-765, 102-888, 102-936, 102-952, 102-1060, 120-359, 128-385, 387-984, 389-641, 403-1071, 453-701, 464-1373, 481-746, 487-754, 489-1376, 505-1083, 511-1376, 519-1376, 533-1376, 563-1376, 589-1074, 623-1239, 628-1376, 637-1373, 660-1373, 661-1373, 661-1376, 675-1376, 679-1376, 708-1128, 716-969, 741-1015, 747-940, 748-1026, 750-1386, 761-1294, 763-1372, 772-1055, 773-1020, 773-1221, 780-997, 780-1014, 790-1041, 799-1038, 825-1337, 850-1103, 850-1104, 865-1142, 874-1398, 889-1404, 912-1168, 912-1398, 917-1165, 917-1189, 947-1127, 995-1412, 1013-1292, 1057-1717, 1066-1292
60/7500207CB1/2730	1-2716, 1-2730, 10-132, 63-711, 63-890, 232-439, 232-709, 268-802, 317-1001, 319-523, 322-912, 322-913, 358-980, 385-911, 416-761, 474-1236, 482-890, 495-804, 523-1096, 539-1002, 583-1004, 598-1025, 602-1004, 621-1044, 655-921, 677-1289, 691-951, 698-792, 717-1004, 720-1156, 732-1325, 788-1028, 797-1038, 821-1272, 866-1124, 866-1319, 913-1371, 915-1156, 922-1178, 976-1143, 991-1112, 1001-1208, 1007-1522, 1025-1278, 1025-1343, 1078-1410, 1087-1639, 1135-1337, 1135-1401, 1161-1397, 1181-1727, 1191-1743, 1245-1750, 1276-1783, 1325-2009, 1343-1820, 1363-1797, 1369-1855, 1381-1639, 1411-2318, 1450-2005, 1463-1910, 1473-2104, 1489-2314, 1493-2128, 1518-2328, 1519-2331, 1542-1785, 1542-1807, 1549-1799, 1549-1931, 1554-2103, 1557-1868, 1573-2181, 1573-2243, 1591-2328, 1593-2091, 1601-1865, 1613-1806, 1613-2331, 1615-2329, 1616-2328, 1627-1895, 1629-1819, 1629-1896, 1636-

【 0 4 4 4 】

10

20

30

【表 4 - 7】

表 4-7

ポリヌクレオチド SEQ ID NO/ Incyte ID/配列 長	配列断片
	1868, 1641-2103, 1649-2328, 1658-2128, 1659-2327, 1662-1919, 1663-2493, 1667-2305, 1680-1945, 1694-1798, 1694-1965, 1711-2330, 1714-2125, 1714-2227, 1719-2247, 1736-2029, 1753-2260, 1757-1969, 1788-1984, 1790-2668, 1806-2077, 1808-2643, 1811-2070, 1831-2311, 1837-2070, 1860-2386, 1870-2543, 1886-2640, 1891-2240, 1930-2141, 1930-2142, 1930-2173, 1935-2189, 1935-2219, 1936-2196, 1939-2199, 1939-2465, 1939-2689, 1941-2195, 1941-2245, 1943-2371, 1946-2663, 1947-2190, 1947-2459, 1960-2265, 1965-2305, 1980-2226, 2014-2681, 2026-2467, 2029-2292, 2031-2261, 2042-2295, 2068-2249, 2069-2691, 2075-2257, 2075-2583, 2084-2632, 2108-2667, 2117-2620, 2118-2704, 2152-2688, 2158-2723, 2160-2730, 2163-2707, 2164-2730, 2178-2687, 2185-2730, 2188-2730, 2195-2431, 2195-2700, 2221-2715, 2234-2516, 2241-2712, 2248-2720, 2250-2717, 2254-2730, 2257-2428, 2257-2730, 2263-2715, 2263-2729, 2263-2730, 2266-2719, 2274-2718, 2275-2714, 2278-2720, 2279-2688, 2280-2678, 2283-2715, 2284-2719, 2287-2730, 2288-2573, 2288-2729, 2293-2715, 2295-2664, 2297-2715, 2300-2715, 2303-2729, 2305-2455, 2307-2720, 2309-2715, 2314-2730, 2317-2532, 2319-2682, 2323-2715, 2326-2715, 2329-2715, 2330-2715, 2335-2530, 2346-2719, 2347-2712, 2347-2715, 2350-2716, 2352-2679, 2360-2715, 2361-2715, 2365-2715, 2376-2715, 2386-2730, 2387-2718, 2431-2715, 2433-2715, 2458-2710, 2475-2715, 2493-2617, 2570-2728, 2602-2730
617500208CB1/2871	1-279, 1-2857, 1-2871, 10-132, 11-279, 14-279, 15-279, 19-279, 20-424, 61-279, 63-781, 122-1031, 139-257, 277-1031, 293-565, 293-871, 300-1146, 308-1112, 409-943, 458-1142, 460-664, 463-1053, 463-1054, 499-1121, 526-1052, 615-1377, 623-1031, 664-1237, 680-1143, 724-1145, 739-1166, 743-1145, 762-1185, 796-1062, 818-1430, 832-1092, 839-933, 858-1145, 861-1297, 873-1466, 929-1169, 938-1179, 962-1413, 1007-1265, 1007-1460, 1054-1512, 1056-1297, 1063-1319, 1117-1284, 1132-1253, 1142-1349, 1148-1663, 1166-1419, 1166-1484, 1219-1551, 1228-1780, 1276-1478, 1276-1542, 1302-1538, 1322-1868, 1332-1884, 1386-1891, 1417-1924, 1440-1608, 1466-2150, 1484-1961, 1504-1938, 1510-1996, 1522-1780, 1552-2459, 1591-2146, 1604-2051, 1614-2245, 1630-2455, 1634-2269, 1659-2469, 1660-2472, 1683-1926, 1683-1948, 1690-1940, 1690-2072, 1695-2244, 1698-2009, 1714-2322, 1714-2384, 1732-2469, 1734-

10

20

30

【表 4 - 8】

表 4-8

ポリヌクレオチド SEQ ID NO/ Incyte ID/配列 長	配列断片
	2232, 1742-2006, 1754-1947, 1756-2470, 1757-2469, 1768-2036, 1770-1960, 1770-2037, 1777-2009, 1782-2244, 1790-2469, 1799-2269, 1800-2468, 1803-2060, 1804-2276, 1804-2634, 1808-2446, 1821-2086, 1835-1939, 1835-2106, 1852-2471, 1855-2266, 1855-2368, 1860-2388, 1877-2170, 1894-2401, 1898-2110, 1929-2125, 1931-2809, 1947-2218, 1949-2784, 1952-2211, 1972-2452, 1978-2211, 2001-2527, 2011-2684, 2027-2781, 2032-2381, 2071-2282, 2071-2283, 2071-2314, 2076-2330, 2076-2360, 2077-2337, 2080-2340, 2080-2606, 2080-2830, 2082-2336, 2082-2386, 2084-2512, 2087-2514, 2087-2804, 2088-2331, 2088-2600, 2101-2406, 2106-2446, 2121-2367, 2129-2501, 2155-2822, 2167-2608, 2170-2433, 2172-2402, 2183-2436, 2209-2390, 2210-2832, 2216-2398, 2216-2724, 2225-2773, 2249-2808, 2258-2761, 2259-2845, 2293-2829, 2299-2864, 2301-2871, 2304-2848, 2305-2871, 2319-2828, 2326-2871, 2329-
	2871, 2336-2572, 2336-2841, 2346-2507, 2362-2856, 2375-2657, 2382-2853, 2389-2861, 2391-2858, 2395-2871, 2398-2569, 2398-2871, 2404-2856, 2404-2870, 2404-2871, 2407-2860, 2415-2859, 2416-2855, 2419-2861, 2420-2829, 2421-2819, 2424-2856, 2425-2860, 2428-2871, 2429-2714, 2429-2870, 2434-2856, 2436-2805, 2438-2856, 2441-2856, 2444-2870, 2446-2596, 2448-2861, 2450-2856, 2455-2871, 2458-2673, 2460-2823, 2464-2856, 2467-2856, 2470-2856, 2471-2856, 2476-2671, 2487-2860, 2488-2853, 2488-2856, 2491-2857, 2493-2820, 2496-2856, 2501-2856, 2502-2856, 2506-2856, 2517-2856, 2527-2871, 2528-2859, 2572-2856, 2574-2856, 2599-2851, 2616-2856, 2634-2758, 2711-2869, 2725-2853, 2743-2871
62/7500313CB1/1844	1-1465, 21-443, 31-481, 162-666, 164-873, 176-696, 180-752, 190-713, 191-731, 198-856, 205-818, 212-754, 219-729, 231-476, 242-536, 253-820, 257-751, 264-807, 268-517, 269-546, 270-883, 307-483, 310-439, 310-546, 313-907, 322-563, 334-840, 334-982, 337-856, 337-864, 348-619, 348-962, 353-923, 354-897, 360-997, 362-622, 370-619, 386-939, 398-604, 401-656, 415-804, 417-703, 437-680, 448-1089, 450-1001, 454-1004, 456-629, 464-590, 492-1197, 507-1124, 515-1013, 529-839, 529-875, 546-836, 546-839, 564-808, 583-875, 592-1132, 595-1150, 607-1150, 608-806, 618-1254, 657-1341, 665-1165, 666-1222, 714-1131, 726-1129, 728-1381, 742-1076, 798-1342, 813-1301, 830-1113, 837-1603, 839-1247, 848-1465, 851-1084, 877-1171, 891-1129, 900-1066, 954-1191, 954-1207, 954-1222, 959-1389, 970-1237, 995-1248, 1031-1205, 1051-1279, 1067-1596, 1149-1332, 1163-1414, 1171-1844, 1313-1449
63/1436493CB1/732	1-622, 11-585, 17-732, 32-285, 32-719, 74-609, 92-732, 201-459

【表 4 - 9】

表 4-9

ポリヌクレオチド SEQ ID NO/ Incyte ID/配列 長	配列断片
64/7501101CBI/1974	1-291, 1-434, 1-450, 1-454, 1-475, 1-499, 1-1595, 3-248, 12-253, 23-291, 28-247, 32-391, 46-456, 70-744, 118-416, 119-641, 120-635, 125-375, 151-408, 151-447, 161-624, 165-450, 171-329, 171-492, 179-357, 219-402, 228-715, 257-706, 260-845, 270-802, 277-749, 282-632, 286-378, 301-585, 305-603, 322-573, 377-637, 389-845, 391-508, 415-651, 460-935, 476-950, 528-773, 539-833, 565-814, 566-843, 604-780, 607-736, 607-843, 842-1090, 846-1263, 858-1261, 860-1513, 874-1208, 930-1474, 945-1433, 962-1245, 969-1733, 971-1379, 980-1595, 983-1216, 1009-1303, 1023-1261, 1032-1198, 1086-1323, 1086-1339, 1086-1354, 1091-1521, 1102-1369, 1127-1380, 1163-1337, 1183-1411, 1199-1726, 1281-1464, 1295-1548, 1303-1974, 1445-1579
65/7504972CBI/818	1-768, 201-431, 350-818, 360-625, 430-626, 430-717, 431-656, 433-607, 467-713, 467-792, 468-761, 475-747, 488-626, 489-625, 494-764, 502-754, 531-792, 608-780, 665-747, 665-801, 689-781
66/7511788CBI/1715	1-269, 1-476, 2-1689, 14-529, 16-691, 24-689, 28-265, 45-556, 56-350, 56-871, 59-599, 67-333, 68-562, 86-324, 90-393, 97-731, 102-595, 102-839, 102-878, 102-898, 102-928, 102-930, 102-931, 102-932, 112-590, 120-359, 128-397, 138-669, 149-843, 424-679, 424-783, 427-749, 450-576, 484-768, 536-737, 536-845, 542-807, 604-861, 636-909, 716-915, 758-995, 774-932, 930-1530, 930-1664, 930-1667, 951-1664, 952-1664, 952-1667, 970-1667, 999-1419, 1007-1260, 1032-1306, 1038-1231, 1039-1317, 1041-1677, 1052-1585, 1054-1663, 1063-1346, 1064-1311, 1064-1321, 1071-1288, 1071-1305, 1081-1114, 1081-1332, 1090-1329, 1116-1628, 1141-1394, 1141-1395, 1156-1433, 1167-1583, 1180-1695, 1201-1503, 1203-1459, 1203-1689, 1208-1456, 1208-1480, 1238-1418, 1286-1703, 1304-1583, 1348-1715, 1357-1583
67/7504642CBI/2795	1-284, 5-2726, 14-136, 15-284, 18-284, 19-284, 23-284, 65-284, 67-493, 67-633, 67-816, 67-818, 67-835, 67-884, 143-261, 157-884, 159-884, 282-796, 299-465, 311-995, 313-517, 316-906, 316-907, 352-974, 379-905, 412-679, 412-755, 468-1230, 476-884, 489-798, 517-1090, 533-996, 577-998, 592-1019, 596-998, 615-1038, 649-915, 671-1283, 685-945, 692-786, 711-998, 714-1150, 726-1319, 782-1022, 791-1032, 815-1266, 860-1118, 860-1313, 907-1365, 909-1150, 916-1172, 970-1137, 985-1106, 995-1202, 1001-1517, 1019-1272, 1019-1337, 1072-1404, 1081-1634, 1113-1347, 1113-1598, 1129-1331, 1129-1395, 1155-1391, 1175-1722, 1185-1738, 1239-1745, 1270-1778, 1293-1461, 1319-2005, 1337-1815, 1357-1792, 1363-1850, 1375-1634, 1405-2314, 1436-2100, 1444-2001, 1471-1905, 1484-2310, 1488-2124, 1513-2324, 1514-2327, 1537-1780, 1537-1802, 1544-1794, 1544-1926, 1549-2099, 1552-1863, 1568-2177, 1568-

10

20

30

【表 4 - 1 0】

表 4-10

ボリヌクレオチド SEQ ID NO/ Incyte ID/配列 長	配列断片
---	------

2239, 1586-2324, 1588-2087, 1596-1860, 1608-1801, 1608-2327, 1610-2325, 1611-2324, 1622-1890, 1624-1814, 1624-1891, 1631-1863, 1636-2099, 1644-2324, 1649-2324, 1653-2124, 1654-2323, 1657-1914, 1658-2131, 1658-2489, 1662-2301, 1675-1940, 1689-1793, 1689-1960, 1706-2326, 1709-2121, 1709-2223, 1714-2243, 1731-2025, 1748-2256, 1752-1964, 1783-1979, 1785-2665, 1801-2073, 1803-2640, 1806-2066, 1826-2307, 1832-2066, 1855-2382, 1865-2539, 1881-2637, 1886-2236, 1925-2137, 1925-2138, 1925-2169, 1930-2185, 1930-2215, 1931-2192, 1934-2195, 1934-2461, 1934-2686, 1936-2191, 1936-2241, 1938-2367, 1941-2369, 1941-2660, 1942-2186, 1942-2455, 1955-2261, 1960-2301, 1977-2222, 1984-2356, 2010-2678, 2022-2463, 2025-2288, 2027-2257, 2038-2291, 2064-2245, 2065-2688, 2071-2253, 2071-2580, 2080-2629, 2104-2664, 2113-2617, 2114-2701, 2148-2685, 2154-2720, 2156-2733, 2159-2704, 2160-2731, 2174-2684, 2181-2727, 2184-2731, 2191-2427, 2191-2697, 2201-2362, 2217-2712, 2224-2703, 2229-2731, 2230-2512, 2237-2709, 2244-2717, 2246-2714, 2250-2735, 2253-2424, 2253-2731, 2259-2712, 2259-2726, 2259-2727, 2262-2716, 2270-2713, 2270-2715, 2271-2711, 2274-2717, 2274-2730, 2275-2685, 2276-2675, 2279-2712, 2280-2716, 2281-2730, 2283-2735, 2284-2570, 2284-2726, 2289-2712, 2291-2661, 2293-2712, 2296-2712, 2299-2726, 2301-2451, 2302-2557, 2302-2688, 2302-2725, 2303-2717, 2305-2712, 2310-2742, 2313-2528, 2315-2679, 2315-2723, 2318-2731, 2319-2712, 2322-2712, 2325-2712, 2326-2712, 2331-2526, 2338-2712, 2340-2712, 2342-2716, 2343-2709, 2343-2712, 2345-2584, 2346-2713, 2348-2676, 2351-2712, 2356-2712, 2357-2712, 2360-2579, 2361-2712, 2362-2712, 2372-2712, 2375-2713, 2382-2764, 2383-2715, 2387-2711, 2394-2709, 2394-2714, 2420-2716, 2427-2712, 2429-2712, 2434-2714, 2450-2714, 2450-2726, 2454-2707, 2471-2712, 2489-2614, 2489-2748, 2496-2712, 2534-2713, 2539-2725, 2567-2725, 2581-2709, 2599-2795

68/7504643CBI/3173 1-642, 13-296, 13-613, 13-652, 14-568, 15-3105, 16-482, 24-146, 25-313, 28-301, 29-306, 33-309, 39-592, 60-585, 70-659, 71-625, 75-302, 77-629, 77-645, 77-649, 77-661, 82-585, 88-622, 92-647, 109-387, 109-556, 153-271, 340-591, 606-1262, 677-843, 689-1373, 694-1284, 694-1285, 730-1352, 757-1283, 846-1608, 854-1262, 895-1468, 911-1374, 955-1376, 970-1397, 974-1376, 993-1416, 1027-1293, 1049-1661, 1063-1323, 1070-1164, 1089-1376, 1092-1528, 1104-1697, 1160-1400, 1169-1410, 1193-1644, 1238-1496, 1238-1691, 1285-1743, 1287-1528, 1294-1550, 1348-1515, 1363-1484, 1373-1580, 1379-1895, 1397-1650, 1397-1715, 1450-1782, 1459-2012, 1491-1725, 1491-1976, 1507-1709, 1507-1773, 1533-1769, 1553-2100, 1563-2116, 1617-2123, 1648-2156, 1671-1839, 1697-2383, 1715-2193, 1735-2170, 1741-2228, 1753-2012, 1783-2692, 1814-2478, 1822-2379, 1849-2283, 1862-2688, 1866-2502, 1891-2702, 1892-2705,

【表 4 - 1 1】

表 4-11

ポリヌクレオチド SEQ ID NO/ Incyte ID/配列 長	配列断片
	1915-2158, 1915-2180, 1922-2172, 1922-2304, 1927-2477, 1930-2241, 1946-2555, 1946-2617, 1964-2702, 1966-2465, 1974-2238, 1986-2179, 1986-2705, 1988-2703, 1989-2702, 2000-2268, 2002-2192, 2002-2269, 2009-2241, 2014-2477, 2022-2702, 2031-2502, 2032-2701, 2035-2292, 2036-2509, 2036-2867, 2040-2679, 2053-2318, 2067-2171, 2067-2338, 2084-2704, 2087-2499, 2087-2601, 2092-2621, 2109-2403, 2126-2634, 2130-2342, 2161-2357, 2163-3043, 2179-2451, 2181-3018, 2184-2444, 2204-2685, 2210-2444, 2233-2760, 2243-2917, 2259-3015, 2264-2614, 2303-2515, 2303-2516, 2303-2547, 2308-2563, 2308-2593, 2309-2570, 2312-2573, 2312-2839, 2312-3064, 2314-2569, 2314-2619, 2316-2745, 2319-2747, 2319-3038, 2320-2564, 2320-2833, 2333-2639, 2338-2679, 2355-2600, 2362-2734, 2388-3056, 2400-2841, 2403-2666, 2405-2635, 2416-2669, 2442-2623, 2443-3066, 2449-2631, 2449-2958, 2458-3007, 2482-3042,
	2491-2995, 2492-3079, 2526-3063, 2532-3098, 2534-3111, 2537-3082, 2538-3109, 2552-3062, 2559-3105, 2562-3109, 2569-2805, 2569-3075, 2579-2740, 2595-3090, 2602-3081, 2607-3109, 2608-2890, 2615-3087, 2622-3095, 2624-3092, 2628-3113, 2631-2802, 2631-3109, 2637-3090, 2637-3104, 2637-3105, 2640-3094, 2648-3091, 2648-3093, 2649-3089, 2652-3095, 2652-3108, 2653-3063, 2654-3053, 2657-3090, 2658-3094, 2659-3108, 2661-3113, 2662-2948, 2662-3104, 2667-3090, 2669-3039, 2671-3090, 2674-3090, 2677-3104, 2679-2829, 2680-2935, 2680-3066, 2680-3103, 2681-3095, 2683-3090, 2688-3120, 2691-2906, 2693-3057, 2693-3101, 2696-3109, 2697-3090, 2700-3090, 2703-3090, 2704-3090, 2709-2904, 2716-3090, 2718-3090, 2720-3094, 2721-3087, 2721-3090, 2723-2962, 2724-3091, 2726-3054, 2729-3090, 2734-3090, 2735-3090, 2738-2957, 2739-3090, 2740-3090, 2750-3090, 2753-3091, 2760-3142, 2761-3093, 2765-3089, 2772-3087, 2772-3092, 2798-3094, 2805-3090, 2807-3090, 2812-3092, 2828-3092, 2828-3104, 2832-3085, 2849-3090, 2867-2992, 2867-3126, 2874-3090, 2912-3091, 2917-3103, 2945-3103, 2959-3087, 2977-3173
69/7504745CBI/1038	1-284, 5-1022, 14-136, 15-284, 18-284, 19-284, 23-284, 65-284, 67-493, 67-633, 67-816, 67-818, 67-835, 67-884, 143-261, 157-884, 159-884, 282-796, 299-465, 311-995, 313-517, 316-906, 316-907, 352-974, 379-905, 412-755, 476-884, 489-798, 533-996, 577-998, 592-1019, 596-998, 615-1038, 649-915, 685-945, 692-786, 711-998, 782-1022, 791-1032
70/7504746CBI/1416	1-642, 13-296, 13-613, 13-652, 14-568, 15-1400, 16-482, 24-146, 25-313, 28-301, 29-306, 33-309, 39-592, 60-585, 70-659, 71-625, 75-302, 77-629, 77-645, 77-649, 77-661, 82-585, 88-622, 92-647, 109-387, 109-556, 153-271, 340-591, 606-1262, 677-843, 689-1373, 694-1284, 694-1285, 730-1352, 757-1283, 854-1262, 911-1374, 955-1376, 970-1397, 974-1376, 993-1416, 1027-1293, 1063-1323, 1070-1164, 1089-1376, 1160-1400, 1169-1410

【表 5 - 1】

表 5-1

ポリヌクレオチド SEQ ID NO:	Incyte プロジェクト ID:	代表的ライブラリ
37	7499815CB1	HINT2AGT01
38	3165346CB1	PROSTUT09
39	5092954CB1	BRSTTUT02
40	7499560CB1	LIVRNOT21
41	70243658CB1	MONOTXT01
42	7500196CB1	ADRETUT05
43	7500351CB1	THYMNNOT03
44	7500923CB1	SPLNFET02
45	2258292CB1	OVARDIR01
46	7500283CB1	BRANDIT03
47	7600263CB1	ESOGTME01
48	7503686CB1	CARCTXI02
49	7504791CB1	MCLDTXN05
50	7504885CB1	SPLNNOT04
51	7504915CB1	LATRTUT02
53	7505049CB1	THYMDIT01
55	7503683CB1	CARCTXI02
56	71616365CB1	SYNORAB01
57	7505047CB1	THYMNNOT03
58	7505779CB1	UCMCL5T01
59	7505782CB1	MONOTXS05
60	7500207CB1	BRSTNOT04
61	7500208CB1	BRSTNOT04
62	7500313CB1	THYMNNOT03
63	1436493CB1	PANCNOT08
64	7501101CB1	THYMNNOT05
65	7504972CB1	NEUTGMT01
66	7511788CB1	MONOTXS05

10

20

【 0 4 5 0 】

【表 5 - 2】

表 5-2

ポリヌクレオチド SEQ. ID NO.	Incyte プロシエクト ID:	代表的ライブラリ
67	7504642CB1	BRSTNOT04
68	7504643CB1	UTRSDIC01
69	7504745CB1	PLACFER01
70	7504746CB1	OSTEUNC01

10

20

【 0 4 5 1 】

表 6-1

ライブラリ	ベクター	ライブラリの説明
ADRETUT05	pINCY	ライブラリは 52 才の白人女性の片側性副腎瘤摘出時に摘出された副腎腫瘍組織から単離した RNA を用いて作製した。病理は褐色細胞腫を示した。
BRANDIT03	pINCY	ライブラリは肺炎で死亡した 79 才の白人女性から採取した松果体組織から単離した RNA を用いて作製した。神経病理は重症のアルトツハイマー病、中等度から重症の頭蓋内血管の細動脈硬化、中等度の脳アミロイド血管障害、および頭頂、後頭葉の梗塞を示した。すべての葉、尾状核、被殻、扁桃体、海馬、虫部、視神経および大脳皮質白質の萎縮衰退があった。左内側後頭葉、右後頭頂部、右側島皮質、および右後頭葉および下方頭頂葉に嚢胞性空洞化があった。脳室はひどく拡張していた。染色では検査した新皮質領域全部にわたって多くのびまんおよび神経突起アミロイド班を示した。錐体細胞内、第 3 および 5 層のニューロンに多くの神経原繊維変化があったが、3、4 および 6 層の小さい介在ニューロンも神経原繊維変化を含んでいた。尾状核および被殻には広範囲の石灰化があり、散在性神経原繊維変化が見られる。扁桃体は著しく神経膠化しており、多くの神経原線維、嗜銀性およびゴースト型変化 (ghost type tangles) を含んでいた。また、顆粒空胞変性した細胞の散在、レービー様小体包含のある細胞の局在が見られた。海馬には顕著なグリオシシスがあり、CA1 領域内の錐体細胞ニューロンの完全な喪失が見られた。銀色に染まった部分は、歯状回、CA2 および CA3 領域内の多くの神経突起斑および散在性神経原線維変化を示す。黒質は中脳水道周囲灰白質領域において多数の神経原線維変化を示している。患者の病歴には出血性胃炎、緑内障、PVD、COPD、遅延型発症強直性/間代性発作、一過性虚血性発作、偽水晶体、およびアスピリンおよびクリンダマイシンアレルギーがある。家族歴にはアルツハイマー病が含まれる。
BRSTNOT04	PSPORT1	ライブラリは、62 才の東インド人女性の片側性拡大単純乳房切除時に採取した乳房組織から単離した RNA を用いて作製した。随伴腫瘍組織の病理は、浸潤性、グレード 3 の乳管癌を示した。患者の病歴には、良性高血圧、高脂血症および血尿がある。家族歴には、脳血管疾患、心臓血管疾患、高脂血症、および肝癌がある。

10

20

30

表 6-2

ライブラリ	ベクター	ライブラリの説明
BRSTTUT02	PSPORT1	ライブラリは54才の白人女性の両側性根治乳房切除術時に採取した乳房腫瘍組織から単離したRNAを用いて作製した。病理検査は残留性侵襲性グレード3の乳管腺癌を示した。残りの乳房実質は非定型を伴わない増殖性繊維囊胞性変化を示していた。10個の腋窩リンパ節の中一個は顕微鏡的リンパ節内病巣として転移性腫瘍であった。患者の病歴には、腎感染および糸状菌症がある。家族歴には、良性高血圧症、高脂血症および悪性大腸癌が含まれている。
CARCTXI02	PSPORT1	ライブラリは人工膝関節置換術時に得られたブールされた膝軟骨から単離された軟骨細胞のRNAを用いて作製した。軟骨は基礎の骨から外し、小片に切り刻み、5 ng/ml の IL-1 で18時間刺激する。
ESOGTME01	PSPORT	この5'に偏向してランダムプライムされたライブラリは、53才の白人男性の食道部分切除、近位胃切除および所属リンパ節生検時に取り除いた食道組織から単離したRNAを用いて作製した。病理検査では、非腫瘍性食道に異常は見られなかった。一致する腫瘍組織の病理は、侵襲度4(4の内)の腺癌を示し、腺癌は、胃食道接合部から2cm、近位縁から7cmの箇所の食道下部において、定着性塊を形成していた。腫瘍の侵襲は固有筋層を通過して外膜軟部組織にまで及んでいた。リンパ節周囲への広がりを伴う転移癌が、5つの胃リンパ節のうち2個に確認された。患者は、嚥下障害を示した。患者の病歴には膜性腎炎、高脂血症、良性高血圧および不安状態がある。手術歴には、アデノイド口蓋扁桃摘出、虫垂切除、および鼠径ヘルニア修復がある。
HNT2AGT01	PBLUESCRIPT	この患者が服用していた薬剤は無い。家族歴には、アテローム硬化型冠動脈疾患、アルコール性肝硬変、アルコール中毒があり、父親に上腹部大動脈破裂、母親に乳癌、兄弟姉妹(ら)に心筋梗塞とアテローム硬化型冠動脈疾患、祖父母に心筋梗塞およびアテローム硬化型冠動脈疾患がある。
		ライブラリは、hNT2細胞株(分化決定済の神経前駆体の特性を示すヒト奇形腫に由来する)から単離したRNAを使用してStratagene (STR937233)にて作製した(STR937233)。細胞はレチノイン酸で5週間、有糸分裂阻害剤で2週間処理して、さらに馴化培地で4週間にわたり成熟させた。

【表 6 - 3】

表 6-3

ライブラリ	ベクター	ライブラリの説明
LATRIUT02	pINCY	ライブラリは 43 才白人男性の弁輪形成時に左心房から抽出した粘液腫から単離した RNA を用いて作成した。病理は心房性粘液腫を示した。患者の病歴には脚不全、急性心筋梗塞、アテローム性冠動脈疾患、高脂血症および喫煙がある。家族歴には良性高血圧症、急性心筋梗塞、アテローム性冠動脈疾患および II 型糖尿病がある。
LIVRNOT21	pINCY	ライブラリは、自動車事故による重傷頭部損傷で死亡した 29 才の白人男性の肝臓組織から単離した RNA を用いて作製した。血清検査はサイトメガロウイルスが陽性であった。
MCLDTXN05	pINCY	このノーマライズした樹状突起細胞ライブラリは、2 つの誘導された樹状突起細胞ライブラリのプールからの 100 万の独立性クローンから作製された。開始ライブラリは 1 男性から採取した臍帯血液 CD34+ 前駆体細胞由来の未処理および処理された樹状突起細胞から単離した RNA を用いて作製した。この細胞は顆粒球/マクロファージコロニー刺激因子 (GM-CSF)、腫瘍壊死因子アルファ (TNF アルファ)、幹細胞因子 (SCF) で誘導した。GM-CSF は、時間 0、100 ng/ml で加え、TNF アルファは時間 0、2.5 ng/ml で加え、SCF は時間 0、25 ng/ml で加えた。インキュベーション時間は 13 日間であった。次に、処理細胞をホルボールミリスチン酸酢酸 (PMA) とイオノマイシンに暴露した。PMA およびイオノマイシンは 13 日目に 5 時間加えた。このライブラリは、極めて長時間 (48 時間/1 回) の再アニーリングによるハイブリダイゼーションを用いた他は、Soares 他、PNAS (1994) 91:9228 および Donalddo 他、Genome Research 6 (1996) 791 を適用した条件を用いて 2 回にわたり標準化した。

【 0 4 5 4 】

10

20

30

【表 6 - 4】

表 6-4

ライブラリ	ベクター	ライブラリの説明
MONOTXS05	pINCY	ライブラリは、処理した単球ライブラリの 750 万のクローンを用いて作製された。また 2 回処理された単球ライブラリから 1.03 x 10 ⁶ のクローンと 2 回のサブトラクシオンハイブリダイゼーションにかけられた。サブトラクシオンハイブリダイゼーション開始ライブラリは、42 才の女性から得た末梢血の治療した単球を用いて作製した。細胞を抗インターロイキン-10 (抗-IL-10) とリポ多糖 (LPS) で処理した。抗-IL-10 を 10ng/ml で加え、LPS を 1 時間後に 5ng/ml で加えた。単球をプラスチックに接着させることにより buffy コートから単離した。インキュベーション時間は 24 時間であった。サブトラクシオンハイブリダイゼーションプロトコルは、同じ提供者からのインターロイキン-10 (IL-10) とリポ多糖 (LPS) で処理した単球組織から単離した RNA から同様に作製したライブラリに由来する。サブトラクシオンハイブリダイゼーションの条件は Swaroop ら (1991) MAR 19 : 1954 および Bonaldó らの (1996) Genome Research 6 : 791 の方法に基づいたものである。
MONOTXT01	pINCY	ライブラリは、42 才の女性から得た末梢血の処理済の単球から単離した RNA から作製した。細胞は抗 IL-10 と LPS で処理した。
NEUTGMT01	PSPORT1	ライブラリは、Ficol1-Hypaque を通じた密度勾配遠心により収集した末梢血顆粒球から単離された RNA を使って作製された。これらの細胞は互いに関係のない 20 名の男性と女性のドナーから得られた buffy コートユニットから単離された。細胞は 10 nM GM-CSF 中で 1 時間培養してから、洗浄、収穫して全 RNA 調製を行った。
OSTEUNC01	pINCY	この大型分画ライブラリは、40 才白人男性の鎖骨から切除した未処理の骨芽細胞組織から単離された RNA を用いて作製した。
OVARDIR01	PCDNA2.1	このランダムプライムライブラリは、45 才の白人女性の腹式子宮全摘出、両側卵管卵巣摘出、膈懸垂と固定化、および付随的虫垂切除時に除去した右卵巣組織から単離した RNA を用いて作製した。病理は、左右卵巣の間質性卵巣萎縮増殖症を示した。一致する腫瘍組織の病理検査では、左の卵巣に類皮嚢胞 (良性嚢胞性奇形腫) があった。種数 (3) の壁内平滑筋筋腫が同定された。頸部は扁平上皮化生を示した。患者の履歴には、不正子宮出血、女性緊張性尿失禁、脱毛症、抑鬱病、肺炎、正常分娩および欠乏性貧血が含まれる。家族歴には、良性高血圧、アテローム性冠動脈疾患、高脂血症、および結核性初期変化群 (primary tuberculous complex) がある。

10

20

30

表 6-5

ライブラリ	ベクター	ライブラリの説明
PANCNOT08	pINCY	ライブラリは、65歳の白人女性の根治的脾全摘時に採取した脾臓組織の単離 RNA を使用して作製された。随伴する腫瘍組織の病理は、浸潤性でグレード2の腺癌を示した。患者の病歴にはII型糖尿病、変形性関節症、心血管疾患、大腸での良性腫瘍、および白内障がある。以前の手術としては、脾臓全摘出、胆嚢摘出および腹式子宮摘出がある。家族歴には心血管疾患、II型糖尿病および胃癌がある。
PLACFER01	pINCY	ライブラリは胎児性死亡および水頭症で妊娠16週目に死亡した白人胎児から採取した胎盤組織から単離した RNA を用いて作製した。患者の病歴としては、頭(3回)および肩(1回)に臍帯が巻きついていて、血清学は抗 CMV に陽性であった。家族歴には複数の妊娠、生児出産および妊娠中絶がある。
PROSTUT09	pINCY	ライブラリは、根治的前立腺除去、根治的膀胱切除、および尿路変更時の66才白人男性から摘出した前立腺腫瘍組織から単離された RNA を用いて作製された。病理学検査では、グレード3の転移性細胞癌を示した。患者は前立腺炎疾患患者であった。患者の病歴には肺腫瘍と良性の高血圧症がある。家族歴には、悪性乳房腫瘍、結核、脳血管疾患、アテローム性冠動脈疾患、および肺癌が含まれる。
SPLNFET02	pINCY	ライブラリは妊娠23週で死亡の白人男子胎児から採取した脾臓組織から単離した RNA を用いて作製された。
SPLNNOT04	pINCY	ライブラリは、脳無酸素症で死亡した2才ヒスパニック系男子の脾臓組織から単離した RNA を用いて作製した。過去の病歴は無く、血清検査は陰生であった。
SYNORAB01	PBLUESCRIPT	ライブラリはリュウマチ様関節炎の68才の白人女性の滑膜組織から単離された RNA を用いて作製した。

10

20

30

表 6-6

ライブラリ	ベクター	ライブラリの説明
THYMDIT01 pINCY		ライブラリは、16才白人女性の甲状腺全摘出および所属リンパ節切除時に除去した罹患甲状腺組織から単離した RNA を用いて作製した。病理は、胸腺濾胞過形成を示した。右側胸腺に、反応性リンパ節が複数あった。1つの反応性リンパ節が、下胸腺縁にも在った。患者には、重症筋無力症、倦怠感、疲労、嚥下困難、重度の筋衰弱、及び眼球突出があった。患者の病歴は凍結顔筋 (frozen face muscle) がある。家族歴は、鬱病性障害、B 型肝炎、心筋梗塞、アテローム硬化型冠動脈疾患、白血病、多発性硬化症、および狼瘡がある。
THYMN0T03 pINCY		ライブラリは 21 才の白人男性の胸腺摘除術時に摘出した胸腺組織から単離した RNA を用いて作製した。病理は顕著でない胸腺および右下方の副甲状腺に良性副甲状腺腫を示した。患者の病歴にはアトピー性皮膚炎、副甲状腺の良性腫瘍と喫煙が含まれる。前に行われた手術には、副甲状腺の手術がある。患者の使用薬剤には総合ビタミン剤が含まれる。家族歴には父親にアテローム型動脈硬化型冠動脈疾患、また祖父母に良性高血圧症がある。
THYMN0T05 pINCY		ライブラリは 3 才のラテンアメリカ系男子の胸腺摘除および動脈管閉存の閉鎖時に採取した胸腺組織から単離した RNA を用いて作製した。患者は重症の肺狭窄と手アノーゼを呈した。患者の病歴には心臓カテーテル法および心エコーが含まれる。過去の手術にはブレロック・トーションメントおよび肺弁膜切開が含まれる。この患者が服用していた薬剤には無い。家族歴には良性高血圧、骨関節炎、抑鬱性疾患、および祖父母に外因性喘息が含まれる。
UCMCL5T01 PBLUESCRIPT		ライブラリは、12 人の被験者の臍帯の血液から得られた単核細胞から単離された RNA を使って作製された。細胞の培養を 12 日間 IL-5 で行った後、RNA をプールのライゼートから得た。

10

20

30

【表 6 - 7】

表 6-7

ライブラリ	ベクター	ライブラリの説明
UTRSDIC01	PSPORT1	<p>この大分画のライブラリは8人のドナーからプーアルされたcDNAを用いて作成された。cDNAは32才の女性(ドナーA)から抽出された子宮内臓組織、32才の白人女性(ドナーB)の腹式子宮摘出、両側性卵管卵巣摘出術および膀胱脱修整時に抽出された子宮内臓、38才白人女性(ドナーC)の腹式子宮摘出、両側性卵管卵巣摘出術および探索性回復術時に抽出された罹患子宮内臓および子宮内筋層組織、41才白人女性(ドナーD)の単生卵巣の抽出に伴う腹式子宮摘出時に抽出された子宮内臓組織、43才白人女性(ドナーE)の腹式子宮摘出、子宮内臓強硬術、膀胱脱修整、直腸修復および膀胱脱修整時に抽出された子宮内臓組織、48才白人女性(ドナーF)の腹式子宮摘出、直腸修復および両側性卵管卵巣摘出術時に抽出された子宮内臓から単離されたmRNAを用いて作製した。病理(A)は子宮内臓が分泌期であることを示された。病理(B)は、子宮内臓が増殖期にあることを示した。病理(C)は扁平上皮異形成および限局性非定型性を伴った広範囲な腺腫性過形成を示し、子宮内臓腔内にポリープ状態があった。子宮頸部は慢性子宮頸管炎および扁平上皮異形成を示した。病理(D、E)は子宮内臓が分泌期であることが示された。病理(F)は子宮内臓は軽度増殖性を示した。</p>

10

20

30

表7-1

プログラム	説明	参考文献	パラメータ閾値
ABI FACTURA	核酸配列においてベクター配列を除去し、あいまいな塩基をマスクするプログラム	Applied Biosystems, Foster City, CA.	
ABI/PARACEE PDF	Fast Data Finder. アミノ酸配列または核酸配列の比較および注釈付けに有用である。	Applied Biosystems, Foster City, CA; Paracel Inc., Pasadena, CA.	不一致<50%
ABI AutoAssembler	核酸配列をアセンブリするプログラム。	Applied Biosystems, Foster City, CA.	
BLAST	Basic Local Alignment Search Tool. アミノ酸配列および核酸配列の配列類似性検索に有用である。BLASTにはblastp, blastn, blastx, tblastnおよびtblastxの5つの機能がある。	Pearson, W. R. 及びD.J. Lipman (1990) J. Mol. Biol. 215:403-410; Altschul, S.F. 他 (1990) J. Mol. Biol. 215:403-410; Altschul, S.F. 他 (1997) Nucleic Acids Res. 25:3389-3402.	EST: 確率値=1.0E-8以下、完全長配列: 確率値=1.0E-10以下
FASTA	問合せ配列と同種の配列群との類似性を検索するPearson およびLipman アルゴリズム。FASTAには最少5つの機能(fasta, tfasta, fastx, ifastxおよびssearch)がある。	Pearson, W. R. 及びD.J. Lipman (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:2444-2448; Pearson, W. R. (1990) Methods Enzymol. 183:63-98; Smith, T. F. 及びM. S. Waterman (1981) Adv. Appl. Math. 2:482-489.	EST:fasta E値= 1.0E-6; アセンブリされたEST: fasta同一性=95%以上、一致長さ=200塩基以上、fastx E値=1.0E-8以下、全長fastx スコア= 100以上
BLIMPS	配列をBLOCKS、PRINTS、DOMO、PRODDOMおよびPFAM データベースの配列と対応させて遺伝子ファミリー、配列相同性および構造的フィンガープリント領域を検索するBLocks IMProved Searcher。	Henikoff, S. 及びJ.G. Henikoff (1991) Nucleic Acids Res. 19:6565-6572; Henikoff, J.G. 及びS. Henikoff (1996) Methods Enzymol. 266:88-105; Attwood, T.K. 他. (1997) J. Chem. Inf. Comput. Sci. 37:417-424.	確率値= 1.0E-3以下
HMMER	問合せ配列を、タンパク質ファミリーコンセンサス配列の隠れマルコフモデル(HMM)に基づいたデータベース(PFAM、INCY、SMART、およびTIGRFAMなど)に対して検索するアルゴリズム。	Krogh, A. 他. (1994) J. Mol. Biol. 235:1501-1531; Sonnhammer, E.L.L. 他(1998) Nucleic Acids Res. 26:320-322; Durbin, R. 他. (1998) Our World View, in a NutsheIl, Cambridge Univ.Press, 1-350.	

【表 7 - 2】

表7-2

プログラム	説明	参考文献	パラメータ閾値
ProfileScan	Prositeで定義された配列パターンと一致するタンパク質配列内の構造的モチーフおよび配列モチーフを検索するアルゴリズム。	Gribskov, M. 他(1988) CABIOS 4:461-466; Gribskov, M. 他(1989) Methods Enzymol. 183:146-159; Bairoch, A. 他.(1997) Nucleic Acids Res. 25:217-221.	ノーマライズされた質スコア≧特定のPrositeモチーフに対するGCC指定「HIGH」値一般的に、スコア= 1.4~2.1.
Phred	高い感度と確率で自動配列決定機トレースを調べるベースコーリングアルゴリズム。	Ewing, B. 他(1998) Genome Res. 8:175-185; Ewing, B. およびP. Green(1998) Genome Res. 8:186-194.	
Phrap	Smith-Waterman アルゴリズムの効率的なインプリメンテーションに基づくSWATやCrossMatchを含むPhils Revised Assemblyプログラムで、配列相同性の検索やDNA配列のアセンブリに有用である。	Smith, T.F. 及び M. S. Waterman (1981) Adv. Appl. Math. 2:482-489; Smith, T.F. 及び M. S. Waterman (1981) J. Mol. Biol. 147:195-197; および Green, P., University of Washington, Seattle, WA.	スコア=120以上、一致した長さ=56以上
Consed	Phrapアセンブリの表示および編集用グラフィカルツール。	Gordon, D. 他(1998) Genome Res. 8:195-202.	
SPScan	タンパク質配列をスキヤンして、分泌シグナルペプチドの存在を調べる重み行列解析プログラム。	Nielson, H. 他 (1997) Protein Engineering 10:1-6; Claverie, J. M. 及び S. Audic (1997) CABIOS 12:431-439.	スコア=8.5以上
TMAP	重み行列を用いて蛋白配列での膜貫通セグメントを描写し配向を決定するプログラム。	Persson, B. and P. Argos (1994) J. Mol. Biol. 237:182-192; Persson, B. and P. Argos (1996) Protein Sci. 5:363-371.	
TMHMMER	隠れMarkovモデル(HMM)を使ってタンパク質配列上の膜貫通セグメントを描写し、配向を決定するプログラム。	Sonnhammer, E. L. 他(1998) Proc. Sixth Intl. Conf. On Intelligent Systems for Mol. Biol., Glasgow 他, 編集, The Am. Assoc. for Artificial Intelligence (AAAI) Press, Menlo Park, CA, 及び MIT Press, Cambridge, MA, 175-182ページ	
74Motifs	Prositeで定義された配列と一致したパターンのアミノ酸配列を検索するプログラム。	Bairoch, A. 他(1997) Nucleic Acids Res. 25:217-221, Wisconsin Package Program Manual, 第9版, M51-59ページ, Genetics Computer Group, Madison, WI.	

10

20

30

40

【表 8 - 2】

表 8-2

SEQ ID NO:	PID	EST ID	SNP ID	EST SNP	CHI SNP	EST SNP	アレル	アレル1	アレル2	アミノ酸	白人アレル1	アフリカ系アレル1	アジア系アレル1	ヒスパニック系アレル1	頻度
67	7504642	2183883H1	SNP00037213	187	1046	A	A	C	非翻訳		n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
67	7504642	2435336H1	SNP00136887	142	206	G	G	A	G40		n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
67	7504642	2812090H1	SNP00060974	127	2065	G	G	A	非翻訳		n/d	n/a	n/a	n/a	n/a
67	7504642	2890774H1	SNP00136887	203	205	G	G	A	G39		n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
67	7504642	3429243H1	SNP00060973	109	1734	C	C	A	非翻訳		n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
67	7504642	3719077H1	SNP00037213	74	1043	C	A	C	非翻訳		n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
67	7504642	4212865H1	SNP00060973	70	1744	C	C	A	非翻訳		n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
67	7504642	4523993H1	SNP00037213	26	1044	A	A	C	非翻訳		n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
67	7504642	4568395H1	SNP00037214	45	1419	C	C	T	非翻訳		n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
67	7504642	5046625H1	SNP00136887	181	199	G	G	A	stop37		n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
67	7504642	5954136H1	SNP00060974	105	2063	G	G	A	非翻訳		n/d	n/a	n/a	n/a	n/a
67	7504642	6112222H1	SNP00060973	192	1743	C	C	A	非翻訳		n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
67	7504642	6453861H1	SNP00037212	184	499	A	A	G	非翻訳		n/d	n/d	n/d	n/d	n/d
67	7504642	6493944H1	SNP00136887	172	193	G	G	A	V35		n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
67	7504642	7732122J1	SNP00037214	420	1421	T	C	T	非翻訳		n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
68	7504643	1400541H1	SNP00060974	42	2444	G	G	A	非翻訳		n/d	n/a	n/a	n/a	n/a
68	7504643	1970930H1	SNP00060973	205	2124	C	C	A	非翻訳		n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
68	7504643	1973850H1	SNP00060973	131	2123	C	C	A	非翻訳		n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
68	7504643	2101935H1	SNP00107995	176	1666	C	T	C	非翻訳		n/d	n/a	n/a	n/a	n/a
68	7504643	2183883H1	SNP00037213	187	1424	A	A	C	非翻訳		n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
68	7504643	2435336H1	SNP00136887	142	216	G	G	A	G40		n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
68	7504643	2812090H1	SNP00060974	127	2443	G	G	A	非翻訳		n/d	n/a	n/a	n/a	n/a
68	7504643	2890774H1	SNP00136887	203	215	G	G	A	G39		n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
68	7504643	3429243H1	SNP00060973	109	2112	C	C	A	非翻訳		n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
68	7504643	3614102H1	SNP00136887	114	214	G	G	A	G39		n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
68	7504643	3719077H1	SNP00037213	74	1421	C	A	C	非翻訳		n/a	n/a	n/a	n/a	n/a

10

20

30

【 0 4 6 2 】

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 1/18	A 6 1 P 3/00	4 B 0 6 5
A 6 1 P 3/00	A 6 1 P 3/10	4 C 0 8 4
A 6 1 P 3/10	A 6 1 P 5/00	4 C 0 8 5
A 6 1 P 5/00	A 6 1 P 7/00	4 H 0 4 5
A 6 1 P 7/00	A 6 1 P 7/06	
A 6 1 P 7/06	A 6 1 P 7/08	
A 6 1 P 7/08	A 6 1 P 9/00	
A 6 1 P 9/00	A 6 1 P 9/10	
A 6 1 P 9/10	A 6 1 P 9/10	1 0 1
A 6 1 P 11/00	A 6 1 P 11/00	
A 6 1 P 11/06	A 6 1 P 11/06	
A 6 1 P 13/12	A 6 1 P 13/12	
A 6 1 P 17/00	A 6 1 P 17/00	
A 6 1 P 17/06	A 6 1 P 17/06	
A 6 1 P 19/02	A 6 1 P 19/02	
A 6 1 P 21/00	A 6 1 P 21/00	
A 6 1 P 21/02	A 6 1 P 21/02	
A 6 1 P 25/00	A 6 1 P 25/00	
A 6 1 P 25/14	A 6 1 P 25/14	
A 6 1 P 25/16	A 6 1 P 25/16	
A 6 1 P 25/20	A 6 1 P 25/20	
A 6 1 P 25/28	A 6 1 P 25/28	
A 6 1 P 27/06	A 6 1 P 27/06	
A 6 1 P 27/12	A 6 1 P 27/12	
A 6 1 P 29/00	A 6 1 P 29/00	1 0 1
A 6 1 P 31/04	A 6 1 P 31/04	
A 6 1 P 31/10	A 6 1 P 31/10	
A 6 1 P 31/12	A 6 1 P 31/12	
A 6 1 P 31/18	A 6 1 P 31/18	
A 6 1 P 33/00	A 6 1 P 33/00	
A 6 1 P 35/00	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 37/00	A 6 1 P 37/00	
A 6 1 P 37/04	A 6 1 P 37/04	
A 6 1 P 37/08	A 6 1 P 37/08	
A 6 1 P 43/00	A 6 1 P 43/00	1 0 5
C 0 7 K 14/47	A 6 1 P 43/00	1 1 1
C 0 7 K 16/18	C 0 7 K 14/47	
C 1 2 M 1/00	C 0 7 K 16/18	
C 1 2 N 1/15	C 1 2 M 1/00	A
C 1 2 N 1/19	C 1 2 N 1/15	
C 1 2 N 1/21	C 1 2 N 1/19	
C 1 2 N 5/10	C 1 2 N 1/21	
C 1 2 N 15/02	C 1 2 P 21/02	C
C 1 2 P 21/02	C 1 2 P 21/08	
C 1 2 P 21/08	C 1 2 Q 1/02	
C 1 2 Q 1/02	C 1 2 Q 1/68	A
C 1 2 Q 1/68	C 1 2 Q 1/68	Z

G 0 1 N 33/15	G 0 1 N 33/15	Z
G 0 1 N 33/50	G 0 1 N 33/50	Z
G 0 1 N 33/53	G 0 1 N 33/53	D
G 0 1 N 33/566	G 0 1 N 33/53	M
G 0 1 N 37/00	G 0 1 N 33/53	N
	G 0 1 N 33/566	
	G 0 1 N 37/00	1 0 2
	C 1 2 N 5/00	A
	A 6 1 K 37/02	
	C 1 2 N 15/00	C
	C 1 2 N 15/00	F

(31)優先権主張番号 60/342,810
(32)優先日 平成13年10月19日(2001.10.19)
(33)優先権主張国 米国(US)

(31)優先権主張番号 60/344,468
(32)優先日 平成13年11月9日(2001.11.9)
(33)優先権主張国 米国(US)

(31)優先権主張番号 60/332,140
(32)優先日 平成13年11月21日(2001.11.21)
(33)優先権主張国 米国(US)

(31)優先権主張番号 60/340,282
(32)優先日 平成13年12月7日(2001.12.7)
(33)優先権主張国 米国(US)

(31)優先権主張番号 60/347,693
(32)優先日 平成14年1月9日(2002.1.9)
(33)優先権主張国 米国(US)

(31)優先権主張番号 60/358,279
(32)優先日 平成14年2月20日(2002.2.20)
(33)優先権主張国 米国(US)

(31)優先権主張番号 60/361,088
(32)優先日 平成14年3月1日(2002.3.1)
(33)優先権主張国 米国(US)

(31)優先権主張番号 60/364,494
(32)優先日 平成14年3月15日(2002.3.15)
(33)優先権主張国 米国(US)

(31)優先権主張番号 60/379,876
(32)優先日 平成14年5月10日(2002.5.10)
(33)優先権主張国 米国(US)

(31)優先権主張番号 60/388,180
(32)優先日 平成14年6月11日(2002.6.11)
(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

(72)発明者 ボーグン、マライア・アール

- アメリカ合衆国カリフォルニア州9 4 5 7 7・サンレアンドロ・サンティアゴロード 1 4 2 4 4
 (72)発明者 ベチャ、シャニア・ディー
 アメリカ合衆国カリフォルニア州9 4 5 4 6・カストロバレー・# 1 1 7・ゲーリードライブ 2
 1 0 6 2
- (72)発明者 バーフォード、ニール
 アメリカ合衆国コネチカット州0 6 4 2 2・ダラム・ワイルドウッドサークル 1 0 5
- (72)発明者 エリオット、ビッキー・エス
 アメリカ合衆国カリフォルニア州9 5 1 2 1・サンノゼ・ポルトンプレイスウェイ 3 7 7 0
- (72)発明者 エマーリング、ブルック・エム
 アメリカ合衆国カリフォルニア州9 4 3 0 3・パロアルト・# 7 1・ウッドランドアベニュー 1
 7 3 5
- (72)発明者 フォーサイス、イアン・ジェイ
 アメリカ合衆国カリフォルニア州9 4 0 6 1・レッドウッドシティ・ローブルアベニュー 3 0 8
- (72)発明者 ゴーバッド、アン・イー
 アメリカ合衆国カリフォルニア州9 4 5 5 0・リバモア・マリーコモン 3 6 9
- (72)発明者 グリフィン、ジェニファー・エイ
 アメリカ合衆国カリフォルニア州9 4 5 5 5・フレモント・メローウェイ 3 3 6 9 1
- (72)発明者 ハファリア、エープリル、ジェイ・エイ
 アメリカ合衆国カリフォルニア州9 5 0 5 4・サンタクララ・コーレデブリマベータ 2 2 2 7
- (72)発明者 ホンシェル、シンシア・ディー
 アメリカ合衆国カリフォルニア州9 4 0 7 0・サンカルロス・ローレルストリート 1 5 8
- (72)発明者 アイソン、クレイグ・エイチ
 アメリカ合衆国カリフォルニア州9 5 1 1 8・サンノゼ・ウェザーズフィールドウェイ 1 2 4 2
- (72)発明者 バリル、ジョン・ディー
 アメリカ合衆国カリフォルニア州9 4 0 6 2・レッドウッドシティ・プリュスタアベニュー 2 2
 1 8
- (72)発明者 ブレイク、ジュリー・ジェイ
 アメリカ合衆国カリフォルニア州9 4 1 1 6・サンフランシスコ・サーティーフィフスアベニュー
 1 9 7 5
- (72)発明者 ラル、プリーティ・ジー
 アメリカ合衆国カリフォルニア州9 5 0 5 6・サンタクララ・ピーオーボックス 5 1 4 2
- (72)発明者 リー、アーンステーション・エイ
 アメリカ合衆国カリフォルニア州9 4 5 5 2・カストロバレー・クロークリークロード 2 0 5 2
 3
- (72)発明者 マーキス、ジョーゼフ・ピー
 アメリカ合衆国カリフォルニア州9 5 1 3 5・サンノゼ・レイジーレーン 4 4 2 8
- (72)発明者 レア・メイソン、パトリア・エム
 アメリカ合衆国カリフォルニア州9 5 0 1 4・モーガンヒル・クラークレーン 3 6 0
- (72)発明者 リー、サリー
 アメリカ合衆国カリフォルニア州9 4 1 1 0・サンフランシスコ・トウェンティシックスストリー
 ト 3 6 4 3
- (72)発明者 スプレイグ、ウィリアム・ダブリュ
 アメリカ合衆国カリフォルニア州9 5 8 1 4・サクラメント・#シー・サーティーンズストリート
 6 1 1
- (72)発明者 スウォーナカール、アニータ
 アメリカ合衆国カリフォルニア州9 4 1 2 2・サンフランシスコ・# 5ディー・ロックスリーアベ
 ニュー 8
- (72)発明者 タング、ワイ・トム
 アメリカ合衆国カリフォルニア州9 5 1 1 8・サンノゼ・ランウィックコート 4 2 3 0
- (72)発明者 トラン、バオ

- アメリカ合衆国カリフォルニア州 9 5 0 5 1 ・ サンタクララ ・ サルバーグアベニュー 7 5 0
 (72)発明者 トラン、ユエン・ケイ
 アメリカ合衆国カリフォルニア州 9 5 1 3 3 ・ サンノゼ ・ マーブリースクエア 2 6 3 8
 (72)発明者 パティア、ウメシュ
 アメリカ合衆国カリフォルニア州 9 5 1 2 4 ・ サンノゼ ・ ユニオンアベニュー 5 2 1 2
 (72)発明者 チョーラ、ナリンダー・ケイ
 アメリカ合衆国カリフォルニア州 9 4 5 8 7 ・ ユニオンシティ ・ # 7 1 2 ・ ユニオンスクエア 3
 3
 (72)発明者 ワレン、ブリジット・エイ
 アメリカ合衆国カリフォルニア州 9 4 0 2 4 ・ エンシニタス ・ # ビー 1 0 3 ・ サウスエルカミーノ
 レアル 1 8 1 0
 (72)発明者 ゼング、ウェイジン
 アメリカ合衆国カリフォルニア州 9 4 0 4 3 ・ マウンテンビュー ・ サッタークリークレーン 9
 (72)発明者 スー、ユーミング
 アメリカ合衆国カリフォルニア州 9 4 0 4 0 ・ マウンテンビュー ・ ウォルナットドライブ 1 7 3
 9
 (72)発明者 ユエ、ヘンリー
 アメリカ合衆国カリフォルニア州 9 4 0 8 7 ・ サニーバイル ・ ルイスアベニュー 8 2 6
- F ターム(参考) 2G045 AA25 AA40 BB03 BB20 CB01 CB17 DA12 DA13 DA36 DA37
 DA77 FB02 FB03 FB15
 4B024 AA01 AA12 BA80 CA04 CA05 CA11 DA02 EA02 HA11 HA17
 4B029 AA07 FA12
 4B063 QA06 QA13 QA18 QQ08 QQ43 QQ53 QR32 QR36 QR55 QR62
 QR77 QS16 QS25 QS34 QX01 QX07
 4B064 AG01 AG27 CA10 CA19 CA20 CC24 DA05 DA14
 4B065 AA90X AA93Y AB01 CA24 CA44 CA46
 4C084 AA02 AA07 AA17 BA01 BA08 BA20 BA22 CA18 CA53 DA01
 DA58 NA14 ZA01 ZA05 ZA15 ZA16 ZA33 ZA36 ZA45 ZA51
 ZA55 ZA59 ZA66 ZA75 ZA81 ZA89 ZA94 ZA96 ZA97 ZB02
 ZB05 ZB07 ZB08 ZB09 ZB11 ZB13 ZB15 ZB21 ZB22 ZB26
 ZB33 ZB35 ZB37 ZC02 ZC33 ZC35 ZC41 ZC55
 4C085 HH03 HH13 KA03 KA04 KA05 KA26 KA29 KB92 LL01 LL03
 LL05 LL07 LL09 LL11 LL12 LL13 LL15 LL17 LL18
 4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 BA10 CA40 DA76 EA20 EA50 FA74

專利名稱(譯)	免疫反應相關蛋白		
公開(公告)號	JP2005511021A	公開(公告)日	2005-04-28
申請號	JP2003529121	申請日	2002-09-19
[標]申請(專利權)人(譯)	洞察Genomics公司		
申請(專利權)人(譯)	洞察基因組公司		
[標]發明人	ホーアン ボーグンマライアアール ベチャシャニアディー バーフォードニール エリオットビッキーエス エマーリングブルックエム フォーサイスイアンジェイ ゴーバッドアンイー グリフィンジェニファーエイ ハファリアエープリルジェイエイ ホンシエルシンシアディー アイソクレイグエイチ バリルジョンディー ブレイクジュリージェイ ラルプリーティジー リーアーンステイーンエイ マーキスジョーゼフピー レーアメイソンパトリシアエム リーサリー スプレイグウィリアムダブリュ スウォーナカールアニータ タングワイトム トランバオ トランユエンケイ バティアウメシュ チョーラナリンダーケイ ワレンブリジットエイ ゼングウェイジン スーユーミング ユエヘンリー		
發明人	ホー、アン ボーグン、マライア・アール ベチャ、シャニア・ディー バーフォード、ニール エリオット、ビッキー・エス エマーリング、ブルック・エム フォーサイス、イアン・ジェイ ゴーバッド、アン・イー グリフィン、ジェニファー・エイ ハファリア、エープリル、ジェイ・エイ ホンシエル、シンシア・ディー アイソン、クレイグ・エイチ バリル、ジョン・ディー ブレイク、ジュリー・ジェイ		

ラル、プリーティ・ジー
 リー、アーンステイーン・エイ
 マーキス、ジョーゼフ・ピー
 レーア・メイソン、パトリシア・エム
 リー、サリー
 スプレイグ、ウィリアム・ダブリュ
 スウォーナカール、アニー・タ
 タング、ワイ・トム
 トラン、バオ
 トラン、ユエン・ケイ
 バティア、ウメシユ
 チョーラ、ナリンダー・ケイ
 ワレン、ブリジット・エイ
 ゼング、ウェイジン
 スー、ユーミング
 ユエ、ヘンリー

IPC分類号 G01N33/50 A61K38/00 A61K45/00 A61K49/00 A61P1/04 A61P1/18 A61P3/00 A61P3/10 A61P5/00
 A61P7/00 A61P7/06 A61P7/08 A61P9/00 A61P9/10 A61P11/00 A61P11/06 A61P13/12 A61P17/00
 A61P17/06 A61P19/02 A61P21/00 A61P21/02 A61P25/00 A61P25/14 A61P25/16 A61P25/20 A61P25
 /28 A61P27/06 A61P27/12 A61P29/00 A61P31/04 A61P31/10 A61P31/12 A61P31/18 A61P33/00
 A61P35/00 A61P37/00 A61P37/04 A61P37/08 A61P43/00 C07K14/47 C07K14/705 C07K16/18 C12M1
 /00 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C12N9/12 C12N9/16 C12N15/02 C12N15/09 C12P21
 /02 C12P21/08 C12Q1/02 C12Q1/68 G01N33/15 G01N33/53 G01N33/566 G01N37/00

CPC分類号 A01K2217/05 A61P1/04 A61P1/18 A61P3/00 A61P3/10 A61P5/00 A61P7/00 A61P7/06 A61P7/08
 A61P9/00 A61P9/10 A61P11/00 A61P11/06 A61P13/12 A61P17/00 A61P17/06 A61P19/02 A61P21/00
 A61P21/02 A61P25/00 A61P25/14 A61P25/16 A61P25/20 A61P25/28 A61P27/06 A61P27/12 A61P29
 /00 A61P31/04 A61P31/10 A61P31/12 A61P31/18 A61P33/00 A61P35/00 A61P37/00 A61P37/04
 A61P37/08 A61P43/00 C07K14/47 C07K14/705 C12N9/1205 C12N9/16

FI分類号 C12N15/00.ZNA.A A61K45/00 A61K49/00.A A61P1/04 A61P1/18 A61P3/00 A61P3/10 A61P5/00
 A61P7/00 A61P7/06 A61P7/08 A61P9/00 A61P9/10 A61P9/10.101 A61P11/00 A61P11/06 A61P13/12
 A61P17/00 A61P17/06 A61P19/02 A61P21/00 A61P21/02 A61P25/00 A61P25/14 A61P25/16 A61P25
 /20 A61P25/28 A61P27/06 A61P27/12 A61P29/00.101 A61P31/04 A61P31/10 A61P31/12 A61P31/18
 A61P33/00 A61P35/00 A61P37/00 A61P37/04 A61P37/08 A61P43/00.105 A61P43/00.111 C07K14/47
 C07K16/18 C12M1/00.A C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12P21/02.C C12P21/08 C12Q1/02 C12Q1
 /68.A C12Q1/68.Z G01N33/15.Z G01N33/50.Z G01N33/53.D G01N33/53.M G01N33/53.N G01N33/566
 G01N37/00.102 C12N5/00.A A61K37/02 C12N15/00.C C12N15/00.F

F-TERM分類号 2G045/AA25 2G045/AA40 2G045/BB03 2G045/BB20 2G045/CB01 2G045/CB17 2G045/DA12 2G045
 /DA13 2G045/DA36 2G045/DA37 2G045/DA77 2G045/FB02 2G045/FB03 2G045/FB15 4B024/AA01
 4B024/AA12 4B024/BA80 4B024/CA04 4B024/CA05 4B024/CA11 4B024/DA02 4B024/EA02 4B024
 /HA11 4B024/HA17 4B029/AA07 4B029/FA12 4B063/QA06 4B063/QA13 4B063/QA18 4B063/QQ08
 4B063/QQ43 4B063/QQ53 4B063/QR32 4B063/QR36 4B063/QR55 4B063/QR62 4B063/QR77 4B063
 /QS16 4B063/QS25 4B063/QS34 4B063/QX01 4B063/QX07 4B064/AG01 4B064/AG27 4B064/CA10
 4B064/CA19 4B064/CA20 4B064/CC24 4B064/DA05 4B064/DA14 4B065/AA90X 4B065/AA93Y 4B065
 /AB01 4B065/CA24 4B065/CA44 4B065/CA46 4C084/AA02 4C084/AA07 4C084/AA17 4C084/BA01
 4C084/BA08 4C084/BA20 4C084/BA22 4C084/CA18 4C084/CA53 4C084/DA01 4C084/DA58 4C084
 /NA14 4C084/ZA01 4C084/ZA05 4C084/ZA15 4C084/ZA16 4C084/ZA33 4C084/ZA36 4C084/ZA45
 4C084/ZA51 4C084/ZA55 4C084/ZA59 4C084/ZA66 4C084/ZA75 4C084/ZA81 4C084/ZA89 4C084
 /ZA94 4C084/ZA96 4C084/ZA97 4C084/ZB02 4C084/ZB05 4C084/ZB07 4C084/ZB08 4C084/ZB09
 4C084/ZB11 4C084/ZB13 4C084/ZB15 4C084/ZB21 4C084/ZB22 4C084/ZB26 4C084/ZB33 4C084
 /ZB35 4C084/ZB37 4C084/ZC02 4C084/ZC33 4C084/ZC35 4C084/ZC41 4C084/ZC55 4C085/HH03
 4C085/HH13 4C085/KA03 4C085/KA04 4C085/KA05 4C085/KA26 4C085/KA29 4C085/KB92 4C085
 /LL01 4C085/LL03 4C085/LL05 4C085/LL07 4C085/LL09 4C085/LL11 4C085/LL12 4C085/LL13 4C085
 /LL15 4C085/LL17 4C085/LL18 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA10
 4H045/CA40 4H045/DA76 4H045/EA20 4H045/EA50 4H045/FA74

优先权
 60/324034 2001-09-21 US
 60/327395 2001-10-05 US
 60/328923 2001-10-12 US
 60/342810 2001-10-19 US
 60/344468 2001-11-09 US
 60/332140 2001-11-21 US
 60/340282 2001-12-07 US
 60/347693 2002-01-09 US
 60/358279 2002-02-20 US
 60/361088 2002-03-01 US
 60/364494 2002-03-15 US
 60/379876 2002-05-10 US
 60/388180 2002-06-11 US

外部链接 Espacenet

摘要(译)

本发明的各种实施方案提供了鉴定和编码IRAP的人免疫应答相关蛋白 (TRAP) 和多核苷酸。本发明的实施方案还提供表达载体, 宿主细胞, 抗体, 激动剂和拮抗剂。其他实施方案提供了用于诊断, 治疗或预防与IRAP异常表达有关的疾病的方法。

表 1-1

Incyte プロジェクト ID	Incyte プロジェクト SRQ ID No.	Incyte ポリペプチド SRQ ID No.	Incyte ポリヌクレオチド ID	Incyte 完全長
7499453	1	7499453CD1	36	7499453CB1
7499815	2	7499815CD1	37	7499815CB1 9501727CA2
3165346	3	3165346CD1	38	3165346CB1
5092954	4	5092954CD1	39	5092954CB1 155900CA2, 4209127CA2, 90133145CA2, 90133229CA2, 90133245CA2
7499560	5	7499560CD1	40	7499560CB1
70243658	6	70243658CD1	41	70243658CB1 60210458CA2
7500196	7	7500196CD1	42	7500196CB1 90027016CA2, 90027024CA2, 90027032CA2, 90027124CA2, 90027132CA2, 90027148CA2
7500351	8	7500351CD1	43	7500351CB1 90210607CA2, 90210635CA2, 90215217CA2
7500923	9	7500923CD1	44	7500923CB1