

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公表特許公報 (A) (11)特許出願公表番号

特表2003 - 533230

(P2003 - 533230A)

(43)公表日 平成15年11月11日(2003.11.11)

(51) Int. Cl ⁷	識別記号	F I	テ-マ-コ-ド* (参考)
C 1 2 N 15/09	ZNA	A 0 1 K 67/027	2 G 0 4 5
A 0 1 K 67/027		A 6 1 K 31/7088	4 B 0 2 4
A 6 1 K 31/7088		35/16	4 B 0 2 9
35/16		39/395	D 4 B 0 6 3
38/16			N 4 B 0 6 4

審査請求 未請求 予備審査請求 (全 95数) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2001 - 585335(P2001 - 585335)

(86)(22)出願日 平成13年3月12日(2001.3.12)

(85)翻訳文提出日 平成14年11月18日(2002.11.18)

(86)国際出願番号 PCT/FR01/00725

(87)国際公開番号 W001/088128

(87)国際公開日 平成13年11月22日(2001.11.22)

(31)優先権主張番号 00/06315

(32)優先日 平成12年5月17日(2000.5.17)

(33)優先権主張国 フランス(FR)

(71)出願人 イスタック
I S T A C
フランス共和国,エフ - 59000 リール,リュ
デュ プロフェスール カルメット,1

(71)出願人 アンスティチュ パストゥール ドゥ リ
ール
I N S T I T U T P A S T E U R D
E L I L L E
フランス共和国,エフ - 59000 リール,リュ
デュ プロフェスール カルメット,1

(74)代理人 弁理士 太田 恵一

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 S S A - 5 6 k D aポリペプチドとその断片、および前記ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドと治療のための用途

(57)【要約】

本発明は、新規な S S A - 5 6 k D aポリペプチドとその断片、c D N Aのクローニングと、前記ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、前記ポリヌクレオチドを含むクローニングベクターおよび/または発現ベクター、前記ベクターによって形質転換された細胞と、前記ポリペプチドに対抗する特異的な抗体に関するものである。本発明はまた、前記ポリペプチドとポリヌクレオチドの検出および/または解析の方法、対応する診断キット、リガンドのスクリーニング方法、抗 R o / S S A様自己抗体の検出方法、抗 R o / S S A様自己抗体を含む可能性のあるヒトの生体液の精製方法、ならびに A I D Sのようなウイルス病や、特に全身性エリテマトーデス (S L E)とシェーグレン症候群の自己免疫疾患の、予防および/または治療用の薬品として使用可能な化合物に関するものである。

【特許請求の範囲】

【請求項1】アミノ酸配列SEQ ID No 2のRo/SSA様と命名された単離されたポリペプチド。

【請求項2】単離されたポリペプチドであって、

- a) 配列SEQ ID No 2のポリペプチド；
- b) a) で規定されたアミノ酸配列のポリペプチドの変異ポリペプチド；
- c) a) またはb) で規定されたポリペプチドと相同であり、a) の前記ポリペプチドと少なくとも80%の同一性を有するポリペプチド；
- d) 配列SEQ ID No 4の断片以外の、a)、b) またはc) で規定されたポリペプチドの、少なくとも15の連続するアミノ酸の断片；
- e) 配列SEQ ID No 4の断片以外の、a)、b) またはc) で規定されたポリペプチドの生物学的に活性な断片から選ばれたポリペプチドを含むことを特徴とする、ポリペプチド。

【請求項3】「ジンクフィンガー」ドメインと「ロイシンジッパー」ドメインからなる化合物のグループから選択された、保存された核酸結合領域を少なくとも一つ有することを特徴とする、請求項1又は2のいずれかに記載のポリペプチド。

【請求項4】請求項1から3のいずれか一つに記載のポリペプチドをコードすることを特徴とする、精製または単離されたポリヌクレオチド。

【請求項5】配列SEQ ID No 1の請求項4に記載のポリヌクレオチド。

【請求項6】単離されたポリヌクレオチドであって、以下：

- a) 配列SEQ ID No 1のポリヌクレオチド；
- b) 配列SEQ ID No 3のポリヌクレオチド、ヨーロッパ特許出願EP 0 6 7 9 7 1 6の配列SEQ ID No 5 5 0 5のポリヌクレオチド、およびEMBLデータベースの配列AK 0 0 1 2 3 1とN 4 6 6 9 6のポリヌクレオチドとを除く、配列SEQ ID No 1の少なくとも15の連続するヌクレオチドの断片；
- c) a) またはb) で規定された配列と、最適なアラインメントを行った後に、

少なくとも85%のパーセンテージ同一性を示す核酸配列；

d) a)、b)またはc)で規定されたような配列に対応する相補的配列またはRNA配列

から選ばれたポリヌクレオチドを含むことを特徴とする、ポリヌクレオチド。

【請求項7】核酸配列の増幅または重合のために、プライマーとして、請求項6に記載のポリヌクレオチドを使用する方法。

【請求項8】核酸配列の検出のために、プローブとして、請求項6に記載のポリヌクレオチドをインビトロで使用する方法。

【請求項9】対応するタンパク質産物の発現を制御するために、センス核酸配列またはアンチセンス核酸配列として、請求項6に記載のポリヌクレオチドをインビトロで使用する方法。

【請求項10】前記ポリヌクレオチドが、放射性化合物または非放射性化合物によって直接または間接に標識されることを特徴とする、請求項7、8、9のいずれか一つに記載のポリヌクレオチドの使用。

【請求項11】組換えクローニングベクターおよび/または組換え発現ベクターであって、請求項4から6のいずれか一つに記載のポリヌクレオチドを含むか、もしくは請求項1から3のいずれか一つに記載のポリペプチドをコードするベクター。

【請求項12】前記ポリヌクレオチドが、前記ベクターに逆方向で挿入されることを特徴とする、請求項4から6のいずれか一つに記載のポリヌクレオチドを含む、組換えアンチセンス発現ベクター。

【請求項13】請求項11および12のいずれかに記載のベクターによって形質転換されていることを特徴とする、宿主細胞。

【請求項14】請求項13に記載の細胞を含むことを特徴とする、ヒトを除く動物。

【請求項15】組換えポリペプチドの作成方法であって、請求項13に記載の宿主細胞を、前記組換えポリペプチドの発現、および場合によっては分泌を可能にする条件下で培養することと、前記組換えポリペプチドを回収することを特徴とする方法。

【請求項16】請求項15に記載の方法によって得られる組換えポリペプチド。

【請求項17】請求項1から3または16のいずれか一つに記載のポリペプチドを選択的に結合することを特徴とする、単離されたモノクローナル抗体またはポリクローナル抗体およびその断片。

【請求項18】請求項17に記載の抗体に対抗することを特徴とする、抗イディオタイプ抗体およびその断片。

【請求項19】生物サンプルにおける、請求項1から3または16のいずれか一つに記載のポリペプチドの検出および/または分析の方法であって、以下の手順：

- a) 生物サンプルを請求項17に記載の抗体と接触させること、
 - b) 形成された抗原 - 抗体複合体を実証すること、
- を含むことを特徴とする方法。

【請求項20】免疫反応により、生物サンプルにおいて、請求項19に記載の方法を実行するための試薬キットであり、以下の要素：

- a) 請求項17に記載のモノクローナル抗体またはポリクローナル抗体、
 - b) 場合によっては、免疫反応に好都合な培地を組成するための試薬、
 - c) 場合によっては、免疫反応の際に生じた抗原 - 抗体複合体の検出を可能にする試薬、
- を含むことを特徴とする、試薬キット。

【請求項21】生物サンプルにおける、請求項4から6のいずれか一つに記載のポリヌクレオチドの検出および/または分析の方法であって、以下の手順：

- a) 分析すべき生物サンプルからDNAを単離するか、もしくは生物サンプルのRNAからcDNAを得ること、
 - b) プライマ - として使われる請求項7に記載のポリヌクレオチドを用いてDNAを特異的に増幅すること、
 - c) 増幅産物を分析すること、
- を有することを特徴とする方法。

【請求項22】生物サンプルにおける、請求項4から6のいずれか一つに記

載のポリヌクレオチドの検出および/または分析の方法であって、以下の手順：

- a) 請求項4から6のいずれか一つに記載のポリヌクレオチドを、生物サンプルと接触させること、
 - b) 前記ポリヌクレオチドと生物サンプルの核酸の間に形成されたハイブリッドを、検出および/または分析すること、
- を有することを特徴とする方法。

【請求項23】請求項4から6のいずれか一つに記載のポリヌクレオチドを少なくとも一つ含むことを特徴とする、請求項21または22のいずれかに記載の方法を実行するための試薬キット。

【請求項24】請求項4から6のいずれか一つに記載のポリヌクレオチドを含むことを特徴とするDNAチップ。

【請求項25】請求項1から3または16のいずれか一つに記載のポリペプチド、または請求項17に記載の抗体、または請求項18に記載の抗イディオタイプ抗体を含むことを特徴とするタンパク質チップ。

【請求項26】請求項1から3のいずれか一つに記載のポリペプチドを自然にコードする遺伝子のインビトロおよび/またはインビボでの転写に影響をあたえるリガンドのスクリーニング方法であって、以下の手順：

- a) 請求項1から3のいずれか一つに記載のポリペプチドを発現する請求項13に記載の宿主細胞、および、好ましくはヒトの、真核細胞から選ばれた細胞を、転写反応を実現するのに必要な試薬の存在下で一つまたは複数の潜在的なリガンドと接触させること、
 - b) 転写活性を検出および/または測定すること
- を有することを含むスクリーニング方法。

【請求項27】請求項26に記載の方法で得られたリガンド。

【請求項28】ムラプチドであることを特徴とする請求項27に記載のリガンド。

【請求項29】ヒトの自己免疫疾患の診断薬であって、以下：

- a) 請求項1から3のいずれか一つに記載のポリペプチド、
- b) 請求項18に記載の抗イディオタイプ抗体、

c) 請求項1から3のいずれかに記載の前記ポリペプチドを効果的に発現する能力のある請求項11に記載の発現ベクターによって形質転換される、請求項13に記載の細胞から選ばれることを特徴とする、診断薬。

【請求項30】前記ポリペプチド、前記抗イディオタイプ抗体、前記抗イディオタイプ抗体の断片を、スペーサーアームを介して直接または間接に固体担体に結合させることを特徴とする、請求項29に記載の診断薬。

【請求項31】前記ポリペプチド、前記抗イディオタイプ抗体、前記抗イディオタイプ抗体の断片を、シグナル生成標識で直接または間接に標識することを特徴とする請求項29および30に記載の診断薬。

【請求項32】ヒトの生体液の抗Ro/SSA様自己抗体をインビトロで検出する方法であって、該方法が以下の手順：

- a) 前記自己抗体と診断薬が相互作用するように、前記生体液を、請求項29から31のいずれか一つに記載の診断薬と接触させること
- b) 自己抗体/ポリペプチド複合体、または自己抗体/抗イディオタイプ抗体複合体が形成されたことを実証すること、
からなる方法。

【請求項33】前記自己抗体が、自己免疫疾患、自己免疫の徴候を呈する慢性の感染症病、そしてウイルス病から選択された病を患う患者の生体液に存在することを特徴とする、請求項32に記載の方法。

【請求項34】前記自己免疫疾患が、好ましくは全身性エリテマトーデス(SLE)およびシェーグレン症候群から選択されることを特徴とする、請求項33に記載の方法。

【請求項35】前記自己免疫の徴候を呈する慢性の感染症病が、好ましくはAIDS、B型肝炎およびC型肝炎から選択されることを特徴とする、請求項33に記載の方法。

【請求項36】前記ウイルス病が、好ましくはRNAウイルスの感染によって引き起こされるものから選択されることを特徴とする、請求項33に記載の方法。

【請求項37】前記自己抗体が、その細胞がストレス、好ましくは紫外線照射を受けた患者の生体液に存在することを特徴とする、請求項32に記載の方法。

【請求項38】請求項29から31のいずれか一つに記載の診断薬を含むことを特徴とする診断キット。

【請求項39】抗Ro/SSA様自己抗体を含みうるヒトの生体液をインビトロで精製する方法であって、次の手順：

- a) 前記生体液を、請求項1から3のいずれか一つに記載のポリペプチド、または請求項18に記載の抗イディオタイプ抗体またはその断片の一つと、自己抗体/ポリペプチド複合体の形成、または形成された自己抗体/抗イディオタイプ抗体複合体の形成が可能な条件下で接触させること、
 - b) 生体液と手順a)で形成された複合体を分離すること、
 - c) 手順b)で得た生体液を回収すること
- を含む方法。

【請求項40】好ましくは全身性エリテマトーデス(SLE)とシェーグレン症候群のグループから選択される自己免疫疾患を患う患者の治療処置を目的とした組成物を調製するために、請求項39に記載の方法を用いて得た精製されたヒトの生体液を使用する方法。

【請求項41】細胞がストレスを受けた患者の治療処置を目的とした組成物を調製するために、請求項39に記載の方法を用いて得た精製されたヒトの生体液を使用する方法。

【請求項42】AIDS、B型肝炎およびC型肝炎から好ましくは選択される、自己免疫の徴候を呈する慢性の感染症病を患う患者の治療処置を目的とした組成物を調製するために、請求項39に記載の方法を用いて得た精製されたヒトの生体液を使用する方法。

【請求項43】化合物であって、以下：

- a) 請求項1から3または16のいずれか一つに記載のポリペプチド、
- b) 請求項4から6のいずれか一つに記載のポリヌクレオチド、
- c) アンチセンス核酸配列として用いられる、請求項4から6のいずれか一つに

記載のポリヌクレオチド、

d) 請求項11または12のいずれかに記載のベクター、

e) 請求項13に記載の細胞、

f) 請求項17に記載の抗体、

g) 請求項18に記載の抗イディオタイプ抗体、

h) 請求項27および28に記載のリガンドで、ただしムラミルペプチド、特にムラプチドを除くもの、

から薬品として選ぶことを特徴とする化合物。

【請求項44】自己免疫疾患、自己免疫の徴候を呈する慢性の感染症病、そしてウイルス病からなるグループから選択された疾患の予防および/または治療を目的とする薬品としての、請求項43に記載の化合物。

【請求項45】前記自己免疫疾患が、全身性エリテマトーデスおよびシェーグレン症候群からなるグループから選択されることを特徴とする、請求項44に記載の化合物。

【請求項46】全身性エリテマトーデスおよび/またはシェーグレン症候群の予防および/または治療処置のための薬学的組成物であって、請求項45に記載の化合物の治療に効果的な量と、薬学的に受入れ可能な賦形剤が含まれていることを特徴とする、薬学的組成物。

【請求項47】前記ウイルス病が、RNAウイルスに感染することで引き起こされるものから選択されることを特徴とする、請求項44に記載の化合物。

【請求項48】RNAウイルスに感染することで引き起こされる病状から好ましくは選択されたウイルス病を予防および/または治療処置するための薬学的組成物であって、請求項47に記載の化合物の治療に効果的な量と、薬学的に受入れ可能な賦形剤が含まれていることを特徴とする、薬学的組成物。

【請求項49】前記自己免疫の徴候を呈する慢性の感染症病が、AIDS、B型肝炎およびC型肝炎からなるグループから選択されることを特徴とする、請求項44に記載の化合物。

【請求項50】AIDS、B型およびC型肝炎からなるグループから好ましくは選択された、自己免疫の徴候を呈する慢性の感染症の予防および治療処置の

ための薬学的組成物であって、請求項49に記載の化合物の治療に効果的な量と、薬学的に受入れ可能な賦形剤が含まれていることを特徴とする、薬学的組成物。

【請求項51】生体液の抗Ro/SSA様自己抗体を中和することを目的とした薬品を調製するための、請求項43に記載の化合物の使用法。

【請求項52】RNAウイルスによる感染症の治療を目的とした薬品を調製するための、請求項43に記載の化合物の使用法。

【請求項53】ムラミルペプチド、特にムラプチドの使用法であって、自己免疫疾患、自己免疫の徴候を呈する慢性の感染症病、ウイルス病からなるグループから選ばれた、ただしヒト免疫不全ウイルスが引き起こす病を除いた、病気の予防および/または治療処置を目的とした薬品を調製するための、ムラミルペプチド、特にムラプチドの使用法。

【発明の詳細な説明】**【0001】**

本発明は、新たにSSA-56kDaと呼ばれる新規なRo/SSA様ポリペプチドとその断片、cDNAおよび前記ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドのクローニング、前記ポリヌクレオチドを含むクローニングベクターおよび/または発現ベクター、前記ベクターで形質転換された細胞、および前記ポリペプチドに対する特異的な抗体に関するものである。本発明はまた、前記ポリペプチドとポリヌクレオチドの検出および/または分析の方法、対応する診断キット、リガンドのスクリーニング方法、抗Ro/SSA様自己抗体の検出方法、抗Ro/SSA様自己抗体を含み得るヒト生体液の精製方法、ならびにAIDSのようなウイルス疾患や自己免疫疾患、特に全身性エリテマトーデス(SLE)やシェーグレン症候群の予防および/または治療処置用の薬品として使用可能な化合物の精製方法に関するものでもある。

【0002】

ムラミルペプチドは、合成免疫調節薬の中でも、単球/マクロファージ系の細胞に数多くの免疫薬理学的効果を示すものであり、それらの、感染に非特異的な抵抗性を高め、マクロファージの殺腫瘍活性を増進し、またワクチンのアジュバントとしても作用する。ムラプチド(MB)は、ムラミルジペプチド(MDP)の類似体であって、特に有望な生物学的特徴や、動物およびヒトにおける良好な耐性を理由に選択されたものである。実際、MDPやその他の多くの類似体とは異なり、健常者の有志や癌患者における臨床研究の際に、MBは発熱性ではなく、炎症反応を誘発せず、重篤な毒性を示さなかったことが実証済である。

【0003】

その生物学的能力により、MBはAIDS(後天性免疫不全症候群)の分野における有望な抗ウイルス剤である。実際、MBはヒトの免疫不全ウイルス(HIV)の複製を、マクロファージや樹状細胞、同様に、感染した患者の末梢血単核細胞(Peripheral Blood Mononuclear Cells、PBMC)においても抑制する。従って、これら生物学的特性を考慮すると、免疫調節薬MBを対象にしたものには、「HIVのような後天性免疫不全ウイ

ルスの複製を100%まで抑制できるムラミルペプチド組成物」と題されたフランス特許第FR2724845号がある。さらに、HIV陽性の患者について最後まで行ったフェーズIとフェーズIIa臨床試験により、MBの良好な臨床的耐性が実証されている。

【0004】

本発明者らが実証したところによると、MBは、フィトヘマグルチニン(PHA)で活性化され、そしてインターロイキン2(IL-2)と培養された、CD8リンパ球が涸渴した患者のPBMCsにおけるウイルスの複製を強く抑制する効果を発揮する。実際、MBは培養物の上澄みにおけるHIVのウイルスタンパク質p24のレベルを70から100%抑制する。この効果は、(スプライシングされない、および一か所スプライシングされた)ウイルスのメッセンジャーRNAの発現レベルと相関関係を有する。さらに、分泌されたサイトカインとケモカインの特性の分析が示すところによると、MBは、HIV複製の阻害剤として知られているケモカインの生成を誘発した。しかしながらこの誘発は、MBの抑制効果と完全な相関関係にあるとは思われない。MBによるHIVの複製の抑制は、ケモカインの生成の誘導のみを必要とするのではないが、それはMBがプロウイルスDNAおよびウイルス転写のレベルにも関わっているからである。これらの同じ細胞培養におけるMBの毒性の欠如は、本発明者らが検証済みであり、彼らが指摘していることは、培養開始時に生きている細胞の数が変わらないだけでなく、さらに培養終了時に増えているようでもあるということである。

【0005】

従って、本発明者らが得た結果が示唆するのは、MBがサイトカイン、あるいは今日まで識別されていない他の因子の生成を誘発することであり、そのような因子がHIVの複製に対してサプレッサー活性をもつということである。

【0006】

ウイルス複製の調節に関わるこれらの新しい因子を識別するために、本発明者らは、「ディファレンシャルディスプレイ-RT-PCR」(DD-RT-PCR)という、2つの基本的な手順からなる方法を使用した。第一の手順は、全細胞RNAの逆転写(RT)を行うことであり、それによりポリA尾部をもつRN

Aすべての相補的DNAが得られる。ついで、第二の手順は、放射性同位元素で識別されたヌクレオチドの存在下で、基質の役割を果たすcDNAと様々なプライマー対を用いたポリメラーゼ連鎖反応(PCR)により増幅を行うことである。つぎにPCR産物を電気泳動によりゲル上で分離する。差異をもって増幅した断片は、ゲルから切り取られ、再び増幅し、そしてクローニングしてシーケンスする。

【0007】

HIV陽性患者のPBMCsを用いて行うDD-RT-PCRによって、本発明者らは、MBによる処理の後、差次的に発現した130を越えるcDNA断片を選ぶことができた。これらの断片を、ベクターpCR2.1(Invitrogen社)においてサブクローニングし、つぎに自動シーケンス(ABI Prism 377, Perkin-Elmer)によりシーケンスした。配列は、データバンクとNCBI社のBasic Local Alignment Search Tool(Blast 2)サーバーとを用いて、相同性を調べるように分析した。

【0008】

DD-RT-PCR技術を用いて本発明者らが単離した新規なタンパク質は、Ro/SSA様タンパク質と名付けられ、Ro/SSAタンパク質との相対的な配列同一性を示す。

【0009】

二つのペプチドファミリーが存在するが、これはリンパ球60kDa Ro/SSAおよび赤血球60kDa Ro/SSA、リンパ球52kDa Ro/SSA、および赤血球54kDa Ro/SSAという四つの異なる分子形態を含む(詳しくはSibilia, (1998)参照)。60kDaと52kDaのRo/SSAポリペプチドは、直接または間接に一本鎖のRNA分子(hYRNA)と協働して、リボ核タンパク質複合体を形成する。この複合体には、もう一つのLa/SSBと呼ばれるタンパク質が存在する。60kDaのRo/SSAアイソフォームは、一つのジンクフィンガーモチーフを有し、該モチーフは、DNAとRNAを結合できるシステイン残基と、共通リボ核タンパク質(RNP)結合

モチーフとを有する (Lopez - Luna et al. (1995))。したがって、60 kDaのRo/SSAは、hyRNA (ヒト細胞質RNA) を直接結合させることができる。52 kDaのRo/SSAアイソフォームは、二つのジンクフィンガーモチーフ、ならびにロイシンジッパー配列を有し、該配列はDNAに結合し、かつ分子内二量化に導くタンパク質 - タンパク質相互作用を可能にする。このアイソフォームには、共通リボ核タンパク質 (RNP) 結合モチーフがなく、したがってhyRNAを結合させる能力はない。複合体へのその結合は、カルレティキュリンによってなされる。Rader et al. (1989) により単離された赤血球54 kDa Ro/SSAアイソフォームは、52 kDaのRo/SSAと共通する様々なエピトープを有する。このアイソフォームは、今日までシーケンシングが行われたことがない。Ro/SSAリボ核タンパク質複合体は、大部分の細胞組織 (赤血球、血小板) に存在するが、その構造と量は、組織、種および胚の発生段階によって変化する。その機能は知られていないが、その構造は核酸、特にRNAを固定することを可能にし、ゲノム制御に関する幾つかのタンパク質との相同性の存在は、それがDNA転写のメカニズムに関わることを示している。全身性エリテマトーデス (SLE) と新生児エリテマトーデスなどの自己免疫疾患、およびシェーグレン症候群を患う患者の血清には、正常なRo/SSA細胞タンパク質に対する抗体がしばしば見られる。

【0010】

自己免疫疾患は免疫系の疾患であって、その特徴は、患者自身の組織に由来する抗原 (自己抗原と呼ばれる) と反応する抗体 (自己抗体と呼ばれる) が生成されることである (詳しくはSchwartz et al. (1984) 参照)。本発明の自己免疫疾患に含まれるのは、全て網羅されていないが次のものである：ぶどう膜炎、ベーチェット病、サルコイドーシス、シェーグレン症候群、慢性関節リウマチ、若年性関節炎、フィサンジェ - ルロイ - ライター症候群、痛風、変形性関節症、全身性エリテマトーデス、急性播種性エリテマトーデス、多発性筋炎、心筋炎、原発性胆汁性肝硬変、クローン病、潰瘍性結腸炎、多発性硬化症およびその他の脱髄性疾患、再生不良性貧血、本態性血小板減少性紫斑病、多発性骨髄腫およびBリンパ腫、シモンズ病汎下垂体機能低下症、バセドウ - グレ

イブス病およびバセドウ病眼症、亜急性甲状腺炎および橋本病、アジソン病、そしてインスリン依存型糖尿病（1型）。更に詳細には、本発明の自己免疫疾患は、SLEまたはシェーグレン症候群、またはAIDSおよびC型肝炎のような自己免疫疾患に類似の臨床的徴候を呈する慢性ウイルス性疾患に対応するものである。これらの疾患は、臓器に特異的な疾患と全身性疾患に再分割できる。臓器特異的な疾患は、甲状腺のようなただ一つの臓器、あるいは神経筋系のような一つの生理系統にのみ影響する。臓器に特異的な疾患に関わる自己抗原は、まずある臓器の特異的な抗原であり、疾患の病状に関わることもある。例えばチログロブリンに対する自己抗体は、自己免疫甲状腺炎で観察され、チログロブリンは疾患の病状に関わるように思われる。逆に、全身性自己免疫疾患は、多くの生理系統に影響する。全身性自己免疫疾患に関わる自己抗体は、細胞核にある抗原群を含む、より偏在する自己抗原と反応するのが一般的である。この抗原群に含まれるのは、DNA、ヒストンおよび多数のリボ核タンパク質である。自己免疫疾患は、幅広い様々な症状と臨床的徴候とを示すが、リボ核タンパク質（RNP）に対する循環自己抗体の生成は、リウマチ性自己免疫疾患に共通の特徴と思われる。全身性エリテマトーデス（SLE）とそれに関連する類似の疾患で最も一般的な自己抗原は、リボ核タンパク質Ro/SSA、La/SSB、nRNPおよびSmである。

【0011】

本発明の対象の一つは、自己免疫疾患を患う幾人かの患者が生成する血清抗体が結合する可能性のある、Ro/SSA様タンパク質を提供することである。

【0012】

それゆえ本発明の目的の一つは、アミノ酸配列SEQ ID No 2のRo/SSA様と命名された、単離されたポリペプチドである。この配列は保存された共通ドメインを有し、該ドメインは当業者には容易に識別可能なものである。これらの保存された共通ドメインの中で、特に言及すべきは、「ジンクフィンガー」モチーフを含む配列SEQ ID No 2のアミノ酸16から54の配列、Bボックス（“B.Box”）と呼ばれるシステインとヒスチジンが豊富な領域を含む配列SEQ ID No 2のアミノ酸91から123の配列、そして「ロイ

シンジッパー」モチーフを含む配列SEQ ID No 2のアミノ酸190から245の配列である。本発明においては、本発明によるポリペプチドを、無差別にRo/SSA様やSSA-56と名付けることにする。

【0013】

本発明によるポリペプチドの特徴は、核酸配列に結合する能力があること、および「ジンクフィンガー」(zinc-finger)ドメインと「ロイシンジッパー」ドメインからなるグループから選ばれた少なくとも一つの核酸結合ドメインからなることである。

【0014】

DNA配列に結合するという表現は、タンパク質のアミノ酸と塩基との間に形成される一連の弱い結合を介して行われる、本発明のポリペプチドとDNA配列との間の特異的な相互作用を指す。本発明によるポリペプチドには、DNA結合ドメインが少なくとも一つあり、該ドメインは、少なくとも一つのDNAと相互作用を行う能力のある既知のタンパク質モチーフ、すなわち亜鉛原子が組み合わさった指状構造(「zinc-finger」)、ヘリックス-ターン-ヘリックス構造、ヘリックス-ループ-ヘリックス構造そしてロイシンジッパー(「leucine-zipper」)を有する。

【0015】

ジンクフィンガー(「zinc-finger」)モチーフという用語は、空間に指状の形を有する、約二十のアミノ酸の配列を指す。それには、二つのタイプがある：四つのシステインを含むもの(C4)と、二つのシステインに二つのヒスチジンを含むもの(C2H2)である。これらのアミノ酸は、指状の性質を規定し、その基部に位置しており、そしてZn⁺⁺イオンは、これら四つのアミノ酸が形成する四角の中央に位置している。

【0016】

「ロイシンジッパー」タイプモチーフという表現は、ホモ二量体かヘテロ二量体の二量体の転写因子に好ましくは属するモチーフを指す。単量体は、塩基性で、核酸、好ましくはDNAと特異的に相互作用を行う配列と、ほかの鎖の相同ドメインと相互作用を行う -ヘリックス疎水性ドメインとから構成される。この

ドメインにおいては、アミノ酸7個ごとに、つまりヘリックスの各回転ごとに、一つのロイシンがある。これらのロイシンはすべて一列に並べられ、相互作用はそれら二つの単量体間のレベルで発生する。本発明によるポリペプチドには、「ロイシンジッパー」タイプのモチーフが一つある。

【0017】

単離されたポリペプチドを特徴づけるのは、以下から選択されたポリペプチドを含むことである。

- a) 配列SEQ ID No 2のポリペプチド；
- b) a)で規定されたアミノ酸配列のポリペプチドの変異ポリペプチド；
- c) a)またはb)で規定されたポリペプチドと相同であり、a)の前記ポリペプチドと少なくとも80%の同一性、好ましくは少なくとも85%、87%、90%、95%、97%、98%、99%の同一性を有するポリペプチド；
- d) 配列SEQ ID No 4の断片を除く、a)、b)またはc)で規定されたポリペプチドの少なくとも15の連続するアミノ酸、好ましくは少なくとも17、20、23、25、30、40、50、100の連続するアミノ酸断片；
- e) 配列SEQ ID No 4の断片を除く、a)、b)またはc)で規定されたポリペプチドの生物学的に活性のある断片。

【0018】

本明細書において、ポリペプチドという用語を使用するが、これはタンパク質またはペプチドを等しく指すものである。

【0019】

変異ポリペプチドという用語は、天然に、特にヒトに存在しうる、かつアミノ酸残基の末端切断、置換、欠失および/または付加に特に対応する、突然変異したポリペプチドの全体を指す。

【0020】

相同ポリペプチドという用語は、天然のR/S A様ポリペプチドと比べて、例えば特に少なくとも一つのアミノ酸の欠失、添加または置換、末端切断、伸長および/またはキメラ融合のような幾つかの修飾を示すポリペプチドを指す。相同ポリペプチドの中でも好ましいのは、アミノ酸配列が、本発明によるポリペ

プチドのアミノ酸配列と、少なくとも80%の同一性、好ましくは少なくとも85%、87%、90%、93%、95%、97%、98%、99%の同一性を示すものである。置換の場合には、一つまたは複数の連続または非連続のアミノ酸を、「同等の」アミノ酸で置換できる。「同等の」アミノ酸という表現は、ここでは、基本構造のアミノ酸の一つと置換しうる一切のアミノ酸を指すが、ただし、アミノ酸配列SEQ ID No 2、またはその断片のうちの一つにそのアミノ酸配列が含まれているようなポリペプチドを認識する能力のある抗体のインビボでの誘導など、対応するポリペプチドに本質的な機能的特徴または特性、例えば生物学的活性を変更せずに置換するものである。これらの同等のアミノ酸は、置換するアミノ酸との構造的な相同性に基づいて、あるいは、様々なポリペプチドが生成できる交わった生物活性についての解析結果に基づいて決定されうる。例として言及するのは、結果として生じる対応する修飾されたポリペプチドの生物活性に深刻な変更をもたらすことなく実行されうる置換の可能性であるが、例えば、ロイシンをバリンまたはイソロイシンで、アスパラギン酸をグルタミン酸で、グルタミンをアスパラギンで、アルギニンをリジンで置換えることなどがあり、当然のことながら、同じ条件で逆の置換を行うことも考えられる。

【0021】

生物学的に活性な断片という表現は、特に本発明によるポリペプチドのアミノ酸配列の断片を指すが、該断片は、本発明によるポリペプチドの構造的特性、つまりジンクフィンガータイプおよび/またはロイシンジッパータイプおよび/またはBボックスタイプの保存されたドメイン、もしくは、特にDNAおよび/またはRNA核酸に結合する活性を有する、本発明によるポリペプチドの機能的特性を少なくとも一つ示すものである。本発明による変異ポリペプチド、相同ポリペプチドまたはポリペプチド断片は、核酸に結合する活性の少なくとも10%、好ましくは少なくとも20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%を有する。様々なプロトコルが記述され、また当業者が利用できるが、それは核酸に結合するポリペプチドの性能を明らかにするものである。以下の例は、Ro/SSA様タンパク質のペプチドドメインに応じたこのタンパク質の生物学的機能を提案するものであり、それにより、当業者が生物活性の

ある断片を識別できるようにする。

【0022】

ポリペプチド断片という用語は、少なくとも15の連続するアミノ酸、好ましくは少なくとも17、20、23、25、30、40、50、100の連続するアミノ酸からなるポリペプチドを指す。タンパク質分解酵素や化学的試薬による前記ポリペプチドの分断によって、あるいは前記ポリペプチドを非常に酸性の強い環境に置くことによって得られた本発明によるポリペプチド断片もまた、本発明の一部をなす。

【0023】

本発明のポリペプチドは好ましくは、配列SEQ ID No 2からなるポリペプチドであるか、あるいは最適なアラインメントを施した後で、配列SEQ ID No 2と少なくとも80%の同一性、好ましくは85%、90%、95%、98%そして99%の同一性を有する配列である。最適なアラインメントを施した後で、基準となる配列と、少なくとも80%、好ましくは少なくとも85%、90%、95%、98%そして99%のパーセンテージ同一性を示すアミノ酸配列のポリペプチドという表現は、基準となるポリペプチドと比べて、例えば特に一つまたは複数の欠失、末端切断、伸長、キメラ融合および/または一つまたは複数の置換というような、幾つかの修飾を示すポリペプチドを指す。

【0024】

最適なアラインメントを施した後で、配列SEQ ID No 2または本発明によるそれらの断片の一つと、少なくとも80%、好ましくは少なくとも85%、90%、95%、98%そして99%のパーセンテージ同一性を示すアミノ酸配列のポリペプチドの中で好ましいのは、上記のような変異ペプチド配列によってコードされた変異ポリペプチドであり、とりわけ配列SEQ ID No 2に対して、またはそれらの断片の一つと、少なくとも一つのアミノ酸残基の、末端切断、欠失、置換および/または付加に対応する少なくとも一つの突然変異を示すアミノ酸配列を有するポリペプチドであり、さらに望ましいのは、一つの病に関連する突然変異をもつ変異ポリペプチドである。

【0025】

本発明はまた、上記のようなポリペプチドをコードすることを特徴とする、精製され、または単離されたポリヌクレオチドに関するものでもある。好ましくは、本発明によるポリヌクレオチドは、配列SEQ ID No 1を有するものである。

【0026】

本発明の精製され、または単離されたポリヌクレオチドの特徴は、該ポリヌクレオチドが下記から選ばれるポリヌクレオチドを含むことにある：

- a) 配列SEQ ID No 1のポリヌクレオチド；
- b) 配列SEQ ID No 3のポリヌクレオチドおよびEMBLデータバンクにおける配列AK001231とN46696のポリヌクレオチド、また特許出願EP0679716の配列SEQ ID No 5505のポリヌクレオチドを除く、配列SEQ ID No 1の少なくとも15の連続するヌクレオチドの、好ましくは少なくとも18、21、24、27、30、35、40、50、75、100の連続するヌクレオチドの断片；
- c) a) または b) で規定された配列と、最適なアラインメントを行った後に、少なくとも85%、好ましくは少なくとも90%、95%、98%そして99%のパーセンテージ同一性を示す核酸配列；
- d) a)、b) または c) で規定されたような配列に対応する、相補的配列またはRNA配列。

【0027】

核酸、ヌクレオチド配列または核酸配列、ポリヌクレオチド、オリゴヌクレオチド、ポリヌクレオチド配列、そしてヌクレオチド配列という用語は、本明細書においては無差別に用いられるが、これらによって、変更されるかもしくはされない正確な一連のヌクレオチドを示し、それは核酸の断片または領域を規定することを可能にし、天然ではないヌクレオチドを含むことも、また含まないこともあり、そして二本鎖DNA、一本鎖DNA、そして前記DNAの転写産物、および/またはRNA断片に同様に対応することもできる。

【0028】

理解されるべきは、本発明は、天然の染色体環境、すなわち天然の状態でのヌ

クレオチド配列に関するものではないことである。本発明は、単離され、かつ/または精製された配列に関するものであり、つまり直接または間接に、例えば複写により得られたものであって、その環境は少なくとも部分的に変更されている。したがって、化学合成によって得られた核酸をも指す。

【0029】

相補的配列のポリヌクレオチドという表現は、そのヌクレオチドがSEQ ID No 1のヌクレオチド、またはSEQ ID No 1の一部のヌクレオチドに相補的であり、かつ逆方向の、一切のDNAを指す。

【0030】

本発明の意味において、二つの核酸配列または二つのアミノ酸配列の間における「パーセンテージ同一性」という用語は、最善のアラインメントをした後に得られる、比較の対象となる二つの配列の間で同一のヌクレオチドまたはアミノ酸残基の割合を指し、この割合は純粹に統計的であり、また二つの配列間の差異は無秩序に、そしてその配列の全長にわたって分布している。「最善のアラインメント」または「最適のアラインメント」という用語は、以下のように決定されたパーセンテージ同一性が最高になるようなアラインメントを指す。二つの核酸配列またはアミノ酸配列間の配列の比較は、従来、それらを最適な方法でアラインした後、これらの配列を比較することにより行われているのであり、前記比較は、セグメントまたは「比較の窓」によって行われ、それにより配列が類似する局所的な領域を識別し、そして比較することになる。その比較のために配列を最適にアラインすることは、手動でやる以外にも、Smith et Waterman (1981)の局所的相同アルゴリズムによって、Neddleman et Wunsch (1970)の局所的相同アルゴリズムによって、Pearson et Lipman (1988)の類似性検索方法によって、これらのアルゴリズムを用いるコンピューターソフトウェア(Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, WIに記載のGAP、BESTFIT、BLAST P、BLAST N、FASTAおよびTFASTA)などによって行うことができる。最適のアラインメン

トを得るために、B L O S U M 62行列と共に、B L A S Tプログラムを用いることが好ましい。P A MまたはP A M 2 5 0行列もまた使用できる。

【0031】

二つの核酸またはアミノ酸配列間のパーセンテージ同一性は、最適にアラインしたこれらの二つの配列を比較することで決定されるが、比較すべき核酸またはアミノ酸配列は、これらの二配列間の最適なアラインメントにとって基準となる配列に対する付加もしくは欠失を含む可能性がある。パーセンテージ同一性の計算は、二つの配列の間でヌクレオチドまたはアミノ酸残基が同一となるような同一位置の数を測定し、この同一位置の数を比較した位置の総数で割り、そしてこれら二配列間のパーセンテージ同一性を得るために、得られた結果を100倍することによってなされる。

【0032】

最適なアラインメントを行った後に、基準となる配列と、少なくとも85%、好ましくは少なくとも90%、95%、98%および99%のパーセンテージ同一性を示す核酸配列という表現が示すのは、基準となる核酸配列に対して、例えば特に欠失、末端切断、伸長、キメラ融合、および/または置換のような、特に点での、幾つかの変更を有する核酸配列であり、その核酸配列は、最適なアラインメントを行った後、基準となる核酸配列と、少なくとも85%、好ましくは少なくとも90%、95%、98%および99%の同一性を示す。好ましくは、相補的配列が、本発明の配列 S E Q I D N o 1 と特異的にハイブリダイズすることのできる配列を指す。望ましいことは、特異的な、あるいは高いストリンジエンシーのハイブリダイゼーション条件は、二つの配列の一方ともう一つの配列の相補的配列との間で、最適なアラインメントを行った後に、少なくとも85%、好ましくは少なくとも90%、95%、98%および99%の同一性を確保できるものであることである。

【0033】

高いストリンジエンシーの条件の下でのハイブリダイゼーションが指すのは、温度とイオン強度の条件を、二つの相補的なDNA断片の間でのハイブリダイゼーションを維持することができるように選択するということである。例としては

、以上に説明したポリヌクレオチド断片を規定するための、ハイブリダイゼーション手順の高いストリンジェンシーの条件は、以下であることが好適である。

【0034】

DNA - DNAまたはDNA - RNAハイブリダイゼーションを二つの手順で行う：(1)リン酸緩衝液(20mM、pH7.5)で、42℃で3時間のプレハイブリダイゼーションを行うが、該緩衝液は5×SSC(1×SSCは、0.15M NaCl + 0.015Mクエン酸ナトリウムの溶液に相当する)、50%のホルムアミド、7%のドデシル硫酸ナトリウム(SDS)、10×Denhardt's、5%の硫酸デキストラン、そして1%の鮭の精子DNAを含有する；(2)ハイブリダイゼーション自体を20時間、プローブの長さ依存する温度で行い(すなわち：プローブの長さ>100ヌクレオチドでは42℃)、続いて2×SSC+2%SDSで20分間20℃での洗浄を2回、0.1×SSC+0.1%SDSで20分間20℃での洗浄を1回行う。最後の洗浄は、0.1×SSC+0.1%SDSで60℃で30分間、プローブの長さ>100ヌクレオチドに対して行う。規定の長さのポリヌクレオチドについて上に記述した高いストリンジェンシーのハイブリダイゼーション条件は、当業者によって、より長いまたはより短いオリゴヌクレオチドに適用してもよいというのが、Sambrook et al., 1989が示すところである。

【0035】

最適なアラインメントを行った後、本発明による配列に対して、少なくとも85%、好ましくは少なくとも90%、95%、98%および99%のパーセンテージ同一性を示す核酸配列の中で、望ましいのは、SEQ ID No 1、またはそれらの断片の変異した核酸配列、つまり対立遺伝子変異体、すなわち配列SEQ ID No 1の個々の変異に対応する核酸配列の全てでもある。これらの天然の突然変異した配列は、哺乳類、特にヒトに存在する多形性に、特にある病状の発生につながりかねない多形性に対応するものである。

【0036】

変異した核酸配列という表現が指すのは、一切のRNAまたはcDNAであり、これらはcDNAが配列SEQ ID No 1を有するゲノム核酸配列のスプ

ライシング部位の突然変異、かつ/または変異の結果生じるものである。

【0037】

更に具体的には、本発明は、本発明によって精製され、または単離された核酸に関するものであって、その特徴は、該核酸が、配列SEQ ID No 1の一つ、その相補的配列、またはSEQ ID No 1に対応するRNA配列を有し、あるいはそれらから構成されていることである。本発明による核酸配列からなることを特徴とするプライマーまたはプローブもまた、本発明の一部をなす。したがって、核酸配列を検出し、識別し、解析し、または増幅するための本発明はまた、本発明によるプライマーまたはプローブに関するものでもあって、これらが可能とするのは、特に変異した核酸配列を実証または区別すること、あるいはcDNAがSEQ ID No 1で示される遺伝子のゲノム配列を識別することで、その際には特にPCR法のような増幅方法、またはそれに類似する方法を用いる。本発明によれば、核酸配列を検出し、識別し、解析し、または増幅する方法においてプローブまたはプライマーとして使用可能なポリヌクレオチドは、最短15の塩基、好ましくは少なくとも18、20、25、30、40、50の塩基長を示す。

【0038】

したがって本発明のポリヌクレオチドは、プライマーおよび/またはプローブとして使用されうるが、それは特にPCR（ポリメラーゼによる連鎖増幅）技法（Rolfset al., 1991）を用いる方法においてである。この技法が要するのは、増幅されるべき断片と隣接する一对のオリゴヌクレオチドプライマーを選択することである。例えば、米国特許U.S.No 4683202号に記載された技法を参照されたい。増幅された断片が識別されるのは、例えばアガロースゲル電気泳動またはポリアクリルアミド電気泳動の後、あるいはゲル濾過クロマトグラフィーやイオン交換クロマトグラフィーのようなクロマトグラフィーの技法の後であり、それからシーケンスすることができる。増幅の特異性が制御されうるのは、本発明のポリヌクレオチドのヌクレオチド配列をプライマーとして、これら配列あるいはまた得られた増幅産物を含むプラスミドを基質として用いることによる。増幅したヌクレオチド断片は、ハイブリダイゼーション

反応において試薬として用いてもよく、それにより、生物サンプルに、前記増幅したヌクレオチド断片に相補的な配列の標的核酸が存在することを実証できる。本発明はまた、本発明によるプライマーを用いた増幅によって得ることが可能な核酸をも対象にしている。

【0039】

標的核酸増幅の他の技法は、有利には、本発明によるヌクレオチド配列の一对のプライマーを用いるPCR(PCR的)技法に代わるものとして用いられる。PCR的という用語は、核酸配列の直接または間接的な複製を実施する一切の方法、あるいはまた、標識システムが増幅される方法を指し、これら技法は言うまでもなく、既に知られたものである。一般的に、ポリメラーゼでDNAを増幅することであり；オリジナルのサンプルがRNAの場合には、前もって逆転写を行うべきである。現在、この増幅を可能にする方法は、非常に多く存在しており、例えば、SDA(Strand Displacement Amplification)技法もしくはストランドを増幅する技法(Walker et al., 1992)、Kwoh et al.(1989)により記載されたTAS(Transcription-based Amplification System)技法、Guatelli et al.(1990)により記載された3SR(Self-Sustained Sequence Replication)技法、Kievitis et al.(1991)により記載されたNASBA(Nucleic Acid Sequence Based Amplification)技法、TMA(Transcription Mediated Amplification)技法、Landegren et al.(1988)により記載されたLCR(Ligase Chain Reaction)技法、Segev(1992)により記載されたRCR(Repair Chain Reaction)技法、Duck et al.(1990)により記載されたCPR(Cycling Probe Reaction)技法、Miele et al.(1983)により記載されたQ-ベータ レプリカ - ゼ増幅技法がある。これら技法には、それ以後、改善されているものもある。

【0040】

検出する標的ポリヌクレオチドがmRNAである場合には、本発明によるプライマーを用いた増幅反応を行う前、あるいは本発明のプローブを用いた検出方法を行う前に、逆転写酵素型の酵素を用いるのが好適であり、それにより生物サンプルにおいて得られたmRNAからcDNAを得るようにする。得られたcDNAは、その際に本発明による増幅または検出方法で用いられるプライマーまたはプローブのための標的として役割を果たす。

【0041】

プローブのハイブリダイゼーション技法は、様々な方法で実施される(Matthews et al., 1988)。最も一般的な方法が含むのは、様々な組織の細胞やサポート(例えばニトロセルロース、ナイロンまたはポリスチレン)で培養した細胞から抽出した核酸を固定して、それにより例えばDNAチップなどを作成すること、ついできちんと規定した条件下で、プローブと共に固定された標的核酸を培養することである。ハイブリダイゼーションの後、余ったプローブを除去し、そして形成されたハイブリッド分子を適切な方法(プローブに関連する放射能、蛍光または酵素活性の測定)によって検出する。

【0042】

本発明による核酸プローブのもう一つの実施例においては、該核酸プローブはキャプチャープローブとして用いられる。この場合、「キャプチャープローブ」というプローブはサポートに固定され、試験対象となる生物サンプルから得た標的核酸を特異的なハイブリダイゼーションによって捕らえるのに用い、そして次に、検出しやすい因子で標識した「検出プローブ」といわれる第二のプローブを使って、標的核酸を検出する。

【0043】

有利な核酸断片の中でも、更に言及すべきは、特にアンチセンスオリゴヌクレオチド、すなわち、標的配列とのハイブリダイゼーションにより、対応する産物の発現の抑制を確実にする構造のオリゴヌクレオチドである。また同様に言及すべきは、センスオリゴヌクレオチドであって、これは対応する産物の発現の調節に関わるタンパク質との相互作用により、この発現の抑制が活性化のどちらかを

誘発するものである。本発明によるオリゴヌクレオチドは、最短9の塩基、好ましくは少なくとも10、12、15、17、20、25、30、40、50の塩基長である。

【0044】

本発明によるプローブ、プライマーおよびオリゴヌクレオチドは、当業者に周知の方法により、放射性または非放射性の化合物によって直接または間接的に標識することができ、それにより検出可能および/または定量化可能なシグナルが得られる。本発明によるポリヌクレオチド配列で標識されないものを、プローブまたはプライマーとして直接使ってもよい。

【0045】

配列は、多くの用途に使用可能な配列を得るために一般的に標識される。本発明によるプライマーまたはプローブの標識は、放射性元素または非放射性の分子で行われる。使用される放射性同位元素の中で言及すべきは、 ^{32}P 、 ^{33}P 、 ^{35}S 、 ^3H または ^{125}I である。非放射性の物の選択は、ビオチン、アビジン、ストレプトアビジン、ジオキシゲニンのようなリガンド、ハプテン、着色剤、または放射性発光剤、化学発光剤、生物発光剤、蛍光剤または燐光性の発光剤といった発光剤からなされる。

【0046】

本発明はまた、核酸を有し、または本発明によるポリペプチドをコードするクローニングベクターおよび/または発現ベクターに関するものである。このようなベクターはまた、宿主細胞におけるポリペプチドの発現および、場合によっては分泌に必要な配列を含んでいてもよい。このような宿主細胞もまた本発明の目的である。

【0047】

もう一つの側面として、本発明はアンチセンス発現ベクターにも関するものである。このような発現ベクターは、発現ベクターに逆方向で挿入された、本発明によるポリヌクレオチド配列を含んでいる。したがって、アンチセンスベクターのDNAに対応するmRNAが、センスベクターのDNAに対応するmRNAとハイブリダイズすることは、当業者が容易に認識できる。アンチセンス発現ベク

ターとは、構成的な方法で、もしくは導入後に、適当な宿主細胞において問題のアンチセンスRNAを発現するベクターである。アンチセンスという用語は、特異的な核酸配列を含む一切の組成物を指す。アンチセンス分子は、合成または転写のような方法で作成可能である。このような分子が細胞に導入されると、相補的ヌクレオチドは、細胞が生成する天然の配列と組み合わせたり、二本鎖を形成し、そして本発明によるポリペプチドの転写または翻訳のどちらかを阻害する。また本発明の範囲内に含まれるのは、RNA分子と対合しうるアンチセンス分子を実現することで、それと組み合わせるR o / S S A様タンパク質はリボ核タンパク質を形成することができる。

【0048】

前記ベクターは、好ましくはプロモーター、翻訳開始および終了シグナル、ならびに転写調節にふさわしい領域も含んでいることが望ましい。該ベクターは、細胞において安定して維持できるものでなくてはならず、また場合によっては翻訳されたタンパク質の分泌を特定する特殊なシグナルを所有してもよい。本発明の特定の実施例によると、プロモーターは、本発明のヒトR o / S S A様をコードする遺伝子上流に天然に存在するプロモーターであってもよい。

【0049】

様々な制御シグナルは、使用される宿主細胞の機能に応じて選ばれる。したがって、本発明による核酸配列が挿入されうるのは、選ばれた宿主の中で自律複製するベクターの中、あるいは選ばれた宿主に統合したベクターの中である。

【0050】

自律的複製システムの中でも、宿主細胞に応じて使用することが望ましいのは、「プラスミド」、「コスミド」または「ミニ染色体」タイプのシステムか、あるいはウイルス型のシステムであり、ウイルスベクターは特にアデノウイルス (Perricaudet et al., 1992)、レトロウイルス、レンチウイルス、ポックスウイルスまたはヘルペスウイルス (Epstein et al., 1992) であってよい。当業者であれば、これらシステムのそれぞれについて使用可能な技術を知っている。

【0051】

宿主細胞の染色体への配列の組み込みを望む場合には、例えば、プラスミドまたはウイルス型のシステムを使ってもよく；そのようなウイルスとは、例えば、レトロウイルス (Temin, 1986)、またはAAV (Carter, 1993) である。

【0052】

非ウイルスベクターの中で好ましいのは、VICAL社が開発した技術による、裸のDNAや裸のRNAのような裸のポリヌクレオチド、バクテリア人工染色体 (BAC, bacterial artificial chromosome)、酵母における発現のための酵母人工染色体 (YAC, yeast artificial chromosome)、ネズミの細胞における発現のためのマウス人工染色体 (MAC, mouse artificial chromosome)、そして好ましくはヒト細胞における発現のためのヒト人工染色体 (HAC, human artificial chromosome) である。

【0053】

そのようなベクターは、当業者によって広く一般的に用いられる方法にしたがって用意されるのであって、その結果のクローンを、標準的な方法で相応しい宿主に導入してもよく、それには例えば、リポフェクション、エレクトロポレーション、熱ショック、細胞膜に化学的に透過性付与した後での形質変換、または細胞融合がある。

【0054】

本発明はさらに、宿主細胞、特に本発明によるベクターによって形質変換した真核細胞および原核細胞も含む。本発明の対象において使用可能な細胞の中で、特に言及できるのは、バクテリア細胞 (Olins et Lee, 1993) だけでなく、酵母細胞 (Buckholz, 1993) もあり、また同様に動物細胞、特に哺乳類細胞の培養物 (Edwards et Aruffo, 1993)、そして特にチャイニーズハムスターの卵巣 (CHO) 細胞である。また同様に言及できる昆虫細胞においては、例えばバキュロウイルス (Luckow, 1993) を使う方法を用いることができる。本発明のタンパク質を発現するために望ましい宿主細胞は、COS細胞とHeLa細胞からなるものである。好ま

しい実施様態によると、宿主細胞は本発明によるポリペプチドの発現および/または場合によっては分泌を可能にする発現ベクターによって形質転換される。

【0055】

本発明が同様に含むのは、好ましくは哺乳類の、ヒトを除く、トランスジェニック動物であり、本発明による前記形質転換した細胞の一つを含んでいる。このような動物は、天然のヒトRo/SSA様タンパク質の動物の相同物の有害な変化に関連する病理の病因論の研究モデル、あるいは、例えばムラブチドのような抗ウイルス治療がある、もしくはないときの、Ro/SSA様タンパク質の発現に対する、HIVウイルスのようなRNAウイルスが引き起こすウイルス感染の影響の研究モデルとして使用される。

【0056】

本発明による哺乳類の中でも、好ましいのは、げっ歯類のような動物、特にマウス、ラットまたはウサギのようなもので、本発明によるポリペプチドを発現するものである。

【0057】

本発明によるトランスジェニック動物は、本発明によるタンパク質をコードする遺伝子、またはそれらの相同遺伝子を過剰発現したり、または突然変異が導入される前記遺伝子が発現したりすることができる。このようなトランスジェニック動物、特にマウスは、例えば偏在する、性質の強い、または組織のタイプを選択できるプロモーターの制御下で、あるいはウイルス転写の後に、この遺伝子のコピーのトランスフェクションにより得られる。

【0058】

代わりに、本発明によるトランスジェニック動物は、配列SEQ ID No 2のポリペプチドをコードする遺伝子を、もしくはその相同遺伝子を欠くものにしてもよいが、それはLOX-P/CRE組み換え酵素システム(Rohlmann et al., 1996)を使用する、もしくは使用しない相同組み換えによって目標とされた不活性化により、またはこの遺伝子の発現を不活性化する他のあらゆるシステムによって行われる。これらトランスジェニック動物を得る方法には、例えば胚性幹細胞での相同組換え、これら幹細胞の胚への移入、生殖

系で影響を受けたキメラの選択、そして前記キメラの生長がある。

【0059】

上記のように形質転換をした細胞または哺乳類はモデルとしても用いられ、それにより、本発明によるポリペプチドと、本発明によるポリペプチドの活性に直接または間接に関わる化学化合物またはタンパク質化合物との間の相互作用を研究することもできるが、このことは関連する様々なメカニズムと相互作用を研究するためである。それらは特に、本発明によるポリペプチド、特に配列SEQ ID No 2のタンパク質、または本発明によるそれらの変異体と相互作用を行う生成物を選ぶために用いられうるが、該生成物は補因子、または阻害剤、特に競合阻害剤として、あるいはまた本発明によるポリペプチドの活性に対するアゴニスト活性またはアンタゴニスト活性を有するものとして相互作用を行う。好ましくは、前記形質転換された細胞またはトランスジェニック動物をモデルとして用いるが、それは特にこの遺伝子の異常な発現に結びついた病に対抗することのできる生成物を選ぶためである。

【0060】

分析モデルとしてのそれらの使用に加え、本発明による細胞や哺乳類を、以下に説明するような、本発明によるポリペプチドの生産方法において用いることも可能である。

【0061】

組換えの形式で本発明のポリペプチドを生産する方法は、それ自体が本発明に含まれるものであるが、その特徴は、形質転換した細胞、特に本発明の細胞の培養を、本発明による核酸配列によってコードされた組換えポリペプチドが発現し、かつ場合によっては分泌することを可能にするような条件下で行うことであり、また前記組換えポリペプチドを回収することでもある。この生産方法によって得られることのできる組換えポリペプチドもまた、本発明の一部である。該ポリペプチドは、グリコシル化された、またはグリコシル化されていない形式でも現れ、また天然タンパク質の三次構造を示すことも、また示さないこともある。

【0062】

組換えポリペプチドの配列はまた修飾されてもよく、それにより特に水性の溶

剤における溶解性を改善する。そのような修飾は当業者に周知のもので、例えば疎水性ドメインの欠失、疎水性アミノ酸の親水性アミノ酸への置換がある。

【0063】

これらのポリペプチドを、当業者に周知の組換えポリペプチド生産技法によって、以上に規定された核酸配列から生産してもよい。この場合、使用する核酸配列はシグナルの制御下に置かれ、該シグナルは細胞宿主における該ポリペプチドの発現を可能にする。

【0064】

組換えポリペプチド生産の効率的なシステムは、本発明によるベクターと宿主細胞の準備を必要とする。これらの細胞は、以上に規定したベクターに挿入されたヌクレオチド配列を宿主細胞へ導入することで得られ、ついで、前記細胞を、トランスフェクションしたヌクレオチド配列の複製および/または発現を可能にするような条件下で培養する。

【0065】

組換えポリペプチドを精製するために用いられる方法は、当業者に周知のものである。組換えポリペプチドの精製は、細胞の溶解産物が抽出物から、あるいは培地の上澄みから行うことができ、用いる方法は、分画法、クロマトグラフィー法、特異的なモノクローナル抗体あるいはポリクローナルの抗体を用いるイムノアフィニティー技法などを単独で、または組み合わせて使用してもよい。

【0066】

好ましい変異体は、「キャリア」タンパク質（キメラタンパク質）に融合した組換えポリペプチドを生成したものからなる。このシステムの利点は、組換え産物のタンパク質加水分解の安定化および減退、インビトロでの再生中の溶解性の増大、および/または融合の相手が特異的なリガンドに親和性を有する場合には精製の単純化、などを可能にすることである。

【0067】

本発明によるポリペプチドは、周知の多くのペプチド合成の一つを使っての化学的合成、例えば固体相を用いる技法（特にStewart et al., 1984参照）、または部分的固体相を用いる技法や、断片の濃縮、または従来の

溶液での合成によって得ることができる。化学的合成によって得られ、かつ対応する天然ではないアミノ酸を含んでいるポリペプチドも、本発明に含まれる。

【0068】

本発明はまた、モノクローナルまたはポリクローナル抗体とその断片に関するものであり、本発明によるポリペプチドに選択的におよび/または特異的に結合することを特徴とするものである。キメラ抗体、ヒト化抗体、そして一本鎖抗体もまた、本発明の一部をなす。本発明による抗体の断片は、好ましくはFab、F(ab')₂、FvまたはFcの断片であることが望ましい。

【0069】

本発明によるポリペプチドにより、モノクローナルまたはポリクローナル抗体を用意することが可能になる。モノクローナル抗体は、有利には1975年および1976年にKohler et Milsteinによって記載された技法による、ハイブリドーマから調製することができる。

【0070】

ポリクローナル抗体の調製は、例えば動物に、特にマウスに、免疫応答のアジュバントを組み合わせた本発明によるポリペプチドで免疫性を与え、ついで、免疫性を与えられた動物の血清に含まれた特異的な抗体を、抗原として用いられたポリペプチドを前もって固定させたアフィニティーカラム上で精製することによってできる。本発明によるポリクローナル抗体の調製はまた、本発明によるポリペプチドを前もって固定化したアフィニティーカラム上で精製することによってもできる。

【0071】

本発明のポリクローナル抗血清および/またはモノクローナル抗体、ならびにRo/SSA様タンパク質に対抗する自己免疫疾患を患う患者の自己抗体もまた、Ro/SSA様タンパク質とその断片の構造と機能を分析するために使用可能である。本発明の一つの特殊な実施例においては、モノクローナルまたはポリクローナル抗体または自己抗体が抑制することができるのは、本発明のRo/SSA様ポリペプチドと、該ポリペプチドが結合する核酸配列との間の相互作用であり、それにより本発明による前記ポリペプチドの生理的機能が弱まる。

【0072】

患者の様々な自己抗体に共通なイディオタイプまたは本発明の抗体のイディオタイプを用いて、抗イディオタイプ抗体とそれらの断片を生成することが可能である。実際、抗体のイディオタイプ（抗原と結合する）構造は抗原的であり、それゆえイディオタイプ構造に対抗する特異的な抗体を生成することが可能になる。そのような抗イディオタイプ抗体もまた、本発明の目的の一つである。本発明による抗イディオタイプ抗体は、本発明独自のポリペプチドの機能、用途および物性の一部または全てについて、元来の抗原にとってかわる能力があってもよく；特に、インビボで天然のRo/SSA様タンパク質に抗Ro/SSA様抗体が結合するのを阻害するもの、または血漿交換療法と体外免疫吸着に関連する以下に説明する方法で本発明の抗Ro/SSA様抗体に代わるものとして使われてもよい。

【0073】

本発明はまた、本発明によるポリペプチドの検出および/または精製方法にも関するものであり、本発明による抗体を用いることを特徴とする。本発明はさらにまた、精製されたポリペプチドを含み、本発明による方法によって得られることを特徴とする。

【0074】

更に、ポリペプチドの精製のためにそれらを用いる他にも、本発明の抗体、特にモノクローナル抗体は、生物サンプルにおいてこれらポリペプチドを検出するためにも用いることができる。このような様々な用途のため、本発明の抗体を、本発明の核酸プローブについて前述したのと同じ仕方で、および好ましくは酵素タイプ、蛍光タイプまたは放射性タイプの標識法で、標識する。

【0075】

本発明の抗体はまた、例えば免疫蛍光法、金標識、酵素免疫複合体による、本発明のポリペプチドの発現を解析する手段を構成する。更に一般的には、本発明の抗体を、本発明によるポリペプチドの発現が観察されるべきあらゆる状況において、そして更に具体的には免疫細胞化学、免疫組織化学または「ウェスタンブロットティング」の実験において好適に使用することができる。

【0076】

それらの実験により、生物の組織または試料における、これらポリペプチドの異常な発現を実証することが特に可能になる。

【0077】

更に一般的には、本発明の抗体を、有利にはあらゆる状況において使用することが可能であるが、この場合、本発明によるポリペプチドの発現は、正常でも突然変異でも、観察されなければならない。したがって、生物サンプルにおける本発明によるポリペプチドの検出および/または解析方法は、生物サンプルを本発明による抗体と接触させ、また形成された抗原-抗体複合体を実証するという手順からなるが、それもまた本発明の一つの対象である。

【0078】

また、本発明の範囲に含まれるのは、ある生物サンプルにおける本発明によるポリペプチドの検出および/または解析のための試薬キットであり、その特徴は：(i) 上述したようなモノクローナルまたはポリクローナル抗体、(ii) 場合によっては、免疫反応に好都合な培地を構成するための試薬、(iii) 場合によっては、免疫反応によって生成される抗原-抗体複合体を検出する試薬、という要素からなることを特徴とする。このキットは特にウェスタンブロッティングの実験を行うのに用いられ；これら実験により、組織または細胞からの本発明によるポリペプチドの発現の調節を研究することが可能になる。このキットはまた、本発明によるポリペプチドと相互作用するタンパク質を特に実証するための免疫沈降実験でも用いられる。このキットはまた、本発明によるポリペプチドの検出および/または解析を行うのにも用いられるが、そこではELISA法、免疫蛍光法、放射性免疫法(RIA技法)またはそれと同等の技法を含む方法が用いられる。

【0079】

本発明はまた、ある生物サンプルにおける、本発明によるポリヌクレオチドを検出および/または解析する方法であって、以下の手順を含むことを特徴とする：それは(i) 分析対象となる生物サンプルからDNAを単離すること、もしくは生物サンプルのRNAからcDNAを得ること；(ii) プライマーを用いて

本発明によるポリペプチドをコードするDNAを特異的に増幅すること；(i i i) 増幅産物を分析することである。本発明はまた、生物サンプルにおいて、本発明による核酸の検出および/または解析のためのキットを提供することも対象としており、以下の要素を含むことを特徴としている：それは(i)本発明による一対の核酸プライマー、(i i) DNA増幅反応を行うのに必要な試薬、そして場合によっては(i i i) 増幅された断片の配列を検証することを可能にする成分、より具体的には本発明によるプローブである。

【0080】

本発明はまた、生物サンプルにおいて、本発明による核酸を検出および/または解析する方法を含み、以下の手順を有することを特徴とする：それは(i)生物サンプルと本発明によるポリヌクレオチドを接触させること、(i i) 前記ポリヌクレオチドと生物サンプルの核酸との間に形成されたハイブリッドを検出および/または分析することである。

【0081】

従って、適応したポリヌクレオチド配列はインシトゥでのハイブリダイゼーション反応に用いることができ、それにより、特異的な組織もしくはPBMCsにおける、患者の自己抗体が対抗するRo/SSA様抗原をコードする遺伝子の発現レベルを検知することができる。遺伝子発現レベルは、患者において定量化したり、正常なコントロールと比較したりすることができ、また様々な組織間で比較しうる。

【0082】

従って、本発明がまた目的とするのは、生物サンプルにおいて、本発明による核酸の検出および/または解析を行うためのキットを提供することであって、以下の要素を含むことを特徴としている：それは(i)本発明によるプローブ、(i i) 場合によっては、ハイブリダイゼーション反応を行うのに必要な試薬、および/または場合によっては、(i i i) 本発明による一対のプライマー、ならびにDNA増幅反応のために必要な試薬である。

【0083】

同様に本発明の一部をなすのは、対立遺伝子変異性、突然変異、欠失、ヘテロ

接合度の喪失、あるいは本発明によるポリペプチドをコードする遺伝子の遺伝異常の測定方法であり、本発明による核酸配列、ポリペプチドあるいは抗体を使用することを特徴とするものである。

【0084】

これら突然変異を直接検出できるのは、本発明による核酸および配列（RNAまたはcDNA）を解析することによるが、本発明によるポリペプチドを介しても可能である。特に、突然変異を有するエピトープを認識する本発明による抗体の使用は、「健康な」タンパク質と「病理に関連する」タンパク質との間の区別を可能にする。

【0085】

この診断および/または予後評価の方法は、予防的に、あるいは患者の臨床状態を明らかにしおよび/または確認することに役立つように用いてもよい。分析を実施できるのは、遺伝子（すなわちエクソン）の全部または一部のシーケンシングによっても、あるいは当業者に周知の他の方法によってもよい。特に使用しうるのは、PCRに基づく方法で、例えばPCR-SSCPは、点突然変異の検出を可能にする。同様に実施しうる分析は、本発明によるプローブを、本発明によるポリヌクレオチドを少なくとも一つ含むDNAチップに固定させること、もしくはこれらマイクロプレートでハイブリダイゼーションを行うことによる。本発明による配列を含むDNAチップもまた、本発明の目的の一つである。

【0086】

同様に、本発明によるアミノ酸配列を含むタンパク質チップもまた、本発明の目的の一つである。そのようなタンパク質チップにより、本発明によるポリペプチドと、他のタンパク質または化学化合物との間の相互作用の研究が可能になり、そして本発明によるポリペプチドと相互作用する化合物をスクリーニングするのに用いることもできる。本発明によるタンパク質チップは、患者の血清に本発明によるポリペプチドに対抗する抗体が存在するのを検出するためにも使用できる。また、本発明によるモノクローナルまたはポリクローナル抗体、抗イディオタイプ抗体、もしくはその断片を含む、タンパク質チップも使用できる。

【0087】

本発明はまた、本発明のポリペプチドを自然にコードする遺伝子のインビトロおよび/またはインビボでの転写に影響を与える能力のあるリガンドをスクリーニングするための方法に関するものでもあり、その方法は、次の手順からなるものである：(i)本発明のポリペプチドを発現する、本発明の宿主細胞と好ましくはヒトの真核細胞とから選ばれた一つの細胞を、転写反応を行うのに必要な試薬の存在下で、一つまたは複数のリガンドとなりうるものと接触させ、そして(ii)転写活性を検出および/または測定する。宿主細胞または好ましくはヒトの真核細胞にある、本発明によるポリペプチドをコードする遺伝子は、少なくとも本発明のポリペプチドをコードする一つのポリヌクレオチド配列に対応するものであり、該配列は好ましくは、ゲノムDNAまたはcDNAの形で、ヒトのRo/SSA様遺伝子またはマウスのようなある動物種の相同遺伝子のプロモーター配列に機能的に連結したものである。DD-RT-PCR技術を構成するものもまた、本発明によるRo/SSA様ポリペプチドをコードする遺伝子の転写に影響を与える能力のある本発明によるリガンドをスクリーニングする方法である。

【0088】

本発明のポリペプチドを自然にコードする遺伝子のインビトロおよび/またはインビボでの転写に影響を与える能力のあるリガンドという表現が指すのは、本発明によるポリペプチドを自然にコードする遺伝子の調節ポリヌクレオチド配列(プロモーター、上流配列、「エンハンサー」、「サイレンサー」、インシュレーター等)と相互作用する能力のある化合物すべて、または本発明によるポリペプチドをコードする遺伝子の転写の調節に関わる転写因子(基本転写因子または組織特異的因子)と相互作用する能力を有する化合物すべてであり、それにより、本発明のRo/SSA様をコードする遺伝子の転写に影響を与えられる、すなわち、前記遺伝子の転写を増大させ、減退させ、調節し、またはなくすことができる複合体を形成する。識別されるリガンドに含まれるものは、タンパク質、核酸、炭水化物、脂質、および本発明のポリペプチドを自然にコードする遺伝子のインビトロおよび/またはインビボでの転写に影響を与える能力のある全ての化学分子である。

【0089】

転写活性の検出および/または測定の方法は、当業者に知られている。特に言及すべきは、ノーザンブロット法とRT-PCR法であり、これらは、プローブまたはプライマーとしてそれぞれ使用される、本発明のポリヌクレオチドとともに実行することが可能である。

【0090】

検出、解析および/またはスクリーニングを行う、本発明による生物サンプルを構成するのは、好ましくは、例えばヒトまたは動物の血清、血液、尿などの体液、あるいはバイオブシーである。

【0091】

本発明の目的の一つはまた、リガンドを提供することであるが、該リガンドは、本発明のポリペプチドを自然にコードする遺伝子のインビトロおよび/またはインビボでの転写に影響を与え、および上記スクリーニング方法によって得られるものである。ムラミルペプチドファミリーの化合物のような、合成免疫調節薬、そして更に詳細には、ムラプチド(MB)は本発明によるリガンドを構成する。

【0092】

本発明はまた、ヒトの自己免疫疾患を診断する薬剤に関するものでもあり、その特徴は、前記診断薬剤が、本発明によるポリペプチド、本発明による抗イディオタイプ抗体、および本発明のポリペプチドを効果的に発現する能力のある発現ベクターで形質転換される本発明による宿主細胞の中から選ばれることである。本発明による診断薬を実現するある特殊な実施例において特徴となるのは、前記ポリペプチド、前記抗イディオタイプ抗体、そして前記抗イディオタイプ抗体の断片を、スペーサーアームを介して直接または間接に固体担体に連結し、そして場合によっては、シグナルを生成する標識で直接または間接に標識することであり；この標識は、放射性同位元素および非同位性の物から選ばれる。非同位性の物は、酵素、染料、ハプテン、放射線発光、化学発光、生物発光、蛍光またはリン光性のような発光剤、またはビオチン、アビジン、ストレプトアビジンまたはジオキシジェニンのようなリガンドから選ばれる。

【0093】

本発明はまた、診断キットに関するものでもあり、上記に規定したような診断薬を含むことを特徴とする。

【0094】

自己抗体の検出および測定に使用されるのは、AIDSやC型肝炎のような自己免疫疾患に類似の臨床的徴候を呈する自己免疫疾患または慢性ウイルス疾患の進行を診断し、かつ追跡するためである。臨床実験室では、抗核抗体に対抗する試験により、核の自己抗原に反応する自己抗体の存在を測定することが可能になる。この試験は、核抗原に対抗する自己抗体を検出するのに広く用いられ、また多くの自己免疫系の疾患の診断にも用いられる。それゆえ本発明が提案するのは、ヒトの生体液における抗Ro/SSA様自己抗体を検出する方法を提供することであり、それにより多くの自己免疫疾患の新規な診断試験を実現する。ヒトの生体液における抗Ro/SSA様自己抗体の検出方法が含むのは、次の手順、すなわち(i)前記生体液を、前記自己抗体がそれと反応することを特徴とする、本発明による診断薬と接触させること、そして(ii)形成された自己抗体/ポリペプチド複合体または自己抗体/抗イディオタイプ抗体複合体を実証することからなる。その方法による検出した自己抗体は、好ましくは、自己免疫疾患と関連のあるものであり、該疾患は、好ましくは全身性エリテマトーデス(SLE)およびシェーグレン症候群のグループ、AIDSまたはB型およびC型肝炎のような自己免疫徴候を呈する慢性病のグループ、そしてウイルス病のグループ、さらに好ましくはRNAウイルスに感染することによる病から選択される。この方法で検出される自己抗体はまた、細胞がストレスを受けた患者の生体液に存在するものでもよい。ストレスという用語は、細胞の反応を引き起こす、物理的、化学的または生物学的因子を指す。物理的因子の中で特に言及すべきは、とりわけベータ線、ガンマ線、X線、紫外線、赤外線、および可視光線である。同様に、好気性ないし嫌気性の培養条件、酸性、アルカリ性または中性の培地のpH、酸化剤(遊離基等)の濃度、または細胞および/または細胞外環境における別の因子の濃度は、物理特性のストレス因子となることがある。化学的因子という用語は、細胞あるいは細胞膜または細胞内の成分の一つと相互作用する能力のある化合物の一切を指し、例えば、エチジウムブロマイドまたはヨウ化プロピジウムの

ような挿入剤は、本発明による化合物を構成する。本発明の生物学的化合物は、生物学的細胞反応を引き起こす能力のある化合物のすべてに対応する。完全ではないが挙げられるのは、膜結合受容体と相互作用する分子全てであり、例えば細胞間コミュニケーション分子、ホルモン、サイトカイン、リンフォカイン、インターロイキン、または抗体などである。ウイルスもまた、本発明による生物学的因子となる。

【0095】

本発明はまた、上記の抗Ro/SSA様自己抗体の検出方法を実施するキットに関するものでもあり、このキットには、本発明による診断薬が少なくとも一つ含まれる。

【0096】

本発明のポリペプチドの治療用途の一つは、本発明の発現したポリペプチドを使うことからなり、それにより患者の循環する自己抗体を吸着する。したがって、本発明によるポリペプチド、または本発明による抗イディオタイプ抗体、またはその断片の一つを、固体相の粒子に結合させ、患者の生体液と接触させることができるが、それは例えば血漿交換療法、あるいは体外免疫吸着の際であり、それにより患者における抗Ro/SSA様自己抗体の循環レベルを下げる。本発明が提供するものは、抗Ro/SSA様自己抗体を含むことができるヒトの生体液を精製する方法であるが、該方法は次の手順、すなわち(i)本発明によるポリペプチド、または本発明による抗イディオタイプ抗体、またはその一断片と、前記生体液を接触させることであるが、それは自己抗体/ポリペプチド複合体の、または形成された自己抗体/抗イディオタイプ抗体複合体の形成が可能となる条件の下で行われ、(ii)生体液と手順(i)で形成された複合体を分離し、そして(iii)手順(ii)で得た生体液を回収することからなる。そのようにして精製され、上記の方法によって得ることが可能なヒトの生体液を、好ましくは全身性エリテマトーデス(SLE)とシェーグレン症候群のグループから選ばれる自己免疫疾患を患う患者の治療処置を目的とした組成物を調製するために使用することが可能である。

【0097】

精製され、かつ上記の方法を用いて得られたヒトの生体液はまた、細胞がストレス、好ましくは紫外線照射を受けた患者の治療処置を目的とした組成物の調製のために使用されうる。上記の方法によって得ることが可能な精製されたヒトの生体液はまた、好ましくはAIDS、B型またはC型肝炎から選ばれる、自己免疫的徴候をもつ、慢性的感染疾患を患う患者の治療処置を目的とした組成物を調製するために使用されうる。

【0098】

他のもう一つの局面では、本発明が関係する化合物は、本発明による、薬品、特に薬品の活性原理としての抗体、抗イディオタイプ抗体、ポリペプチド、ポリヌクレオチド、アンチセンスポリヌクレオチド、オリゴヌクレオチド、ベクター、アンチセンスベクター、細胞およびリガンドから選ばれることを特徴しており、これらの化合物は、好ましくは可溶性の形で、薬学的に受入れ可能な臍形剤と組み合わせられる。薬学的に受入れ可能な賦形剤という表現は、注射可能な組成物、すなわち生理食塩水または緩衝食塩水のような希釈剤または懸濁剤の調製に従来用いられるあらゆるタイプの賦形剤を指す。好ましくは、これら化合物が投与されるのは、全身から、特に静脈投与、筋肉内投与、皮内投与または経口投与による。それらの最適な投与方法、薬量、薬剤の形態の決定は、患者に適した処置確立を考慮した一般的な基準によって行われるが、それは例えば、患者の年齢または体重、病状全般の重篤性、治療への耐性、および観察される副作用等である。薬剤が、ポリペプチド、アンタゴニスト、リガンド、ポリヌクレオチド、例えばアンチセンス組成物、ベクター、また例えばアンチセンスベクターである場合には、ウイルス感染、マイクロインジェクションまたは小胞融合を含む一定数の方法で、宿主の組織または細胞に誘導することができる。Furth et al. (1992) による記載のように、筋肉内投与にはジェット注射を使用することも可能である。ポリヌクレオチドを金の微粒子に堆積させたり、粒子衝撃装置、または文献(例えばTang et al. (1992) 参照)に記載されたような「遺伝子銃」を使って皮下に該ポリペプチドを与えたりすることも可能であり、ここでは、金の微小発射体は本発明のポリヌクレオチド、好ましくは本発明のアンチセンスポリヌクレオチドで覆われており、そして皮膚細胞に打ち込

まれる。

【0099】

更に詳細には、本発明の薬品としての化合物は、好ましくは全身性エリテマトーデスとシェーグレン症候群のグループから選ばれた、自己免疫疾患の予防および/または治療を意図したものである。本発明がまた目的とするのは、全身性エリテマトーデスおよび/またはシェーグレン症候群の予防および治療処置のための薬学的組成物を提供することであり、その特徴は、本発明による化合物および薬学的に受入れ可能な賦形剤が治療に効果的な量で含まれていることである。この薬学的組成物が含み得るのは、更に詳細には、あらゆるアンチセンス配列またはそのような配列からなるベクター、またはムラブチドのようなあらゆる阻害剤である。

【0100】

本発明のRo/SSA様因子は、RNAウイルスのCIS作用因子(CIS-acting element)と相互作用する能力のある、細胞タンパク質である。実際、ウイルス複製に重要な配列が、ウイルスゲノムの5'末端と3'末端にあるのはよくあることである。このような配列の中で、特に言及すべきは、ウイルスゲノムの翻訳および/または転写に関わる配列であり、このような配列は一般的に、本発明のRo/SSA様タンパク質が相互作用することのできるループ構造(Stem loop)を形成する能力がある。そのような相互作用は、RNAゲルシフト法および/または紫外線共役実験によって当業者が実証することは容易である。それゆえ本発明のポリペプチドは、RNAウイルスのCIS作用因子と相互作用し、およびそれに伴い、RNAウイルス複製過程に介在する能力がある。したがって本発明の目的の一つは、本発明のポリペプチドと患者の細胞に感染したRNAウイルスのゲノム配列との相互作用を、抑制し、弱め、かつ/または妨げる能力をもつ、薬品としての化合物を提供することである。このような化合物の中で、更に具体的に言及すべきは、抗Ro/SSA様抗体、抗Ro/SSA様阻害剤、Ro/SSA様アンタゴニストである。同様に本発明の範囲にあるのは、ムラブチドのような本発明のスクリーニング方法により得ることができるリガンドを用いて、本発明のポリペプチドを自然にコードする遺伝子の

転写を抑制し、弱めかつ/またはなくすこと、あるいはアンチセンスポリヌクレオチドまたはアンチセンスベクターを用いて、本発明のポリペプチドと患者の細胞に感染したRNAウイルスのゲノム配列との相互作用を、直接または間接に、抑制し、弱めかつ/または妨げることである。その複製が本発明のリガンドまたは化合物によって影響を受け得るRNAウイルスの中で、完全ではない方法であるが、特に言及すべきは、(a)トガウイルス科のウイルス、そして特に詳細には、シンドビスウイルスのようなアルファウイルス、黄熱病ウイルスのようなフラビウイルス、風疹ウイルスのようなルビウイルス、ペスティウイルス；(b)コロナウイルス科；(c)レトロウイルス科、例えばオンコウイルス、スプマウイルス、そしてレンチウイルス、また更に詳細にはヒト後天性免疫不全症候群ウイルス(HIV)；(d)パラミクソウイルス科、例えばパラインフルエンザウイルス、センダイウイルス、ニューカッスル病ウイルス、麻疹ウイルスまたはムンプスウイルス；(e)オルトミクソウイルス科、例えば(A型、B型およびC型の)ヒト-インフルエンザウイルス；(f)ラブドウイルス科、例えば狂犬病ウイルス；(g)ブニヤウイルス科、例えばヒト脳炎ウイルス；(h)アレナウイルス科、例えばエボラウイルス、ラッサ熱ウイルス、タカリベ ピチンデ複合体ウイルスのような、ヒトにおける出血熱の原因となるもの；(i)ピコルナウイルス科、例えばヒトポリオウイルス、ライノウイルス(風邪ウイルス)、カルジオウイルス(脳心筋炎ウイルス、メンゴウイルス)、またはA型肝炎ウイルス、などである。それゆえ本発明が関係するのは、RNAウイルスに感染することで引き起こされる病から選ばれた疾患の予防および/または治療を意図した薬品としての本発明による化合物、ならびに好ましくはRNAウイルスに感染することで引き起こされる病から選ばれたウイルス性疾患の予防かつ/または治療のための処置の薬学的組成物に関するものであり、その特徴は、本発明による化合物、および薬学的に受入れ可能な賦形剤の、治療上効果的な量を含んでいることである。本発明の薬品としての化合物の中でも、Ro/SSA様ポリペプチドアンタゴニストの化合物が、ウイルス病の治療を意図した薬品の調製に特に好まれ、これらアンタゴニスト化合物の中でも、より具体的に言及すべきは、アンチセンスポリヌクレオチドおよび/またはアンチセンスベクターである。

【0101】

本発明はまた、AIDSまたはB型およびC型肝炎のような、自己免疫的徴候を有する慢性感染症病の予防および/または治療を意図した本発明による化合物にも関する。すなわち実証されていることは、あるHIV陽性の患者は、二本鎖DNA、ユビキチン残基を有するヒストンH2Aに由来する合成ペプチド、Sm-D抗原、RNP U1-A抗原、または60kDのRo/SSA抗原と反応する高いレベルの免疫グロブリンG(IgG)を発達させやすいことである(Muller et al., 1992)。本発明はまた、好ましくは、AIDS、B型およびC型肝炎の化合物から構成されるグループから選ばれた、自己免疫的徴候を有する慢性の感染症疾患の予防および治療用の薬学的組成物に関するものであり、該薬学的組成物の特徴は、本発明による化合物および薬学的に受入れ可能な賦形剤の治療上効果的な量を含んでいることである。

【0102】

更に詳細には、本発明は、自己免疫疾患、自己免疫的徴候を有する慢性の感染症病、およびヒト免疫不全ウイルス(HIV)によって引き起こされるものを除いたウイルス性病のグループから選ばれた疾患の、予防および/または治療用の処置を意図した薬品を調製するための、ムラミルペプチド、特にムラブチドの使用に関するものである。

【0103】

もう一つの実施例によれば、本発明によるRo/SSA様ポリペプチドの発現または活性の増大に関連する疾患の治療的または予防的処置の方法を提供することも、本発明の範囲内である。この方法には、本発明のポリペプチドのアンタゴニストの治療上効果を発揮する量を、そのような処置を必要とする患者に投与することを含む。

【0104】

より一般的な方法では、本発明は、本発明による化合物の使用に関するものであり、それにより患者の生体液に存在する抗-Ro/SSA様自己抗体を中和するための薬品を調製する。本発明は同時に、本発明によるアンチセンスポリヌクレオチドおよび/またはアンチセンスベクターの使用に関するものでもあり、そ

れにより本発明のRo/SSA様ポリペプチドの発現を減らす目的の薬品の調製をする。本発明はさらに、本発明による化合物の使用に関わるものであり、それによりRANウイルスによる感染の治療を目的とした薬品を調製する。

【0105】

本発明の他の特徴と利点は、以下に示す例を伴う説明において明らかになる。これらの例においては、以下の図を参照されたい。

【0106】

図1：Ro/SSA様タンパク質に対応するcDNAを得るために使用される方法

DD-RT-PCRによって得られる152bpの最初の断片は、上部の線に対応している。cDNAの3'領域は、3'RACE(cDNA末端の急速増幅)の後で得られ、得られた約2800bpの断片は、下部の線に対応しており、該断片は、256個のアミノ酸の長さのオープンリーディングフレームを示す。オリゴヌクレオチド96F3によるPCR反応(5'RACE)により、本発明者等は、cDNAのポリA+尾部を識別でき、該尾部は、最初にDD-RT-PCRによって得られた断片の3'に位置している。

【0107】

図2：256個のアミノ酸のオープンリーディングフレームと52kDaのヒトRo/SSAタンパク質との配列相同性

上部の線は、オープンリーディングフレームの256個のアミノ酸配列を示している。下部の線は52kDaのヒトRo/SSA様タンパク質の配列に対応している。中間の列が示すのは、アミノ酸の相同性または同等性である。

【0108】

図3：プライマー96R4(SEQ ID No11)および96R5(SEQ ID No12)を用いた5'RACEアプローチによるcDNAの5'領域を得るために用いられる方法

このアプローチにより得られたのは、ATG1と呼ばれる潜在的STARTコドン(ATG)を含む、約1000bpの断片(下部の線)である。

【0109】

図4：Ro/SSA様タンパク質(485aa)と52kDaのRo/SSAタンパク質(475aa)のアミノ酸配列のアラインメント

52kDa Ro/SSAタンパク質は、幾つかの特徴的なドメインからなり、領域16-54はジンクフィンガーモチーフを有し、領域91-123はBBoxと呼ばれる、システインおよびヒスチジンが豊富な領域(Cyst/His rich)であり、ドメイン190-245はロイシンジッパーモチーフを有する。

【0110】

図5：Ro/SSA様(Ro/SSA like)をコードするmRNA発現のノーザンプロット法による分析

(1)脾臓、(2)リンパ節、(3)胸腺、(4)PBMCs、(5)骨髄、(6)胎児肝臓。 -アクチン(-actine)のmRNAは、内部コントロールとして用いられる。

【0111】

図6：HIV陽性患者のPBMCsにおけるRo/SSA様タンパク質をコードするmRNAの差次的な発現の半定量的RT-PCR法による研究

研究は、培地におけるムラブチドのある状態(「ムラブチド(murabutide)」、および無い状態(「培地(medium)」)で行う。様々な量のマトリックスRNAを用いた。GAPDHの発現を、内部コントロールとして用いる。

【0112】

図7：組換えタンパク質(A)と様々な細胞抽出物(B)に対するマウス抗Ro/SSA様抗血清(抗SSA-56)の反応性

1μgのHis-SSA-56組換えタンパク質と130μgの細胞抽出物を、レーンごとに用いた。1はコントロールの健康なマウスを示し、2はAにおいて1/100まで、Bにおいて1/50まで希釈した抗SSA-56抗血清を示す。

【0113】

図8：従来のオクタロニー試験によって陰性（SSA⁻およびSSB⁻）と認定された10人のSS患者、および8人のSLE患者の血清をELISA法によって試験した抗SSAおよび抗SSB自己抗体の力価

それぞれの組換えタンパク質1 μ g/mlを、96ウェルプレートで標識した。血清を1/900にまで希釈した。水平の棒が示すのは、正の活性の区別をする数値であり、健康なコントロールで得た数値の平均値に標準偏差の二倍を足した値に対応している。

【0114】

図9：ウェスタンブロッティング法によって試験したHeLa細胞の抽出物に対する患者の血清の反応活性（A）、およびRo/SSA様組換えタンパク質（SSA-56）の反応性（B）

150 μ gの全抽出物をレーンごとにAについて用い、また1 μ gのHis-SSA-56をBについて用いた。（A）のレーン1、2および3は、3人の異なる患者の1/50にまで希釈された血清を示し、レーン4は健康なコントロールを示す。レーン5は1/50にまで希釈した健康なマウスの血清に対応しており、レーン6はマウス抗SSA-56抗血清に対応している。（B）のレーン1は健康なコントロールに対応しており、レーン2は1/20にまで希釈した患者の血清に対応している。

【0115】

図10：抗レトロウイルス治療（HAART）の前後に1/300でHIV陽性患者の血清についてELISA法で試験した抗SSA-56自己抗体の力価

【0116】

例

【0117】

例1：Ro/SSA様をコードする新規なポリヌクレオチド配列のクローニング方法

【0118】

ディファレンシャルディスプレイRT-PCR（DD-RT-PCR）の実験を、HIV陽性患者のPBMCsで行った。本発明者等は、HIV陽性患者のP

BMCをムラブチド(MB)で処理した後に、差次的に発現した130を越えるcDNA断片を選択した。これらの断片を、ベクターPcr2.1(Invitrogen)にサブクローニングし、つぎに自動シーケンス(ABI Prism 377, Perkin-Elmer)でシーケンスした。配列はデータバンクとNCBIのBasic Local Alignment Search Tool(Blast 2)サーバーを用いた相同性検索で分析した。

【0119】

DD-RT-PCRで得た長さ152bpの断片(SEQ ID No5)から、本発明者等は、96R:5'TGC GTT TAT TTC TCC A GT TTG GCC TAT TTT AAC 3'(SEQ ID No6)の二つの特異的なプライマーを合成し、それにより5'および3'RACE(cDNA末端の急速増幅)による第一の増幅を行った。したがって本発明者等は、96Rを用いた増幅により、約2800bpの断片(SEQ ID No7)を得ることができた。この断片を、幾つかの手順でシーケンスしたが、その配列に用いた内部プライマーは、396:5'GTG AGA AGT TTC AGA CCC AAA TAT 3'(SEQ ID No9)、395:5'CCA GCC GAT TAC TAG TAG AGA AAA AGC 3'(SEQ ID No10)、421:5'GCA TCT CGT C AG GCC GGC ACT ACT 3'(SEQ ID No11)、420:5'CTT GCT CCC TTA AGG CCA TTT CAG 3'(SEQ ID No12)である。2800bpの配列(SEQ ID No7)には、潜在的なStopコドンまでの256のアミノ酸のオープンリーディングフレーム(ORF)がある。

【0120】

本発明者等は、このORFをデータバンクにある配列と比較し、それにより、このORFと相対的相同性を示す相同タンパク質を識別した。本発明者等がまた識別したのは、(L-(X)₆-L-(X)₆-L-(X)₆)タイプのロイシンに富んだ配列からなる「ロイシンジッパー」タイプのドメインの存在である。更に詳細には、本発明者等が観察したことは、このORFはヒトの52kDARo

／SSAタンパク質と46%の同一性を示し、このリボ核タンパク質の機能は未だ知られておらず、また単一のポリペプチドとRNA分子からなるものであるが、該リボ核タンパク質は、細胞質中または核中、そして多くの哺乳類の細胞中に位置しているということである。少なくとも二つのアイソフォームが存在し、それらは様々な細胞型や組織で見られる。このタンパク質の特殊性は、RNA分子を結合させる能力にある。全身性エリテマトーデスやシェーグレン症候群を患う患者の血清には、正常な細胞タンパク質に対抗する抗体がしばしば存在する。注目すべきは、このORFには「ジンクフィンガー」ドメインはなく、一方でそれはRo/SSAタンパク質の中にあることである。

【0121】

cDNAの3'部分を得るため、本発明者等が合成したのは、プライマー96F3:(5' CCT GTC TGA GGC ATA GAG GCA GGC AAG CCG 3')(SEQ ID No13)であり、該プライマーは約500bpの断片を得ることを可能にし、該断片はDD-RT-PCRによって最初に得られた断片の3'にポリA+尾部が存在することを確かめることを可能にした。

【0122】

図1が示すのは、用いられた方法を図解したものであり、図2は約2800bpの断片の256個のアミノ酸オープンリーディングフレームと52kDaのヒトRo/SSAタンパク質との配列相同性を示す。

【0123】

約2800bpの配列(SEQ ID No7)は、ノーザンブロッティング法を行った後に得られたものに対応しなかった。したがって本発明者等は、この配列に基づき、二つのヌクレオチドプライマーを合成し、それにより新たな5'RACE反応を行った。このために、MBに刺激されていないHIV陽性患者のPBMCsの全RNAから新しい基質を合成し、増幅した。PCRはプライマー96R4(5'-CCT GGC TCT GCT GGA TGA GCT CGC TAT-3')(SEQ ID No14)と96R5(5'-TCA ACT CTG CAA TCA TCC TCC ACA GGA-3

') (S E Q I D N o 1 5) を用いて行い、クローニングされ、シーケンスされた約1000bpの断片 (S E Q I D N o 1 6) の存在を明らかにした。配列が示したのは、最初に得られた二つの S t o p コドンが再び見いだされないこと、さらにリーディングフレームはオープンのみであり、アミノ酸配列は52kDaのRo/SSAタンパク質とまた相同であることである。この断片には、STOPコドンに先行された潜在的なATGがある。リーディングフレームはここでは485aaである。プライマー96 R4およびR5を用いる5' RACEアプローチによってcDNAの5'領域を得るために用いた方法は、図3に示した。

【0124】

新しいプライマー96R6 (5' - T C A C C C T T C A G C C C C A T T C C T G G A T G T - 3') (S E Q I D N o 1 7) を用いて5' RACE反応を行い、それによりATG₁とその前にある S t o p コドンが存在することを確認した (図3) 。 P C R によって、約550bpの断片を増幅することが可能になり、該断片をクローニングし、シーケンスした。それにより、ATGの存在を確かめることが可能になった。新しい485のアミノ酸リーディングフレームと52kDaのRo/SSAタンパク質のアミノ酸アラインメントを、図4に示した。

【0125】

P C R は、P B M C s の R T (全 R N A の 逆 転 写 産 物) 上 の、 S T A R T 1 コドンとSTOPコドンとを含む特異的なプライマーによって行い、それによりRo/SSA様タンパク質をコードするcDNAのコピーを増幅した。本発明者等は、予想通りのサイズの断片を得て、該断片をクローニングし、シーケンスした。完全な核酸配列は、配列SEQ ID No1に対応している。オープンリーディングフレームは485aa (S E Q I D N o 2) である。

【0126】

核酸配列 (S E Q I D N o 1) を 様 々 な デ ー タ バ ン ク と 比 較 し た が、D D B J / E M B L / G e n B a n k デ ー タ バ ン ク の ア ク セ ッ シ ョ ン 番 号 A K 0 0 1 2 3 1 (S E Q I D N o 3) を 有 する ク ロ ー ン N T 2 R M 2 0 0 1 5 7 5 (

ホモサピエンス cDNA (FJ10369 fis) と部分的に相同であった。対応するタンパク質の生物活性の研究はまったく行われておらず、推定されたアミノ酸配列 (SEQ ID No 4) は、配列 SEQ ID No 2 に部分的に対応する。

【0127】

例2：対応する mRNA の発現の研究

【0128】

2.1. 様々な組織における mRNA 発現のノーザンブロッティング法による研究

【0129】

256個のアミノ酸のオープンリーディングフレームに対応する断片をプローブとして用いて、³²Pで標識した (Megaprime, Amersham)。脾臓 (1)、リンパ節 (2)、胸腺 (3)、PBMCs (4)、骨髄 (5) そして胎児肝臓 (6) に由来する 2 µg のポリA+RNA (Clontech) を有する膜のハイブリダイゼーションは、図5に示す結果を示した。

【0130】

注意すべきは、対応する mRNA の発現は、他のリンパ組織と比べ PBMCs では弱いということである。

【0131】

2.2. HIV陽性患者または健康なコントロールの PBMCs における mRNA の発現の半定量的 RT-PCR による研究

【0132】

2.2.1 PBMCs の単離と処理：

HIVに感染した患者 (P)、あるいはコントロールの健康なドナー (C) の PBMC を単離し、CD8+ (Dynabeads, Dynal) を消耗し、そして PHA (5 µg/ml) で3日間刺激する。つぎにそれらの細胞を、10% のウシ胎児血清 (FCS) を補った RPMI 培地に、インターロイキン2 (IL2) (10 U/ml) の存在下で、6ないし24時間、条件ごとに最低 $5 \cdot 10^6$ の細胞の割合でおき、ムラブチド (10 µg/ml) で処理、あるいは処理し

ないでよく。

【0133】

2.2.2 RT-PCR:

処理後、細胞のRNAを抽出し(RNAplus, Quantum-bioprobe)、つぎにDNアーゼ(Boehringer)で処理し、そしてMu-MLV逆転写酵素(Superscript II, Gibco)の存在下でオリゴ(dT)を用いて逆転写(RT)を行う。

【0134】

RTの質の検証をPCR(25サイクル)で行うが、用いるのはGAPDHの特異的なプライマー(5'GCC ATC AAT GAC CCC TTC ATT GAC 3')(SEQ ID No18)と(5'TGA CGA ACA TGG GGG CAT CAG CAG 3')(SEQ ID No19)であり、20、100そして500ngの全RNAからものである。本発明者等はつぎに、RT-PCR(35サイクル)を行ったが、その際Ro/SSA様をコードするmRNAに特異的なプライマー(5'GAA AGA GAG GTC GCA GAG GCC TGT 3')(SEQ ID No20)と(5'TGA TAA GGC TGA GGA AGG GAA ATG 3')(SEQ ID No21)を用いた。増幅のサイクル数は前もって決めておいた(35サイクル)。増幅した断片を、エチジウムブロマイドの存在下で、アガロースゲル(1%)上で視覚化して、つぎにImager master program(Pharmacia)を用いて定量化した。

【0135】

2.2.3 差次的な発現の評価:

希釈ごとに、研究された遺伝子で得られた数値を、GAPDHの数値と関連づける(率=R)。各患者に各時間ごとに(6ないし24時間)、ムラブチド処理した細胞のRを、未処理の細胞のそれと関連づける。つぎにその結果を、未処理の細胞に対する、遺伝子の発現の増大または抑制の%で表した。注意すべきは、希釈したものを試験すること、Rは僅かに変化しうることであり、Rの平均は、常に増幅の直線位相であるように注意して算出された。

【0136】

2.2.4 結果:

本発明者等は、Ro/SSA様タンパク質をコードするmRNAの差次的な発現を、10人のHIV陽性患者と8人の健康なコントロールについて、試験した。明らかになった結果は、ムラブチドで刺激した後、HIV陽性患者のPBMCsにおけるmRNAの発現が有意に抑制された(10人の患者のうち7人が40%を超える抑制を示した)ことであり、一方、健康なコントロールのPBMCsにおいては、抑制効果はそれより弱く、8人のうち3人でだけで観察された。図6は、ある患者で観察された抑制を示している。

【0137】

例3:大腸菌システム(pQE)における組換えタンパク質の発現

【0138】

3.1. 256aaリーディングフレームに対応する部分的組換えタンパク質の発現

PBMCsのcDNAでPCRを行い、ATG₂に対応するヌクレオチドプライマー(5'-GCA GCC CGG GCC ATG CAG AAA CTG GAG TTG-3')(SEQ ID No22)とSTOPに対応するヌクレオチドプライマー(5'-GGT GGT CTG CAG CTT AGT CCT CCC CAT CCA-3')(SEQ ID No23)を用いた。これらプライマーはそれぞれ、SmaIとPstI制限酵素に対応する制限部位がある。得られた断片を、ベクターpCR2.1(Invitrogen)へとクローニングした。

【0139】

ベクターpCR2.1(Invitrogen)にある挿入断片は、SacI酵素(ATG₂から11aaの位置にある部位)とPstI酵素(Stop)でベクターから除去し、つぎにベクターpQE30(SacI/PstI)へ挿入した。

【0140】

M15バクテリアを形質転換した後に、組換えタンパク質の発現をIPTGで

5時間誘発し、つぎにニッケルビーズ上で精製した。この精製は変性条件の下で行われたが、それにより0.1%のSDSの存在下で再溶解した組換えRo/SSA様タンパク質を得ることが可能になった。

【0141】

3.2. 組換えタンパク質に対抗する抗血清の獲得

5頭のマウス二群を、完全なフロイントアジュバントの存在下で、50 μ gまたは100 μ gの再溶解したタンパク質で免疫化し、そして第二の免疫化は、不完全なアジュバントの存在下で三週間後に行った。

【0142】

それらのマウスは、第一の免疫化(S1)の三週間後、そして第二の免疫化(S2)の一週間後に採血した。その血清を、ELISA法で、精製した組換えタンパク質で試験した。高い力価を示す血清が実験で使われたが、それはウェスタンブロッティング法で得られた膜における組換えタンパク質、ならびにHIV陽性患者のPBMCsからの全抗原抽出物に存在する天然タンパク質を検出するためである。三つの血清が、異なる二人の患者のPBMCsからの抗原抽出物で試験された。

【0143】

3.3. 485aaオープンリーディングフレームに対応する全組換えタンパク質の発現

PBMCsのcDNAでPCRを行い、それには、ATG₁に対応するヌクレオチドプライマー(5'-TGA GAA GCA TGC ATG GAT CCC ACA GCC TTG-3')(SEQ ID No24)とSTOPに対応するヌクレオチドプライマー(5'-GTG GTA CCC GGG TTA GTC CTC CCC ATC CAG-3')(SEQ ID No25)を用いた。断片を、ベクターpCR2.1へとクローニングし、ついでシークエンスした。

【0144】

断片は、Sph1とSma1酵素で消化し、ついでベクターpQ80に挿入した。§3.1で記載した点に従って、精製を行った。本発明者等は、58kDa

の期待したサイズの組換えタンパク質だけでなく、51および34kDaのサイズの二つの分解産物も得た。

【0145】

そのように発現したタンパク質を、3.2章で記載した条件に従って、マウスの免疫化に用いた。

【0146】

例4：真核生物システムにおける組み換えタンパク質の発現

【0147】

相同Ro/SSAタンパク質が哺乳類細胞の細胞質または核において発現することから、本発明者等は、真核細胞において組換えタンパク質が過剰発現する方法を明らかにし、それがHIV制御において果たす役割を評価した。

【0148】

このために、cDNAの完全なコピーを増幅したが、それに用いたプライマーは、96 GFP Xho I (5' - GTG TGA CTC GAG ACC ATG GAT CCC ACA GCC - 3') (SEQ ID No 26) および96 GFP Eco RI (5' - CCG GAA TTC CGT CCT CCC CAT CCA GGG A - 3') (SEQ ID No 27) であり、該コピーをXho I / Eco RIで消化したベクターpEGFPへとクローニングし、つぎにシーケンスした。GFPをコードするcDNAは、クローニングした挿入断片の3'である。

【0149】

さらに、cDNAの完全なコピーを増幅したが、それに用いたプライマーは、96 His RI (5' - CCG GAA TTC ACC ATG GAT CCC ACA GCC - 3') (SEQ ID No 28) および96 His Xho I (5' - GCT TTC CTC GAG GTC CTC CCC ATC CAG GGA - 3') (SEQ ID No 29) であり、該コピーを、Eco RI / Xho Iで消化したベクターpcDNA₆へとクローニングした。このシステムにおいて、タンパク質を6つのヒスチジンと一つのV5タンパク質に融合する。

【0150】

全組換えタンパク質を用いてマウスを免疫化し、抗血清が得られるようにした。この血清は、ウェスタンブロッティング法で、全組換えタンパク質を、ならびに分解産物をも認識する(図7A)。抗血清が認識するのは、HeLa、Jurkat、Molt4およびU937細胞のタンパク質抽出物における、対応する天然タンパク質であり、そのサイズは約63kDaである(図7B)。天然タンパク質の細胞位置決定を、マウス抗血清を使ってHeLa細胞での免疫蛍光法によって行った。タンパク質は、細胞質に位置しており、しかも核の回り(核周辺)にさらに強く存在する。

【0151】

例5：組換えタンパク質に対するモノクローナル抗体の作成

【0152】

組換えタンパク質で免疫化したマウスに由来する脾臓細胞をSP20骨髓腫細胞と融合させた後、ハイブリドーマを得た。Kohler et Milstein(1976)の方法により選択した後、組換えタンパク質に対抗する抗体の存在を、ハイブリドーマの上澄みにおいて、ELISA法により検出する。陽性ハイブリドーマをつぎに、限界希釈法によりクローニングして、それにより単一のエピトープに対抗するモノクローナル抗体を分泌する単細胞を得る。上澄みを、ELISA法とウェスタンブロッティング法で試験する。組換えタンパク質全体、ならびに分解産物をも認識する陽性クローンを選択した。このクローンJE5の特異性の検証は、ELISA法による、Ro/SSA様(SSA-56)タンパク質と同様の細菌発現システムで生産される他の抗原に対して行い、それを以下の表Iに要約する。留意すべきは、抗SSA-56モノクローナル抗体JE5は、SS自己抗原ファミリー(SSA-52、60およびSSB-48)に属する他のタンパク質は認識しないことである。

【0153】

【表1】

【表1】

試験対象の タンパク質	1/100での吸光値	
	モノクローナル JE5 (抗 SSA-56)	コントロール SP20
SSA-56	2.3	0.058
SSA-52	0.082	0.059
SSA-60	0.074	0.068
SSB-48	0.074	0.051
ヘリカーゼ	0.093	0.055
HIV Tat	0.078	0.068
HIV Nef	0.075	0.056

【0154】

例6：シェーグレン症候群を患う患者の血清中の抗Ro/SSA様自己抗体の実証

【0155】

6.1 ELISA法による分析

新規なRo/SSA様(SSA-56)タンパク質が、シェーグレン症候群のようなある自己免疫疾患に存在する自己抗体の標的になり得るかを分析するために、本発明者等は、6人の患者の血清を試験し、それにより本発明のRo/SSA様タンパク質に対抗する抗体の存在を研究した。本発明者等はまた、その疾患の徴候がまったくない、5人の健康なドナーの血清も分析した。

【0156】

患者等の分析は、病院の検査室で、抗SSAまたは抗SSB抗体、または抗SSAおよび抗SSB抗体を持つもの、もしくは持たないもので行った。その分析はELISA法で行ったが、これを行うために、96ウェルプレートのウェルを、本発明のRo/SSA様タンパク質で覆い、血清を様々に希釈して培養し、抗体の存在をペルオキシダーゼと結合した抗ヒトIgG抗体で明らかにした。酵素活性をペルオキシダーゼ基質(O-フェニレンジアミン)で明らかにし、各ウェルの吸光度を、ELISAプレート分光光度計での読取り後に得る。その結果を

以下の表 I I に示す。

【0157】

【表2】

【表2】

被験者	抗 SSA/SSB 抗体の存在	希釈された血清の吸光度として 測定された抗 Ro/SSA 様 自己抗体の力価		
		1/500	1/100	
健康なドナー				
1	-	0.12	0.22	(-)
2	-	0.10	0.17	(-)
3	-	0.10	0.19	(-)
4	-	0.19	0.30	(-)
5	-	0.18	0.30	(-)
シェーグレン症候群				
1	SSA- / SSB-	0.14	0.23	(-)
2	SSA- / SSB-	0.51	1.00	(+)
3	SSA+ / SSB-	0.11	0.17	(-)
4	SSA+ / SSB-	0.21	0.38	(+)
5	SSA- / SSB+	0.41	0.51	(+)
6	SSA+ / SSB+	0.37	0.63	(+)

【0158】

これらの結果が明らかに示すのは、シェーグレン症候群を患う患者（患者6人中の4人）の血清におけるRo/SSA様タンパク質に対する自己抗体の存在である。最も興味深い所見は、抗SSA抗体と抗SSB抗体をもたない患者2は、本発明の新規なRo/SSA様タンパク質に対して、最も陽性であることである。このことが示すのは、その新規なタンパク質には、疾患の診断を確実にする上でかなりの価値があるであろうこと、そして該タンパク質が、SS抗原ファミリーの新しいメンバーの発見を確実にすることである。

【0159】

6人のSS患者についてなされた、先に行った分析は、25人のSS患者と、22人のSLE患者、および25人の健康なコントロールの分析により完了した。患者の各血清を、ELISA法で組換えSSA-52、SSA-60、SSB-48そしてSSA-56タンパク質に対して試験した（表III）。その結果

が示すことは、SSA-52、SSA-60そしてSSB-48タンパク質に対する自己抗体を持つか、持たないSSおよびSLEの患者に、抗SSA-56（抗Ro/SSA様）自己抗体が存在することである。

【0160】

診断のための患者の血清における抗SSA-56自己抗体の存在の重要性を示すために、本発明者等は、診断のための従来のオクタロニー法で陰性と認定されたSSとSLE患者を選んだ。選ばれた18人の患者の中で、SSB-48について陽性であったものは一人もおらず、4人はSSA-52について陽性、3人はSSA-60について陽性であった。これらの患者のうち、12人はSSA-56について陽性であり、それが示すことは、他のSSAとSSBについて陰性の患者には、抗SSA-56自己抗体があることである（図8）。これらの結果が示すのは、SSまたはSLEを患う患者の診断を確実にする上での、Ro/SSA様（SSA-56）タンパク質の重要性である。

【0161】

【表3】

【表3】
健康なコントロール、SS患者およびSLE患者の血清における
組換えSSAおよびSSBタンパク質に対抗する抗体の力価

試験対象 の抗原	健康なコントロール (n=25)	SS患者 (n=25)	SLE患者 (n=22)
	平均吸光度*		
SSA-56 (Ro/SSA様)	0.15 (0.19 ± 0.02) †	0.45 § (0.59 ± 0.11)	0.46 § (0.49 ± 0.06)
SSA-52	0.15 (0.14 ± 0.01)	0.26 § (1.11 ± 0.25)	0.20 (1.16 ± 0.28)
SSA-60	0.16 (0.20 ± 0.02)	0.29 § (0.66 ± 0.19)	0.36 § (0.12 ± 0.23)
SSB-48	0.07 (0.08 ± 0.01)	0.07 (0.38 ± 0.15)	0.10 § (0.51 ± 0.21)

* 血清を1/900に希釈したもので試験

† 平均 ± 標準偏差

§ 健康なコントロールに対応する値との有意差 (p<0.05);
マン・ホイットニーのU検定 (Mann Whitney U Rank test)

【0162】

6.2 ウェスタンブロッティング法による分析

本発明者等は、ウェスタンブロッティング法により組換えタンパク質に対する患者の血清の反応性を試験した(図9B)。該血清は、組換えタンパク質の様々な断片を認識する。患者の血清が天然のタンパク質を認識するか検証するために、本発明者等はHeLa細胞の抽出物でウェスタンブロッティング法を行った(図9A)。患者第1号は、天然のSSA-52タンパク質を認識し、そしてSSA-60の認識はそれより弱かった。患者第2号は、SSA-52、SSA-60、SSB-48そしてSSA-56を認識するが、一方、患者第3号は、SSA-56タンパク質のみを認識した。患者第4号は、健康なコントロールに対応している。天然のタンパク質のサイズの決定は、抗SSA-56マウスポリクローナル(レーン6)によって認識されるタンパク質のサイズに応じて行う。

【0163】

例7：抗レトロウイルス治療(HAART)の前後のHIV患者の血清中の抗Ro/SSA様(抗SSA-56)自己抗体の実証

【0164】

抗Ro/SSA自己抗体の存在は、AIDSなどの自己免疫疾患に類似の臨床的徴候を呈する慢性のウイルス性疾患において実証された。本発明者等が分析したのは、HAARTでの処置の前後のHIV陽性患者の血清における抗SSA-56(抗Ro/SSA様)自己抗体の存在である(図10)。32人の健康なコントロールと32人のHIV陽性患者とを、組換えSSA-56タンパク質に対してELISA法で分析した。その結果が示すことは、治療前にHIV陽性患者にSSA-56自己抗体が存在すること、そしてこれら抗体の力価は、抗レトロウイルス治療の後では有意に減少することである。このことが示すことは、HIV陽性患者で免疫系が過度に活性化されること、そしてRo/SSA様(SSA-56)タンパク質が、HIVに臨床的に感染した患者の宿主のタンパク質に対する自己免疫反応の(数あるうちの)一つの標的であることである。

【0165】

参考文献

- Buckholz, (1993), *Curr. Op. Biotechnology* 4, 538.
- Carter, (1993) *Curr. Op. Biotechnology* 3, 533.
- Duck et al. (1990), *Biotechniques*, 9, 142.
- Edwards et Aruffo (1993), *Curr. Op. Biotechnology*, 4, 558.
- Epstein (1992) *Medecine/Sciences*, 8, 902.
- Furth et al. (1992) *Anal. Biochem.* 205: 365.
- Gorbalenya et al. 1988 *Nature* 333:22
- Guatelli et al. (1990), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87:1874.
- Kievitis et al. (1991), *J. Virol. Methods*, 35, 273.
- Kohler et Milstein (1975) *Nature* 256, 495.
- Kohler et Mistein (1976) *Eur J Immunol* 6:511.
- Kwoh, et al. (1989), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 86, 1173.
- Landegren et al. (1988) *Science* 241, 1077.
- Linder et al. 1989, *Nature* 337:121-122
- Lopez-Luna et al. (1995) *Scand. J. Rheumatol.* 24:293-299
- Luckow (1993), *Curr. Op. Biotechnology* 4

, 564 .

Luking . et al . (1998) 33 : 259 - 296

Matthews et al . (1988) , Anal . Biochem . ,
169 , 1 - 25 .

Miele et al . (1983) , J . Mol . Biol . , 171 , 2
81 .

Muller et al . (1992) Aids 6 : 933 .

Neddleman et Wunsch (1970) J . Mol . Biol .
48 : 443

Olins et Lee (1993) , Curr . Op . Biotechno
logy 4 : 520 .

Pause and Sonenbery , 1992 , EMBO J . 11 : 2
643 - 2654

Pearson et Lipman (1988) Proc . Natl . Aca
d . Sci . USA 85 : 2444

Perricaudet et al . (1992) , La Recherch
e 23 : 471 .

Rader et al . (1989) , J . Clim . Invest . 83 :
1293 - 1298 .

Rohlmann et al . (1996) Nature Biotech .
14 : 1562 .

Rolfs , A . et al . (1991) , Berlin : Springer
- Verlag .

Schartw et al . Fundamental Immunology
 , Second Edition , Paul W . E . Edition Rav
en Press , New York (1984) pp . 816 - 866) .

Segev , (1992) , Kessler C . Springer Verl
ag , Berlin , New - York , 197 - 205 .

Sibilia , (1998) , Rev . Rhum . 65 : 45 - 57 .

Smith et Waterman (1981) Ad. App. Math. 2
: 482

Stewart et Yound (1984), Solid phase p
eptides synthesis, Pierce Chem. Compan
y, Rockford.

Tang et al. (1992) Nature 356:152.

Temin, (1986) Retrovirus vectors for g
ene transfer. In Kucherlapati R., ed.
Gene Transfer.

Walker et al. 1982, EMBO J. 1:945-951

【0166】

【図面の簡単な説明】

【図1】Ro/SSA様タンパク質に対応するcDNAを得る方法を示した図。

【図2】アミノ酸のオープンリーディングフレームと52kDaのヒトRo/SSAタンパク質との配列相同性を示した図。

【図3】プライマー96R4 (SEQ ID No11) および96R5 (SEQ ID No12) を用いた5' RACEアプローチによる、cDNAの5'領域を得る方法を示した図。

【図4】: Ro/SSA様タンパク質(485aa)と52kDaのRo/SSAタンパク質(475aa)のアミノ酸配列のアラインメントを示した図。

【図5】Ro/SSA様をコードするmRNA発現のノーザンプロット法による分析結果を示した図。

【図6】HIV陽性患者のPBMCsにおけるRo/SSA様タンパク質をコードするmRNAの発現の半定量的RT-PCRを示した図。

【図7】組換えタンパク質(A)と様々な細胞抽出物(B)に対するマウス抗Ro/SSA様抗血清(抗SSA-56)の反応性を示した図。

【図8】従来のオクタロニー試験によって陰性(SSA⁻およびSSB⁻)と認定されたSS患者、およびSLE患者の血清のELISA法による試験結果を

示した図。

【図9】H e l a細胞の抽出物に対する患者の血清（A）、およびR o / S S A様組換えタンパク質（S S A - 5 6）（B）に対するウェスタンブロッティング法の結果を示した図。

【図10】抗レトロウイルス治療（H A A R T）の前後のH I V陽性患者の抗S S A - 5 6自己抗体に対するE L I S A法の結果を示したグラフ。

【配列表】

LISTE DE SEQUENCES

<110> ISTAC

<120> Polypeptide RO/SSA-Like et ses fragments et
 polynucléotides codant lesdits polypeptides et
 application au traitement des maladies auto-immunes

<130> d18867

<160> 29

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 3332

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (244)..(1701)

<400> 1

```

acgcgggggc gggctactgg gcctgcgctg ccgggctttg ggttctgggc ctctgccgct 60
ctctggccct aagtgetgag ctgccgggaa cggcagcttc tgacgctggg ccattggacg 120
ctgcggaacc aggettcttc actttgagtt tccgccgga agccagtc cgggccgagg 180
agggagcctt tactacttct ccttggttct atccatgttc tgaggagggt gtgagaagga 240
acc atg gat ccc aca gcc ttg gtg gaa gcc att gtg gaa gaa gtg gcc 288
  Met Asp Pro Thr Ala Leu Val Glu Ala Ile Val Glu Glu Val Ala
    1          5          10          15
tgt ccc atc tgt atg acc ttc ctg agg gag ccc atg agc att gac tgt 336
  Cys Pro Ile Cys Met Thr Phe Leu Arg Glu Pro Met Ser Ile Asp Cys
    20          25          30
ggc cac agc ttc tgc cac agc tgt ctc tct gga ctc tgg gag atc cca 384
  Gly His Ser Phe Cys His Ser Cys Leu Ser Gly Leu Trp Glu Ile Pro
    35          40          45
gga gaa tcc cag aac tgg ggt tac acc tgt ccc ctc tgt cga gct cct 432
  Gly Glu Ser Gln Asn Trp Gly Tyr Thr Cys Pro Leu Cys Arg Ala Pro
    50          55          60
gtc cag cca agg aac ctg cgg cct aat tgg cag ctg gcc aat gtt gta 480
  Val Gln Pro Arg Asn Leu Arg Pro Asn Trp Gln Leu Ala Asn Val Val
    65          70          75
gaa aaa gtc cgt ctg cta agg cta cat cca gga atg ggg ctg aag ggt 528
  Glu Lys Val Arg Leu Leu Arg Leu His Pro Gly Met Gly Leu Lys Gly
    80          85          90          95
gac ctg tgt gag cgc cat ggg gaa aag ctg aag atg ttc tgc aaa gag 576
  Asp Leu Cys Glu Arg His Gly Glu Lys Leu Lys Met Phe Cys Lys Glu
    100          105          110

```

gat gtc ttg ata atg tgt gag gcc tgc agc cag tcc cca gag cat gag	624
Asp Val Leu Ile Met Cys Glu Ala Cys Ser Gln Ser Pro Glu His Glu	
115 120 125	
gcc cac agt gtt gtg cca atg gag gat gtt gcc tgg gag tac aag tgg	672
Ala His Ser Val Val Pro Met Glu Asp Val Ala Trp Glu Tyr Lys Trp	
130 135 140	
gaa ctt cat gag gcc ctc gaa cat ctg aag aaa gag caa gaa gag gcc	720
Glu Leu His Glu Ala Leu Glu His Leu Lys Lys Glu Gln Glu Glu Ala	
145 150 155	
tgg aag ctt gaa gtt ggt gaa agg aaa cga act gcc acc tgg aag ata	768
Trp Lys Leu Glu Val Gly Glu Arg Lys Arg Thr Ala Thr Trp Lys Ile	
160 165 170 175	
cag gtg gaa acc cga aaa cag agt att gta tgg gag ttt gaa aaa tac	816
Gln Val Glu Thr Arg Lys Gln Ser Ile Val Trp Glu Phe Glu Lys Tyr	
180 185 190	
cag cga tta cta gag aaa aag cag cca cca cat cgg cag ctg ggg gca	864
Gln Arg Leu Leu Glu Lys Lys Gln Pro Pro His Arg Gln Leu Gly Ala	
195 200 205	
gag gta gca gca gct ctg gcc agc cta cag cgg gag gca gcg gag acc	912
Glu Val Ala Ala Ala Leu Ala Ser Leu Gln Arg Glu Ala Ala Glu Thr	
210 215 220	
atg cag aaa ctg gag ttg aac cat agc gag ctc atc cag cag agc cag	960
Met Gln Lys Leu Glu Leu Asn His Ser Glu Leu Ile Gln Gln Ser Gln	
225 230 235	
gtc ctg tgg agg atg att gca gag ttg aaa gag agg tgc cag agg cct	1008
Val Leu Trp Arg Met Ile Ala Glu Leu Lys Glu Arg Ser Gln Arg Pro	
240 245 250 255	
gtc cgc tgg atg ttg cag gat att cag gaa gtg tta aac agg agc aaa	1056
Val Arg Trp Met Leu Gln Asp Ile Gln Glu Val Leu Asn Arg Ser Lys	
260 265 270	
tct tgg agc ttg cag cag cca gaa cca atc tcc ctg gag ttg aag aca	1104
Ser Trp Ser Leu Gln Gln Pro Glu Pro Ile Ser Leu Glu Leu Lys Thr	
275 280 285	
gat tgc cgt gtg ctg ggg cta aga gag atc ctg aag act tat gca gct	1152
Asp Cys Arg Val Leu Gly Leu Arg Glu Ile Leu Lys Thr Tyr Ala Ala	
290 295 300	
gat gtg cgc ttg gat cca gat act gct tac tcc cgt ctc atc gtg tct	1200
Asp Val Arg Leu Asp Pro Asp Thr Ala Tyr Ser Arg Leu Ile Val Ser	
305 310 315	
gag gac aga aaa cgt gtg cac tat gga gac acc aac cag aaa ctg cca	1248
Glu Asp Arg Lys Arg Val His Tyr Gly Asp Thr Asn Gln Lys Leu Pro	
320 325 330 335	
gac aat cct gag aga ttt tac cgc tat aat atc gtc ctg gga agc cag	1296
Asp Asn Pro Glu Arg Phe Tyr Arg Tyr Asn Ile Val Leu Gly Ser Gln	
340 345 350	
tgc atc tcc tca ggc cgg cac tac tgg gag gtg gag gtg gga gac agg	1344

Cys Ile Ser Ser Gly Arg His Tyr Trp Glu Val Glu Val Gly Asp Arg	
355	360 365
tct gaa tgg ggc ctg gga gta tgt aag caa aat gta gac cgg aag gag	1392
Ser Glu Trp Gly Leu Gly Val Cys Lys Gln Asn Val Asp Arg Lys Glu	
370	375 380
gtg gtc tac tta tcc ccc cac tat gga ttc tgg gtg ata agg ctg agg	1440
Val Val Tyr Leu Ser Pro His Tyr Gly Phe Trp Val Ile Arg Leu Arg	
385	390 395
aag gga aat gag tac cga gca ggc acc gat gag tac cca atc ctg tcc	1488
Lys Gly Asn Glu Tyr Arg Ala Gly Thr Asp Glu Tyr Pro Ile Leu Ser	
400	405 410 415
ttg ccg gtc cct cct cgc cgg gtg gga atc ttc gtg gat tat gag gcc	1536
Leu Pro Val Pro Pro Arg Arg Val Gly Ile Phe Val Asp Tyr Glu Ala	
420	425 430
cat gac att tct ttc tac aat gtg act gac tat ggc tcc cac atc ttc	1584
His Asp Ile Ser Phe Tyr Asn Val Thr Asp Tyr Gly Ser His Ile Phe	
435	440 445
act ttc ccc cgc tat ccc ttc cct ggg cgc ctc ctg ccc tat ttt agt	1632
Thr Phe Pro Arg Tyr Pro Phe Pro Gly Arg Leu Leu Pro Tyr Phe Ser	
450	455 460
cct tgc tac agc att gga acc aac aac act gct cct ctg gcc atc tgc	1680
Pro Cys Tyr Ser Ile Gly Thr Asn Asn Thr Ala Pro Leu Ala Ile Cys	
465	470 475
tcc ctg gat ggg gag gac taa gaaagctacc accctaacca cagaggcttg	1731
Ser Leu Asp Gly Glu Asp	
480	485
gaattgggcc tggcccccatt ggggcttgga ggaccgagcc actgacaggt atccccgaa	1791
actgagctga gccagctatc caaggattcc tctgtctgat cctttggtct ttgctaccag	1851
gctgaagtct gtcattgaaac cacttatttt aaaaagcaga ggcccagtc aatgagcatt	1911
gcatcccattg aggaagcac gacagggctg atggtgagga tcagagcagt tctaagtgga	1971
ctcgttgggg taaggatcag gactttgtcc attgtagtag ccaaccacc tcttccctga	2031
ttcccgtccg gtgtcacagt tcagtcagtg aggatgatga agtagatata gtcttcagga	2091
caccattaga tgggctttcc caataggcca aaaaaatgct gcgcataacc agagctgggt	2151
gttgtgctga gcccagtcag aggatgcttc ccctgagggt tgctataact aatcaacctt	2211
tatgtgactc tcaoctctg acctoctggc aagagaatt cagtgcagca gggggacaca	2271
gacctgcca agccaccca ctgcccctcc ctctctgagc acaagctggg caaatcactg	2331
tcocctggac tccagtagac cagtgtccta agtcttgcct tttttctcta agtggcagga	2391
tcagaaaacc tgcgaagctt tagtttgtat tttcacactt ttatgaatga ggaaactgaa	2451
aatggcctta agggagcaag ttatttcttt ttttttgaca cggagtctcg ctctgttgcc	2511

caggctggag tgcagtgcca cgatctcggc tcaactgcagg ctctgcctcc tgggttcacg 2571
 ccattctcct gcctcagctt cccgagtagc tgggactaca ggcgcccacc acgacgcctg 2631
 gctcattttt ttgtattttt agtagagacg gggtttcacc atgttagcta ggatggcttc 2691
 gatctcctga cctcatgac cgcctcctc agcctcccaac agtgotggga ttagagggcat 2751
 gagccaactgc gcccggcccc tggagcaagt tatttcttac aaagctgctg aaggtaagat 2811
 tatcaaaatt ataaagcatt tttcacactc aagtgaaca aggttgacaa actcacttcg 2871
 caggtcacat gcctatacat cacttattat atttgggtct gaaacttctc acatgtttgg 2931
 gaggttttat gtgtcctcat tgggaaaatg ggtgtaattc agcataaaac ctcatatgat 2991
 tgtctgcct catggagctg ttgtatagat cccagatcca tcccagatgatt tgttctgtc 3051
 tgaggcatag aggcaggcaa gccgtggatt ttgcacatgg tgactttccc actgtgccat 3111
 gatacagtct gcacttata gcagtgcctt tgtctcaggg cctctgctgg cagtctagac 3171
 cttttgggca gaaaggagct tcaaattggct gtgataagga atattaataa ttgtgtttct 3231
 actttaattg tattggotgt tcatgtatgt aggagttaa taggccaaac tggagaaata 3291
 aacgcattct gtccgaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa a 3332

<210> 2

<211> 485

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Met Asp Pro Thr Ala Leu Val Glu Ala Ile Val Glu Glu Val Ala Cys
 1 5 10 15
 Pro Ile Cys Met Thr Phe Leu Arg Glu Pro Met Ser Ile Asp Cys Gly
 20 25 30
 His Ser Phe Cys His Ser Cys Leu Ser Gly Leu Trp Glu Ile Pro Gly
 35 40 45
 Glu Ser Gln Asn Trp Gly Tyr Thr Cys Pro Leu Cys Arg Ala Pro Val
 50 55 60
 Gln Pro Arg Asn Leu Arg Pro Asn Trp Gln Leu Ala Asn Val Val Glu
 65 70 75 80
 Lys Val Arg Leu Leu Arg Leu His Pro Gly Met Gly Leu Lys Gly Asp
 85 90 95
 Leu Cys Glu Arg His Gly Glu Lys Leu Lys Met Phe Cys Lys Glu Asp
 100 105 110
 Val Leu Ile Met Cys Glu Ala Cys Ser Gln Ser Pro Glu His Glu Ala
 115 120 125
 His Ser Val Val Pro Met Glu Asp Val Ala Trp Glu Tyr Lys Trp Glu
 130 135 140

Leu His Glu Ala Leu Glu His Leu Lys Lys Glu Gln Glu Glu Ala Trp
 145 150 155 160
 Lys Leu Glu Val Gly Glu Arg Lys Arg Thr Ala Thr Trp Lys Ile Gln
 165 170 175
 Val Glu Thr Arg Lys Gln Ser Ile Val Trp Glu Phe Glu Lys Tyr Gln
 180 185 190
 Arg Leu Leu Glu Lys Lys Gln Pro Pro His Arg Gln Leu Gly Ala Glu
 195 200 205
 Val Ala Ala Ala Leu Ala Ser Leu Gln Arg Glu Ala Ala Glu Thr Met
 210 215 220
 Gln Lys Leu Glu Leu Asn His Ser Glu Leu Ile Gln Gln Ser Gln Val
 225 230 235 240
 Leu Trp Arg Met Ile Ala Glu Leu Lys Glu Arg Ser Gln Arg Pro Val
 245 250 255
 Arg Trp Met Leu Gln Asp Ile Gln Glu Val Leu Asn Arg Ser Lys Ser
 260 265 270
 Trp Ser Leu Gln Gln Pro Glu Pro Ile Ser Leu Glu Leu Lys Thr Asp
 275 280 285
 Cys Arg Val Leu Gly Leu Arg Glu Ile Leu Lys Thr Tyr Ala Ala Asp
 290 295 300
 Val Arg Leu Asp Pro Asp Thr Ala Tyr Ser Arg Leu Ile Val Ser Glu
 305 310 315 320
 Asp Arg Lys Arg Val His Tyr Gly Asp Thr Asn Gln Lys Leu Pro Asp
 325 330 335
 Asn Pro Glu Arg Phe Tyr Arg Tyr Asn Ile Val Leu Gly Ser Gln Cys
 340 345 350
 Ile Ser Ser Gly Arg His Tyr Trp Glu Val Glu Val Gly Asp Arg Ser
 355 360 365
 Glu Trp Gly Leu Gly Val Cys Lys Gln Asn Val Asp Arg Lys Glu Val
 370 375 380
 Val Tyr Leu Ser Pro His Tyr Gly Phe Trp Val Ile Arg Leu Arg Lys
 385 390 395 400
 Gly Asn Glu Tyr Arg Ala Gly Thr Asp Glu Tyr Pro Ile Leu Ser Leu
 405 410 415
 Pro Val Pro Pro Arg Arg Val Gly Ile Phe Val Asp Tyr Glu Ala His
 420 425 430
 Asp Ile Ser Phe Tyr Asn Val Thr Asp Tyr Gly Ser His Ile Phe Thr
 435 440 445
 Phe Pro Arg Tyr Pro Phe Pro Gly Arg Leu Leu Pro Tyr Phe Ser Pro
 450 455 460

Cys Tyr Ser Ile Gly Thr Asn Asn Thr Ala Pro Leu Ala Ile Cys Ser
465 470 475 480

Leu Asp Gly Glu Asp
485

<210> 3
<211> 2558
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 3
gaactgccac ctggaagata caggtggaaa cccgaaaaca gagtattgta tgggagtttg 60
aaaaatacca gcgattacta gagaaaaagc agccaccaca tcggcagctg ggggcagagg 120
tagcagcagc tctggccagc ctacagcggg aggcagcggg gaccatgcag aaactggagt 180
tgaaccatag cgagctcatc cagcagagcc aggtcctgtg gaggatgatt gcajagttga 240
aagagaggtc gcagaggcct gtccgctgga tgttcagga tattcaggaa gtgtaaaca 300
ggagccaaatc ttggagcttg cagcagccag aaccaatctc cctggagttg aagacagatt 360
gccgtgtgct ggggctaaga gagatcctga agacttatgc agctgatgtg cgcttgatc 420
cagatactgc ttactccogt ctcactcgtg ctgaggacag aaaacgtgtg cactatggag 480
acaccaacca gaaactgccg gacaatcctg agagatttta ccgctataat atcgtcctgg 540
gaagccagtg catctcctca ggcagcact actgggaggt ggaggtggga gacaggtctg 600
agtggggcct gggagtatgt aagcaaaatg tagaccggaa ggaggtggtc tacttatccc 660
cccactatgg attctgggtg ataaggctga ggaagggaaa tgagtaccga gcagggaccg 720
atgagtaacc aatcctgtcc ttgccggtcc ctctcgcgg ggtgggaatc ttctgtgatt 780
atgaggccca tgacatttct ttctacaatg tgactgactg tggctcccac atcttcactt 840
tccccgcta tcccttccct gggcgctcc tgccctattt tagtccctgc tacagcattg 900
gaaccaacaa cactgctcct ctggccatct gctccctgga tggggaggac taagaaagct 960
accaccctaa ccacagaggg ttggaattgg gctggcccc catggggctt ggaggaccga 1020
gccactgaca ggtatcccc gaaactgagc tgagcccagt atccaaggat tctctgtct 1080
gatcctttgg tctttgtcac caggctgaag tctgtcatga aaccacttat tttaaaaagc 1140
agaggccag tcaaatgagc attgcatccc atgagggaa cagcagagg ctgatggatga 1200
ggatcagagc agttctaagg tgactcgttg gggtaaggat caggactttg tccatgtagt 1260
agccaaccac cctcttccct gattcccgtc cgtgtgcaca gttcagtcag tgaggatgat 1320
gaagtagata cagctctcag gacaccatta gatgggcttt ccaaataggc caaaaaaatg 1380
ctgcgcatac ccagagctgg ttgtttgtct gaggccagtc agaggatgct tcccctgagg 1440
tttgctataa ctaagcaacc tttatgtgac tctcacctc tgacctcctg gcaagagaaa 1500
ttcagtgtag cagggggaca cagacctgcc caagccaccc cactgccgtt cctctctga 1560
gcacaagctg ggcaaatcac tgtcccttgg actccagtag accagtgctc tagtcttgc 1620
ttttttctct aagtggcagg atcagaaaaac ctgcgagctt tagtttgtat tttcacttta 1680
tgaatgagga aactgaaatg gccttaaggg agcaagttat ttctttttt tttgacacgg 1740
agtctogctc tgttgcccag gctggagtyc agtggcacga tctcggctca ctgcaggctc 1800
tgctcctcgg gttcacgcca ttctcctgcc tcagcttccc gagtagctgg gactacaggg 1860
gccaccacag acgcctggct ctttttttg ttttttagt agagacgggg tttcaccatg 1920
ttagctagga tggctcogat ctctgacct catgatccgc cctcctcagc ctcccacagt 1980
gctgggatta gaggcatgag ccaactgcgc cggcccctgg agcaagttat ttcttataaa 2040
gctgctgaag gtaagattat caaaattata aagcattttt cactactcaag tgaacaag 2100
ttgacaaact cacttgcag gtcacatgcc tatacatcac ttattatatt tgggtctgaa 2160
acttctcaca tgtttgggag gttttatgtg tctcattgg gaaaaatgggt gtaattcagc 2220
ataaaacctc atatgattgt cctgcctcat ggagctgttg tatagatccc agatccatcc 2280
catgattttg tctgtctga ggcataaggg caggcaagcc gtggattttg cacatggatga 2340
ctttcccact gtgccatgat acagctctgca tcttatagca gtgcctttgt ctcagggcct 2400
ctgctggcag tctagacctt ttgggcagaa aggagcttca aatggctgtg ataaggaata 2460
ttaaaaattg tgtttctact ttaattgtat tggctgttca tgtatgtagg agttaaaata 2520
ggccaaactg gggaaataaa cgcattctgt ccaccatg 2558

<210> 4
<211> 262

<212> PRT
 <213> Homo sapiens

 <400> 4
 Met Gln Lys Leu Glu Leu Asn His Ser Glu Leu Ile Gln Gln Ser Gln
 1 5 10 15
 Val Leu Trp Arg Met Ile Ala Glu Leu Lys Glu Arg Ser Gln Arg Pro
 20 25 30
 Val Arg Trp Met Leu Gln Asp Ile Gln Glu Val Leu Asn Arg Ser Lys
 35 40 45
 Ser Trp Ser Leu Gln Gln Pro Glu Pro Ile Ser Leu Glu Leu Lys Thr
 50 55 60
 Asp Cys Arg Val Leu Gly Leu Arg Glu Ile Leu Lys Thr Tyr Ala Ala
 65 70 75 80
 Asp Val Arg Leu Asp Pro Asp Thr Ala Tyr Ser Arg Leu Ile Val Ser
 85 90 95
 Glu Asp Arg Lys Arg Val His Tyr Gly Asp Thr Asn Gln Lys Leu Pro
 100 105 110
 Asp Asn Pro Glu Arg Phe Tyr Arg Tyr Asn Ile Val Leu Gly Ser Gln
 115 120 125
 Cys Ile Ser Ser Gly Arg His Tyr Trp Glu Val Glu Val Gly Asp Arg
 130 135 140
 Ser Glu Trp Gly Leu Gly Val Cys Lys Gln Asn Val Asp Arg Lys Glu
 145 150 155 160
 Val Val Tyr Leu Ser Pro His Tyr Gly Phe Trp Val Ile Arg Leu Arg
 165 170 175
 Lys Gly Asn Glu Tyr Arg Ala Gly Thr Asp Glu Tyr Pro Ile Leu Ser
 180 185 190
 Leu Pro Val Pro Pro Arg Arg Val Gly Ile Phe Val Asp Tyr Glu Ala
 195 200 205
 His Asp Ile Ser Phe Tyr Asn Val Thr Asp Tyr Gly Ser His Ile Phe
 210 215 220
 Thr Phe Pro Arg Tyr Pro Phe Pro Gly Arg Leu Leu Pro Tyr Phe Ser
 225 230 235 240
 Pro Cys Tyr Ser Ile Gly Thr Asn Asn Thr Ala Pro Leu Ala Ile Cys
 245 250 255

 Ser Leu Asp Gly Glu Asp
 260

<210> 5
 <211> 152
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 5
 gtagtctaga ccttttgggc agaaaggagc ttcaaatggc tgtgataagg aatattaaaa 60
 attgtgtttc tactttaatt gtattggctg ttcatgtatg taggagttaa aataggocaa 120
 actggagaaa taaacgcatt ctgtccacca ac 152

<210> 6
 <211> 33
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 6
 tgcgtttatt tctccagttt ggcciatattt aac 33

<210> 7
 <211> 2895
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> CDS
 <222> (476)..(1264)

<400> 7
 ggtaacaacg cagagtaacg ggggagagcc ggggtgtagta tcctgggagc tgcgggctac 60
 tgggcctgcg ctgcocggct ttgggttctg ggctctgcc gctctctggc cctaagtgct 120
 gagctgcccg gaacggcagc ttctgaogct gggccattgg acgctgcgga accaggcttc 180
 ttcactttga gtttccgccg cgaagcgcca gtccgggccc aggagggagt gggaaactca 240
 tgaggccctc gaacatctga agaaagagca agaagaggcc tggaaagctg aagttggtga 300
 aaggaaacga actgccacct ggaagataca ggtggaaacc cgaaaacaga gtattgtatg 360
 ggagtttgaa aaataccagc cgattactag agaaaaagca agccaccaca tcggcagctg 420
 ggggcaaaag gtagcagcag ctctggccag cctacagcgg gaggcagcgg agacc atg 478
 Met
 1

cag aaa ctg gag ttg aac cat agc gag ctc atc cag cag agc cag gtc 526
 Gln Lys Leu Glu Leu Asn His Ser Glu Leu Ile Gln Gln Ser Gln Val
 5 10 15

ctg tgg agg atg att gca gag ttg aaa gag agg tcg cag agg cct gtc 574
 Leu Trp Arg Met Ile Ala Glu Leu Lys Glu Arg Ser Gln Arg Pro Val
 20 25 30

cgc tgg atg ttg cag gat att cag gaa gtg tta aac agg agc aaa tct 622
 Arg Trp Met Leu Gln Asp Ile Gln Glu Val Leu Asn Arg Ser Lys Ser
 35 40 45

tgg agc ttg cag cag cca gaa cca atc tcc ctg gag ttg aag aca gat 670
 Trp Ser Leu Gln Gln Pro Glu Pro Ile Ser Leu Glu Leu Lys Thr Asp
 50 55 60 65

tgc cgt gtg ctg ggg cta aga gag atc ctg aag act tat gca gct gat 718

ttcccgctccg gtgtcacagt tcagtcagtg aggatgatga agtagataca gtcttcagga 1654
 caccattaga tgggctttcc caataggcca aaaaaatgct gcgcataccc agagctgggt 1714
 gttgtgctga ggccagtcag aggatgcttc cctgaggtt tgctataact aatcaacctt 1774
 tatgtgactc tcaccttctg acctcctggc aagagaaatt cagtgcagca gggggacaca 1834
 gacctgcca agccaccca ctgccgttcc ctctctgagc acaagctggg caaatcactg 1894
 tccttggac tcoagtagac cagtgtccta agtcttgcoct tttttctcta agtggcagga 1954
 tcagaaaacc tgcgaagctt tagtttgtat tttcacactt ttatgaatga ggaaactgaa 2014
 aatggcctta agggagcaag ttatttcttt ttttttgaca cggagtctcg ctctgttgcc 2074
 caggctggag tgcagtggca cgatctcggc tcaactgcagg ctctgcctcc tgggttcacg 2134
 ccattctcct gcctcagctt cccgagtagc tgggactaca ggcgcccacc acgacgcctg 2194
 gtcattttt ttgtattttt agtagagacg gggtttcacc atgttagcta ggatggctc 2254
 gatctcctga cctcatgatc cgccctcctc agcctccac agtgcctggga ttagaggcat 2314
 gagccactgc gcccgcccc tggagcaagt tatttcttac aaagctgctg aaggtaatgat 2374
 tatcaaaatt ataagcatt tttcacactc aagtgaaca aggttgacaa actcacttcg 2434
 caggtcacat gcctatacat cacttattat atttgggtct gaaacttctc acatgtttg 2494
 gaggttttat gtgtcctcat tgggaaaatg ggtgtaattc agcataaac ctcatatgat 2554
 tgtcctgcct catggagctg ttgtatagat cccagatcca tcccatgatt tgttctgctc 2614
 tgaggcatag aggcaggcaa gccgtggatt ttgcacatgg tgactttccc actgtgccat 2674
 gatacagtct gcatottata gcagtgcctt tgtctcaggg cctctgctgg cagtctagac 2734
 cttttgggca gaaaggagct tcaaatggct gtgataagga atattaaaaa ttgtgtttct 2794
 actttaattg tattggctgt tcatgtatgt aggagttaa taggccaaac tggagaaata 2854
 aacgcattct gtccgaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa a 2895

<210> 8

<211> 262

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 8

Met Gln Lys Leu Glu Leu Asn His Ser Glu Leu Ile Gln Gln Ser Gln
 1 5 10 15

Val Leu Trp Arg Met Ile Ala Glu Leu Lys Glu Arg Ser Gln Arg Pro
 20 25 30

Val Arg Trp Met Leu Gln Asp Ile Gln Glu Val Leu Asn Arg Ser Lys
 35 40 45

Ser Trp Ser Leu Gln Gln Pro Glu Pro Ile Ser Leu Glu Leu Lys Thr

<210> 11
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <400> 11
 gcattctcgtc aggcgggcac tact 24

 <210> 12
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <400> 12
 cttgctccct taaggccatt tcag 24

 <210> 13
 <211> 30
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <400> 13
 cctgtctgag gcatagaggc aggcaagcgg 30

 <210> 14
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <400> 14
 cctggctctg ctggatgagc tcgctat 27

 <210> 15
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <400> 15
 tcaactctgc aatcatcctc cacagga 27

 <210> 16
 <211> 986
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <400> 16
 acgcgggggc gggctactgg gctgcgctg ccgggctttg ggttctgggc ctctgcccgt 60
 ctctggccct aagtgctgag ctgccgggaa cggcagcttc tgacgctggg ccatgggacg 120
 ctgcggaacc aggttcttc actttgagtt tccgcgcga agcggcagtc cgggcccagg 180
 agggagcctt tactacttct cctggtttc attcatgttc tgaggagggt gtgagaagga 240
 accatggatc ccacagcctt ggttgaagcc attgtggaag aagtggcctg tcccatctgt 300
 atgaccttc tgaggagcc catgagcatt gactgtggcc acagcttctg ccacagctgt 360
 ctctctggac tctgggagat ccaggagaa tccagaact ggggttacac ctgtcccctc 420
 tgtcgagctc ctgtccagcc aaggaacctg cggcctaatt ggcagctggc caatgttga 480
 gaaaaagtcc gtctgctaag gctacatcca ggaatggggc tgaagggtga cctgtgtgag 540
 cgccatgggg aaaagctgaa gatgttctgc aaagaggatg tcttgataat gtgtgaggcc 600

tgcagccagt ccccagagca tgaggccac agtgttgtgc caatggagga tgttgcctgg 660
 gagtacaagt gggaacttca tgaggccctc gaacatctga agaaagagca agaagaggcc 720
 tggaaagcttg aagttggtga aaggaacga actgccacct ggaagatata ggtggaaacc 780
 cgaaaacaga gtattgtatg ggagttttaa aaataccagc gattactaga gaaaagcag 840
 ccaccacatc ggcagctggg ggcagaggta gcagcagctc tggccagcct acagcgggag 900
 gcagcggaga ccatgcagaa actggagtgg aaccatagcg agctcatcca gcagagccag 960
 gtccctgtgga ggatgattgc agagtt 986

<210> 17

<211> 27

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 17

tcacccttca gccccattcc tggatgt 27

<210> 18

<211> 24

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 18

gccatcaatg accccttcat tgac 24

<210> 19

<211> 24

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 19

tgacgaacat gggggcatca gcag 24

<210> 20

<211> 24

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 20

gaaagagagg tcgcagaggc ctgt 24

<210> 21

<211> 24

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 21

tgataaggct gaggaaggga aatg 24

<210> 22

<211> 27

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 22

gcagcccgga tgcagaaact ggagtgg 27

【図1】

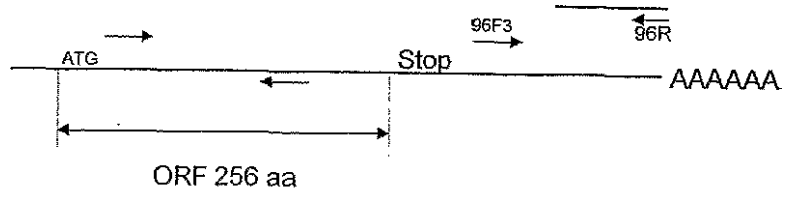


FIGURE 1

1 MOKLELNHSELIQQSQVLRMIAELKERSQRPVRWMLQIQEVLNRSKWSLQQPEPISELEKTKDCRVLGLREIL
++ L ++ L QSQ L +I+EI R +LQ++ VL RS+SW+L+ + S EL++ C V GL+++L
208 LRILGEKEAKLAQQSQALQELISELDRRCSSALELLQEVILVLERSESWNLKDLDDITSPELRSVCHVPGLKKML
76 KTYAADVRLDPDTAYSRLIVSEDRKRVHYGDTNQKLPDNPFRFYRYNIVLGSQCISGRHYWEVEVGDSEWGLG
T A + LDPOTA .LI+SEDR++V GDT Q +P N ERF Y +VLG+Q SG+HYWEV+V + WGLG
284 RTCAVHITLDPDTANFWLLISEDRRQVRLGDTQQSIFGNEERFDSYPMVLGAQHEHSGKHWEVDVTGKEAWDLG
152 VCKQNVDRKEVVYLSPHYGFVWVIRLRKNGNEYRAGTDEYPIILSLPVPFRRVGFVDYE
VC+ +V RK LS GFW I L +Y AGT L L VP VGIF DYE
360 VCRDSVRRKGFHLLSSKSGFWTIWLWNKQYEAGTYPOTPLHLQVPPCQVGIFLDYE

FIGURE 2

【図3】

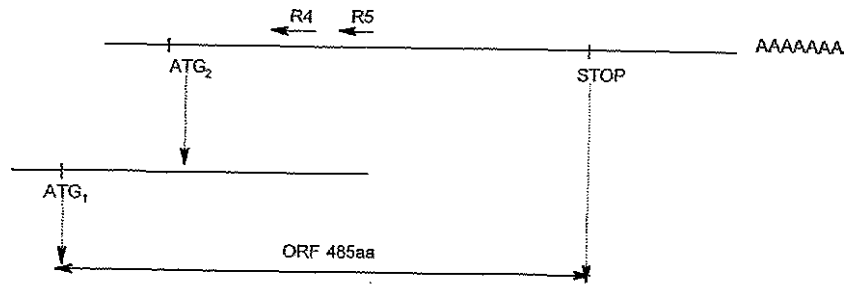


FIGURE 3

【図4】

Ro/SSA like 1	MDPTALVEAIVEEVACPICMTFLREPMSIDCGHSFCHSCLSGLWEIPGESQNWGYTCPLC	60
	M A + + EEV CPIC+ EP+SI+CGHSFC C+S + + G CP+C	
Ro/SSA-52 1	MASAARLTMMWEVTCPICLDPFVEPVSIIECGHSFCQECISQV-----GKGGGSVCPVC	54
	← Zinc finger motif →	
Ro/SSA like 61	RAPVQPRNLRPNWQLANVVVEKVRLLRLHPGMGLKGDLCERHGEKLNFKCEKEDVLMICEAC	120
	R +NLRPN QLAN+V ++ + G +G+ C HGE+L +FC++D +C C	
Ro/SSA-52 55	RQRELLKNLRPNRQLANMVNNLKEISQEAAREGTQGERCAVHGERLHLFCCKDGGKALCWVC	114
	← B Box. Cyst/His rich →	
Ro/SSA like 121	SQSPHEAHSVPMEDVAWEYKWLHEALEHLK-KQEEAWKLEVGERKRTATWKIQVETR	180
	+QS +H H++VP+E+ A EY+ L AL L+ KQE A KLEV + A WK VET+	
Ro/SSA-52 115	AQSRKHRDHAMVPLEEAAQEQEKLQVALGELRRKQELAEKLEVEIAIKRADWKKTVETQ	174
	→	
Ro/SSA like 181	KOSIVWFEKYQR-LLEKKOPPHRQLGAEVAAALASLQREAAETMQKLELNHSELIQQSQ	239
	K I EF + + L+E++Q ++L + E ++ L ++L QQSQ	
Ro/SSA-52 175	KSRIHAEFVQQKNFLVEEQRQLQELEKD-----EREQLRILGEKEAKLAQQSQ	223
	← Leucine zipper motif →	
Ro/SSA like 240	VLWRMIAELKERSQRPVRRWMLQDIQEVLNRSKSWSLQQPEPISLELKTDCRVLGLREILK	299
	L +I+EL R +LQ++ VL RS+SW+L+ + S EL++ C V GL+++L+	
Ro/SSA-52 224	ALQELISELDRRCHSSALELLQEVITVLERSESWNLKDLDDITSPELRSVCHVPGLKMLR	283
	→	
Ro/SSA like 300	TYAADVRLDPDTAYSRLIVSEDRKRVHYGDTNQLKPDNPERFYRNIVLGSQCISGRHY	359
	T A + LDPDTA LI+SEDR++V GDT Q +P N ERF Y +VLG+Q SG+HY	
Ro/SSA-52 284	TCAVHITLDPDTANPWLILSEDRRQVRLGDTQQSIPGNEERFDSYPMVLGAQHFSQKHY	343
Ro/SSA like 360	WEVEVDRSEWGLGVCKQNVDRKEVVYLSPHYGFVIRLRKGNERYRAGTDEYPILSLQVP	419
	WEV+V + W LGVC+ +V RK LS GFW I L +Y AGT L L VP	
Ro/SSA-52 344	WEVDVTGKEAWDLGVCRDVRRRKGHFLLSKSGFWTIWLNKQKYEAGTYPQTPHLQVP	403
Ro/SSA like 420	ERRVGIFVDYEAHDISFYNVTDYGSHTFPPRYPPFGRLLPYFSPCYSIGTNTAPLAIC	479
	P +VGIF+DYEA +SFYN+TD+GS I++F F G L P+FSP ++ G NTAPL +C	
Ro/SSA-52 404	PCQVGIFLDYEAQMVSYFNITDRGSLIYSFSECAPTGPLRPFSPGENDGGKNTAPLTLIC	463
Ro/SSA like 480	SLDGED 485	
	L+	
Ro/SSA-52 464	PLNIGSQGSTDY 475	

FIGURE 4

【図5】

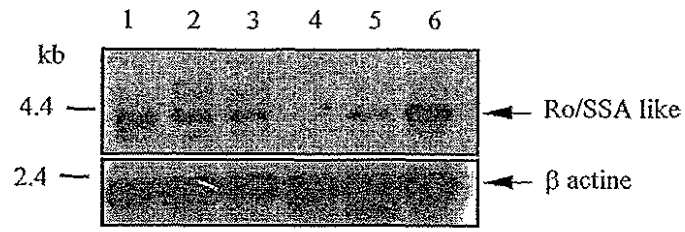


FIGURE 5

【図6】

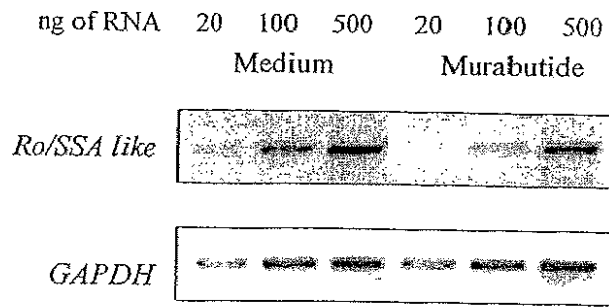


FIGURE 6

【図7】

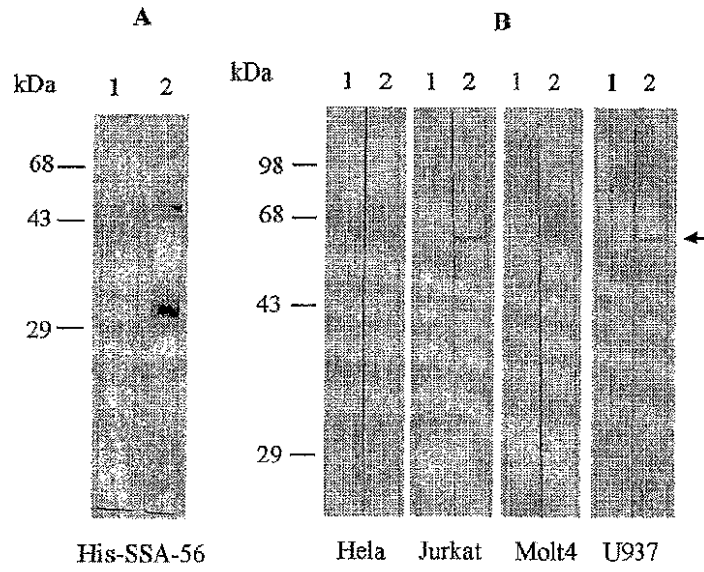


FIGURE 7

【図8】

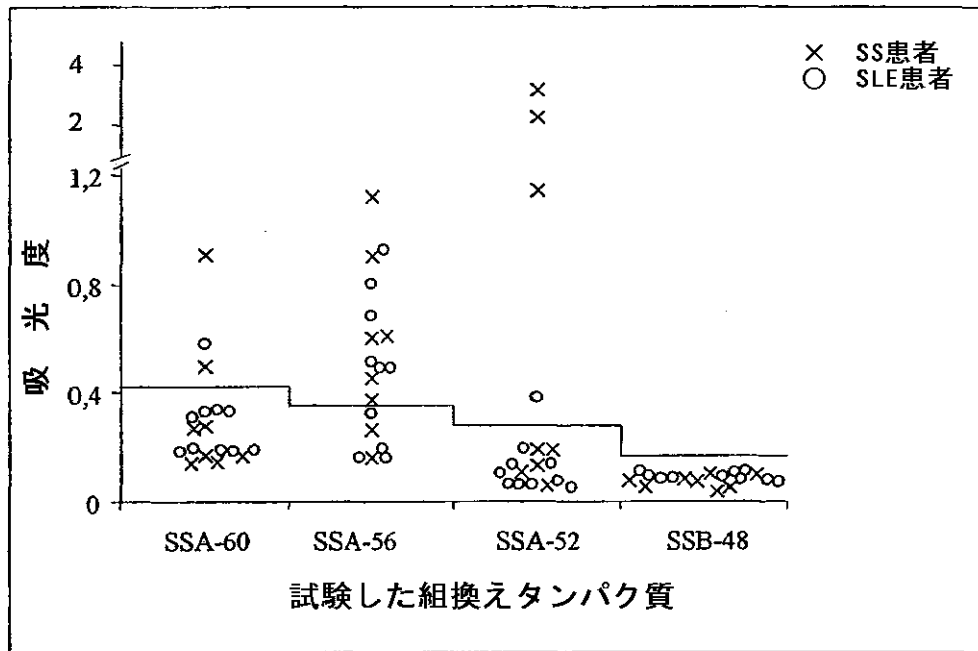


FIGURE 8

【図9】

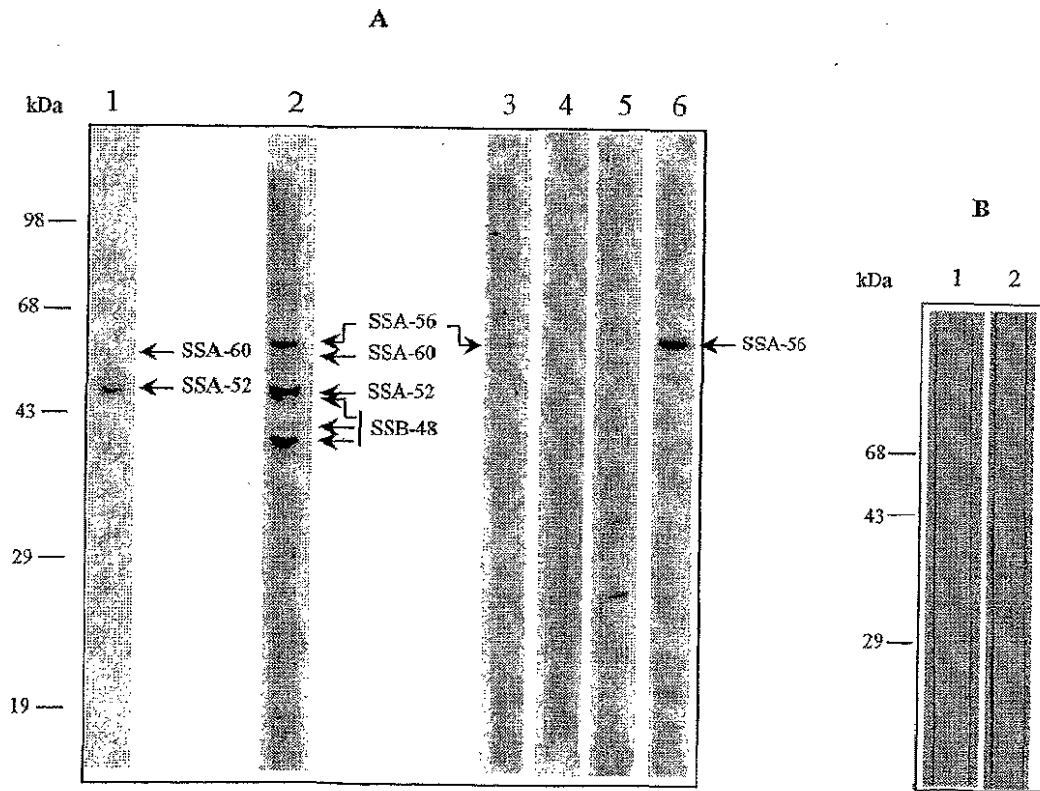


FIGURE 9

【図10】

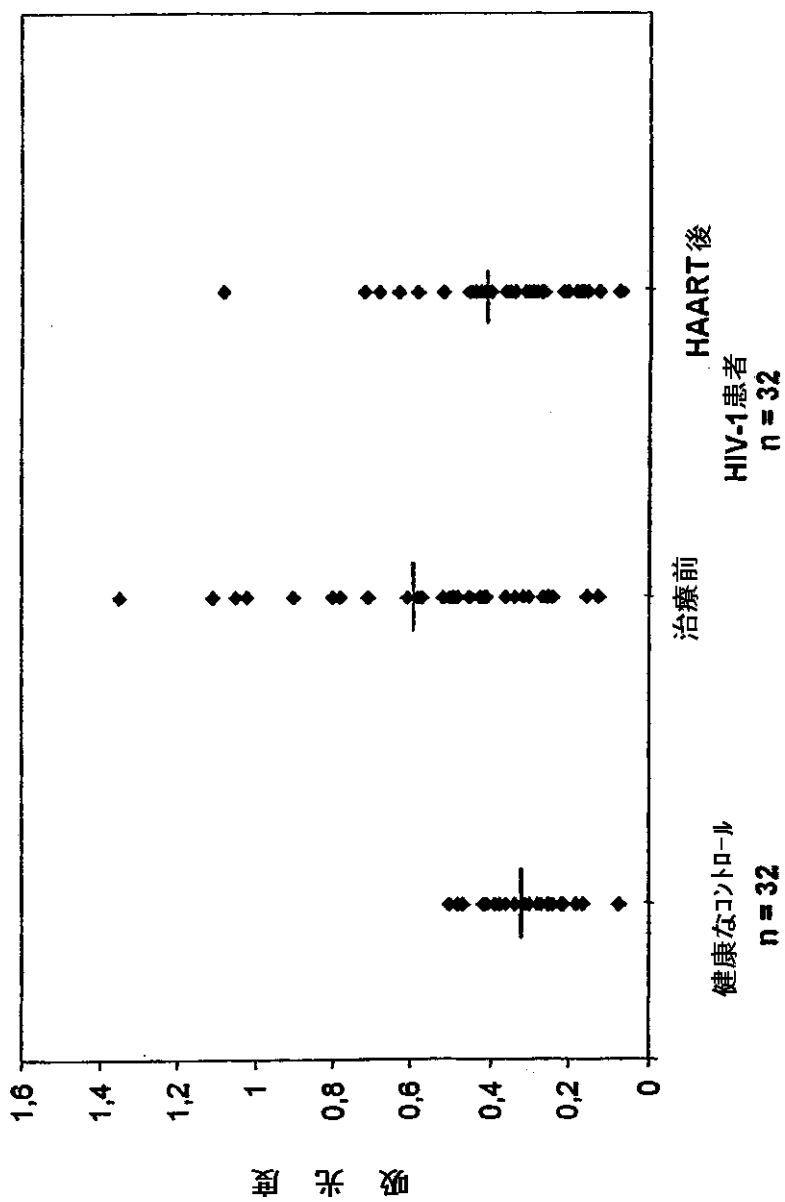


FIGURE 10

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT						International Application No. PC1/FR 01/00725
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER						
IPC 7	C12N15/12	C07K14/47	C07K16/18	C07K16/42	A61K38/17	
	G01N33/68	A01K67/027	C12Q1/68	A61K38/05	//A61P31/18,	
	31/22,37/00					
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC						
B. FIELDS SEARCHED						
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)						
IPC 7 C12N C07K A61K C12Q G01N						
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched						
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)						
BIOSIS						
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT						
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages					Relevant to claim No.
X	EP 0 679 716 A (MATSUBARA KENICHI ; OKUBO KOUSAKU (JP)) 2 November 1995 (1995-11-02) page 1600, SEQ ID 5505 claims					6-8, 10, 22, 23, 43
X	WO 96 09837 A (VACSYN SA ; BAHR GEORGES (FR)) 4 April 1996 (1996-04-04) cited in the application					27, 28
A	the whole document					43-53
X	WO 95 18146 A (SANDOZ AG ; THIRRING KLAUS (AT); SANDOZ LTD (CH); SANDOZ AG (DE)) 6 July 1995 (1995-07-06) page 16, line 12 -page 18					53
A	claims					43-52
	-/-					
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.						
* Special categories of cited documents :						
A document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance			*T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention			
E earlier document but published on or after the international filing date			*X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone			
L document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)			*Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.			
O document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means			*Z* document member of the same patent family			
P document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed						
Date of the actual completion of the international search				Date of mailing of the international search report		
11 July 2001				23/07/2001		
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5618 Patentlaan 2 NL - 2880 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax (+31-70) 340-3016				Authorized officer Andres, S		

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 International Application No
 PCT/FR 01/00725

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DATABASE SWALL 'Online! EMBL; Numéro d'accès : AK001231, 22 February 2000 (2000-02-22) ISOGAI, T. ET AL.: "NEDO human cDNA sequencing project : Homo sapiens cDNA clone FLJ10369 fis, clone NT2RM2001575" XP002158369 cited in the application abstract	6
X	DATABASE EM_EST 'Online! EMBL; Numéro d'accès : N46696; ID : HS696277, 18 February 1996 (1996-02-18) HILLIER, L. ET AL.: "The WashU-Merck EST project : yy50f07.r1 Soares_multiple_sclerosis_2NbHMSP Homo sapiens cDNA clone IMAGE:276997 5'" XP002158370 abstract	6
X	DATABASE EM_EST 'Online! EMBL; Numéro d'accès : AW438826, 15 February 2000 (2000-02-15) "xt04e05.x1 NCI_CGAP_Ut4 Homo sapiens cDNA clone IMAGE:2778176 3' " XP002171674 abstract	6
X	DATABASE EM_EST 'Online! EMBL; Numéro d'accès : N39251 (ID: HS251269), 25 January 1996 (1996-01-25) HILLIER, L. ET AL.: "yy50f07.s1 Soares_multiple_sclerosis_2NbHMSP Homo sapiens cDNA clone IMAGE:276997 3', mRNA sequence" XP002171675 abstract	6
X	WO 94 21275 A (VACSYN SA ;CHEDID LOUIS (FR); BAHR GEORGES (FR); LEFRANCIER PIERRE) 29 September 1994 (1994-09-29) the whole document	53
X	WO 97 43308 A (ENDOREX CORP) 20 November 1997 (1997-11-20) examples 4-11 claims	53

-/--

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 International Application No
 PCT/FR 01/00725

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 93 21223 A (UNIV OKLAHOMA STATE) 28 October 1993 (1993-10-28) page 8 -page 10 example 2 claims	29-34, 38, 43-46,51
A	TENGNER PIA ET AL: "Detection of anti-Ro/SSA and anti-La/SSB autoantibody-producing cells in salivary glands from patients with Sjogren's syndrome." ARTHRITIS & RHEUMATISM, vol. 41, no. 12, December 1998 (1998-12), pages 2238-2248, XP000979086 ISSN: 0004-3591 the whole document	29-34,38
A	WO 91 11718 A (HARLEY JOHN B ;UNIV OKLAHOMA BOARD OF (US)) 8 August 1991 (1991-08-08) page 37, line 19 -page 44 claims	39
A	SIBILIA J.: "Ro(SS-A) and anti-Ro(SS-A): an update." REV RHUM ENGL ED 1998 JAN;65(1):45-57, XP000979090 cited in the application	
P,X	DATABASE EM_HUM 'OnLine! EMBL; Numéro d'accès : AK022923, 29 September 2000 (2000-09-29) ISOGAI, T. ET AL.: "Homo sapiens cDNA FLJ12861 fis, clone NT2RP2003564" XP002171676 abstract	2,4,6
P,X	WO 00 70042 A (FLORENCE KIMBERLY A ;HUMAN GENOME SCIENCES INC (US); ROSEN CRAIG A) 23 November 2000 (2000-11-23) page 10, line 5 -page 11, line 22 claims SEQ IDs 12 et 172	2-4,6, 8-13, 15-17, 19-23, 26,43-46

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/FR 01/00725

The International Searching Authority found several (groups of) inventions in the international application, namely:

1. Claims: 1-52

Ro/SSA-like polypeptide defined by SEQ ID 2, polynucleotides coding for it and derived therefrom; its therapeutic, diagnostic uses, and its uses for screening modulators of its transcription, and for purifying a biological fluid.

1. Claim: 53 (partly)

Use of muramylpeptides for treating autoimmune diseases.

3. Claim: 53 (partly)

Use of muramylpeptides for treating viral pathologies except those caused by HIV.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/FR 01/00725

Continuation of Box I.2

The compound of Claim 27 is only defined by the method for obtaining it and by the characteristic searched for in said method, namely an effect on the transcription of the gene of the Ro/SSA-like protein. Consequently, Claim 27 covers all the compounds which would have such an effect without providing chemical characterisation enabling to carry out a significant search. Therefore, the search for Claim 27 (as well as for all the parts of Claims 43 to 52 directly referring thereto) has been limited to the compound explicitly defined, that is Murabutide (Claim 28).

The applicant's attention is drawn to the fact that claims, or parts of claims, concerning inventions in respect of which no search report has been established need not be the subject of a preliminary examination report (PCT Rule 66.1(e)). The applicant is advised that the line of conduct adopted by the EPO acting in its capacity as International Preliminary Examining Authority is not to proceed with the preliminary examination of a subject matter in respect of which no search has been carried out. That attitude will remain unchanged, notwithstanding whether or not the claims have been modified, either after the search report has been received, or during any procedure under Chapter II.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International Application No
PCT/FR 01/00725

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 0679716 A	02-11-1995	AU 8116494 A	13-06-1995
		CA 2153480 A	01-06-1995
		WO 9514772 A	01-06-1995
WO 9609837 A	04-04-1996	FR 2724845 A	29-03-1996
		AU 3569995 A	19-04-1996
		CA 2200993 A	04-04-1996
		EP 0783319 A	16-07-1997
		JP 10506120 T	16-06-1998
WO 9518146 A	06-07-1995	AU 1415595 A	17-07-1995
		ZA 9410403 A	29-06-1996
WO 9421275 A	29-09-1994	FR 2702659 A	23-09-1994
		FR 2703251 A	07-10-1994
		AU 6285694 A	11-10-1994
		EP 0689449 A	03-01-1996
		JP 8511235 T	26-11-1996
		US 5932208 A	03-08-1999
WO 9743308 A	20-11-1997	AU 3006697 A	05-12-1997
WO 9321223 A	28-10-1993	AT 187459 T	15-12-1999
		AU 679443 B	03-07-1997
		AU 4102893 A	18-11-1993
		CA 2117904 A	28-10-1993
		DE 69327239 D	13-01-2000
		DE 69327239 T	11-05-2000
		DK 640101 T	15-05-2000
		EP 0640101 A	01-03-1995
		ES 2142867 T	01-05-2000
		JP 7509221 T	12-10-1995
		US 6232522 B	15-05-2001
WO 9111718 A	08-08-1991	AU 7259691 A	21-08-1991
		CA 2074525 A	01-08-1991
		EP 0514458 A	25-11-1992
		JP 6504114 T	12-05-1994
		US 6232522 B	15-05-2001
		US 5637454 A	10-06-1997
WO 0070042 A	23-11-2000	AU 5129600 A	05-12-2000

フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テ-マ-コ-ト' (参考)
A 6 1 K	39/395	A 6 1 K 48/00	4 B 0 6 5
	48/00	A 6 1 P 31/12	4 C 0 8 4
A 6 1 P	31/12	31/18	4 C 0 8 5
	31/18	37/02	4 C 0 8 6
	37/02	C 0 7 K 5/06	4 C 0 8 7
C 0 7 K	5/06	14/47	4 H 0 4 5
	14/47	16/18	
	16/18	16/42	
	16/42	C 1 2 M 1/00	A
C 1 2 M	1/00	C 1 2 N 1/15	
C 1 2 N	1/15	1/19	
	1/19	1/21	
	1/21	C 1 2 P 21/02	C
	5/10	C 1 2 Q 1/02	
C 1 2 P	21/02	1/68	A
C 1 2 Q	1/02	G 0 1 N 33/15	Z
	1/68	33/50	Z
G 0 1 N	33/15	33/53	D
	33/50		M
	33/53	33/564	Z
	33/564	33/569	H
	33/569	33/576	B
	33/576		Z
	37/00	37/00	1 0 2
// C 1 2 P	21/08	C 1 2 P 21/08	
		C 1 2 N 15/00	Z N A A
		5/00	A
		A 6 1 K 37/10	

(81)指定国 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, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AP(GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, 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, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW

- (72)発明者 パール, ジョルジュ
フランス共和国, エフ - 59800 リール,
リュ ナショナル, 266
- (72)発明者 コキユドゥ, セシル
フランス共和国, エフ - 59112 アヌラン,
リュ シャルル グーノ, 2
- (72)発明者 キャブロン, アンドレ
フランス共和国, エフ - 53133 ファラン
パン, リュ デュ キャピテン - ジャスマ
ン, 8

F ターム(参考) 2G045 AA25 AA40 BB03 BB20 CA25
CA26 CB01 CB03 CB21 DA12
DA13 DA14 DA36 DA77 FB02
FB03

4B024 AA01 AA11 BA53 BA80 CA04
CA07 CA09 CA12 CA20 DA02
DA03 DA06 EA04 GA03 GA11
HA11 HA13 HA14 HA15 HA17

4B029 AA07 AA21 AA23 BB20 CC01
CC02 CC03 CC08 FA12 FA15

4B063 QA01 QA05 QA19 QQ02 QQ08
QQ21 QQ41 QQ43 QQ53 QQ61
QQ79 QQ89 QR08 QR32 QR35
QR40 QR42 QR48 QR56 QR62
QR77 QR80 QR84 QS16 QS25
QS34 QS36 QX01 QX02

4B064 AG01 AG27 CA02 CA05 CA10
CA11 CA19 CA20 CC01 CC24
DA01 DA13

4B065 AA26X AA58X AA72X AA90X
AA93Y AB01 AC14 BA02
CA44 CA46

4C084 AA02 AA06 AA07 AA13 AA17
BA01 BA22 CA53 DC50 ZA752
ZB332 ZC552

4C085 AA13 AA14 BB11 DD62 DD63
DD88

4C086 AA01 EA16 MA01 MA04 ZA75
ZB33 ZC55

4C087 AA01 AA02 DA28 ZA75 ZB33
ZC55

4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 BA10
BA41 CA40 DA75 DA76 DA86
EA20 EA50 FA71 FA72 FA74

专利名称(译)	SSA-56kDa多肽及其片段和编码所述多肽和治疗用途的多核苷酸		
公开(公告)号	JP2003533230A	公开(公告)日	2003-11-11
申请号	JP2001585335	申请日	2001-03-12
[标]申请(专利权)人(译)	ISTAC 安妮研究所巴斯德菊法国里尔 裏爾巴斯德研究所		
申请(专利权)人(译)	Isutakku Ansutichu巴斯德里尔		
[标]发明人	パールジョルジュ コキユドウセシル キャプロンアンドレ		
发明人	パール,ジョルジュ コキユドウ,セシル キャプロン,アンドレ		
IPC分类号	A01K67/027 A61K31/7088 A61K35/16 A61K38/00 A61K38/16 A61K39/395 A61K48/00 A61P31/12 A61P31/18 A61P31/22 A61P37/00 A61P37/02 C07K5/06 C07K14/47 C07K16/18 C07K16/42 C12M1 /00 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C12N15/09 C12N15/12 C12P21/02 C12P21/08 C12Q1 /02 C12Q1/68 G01N33/15 G01N33/50 G01N33/53 G01N33/564 G01N33/569 G01N33/576 G01N37/00		
CPC分类号	A01K2217/05 A61K38/00 A61P31/12 A61P31/18 A61P31/22 A61P37/00 A61P37/02 C07K14/4713		
FI分类号	A01K67/027 A61K31/7088 A61K35/16 A61K39/395.D A61K39/395.N A61K48/00 A61P31/12 A61P31 /18 A61P37/02 C07K5/06 C07K14/47 C07K16/18 C07K16/42 C12M1/00.A C12N1/15 C12N1/19 C12N1 /21 C12P21/02.C C12Q1/02 C12Q1/68.A G01N33/15.Z G01N33/50.Z G01N33/53.D G01N33/53.M G01N33/564.Z G01N33/569.H G01N33/576.B G01N33/576.Z G01N37/00.102 C12P21/08 C12N15/00. ZNA.A C12N5/00.A A61K37/10		
F-TERM分类号	2G045/AA25 2G045/AA40 2G045/BB03 2G045/BB20 2G045/CA25 2G045/CA26 2G045/CB01 2G045 /CB03 2G045/CB21 2G045/DA12 2G045/DA13 2G045/DA14 2G045/DA36 2G045/DA77 2G045/FB02 2G045/FB03 4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/BA53 4B024/BA80 4B024/CA04 4B024/CA07 4B024 /CA09 4B024/CA12 4B024/CA20 4B024/DA02 4B024/DA03 4B024/DA06 4B024/EA04 4B024/GA03 4B024/GA11 4B024/HA11 4B024/HA13 4B024/HA14 4B024/HA15 4B024/HA17 4B029/AA07 4B029 /AA21 4B029/AA23 4B029/BB20 4B029/CC01 4B029/CC02 4B029/CC03 4B029/CC08 4B029/FA12 4B029/FA15 4B063/QA01 4B063/QA05 4B063/QA19 4B063/QQ02 4B063/QQ08 4B063/QQ21 4B063 /QQ41 4B063/QQ43 4B063/QQ53 4B063/QQ61 4B063/QQ79 4B063/QQ89 4B063/QR08 4B063/QR32 4B063/QR35 4B063/QR40 4B063/QR42 4B063/QR48 4B063/QR56 4B063/QR62 4B063/QR77 4B063 /QR80 4B063/QR84 4B063/QS16 4B063/QS25 4B063/QS34 4B063/QS36 4B063/QX01 4B063/QX02 4B064/AG01 4B064/AG27 4B064/CA02 4B064/CA05 4B064/CA10 4B064/CA11 4B064/CA19 4B064 /CA20 4B064/CC01 4B064/CC24 4B064/DA01 4B064/DA13 4B065/AA26X 4B065/AA58X 4B065 /AA72X 4B065/AA90X 4B065/AA93Y 4B065/AB01 4B065/AC14 4B065/BA02 4B065/CA44 4B065 /CA46 4C084/AA02 4C084/AA06 4C084/AA07 4C084/AA13 4C084/AA17 4C084/BA01 4C084/BA22 4C084/CA53 4C084/DC50 4C084/ZA752 4C084/ZB332 4C084/ZC552 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/BB11 4C085/DD62 4C085/DD63 4C085/DD88 4C086/AA01 4C086/EA16 4C086/MA01 4C086 /MA04 4C086/ZA75 4C086/ZB33 4C086/ZC55 4C087/AA01 4C087/AA02 4C087/DA28 4C087/ZA75 4C087/ZB33 4C087/ZC55 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045 /BA41 4H045/CA40 4H045/DA75 4H045/DA76 4H045/DA86 4H045/EA20 4H045/EA50 4H045/FA71 4H045/FA72 4H045/FA74		
代理人(译)	太田圭一		

优先权

2000006315 2000-05-17 FR

外部链接

[Espacenet](#)

摘要(译)

本发明提供了新颖的SSA-56kDa多肽及其片段，cDNA的克隆，编码该多肽的多核苷酸，含有该多核苷酸的克隆载体和/或表达载体，以及由该载体转化的细胞。以及针对所述多肽的特异性抗体。本发明还包括用于检测和/或分析上述多肽和多核苷酸的方法，相应的诊断试剂盒，用于筛选配体的方法，用于检测抗Ro / SSA样自身抗体的方法和抗Ro / SSA样自身抗体的方法。纯化潜在人类生物液的方法，以及可用作预防和/或治疗病毒性疾病（例如艾滋病，尤其是系统性红斑狼疮（SLE）和干燥综合征）的自身免疫性疾病的药物的化合物关于。