

(19) 日本国特許庁(JP)

## (12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2005-21001

(P2005-21001A)

(43) 公開日 平成17年1月27日(2005.1.27)

(51) Int. Cl. <sup>7</sup>	F I	テーマコード (参考)
<b>C 1 2 N 15/09</b>	C 1 2 N 15/00 Z N A A	2 G O 4 5
<b>A 6 1 K 38/00</b>	A 6 1 K 39/395 D	4 B O 2 4
<b>A 6 1 K 39/395</b>	A 6 1 K 39/395 N	4 B O 6 3
<b>A 6 1 K 48/00</b>	A 6 1 K 48/00	4 B O 6 4
<b>A 6 1 P 3/06</b>	A 6 1 P 3/06	4 B O 6 5
審査請求 未請求 請求項の数 28 O L (全 136 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2001-372530 (P2001-372530)	(71) 出願人	000001029 協和醗酵工業株式会社 東京都千代田区大手町1丁目6番1号
(22) 出願日	平成13年12月6日 (2001.12.6)	(71) 出願人	596175810 財団法人かずさディー・エヌ・エー研究所 千葉県木更津市かずさ鎌足2-6-7
(31) 優先権主張番号	特願2001-224176 (P2001-224176)	(74) 代理人	100096219 弁理士 今村 正純
(32) 優先日	平成13年7月25日 (2001.7.25)	(74) 代理人	100092635 弁理士 塩澤 寿夫
(33) 優先権主張国	日本国 (JP)	(74) 代理人	100095843 弁理士 釜田 淳爾
		(72) 発明者	植田 和光 京都府京都市左京区下鴨森ヶ前町64-1 2 最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ABCA7スプライシングバリエント

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】自己免疫疾患であるシェーグレン病の自己抗原SS-N全体のアミノ酸配列およびそれをコードするcDNAの塩基配列を明らかにし、免疫系に關与する新規なABCトランスポーターを提供すること。

【解決手段】特定のアミノ酸配列に対して、1以上のアミノ酸が欠失、付加、置換および/または挿入されたアミノ酸配列からなり、ATP結合カセットトランスポーターA7活性を有するスプライシング・バリエントであるポリペプチド。

【選択図】 なし

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

配列番号 3 または 6 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド。

## 【請求項 2】

配列番号 3 または 6 に記載のアミノ酸配列に対して、1 以上のアミノ酸が欠失、付加、置換および/または挿入したアミノ酸配列からなり、配列番号 9 に記載のアミノ酸配列を含み、かつトランスポーター活性を有するポリペプチド。

## 【請求項 3】

請求項 1 または 2 に記載のポリペプチドをコードするポリヌクレオチド。

## 【請求項 4】

配列番号 1、2、4 または 5 のいずれかに記載の塩基配列からなるポリヌクレオチド。

## 【請求項 5】

配列番号 9 に記載のアミノ酸配列をコードする塩基配列を含み、配列番号 2 または 5 に記載の塩基配列と相補的な配列からなるポリヌクレオチドとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつトランスポーター活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド。

## 【請求項 6】

ポリヌクレオチドが DNA である請求項 3 から 5 の何れかに 1 項に記載のポリヌクレオチド。

## 【請求項 7】

請求項 3 から 6 の何れか 1 項に記載のポリヌクレオチドをベクターに組み込んで得られる組換えベクター。

## 【請求項 8】

請求項 7 に記載の組換えベクターを宿主細胞に導入して得られる形質転換体。

## 【請求項 9】

請求項 8 に記載の形質転換体を培地で培養し、培養物中に請求項 1 または 2 に記載のポリペプチドを生成蓄積させ、該培養物から該ポリペプチドを採取することを特徴とする、請求項 1 または 2 に記載のポリペプチドの製造方法。

## 【請求項 10】

配列番号 8 に記載の塩基配列と相補的な配列の全部または一部からなるポリヌクレオチド断片。

## 【請求項 11】

請求項 10 に記載のポリヌクレオチド断片を用いて、請求項 3 から 5 の何れかに記載のポリヌクレオチドを検出または定量する方法。

## 【請求項 12】

請求項 3、4 または 5 に記載のポリヌクレオチドの塩基配列中または該塩基配列と相補的な配列中の、それぞれ連続した 5 ~ 60 塩基の配列と同じ配列を有するオリゴヌクレオチドまたはその誘導体。

## 【請求項 13】

配列番号 21 または 22 に記載の塩基配列からなる請求項 12 に記載のオリゴヌクレオチドまたはその誘導体。

## 【請求項 14】

請求項 12 または 13 に記載のオリゴヌクレオチドまたはその誘導体を用いて、請求項 3 から 5 の何れか 1 項に記載のポリヌクレオチドを検出または定量する方法。

## 【請求項 15】

自己免疫疾患、シェーグレン病、炎症性疾患、脂質代謝の異常疾患、動脈硬化の診断のために行う、請求項 11 または 14 に記載の方法。

## 【請求項 16】

請求項 12 または 13 に記載のオリゴヌクレオチドまたはその誘導体を用いて、請求項 1 または 2 に記載のポリペプチドの発現を抑制する方法。

10

20

30

40

50

## 【請求項 17】

請求項 1 または 2 に記載のポリペプチドを認識する抗体。

## 【請求項 18】

配列番号 25 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドを認識せず、請求項 1 または 2 に記載のポリペプチドを認識する抗体。

## 【請求項 19】

配列番号 9 に記載のアミノ酸配列を有する領域を認識する抗体である、請求項 17 または 18 に記載の抗体。

## 【請求項 20】

請求項 1 または 2 に記載のポリペプチドのトランスポーター活性を阻害する、請求項 17 から 19 の何れか 1 項に記載の抗体。 10

## 【請求項 21】

請求項 17 から 20 のいずれか 1 項に記載の抗体を用いて請求項 1 または 2 に記載のポリペプチドを検出あるいは定量する方法。

## 【請求項 22】

細胞内に請求項 1 または 2 に記載のポリペプチドと被験物質とを共存させ、被験物質を共存させない場合よりも共存させた場合に該ポリペプチドのトランスポーター活性が低下する被験物質を選択することを特徴とする、A B C A - S S N の阻害剤のスクリーニング方法。 20

## 【請求項 23】

請求項 22 に記載のスクリーニング方法により得られる A B C A - S S N の阻害剤。

## 【請求項 24】

請求項 1 または 2 に記載のポリペプチドを含有する医薬。

## 【請求項 25】

請求項 12 または 13 に記載のオリゴヌクレオチドまたはその誘導体を含有する医薬。

## 【請求項 26】

請求項 17 から 20 のいずれか 1 項に記載の抗体を含有する医薬。

## 【請求項 27】

自己免疫疾患、シェーグレン病、炎症性疾患、脂質代謝の異常疾患、動脈硬化の予防または治療薬である請求項 24 から 26 のいずれか 1 項に記載の医薬。 30

## 【請求項 28】

自己免疫疾患、シェーグレン病、炎症性疾患、脂質代謝の異常疾患、動脈硬化の診断薬である請求項 24 から 27 のいずれか 1 項に記載の医薬。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

## 【発明の属する技術分野】

本発明は A T P 結合カセットトランスポーター A7 ( A T P - b i n d i n g c a s s e t t e t r a n s p o r t e r A7、以下 A B C A7 と称する。 ) スプライシングバリエーションのポリペプチド、該ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、該ポリヌクレオチドを含む組換えベクター、該ベクターを導入して得られる形質転換体および該 A B C A - S S N ポリペプチドの製造方法、該ポリペプチドを認識する抗体、該ポリヌクレオチドの配列または相補的な配列の一部の配列を有するオリゴヌクレオチドに関する。本発明はまた、該ポリペプチド、該オリゴヌクレオチドおよび該抗体の利用方法、例えば、該ポリペプチド、該オリゴヌクレオチドまたは該抗体を含む医薬に関する。 40

## 【0002】

## 【従来の技術】

A T P 結合カセット ( A T P - b i n d i n g c a s s e t t e ) トランスポーター ( 以下 A B C トランスポーターとする。 ) ファミリーは、数回細胞膜を貫通する疎水性ドメイン 2 つと、ファミリー内で保存性の高い A T P と結合する A T P 結合ドメイン 2 つを有する構造の特徴をもち、細胞における種々の物質のトランスポーターやチャンネルとして 50

機能している蛋白質ファミリーである。

【0003】

ABCA7は、最近報告されたABCA1と高い相同性を有するABCトランスポーターである[Kaminski WE et al., Biochem. Biophys. Res. Commun. 273, 532 (2000)]。ABCA1が、家族性低密度リポ蛋白欠乏症やタンジェール病の原因遺伝子であり[Bodzioch M et al., Nat. Genet. 22, 347 (1999); Brooks-Wilson A et al., Nat. Genet. 22, 336 (1999); Rust S et al., Nat. Genet. 22, 352 (1999)]、コレステロールやリン脂質のトランスポーターとして機能していると考えられていること[Oram J et al., J. Biol. Chem. 275, 34508 (2000); Wang N et al., J. Biol. Chem. 275, 33053 (2000); Repa JJ et al., Science 289, 1524 (2000)]、マクロファージにアセチル化LDLを添加するとABCA7の発現量が増加し、HDLの添加によりその増加がもとに戻ることに[Kaminski WE et al., Biochem. Biophys. Res. Commun. 273, 532 (2000)]から、ABCA7のコレステロールの輸送への関与も考えられているが、その機能はいまだ不明である。ABCA7のmRNAレベルでの発現は、胸腺、脾臓、リンパ節、骨髄、末梢白血球などの免疫系の組織に多く、わずかに肺、膵臓、肝臓でも発現していることが報告されている[Kaminski WE et al., Biochem. Biophys. Res. Commun. 273, 532 (2000)]。またABCA7遺伝子のゲノム配列も報告されており、ABCA7遺伝子は約32kbの領域に渡る46のエキソンからなり、第19染色体上にあることが報告されている[Kaminski WE et al., Biochem. Biophys. Res. Commun. 278, 782 (2000)]。

【0004】

一方、自己免疫疾患であるシェーグレン病の患者血清と反応する自己抗原のcDNAとして、SS-N cDNA(476bp)が塩基配列データベースGenBankに登録されている(GenBankアクセス番号: AF140342)が、部分cDNAであり、SS-N全体の構造は不明だった。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】

本発明は、シェーグレン病の自己抗原SS-N全体のアミノ酸配列およびそのcDNAの塩基配列を明らかにし、免疫系に関与する新規なABCトランスポーターを提供することを解決すべき課題とした。

【0006】

【課題を解決するための手段】

本発明者は、SS-N cDNAがコードするアミノ酸配列がABCA1のN末部分と高い相同性を有することを見出し、SS-N cDNA全長がコードする新規なABCトランスポーターのcDNAを取得した。その結果、得られたcDNAは、報告されているABCA7 cDNAとは同じ遺伝子の産物で配列の異なるオルタナティブ・スプライシング(alternative splicing)により生ずるスプライシング・バリエーション(sPLICING variant)であり、得られたcDNAがコードするポリペプチドのアミノ酸配列のN末端は、報告されているABCA7ポリペプチドのN末端配列とは異なることを見出した。さらに胸腺等の免疫系の組織で主に発現しているのは、報告されているABCA7でなく本発明で得られたスプライシング・バリエーションの方であることを見出した。

すなわち、本発明は以下の(1)～(28)の発明に関する。

【0007】

- (1) 配列番号3または6に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド。
- (2) 配列番号3または6に記載のアミノ酸配列に対して、1以上のアミノ酸が欠失、付加、置換および/または挿入したアミノ酸配列からなり、配列番号9に記載のアミノ酸配列を含み、かつトランスポーター活性を有するポリペプチド。
- 【0008】
- (3) (1)または(2)に記載のポリペプチドをコードするポリヌクレオチド。
- (4) 配列番号1、2、4または5のいずれかに記載の塩基配列からなるポリヌクレオチド。
- (5) 配列番号9に記載のアミノ酸配列をコードする塩基配列を含み、配列番号2または5に記載の塩基配列と相補的な配列からなるポリヌクレオチドとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつトランスポーター活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド。 10
- (6) ポリヌクレオチドがDNAである(3)から(5)の何れかに記載のポリヌクレオチド。
- 【0009】
- (7) (3)から(6)の何れかに記載のポリヌクレオチドをベクターに組み込んで得られる組換えベクター。
- (8) (7)に記載の組換えベクターを宿主細胞に導入して得られる形質転換体。
- (9) (8)に記載の形質転換体を培地で培養し、培養物中に(1)または(2)に記載のポリペプチドを生成蓄積させ、該培養物から該ポリペプチドを採取することを特徴とする、(1)または(2)に記載のポリペプチドの製造方法。 20
- 【0010】
- (10) 配列番号8に記載の塩基配列と相補的な配列の全部または一部からなるポリヌクレオチド断片。
- (11) (10)に記載のポリヌクレオチド断片を用いて、(3)から(5)の何れかに記載のポリヌクレオチドを検出または定量する方法。
- (12) (3)、(4)または(5)に記載のポリヌクレオチドの塩基配列中または該塩基配列と相補的な配列中の、それぞれ連続した5~60塩基の配列と同じ配列を有するオリゴヌクレオチドまたはその誘導体。
- (13) 配列番号21または22に記載の塩基配列からなる(12)に記載のオリゴヌクレオチドまたはその誘導体。 30
- 【0011】
- (14) (12)または(13)に記載のオリゴヌクレオチドまたはその誘導体を用いて、(3)から(5)の何れかに記載のポリヌクレオチドを検出または定量する方法。
- (15) 自己免疫疾患、シェーグレン病、炎症性疾患、脂質代謝の異常疾患、動脈硬化の診断のために行う、(11)または(14)に記載の方法。
- (16) (12)または(13)に記載のオリゴヌクレオチドまたはその誘導体を用いて、(1)または(2)に記載のポリペプチドの発現を抑制する方法。
- 【0012】
- (17) (1)または(2)に記載のポリペプチドを認識する抗体。 40
- (18) 配列番号25に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドを認識せず、(1)または(2)に記載のポリペプチドを認識する抗体。
- (19) 抗体が、配列番号9に記載のアミノ酸配列を有する領域を認識する抗体である、(17)または(18)に記載の抗体。
- (20) (1)または(2)に記載のポリペプチドのトランスポーター活性を阻害する、(17)から(19)の何れかに記載の抗体。
- 【0013】
- (21) (17)から(20)のいずれかに記載の抗体を用いて(1)または(2)に記載のポリペプチドを検出あるいは定量する方法。
- (22) 細胞内に(1)または(2)に記載のポリペプチドと被験物質とを共存させ、 50

被験物質を共存させない場合よりも共存させた場合に該ポリペプチドのトランスポーター活性が低下する被験物質を選択することを特徴とする、A B C A - S S Nの阻害剤のスクリーニング方法。

(23) (22)に記載のスクリーニング方法により得られるA B C A - S S Nの阻害剤。

【0014】

(24) (1)または(2)に記載のポリペプチドを含有する医薬。

(25) (12)または(13)に記載のオリゴヌクレオチドまたはその誘導体を含有する医薬。

(26) (17)から(20)のいずれかに記載の抗体を含有する医薬。

10

(27) 自己免疫疾患、シェーグレン病、炎症性疾患、脂質代謝の異常疾患、動脈硬化の予防または治療薬である(24)から(26)のいずれかに記載の医薬。

(28) 自己免疫疾患、シェーグレン病、炎症性疾患、脂質代謝の異常疾患、動脈硬化の診断薬である(24)から(27)のいずれかに記載の医薬。

【0015】

【発明の実施の形態】

本発明のポリペプチドは、下記のいずれかのアミノ酸配列からなることを特徴とする。

(A) 配列番号3または6に記載のアミノ酸配列：または

(B) 配列番号3または6に記載のアミノ酸配列に対して、1以上のアミノ酸が欠失、付加、置換および/または挿入したアミノ酸配列からなり、配列番号9に記載のアミノ酸配列を含み、かつトランスポーター活性を有するポリペプチド。

20

【0016】

本発明のポリペプチドの由来は特に限定されず、天然由来のポリペプチドでも、組み換え遺伝子技術を用いて産生した組み換えポリペプチドでも、化学合成したポリペプチドのいずれでもよい。比較的簡単に大量のポリペプチドを入手できるという観点からは、組み換えポリペプチドが好ましい。

配列番号3または6に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドは、本明細書に開示した配列番号3または6に記載のアミノ酸配列の配列情報に基づいて、当業者であれば容易に製造することができる。これらの詳細は、本明細書中の以下の1.および2.に記載されている通りである。

30

【0017】

配列番号3または6に記載のアミノ酸配列に対して、1以上のアミノ酸が欠失、付加、置換および/または挿入したアミノ酸配列からなり、配列番号9に記載のアミノ酸配列を含み、かつトランスポーター活性を有するポリペプチドは、以下に示す方法で該ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドをまず取得し、本明細書中以下の2.に示す遺伝子組換え技術を利用した方法、すなわち該ポリヌクレオチドを含む発現用ベクターを宿主細胞に導入して得られた形質転換体を培養した培養物より取得することができる。

【0018】

該ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドは、Zoller MJ & Smith M, *Nucleic Acids Res.* 10, 6487 (1982)、D albadie-McFarland G et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 79, 6409 (1982)、Wells JA et al., *Gene* 34, 315 (1985)、Carter P et al., *Nucleic Acids Res.* 13, 4431 (1985)、Kunkel TA, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82, 488 (1985)等に記載の部位特異的変異導入法を用いて、例えば、配列番号3または6に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドをコードするポリヌクレオチドに部位特異的変異を導入することにより、取得することができる。

40

【0019】

また目的の変異(欠失、付加、置換および/または挿入)を導入した配列をそれぞれの5

50

5'端に持つ1組のプライマーを用いたPCR [Ho SN et al., Gene 77, 51 (1989)]によっても、配列番号3または6に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドをコードするポリヌクレオチドに変異を導入することができる。すなわち、まず該ポリヌクレオチドの5'端に対応するセンスプライマーと、5'端に変異の配列と相補的な配列を有する、変異導入部位の直前(5'側)の配列に対応するアンチセンスプライマーで該ポリヌクレオチドを鋳型にしてPCRを行い、該ポリヌクレオチドの5'端から変異導入部位までの断片A(その3'端に変異が導入されている)を増幅する。次いで、5'端に変異の配列を有する、変異導入部位の直後(3'側)の配列に対応するセンスプライマーと、該ポリヌクレオチドの3'端に対応するアンチセンスプライマーで該DNAを鋳型にしてPCRを行い、5'端に変異が導入された該ポリヌクレオチドの変異導入部位から3'端までの断片Bを増幅する。これらの増幅断片同士精製後、混合して鋳型やプライマーを加えずにPCRを行うと、増幅断片Aのセンス鎖と増幅断片Bのアンチセンス鎖は変異導入部位が共通しているのでハイブリダイズし、プライマー兼鋳型としてPCRの反応が進行し、変異が導入された該ポリヌクレオチドが増幅する。

10

#### 【0020】

また欠失変異体の一種である配列番号3または6に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドの部分断片をコードするポリヌクレオチドは、該ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド中の作製したい部分断片をコードする領域の5'端の塩基配列と一致する配列を有するオリゴヌクレオチドおよび3'端の塩基配列と相補的な配列を有するオリゴヌクレオチドをプライマーとして用いて、該ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを鋳型にしたPCRを行うことにより取得できる。

20

#### 【0021】

欠失、付加、置換および/または挿入されるアミノ酸の数は特に限定されず、1以上の任意の数であればよいが、上記の部位特異的変異法やPCR等の周知の方法により欠失、付加、置換および/または挿入できる程度の数であることが好ましく、一般的には1個から100個程度であり、好ましくは1から数十個、より好ましくは1~20個、さらに好ましくは1~10個、特に好ましくは1~5個である。

#### 【0022】

また、本発明のポリペプチドがトランスポーター活性を有するためには、配列番号3または6に記載のアミノ酸配列との相同性がBLAST [Altschul SF et al., J. Mol. Biol. 215, 403 (1990)]やFASTA [Pearson WR, Methods in Enzymology 183, 63 (1990)]等の解析プログラムでデフォルト(初期設定)のパラメーターを用いて計算したときに、少なくとも60%以上、好ましくは70%以上、より好ましくは80%以上、さらに好ましくは90%以上、特に好ましくは95%以上、最も好ましくは98%以上であることが好ましい。

30

ただし、本発明のポリペプチドには、公知のポリペプチドは含まれない。

#### 【0023】

本発明で言う「トランスポーター活性」とは、細胞膜上で特定の物質と結合し、該物質を、細胞の中から外へ輸送し排出する活性をいう。

40

#### 【0024】

配列番号3または6のアミノ酸配列に対して、1以上のアミノ酸が欠失、付加、置換および/または挿入したアミノ酸配列からなり、配列番号9のアミノ酸配列を含むポリペプチドが、トランスポーター活性を有するかどうかは、例えば、以下の方法により分析することができる。

先ず、後述する方法により組換え遺伝子技術を用いて該ポリペプチドを細胞膜上に発現させた細胞、好ましくは動物細胞を作製する。この細胞に対して、輸送すると考えられる物質、例えばコレステロールやリン脂質を、<sup>3</sup>Hや<sup>14</sup>C等の放射性同位元素で標識したものを10~100 kBq/mL程度の濃度で添加して、16~24時間培養することにより、細胞に取り込ませる。培養後、細胞を洗浄し、輸送すると考えられる物質を含まない

50

培地で6～72時間培養し、経時的に一定量の細胞および培地を採取し、その放射能を液体シンチレーションカウンター等の放射能測定器で測定する。細胞内に取り込まれた放射エネルギーに対する培地中の放射エネルギーの割合をトランスポーター活性として分析する。

#### 【0025】

本発明はまた、上記した本発明のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを提供するものである。本発明のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドの具体例として、下記の何れかのポリヌクレオチドが挙げられる。

(A) 配列番号1、2、4または5のいずれかに記載の塩基配列からなるポリヌクレオチド：

(B) 配列番号9に記載のアミノ酸配列をコードする塩基配列を含み、配列番号2または5に記載の塩基配列と相補的な配列からなるポリヌクレオチドとストリンジентな条件下でハイブリダイズし、かつトランスポーター活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド。 10

#### 【0026】

「ストリンジентな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチド」とは、配列番号2または配列番号5に記載の塩基配列と相補的な配列からなるポリヌクレオチドをプローブとして、コロニー・ハイブリダイゼーション法、ブランク・ハイブリダイゼーション法あるいはサザンブロットハイブリダイゼーション法を用いることにより得られるポリヌクレオチドを意味し、具体的には、コロニーあるいはブランク由来のDNAを固定化したフィルターを用いて、0.7～1.0 mol/LのNaCl存在下、65℃でハイブリダイゼーションを行った後、0.1～2倍濃度のSSC(saline-sodium citrate)溶液(1倍濃度のSSC溶液の組成は、150 mmol/L塩化ナトリウム、15 mmol/Lクエン酸ナトリウムよりなる)を用い、65℃条件下でフィルターを洗淨することにより同定できるポリヌクレオチドをあげることができる。 20

#### 【0027】

ハイブリダイゼーションは、Sambrook J et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press (1989)(以下、モレキュラー・クローニング第2版と略す)、Ausbel FM et al., Current Protocols in Molecular Biology, Supplement 1~38, John Wiley & Sons (1987-1997)、Glover DM and Hames BD, DNA Cloning 1: Core Techniques, A Practical Approach, Second Edition, Oxford University Press (1995)等の実験書に記載されている方法に準じて行うことができる。 30

#### 【0028】

ポリヌクレオチドが配列番号2または5に記載の塩基配列からなるポリヌクレオチドとストリンジентな条件下でハイブリダイズし、かつトランスポーター活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチドであるためには、BLASTやFASTA等の解析プログラムでデフォルト(初期設定)のパラメーターを用いて計算したときに、配列番号2または5に記載の塩基配列と少なくとも80%以上、好ましくは90%以上、さらに好ましくは95%以上、特に好ましくは98%以上の相同性を有する塩基配列を有するポリヌクレオチドであることが望ましい。 40

#### 【0029】

ただし、本発明のポリヌクレオチドには、公知のポリヌクレオチドは含まれない。本発明のポリヌクレオチドの核酸の種類としてはDNAまたはRNAを挙げることができる。また本発明のポリヌクレオチドは1本鎖でも2本鎖でもよく、両者が含まれる。

#### 【0030】

以下に本発明の実施方法および利用方法について詳細に説明する

## 1. 本発明のポリヌクレオチドの調製

本発明のポリヌクレオチドとして ABCA - SSN 全長 cDNA をあげることができる。なお、本明細書における全長 ABCA - SSN cDNA には、キャップ構造およびポリ(A)鎖を有する完全長 ABCA - SSN mRNA に由来する完全長 ABCA - SSN cDNA の他に、ABCA - SSN 全体、すなわち配列番号 3 または 6 に記載のアミノ酸配列をコードするオープン・リーディング・フレーム(ORF)を有する cDNA を全て含むものとする。全長 ABCA - SSN cDNA は以下のようにして調製することができる。

### 【0031】

(1) ABCA - SSN 全長 cDNA の調製

ABCA - SSN の cDNA は塩基配列データベースに対し、BLAST 等の相同性解析プログラムを用いて、SS - N cDNA (GenBank アクセス番号: AF140342) の塩基配列と一致する配列を有する塩基配列を検索する。塩基配列データベースとしては、GenBank 等の公的なデータベースの他、本発明のように、あらかじめ cDNA ライブラリーを構築し、各クローンの塩基配列を決定して集積することにより作成した私的なデータベースも利用することができる。このような塩基配列としては、かずさ DNA 研究所の保有するヒト長鎖 cDNA クローンの塩基配列データベースから検索された cDNA クローン hh10210 の塩基配列、ABCA7 の塩基配列 (GenBank アクセス番号 AF250238) をあげることができる。検索の結果得られた塩基配列のもととなった cDNA クローン、例えば hh10210 を入手するか、または配列情報を利用した PCR により、ABCA - SSN cDNA を得ることができる。

### 【0032】

以下に、cDNA ライブラリーの作製法について述べる。cDNA ライブラリーを作製するために、適切な細胞または組織より全 RNA あるいは mRNA を調製する。適切な細胞または組織として、ヒトの胸腺、マクロファージ、脾臓、脳などをあげることができる。全 RNA を調製する方法としては、チオシアン酸グアニジン - トリフルオロ酢酸セシウム法 [Methods in Enzymology, 154, 3 (1987)]、酸性グアニジンチオシアネート・フェノール・クロロホルム (AGPC) 法 [Chomczynski P and Sacchi N, Analytical Biochemistry, 162, 156 (1987)、実験医学 9, 1937 (1991)] 等を用いることができる。全 RNA からポリ(A)<sup>+</sup> RNA として mRNA を調製する方法として、オリゴ(dT)固定化セルロースカラム法 (モレキュラー・クローニング第 2 版) やオリゴ dT ラテックスを用いる方法等を用いることができる。また、ファースト・トラック・mRNA 単離キット [Fast Track mRNA Isolation Kit; インビトロジェン (Invitrogen) 社製]、クイック・プレップ・mRNA 精製キット [Quick Prep mRNA Purification Kit; アマシャム・ファルマシア・バイオテク (Amersham Pharmacia Biotech) 社製] 等のキットを用いて組織や細胞から直接 mRNA を調製することもできる。

### 【0033】

得られた全 RNA あるいは mRNA を使い、常法により cDNA ライブラリーを作製する。cDNA ライブラリーの作製法としては、モレキュラー・クローニング第 2 版や Ausbel FM et al., Current Protocols in Molecular Biology, Supplement 1~38, John Wiley & Sons (1987-1997)、Glover DM and Hames BD, DNA Cloning 1: Core Techniques, A Practical Approach, Second Edition, Oxford University Press (1995)、Ohara O et al., DNA Res. 4, 53 (1997) 等に記載された方法、あるいは市販のキット、例えば スーパースクリプト・プラスミド・システム・フォー・cDNA・シン

10

20

30

40

50

セシス・アンド・プラスミド・クローニング [SUPERSCRIPT Plasmid System for cDNA Synthesis and Plasmid Cloning; ライフ・テクノロジーズ (Life Technologies) 社製] やザップ・cDNA・シンセシス・キット [ZAP-cDNA Synthesis Kit、ストラタジーン (STRATAGENE) 社製] を用いる方法等をあげることができる。

【0034】

cDNAライブラリーを作製するためのクローニングベクターとしては、大腸菌 K12 株中で自立複製できるものであれば、ファージベクター、プラスミドベクター等いずれでも使用できる。

10

具体的には、pBluescript II SK (+) [ストラタジーン社製; Altling-Mees MA and Short JM, Nucleic Acids Res. 17, 9494 (1989)]、Lambda ZAP II (ストラタジーン社製)、gt10、gt11 [Glover DM, DNA Cloning, A Practical Approach, 1, 49 (1985)] 等を挙げることができる。

【0035】

宿主微生物としては、大腸菌 Escherichia coli に属する微生物を用いることが好ましい。具体的には、Escherichia coli XL1-Blue MRF' (ストラタジーン社製)、Escherichia coli SOLRTM (ストラタジーン社製)、Escherichia coli DH10B (ライフ・テクノロジーズ社)、Escherichia coli Y1088 [Young RA and Davis RW, Science 222, 778 (1983)]、Escherichia coli Y1090 [Young RA and Davis RW, Science 222, 778 (1983)]、Escherichia coli DH5 (ライフ・テクノロジーズ社) 等を用いることができる。

20

【0036】

上記方法により作製した cDNAライブラリーに加え、市販の cDNAライブラリーも利用することができる。市販の cDNAライブラリーとしては、クローンテック社、宝酒造株式会社等のヒト胸腺 cDNAライブラリーをあげることができる。

30

得られた cDNA の塩基配列は、アプライドバイオシステムズ (Applied Biosystems) 社やアマシャム・ファルマシア・バイオテク社、ライコア (LI-COR) 社製の DNA シークエンサー (アプライドバイオシステムズ社製 377 など) やジデオキシ法 [Sanger F et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 74, 5463 (1977)] により確認することができる。

【0037】

また別法として、配列情報を利用した PCR [M. J. McPherson et al., PCR, A Practical Approach, Oxford University Press (1991)] により ABCA-SSN cDNA を得るには、まず、得られた塩基配列情報のもととなった cDNA クローンが単離された組織や細胞、例えばヒト胸腺、脾臓、脳、マクロファージなどから一本鎖 cDNA あるいは上記の方法で cDNAライブラリーを調製する。一本鎖 cDNA は、上記 cDNAライブラリーの作製法に記載した方法で全 RNA を調製し、さらに必要に応じて、全 RNA をデオキシリボヌクレアーゼ I (ライフ・テクノロジーズ社製) で処理し、混入の可能性がある染色体 DNA を分解する。得られた全 RNA に対し、オリゴ (dT) プライマーまたはランダムプライマーを用いた RT-PCR 用スーパースク립ト・ファースト・ストランド・システム (SUPERSCRIPT First-Strand Synthesis System for RT-PCR; ライフ・テクノロジーズ社) 等のキットを利用することにより一本鎖 cDNA を作製する。次いで、ABCA-SSN cDNA の塩基配列情報の 5' 端から 10~30 塩基の配列を有するオリゴ DNA および 3' 端から 10~3

40

50

0塩基の配列と相補的な配列を有するオリゴDNAをプライマーにして、該一本鎖cDNAあるいは該cDNAライブラリーをテンプレートにしたPCRを行うことにより、ABCA-SSN cDNAを増幅し単離することができる。オリゴDNAはアプライドバイオシステムズ社のABI392、ABI3948等のDNA合成機で合成できる。また、ジェンセット(GENSET)社や宝酒造株式会社等に合成を依頼することもできる。

【0038】

以上のようにして得られたABCA-SSN cDNAが全長でないと考えられる場合は、上記と同様にして調製したヒト胸腺等のcDNAライブラリーをテンプレートにし、得られたABCA-SSN cDNAの5'側の配列と相補的な配列を有するオリゴDNAおよびライブラリーのクロニングサイトよりも5'側の配列を有するオリゴDNAをプライマーとしてPCRを行うことにより、最初に得られたcDNAより5'側のcDNA断片を得ることができる。得られたABCA-SSN cDNAの3'側の配列を有するオリゴDNAおよびライブラリーのクロニングサイトより3'側の配列と相補的な配列を有するオリゴDNAをプライマーとして同様に該cDNAライブラリーをテンプレートにしてPCRを行うことにより最初に得られたcDNAより3'側のcDNA断片を得ることができる。あるいはヒト胸腺等よりcDNAを調製し、そのcDNAの両端にアダプターオリゴDNAを付加し、このアダプターの塩基配列と最初に得られたcDNAの塩基配列に基づいたプライマーでPCRを行う5'-RACE(rapid amplification of cDNA ends)法および3'-RACE法[Frohman MA et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 85, 8998 (1988)]によっても、プライマーに用いた配列よりも5'側および3'側のcDNA断片を得ることができる。

【0039】

このようにして得られた5'側あるいは3'側のcDNA断片の塩基配列を最初に得られたcDNAと同様に決定することにより、ABCA-SSN全体をコードするcDNAの塩基配列を明らかにすることができる。このようにして明らかになったABCA-SSN cDNAの塩基配列として配列番号1または4に示す配列をあげることができる。これらの配列は、公知のABCA7 cDNAの塩基配列に配列番号8に示す塩基配列が挿入されたスプライシング・バリエーションである。このようにして明らかになったABCA-SSN cDNAの塩基配列をアミノ酸に翻訳することにより、該cDNAがコードするABCA-SSNのアミノ酸配列を明らかにすることができる。このようにして明らかになったABCA-SSNのアミノ酸配列として配列番号3または6に示す配列をあげることができる。また、ABCA-SSNをコードするポリヌクレオチドとしては、配列番号1、2、4または5のいずれかに記載の塩基配列を有するポリヌクレオチドをあげることができる。なお、ABCA-SSN全体のアミノ酸配列をコードしていれば、ABCA-SSNをコードしている領域の各コドンの塩基配列はcDNAで用いられているコドンに限られるものではなく、同じアミノ酸をコードするあらゆるコドンの塩基配列を用いることができる。

【0040】

上記で得られたcDNAを適当な制限酵素サイト等を利用してつなぎあわせるか、あるいは明らかになったABCA-SSN全長cDNAの5'側の配列を有するオリゴDNAおよび3'側の配列塩基配列に基づいたプライマーを用いて、ABCA-SSNを発現している組織、たとえばヒト胸腺等から調製したcDNAあるいはcDNAライブラリーを鋳型としてPCRを行うことによりABCA-SSN全長cDNAを調製することができる。また、このようにして得られたABCA-SSN全長cDNAを、適当なクロニングベクターにクローン化したABCA-SSN全長cDNAクローンをを用いて大腸菌を形質転換し、該形質転換体大腸菌を培養し、そこからプラスミドDNAを調製することにより、ABCA-SSN全長cDNAを調製することができる。

【0041】

このようにして得られた配列番号2に記載の塩基配列からなるDNAをベクターpCR2

10

20

30

40

50

． 1 (ストラタジーン社製) に挿入したプラスミドである p A B C A - S S N / C R 2 . 1 は、平成 13 年 5 月 15 日付けで独立行政法人 産業技術総合研究所 特許微生物寄託センター (日本国茨城県つくば市東一丁目 1 番 3 号) に F E R M B P - 7 5 8 7 として寄託されている。

あるいは、また A B C A - S S N 全長 c D N A をその塩基配列に基づいて、上に記載した D N A 合成機で化学合成することもできる。

#### 【 0 0 4 2 】

( 2 ) 他の生物の A B C A - S S N をコードする D N A の取得

一般に同じ機能を持つ蛋白質は、生物種が異なった場合、同一ではないが相同性を示すアミノ酸配列を有する場合が多い。したがってその蛋白質をコードする D N A も同様に相同性を示すと考えられる。また、生物の進化に伴い遺伝子の変異も進むため、その生物種が系統的に近いほど、その相同性は高いと考えられる。従って、( 1 ) で得られたヒト A B C A - S S N c D N A あるいはその塩基配列情報を用いることにより、以下に示す方法で、他の哺乳類、例えばマウスの A B C A - S S N c D N A を取得することができる。この c D N A が全長 c D N A でない場合は、( 1 ) と同様の方法を用いることにより全長 c D N A を得ることができる。

10

#### 【 0 0 4 3 】

( 2 - 1 ) c D N A ライブラリーのスクリーニング

ヒト以外の生物の A B C A - S S N c D N A クロームは、該生物における、ヒト A B C A - S S N が発現しているのと同じ組織例えば胸腺、マクロファージ、脾臓、脳等の組織から ( 1 ) と同様にして c D N A ライブラリーを作製するか、そのような組織の市販の c D N A ライブラリーを購入し、当該 c D N A ライブラリーから、ヒト A B C A - S S N c D N A を放射性同位体やジギキシゲニン等で標識したものをプローブにして、ややストリンジентな条件でコロニーハイブリダイゼーションやブランクハイブリダイゼーションを行なうことにより、取得することができる。ここでいうややストリンジентな条件とは、ヒト A B C A - S S N c D N A と該生物の A B C A - S S N c D N A の相同性の程度によって異なるが、制限酵素切断した該生物の染色体 D N A に対してヒト A B C A - S S N c D N A をプローブにして、ストリンジентな度合いが異なるいくつかのハイブリダイズ条件でサザンロットハイブリダイゼーションを行い、明確なバンドが見える条件のうち最もストリンジентな条件を用いる。例えばホルムアミドを含まないハイブリダイズ液の場合、ハイブリダイズ液の組成は塩濃度を 1 m o l / L に固定し、ハイブリダイズ温度を 6 8 ~ 4 2 で段階的に変えたいくつかの条件下でハイブリダイズを行い、ハイブリダイズと同じ温度で 0 . 5 % ドデシル硫酸ナトリウム ( S D S ) を含む 2 × S S C で洗浄を行って決めてみる。あるいはホルムアミドを含むハイブリダイズ液の場合、温度 4 2 と塩濃度 ( 6 × S S C ) を固定し、ホルムアミド濃度を 5 0 ~ 0 % で段階的に変えたいくつかの条件下でハイブリダイズを行い、5 0 で 0 . 5 % S D S を含む 6 × S S C で洗浄を行って決めてみる。

20

30

#### 【 0 0 4 4 】

( 2 - 2 ) E S T およびゲノム塩基配列の利用

( 1 ) で得られたヒト A B C A - S S N c D N A の塩基配列、特に蛋白質をコードしている領域と高い ( 具体的には 8 0 % 以上の ) 相同性をもつ該生物の D N A の塩基配列を G e n B a n k 等の塩基配列データベースから B L A S T 等の相同性プログラムを用いて検索することにより、該生物の A B C A - S S N c D N A 由来と推定される E S T あるいは A B C A - S S N 遺伝子のエキソン部分を含むゲノム D N A の塩基配列を見出すことができる。このような塩基配列として、G e n B a n k アクセス番号 A F 2 1 3 3 9 5 や B B 4 4 6 6 8 8 、 B B 1 2 2 3 7 8 のマウス E S T や部分 c D N A 配列をあげることができる。これらの配列のもととなった c D N A クロームを入手するか、これらの配列に基づいたプライマーを作製し、A B C A - S S N が発現していると考えられる該生物の胸腺、マクロファージ、脾臓、脳等の組織から調製した R N A から ( 1 ) と同様の R T - P C R を行い D N A 断片を増幅することにより、該生物の A B C A - S S N c D N A を得ること

40

50

ができる。またこの cDNA が全長でなくても、この cDNA をプローブして非常にストリンジントな条件（例えば、 $6 \times \text{SSC} - 0.5\% \text{SDS} - 5 \times$  デンハルト溶液を含む溶液中で  $65^\circ\text{C}$  でハイブリダイズさせ、 $2 \times \text{SSC} - 0.1\% \text{SDS}$  で  $65^\circ\text{C}$  で洗浄する条件。）で該生物の胸腺、マクロファージ、脾臓、脳等の組織から調製した cDNA ライブラリーを、コロニーハイブリダイゼーションやブランクハイブリダイゼーションなどによってスクリーニングすることにより、該生物の ABCA - SSN cDNA クローンを取得することができる。

#### 【0045】

##### (3) ABCA - SSN オリゴヌクレオチドの調製

(1) に記載の DNA 合成機により、本発明の ABCA - SSN ポリヌクレオチドの一部の配列を有するオリゴヌクレオチドあるいはこれと相補的な塩基配列をもつオリゴヌクレオチド（以下、ABCA - SSN オリゴヌクレオチドと略記する）を調製することができる。

ABCA - SSN オリゴヌクレオチドとしては、具体的には、配列番号 1 または 4 に記載の塩基配列中の連続した 10 ~ 60 塩基と同じ配列を有する DNA または該 DNA と相補的な配列を有する DNA をあげることができる。これらの DNA をセンスプライマーまたはアンチセンスプライマーとして用いる場合には、融解温度および塩基数が極端に変わることはないオリゴヌクレオチドが好ましい。

#### 【0046】

更に、これらオリゴヌクレオチドの誘導体（以下、オリゴヌクレオチド誘導体という）も本発明のオリゴヌクレオチドとして利用することができる。

該オリゴヌクレオチド誘導体としては、オリゴヌクレオチド中のリン酸ジエステル結合がホスフォロチオエート結合に変換されたオリゴヌクレオチド誘導体、オリゴヌクレオチド中のリン酸ジエステル結合が  $\text{N}3' - \text{P}5'$  ホスフォアミデート結合に変換されたオリゴヌクレオチド誘導体、オリゴヌクレオチド中のリボースとリン酸ジエステル結合がペプチド核酸結合に変換されたオリゴヌクレオチド誘導体、オリゴヌクレオチド中のウラシルが C - 5 プロピニルウラシルで置換されたオリゴヌクレオチド誘導体、オリゴヌクレオチド中のウラシルが C - 5 チアゾールウラシルで置換されたオリゴヌクレオチド誘導体、オリゴヌクレオチド中のシトシンが C - 5 プロピニルシトシンで置換されたオリゴヌクレオチド誘導体、オリゴヌクレオチド中のシトシンがフェノキサジン修飾シトシン（phenoxazine-modified cytosine）で置換されたオリゴヌクレオチド誘導体、オリゴヌクレオチド中のリボースが 2' - o - プロピルリボースで置換されたオリゴヌクレオチド誘導体、あるいはオリゴヌクレオチド中のリボースが 2' - メトキシエトキシリボースで置換されたオリゴヌクレオチド誘導体等をあげることができる [横山和尚, 細胞工学, 16, 1463 (1997)]。

#### 【0047】

##### 2. ABCA - SSN ポリペプチドの製造法

本発明のポリペプチドである ABCA - SSN ポリペプチドは、モレキュラー・クローニング第 2 版、Glover DM and Hames BD; DNA Cloning 1: Core Techniques, A Practical Approach, Second Edition, Oxford University Press (1995) 等に記載された遺伝子組換え法により、1. で調製した ABCA - SSN をコードするポリヌクレオチドを用いて製造することができる。

すなわち、ABCA - SSN をコードするポリヌクレオチドである ABCA - SSN をコードする DNA（以下、ABCA - SSN DNA と略す。）を適当な発現ベクターのプロモーター下流に挿入した組換え体ベクターを作製し、該ベクターを宿主細胞に導入することにより、ABCA - SSN ポリペプチドを発現する形質転換体を取得し、該形質転換体を培養することにより、本発明の ABCA - SSN ポリペプチドを製造することができる。

#### 【0048】

10

20

30

40

50

発現ベクターとしては、宿主細胞において自律複製可能ないしは染色体中への組込が可能で、宿主細胞中で ABCA - SSN DNA から mRNA を転写できるプロモーターを含有しているものが用いられる。

宿主細胞としては、原核生物、酵母、動物細胞、昆虫細胞、植物細胞等、目的とする遺伝子を発現できるものであればいずれも用いることができる。また、動物個体や植物個体を用いることができる。

【0049】

細菌等の原核生物を宿主細胞として用いる場合は、発現ベクターは宿主原核生物中で自律複製可能であり、リボソーム結合配列を有するプロモーターの下流に ABCA - SSN DNA が配置されたものを用いる。リボソーム結合配列と開始コドンとの間は適当な距離（例えば、大腸菌宿主のベクターの場合 6 ~ 18 塩基）に調節されていることが好ましい。必ずしも必要ではないが、ABCA - SSN DNA の直下に転写終結配列を配置する方が好ましい。また、形質転換体の選択のため、薬剤耐性遺伝子等のマーカーとなる遺伝子を発現する配列を含むようにする。

10

【0050】

プロモーターとしては、宿主細胞中で発現できるものであればいかなるものでもよい。例えば大腸菌を宿主とした場合は、trpプロモーター、lacプロモーター、 $P_L$ プロモーター、 $T_7$ プロモーター、 $P_R$ プロモーター等の、大腸菌やファージ等に由来するプロモーター等をあげることができる。また trpプロモーターを2つ直列させたプロモーター、tacプロモーター、T7lacプロモーター、letIプロモーターのように人為的に設計変更されたプロモーター等も用いることができる。枯草菌を宿主とした場合は、枯草菌のファージである SPO1 や SPO2 のプロモーター、PenPプロモーター等をあげることができる。

20

【0051】

発現ベクターとしては、例えば、pSE280 [インビトロジェン社製]、pGEMEX-1 [プロメガ (Promega) 社製]、pQE-8 [キアゲン (QIAGEN) 社製]、pKYP200 [Nishi T et al., Agric. Biol. Chem. 48, 669 (1984)]、pLSA1 [Nishi T et al., Agric. Biol. Chem. 53, 277 (1989)]、pGEL1 [Sekine S et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82, 4306 (1985)]、pBluescript II SK(-) [ストラタジーン社製]、pKK223-3 (アマシャム・ファルマシア・バイオテク社製)、pGEX-5X-3 (アマシャム・ファルマシア・バイオテク社製)、pET14 [ノバジェン (Novagen) 社製] 等を例示することができる。

30

【0052】

宿主細胞としては、エシェリヒア属、セラチア属、バチルス属、ブレヴィバクテリウム属、コリネバクテリウム属、ミクロバクテリウム属、シュードモナス属等に属する微生物、例えば、Escherichia coli XL1-Blue、Escherichia coli XL2-Blue、Escherichia coli DH1、Escherichia coli MC1000、Escherichia coli KY3276、Escherichia coli W1485、Escherichia coli JM109、Escherichia coli HB101、Escherichia coli No.49、Escherichia coli W3110、Escherichia coli NY49、Serratia ficaria、Serratia fonticola、Serratia liquefaciens、Serratia marcescens、Bacillus subtilis、Bacillus amyloliquefaciens、Brevibacterium ammoniagenes、Brevibacterium immariophilum ATCC14068、Brevibacterium saccharolyticum ATCC14066、Corynebacterium glutamicum A

40

50

TCC13032、Corynebacterium glutamicum ATCC 14067、Corynebacterium glutamicum ATCC 13869、Corynebacterium acetoacidophilum ATCC 13870、Microbacterium ammoniaphilum ATCC 15354、Pseudomonas sp. D-0110等をあげることができる。

【0053】

組換えベクターの導入方法としては、上記宿主細胞へDNAを導入する方法であればいずれも用いることができ、例えば、エレクトロポレーション法 [Dower WJ et al., *Nucleic Acids Res.* 16, 6127 (1988)]、カルシウムイオンを用いる方法 [Cohen SN et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 69, 2110 (1972)、Reid JD et al., *Gene* 17, 107 (1982)]、プロトプラスト法 [特開昭63-248394、Chan S and Cohen SN, *Mol. Gen. Genet.* 168, 111 (1979)]等をあげることができる。

【0054】

酵母を宿主細胞として用いる場合の発現ベクターとしては、宿主酵母で転写を行なうプロモーター、ABC A-SSN DNA、転写の終止配列および酵母での形質転換マーカーとなる遺伝子、たとえば薬剤耐性遺伝子やTRP1、HIS3、LUE2等のアミノ酸合成系の遺伝子を発現できる配列を含有しているものが用いられる。また、発現ベクターの作製や維持を容易にするため、大腸菌内でも自律複製と遺伝子導入マーカーとなる薬剤耐性遺伝子を発現できるものが好ましい。

【0055】

プロモーターとしては、酵母中で転写を行なえるものであればいずれのものを用いてもよく、例えばSaccharomyces cerevisiaeのアルコールデヒドロゲナーゼ遺伝子ADH1、ガラクトース代謝系遺伝子GAL1やGAL10等のプロモーター、酸性フォスファターゼ遺伝子PHO5プロモーター、フォスフォグリセレートキナーゼ遺伝子PGKプロモーター、グリセルアルデヒド3リン酸デヒドロゲナーゼ遺伝子GAPプロモーター、ヒートショック蛋白質遺伝子プロモーター、接合因子遺伝子MF1プロモーター、銅メタロチオネイン遺伝子CUP1プロモーター、Pichia pastorisのアルコールオキシダーゼ遺伝子AOX1のプロモーター等が用いられる。

【0056】

宿主細胞としては、サッカロマイセス属、シゾサッカロマイセス属、クルイペロミセス属、トリコスポロン属、シワニオミセス属、ピヒア属等に属する酵母菌株をあげることができ、具体的には、Saccharomyces cerevisiae、Schizosaccharomyces pombe、Kluyveromyces lactis、Trichosporon pullulans、Schwanniomyces aluvius、Pichia pastoris等をあげることができる。

【0057】

組換えベクターの導入方法としては、酵母にDNAを導入する方法であればいずれも用いることができ、例えば、エレクトロポレーション法 [Becker DM and Guarente L, *Methods. Enzymol.* 194, 182 (1991)]、スフェロプラスト法 [Shortle D et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81, 4889 (1984)]、酢酸リチウム法 [Ito H et al., *J. Bacteriol.* 153, 163 (1983)]等をあげることができる。

【0058】

動物細胞を宿主として用いる場合の発現ベクターとしては、宿主動物細胞で転写を行なうプロモーター、ABC A-SSN DNA、転写の終止と転写物のポリアデニル化のシグナルの配列を含有しているものが用いられる。またベクターの作製や維持を容易にするた

め、大腸菌内でも自律複製と遺伝子導入マーカーとなる薬剤耐性遺伝子を発現できるものが望ましい。プロモーターとしては、動物細胞中で転写を行なえるものであればいずれも用いることができるが、SV40の初期プロモーター、ヒトサイトメガロウイルスのIE (immediate early) 遺伝子のプロモーターおよびエンハンサー、ラウス肉腫ウイルス、ヒトT細胞白血病ウイルスI、モロニーマウス白血病ウイルス等のレトロウイルスのLTR (long terminal repeat) 等のウイルス由来の配列、あるいはメタロチオネイン遺伝子や  $\alpha$ -アクチン遺伝子、伸長因子-1などの動物細胞由来の遺伝子のプロモーター等をあげることができる。またSV40の初期プロモーターとヒトT細胞白血病ウイルスIのLTRを組み合わせたSRプロモーター等これらのプロモーターを人為的に組み合わせたプロモーターも用いられる。

10

## 【0059】

宿主染色体DNAにABC A - SSN DNAが組み込まれた恒常的なABC A - SSNポリペプチド発現細胞は、G418、ハイグロマイシン等の薬剤に対する耐性遺伝子を発現できる配列を含むABC A - SSNポリペプチド発現ベクターを宿主細胞に導入し、薬剤の存在下で培養することにより選択することができる。また、宿主細胞中でのABC A - SSNポリペプチドの生産量を上昇させるために、ジヒドロ葉酸レダクターゼ (dhfr) 遺伝子を発現できるような配列を含むABC A - SSNポリペプチドの恒常的発現ベクターを宿主細胞に導入し、dhfr阻害剤であるメトトレキサート (methotrexate) の濃度を段階的に上げながら培養することにより、dhfr遺伝子とともにABC A - SSN DNAのコピー数を増幅させることもできる。このdhfr遺伝子を用いた遺伝子増幅を行なう場合の宿主細胞としては、dhfr遺伝子が機能していない細胞、例えばCHO/dhfr<sup>-</sup> (ATCC: CRL-9096) などを用いる。

20

## 【0060】

上記のABC A - SSNポリペプチド発現ベクターの作製に用いられる具体的なベクターとして、例えば、pEGFP-C2 (クローンテック社製)、PAGE107 [特開平3-22979、Miyaji H et al., Cytotechnol. 3, 133 (1990)]、pAS3-3 (特開平2-227075)、pCDM8 [Seed B, Nature 329, 840 (1987)]、pcDNA3.1 (+) (インビトロジェン社製)、pREP4 (インビトロジェン社製)、pBK-RSV (ストラタジーン社製)、pSVK3 (アマシャム・ファルマシア・バイオテク社製)、pAMo [Sasaki K et al., J. Biol. Chem. 268, 22782 (1993)]、pCMV6C [ATCC番号: 87782、Anderson S et al., J. Biol. Chem. 264, 8222 (1989)] 等があげられる。

30

## 【0061】

宿主細胞としては、ヒト細胞であるHeLa、ナマルバ (Namalwa)、HEK293 (CRL-1573)、アフリカミドリザル腎臓細胞であるCOS-1やCOS-7、ハムスターの細胞であるCHOやBHK、マウス胎児細胞であるNIH3T3、マウス・ミエローマ細胞であるSP2/0やNS0、ラット・ミエローマ細胞であるYB2/0等の細胞株をあげることができる。

40

## 【0062】

組換えベクターの導入方法としては、動物細胞にDNAを導入する方法であればいずれも用いることができ、例えば、エレクトロポレーション法 [Miyaji H et al., Cytotechnol. 3, 133 (1990)]、リン酸カルシウム法 (特開平2-227075)、リポフェクション法 [Felgner PL et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84, 7413 (1987)] 等をあげることができる。

## 【0063】

昆虫細胞を宿主細胞として用いる場合は、バキュロウイルス発現系 [O'Reilly DR et al., Baculovirus Expression Vector

50

s: A Laboratory Manual, W. H. Freeman and Company, New York (1992)、Luckow VA and Summers MD, Bio/Technology 6, 47 (1988)] が用いられる。即ち、トランスファーベクターと呼ばれるベクターに ABCA-SSN DNA を挿入した後、該ベクターとバキュロウイルスを昆虫細胞に同時に導入し、強力なプロモーターであるポリヘドリン遺伝子プロモーター下に ABCA-SSN DNA が挿入された組換えバキュロウイルスを相同組換えによって作製した後、この組換えバキュロウイルスを再度昆虫細胞に感染させることにより、ABCA-SSNポリペプチドを発現することができる。

#### 【0064】

バキュロウイルスとしては Autographa californica 核多角体病ウイルス、カイコ核多角体病ウイルス等が用いられる。昆虫細胞としては Spodoptera frugiperda の細胞である Sf9 および Sf21 [O'Reilly DR et al., Baculovirus Expression Vectors: A Laboratory Manual, W. H. Freeman and Company, New York (1992)]、Trichoplusia ni の細胞である High5 (インビトロジェン社製) 等を用いることができる。また、カイコ幼虫体をそのまま用いることもできる。トランスファーベクターには、ポリヘドリンプロモーターおよび相同組換えを起こさせるためのバキュロウイルス由来の配列、ベクターの維持・増殖や外来遺伝子の組み込み等の遺伝子操作を大腸菌内で行なうための配列 (大腸菌での自律複製可能な配列および薬剤耐性遺伝子) が含まれており、具体的には pVL1392、pVL1393、pBlue4.5 (ともにインビトロジェン社製) 等があげられる。

#### 【0065】

動物個体を用いて ABCA-SSNポリペプチドを生産することもできる。例えば、公知の方法 [Colman A., Am. J. Clin. Nutr. 63, 639S (1996)、Rosen JM et al., Am. J. Clin. Nutr., 63, 627S (1996)、Wright G et al., Bio/Technology, 9, 830 (1991)] に準じて、ABCA-SSN DNA を導入した動物中に ABCA-SSNポリペプチドを生産することができる。

#### 【0066】

プロモーターとしては、動物で発現できるものであればいずれも用いることができるが、例えば、乳腺細胞特異的なプロモーターである カゼインプロモーター、カゼインプロモーター、ラクトグロブリンプロモーター、ホエー酸性プロテインプロモーター等が好適に用いられる。

#### 【0067】

植物細胞または植物個体を宿主として用いる場合には、公知の方法 [井沢毅, 組織培養, 20, 6 (1994)、橋本隆, 組織培養, 21, 14 (1995)、Miele L, Trends Biotechnol. 15, 45 (1997)] に準じて ABCA-SSNポリペプチドを生産することができる。

#### 【0068】

ABCA-SSNポリペプチドの発現に用いるプロモーターとしては、植物細胞中で遺伝子を発現できるものであればいずれも用いることができ、例えば、カリフラワーモザイクウイルスの 35Sプロモーター、イネアクチン1プロモーター等をあげることができる。また、プロモーターと ABCA-SSN DNA との間に、トウモロコシのアルコール脱水素酵素遺伝子のイントロン1等を挿入することにより、ABCA-SSNポリペプチドの発現効率をあげることもできる。

宿主細胞としては、ポテト、タバコ、トウモロコシ、イネ、アブラナ、大豆、トマト、小麦、大麦、ライ麦、アルファルファ、亜麻等の植物細胞等をあげることができる。

10

20

30

40

50

## 【0069】

組換えベクターの導入方法としては、植物細胞にDNAを導入する方法であればいずれも用いることができ、例えば、アグロバクテリウム (*Agrobacterium*)、エレクトロポレーション法 [Miyaji H et al., *Cytotechnol.*, 3, 133 (1990)]、パーティクルガン (遺伝子銃) を用いる方法等をあげることができる。

ABCA-SSN DNAを導入した植物の細胞や器官は、ジャーファーマンターを用いて大量培養することができる。また、遺伝子導入した植物細胞を再分化させることにより、ABCA-SSN DNAが導入された植物個体 (トランスジェニック植物) を造成することもできる。

10

## 【0070】

ABCA-SSN DNAを組み込んだ組換え体ベクターを保有する微生物、動物細胞、あるいは植物細胞由来の形質転換体を、通常の培養方法に従って培養し、ABCA-SSNポリペプチドを生成蓄積させ、該培養物よりABCA-SSNポリペプチドを採取することにより、ABCA-SSNポリペプチドを製造することができる。

動物細胞を宿主とした形質転換体を培養する培地としては、一般に使用されている動物細胞の培養ができる培地であればいずれも用いることができ、例えば、RPMI 1640培地 [J. Am. Med. Assoc., 199, 519 (1967)]、イーグル (Eagle) の最小必須培地 [MEM; Eagle H., *Science* 122, 501 (1952)]、ダルベッコ (Dalbecco) 改変イーグル (Eagle) 培地 [DMEM; Dalbecco R and Freeman G, *Virology* 8, 396 (1959)]、199培地 [Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 73, 1 (1950)] またはこれら培地に牛胎児血清等を添加した培地等を用いることができる。必要に応じてペニシリンやストレプトマイシン等の抗生物質を培地に添加してもよい。培養は、通常pH6~8、30~40、5%CO<sub>2</sub>存在下等の条件下で1~7日間行う。

20

## 【0071】

昆虫細胞を宿主細胞として得られた形質転換体を培養する培地としては、一般に使用されているTMN-FH培地 [BDファーマンジェン社 (BD Pharmingen) 製]、Sf-900 I I SFM培地 [ライフ・テクノロジーズ社 (Life Technologies) 製]、EX-CELL 400、EX-CELL 405 [いずれもJRHバイオサイエンス社 (JRH Biosciences, Inc.) 製]、グレース (Grace) の昆虫培地 [Grace TDC, *Nature* 195, 788 (1962)] 等を用いることができる。培養条件は、pH6~7、培養温度25~30がよく、培養時間は、通常1~5日間である。また、培養中必要に応じて、ゲンタマイシン等の抗生物質を培地に添加してもよい。

30

## 【0072】

形質転換体が動物個体または植物個体の場合は、通常の方法に従って、飼育または栽培し、ABCA-SSNポリペプチドを生成蓄積させ、該動物個体または植物個体よりABCA-SSNポリペプチドを採取することにより、ABCA-SSNポリペプチドを製造することができる。

40

## 【0073】

すなわち、動物個体の場合、例えば、ABCA-SSN DNAを保有する非ヒトトランスジェニック動物を飼育し、該組換え体DNAのコードするABCA-SSNポリペプチドを該動物中に生成・蓄積させ、該動物中よりABCA-SSNポリペプチドを採取することにより、ABCA-SSNポリペプチドを製造することができる。該動物中の生成・蓄積場所としては、例えば、該動物のミルク、卵等をあげることができる。

## 【0074】

植物個体の場合、例えば、ABCA-SSN DNAを保有するトランスジェニック植物を栽培し、ABCA-SSNポリペプチドを該植物中に生成蓄積させ、該植物中よりA B

50

C A - S S N ポリペプチドを採取することにより、A B C A - S S N ポリペプチドを製造することができる。

【0075】

大腸菌等の原核生物あるいは酵母等の真核生物を宿主として得られた形質転換体を培養する培地としては、該生物が資化し得る炭素源、窒素源、無機塩類等を含み、形質転換体の培養を効率的に行える培地であれば天然培地、合成培地のいずれを用いてもよい。

炭素源としては、該生物が資化し得るものであればよく、グルコース、フラクトース、スクロース、これらを含みする糖蜜、デンプンあるいはデンプン加水分解物等の炭水化物、酢酸、プロピオン酸等の有機酸、エタノール、プロパノールなどのアルコール類等を用いることができる。

10

【0076】

窒素源としては、アンモニア、塩化アンモニウム、硫酸アンモニウム、酢酸アンモニウム、リン酸アンモニウム等の無機酸もしくは有機酸のアンモニウム塩、その他の含窒素化合物、並びに、ペプトン、肉エキス、酵母エキス、コーンステープリカー、カゼイン加水分解物、大豆粕および大豆粕加水分解物、各種発酵菌体、およびその消化物等を用いることができる。

無機塩としては、リン酸水素二カリウム、リン酸二水素カリウム、リン酸マグネシウム、硫酸マグネシウム、塩化ナトリウム、硫酸第一鉄、硫酸マンガン、硫酸銅、炭酸カルシウム等を用いることができる。

【0077】

培養は、通常振盪培養または深部通気攪拌培養などの好氣的条件下で行う。培養温度は15～40℃がよく、培養期間は、通常16～96時間である。培養中pHは3.0～9.0に保持する。pHの調整は、無機または有機の酸、アルカリ溶液、尿素、炭酸カルシウム、アンモニアなどを用いて行う。必要に応じて、培養期間中にアンピシリンやテトラサイクリン等の抗生物質を培地に添加してもよい。

20

プロモーターとして誘導性のプロモーターを用いた発現ベクターで形質転換した微生物を培養するときには、必要に応じてインデューサーを培地に添加してもよい。例えば、l a cプロモーターを用いた発現ベクターで形質転換した微生物を培養するときにはイソプロピルチオガラクトシド(IPTG)等を、t r pプロモーターを用いた発現ベクターで形質転換した微生物を培養するときにはインドールアクリル酸等を培地に添加してもよい。

30

【0078】

上記形質転換体の培養物中に蓄積したA B C A - S S N ポリペプチドを単離精製するには、以下のような通常のポリペプチドの単離精製法を用いればよい。

A B C A - S S N ポリペプチドが細胞外に分泌される場合には、培地中にA B C A - S S N ポリペプチドが蓄積する。従って培養終了後、遠心分離等の手法により細胞を含まない培地のみを回収する。該培地から、通常の蛋白質の単離精製法、即ち、溶媒抽出法、硫酸等による塩析法、脱塩法、有機溶媒による沈殿法、D E A E セファロース、ダイヤイオン(D I A I O N) H P A - 7 5 (三菱化学株式会社製)、M o n o - Q (アマシャム・ファルマシア・バイオテク社製)等のレジンをを用いた陰イオン交換クロマトグラフィー法、S P セファロース(アマシャム・ファルマシア・バイオテク社製)等のレジンをを用いた陽イオン交換クロマトグラフィー法、ブチルセファロース、フェニルセファロース等のレジンをを用いた疎水性クロマトグラフィー法、分子ふるいを用いたゲル過渡法、アフィニティークロマトグラフィー法、クロマトフォーカシング法や等電点電気泳動等の電気泳動法等の手法を単独あるいは組み合わせて用い、精製標品を得ることができる。

40

【0079】

A B C A - S S N ポリペプチドが、形質転換体の細胞内に蓄積する場合には、培養終了後の培養物から、形質転換体の細胞を遠心分離等の手法により回収し、緩衝液にけん濁後、超音波破砕機、フレンチプレス等により細胞を破砕し、無細胞抽出液を得る。A B C A - S S N ポリペプチドが細胞内で溶解状態で存在する場合には、該無細胞抽出液を遠心分離することにより得られた上清から、上記の培地からの精製単離と同様にして精製標品を得

50

ることができる。また、A B C A - S S Nポリペプチドが細胞膜上や細胞内に不溶体を形成して存在する場合は、該無細胞抽出液を遠心分離後、沈殿画分としてA B C A - S S Nポリペプチドの細胞膜あるいは不溶体を回収する。このB A B C A - S S Nポリペプチドの細胞膜あるいは不溶体を蛋白質変性剤で可溶化した後、該可溶化液を、蛋白質変性剤を含まないあるいは蛋白質変性剤の濃度が蛋白質が変性しない程度に希薄な溶液に希釈あるいは透析し、A B C A - S S Nポリペプチドを正常な立体構造に復元させた後、上記と同様の単離精製法により精製標品を得ることができる。

#### 【0080】

また、公知の方法 [ K i g a w a T . ら , J . B i o m o l . N M R , 6 , 129 (1998) 、 S p i r i n A . S . ら , S c i e n c e , 242 , 1162 (1988) 、 K i g a w a T . & Y o k o y a m a S . , J . B i o c h e m . , 110 , 166 (1991) ] に準じて、*in vitro* 転写・翻訳系を用いてA B C A - S S Nポリペプチドを生産することができる。すなわち、A B C A - S S N DNAをSP6、T7、T3等のプロモーターの下流につなげ、それぞれのプロモーター特異的なRNAポリメラーゼを反応させることにより大量のA B C A - S S NをコードするRNAをインビトロで合成した後、無細胞系の翻訳系例えばウサギ網状赤血球ライセートやコムギ胚芽抽出液を用いた翻訳系を利用して、A B C A - S S Nポリペプチドを生産することができる。

精製したA B C A - S S Nポリペプチドの構造解析は、蛋白質化学で通常用いられる方法、例えば「遺伝子クローニングのための蛋白質構造解析」[平野久、東京化学同人 (1993)] に記載の方法により実施可能である。

#### 【0081】

### 3. A B C A - S S Nポリペプチドを認識する抗体の調製

A B C A - S S Nポリペプチドを認識する抗体としては、A B C A - S S Nポリペプチドを認識するポリクローナル抗体またはモノクローナル抗体をあげることができる。

#### 【0082】

#### (1) ポリクローナル抗体の調製

上記2. に記載の方法により取得したA B C A - S S Nポリペプチドの全長または部分断片蛋白質、あるいはペプチド合成機による化学合成法等により製造したA B C A - S S Nポリペプチドの部分ペプチドを抗原として用い、動物に投与することによりポリクローナル抗体を作製することができる。

免疫する方法としては、動物の皮下、静脈内または腹腔内に適当なアジュバンドとともに抗原を投与することが好ましい。アジュバンドとしては、フロイントの完全アジュバンド ( C o m p l e t e F r e u n d ' s A d j u v a n t ) 、水酸化アルミニウムと百日咳菌ワクチン等があげられる。

投与する動物として、ウサギ、ヤギ、ラット、マウス、ハムスター等を用いることができる。該抗原の投与量は動物1匹当たり50~200 $\mu$ gが好ましい。

部分ペプチドを抗原として用いる場合は、該部分ペプチドをKLH ( k e y h o l e l i m p e t h e m o c y a n i n ) や牛チログロブリン等のキャリア蛋白に共有結合させたものを抗原とするのが望ましい。

#### 【0083】

該抗原の投与は、1回目の投与の後1~2週間おきに3~10回行う。各投与後、3~7日目に眼底静脈叢より採血し、該血清が免疫に用いた抗原と反応することを酵素免疫測定法 [ 石川栄治 , 酵素免疫測定法 , 医学書院 (1978) 、 H a r l o w E a n d L a n e D , A n t i b o d i e s : A L a b o r a t o r y M a n u a l , C o l d S p r i n g H a r b o r L a b o r a t o r y (1988) ] 等で確認する。

免疫に用いた抗原に対し、該血清が十分な抗体価を示した非ヒトほ乳動物より血清を取得し、該血清を分離、精製することによりポリクローナル抗体を取得することができる。

#### 【0084】

10

20

30

40

50

分離、精製する方法としては、遠心分離、40～50%飽和硫酸アンモニウムによる塩析、カプリル酸沈殿 [Harlow E and Lane D, Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory (1988)]、またはDEAEセファロースカラム、陰イオン交換カラム、プロテインAカラムやプロテインGカラムあるいはゲル濾過カラム等を用いるクロマトグラフィー等を、単独または組み合わせて処理する方法があげられる。公知のABC A7ポリペプチドを認識せず、本発明のポリペプチドを認識する抗体は、本発明のポリペプチドに特異的なアミノ酸配列、例えば配列番号9に記載のアミノ酸配列中の連続した3個以上のアミノ酸配列からなるペプチドを抗原として上記の方法で動物を免疫することにより作製することができる。

10

## 【0085】

## (2)モノクローナル抗体の調製

ABC A - SSNポリペプチドを認識するモノクローナル抗体は、以下のようにして調製することができる。

## (2-1)抗体産生細胞の調製

上記(1)において、免疫に用いた抗原に対し、その血清が十分な抗体価を示したラットを抗体産生細胞の供給源として供する。

該抗体価を示したラットに抗原物質を最終投与した後3～7日目に、脾臓を摘出する。該脾臓をMEM中で細断し、ピンセットでほぐし、1200rpmで5分間遠心分離した後、上清を捨てる。得られた沈殿画分の脾細胞をトリス-塩化アンモニウム緩衝液(pH7.65)で1～2分間処理し赤血球を除去した後、最小必須培地(MEM)で3回洗浄し、得られた脾細胞を抗体産生細胞として用いる。

20

## 【0086】

## (2-2)骨髄腫細胞の調製

骨髄腫細胞としては、マウスまたはラットから取得した株化細胞を使用する。例えば、8-アザグアニン耐性マウス(BALB/c由来)骨髄腫細胞株P3-X63Ag8-U1 [Yelton DE et al., Curr. Topics Microbiol. Immunol. 81, 1 (1978)、Kohler G and Milstein C, Eur. J. Immunol. 6, 511 (1976)]、SP2/0-Ag14 [Shulman M et al., Nature 276, 269 (1978)]、P3-X63-8653 [Seeger RC et al., J. Immunol. 123, 1548 (1979)]、P3-X63-Ag [Kohler G and Milstein C, Nature 256, 495 (1975)]等を用いることができる。これらの細胞株は、8-アザグアニン培地[RPMI1640培地に1.5mmol/Lグルタミン、 $5 \times 10^{-5}$  mmol/L 2-メルカプトエタノール、10 $\mu$ g/mL ゲンタマイシンおよび10%ウシ胎児血清を加えた培地(以下、正常培地という)に、さらに15 $\mu$ g/mL 8-アザグアニンを加えた培地]で継代するが、細胞融合の3～4日前に正常培地で培養し、融合には該細胞を $2 \times 10^7$ 個以上用いる。

30

## 【0087】

## (2-3)ハイブリドーマの作製

(2-1)で取得した抗体産生細胞と(2-2)で取得した骨髄腫細胞をMEMまたはPBS(1.83g/Lリン酸水素二ナトリウム、0.21g/Lリン酸二水素カリウム、7.65g/L塩化ナトリウム、pH7.2)でよく洗浄し、細胞数が、抗体産生細胞:骨髄腫細胞=5～10:1になるよう混合し、1200rpmで5分間遠心分離した後、上清を捨てる。

40

得られた沈殿画分の細胞群をよくほぐし、該細胞群に $10^8$ 抗体産生細胞あたりポリエチレングリコール-1000 2g、MEM 2mLおよびジメチルスルホキシド0.7mLを混合した溶液を37℃で0.2～1mL攪拌しながら添加し、更に1～2分間毎にMEM1～2mLを数回添加する。添加後、MEMを加えて全量が50mLになるように調

50

製する。該調製液を900rpmで5分間遠心分離後、上清を捨てる。

【0088】

得られた沈殿画分の細胞を、ゆるやかにほぐした後、メスピペットによる吸込み、吹出しでゆるやかにHAT培地〔正常培地に $10^{-4}$ mmol/Lヒポキサンチン、 $1.5 \times 10^{-5}$ mmol/Lチミジンおよび $4 \times 10^{-7}$ mmol/Lアミノプテリンを加えた培地〕100mL中に懸濁する。該懸濁液を96穴培養用プレートに100 $\mu$ L/穴ずつ分注し、5% CO<sub>2</sub> インキュベーター中で、37℃で7~14日間培養する。

培養後、培養上清の一部をとりHarlow E and Lane D, Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory (1988) Chapter 14等に述べられている酵素免疫測定法により、上記抗体産生細胞を取得するために、免疫に用いた抗原に特異的に反応するハイブリドーマを選択する。酵素免疫測定法の具体的例として、以下の方法をあげることができる。

10

【0089】

免疫の際、抗原に用いた本発明の蛋白質の全長または部分断片精製標品あるいは部分ペプチドを適当なプレートにコートし、ハイブリドーマ培養上清もしくは後述の(2-4)で得られる精製抗体を一次抗体として反応させ、さらに二次抗体としてビオチン、酵素、化学発光物質あるいは放射線化合物等で標識した抗ラットイムノグロブリン抗体を反応させた後に標識物質に応じた反応を行ない、本発明の蛋白質に特異的に反応するものを本発明の蛋白質に対するモノクローナル抗体を生産するハイブリドーマとして選択する。

20

該ハイブリドーマを用いて、限界希釈法によりクローニングを2回繰り返す〔1回目は、HT培地(HAT培地からアミノプテリンを除いた培地)、2回目は、正常培地を使用する〕、安定して強い抗体価の認められたものを本発明の蛋白質に対するモノクローナル抗体を生産するハイブリドーマ株として選択する。

【0090】

(2-4)モノクローナル抗体の調製

プリスタン(Pristane; 2, 6, 10, 14-テトラメチルペンタデカン)0.5mLを腹腔内投与し、2週間飼育した8~10週令のマウスまたはヌードマウスに、(2-3)で取得したABCA-SSNポリペプチドを認識するモノクローナル抗体を生産するハイブリドーマ細胞 $5 \sim 20 \times 10^6$ 細胞/匹を腹腔内に注射する。10~21日間でハイブリドーマは腹水癌化する。

30

該腹水癌化したマウスから腹水を採取し、3000rpmで5分間遠心分離して固形分を除去する。得られた上清より、ポリクローナルで用いた方法と同様の方法でモノクローナル抗体を精製、取得することができる。抗体のサブクラスの決定は、マウスモノクローナル抗体タイピングキットまたはラットモノクローナル抗体タイピングキットを用いて行う。蛋白質量は、ローリー法あるいは280nmでの吸光度より算出する。

【0091】

(3)本発明による好ましい抗体

本発明の抗体は上記の(1)および(2)に記載した方法により調製することができる。

かくして得られる抗体をさらにスクリーニングすることによって、

40

配列番号25のアミノ酸配列(Kaminski WE et al., Biochem. Biophys. Res. Commun. 273, 532 (2000))で報告されたABCA7ポリペプチドのアミノ酸配列)からなるポリペプチドを認識せず、本発明のポリペプチドを認識する抗体；

配列番号9に記載のアミノ酸配列を有する領域を認識する抗体；または

本発明のポリペプチドのトランスポーター活性を阻害する抗体；

を取得することができる。

なお、得られた抗体が、本発明のポリペプチドのトランスポーター活性を阻害するかどうかは、本明細書中上記した方法により分析することができる。

【0092】

50

#### 4. A B C A - S S N の m R N A の 検 出 ・ 定 量 法 お よ び A B C A - S S N の 発 現 量 が m R N A レ ベ ル で 変 動 し て い る 疾 患 の 診 断 方 法

A B C A - S S N を コー ド す る ポ リ ヌ ク レ オ チ ド の 部 分 断 片、例 え ば 配 列 番 号 1、2、4、ま た は 5 の い ず れ か に 記 載 の 塩 基 配 列 を 有 す る D N A の 部 分 断 片、例 え ば 配 列 番 号 1 に 記 載 の 塩 基 配 列 の 連 続 す る 2 0 0 b p 以 上 の 連 続 し た 塩 基 配 列 を 有 す る 断 片 や A B C A - S S N の オ リ ゴ ヌ ク レ オ チ ド を 用 い て、A B C A - S S N の m R N A を 検 出 す る こ と が で き る。

##### 【 0 0 9 3 】

ま た、A B C A 7 m R N A と 配 列 番 号 1 ま た は 4 に 示 し た 塩 基 配 列 を 有 す る A B C A - S S N m R N A を 区 別 し て 検 出 す る に は、A B C A - S S N m R N A に 特 異 的 な 配 列、具 体 的 に は 配 列 番 号 8 に 記 載 の 塩 基 配 列 と 相 補 的 な 配 列 の 全 部 ま た は 1 0 b p 以 上 の 長 さ の 一 部 か ら な る ポ リ ヌ ク レ オ チ ド を プ ロ ー ブ と し て、以 下 に 示 す ハ イ ブ リ ダ イ ゼ ー シ ョ ン を 行 う こ と に よ り、A B C A - S S N m R N A だ け を 検 出 す る こ と が で き る。こ の よ う な ポ リ ヌ ク レ オ チ ド と し て、配 列 番 号 1 9 お よ び 2 0 に 記 載 の 塩 基 配 列 か ら な る オ リ ゴ ヌ ク レ オ チ ド プ ラ イ マ ー で A B C A - S S N D N A を 鋳 型 に し て 増 幅 さ れ る ポ リ ヌ ク レ オ チ ド 断 片 を あ げ る こ と が で き る。ま た、下 記 に 示 す 定 量 的 P C R 法 に お い て、A B C A 7 c D N A の エ キ ソ ン 5 に あ た る 塩 基 配 列 の 部 分 配 列 と 一 致 す る 配 列 を 有 す る フ ォ ワ ー ド プ ラ イ マ ー お よ び エ キ ソ ン 6 に あ た る 塩 基 配 列 と 相 補 的 な 配 列 の 部 分 配 列 と 一 致 す る 配 列 を 有 す る リ バ ース プ ラ イ マ ー を 用 い る こ と に よ り、増 幅 断 片 の 長 さ に よ り 本 発 明 の A B C A - S S N m R N A と A B C A 7 m R N A を 区 別 し て そ れ ぞ れ 定 量 す る こ と が で き る。こ の よ う な 定 量 的 P C R に 用 い る こ と の で き る プ ラ イ マ ー と し て 配 列 番 号 2 1 お よ び 2 2 に 記 載 の 塩 基 配 列 か ら な る オ リ ゴ ヌ ク レ オ チ ド を あ げ る こ と が で き る

##### 【 0 0 9 4 】

A B C A - S S N の m R N A を 検 出 す る 方 法 と し て は、例 え ば ノ ー ザ ン プ ロ ッ ト 法、i n s i t u ハ イ ブ リ ダ イ ゼ ー シ ョ ン 法、定 量 的 P C R 法、デ ィ フ ァ レ ン シ ャ ル ・ ハ イ ブ リ ダ イ ゼ ー シ ョ ン 法、D N A チ ッ プ 法、リ ボ ヌ ク レ ア ー ゼ 保 護 ア ッ セ イ 法 な ど の 方 法 等 が あ げ ら れ る。こ れ ら の 方 法 に よ り 組 織 や 細 胞 に お け る A B C A - S S N の m R N A レ ベ ル で の 発 現 量 を 調 べ る こ と が で き る。

こ れ ら の 方 法 に よ っ て、A B C A - S S N が ど の よ う な 組 織 や 細 胞 で 発 現 し て い る か と い う 情 報 や、細 胞 が ど の よ う な 刺 激 を 受 け た と き に そ の 発 現 量 が 変 化 す る か と い う 情 報 を 得 る こ と が で き る。

こ れ ら の 方 法 に 用 い る 試 料 と し て は ヒ ト や 動 物 か ら 採 取 し た 臓 器 や 生 体 組 織、血 液 等 の 生 体 試 料、あ る い は こ れ ら の 生 体 試 料 か ら 樹 立 し た 初 代 培 養 細 胞、細 胞 株 が 用 い ら れ る。

##### 【 0 0 9 5 】

ノ ー ザ ン プ ロ ッ ト 法 は、試 料 か ら 抽 出 し た 全 R N A あ る い は m R N A (以 下 「試 料 由 来 R N A」とい う)を ゲ ル 電 気 泳 動 で 分 離 後、ナ イ ロ ン フ ィ ル タ ー 等 の 膜 に 転 写 し、A B C A - S S N D N A あ る い は そ の 部 分 配 列 を 有 す る D N A、A B C A - S S N D N A の 部 分 配 列 を 有 す る オ リ ゴ ヌ ク レ オ チ ド を 放 射 性 同 位 体 や ジ ゴ キ シ ゲ ニ ン、ピ オ チ ン 等 で 標 識 し て 調 製 し た プ ロ ー ブ を 用 い て、ハ イ ブ リ ダ イ ゼ ー シ ョ ン な ら び に 洗 浄 を 行 い、A B C A - S S N の m R N A を、標 識 プ ロ ー ブ が 特 異 的 に 結 合 し た バ ン ド と し て 検 出 す る 方 法 の こ と で あ り モ レ キ ュ ラ ー ・ ク ロ ー ニ ング 第 2 版 に 記 載 の 方 法 お よ び 条 件 に 基 づ い て 行 う こ と が で き る。バ ン ド の 強 度 す な わ ち 結 合 し た 標 識 プ ロ ー ブ の 量 は A B C A - S S N の m R N A の 量 を 反 映 し て い る の で、組 織 や 病 態 に よ り 発 現 量 が ほ と ん ど 変 化 せ ず、常 に 構 成 的 に 発 現 し て い る ア ク チ ン や グ リ セ ル ア ル デ ヒ ド 3 - リ ン 酸 デ ヒ ド ロ ゲ ナ ー ゼ (G 3 P D H) 等 の m R N A の バ ン ド を 同 一 の フ ィ ル タ ー 上 で 検 出 し、そ の 強 度 に よ っ て 標 準 化 を 行 う こ と に よ り、A B C A - S S N の m R N A レ ベ ル で の 発 現 量 を 定 量 す る こ と が で き る。ま た、試 料 由 来 R N A を 電 気 泳 動 す る 際 に 標 識 し た R N A 分 子 量 マ ー カ ー を 同 時 に 電 気 泳 動 し、バ ン ド の 泳 動 位 置 を 分 子 量 マ ー カ ー の 位 置 と 比 較 す る こ と に よ り、A B C A - S S N の m R N A の 長 さ を 測 定 す る こ と が で き る。

##### 【 0 0 9 6 】

10

20

30

40

50

イン・サイチュ (*in situ*) ハイブリダイゼーション法は、試料である臓器や生体組織からパラフィン包埋切片あるいはクリオスタット切片を作製し、該切片に対して ABCA-SSN DNA、該 DNA の部分配列を有する DNA、あるいは ABCA-SSN DNA の部分塩基配列からなるオリゴヌクレオチドより調製した標識プローブとハイブリダイゼーションならびに洗浄の工程を行い、組織内の ABCA-SSN 発現細胞や発現部位を詳細に検出する方法で、カレント・プロトコールズ・イン・モレキュラー・バイオロジーに記載の方法および条件により行うことができる。

## 【0097】

定量的 PCR 法 [Delidow BC et al., Gene Anal. Tech. 6, 120 (1989)] は、試料由来 RNA からオリゴ dT プライマーと逆転写酵素を用いて合成した cDNA (以下「試料由来 cDNA」という) を鋳型として ABCA-SSN の cDNA の塩基配列に基づき設計したオリゴヌクレオチドプライマーを用いて PCR を行い、ABCA-SSN の mRNA 由来の DNA 断片を特異的に増幅する方法である。該増幅 DNA 断片の量は試料中の ABCA-SSN の mRNA の量を反映することから、組織や病態で発現量の変化しないアクチンや G3PDH 等の cDNA に対する PCR をコントロールとすることで ABCA-SSN の mRNA を定量することが可能である。オリゴヌクレオチドプライマーは、プライマー間あるいはプライマー内でのハイブリダイゼーションを起こさないアニーリング温度で ABCA-SSN の cDNA と特異的に結合して、変性温度ではずれるように設計する。該増幅 DNA 断片の定量は増幅産物が指数関数的に増加している PCR 回数の中に行うことが必要である。このような PCR 回数は、一つの試料に関して増幅回数を変えて PCR を行い、各回数ごとに増加する該増幅 DNA 断片の量をゲル電気泳動で分析することで知ることができる。

10

20

## 【0098】

ディファレンシャル・ハイブリダイゼーション法 [Lennon GG and Lehrach H, Trends Genet. 7, 314 (1991)] や DNA チップ法 [Shalon D et al., Genome Res. 6, 639 (1996)] は、ABCA-SSN DNA、該 DNA の部分塩基配列を有する DNA、あるいは ABCA-SSN DNA の部分塩基配列と相補的な配列からなるオリゴヌクレオチドを固定化させたフィルターあるいはスライドガラスやシリコンなどの基盤に対して、試料由来 RNA からオリゴ dT プライマーと、標識 dNTP および逆転写酵素を用いて合成した標識 cDNA をプローブとして、ハイブリダイゼーションならびに洗浄を行うことで、測定の対照となる検体の ABCA-SSN の mRNA レベルでの発現量の変動を検出する方法である。いずれの方法もフィルターあるいは基盤上にアクチンや G3PDH の DNA を固定化し内部コントロールとすることにより、測定検体と対照検体の間での ABCA-SSN の mRNA レベルでの発現の差を検出することができる。また測定検体と対照検体から標識 cDNA プローブを作製する際、両者で異なる標識 dNTP を用いて作製し、1枚のフィルターあるいは1枚の基盤に二つの標識 cDNA プローブを同時にハイブリダイズさせることで正確な定量を行うことができる。

30

## 【0099】

リボヌクレアーゼ保護アッセイ [Pape ME et al., Genet. Anal. Tech. Appl. 8, 206 (1991)] では、まず ABCA-SSN DNA の 3' 端に T7 プロモーター、SP6 プロモーターなどのプロモーター配列を結合し、標識 NTP およびプロモーター特異的な RNA ポリメラーゼを用いたインビトロの転写系により標識した ABCA-SSN のアンチセンス RNA を合成する。該標識アンチセンス RNA を検体から調製した全 RNA または mRNA とハイブリダイゼーションさせ、検体中の ABCA-SSN の mRNA と RNA-RNA ハイブリッドを形成させた後、リボヌクレアーゼで消化し、ハイブリッドの形成によりリボヌクレアーゼによる消化から保護されたバンドをゲル電気泳動で検出する。保護されたバンドを定量することで、ABCA-SSN の mRNA レベルでの発現を定量することができる。

40

## 【0100】

50

以上のような方法により、被検者およびコントロールとなる健常者から生検等により採取した臓器や生体組織、血液等の生体試料、あるいはこれから培養した初代培養細胞を検体として用い、両者の ABCA - SSN の mRNA レベルでの発現の定量を行い比較することにより、ABCA - SSN の mRNA レベルの発現量が健常者と比べて増加あるいは減少している疾患を診断することができる。該疾患としては、例えば自己免疫疾患、シェーグレン病、炎症性疾患、脂質代謝の異常疾患、動脈硬化があげられる。

【0101】

#### 5. ABCA - SSN のトランスポーター活性の阻害

(1) ABCA - SSN の阻害剤およびそのスクリーニング方法

ABCA - SSN の阻害剤とは、ABCA - SSN のトランスポーター活性を阻害する物質である。被験物質と ABCA - SSN ポリペプチドを共存させ、ABCA - SSN のトランスポーター活性を被験物質が存在しない場合のトランスポーター活性と比較し、被験物質を共存させた場合にトランスポーター活性が低下する場合に、該物質が ABCA - SSN のトランスポーター活性を阻害する物質として選択することができる。

【0102】

上記スクリーニング法に用いる ABCA - SSN は、ABCA - SSN を発現している組織、細胞などから精製したポリペプチドを用いてもよいが、ABCA - SSN をコードする DNA を用いて形質転換された形質転換体を培養し、常法に従って精製することにより、大量に得ることができる。また該ポリペプチドを生産する培養細胞や培養細胞処理物を用いても、本スクリーニングを行うことは可能であるが、細胞をそのまま用いる場合は、該蛋白質を分泌生産する細胞を用いるのが好ましい。ここでいう培養細胞処理物とは、培養液の濃縮物、培養細胞の乾燥物、培養液を遠心分離して得られる細胞、該細胞の乾燥物、該細胞の凍結乾燥物、該細胞の界面活性剤処理物、該細胞の超音波処理物、該細胞の機械的摩砕処理物、該細胞の溶媒処理物、該細胞の酵素処理物、該細胞の蛋白質分画物、該細胞の固定化物あるいは該細胞より抽出して得られる酵素標品等があげられる。

【0103】

(2) ABCA - SSN の発現を抑制する方法

ABCA - SSN の発現を抑制する方法としては、ABCA - SSN 遺伝子に対するアンチセンス DNA やアンチセンスオリゴヌクレオチドの投与あるいはアンチセンス RNA 発現ベクターの投与による、mRNA から ABCA - SSN ポリペプチドへの翻訳の抑制、ABCA - SSN 遺伝子プロモーターと結合するトリプルヘリックス形成オリゴヌクレオチド投与による転写の阻害、リボザイムの投与による ABCA - SSN mRNA の分解、ABCA - SSN 遺伝子の転写を特異的に阻害する化合物の投与による転写の阻害をあげることができる。

【0104】

#### 6. 遺伝子治療用ベクター

ABCA - SSN の発現量が少ないことが原因の疾患に対しては、ABCA - SSN ポリペプチドあるいは ABCA - SSN ポリペプチドをヒト生体内で産生する遺伝子治療用ベクターを投与することにより治療を行うことができる。

ABCA - SSN ポリペプチドをヒト生体内で産生する遺伝子治療用ベクターとして ABCA - SSN ポリペプチドを産生する組み換えウイルスベクターをあげることができる。該組み換えウイルスベクターは、1. に記載の方法で取得した ABCA - SSN cDNA、あるいは必要に応じて ABCA - SSN をコードする領域を含む適当な長さの DNA 断片を調製し、ウイルスベクター内のプロモーターの下流に挿入することにより、造成することができる。該組換えウイルスベクターは、ウイルスのパッケージングに必要な蛋白質をコードする遺伝子例えばマウスモロニー白血病ウイルス等のレトロウイルスの場合は gag、pol、env 等、HIV 等のレンチウイルスの場合は gag、pol、env、vpr、vpu、vif、tat、rev、nef 等、アデノウイルスの場合は E1A、E1B 等、アデノ随伴ウイルスの場合は Rep (p5、p19、p40)、Vp (Cap) 等の遺伝子が欠損している。

## 【0105】

該組換えウイルスベクターを、該組換えウイルスベクターに適合したパッケージング細胞に導入する。パッケージング細胞としては、該組換えウイルスベクターで欠損しているウイルスのパッケージングに必要な蛋白質を補給できる細胞は全て用いることができ、例えばヒト腎臓由来のHEK293細胞、マウス繊維芽細胞NIH3T3等を用いることができる。

ウイルスベクターとしては上記パッケージング細胞において組換えウイルスが生産でき、標的細胞でABCA-SSN遺伝子を転写できる位置にプロモーターを含有しているものが用いられる。プラスミドベクターとしてはMFG[Riviere I et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92, 6733 (1995)]、pBabepuro[Morgnster J P and Land H, Nucleic Acids Res. 18, 3587 (1990)]、L-L-CG、CL-CG、CS-CG、CLG[Miyoshi H et al., J. Virol. 72, 8150 (1998)]、pAdex1[Kanegae Y et al., Nucleic Acids Res. 23, 3816 (1995)]、プロモーターとしては、ヒト組織中で発現できるものであればいずれも用いることができ、例えばサイトメガロウイルスのIE(immediate early)遺伝子のプロモーター、SV40の初期プロモーター、レトロウイルスのLTR、メタロチオネインプロモーター、ヒートショック蛋白質プロモーター等をあげることができる。また、サイトメガロウイルスのIE遺伝子のエンハンサーをプロモーターと共に用いてもよい。

## 【0106】

上記パッケージング細胞への上記組換えウイルスベクターの導入法としては、例えば、リン酸カルシウム法、リポフェクション法[Felgner P L et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84, 7413 (1987)]等をあげることができる。また、ウイルスベクターを用いない遺伝子治療方法としては、所望の組織にDNAを直接輸送する手段として、裸のプラスミドDNAの形態で直接注入される治療用遺伝子トランスフェクション法がある(米国特許公報5589466号)。すなわち、ABCA-SSN DNAを有する発現ベクターを、治療が必要な組織、例えば大腸癌組織に注射器等を用いて注入することにより、該蛋白質を該癌組織内で発現させることができる。

## 【0107】

## 7. 抗体を用いたABCA-SSNポリペプチドの検出および定量方法

ABCA-SSNポリペプチドを認識する抗体を用いてABCA-SSNポリペプチドを免疫学的に検出する方法としては、免疫組織染色法、免疫細胞染色法などの免疫組織化学染色法、フローサイトメトリー、ウェスタンブロッティング法、サンドイッチELISA等の酵素免疫測定法(enzyme immunoassay; EIA)や放射性免疫測定法(Radioimmunoassay; RIA)などがあり、文献[富山朔二・安東民衛編, 単クローン抗体実験マニュアル, 講談社サイエンティフィック (1987)、続生化学実験講座5, 免疫生化学研究法, 東京化学同人(1986)、Goding J W, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, Third edition, Academic Press (1996)、Harlow E and Lane D, Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory (1988)]に基いて行うことができる。

## 【0108】

免疫組織化学染色法は、生体組織や細胞を固定化し、ABCA-SSNポリペプチドを認識する抗体を反応させ、さらに蛍光物質、酵素、ビオチン、金コロイド、放射性物質等で標識した抗イムノグロブリン抗体あるいは抗体断片を反応させた後、必要ならば標識抗体の可視化処理を行い、顕微鏡を用いて観察することにより組織や細胞中のABCA-SS

Nポリペプチドを検出する方法である。蛍光物質標識には、フルオレセイン・イソチオシアネート（FITC）、テトラメチルローダミン・イソチオシアネート等が用いられ、蛍光顕微鏡によって観察することにより検出する。酵素標識の場合はペルオキシダーゼやアルカリフォスファターゼ等が用いられ、酵素により発色する基質を添加して発色反応させた後、光学顕微鏡で観察することにより検出できる。ビオチン標識の場合は、ペルオキシダーゼ等の酵素で標識したアビジンを反応させた後、酵素標識抗体と同様の操作を行う。金コロイド標識の場合は、電子顕微鏡で観察することにより検出する。放射性物質標識には<sup>125</sup>I等が用いられ、感光乳剤をコートして放射線により析出した銀粒子を光学顕微鏡で観察することにより検出できる。

#### 【0109】

10

フローサイトメトリーは、細胞にABCASSNポリペプチドを認識する抗体を反応させ、さらにフルオレシニン・イソチオシアネートあるいはフィコエリスリンなどの蛍光物質でラベルした抗イムノグロブリン抗体あるいは抗体断片を反応させた後、蛍光色素をフローサイトメーターで測定することにより、細胞でのABCASSNポリペプチドの発現を検出する方法である。

#### 【0110】

ウェスタンブロッティング法は、生体組織や細胞の破碎液をSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動で分画した後、該ゲルをポリフッ化ビニリデン（PVDF）膜あるいはニトロセルロース膜にブロッティングし、該膜にABCASSNポリペプチドを認識する抗体またはその抗体断片を反応させ、さらにペルオキシダーゼやアルカリフォスファターゼなどの酵素や<sup>125</sup>I等の放射性物質で標識した抗イムノグロブリン抗体あるいは抗体断片を反応させた後、ABCASSNポリペプチドのバンドを検出する方法である。検出は、酵素標識の場合は、酵素により発色する基質を添加して反応させABCASSNポリペプチドのバンドを可視化したり、酵素により発光する基質を添加してX線フィルムのオートラジオグラフィにより検出し、放射性物質の場合はX線フィルムのオートラジオグラフィにより検出する。

20

#### 【0111】

酵素免疫測定法の一つであるサンドイッチELISAでは、抗原認識部位の異なる2種類のABCASSNポリペプチドを認識するモノクローナル抗体を用意し、あらかじめ一方のモノクローナル抗体または抗体断片はプレートに吸着させておく。生体組織や細胞から細胞破碎液を調製し、試験サンプルとする。抗体吸着プレートに試験サンプルを反応させ、さらに抗原認識部位の異なるABCASSNポリペプチドを認識するモノクローナル抗体またはその抗体断片を反応させ、さらにペルオキシダーゼやアルカリフォスファターゼなどの酵素で標識した抗イムノグロブリン抗体あるいは抗体断片を反応させる。酵素により発色する基質を添加して発色反応させた後、分光光度計により発色強度を測定することにより、サンプル中のABCASSNポリペプチドの検出または定量を行う。

30

#### 【0112】

放射性免疫測定法は、酵素でなく<sup>125</sup>I等の放射性物質で標識した抗体を用いて、酵素免疫測定法と同様の操作を行い、シンチレーションカウンターで放射線を測定することによりサンプル中のABCASSNポリペプチドの検出または定量を行う方法である。

40

#### 【0113】

また酵素免疫測定法や放射性免疫測定法には、上記のようなサンドイッチ法の他に、抗体でなくABCASSNポリペプチド標品を標識し、一定量の標識ABCASSNポリペプチド標品と試験サンプルとをプレートに固相化したABCASSNポリペプチドを認識する抗体と反応させ、プレート上の酵素活性や放射線を測定することにより、サンプル中のABCASSNポリペプチドの検出または定量を行う競合法もある。

#### 【0114】

### 8. 医薬組成物

上記ABCASSNポリペプチド、ABCASSNオリゴヌクレオチド、ABCASSNを認識する抗体を含有する治療薬は、薬剤として該物質または該中和抗体単独で投

50

与することも可能ではあるが、通常は薬理学的に許容される一つあるいはそれ以上の担体と一緒に混合し、製剤学の技術分野においてよく知られる任意の方法により製造した医薬製剤として提供するのが望ましい。投与経路は、治療に際し最も効果的なものを使用するのが望ましく、経口投与または、口腔内、気道内、直腸内、皮下、筋肉内および静脈内等の非経口投与をあげることができる。投与形態としては、噴霧剤、カプセル剤、錠剤、顆粒剤、シロップ剤、乳剤、座剤、注射剤、軟膏、テープ剤等があげられる。

【0115】

経口投与に適当な製剤としては、乳剤、シロップ剤、カプセル剤、錠剤、散剤、顆粒剤等があげられる。例えば乳剤およびシロップ剤のような液体調製物は、水、ショ糖、ソルビトール、果糖等の糖類、ポリエチレングリコール、プロピレングリコール等のグリコール類、ごま油、オリーブ油、大豆油などの油類、p-ヒドロキシ安息香酸エステル類等の防腐剤、ストロベリーフレーバー、ペパーミント等のフレーバー類等を添加剤として用いて製造できる。カプセル剤、錠剤、散剤、顆粒剤等は、乳糖、ブドウ糖、ショ糖、マンニトール等の賦形剤、デンプン、アルギン酸ナトリウム等の崩壊剤、ステアリン酸マグネシウム、タルク等の滑沢剤、ポリビニルアルコール、ヒドロキシプロピルセルロース、ゼラチン等の結合剤、脂肪酸エステル等の界面活性剤、グリセリン等の可塑剤等を添加剤として用いて製造できる。

10

【0116】

非経口投与に適当な製剤としては、注射剤、座剤、噴霧剤等があげられる。例えば、注射剤は、塩溶液、ブドウ糖溶液、あるいは両者の混合物からなる担体等を用いて調製する。座剤はカカオ脂、水素化脂肪またはカルボン酸等の担体を用いて調製される。また、噴霧剤は該蛋白質そのもの、ないしは受容者の口腔および気道粘膜を刺激せず、かつ該蛋白質を微細な粒子として分散させ吸収を容易にさせる担体等を用いて調製する。担体として具体的には乳糖、グリセリン等が例示される。該蛋白質および用いる担体の性質により、エアロゾル、ドライパウダー等の製剤が可能である。また、これらの非経口剤においても経口剤で添加剤として例示した成分を添加することもできる。

20

【0117】

投与量または投与回数は、目的とする治療効果、投与方法、治療期間、年齢、体重等により異なるが、通常成人1日当たり10 $\mu$ g/kg~100mg/kgである。以下、本発明を実施例を用いて具体的に例示するが、本発明の範囲は実施例によって限定

30

【0118】

【実施例】

実施例1：ABC A - SSN cDNAのクローン化と塩基配列解析

SS - N cDNA (GenBankアクセス番号AF140342)と一致する塩基配列を有するcDNAを、インハウスデータベース(かずさDNA研究所)を用いて探索した結果、ヒト成人脳由来のcDNAクローンhh10210がSSN - cDNAの配列を含むことを見出した。hh10210が新規なABCトランスポーターであるABC A - SSNをコードしていると考え、そのcDNAの塩基配列を解析した。配列番号7にhh10210のcDNAの塩基配列を示した。hh10210のcDNAの塩基配列は公知のABC A 7 cDNAの塩基配列(GenBankアクセス番号AF250238)と非常に相同性の高いものであったが、1)ABC A 7遺伝子のエキソン5とエキソン6の間の384bpのイントロン(配列番号8に該イントロンの塩基配列を示した。)が残っているオルタナティブ・スプライシング体のcDNAであること、2)エキソン2より上流の5'側、エキソン4より下流の3'側、およびエキソン35の一部54bpが欠失していること、3)エキソン32中にアミノ酸配列の変異を伴う2ヶ所(配列番号7の4766および4832番目)の塩基配列の変異があること(ABC A 7の<sup>1 5 0 2</sup> ArgがProに、<sup>1 5 2 4</sup> PheがSerに変異する。)がわかった。

40

【0119】

さらにヒト胸腺cDNAライブラリー(宝酒造株式会社製)をテンプレートとして、配列

50

番号12および13に示す塩基配列のオリゴヌクレオチドプライマーを用いた3'-RACE、あるいは配列番号12および14に示す塩基配列のオリゴヌクレオチドプライマーを用いたPCRを行い、hh10210で欠失している3'側の領域を含むcDNA断片を増幅しクローン化した。これらの3'側の領域のクローンについて塩基配列をベックマンCEQ2000DNA解析システムを用いて解析した。その結果、ABCA7 cDNAの塩基配列の5374~6419番目とほぼ一致する配列(配列番号10)を有するものの他、スプライシングの認識サイトがずれたオルタナティブ・スプライシング体であると考えられるエキソン45の開始部分の45bpが欠失したもの(配列番号11)や、エキソン45以降の領域が欠失したものも存在した。

#### 【0120】

また、hh10210のcDNAにおけるエキソン32の変異やエキソン35内の欠失が、ABCA-SSN cDNAに普遍的なものかどうかを調べるため、ヒト胸腺cDNAライブラリー(宝酒造株式会社製)をテンプレートとして、配列番号15および16に示す塩基配列のオリゴヌクレオチドプライマーを用いたPCRを行い、エキソン30~38の領域を増幅しクローン化した。これらのクローンについて塩基配列を解析した結果、解析した全てのクローンで、エキソン32の塩基の変異は2ヶ所とも存在したが、エキソン35の欠失は見られず、公知のABCA7 cDNAの塩基配列と一致した。したがってABCA-SSN cDNAのエキソン32は、公知のABCA7 cDNAとは異なり、hh10210のcDNAと同じ塩基配列であるが、エキソン35は公知のABCA7 cDNAと同一であり欠失はないと考えられた。

#### 【0121】

hh10210のcDNAの塩基配列、ヒト胸腺cDNAライブラリーをテンプレートにしたPCRにより得られたエキソン39以降の領域(配列番号10)およびエキソン30~38の領域のcDNA断片の塩基配列から得られるABCA-SSN cDNAの塩基配列を配列番号1に、配列番号10の代わりにエキソン45に一部欠失があるオルタナティブ・スプライシング体のcDNA断片の塩基配列(配列番号11)をもとにしたABCA-SSN cDNAの塩基配列を配列番号4に示した。配列番号1および4に記載の塩基配列に存在するABCA7のイントロンの配列中にはABCA7の翻訳フレームと同一フレームでストップコドンが2ヶ所存在し、これらのストップコドンの下流に開始コドンが存在するために、これらのcDNAがコードするABCA-SSNポリペプチドは、ABCA7のN末端とは異なる28アミノ酸の後にABCA7の167番目以降のアミノ酸配列がつながった2008アミノ酸または1993アミノ酸からなるアミノ酸配列を有する。配列番号1中のポリペプチドをコードする領域の塩基配列を配列番号2に、配列番号2に記載の塩基配列がコードするポリペプチドのアミノ酸配列を配列番号3に、配列番号4中のポリペプチドをコードする領域の塩基配列を配列番号5に、配列番号5に記載の塩基配列がコードするポリペプチドのアミノ酸配列を配列番号6に示した。

#### 【0122】

実施例2: ABCA7またはABCA-SSNのmRNAレベルでの発現解析  
配列番号17および18に示す塩基配列のオリゴヌクレオチドプライマーを用いたRT-PCRにより、ABCA7およびABCA-SSN cDNAに共通する5'端部分のDNA断片を増幅した。このDNA断片を[<sup>32</sup>P]dCTP(アマシャム・ファルマシア・バイオテク社製)およびランダムプライマーDNAラベリングキット(宝酒造株式会社製)を用いて放射能標識したものをプローブにして、ヒトの種々の組織(副腎、膀胱、骨髄、脳、リンパ節、乳腺、前立腺、脊髄、胃、甲状腺、気管、子宮; 脾臓、胸腺、前立腺、精巣、卵巣、小腸、大腸、末梢白血球)のmRNAをブロットしたフィルターであるMTNブロット(Multiple Tissue Northern Blot; クローンテック社製)を用いてノーザンハイブリダイゼーションを行うことにより、各ヒト臓器におけるABCA7またはABCA-SSNのmRNAレベルでの発現量を調べた。その結果を図1Aに示したが、ABCA7またはABCA-SSNのmRNAは、8~9kbの大きさであり、Kaminskiらの報告[Biochem. Biophys.

10

20

30

40

50

Res. Commun. 273, 532 (2000)]と同様に、骨髄リンパ系の組織である胸腺、リンパ節、骨髄、末梢白血球、脾臓に高い発現がみられ、特に胸腺では非常に高い発現を示した。また、脳と気管にも発現がみられた。

【0123】

ABCA-SSNタイプのみのもRNAレベルでの発現を検出するため、配列番号19および20に示す塩基配列のオリゴヌクレオチドプライマーを用いてABCA-SSN cDNAにのみ存在するイントロン5中の322bpのDNA断片を増幅した。上記と同様にして、このDNA断片をプローブにしてMTNプロットを用いてノーザンハイブリダイゼーションを行った。この結果を図1Bに示したが、ABCA-SSN mRNAの長さは同じく8~9kbであり、胸腺、リンパ節、骨髄、末梢白血球に高い発現がみられ、特に胸腺で非常に高い発現が見られた。また、脾臓と気管、脳に中レベルの発現がみられた。この発現分布は、上記で調べたABCA7またはABCA-SSNの発現分布とよく似ていた。したがって、ABCA-SSNタイプのcDNAは、たまたまイントロン5が残ってしまった異常なABCA7のmRNAからできたものではなく、骨髄リンパ系の組織では天然に、ABCA7ゲノム遺伝子[Kaminski WE et al., Biochem. Biophys. Res. Commun. 278, 782 (2000)]のオルタナティブ・スプライシング(alternative splicing)産物として、ABCA-SSNタイプのmRNAが存在することがわかった。

10

【0124】

さらに、各組織のABCA-SSNタイプとABCA7タイプのmRNAレベルでの発現を区別して解析するため、それぞれのタイプのcDNAで増幅DNA断片の鎖長が異なる以下のようなRT-PCR解析を行った。具体的には、ABCA7またはABCA-SSNが発現している種々のヒト組織(脳、骨髄、リンパ節、胸腺、脾臓、気管)のポリA<sup>+</sup>RNA(クローンテック社製)からオリゴdTプライマーおよびスーパースク립ト・プレアンプリフィケーション・システム(ライフ・テクノロジーズ社製)を用いて1本鎖cDNAを合成した後に、配列番号21および22に示す塩基配列のオリゴヌクレオチドプライマーを用いてPCR(サイクル数30回)を行った。このRT-PCR解析では、ABCA7タイプのmRNAからは261bpのDNA断片が、ABCA-SSNタイプのmRNAからは606bpのDNA断片がそれぞれ増幅する。その結果を図2に示したが、調べた組織では骨髄を除く全ての組織で、ABCA7タイプではなく、ABCA-SSNタイプの方が主に発現していることがわかった。

20

30

【0125】

なお、エキソン45の欠失の有無を調べるため、配列番号23および24に示す塩基配列のオリゴヌクレオチドプライマーを用いて、上記と同様に各組織についてRT-PCR解析を行ったところ、欠失していない場合の242bpのDNA断片のみの増幅がみられ、欠失しているタイプで増幅する短いDNA断片は検出されなかったことから、大部分のABCA7およびABCA-SSN cDNAはエキソン45に欠失がないことが確認された。

【0126】

実施例3: ABCA-SSNおよびABCA7を認識する抗体の作製

40

(1) 抗原ペプチドの作製

(1)-1 略号について

本発明において使用したアミノ酸およびその保護基に関する略号は、生化学命名に関するIUPAC-IUB委員会(IUPAC-IUB Joint Commission on Biochemical Nomenclature)の勧告[Eur. J. Biochem. 138, 9 (1984)]に従った。

【0127】

以下の略号は、特に断わらない限り対応する下記のアミノ酸を表す。

Ala: L-アラニン

Asp: L-アスパラギン酸

50

A s x : L - アスパラギン酸または L - アスパラギン  
 A r g : L - アルギニン  
 C y s : L - システイン  
 G l n : L - グルタミン  
 G l u : L - グルタミン酸  
 G l x : L - グルタミン酸または L - グルタミン  
 H i s : L - ヒスチジン  
 L e u : L - ロイシン  
 L y s : L - リジン  
 P h e : L - フェニルアラニン  
 P r o : L - プロリン  
 S e r : L - セリン  
 T h r : L - スレオニン  
 V a l : L - バリン

10

## 【0128】

以下の略号は、対応する下記のアミノ酸の保護基および側鎖保護アミノ酸を表す。

F m o c : 9 - フルオレニルメチルオキシカルボニル

B o c : t - ブチルオキシカルボニル

t B u : t - ブチル

T r t : トリチル

20

P m c : 2 , 2 , 5 , 7 , 8 - ペンタメチルクロマン - 6 - スルフォニル

F m o c - A r g ( P m c ) - O H : N - 9 - フルオレニルメチルオキシカルボニル -

N g - 2 , 2 , 5 , 7 , 8 - ペンタメチルクロマン - 6 - スルホニル - L - アルギニン

F m o c - A s p ( O t B u ) - O H : N - 9 - フルオレニルメチルオキシカルボニル  
- L - アスパラギン酸 - t - ブチルエステル

F m o c - C y s ( T r t ) - O H : N - 9 - フルオレニルメチルオキシカルボニル -  
S - トリチル - L - システイン

F m o c - G l n ( T r t ) - O H : N - 9 - フルオレニルメチルオキシカルボニル -  
N - トリチル - L - グルタミン

F m o c - G l u ( O t B u ) - O H : N - 9 - フルオレニルメチルオキシカルボニル  
- L - グルタミン酸 - t - ブチルエステル 30

F m o c - H i s ( T r t ) - O H : N - 9 - フルオレニルメチルオキシカルボニル -  
N i m - トリチル - L - ヒスチジン

F m o c - L y s ( B o c ) - O H : N - 9 - フルオレニルメチルオキシカルボニル -  
N - t - ブチルオキシカルボニル - L - リジン

F m o c - S e r ( t B u ) - O H : N - 9 - フルオレニルメチルオキシカルボニル -  
O - t - ブチル - L - セリン

F m o c - T h r ( t B u ) - O H : N - 9 - フルオレニルメチルオキシカルボニル -  
O - t - ブチル - L - スレオニン

40

## 【0129】

以下の略号は、対応する下記の反応溶媒、反応試薬等を表す。

H B T U : 2 - ( 1 H - ベンゾトリアゾール - 1 - イル ) - 1 , 1 , 3 , 3 - テトラメチ  
ルウロニウム・ヘキサフルオロホスフェート

H O B t : N - ヒドロキシベンゾトリアゾール

D I E A : ジイソプロピルエチルアミン

D M F : N , N - ジメチルホルムアミド

T F A : トリフルオロ酢酸

## 【0130】

以下の実施例において、化合物の理化学的性質は次の方法により測定した。

質量分析は、日本電子 J M S - H X 1 1 0 A を用い F A B - M S 法により、もしくはブル 50

カー社質量分析装置 REFLEX を用い MALDI - TOFMS 法により行った。行った。アミノ酸分析は、コーエンらの方法 [Cohen S A et al., Anal. Biochem. 222, 19 (1994)] により行った。加水分解は塩酸蒸気中 110 で 20 時間行い、加水分解物のアミノ酸組成はウォーターズ・アキュ・タグ (Waters AccQ - Tag) アミノ酸分析計 (ウォーターズ社製) を用い分析した。

#### 【0131】

ABCA - SSN のアミノ酸配列を解析し、親水性の高い部分、N 末端、C 末端、二次構造上ターン構造、ランダムコイル構造を有する部分の中から、抗原として適当と考えられる部分配列として C 末端領域を選択し、抗原として ABCA - SSN のアミノ酸配列の 1989 ~ 2008 番目のアミノ酸配列の N 末端に Cys を付加したペプチドである化合物 1 (h ABCA7 - C、H - Cys - Gln - His - Pro - Lys - Arg - Val - Ser - Gln - Phe - Leu - Asp - Asp - Pro - Ser - Thr - Ala - Glu - Thr - Val - Leu - OH) を合成することにした。化合物 1 のアミノ酸配列を配列番号 26 に示した。

10

#### 【0132】

(1) - 2 化合物 1 (h ABCA7 - C) の合成

Fmoc - Leu 18  $\mu$ mol が結合した担体樹脂 (Wang 樹脂、ノババイオケム社製) 30 mg を自動合成機 (島津製作所) の反応容器に入れ、600  $\mu$ L の DMF を加えて 3 分間攪拌し溶液を排出した後、島津製作所の合成プログラムに従い次の操作を行った。

20

(a) 30% ピペリジン - DMF 溶液 500  $\mu$ L を加えて混合物を 4 分間攪拌し、該溶液を排出し、この操作をもう 1 回繰り返した。

(b) 担体樹脂を 600  $\mu$ L の DMF で 1 分間洗浄し、該溶液を排出し、この操作を 5 回繰り返した。

(c) Fmoc - Val - OH (180  $\mu$ mol)、HBTU (180  $\mu$ mol)、HOBT 水和物 (180  $\mu$ mol) および DIEA (540  $\mu$ mol) を DMF (0.36 ml) 中で 3 分間攪拌し、得られた溶液を樹脂に加えて混合物を 60 分間攪拌し、溶液を排出した。

(d) 担体樹脂を 600  $\mu$ L の DMF で 1 分間洗浄後溶液を排出し、これを 5 回繰り返した。

30

こうして、Fmoc - Val - Leu が担体上に合成された。

#### 【0133】

次に、(a) および (b) の工程の後、(c) の工程で Fmoc - Thr (tBu) - OH を用いて縮合反応を行い、(d) の洗浄工程を経て、Fmoc - Thr (tBu) - Val - Leu が担体上に合成された。

以下、工程 (c) において、Fmoc - Glu (OtBu) - OH、Fmoc - Ala - OH、Fmoc - Thr (tBu) - OH、Fmoc - Ser (tBu) - OH、Fmoc - Pro - OH、Fmoc - Asp (OtBu) - OH、Fmoc - Asp (OtBu) - OH、Fmoc - Leu - OH、Fmoc - Phe - OH、Fmoc - Gln (Trt) - OH、Fmoc - Ser (tBu) - OH、Fmoc - Val - OH、Fmoc - Arg (Pmc) - OH、Fmoc - Lys (Boc) - OH、Fmoc - Pro - OH、Fmoc - His (Trt) - OH、Fmoc - Gln (Trt) - OH、Fmoc - Cys (Trt) - OH を順次用いて、(a) ~ (d) を繰り返した後、(a) および (b) の脱保護、洗浄工程を経て、メタノール、ブチルエーテルで順次洗浄し、減圧下 12 時間乾燥して、側鎖保護ペプチドの結合した担体樹脂を得た。これに、TFA (82.5%)、チオアニソール (5%)、水 (5%)、エチルメチルスルフィド (3%)、1, 2 - エタンジチオール (2.5%) およびチオフェノール (2%) からなる混合溶液 1 mL を加えて室温で 8 時間放置し、側鎖保護基を除去するとともに樹脂よりペプチドを切り出した。樹脂を濾別後、得られた溶液にエーテル約 10 mL を加え、生成した沈澱を遠心分離およびデカンテーションにより回収し、粗ペプチドとして 61.3 mg を取得した。こ

40

50

の粗生成物全量を酢酸水溶液に溶解後、逆相カラム（資生堂製、CAPCELL PAK C18 30 mm I.D. x 250 mm）を用いたHPLCで精製した。0.1% TFA水溶液に、TFA 0.1%を含む90%アセトニトリル水溶液を加えていく直線濃度勾配法で溶出し、220 nmで検出し、化合物1を含む画分を得た。この画分を凍結乾燥して、化合物1を16.1 mg得た。

【0134】

質量分析 [TOFMS] ;  $m/z = 2371.5 (M+H^+)$

アミノ酸分析 ; Asx 1.9 (2), Glx 3.1 (1), Ser 1.9 (2), His 1.1 (1), Arg 1.0 (1), Thr 2.1 (2), Ala 1.0 (1), Pro 2.0 (2), Val 1.9 (2), Leu 2.0 (2), Phe 1.0 (1), Lys 1.1 (1), Cys 1.4 (1) 10

【0135】

(2) 免疫原の調製

実施例1(1)で得られた化合物1は、免疫原性を高める目的で以下の方法でKLH（カルピオケム社）とのコンジュゲートを作製し、免疫原とした。すなわち、KLHをPBSに溶解して10 mg/mLに調整し、1/10容量の25 mg/mL N-（m-マレイミドベンゾイルオキシ）スクシンイミド（MBS；ナカライテスク社）を滴下して30分攪拌反応させた。あらかじめPBSで平衡化したセファデックスG-25カラムなどのゲルろ過カラムでフリーのMBSを除いて得られたKLH-MBS 2.5 mgを0.1 Mリン酸ナトリウムバッファー（PH 7.0）に溶解した化合物1（1 mg）と混合し、室温で3時間、攪拌反応させた。反応後、PBSで透析したものを免疫原として用いた。 20

【0136】

(3) 動物の免疫、ポリクローナル抗体の作製

実施例1(2)で作製した化合物1-KLHコンジュゲート200 µgをフロイントの完全アジュバント（ヤトロン社）とともに日本白色種（SPF）21週令雌ウサギ2匹に投与した。投与2週間後より、化合物1-KLHコンジュゲート200 µgをフロイントの完全アジュバントとともに1週間に1回、計5回投与した。該ウサギより部分採血し、その血清抗体価を以下(4)に示す酵素免疫測定法（バインディングELISA）で調べ、十分な抗体価を示したウサギから全採血を行い抗血清を得た。 30

この抗血清からカプリル酸沈殿法 [Antibodies - A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, (1988)] によりIgG画分を精製し、ポリクローナル抗体を得た。

【0137】

(4) 酵素免疫測定法（バインディングELISA）

アッセイ用の抗原には(1)で得られた化合物1をチログロブリン（以下、THYと略す。）とコンジュゲートしたものをを用いた。作製方法は(2)に記した通りであるが、架橋剤にはMBSの代わりに4-（N-マレイミドメチル）-シクロヘキサン-1-カルボン酸 N-ヒドロキシスクシンイミドエステル（SMCC、シグマ社）を用いた。96穴のEIA用プレート（グライナー社）に、上記のように調製したコンジュゲートを5 µg/mL、50 µL/穴で分注し、4度で一晩放置して吸着させた。該プレートを洗浄後、1%牛血清アルブミン（BSA）/PBSを100 µL/穴加え、室温で1時間放置し、残っている活性基をブロックした。 40

【0138】

放置後、1% BSA / PBS を捨て、該プレートに一次抗体として被免疫ウサギ抗血清を50 µL/穴分注し、2時間放置した。該プレートを0.05% ポリオキシエチレン（20）ソルビタンモノラウレート [（ICI社商標 Tween 20 相当品：和光純薬社製）] / PBS（以下 Tween - PBS と表記）で洗浄後、2次抗体としてペルオキシダーゼ標識ブタ抗ウサギイムノグロブリン（DAKO社）を50 µL/穴加えて室温、1時間放置した。該プレートを Tween - PBS で洗浄後、ABTS 基質液 [2.2 - アジノ 50

ビス(3-エチルベンゾチアゾール-6-スルホン酸)アンモニウム、1 mmol/L ABTS/0.1 mol/Lクエン酸バッファー(pH 4.2)]を添加し、発色させ415 nmの吸光度をプレートリーダー[Emax、モレキュラー・デバイス(Molecular Devices)社製]を用いて測定した。

【0139】

(5) ポリクローナル抗体の反応性の検討

上記(4)に示したバインディングELISAにより、(3)で得られたポリクローナル抗体の抗原ペプチドに対する反応性を検討した。一次抗体としてポリクローナル抗体(10 µg/mLから10倍ずつ段階希釈したもの)を用いた。結果を図3に示した。ポリクローナル抗体は抗原ペプチドと特異的に反応した。

【0140】

実施例4: ABCA-SSNの動物細胞での発現

(1) pABCA-SSN/CR2.1の作製

配列番号2に示すABCA-SSNをコードするDNAを含むプラスミドpABCA-SSN/CR2.1を以下のようにして作製した(図4、5)。hh10210は、エキソン40より下流の3'側、およびエキソン35の一部54 bpが欠失しているため、ヒト胸腺cDNAライブラリー(宝酒造株式会社製)をテンプレートDNAにして、まずABCA-SSNのC末端側の断片を以下のようにして増幅した。反応液[テンプレートDNA 1 µl、25 nmol/l MgCl<sub>2</sub> 5 µl、dNTP混合物(dATP、dGTP、dCTP、dTTPをそれぞれ2.5 mmol/lの濃度で含む混合物) 4 µl、10 µmol/lプライマー27(配列番号27) 2 µl、10 µmol/lプライマー28(配列番号28) 2 µl、滅菌水35.5 µl、LA Taq(宝酒造社製) 0.5 µl]を調製し、サーマルサイクラーを用いて、94 で3分間加熱後、94 で45秒、65 で30秒、72 で1分の反応サイクルを30サイクル繰り返し、最後に72 で10分間加熱し、4 に置いた。このPCRにより配列番号2の4060~6024番目の配列の3'側にストップコドン(TGA)およびHindIIIサイトが付加された配列を有するDNA断片が増幅する。該増幅断片をTAクローニング法によりpCR2.1(インビトロジェン社製)に挿入した。得られたプラスミド(pCR2.1/PCR4)をpCR2.1上のNotIサイトおよび増幅断片中のBstZ17Iサイトで切断して、約1.1 kbの断片を単離し、hh10210(ベクターpBluescript SKII(+))のNotIおよびBstZ17Iサイト間に挿入し、hh10210/PCR4を作製した。

【0141】

次にABCA-SSNのエキソン35の欠失部分を含む断片をPCRにより増幅した。反応液のプライマー27、プライマー28のかわりにプライマー29(配列番号29)、プライマー30(配列番号30)を用いる以外は反応条件は上記と同様にして行った。得られた増幅断片(配列番号2の3060~5027番目の配列に相当する)をTAクローニングによりpCR2.1にクローニングした。得られたプラスミド(pCR2.1/PCR3)を、増幅断片上のSphIサイト、BclIサイトで切断して得られた約240 bpの断片をhhp10210/PCR4のSphI/BclIサイト間に挿入し、hh10210/PCR4+3を作製した。

【0142】

ABCA-SSNに特異的なN末端を含む領域をコードする断片をPCRにより増幅した。反応液のプライマー27、プライマー28のかわりにプライマー31(配列番号31)、32(配列番号32)を用いる以外は反応条件は上記と同様にして行った。このPCRにより配列番号2の1~918番目の配列の5'側にEcoRIサイトが付加された配列を有するDNA断片が増幅する。得られた増幅断片をTAクローニングによりpCR2.1にクローニングした。ABCA-SSN上にはClaIサイトが存在するので、得られたプラスミド(pCR2.1/PCR2)のClaIサイト/NotIサイト間にhh10210/PCR4+3のClaI-NotI断片(ClaIサイトより下流のABCA

10

20

30

40

50

- S S N断片を含む)を挿入することにより p A B C A - S S N / C R 2 . 1 を作製した。

#### 【 0 1 4 3 】

また、A B C A 7 に特異的な N 末端を含む領域をコードする断片を P C R により増幅した。ヒト胎盤 c D N A ライブラリー ( クローンテック社製 ) をテンプレート D N A にして、反応液 [ テンプレート D N A 5  $\mu$  l 、 2 5 n m o l / l M g C l <sub>2</sub> 5  $\mu$  l 、 d N T P 混合物 4  $\mu$  l 、 1 0  $\mu$  m o l / l プライマー 3 3 ( 配列番号 3 3 ) 2  $\mu$  l 、 1 0  $\mu$  m o l / l プライマー 3 2 ( 配列番号 3 2 ) 2  $\mu$  l 、 滅菌水 3 1 . 5  $\mu$  l 、 L A T a q 0 . 5  $\mu$  l ] を調製し、サーマルサイクラーを用いて、9 4 で 3 分間加熱後、9 4 で 4 5 秒、6 2 で 3 0 秒、7 2 で 1 分の反応サイクルを 3 0 サイクル繰り返し、最後に 7 2 で 1 0 分間加熱して反応を行い、4 に置いた。この P C R により A B C A 7 の c D N A の配列 ( G e n B a n k アクセション番号 : A F 2 5 0 2 3 8 ) の 1 ~ 1 3 3 2 番目の配列の 5 ' 側に E c o R I サイトが付加された配列を有する D N A 断片が増幅する。得られた増幅断片を T A クローニングにより p c R 2 . 1 にクローニングした。得られたプラスミドの C l a I サイト / N o t I サイト間に h h 1 0 2 1 0 / P C R 4 + 3 の C l a I - N o t I 断片 ( C l a I サイトより下流の A B C A - S S N および A B C A 7 に共通の領域を含む ) を挿入することにより p A B C A 7 / C R 2 . 1 を作製した。

#### 【 0 1 4 4 】

( 2 ) 動物細胞発現用ベクター p C M V 6 c A B C A - S S N の作製  
上記で得られた p A B C A - S S N / C R 2 . 1 および p A B C A 7 / C R 2 . 1 をそれぞれ E c o R I で切断して、A B C A - S S N あるいは A B C A 7 をコードする D N A を含む断片を単離し、動物細胞発現ベクター p C M V 6 c [ A T C C 番号 : 8 7 7 8 2 、 A n d e r s s o n S e t a l . , J . B i o l . C h e m . 2 6 4 , 8 2 2 2 ( 1 9 8 9 ) ] の E c o R I サイトに挿入することにより、p C M V 6 c A B C A - S S N および p C M V 6 c A B C A 7 を作製した ( 図 6 ) 。

#### 【 0 1 4 5 】

( 3 ) 動物細胞への発現ベクターの導入  
( 2 ) で作製した p C M V 6 c A B C A - S S N および p C M V 6 c A B C A 7 を含む大腸菌から、それぞれのプラスミド D N A をコンサート核酸精製システム ( C O N C E R T N u c l e i c A c i d P u r i f i c a t i o n S y s t e m 、 インビトロジエン社製 ) により調製した。

#### 【 0 1 4 6 】

1  $\times$  1 0 <sup>6</sup> 個のヒト胎児腎由来の細胞株 H E K 2 9 3 ( A T C C 番号 : C R L - 1 5 7 3 ) を 1 0 c m 径培養用シャーレにまき、2 4 時間後培養したリポフェクトアミン・プラス ( L i p o f e c t A M I N E P L U S 、 インビトロジエン社製、リポフェクトアミンおよびプラス試薬からなる ) を用いてリポフェクション法により D N A を細胞に導入した。リポフェクション法は、以下のようにして行った。まず D N A 5  $\mu$  g 、リポフェクトアミン 2 8  $\mu$  l 、血清を含まない O P T I - M E M ( インビトロジエン社製 ) 7 0 0  $\mu$  l を室温で 1 5 分インキュベートした。これとは別に、プラス試薬 2 0  $\mu$  l と血清を含まない O P T I - M E M 7 0 0  $\mu$  l を室温で 1 5 分インキュベートした。両者を混ぜさらに室温で 1 5 分インキュベートした。H E K 2 9 3 細胞をまいて培養したシャーレを O P T I - M E M で洗浄した後、5 m l の O P T I - M E M を添加し、上記の混合液を添加し、3 時間培養した。1 0 % ウシ胎児血清を含む D M E M に培地を交換し、さらに 3 7 で 4 0 時間培養した。

#### 【 0 1 4 7 】

( 4 ) 膜画分の調製とウェスタンブロッティングによるポリペプチドの検出  
それぞれの発現ベクターを導入した細胞を氷冷した P B S で洗浄し、氷冷した懸濁用緩衝液 ( 1 0 m m o l / l T r i s - H C l ( p H 7 . 5 ) 、 1 m m o l / l E D T A 、 2 5 m m o l / l ショ糖 ) 1 m l を加えて細胞を掻き取った。細胞を 1 0 0 0 r p m 、 4 で 5 分間遠心し、上清を除き、沈殿物を 2 m l のプロテアーゼ阻害剤 - 懸濁用緩衝液 (

100  $\mu\text{g}/\text{ml}$  pAPSMF、10  $\mu\text{g}/\text{ml}$  ロイペプチン、2  $\mu\text{g}/\text{l}$  アプロチニンを含む懸濁用緩衝液)に懸濁した。4 で、コンテスミニボンベ細胞破砕器 [キンブル/コンテス (KIMBLE/KONTES) 社製] を用いた  $\text{N}_2$  キャビテーション (窒素ガスで  $40\text{kg}/\text{cm}^2$  の圧力を5分間かけた後、大気圧に戻す。)により細胞破砕を行った。細胞破砕液を4 で1000 rpm、10分間遠心分離し、上清を回収した。上清を4 で13000 rpm、30分間遠心分離し、上清を除いた。得られた沈殿を50  $\mu\text{l}$  のプロテアーゼ阻害剤 - 懸濁用緩衝液に懸濁し、膜画分とした。

膜画分の蛋白質濃度を測定し、蛋白質5  $\mu\text{g}$  分の膜画分をサンプルとして7%ゲルでSDS - ポリアクリルアミドゲル電気泳動を行った。PVD膜 (ミリポア社製) に、200 mAで1時間電氣的にトランスファーした後、1次抗体として2000倍希釈した抗ABC A7 C末ペプチド抗体、2次抗体として5000倍希釈したホースラディッシュパーオキシダーゼ標識抗ウサギIgG抗体 (ヤギ) [バイオラッド (Bio-Rad) 社製] を反応させ、ECL検出試薬 (アマシャム・ファルマシア・バイオテク社製) を用いて、膜画分中のABC A - SSNおよびABC A7を検出した。図7に示すように、ABC A - SSNおよびABC A7とも細胞膜上に発現していることがわかった。

#### 【0148】

参考例1: ABC A7の部分断片を認識する抗体の作製

ABC A7の細胞外第1ループと考えられる45 ~ 549番目のアミノ酸配列を有する部分断片 [以下、ABC A7 (45 - 549) と略記する。] に対する抗体を以下のようにして作製した。

#### 【0149】

(1) 免疫原の調製

PCRにより、ABC A7のcDNAの配列 (GenBankアクセッション番号: AF250238) の135 ~ 1647番目の配列の5'側にEcoRIサイト、3'側にSalIサイトが付加された配列を有するDNA断片を増幅し、ベクターpGEX-4T-3 (アマシャム・ファルマシア・バイオテク社製) のEcoRI、SalIサイト間に挿入し、グルタチオン-S-トランスフェラーゼ (GST) のC末にABC A7 (45 - 549) を融合させた融合蛋白質を発現させるベクターを作製した。

#### 【0150】

得られたベクターで *Escherichia coli* BL21株 (アマシャム・ファルマシア・バイオテク社製) を形質転換し、50  $\mu\text{g}/\text{ml}$  アンピシリンを含むLB培地で37 で600 nmの光学濃度が0.5になるまで、約2時間培養した。IPTGを最終濃度1 mmol/lになるように加え、30 で3時間培養し、融合蛋白質の発現誘導を行った。

#### 【0151】

4 で5000 rpm、5分間で遠心分離することにより集菌し、菌体を100  $\mu\text{g}/\text{ml}$  のpAPSMFを含むPBS 10 mlに懸濁した。超音波破砕機 [マイソニックス (MISONIX) 社製] で、5秒間超音波破砕、5秒間静止を繰り返し、合計2分40秒間超音波破砕を行った。菌体の破砕液を4 で9500 rpm、10分間遠心分離して、上清を回収した。上清に50%スラリーのグルタチオンセファロース4Bビーズ (アマシャム・ファルマシア・バイオテク社製) 100  $\mu\text{l}$  およびトリトン (Triton) X-100を最終濃度1%になるように加え、4 で1時間回転させながらインキュベートし、ビーズに融合蛋白質を結合させた。4 で300 rpm、3分間遠心分離して、ビーズを回収した。1%トリトンX-100を含むPBSでビーズを3回洗浄した後、ビーズと等量の溶出用緩衝液 (10 mmol/l還元型グルタチオン、50 mmol/l Tris-HCl (pH 8.0)) を加え、4 で1時間インキュベートし、ビーズから融合蛋白質を溶出させた。4 で12000 rpm、5秒間遠心分離し、上清を回収した。この操作は2回繰り返し、完全にビーズを除去した。

#### 【0152】

(2) 動物の免疫およびポリクローナル抗体の作製

(1) で得られた GST と ABCA7 (45 - 549) の融合蛋白質 (分子量約 80 kDa) 50  $\mu$ g を水酸化アルミニウムアジュバント [Antibodies - A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, 99 (1988)] 2 mg および百日咳ワクチン (千葉県血清研究所製)  $1 \times 10^9$  細胞とともに 4 週令雌 SD ラット 3 匹に投与した。投与 2 週間後より、GST と ABCA7 (45 - 549) の融合蛋白質 50  $\mu$ g を 1 週間に 1 回、計 3 回投与した。該ラットより部分採血し、その血清抗体価を実施例 3 (4) と同様の酵素免疫測定法 (バインディング ELISA) で調べ、十分な抗体価を示したラットから全採血を行い抗血清を得た。ただし、アッセイ用の抗原には (1) で得られた GST と ABCA7 (45 - 549) の融合蛋白質、および GST を用い、一次抗体としては得られた被免疫ラット抗血清を、2 次抗体としてペルオキシダーゼ標識ウサギ抗ラットイムノグロブリン (DAKO 社) を用いた。

この抗血清からカプリル酸沈殿法 [Antibodies - A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, (1988)] により IgG 画分を精製し、ポリクローナル抗体を得た。

#### 【0153】

##### (3) ポリクローナル抗体の反応性の検討

(2) と同様の酵素免疫測定法 (バインディング ELISA) したがって、(1) で得られたポリクローナル抗体の反応性の検討行なった。1 次抗体には実施例 (2) で得られたポリクローナル抗体を 10  $\mu$ g/mL から 10 倍希釈で使用した。結果は図 8 に示した。ポリクローナル抗体は GST に交差反応を示すものの、抗原である GST と ABCA7 (45 - 549) の融合蛋白質に強く反応した。

#### 【0154】

##### 【発明の効果】

本発明により ABCA - SSN ポリペプチド、該ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、該ポリペプチドを認識する抗体が提供され、これらを利用することにより自己免疫疾患、シェーグレン病、炎症性疾患、脂質代謝の異常疾患、動脈硬化の診断薬や予防薬、治療薬の開発が可能となる。

#### 【0155】

##### 【配列表フリーテキスト】

配列番号 13 - pAP3neo ベクター用のリバースプライマー

配列番号 26 - 1989 - 2008 番目の残基の N 末にシステイン残基を付加した ABCA - SSN の C 末ペプチド

配列番号 28 - 配列番号 2 の 4060 - 6024 番目を増幅し、その 3' 末にストップコドンと HindIII サイトを付加するためのリバースプライマー

配列番号 31 - 配列番号 2 の 1 - 918 番目を増幅し、その 5' 末に EcoRI サイトを付加するためのフォワードプライマー

配列番号 33 - ABCA7 cDNA の 1 - 1332 番目を増幅し、その 5' 末に EcoRI サイトを付加するためのフォワードプライマー

#### 【0156】

##### 【配列表】

10

20

30

40

## SEQUENCE LISTING

<110> KYOWA HAKKO KOGYO CO., LTD

<120> ABCA7 splicing variant

<130> A11650MA

<150> JP-2001-224176

<151> 2001/07/25

<160> 33

<170> PatentIn Ver. 2.1

[ 0 1 5 7 ]

<210> 1  
 <211> 6696  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
 <220>  
 <221> CDS  
 <222> (673)..(6696)  
 <400> 1

gcggcgcgct cccigcctgc tgc tgggcgg agggaaggcg gcaagagctg cggagcccct 60  
 ggaagagctt ccaggaacct aaacaagcca ctgccatcgg cgggcaccgt gccctggctc 120  
 cagggctca tctgtaatgt gaacaacacc tgc tttccgc agctgacacc gggcgaggag 180  
 cccgggcgcc tgagcaactt caacgactcc ctggctctcc ggctgctagc cgatgcccgc 240  
 acigtgctgg gaggggcccag tgcccacagg acgctggctg gcctagggaa gctgatcgcc 300  
 acgtgaggg ctgcacgcag cacggcccag cctcaaccaa ccaagcagtc tccactggaa 360  
 ccaccaatgc tggatgtcgc ggagctgctg acgtcactgc tgcgcacggg aggggtgctgg 420  
 ggccggaccg cgtgacttc ctgggacact gcactgggga tgcctggca ctgccccacc 480  
 ccggccaag gacctccgt tccaggcatc caggctgtcc ctggctctg cggatgatgt 540  
 gcttgtccgt ctgggcccc agacagagtg tgtctgacct agtgaggaag actcgtctgt 600  
 gagatctca atgagtcct ttgctctca gagcctcagt ttcctattt gtaaagtggg 660  
 ggctatgata gt atg gtc tgc ctg gga act ggc cag agc gct gga ccc cta 711

Met Val Cys Leu Gly Thr Gly Gln Ser Ala Gly Pro Leu

1 5 10

gtg agt gtt caa aat cat tgt ccc cct tgt ggt ctt tct ccc cag gaa 759  
 Val Ser Val Gln Asn His Cys Pro Pro Cys Gly Leu Ser Pro Gln Glu  
 15 20 25  
 tcc ctg ggg ttg gca ctg ggc caa gcc cag gag ccc ttg cac agc ttg 807  
 Ser Leu Gly Leu Ala Leu Gly Gln Ala Gln Glu Pro Leu His Ser Leu  
 30 35 40 45  
 ttg gag gcc gct gag gac ctg gcc cag gag ctc ctg gcg ctg cgc agc 855

10

20

30

40

Leu	Glu	Ala	Ala	Glu	Asp	Leu	Ala	Gln	Glu	Leu	Leu	Ala	Leu	Arg	Ser				
				50					55					60					
ctg	gtg	gag	ctt	cgg	gca	ctg	ctg	cag	aga	ccc	cga	ggg	acc	agc	ggc	903			
Leu	Val	Glu	Leu	Arg	Ala	Leu	Leu	Gln	Arg	Pro	Arg	Gly	Thr	Ser	Gly				
				65				70						75					
ccc	ctg	gag	tig	ctg	tca	gag	gcc	ctc	tgc	agt	gtc	agg	gga	cct	agc	951			
Pro	Leu	Glu	Leu	Leu	Ser	Glu	Ala	Leu	Cys	Ser	Val	Arg	Gly	Pro	Ser				10
				80				85						90					
agc	aca	gtg	ggc	ccc	tcc	ctc	aac	tgg	tac	gag	gct	agt	gac	ctg	atg	999			
Ser	Thr	Val	Gly	Pro	Ser	Leu	Asn	Trp	Tyr	Glu	Ala	Ser	Asp	Leu	Met				
				95				100						105					
gag	ctg	gtg	ggg	cag	gag	cca	gaa	tcc	gcc	ctg	cca	gac	agc	agc	ctg	1047			
Glu	Leu	Val	Gly	Gln	Glu	Pro	Glu	Ser	Ala	Leu	Pro	Asp	Ser	Ser	Leu				20
110					115					120					125				
agc	ccc	gcc	tgc	tcg	gag	ctg	att	gga	gcc	ctg	gac	agc	cac	ccg	ctg	1095			
Ser	Pro	Ala	Cys	Ser	Glu	Leu	Ile	Gly	Ala	Leu	Asp	Ser	His	Pro	Leu				
					130					135				140					
tcc	cgc	ctg	ctc	tgg	aga	cgc	ctg	aag	cct	ctg	atc	ctc	ggg	aag	cta	1143			
Ser	Arg	Leu	Leu	Trp	Arg	Arg	Leu	Lys	Pro	Leu	Ile	Leu	Gly	Lys	Leu				
					145					150				155					
ctc	ttt	gca	cca	gat	aca	cct	ttt	acc	cgg	aag	ctc	atg	gcc	cag	gtg	1191			30
Leu	Phe	Ala	Pro	Asp	Thr	Pro	Phe	Thr	Arg	Lys	Leu	Met	Ala	Gln	Val				
					160					165				170					
aac	cgg	acc	ttc	gag	gag	ctc	acc	ctg	ctg	agg	gat	gtc	cgg	gag	gtg	1239			
Asn	Arg	Thr	Phe	Glu	Glu	Leu	Thr	Leu	Leu	Arg	Asp	Val	Arg	Glu	Val				
					175					180				185					
igg	gag	atg	ctg	gga	ccc	cgg	atc	ttc	acc	ttc	atg	aac	gac	agt	tcc	1287			
Trp	Glu	Met	Leu	Gly	Pro	Arg	Ile	Phe	Thr	Phe	Met	Asn	Asp	Ser	Ser				40
190						195								200					205

aat gtg gcc atg ctg cag cgg ctc ctg cag atg cag gat gaa gga aga	1335	
Asn Val Ala Met Leu Gln Arg Leu Leu Gln Met Gln Asp Glu Gly Arg		
210 215 220		
agg cag ccc aga cct gga ggc cgg gac cac atg gag gcc ctg cga tcc	1383	
Arg Gln Pro Arg Pro Gly Gly Arg Asp His Met Glu Ala Leu Arg Ser		
225 230 235		
ttt ctg gac cct ggg agc ggt ggc tac agc tgg cag gac gca cac gct	1431	10
Phe Leu Asp Pro Gly Ser Gly Gly Tyr Ser Trp Gln Asp Ala His Ala		
240 245 250		
gat gtg ggg cac ctg gtg ggc acg ctg ggc cga gtg acg gag tgc ctg	1479	
Asp Val Gly His Leu Val Gly Thr Leu Gly Arg Val Thr Glu Cys Leu		
255 260 265		
icc tlg gac aag ctg gag gcg gca ccc tca gag gca gcc ctg gtg tcg	1527	
Ser Leu Asp Lys Leu Glu Ala Ala Pro Ser Glu Ala Ala Leu Val Ser		20
270 275 280 285		
cgg gcc ctg caa ctg ctc gcg gaa cat cga ttc tgg gcc ggc gtc gtc	1575	
Arg Ala Leu Gln Leu Leu Ala Glu His Arg Phe Trp Ala Gly Val Val		
290 295 300		
ttc tlg gga cct gag gac tct tca gac ccc aca gag cac cca acc cca	1623	
Phe Leu Gly Pro Glu Asp Ser Ser Asp Pro Thr Glu His Pro Thr Pro		
305 310 315		30
gac ctg ggc ccc ggc cac gtg cgc atc aaa atc cgc atg gac att gac	1671	
Asp Leu Gly Pro Gly His Val Arg Ile Lys Ile Arg Met Asp Ile Asp		
320 325 330		
gtg gtc acg agg acc aat aag atc agg gac agg ttt tgg gac cct ggc	1719	
Val Val Thr Arg Thr Asn Lys Ile Arg Asp Arg Phe Trp Asp Pro Gly		
335 340 345		
cca gcc gcg gac ccc ctg acc gac ctg cgc tac gtg tgg ggc ggc ttc	1767	40
Pro Ala Ala Asp Pro Leu Thr Asp Leu Arg Tyr Val Trp Gly Gly Phe		

350	355	360	365	
gtg tac ctg caa gac ctg gtg gag cgt gca gcc gtc cgc gtg ctc agc	1815			
Val Tyr Leu Gln Asp Leu Val Glu Arg Ala Ala Val Arg Val Leu Ser				
	370	375	380	
ggc gcc aac ccc cgg gcc ggc ctc tac ctg cag cag atg ccc tat ccg	1863			
Gly Ala Asn Pro Arg Ala Gly Leu Tyr Leu Gln Gln Met Pro Tyr Pro				
	385	390	395	10
tgc tat gtg gac gac gtg ttc ctg cgt gtg ctg agc cgg tcg ctg ccg	1911			
Cys Tyr Val Asp Asp Val Phe Leu Arg Val Leu Ser Arg Ser Leu Pro				
	400	405	410	
ctc ttc ctg acg ctg gcc tgg atc tac tcc gtg aca ctg aca gtg aag	1959			
Leu Phe Leu Thr Leu Ala Trp Ile Tyr Ser Val Thr Leu Thr Val Lys				
	415	420	425	
gcc gtg gtg cgg gag aag gag acg cgg ctg cgg gac acc atg cgc gcc	2007			20
Ala Val Val Arg Glu Lys Glu Thr Arg Leu Arg Asp Thr Met Arg Ala				
	430	435	440	
atg ggg ctc agc cgc gcg gtg ctc tgg cta ggc tgg ttc ctc agc tgc	2055			
Met Gly Leu Ser Arg Ala Val Leu Trp Leu Gly Trp Phe Leu Ser Cys				
	450	455	460	
ctc ggg ccc ttc ctg ctc agc gcc gca ctg ctg gtt ctg gtg ctc aag	2103			
Leu Gly Pro Phe Leu Leu Ser Ala Ala Leu Leu Val Leu Val Leu Lys				30
	465	470	475	
ctg gga gac atc ctc ccc tac agc cac cgg ggc gtg gtc ttc ctg ttc	2151			
Leu Gly Asp Ile Leu Pro Tyr Ser His Pro Gly Val Val Phe Leu Phe				
	480	485	490	
ttg gca gcc ttc gcg gtg gcc acg gtg acc cag agc ttc ctg ctc agc	2199			
Leu Ala Ala Phe Ala Val Ala Thr Val Thr Gln Ser Phe Leu Leu Ser				
	495	500	505	40
gcc ttc ttc tcc cgc gcc aac ctg gct gcg gcc tgc ggc ggc ctg gcc	2247			

Ala Phe Phe Ser Arg Ala Asn Leu Ala Ala Ala Cys Gly Gly Leu Ala		
510	515	520
tac ttc tcc ctc tac ctg ccc tac gtg ctg tgt gtg gct tgg cgg gac	2295	
Tyr Phe Ser Leu Tyr Leu Pro Tyr Val Leu Cys Val Ala Trp Arg Asp		
530	535	540
cgg ctg ccc gcg ggt ggc cgc gtg gcc gcg agc ctg ctg tcg ccc gtg	2343	
Arg Leu Pro Ala Gly Gly Arg Val Ala Ala Ser Leu Leu Ser Pro Val		10
545	550	555
gcc ttc ggc ttc ggc tgc gag agc ctg gct ctg ctg gag gag cag ggc	2391	
Ala Phe Gly Phe Gly Cys Glu Ser Leu Ala Leu Leu Glu Glu Gln Gly		
560	565	570
gag ggc gcg cag tgg cac aac gtg ggc acc cgg cct acg gca gac gtc	2439	
Glu Gly Ala Gln Trp His Asn Val Gly Thr Arg Pro Thr Ala Asp Val		
575	580	585
ttc agc ctg gcc cag gtc tct ggc ctt ctg ctg ctg gac gcg gcg ctc	2487	
Phe Ser Leu Ala Gln Val Ser Gly Leu Leu Leu Leu Asp Ala Ala Leu		
590	595	600
tac ggc ctc gcc acc tgg tac ctg gaa gct gtg tgc cca ggc cag tac	2535	
Tyr Gly Leu Ala Thr Trp Tyr Leu Glu Ala Val Cys Pro Gly Gln Tyr		
610	615	620
ggg atc cct gaa cca tgg aat ttt cct ttt cgg agg agc tac tgg tgc	2583	30
Gly Ile Pro Glu Pro Trp Asn Phe Pro Phe Arg Arg Ser Tyr Trp Cys		
625	630	635
gga cct cgg ccc ccc aag agt cca gcc cct tgc ccc acc ccg ctg gac	2631	
Gly Pro Arg Pro Pro Lys Ser Pro Ala Pro Cys Pro Thr Pro Leu Asp		
640	645	650
cca aag gtg ctg gta gaa gag gca ccg ccc ggc ctg agt cct ggc gtc	2679	
Pro Lys Val Leu Val Glu Glu Ala Pro Pro Gly Leu Ser Pro Gly Val		40
655	660	665

tcc gtt cgc agc ctg gag aag cgc ttt cct gga agc ccg cag cca gcc	2727	
Ser Val Arg Ser Leu Glu Lys Arg Phe Pro Gly Ser Pro Gln Pro Ala		
670	675	680
ctg cgg ggg ctc agc ctg gac ttc tac cag ggc cac atc acc gcc ttc	2775	
Leu Arg Gly Leu Ser Leu Asp Phe Tyr Gln Gly His Ile Thr Ala Phe		
	690	700
ctg ggc cac aac ggg gcc ggc aag acc acc acc ctg tcc atc ttg agt	2823	10
Leu Gly His Asn Gly Ala Gly Lys Thr Thr Thr Leu Ser Ile Leu Ser		
	705	715
ggc ctc ttc cca ccc agt ggt ggc tct gcc ttc atc ctg ggc cac gac	2871	
Gly Leu Phe Pro Pro Ser Gly Gly Ser Ala Phe Ile Leu Gly His Asp		
	720	730
gtc cgc tcc agc atg gcc gcc atc cgg ccc cac ctg ggc gtc tgt cct	2919	
Val Arg Ser Ser Met Ala Ala Ile Arg Pro His Leu Gly Val Cys Pro		20
	735	745
cag tac aac gtg ctg ttt gac atg ctg acc gtg gac gag cac gtc tgg	2967	
Gln Tyr Asn Val Leu Phe Asp Met Leu Thr Val Asp Glu His Val Trp		
750	755	760
ttc tat ggg cgg ctg aag ggt ctg agt gcc gct gta gtg ggc ccc gag	3015	
Phe Tyr Gly Arg Leu Lys Gly Leu Ser Ala Ala Val Val Gly Pro Glu		
	770	780
cag gac cgt ctg ctg cag gat gtg ggg ctg gtc tcc aag cag agt gtg	3063	
Gln Asp Arg Leu Leu Gln Asp Val Gly Leu Val Ser Lys Gln Ser Val		
	785	795
cag act cgc cac ctc tct ggt ggg atg caa cgg aag ctg tcc gtg gcc	3111	
Gln Thr Arg His Leu Ser Gly Gly Met Gln Arg Lys Leu Ser Val Ala		
	800	810
att gcc ttt gtg ggc ggc tcc caa gtt gtt atc ctg gac gag cct acg	3159	40
Ile Ala Phe Val Gly Gly Ser Gln Val Val Ile Leu Asp Glu Pro Thr		

815	820	825		
gct ggc gtg gat cct gct tcc cgc cgc ggt att tgg gag ctg ctg ctc			3207	
Ala Gly Val Asp Pro Ala Ser Arg Arg Gly Ile Trp Glu Leu Leu Leu				
830	835	840	845	
aaa tac cga gaa ggt cgc acg ctg atc ctc tcc acc cac cac ctg gat			3255	
Lys Tyr Arg Glu Gly Arg Thr Leu Ile Leu Ser Thr His His Leu Asp				
	850	855	860	10
gag gca gag ctg ctg gga gac cgt gtg gct gtg gtg gca ggt ggc cgc			3303	
Glu Ala Glu Leu Leu Gly Asp Arg Val Ala Val Val Ala Gly Gly Arg				
	865	870	875	
tig tgc tgc tgt ggc tcc cca ctc ttc ctg cgc cgt cac ctg ggc tcc			3351	
Leu Cys Cys Cys Gly Ser Pro Leu Phe Leu Arg Arg His Leu Gly Ser				
	880	885	890	20
ggc tac tac ctg acg ctg gtg aag gcc cgc ctg ccc ctg acc acc aat			3399	
Gly Tyr Tyr Leu Thr Leu Val Lys Ala Arg Leu Pro Leu Thr Thr Asn				
	895	900	905	
gag aag gct gac act gac atg gag ggc agt gtg gac acc agg cag gaa			3447	
Glu Lys Ala Asp Thr Asp Met Glu Gly Ser Val Asp Thr Arg Gln Glu				
910	915	920	925	
aag aag aat ggc agc cag ggc agc aga gtc ggc act cct cag ctg ctg			3495	
Lys Lys Asn Gly Ser Gln Gly Ser Arg Val Gly Thr Pro Gln Leu Leu				30
	930	935	940	
gcc ctg gta cag cac tgg gtg ccc ggg gca cgg ctg gtg gag gag ctg			3543	
Ala Leu Val Gln His Trp Val Pro Gly Ala Arg Leu Val Glu Glu Leu				
	945	950	955	
cca cac gag ctg gtg ctg gtg ctg ccc tac acg ggt gcc cat gac ggc			3591	
Pro His Glu Leu Val Leu Val Leu Pro Tyr Thr Gly Ala His Asp Gly				
	960	965	970	40
agc ttc gcc aca ctc ttc cga gag cta gac acg cgg ctg gcg gag ctg			3639	

Ser Phe Ala Thr Leu Phe Arg Glu Leu Asp Thr Arg Leu Ala Glu Leu		
975	980	985
agg ctc act ggc tac ggg atc tcc gac acc agc ctc gag gag atc ttc	3687	
Arg Leu Thr Gly Tyr Gly Ile Ser Asp Thr Ser Leu Glu Glu Ile Phe		
990	995	1000
ctg aag gtg gtg gag gag tgt gct gcg gac aca gat atg gag gat ggc	3735	
Leu Lys Val Val Glu Glu Cys Ala Ala Asp Thr Asp Met Glu Asp Gly		10
	1010	1015
agc tgc ggg cag cac cta tgc aca ggc att gct ggc cta gac gta acc	3783	
Ser Cys Gly Gln His Leu Cys Thr Gly Ile Ala Gly Leu Asp Val Thr		
	1025	1030
ctg cgg ctc aag atg ccg cca cag gag aca gcg ctg gag aac ggg gaa	3831	
Leu Arg Leu Lys Met Pro Pro Gln Glu Thr Ala Leu Glu Asn Gly Glu		
	1040	1045
cca gct ggg tca gcc cca gag act gac cag ggc tct ggg cca gac gcc	3879	
Pro Ala Gly Ser Ala Pro Glu Thr Asp Gln Gly Ser Gly Pro Asp Ala		
	1055	1060
gtg ggc cgg gta cag ggc tgg gca ctg acc cgc cag cag ctc cag gcc	3927	
Val Gly Arg Val Gln Gly Trp Ala Leu Thr Arg Gln Gln Leu Gln Ala		
1070	1075	1080
ctg ctt ctc aag cgc ttt ctg ctt gcc cgc cgc agc cgc cgc ggc ctg	3975	
Leu Leu Leu Lys Arg Phe Leu Leu Ala Arg Arg Ser Arg Arg Gly Leu		30
	1090	1095
ttc gcc cag atc gtg ctg cct gcc ctc ttt gtg ggc ctg gcc ctc gtg	4023	
Phe Ala Gln Ile Val Leu Pro Ala Leu Phe Val Gly Leu Ala Leu Val		
	1105	1110
ttc agc ctc atc gtg cct cct ttc ggg cac tac ccg gct ctg cgg ctc	4071	
Phe Ser Leu Ile Val Pro Pro Phe Gly His Tyr Pro Ala Leu Arg Leu		40
	1120	1125
		1130

agt ccc acc atg tac ggt gct cag gtg tcc ttc ttc agt gag gac gcc	4119	
Ser Pro Thr Met Tyr Gly Ala Gln Val Ser Phe Phe Ser Glu Asp Ala		
1135 1140 1145		
cca ggg gac cct gga cgt gcc cgg ctg ctc gag gcg ctg ctg cag gag	4167	
Pro Gly Asp Pro Gly Arg Ala Arg Leu Leu Glu Ala Leu Leu Gln Glu		
1150 1155 1160 1165		
gca gga ctg gag gag ccc cca gtg cag cat agc tcc cac agg ttc tcg	4215	10
Ala Gly Leu Glu Glu Pro Pro Val Gln His Ser Ser His Arg Phe Ser		
1170 1175 1180		
gca cca gaa gtt cct gct gaa gtg gcc aag gtc ttg gcc agt ggc aac	4263	
Ala Pro Glu Val Pro Ala Glu Val Ala Lys Val Leu Ala Ser Gly Asn		
1185 1190 1195		
igg acc cca gag tct cca tcc cca gcc tgc cag tgt agc cag ccc ggt	4311	
Trp Thr Pro Glu Ser Pro Ser Pro Ala Cys Gln Cys Ser Gln Pro Gly		20
1200 1205 1210		
gcc cgg cgc ctg ctg ccc gac tgc ccg gct gca gct ggt ggt ccc cct	4359	
Ala Arg Arg Leu Leu Pro Asp Cys Pro Ala Ala Ala Gly Gly Pro Pro		
1215 1220 1225		
ccg ccc cag gca gtg acc ggc tct ggg gaa gtg gtt cag aac ctg aca	4407	
Pro Pro Gln Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Val Val Gln Asn Leu Thr		
1230 1235 1240 1245		30
ggc cgg aac ctg tct gac ttc ctg gtc aag acc tac ccg cgc ctg gtg	4455	
Gly Arg Asn Leu Ser Asp Phe Leu Val Lys Thr Tyr Pro Arg Leu Val		
1250 1255 1260		
cgc cag ggc ctg aag act aag aag tgg gtg aat gag gtc agg tac gga	4503	
Arg Gln Gly Leu Lys Thr Lys Lys Trp Val Asn Glu Val Arg Tyr Gly		
1265 1270 1275		
ggc ttc tcg ctg ggg ggc cga gac cca ggc ctg ccc tcg ggc caa gag	4551	40
Gly Phe Ser Leu Gly Gly Arg Asp Pro Gly Leu Pro Ser Gly Gln Glu		

1280	1285	1290		
ttg ggc cgc tca gtg gag gag ttg tgg gcg ctg ctg agt ccc ctg cct			4599	
Leu Gly Arg Ser Val Glu Glu Leu Trp Ala Leu Leu Ser Pro Leu Pro				
1295	1300	1305		
ggc ggg gcc ctc gac cgt gtc ctg aaa aac ctc aca gcc tgg gct cac			4647	
Gly Gly Ala Leu Asp Arg Val Leu Lys Asn Leu Thr Ala Trp Ala His				
1310	1315	1320	1325	10
agc ctg gat gct cag gac agt ctc aag atc tgg ttc aac aac aaa ggc			4695	
Ser Leu Asp Ala Gln Asp Ser Leu Lys Ile Trp Phe Asn Asn Lys Gly				
1330	1335	1340		
tgg cac tcc atg gtg gcc ttt gtc aac cga gcc agc aac gca atc ctc			4743	
Trp His Ser Met Val Ala Phe Val Asn Arg Ala Ser Asn Ala Ile Leu				
1345	1350	1355		
cgt gct cac ctg ccc cca ggc ccg gcc cgc cac gcc cac agc atc acc			4791	20
Arg Ala His Leu Pro Pro Gly Pro Ala Arg His Ala His Ser Ile Thr				
1360	1365	1370		
aca ctc aac cac ccc ttg aac ctc acc aag gag cag ctg tct gag gct			4839	
Thr Leu Asn His Pro Leu Asn Leu Thr Lys Glu Gln Leu Ser Glu Ala				
1375	1380	1385		
gca ctg atg gcc tcc tcg gtg gac gtc ctc gtc tcc atc tgt gtg gtc			4887	
Ala Leu Met Ala Ser Ser Val Asp Val Leu Val Ser Ile Cys Val Val				30
1390	1395	1400	1405	
ttt gcc atg tcc ttt gtc ccg gcc agc ttc act ctt gtc ctc att gag			4935	
Phe Ala Met Ser Phe Val Pro Ala Ser Phe Thr Leu Val Leu Ile Glu				
1410	1415	1420		
gag cga gtc acc cga gcc aag cac ctg cag ctc atg ggg ggc ctg tcc			4983	
Glu Arg Val Thr Arg Ala Lys His Leu Gln Leu Met Gly Gly Leu Ser				
1425	1430	1435		40
ccc acc ctc tac tgg ctt ggc aac ttt ctc tgg gac atg tgt aac tac			5031	

Pro Thr Leu Tyr Trp Leu Gly Asn Phe Leu Trp Asp Met Cys Asn Tyr		
1440	1445	1450
ttg gtg cca gca tgc atc gtg gtg ctc atc ttt ctg gcc ttc cag cag	5079	
Leu Val Pro Ala Cys Ile Val Val Leu Ile Phe Leu Ala Phe Gln Gln		
1455	1460	1465
agg gca tat gtg gcc cct gcc aac ctg cct gct ctc ctg ctg ttg cta	5127	
Arg Ala Tyr Val Ala Pro Ala Asn Leu Pro Ala Leu Leu Leu Leu Leu		10
1470	1475	1480
cta ctg tat ggc tgg tcg atc aca ccg ctc atg tac cca gcc tcc ttc	5175	
Leu Leu Tyr Gly Trp Ser Ile Thr Pro Leu Met Tyr Pro Ala Ser Phe		
1490	1495	1500
ttc ttc tcc gtg ccc agc aca gcc tat gtg gtg ctc acc tgc ata aac	5223	
Phe Phe Ser Val Pro Ser Thr Ala Tyr Val Val Leu Thr Cys Ile Asn		
1505	1510	1515
ctc ttt att ggc atc aat gga agc atg gcc acc ttt gtg ctt gag ctc	5271	
Leu Phe Ile Gly Ile Asn Gly Ser Met Ala Thr Phe Val Leu Glu Leu		
1520	1525	1530
ttc tct gat cag aag ctg cag gag gtg agc cgg atc ttg aaa cag gtc	5319	
Phe Ser Asp Gln Lys Leu Gln Glu Val Ser Arg Ile Leu Lys Gln Val		
1535	1540	1545
ttc ctt atc ttc ccc cac ttc tgc ttg ggc cgg ggg ctc att gac atg	5367	
Phe Leu Ile Phe Pro His Phe Cys Leu Gly Arg Gly Leu Ile Asp Met		30
1550	1555	1560
gtg cgg aac cag gcc atg gct gat gcc ttt gag cgc ttg gga gac agg	5415	
Val Arg Asn Gln Ala Met Ala Asp Ala Phe Glu Arg Leu Gly Asp Arg		
1570	1575	1580
cag ttc cag tca ccc ctg cgc tgg gag gtg gtc ggc aag aac ctc ttg	5463	
Gln Phe Gln Ser Pro Leu Arg Trp Glu Val Val Gly Lys Asn Leu Leu		40
1585	1590	1595

gcc atg gtg ata cag ggg ccc ctc ttc ctt ctc ttc aca cta ctg ctg	5511		
Ala Met Val Ile Gln Gly Pro Leu Phe Leu Leu Phe Thr Leu Leu Leu			
1600	1605	1610	
cag cac cga agc caa ctc ctg cca cag ccc agg gtg agg tct ctg cca	5559		
Gln His Arg Ser Gln Leu Leu Pro Gln Pro Arg Val Arg Ser Leu Pro			
1615	1620	1625	
ctc ctg gga gag gag gac gag gat gta gcc cgt gaa cgg gag cgg gtg	5607	10	
Leu Leu Gly Glu Glu Asp Glu Asp Val Ala Arg Glu Arg Glu Arg Val			
1630	1635	1640	1645
gtc caa gga gcc acc cag ggg gat gtg ttg gtg ctg agg aac ttg acc	5655		
Val Gln Gly Ala Thr Gln Gly Asp Val Leu Val Leu Arg Asn Leu Thr			
1650	1655	1660	
aag gta tac cgt ggg cag agg atg cca gct gtt gac cgc ttg tgc ctg	5703		
Lys Val Tyr Arg Gly Gln Arg Met Pro Ala Val Asp Arg Leu Cys Leu		20	
1665	1670	1675	
ggg att ccc cct ggt gag tgt ttt ggg ctg ctg ggt gtg aat gga gca	5751		
Gly Ile Pro Pro Gly Glu Cys Phe Gly Leu Leu Gly Val Asn Gly Ala			
1680	1685	1690	
ggg aag acg tcc acg ttt cgc atg gtg acg ggg gac aca ttg gcc agc	5799		
Gly Lys Thr Ser Thr Phe Arg Met Val Thr Gly Asp Thr Leu Ala Ser			
1695	1700	1705	30
agg ggc gag gct gtg ctg gca ggc cac agc gtg gcc cgg gaa ccc agt	5847		
Arg Gly Glu Ala Val Leu Ala Gly His Ser Val Ala Arg Glu Pro Ser			
1710	1715	1720	1725
gct gcg cac ctc agc atg gga tac tgc cct caa tcc gat gcc atc ttt	5895		
Ala Ala His Leu Ser Met Gly Tyr Cys Pro Gln Ser Asp Ala Ile Phe			
1730	1735	1740	
gag ctg ctg acg ggc cgc gag cac ctg gag ctg ctt gcg cgc ctg cgc	5943	40	
Glu Leu Leu Thr Gly Arg Glu His Leu Glu Leu Leu Ala Arg Leu Arg			

1745	1750	1755		
ggt gtc ccg gag gcc cag gtt gcc cag acc gct ggc tcg ggc ctg gcg			5991	
Gly Val Pro Glu Ala Gln Val Ala Gln Thr Ala Gly Ser Gly Leu Ala				
1760	1765	1770		
cgt ctg gga ctc tca tgg tac gca gac cgg cct gca ggc acc tac agc			6039	
Arg Leu Gly Leu Ser Trp Tyr Ala Asp Arg Pro Ala Gly Thr Tyr Ser				
1775	1780	1785		10
gga ggg aac aaa cgc aag ctg gcg acg gcc ctg gcg ctg gtt ggg gac			6087	
Gly Gly Asn Lys Arg Lys Leu Ala Thr Ala Leu Ala Leu Val Gly Asp				
1790	1795	1800	1805	
cca gcc gtg gtg ttt ctg gac gag ccg acc acg ggc atg gac ccc agc				6135
Pro Ala Val Val Phe Leu Asp Glu Pro Thr Thr Gly Met Asp Pro Ser				
1810	1815	1820		
gcg cgg cgc ttc ctt tgg aac agc ctt ttg gcc gtg gtg cgg gag ggc			6183	20
Ala Arg Arg Phe Leu Trp Asn Ser Leu Leu Ala Val Val Arg Glu Gly				
1825	1830	1835		
cgt tca gtg atg ctc acc tcc cat agc atg gag gag tgt gaa gcg ctc			6231	
Arg Ser Val Met Leu Thr Ser His Ser Met Glu Glu Cys Glu Ala Leu				
1840	1845	1850		
tgc tcg cgc cta gcc atc atg gtg aat ggg cgg ttc cgc tgc ctg ggc			6279	
Cys Ser Arg Leu Ala Ile Met Val Asn Gly Arg Phe Arg Cys Leu Gly				30
1855	1860	1865		
agc ccg caa cat ctc aag ggc aga ttc gcg gcg ggt cac aca ctg acc			6327	
Ser Pro Gln His Leu Lys Gly Arg Phe Ala Ala Gly His Thr Leu Thr				
1870	1875	1880	1885	
ctg cgg gtg ccc gcc gca agg tcc cag ccg gca gcg gcc ttc gtg gcg				6375
Leu Arg Val Pro Ala Ala Arg Ser Gln Pro Ala Ala Ala Phe Val Ala				
1890	1895	1900		40
gcc gag ttc cct ggg tcg gag ctg cgc gag gca cat gga ggc cgc ctg			6423	

Ala Glu Phe Pro Gly Ser Glu Leu Arg Glu Ala His Gly Gly Arg Leu			
1905	1910	1915	
cgc ttc cag ctg ccg ccg gga ggg cgc tgc gcc ctg gcg cgc gtc ttt	6471		
Arg Phe Gln Leu Pro Pro Gly Gly Arg Cys Ala Leu Ala Arg Val Phe			
1920	1925	1930	
gga gag ctg gcg gtg cac ggc gca gag cac ggc gtg gag gac ttt tcc	6519		
Gly Glu Leu Ala Val His Gly Ala Glu His Gly Val Glu Asp Phe Ser		10	
1935	1940	1945	
gtg agc cag acg atg ctg gag gag gta ttc ttg tac ttc tcc aag gac	6567		
Val Ser Gln Thr Met Leu Glu Glu Val Phe Leu Tyr Phe Ser Lys Asp			
1950	1955	1960	1965
cag ggg aag gac gag gac acc gaa gag cag aag gag gca gga gtg gga	6615		
Gln Gly Lys Asp Glu Asp Thr Glu Glu Gln Lys Glu Ala Gly Val Gly			
1970	1975	1980	20
gtg gac ccc gcg cca ggc ctg cag cac ccc aaa cgc gtc agc cag ttc	6663		
Val Asp Pro Ala Pro Gly Leu Gln His Pro Lys Arg Val Ser Gln Phe			
1985	1990	1995	
ctc gat gac cct agc act gcc gag act gtg ctc	6696		
Leu Asp Asp Pro Ser Thr Ala Glu Thr Val Leu			
2000	2005		

[ 0 1 5 8 ]

30

<210> 2

<211> 6024

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(6024)

<400> 2

atg gtc tgc ctg gga act ggc cag agc gct gga ccc cta gtg agt gtt 48

Met Val Cys Leu Gly Thr Gly Gln Ser Ala Gly Pro Leu Val Ser Val

1

5

10

15

caa aat cat tgt ccc cct tgt ggt ctt tct ccc cag gaa tcc ctg ggg 96

Gln Asn His Cys Pro Pro Cys Gly Leu Ser Pro Gln Glu Ser Leu Gly

20

25

30

tig gca ctg ggc caa gcc cag gag ccc ttg cac agc ttg ttg gag gcc 144

Leu Ala Leu Gly Gln Ala Gln Glu Pro Leu His Ser Leu Leu Glu Ala

35

40

45

gct gag gac ctg gcc cag gag ctc ctg gcg ctg cgc agc ctg gtg gag 192

Ala Glu Asp Leu Ala Gln Glu Leu Leu Ala Leu Arg Ser Leu Val Glu

50

55

60

ctt cgg gca ctg ctg cag aga ccc cga ggg acc agc ggc ccc ctg gag 240

Leu Arg Ala Leu Leu Gln Arg Pro Arg Gly Thr Ser Gly Pro Leu Glu

65

70

75

80

ttg ctg tca gag gcc ctc tgc agt gtc agg gga cct agc agc aca gtg 288

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

85

90

95

ggc ccc tcc ctc aac tgg tac gag gct agt gac ctg atg gag ctg gtg 336

Gly Pro Ser Leu Asn Trp Tyr Glu Ala Ser Asp Leu Met Glu Leu Val

100

105

110

10

20

30

40

ggg cag gag cca gaa tcc gcc ctg cca gac agc agc ctg agc ccc gcc	384	
Gly Gln Glu Pro Glu Ser Ala Leu Pro Asp Ser Ser Leu Ser Pro Ala		
115 120 125		
tgc tcg gag ctg att gga gcc ctg gac agc cac ccg ctg tcc cgc ctg	432	
Cys Ser Glu Leu Ile Gly Ala Leu Asp Ser His Pro Leu Ser Arg Leu		
130 135 140		
ctc tgg aga cgc ctg aag cct ctg atc ctc ggg aag cta ctc ttt gca	480	10
Leu Trp Arg Arg Leu Lys Pro Leu Ile Leu Gly Lys Leu Leu Phe Ala		
145 150 155 160		
cca gat aca cct ttt acc cgg aag ctc atg gcc cag gtg aac cgg acc	528	
Pro Asp Thr Pro Phe Thr Arg Lys Leu Met Ala Gln Val Asn Arg Thr		
165 170 175		
ttc gag gag ctc acc ctg ctg agg gat gtc cgg gag gtg tgg gag atg	576	
Phe Glu Glu Leu Thr Leu Leu Arg Asp Val Arg Glu Val Trp Glu Met		20
180 185 190		
ctg gga ccc cgg atc ttc acc ttc atg aac gac agt tcc aat gtg gcc	624	
Leu Gly Pro Arg Ile Phe Thr Phe Met Asn Asp Ser Ser Asn Val Ala		
195 200 205		
atg ctg cag cgg ctc ctg cag atg cag gat gaa gga aga agg cag ccc	672	
Met Leu Gln Arg Leu Leu Gln Met Gln Asp Glu Gly Arg Arg Gln Pro		
210 215 220		30
aga cct gga ggc cgg gac cac atg gag gcc ctg cga tcc ttt ctg gac	720	
Arg Pro Gly Gly Arg Asp His Met Glu Ala Leu Arg Ser Phe Leu Asp		
225 230 235 240		
cct ggg agc ggt ggc tac agc tgg cag gac gca cac gct gat gtg ggg	768	
Pro Gly Ser Gly Gly Tyr Ser Trp Gln Asp Ala His Ala Asp Val Gly		
245 250 255		
cac ctg gtg ggc acg ctg ggc cga gtg acg gag tgc ctg tcc ttg gac	816	40
His Leu Val Gly Thr Leu Gly Arg Val Thr Glu Cys Leu Ser Leu Asp		

260	265	270		
aag ctg gag gcg gca ccc tca gag gca gcc ctg gtg tcg cgg gcc ctg			864	
Lys Leu Glu Ala Ala Pro Ser Glu Ala Ala Leu Val Ser Arg Ala Leu				
275	280	285		
caa ctg ctc gcg gaa cat cga ttc tgg gcc ggc gtc gtc ttc ttg gga			912	
Gln Leu Leu Ala Glu His Arg Phe Trp Ala Gly Val Val Phe Leu Gly				
290	295	300		10
cct gag gac tct tca gac ccc aca gag cac cca acc cca gac ctg ggc			960	
Pro Glu Asp Ser Ser Asp Pro Thr Glu His Pro Thr Pro Asp Leu Gly				
305	310	315	320	
ccc ggc cac gtg cgc atc aaa atc cgc atg gac att gac gtg gtc acg			1008	
Pro Gly His Val Arg Ile Lys Ile Arg Met Asp Ile Asp Val Val Thr				
325	330	335		
agg acc aat aag atc agg gac agg ttt tgg gac cct ggc cca gcc gcg			1056	20
Arg Thr Asn Lys Ile Arg Asp Arg Phe Trp Asp Pro Gly Pro Ala Ala				
340	345	350		
gac ccc ctg acc gac ctg cgc tac gtg tgg ggc ggc ttc gtg tac ctg			1104	
Asp Pro Leu Thr Asp Leu Arg Tyr Val Trp Gly Gly Phe Val Tyr Leu				
355	360	365		
caa gac ctg gtg gag cgt gca gcc gtc cgc gtg ctc agc ggc gcc aac			1152	
Gln Asp Leu Val Glu Arg Ala Ala Val Arg Val Leu Ser Gly Ala Asn				30
370	375	380		
ccc cgg gcc ggc ctc tac ctg cag cag atg ccc tat ccg tgc tat gtg			1200	
Pro Arg Ala Gly Leu Tyr Leu Gln Gln Met Pro Tyr Pro Cys Tyr Val				
385	390	395	400	
gac gac gtg ttc ctg cgt gtg ctg agc cgg tcg ctg ccg ctc ttc ctg			1248	
Asp Asp Val Phe Leu Arg Val Leu Ser Arg Ser Leu Pro Leu Phe Leu				
405	410	415		40
acg ctg gcc tgg atc tac tcc gtg aca ctg aca gtg aag gcc gtg gtg			1296	

Thr Leu Ala Trp Ile Tyr Ser Val Thr Leu Thr Val Lys Ala Val Val		
420	425	430
cgg gag aag gag acg cgg ctg cgg gac acc atg cgc gcc atg ggg ctc	1344	
Arg Glu Lys Glu Thr Arg Leu Arg Asp Thr Met Arg Ala Met Gly Leu		
435	440	445
agc cgc gcg gtg ctc tgg cta ggc tgg ttc ctc agc tgc ctc ggg ccc	1392	
Ser Arg Ala Val Leu Trp Leu Gly Trp Phe Leu Ser Cys Leu Gly Pro		10
450	455	460
ttc ctg ctc agc gcc gca ctg ctg gtt ctg gtg ctc aag ctg gga gac	1440	
Phe Leu Leu Ser Ala Ala Leu Leu Val Leu Val Leu Lys Leu Gly Asp		
465	470	475
atc ctc ccc tac agc cac ccg ggc gtg gtc ttc ctg ttc ttg gca gcc	1488	
Ile Leu Pro Tyr Ser His Pro Gly Val Val Phe Leu Phe Leu Ala Ala		
485	490	495
ttc gcg gtg gcc acg gtg acc cag agc ttc ctg ctc agc gcc ttc ttc	1536	
Phe Ala Val Ala Thr Val Thr Gln Ser Phe Leu Leu Ser Ala Phe Phe		
500	505	510
tcc cgc gcc aac ctg gct gcg gcc tgc ggc ggc ctg gcc tac ttc tcc	1584	
Ser Arg Ala Asn Leu Ala Ala Ala Cys Gly Gly Leu Ala Tyr Phe Ser		
515	520	525
ctc tac ctg ccc tac gtg ctg tgt gtg gct tgg cgg gac cgg ctg ccc	1632	
Leu Tyr Leu Pro Tyr Val Leu Cys Val Ala Trp Arg Asp Arg Leu Pro		30
530	535	540
gcg ggt ggc cgc gtg gcc gcg agc ctg ctg tcg ccc gtg gcc ttc ggc	1680	
Ala Gly Gly Arg Val Ala Ala Ser Leu Leu Ser Pro Val Ala Phe Gly		
545	550	555
ttc ggc tgc gag agc ctg gct ctg ctg gag gag cag ggc gag ggc gcg	1728	
Phe Gly Cys Glu Ser Leu Ala Leu Leu Glu Glu Gln Gly Glu Gly Ala		40
565	570	575

cag tgg cac aac gtg ggc acc cgg cct acg gca gac gtc ttc agc ctg	1776	
Gln Trp His Asn Val Gly Thr Arg Pro Thr Ala Asp Val Phe Ser Leu		
580 585 590		
gcc cag gtc tct ggc ctt ctg ctg ctg gac gcg gcg ctc tac ggc ctc	1824	
Ala Gln Val Ser Gly Leu Leu Leu Leu Asp Ala Ala Leu Tyr Gly Leu		
595 600 605		
gcc acc tgg tac ctg gaa gct gtg tgc cca ggc cag tac ggg atc cct	1872	10
Ala Thr Trp Tyr Leu Glu Ala Val Cys Pro Gly Gln Tyr Gly Ile Pro		
610 615 620		
gaa cca tgg aat ttt cct ttt cgg agg agc tac tgg tgc gga cct cgg	1920	
Glu Pro Trp Asn Phe Pro Phe Arg Arg Ser Tyr Trp Cys Gly Pro Arg		
625 630 635 640		
ccc ccc aag agt cca gcc cct tgc ccc acc ccg ctg gac cca aag gtg	1968	
Pro Pro Lys Ser Pro Ala Pro Cys Pro Thr Pro Leu Asp Pro Lys Val		20
645 650 655		
ctg gta gaa gag gca ccg ccc ggc ctg agt cct ggc gtc tcc gtt cgc	2016	
Leu Val Glu Glu Ala Pro Pro Gly Leu Ser Pro Gly Val Ser Val Arg		
660 665 670		
agc ctg gag aag cgc ttt cct gga agc ccg cag cca gcc ctg cgg ggg	2064	
Ser Leu Glu Lys Arg Phe Pro Gly Ser Pro Gln Pro Ala Leu Arg Gly		
675 680 685		30
ctc agc ctg gac ttc tac cag ggc cac atc acc gcc ttc ctg ggc cac	2112	
Leu Ser Leu Asp Phe Tyr Gln Gly His Ile Thr Ala Phe Leu Gly His		
690 695 700		
aac ggg gcc ggc aag acc acc acc ctg tcc atc ttg agt ggc ctc ttc	2160	
Asn Gly Ala Gly Lys Thr Thr Thr Leu Ser Ile Leu Ser Gly Leu Phe		
705 710 715 720		
cca ccc agt ggt ggc tct gcc ttc atc ctg ggc cac gac gtc cgc tcc	2208	40
Pro Pro Ser Gly Gly Ser Ala Phe Ile Leu Gly His Asp Val Arg Ser		



Cys Gly Ser Pro Leu Phe Leu Arg Arg His Leu Gly Ser Gly Tyr Tyr		
885	890	895
ctg acg ctg gtg aag gcc cgc ctg ccc ctg acc acc aat gag aag gct	2736	
Leu Thr Leu Val Lys Ala Arg Leu Pro Leu Thr Thr Asn Glu Lys Ala		
900	905	910
gac act gac atg gag ggc agt gtg gac acc agg cag gaa aag aag aat	2784	
Asp Thr Asp Met Glu Gly Ser Val Asp Thr Arg Gln Glu Lys Lys Asn		10
915	920	925
ggc agc cag ggc agc aga gtc ggc act cct cag ctg ctg gcc ctg gta	2832	
Gly Ser Gln Gly Ser Arg Val Gly Thr Pro Gln Leu Leu Ala Leu Val		
930	935	940
cag cac tgg gtg ccc ggg gca cgg ctg gtg gag gag ctg cca cac gag	2880	
Gln His Trp Val Pro Gly Ala Arg Leu Val Glu Glu Leu Pro His Glu		20
945	950	955
960		
ctg gtg ctg gtg ctg ccc tac acg ggt gcc cat gac ggc agc ttc gcc	2928	
Leu Val Leu Val Leu Pro Tyr Thr Gly Ala His Asp Gly Ser Phe Ala		
965	970	975
aca ctc ttc cga gag cta gac acg cgg ctg gcg gag ctg agg ctc act	2976	
Thr Leu Phe Arg Glu Leu Asp Thr Arg Leu Ala Glu Leu Arg Leu Thr		
980	985	990
ggc tac ggg atc tcc gac acc agc ctc gag gag atc ttc ctg aag gtg	3024	30
Gly Tyr Gly Ile Ser Asp Thr Ser Leu Glu Glu Ile Phe Leu Lys Val		
995	1000	1005
gtg gag gag tgt gct gcg gac aca gat atg gag gat ggc agc tgc ggg	3072	
Val Glu Glu Cys Ala Ala Asp Thr Asp Met Glu Asp Gly Ser Cys Gly		
1010	1015	1020
cag cac cta tgc aca ggc att gct ggc cta gac gta acc ctg cgg ctc	3120	
Gln His Leu Cys Thr Gly Ile Ala Gly Leu Asp Val Thr Leu Arg Leu		40
1025	1030	1035
		1040

aag atg ccg cca cag gag aca gcg ctg gag aac ggg gaa cca gct ggg	3168	
Lys Met Pro Pro Gln Glu Thr Ala Leu Glu Asn Gly Glu Pro Ala Gly		
1045 1050 1055		
tca gcc cca gag act gac cag ggc tct ggg cca gac gcc gtg ggc cgg	3216	
Ser Ala Pro Glu Thr Asp Gln Gly Ser Gly Pro Asp Ala Val Gly Arg		
1060 1065 1070		
gta cag ggc tgg gca ctg acc cgc cag cag ctc cag gcc ctg ctt ctc	3264	10
Val Gln Gly Trp Ala Leu Thr Arg Gln Gln Leu Gln Ala Leu Leu Leu		
1075 1080 1085		
aag cgc ttt ctg ctt gcc cgc cgc agc cgc cgc ggc ctg ttc gcc cag	3312	
Lys Arg Phe Leu Leu Ala Arg Arg Ser Arg Arg Gly Leu Phe Ala Gln		
1090 1095 1100		
atc gtg ctg cct gcc ctc ttt gtg ggc ctg gcc ctc gtg ttc agc ctc	3360	
Ile Val Leu Pro Ala Leu Phe Val Gly Leu Ala Leu Val Phe Ser Leu		20
1105 1110 1115 1120		
atc gtg cct cct ttc ggg cac tac ccg gct ctg cgg ctc agt ccc acc	3408	
Ile Val Pro Pro Phe Gly His Tyr Pro Ala Leu Arg Leu Ser Pro Thr		
1125 1130 1135		
atg tac ggt gct cag gtg tcc ttc ttc agt gag gac gcc cca ggg gac	3456	
Met Tyr Gly Ala Gln Val Ser Phe Phe Ser Glu Asp Ala Pro Gly Asp		
1140 1145 1150		30
cct gga cgt gcc cgg ctg ctc gag gcg ctg ctg cag gag gca gga ctg	3504	
Pro Gly Arg Ala Arg Leu Leu Glu Ala Leu Leu Gln Glu Ala Gly Leu		
1155 1160 1165		
gag gag ccc cca gtg cag cat agc tcc cac agg ttc tcg gca cca gaa	3552	
Glu Glu Pro Pro Val Gln His Ser Ser His Arg Phe Ser Ala Pro Glu		
1170 1175 1180		
gtt cct gct gaa gtg gcc aag gtc ttg gcc agt ggc aac tgg acc cca	3600	40
Val Pro Ala Glu Val Ala Lys Val Leu Ala Ser Gly Asn Trp Thr Pro		

1185	1190	1195	1200	
gag tct cca tcc cca gcc tgc cag tgt agc cag ccc ggt gcc cgg cgc				3648
Glu Ser Pro Ser Pro Ala Cys Gln Cys Ser Gln Pro Gly Ala Arg Arg				
	1205	1210	1215	
ctg ctg ccc gac tgc ccg gct gca gct ggt ggt ccc cct ccg ccc cag				3696
Leu Leu Pro Asp Cys Pro Ala Ala Ala Gly Gly Pro Pro Pro Pro Gln				
	1220	1225	1230	
gca gtg acc ggc tct ggg gaa gtg gtt cag aac ctg aca ggc cgg aac				3744
Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Val Val Gln Asn Leu Thr Gly Arg Asn				
	1235	1240	1245	
ctg tct gac ttc ctg gtc aag acc tac ccg cgc ctg gtg cgc cag ggc				3792
Leu Ser Asp Phe Leu Val Lys Thr Tyr Pro Arg Leu Val Arg Gln Gly				
	1250	1255	1260	
ctg aag act aag aag tgg gtg aat gag gtc agg tac gga ggc ttc tcg				3840
Leu Lys Thr Lys Lys Trp Val Asn Glu Val Arg Tyr Gly Gly Phe Ser				20
1265	1270	1275	1280	
ctg ggg ggc cga gac cca ggc ctg ccc tcg ggc caa gag ttg ggc cgc				3888
Leu Gly Gly Arg Asp Pro Gly Leu Pro Ser Gly Gln Glu Leu Gly Arg				
	1285	1290	1295	
tca gtg gag gag ttg tgg gcg ctg ctg agt ccc ctg cct ggc ggg gcc				3936
Ser Val Glu Glu Leu Trp Ala Leu Leu Ser Pro Leu Pro Gly Gly Ala				30
	1300	1305	1310	
ctc gac cgt gtc ctg aaa aac ctc aca gcc tgg gct cac agc ctg gat				3984
Leu Asp Arg Val Leu Lys Asn Leu Thr Ala Trp Ala His Ser Leu Asp				
	1315	1320	1325	
gct cag gac agt ctc aag atc tgg ttc aac aac aaa ggc tgg cac tcc				4032
Ala Gln Asp Ser Leu Lys Ile Trp Phe Asn Asn Lys Gly Trp His Ser				
	1330	1335	1340	
atg gtg gcc ttt gtc aac cga gcc agc aac gca atc ctc cgt gct cac				4080
				40

Met Val Ala Phe Val Asn Arg Ala Ser Asn Ala Ile Leu Arg Ala His		
1345	1350	1355
ctg ccc cca ggc ccg gcc cgc cac gcc cac agc atc acc aca ctc aac	4128	
Leu Pro Pro Gly Pro Ala Arg His Ala His Ser Ile Thr Thr Leu Asn		
	1365	1370
cac ccc ttg aac ctc acc aag gag cag ctg tct gag gct gca ctg atg	4176	
His Pro Leu Asn Leu Thr Lys Glu Gln Leu Ser Glu Ala Ala Leu Met		10
	1380	1385
gcc tcc tcg gtg gac gtc ctc gtc tcc atc tgt gtg gtc ttt gcc atg	4224	
Ala Ser Ser Val Asp Val Leu Val Ser Ile Cys Val Val Phe Ala Met		
	1395	1400
tcc ttt gtc ccg gcc agc ttc act ctt gtc ctc att gag gag cga gtc	4272	
Ser Phe Val Pro Ala Ser Phe Thr Leu Val Leu Ile Glu Glu Arg Val		
	1410	1415
acc cga gcc aag cac ctg cag ctc atg ggg ggc ctg tcc ccc acc ctc	4320	
Thr Arg Ala Lys His Leu Gln Leu Met Gly Gly Leu Ser Pro Thr Leu		20
	1425	1430
tac tgg ctt ggc aac ttt ctc tgg gac atg tgt aac tac ttg gtg cca	4368	
Tyr Trp Leu Gly Asn Phe Leu Trp Asp Met Cys Asn Tyr Leu Val Pro		
	1445	1450
gca tgc atc gtg gtg ctc atc ttt ctg gcc ttc cag cag agg gca tat	4416	
Ala Cys Ile Val Val Leu Ile Phe Leu Ala Phe Gln Gln Arg Ala Tyr		30
	1460	1465
gtg gcc cct gcc aac ctg cct gct ctc ctg ctg ttg cta cta ctg tat	4464	
Val Ala Pro Ala Asn Leu Pro Ala Leu Leu Leu Leu Leu Leu Tyr		
	1475	1480
ggc tgg tcg atc aca ccg ctc atg tac cca gcc tcc ttc ttc ttc tcc	4512	
Gly Trp Ser Ile Thr Pro Leu Met Tyr Pro Ala Ser Phe Phe Phe Ser		40
	1490	1495
		1500

gtg ccc agc aca gcc tat gtg gtg ctc acc tgc ata aac ctc ttt att	4560	
Val Pro Ser Thr Ala Tyr Val Val Leu Thr Cys Ile Asn Leu Phe Ile		
1505	1510	1515
1520		
ggc atc aat gga agc atg gcc acc ttt gtg ctt gag ctc ttc tct gat	4608	
Gly Ile Asn Gly Ser Met Ala Thr Phe Val Leu Glu Leu Phe Ser Asp		
1525	1530	1535
cag aag ctg cag gag gtg agc cgg atc ttg aaa cag gtc ttc ctt atc	4656	10
Gln Lys Leu Gln Glu Val Ser Arg Ile Leu Lys Gln Val Phe Leu Ile		
1540	1545	1550
ttc ccc cac ttc tgc ttg ggc cgg ggg ctc att gac atg gtg cgg aac	4704	
Phe Pro His Phe Cys Leu Gly Arg Gly Leu Ile Asp Met Val Arg Asn		
1555	1560	1565
cag gcc atg gct gat gcc ttt gag cgc ttg gga gac agg cag ttc cag	4752	
Gln Ala Met Ala Asp Ala Phe Glu Arg Leu Gly Asp Arg Gln Phe Gln		20
1570	1575	1580
tca ccc ctg cgc tgg gag gtg gtc ggc aag aac ctc ttg gcc atg gtg	4800	
Ser Pro Leu Arg Trp Glu Val Val Gly Lys Asn Leu Leu Ala Met Val		
1585	1590	1595
1600		
ata cag ggg ccc ctc ttc ctt ctc ttc aca cta ctg ctg cag cac cga	4848	
Ile Gln Gly Pro Leu Phe Leu Leu Phe Thr Leu Leu Leu Gln His Arg		
1605	1610	1615
agc caa ctc ctg cca cag ccc agg gtg agg tct ctg cca ctc ctg gga	4896	
Ser Gln Leu Leu Pro Gln Pro Arg Val Arg Ser Leu Pro Leu Leu Gly		
1620	1625	1630
gag gag gac gag gat gta gcc cgt gaa cgg gag cgg gtg gtc caa gga	4944	
Glu Glu Asp Glu Asp Val Ala Arg Glu Arg Glu Arg Val Val Gln Gly		
1635	1640	1645
gcc acc cag ggg gat gtg ttg gtg ctg agg aac ttg acc aag gta tac	4992	40
Ala Thr Gln Gly Asp Val Leu Val Leu Arg Asn Leu Thr Lys Val Tyr		

1650	1655	1660		
cgt ggg cag agg atg cca gct gtt gac cgc ttg tgc ctg ggg att ccc			5040	
Arg Gly Gln Arg Met Pro Ala Val Asp Arg Leu Cys Leu Gly Ile Pro				
1665	1670	1675	1680	
cct ggt gag tgt ttt ggg ctg ctg ggt gtg aat gga gca ggg aag acg			5088	
Pro Gly Glu Cys Phe Gly Leu Leu Gly Val Asn Gly Ala Gly Lys Thr				
	1685	1690	1695	10
tcc acg ttt cgc atg gtg acg ggg gac aca ttg gcc agc agg ggc gag			5136	
Ser Thr Phe Arg Met Val Thr Gly Asp Thr Leu Ala Ser Arg Gly Glu				
	1700	1705	1710	
gct gig ctg gca ggc cac agc gtg gcc cgg gaa ccc agt gct gcg cac			5184	
Ala Val Leu Ala Gly His Ser Val Ala Arg Glu Pro Ser Ala Ala His				
	1715	1720	1725	
ctc agc atg gga tac tgc cct caa tcc gat gcc atc ttt gag ctg ctg			5232	20
Leu Ser Met Gly Tyr Cys Pro Gln Ser Asp Ala Ile Phe Glu Leu Leu				
	1730	1735	1740	
acg ggc cgc gag cac ctg gag ctg ctt gcg cgc ctg cgc ggt gtc ccg			5280	
Thr Gly Arg Glu His Leu Glu Leu Leu Ala Arg Leu Arg Gly Val Pro				
1745	1750	1755	1760	
gag gcc cag gtt gcc cag acc gct ggc tcg ggc ctg gcg cgt ctg gga			5328	
Glu Ala Gln Val Ala Gln Thr Ala Gly Ser Gly Leu Ala Arg Leu Gly				30
	1765	1770	1775	
ctc tca tgg tac gca gac cgg cct gca ggc acc tac agc gga ggg aac			5376	
Leu Ser Trp Tyr Ala Asp Arg Pro Ala Gly Thr Tyr Ser Gly Gly Asn				
	1780	1785	1790	
aaa cgc aag ctg gcg acg gcc ctg gcg ctg gtt ggg gac cca gcc gtg			5424	
Lys Arg Lys Leu Ala Thr Ala Leu Ala Leu Val Gly Asp Pro Ala Val				
	1795	1800	1805	40
gig ttt ctg gac gag ccg acc acg ggc atg gac ccc agc gcg cgg cgc			5472	

Val Phe Leu Asp Glu Pro Thr Thr Gly Met Asp Pro Ser Ala Arg Arg		
1810	1815	1820
ttc ctt tgg aac agc ctt ttg gcc gtg gtg cgg gag ggc cgt tca gtg	5520	
Phe Leu Trp Asn Ser Leu Leu Ala Val Val Arg Glu Gly Arg Ser Val		
1825	1830	1835
atg ctc acc tcc cat agc atg gag gag tgt gaa gcg ctc tgc tcg cgc	5568	
Met Leu Thr Ser His Ser Met Glu Glu Cys Glu Ala Leu Cys Ser Arg		10
	1845	1850
cta gcc atc atg gtg aat ggg cgg ttc cgc tgc ctg ggc agc ccg caa	5616	
Leu Ala Ile Met Val Asn Gly Arg Phe Arg Cys Leu Gly Ser Pro Gln		
	1860	1865
cat ctc aag ggc aga ttc gcg gcg ggt cac aca ctg acc ctg cgg gtg	5664	
His Leu Lys Gly Arg Phe Ala Ala Gly His Thr Leu Thr Leu Arg Val		
	1875	1880
ccc gcc gca agg tcc cag ccg gca gcg gcc ttc gtg gcg gcc gag ttc	5712	
Pro Ala Ala Arg Ser Gln Pro Ala Ala Ala Phe Val Ala Ala Glu Phe		
	1890	1895
cct ggg tcg gag ctg cgc gag gca cat gga ggc cgc ctg cgc ttc cag	5760	
Pro Gly Ser Glu Leu Arg Glu Ala His Gly Gly Arg Leu Arg Phe Gln		
	1905	1910
ctg ccg ccg gga ggg cgc tgc gcc ctg gcg cgc gtc ttt gga gag ctg	5808	
Leu Pro Pro Gly Gly Arg Cys Ala Leu Ala Arg Val Phe Gly Glu Leu		30
	1925	1930
gcg gtg cac ggc gca gag cac ggc gtg gag gac ttt tcc gtg agc cag	5856	
Ala Val His Gly Ala Glu His Gly Val Glu Asp Phe Ser Val Ser Gln		
	1940	1945
acg atg ctg gag gag gta ttc ttg tac ttc tcc aag gac cag ggg aag	5904	
Thr Met Leu Glu Glu Val Phe Leu Tyr Phe Ser Lys Asp Gln Gly Lys		40
	1955	1960
		1965

gac gag gac acc gaa gag cag aag gag gca gga gtg gga gtg gac ccc	5952		
Asp Glu Asp Thr Glu Glu Gln Lys Glu Ala Gly Val Gly Val Asp Pro			
1970	1975	1980	
gcg cca ggc ctg cag cac ccc aaa cgc gtc agc cag ttc ctc gat gac	6000		
Ala Pro Gly Leu Gln His Pro Lys Arg Val Ser Gln Phe Leu Asp Asp			
1985	1990	1995	2000
cct agc act gcc gag act gtg ctc	6024		
Pro Ser Thr Ala Glu Thr Val Leu			
2005			

10

【 0 1 5 9 】

<210> 3

<211> 2008

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 3

Met Val Cys Leu Gly Thr Gly Gln Ser Ala Gly Pro Leu Val Ser Val	
1 5 10 15	10
Gln Asn His Cys Pro Pro Cys Gly Leu Ser Pro Gln Glu Ser Leu Gly	
20 25 30	
Leu Ala Leu Gly Gln Ala Gln Glu Pro Leu His Ser Leu Leu Glu Ala	
35 40 45	
Ala Glu Asp Leu Ala Gln Glu Leu Leu Ala Leu Arg Ser Leu Val Glu	
50 55 60	
Leu Arg Ala Leu Leu Gln Arg Pro Arg Gly Thr Ser Gly Pro Leu Glu	20
65 70 75 80	
Leu Leu Ser Glu Ala Leu Cys Ser Val Arg Gly Pro Ser Ser Thr Val	
85 90 95	
Gly Pro Ser Leu Asn Trp Tyr Glu Ala Ser Asp Leu Met Glu Leu Val	
100 105 110	
Gly Gln Glu Pro Glu Ser Ala Leu Pro Asp Ser Ser Leu Ser Pro Ala	30
115 120 125	
Cys Ser Glu Leu Ile Gly Ala Leu Asp Ser His Pro Leu Ser Arg Leu	
130 135 140	
Leu Trp Arg Arg Leu Lys Pro Leu Ile Leu Gly Lys Leu Leu Phe Ala	
145 150 155 160	
Pro Asp Thr Pro Phe Thr Arg Lys Leu Met Ala Gln Val Asn Arg Thr	
165 170 175	
Phe Glu Glu Leu Thr Leu Leu Arg Asp Val Arg Glu Val Trp Glu Met	40
180 185 190	

Leu Gly Pro Arg Ile Phe Thr Phe Met Asn Asp Ser Ser Asn Val Ala	
195	200 205
Met Leu Gln Arg Leu Leu Gln Met Gln Asp Glu Gly Arg Arg Gln Pro	
210	215 220
Arg Pro Gly Gly Arg Asp His Met Glu Ala Leu Arg Ser Phe Leu Asp	
225	230 235 240
Pro Gly Ser Gly Gly Tyr Ser Trp Gln Asp Ala His Ala Asp Val Gly	
	245 250 255
His Leu Val Gly Thr Leu Gly Arg Val Thr Glu Cys Leu Ser Leu Asp	
	260 265 270
Lys Leu Glu Ala Ala Pro Ser Glu Ala Ala Leu Val Ser Arg Ala Leu	
	275 280 285
Gln Leu Leu Ala Glu His Arg Phe Trp Ala Gly Val Val Phe Leu Gly	
	290 295 300
Pro Glu Asp Ser Ser Asp Pro Thr Glu His Pro Thr Pro Asp Leu Gly	
305	310 315 320
Pro Gly His Val Arg Ile Lys Ile Arg Met Asp Ile Asp Val Val Thr	
	325 330 335
Arg Thr Asn Lys Ile Arg Asp Arg Phe Trp Asp Pro Gly Pro Ala Ala	
	340 345 350
Asp Pro Leu Thr Asp Leu Arg Tyr Val Trp Gly Gly Phe Val Tyr Leu	
	355 360 365
Gln Asp Leu Val Glu Arg Ala Ala Val Arg Val Leu Ser Gly Ala Asn	
	370 375 380
Pro Arg Ala Gly Leu Tyr Leu Gln Gln Met Pro Tyr Pro Cys Tyr Val	
385	390 395 400
Asp Asp Val Phe Leu Arg Val Leu Ser Arg Ser Leu Pro Leu Phe Leu	
	405 410 415
Thr Leu Ala Trp Ile Tyr Ser Val Thr Leu Thr Val Lys Ala Val Val	

10

20

30

40



Leu Val Glu Glu Ala Pro Pro Gly Leu Ser Pro Gly Val Ser Val Arg	
660	665 670
Ser Leu Glu Lys Arg Phe Pro Gly Ser Pro Gln Pro Ala Leu Arg Gly	
675	680 685
Leu Ser Leu Asp Phe Tyr Gln Gly His Ile Thr Ala Phe Leu Gly His	
690	695 700
Asn Gly Ala Gly Lys Thr Thr Thr Leu Ser Ile Leu Ser Gly Leu Phe	10
705	710 715 720
Pro Pro Ser Gly Gly Ser Ala Phe Ile Leu Gly His Asp Val Arg Ser	
725	730 735
Ser Met Ala Ala Ile Arg Pro His Leu Gly Val Cys Pro Gln Tyr Asn	
740	745 750
Val Leu Phe Asp Met Leu Thr Val Asp Glu His Val Trp Phe Tyr Gly	
755	760 765
Arg Leu Lys Gly Leu Ser Ala Ala Val Val Gly Pro Glu Gln Asp Arg	20
770	775 780
Leu Leu Gln Asp Val Gly Leu Val Ser Lys Gln Ser Val Gln Thr Arg	
785	790 795 800
His Leu Ser Gly Gly Met Gln Arg Lys Leu Ser Val Ala Ile Ala Phe	
805	810 815
Val Gly Gly Ser Gln Val Val Ile Leu Asp Glu Pro Thr Ala Gly Val	30
820	825 830
Asp Pro Ala Ser Arg Arg Gly Ile Trp Glu Leu Leu Leu Lys Tyr Arg	
835	840 845
Glu Gly Arg Thr Leu Ile Leu Ser Thr His His Leu Asp Glu Ala Glu	
850	855 860
Leu Leu Gly Asp Arg Val Ala Val Val Ala Gly Gly Arg Leu Cys Cys	
865	870 875 880
Cys Gly Ser Pro Leu Phe Leu Arg Arg His Leu Gly Ser Gly Tyr Tyr	40

	885		890		895	
Leu Thr Leu Val Lys Ala Arg Leu Pro Leu Thr Thr Asn Glu Lys Ala						
	900		905		910	
Asp Thr Asp Met Glu Gly Ser Val Asp Thr Arg Gln Glu Lys Lys Asn						
	915		920		925	
Gly Ser Gln Gly Ser Arg Val Gly Thr Pro Gln Leu Leu Ala Leu Val						
	930		935		940	10
Gln His Trp Val Pro Gly Ala Arg Leu Val Glu Glu Leu Pro His Glu						
945		950		955		960
Leu Val Leu Val Leu Pro Tyr Thr Gly Ala His Asp Gly Ser Phe Ala						
	965		970		975	
Thr Leu Phe Arg Glu Leu Asp Thr Arg Leu Ala Glu Leu Arg Leu Thr						
	980		985		990	
Gly Tyr Gly Ile Ser Asp Thr Ser Leu Glu Glu Ile Phe Leu Lys Val						
	995		1000		1005	20
Val Glu Glu Cys Ala Ala Asp Thr Asp Met Glu Asp Gly Ser Cys Gly						
	1010		1015		1020	
Gln His Leu Cys Thr Gly Ile Ala Gly Leu Asp Val Thr Leu Arg Leu						
1025		1030		1035		1040
Lys Met Pro Pro Gln Glu Thr Ala Leu Glu Asn Gly Glu Pro Ala Gly						
	1045		1050		1055	30
Ser Ala Pro Glu Thr Asp Gln Gly Ser Gly Pro Asp Ala Val Gly Arg						
	1060		1065		1070	
Val Gln Gly Trp Ala Leu Thr Arg Gln Gln Leu Gln Ala Leu Leu Leu						
	1075		1080		1085	
Lys Arg Phe Leu Leu Ala Arg Arg Ser Arg Arg Gly Leu Phe Ala Gln						
	1090		1095		1100	
Ile Val Leu Pro Ala Leu Phe Val Gly Leu Ala Leu Val Phe Ser Leu						
1105		1110		1115		40
					1120	

Ile Val Pro Pro Phe Gly His Tyr Pro Ala Leu Arg Leu Ser Pro Thr			
1125	1130	1135	
Met Tyr Gly Ala Gln Val Ser Phe Phe Ser Glu Asp Ala Pro Gly Asp			
1140	1145	1150	
Pro Gly Arg Ala Arg Leu Leu Glu Ala Leu Leu Gln Glu Ala Gly Leu			
1155	1160	1165	
Glu Glu Pro Pro Val Gln His Ser Ser His Arg Phe Ser Ala Pro Glu			10
1170	1175	1180	
Val Pro Ala Glu Val Ala Lys Val Leu Ala Ser Gly Asn Trp Thr Pro			
1185	1190	1195	1200
Glu Ser Pro Ser Pro Ala Cys Gln Cys Ser Gln Pro Gly Ala Arg Arg			
1205	1210	1215	
Leu Leu Pro Asp Cys Pro Ala Ala Ala Gly Gly Pro Pro Pro Pro Gln			
1220	1225	1230	20
Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Val Val Gln Asn Leu Thr Gly Arg Asn			
1235	1240	1245	
Leu Ser Asp Phe Leu Val Lys Thr Tyr Pro Arg Leu Val Arg Gln Gly			
1250	1255	1260	
Leu Lys Thr Lys Lys Trp Val Asn Glu Val Arg Tyr Gly Gly Phe Ser			
1265	1270	1275	1280
Leu Gly Gly Arg Asp Pro Gly Leu Pro Ser Gly Gln Glu Leu Gly Arg			
1285	1290	1295	30
Ser Val Glu Glu Leu Trp Ala Leu Leu Ser Pro Leu Pro Gly Gly Ala			
1300	1305	1310	
Leu Asp Arg Val Leu Lys Asn Leu Thr Ala Trp Ala His Ser Leu Asp			
1315	1320	1325	
Ala Gln Asp Ser Leu Lys Ile Trp Phe Asn Asn Lys Gly Trp His Ser			
1330	1335	1340	40
Met Val Ala Phe Val Asn Arg Ala Ser Asn Ala Ile Leu Arg Ala His			

1345	1350	1355	1360	
Leu Pro Pro Gly Pro Ala Arg His Ala His Ser Ile Thr Thr Leu Asn				
	1365	1370	1375	
His Pro Leu Asn Leu Thr Lys Glu Gln Leu Ser Glu Ala Ala Leu Met				
	1380	1385	1390	
Ala Ser Ser Val Asp Val Leu Val Ser Ile Cys Val Val Phe Ala Met				
	1395	1400	1405	10
Ser Phe Val Pro Ala Ser Phe Thr Leu Val Leu Ile Glu Glu Arg Val				
	1410	1415	1420	
Thr Arg Ala Lys His Leu Gln Leu Met Gly Gly Leu Ser Pro Thr Leu				
1425	1430	1435	1440	
Tyr Trp Leu Gly Asn Phe Leu Trp Asp Met Cys Asn Tyr Leu Val Pro				
	1445	1450	1455	
Ala Cys Ile Val Val Leu Ile Phe Leu Ala Phe Gln Gln Arg Ala Tyr				20
	1460	1465	1470	
Val Ala Pro Ala Asn Leu Pro Ala Leu Leu Leu Leu Leu Leu Tyr				
	1475	1480	1485	
Gly Trp Ser Ile Thr Pro Leu Met Tyr Pro Ala Ser Phe Phe Phe Ser				
	1490	1495	1500	
Val Pro Ser Thr Ala Tyr Val Val Leu Thr Cys Ile Asn Leu Phe Ile				
1505	1510	1515	1520	30
Gly Ile Asn Gly Ser Met Ala Thr Phe Val Leu Glu Leu Phe Ser Asp				
	1525	1530	1535	
Gln Lys Leu Gln Glu Val Ser Arg Ile Leu Lys Gln Val Phe Leu Ile				
	1540	1545	1550	
Phe Pro His Phe Cys Leu Gly Arg Gly Leu Ile Asp Met Val Arg Asn				
	1555	1560	1565	
Gln Ala Met Ala Asp Ala Phe Glu Arg Leu Gly Asp Arg Gln Phe Gln				40
	1570	1575	1580	

Ser Pro Leu Arg Trp Glu Val Val Gly Lys Asn Leu Leu Ala Met Val	
1585	1590 1595 1600
Ile Gln Gly Pro Leu Phe Leu Leu Phe Thr Leu Leu Leu Gln His Arg	
	1605 1610 1615
Ser Gln Leu Leu Pro Gln Pro Arg Val Arg Ser Leu Pro Leu Leu Gly	
	1620 1625 1630
Glu Glu Asp Glu Asp Val Ala Arg Glu Arg Glu Arg Val Val Gln Gly	10
	1635 1640 1645
Ala Thr Gln Gly Asp Val Leu Val Leu Arg Asn Leu Thr Lys Val Tyr	
	1650 1655 1660
Arg Gly Gln Arg Met Pro Ala Val Asp Arg Leu Cys Leu Gly Ile Pro	
1665	1670 1675 1680
Pro Gly Glu Cys Phe Gly Leu Leu Gly Val Asn Gly Ala Gly Lys Thr	
	1685 1690 1695
	20
Ser Thr Phe Arg Met Val Thr Gly Asp Thr Leu Ala Ser Arg Gly Glu	
	1700 1705 1710
Ala Val Leu Ala Gly His Ser Val Ala Arg Glu Pro Ser Ala Ala His	
	1715 1720 1725
Leu Ser Met Gly Tyr Cys Pro Gln Ser Asp Ala Ile Phe Glu Leu Leu	
	1730 1735 1740
Thr Gly Arg Glu His Leu Glu Leu Leu Ala Arg Leu Arg Gly Val Pro	30
1745	1750 1755 1760
Glu Ala Gln Val Ala Gln Thr Ala Gly Ser Gly Leu Ala Arg Leu Gly	
	1765 1770 1775
Leu Ser Trp Tyr Ala Asp Arg Pro Ala Gly Thr Tyr Ser Gly Gly Asn	
	1780 1785 1790
Lys Arg Lys Leu Ala Thr Ala Leu Ala Leu Val Gly Asp Pro Ala Val	
	1795 1800 1805
	40
Val Phe Leu Asp Glu Pro Thr Thr Gly Met Asp Pro Ser Ala Arg Arg	

1810	1815	1820	
Phe Leu Trp Asn Ser Leu Leu Ala Val Val Arg Glu Gly Arg Ser Val			
1825	1830	1835	1840
Met Leu Thr Ser His Ser Met Glu Glu Cys Glu Ala Leu Cys Ser Arg			
	1845	1850	1855
Leu Ala Ile Met Val Asn Gly Arg Phe Arg Cys Leu Gly Ser Pro Gln			
	1860	1865	1870
His Leu Lys Gly Arg Phe Ala Ala Gly His Thr Leu Thr Leu Arg Val			
	1875	1880	1885
Pro Ala Ala Arg Ser Gln Pro Ala Ala Ala Phe Val Ala Ala Glu Phe			
	1890	1895	1900
Pro Gly Ser Glu Leu Arg Glu Ala His Gly Gly Arg Leu Arg Phe Gln			
1905	1910	1915	1920
Leu Pro Pro Gly Gly Arg Cys Ala Leu Ala Arg Val Phe Gly Glu Leu			
	1925	1930	1935
Ala Val His Gly Ala Glu His Gly Val Glu Asp Phe Ser Val Ser Gln			
	1940	1945	1950
Thr Met Leu Glu Glu Val Phe Leu Tyr Phe Ser Lys Asp Gln Gly Lys			
	1955	1960	1965
Asp Glu Asp Thr Glu Glu Gln Lys Glu Ala Gly Val Gly Val Asp Pro			
	1970	1975	1980
Ala Pro Gly Leu Gln His Pro Lys Arg Val Ser Gln Phe Leu Asp Asp			
1985	1990	1995	2000
Pro Ser Thr Ala Glu Thr Val Leu			
	2005		

10

20

30

【 0 1 6 0 】

<210> 4  
 <211> 6651  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
 <220>  
 <221> CDS  
 <222> (673)..(6651)  
 <400> 4

gcggcgcgct cccigcctgc tgc tgggcgg agggaaggcg gcaagagctg cggagcccct 60  
 ggaagagctt ccaggaacct aaacaagcca ctgccatcgg cgggcaccgt gccctggctc 120  
 cagggctca tctgtaatgt gaacaacacc tgc tttccgc agctgacacc gggcgaggag 180  
 cccgggcgcc tgagcaactt caacgactcc ctggctctcc ggctgctagc cgatgcccgc 240  
 acigtgctgg gaggggcccag tgcccacagg acgctggctg gcctagggaa gctgatcgcc 300  
 acgtgaggg ctgcacgcag cacggcccag cctcaaccaa ccaagcagtc tccactggaa 360  
 ccaccaatgc tggatgtcgc ggagctgctg acgtcactgc tgcgcacggg aggggtgctgg 420  
 ggccggaccg cgtgacttc ctgggacact gcactgggga tgcctggca ctgccccacc 480  
 ccggccaag gacctccgt tccaggcatc caggctgtcc ctggctctg cggatgatgt 540  
 gcttgtccgt ctgggcccc agacagagtg tgtctgacct agtgaggaag actcgtctgt 600  
 gagatctca atgagtcct ttgcctctca gagcctcagt tccctattt gtaaagtggg 660  
 ggctatgata gt atg gtc tgc ctg gga act ggc cag agc gct gga ccc cta 711

Met Val Cys Leu Gly Thr Gly Gln Ser Ala Gly Pro Leu

1 5 10

gtg agt gtt caa aat cat tgt ccc cct tgt ggt ctt tct ccc cag gaa 759  
 Val Ser Val Gln Asn His Cys Pro Pro Cys Gly Leu Ser Pro Gln Glu  
 15 20 25  
 tcc ctg ggg ttg gca ctg ggc caa gcc cag gag ccc ttg cac agc ttg 807  
 Ser Leu Gly Leu Ala Leu Gly Gln Ala Gln Glu Pro Leu His Ser Leu  
 30 35 40 45  
 ttg gag gcc gct gag gac ctg gcc cag gag ctc ctg gcg ctg cgc agc 855

10

20

30

40

Leu	Glu	Ala	Ala	Glu	Asp	Leu	Ala	Gln	Glu	Leu	Leu	Ala	Leu	Arg	Ser				
				50					55					60					
ctg	gtg	gag	ctt	cgg	gca	ctg	ctg	cag	aga	ccc	cga	ggg	acc	agc	ggc	903			
Leu	Val	Glu	Leu	Arg	Ala	Leu	Leu	Gln	Arg	Pro	Arg	Gly	Thr	Ser	Gly				
				65				70						75					
ccc	ctg	gag	tig	ctg	tca	gag	gcc	ctc	tgc	agt	gtc	agg	gga	cct	agc	951			
Pro	Leu	Glu	Leu	Leu	Ser	Glu	Ala	Leu	Cys	Ser	Val	Arg	Gly	Pro	Ser				10
				80				85						90					
agc	aca	gtg	ggc	ccc	tcc	ctc	aac	tgg	tac	gag	gct	agt	gac	ctg	atg	999			
Ser	Thr	Val	Gly	Pro	Ser	Leu	Asn	Trp	Tyr	Glu	Ala	Ser	Asp	Leu	Met				
				95				100						105					
gag	ctg	gtg	ggg	cag	gag	cca	gaa	tcc	gcc	ctg	cca	gac	agc	agc	ctg	1047			
Glu	Leu	Val	Gly	Gln	Glu	Pro	Glu	Ser	Ala	Leu	Pro	Asp	Ser	Ser	Leu				20
110				115				120						125					
agc	ccc	gcc	tgc	tcg	gag	ctg	att	gga	gcc	ctg	gac	agc	cac	ccg	ctg	1095			
Ser	Pro	Ala	Cys	Ser	Glu	Leu	Ile	Gly	Ala	Leu	Asp	Ser	His	Pro	Leu				
				130				135						140					
tcc	cgc	ctg	ctc	tgg	aga	cgc	ctg	aag	cct	ctg	atc	ctc	ggg	aag	cta	1143			
Ser	Arg	Leu	Leu	Trp	Arg	Arg	Leu	Lys	Pro	Leu	Ile	Leu	Gly	Lys	Leu				
				145				150						155					
ctc	ttt	gca	cca	gat	aca	cct	ttt	acc	cgg	aag	ctc	atg	gcc	cag	gtg	1191			30
Leu	Phe	Ala	Pro	Asp	Thr	Pro	Phe	Thr	Arg	Lys	Leu	Met	Ala	Gln	Val				
				160				165						170					
aac	cgg	acc	ttc	gag	gag	ctc	acc	ctg	ctg	agg	gat	gtc	cgg	gag	gtg	1239			
Asn	Arg	Thr	Phe	Glu	Glu	Leu	Thr	Leu	Leu	Arg	Asp	Val	Arg	Glu	Val				
				175				180						185					
igg	gag	atg	ctg	gga	ccc	cgg	atc	ttc	acc	ttc	atg	aac	gac	agt	tcc	1287			
Trp	Glu	Met	Leu	Gly	Pro	Arg	Ile	Phe	Thr	Phe	Met	Asn	Asp	Ser	Ser				40
190				195				200						205					

aat gtg gcc atg ctg cag cgg ctc ctg cag atg cag gat gaa gga aga	1335	
Asn Val Ala Met Leu Gln Arg Leu Leu Gln Met Gln Asp Glu Gly Arg		
210 215 220		
agg cag ccc aga cct gga ggc cgg gac cac atg gag gcc ctg cga tcc	1383	
Arg Gln Pro Arg Pro Gly Gly Arg Asp His Met Glu Ala Leu Arg Ser		
225 230 235		
ttt ctg gac cct ggg agc ggt ggc tac agc tgg cag gac gca cac gct	1431	10
Phe Leu Asp Pro Gly Ser Gly Gly Tyr Ser Trp Gln Asp Ala His Ala		
240 245 250		
gat gtg ggg cac ctg gtg ggc acg ctg ggc cga gtg acg gag tgc ctg	1479	
Asp Val Gly His Leu Val Gly Thr Leu Gly Arg Val Thr Glu Cys Leu		
255 260 265		
icc ttg gac aag ctg gag gcg gca ccc tca gag gca gcc ctg gtg tcg	1527	
Ser Leu Asp Lys Leu Glu Ala Ala Pro Ser Glu Ala Ala Leu Val Ser		20
270 275 280 285		
cgg gcc ctg caa ctg ctc gcg gaa cat cga ttc tgg gcc ggc gtc gtc	1575	
Arg Ala Leu Gln Leu Leu Ala Glu His Arg Phe Trp Ala Gly Val Val		
290 295 300		
ttc ttg gga cct gag gac tct tca gac ccc aca gag cac cca acc cca	1623	
Phe Leu Gly Pro Glu Asp Ser Ser Asp Pro Thr Glu His Pro Thr Pro		
305 310 315		30
gac ctg ggc ccc ggc cac gtg cgc atc aaa atc cgc atg gac att gac	1671	
Asp Leu Gly Pro Gly His Val Arg Ile Lys Ile Arg Met Asp Ile Asp		
320 325 330		
gtg gtc acg agg acc aat aag atc agg gac agg ttt tgg gac cct ggc	1719	
Val Val Thr Arg Thr Asn Lys Ile Arg Asp Arg Phe Trp Asp Pro Gly		
335 340 345		
cca gcc gcg gac ccc ctg acc gac ctg cgc tac gtg tgg ggc ggc ttc	1767	40
Pro Ala Ala Asp Pro Leu Thr Asp Leu Arg Tyr Val Trp Gly Gly Phe		

350	355	360	365	
gtg tac ctg caa gac ctg gtg gag cgt gca gcc gtc cgc gtg ctc agc	1815			
Val Tyr Leu Gln Asp Leu Val Glu Arg Ala Ala Val Arg Val Leu Ser				
	370	375	380	
ggc gcc aac ccc cgg gcc ggc ctc tac ctg cag cag atg ccc tat ccg	1863			
Gly Ala Asn Pro Arg Ala Gly Leu Tyr Leu Gln Gln Met Pro Tyr Pro				
	385	390	395	10
tgc tat gtg gac gac gtg ttc ctg cgt gtg ctg agc cgg tcg ctg ccg	1911			
Cys Tyr Val Asp Asp Val Phe Leu Arg Val Leu Ser Arg Ser Leu Pro				
	400	405	410	
ctc ttc ctg acg ctg gcc tgg atc tac tcc gtg aca ctg aca gtg aag	1959			
Leu Phe Leu Thr Leu Ala Trp Ile Tyr Ser Val Thr Leu Thr Val Lys				
	415	420	425	
gcc gtg gtg cgg gag aag gag acg cgg ctg cgg gac acc atg cgc gcc	2007			20
Ala Val Val Arg Glu Lys Glu Thr Arg Leu Arg Asp Thr Met Arg Ala				
	430	435	440	
atg ggg ctc agc cgc gcg gtg ctc tgg cta ggc tgg ttc ctc agc tgc	2055			
Met Gly Leu Ser Arg Ala Val Leu Trp Leu Gly Trp Phe Leu Ser Cys				
	450	455	460	
ctc ggg ccc ttc ctg ctc agc gcc gca ctg ctg gtt ctg gtg ctc aag	2103			
Leu Gly Pro Phe Leu Leu Ser Ala Ala Leu Leu Val Leu Val Leu Lys				30
	465	470	475	
ctg gga gac atc ctc ccc tac agc cac cgg ggc gtg gtc ttc ctg ttc	2151			
Leu Gly Asp Ile Leu Pro Tyr Ser His Pro Gly Val Val Phe Leu Phe				
	480	485	490	
ttg gca gcc ttc gcg gtg gcc acg gtg acc cag agc ttc ctg ctc agc	2199			
Leu Ala Ala Phe Ala Val Ala Thr Val Thr Gln Ser Phe Leu Leu Ser				
	495	500	505	40
gcc ttc ttc tcc cgc gcc aac ctg gct gcg gcc tgc ggc ggc ctg gcc	2247			

Ala Phe Phe Ser Arg Ala Asn Leu Ala Ala Ala Cys Gly Gly Leu Ala		
510	515	520
tac ttc tcc ctc tac ctg ccc tac gtg ctg tgt gtg gct tgg cgg gac	2295	
Tyr Phe Ser Leu Tyr Leu Pro Tyr Val Leu Cys Val Ala Trp Arg Asp		
530	535	540
cgg ctg ccc gcg ggt ggc cgc gtg gcc gcg agc ctg ctg tcc ccc gtg	2343	
Arg Leu Pro Ala Gly Gly Arg Val Ala Ala Ser Leu Leu Ser Pro Val		10
545	550	555
gcc ttc ggc ttc ggc tgc gag agc ctg gct ctg ctg gag gag cag ggc	2391	
Ala Phe Gly Phe Gly Cys Glu Ser Leu Ala Leu Leu Glu Glu Gln Gly		
560	565	570
gag ggc gcg cag tgg cac aac gtg ggc acc cgg cct acg gca gac gtc	2439	
Glu Gly Ala Gln Trp His Asn Val Gly Thr Arg Pro Thr Ala Asp Val		
575	580	585
ttc agc ctg gcc cag gtc tct ggc ctt ctg ctg ctg gac gcg gcg ctc	2487	
Phe Ser Leu Ala Gln Val Ser Gly Leu Leu Leu Leu Asp Ala Ala Leu		
590	595	600
tac ggc ctc gcc acc tgg tac ctg gaa gct gtg tgc cca ggc cag tac	2535	
Tyr Gly Leu Ala Thr Trp Tyr Leu Glu Ala Val Cys Pro Gly Gln Tyr		
610	615	620
ggg atc cct gaa cca tgg aat ttt cct ttt cgg agg agc tac tgg tgc	2583	30
Gly Ile Pro Glu Pro Trp Asn Phe Pro Phe Arg Arg Ser Tyr Trp Cys		
625	630	635
gga cct cgg ccc ccc aag agt cca gcc cct tgc ccc acc ccg ctg gac	2631	
Gly Pro Arg Pro Pro Lys Ser Pro Ala Pro Cys Pro Thr Pro Leu Asp		
640	645	650
cca aag gtg ctg gta gaa gag gca ccg ccc ggc ctg agt cct ggc gtc	2679	
Pro Lys Val Leu Val Glu Glu Ala Pro Pro Gly Leu Ser Pro Gly Val		40
655	660	665

tcc gtt cgc agc ctg gag aag cgc ttt cct gga agc ccg cag cca gcc	2727	
Ser Val Arg Ser Leu Glu Lys Arg Phe Pro Gly Ser Pro Gln Pro Ala		
670	675	680
ctg cgg ggg ctc agc ctg gac ttc tac cag ggc cac atc acc gcc ttc	2775	
Leu Arg Gly Leu Ser Leu Asp Phe Tyr Gln Gly His Ile Thr Ala Phe		
	690	695
ctg ggc cac aac ggg gcc ggc aag acc acc acc ctg tcc atc ttg agt	2823	10
Leu Gly His Asn Gly Ala Gly Lys Thr Thr Thr Leu Ser Ile Leu Ser		
	705	710
ggc ctc ttc cca ccc agt ggt ggc tct gcc ttc atc ctg ggc cac gac	2871	
Gly Leu Phe Pro Pro Ser Gly Gly Ser Ala Phe Ile Leu Gly His Asp		
	720	725
gtc cgc tcc agc atg gcc gcc atc cgg ccc cac ctg ggc gtc tgt cct	2919	
Val Arg Ser Ser Met Ala Ala Ile Arg Pro His Leu Gly Val Cys Pro		20
	735	740
cag tac aac gtg ctg ttt gac atg ctg acc gtg gac gag cac gtc tgg	2967	
Gln Tyr Asn Val Leu Phe Asp Met Leu Thr Val Asp Glu His Val Trp		
750	755	760
ttc tat ggg cgg ctg aag ggt ctg agt gcc gct gta gtg ggc ccc gag	3015	
Phe Tyr Gly Arg Leu Lys Gly Leu Ser Ala Ala Val Val Gly Pro Glu		
	770	775
cag gac cgt ctg ctg cag gat gtg ggg ctg gtc tcc aag cag agt gtg	3063	
Gln Asp Arg Leu Leu Gln Asp Val Gly Leu Val Ser Lys Gln Ser Val		
	785	790
cag act cgc cac ctc tct ggt ggg atg caa cgg aag ctg tcc gtg gcc	3111	
Gln Thr Arg His Leu Ser Gly Gly Met Gln Arg Lys Leu Ser Val Ala		
	800	805
att gcc ttt gtg ggc ggc tcc caa gtt gtt atc ctg gac gag cct acg	3159	40
Ile Ala Phe Val Gly Gly Ser Gln Val Val Ile Leu Asp Glu Pro Thr		

815	820	825		
gct ggc gtg gat cct gct tcc cgc cgc ggt att tgg gag ctg ctg ctc			3207	
Ala Gly Val Asp Pro Ala Ser Arg Arg Gly Ile Trp Glu Leu Leu Leu				
830	835	840	845	
aaa tac cga gaa ggt cgc acg ctg atc ctc tcc acc cac cac ctg gat			3255	
Lys Tyr Arg Glu Gly Arg Thr Leu Ile Leu Ser Thr His His Leu Asp				
	850	855	860	10
gag gca gag ctg ctg gga gac cgt gtg gct gtg gtg gca ggt ggc cgc			3303	
Glu Ala Glu Leu Leu Gly Asp Arg Val Ala Val Val Ala Gly Gly Arg				
	865	870	875	
tig tgc tgc tgt ggc tcc cca ctc ttc ctg cgc cgt cac ctg ggc tcc			3351	
Leu Cys Cys Cys Gly Ser Pro Leu Phe Leu Arg Arg His Leu Gly Ser				
	880	885	890	20
ggc tac tac ctg acg ctg gtg aag gcc cgc ctg ccc ctg acc acc aat			3399	
Gly Tyr Tyr Leu Thr Leu Val Lys Ala Arg Leu Pro Leu Thr Thr Asn				
	895	900	905	
gag aag gct gac act gac atg gag ggc agt gtg gac acc agg cag gaa			3447	
Glu Lys Ala Asp Thr Asp Met Glu Gly Ser Val Asp Thr Arg Gln Glu				
910	915	920	925	
aag aag aat ggc agc cag ggc agc aga gtc ggc act cct cag ctg ctg			3495	
Lys Lys Asn Gly Ser Gln Gly Ser Arg Val Gly Thr Pro Gln Leu Leu				30
	930	935	940	
gcc ctg gta cag cac tgg gtg ccc ggg gca cgg ctg gtg gag gag ctg			3543	
Ala Leu Val Gln His Trp Val Pro Gly Ala Arg Leu Val Glu Glu Leu				
	945	950	955	
cca cac gag ctg gtg ctg gtg ctg ccc tac acg ggt gcc cat gac ggc			3591	
Pro His Glu Leu Val Leu Val Leu Pro Tyr Thr Gly Ala His Asp Gly				
	960	965	970	40
agc ttc gcc aca ctc ttc cga gag cta gac acg cgg ctg gcg gag ctg			3639	

Ser Phe Ala Thr Leu Phe Arg Glu Leu Asp Thr Arg Leu Ala Glu Leu		
975	980	985
agg ctc act ggc tac ggg atc tcc gac acc agc ctc gag gag atc ttc		3687
Arg Leu Thr Gly Tyr Gly Ile Ser Asp Thr Ser Leu Glu Glu Ile Phe		
990	995	1000
ctg aag gtg gtg gag gag tgt gct gcg gac aca gat atg gag gat ggc		3735
Leu Lys Val Val Glu Glu Cys Ala Ala Asp Thr Asp Met Glu Asp Gly		
	1010	1015
agc tgc ggg cag cac cta tgc aca ggc att gct ggc cta gac gta acc		3783
Ser Cys Gly Gln His Leu Cys Thr Gly Ile Ala Gly Leu Asp Val Thr		
	1025	1030
ctg cgg ctc aag atg ccg cca cag gag aca gcg ctg gag aac ggg gaa		3831
Leu Arg Leu Lys Met Pro Pro Gln Glu Thr Ala Leu Glu Asn Gly Glu		
	1040	1045
cca gct ggg tca gcc cca gag act gac cag ggc tct ggg cca gac gcc		3879
Pro Ala Gly Ser Ala Pro Glu Thr Asp Gln Gly Ser Gly Pro Asp Ala		
	1055	1060
gtg ggc cgg gta cag ggc tgg gca ctg acc cgc cag cag ctc cag gcc		3927
Val Gly Arg Val Gln Gly Trp Ala Leu Thr Arg Gln Gln Leu Gln Ala		
1070	1075	1080
ctg ctt ctc aag cgc ttt ctg ctt gcc cgc cgc agc cgc cgc ggc ctg		3975
Leu Leu Leu Lys Arg Phe Leu Leu Ala Arg Arg Ser Arg Arg Gly Leu		
	1090	1095
ttc gcc cag atc gtg ctg cct gcc ctc ttt gtg ggc ctg gcc ctc gtg		4023
Phe Ala Gln Ile Val Leu Pro Ala Leu Phe Val Gly Leu Ala Leu Val		
	1105	1110
ttc agc ctc atc gtg cct cct ttc ggg cac tac ccg gct ctg cgg ctc		4071
Phe Ser Leu Ile Val Pro Pro Phe Gly His Tyr Pro Ala Leu Arg Leu		
	1120	1125
		1130

10

20

30

40

agt ccc acc atg tac ggt gct cag gtg tcc ttc ttc agt gag gac gcc	4119	
Ser Pro Thr Met Tyr Gly Ala Gln Val Ser Phe Phe Ser Glu Asp Ala		
1135	1140	1145
cca ggg gac cct gga cgt gcc cgg ctg ctc gag gcg ctg ctg cag gag	4167	
Pro Gly Asp Pro Gly Arg Ala Arg Leu Leu Glu Ala Leu Leu Gln Glu		
1150	1155	1160
gca gga ctg gag gag ccc cca gtg cag cat agc tcc cac agg ttc tcg	4215	10
Ala Gly Leu Glu Glu Pro Pro Val Gln His Ser Ser His Arg Phe Ser		
1170	1175	1180
gca cca gaa gtt cct gct gaa gtg gcc aag gtc ttg gcc agt ggc aac	4263	
Ala Pro Glu Val Pro Ala Glu Val Ala Lys Val Leu Ala Ser Gly Asn		
1185	1190	1195
igg acc cca gag tct cca tcc cca gcc tgc cag tgt agc cag ccc ggt	4311	
Trp Thr Pro Glu Ser Pro Ser Pro Ala Cys Gln Cys Ser Gln Pro Gly		20
1200	1205	1210
gcc cgg cgc ctg ctg ccc gac tgc ccg gct gca gct ggt ggt ccc cct	4359	
Ala Arg Arg Leu Leu Pro Asp Cys Pro Ala Ala Ala Gly Gly Pro Pro		
1215	1220	1225
ccg ccc cag gca gtg acc ggc tct ggg gaa gtg gtt cag aac ctg aca	4407	
Pro Pro Gln Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Val Val Gln Asn Leu Thr		
1230	1235	1240
ggc cgg aac ctg tct gac ttc ctg gtc aag acc tac ccg cgc ctg gtg	4455	
Gly Arg Asn Leu Ser Asp Phe Leu Val Lys Thr Tyr Pro Arg Leu Val		
1250	1255	1260
cgc cag ggc ctg aag act aag aag tgg gtg aat gag gtc agg tac gga	4503	
Arg Gln Gly Leu Lys Thr Lys Lys Trp Val Asn Glu Val Arg Tyr Gly		
1265	1270	1275
ggc ttc tcg ctg ggg ggc cga gac cca ggc ctg ccc tcg ggc caa gag	4551	40
Gly Phe Ser Leu Gly Gly Arg Asp Pro Gly Leu Pro Ser Gly Gln Glu		

1280	1285	1290		
ttg ggc cgc tca gtg gag gag ttg tgg gcg ctg ctg agt ccc ctg cct			4599	
Leu Gly Arg Ser Val Glu Glu Leu Trp Ala Leu Leu Ser Pro Leu Pro				
1295	1300	1305		
ggc ggg gcc ctc gac cgt gtc ctg aaa aac ctc aca gcc tgg gct cac			4647	
Gly Gly Ala Leu Asp Arg Val Leu Lys Asn Leu Thr Ala Trp Ala His				
1310	1315	1320	1325	10
agc ctg gat gct cag gac agt ctc aag atc tgg ttc aac aac aaa ggc			4695	
Ser Leu Asp Ala Gln Asp Ser Leu Lys Ile Trp Phe Asn Asn Lys Gly				
1330	1335	1340		
tgg cac tcc atg gtg gcc ttt gtc aac cga gcc agc aac gca atc ctc			4743	
Trp His Ser Met Val Ala Phe Val Asn Arg Ala Ser Asn Ala Ile Leu				
1345	1350	1355		
cgt gct cac ctg ccc cca ggc ccg gcc cgc cac gcc cac agc atc acc			4791	20
Arg Ala His Leu Pro Pro Gly Pro Ala Arg His Ala His Ser Ile Thr				
1360	1365	1370		
aca ctc aac cac ccc ttg aac ctc acc aag gag cag ctg tct gag gct			4839	
Thr Leu Asn His Pro Leu Asn Leu Thr Lys Glu Gln Leu Ser Glu Ala				
1375	1380	1385		
gca ctg atg gcc tcc tcg gtg gac gtc ctc gtc tcc atc tgt gtg gtc			4887	
Ala Leu Met Ala Ser Ser Val Asp Val Leu Val Ser Ile Cys Val Val				30
1390	1395	1400	1405	
ttt gcc atg tcc ttt gtc ccg gcc agc ttc act ctt gtc ctc att gag			4935	
Phe Ala Met Ser Phe Val Pro Ala Ser Phe Thr Leu Val Leu Ile Glu				
1410	1415	1420		
gag cga gtc acc cga gcc aag cac ctg cag ctc atg ggg ggc ctg tcc			4983	
Glu Arg Val Thr Arg Ala Lys His Leu Gln Leu Met Gly Gly Leu Ser				
1425	1430	1435		40
ccc acc ctc tac tgg ctt ggc aac ttt ctc tgg gac atg tgt aac tac			5031	

Pro Thr Leu Tyr Trp Leu Gly Asn Phe Leu Trp Asp Met Cys Asn Tyr			
1440	1445	1450	
ttg gtg cca gca tgc atc gtg gtg ctc atc ttt ctg gcc ttc cag cag	5079		
Leu Val Pro Ala Cys Ile Val Val Leu Ile Phe Leu Ala Phe Gln Gln			
1455	1460	1465	
agg gca tat gtg gcc cct gcc aac ctg cct gct ctc ctg ctg ttg cta	5127		
Arg Ala Tyr Val Ala Pro Ala Asn Leu Pro Ala Leu Leu Leu Leu Leu		10	
1470	1475	1480	1485
cta ctg tat ggc tgg tcg atc aca ccg ctc atg tac cca gcc tcc ttc	5175		
Leu Leu Tyr Gly Trp Ser Ile Thr Pro Leu Met Tyr Pro Ala Ser Phe			
1490	1495	1500	
ttc ttc tcc gtg ccc agc aca gcc tat gtg gtg ctc acc tgc ata aac	5223		
Phe Phe Ser Val Pro Ser Thr Ala Tyr Val Val Leu Thr Cys Ile Asn			
1505	1510	1515	20
ctc ttt att ggc atc aat gga agc atg gcc acc ttt gtg ctt gag ctc	5271		
Leu Phe Ile Gly Ile Asn Gly Ser Met Ala Thr Phe Val Leu Glu Leu			
1520	1525	1530	
ttc tct gat cag aag ctg cag gag gtg agc cgg atc ttg aaa cag gtc	5319		
Phe Ser Asp Gln Lys Leu Gln Glu Val Ser Arg Ile Leu Lys Gln Val			
1535	1540	1545	
ttc ctt atc ttc ccc cac ttc tgc ttg ggc cgg ggg ctc att gac atg	5367		30
Phe Leu Ile Phe Pro His Phe Cys Leu Gly Arg Gly Leu Ile Asp Met			
1550	1555	1560	1565
gtg cgg aac cag gcc atg gct gat gcc ttt gag cgc ttg gga gac agg	5415		
Val Arg Asn Gln Ala Met Ala Asp Ala Phe Glu Arg Leu Gly Asp Arg			
1570	1575	1580	
cag ttc cag tca ccc ctg cgc tgg gag gtg gtc ggc aag aac ctc ttg	5463		
Gln Phe Gln Ser Pro Leu Arg Trp Glu Val Val Gly Lys Asn Leu Leu			40
1585	1590	1595	

gcc atg gtg ata cag ggg ccc ctc ttc ctt ctc ttc aca cta ctg ctg	5511	
Ala Met Val Ile Gln Gly Pro Leu Phe Leu Leu Phe Thr Leu Leu Leu		
1600 1605 1610		
cag cac cga agc caa ctc ctg cca cag ccc agg gtg agg tct ctg cca	5559	
Gln His Arg Ser Gln Leu Leu Pro Gln Pro Arg Val Arg Ser Leu Pro		
1615 1620 1625		
ctc ctg gga gag gag gac gag gat gta gcc cgt gaa cgg gag cgg gtg	5607	10
Leu Leu Gly Glu Glu Asp Glu Asp Val Ala Arg Glu Arg Glu Arg Val		
1630 1635 1640 1645		
gtc caa gga gcc acc cag ggg gat gtg ttg gtg ctg agg aac ttg acc	5655	
Val Gln Gly Ala Thr Gln Gly Asp Val Leu Val Leu Arg Asn Leu Thr		
1650 1655 1660		
aag gta tac cgt ggg cag agg atg cca gct gtt gac cgc ttg tgc ctg	5703	
Lys Val Tyr Arg Gly Gln Arg Met Pro Ala Val Asp Arg Leu Cys Leu		20
1665 1670 1675		
ggg att ccc cct ggt gag tgt ttt ggg ctg ctg ggt gtg aat gga gca	5751	
Gly Ile Pro Pro Gly Glu Cys Phe Gly Leu Leu Gly Val Asn Gly Ala		
1680 1685 1690		
ggg aag acg tcc acg ttt cgc atg gtg acg ggg gac aca ttg gcc agc	5799	
Gly Lys Thr Ser Thr Phe Arg Met Val Thr Gly Asp Thr Leu Ala Ser		
1695 1700 1705		30
agg ggc gag gct gtg ctg gca ggc cac agc gtg gcc cgg gaa ccc agt	5847	
Arg Gly Glu Ala Val Leu Ala Gly His Ser Val Ala Arg Glu Pro Ser		
1710 1715 1720 1725		
gct gcg cac ctc agc atg gga tac tgc cct caa tcc gat gcc atc ttt	5895	
Ala Ala His Leu Ser Met Gly Tyr Cys Pro Gln Ser Asp Ala Ile Phe		
1730 1735 1740		
gag ctg ctg acg ggc cgc gag cac ctg gag ctg ctt gcg cgc ctg cgc	5943	40
Glu Leu Leu Thr Gly Arg Glu His Leu Glu Leu Leu Ala Arg Leu Arg		

1745	1750	1755		
ggt gtc ccg gag gcc cag gtt gcc cag acc gct ggc tgc ggc ctg gcg			5991	
Gly Val Pro Glu Ala Gln Val Ala Gln Thr Ala Gly Ser Gly Leu Ala				
1760	1765	1770		
cgt ctg gga ctc tca tgg tac gca gac cgg cct gca ggc acc tac agc			6039	
Arg Leu Gly Leu Ser Trp Tyr Ala Asp Arg Pro Ala Gly Thr Tyr Ser				
1775	1780	1785		10
gga ggg aac aaa cgc aag ctg gcg acg gcc ctg gcg ctg gtt ggg gac			6087	
Gly Gly Asn Lys Arg Lys Leu Ala Thr Ala Leu Ala Leu Val Gly Asp				
1790	1795	1800	1805	
cca gcc gtg gtg ttt ctg gac gag ccg acc acg ggc atg gac ccc agc				6135
Pro Ala Val Val Phe Leu Asp Glu Pro Thr Thr Gly Met Asp Pro Ser				
1810	1815	1820		
gcg cgg cgc ttc ctt tgg aac agc ctt ttg gcc gtg gtg cgg gag ggc			6183	20
Ala Arg Arg Phe Leu Trp Asn Ser Leu Leu Ala Val Val Arg Glu Gly				
1825	1830	1835		
cgt tca gtg atg ctc acc tcc cat agc atg gag gag tgt gaa gcg ctc			6231	
Arg Ser Val Met Leu Thr Ser His Ser Met Glu Glu Cys Glu Ala Leu				
1840	1845	1850		
tgc tgc cgc cta gcc atc atg gtg aat ggg cgg ttc cgc tgc ctg ggc			6279	
Cys Ser Arg Leu Ala Ile Met Val Asn Gly Arg Phe Arg Cys Leu Gly				30
1855	1860	1865		
agc ccg caa cat ctc aag ggc agg tcc cag ccg gca gcg gcc ttc gtg			6327	
Ser Pro Gln His Leu Lys Gly Arg Ser Gln Pro Ala Ala Ala Phe Val				
1870	1875	1880	1885	
gcg gcc gag ttc cct ggg tgc gag ctg cgc gag gca cat gga ggc cgc				6375
Ala Ala Glu Phe Pro Gly Ser Glu Leu Arg Glu Ala His Gly Gly Arg				
1890	1895	1900		40
ctg cgc ttc cag ctg ccg ccg gga ggg cgc tgc gcc ctg gcg cgc gtc			6423	

Leu Arg Phe Gln Leu Pro Pro Gly Gly Arg Cys Ala Leu Ala Arg Val			
1905	1910	1915	
ttt gga gag ctg gcg gtg cac ggc gca gag cac ggc gtg gag gac ttt	6471		
Phe Gly Glu Leu Ala Val His Gly Ala Glu His Gly Val Glu Asp Phe			
1920	1925	1930	
tcc gtg agc cag acg atg ctg gag gag gta ttc ttg tac ttc tcc aag	6519		
Ser Val Ser Gln Thr Met Leu Glu Glu Val Phe Leu Tyr Phe Ser Lys		10	
1935	1940	1945	
gac cag ggg aag gac gag gac acc gaa gag cag aag gag gca gga gtg	6567		
Asp Gln Gly Lys Asp Glu Asp Thr Glu Glu Gln Lys Glu Ala Gly Val			
1950	1955	1960	1965
gga gtg gac ccc gcg cca ggc ctg cag cac ccc aaa cgc gtc agc cag	6615		
Gly Val Asp Pro Ala Pro Gly Leu Gln His Pro Lys Arg Val Ser Gln			
1970	1975	1980	20
ttc ctc gat gac cct agc act gcc gag act gtg ctc	6651		
Phe Leu Asp Asp Pro Ser Thr Ala Glu Thr Val Leu			
1985	1990		

【 0 1 6 1 】

<210> 5

<211> 5979

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(5979)

<400> 5

atg gtc tgc ctg gga act ggc cag agc gct gga ccc cta gtg agt gtt 48

Met Val Cys Leu Gly Thr Gly Gln Ser Ala Gly Pro Leu Val Ser Val

1

5

10

15

caa aat cat tgt ccc cct tgt ggt ctt tct ccc cag gaa tcc ctg ggg 96

Gln Asn His Cys Pro Pro Cys Gly Leu Ser Pro Gln Glu Ser Leu Gly

20

25

30

tig gca ctg ggc caa gcc cag gag ccc ttg cac agc ttg ttg gag gcc 144

Leu Ala Leu Gly Gln Ala Gln Glu Pro Leu His Ser Leu Leu Glu Ala

35

40

45

gct gag gac ctg gcc cag gag ctc ctg gcg ctg cgc agc ctg gtg gag 192

Ala Glu Asp Leu Ala Gln Glu Leu Leu Ala Leu Arg Ser Leu Val Glu

50

55

60

ctt cgg gca ctg ctg cag aga ccc cga ggg acc agc ggc ccc ctg gag 240

Leu Arg Ala Leu Leu Gln Arg Pro Arg Gly Thr Ser Gly Pro Leu Glu

65

70

75

80

ttg ctg tca gag gcc ctc tgc agt gtc agg gga cct agc agc aca gtg 288

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

85

90

95

ggc ccc tcc ctc aac tgg tac gag gct agt gac ctg atg gag ctg gtg 336

Gly Pro Ser Leu Asn Trp Tyr Glu Ala Ser Asp Leu Met Glu Leu Val

100

105

110

10

20

30

40

ggg cag gag cca gaa tcc gcc ctg cca gac agc agc ctg agc ccc gcc	384	
Gly Gln Glu Pro Glu Ser Ala Leu Pro Asp Ser Ser Leu Ser Pro Ala		
115 120 125		
tgc tcg gag ctg att gga gcc ctg gac agc cac ccg ctg tcc cgc ctg	432	
Cys Ser Glu Leu Ile Gly Ala Leu Asp Ser His Pro Leu Ser Arg Leu		
130 135 140		
ctc tgg aga cgc ctg aag cct ctg atc ctc ggg aag cta ctc ttt gca	480	10
Leu Trp Arg Arg Leu Lys Pro Leu Ile Leu Gly Lys Leu Leu Phe Ala		
145 150 155 160		
cca gat aca cct ttt acc cgg aag ctc atg gcc cag gtg aac cgg acc	528	
Pro Asp Thr Pro Phe Thr Arg Lys Leu Met Ala Gln Val Asn Arg Thr		
165 170 175		
ttc gag gag ctc acc ctg ctg agg gat gtc cgg gag gtg tgg gag atg	576	
Phe Glu Glu Leu Thr Leu Leu Arg Asp Val Arg Glu Val Trp Glu Met		20
180 185 190		
ctg gga ccc cgg atc ttc acc ttc atg aac gac agt tcc aat gtg gcc	624	
Leu Gly Pro Arg Ile Phe Thr Phe Met Asn Asp Ser Ser Asn Val Ala		
195 200 205		
atg ctg cag cgg ctc ctg cag atg cag gat gaa gga aga agg cag ccc	672	
Met Leu Gln Arg Leu Leu Gln Met Gln Asp Glu Gly Arg Arg Gln Pro		
210 215 220		30
aga cct gga ggc cgg gac cac atg gag gcc ctg cga tcc ttt ctg gac	720	
Arg Pro Gly Gly Arg Asp His Met Glu Ala Leu Arg Ser Phe Leu Asp		
225 230 235 240		
cct ggg agc ggt ggc tac agc tgg cag gac gca cac gct gat gtg ggg	768	
Pro Gly Ser Gly Gly Tyr Ser Trp Gln Asp Ala His Ala Asp Val Gly		
245 250 255		
cac ctg gtg ggc acg ctg ggc cga gtg acg gag tgc ctg tcc ttg gac	816	40
His Leu Val Gly Thr Leu Gly Arg Val Thr Glu Cys Leu Ser Leu Asp		

260	265	270		
aag ctg gag gcg gca ccc tca gag gca gcc ctg gtg tcg cgg gcc ctg			864	
Lys Leu Glu Ala Ala Pro Ser Glu Ala Ala Leu Val Ser Arg Ala Leu				
275	280	285		
caa ctg ctc gcg gaa cat cga ttc tgg gcc ggc gtc gtc ttc ttg gga			912	
Gln Leu Leu Ala Glu His Arg Phe Trp Ala Gly Val Val Phe Leu Gly				
290	295	300		10
cct gag gac tct tca gac ccc aca gag cac cca acc cca gac ctg ggc			960	
Pro Glu Asp Ser Ser Asp Pro Thr Glu His Pro Thr Pro Asp Leu Gly				
305	310	315	320	
ccc ggc cac gtg cgc atc aaa atc cgc atg gac att gac gtg gtc acg			1008	
Pro Gly His Val Arg Ile Lys Ile Arg Met Asp Ile Asp Val Val Thr				
325	330	335		
agg acc aat aag atc agg gac agg ttt tgg gac cct ggc cca gcc gcg			1056	20
Arg Thr Asn Lys Ile Arg Asp Arg Phe Trp Asp Pro Gly Pro Ala Ala				
340	345	350		
gac ccc ctg acc gac ctg cgc tac gtg tgg ggc ggc ttc gtg tac ctg			1104	
Asp Pro Leu Thr Asp Leu Arg Tyr Val Trp Gly Gly Phe Val Tyr Leu				
355	360	365		
caa gac ctg gtg gag cgt gca gcc gtc cgc gtg ctc agc ggc gcc aac			1152	
Gln Asp Leu Val Glu Arg Ala Ala Val Arg Val Leu Ser Gly Ala Asn				30
370	375	380		
ccc cgg gcc ggc ctc tac ctg cag cag atg ccc tat ccg tgc tat gtg			1200	
Pro Arg Ala Gly Leu Tyr Leu Gln Gln Met Pro Tyr Pro Cys Tyr Val				
385	390	395	400	
gac gac gtg ttc ctg cgt gtg ctg agc cgg tcg ctg ccg ctc ttc ctg			1248	
Asp Asp Val Phe Leu Arg Val Leu Ser Arg Ser Leu Pro Leu Phe Leu				
405	410	415		40
acg ctg gcc tgg atc tac tcc gtg aca ctg aca gtg aag gcc gtg gtg			1296	

Thr Leu Ala Trp Ile Tyr Ser Val Thr Leu Thr Val Lys Ala Val Val		
420	425	430
cgg gag aag gag acg cgg ctg cgg gac acc atg cgc gcc atg ggg ctc	1344	
Arg Glu Lys Glu Thr Arg Leu Arg Asp Thr Met Arg Ala Met Gly Leu		
435	440	445
agc cgc gcg gtg ctc tgg cta ggc tgg ttc ctc agc tgc ctc ggg ccc	1392	
Ser Arg Ala Val Leu Trp Leu Gly Trp Phe Leu Ser Cys Leu Gly Pro		10
450	455	460
ttc ctg ctc agc gcc gca ctg ctg gtt ctg gtg ctc aag ctg gga gac	1440	
Phe Leu Leu Ser Ala Ala Leu Leu Val Leu Val Leu Lys Leu Gly Asp		
465	470	475
atc ctc ccc tac agc cac ccg ggc gtg gtc ttc ctg ttc ttg gca gcc	1488	
Ile Leu Pro Tyr Ser His Pro Gly Val Val Phe Leu Phe Leu Ala Ala		
485	490	495
ttc gcg gtg gcc acg gtg acc cag agc ttc ctg ctc agc gcc ttc ttc	1536	
Phe Ala Val Ala Thr Val Thr Gln Ser Phe Leu Leu Ser Ala Phe Phe		
500	505	510
tcc cgc gcc aac ctg gct gcg gcc tgc ggc ggc ctg gcc tac ttc tcc	1584	
Ser Arg Ala Asn Leu Ala Ala Ala Cys Gly Gly Leu Ala Tyr Phe Ser		
515	520	525
ctc tac ctg ccc tac gtg ctg tgt gtg gct tgg cgg gac cgg ctg ccc	1632	30
Leu Tyr Leu Pro Tyr Val Leu Cys Val Ala Trp Arg Asp Arg Leu Pro		
530	535	540
gcg ggt ggc cgc gtg gcc gcg agc ctg ctg tcg ccc gtg gcc ttc ggc	1680	
Ala Gly Gly Arg Val Ala Ala Ser Leu Leu Ser Pro Val Ala Phe Gly		
545	550	555
ttc ggc tgc gag agc ctg gct ctg ctg gag gag cag ggc gag ggc gcg	1728	
Phe Gly Cys Glu Ser Leu Ala Leu Leu Glu Glu Gln Gly Glu Gly Ala		40
565	570	575

cag tgg cac aac gtg ggc acc cgg cct acg gca gac gtc ttc agc ctg	1776	
Gln Trp His Asn Val Gly Thr Arg Pro Thr Ala Asp Val Phe Ser Leu		
580 585 590		
gcc cag gtc tct ggc ctt ctg ctg ctg gac gcg gcg ctc tac ggc ctc	1824	
Ala Gln Val Ser Gly Leu Leu Leu Leu Asp Ala Ala Leu Tyr Gly Leu		
595 600 605		
gcc acc tgg tac ctg gaa gct gtg tgc cca ggc cag tac ggg atc cct	1872	10
Ala Thr Trp Tyr Leu Glu Ala Val Cys Pro Gly Gln Tyr Gly Ile Pro		
610 615 620		
gaa cca tgg aat ttt cct ttt cgg agg agc tac tgg tgc gga cct cgg	1920	
Glu Pro Trp Asn Phe Pro Phe Arg Arg Ser Tyr Trp Cys Gly Pro Arg		
625 630 635 640		
ccc ccc aag agt cca gcc cct tgc ccc acc ccg ctg gac cca aag gtg	1968	
Pro Pro Lys Ser Pro Ala Pro Cys Pro Thr Pro Leu Asp Pro Lys Val		20
645 650 655		
ctg gta gaa gag gca ccg ccc ggc ctg agt cct ggc gtc tcc gtt cgc	2016	
Leu Val Glu Glu Ala Pro Pro Gly Leu Ser Pro Gly Val Ser Val Arg		
660 665 670		
agc ctg gag aag cgc ttt cct gga agc ccg cag cca gcc ctg cgg ggg	2064	
Ser Leu Glu Lys Arg Phe Pro Gly Ser Pro Gln Pro Ala Leu Arg Gly		
675 680 685		30
ctc agc ctg gac ttc tac cag ggc cac atc acc gcc ttc ctg ggc cac	2112	
Leu Ser Leu Asp Phe Tyr Gln Gly His Ile Thr Ala Phe Leu Gly His		
690 695 700		
aac ggg gcc ggc aag acc acc acc ctg tcc atc ttg agt ggc ctc ttc	2160	
Asn Gly Ala Gly Lys Thr Thr Thr Leu Ser Ile Leu Ser Gly Leu Phe		
705 710 715 720		
cca ccc agt ggt ggc tct gcc ttc atc ctg ggc cac gac gtc cgc tcc	2208	40
Pro Pro Ser Gly Gly Ser Ala Phe Ile Leu Gly His Asp Val Arg Ser		



Cys Gly Ser Pro Leu Phe Leu Arg Arg His Leu Gly Ser Gly Tyr Tyr		
885	890	895
ctg acg ctg gtg aag gcc cgc ctg ccc ctg acc acc aat gag aag gct	2736	
Leu Thr Leu Val Lys Ala Arg Leu Pro Leu Thr Thr Asn Glu Lys Ala		
900	905	910
gac act gac atg gag ggc agt gtg gac acc agg cag gaa aag aag aat	2784	
Asp Thr Asp Met Glu Gly Ser Val Asp Thr Arg Gln Glu Lys Lys Asn		10
915	920	925
ggc agc cag ggc agc aga gtc ggc act cct cag ctg ctg gcc ctg gta	2832	
Gly Ser Gln Gly Ser Arg Val Gly Thr Pro Gln Leu Leu Ala Leu Val		
930	935	940
cag cac tgg gtg ccc ggg gca cgg ctg gtg gag gag ctg cca cac gag	2880	
Gln His Trp Val Pro Gly Ala Arg Leu Val Glu Glu Leu Pro His Glu		20
945	950	955
960		
ctg gtg ctg gtg ctg ccc tac acg ggt gcc cat gac ggc agc ttc gcc	2928	
Leu Val Leu Val Leu Pro Tyr Thr Gly Ala His Asp Gly Ser Phe Ala		
965	970	975
aca ctc ttc cga gag cta gac acg cgg ctg gcg gag ctg agg ctc act	2976	
Thr Leu Phe Arg Glu Leu Asp Thr Arg Leu Ala Glu Leu Arg Leu Thr		
980	985	990
ggc tac ggg atc tcc gac acc agc ctc gag gag atc ttc ctg aag gtg	3024	30
Gly Tyr Gly Ile Ser Asp Thr Ser Leu Glu Glu Ile Phe Leu Lys Val		
995	1000	1005
gtg gag gag tgt gct gcg gac aca gat atg gag gat ggc agc tgc ggg	3072	
Val Glu Glu Cys Ala Ala Asp Thr Asp Met Glu Asp Gly Ser Cys Gly		
1010	1015	1020
cag cac cta tgc aca ggc att gct ggc cta gac gta acc ctg cgg ctc	3120	
Gln His Leu Cys Thr Gly Ile Ala Gly Leu Asp Val Thr Leu Arg Leu		40
1025	1030	1035
		1040

aag atg ccg cca cag gag aca gcg ctg gag aac ggg gaa cca gct ggg	3168	
Lys Met Pro Pro Gln Glu Thr Ala Leu Glu Asn Gly Glu Pro Ala Gly		
1045 1050 1055		
tca gcc cca gag act gac cag ggc tct ggg cca gac gcc gtg ggc cgg	3216	
Ser Ala Pro Glu Thr Asp Gln Gly Ser Gly Pro Asp Ala Val Gly Arg		
1060 1065 1070		
gta cag ggc tgg gca ctg acc cgc cag cag ctc cag gcc ctg ctt ctc	3264	10
Val Gln Gly Trp Ala Leu Thr Arg Gln Gln Leu Gln Ala Leu Leu Leu		
1075 1080 1085		
aag cgc ttt ctg ctt gcc cgc cgc agc cgc cgc ggc ctg ttc gcc cag	3312	
Lys Arg Phe Leu Leu Ala Arg Arg Ser Arg Arg Gly Leu Phe Ala Gln		
1090 1095 1100		
atc gtg ctg cct gcc ctc ttt gtg ggc ctg gcc ctc gtg ttc agc ctc	3360	
Ile Val Leu Pro Ala Leu Phe Val Gly Leu Ala Leu Val Phe Ser Leu		20
1105 1110 1115 1120		
atc gtg cct cct ttc ggg cac tac ccg gct ctg cgg ctc agt ccc acc	3408	
Ile Val Pro Pro Phe Gly His Tyr Pro Ala Leu Arg Leu Ser Pro Thr		
1125 1130 1135		
atg tac ggt gct cag gtg tcc ttc ttc agt gag gac gcc cca ggg gac	3456	
Met Tyr Gly Ala Gln Val Ser Phe Phe Ser Glu Asp Ala Pro Gly Asp		
1140 1145 1150		30
cct gga cgt gcc cgg ctg ctc gag gcg ctg ctg cag gag gca gga ctg	3504	
Pro Gly Arg Ala Arg Leu Leu Glu Ala Leu Leu Gln Glu Ala Gly Leu		
1155 1160 1165		
gag gag ccc cca gtg cag cat agc tcc cac agg ttc tcg gca cca gaa	3552	
Glu Glu Pro Pro Val Gln His Ser Ser His Arg Phe Ser Ala Pro Glu		
1170 1175 1180		
gtt cct gct gaa gtg gcc aag gtc ttg gcc agt ggc aac tgg acc cca	3600	40
Val Pro Ala Glu Val Ala Lys Val Leu Ala Ser Gly Asn Trp Thr Pro		

1185	1190	1195	1200	
gag tct cca tcc cca gcc tgc cag tgt agc cag ccc ggt gcc cgg cgc				3648
Glu Ser Pro Ser Pro Ala Cys Gln Cys Ser Gln Pro Gly Ala Arg Arg				
	1205	1210	1215	
ctg ctg ccc gac tgc ccg gct gca gct ggt ggt ccc cct ccg ccc cag				3696
Leu Leu Pro Asp Cys Pro Ala Ala Ala Gly Gly Pro Pro Pro Pro Gln				
	1220	1225	1230	
gca gtg acc ggc tct ggg gaa gtg gtt cag aac ctg aca ggc cgg aac				3744
Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Val Val Gln Asn Leu Thr Gly Arg Asn				
	1235	1240	1245	
ctg tct gac ttc ctg gtc aag acc tac ccg cgc ctg gtg cgc cag ggc				3792
Leu Ser Asp Phe Leu Val Lys Thr Tyr Pro Arg Leu Val Arg Gln Gly				
	1250	1255	1260	
ctg aag act aag aag tgg gtg aat gag gtc agg tac gga ggc ttc tcg				3840
Leu Lys Thr Lys Lys Trp Val Asn Glu Val Arg Tyr Gly Gly Phe Ser				20
1265	1270	1275	1280	
ctg ggg ggc cga gac cca ggc ctg ccc tcg ggc caa gag ttg ggc cgc				3888
Leu Gly Gly Arg Asp Pro Gly Leu Pro Ser Gly Gln Glu Leu Gly Arg				
	1285	1290	1295	
tca gtg gag gag ttg tgg gcg ctg ctg agt ccc ctg cct ggc ggg gcc				3936
Ser Val Glu Glu Leu Trp Ala Leu Leu Ser Pro Leu Pro Gly Gly Ala				30
	1300	1305	1310	
ctc gac cgt gtc ctg aaa aac ctc aca gcc tgg gct cac agc ctg gat				3984
Leu Asp Arg Val Leu Lys Asn Leu Thr Ala Trp Ala His Ser Leu Asp				
	1315	1320	1325	
gct cag gac agt ctc aag atc tgg ttc aac aac aaa ggc tgg cac tcc				4032
Ala Gln Asp Ser Leu Lys Ile Trp Phe Asn Asn Lys Gly Trp His Ser				
	1330	1335	1340	
atg gtg gcc ttt gtc aac cga gcc agc aac gca atc ctc cgt gct cac				4080
				40

Met Val Ala Phe Val Asn Arg Ala Ser Asn Ala Ile Leu Arg Ala His		
1345	1350	1355
ctg ccc cca ggc ccg gcc cgc cac gcc cac agc atc acc aca ctc aac	4128	
Leu Pro Pro Gly Pro Ala Arg His Ala His Ser Ile Thr Thr Leu Asn		
	1365	1370
cac ccc ttg aac ctc acc aag gag cag ctg tct gag gct gca ctg atg	4176	
His Pro Leu Asn Leu Thr Lys Glu Gln Leu Ser Glu Ala Ala Leu Met		10
	1380	1385
gcc tcc tcg gtg gac gtc ctc gtc tcc atc tgt gtg gtc ttt gcc atg	4224	
Ala Ser Ser Val Asp Val Leu Val Ser Ile Cys Val Val Phe Ala Met		
	1395	1400
tcc ttt gtc ccg gcc agc ttc act ctt gtc ctc att gag gag cga gtc	4272	
Ser Phe Val Pro Ala Ser Phe Thr Leu Val Leu Ile Glu Glu Arg Val		
	1410	1415
acc cga gcc aag cac ctg cag ctc atg ggg ggc ctg tcc ccc acc ctc	4320	
Thr Arg Ala Lys His Leu Gln Leu Met Gly Gly Leu Ser Pro Thr Leu		20
	1425	1430
tac tgg ctt ggc aac ttt ctc tgg gac atg tgt aac tac ttg gtg cca	4368	
Tyr Trp Leu Gly Asn Phe Leu Trp Asp Met Cys Asn Tyr Leu Val Pro		
	1445	1450
gca tgc atc gtg gtg ctc atc ttt ctg gcc ttc cag cag agg gca tat	4416	
Ala Cys Ile Val Val Leu Ile Phe Leu Ala Phe Gln Gln Arg Ala Tyr		30
	1460	1465
gtg gcc cct gcc aac ctg cct gct ctc ctg ctg ttg cta cta ctg tat	4464	
Val Ala Pro Ala Asn Leu Pro Ala Leu Leu Leu Leu Leu Leu Tyr		
	1475	1480
ggc tgg tcg atc aca ccg ctc atg tac cca gcc tcc ttc ttc ttc tcc	4512	
Gly Trp Ser Ile Thr Pro Leu Met Tyr Pro Ala Ser Phe Phe Phe Ser		40
	1490	1495
		1500

gtg ccc agc aca gcc tat gtg gtg ctc acc tgc ata aac ctc ttt att	4560	
Val Pro Ser Thr Ala Tyr Val Val Leu Thr Cys Ile Asn Leu Phe Ile		
1505	1510	1515
ggc atc aat gga agc atg gcc acc ttt gtg ctt gag ctc ttc tct gat	4608	
Gly Ile Asn Gly Ser Met Ala Thr Phe Val Leu Glu Leu Phe Ser Asp		
1525	1530	1535
cag aag ctg cag gag gtg agc cgg atc ttg aaa cag gtc ttc ctt atc	4656	10
Gln Lys Leu Gln Glu Val Ser Arg Ile Leu Lys Gln Val Phe Leu Ile		
1540	1545	1550
ttc ccc cac ttc tgc ttg ggc cgg ggg ctc att gac atg gtg cgg aac	4704	
Phe Pro His Phe Cys Leu Gly Arg Gly Leu Ile Asp Met Val Arg Asn		
1555	1560	1565
cag gcc atg gct gat gcc ttt gag cgc ttg gga gac agg cag ttc cag	4752	
Gln Ala Met Ala Asp Ala Phe Glu Arg Leu Gly Asp Arg Gln Phe Gln		20
1570	1575	1580
tca ccc ctg cgc tgg gag gtg gtc ggc aag aac ctc ttg gcc atg gtg	4800	
Ser Pro Leu Arg Trp Glu Val Val Gly Lys Asn Leu Leu Ala Met Val		
1585	1590	1595
ata cag ggg ccc ctc ttc ctt ctc ttc aca cta ctg ctg cag cac cga	4848	
Ile Gln Gly Pro Leu Phe Leu Leu Phe Thr Leu Leu Leu Gln His Arg		
1605	1610	1615
agc caa ctc ctg cca cag ccc agg gtg agg tct ctg cca ctc ctg gga	4896	
Ser Gln Leu Leu Pro Gln Pro Arg Val Arg Ser Leu Pro Leu Leu Gly		
1620	1625	1630
gag gag gac gag gat gta gcc cgt gaa cgg gag cgg gtg gtc caa gga	4944	
Glu Glu Asp Glu Asp Val Ala Arg Glu Arg Glu Arg Val Val Gln Gly		
1635	1640	1645
gcc acc cag ggg gat gtg ttg gtg ctg agg aac ttg acc aag gta tac	4992	40
Ala Thr Gln Gly Asp Val Leu Val Leu Arg Asn Leu Thr Lys Val Tyr		

1650	1655	1660		
cgt ggg cag agg atg cca gct gtt gac cgc ttg tgc ctg ggg att ccc			5040	
Arg Gly Gln Arg Met Pro Ala Val Asp Arg Leu Cys Leu Gly Ile Pro				
1665	1670	1675	1680	
cct ggt gag tgt ttt ggg ctg ctg ggt gtg aat gga gca ggg aag acg			5088	
Pro Gly Glu Cys Phe Gly Leu Leu Gly Val Asn Gly Ala Gly Lys Thr				
	1685	1690	1695	10
tcc acg ttt cgc atg gtg acg ggg gac aca ttg gcc agc agg ggc gag			5136	
Ser Thr Phe Arg Met Val Thr Gly Asp Thr Leu Ala Ser Arg Gly Glu				
	1700	1705	1710	
gct gig ctg gca ggc cac agc gtg gcc cgg gaa ccc agt gct gcg cac			5184	
Ala Val Leu Ala Gly His Ser Val Ala Arg Glu Pro Ser Ala Ala His				
	1715	1720	1725	
ctc agc atg gga tac tgc cct caa tcc gat gcc atc ttt gag ctg ctg			5232	20
Leu Ser Met Gly Tyr Cys Pro Gln Ser Asp Ala Ile Phe Glu Leu Leu				
	1730	1735	1740	
acg ggc cgc gag cac ctg gag ctg ctt gcg cgc ctg cgc ggt gtc ccg			5280	
Thr Gly Arg Glu His Leu Glu Leu Leu Ala Arg Leu Arg Gly Val Pro				
1745	1750	1755	1760	
gag gcc cag gtt gcc cag acc gct ggc tcg ggc ctg gcg cgt ctg gga			5328	
Glu Ala Gln Val Ala Gln Thr Ala Gly Ser Gly Leu Ala Arg Leu Gly				30
	1765	1770	1775	
ctc tca tgg tac gca gac cgg cct gca ggc acc tac agc gga ggg aac			5376	
Leu Ser Trp Tyr Ala Asp Arg Pro Ala Gly Thr Tyr Ser Gly Gly Asn				
	1780	1785	1790	
aaa cgc aag ctg gcg acg gcc ctg gcg ctg gtt ggg gac cca gcc gtg			5424	
Lys Arg Lys Leu Ala Thr Ala Leu Ala Leu Val Gly Asp Pro Ala Val				
	1795	1800	1805	40
gig ttt ctg gac gag ccg acc acg ggc atg gac ccc agc gcg cgg cgc			5472	

Val Phe Leu Asp Glu Pro Thr Thr Gly Met Asp Pro Ser Ala Arg Arg		
1810	1815	1820
ttc ctt tgg aac agc ctt ttg gcc gtg gtg cgg gag ggc cgt tca gtg	5520	
Phe Leu Trp Asn Ser Leu Leu Ala Val Val Arg Glu Gly Arg Ser Val		
1825	1830	1835
atg ctc acc tcc cat agc atg gag gag tgt gaa gcg ctc tgc tcg cgc	5568	
Met Leu Thr Ser His Ser Met Glu Glu Cys Glu Ala Leu Cys Ser Arg		10
	1845	1850
cta gcc atc atg gtg aat ggg cgg ttc cgc tgc ctg ggc agc ccg caa	5616	
Leu Ala Ile Met Val Asn Gly Arg Phe Arg Cys Leu Gly Ser Pro Gln		
	1860	1865
cat ctc aag ggc agg tcc cag ccg gca gcg gcc ttc gtg gcg gcc gag	5664	
His Leu Lys Gly Arg Ser Gln Pro Ala Ala Ala Phe Val Ala Ala Glu		
	1875	1880
ttc cct ggg tcg gag ctg cgc gag gca cat gga ggc cgc ctg cgc ttc	5712	
Phe Pro Gly Ser Glu Leu Arg Glu Ala His Gly Gly Arg Leu Arg Phe		20
	1890	1900
cag ctg ccg ccg gga ggg cgc tgc gcc ctg gcg cgc gtc ttt gga gag	5760	
Gln Leu Pro Pro Gly Gly Arg Cys Ala Leu Ala Arg Val Phe Gly Glu		
	1905	1910
ctg gcg gtg cac ggc gca gag cac ggc gtg gag gac ttt tcc gtg agc	5808	
Leu Ala Val His Gly Ala Glu His Gly Val Glu Asp Phe Ser Val Ser		30
	1925	1930
cag acg atg ctg gag gag gta ttc ttg tac ttc tcc aag gac cag ggg	5856	
Gln Thr Met Leu Glu Glu Val Phe Leu Tyr Phe Ser Lys Asp Gln Gly		
	1940	1945
aag gac gag gac acc gaa gag cag aag gag gca gga gtg gga gtg gac	5904	
Lys Asp Glu Asp Thr Glu Glu Gln Lys Glu Ala Gly Val Gly Val Asp		40
	1955	1960
		1965

ccc gcg cca ggc ctg cag cac ccc aaa cgc gtc agc cag ttc ctc gat 5952  
Pro Ala Pro Gly Leu Gln His Pro Lys Arg Val Ser Gln Phe Leu Asp  
1970 1975 1980  
gac cct agc act gcc gag act gtg ctc 5979  
Asp Pro Ser Thr Ala Glu Thr Val Leu  
1985 1990

[ 0 1 6 2 ]

<210> 6

<211> 1993

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 6

Met Val Cys Leu Gly Thr Gly Gln Ser Ala Gly Pro Leu Val Ser Val  
 1 5 10 15  
 Gln Asn His Cys Pro Pro Cys Gly Leu Ser Pro Gln Glu Ser Leu Gly  
 20 25 30  
 Leu Ala Leu Gly Gln Ala Gln Glu Pro Leu His Ser Leu Leu Glu Ala  
 35 40 45  
 Ala Glu Asp Leu Ala Gln Glu Leu Leu Ala Leu Arg Ser Leu Val Glu  
 50 55 60  
 Leu Arg Ala Leu Leu Gln Arg Pro Arg Gly Thr Ser Gly Pro Leu Glu  
 65 70 75 80  
 Leu Leu Ser Glu Ala Leu Cys Ser Val Arg Gly Pro Ser Ser Thr Val  
 85 90 95  
 Gly Pro Ser Leu Asn Trp Tyr Glu Ala Ser Asp Leu Met Glu Leu Val  
 100 105 110  
 Gly Gln Glu Pro Glu Ser Ala Leu Pro Asp Ser Ser Leu Ser Pro Ala  
 115 120 125  
 Cys Ser Glu Leu Ile Gly Ala Leu Asp Ser His Pro Leu Ser Arg Leu  
 130 135 140  
 Leu Trp Arg Arg Leu Lys Pro Leu Ile Leu Gly Lys Leu Leu Phe Ala  
 145 150 155 160  
 Pro Asp Thr Pro Phe Thr Arg Lys Leu Met Ala Gln Val Asn Arg Thr  
 165 170 175  
 Phe Glu Glu Leu Thr Leu Leu Arg Asp Val Arg Glu Val Trp Glu Met  
 180 185 190

10

20

30

40

Leu Gly Pro Arg Ile Phe Thr Phe Met Asn Asp Ser Ser Asn Val Ala	
195	200 205
Met Leu Gln Arg Leu Leu Gln Met Gln Asp Glu Gly Arg Arg Gln Pro	
210	215 220
Arg Pro Gly Gly Arg Asp His Met Glu Ala Leu Arg Ser Phe Leu Asp	
225	230 235 240
Pro Gly Ser Gly Gly Tyr Ser Trp Gln Asp Ala His Ala Asp Val Gly	
	245 250 255
His Leu Val Gly Thr Leu Gly Arg Val Thr Glu Cys Leu Ser Leu Asp	
	260 265 270
Lys Leu Glu Ala Ala Pro Ser Glu Ala Ala Leu Val Ser Arg Ala Leu	
	275 280 285
Gln Leu Leu Ala Glu His Arg Phe Trp Ala Gly Val Val Phe Leu Gly	
	290 295 300
Pro Glu Asp Ser Ser Asp Pro Thr Glu His Pro Thr Pro Asp Leu Gly	
305	310 315 320
Pro Gly His Val Arg Ile Lys Ile Arg Met Asp Ile Asp Val Val Thr	
	325 330 335
Arg Thr Asn Lys Ile Arg Asp Arg Phe Trp Asp Pro Gly Pro Ala Ala	
	340 345 350
Asp Pro Leu Thr Asp Leu Arg Tyr Val Trp Gly Gly Phe Val Tyr Leu	
	355 360 365
Gln Asp Leu Val Glu Arg Ala Ala Val Arg Val Leu Ser Gly Ala Asn	
	370 375 380
Pro Arg Ala Gly Leu Tyr Leu Gln Gln Met Pro Tyr Pro Cys Tyr Val	
385	390 395 400
Asp Asp Val Phe Leu Arg Val Leu Ser Arg Ser Leu Pro Leu Phe Leu	
	405 410 415
Thr Leu Ala Trp Ile Tyr Ser Val Thr Leu Thr Val Lys Ala Val Val	

10

20

30

40



Leu Val Glu Glu Ala Pro Pro Gly Leu Ser Pro Gly Val Ser Val Arg	
660	665 670
Ser Leu Glu Lys Arg Phe Pro Gly Ser Pro Gln Pro Ala Leu Arg Gly	
675	680 685
Leu Ser Leu Asp Phe Tyr Gln Gly His Ile Thr Ala Phe Leu Gly His	
690	695 700
Asn Gly Ala Gly Lys Thr Thr Thr Leu Ser Ile Leu Ser Gly Leu Phe	10
705	710 715 720
Pro Pro Ser Gly Gly Ser Ala Phe Ile Leu Gly His Asp Val Arg Ser	
725	730 735
Ser Met Ala Ala Ile Arg Pro His Leu Gly Val Cys Pro Gln Tyr Asn	
740	745 750
Val Leu Phe Asp Met Leu Thr Val Asp Glu His Val Trp Phe Tyr Gly	
755	760 765
Arg Leu Lys Gly Leu Ser Ala Ala Val Val Gly Pro Glu Gln Asp Arg	20
770	775 780
Leu Leu Gln Asp Val Gly Leu Val Ser Lys Gln Ser Val Gln Thr Arg	
785	790 795 800
His Leu Ser Gly Gly Met Gln Arg Lys Leu Ser Val Ala Ile Ala Phe	
805	810 815
Val Gly Gly Ser Gln Val Val Ile Leu Asp Glu Pro Thr Ala Gly Val	30
820	825 830
Asp Pro Ala Ser Arg Arg Gly Ile Trp Glu Leu Leu Leu Lys Tyr Arg	
835	840 845
Glu Gly Arg Thr Leu Ile Leu Ser Thr His His Leu Asp Glu Ala Glu	
850	855 860
Leu Leu Gly Asp Arg Val Ala Val Val Ala Gly Gly Arg Leu Cys Cys	
865	870 875 880
Cys Gly Ser Pro Leu Phe Leu Arg Arg His Leu Gly Ser Gly Tyr Tyr	40

	885		890		895	
Leu Thr Leu Val Lys Ala Arg Leu Pro Leu Thr Thr Asn Glu Lys Ala						
	900		905		910	
Asp Thr Asp Met Glu Gly Ser Val Asp Thr Arg Gln Glu Lys Lys Asn						
	915		920		925	
Gly Ser Gln Gly Ser Arg Val Gly Thr Pro Gln Leu Leu Ala Leu Val						
	930		935		940	10
Gln His Trp Val Pro Gly Ala Arg Leu Val Glu Glu Leu Pro His Glu						
945		950		955		960
Leu Val Leu Val Leu Pro Tyr Thr Gly Ala His Asp Gly Ser Phe Ala						
	965		970		975	
Thr Leu Phe Arg Glu Leu Asp Thr Arg Leu Ala Glu Leu Arg Leu Thr						
	980		985		990	
Gly Tyr Gly Ile Ser Asp Thr Ser Leu Glu Glu Ile Phe Leu Lys Val						
	995		1000		1005	20
Val Glu Glu Cys Ala Ala Asp Thr Asp Met Glu Asp Gly Ser Cys Gly						
	1010		1015		1020	
Gln His Leu Cys Thr Gly Ile Ala Gly Leu Asp Val Thr Leu Arg Leu						
1025		1030		1035		1040
Lys Met Pro Pro Gln Glu Thr Ala Leu Glu Asn Gly Glu Pro Ala Gly						
	1045		1050		1055	30
Ser Ala Pro Glu Thr Asp Gln Gly Ser Gly Pro Asp Ala Val Gly Arg						
	1060		1065		1070	
Val Gln Gly Trp Ala Leu Thr Arg Gln Gln Leu Gln Ala Leu Leu Leu						
	1075		1080		1085	
Lys Arg Phe Leu Leu Ala Arg Arg Ser Arg Arg Gly Leu Phe Ala Gln						
	1090		1095		1100	
Ile Val Leu Pro Ala Leu Phe Val Gly Leu Ala Leu Val Phe Ser Leu						
1105		1110		1115		40
					1120	

Ile Val Pro Pro Phe Gly His Tyr Pro Ala Leu Arg Leu Ser Pro Thr			
1125	1130	1135	
Met Tyr Gly Ala Gln Val Ser Phe Phe Ser Glu Asp Ala Pro Gly Asp			
1140	1145	1150	
Pro Gly Arg Ala Arg Leu Leu Glu Ala Leu Leu Gln Glu Ala Gly Leu			
1155	1160	1165	
Glu Glu Pro Pro Val Gln His Ser Ser His Arg Phe Ser Ala Pro Glu			10
1170	1175	1180	
Val Pro Ala Glu Val Ala Lys Val Leu Ala Ser Gly Asn Trp Thr Pro			
1185	1190	1195	1200
Glu Ser Pro Ser Pro Ala Cys Gln Cys Ser Gln Pro Gly Ala Arg Arg			
1205	1210	1215	
Leu Leu Pro Asp Cys Pro Ala Ala Ala Gly Gly Pro Pro Pro Pro Gln			
1220	1225	1230	20
Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Val Val Gln Asn Leu Thr Gly Arg Asn			
1235	1240	1245	
Leu Ser Asp Phe Leu Val Lys Thr Tyr Pro Arg Leu Val Arg Gln Gly			
1250	1255	1260	
Leu Lys Thr Lys Lys Trp Val Asn Glu Val Arg Tyr Gly Gly Phe Ser			
1265	1270	1275	1280
Leu Gly Gly Arg Asp Pro Gly Leu Pro Ser Gly Gln Glu Leu Gly Arg			
1285	1290	1295	30
Ser Val Glu Glu Leu Trp Ala Leu Leu Ser Pro Leu Pro Gly Gly Ala			
1300	1305	1310	
Leu Asp Arg Val Leu Lys Asn Leu Thr Ala Trp Ala His Ser Leu Asp			
1315	1320	1325	
Ala Gln Asp Ser Leu Lys Ile Trp Phe Asn Asn Lys Gly Trp His Ser			
1330	1335	1340	40
Met Val Ala Phe Val Asn Arg Ala Ser Asn Ala Ile Leu Arg Ala His			

1345	1350	1355	1360	
Leu Pro Pro Gly Pro Ala Arg His Ala His Ser Ile Thr Thr Leu Asn				
	1365	1370	1375	
His Pro Leu Asn Leu Thr Lys Glu Gln Leu Ser Glu Ala Ala Leu Met				
	1380	1385	1390	
Ala Ser Ser Val Asp Val Leu Val Ser Ile Cys Val Val Phe Ala Met				
	1395	1400	1405	10
Ser Phe Val Pro Ala Ser Phe Thr Leu Val Leu Ile Glu Glu Arg Val				
	1410	1415	1420	
Thr Arg Ala Lys His Leu Gln Leu Met Gly Gly Leu Ser Pro Thr Leu				
1425	1430	1435	1440	
Tyr Trp Leu Gly Asn Phe Leu Trp Asp Met Cys Asn Tyr Leu Val Pro				
	1445	1450	1455	
Ala Cys Ile Val Val Leu Ile Phe Leu Ala Phe Gln Gln Arg Ala Tyr				20
	1460	1465	1470	
Val Ala Pro Ala Asn Leu Pro Ala Leu Leu Leu Leu Leu Leu Tyr				
	1475	1480	1485	
Gly Trp Ser Ile Thr Pro Leu Met Tyr Pro Ala Ser Phe Phe Phe Ser				
	1490	1495	1500	
Val Pro Ser Thr Ala Tyr Val Val Leu Thr Cys Ile Asn Leu Phe Ile				
1505	1510	1515	1520	30
Gly Ile Asn Gly Ser Met Ala Thr Phe Val Leu Glu Leu Phe Ser Asp				
	1525	1530	1535	
Gln Lys Leu Gln Glu Val Ser Arg Ile Leu Lys Gln Val Phe Leu Ile				
	1540	1545	1550	
Phe Pro His Phe Cys Leu Gly Arg Gly Leu Ile Asp Met Val Arg Asn				
	1555	1560	1565	
Gln Ala Met Ala Asp Ala Phe Glu Arg Leu Gly Asp Arg Gln Phe Gln				40
	1570	1575	1580	

Ser Pro Leu Arg Trp Glu Val Val Gly Lys Asn Leu Leu Ala Met Val	
1585	1590 1595 1600
Ile Gln Gly Pro Leu Phe Leu Leu Phe Thr Leu Leu Leu Gln His Arg	
	1605 1610 1615
Ser Gln Leu Leu Pro Gln Pro Arg Val Arg Ser Leu Pro Leu Leu Gly	
	1620 1625 1630
Glu Glu Asp Glu Asp Val Ala Arg Glu Arg Glu Arg Val Val Gln Gly	10
	1635 1640 1645
Ala Thr Gln Gly Asp Val Leu Val Leu Arg Asn Leu Thr Lys Val Tyr	
	1650 1655 1660
Arg Gly Gln Arg Met Pro Ala Val Asp Arg Leu Cys Leu Gly Ile Pro	
1665	1670 1675 1680
Pro Gly Glu Cys Phe Gly Leu Leu Gly Val Asn Gly Ala Gly Lys Thr	
	1685 1690 1695
	20
Ser Thr Phe Arg Met Val Thr Gly Asp Thr Leu Ala Ser Arg Gly Glu	
	1700 1705 1710
Ala Val Leu Ala Gly His Ser Val Ala Arg Glu Pro Ser Ala Ala His	
	1715 1720 1725
Leu Ser Met Gly Tyr Cys Pro Gln Ser Asp Ala Ile Phe Glu Leu Leu	
	1730 1735 1740
Thr Gly Arg Glu His Leu Glu Leu Leu Ala Arg Leu Arg Gly Val Pro	30
1745	1750 1755 1760
Glu Ala Gln Val Ala Gln Thr Ala Gly Ser Gly Leu Ala Arg Leu Gly	
	1765 1770 1775
Leu Ser Trp Tyr Ala Asp Arg Pro Ala Gly Thr Tyr Ser Gly Gly Asn	
	1780 1785 1790
Lys Arg Lys Leu Ala Thr Ala Leu Ala Leu Val Gly Asp Pro Ala Val	
	1795 1800 1805
	40
Val Phe Leu Asp Glu Pro Thr Thr Gly Met Asp Pro Ser Ala Arg Arg	

1810	1815	1820	
Phe Leu Trp Asn Ser	Leu Leu Ala Val Val	Arg Glu Gly Arg Ser Val	
1825	1830	1835	1840
Met Leu Thr Ser His Ser	Met Glu Glu Cys Glu Ala Leu Cys Ser Arg		
	1845	1850	1855
Leu Ala Ile Met Val Asn Gly Arg Phe Arg Cys Leu Gly Ser Pro Gln			
	1860	1865	1870
His Leu Lys Gly Arg Ser Gln Pro Ala Ala Ala Phe Val Ala Ala Glu			
	1875	1880	1885
Phe Pro Gly Ser Glu Leu Arg Glu Ala His Gly Gly Arg Leu Arg Phe			
	1890	1895	1900
Gln Leu Pro Pro Gly Gly Arg Cys Ala Leu Ala Arg Val Phe Gly Glu			
1905	1910	1915	1920
Leu Ala Val His Gly Ala Glu His Gly Val Glu Asp Phe Ser Val Ser			
	1925	1930	1935
Gln Thr Met Leu Glu Glu Val Phe Leu Tyr Phe Ser Lys Asp Gln Gly			
	1940	1945	1950
Lys Asp Glu Asp Thr Glu Glu Gln Lys Glu Ala Gly Val Gly Val Asp			
	1955	1960	1965
Pro Ala Pro Gly Leu Gln His Pro Lys Arg Val Ser Gln Phe Leu Asp			
	1970	1975	1980
Asp Pro Ser Thr Ala Glu Thr Val Leu			
1985	1990		

10

20

30

【 0 1 6 3 】

<210> 7

<211> 5859

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 7

```

gcggcgcgct cccigcctgc tgctgggcgg agggaaggcg gcaagagctg cggagccct 60
ggaagagctt ccaggaacct aaacaagcca ctgccatcgg cgggcaccgt gccctggctc 120
cagggctca tctgtaatgt gaacaacacc tgccttcgc agctgacacc gggcgaggag 180
cccggcgcc igagcaactt caacgactcc ctggctctcc ggctgctagc cgatgcccg 240
actgtgctgg gaggggccag tgcccacagg acgttggctg gcttagggaa gctgatcgcc 300
acgtgaggg ctgcacgcag cacggcccag cctcaacaa ccaagcagtc tccactggaa 360
ccaccaatgc tggatgtcgc ggagctgctg acgtcactgc tgcgcacggg aggggtgctgg 420
ggcgggaccg cgtgacttc ctgggacact gcactgggga tgtccctggca ctgccccacc 480
ccgggccaag gacctccctt tccaggcatc caggctgtcc ctggctctctg cggatgatgt 540
gctgtccgt ctgggcccc agacagagtg tgtctgacc agtgaggaag actcgtctgt 600
gagatctcca atgagtcctt ttgctctca gacctcagt tccctattt gtaaagtggg 660
ggctatgata gtaaggctg cctgggaact ggccagagcg ctggaccct agtgagtgtt 720
caaaatcatt gtcccccttg tggctttct ccccaggaat ccttgggggtt ggcactgggc 780
caagcccagg agcccttga cagctgttg gaggccgctg aggacctggc ccaggagctc 840
ctggcgtgc gcagcctggg ggagcttcgg gcactgctgc agagaccccg agggaccagc 900
ggccccctgg agttgctgc agaggccctc tgcagtgtca ggggacctag cagcacagt 960
ggccccctcc tcaactggta cgaggctagt gacctgatgg agctgggtggg gcaggagcca 1020
gaatccgcc tgcagacag cagcctgagc cccgctgct cggagctgat tggagccctg 1080
gacagccacc cgtgtcccc cctgctctgg agacgctga agcctctgat cctcgggaag 1140
ctactcttg caccagatac acctttacc cggaagctca tggcccagggt gaaccggacc 1200
ttcgaggagc tcacctgct gagggatgtc cgggaggtgt gggagatgct gggacccccg 1260
atcttacct tcatgaacga cagttccat gtggccatgc tgcagcggct cctgcagatg 1320
caggatgaag gaagaaggca gccagacct ggaggccggg accacatgga ggccctgcga 1380
tcctttctgg acctgggag cgggtggctac agctggcagg acgcacacgc tgatgtgggg 1440

```

cacctggtag gcacgctggg ccgagtgacg gactgctgt ccttggaca gctggaggcg 1500  
 gcacctcag aggcagccct ggtgtcgcgg gccctgcaac tgcctgcgga acatcgattc 1560  
 tgggccggcg tcgtcttctt gggacctgag gactcttcag accccacaga gcaccaacc 1620  
 ccagacctgg gccccggcca cgtgcgcac aaaatccgca tggacattga cgtggtcacg 1680  
 aggaccaata agatcagggg caggttttgg gaccttggcc cagccgcgga cccctgacc 1740  
 gacctgcct acgtgtgggg cggcttcgtg tacttgaag acctggtaga gcgtgcagcc 1800  
 gtccgcgic tcagcggcgc caacccccgg gccggcctct acctgcagca gatgccctat 1860  
 ccgtgctatg tggacgacgt gtctctgct gtgctgagcc ggtcgtctcc gctcttctg 1920  
 acgtggcct ggatctact cgtgacactg acagtgaagg ccgtggtagc ggagaaggag 1980  
 acgcccctgc gggacacct gcgcgccatg gggctcagcc gcgcggtagc ctgcttaggc 2040  
 tggttctca gctgccctcg gccctctctg ctacgcgcc cactgctggt tctggtagc 2100  
 aagctgggag acatctctcc ctacagccac ccgggcgtgg tcttctgtt cttggcagcc 2160  
 ttgcggtag ccacggtag ccagagctc ctgctcagc cttctctc ccgcgccaac 2220  
 ctggctgagg cctgcggcgg cctggcctac ttctctctt acctgcccta cgtgctgtgt 2280  
 gtagctggc gggaccggct gccgcgggt gggcgcgtgg ccgcgagcct gctgtcggc 2340  
 gtggccttc gcttcggctg cgagagcctg gctctgctgg aggagcaggg cgagggcgcg 2400  
 cagtggcaca acgtgggcac ccggcctacg gcagacgtct tcagcctggc ccaggtctct 2460  
 ggcttctgc tgcaggacgc ggcgctctac ggctcggcca cctggtagct ggaagctgtg 2520  
 tggccaggc agtacggat cctgaacca tggattttc ctttctggag gagctactgg 2580  
 tgggacctc ggcccccaa gattccagcc cttgcccc ccccgctgga cccaaagggt 2640  
 ctggtagaag aggcaccgc ccggcctgagt cctggcgtct ccgttcgag cctggagaag 2700  
 cgtttctct gaagcccga gccagcctg cgggggctca gccctggactt ctaccagggc 2760  
 cacatcacc cttctctgg ccacaacggg gccggcaaga ccaccacct gtccatcttg 2820  
 agtggcctct tcccaccag tggtagctct gccttcatc tggccacga cgtccgctcc 2880  
 agcatggcc caatccggc ccacctgggc gctgtctct agtacaact gctgtttgac 2940  
 atgctgacc tggacgagca cgtctggtc tatggcggc tgaagggtct gactgcccct 3000  
 gtagtgggc ccgagcagga ccgtctgct caggatgtgg ggcctggtct caagcagagt 3060  
 gtgcagact gccacctct tggtaggat caacggaag tctccgtggc cattgcttt 3120  
 tggggcggct cccaagtgt tatctggac gaccctacgg ctggcgtgga tctgtctcc 3180

10

20

30

40

cgccgcggta tttgggagct gctgctcaaa taccgagaag gtcgcacgct gatcctctcc 3240  
 acccaccacc tggatgagge agagctgctg ggagaccgtg tggctgtggt ggcagggtggc 3300  
 cgcttgtgct gctgtggctc cccactcttc ctgcgccgtc acctgggctc cggctactac 3360  
 ctgacgcigg tgaaggcccg cctgccccg accaccaatg agaaggctga cactgacatg 3420  
 gagggcagtg tggacaccag gcaggaaaag aagaatggca gccagggcag cagagtcggc 3480  
 actctcagc tgcaggccct ggtacagcac tgggtgcccc gggcacggct ggtggaggag 3540  
 ctgccacacg agctgggtgt ggtgctgccc tacacgggtg cccatgacgg cagcttcgcc 3600  
 acactcttc gagagctaga cacgcggctg gcggagctga ggctcactgg ctacgggac 3660  
 iccgacacca gccctgagga gatcttctg aagggtggtg aggagtgtc tgcggacaca 3720  
 gatattggagg atggcagctg cgggcagcac ctatgcacag gcattgctgg cctagacgta 3780  
 accctgcggc tcaagatgcc gccacaggag acagcgcctg agaacgggga accagctggg 3840  
 tcagccccag agactgacca gggctctggg ccagacgccg tgggccgggt acagggtcgg 3900  
 gcactgacc gccagcagct ccaggcccc ctctcaagc gctttctgct tgcgccgcc 3960  
 agccgccgc gcccttctgc ccagatctg ctgcccgcc tctttgtggg cctggccctc 4020  
 ggttcagcc tcatctgccc tctttcggg cactaccgg ctctgcggct cagtcacc 4080  
 atgtacggtg ctacaggtgc ctcttcagt gaggacgcc caggggacc tggacgtgcc 4140  
 cggctgctc aggcgtctg gcaggaggca ggactggagg agccccagt gcagcatagc 4200  
 tcccacaggt tctcggcacc agaagtctt gctgaagtgg ccaaggcttt ggccagtggc 4260  
 aactggacc cagagtctc atccccagc tgcagtgta gccagccccg tgcggccgc 4320  
 ctgctgcccc actgccccg tgcagctggt ggtccccctc cccccaggc agtgaccggc 4380  
 tcgggggaag tggttcagaa cctgacaggc cggaacctgt ctgacttct ggtcaagacc 4440  
 taccgcgcc tggtcgcca gggcctgaag actaagaagt gggatgaatga ggtcaggtac 4500  
 ggaggcttct cgtgggggg ccgagacca ggctgcccc cgggccaaga gttgggccgc 4560  
 tcagtggagg agttgtgggc gctgctgagt cccctgctg gcggggccct cgaccgtgtc 4620  
 ctgaaaaacc tcacagctg ggctcacagc ctggatgctc aggacagctt caagatctgg 4680  
 ttcaacaaca aaggctggca ctccatggtg gcccttctca accgagccag caacgcaatc 4740  
 ctccgtgctc acctgcctc agggccggcc cggcacgcc acagcatcac cacactcaac 4800  
 cacccttga acctaccaa ggagcagctg tctgaggctg cactgatggc ctctcgggtg 4860  
 gacgtctcg tctccatctg tgtggtctt gccatgtct ttgtccccg cagcttact 4920

10

20

30

40

ctigtccica ttgaggagcg agtcacccga gccaaagcacc tgcagctcat ggggggacctg 4980  
 tccccacecc tetactggct tggcaacttt ctctgggaca tigtgtaacta ctgtgtgcca 5040  
 gcaigcaicg tggigtctcat ctttctggcc ttccagcaga gggcataatgt ggccccctgcc 5100  
 aacctgcctg ctctectgct gttgctacta ctgtatggca cagcctatgt ggtgctcacc 5160  
 tgcataaacc tctttattgg catcaatgga agcatggcca cctttgtgct tgagctcttc 5220  
 tctgatcaga agctgcagga ggtgagccgg atcttgaaac aggtcttctt tatcttcccc 5280  
 cactctgct tgggccgggg gctcatigac atgggtgcgga accaggccat ggctgatgcc 5340  
 ttgagcctt tgggagacag gcagttccag tcacccctgc gctgggaggt ggtcggcaag 5400  
 aacctctgg ccaiggtgat acaggggccc ctcttcttc tcttcacact actgctgcag 5460  
 caccgaagcc aactectgcc acagcccagg gtgaggtctc tgccactctt gggagaggag 5520  
 gaccaggatg tagcccgta acgggagcgg gtgggtccaag gagccacca ggggatgig 5580  
 ttggtgciga ggaacttgac caaggtatac cgtgggcaga ggaatgccagc tgttgaccgc 5640  
 ttgtgccigg ggattcccc tggtaggtg agtccagggg tggaggccag gtcagggac 5700  
 agtgagtggc tgccctactg catgccctgc ccatcatctt ttactgaaca cctactgtgt 5760  
 atccaccacc ttttattggg cacctactgt atgccaatat ttgtgctctt atttttattt 5820  
 tattaatta ttattttt atttaaaaa aaaaaaaaa 5859

10

20

30

40

【 0 1 6 4 】

〈210〉 8

〈211〉 348

〈212〉 DNA

〈213〉 Homo sapiens

〈400〉 8

gtagggigt gggcgggac cgcctgact tcttgggaca ctgcactggg gatgtcttgg 60  
 cactgcccc ccccgggcca aggacctccc gtccaggca tccaggctgt ccttggcttc 120  
 tgcgggatg ctgcttctc gcttgggccc ccagacagag tigtcttgac ccagtgagga 180  
 agactcgtct gtgagatct caatgagtc ctttgcctct cagagcctca gtttccctat 240  
 ttgtaaagtg gggctatga tagtatggtc tgccitgggaa ctggccagag cgctggacct 300  
 ctagtgagt ttcaaatca ttgtccccct tgtggtcttt ctccccag 348

【 0 1 6 5 】

<210> 9

<211> 28

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 9

Met Val Cys Leu Gly Thr Gly Gln Ser Ala Gly Pro Leu Val Ser Val

1 5 10 15

10

Gln Asn His Cys Pro Pro Cys Gly Leu Ser Pro Gln

20 25

[ 0 1 6 6 ]

<210> 10

<211> 1065

<212> DNA

<213> Homo sapiens

20

<400> 10

gtgttgggtgc tgaggaactt gaccaaggta taccgtgggc agaggatgcc agctgttgac 60

cgcttgtgcc tggggattcc ccttggigag tgttttgggc tgctgggtgt gaatggagca 120

gggaagacgt ccacgtttcg catggtgacg ggggacacat tggccagcag gggcgaggct 180

gtgctggcag gccacagcgt ggcccgggaa cccagtgcig cgcacctcag catgggatac 240

tgccctcaat ccgatgccat ctttgagctg ctgacgggccc gcgagcacct ggagctgctt 300

30

gcgcgccctgc gcgggtgccc ggaggcccag gtigcccaga ccgctggctc gggcctggcg 360

cgctcgggac tctcatggta cgcagaccgg cctgcaggca cctacagcgg agggaaacaaa 420

cgcaagctgg cgacggccct ggcgctggtt ggggaccag ccgtggtgtt tctggacgag 480

ccgaccacgg gcatggacce cagcgcgcgg cgcttccctt ggaacagcct ttggccctg 540

gtgcgggagg gccgttcagt gatgctcacc tcccatagca tggaggagtg tgaagcgcic 600

tgctcgcgcc tagccatcat ggtgaaatggg cggttccgct gccctgggcag cccgcaacat 660

ctcaagggca gattcgcggc gggtcacaca ctgacctgc gggtgcccgc cgcaaggctc 720

40

cagccggcag cggccttcgt ggcggccgag ttccctgggt cggagctgcg cgaggcacat 780

ggaggccgcc tgccttcca gctgccgccg ggagggcgct gcgccctggc gcgcgtcttt 840

ggagagctgg cggtgcacgg cgcagagcac ggcgtggagg acttttccgt gagccagacg 900

atgctggagg aggtattcct gtacttctcc aaggaccagg ggaaggacga ggacaccgaa 960

gagcagaagg aggcaggagt gggagtggac cccgcgccag gccctgcagca ccccaaacgc 1020

gtcagccagt tctc gatga cctagcact gccgagact tgctc 1065

[ 0 1 6 7 ]

50

<210> 11

<211> 1020

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 11

```

gtgttgggtgc tgaggaactt gaccaaggta taccgtgggc agaggatgcc agctgttgac 60
cgcttgggcc tggggattcc ccctggigag tgttttgggc tgcitgggtgt gaatggagca 120
gggaagacgt ccacgtttcg catggtgacg ggggacacat tggccagcag gggcgaggct 180
gigciggcag gccacagcgt ggcccgggaa cccagtgcig cgcacctcag catgggatac 240
tgccttcaat ccgatgccat cttttagctg ctgacgggcc gcgagcacct ggagctgctt 300
gcgcgccigc gcgggtgcc ggaggcccag gtigcccaga ccgctggctc gggcctggcg 360
cgctcgggac tctcatggta cgcagaccgg cctgcaggca cctacagcgg agggaaacaaa 420
cgcaagcigg cgacggccct ggcgctggtt ggggaccag ccgtgggtgt tctggacgag 480
ccgaccacgg gcatggacc cagcgcgcgg cgcttccctt ggaacagcct tttggccgtg 540
gigcgggagg gccgttcagt gatgctcacc tcccatagca tggaggagtg tgaagcgtc 600
tgctcgcgcc tagccatcat ggtgaaatgg cggttccgct gccitgggcag cccgcaacat 660
ctcaagggca ggtcccagcc ggcagcggcc ttctgtggcg ccgagttccc tgggtcggag 720
ctgcgcgagg cacatggagg ccgcctgcgc ttccagctgc cgcgggagg gcgctgcgcc 780
ctggcgcgcg tctttggaga gctggcggtg cacggcgcag agcacggcgt ggaggacttt 840
tccgtgagcc agacgatgct ggaggaggta ttcttgtact tctccaagga ccaggggaag 900
gacgaggaca ccgaagagca gaaggaggca ggagtgggag tggacccgc gccaggcctg 960
cagcaccca aacgcgtcag ccagtctctc gatgacccta gcactgccga gactgtgctc 1020

```

[ 0 1 6 8 ]

<210> 12

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 12

gtgttgggtgc tgaggaactt g 21

[ 0 1 6 9 ]

<210> 13  
 <211> 21  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> a reverse primer for pAP3neo vector.  
 <400> 13 10  
 ccgcgggtaa ttaatcgcga c 21  
 [ 0 1 7 0 ]  
 <210> 14  
 <211> 20  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 14 20  
 gagcacagtc tcggcagtc 20  
 [ 0 1 7 1 ]  
 <210> 15  
 <211> 19  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 15 30  
 ctctgggaa gtggttcag 19  
 [ 0 1 7 2 ]  
 <210> 16  
 <211> 19  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 16 40  
 cacaagcggc caacagctg 19  
 [ 0 1 7 3 ]

<210> 17		
<211> 18		
<212> DNA		
<213> Homo sapiens		
<400> 17		
tcccacccgc ccctggag	18	
[ 0 1 7 4 ]		10
<210> 18		
<211> 18		
<212> DNA		
<213> Homo sapiens		
<400> 18		
cgaccggctc agcacacg	18	
[ 0 1 7 5 ]		20
<210> 19		
<211> 22		
<212> DNA		
<213> Homo sapiens		
<400> 19		
gacttccatgg gacactgcac tg	22	
[ 0 1 7 6 ]		30
<210> 20		
<211> 21		
<212> DNA		
<213> Homo sapiens		
<400> 20		
ctggggagaa agaccacaag g	21	
[ 0 1 7 7 ]		40
<210> 21		
<211> 21		
<212> DNA		
<213> Homo sapiens		
<400> 21		
cctaggaag ctgatgcca c	21	
[ 0 1 7 8 ]		50

<210> 22

<211> 20

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 22

~~cggg~~tcctcgcagcagtcg 20

[ 0 1 7 9 ]

10

<210> 23

<211> 20

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 23

ccatcatggggaatgggcgg 20

[ 0 1 8 0 ]

20

<210> 24

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 24

caccgccagctctccaaagac 21

[ 0 1 8 1 ]

30

<210> 25

<211> 2146

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 25

Met Ala Phe Trp Thr Gln Leu Met Leu Leu Leu Trp Lys Asn Phe Met

1 5 10 15

10

Tyr Arg Arg Arg Gln Pro Val Gln Leu Leu Val Glu Leu Leu Trp Pro

20 25 30

Leu Phe Leu Phe Phe Ile Leu Val Ala Val Arg His Ser His Pro Pro

35 40 45

Leu Glu His His Glu Cys His Phe Pro Asn Lys Pro Leu Pro Ser Ala

50 55 60

Gly Thr Val Pro Trp Leu Gln Gly Leu Ile Cys Asn Val Asn Asn Thr

20

65 70 75 80

Cys Phe Pro Gln Leu Thr Pro Gly Glu Glu Pro Gly Arg Leu Ser Asn

85 90 95

Phe Asn Asp Ser Leu Val Ser Arg Leu Leu Ala Asp Ala Arg Thr Val

100 105 110

Leu Gly Gly Ala Ser Ala His Arg Thr Leu Ala Gly Leu Gly Lys Leu

115 120 125

30

Ile Ala Thr Leu Arg Ala Ala Arg Ser Thr Ala Gln Pro Gln Pro Thr

130 135 140

Lys Gln Ser Pro Leu Glu Pro Pro Met Leu Asp Val Ala Glu Leu Leu

145 150 155 160

Thr Ser Leu Leu Arg Thr Glu Ser Leu Gly Leu Ala Leu Gly Gln Ala

165 170 175

Gln Glu Pro Leu His Ser Leu Leu Glu Ala Ala Glu Asp Leu Ala Gln

40

180 185 190

Glu	Leu	Leu	Ala	Leu	Arg	Ser	Leu	Val	Glu	Leu	Arg	Ala	Leu	Leu	Gln	
	195						200					205				
Arg	Pro	Arg	Gly	Thr	Ser	Gly	Pro	Leu	Glu	Leu	Leu	Ser	Glu	Ala	Leu	
	210					215					220					
Cys	Ser	Val	Arg	Gly	Pro	Ser	Ser	Thr	Val	Gly	Pro	Ser	Leu	Asn	Trp	
225					230					235				240		
Tyr	Glu	Ala	Ser	Asp	Leu	Met	Glu	Leu	Val	Gly	Gln	Glu	Pro	Glu	Ser	10
				245					250					255		
Ala	Leu	Pro	Asp	Ser	Ser	Leu	Ser	Pro	Ala	Cys	Ser	Glu	Leu	Ile	Gly	
			260					265						270		
Ala	Leu	Asp	Ser	His	Pro	Leu	Ser	Arg	Leu	Leu	Trp	Arg	Arg	Leu	Lys	
		275					280						285			
Pro	Leu	Ile	Leu	Gly	Lys	Leu	Leu	Phe	Ala	Pro	Asp	Thr	Pro	Phe	Thr	
	290					295					300					20
Arg	Lys	Leu	Met	Ala	Gln	Val	Asn	Arg	Thr	Phe	Glu	Glu	Leu	Thr	Leu	
305					310					315					320	
Leu	Arg	Asp	Val	Arg	Glu	Val	Trp	Glu	Met	Leu	Gly	Pro	Arg	Ile	Phe	
			325					330						335		
Thr	Phe	Met	Asn	Asp	Ser	Ser	Asn	Val	Ala	Met	Leu	Gln	Arg	Leu	Leu	
			340					345						350		
Gln	Met	Gln	Asp	Glu	Gly	Arg	Arg	Gln	Pro	Arg	Pro	Gly	Gly	Arg	Asp	30
	355						360					365				
His	Met	Glu	Ala	Leu	Arg	Ser	Phe	Leu	Asp	Pro	Gly	Ser	Gly	Gly	Tyr	
	370					375					380					
Ser	Trp	Gln	Asp	Ala	His	Ala	Asp	Val	Gly	His	Leu	Val	Gly	Thr	Leu	
385					390					395					400	
Gly	Arg	Val	Thr	Glu	Cys	Leu	Ser	Leu	Asp	Lys	Leu	Glu	Ala	Ala	Pro	
			405						410					415		40
Ser	Glu	Ala	Ala	Leu	Val	Ser	Arg	Ala	Leu	Gln	Leu	Leu	Ala	Glu	His	



Ala Ala Cys Gly Gly Leu Ala Tyr Phe Ser Leu Tyr Leu Pro Tyr Val	
660	665
670	
Leu Cys Val Ala Trp Arg Asp Arg Leu Pro Ala Gly Gly Arg Val Ala	
675	680
685	
Ala Ser Leu Leu Ser Pro Val Ala Phe Gly Phe Gly Cys Glu Ser Leu	
690	695
700	
Ala Leu Leu Glu Glu Gln Gly Glu Gly Ala Gln Trp His Asn Val Gly	10
705	710
715	720
Thr Arg Pro Thr Ala Asp Val Phe Ser Leu Ala Gln Val Ser Gly Leu	
725	730
735	
Leu Leu Leu Asp Ala Ala Leu Tyr Gly Leu Ala Thr Trp Tyr Leu Glu	
740	745
750	
Ala Val Cys Pro Gly Gln Tyr Gly Ile Pro Glu Pro Trp Asn Phe Pro	20
755	760
765	
Phe Arg Arg Ser Tyr Trp Cys Gly Pro Arg Pro Pro Lys Ser Pro Ala	
770	775
780	
Pro Cys Pro Thr Pro Leu Asp Pro Lys Val Leu Val Glu Glu Ala Pro	
785	790
795	800
Pro Gly Leu Ser Pro Gly Val Ser Val Arg Ser Leu Glu Lys Arg Phe	
805	810
815	
Pro Gly Ser Pro Gln Pro Ala Leu Arg Gly Leu Ser Leu Asp Phe Tyr	30
820	825
830	
Gln Gly His Ile Thr Ala Phe Leu Gly His Asn Gly Ala Gly Lys Thr	
835	840
845	
Thr Thr Leu Ser Ile Leu Ser Gly Leu Phe Pro Pro Ser Gly Gly Ser	
850	855
860	
Ala Phe Ile Leu Gly His Asp Val Arg Ser Ser Met Ala Ala Ile Arg	40
865	870
875	880
Pro His Leu Gly Val Cys Pro Gln Tyr Asn Val Leu Phe Asp Met Leu	

	885		890		895	
Thr Val Asp Glu His Val Trp Phe Tyr Gly Arg Leu Lys Gly Leu Ser						
	900		905		910	
Ala Ala Val Val Gly Pro Glu Gln Asp Arg Leu Leu Gln Asp Val Gly						
	915		920		925	
Leu Val Ser Lys Gln Ser Val Gln Thr Arg His Leu Ser Gly Gly Met						
	930		935		940	10
Gln Arg Lys Leu Ser Val Ala Ile Ala Phe Val Gly Gly Ser Gln Val						
945		950		955		960
Val Ile Leu Asp Glu Pro Thr Ala Gly Val Asp Pro Ala Ser Arg Arg						
	965		970		975	
Gly Ile Trp Glu Leu Leu Leu Lys Tyr Arg Glu Gly Arg Thr Leu Ile						
	980		985		990	
Leu Ser Thr His His Leu Asp Glu Ala Glu Leu Leu Gly Asp Arg Val						
	995		1000		1005	20
Ala Val Val Ala Gly Gly Arg Leu Cys Cys Cys Gly Ser Pro Leu Phe						
	1010		1015		1020	
Leu Arg Arg His Leu Gly Ser Gly Tyr Tyr Leu Thr Leu Val Lys Ala						
1025		1030		1035		1040
Arg Leu Pro Leu Thr Thr Asn Glu Lys Ala Asp Thr Asp Met Glu Gly						
	1045		1050		1055	30
Ser Val Asp Thr Arg Gln Glu Lys Lys Asn Gly Ser Gln Gly Ser Arg						
	1060		1065		1070	
Val Gly Thr Pro Gln Leu Leu Ala Leu Val Gln His Trp Val Pro Gly						
	1075		1080		1085	
Ala Arg Leu Val Glu Glu Leu Pro His Glu Leu Val Leu Val Leu Pro						
	1090		1095		1100	
Tyr Thr Gly Ala His Asp Gly Ser Phe Ala Thr Leu Phe Arg Glu Leu						
1105		1110		1115		40
					1120	

Asp Thr Arg Leu Ala Glu Leu Arg Leu Thr Gly Tyr Gly Ile Ser Asp			
1125	1130	1135	
Thr Ser Leu Glu Glu Ile Phe Leu Lys Val Val Glu Glu Cys Ala Ala			
1140	1145	1150	
Asp Thr Asp Met Glu Asp Gly Ser Cys Gly Gln His Leu Cys Thr Gly			
1155	1160	1165	
Ile Ala Gly Leu Asp Val Thr Leu Arg Leu Lys Met Pro Pro Gln Glu			10
1170	1175	1180	
Thr Ala Leu Glu Asn Gly Glu Pro Ala Gly Ser Ala Pro Glu Thr Asp			
1185	1190	1195	1200
Gln Gly Ser Gly Pro Asp Ala Val Gly Arg Val Gln Gly Trp Ala Leu			
1205	1210	1215	
Thr Arg Gln Gln Leu Gln Ala Leu Leu Leu Lys Arg Phe Leu Leu Ala			
1220	1225	1230	20
Arg Arg Ser Arg Arg Gly Leu Phe Ala Gln Ile Val Leu Pro Ala Leu			
1235	1240	1245	
Phe Val Gly Leu Ala Leu Val Phe Ser Leu Ile Val Pro Pro Phe Gly			
1250	1255	1260	
His Tyr Pro Ala Leu Arg Leu Ser Pro Thr Met Tyr Gly Ala Gln Val			
1265	1270	1275	1280
Ser Phe Phe Ser Glu Asp Ala Pro Gly Asp Pro Gly Arg Ala Arg Leu			
1285	1290	1295	30
Leu Glu Ala Leu Leu Gln Glu Ala Gly Leu Glu Glu Pro Pro Val Gln			
1300	1305	1310	
His Ser Ser His Arg Phe Ser Ala Pro Glu Val Pro Ala Glu Val Ala			
1315	1320	1325	
Lys Val Leu Ala Ser Gly Asn Trp Thr Pro Glu Ser Pro Ser Pro Ala			
1330	1335	1340	40
Cys Gln Cys Ser Gln Pro Gly Ala Arg Arg Leu Leu Pro Asp Cys Pro			

1345	1350	1355	1360	
Ala Ala Ala Gly Gly Pro Pro Pro Pro Gln Ala Val Thr Gly Ser Gly				
	1365	1370	1375	
Glu Val Val Gln Asn Leu Thr Gly Arg Asn Leu Ser Asp Phe Leu Val				
	1380	1385	1390	
Lys Thr Tyr Pro Arg Leu Val Arg Gln Gly Leu Lys Thr Lys Lys Trp				
	1395	1400	1405	10
Val Asn Glu Val Arg Tyr Gly Gly Phe Ser Leu Gly Gly Arg Asp Pro				
	1410	1415	1420	
Gly Leu Pro Ser Gly Gln Glu Leu Gly Arg Ser Val Glu Glu Leu Trp				
1425	1430	1435	1440	
Ala Leu Leu Ser Pro Leu Pro Gly Gly Ala Leu Asp Arg Val Leu Lys				
	1445	1450	1455	
Asn Leu Thr Ala Trp Ala His Ser Leu Asp Ala Gln Asp Ser Leu Lys				20
	1460	1465	1470	
Ile Trp Phe Asn Asn Lys Gly Trp His Ser Met Val Ala Phe Val Asn				
	1475	1480	1485	
Arg Ala Ser Asn Ala Ile Leu Arg Ala His Leu Pro Pro Gly Arg Ala				
	1490	1495	1500	
Arg His Ala His Ser Ile Thr Thr Leu Asn His Pro Leu Asn Leu Thr				
1505	1510	1515	1520	30
Lys Glu Gln Leu Phe Glu Ala Ala Leu Met Ala Ser Ser Val Asp Val				
	1525	1530	1535	
Leu Val Ser Ile Cys Val Val Phe Ala Met Ser Phe Val Pro Ala Ser				
	1540	1545	1550	
Phe Thr Leu Val Leu Ile Glu Glu Arg Val Thr Arg Ala Lys His Leu				
	1555	1560	1565	
Gln Leu Met Gly Gly Leu Ser Pro Thr Leu Tyr Trp Leu Gly Asn Phe				40
	1570	1575	1580	

Leu Trp Asp Met Cys Asn Tyr Leu Val Pro Ala Cys Ile Val Val Leu	
1585	1590 1595 1600
Ile Phe Leu Ala Phe Gln Gln Arg Ala Tyr Val Ala Pro Ala Asn Leu	
	1605 1610 1615
Pro Ala Leu Leu Leu Leu Leu Leu Tyr Gly Trp Ser Ile Thr Pro	
	1620 1625 1630
Leu Met Tyr Pro Ala Ser Phe Phe Phe Ser Val Pro Ser Thr Ala Tyr	10
	1635 1640 1645
Val Val Leu Thr Cys Ile Asn Leu Phe Ile Gly Ile Asn Gly Ser Met	
	1650 1655 1660
Ala Thr Phe Val Leu Glu Leu Phe Ser Asp Gln Lys Leu Gln Glu Val	
1665	1670 1675 1680
Ser Arg Ile Leu Lys Gln Val Phe Leu Ile Phe Pro His Phe Cys Leu	
	1685 1690 1695
	20
Gly Arg Gly Leu Ile Asp Met Val Arg Asn Gln Ala Met Ala Asp Ala	
	1700 1705 1710
Phe Glu Arg Leu Gly Asp Arg Gln Phe Gln Ser Pro Leu Arg Trp Glu	
	1715 1720 1725
Val Val Gly Lys Asn Leu Leu Ala Met Val Ile Gln Gly Pro Leu Phe	
	1730 1735 1740
Leu Leu Phe Thr Leu Leu Leu Gln His Arg Ser Gln Leu Leu Pro Gln	30
1745	1750 1755 1760
Pro Arg Val Arg Ser Leu Pro Leu Leu Gly Glu Glu Asp Glu Asp Val	
	1765 1770 1775
Ala Arg Glu Arg Glu Arg Val Val Gln Gly Ala Thr Gln Gly Asp Val	
	1780 1785 1790
Leu Val Leu Arg Asn Leu Thr Lys Val Tyr Arg Gly Gln Arg Met Pro	
	1795 1800 1805
	40
Ala Val Asp Arg Leu Cys Leu Gly Ile Pro Pro Gly Glu Cys Phe Gly	

1810	1815	1820	
Leu Leu Gly Val Asn Gly Ala Gly Lys Thr Ser Thr Phe Arg Met Val			
1825	1830	1835	1840
Thr Gly Asp Thr Leu Ala Ser Arg Gly Glu Ala Val Leu Ala Gly His			
	1845	1850	1855
Ser Val Ala Arg Glu Pro Ser Ala Ala His Leu Ser Met Gly Tyr Cys			
	1860	1865	1870
Pro Gln Ser Asp Ala Ile Phe Glu Leu Leu Thr Gly Arg Glu His Leu			10
	1875	1880	1885
Glu Leu Leu Ala Arg Leu Arg Gly Val Pro Glu Ala Gln Val Ala Gln			
	1890	1895	1900
Thr Ala Gly Ser Gly Leu Ala Arg Leu Gly Leu Ser Trp Tyr Ala Asp			
1905	1910	1915	1920
Arg Pro Ala Gly Thr Tyr Ser Gly Gly Asn Lys Arg Lys Leu Ala Thr			20
	1925	1930	1935
Ala Leu Ala Leu Val Gly Asp Pro Ala Val Val Phe Leu Asp Glu Pro			
	1940	1945	1950
Thr Thr Gly Met Asp Pro Ser Ala Arg Arg Phe Leu Trp Asn Ser Leu			
	1955	1960	1965
Leu Ala Val Val Arg Glu Gly Arg Ser Val Met Leu Thr Ser His Ser			
	1970	1975	1980
Met Glu Glu Cys Glu Ala Leu Cys Ser Arg Leu Ala Ile Met Val Asn			30
1985	1990	1995	2000
Gly Arg Phe Arg Cys Leu Gly Ser Pro Gln His Leu Lys Gly Arg Phe			
	2005	2010	2015
Ala Ala Gly His Thr Leu Thr Leu Arg Val Pro Ala Ala Arg Ser Gln			
	2020	2025	2030
Pro Ala Ala Ala Phe Val Ala Ala Glu Phe Pro Gly Ser Glu Leu Arg			40
	2035	2040	2045



[ 0 1 8 4 ]

<210> 28

<211> 29

<212> DNA

<220> Artificial Sequence

<213>

<223> a reverse primer for amplification of 4060-6024 of SEQ ID NO:2 and  
for adding a stop codon and a HindIII site at its 3'-terminal.

<400> 28

cttaagcitt cagagcacag tctcggcag 29

[ 0 1 8 5 ]

<210> 29

<211> 20

<212> DNA

<220> Homo sapiens

<400> 29

ctgaagtggc caaggtcttg 20

[ 0 1 8 6 ]

<210> 30

<211> 19

<212> DNA

<220> Homo sapiens

<400> 30

cacaagcggc caacagctg 19

[ 0 1 8 7 ]

<210> 31

<211> 29

<212> DNA

<220> Artificial Sequence

<213>

<223> a forward primer for amplification of 1-918 of SEQ ID NO:2 and for  
adding a EcoRI site at its 5'-terminal.

<400> 31

ccgaattcaa ccaatggtctg cctgggaac 29

10

20

30

40

50

【 0 1 8 8 】

〈210〉 32

〈211〉 18

〈212〉 DNA

〈220〉 Homo sapiens

〈400〉 32

ctcagggtccc aagaagac

18

【 0 1 8 9 】

〈210〉 33

〈211〉 29

〈212〉 DNA

〈220〉 Artificial Sequence

〈213〉

〈223〉 a forward primer for amplification of 1-1332 of ABCA7 cDNA and for adding a EcoRI site at its 5'-terminal.

〈400〉 33

ccgaattcac catggccttc tggacacag

29

## 【 図面の簡単な説明 】

【 図 1 】 図 1 は、各種ヒト組織における mRNA レベルでの ABCA7 または ABCA-SSN の発現を調べたノーザンハイブリダイゼーションの結果を示す図である。A は ABCA7 タイプ、ABCA-SSN タイプの両者に共通する配列を含むプローブ、B は ABCA-SSN タイプに特異的なプローブを用いた結果である。それぞれ左はヒト 12 レーン MTN プロット II (mRNA 源は左より、副腎、膀胱、骨髄、脳、リンパ節、乳腺、前立腺、脊髄、胃、甲状腺、気管、子宮)、右はヒト MTN プロット II (mRNA 源は左より、脾臓、胸腺、前立腺、精巣、卵巣、小腸、大腸、末梢白血球) での結果を示す。右の数値は mRNA の鎖長マーカー (kb) の位置を示す。

【 図 2 】 図 2 は、各種ヒト組織における ABCA7 タイプ、ABCA-SSN タイプそれぞれの mRNA に対して同時にしかも断片の大きさで区別して増幅できるプライマーを用いた RT-PCR の結果を示す図である。左から、ABCA7 コントロール、ABCA-SSN コントロール、脳、骨髄、リンパ節、胸腺、脾臓、気管での結果を示す。

【 図 3 】 図 3 は、ABCA-SSN および ABCA7 の C 末端ペプチド (ABCA7-C、化合物 1) を免疫原としたウサギ抗血清の、化合物 1 に対する反応性を測定するバインディング ELISA の結果を示す図である。横軸は抗体濃度、縦軸は 415 nm での吸光度を示す。 は THY-化合物 1 をアッセイ抗原とした場合、 は TYH-コントロールペプチドをアッセイ抗原とした場合の結果を示す。

【 図 4 】 図 4 は、PCR2.1/PCR1、PCR2.1/PCR2、PCR2.1/PCR3、PCR2.1/PCR4 にサブクローニングする、ABCA-SSN および ABCA7 の cDNA 断片の PCR による増幅の位置および制限酵素サイトを示す模式図である。各ボックスは各 cDNA の ABCA-SSN および ABCA7 をコードする領域を示す。斜線のボックスは、ABCA-SSN に特異的な N 末端領域をコードする部分を、点で埋めたボックスは ABCA7 に特異的な N 末端領域をコードする部分を示す。矢印は P

10

20

30

40

50

CRに用いたプライマー、PCR1、PCR2、PCR3、PCR4は各プラスミドにサブクローニングした増幅断片を示す。黒いボックスはストップコドンを示す。

【図5】図5は、pABCA-SSN/CR2.1、pABCA7/CR2.1の作製工程を示す図である。

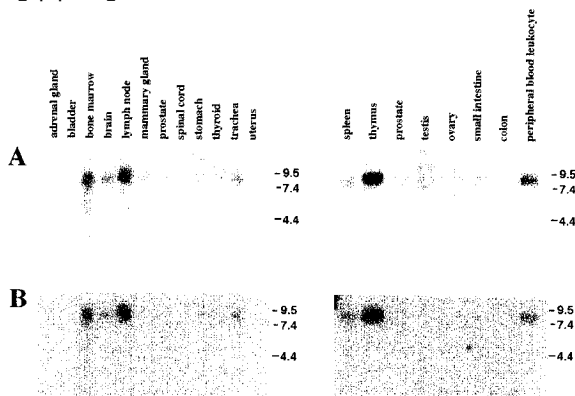
【図6】図6は、pCMV6cABCA-SSNの構造を示す図である。hGH polyAは、ヒト成長ホルモン遺伝子の転写終止およびポリアデニレーションシグナルの領域、SV40 oriはSV40の複製開始点および初期遺伝子のエンハンサー配列を含む領域、Ampはアンピシリン耐性遺伝子、f1 oriはf1ファージの複製開始点を示す。

【図7】図7は、HEK293細胞で発現させたABCA-SSNおよびABCA-7の抗hABCA7-Cポリクローナル抗体による検出を示す図である。レーン1は発現ベクターを導入していないHEK293細胞、レーン2はABCA-7発現ベクターを導入したHEK293細胞、レーン3はABCA-SSN発現ベクターを導入したHEK293細胞の膜画分をサンプルとしたウェスタンブロッティングの結果を示す。左の数字は分子量マーカの位置を示す。

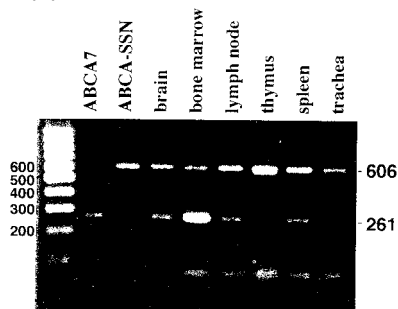
10

【図8】図8は、GSTとABCA7(45-549)の融合蛋白質を免疫原としたウサギ抗血清の、融合蛋白質に対する反応性を測定するバインディングELISAの結果を示す図である。横軸は抗体濃度、縦軸は415nmでの吸光度を示す。は融合蛋白質をアッセイ抗原とした場合、はGSTをアッセイ抗原とした場合の結果を示す。

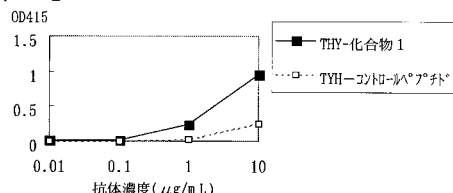
【図1】



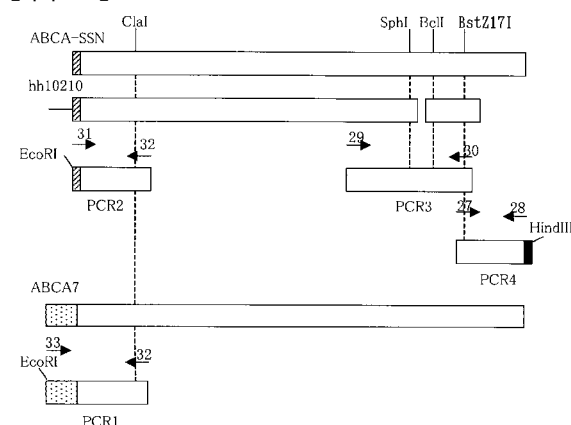
【図2】



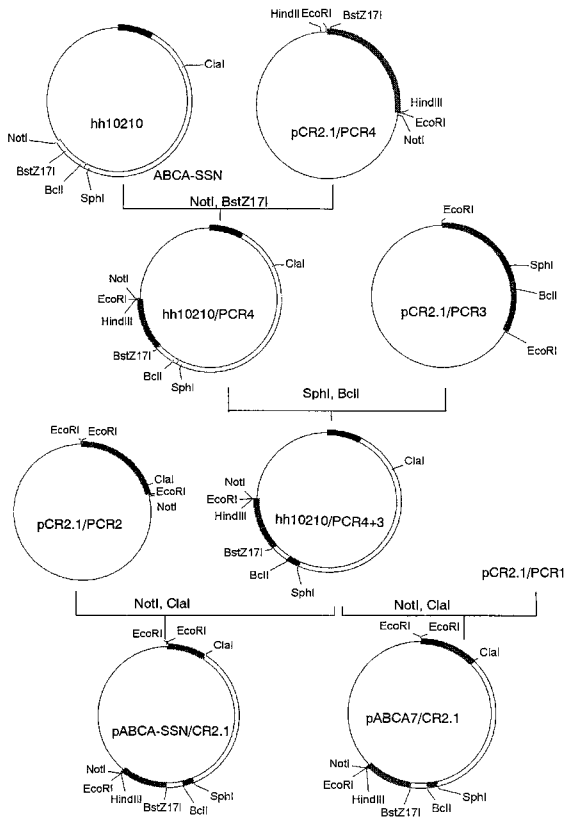
【図3】



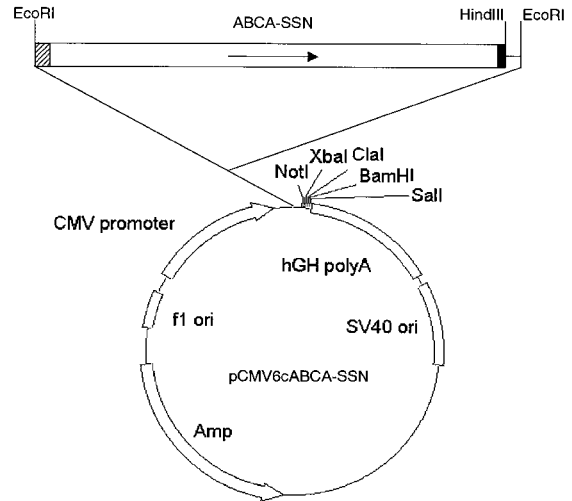
【図4】



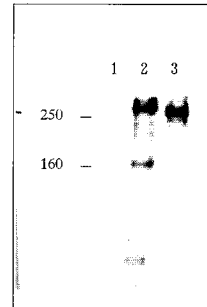
【 図 5 】



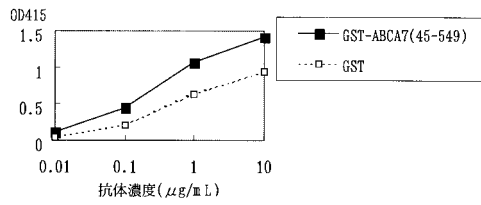
【 図 6 】



【 図 7 】



【 図 8 】



## フロントページの続き

(51)Int.Cl. <sup>7</sup>	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 P 9/10	A 6 1 P 9/10	4 C 0 8 4
A 6 1 P 29/00	A 6 1 P 29/00	4 C 0 8 5
A 6 1 P 37/06	A 6 1 P 37/06	4 H 0 4 5
A 6 1 P 43/00	A 6 1 P 43/00	1 1 1
C 0 7 K 14/47	C 0 7 K 14/47	
C 0 7 K 16/18	C 0 7 K 16/18	
C 1 2 N 1/15	C 1 2 N 1/15	
C 1 2 N 1/19	C 1 2 N 1/19	
C 1 2 N 1/21	C 1 2 N 1/21	
C 1 2 N 5/10	C 1 2 P 21/02	C
C 1 2 P 21/02	C 1 2 Q 1/02	
C 1 2 Q 1/02	C 1 2 Q 1/68	A
C 1 2 Q 1/68	G 0 1 N 33/15	Z
G 0 1 N 33/15	G 0 1 N 33/50	Z
G 0 1 N 33/50	G 0 1 N 33/53	D
G 0 1 N 33/53	G 0 1 N 33/53	M
G 0 1 N 33/566	G 0 1 N 33/566	
	C 1 2 N 5/00	A
	A 6 1 K 37/02	

(72)発明者 中川 智

東京都町田市旭町三丁目 6 番 6 号 協和醗酵工業株式会社東京研究所内

(72)発明者 長瀬 隆弘

千葉県木更津市矢那 1 5 3 2 番 3 号 財団法人かずさディー・エヌ・エー研究所内

F ターム(参考) 2G045 AA34 AA35 BB41 CB01 CB17 DA13 DA14 DA36 FB01 FB02  
 FB03  
 4B024 AA01 AA11 BA80 CA04 CA09 CA12 DA03 DA06 HA14 HA17  
 4B063 QA13 QA18 QQ08 QQ42 QQ52 QQ79 QR32 QR35 QR48 QR55  
 QR77 QS33 QS34  
 4B064 AG01 CA19 CC24 CE02 CE12 DA01 DA13  
 4B065 AA26X AA93X AA93Y AB01 BA01 CA24 CA44 CA46  
 4C084 AA02 AA06 AA07 AA13 BA01 BA08 BA22 CA18 CA53 NA14  
 ZA45 ZB08 ZB11 ZC33 ZC41 ZC50  
 4C085 AA13 AA14 BB11 CC21 CC31 DD62 EE01  
 4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 BA10 CA45 EA20 EA50 FA74

专利名称(译)	ABCA7剪接变体		
公开(公告)号	<a href="#">JP2005021001A</a>	公开(公告)日	2005-01-27
申请号	JP2001372530	申请日	2001-12-06
[标]申请(专利权)人(译)	上总DNA KENKYUSHO		
申请(专利权)人(译)	协和醱酵工业株式会社 上总DNA研究所		
[标]发明人	植田和光 中川智 長瀬隆弘		
发明人	植田 和光 中川 智 長瀬 隆弘		
IPC分类号	G01N33/50 A61K38/00 A61K39/395 A61K48/00 A61P3/06 A61P9/10 A61P29/00 A61P37/02 A61P37/06 A61P43/00 C07K14/47 C07K14/705 C07K16/18 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C12N15/09 C12N15/12 C12P21/02 C12Q1/02 C12Q1/68 G01N33/15 G01N33/53 G01N33/566		
CPC分类号	A61P3/06 A61P9/10 A61P29/00 A61P37/02 A61P37/06 A61P43/00 C07K14/705		
FI分类号	C12N15/00.ZNA.A A61K39/395.D A61K39/395.N A61K48/00 A61P3/06 A61P9/10.101 A61P29/00 A61P37/06 A61P43/00.111 C07K14/47 C07K16/18 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 G01N33/566 C12N5/00.A A61K37/02 A61K38/00 A61K38/01 A61K38/16 C12N15/00.A C12N15/00.AZN.A C12N5/00.101 C12N5/10		
F-TERM分类号	2G045/AA34 2G045/AA35 2G045/BB41 2G045/CB01 2G045/CB17 2G045/DA13 2G045/DA14 2G045/DA36 2G045/FB01 2G045/FB02 2G045/FB03 4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/BA80 4B024/CA04 4B024/CA09 4B024/CA12 4B024/DA03 4B024/DA06 4B024/HA14 4B024/HA17 4B063/QA13 4B063/QA18 4B063/QQ08 4B063/QQ42 4B063/QQ52 4B063/QQ79 4B063/QR32 4B063/QR35 4B063/QR48 4B063/QR55 4B063/QR77 4B063/QS33 4B063/QS34 4B064/AG01 4B064/CA19 4B064/CC24 4B064/CE02 4B064/CE12 4B064/DA01 4B064/DA13 4B065/AA26X 4B065/AA93X 4B065/AA93Y 4B065/AB01 4B065/BA01 4B065/CA24 4B065/CA44 4B065/CA46 4C084/AA02 4C084/AA06 4C084/AA07 4C084/AA13 4C084/BA01 4C084/BA08 4C084/BA22 4C084/CA18 4C084/CA53 4C084/NA14 4C084/ZA45 4C084/ZB08 4C084/ZB11 4C084/ZC33 4C084/ZC41 4C084/ZC50 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/BB11 4C085/CC21 4C085/CC31 4C085/DD62 4C085/EE01 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/CA45 4H045/EA20 4H045/EA50 4H045/FA74		
代理人(译)	今村正纯		
优先权	2001224176 2001-07-25 JP		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		

#### 摘要(译)

解决的问题：通过阐明干燥免疫性疾病-干燥疾病的自身抗原SS-N的整个氨基酸序列，以及编码该序列的cDNA的核苷酸序列，来提供一种参与免疫系统的新型ABC转运蛋白。一种具有ATP结合盒转运蛋白A7活性的剪接变体的多肽，其包含相对于特定氨基酸序列已删除，添加，取代和/或插入一个或多个氨基酸的氨基酸序列。。 [选择图]无

【 図 3 】

