

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2005-500049

(P2005-500049A)

(43) 公表日 平成17年1月6日(2005.1.6)

(51) Int. Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)	
C 1 2 N 15/09	C 1 2 N 15/00	Z N A A	2 G O 4 5
A 6 1 K 35/76	A 6 1 K 35/76		4 B O 2 4
A 6 1 K 39/00	A 6 1 K 39/00	H	4 B O 6 3
A 6 1 K 45/00	A 6 1 K 45/00		4 B O 6 4
A 6 1 K 48/00	A 6 1 K 48/00		4 B O 6 5
	審査請求 未請求 予備審査請求 有	(全 140 頁)	最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2003-514896 (P2003-514896)	(71) 出願人	597011463
(86) (22) 出願日	平成14年7月16日 (2002. 7. 16)		ノバルティス アクチエンゲゼルシャフト
(85) 翻訳文提出日	平成16年1月16日 (2004. 1. 16)		スイス国、4056 バーゼル、リヒトシ
(86) 国際出願番号	PCT/EP2002/007924		ユトラーセ 35
(87) 国際公開番号	W02003/008579	(74) 代理人	100062144
(87) 国際公開日	平成15年1月30日 (2003. 1. 30)		弁理士 青山 稜
(31) 優先権主張番号	60/305, 932	(74) 代理人	100067035
(32) 優先日	平成13年7月17日 (2001. 7. 17)		弁理士 岩崎 光隆
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100064610
(31) 優先権主張番号	60/313, 550		弁理士 中嶋 正二
(32) 優先日	平成13年8月20日 (2001. 8. 20)	(74) 代理人	100072730
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 小島 一晃
(31) 優先権主張番号	60/315, 123		
(32) 優先日	平成13年8月27日 (2001. 8. 27)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 有機化合物

(57) 【要約】

免疫系の樹状細胞中で発現される、単離されたBASP1、GID2 . 1、GID2 . 2、GID3およびGID4遺伝子、そのような遺伝子によって発現されるBASP1、GID2 . 1、GID2 . 2、GID3およびGID4ポリペプチド、ならびにBASP1、GID2 . 1、GID2 . 2、GID3およびGID4ポリペプチドに対する、アンタゴニスト、アゴニストである化合物の同定におけるそれらの機能。

【特許請求の範囲】

【請求項1】

BASP1、GID2、GID3およびGID4から選択される免疫系の樹状細胞中で発現された、単離遺伝子。

【請求項2】

配列番号1または配列番号2または配列番号3または配列番号5または配列番号7または配列番号8または配列番号10または配列番号11のポリヌクレオチド配列を含む、請求項1に記載の単離遺伝子。

【請求項3】

配列番号4、または配列番号6または配列番号9または配列番号12のポリペプチドをコードしている、請求項1または2のいずれか1つに記載の単離遺伝子。 10

【請求項4】

請求項1~3のいずれか1つに記載の、GID2、1、GID3および/またはGID4遺伝子によってコードされる単離ポリペプチド。

【請求項5】

請求項1~3のいずれかの1つに記載の遺伝子、ならびに/あるいは請求項4に記載のおよび/または配列番号6のポリペプチドを含む、ベクター。

【請求項6】

請求項1~3のいずれか1つに記載の遺伝子、または組換え体ベクターの一部としての、相当する単離プロモーター配列を含む発現系であって、前記発現系またはその一部が、適合する宿主細胞に存在する場合に、前記発現系またはその一部が、請求項1~4のいずれか1つに記載のポリヌクレオチドおよび/またはポリペプチド、および/または配列番号6のポリペプチドを産出することが可能である、発現系。 20

【請求項7】

請求項6に記載の発現系を含む単離宿主細胞。

【請求項8】

以上に記載のような疾病、または疾患の可能性に関する診断キットであって、

(a) 例えば、配列番号4または配列番号6または配列番号9または配列番号12の配列をコードしている遺伝子、

(b) (a)の配列に相補的なヌクレオチド配列、 30

(c) ポリペプチド、または

(d) ポリペプチドに対する抗体

を含むキット。

【請求項9】

請求項4に記載のポリペプチドまたは配列番号6のポリペプチドに対する単離抗体。

【請求項10】

請求項4に記載のポリペプチドの産出およびまたは生物学的活性を減少させるか、増強する、アゴニストまたはアンタゴニストを同定するための、スクリーニングのためのアッセイであって、以下の

(a) 請求項4または配列番号6に記載のポリペプチド、 40

(b) 請求項4または配列番号6に記載のポリペプチドを含む、発現系を保持している宿主細胞、

(c) 請求項4または配列番号6に記載のポリペプチドを含む融合ポリペプチドを発現する、マーカーポリヌクレオチドに融合した、相当する遺伝子プロモーターおよび組換え体ポリヌクレオチドトランスジーンを含む、発現系を保持している宿主細胞、

(d) 請求項4または配列番号6に記載のポリペプチドに対する抗体、を含むアッセイ。

【請求項11】

請求項1~3のいずれか1に記載の遺伝子の発現および、または生物学的活性のアンタゴニストまたはアゴニストであって、前記アンタゴニストまたはアゴニストが以下の方法段階 50

A)

(a) 請求項4または配列番号6に記載のポリペプチド、

(b) 請求項4または配列番号6に記載のポリペプチドを含む発現系を保持している宿主細胞、

(c) 請求項4または配列番号6に記載のポリペプチドを含む融合ポリペプチドを発現する、マーカーポリヌクレオチドに融合した、相当する遺伝子プロモーターおよび組換え体ポリヌクレオチドトランスジーンを含む、発現系を保持している宿主細胞、

(d) 請求項4または配列番号6に記載のポリペプチドに対する抗体を、候補化合物と接触させること、

B) a)、b)、c) または d) のいずれかに対する候補化合物の効果を測定すること、

C) 段階B) にて測定したアゴニストまたはアンタゴニストを選択すること、
によって提供されることを特徴とする、アンタゴニストまたはアゴニスト。

10

【請求項12】

薬剤としての使用のための、請求項11に記載のアンタゴニストまたはアゴニスト。

【請求項13】

薬理的に許容可能な担体(単数または複数)/賦形剤(単数または複数)との組み合わせで、治療有効量の請求項11に記載のアゴニストまたはアンタゴニストを含む、薬理的組成物。

【請求項14】

(なし)

20

【請求項15】

(なし)

【請求項16】

請求項1~3の任意の1つに記載の遺伝子の、過剰または不十分な発現レベル両方に関する、あるいは請求項4または配列番号6に記載のポリペプチドの過剰または不十分な発現レベル両方に関する異常な状態を処置する方法であって、前記処置を必要な対象へ、治療有効量の、請求項11に記載のアゴニストまたはアンタゴニストを投与することを含む、方法。

【請求項17】

請求項16に記載の方法であって、前記処置すべき異常な状態に、例えば、アレルギー性またはアトピー性皮膚炎のような炎症性皮膚疾患、および、例えば自己免疫疾患での異常免疫活性のようなその症状が、腸および大腸、肺および脈管組織のような他の組織で見られる慢性炎症疾患を含む、急性および慢性炎症疾患、あるいは、例えば癌のような疾患での免疫過剰反応または抑制のような、移植拒絶発作が伴う疾患の処置治療に関連した望まない免疫応答、および持続性ウイルスまたは細菌感染に関連した望まない免疫応答が含まれる、方法。

30

【請求項18】

免疫系のDC中で発現され、相当するポリペプチド配列のタンパク質をコードしている、請求項1に記載の遺伝子であって、そのDCでの発現が、免疫応答が疾患の病因、進行および/または症状の悪化の第一要素である疾患での治療的介入のために、DC中の特定の分子標的として、炎症性刺激によって調節される、遺伝子。

40

【請求項19】

抗体ではない二重特異的試薬であって、請求項4または配列番号6に記載のポリペプチドに結合し、かつウイルス、細菌または真核寄生生物に、または癌細胞に結合する能力を有している、試薬。

【請求項20】

哺乳動物における免疫応答を誘導するための方法であって、前記哺乳動物に、疾患から前記哺乳動物を保護するために、抗体および/またはT細胞免疫応答を生じるのに十分な量で、請求項4または配列番号6に記載のポリペプチドを接種することを含む方法。

【請求項21】

哺乳動物に導入したときに、前記哺乳動物において、請求項4または配列番号6に記載のポ

50

リペプチドに対する免疫応答を誘導する、免疫学的ノワクチン処方（組成物）であって、前記処方が、請求項4または配列番号6に記載のポリペプチド、または請求項4または配列番号6に記載のポリペプチドを含む発現ベクター、あるいは請求項4で請求したような、または配列番号6のポリペプチドを含む発現ベクターを含む、前記処置される哺乳動物由来の細胞を含む宿主細胞を含む、免疫学的ノワクチン処方（組成物）。

【発明の詳細な説明】

【0001】

本発明は、樹状細胞から単離された遺伝子、およびそのような遺伝子によってコードされるタンパク質（ポリペプチド）に関し、例えば、樹状細胞におけるそのような遺伝子ノタンパク質の活性を阻害または活性化（調節）することによる、異常な免疫応答を伴う疾患の治療的介入を含む。

10

【0002】

樹状細胞（DC）は、初期免疫応答および寛容の誘導において、中心的な役割を果たす、専門の抗原提示白血球である。未成熟の状態DCは、侵入病原体からの抗原を捕獲可能であり、炎症分子に応答しうる、体の異なる組織に存在する。抗原捕獲後、DCは、抗原提示細胞へと成熟し、T細胞を活性化するために、リンパ器官に移動する（Banchereau, M. and R. M. Steinman, Nature 329 [1998] 245 - 252）。例えば、皮膚に存在するランゲルハンス細胞（LC）が、皮膚で産出されるか、または浸潤しうる種々の抗原を提示することが示されてきた。過敏症に関して、反応性ハプテンの局所適用により、LCが活性化されて、表皮から灌注リンパ節に移動し、そこでLCは、選択されたT細胞に対する抗原を提示しうる。LCとT細胞の接触の間、LCは、T細胞増殖およびエフェクター細胞への分化を誘導するT細胞へのシグナルを提供しうる。T細胞の型および関連する分子の相互作用の種類に依存して、細胞障害性、調節およびヘルパーT細胞が形成されうる。DCはまた、全ての種類のアポトーシス細胞を飲み込むことが示されてきており、それによって自己抗原に対する寛容の維持において重要な役割を果たしうる（Steinman, R. M and K. Inaba, J. Leukoc. Biol. 66 [1999] 205 - 208）。例えば、接触皮膚炎およびアトピー性皮膚炎のような炎症性皮膚疾患を含む慢性炎症疾患、自己免疫疾患、移植拒絶発作、および、AIDSや癌を含む、免疫抑制または過敏性によって特徴づけられる疾患でのような、免疫応答の強力な開始および調節細胞として、DCが、原因または関連する役割を果たす疾患が、DC特異的薬理的診療に関する標的であり得る。

20

30

【0003】

DCは、ネガティブ選択（富化）、すなわち存在する他の細胞型の選択的除去または特異的モノクローナル抗体（mAB）でコーティングした磁気ビーズまたはプラスチック表面上に捕捉することによって、単球（CD14+）、T細胞（CD3+）、B細胞（CD19+）およびNK細胞（CD16+）、例えば、従来の方法にしたがって、記載されているように、特定のmABで捕獲することによって単離した細胞の培養による単球または未成熟の前駆体細胞のようなこれらの他の細胞型からの分離によって単離することができる。RNAがDCから単離することができ、cDNAおよびcDNAライブラリーを作製することができ、そしてDCの異なる遺伝子発現パターンを、例えば、オリゴヌクレオチドフィンガープリンティング、RNA-cDNAハイブリダイゼーションプロファイリング、サブトラクティブハイブリダイゼーション、または配列決定によって、例えば、従来の方法に従って得ることができる。

40

【0004】

本発明者らは、単離したヒトDCのRNAから合成したcDNAより、表1にて示す名称を有している遺伝子のコピーを含む組換え体クローンを発見した。

【表1】

遺伝子の名称	配列	
	ヌクレオチド	アミノ酸
BASP1	配列番号 1	
GID2. 1	配列番号 2	
GID2. 1 コード	配列番号 3	配列番号 4
GID2. 2 コード	配列番号 5	配列番号 6
GID3	配列番号 7	
GID3 コード	配列番号 8	配列番号 9
GID4	配列番号 10	
GID4 コード	配列番号 11	配列番号 12

10

【0005】

単離したDCのcDNAライブラリーより、BASP1 (NAP22、またはCAPとも呼ばれる) 転写物のコピーを含む組換え体クローンを同定可能であり、これは、ヌクレオチド配列番号1を持ち、タンパク質配列決定データから導かれるBASP1に関する登録番号第P80723号で、Swiss Prot配列データベースでのポリペプチドと同一のポリペプチドをコードしている (Mosevitsky, M. I., Biochimie 79 [1997] 373 - 384)。配列番号1は、GenBankにおけるポリヌクレオチド、登録番号第AF039656号 (NAP22) (Park, S., Mol. Cells 8 [1998] 471 - 477) および第NM_006317号 (7ヌクレオチドが異なる) および第BC000518号 (1ヌクレオチドが異なる) に対して、いくつかの置換、小さい欠失および挿入によって異なる。BASP1タンパク質は、脊髄および脳において発現されることが知られており (Iino, S. and S. Maekawa, Brain Res. 834 [1999] 66 - 73、Iino, S., Neuroscience 91 [1999] 1435 - 1444)、この部分で、神経細胞における膜微小領域 (ラフト) 上に局在することが観察されており、この局在は、コレステロール依存性である。(Maekawa, S., J. Biol. Chem. 274 [1999] 21369 - 21374)。BASP1タンパク質は、カルモジュリン - 結合ドメインを含むことが示されており (Takasaki, A., J. Biol. Chem. 274 [1999] 11848 - 11853)、このことは、カルシウムの流れに応答する神経細胞中での代謝の活性化において基本的な役割を示唆しており、神経細胞中での局在性の変化が、神経極性の発達の間にも生じることを示唆している (Kashihara, M., Neurosci. Res. 37 [2000] 315 - 325)。

20

30

【0006】

本発明者らは、ここで、DC中での遺伝子の機能に対する直接的な関連およびそれに関係している免疫反応性に関連して、DC中でのBASP1発現が、T細胞を刺激するDCの能力を強化することが知られている薬剤での処理に応答して誘導され、DCのこの特性が、免疫系内でのその鍵となる調節の役割の中心であることを観察した。DCの刺激に応答するBASP1遺伝子発現の誘導を図1に示す。

【0007】

さらに、本発明者らは、BASP1異所性発現が、IL-8のような、炎症性サイトカインの発現を調節することができることを観察した (実施例15および図7を参照のこと)。

40

【0008】

本発明者らはまた、単離したヒトDC由来のRNAから合成したcDNAから、GID2遺伝子 (ポリヌクレオチド) のGID2. 1およびGID2. 2転写物のコピーを含む組換え体クローンを単離および同定することができるも発見した。DC由来のcDNAから直接同定した配列の再増幅、および複数のクローンの解析により、コンセンサス配列が、GID2. 1転写物のポリヌクレオチド配列番号2、ポリペプチドをコードする配列番号3、および対応するコードされるポリペプチド配列番号4、ならびに、GID2. 2転写物のポリヌクレオチド配列番号5および対応するコードされるポリペプチド配列番号6を含むことを明らかにする。配列番号2および配列番号5は、GID2遺伝子 (ポリヌクレオチド) のおそらく異なってスプライシングされた転写物であり、GID2遺伝子のコード能力の多様性を反映している。コードされるGID2ポリ

50

ペプチド配列GID2.1配列番号4およびGID2.2配列番号6は、2つの公知のタンパク質であるV7(CD101)白血球表面糖タンパク質およびプロスタグランジンF2レセプター(FPRP)の調節タンパク質に相同であり、特性化されていないKIAA1436タンパク質に相同である。V7は、活性化T細胞、単球および顆粒球、ならびにT細胞のサブ集団および特定のアクセサリ細胞上に発現されており、T細胞中でのシグナル-1形質導入、すなわち、T細胞レセプター複合体の架橋によって生成されるシグナルの媒介において、役割を果たすことが示されている(Ruegg, C. L.ら, J. Immunol. 154 [1995] 4434 - 4443)。マウスのFPRPは、F2レセプター分子に物理的に結合し、その表面転位を防ぎ、したがって、プロスタグランジンF2による細胞性刺激を負に調節することが示されている(Orlicky, D. J. and S. K. Nordeen, Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids 55 [1996] 261 - 268、Orlicky D. J., Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids 54 [1996] 247 - 259)。GID2ポリペプチドGID2.1配列番号4およびGID2.2配列番号6、ならびに相同であるV7タンパク質およびFPRPは、複数の免疫グロブリン様および主要組織適合性複合体ドメインを含み、多くの免疫に関係している活性に必要な重要な細胞内シグナルに関連している、免疫グロブリンスーパーファミリーの推定上の新規メンバーである。本発明者らは、DCにおける遺伝子の機能および関連する免疫反応性に関して、DCでのGID2発現が、T細胞を刺激するDCの能力を強化にすることが公知の薬剤での処置に应答して誘導され、DCのこの特性が、免疫系におけるその鍵となる調節の役割の中心であることを観察した。DCの刺激に应答するGID2遺伝子(ポリヌクレオチド)発現の誘導を、図2に示す。さらに、本発明者らは、抗原提示細胞中でのGID2.2の異所性発現が、T細胞増殖を正に調節することを発見した(実施例16および図8ならびに9を参照のこと)。

10

20

【0009】

本明細書中に記載するGID2遺伝子(ポリヌクレオチド)およびポリペプチドは、本発明によって提供されたGID2遺伝子(ポリヌクレオチド)およびポリペプチドである。

【0010】

本発明者らはさらに、単離したヒトDC由来のRNAから合成したcDNAから、GID3遺伝子の転写物のコピーを含む組換え体クローンを単離しそして同定することができることを発見した。DC由来のcDNAから直接同定した配列の再増幅および、多数のクローンの解析により、コンセンサス配列が、GID3転写物のポリヌクレオチド配列番号7、ポリペプチドをコードする配列番号8、および対応するコードされるポリペプチド配列番号9を含むことを明らかにする。後者の配列は、466、760、783および1274位で、コンセンサス配列Asn - Xaa - Ser / Thr (Marshall, R. D., Annu. Rev. Biochem. 41 [1972] 673 - 702)に特異的であり、aa残基248~390のDENN(AEX-3)ドメインに対して強い相同性(4.7e-44)を持つ、4つの可能性あるN-グリコシル化部位を含む。ヒトのセリン-およびロイシン-を多く含むDENNタンパク質は、RGD細胞接着モチーフ、およびタンパク質二量体化に関するロイシン-ジッパー様モチーフを持ち、腫瘍壊死因子のレセプター結合ドメインに対して部分的な相同性を示す。DENNは、I型腫瘍壊死因子レセプターと相互作用する、MADD、ヒトMAPキナーゼ活性化死亡ドメインタンパク質と、実質的に同一である。DENNは、細胞間小胞移動に関与しているRab3小Gタンパク質に特異的なラットGDP/GTP交換タンパク質であるRab3 GEPと有意な相同性を示す。DENNはまた、Caenorhabditis elegansのAEX-3と強い相同性を示し、これはRab3と相互作用して、シナプス小胞の放出を調節する(Lim, D., ら, Genome 41 [1988] 543 - 552)。DENN(AEX-3)ドメインを含む他のタンパク質の例としては、Schizosaccharomyces pombe由来の仮想タンパク質(Q9Y7Q7)、ヒトDENNタンパク質(Q15741)、ヒトMADDタンパク質(O15293)、Caenorhabditis elegansタンパク質AEX-3(O02626)、およびラットRab3小Gタンパク質(O08873)が挙げられる。オルトログに対するGID3タンパク質の相同性から、GID3が、GTP依存性である特定の細胞性プロセスにおいて、例えばアダプター分子として、エフェクターを調節する役割を果たしうることが推定される。GID3ポリペプチド配列番号9は、推定ヒト147 kDaタンパク質(TREMBL: Q9UFV0)およびKIAA1090タンパク質(1つの点変異によって異なる)(TREMBL: Q9UPR1)と同一であり、酵母ツーハイブリッドスクリーニング(Janoueix-Lerosey, I., ら, J. Bio

30

40

50

I. Chem 270 [1995] 14801 - 14808) にて同定されたRab6 GTP結合タンパク質に関連するタンパク質断片TREMBL: Q62146を含有している推定マウス144.1 KDAタンパク質 (TREMBL: Q9QYZ2) と95.8%同一である (24残基のギャップおよび複数の点変異)。Rabタンパク質は、エンドサイトーシスおよび分泌経路による小胞伝達の調節に関与している、Ras様GTP結合タンパク質であり (Valencia, A. ら, Biochemistry 30 [1991] 4627 - 4648、Pfeffer, S. R., Curr. Opin. Cell Biol. 6 [1994] 522 - 526、Nuoffer, C. and W. E. Balch, Annu. Rev. Biochem. 63 [1994] 949 - 990)、Rab6は、ゴルジ体内膜伝達を調節すると考えられる (Goud, B. ら, Nature 345 [1990] 553 - 556、Martinez, O. ら, J. Cell Biol. 127 [1994] 1575 - 1588)。マウスRab6に関連するホモログTREMBL: Q62146の断片は、Rab6のGTPが結合した形態と、優先的に相互作用することが示されており (Janoueix - Lerosey, I. ら, J. Biol. Chem 270 [1995] 14801 - 14808)、したがって、Rab6のエフェクターまたはGAPタンパク質のいずれかに相当すると予測される。GID3が機能する1つの他の可能性のあるプロセスは、カルモジュリン結合タンパク質として同定された、GenBank AAF46398配列エントリーのオルトログ遺伝子である*D. melanogaster* Cragタンパク質に対するその関係 (23%同一 / 72.1%アライメント) によって示唆される (Xian - Zhong, S. X. ら, J. Biol. Chem 274 [1998] 31297 - 31307)。後者の物理的相互作用は、シグナル伝達事象でのカルモジュリンとの共調節機能の可能性を反映していると考えられ、これにおいては、カルモジュリンは、カルシウムの流れの主要な細胞センサーである。さらに、カルモジュリンは、それ自体が別のRabタンパク質Rab3Aに結合することが示されている (Park, J. B. ら, J. Biol. Chem. 272 [1997] 20857 - 20865)。本発明者らは、DC中での遺伝子の機能および関係している免疫反応性に関して、DC中でのGID3発現が、T細胞を刺激するDCの能力を強化にすることが知られている薬剤での処理に应答して誘導され、DCのこの能力が、免疫系でのそれらの鍵となる調節の役割の中心であることを観察した。DCの刺激に应答するGID3遺伝子 (ポリヌクレオチド) 発現の誘導を図3に示す。本明細書で記載したGID3遺伝子 (ポリヌクレオチド) およびGID3ポリペプチド (タンパク質) は、本発明で提供したGID3遺伝子 (ポリヌクレオチド) およびGID3ポリペプチド (タンパク質) である。

10

20

【0011】

本発明者らはまた、単離したヒトDC由来のRNAから合成したcDNAから、GID4遺伝子の転写物のコピーを含む組換え体クローンを単離しそして同定することができることを発見した。DC由来のcDNAから直接同定した配列の再増幅および、多数のクローンの解析により、コンセンサス配列が、GID4転写物のポリヌクレオチド配列番号11、ポリペプチドをコードする配列番号12、および対応するコードされるポリペプチド配列番号12からなることが明らかになる。後者の配列は、ポリペプチドの長さ全体にわたって分散している、6~8の可能性ある膜貫通ドメインを含む大きな (832アミノ酸) タンパク質からなる。コンセンサス配列Asn - Xaa - Ser / Thr (Marshall, R. D., Annu. Rev. Biochem. 41 [1972] 673 - 702) に特異的な、7つの可能性のあるアスパラギンN - グリコシル化部位 (位置15、177、266、368、406、462および511) が存在する。GID4で見られるさらなるモチーフには以下が含まれる: 2つの連続したN末端近傍の塩基性残基 (Fremisco, J. R. ら, J. Biol. Chem. 255 [1980] 4240 - 4245、Glass, D. B. and S. B. Smith, J. Biol. Chem. 258 [1983] 14797 - 14803、Glass, D. B. ら, J. Biol. Chem. 264 [1986] 2987 - 2993) の規則にしたがうスレオニン224残基に、1つの可能性のあるcAMP / cGMP依存タンパク質キナーゼリン酸化部位、コンセンサス (S / T) (x 2) (D / E) 規則 (Pinna, L. A., Biochim. Biophys. Acta 1054 [1990] 267 - 289) にしたがう17個の可能性のあるカゼインキナーゼIIリン酸化部位 (セリンまたはスレオニン残基76、114、268、337、397、456、535、603、746、779、791、792、800、801、814、820および824の位置)、コンセンサス (S / T) (x) (R / K) 規則 (Woodget, J. R. ら, Eur. J. Biochem. 161 [1986] 177 - 148、Kishimoto, A. ら, J. Biol. Chem. 260 [1985] 12492 - 12499) にしたがう8つの可能性のあるタンパク質キナーゼCリン酸化部位 (セリンまたはスレオニン残基25、222、227、253、388、424、700および768の位置)、コンセンサス (R / K) (x 2 / 3) (D / E) (x 3 / 2) (Y) 規

30

40

50

則 (Patschinsky, T. ら, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 79 [1982] 973 - 977, Hunter, T. , J. Biol. Chem. 275 [1982] 4843 - 4848, Cooper, J. A. ら, J. Biol. Chem. 259 [1984] 7835 - 7841) にしたがう4つの可能性のあるチロシンキナーゼリン酸化部位 (チロシン残基86、143、257および258の位置)、ならびにTowler, D. A. ら, Annu. Rev. Biochem. 57 [1988] 69 - 99およびGrand, R. J. A. , Biochem. J. 258 [1989] 625 - 638によって定義されたコンセンサスパターンにしたがう4個の可能性のあるミリストイル化部位 (グリシン残基35、39、621または787の位置であり、これらは内部グリシン残基であり、これらの全ての位置でのN末端ミリストイル化は、転移酵素であるミリストイルCoA:タンパク質N-ミリストイルトランスフェラーゼの作用に供されるグリシン残基の1つをN-末端に露出させる、この場合の前駆タンパク質であるGID4タンパク質のタンパク質分解的切断に依存する)。GID4タンパク質は、多くの未知の機能の推定上の膜貫通タンパク質の特徴である、DUF221 (PFAM記号) と名付けられた、残基348~809の、よく保存された ($E = 1.2e - 89$) 大きなポリペプチドドメインを含む。GID4タンパク質配列の、コンセンサスDUF221配列に対する配列相同性を、このドメイン中にあるGID4中の推定膜貫通ドメインの図4、5~6に示す。DUF221を含有しているタンパク質ファミリーの公知の例には、推定の*S. cerevisiae* Ylr241w (SwissProt登録番号第S59387号)、および遺伝子yml266wによってコードされる107.7kDaタンパク質 (SwissProt登録番号第Q03516号)、遺伝子spac2g11.09によってコードされる推定の*S. pombe* 90.9kDaタンパク質 (SwissProt登録番号第Q09809号)、*Arabidopsis thaliana* の81.9kDaタンパク質 (TREMBL: Q9C8G5)、*D. melanogaster* 760アミノ酸CG11210タンパク質 (TREMBL: Q9V364)、推定ヒト807アミノ酸KIAA0792タンパク質 (TREMBL: 094886)、および推定ヒト93.3/93.8kDaタンパク質 (TREMBL: Q9P1W3およびQ9P1W1) が含まれる。もっとも密接に関係している公知のヒトタンパク質は、KIAA0792タンパク質 (TREMBL: 094886, Nagase, T. ら, DNA Res. 5 [1998] 277 - 286) であり、これは59.0%同一性を持って、753アミノ酸の重なりで、GID4ポリペプチド配列番号12と一列にならび ($2.1e - 174$)、また、817アミノ酸の重なりにわたる、43.0%同一性でならび ($4.8e - 128$)、93.3/93.8kDaタンパク質 (TREMBL: Q9P1W3およびQ9P1W1) である。非常に遠い関係にある生物のDUF211を含有しているタンパク質もまた、729アミノ酸重複において33.3%同一性にて、GID4タンパク質配列番号12と並ぶ ($8.3e - 49$)、*D. melanogaster* 760アミノ酸CG11210タンパク質 (TREMBL: Q9V364, Adams, M. D. ら, Science 287 [2000] 2185 - 2195)、および656アミノ酸重複で23.2%同一性で並ぶ ($8.6e - 14$)、*Arabidopsis thaliana* の81.9kDaタンパク質 (TREMBL: Q9C8G5, Theologis, A. ら, Nature 408 [2000] 816 - 820) と著しい相同性を示す。これらのタンパク質配列全体の相同性に加えて、タンパク質内でのDUF221ドメインの相対位置、および可能性のある膜貫通ドメインの分布、およびN-グリコシル化部位によって定義されるような、保存されている構造的機構も存在し、この関係を図5に示す。GID4タンパク質の370のC-末端配列は、公知の推定上のタンパク質断片 (TREMBL: Q9NSG5) と同一である。

10

20

30

40

50

【0012】

本発明者らは、DC中で遺伝子の機能および関係している免疫反応性に関して、DC中でのGID4発現が、T細胞を刺激するDCの能力を強化にすることが知られている薬剤での処理にตอบสนองして誘導され、このDCの能力が免疫系でのそれらの鍵となる調節の役割の中心であることを発見した。DCの刺激にตอบสนองする、GID4遺伝子発現の誘導を図6に示す。膜貫通タンパク質の主要な促進因子スーパーファミリーのメンバーとして分類される機能が未知である*S. cerevisiae* Ylr241wタンパク質に対するGID4タンパク質の相同性によると (Nelissen, B. ら, FEMS Microbiol. Reviews 21 [1997] 113 - 134)、刺激したDCまたは他の細胞中でのGID4タンパク質の推定される活性は、例えば、成熟または分化または細胞の活性化のような細胞の状態の変化の間に細胞膜で、あるいは上記の細胞の状態の変化に重要である他の細胞性タンパク質との協調して行われる細胞成分と膜表面との間の境界線で生じる、活性化シグナルまたは他のプロセスの媒介に関与することである。DCの場合、この状態の変化 (例えば細胞の活性化) は、正常な免疫応答のためのDCのT細胞との相互作用の間に、表現系的に増幅される。

【 0 0 1 3 】

1つの態様において、本発明は、単離した、

- 免疫系の樹状細胞（DC）中で発現されたBASP1遺伝子、または
- 免疫系の樹状細胞中で発現されたGID2遺伝子（ポリヌクレオチド）、または
- 例えば、免疫系の樹状細胞中で発現されたGID3遺伝子、または
- 例えば、免疫系の樹状細胞中で発現されたGID4遺伝子

を提供する。

【 0 0 1 4 】

別の態様において、本発明は、単離した、

- 配列番号1の配列を含むBASP1遺伝子、または
- 配列番号2および/または配列番号3および/または配列番号5を含むGID2遺伝子、または
- 例えば、コード配列番号8を含む、配列番号7を含むGID3遺伝子、または
- 例えば、コード配列番号12を含む、配列番号11を含むGID4遺伝子

を提供する。

【 0 0 1 5 】

- 本発明の免疫系のDC中で発現されたBASP1遺伝子は、例えばSwissProt第P80723号エントリーのBASP1ポリペプチドをコードしている。本発明のBASP1ポリペプチドには、SwissProt第P80723号エントリーのポリペプチドが含まれる。

- 本発明によって提供されるGID2ポリヌクレオチド（遺伝子）は、例えば、配列GID2.1配列番号4および/またはGID2.2配列番号6の、GID2ポリペプチド（タンパク質）をコードしている。

- 本発明のGID2ポリペプチドはしたがって、配列GID2.1配列番号4および/またはGID2.2配列番号6のポリペプチドを含む。

- 本発明によって提供されるGID3遺伝子は、例えば配列番号9の、GID3ポリペプチドをコードしている。本発明のGID3ポリペプチドには、配列番号9のポリペプチドが含まれる。

- 本発明のGID4遺伝子（ポリヌクレオチド）は、配列番号12の、GID4ポリペプチドをコードしている。本発明のGID4ポリペプチド（タンパク質）には、配列番号12のポリペプチドが含まれる。

【 0 0 1 6 】

別の態様において、本発明は、例えば

- BASP1遺伝子によってコードされる、例えばSwissProt第P80723号エントリーの、BASP1、または

- 例えばGID2遺伝子によってコードされる、例えば配列番号4および/または配列番号6の、GID2、または

- 例えばGID3遺伝子によってコードされる、例えば配列番号9の、GID3ポリペプチド、または

- 例えばGID4遺伝子によってコードされる、例えば配列番号12の、GID4ポリペプチド、の免疫系の樹状細胞中で発現された単離されたポリペプチドを提供する。

【 0 0 1 7 】

本明細書で、他に特に定義しない限り、「ポリヌクレオチド」には、あらゆるポリリボヌクレオチドまたはポリデオキシリボヌクレオチドが含まれ、これは、限定はしないが、一本鎖および二本鎖のRNAまたはDNA、ならびに一本鎖および二本鎖領域の混合物であるRNAまたはDNAを含む、未改変RNAまたはDNA、あるいは改変RNAまたはDNAでありうる。

【 0 0 1 8 】

本明細書で、他に特に定義しない限り、「ポリペプチド」には、ペプチド結合によって互いに連結された、2またはそれ以上のアミノ酸を含む任意のペプチドまたはタンパク質が含まれる。

【 0 0 1 9 】

10

20

30

40

50

本発明のDC中で発現された遺伝子（ポリヌクレオチド）には、例えば対立遺伝子変異体、およびその転写および転写後改変変異体、および/またはそれらの相補体を含む、表1に示す遺伝子（例えば配列番号4、配列番号6、配列番号9および配列番号12）のポリペプチド配列をコードしている、およびその対立遺伝子変異体、ポリヌクレオチドにおける転写および転写後差違による変異体、および翻訳後修飾による変異体を含む、DCで天然に発生しうる、表1に示す相当する配列のポリヌクレオチド（例えば、配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号5、配列番号7、配列番号8、配列番号10および配列番号11）ならびにその変異体が含まれる。免疫系のDC中の本発明のポリヌクレオチドおよびポリペプチドには、DCに密接に関係している細胞で発現される配列、および本発明と同様の免疫学的機能の配列、および例えば、薬理的探索で一般的に使用される実験動物の免疫系のDC中で、および本発明のそれらの種のDCに密接に関係している細胞中で発現されるオルトログ変異体が含まれる。ここで、上記変異体は、種の分岐の間に発生することが一般的に公知な機構によるものであり、例えば、上記オルトログ配列の、対立遺伝子、転写および転写後、ならびに翻訳後変異体である。

10

20

30

40

50

【0020】

本発明の遺伝子の「対立遺伝子変異体」は、それぞれ、配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号5、配列番号7、配列番号8、配列番号10および配列番号11、ならびにSwissProt第P80723号エントリーとは異なる所定の種に存在する遺伝子のポリヌクレオチドおよびポリペプチド、ならびに相補的なポリヌクレオチド配列の形態であり、ここで、差異は、一般的に公知の機構による種の進化の間に生じた変異を特徴とする場合がある。一般的に、対立遺伝子変異体は、配列の長さ全体にわたり、95%以上、例えば97%または99%以上、そして100%未満の同一性を持ち、上記同一性は、配列の長さ全体の最適な直線的なアライメントにおいて、対応する位置での同一のヌクレオチドまたはアミノ酸残基の割合として計算される。

【0021】

遺伝子の「転写変異体」は、それぞれ、表1に示す配列および例えば、SwissProt第P80723号エントリーとは異なる、所定の種内に存在するポリヌクレオチドおよびコードされるポリペプチド、ならびに配列の長さ全体の最適な直線的アライメントの最初または終わりの部分で、追加の配列部分を含ませることまたは配列部分を欠失させることによって、対応するポリヌクレオチド相補的配列であり、ここで上記変異体は、一般的に公知の機構による、遺伝子染色体鑄型からのRNA合成の開始および/または終結の位置に起因しうる。

【0022】

遺伝子の「転写後変異体」は、それぞれ与えられた配列、例えば配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号5、配列番号7、配列番号8、配列番号10および配列番号11、ならびにSwissProt第P80723号エントリーとは異なる、所定の種に存在する遺伝子のポリヌクレオチドおよびコードされるポリペプチド、ならびに配列の長さ全体の最適な直線的アライメントの最初または終わりの部分で、追加の配列部分を含ませるかまたは配列部分を欠失させることによる、相補的ポリヌクレオチド配列であり、ここで上記変異体は、一般的に公知である機構によって、染色体鑄型から合成されたRNA配列部分の切除およびスプライシングに由来しうる。

【0023】

遺伝子の「翻訳後変異体」は、そこで配列の長さの差異が特異的なタンパク質の分解的改変に由来しうる、配列の長さ全体の最適な直線的アライメントの最初または終わりの部分で、配列部分を欠失させることまたは追加の配列部分を含ませることによって、与えられた配列および例えばSwissProt第P80723号エントリーとは異なるか、あるいはリン酸化、ミリスチル化、アセチル化を含みうる、配列内に含まれる特定のアミノアシル残基の生物学的変化、例えば存在することが一般的に公知であるタンパク質の多くの型の生化学的改変のなかの変化を含ませることによって、与えられた配列とおよび例えばSwissProt第P80723号エントリーとは異なる、所定の種に存在する遺伝子のポリペプチド配列である。

【0024】

遺伝子の「オルトログ変異体」は、第2の種に存在する遺伝子のポリヌクレオチドおよびコードされるポリペプチドである。ここで、配列の長さ全体の最適な直線的なアライメントで見られる、それぞれ、所定の配列、例えば配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号5、配列番号7、配列番号8、配列番号10および配列番号11、ならびにSwissProt第P80723号エントリー、ならびに相補的ポリヌクレオチド配列とは異なる一般的に公知である機構による進化の間の種の分岐の際に生じた変異により生じた由来する可能性がある。

【0025】

「アライメント」は、最小である単一残基または部分偏差への割り当てを伴って、その直線配列に沿って構成要素である単一のヌクレオチド残基またはアミノアシル残基、あるいはそのような残基の部分またはブロックの、同一性または関連性または相補性にしながら、配列の全体的な関連性を決定できるように、2つの直線的な配列を一緒に並べることである。上記関連性は、ポリヌクレオチドまたはポリペプチド配列の同一性の測定であり、例えば市販されているコンピュータプログラムを用いる従来の方法によって計算することができる。

【0026】

例えば、その（既存の）変異体または一部を含む本発明のポリヌクレオチドは、DCまたは他の細胞由来のmRNAから導かれたcDNAまたはcDNAライブラリーから、あるいはゲノムDNAから、標準的なクローニング、スクリーニングおよび配列決定法、例えば発現配列タグ（EST）解析による、cDNAライブラリーからのBASP1ポリヌクレオチド配列の同定によって、分子クローンとして天然の供給源より入手することができる（Adams, M. D. ら, Science 252 [1991] 1651 - 1656、Adams, M. D. ら, Nature 355 [1992] 632 - 634、Adams, M. D. ら, Nature 377 [1995] Suppl. : 3 - 174）。BASP1ポリヌクレオチド、またはその変異体もしくは部分もまた、従来の方法にしたがって合成することもできる。例えばその（存在する）変異体または部分を含む本発明のBASP1ポリペプチドは、天然の供給源から入手することもでき、例えば細胞または組織から単離することもでき、ポリペプチドまたはその変異体もしくは部分はまた、従来の方法にしたがって合成することもできる。

【0027】

本発明のポリヌクレオチド（遺伝子）は、当業者によって組換え体分子の使用に適切なように、例えば、本発明の実用性または改変遺伝子機能の特性を与えるのに適切なように、例えば、従来の方法にしたがって、そのような特性を与える外来DNA配列（すなわち、本発明のポリヌクレオチド内に含まれないDNA配列）と、遺伝子配列を連結させることによって、組換え体分子の一部として組み込むことができる。ポリヌクレオチドを、ポリペプチドの産出のために使用する場合、ポリヌクレオチド配列は、他の配列、例えばそれ自体による成熟ポリペプチド（またはその断片）のコード配列、あるいはリーダーまたは分泌配列、プレ-、またはプロ-またはプレプロ-タンパク質配列をコードしているもののような、外来コード配列と連続したリーディングフレーム中に融合したポリペプチドをコードする配列（またはその断片）、あるいは例えばそのような目的のために一般的に使用される他の融合ペプチド部分を含むこともできる。例えば組換え体ポリペプチドの精製を容易にする外来マーカー配列を結合させよう。マーカー配列は、適切である場合には、例えば、pQEベクター（キアゲン社（Qiagen, Inc.））によって提供され、例えばGentzら, Proc Natl Acad Sci USA 86 [1989] 821 - 824）に記載されているようなヘキサ-ヒスチジンペプチド、または例えばヘマグルチニン（HA）タグを含むことができる。本発明の組換え体ポリヌクレオチドはまた、スプライシングおよびポリアデニル化シグナルのような非翻訳配列、リボソーム結合部位、局在化配列、ならびにmRNAを安定化もしくは不安定化させる配列、例えば当業者によって、適切である場合には調節特性を与えることが一般的に公知であるいくつかの非コード配列のうちの任意のものである、非コードヌクレオチド配列を含むこともできる。非コードヌクレオチド配列は、本発明の遺伝子の転写物または転写変異体中に、あるいは例えば従来の方法にしたがって、適切である場合にはポリヌクレオチド配列として、自然界に存在しうる。

10

20

30

40

50

【0028】

適切なポリペプチドまたはポリリボヌクレオチド、あるいは相補的ポリリボヌクレオチドまたはその一部の産出に使用する、遺伝子配列を含む組換え体分子もまた、例えば遺伝子の対立遺伝子または相同変異体またはオルトログ変異体として自然界に存在しているような、例えば、従来の方法によって遺伝子配列に人工的に導入することができるような、特定の変異を含む場合があり、これによって、本発明の、相当するポリペプチドまたはポリリボヌクレオチド、あるいは相補ポリリボヌクレオチドの機能特性の改変を行うことができる。

【0029】

別の態様において、本発明は、本発明の遺伝子（ポリヌクレオチド）、および/または例えば、本発明のポリペプチドを提供する。 10

【0030】

表1に示す配列を含むベクターは、例えば、従来の方法によって適切に産出する。配列を含むベクターは、例えば、物理的運搬、自己または細胞依存性複製、発現および選択を変更する特性のような、特定の特性を配列に人工的に加えて産出する。そのようなベクターは、例えば、従来の方法にしたがって、例えば、市販されている適切なベクターを使用して、望む特性を提供する外来DNA配列とポリヌクレオチド配列を連結することによって、産出することができる。ベクター内に含まれる、ポリヌクレオチドの発現特性は、例えば当業者によって、例えば従来の方法にしたがって、望む発現に適切であるように、天然に存在する遺伝子プロモーター、または真核生物の、原核生物の、またはウイルスの遺伝子 20

【0031】

本発明の遺伝子を含むベクターは、例えば、適合する宿主細胞のような宿主細胞中で、ポリヌクレオチドまたは組換え体ポリペプチド、ポリリボヌクレオチドまたはその相補物を産出可能である発現系を入手するために有用であり得る。例えば、BASP1、GID2、GID3またはGID4、または組換え体BASP1、GID2、GID3またはGID4ポリペプチドは、例えば、BASP1、GID2、GID3またはGID4遺伝子を含むベクターを、相当する遺伝子、例えばSwissProt第P80723号エントリーのBASP1ポリペプチド、または例えば本発明のその部分または変異体（群）のようなBASP1ポリペプチドの産出のために、宿主細胞内へ、発現系を組み込むために使用することによって、遺伝工学的に操作した宿主細胞において、本発明にしたがって 30

合成する。細胞を用いない転写または翻訳系もまた、本発明にしたがって、例えば従来の方法によって、例えばポリヌクレオチド配列を含む組換え体DNAベクター由来のRNAを用いて、ポリヌクレオチドまたはポリペプチドを産出するために使用する。

【0032】

遺伝子プロモーター配列、すなわち、本発明の遺伝子の転写発現を制御するポリヌクレオチドの染色体鑄型に対して近位に存在する染色体DNAから得た配列を含むベクターは、適切に産出することができる。そのようなベクターはまた、本発明のポリヌクレオチドも含むこと、例えば上記のように含むことができる。すなわち、ベクターは、物理的に、遺伝子の活性を特性化する配列と、遺伝子の転写発現の特性を特性化する配列とを連結するか、または容易かつ定量的に検出可能な指標分子を含む外来配列を含むことができる場合も 40

ある。すなわち、ベクターは、遺伝子プロモーター活性の単純な指標を特性化する配列と、遺伝子の転写発現の特性を特性化する配列とを連結することもできる。

【0033】

別の態様において、本発明は、本発明の遺伝子（ポリヌクレオチド）、例えば、上記のように改変された単離されたポリヌクレオチド、または組換え体ベクターの一部として含まれる例えば上記のような単離された遺伝子プロモーター配列を含む本発明のポリヌクレオチドを、例えば発現ベクターの一部として含む発現系を提供する。ここでは、上記発現系またはその一部は、本発明の相当するポリヌクレオチドおよび/またはポリペプチドを産出可能であり、例えば、または上記発現系またはその一部は、上記発現系またはその一部は、適合可能宿主細胞内に存在する場合には、例えば上記のように、例えば任意の上記の 50

組換え体ベクターの発現が可能である発現系またはその一部を含む、適切なプロモーター配列による転写制御を受ける。

【0034】

別の態様において、本発明は、例えば以上で定義したように、本発明のポリヌクレオチド、

- またはその相補的ポリヌクレオチド配列もしくは変異体、
- またはその改変物、
- またはそのようなポリヌクレオチドの一部、
- またはそのようなポリヌクレオチドを含む組換え体分子

を含む改変された宿主細胞の、あるいは、

特定のポリヌクレオチドに対応するポリペプチドを産出可能な、そのようなポリヌクレオチドを含む宿主細胞の、あるいは

上記のポリペプチドまたはその変異体、またはその改変物または部分を含む宿主細胞、例えば、上記の任意の発現系を含む、そしてその発現が可能である改変された宿主細胞を産出するための工程を提供し、工程は、上記ポリヌクレオチドまたはポリペプチドを宿主細胞に伝達することを含み、そこで、上記工程は、上記宿主細胞内で、本発明の遺伝子の活性を伝達するかまたは改変するために使用しうる。

【0035】

伝達には、例えば従来の方法にしたがって、例えばそれと同様に、例えば形質転換、トランスフェクション、トランスベクション、エレクトロポレーション、またはマイクロインジェクションが含まれる。

【0036】

別の態様において、本発明は、ポリヌクレオチドを含む適切な組換え体ベクターのDNAを、宿主細胞内に導入すること、例えば、遺伝子発現系を適切な宿主細胞内に導入すること、および導入されたDNAを安定して維持する細胞を単離することを含む、発現系、または上記のヒトの発現系の一部として、本発明の遺伝子（ポリヌクレオチド）を含む、安定なトランスジェニック宿主細胞の産出に関する工程を提供し、例えば上記細胞は、安定なトランスジェニック宿主細胞として定義される。

【0037】

適切な培養条件下で、本発明の安定なトランスジェニック宿主細胞は、例えば該配列の、相当するポリリボヌクレオチド、またはその相補物、または例えば上記のような、その変異体または改変体または一部を産出する。本発明の安定なトランスジェニック宿主細胞は、上記ポリリボヌクレオチドに相当するポリペプチドを産出可能であり得る。本発明の工程は、上記トランスジェニック宿主細胞内に、適切な条件下で、本発明の遺伝子の活性を安定に導入または改変するために使用することもできる。

【0038】

別の態様において、本発明は、本発明の発現系を含む単離された宿主細胞、例えば上記の工程によって産出しそして単離した、例えば安定な遺伝子を含有しているトランスジェニック宿主細胞を提供する。

【0039】

別の態様において、本発明は、本発明のポリヌクレオチドおよび/またはポリペプチドの産出のために十分な条件下で、本発明の発現系を保持している、上記のような単離され改変されたかまたは安定なトランスジェニック宿主細胞を培養すること、ならびに上記ポリヌクレオチドまたはポリペプチドを、培養液から回収することを含む、本発明のポリヌクレオチドおよび/またはポリペプチドを産出するための工程を提供し、例えばここで、回収したポリヌクレオチドまたはポリペプチドの配列、および回収した物質の組成は、発現系を含むベクター内のポリヌクレオチドの性質、保持している宿主細胞の作用、および物質の生化学的単離方法によって決定される。

【0040】

宿主細胞へのポリヌクレオチドの導入は、例えばリン酸カルシウム媒介性トランスフェク

10

20

30

40

50

ション、DEAE - デキストラン媒介性トランスフェクション、トランスベクション、マイクロインジェクション、カチオン脂質媒介性トランスフェクション、エレクトロポレーション、形質導入、スクレープローディング、衝撃による導入、感染のような方法を含む、例えば従来の方法にしたがって、例えばDavisら, Basic Methods in Molecular Biology (1986)、Sambrookら, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd Ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N. Y. (1989) にしたがって、適切に達成することができる。

【0041】

適切な宿主細胞の例には、Streptococci、staphylococci、E. coli、StreptomycesおよびBacillus subtilis細胞のような細菌細胞、酵母およびAspergillus細胞のような真菌細胞、Drosophila S2およびSpodoptera Sf9細胞のような昆虫細胞、CHO、COS、HeLa、C127、CCL39、3T3、BHK、HEK293およびRajiリンパ細胞のような単離されている動物細胞、ならびに植物細胞が含まれる。

10

【0042】

適切な発現系には、例えば染色体、エピソームおよびウイルス由来の系、例えば細菌プラスミドから、バクテリオファージから、トランスポゾンから、酵母エピソームから、挿入エレメントから、酵母染色体エレメントから、バキュロウイルス、SV40のようなパポウイルス、ワクシニアウイルス、アデノウイルス、家禽ジフテリアウイルス、仮性狂犬病ウイルスおよびレトロウイルスのようなウイルスに由来するベクター、ならびにコスミドおよびファージミドのようなプラスミドとバクテリオファージ遺伝子エレメントに由来するもののようなこれらの組み合わせから由来するベクターが含まれる。発現系は、発現を調節する、ならびに発生させる制御領域を含みうる。一般的に、宿主内で、ポリヌクレオチドおよびポリペプチドを維持し、増殖させ、または発現させるのに好適な任意の系またはベクターを使用することができる。適切なヌクレオチド配列を、従来の方法にしたがって、例えばSambrookら, Molecular Cloning: A Laboratory Manual (上記) にしたがって、発現系内に挿入しうる。

20

【0043】

本発明の発現系を保持するように操作されている宿主細胞によって発現された、本発明のポリヌクレオチドおよびポリペプチドは、例えば、従来の方法にしたがったもののような、例えば(生化学的)抽出および分離の方法を含む、任意の適切な方法によって十分な収率および純度で、宿主細胞より単離しうる。収率および純度は、単離した物質が使用される目的に適切な収率および純度であり得る。例えば、本発明のポリヌクレオチドは、細菌宿主細胞から、二本鎖または一本鎖DNA組換え体ファージミド分子として、またはポリリボヌクレオチドとして、例えば多量の精製したポリヌクレオチドを得る目的のために、発現系を含むベクターの性質に依存して単離することができる。感染性または非感染性ウイルス粒子を発現している好適な系に組み込まれるポリヌクレオチドは、適切な形態で、例えば、本発明の遺伝子活性の調節を検出するために設計された生物学的実験またはスクリーニングアッセイに適切な形態で、単離しうる。相当するポリペプチドは、適切な形態で、例えば、本発明の遺伝子活性の調節を検出するために設計された生物学的実験またはスクリーニングアッセイに適切な形態で単離することができるか、またはいくつかの場合、相当するポリペプチドを発現している宿主細胞をそのようなアッセイで、直接使用しうる。ポリペプチドは、一般に使用される実験動物で、抗体を産出するために使用することができる。

30

40

【0044】

ポリペプチドの単離および精製は、適切なように、例えば従来の方法にしたがって、例えば適切な方法の組み合わせを含んで、実施しうる。適切な方法には、例えば、発現宿主細胞培養液からの直接の回収、界面活性剤による抽出、酸抽出のような抽出、超遠心分離、密度勾配遠心分離のような遠心分離、硫酸アンモニウム沈殿またはエタノール沈殿のような沈殿、陽イオンまたは陰イオン交換クロマトグラフィー、リン酸セルロースクロマトグラフィー、疎水相互作用クロマトグラフィー、アフィニティークロマトグラフィー、ハイ

50

ドロキシアパタイトクロマトグラフィー、レクチンクロマトグラフィー、高速液体クロマトグラフィーを含むようなクロマトグラフィーが含まれる。本発明のポリペプチドが、単離または精製の間に変性した場合、活性な立体構造の再生、例えばポリペプチドの変性させられた形態から非変性形態へのリホールディングを、適切なように、例えば従来の方法にしたがって、実施しうる。本明細書で他に特に言及しない限り、「単離および精製」には、「共存している物質からの分離」、例えば天然の状態からの「ヒトの手による改変」の意味が含まれる。

【0045】

本発明のポリヌクレオチドまたはポリペプチドまたはベクターまたは発現系または宿主細胞は、研究試薬として、および動物ならびにヒト疾患のための治療の発見に関する物質として使用しうる。そのような疾患には、免疫応答が、疾患に関係している病因、進行および/または悪化症状の主要な要素である疾患が含まれ、例えば、アレルギー性およびアトピー性皮膚炎のような、炎症性皮膚疾患、および腸および大腸、肺および脈管組織のような他の組織で症状が見られる慢性炎症疾患を含む急性および慢性炎症疾患、例えば自己免疫疾患における異常な免疫応答、または移植拒絶においてのような、疾患の治療的処置に関連した望まない免疫応答、例えば癌のような疾患における免疫過剰反応または抑制、および持続性ウイルスまたは細菌感染に関連した疾患が含まれる。例えば、ポリペプチドとカルモジュリンとの間の相互作用のアンタゴニストは、疾患、例えば上記のような疾患に関係している免疫応答において、樹状細胞の活性化に必要なカルシウム媒介性形質導入経路を分断する場合がある。あるいは、例えば、免疫の活性化の間に、本発明の樹状細胞による遺伝子の過剰発現を導く誘導段階のアンタゴニストは、これらの細胞におけるカルシウム媒介性形質導入経路を遮断する場合もある。遺伝子活性が中和されている活性化された樹状細胞は、免疫刺激シグナルの増幅に関係してT細胞応答を調節するか、またはそのように指向する場合がある。

10

20

【0046】

別の態様においては、本発明は、診断試薬として本発明の遺伝子の使用を提供する。

【0047】

機能障害に関連する本発明の遺伝子の、異常な発現または対立遺伝子形態の検出により、疾患または疾患への感受性の診断に加わるまたは定義しうる、例えば診断アッセイにおいてのような、診断ツールが提供される。遺伝子の対立遺伝子変異体は、個々のDNA中で検出することができるか、遺伝子の発現をcDNA中で検出することができるか、または抗体または他の方法を用いて、例えば従来の方法によってタンパク質として検出することができる場合もある。

30

【0048】

診断のためのDNAまたはRNAまたはタンパク質は、血液、尿、唾液、組織生検または死体解剖物質からのような、対象の細胞より得ることができる。ゲノムDNAは、直接検出に使用してよく、または解析の前に、PCRまたは他の増幅技術を用いることで、酵素的に増幅してよい。RNAまたはcDNAもまた、同様に解析に使用することができる。

【0049】

欠失および挿入は、正常の対象由来の増幅産物と比較して増幅産物の大きさの変化によって検出しうる。点変異は、標識されたBASP1遺伝子ヌクレオチド配列に対する増幅されたDNAのハイブリダイゼーションによって同定することができる。完全にマッチした配列は、例えばRNase消化、または融点温度の差異によって、ミスマッチ二本鎖から区別可能である。DNA配列の差異はまた、変性剤を含むかまたはそれを含まないゲル中でのDNA断片の電気学移動度の変化によって、あるいは、例えばMyersら, Science (1985) 230: 1242にしたがう直接DNA配列決定によっても検出することができる。特定の局所での配列変化はまた、RNaseおよびS1保護のようなヌクレアーゼ保護アッセイ、またはCottonら, Proc Natl Acad Sci USA (1985) 85: 4397 - 4401にしたがう化学的開裂方法によって明らかにすることができる。本発明のポリヌクレオチド配列またはその断片を含むオリゴヌクレオチドプローブのアレイを、例えば特定の対立遺伝子遺伝的多型の十分なスクリーニングを達成

40

50

するために構築しうる。アレイ技術方法は、例えば、遺伝子発現、遺伝子の連結、および例えばM. Cheeら, Science (1996) 274: 610 - 613にしたがう遺伝的可変性を含む、分子遺伝学における種々の疑問を扱うために使用可能である。

【0050】

発現の減少または増加は、例えば、PCR、RT-PCR、RNase保護、ノザンプロットイングおよび他のハイブリダイゼーション方法によって、対象の細胞中で発現されたRNAから決定しうる。対象の細胞中のポリペプチドのようなタンパク質のレベルを決定するために使用することができるアッセイ技術は、例えば従来の方法によって実施することができる。そのようなアッセイ技術には、ペプチドに対して調製した抗体を用いる、ラジオイムノアッセイ、競合結合アッセイ、ウエスタンブロットアッセイおよびELISAアッセイ、例えば二

10

【0051】

診断アッセイは、例えば従来の方法を含む上記の方法にしたがって、本発明の遺伝子の対立遺伝子多型および異常な発現の検出を介して、例えば、アレルギー性およびアトピー性皮膚炎のような、炎症性皮膚疾患、および腸および大腸、肺および脈管組織のような他の組織で症状が見られる慢性炎症疾患を含む急性および慢性炎症疾患、例えば自己免疫疾患における異常な免疫応答、または移植拒絶においてのような、疾患の治療的処置に関連した望まない免疫応答、例えば癌のような疾患における免疫過剰反応または抑制、および持続性ウイルスまたは細菌感染に関連した疾患の罹患しやすさを診断または決定するための

20

【0052】

したがって、別の態様において、本発明は、以下の

(a) 例えば記載したような変異体または断片を含む、本発明の遺伝子、

(b) (a)の配列と相補的なヌクレオチド配列、

(c) 本発明のポリペプチド、例えばそれに対して少なくとも80%同一性を持つアミノ酸配列のポリペプチドを含み、例えば本発明の上記ポリペプチドに対して、少なくとも80%同一性を持つアミノ酸配列のポリペプチドの断片または変異体、あるいは

(d) 本発明のポリペプチドに対する抗体、

を含む、上記のような疾患、または疾患の罹患しやすさに関する、診断キットを提供する

30

【0053】

任意のそのようなキットにおいて、(a)、(b)、(c)または(d)は、例えば試験すべき試料の適切な環境、および例えば、試験すべき試料中のa)、b)、c)またはd)のいずれかの作用を測定するための適切な方法を含む、十分な要素を含みうる。

【0054】

本発明の遺伝子(ポリヌクレオチド)はまた、染色体の同定に有用である場合もある。配列を、個々のヒト染色体上の特定の位置に対して特異的に標的化され、そしてそこにハイブリダイズさせることが可能であり、そして/または配列は、GenBank染色体配列データベースエントリーにおいて同定することもできる。例えばウイルス性疾患および関節炎を含む多くの疾患への罹患しやすさは、齧歯類においてそのような方法によって染色体上に位置づけられてきた。本発明による染色体への配列のマッピングは、遺伝子が関係している疾患と、これらの配列を相関させる重要な第一の段階である。いったん配列を、正確な染色体位置に位置づけると、染色体上での配列の物理的位置を遺伝マップデータと相関させることができる。そのようなデータは、例えばMcKusick, Mendelian Inheritance in Man (Johns Hopkins University Welch Medical Libraryを介してオンラインで入手可能)にて見られる。同一の染色体領域に位置づけられた、遺伝子と疾患の関係は、連鎖分析(定義された染色体領域内に物理的に局在化している遺伝子配列の共同相続)により同定することができる。罹患した個体と罹患していない個体との間でのcDNAまたはゲノム配列の差異をもまた決定することができる。変異が、一部または全ての罹患した個体におい

40

50

て観察されるが、正常な個体では観察されない場合には、上記の変異は、おそらく疾患、または疾患の罹患の原因因子であり、例えば疾患の兆候の発現または進展に関して必要な関連する生物学的活性に関係している機構の因子である可能性がある。

【0055】

別の態様において、本発明は、例えば *in vivo* で、本発明の遺伝子機能研究のための実験室研究に有用な、遺伝的に改変された動物、例えばマウスまたはラット、例えば *D. melanogaster* または *Caenorhabditis* のような低級真核細胞を提供し、そこでオルトログ遺伝子座または他の座におけるオルトログまたは相同遺伝子配列が改変され、例えば生殖型細胞または他の適切な細胞中での相同組換えまたは非相同組換え方法、および一般に使用される繁殖技術によって作成される。そのような技術の概論に関しては、例えば Capecchi, M. , Science 244 [1989] 1288 - 1292、Benoist, C. and D. Mathis, Curr. Opin. Immunol. 5 [1993] 900 - 902、Charreau, B. ら, Transgenic Res. 5 [1996] 223 - 234、Moreadith, R. W. and N. B. Radford, J. Mol. Med. 75 [1997] 208 - 216、Nomura, T. , Lab. Anim. Sci. 47 [1997] 113 - 117、Cohen - Tannoudji, M. and C. Babinet, Mol. Hum. Reprod. 4 [1998] 929 - 938 を参照のこと。そのような遺伝的改変には、例えば本明細書で記載したような、オルトログ遺伝子座または他の座における、例えば上記のような、発現系の一部であり得る、例えばオルトログまたは相同遺伝子配列の置換、例えばまたはその断片または変異体、例えばオルトログ遺伝子座または他の座における任意の上記配列の挿入、例えばオルトログ遺伝子座または他の座における任意の上記配列の欠失が含まれうる。そのような遺伝的改変には、記載したような安定な改変が含まれ得、または、例えば特定の欠失事象、または例えば上記挿入または置換配列の発現が、選別された細胞内でのみ、または遺伝的に改変された生物の適切な処置において選択された細胞で起こりうる、条件的改変が含まれうる。上記の任意の遺伝的変異体は、例えば特定のチャレンジに対して非常に感受性の遺伝的背景内で、特定の免疫応答に影響を与えるように、例えば特定のチャレンジに続くより再現可能であるかまたは鋭い免疫応答に影響を与えるように、例えばヒトで観察されたもののより特徴であり得るか、または *in vivo* での複雑な生命相互作用の研究のために、他の生物学的系における特定の応答に影響を与えるように、他の座において交配または遺伝子操作された、チャレンジに対する応答における免疫応答に影響を与えるように、他の座において交配または遺伝子操作された実験動物中で産出することができる。

10

20

30

【0056】

別の態様において、本発明は、*in vivo* での遺伝子機能研究のための実験室研究に有用である、遺伝的に改変した動物、例えばマウスまたはラット、例えば *D. melanogaster* または *Caenorhabditis* のような遺伝的に改変された下等真核細胞を提供し、そこでオルトログ遺伝子座または他の座でオルトログまたは相同遺伝子配列が改変され（正常な未改変の遺伝子配列と比較して）、例えば生殖型細胞または他の適切な細胞中での相同組換えまたは非相同組換え方法、および一般に使用される繁殖技術によって作成される。

【0057】

実験動物の遺伝的改変に関する技術の概論に関しては、例えば Capecchi, M. , Science 244 [1989] 1288 - 1292、Benoist, C. and D. Mathis, Cur. Opin. Immunol. 5 [1993] 900 - 902、Charreau, B. ら, Transgenic Res. 5 [1996] 223 - 234、Moreadith, R. W. and N. B. Radford, J. Mol. Med. 75 [1997] 208 - 216、Nomura, T. , Lab. Anim. Sci. 47 [1997] 113 - 117、Cohen - Tannoudji, M. and C. Babinet, Mol. Hum. Reprod. 4 [1998] 929 - 938 を参照のこと。そのような遺伝的改変には、改変配列によるオルトログ遺伝子座または他の座における、本発明の発現系の一部であり得る、例えばオルトログまたは相同遺伝子配列、またはその断片または変異体の置換、例えばオルトログ遺伝子座または他の座における任意の上記配列の挿入、例えばオルトログ遺伝子座または他の座における任意の上記配列の欠失が含まれうる。そのような遺伝的改変には、安定な改変が含まれる場合があり、また、例えば特定の欠失事象、または例えば上記挿入または置換配列の発現が、選別された細胞内でのみ、または遺伝的に改変された生物の適切な処置にお

40

50

いて選択された細胞で起こりうる、条件改変が含まれる場合もある。例えば上記のような、任意の遺伝的変異体は、例えば特定のチャレンジに対して非常に敏感な遺伝的背景において、特定の免疫応答に影響を与えるために、例えば特定のチャレンジに続くより再現可能であるか、または鋭い免疫応答に影響を与えるために、例えばヒトで観察されたものより特徴であり得るか、または *in vivo* で、複雑な生命相互作用を研究するために、他の生物学的系における特定の応答に影響を与えるために、他の座において交配または遺伝子操作された、チャレンジに対する応答における免疫応答に影響を与えるために、他の座において交配または遺伝子操作された実験動物内で産出することもできる。

【0058】

別の態様において、本発明は、本発明の、例えば表1に列記したようなポリペプチド配列の、例えばその断片または変異体を含む、例えば本明細書に記載したようなポリペプチドに対する（単離された）抗体を提供する。 10

【0059】

本発明のポリペプチドまたはそのようなポリペプチドを発現している細胞は、相当するポリペプチドに対して免疫特異的な抗体を産出するための、免疫源として使用しうる。語句「免疫特異的」は、先行技術における、他の関連するポリペプチドに対するその親和力よりも、上記ポリペプチドに対する親和力が実質的に大きい抗体を意味する。

【0060】

本発明のポリペプチドに対して産出された抗体は、ポリペプチドまたはエピトープを保有している断片、アナログまたは発現細胞を、動物、好ましくは非ヒト動物に対して、一般的なプロトコルを用いて投与することによって得ることができる。モノクローナル抗体の調製に関して、例えば、ハイブリドーマ技術（Kohler, G. and C. Milstein, Nature 256 [1975] 495 - 497）、トリオーマ技術、ヒトB細胞ハイブリドーマ技術（Kozborら, Immunology Today 4 [1983] 72）、およびEBV-ハイブリドーマ技術（Coleら, In Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, pp. 77 - 96, Alan R. Liss, Inc. [1985]）を含む、例えば連続的な細胞株の培養によって産出される抗体を提供する、任意の技術を使用しうる。 20

【0061】

単鎖抗体の産出のための技術（米国特許第4,946,778号）はまた、GID2ポリペプチドに対する単鎖抗体を産出するように適合させることができる。また、トランスジェニックマウス、または他の哺乳動物を含む他の生物を、ヒト化抗体を発現させるために使用することができる。上記のような抗体を、適切なように、例えば本発明のポリペプチドを発現している宿主細胞の単離または同定において、例えばアフィニティークロマトグラフィーによる本発明のポリペプチドの精製に、使用することもできる。 30

【0062】

本発明のポリペプチドに対する抗体はまた、例えば、免疫応答が、疾患に関係している病因、進展および/または悪化症状の第一要素である疾患を含む、疾患の処置に有用であり得る。

【0063】

本発明の抗体には、例えば、本発明のポリペプチドと、ウイルス、細菌または真核生物寄生生物のポリペプチド、または本発明のポリペプチドと同一の細胞中または第2の細胞中のいずれかで発現される第2の宿主遺伝子によってコードされるポリペプチドとに結合する二重特異的抗体が含まれる。 40

【0064】

別の態様において、本発明は、本発明のポリペプチドに結合し、かつウイルス、細菌または真核寄生生物の第2のポリペプチドに結合する二重特異的抗体を提供し、例えばそこで、上記第2のポリペプチドは、本発明のポリペプチドと同じ細胞中または例えば癌細胞を含む第2の細胞中のいずれかで発現されうる、第2の宿主遺伝子によってコードされる。

【0065】

二重特異的抗体の代わりに、本発明のポリペプチドと、ウイルス、細菌または真核細胞寄 50

生生物のポリペプチド、または本発明のポリペプチドと同一の細胞中、または例えば癌細胞のような、第2の細胞中のいずれかで発現されうる、第2の宿主遺伝子によってコードされるポリペプチドとに結合する能力を持っている他の二重特異的薬剤も使用しうる。

【0066】

別の態様において、本発明は、本発明のポリペプチドと、ウイルス、細菌または真核寄生物とに、または癌細胞とに結合する能力を持つ、抗体ではない二重特異的薬剤を提供する。

【0067】

別の態様において、本発明は、上記哺乳動物に、上記哺乳動物を、例えば免疫応答が、疾患に関係している病因、進行および/または悪化症状の第一要素である疾患を含む疾患から保護するために、抗体および/またはT細胞免疫応答を産出するのに十分な量で、本発明のポリペプチドを接種することを含む、哺乳動物の免疫応答を誘導するための方法を提供する。

10

【0068】

別の態様において、本発明は、上記哺乳動物を疾患から保護するように抗体および/またはT細胞の免疫応答を生じるための免疫学的応答を誘導するために、*in vivo*で、相当するポリヌクレオチドの発現を指向するベクターを介して、本発明のポリペプチドを伝送することを含む、哺乳動物の免疫応答を誘導する方法を提供する。他の態様においては、哺乳動物に導入したときに、本発明のポリペプチドに対して哺乳動物の免疫応答を誘導する、免疫学的/ワクチン処方(組成物)を提供し、そこで上記処方には、本発明のポリペプチド、本発明のポリヌクレオチドを含む発現ベクター、または本発明のポリヌクレオチドを含む発現ベクターを含む、処理される哺乳動物からの細胞を含んでいる、宿主細胞が含まれる。

20

【0069】

ワクチン処方にはさらに、適切な担体を含む。本発明のポリペプチドは、消化系で分解されるので、上記ワクチン処方には、好ましくは(皮下、筋肉内、静脈内、皮内などの注射を含む)非経口で投与される。非経口投与に適切な免疫学的/ワクチン処方には、抗酸化剤、緩衝液、静菌剤、および処方をレシピエントの血液と等張にする溶質を含みうる、水性および非水性無菌注射溶液、および、懸濁剤または増粘剤を含みうる、水性または非水性無菌懸濁液が含まれる。処方には、単位用量投与または多用量投与容器、例えば密封アンブルおよびバイアル中に存在しえ、使用の直前に、無菌液体担体の添加のみが必要な、凍結乾燥状態で保存可能である。ワクチン処方にはさらに、添加物、例えば、ワクチン処方における従来の添加物と同様の添加物を含むことができ、例えば油中水系を含む適切な系の形態であり得る。投与量は、例えば特定の活性および安定性に依存し、通常の実験によって簡単に決定することができる。

30

【0070】

別の態様において、本発明は、免疫系の樹状細胞中のポリペプチド活性および発現の、アゴニストおよびアンタゴニストについてのスクリーニングアッセイを提供する。本発明のポリペプチドは、多くの病変を含む、多くの生物学的機能の原因であり得る。したがって、一方で、本発明のポリペプチドの活性または本発明の遺伝子の発現を刺激する化合物および薬剤(アゴニスト)、他方で、本発明のポリペプチドの機能または本発明の遺伝子の発現を阻害可能な(アンタゴニスト)、化合物および薬剤を見つけることが好ましい。例えばColiganら, *Current Protocols in Immunology* 1(2): Chapter 5(1991)により、ポリペプチドまたは機能的ミメティックを、例えばスクリーニングアッセイにおいて、例えば細胞、細胞を含まない調製物、化学的ライブラリー、および天然の産物混合物内で、ポリペプチドのアゴニストまたはアンタゴニストの結合を評価するために使用することもできる。

40

【0071】

スクリーニング手順には、本発明のポリペプチドを発現する適切な細胞の産出を含みうる。適切な細胞には、例えば哺乳動物、酵母またはDrosophila由来の細胞が含まれる。本発

50

明のポリペプチドを発現している細胞は、機能的応答の刺激または阻害、あるいはポリペプチド発現または生化学的活性のレベルに対する作用、あるいはその発現が、本発明の遺伝子発現を制御する転写エレメントによる制御を受ける、マーカー遺伝子の刺激または阻害を観察するために、試験化合物と接触させる（試験化合物に対して暴露する）ことが可能である。あるいは、精製したポリペプチド、または物理的に相互作用する他のポリペプチドを含む混合物を、ポリペプチドへの結合、または混合液中他のポリペプチドに結合するポリペプチドに対する化合物の作用を観察するために、試験化合物と溶液中で接触させる（暴露する）ことが可能である。

【0072】

スクリーニングアッセイは、例えばポリペプチドを発現している細胞に適切な検出系を用いて、候補化合物が、ポリペプチドの活性によって産出されるシグナルの変化を生じるかどうかを試験するために、本発明のポリペプチドを発現している細胞中で使用することができる。そのような作用は、ポリペプチドの作用の「下流」と言われる。例えば、本発明のポリペプチドからなる発現系を保持している細胞中、好ましくは、樹状細胞または本発明と同様の特性の細胞中で、ポリペプチドの活性の阻害因子をもまた、ポリペプチド活性に依存する、第2の細胞性遺伝子産物の活性の阻害に影響を与える。もっとも好ましくは、第2の遺伝子産物の活性のアッセイは、特異的ハイスループットアッセイに適切であり、感度よい、例えば比色分析、蛍光、リン光、放射分析または抗体技術、すなわち例えば、従来技術により当業者によって、簡単に測定することができる場合もある。「レポーター遺伝子アッセイ」と言われる第2の型のスクリーニングアッセイは、本発明の発現系を保持している細胞中で使用され得、これは、トランスジーンが発現が、天然の遺伝子プロモーターによって制御され、トランスジーンには、本発明にしたがって、その発現レベルによって検出されるマーカー遺伝子に融合させられた本発明の組換え体ポリペプチドを含むベクターが含まれる。例えば、プロモーターおよび*E. coli* - ガラクトシダーゼポリペプチドに融合された組換え体ポリペプチドトランスジーンからなる発現系を保持している細胞中で、好ましくは、樹状細胞または本発明と同様の特性の細胞中では、本発明の遺伝子の発現の阻害因子は、トランスジーンが発現の際の影響によるアッセイにおいて模倣される。これは例えば、*-*ガラクトシダーゼ融合ポリペプチドの *-*ガラクトシダーゼエステラーゼ酵素活性によって、簡単に測定することができ、多くのそのような融合マーカー遺伝子は、例えば、ルシフェラーゼおよびアルカリホスファターゼのような他の酵素として、例えば適切な抗体によって検出することができる、すなわち、従来の方法を用いる本技術分野の技術にしたがって検出することができるエピトープタグとして公知である。

【0073】

例えば（ポリ）ペプチド、モノクローナル抗体、低分子量化学物質、アンチセンスオリゴヌクレオチドを含む、本発明のポリペプチドのアゴニストおよびアンタゴニストは、免疫調節活性を有している場合があり、例えば、アレルギー性およびアトピー性皮膚炎のような、炎症性皮膚疾患、および腸および大腸、肺および脈管組織のような他の組織で症状が見られる慢性炎症疾患を含む急性および慢性炎症疾患、例えば自己免疫疾患における異常な免疫応答、または移植拒絶においてのような、疾患の治療的処置に関連した望まない免疫応答、例えば癌のような疾患における免疫過剰反応または抑制、および持続性ウイルスまたは細菌感染に関連した疾患のような疾患の処置に使用することができる。

【0074】

スクリーニングアッセイは、混合物を形成するために、候補化合物を本発明のポリペプチドを含む溶液と混合すること、ポリペプチドへの化合物の結合を検出することの段階を含み得、例えば、ポリペプチドと化合物との間で形成された複合体は、例えば、検出される、固有の生物物理学的特性を変化させる場合があり、例えば特異的抗体とのポリペプチドの反応性を減少させる場合がある。

【0075】

あるいは、本発明のポリペプチドと化合物との間で形成される複合体は、本発明にしたが

って、カルモジュリンポリペプチドに対して改変された結合特性を有する場合がある。ここではアッセイは、例えば、基質とカルモジュリンポリペプチドの複合体の改変された固有の生物物理学的特性によって、化合物が全く存在しない場合のそのような結合と比較して、ポリペプチドを試験化合物と混合する第一段階、カルモジュリンポリペプチドを混合液に加える第2の段階、および対応する基質とカルモジュリンポリペプチドの結合に対する化合物の効果を測定する第三段階からなる。

【0076】

したがって、別の態様において、本発明は、本発明のポリペプチドの産出および、または生物学的活性を減少または増加させる、例えば化学的ライブラリーおよび天然の産物のライブラリー中の低分子量化合物を含むアゴニストまたはアンタゴニスト、ならびにアンチセンスオリゴヌクレオチドを同定するためのスクリーニングのためのアッセイを提供する。例えば、

10

(a) 本発明のポリペプチド、または本発明の、マーカーポリペプチドに融合した改変ポリペプチド、

(b) 本発明のポリペプチド、または本発明の、マーカーポリペプチドに融合した改変ポリペプチドを含む発現系を保持している宿主細胞、

(c) 本発明の融合ポリペプチドを発現するマーカーポリヌクレオチドに融合した、遺伝子プロモーターおよび組換え体ポリヌクレオチドトランスジーンを含む、発現系を保持している宿主細胞、あるいは

(d) 本発明のポリペプチド、または本発明の、マーカーポリペプチドに融合した改変ポリペプチドに対する抗体、

20

を含むアゴニストまたはアンタゴニストを同定する方法を提供する。そして例えば、候補化合物との接触のための手段、および例えば、a)、b)、c)またはd)のいずれかに対する候補化合物の影響を検出するための手段、例えば候補化合物の存在下と不在下とでの、a)、b)、c)またはd)のいずれかの活性を比較することによる、例えば、候補化合物の存在下で、本発明の遺伝子の発現および/または生物学的活性において、減少または増加があるかどうかを決定するための方法を提供する。

【0077】

任意のそのようなスクリーニングアッセイにおいて、a)、b)、c)またはd)は十分な要素を含みうるということが明らかである。

30

【0078】

候補化合物には、本発明のスクリーニングアッセイにおいて、a)、b)、c)またはd)のいずれかに対する作用が未知である、例えば天然または合成化合物ライブラリー、すなわち化学的要素の合成集合内に存在する、上記のような化学テロ構成要素の任意の1つが含まれる。

【0079】

アンタゴニストまたはアゴニストは、a)、b)、c)またはd)のいずれかに対する作用が、スクリーニングアッセイ、または上記のようなアンタゴニストまたはアゴニストを同定するための方法を用いて発見されている候補化合物である。アンタゴニストまたはアゴニストは、本発明の遺伝子の発現および、または生物学的活性を、それぞれ減少または増強する場合がある。

40

【0080】

別の態様において、本発明は、本発明の遺伝子の発現および、または生物学的活性のアンタゴニストまたはアゴニストを提供する。これは、上記アンタゴニストまたはアゴニストを、上記のスクリーニングおよび同定方法によって提供することができることに特徴がある。

【0081】

別の態様において、本発明は、免疫調節活性を持ち得、例えば、アレルギー性およびアトピー性皮膚炎のような、炎症性皮膚疾患、および腸および大腸、肺および脈管組織のような他の組織で症状が見られる慢性炎症疾患を含む急性および慢性炎症疾患、例えば自己免

50

疫疾患における異常な免疫応答、または移植拒絶においてのような、疾患の治療的処置に関連した望まない免疫応答、例えば癌のような疾患における免疫過剰反応または抑制、および持続性ウイルスまたは細菌感染に関連した疾患のような疾患の処置において、治療的介入として使用しうる、上記のようなアンタゴニストまたはアゴニストを提供し、例えば本発明の遺伝子の発現および、または生物学的特性のアンタゴニストまたはアゴニストを提供する。上記アンタゴニストまたはアゴニストは、以下の方法段階、

A)

(a) 表1のポリペプチド、

(b) 表1のポリペプチドを含む発現系を保持している宿主細胞、

(c) 遺伝子プロモーター、および表1の融合ポリペプチドを発現するマーカーポリペプチドに融合された組換え体ポリヌクレオチドトランスジーンを含む、発現系を保持している宿主細胞、または、

(d) 表1のポリヌクレオチドに対する抗体、

を候補化合物と接触させること、

B) a)、b)、c) またはd) のいずれかに対する候補化合物の作用を測定すること、

C) 段階B) で測定したアゴニストまたはアンタゴニストを選択すること、

によって提供されうることを特徴とする。

【0082】

本発明のアンタゴニストまたはアゴニストは、疾患の処置における治療的介入として有用であり得る。

【0083】

別の態様において、本発明は、医薬品としての使用のために、本発明のアンタゴニストまたはアゴニストを提供する。

【0084】

そのような使用のために、種々のアプローチが利用可能である。本発明の樹状細胞または同様の生物学的機能の免疫系の細胞中での本発明の遺伝子の活性が、疾患において過剰に存在する場合、1つのアプローチには、本発明の遺伝子、すなわち遺伝子のポリペプチドの発現または活性を阻害するのに効果的な量で本発明のアンタゴニストを、例えば薬理学的に許容可能な賦形剤と組み合わせて対象に投与すること、あるいは本発明の遺伝子の活性に依存する第2の活性に影響を与え、それによって疾患に関係している異常な状態を緩和することが含まれる。本発明の樹状細胞または同様の生物学的機能の免疫系の細胞中での本発明の遺伝子の活性が、疾患において不足している場合、1つのアプローチには、本発明の遺伝子、すなわち遺伝子のポリペプチドの発現または活性を増強するのに効果的な量の本発明のアゴニストを、例えば薬理学的に許容可能な賦形剤と組み合わせて、対象に投与すること、または本発明の遺伝子の活性に依存する第2の活性に影響を与え、それによって疾患に関係している異常な状態を緩和することが含まれる。

【0085】

別の態様において、本発明は、本発明の樹状細胞または同様の生物学的機能の免疫系の細胞中での本発明の遺伝子の発現または活性のアンタゴニストまたはアゴニストを提供する。これは、上記アンタゴニストまたはアゴニストによって処理されたかまたは処理されない、ならびに/あるいは影響を受けるかまたは受けないかのいずれかである、他の型の細胞または同様の細胞と相互作用する、すなわちこれらの細胞に対する生物学的作用を有しているそのような細胞の生物学的活性を変化させる。

【0086】

例えば、T細胞は、アンタゴニストまたはアゴニストを対象に投与し、それにより対象の樹状細胞とT細胞両方を、薬剤に対して暴露することによって、本発明のアンタゴニストまたはアゴニストでの処理によって変更される樹状細胞との相互作用によって、刺激されるかまたはエネルギーを与えられうる。

【0087】

また別のアプローチにおいて、本発明の樹状細胞または同様の生物学的機能の免疫系の細

10

20

30

40

50

胞中での本発明の遺伝子の発現は、発現遮断技術を用いて阻害することができる場合もある。そのような公知の技術には、例えば、O'Connor, J. Neurochem (1991) 56: 560、「Oligodeoxynucleotides as Antisense Inhibitor of Gene Expression」, CRC Press, Boca Raton, Fla. (1988) により内部で合成されたかまたは別に投与されたか野いづれかであるアンチセンスオリゴヌクレオチドの使用が含まれる。あるいは、オリゴマー、例えば本発明の遺伝子とともに三重ヘリックスを形成するオリゴヌクレオチドを、例えばLeeら, Nuc Acids Res (1979) 6: 3073、Cooneyら, Science (1988) 241: 456、Dervanら, Science (1991) 251: 1360にしたがって、提供することもできる。そのようなオリゴマーは、それ自体投与することができ、また、in vivoで発現させることができる場合もある。

10

【0088】

本発明の樹状細胞または同様の生物学的機能の免疫系の細胞中での本発明の遺伝子の発現の不足に関係している疾患における異常な状態の処置に関して、遺伝子治療が、治療される対象中の関連している細胞により、本発明のトランスジーンとしての遺伝子の外来発現に影響を与えるように使用することができる場合もある。例えば、本発明の遺伝子は、複製欠損レトロウイルスベクター中で発現するように操作することができる。得られたレトロウイルス発現構造物は、上記構造物で形質導入したパッケージング細胞中に単離し、導入することができ、それにより本発明の遺伝子の発現系の導入の原則を含む感染性ウイルス粒子が産出することができる。上記ウイルス粒子を単離し、治療として、対象に直接投与することが可能であるか、または、まず発現系の確立のために対象の単離した細胞に投与し、次いで上記の処理した単離細胞を、対象内に再度導入する。あるいは、遺伝子治療は、本発明の樹状細胞または同様の生物学的活性の免疫系の細胞中での内因性遺伝子の過剰な発現に関係している疾患における異常な状態の治療として、その活性が、例えば、遺伝子のトランスドミナント阻害因子形態により形成される発現系を確立するために、使用することもできる。遺伝子治療の概論に関しては、例えば、Human Molecular Genetics, T Strachan and AP Read, BIOS Scientific Publishers Ltd (1996) 内の「Gene Therapy and other Molecular Genetic - based Therapeutic Approaches」20章（および該文献にて引用されている文献）を参照のこと。

20

【0089】

さらなる態様において、本発明は、本発明の治療有効量のアゴニストまたはアンタゴニストを治療が必要な対象に投与することを含む、本発明の遺伝子の発現の、過剰な、および不十分なレベル両方に関連した、あるいは本発明のポリペプチドの過剰および不十分な活性両方に関連した、異常状態を処置する方法を提供する。これには、例えば本発明の、樹状細胞、または同様の生物学的機能の免疫系の細胞における、遺伝子の発現または活性の過剰または不足、または異常な活性いづれかに関連した疾患における異常な状態を処置する方法が含まれる。上記の任意のアプローチによって、そのような疾患には、例えば、アレルギー性およびアトピー性皮膚炎のような、炎症性皮膚疾患、および腸および大腸、肺および脈管組織のような他の組織で症状が見られる慢性炎症疾患を含む急性および慢性炎症疾患、例えば自己免疫疾患における異常な免疫応答、または移植拒絶においてのような、疾患の治療的処置に関連した望まない免疫応答、例えば癌のような疾患における免疫過剰反応または抑制、および持続性ウイルスまたは細菌感染に関連した疾患のような疾患が含まれる。

30

40

【0090】

さらなる態様において、本発明は、治療を必要としている対象へ、本発明の、治療有効量のアゴニストまたはアンタゴニスト、好ましくはアンタゴニストを投与することを含む、例えば、アレルギー性およびアトピー性皮膚炎のような、炎症性皮膚疾患、および腸および大腸、肺および脈管組織のような他の組織で症状が見られる慢性炎症疾患を含む急性および慢性炎症疾患、例えば自己免疫疾患における異常な免疫応答、または移植拒絶においてのような、疾患の治療的処置に関連した望まない免疫応答、例えば癌のような疾患における免疫過剰反応または抑制、および持続性ウイルスまたは細菌感染に関連した疾患のよ

50

うな疾患の処置の方法を提供する。

【0091】

さらなる態様において、本発明は、治療有効量の、本発明のアゴニストまたはアンタゴニスト、例えば本発明の遺伝子の発現または活性のアゴニストまたはアンタゴニストを、薬理的に許容可能な担体/賦形剤と組み合わせて含む薬理的組成物を提供する。

【0092】

さらなる態様において、本発明は、治療を必要としている対象に薬理的組成物の形態で治療有効量のアゴニストまたはアンタゴニストを投与することによる、上記のような疾患を処置する方法を提供する。

【0093】

本発明の薬理的組成物の全身投与の好ましい形態には、注射、典型的には静脈内注射が含まれる。皮下、筋肉内または腹腔内のような、他の注射経路も使用しうる。全身投与の他の方法には、例えば胆汁塩またはフシジン酸または他の界面活性剤のような浸潤剤、またはジメチルスルホキシドまたはアルコール類のような溶媒を用いる、経粘膜および経皮投与が含まれる。さらに、腸溶性またはカプセル封入処方適切に処方される場合、経口投与も可能であり得る。本発明の組成物の投与にはまた、例えば、スレープス、パッチ、ゲルの形態などのような、局所および/または局在でもあり得る。

【0094】

必要な投与量範囲は、選択されるアゴニストまたはアンタゴニスト、投与経路、薬理的組成物の性質、処置する対象の臨床状態、および使用者の判断に依存しうる。しかしながら、適切な用量は、対象の体重1kgあたり、0.1~100 μ gのアゴニストまたはアンタゴニストの範囲である。しかしながら、入手可能な化合物の種類、および種々の投与経路の異なる有効性の観点から、必要な用量の変量を予測することができる。例えば、経口投与は、静脈内注射による投与に比べて高い用量が必要であることが予測される。これらの投与量レベルの変量は、例えば、最適化のための標準的な経験的作業により調整することができる。

【0095】

治療で使用するポリペプチドまたはポリヌクレオチドはまた、例えば上記のように、しばしば「遺伝子治療」と言われる処置形態にて、例えばそのような治療が必要な対象の中で内部で合成することができる。したがって、例えば対象由来の細胞を、例えば、上記のような導入の原理として、レトロウイルスプラスミドベクターを使用することにより、本発明のポリペプチドまたはポリヌクレオチドをコードするように、DNAまたはRNAのようなポリヌクレオチドで、*ex vivo*にて操作することができる場合もある。

【0096】

別の態様において、本発明は、例えば表1に示したようなポリヌクレオチド配列を含み、相当するポリペプチド配列のタンパク質をコードしている、免疫系のDC中で発現される本発明の遺伝子を提供する。そのDC中での発現は、免疫応答が、疾患に関係している病因、進行および/または悪化症状の主な構成要素である疾患における治療的介入のために、DCにおける特定の分子標的として、炎症性刺激によって調節される。

【0097】

このような疾患として、例えば上記の疾患を挙げることができる。

【図面の簡単な説明】

【0098】

【図1】免疫系中の樹状細胞の活性に関係している、細胞の活性化の特定の条件によって刺激した、樹状細胞中での発現の誘導の関連性を示している、免疫系の樹状細胞および他の細胞型におけるBASP1の発現の解析である。BASP1発現は、左最初の2つのレーンを比較することで示したように、ザイモサン酵母粒子のファゴサイトーシスおよび細胞表面上に発現しているCD40タンパク質の架橋による刺激によって、単球由来樹状細胞内で刺激される。そこでは、発現のレベルは、未刺激および刺激からのmRNAからのcDNAからのDNA合成の繰り返しサイクルによって得た、BASP1の全長コード配列のDNAの相対量により測定し(

10

20

30

40

50

上パネル)、観察された差異は、第2の遺伝子、 β -アクチン(下パネル)のものと比較によって示したように、BASP1遺伝子の発現に特異的である。右に対する上パネルは、多くの型の細胞試料におけるBASP1 mRNA発現のノザンプロットハイブリダイゼーション解析の結果を示しており、右に対する下パネルは、ハイブリダイゼーション解析に使用した同一のプロットの写真である(プロット上に移した細胞RNAの色素染色、これは異なる細胞試料からの同量の全RNAを解析したこと、等しい質の調節RNAを明らかにし、画像中で染色によりもっとも明らかであるリボソームRNA[rRNA]の相対的強度によって判断した)。未刺激および刺激した(レクチンフィトヘムアグルチニン[PHA]による処理)T細胞は、ハイブリダイゼーションによってBASP1はごくわずかな発現を示したかまたは発現を示さず(上右パネルの左最初の2つのレーン)、刺激B細胞(ヤマゴボウ有糸分裂促進物質およびIL-4での処理)はわずかな発現を示し(レーン3)、未刺激単球は、ほとんど、または全く発現を示さないが、一方刺激単球(GM-CSFでの処理)は、検出可能であるが、ただし相対的に低い発現を示し(それぞれレーン4および5)、Flt-3リガンドおよびIL-3の存在下で培養した臍帯血樹状細胞は、ほとんど、または全く発現を示さず、一方でLPSでのそのような細胞の刺激によって検出可能な発現が誘導され(それぞれレーン6および7)、GM-CSF、TNF およびTGF β の存在下で培養した臍帯血樹状細胞は検出可能な発現を示し、これは、LPSによる細胞の処理によって誘導され、細胞の表面上に発現したCD40タンパク質の抗CD40抗体との架橋による処置によってある程度誘導され(それぞれレーン8、9および10)、GM-CSFおよびIL-4の存在下で培養した臍帯血樹状細胞は、ほとんど発現を示さず、これは、LPSでの細胞の処理によって強く誘導される(それぞれレーン11および12)。

【図2】免疫系中のDCの活性に関係している細胞の活性化の特定の条件によって刺激された、DCにおける誘導された発現の関連を示しているDCおよび免疫系の他の細胞型におけるGID2遺伝子(ポリヌクレオチド)の発現の解析である。GID2.1およびGID2.2発現は、左最初の2つのレーンの比較によって示したように、ザイモサン酵母粒子のファゴサイトーシスおよび細胞表面上に発現しているCD40タンパク質の架橋による刺激によって、単球由来樹状細胞内で刺激され、そこでは、発現のレベルは、未刺激および刺激した細胞由来のmRNAからのcDNAからのDNA合成の繰り返しサイクルによって得た、全長コード配列(配列番号3および配列番号5)のDNA断片の相対量より測定する(上パネル)。観察された差異は、第2の遺伝子、 β -アクチン(下パネル)のものと比較によって示したように、GID2 30

ポリペプチドの発現に特異的である。右に対する上パネルは、多くの型の細胞試料におけるGID2 mRNA発現のノザンプロットハイブリダイゼーション解析の結果を示しており、未刺激および刺激した(レクチンフィトヘムアグルチニン[PHA]による処置)T細胞は、GID2発現をほとんど示さず(左パネルの最初の2つのレーン)、未刺激およびLPSで刺激した単球は、ほとんど発現を示さず(それぞれレーン3および4)、未刺激MoDCはわずかな発現を示し、これは、LPSによる刺激によって有意に増加し(それぞれレーン5および6)、未刺激臍帯血DCは、相当レベルの発現を示し、これはさらにLPSでの刺激によって増加し(それぞれレーン7および8)、ホルボールミリステート(PMA)による、TNF α による刺激または未刺激ヒト臍帯静脈上皮細胞(HUVEC)では発現はわずか、または全く検出されなかった(それぞれレーン9、10および11)。

【図3】免疫-炎症性刺激に対する応答における、DCおよび単球の2つの細胞型における発現の誘導の関連を示している、これらの細胞内でのGID3遺伝子の発現の解析である。GID3発現は、左最初の2つのレーンの比較によって示したように、ザイモサン酵母粒子のファゴサイトーシスおよび細胞表面上に発現しているCD40タンパク質の架橋による刺激によって、単球由来樹状細胞内で刺激され、そこでは、発現のレベルは、未刺激および刺激からの(mRNAからの)cDNAからのDNA合成の繰り返しサイクルによって得た、全長コード配列(配列番号8)のDNA断片の相対量より測定する(上パネル)。観察された差異は、第2の遺伝子、 β -アクチン(下パネル)のものと比較によって示したように、GID3遺伝子の発現に特異的である。右に対する上パネルは、多くの型の細胞試料におけるGID3 mRNA発現のノザンプロットハイブリダイゼーション解析の結果を示しており、未刺激単球(右パ 50

ネル内の最初の左レーン)は、GID3の発現を全く示さず、一方でインターフェロン - (IFN -)、細菌リポポリサッカライド (LPS) または顆粒球 - マクロファージコロニー刺激因子 (GM - CSF) による単球の刺激は、GID3発現を有意に増加させる (それぞれレーン2、3および4)。未刺激 (レーン5および10) またはCD40架橋による刺激 (レーン6) いずれかの単球由来DCは、低い、または検出不能なレベルのGID3の発現を示すが、しかし、発現は、ファゴサイトーシス / CD40架橋の組み合わせ (レーン7)、または炎症サイトカイン TNF / IL - 1 の組み合わせ (レーン11) によって、これらの細胞で有意に増加し (左パネルの結果を立証している)、未刺激臍帯血DCは低いレベルの発現を示し (レーン8)、これはCD40架橋によって増加する (レーン9)。

【図4】コンセンサスDUF221配列に対する、GID4タンパク質配列の配列相同性を示している。図4は、HMMソフトウェア (Washington University, St. Louis) を用いたPFAMデータベースリリース6から得た、DUF221 PFAM記号との、配列番号12の位置348 ~ 809のGID4ポリペプチド配列のアライメントである。

【図5】GID4タンパク質内のDUF221ドメインの相対位置によって定義したような、保存された構造構成、および潜在的膜貫通ドメインおよびN - グリコシル化部位の分布を示している。図5において、GID4タンパク質配列番号12の構造配置を、DUF221ドメイン、潜在的膜貫通ドメイン、および潜在的N - グリコシル化部位に関して、相同物ヒトタンパク質 KIA A0792 (TREMBL: 094886) および93.3 / 93.8kDa (TREMBL: Q9P1W3およびQ9P1W1)、およびD. melanogasterタンパク質CD11210 (TREMBL: Q9V364) の配列と比較する。解析の方法は実施例1に記載している。

【図6】DCの刺激に応答するGID4遺伝子発現の誘導を示している。図6において、DCにおけるGID4発現の誘導の特異性を示し、炎症性刺激に対する誘導発現の関連性が示されている、DCおよび免疫系の他の型の細胞におけるGID4遺伝子の発現の解析を示している。GID4発現は、左最初の2つのレーンの比較によって示したように、ザイモサン酵母粒子のファゴサイトーシスおよび細胞表面上に発現しているCD40タンパク質の架橋による刺激によって、単球由来樹状細胞内で刺激され、ここでは、発現のレベルは、未刺激および刺激からの (mRNAからの) cDNAからのDNA合成の繰り返しサイクルによって得た、全長コード配列 (配列番号12) のDNA断片の相対量より測定する (上パネル)。観察された差異は、第2の遺伝子、 - アクチン (下パネル) のものと比較によって示したように、GID4遺伝子の発現に特異的である。右に対するパネルは、多くの型の細胞試料におけるGID2 mRNA発現のノザンプロットハイブリダイゼーション解析の結果を示しており、IL - 2とともに培養した未刺激T細胞 (右パネル中最初の左レーン) はGID4発現を示さないが、一方で刺激T細胞 (レクチンフィトヘムアグルチニンによる処理、レーン2) および刺激B細胞 (ヤマゴボウ有糸分裂促進物質およびIL - 4での処理、レーン3) 中でのGID4発現は、非常に低いレベルではあるが、検出可能である。GID4は、低いレベルで、未刺激単球由来DC (MoDC) にて発現し、細菌リポポリサッカライド (LPS) での刺激により有意に増加する (それぞれレーン4および5)。未刺激MoDCでの発現と比較可能なレベルの発現がまた、GM - CSF / TNF / TGF (レーン7) またはGM - CSF / TNF / IL - 4 (レーン8および10) とともに、臍帯血前駆体細胞を培養することで得られるDCにて見られ、ある程度高いレベルのGID4が、Flt - 3リガンドおよびIL - 3で培養した前駆体細胞由来のLPSで刺激したDCで見られ (レーン6)、GM - CSF / TNF / IL - 4で培養した前駆体細胞から由来するDCの6時間および18時間のLPSでの刺激 (それぞれレーン9および11) は、より長い刺激でのGID4発現における明らかな増加を示す。方法は実施例2で詳述している。

【図7】ベクター対照含有細胞 (U937__ベクター) と比較して、BASP1を異所的に発現する細胞 (U937__BASP) の、LPSでの刺激に続く特異的ELISAによって測定した、IL - 8分泌を示している。

【図8】ベクター対照含有細胞と比較して、エピトープ - タグ化GID2.2ポリヌクレオチドを異所的に発現する抗原提示細胞のFACS解析の結果を示しており、AB4細胞の表面上でのGID2.2の発現を確認している。

【図9】対照ベクター含有AB4細胞と比較して、異所的にGID2.2ポリペプチドを発現して

10

20

30

40

50

いる抗原提示細胞 (AB4) (AB4 - GID2.2) と共培養することによる、T細胞クローン (TCC) の抗原依存刺激を示している。解析において、抗原提示細胞のTCCに対する比は、示唆したように様々である。抗原陰性対照として、50000AB4細胞と50000TCCの1:1混合物も示した。

【実施例1】

【0099】

樹状細胞からの、BASP1、GID2、GID3およびGID4ポリヌクレオチドの単離および配列解析 5' 長が種々である、BASP1、GID2、GID3およびGID4を含むcDNAクローンを、刺激 (ゼイモサンおよび抗CD40抗体) および未刺激樹状細胞mRNAから調製した、cDNAのサブトラクションにより導いた小 (200 - bp) BASP1、GID2、GID3およびGID4プローブとのハイブリッド形成によって、樹状細胞mRNAから調製したcDNAライブラリーから単離し、BLASTNアルゴリズムを用いた、GenBankデータベースとのcDNAクローンの配列の比較によって、NAP22 (BASP1の別名)、AF039656に対するエントリーの配列と > 98% 同一であるとして配列を同定し、またはGIDプローブの場合は、GCG SeqWeb (Wisconsin Package) のFRAMESソフトウェアを用いて同定した。組換え体cDNAファージミドクローンおよび予想されるオープンリーディングフレームの確認のために、コード配列に隣接しているオリゴヌクレオチドプライマーを用いて、熱安定性DNAポリメラーゼ (KlenTaq Polymerase、Clontech (Clontech)) を用いる、合成の繰り返しサイクルによって、樹状細胞cDNAから直接クローンを得た。このように導いた3つの異なるクローンの配列は、以下のコンセンサスを生じた

BASP1ポリペプチドをコードしている配列番号1、
GID2.1ポリペプチドをコードしている配列番号3、
GID2.2ポリペプチドをコードしている配列番号5、(上記コードポリヌクレオチド配列に相当する、ポリペプチド配列番号4および配列番号6)、
GID3ポリペプチドをコードしている配列番号8、(ポリヌクレオチド配列番号8に相当する、ポリペプチド配列GID3 配列番号9)、
GID4ポリペプチドをコードしているコンセンサス配列番号12、(ポリヌクレオチド配列番号12に相当する、ポリペプチド配列GID4 配列番号12)、が産出される。

【0100】

ポリヌクレオチド二本鎖構造の効果的な融解温度を低める、5%ジメチルスルホキシドを含めることが、配列番号1およびAF039656のような関連配列のGCを著しく多く含む配列成分のために、KlenTaqポリメラーゼでの再現性のある合成のために必要である。

i) 配列番号1の翻訳が、SwissProtデータベースエントリー第P80723号のBASP1ポリペプチド配列と100%一致し、これは、タンパク質配列より由来し、すなわち、どの *in vitro* のcDNAまたはDNA合成工程とも無関係であり、そして

ii) 5%ジメチルスルホキシドの存在下で、KlenTaqポリメラーゼを用いる、樹状細胞cDNAから上記のように合成した、3つのBASP1 DNAクローンの配列が、コンセンサス配列番号1と一致する、

ことから、本発明者らは、配列番号1が、樹状細胞中でmRNAとして発現されるBASP1の正確な配列を反映しており、GenBankデータベースエントリー第AF039656号および第NM_006317号 (本発明の最初のセクションに記載した) の配列は不正確であると結論づける。

【0101】

単球に由来する樹状細胞

向流洗浄によって得たヒト単球を、10%ウシ胎児血清を含み、GM-CSF (Novartis AG, Basel, Switzerland) (300U/ml) および rIL-4 (R&D Systems) (200U/ml) を加えた、RPMI1640 (Gibco - BRL, Rockville, MD) 中、 8×10^5 細胞/mlにて、コースター6ウェルプレート (Costar, Chambridge, MA) 内に蒔いた。培養液を、培地の半分を、GM-CSFおよびrIL-4を加えた新鮮な培地と交換することで、3日目に変え、上記の濃度に到達させる。

【0102】

RNA単離、cDNAおよびDNA合成、および組換え体プラスミドクローンの構築

10

20

30

40

50

RNAを、Trizol試薬 (Gibco - BRL、Rockville MD) を用いて単離した。cDNAを、SuperScript (変異によって破壊されたRNaseH活性)、Moloney白血病ウイルス逆転写酵素、RNaseH、およびE.coliから精製したDNAポリメラーゼおよびDNAリガーゼ (Gibco - BRL、Rockville MD) より合成し、cDNAライブラリーに関しては、cDNAを、リンカー - アダプターのライゲーション、設計にしたがった制限酵素SalIおよびNotIによる特異的消化、SalI - NotI挿入物としての、pSPORT1プラスミドベクターDNA (Gibco - BRL、Rockville MD) 内へのライゲーションによって改変した。

【0103】

cDNA鋳型から直接のDNAの独立変異体に関して、DNA合成の繰り返しサイクルを、以下の合成オリゴヌクレオチド

BASP1 DNAに関して、

5' - CGAGCCGAACTCCAAGATGG - 3' および 5' - GGTCCTTGTCCTCTTTTCACG - 3'、

GID2.1 DNAに関して、

5' - CCACGCATGACGGTGCATG - 3' および 5' - GGAAACTCAGGGTATTCCCAC - 3'、

GID2.2 DNAに関して、

5' - ATGGGCGCCCTCAGGCCAC - 3' および 5' - TCACCGTTTTCGAAGCCTCTTC - 3'、

GID3およびGID4に関して、

5' - GGCGCCATGAGTGGCGGCGG - 3' および 5' - GGTGCTGGGAGGTCAGATGTCG - 3'、

(全てGenset、Parisより)

の伸張産物として、5% (v/v) ジメチルスルホキシドの存在下、(ポリメラーゼエラーの頻度を低減するために、3' - 5' エキソヌクレアーゼルーフリーディング活性を含む) KlenTaq熱安定性DNAポリメラーゼ (Clontech) を用いて行い、つづいてDNAポリメラーゼ (New England Biolabs) のKlenow断片で末端修復し、その末端が同じ酵素で平滑断片にされているEcoRI消化pSPORT1プラスミドベクターDNA内にライゲーションすることで実施する。

【0104】

DNA配列のアライメントおよびデータベースの解析

アルゴリズムClustalWを、DNA配列のアライメントに使用し、BLASTNアルゴリズムを、Gen Bank - EMBL DNA配列データベースに存在する類似の配列を同定するために使用し、BLASTXアルゴリズムを、DNAによってコードされているポリペプチド配列と類似の配列を、Swiss Protタンパク質配列データベース内で同定するために使用する。

【0105】

膜貫通ヘリックス予測を、G. von Heijne, J. Mol. Biol. 225 [1992] 487 - 494にしたがって実施する。ポリペプチドモチーフを、Protein SiteおよびPatternsのPROSITE DictionaryのMotif検索によって得る。HMMPFAMを、HMMデータベース、HMMER2.1.1 [1998年12月]、Washington University School of Medicineの検索によって得る。

【実施例2】

【0106】

樹状細胞および免疫系の他の細胞中でのBASP1、GID2、GID3およびGID4 mRNAの発現

単球、T細胞およびB細胞を、遠心洗浄によって濃縮して、末梢血より単離し、臍帯血樹状細胞を、臍帯血より前駆体細胞として得、未成熟細胞へのその分化を促進する因子の存在下で培養する。RNAの単離、cDNA合成および熱安定性DNAポリメラーゼを用いるDNA合成の繰り返しサイクルを、上記のように実施する。電気泳動によるRNAの分離、プロッティングおよび合成オリゴヌクレオチドプローブとのハイブリッド形成 (ノザンハイブリッド形成解析) を、Sambrookら, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd Ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N. Y. (1989) に記載されたように実施する。

【0107】

図1、2、3および4で示したように、刺激していないかまたは関連する免疫活性化シグナルによって刺激した、樹状細胞および免疫系の他の型の細胞中での適切なmRNAの発現を、1

10

20

30

40

50

) (上記のプライマーを用いた) 全長BASP1をコードしているポリヌクレオチドのRT-PCR、および - アクチンmRNAのような均一に発現されるポリヌクレオチド配列の発現に関してその発現を標準化すること、または2) ノザンハイブリッド形成解析のいずれかによって解析することができる。

【0108】

そのような解析は、異なる基質に関して、以下を示す。

- 本発明のBASP1 mRNAの発現は、関連する刺激によって、種々の型の樹状細胞、ならびに異なる特異的な増殖因子およびサイトカイン中での培養によって成熟させられた樹状細胞中で、有意に増加する。さらに、BASP1 mRNAのはるかに低いレベルの発現が、刺激または未刺激T細胞、B細胞または単球にて検出され、後者の3つの型の免疫細胞のうち、GM-CSFで刺激した単球は、検出可能なBASP1 mRNA発現を示したが、しかし刺激樹状細胞中で断言するほどではない。

10

- GID2 mRNAの発現は、関連刺激によって、種々の型のDCならびに異なる特異的な増殖因子およびサイトカイン中での培養によって成熟させられたDCにおいて、有意に増加した。さらに、GID2 mRNAの非常に低いレベルの発現が、刺激または未刺激T細胞、単球または内皮細胞中で検出される。

- GID3 mRNAの発現は、単球、単球由来DCおよび臍帯血前駆体細胞から成熟したDC中で、免疫系活性化、例えば炎症性刺激に関連した特定の刺激によって、有意に増加する。

- GID4 mRNAは、CD40架橋と組み合わされたファゴサイト刺激による、および単球由来DC中での細菌リポポリサッカライド(LPS)刺激によって単球由来DC中で、そして顆粒球 - マクロファージコロニー刺激因子(GM-CSF)、腫瘍壊死因子 - (TNF -)およびインターロイキン - 4(IL-4)との培養による臍帯血前駆体細胞から成熟したDC中で、有意に増加する。一方、未刺激または刺激T細胞、または刺激B細胞では、検出可能ぎりぎりまたは全くGID4の発現は見られなかった。したがって、GID4発現は、TおよびB細胞に関連したDCに限られており、特定の炎症性刺激により誘導されたDC中でのGID4発現は、免疫系の活性化に対する関連を示している。

20

【実施例3】

【0109】

BASP1、GID2、GID3およびGID4ポリペプチドおよび組換え体ポリペプチドの産出

組換え体タンパク質の産出における、経験および一般的に使用される方法に基づいて、発現ベクターを、BASP1、GID2、GID3およびGID4ポリペプチドおよびその変異体の産出のために調製可能である。安定にトランスフェクトされたプロデューサー細胞から発現されたトランスジェニックポリペプチドを、単離および精製し得、抗体産出および機能研究のため、ならびにスクリーニングアッセイで使用しうる。N- およびC- 末端タグを含む適切なポリペプチドの組換え変異体、ならびにポリペプチドの非改変形態を産出しうる。タグ化組換え体タンパク質の発現は、市販されているFLAG- 含有pcDNAベクター内で構築物を調製することによって行うことができる(InVitrogenおよびSigma、ならびに他の供給先)。タンパク質は、これも市販されているE.coli株内で産出可能である。翻訳後修飾(例えば糖付加)した多量のタンパク質を産出するために、昆虫細胞内でのバキュロウイルス発現ベクターを使用可能であり、またはベクターを、酵母細胞内で選別および発現のために操作することができ、両方の場合に、発現ベクターおよび好適なプロデューサー細胞は市販されており、一般に使用されている。mg量のタンパク質が産出され、これは免疫化に有利であり、本発明の機能研究およびスクリーニングアッセイに不可欠である。

30

40

【実施例4】

【0110】

モノクローナル抗体の産出

モノクローナル抗体は、産出したBASP1、GID2、GID3およびGID4タンパク質で免疫化したマウス内で使用した一般的な方法によって得ることができ、そこで得られたハイブリドーマ細胞株によって産出された抗体を、免疫化タンパク質に対してスクリーニングし、そして抗体を、この免疫化タンパク質を用いるアフィニティクロマトグラフィーによって精製

50

する。Tag含有組換え体BASP1、GID2、GID3またはGID4タンパク質をまた、抗体を産出するために、マウスを免疫化するのに使用してよく、その場合、得られたハイブリドーマ細胞株によって産出された抗体を、BASP1、GID2、GID3またはGID4タンパク質の非改変形態に対して、またはグルタチオン-S-トランスフェラーゼ(GST)-tag融合タンパク質のような、tagを含有しているタンパク質および第2のtagを含有しているタンパク質両方に対してのいずれかの、エピトープ特異的抗体に対してスクリーニングする。抗体を、アンチセンスオリゴヌクレオチドによるBASP1、GID2、GID3またはGID4発現を阻害すること、および以下で記載するスクリーニングアッセイで同定した、低分子量アンタゴニストまたはアゴニストの作用を試験することのような、機能研究における適切なポリペプチドの発現を検出するための試験で使用する事ができる。抗体はまた、診断方法およびキットの成分を含む場合がある。

10

【実施例5】

【0111】

アンチセンスオリゴヌクレオチドによるBASP1、GID2、GID3およびGID4発現の阻害
所定の遺伝子のセンスポリリボヌクレオチド(mRNA)鎖の特定の配列に相補的であり、細胞内に導入したときに、mRNAが二本鎖構造となり、それによって、それに続いて本来のmRNA分子を分解し、その遺伝子のコードタンパク質の発現を破棄する、二本鎖RNase酵素によって認識されるmRNAに結合する、小配列ストレッチ、好ましくは長さにして18~20ヌクレオチドからなる合成アンチセンスオリゴヌクレオチド(ASO)の使用が、遺伝子機能の研究に関して、一般的に使用される方法である。BASP1発現の阻害に関して、相補的BASP1、GID2、GID3またはGID4配列を含むASOを、例えば、市販されているリボソーム薬剤(例えば、リポフェクタミンおよびリポフェクション、Gibco-BRL)の使用のような、一般的な技術によって、樹状細胞およびBASP1、GID2、GID3またはGID4 mRNAを発現する特定の細胞株に導入する。ASOの効果は、RNase保護アッセイ、S1ヌクレアーゼアッセイ、PCRまたは上記の抗BASP1モノクローナル抗体を用いるELISAアッセイのような、任意のいくつかの方法によって測定する。それぞれ、BASP1、GID2、GID3またはGID4 mRNAの異なる領域に相補的な配列を含む、いくつかの異なるASOを、記載したアッセイで活性に関して試験し、ほとんどの効果的なASOを、以下の続く実施例に記載した仕様に関して選別した。ASOの活性の特異性は、例えば、選別したアッセイにおける「ミスマッチ」ASOを用いることによって、特異的なASOの活性を制御することなど、記載したアッセイで、いくつかの、好ましくは3~5のヌクレオチド置換基を含む、関連配列のASOの活性を測定することで決定する。

20

30

【実施例6】

【0112】

樹状細胞および細胞株中での活性化マーカーの同定は、BASP1、GID2、GID3またはGID4発現に依存する
樹状細胞から、T細胞および免疫系の他の型の細胞(異型応答)、および他の樹状細胞(同型応答)への免疫学的シグナルの増幅において、役割を果たしていると認識される、例えばMHCクラスIIタンパク質、CD40、CD80およびCD86のような、樹状細胞中で発現される多数の表面膜関連タンパク質、およびG-CSF、IL-12およびIL-1のような、樹状細胞によって分泌される多数の水溶性メディエーターが存在する。樹状細胞内での、活性化マーカーと呼ばれうる、これらの型の遺伝子の発現は、細胞が、免疫学的シグナルによって活性化される時に、劇的に増加する。刺激細胞における活性化マーカーの誘導に際し、LPS、TNF、ファゴサトシス、または特異的表面タンパク質を架橋するために適切な抗体またはリガンドを使用すること、またはそのような刺激の組み合わせのような、異なる方法で刺激した樹状細胞で発現した、BASP1、GID2、GID3またはGID4の役割は、上記のような細胞内へのASOを導入すること、続いて、細胞の刺激、および活性化マーカーの発現レベルに関するアッセイによって測定される。阻害の特異性は、ミスマッチASOを上記のように導入された細胞との比較によって、またはアッセイ中、ASOで処理しない細胞を用いることで、制御する。活性化マーカーの発現は、RNase保護アッセイ、S1ヌクレアーゼア

40

50

ッセイ、PCR、適切な抗体を用いるELISAまたはFACSアッセイのような、任意のさまざまな方法によって測定する。上記のような細胞株中の活性化マーカーもまた、これらの同じ方法によって同定される。

【実施例 7】

【0113】

他の樹状細胞膜関連タンパク質との、BASP1、GID2、GID3またはGID4の相互作用の測定
樹状細胞中で発現されたBASP1、GID2、GID3またはGID4の膜または細胞内局在を、神経細胞で示されたように (Maekawa, S., J. Biol. Chem. 274 [1999] 21369 - 21374)、タンパク質がラフト構造に関連するかどうかを決定するために、遠心による濃縮にしたがって、膜調製物を画分化することによって試験する。本解析において、種々の細胞画分、例えば細胞質、膜ラフトおよび非ラフト膜画分内に含まれるタンパク質は、さらに、ポリアクリルアミドゲル中で、変性条件下での電気泳動 (SDSゲル電気移動) によって画分化し、フィルター上にプロットし、上記のBASP1、GID2、GID3またはGID4抗体を用いるウエスタン解析にかける。未刺激樹状細胞および、LPS、TNF、ファゴサイトーシス、または特異的
10
表面タンパク質を架橋するために適切な抗体またはリガンドを使用すること、またはそのような刺激の組み合わせのような、異なる方法で処理した細胞を、細胞活性化に対する応答において、BASP1、GID2、GID3またはGID4タンパク質の局在が変化したかどうかを決定するために解析する。異なる画分中でBASP1、GID2、GID3またはGID4と物理的に近く相互作用する他の細胞性タンパク質、およびBASP1、GID2、GID3またはGID4抗体は、Sigma
20
Chemical CompanyおよびPierceより市販されている) 可逆二価架橋剤での処理するか、またはせず、つづいて、2Dゲル分離 (変性SDSゲル電気泳動と組み合わせた等電点電気泳動) および部分微小配列解析を実施する。これらの技術によって同定した樹状細胞中で発現されている第2のタンパク質との、BASP1、GID2、GID3またはGID4の物理的相互作用を、逆実験で確認し、そこでは、免疫沈殿を、第2のタンパク質に対する特異的抗体を用いて行い、続いて、BASP1、GID2、GID3またはGID4抗体を用いるウエスタンプロットング解析を実施する。多くの公知の膜関連表面タンパク質に対する特異的抗体が、市販されている。該タンパク質が、それらの細胞株内で発現することが示されている場合には、樹状細胞内で同定し確認した任意の第2のタンパク質の、BASP1、GID2、GID3またはGID4と物理的相互作用もまた、上記の細胞株において確認する。

【実施例 8】

【0114】

タンパク質 - タンパク質相互作用に特異的なBASP1、GID2、GID3またはGID4タンパク質ドメインのマッピング

上記の tag - ポリペプチド、例えばFLAGエピトープに融合した、改変組換え体BASP1、GID2、GID3またはGID4タンパク質をコードしているDNA発現ベクターを、特定の部位で、BASP1、GID2、GID3またはGID4内のドメイン機能を崩壊しうる、小さなインフレーム挿入によって、遺伝的変異させる。変異させた構造を、上記で発現させた細胞株内に導入し、組換え体、変異BASP1、GID2、GID3またはGID4変異体タンパク質と物理的に一緒に、他の細胞性タンパク質を、タンパク質複合体を精製するために、tag - ポリペプチドに特異的な抗体を用いて、上記の方法により同定する。例えば、神経細胞で起こることが知られている (Takasaki, A., J. Biol. Chem. 274 [1999] 11848 - 11853)、カルモジュリンとの物理的相互作用に必要である、BASP1、GID2、GID3またはGID4内のドメインが、本方法で同定されるべきである。次いで、BASP1、GID2、GID3またはGID4タンパク質ドメインの確認およびフィンガーマッピングを、欠失または点変異をBASP1、GID2、GID3またはGID4タンパク質配列に導入することによって、tag - 融合組換え体BASP1、GID2、GID3またはGID4発現構造物を用いて実施する。本方法において、相互作用欠損BASP1、GID2、GID3またはGID4変異体タンパク質を定義し、これらは、上記のように、プロデューサー細胞内で、発現ベクターを用いて産出しうる。さらに、相互作用ポリペプチド配列と呼ばれる、最小BASP1、GID2、GID3またはGID4直鎖状ポリペプチド配列を定義することができ、これは、第2のタンパク質と相互作用するために、BASP1、GID2、GID3またはGID4に不可欠であり得る。
40
50

【実施例 9】

【0115】

ポリペプチドを用いて樹状細胞内でのBASP1、GID2、GID3またはGID4との相互作用を活性化

化する
上記の相互作用ポリペプチド配列を、そのコードが、感染細胞内でポリペプチドを発現することができる、例えば、レンチウイルスまたはスプマウイルスに基づく好適な足場より誘導した、感染、複製欠損哺乳動物発現ベクターを用いて、樹状細胞内に導入する。内因性BASP1、GID2、GID3またはGID4タンパク質の、上記の第2のタンパク質との相互作用を妨害する、発現された相互作用ポリペプチドの作用を、上記の抗BASP1、GID2、GID3またはGID4抗体での免疫沈降、続く共沈したタンパク質の解析、好ましくは、上記のような、第2のタンパク質に対する特異的抗体を用いるウエスタンブロット解析によって、細胞から抽出したタンパク質にて解析する。所定の相互作用 - 妨害ポリペプチドの特異性を、変異、すなわち2~4個のアミノ酸置換基を、発現ベクター内のポリペプチドに挿入し、アッセイにおける、そのような「ミスマッチ」相互作用 - 妨害制御ポリペプチドを試験することによって決定する。この方法において、相互作用 - 妨害ポリペプチドを同定可能であり、従来のような合成方法によって、純粋な形態でこれらを産出することができる。

10

【実施例 10】

【0116】

樹状細胞および細胞株における活性化マーカーの同定は、第2の細胞性タンパク質との、BASP1、GID2、GID3またはGID4の特異的物理的相互作用に依存する

20

刺激した細胞での活性化マーカーの誘導のために、LPS、TNF、ファゴサイトーシス、または特異的表面タンパク質への架橋のために適切な抗体またはリガンドを使用すること、またはそのような刺激の組み合わせのような、異なる方法で刺激した、樹状細胞、および上記の細胞株で発現された第2の細胞性タンパク質との、BASP1、GID2、GID3またはGID4の特異的物理的相互作用の必要性を、相互作用 - 妨害ポリペプチドを、複製欠損感染性ウイルス発現ベクターを使用して、上記の細胞内に導入し、続いて、細胞の刺激、および活性化マーカーの発現レベルに関するアッセイによって、決定した。アッセイの特異性は、アッセイに供する細胞内へ、ミスマッチ相互作用 - 妨害制御ポリペプチドを導入することによって決定する。

【実施例 11】

30

【0117】

BASP1、GID2、GID3またはGID4発現および/あるいはBASP1、GID2、GID3またはGID4の第2の細胞性タンパク質との特異的物理的相互作用に依存する樹状細胞の表現系特性
免疫学的に関連する細胞性活性または特性に関して、樹状細胞において発現されるBASP1、GID2、GID3またはGID4の機能的な重要性を、以下の2つのアッセイで評価する。

【0118】

i) 樹状細胞遊走アッセイ

未成熟の樹状細胞の活性化の間の初期段階は遊走機能の獲得であり、これは、例えば、半浸透性膜によって分離した2つのチャンバー系の1つのチャンバー内に細胞を入れること、および膜を介して第2のチャンバーに遊走した細胞の割合を測定すること、またはコラーゲン含有ゲルとして、ブラウン運動を妨げる粘性の高い培地中に懸濁させた細胞の顕微鏡写真を実施することによって評価される。BASP1、GID2、GID3またはGID4発現における遊走能力の依存性を、上記のように、BASP1、GID2、GID3またはGID4 mRNAに対する特異的ASOが誘導された樹状細胞中で評価する。ASOの特異性は、上記のように、アッセイにミスマッチASOを含ませることによって測定する。BASP1、GID2、GID3またはGID4の、樹状細胞中で発現された第2の細胞性タンパク質との特異的物理的相互作用における、遊走能力の依存性を、上記のように、特異的相互作用 - 妨害ポリペプチドを導入した細胞内で評価する。相互作用 - 妨害ポリペプチドの作用の特異性を、上記のように、アッセイに供する細胞に、ミスマッチ相互作用 - 妨害コントロールポリペプチドを導入することで決定する。

40

【0119】

50

ii) 樹状細胞および細胞株によるT細胞活性化

活性化に応答として樹状細胞が成熟するので、これらは、抗原の提示によって、複製するようにT細胞を活性化するその能力が、より強力になる。このことは、樹状細胞のT細胞活性化能力と呼ばれ、これは、(提示に好適な抗体に予め暴露した)樹状細胞の漸増比の系列を、培養培地中でT細胞とともに混合すること、例えば1:5~1:25~1:100~1:300~1:1000など、樹状細胞が内部で抗原を処理し、MHCクラスIIタンパク質との複合体でその表面からエピトープを提示し、次いで、活性化工程を含む他の細胞-細胞相互作用シグナルの間に、T細胞レセプター表面タンパク質との複合体を形成する間、一般的には5~7日間インキュベートすること、次いで、例えば複製中のT細胞におけるDNA合成に関する、放射活性基質の組み込みを測定することによって、活性化工程によって刺激したT細胞複製の程度を測定することによって評価される。例えば、樹状細胞の活性能力の強さまたは強度は、T細胞の複製の最大の程度刺激された時の、樹状細胞あたりのT細胞の数として表され、例えば、単一の樹状細胞によって複製するように刺激され得るT細胞の数が多いことは、樹状細胞の相当するより高い活性化能力を表す。そのような、樹状細胞中でのBASP1、GID2、GID3またはGID4発現における活性化能力の依存性は、上記のように導入された、BASP1、GID2、GID3またはGID4 mRNAに対する特異的ASOが導入されている細胞内でアッセイされる。上記のように導入された、ASOの特性を、上記のように、アッセイにミスマッチASO含ませることによって決定する。BASP1、GID2、GID3またはGID4の、樹状細胞中で発現された第2の細胞性タンパク質との特異的物理的相互作用における依存性を、上記のように、特異的相互作用-障害ポリペプチドが導入されている細胞内で評価する。相互作用-妨害ポリペプチドの活性の特異性は、上記のように、アッセイに供する細胞内への、ミスマッチ相互作用-妨害コントロールポリペプチドの導入によって決定する。

【実施例12】

【0120】

BASP1、GID2、GID3またはGID4プロモーター配列を含む組換え体レポーター遺伝子ベクター、ならびに樹状細胞および細胞株における発現 mRNA合成の転写制御は、一般的に、遺伝子プロモーターと呼ばれる、mRNA合成開始部位のすぐ上流に存在する染色体DNA配列(すなわち、開始部位に近接している鋳型配列に隣接した染色体配列)、およびプロモーター配列に対して遠位に存在しうる転写エンハンサーと呼ばれる小DNAエレメントによって達成される。BASP1、GID2、GID3またはGID4遺伝子プロモーターを含む可能性のある染色体DNA配列を、PCRによって、例えば100~200~500~1000bpの範囲の長さの増幅DNA断片を増幅し、ルシフェラーゼのような簡単に検出しうるマーカータンパク質を発現することができ、それによって組換え体発現ベクターを哺乳動物細胞中に導入したときに、マーカーの発現が挿入された増幅DNA断片のプロモーター活性に依存する、組換え体哺乳動物発現ベクター内にクローン化する。この方法では、i) BASP1、GID2、GID3またはGID4プロモーターが、機能的に定義され、著しく局在化され得、そしてii)複雑な細胞性因子の活性化、ならびに増強されたBASP1、GID2、GID3またはGID4 mRNA発現が依存するそれらの因子の活性化を制御する事象(例えば、樹状細胞性活性化の間に起こる)を、組換え体発現ベクターがその中に導入されている細胞中で発現されたマーカータンパク質の量によって簡便に、そして定量的にモニターすることができる。組換え体発現ベクターを、BASP1、GID2、GID3またはGID4プロモーターが制御されている樹状細胞内に導入する。他の関連しない作用に対抗して、そのような作用を測定するように設計されたアッセイにおける、マーカーの発現レベルが組換え体発現ベクター中のBASP1、GID2、GID3またはGID4プロモーターの活性をどの程度正確に反映するかは、その活性がアッセイの間に生じる細胞性事象の変化に影響されない第2のプロモーターによる転写制御を受ける第2の組換え体ベクター中に第2のマーカー、および上記第2のプロモーターによる転写制御を受ける第2の組換え体ベクター内の第一マーカーを含ませることによって、評価する。

【実施例13】

【0121】

10

20

30

40

50

BASP1、GID2、GID3またはGID4発現または活性の低分子量アゴニストまたはアンタゴニストに関するスクリーニングアッセイ

いくつかの型のアッセイが、低分子量化合物のライブラリー、例えば、天然の産物の集合およびコンビナトリアル化学ライブラリー（例えば、アンチセンスオリゴヌクレオチド、ペプチド、抗体およびミメティック）のハイスループットスクリーニングに適する。BASP1、GID2、GID3またはGID4発現の、あるいはBASP1、GID2、GID3またはGID4タンパク質の機能活性のアンタゴニストまたはアゴニストを、以下のアッセイにしたがってスクリーニングする。

【0122】

i) BASP1、GID2、GID3またはGID4発現のアンタゴニストまたはアゴニストに関する細胞スクリーニングアッセイ 10

上記のように、その発現がBASP1、GID2、GID3またはGID4プロモーターに支配される、マーカータンパク質を含む組換え体発現ベクターを、プロモーターが上記のような適切な細胞性刺激によって誘導されることが示されている細胞株中に導入する。スクリーニングアッセイにおいて、発現ベクターを含有している細胞を、ライブラリー中に存在する基質と接触させ、次いで、これらを、BASP1、GID2、GID3またはGID4プロモーターを活性化することが示されている条件下で処理し、そして任意の基質に曝さなかった細胞と比べて、より高いマーカ発現（潜在的アゴニスト）またはより低いマーカ発現（潜在的アンタゴニスト）のいずれかを生じる化合物をスクリーニングし、選択する。

【0123】

ii) BASP1、GID2、GID3またはGID4活性のアンタゴニストまたはアゴニストに関する細胞スクリーニングアッセイ 20

刺激の際のその発現がBASP1、GID2、GID3またはGID4発現に依存する、および/あるいは上記のように、第2の細胞性タンパク質とのBASP1、GID2、GID3またはGID4の特異的物理的相互作用に依存する細胞株中の細胞性活性化マーカーを、BASP1の細胞性活性の指標として使用する。指標は、その発現が細胞アッセイにおいて、例えば、結合抗体（例えば、発色または蛍光を生じる反応）に依存する第2のシグナル生成システムと組み合わせて、指標タンパク質に特異的な抗体を使用して、簡便かつ定量的に検出できるように、例えば、近似蛍光又は他の検出可能なエネルギー転移方法を選択する。スクリーニングアッセイでは、細胞をライブラリー中に存在する基質と接触させ、次いでこれを、BASP1、GID2、GID3またはGID4発現を活性化することが示されている条件下で処理し、いずれの基質にも暴露しなかった細胞と比べて、活性化マーカー（指標）の発現（潜在的アゴニスト）またはより低い活性化マーカーの発現（潜在的アンタゴニスト）のいずれかを生じる化合物をスクリーニングし、選択する。

【0124】

iii) BASP1、GID2、GID3またはGID4タンパク質に特異的に結合する化合物に関するスクリーニングアッセイ 30

上記のように単離し産出したBASP1、GID2、GID3またはGID4タンパク質を、タンパク質と結合した基質を遊離（結合していない）基質およびタンパク質から区別することができるアッセイにおいて、ライブラリー中に存在する基質と接触させる。例えば、タンパク質に結合した基質は、それによって検出されうるタンパク質の固有の生物物理的特性を変化させる場合があり、また基質は、連結した基質がタンパク質分子に結合し、それにより指標に近くに存在すると生物物理的特性が変化する場合がある指標分子に結合し得る場合もあり、また例えば、競合型のアッセイにおいては、タンパク質に結合すると検出されうる抗体またはミメティックが、それ自体がそのタンパク質に結合する基質の存在によりその結合が競合する。

【0125】

iv) BASP1、GID2、GID3またはGID4タンパク質の、第2のタンパク質との物理的相互作用のアンタゴニストまたはアゴニストに関するスクリーニングアッセイ 40

上記のように単離し産出したBASP1、GID2、GID3またはGID4タンパク質を、ライブラリー 50

中に存在する基質と接触させ、次いでBASP1、GID2、GID3またはGID4タンパク質と同語作用する第2のタンパク質をアッセイに添加する。その結果、第2のタンパク質に結合したBASP1、GID2、GID3またはGID4は遊離のタンパク質から区別され、それにより2つのタンパク質の物理的相互作用を増大させる（潜在的アゴニスト）またはそれを減少させる（潜在的アンタゴニスト）物質を選択する。例えば、上記のように、タンパク質 - タンパク質結合に関係している、タンパク質の生物物理的特性の変化を、物理的相互作用、抗体またはミメティックを用いる競合型アッセイ、あるいはハイスループットアッセイに適切なBASP1、GID2、GID3またはGID4に結合した第2のタンパク質の生物化学活性の変化を検出するために使用することができる場合もある。

【実施例14】

10

【0126】

スクリーニングアッセイにおいて同定したBASP1、GID2、GID3またはGID4発現または活性についての単離したアンタゴニストまたはアゴニストの活性の評価
特異性または毒性または利便性の特徴を明らかにするために、アンタゴニストまたはアゴニストの活性を多数の異なるアッセイのいずれかで試験する。

【0127】

i) 単離した樹状細胞、または上記のような同様の機能を持つ細胞もしくは細胞株、あるいは無関係な細胞もしくは細胞株を、漸増濃度の試験するアンタゴニストまたはアゴニストと接触させ、発現されたBASP1、GID2、GID3またはGID4 mRNAまたはタンパク質のレベルを上記の方法のいずれかによって測定し、そして未処理の細胞ならびに上記のようにアンチセンスオリゴヌクレオチドおよびミスマッチ制御アンチセンスオリゴヌクレオチドで処理した細胞と比較する。BASP1、GID2、GID3またはGID4 mRNAまたはタンパク質の発現における、アンタゴニストまたはアゴニストの作用を、第2の無関係な細胞性遺伝子の発現に対する作用と比較する。

20

【0128】

ii) 単離した樹状細胞または上記のような同様の機能の細胞もしくは細胞株を、漸増濃度の試験するアンタゴニストまたはアゴニストと接触させ、上記のようにBASP1、GID2、GID3またはGID4発現に依存して発現された活性化マーカーのレベルを、上記の方法のいずれかによって測定し、そして未処理の細胞ならびに上記のようにアンチセンスオリゴヌクレオチドおよびミスマッチ制御アンチセンスオリゴヌクレオチドで処理した細胞のレベルと比較する。

30

【0129】

iii) 単離した樹状細胞または上記のような同様の機能の細胞もしくは細胞株を、漸増濃度の試験するアンタゴニストまたはアゴニストと接触させ、上記のようなBASP1、GID2、GID3またはGID4の第2の細胞性タンパク質との特異的物理的相互作用に依存する発現活性化マーカーのレベルを、上記の方法のいずれかによって測定し、そして未処理の細胞ならびに上記のようにアンチセンスオリゴヌクレオチドおよびミスマッチ制御アンチセンスオリゴヌクレオチドで処理した細胞のレベルと比較する。

【0130】

iv) 単離した樹状細胞または同様の機能の細胞を、漸増濃度の試験するアンタゴニストまたはアゴニストと接触させ、細胞遊走に対する作用を上記のように測定し、そして未処理の細胞、上記のようにアンチセンスオリゴヌクレオチドおよびミスマッチ制御アンチセンスオリゴヌクレオチドで処理した細胞、ならびに上記のように相互作用 - 妨害ポリペプチドおよびミスマッチ制御ポリペプチドで処理した細胞のレベルと比較する。

40

【0131】

v) 単離した樹状細胞または上記のような同様の機能の細胞もしくは細胞株を、漸増濃度の試験するアンタゴニストまたはアゴニストと接触させ、細胞のT細胞活性化能力に対する作用を、上記のように測定し、そして未処理の細胞、上記のようにアンチセンスオリゴヌクレオチドおよびミスマッチ制御アンチセンスオリゴヌクレオチドで処理した細胞、ならびに上記のように相互作用 - 妨害ポリペプチドおよびミスマッチ制御ポリペプチドで処

50

理した細胞のレベルと比較する。

【0132】

vi) 単離した樹状細胞または上記のような同様の機能の細胞もしくは細胞株を、漸増濃度の試験するアンタゴニストまたはアゴニストと接触させ、細胞複製または生存性に対する作用を、例えばDNA合成の放射活性または蛍光前駆体の取り込みによって、例えば死滅しつある細胞の細胞成分と反応する特異的抗体に基づく市販されているキットを用いることによって、測定する。

【0133】

vii) 単離した樹状細胞、上記のような同様の機能の細胞もしくは細胞株、または無関係な細胞もしくは細胞株を、漸増濃度の試験するアンタゴニストまたはアゴニストと接触させ、遺伝子発現プロファイルに対する作用を、DNAマイクロアレイハイブリダイゼーション技術によって決定し、そしてBASP1、GID2、GID3またはGID4アンチセンスオリゴヌクレオチドおよびミスマッチ制御ポリペプチド、または相互作用 - 妨害ポリペプチドおよびミスマッチ制御ポリペプチドで処理した細胞の作用と、あるいはBASP1、GID2、GID3またはGID4とは無関係な第2の細胞性遺伝子の活性のアンタゴニストまたはアゴニストで処理した細胞の作用と比較する。

10

【0134】

viii) 単離した樹状細胞、上記のような同様の機能の細胞もしくは細胞株、または無関係な細胞もしくは細胞株を、漸増濃度の試験するアンタゴニストまたはアゴニストと接触させ、発現された細胞性タンパク質のプロファイルおよびそれらのタンパク質の状態に対する作用を、プロテオミクス技術によって測定し、そしてBASP1、GID2、GID3またはGID4アンチセンスオリゴヌクレオチドおよびミスマッチ制御ポリペプチド、または相互作用 - 妨害ポリペプチドおよびミスマッチ制御ポリペプチドで処理した細胞の作用と、あるいはBASP1、GID2、GID3またはGID4とは無関係な第2の細胞性遺伝子の活性のアンタゴニストまたはアゴニストで処理した細胞の作用と比較する。

20

【0135】

ix) 上記のような組換え体レポーター遺伝子発現ベクターを含む、単離した樹状細胞、上記のような同様の機能の細胞もしくは細胞株、または無関係な細胞もしくは細胞株を、漸増濃度の試験するアンタゴニストまたはアゴニストと接触させ、レポーターベクター中に含まれる、BASP1、GID2、GID3またはGID4プロモーター配列の活性に対する作用に対する作用を、上記のように測定し、そしてBASP1、GID2、GID3またはGID4とは無関係な第2の細胞性遺伝子のプロモーターを含む第2のレポーターベクターで得られる作用、および上記レポーターベクターのいずれかを含んでいる未処理の細胞で得られる作用、およびBASP1、GID2、GID3またはGID4とは無関係な第2の細胞性遺伝子の発現のアンタゴニストまたはアゴニストで処理した上記レポーターベクターのいずれかを含んでいる細胞で得られる作用と比較する。

30

【0136】

x) 上記のように精製したBASP1、GID2、GID3またはGID4タンパク質および第2の細胞性相互作用タンパク質を、漸増濃度の試験するアンタゴニストまたはアゴニストと接触させ、タンパク質 - タンパク質相互作用に対する作用を、上記の方法のいずれかによって測定し、そして処理しない場合に見られる作用、精製した相互作用 - 妨害ポリペプチドおよびミスマッチ制御 - 相互作用ポリペプチドの存在下で見られる作用と、あるいは上記の処理したおよび未処理の変異相互作用欠損BASP1、GID2、GID3またはGID4タンパク質および第2の相互作用タンパク質を用いて見られる作用、またはBASP1、GID2、GID3またはGID4タンパク質とは無関係なタンパク質の相互作用のアンタゴニストまたはアゴニストで処理した任意の上記の精製したタンパク質のいずれかを用いて見られる効果と比較する。

40

【0137】

xi) 試験する漸増濃度のアンタゴニストまたはアゴニストで処理したかまたは処理していないかいずれかの、単離した樹状細胞または同様の機能の細胞または上記細胞を含む組織を、薬理的試験において使用する移植片移植に寛容である適切な実験動物（例えばSCID

50

マウス、例えば照射動物)に移植し、続いて、免疫刺激によってチャレンジし、続く免疫応答に対する試験物質の作用を測定し、そして上記のようにアンチセンスオリゴヌクレオチドおよびミスマッチアンチセンスオリゴヌクレオチドで処理した単離した細胞または組織、あるいは上記のような、相互作用 - 妨害ポリペプチドおよびミスマッチ制御ポリペプチドで処理した細胞または組織、あるいは上記のような無関係なアンタゴニストまたはアゴニストで処理した細胞または組織を用いて見られる作用と比較する。

【0138】

xii) 単離した樹状細胞または同様の機能の細胞または上記細胞を含む組織を、薬理的試験において使用する移植片移植に寛容である適切な実験動物(例えばSCIDマウス、例えば照射動物)に移植し、続いて、免疫刺激によってチャレンジし、試験する漸増濃度のアンタゴニストまたはアゴニストで処理するかまたは処理せず、続く免疫応答に対する試験物質の作用を測定し、薬理的処理を行わない場合に見られる作用と比較する。

10

【0139】

xiii) 薬理的試験に使用した適切な実験動物から得た、そして、BASP1、GID2、GID3またはGID4遺伝子の種の内因性オルトログを発現する、漸増濃度の試験するアンタゴニストまたはアゴニストで処理したかまたは処理していない、単離した樹状細胞または同様の機能の細胞または上記細胞を含む組織を、上記動物に移植し、続いて免疫刺激でチャレンジし、続く免疫応答に対する作用を測定し、上記のようなオルトログに関して単離したアンチセンスオリゴヌクレオチドおよびミスマッチアンチセンスオリゴヌクレオチドで処理した単離した細胞または組織を用いて、または上記のようなオルトログに関して単離した相互作用 - 妨害ポリペプチドおよびミスマッチ制御ポリペプチドで処理した単離細胞または組織を用いて、または上記のような無関係なアンタゴニストまたはアゴニストで処理した細胞または組織を用いて見られる作用と比較する。

20

【0140】

xiv) 薬理的試験に使用した適切な実験動物から得た、機能的特性または使用特性において、ヒトのBASP1、GID2、GID3またはGID4遺伝子の変異体および/または組換え体のいずれかに相当する、BASP1、GID2、GID3またはGID4遺伝子の種のオルトログの形態を発現するように処理または処理した、本発明に記載した任意の適切な方法によって産出され導入され、漸増濃度の試験するアンタゴニストまたはアゴニストで処理したかまたは処理していない、単離した樹状細胞または同様の機能の細胞または適切な細胞株を、上記動物に移植し、続いてこれを免疫刺激によりチャレンジし、免疫応答に対する作用を測定し、上記のようなオルトログに関して単離した、アンチセンスオリゴヌクレオチドおよびミスマッチアンチセンスオリゴヌクレオチドで処理した単離した細胞を用いて、または上記のようなオルトログに関して単離した相互作用 - 妨害ポリペプチドおよびミスマッチ制御ポリペプチドで処理した単離した細胞を用いて得られる作用と、あるいは上記のような無関係なアンタゴニストまたはアゴニストで処理した細胞または組織を用いて見られる作用と比較する。

30

【0141】

xv) 薬理的試験に使用した適切な実験動物から得た、本発明により変更された機能的特性または使用特性を含むヒトのBASP1、GID2、GID3またはGID4遺伝子、または変異体、組換え体形態を発現するように操作または処理された、本発明に記載されている任意の適切な方法によって産出され導入された、漸増濃度の試験するアンタゴニストまたはアゴニストで処理されたかまたは処理していないかいずれかの、単離した樹状細胞または同様の機能の細胞もしくは細胞株を、上記動物に移植し、続いて免疫刺激によりチャレンジし、免疫応答に対する作用を測定し、そして上記のようなアンチセンスオリゴヌクレオチドおよびミスマッチアンチセンスオリゴヌクレオチドで処理した単離した細胞または組織を用いて見られる作用と比較する。

40

【0142】

xvi) 薬理的試験に使用した適切な実験動物から得た、その発現が、上記のようにBASP1、GID2、GID3またはGID4プロモーター配列に依存しているか、または記載した本発明の方

50

法によって産出した試験に使用する実験動物のオルトログBASP1、GID2、GID3またはGID4遺伝子のプロモーターに依存する、組換え体レポーター遺伝子を発現するように操作または処理されている、漸増濃度の試験するアンタゴニストまたはアゴニストで処理したかまたは処理していないかいずれかの、単離した樹状細胞または同様の機能の細胞または細胞株を、上記動物に移植し、続いて免疫刺激によりチャレンジし、組換え体レポーターベクター内に含まれるプロモーターの活性に対する作用を測定し、未処理の細胞またはBASP1、GID2、GID3またはGID4とは無関係な第2の遺伝子の発現のアンタゴニストまたはアゴニストで処理したかまたは処理していない細胞を用いて見られる作用と比較する。

【0143】

xvii) その中に単離した樹状細胞または記載したような同一の機能の細胞または細胞株が移植されている、BASP1、GID2、GID3またはGID4の任意の遺伝子形態または相補体または変異体または組換え体、あるいはBASP1、GID2、GID3またはGID4のオルトログ、あるいはBASP1、GID2、GID3またはGID4を含む組換え体レポーター遺伝子ベクター、あるいは記載した適切なオルトログプロモーター配列を発現するように処理したかまたはしていない、続いて免疫刺激によって刺激した、薬理的試験において一般的に使用する実験動物を、漸増濃度の試験するアンタゴニストまたはアゴニストで処理し、上記の作用のいずれかを、上記の方法のいずれかによって測定し、アンチセンスオリゴヌクレオチド、相互作用 - 妨害ポリペプチドを用いて、あるいはBASP1、GID2、GID3またはGID4とは無関係な第2の遺伝子の発現または活性のアンタゴニストまたはアゴニストを用いて処理したかまたは処理していない動物で見られる作用と比較する。

【0144】

xviii) ヒトBASP1、GID2、GID3またはGID4遺伝子または相補体または変異体または組換え体、あるいは本発明のヒトまたはオルトログBASP1、GID2、GID3またはGID4プロモーター配列を安定にまたは条件的に含みそして発現するように操作されている、本発明のトランスジェニック実験動物（その中ではトランスジーンが、内因性BASP1、GID2、GID3またはGID4オルトログ遺伝子の異種または同種置換物として、あるいは第2の遺伝子座における置換物または挿入物として産出され、続いて免疫刺激によってチャレンジする本発明のトランスジェニック実験動物を、漸増濃度の試験するアンタゴニストまたはアゴニストで処理し、上記の作用のいずれかを上記の方法のいずれかによって測定し、そしてアンチセンスオリゴヌクレオチドを用いて、相互作用 - 妨害ポリペプチドを用いて、またはBASP1、GID2、GID3またはGID4とは無関係な第2の遺伝子の発現または活性のアンタゴニストもしくはアゴニストを用いて処理したかまたは処理していない動物で見られる作用と比較する。

【0145】

xix) 免疫刺激によってチャレンジした、本発明のオルトログBASP1、GID2、GID3またはGID4遺伝子配列のホモ接合型決死津あるいはBASP1、GID2、GID3またはGID4活性を破壊するのに十分な欠失を含む遺伝子操作した実験動物を、漸増濃度の試験するアンタゴニストもしくはアゴニストで処理するか、あるいは動物から単離した樹状細胞または同様の機能の細胞を次いで動物に再度導入し、そして免疫応答に対する作用を測定し、未処理の動物または動物内に再導入した細胞において得られる作用と比較する。

【0146】

xx) 上記の遺伝的変異体のいずれかを、例えば、特異的チャレンジに対して感受性が高い遺伝的背景において特異的免疫応答を生じるように、例えば、特異的チャレンジ後のより再生性があるかまたは浸透性免疫応答に影響を与えるように、例えば、ヒトにおいて観察されるもの以上に特徴的であり得るチャレンジに应答する免疫応答を生じるように、他の遺伝子座で交配または操作されている実験動物中で産出し、これらの変異動物を、免疫刺激によってチャレンジし、漸増濃度の試験するアンタゴニストまたはアゴニストで処理するか、またはこれらの動物から単離した樹状細胞または同様の機能の細胞、または上記のように改変した単離細胞のいずれかを、漸増濃度のアンタゴニストまたはアゴニストで処理するかまたはしないかして、動物内に再導入するかまたは導入し、免疫応答に対する作用を測定し、未処理の動物を用いてまたは、動物内に導入した未処理の単離した細胞を用

いて得られる作用と比較する。

【実施例15】

【0147】

脊髄細胞株U937におけるBASP1の過剰発現

C - 末端FLAGタグ化BASP1または空のベクターを発現するU937骨髄球細胞を、レトロウイルス遺伝子導入およびそれに続くFACS細胞ソーティングによって確立する。トランスフェクタントを、 1×10^6 細胞/mlで $10 \mu\text{g/ml}$ LPSで刺激する。IL-8分泌を、示した時点で、特異的ELISAによって測定する(例えば図7を参照のこと)。TNF- α 分泌のレベルに変化がないことが観察された(データは示していない)。

【0148】

これらのデータは、BASP1の異所性発現が、IL-8、炎症性サイトカインの分泌を調整することができることを示している。したがって、BASP1経路の妨害が、炎症および自己免疫疾患のような疾患で考えられる。

【実施例16】

【0149】

抗原提示細胞におけるGID2.2の過剰発現

N - FLAG - GID2.2または空のベクターを高レベルで発現する樹状細胞に相当する、表現系(例えば、CD36、CD40、CD83のような表面マーカー)および機能性(例えば、HLA-II抗原の高い発現、HLA-IIとの複合体として抗原を内部に取り込み、処理し、そして提示する能力)を有するAB4細胞 = EBV形質転換B細胞を、レトロウイルス形質導入およびそれに続くFACS細胞ソーティングによって確立する(例えば、図8を参照のこと)。ベクターまたはGID2.2を形質導入したAB4細胞に、DerP1タンパク質 (= Pteronyssinusの皮膚ファゴイドタンパク質、ハウス - ダスト - ミベの主要アレルゲン性タンパク質)を取り込ませ、DerP1特異的T細胞クローンの増幅を刺激するために使用する。T細胞クローンの抗原特異的増幅を測定する(例えば図9を参照のこと)。

【0150】

これらのデータは、抗原提示細胞中のGID2.2の異所性発現が、T細胞増幅を正に調節することを示唆している。したがって、GID2.2の妨害が、自己免疫疾患、アレルギーおよび喘息のような、T細胞が慢性的に刺激される疾患において有用であり得る。

【0151】

【表2】

10

20

30

配列表

BASP1 ポリヌクレオチド：配列番号1

GAGCCGA ACTCCAAGATGGGAGGCAAGCTCAGCAAGAAGAAGAAGGGCTACAATGTGAACGACGAGA
 AAGCCAAGGAGAAAGACAAGAAGGCCGAGGGCGCGGCACGGAAGAGGAGGGGACCCCGAAGGAGAG
 TGAGCCCCAGGCGGCCGAGAGCCCCGCCGAGGCCAAGGAGGGCAAGGAGAAGCCCGACCAGGACGCC
 GAGGGCAAGGCCGAGGAGAAGGAGGGCGAGAAGGACGCGGCGGCTGCCAAGGAGGAGGCCCGAAGG
 CGGAGCCCCGAGAAGACGGAGGGCGCGGCAGAGGCCAAGGCTGAGCCCCGAAGGCGCCCCGAGCAGGA
 GCAGGCGGCCCCCGGCCCGCTGCGGGCGGCGAGGCCCCCAAAGCTGCTGAGGCCGCGCGGCCCGCCG
 GCCGAGAGCGCGGCCCTGCCGCCGGGAGGAGCCAGCAAGGAGGAAGGGGAACCCAAAAGACTG
 AGGCGCCCCGAGCTCCTGCCGCCAGGAGACCAAAGTGACGGGGCCCCAGCTTCAGACTCAAACC
 CGGCAGCTCGGAGGCTGCCCCCTCTTCCAAGGAGACCCCCGAGCCACGGAAGCGCCTAGTTCCACA
 CCAAGGCCAGGGCCCCGAGCCTCTGCAGAAGAGCCCAAGCCGGTGGAGGCCCGGCAGCTAATT
 CCGACCAAACCGTAACCGTGAAAGAGTGACAAGGAC

10

GID2.1 ポリヌクレオチド配列：配列番号2

GCTGAGGAAGGAATGGCAGACATGGAGGTGGGTGAGTGGCAGGGACAGATCAAGGTTGAGTTGGAAC
 CAAGGCCTGGTTAGGTCAGGAATCAGATGTACTCCTTTCTGCCTTCAGGTGCTCTGCTTCTAGTCCG
 CCAGAAATGGGATGCATCTGGATGCCAAGGCAATCCTGGGCCATGCCACCTCCTTGAGATCCAGGT
 GTCTTATATCACAGCATCCCTTTCCCTATTTCTCAGAACAGGGTCCAAGCTGTGGACAAGCTTTCCAG
 GTCTCCTTTCCCTTTTGTAGGCAGAGATCAAGAATGGTGTGTTGGCGGCAGAGGGCATGGAATGAGG
 AACCAGGCATCTCCAACCTCCTTCTGCCTTTCCCTACAGGAATGGGATGCTGGGCCCGGGAGGTGCTG
 GTCCCCGAGGGGCCCTTGTACCGCGTGGCTGGCACAGCTGTCTCCATCTCCTGCAATGTGACCGGCT
 ATGAGGGCCCTGCCCAGCAGAACTTCGAGTGGTTCCCTGTATAGGCCCGAGGCCCCAGATACTGCACT
 GGGCATTGTCAGTACCAAGGATACCCAGTTCTCCTATGCTGTCTTCAAGTCCCGAGTGGTGGCGGGT
 GAGGTGCAGGTGCAGCGCCTACAAGGTGATGCCGTGGTGCTCAAGATTGCCCGCCTGCAGGCCCAGG
 ATGCCGGCATTTATGAGTGCCACACCCCCCTCCACTGATACCCGCTACCTGGGCAGCTACAGCGGCAA
 GGTGGAGCTGAGAGGTAAGTGGCCCTATCTAGTTGCCCTTAGGTTTGTAGCCAAGGAACTTGAGGCCCAAAGAG
 GTTAAGTGATTTGCACAAAGTCACCCAATAACTCAGTGGCTGATGTGGGACTCAAACCCAGAGTTCC
 TCACCCAGGCCAGTGCTCATCTTATCATATTAAGACCCCTCCTGGGAGAAGAAGTGTCTTAAGTTG
 TCCAGTCCACTTTCCATTTCCAAGAACGAAGAAGACTGTTGGGTTGAATAGCCTCTACTCCTGGACA
 GTACAGGACCCAGATCTGGGAAAGAGAGTAGAGTTAGGGAAGGAGTTAGACCATGTGACATTTCTCAC
 TCTCTTAAGTTTCTTTGTCTTCTGAGAAGAAAGAGCCGCTTTTCTCAGTATTTCAAACAGAGGTCAG
 TCTCAAACATAAGGGTGAGTAGGCGATGGGCTGGTTCTATGAAATTCTACAAGTATTTATTGAGCGC
 CTGTGCTGTGCCAGTACTGCCCTTGGCACCACTGAGTTACAGAAGAAATAATAACAACATGCGATCT
 TTGCCCTCTGGGAGCTCACAGTTTATTTAGGGAGATAGGCTATACACAGGAAACAGTAACAAGGGCT
 GCCAGCTCCCAGCCCTCCCTCACTCCAGCTGTTCTCTCCAGTTCTTCCAGATGTCTCCAGGTGTCT
 GCTGCCCCCCCCAGGGCCCCGAGGCCGCCAGGCCCAACCTCACCCCCACGCATGACGGTGCATGAGG
 GGCAGGAGCTGGCACTGGGCTGCCTGGCGAGGACAAGCACACAGAAGCACACACACCTGGCAGTGTC

20

30

40

CTTTGGGCGATCTGTGCCCCGAGGCACCAGTTGGGCGGTCAACTCTGCAGGAAGTGGTGGGAATCCGG
 TCAGACTTGGCCGTGGAGGCTGGAGCTCCCTATGCTGAGCGATTGGCTGCAGGGGAGCTTCGTCTGG
 GCAAGGAAGGGACCGATCGGTACCGCATGGTAGTAGGGGGTGCCAGGCAGGGGACGCAGGCACCTA
 CCACTGCACTGCCGCTGAGTGGATTCAGGATCCTGATGGCAGCTGGGCCAGATTGCAGAGAAAAGG
 GCCGTCTGGCCCACGTGGATGTGCAGACGCTGTCCAGCCAGCTGGCAGTGACAGTGGGGCCTGGTG
 AACGTCGGATCGGCCAGGGGAGCCCTTGGAACTGCTGTGCAATGTGTACAGGGGCACTTCCCCCAGC
 AGGCCGTCATGCTGCATACTCTGTAGGTTGGGAGATGGCACCTGCGGGGGCACCTGGGCCCGCCGC
 CTGGTAGCCCAGCTGGACACAGAGGGTGTGGGCAGCCTGGGCCCTGGCTATGAGGGCCGACACATTG
 CCATGGAGAAGGTGGCATCCAGAACATAACCGCTACGGCTAGAGGCTGCCAGGCCTGGTGTATGCGGG
 CACCTACCGCTGCCCTCGCCAAAGCCTATGTTTCGAGGGTCTGGGACCCGGCTTCGTGAAGCAGCCAGT
 GCCCCFTCCCGGCCCTCCCTGTACATGTGCGGGAGGAAGGTGAGAGGGGGCTGGGCCCTGGACGGG
 GTTCGAGGATGTCAACCCCTTTCCCTTCTGTTTCCATGACCCCTCCCTCTCCGTACAGTGTTTGCA
 GGCCACAGCCTCACGCTCCTCTTCTACCAAGATTGTGGGAATACCTGAGTTTCCCTGGGGCGGTGCT
 TGGCGGCAGCCCTAACCCCATGCTCCCTGGCCCTGCACCCCTCTGACCCCATGTCCCTTTGTTCTGCAG
 GTGTGGTGTGCTGGAGGCTGTGGCATGGCTAGCAGGAGGCACAGTGTACCGCGGGGAGACTGCCTCCCT
 GCTGTGCAACATCTCTGTGCGGGTGGCCCCCAGGACTGCGGCTGGCCGCCAGCTGGTGGGTGGAG
 CGACCAGAGGACGGAGAGCTCAGCTCTGTCCCTGCCAGCTGGTGGGTGGCGTAGGCCAGGATGGTG
 TGGCAGAGCTGGGAGTCCGGCCTGGAGGAGGCCCTGTACGCTAGAGCTGGTGGGGCCCCGAAGCCA
 TCGGCTGAGACTACACAGCTTGGGGCCCCGAGGATGAAGGCGTGTACCACTGTGCCCCCAGCGCCTGG
 GTGCAGCATGCCACTACAGCTGGTACCAGGCGGGCAGTGCCTCCCTCAGGGCCTGTTACAGTCTACC
 CCTACATGCATGCCCTGGACACCCCTATTTGTGCCCTCTGCTGGTGGGTACAGGGGTGGCCCTAGTCAC
 TGGTGCCACTGTCCCTGGTACCATCACTTGCTGCTTCATGAAGAGGCTTCGAAAACGGTGATCCCTT
 ACTCCCCAGGTCTTGCAGGTGTCGACTGTCTTCCGGCCCAGCTCCAAGCCCTCCTCTGGTTGCCTGG
 ACACCCCTCTCCCTCTGTCCACTCTTCCCTTAATTTATTTGACCTCCCACTACCCAGAATGGGAGACG
 TGCCCTCCCTTCCCACTCCTTCCCTCCCAAGCCCTCCCTCTGGCCTTCTGTTCTTGATCTCTTAG
 GGATCCTATAGGGAGGCCATTTCCCTGTCTGGAATTAGTTTTCATAAAATGTGAATAAACTTGTTTT
 ATAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

10

20

30

GID2.1 ポリヌクレオチドコード配列：配列番号 3

ATGACGGTGCATGAGGGGACAGGAGCTGGCACTGGGCTGCCTGGCGAGGACAAGCACACAGAAGCACA
 CACACCTGGCAGTGTCTTTGGGCGATCTGTGCCCCGAGGCACCAGTTGGGCGGTCAACTCTGCAGGA
 AGTGGTGGGAATCCGGTCAGACTTGGCCGTGGAGGCTGGAGCTCCCTATGCTGAGCGATTGGCTGCA
 GGGGAGCTTCGTCTGGGCAAGGAAGGGACCGATCGGTACCGCATGGTAGTAGGGGGTGCCAGGCAG
 GGGACGCAGGCACCTACCACTGCAC'TGCCGCTGAGTGGATTCAGGATCCTGATGGCAGCTGGGCCCA
 GATTGCAGAGAAAAGGGCCGTCTGGCCCACGTGGATGTGCAGACGCTGTCCAGCCAGCTGGCAGTG
 ACAGTGGGGCCTGGTGAACGTCGGATCGGCCAGGGGAGCCCTTGGAACTGCTGTGCAATGTGTGAG
 GGGCACTTCCCCCAGCAGGCCGTCATGCTGCATACTCTGTAGGTTGGGAGATGGCACCTGCGGGGGC
 ACCTGGGCCCGGCCGCTGGTAGCCCAGCTGGACACAGAGGGTGTGGGCAGCCTGGGCCCTGGCTAT
 GAGGGCCGACACATTGCCATGGAGAAGGTGGCATCCAGAACATAACCGCTACGGCTAGAGGCTGCCA

40

GGCCTGGTGTATGCGGGCACCTACCGCTGCCTCGCCAAAGCCTATGTTTCGAGGGTCTGGGACCCGGCT
TCGTGAAGCAGCCAGTGCCCGTTCCTCGCCTCTCCCTGTACATGTGCGGGAGGAAGGTGAGAGGGGG
CTGGGCCCTGGACGGGGTTCGAGGATGTCAACCCCTTTTCCCTTCTGTTTCCATGACCCCTCCCTCT
CCGTCAGCTGTTTGCAGGCCACAGCCTCACGCTCCTCTTCTACCAAGATTGTGGGAATACCCCTGA

GID2.1 ポリペプチド 配列：配列番号 4

MTVHEGQELALGCLARTSTQKHTHLAVSFGRSVPEAPVGRSTLQEVVGI RSDLA VEAGAPYAERLAA
GELRLGKEGTD RYRMVVGGAQAGDAGTYHCTAAEWIQDPDGSWAQIAEKRAVLAHVQVTLSSQLAV
TVGPGERRIGFGEPLLELCNVSGALPPAGRHAAYS VGWEMAPAGAPGPGRLVAQLDTEGVGSLGPGY
EGRHIAMEKVASR TYRLRLEAARPGDAGTYRCLAKAYVRGSGTRLREAASARSRPLPVHVREEGERG
LGPGRGSRI V N P F S F C F H D P S L S V S C L Q A T A S R S S S T K I V G I P

10

GID2.2 ポリヌクレオチドコード配列：配列番号 5

ATGGGCGCCCTCAGGCCACGCTGCTGCCGCCTTCGCTGCCGCTGCTGCTGCTGCTAATGCTAGGAA
TGGGATGCTGGGCCCCGGGAGGTGCTGGTCCCCGAGGGGCCCTTGTACCGCGTGGCTGGCACAGCTGT
CTCCATCTCCTGCAATGTGACCGGCTATGAGGGCCCTGCCAGCAGAACTTCGAGTGGTTCCCTGTAT
AGGCCCGAGGCCCCAGATACTGCACTGGGCATTTGTACAGTACCAAGGATACCCAGTTCTCCTATGCTG
TCTTCAAGTCCCGAGTGGTGGCGGGTGGAGGTGCAGGTGCAGCGCCTACAAGGTGATGCCGTGGTGTCT
CAAGATTGCCCGCCTGCAGGCCCAGGATGCCGGCATTATGAGTGCCACACCCCCCTCCACTGATACC
CGCTACCTGGGCAGCTACAGCGCAAGGTGGAGCTGAGAGTCTTCCAGATGTCCCTCCAGGTGTCTG
CTGCCCCCCCCAGGGCCCCGAGGCCCGCAGGCCCAACCTCACCCCCACGCATGACGGTGCATGAGGG
GCAGGAGCTGGCACTGGGCTGCCTGGCGAGGACAAGCACACAGAAGCACACACACCTGGCAGTGTCC
TTTGGGCGATCTGTGCCCGAGGCACCAGTTGGGCGGTCAACTCTGCAGGAAGTGGTGGGAATCCGGT
CAGACTTGGCCGTGGAGGCTGGAGCTCCCTATGCTGAGCGATTGGCTGCAGGGGAGCTTCGTC TGGG
CAAGGAAGGGACCGATCGGTACCGCATGGTAGTAGGGGGTGGCCAGGCAGGGGACGCAGGCACCTAC
CACTGCACTGCCGCTGAGTGGATT CAGGATCCTGATGGCAGCTGGGCCAGATTGCAGAGAAAAGGG
CCGTCCTGGCCACGTGGATGTGCAGACGCTGTCCAGCCAGCTGGCAGTGACAGTGGGGCCTGGTGA
ACGTCGGATCGGCCAGGGGAGCCCTTGGAACTGCTGTGCAATGTGTCAGGGGCACCTCCCCAGCA
GGCCGTGATGCTGCATACTCTGTAGGTGGGAGATGGCACCTGCGGGGGCACCTGGGCCCGGCCGCC
TGGTAGCCAGCTGGACACAGAGGGTGTGGGCAGCCTGGGCCCTGGCTATGAGGGCCGACACATTGC
CATGGAGAAGGTGGCATCCAGAACATAACCGGCTACGGCTAGAGGCTGCCAGGCCTGGTGTGATGCCGGC
ACCTACCGCTGCCTCGCCAAAGCCTATGTTTCGAGGGTCTGGGACCCGGCTTCGTGAAGCAGCCAGTG
CCCGTTCCCGGCCCTCTCCCTGTACACGTGCGGGAGGAAGGTGTGGTGTGCTGGAAGCTGTGGCATGGCT
AGCAGGAGGCACAGTGTACCGCGGGGAGACTGCCTCCCTGCTGTGCAACATCTCTGTGCGGGGTGGC
CCCCAGGACTGCGGCTGGCCGCCAGCTGGTGGGTGGAGCGACCAGAGGACGGAGAGCTCAGCTCTG
TCCCTGCCCAGCTGGTGGGTGGCGTAGGCCAGGATGGTGTGGCAGAGCTGGGAGTCCGGCCTGGAGG
AGGCCCTGTCAGCGTAGAGCTGGTGGGGCCCCGAAGCCATCGGCTGAGACTACACAGCTTGGGGCCC
GAGGATGAAGGCGTGTACCACTGTGCCCCAGCGCCTGGGTGCAGCATGCCGACTACAGCTGGTACC
AGGCGGGCAGTGCCCGCTCAGGGCCTGTTACAGTCTACCCCTACATGCATGCCCTGGACACCCCTATT

20

30

40

TGTGCCTCTGCTGGTGGGTACAGGGGTGGCCCTAGTCACTGGTGCCACTGTCTTGGTACCATCACT
TGCTGCTTCATGAAGAGGCTTCGAAAACGGTGA

GID2.2 ポリペプチド 配列：配列番号 6

MGALRPTLLPPLSLPLLLLLMLGMGCWAREVLVPEGPLYRVAGTAVSISCNVTGYEGPAQQNFEWFLY
RPEAPDTALGIVSTKDTQFSYAVFKSRVVAGEVQVQRLQGDVVLKIALRLQAQDAGIYECHTPSTDT
RYLGSYSKGVELRVLPDVLQVSAAPPGRGRQAPTSPRMTVHEGQELALGCLARTSTQKHTHLAVS
FGRSVPPEAPVGRSTLQEVVGI RSDLA VEAGAPYAERLAAGELRLGKEGTD RYRMVVGGAQAGDAGTY
HCTAAEWIQDPDGSWAQIAEKRAVLAHVDVQTLSSQLAVTVGPGERRIGPGELELLCNVSGALPPA
GRHAAYSVGWEMAPAGAPGPGRLVAQLDTEGVGSLGPGYEGRHIAMEKVASRTYRLRLEAARPGDAG
TYRCLAKAYVRGSGTRLREAASARSRPLPVHVREEGVVLEAVAWLAGGTVYRGETASLLCNI SVRGG
PPGLRLAASWWVERPEDGELSSVPAQLVGGVGDGVAELGVRPGGPPVSVELVGPRSHRLRLHSLGP
EDEGVYHCAPSAWVQHADYSWYQAGSARSGPVTVYPYMHALDTLFLVPLLVTGVALVTGATVLGTIT
CCFMKRLRKR

10

GID3 ポリヌクレオチド 配列：配列番号 7

CGCCCCGGCGCCATGAGTGGCGGGCGGGCGGAGGGGGCTCGGGCGCCAGTCGCTTCGCCGACTACTTTGTCAT
CTGCGGACTGGACACGGAGACCGGGCTGGAGCCGGACGAGCTGTGCGCATTATGCCAGTACATACAGGCTTCTAA
AGCCAGGGATGGTGCCAGCCCTTTCATTTCAAGTACGACTGAAGGAGAAAATTTTGAGCAGACACCATTGAGAAG
AACATTCAAATCTAAGGTCCTTGACGATATCCTGAGAACGTAGAATGGAATCCCTTTGACCAAGATGCAGTAGG
AATGCTATGTATGCCGAAAGGGCTGGCATTCAAGACCCAGGCTGATCCCAGGGAGCCCCAATTCCATGCCTTTAT
TATCACAAGGGAGGATGGCTCTCGGACATTTGGGTTTGCCTCACATTTTATGAAGAGGTGACTAGCAAGCAGAT
CTGCAGTGCAATGCAGACCCCTCTACCACATGCACAATGCTGAGTATGATGTCTTACATGCTCCCCCTGCTGATGA
CAGAGACCAGAGCAGCATGGAGGATGGTGAAGACACTCCTGTGACCAAACTGCAGCGCTTCAACTCCTATGACAT
TAGCCGGGACACTCTCTACGTCTCTAAGTGCATCTGCCTCATCACACCCATGTCTTTCATGAAGGCATGTCCGGAG
CGTGCTGGAGCAACTCCACCAGGCAGTCACTTACCTCAGCCCCCTCCACTGCCCTTGAGAGCTACATATACAA
CGTACTCTACGAGGTGCCGCTCCACCTCCTGGCCGGTCTTGAAGTTTTCTGGGGTCTATGGGCCAATAATCTG
CCAGAGACCAAGTACCAATGAGCTTCCCCTATTTGACTTTTCTGTCAAAGAGGTTTTTGAAGTCTCGGGGTGGA
GAATGTGTTTCAGCTTTTACTTGTGCCCTTCTGGAGTTTCAAATCCTGCTCTACTCACAGCATTACCAGAGACT
GATGACTGTGGCGGAGACGATTACAGCTCTCATGTTTCTTTCCAGTGGCAGCATGTCTATGTCCCTATTCTCCC
AGCTTCTCTCCTGCATTTCTTAGATGCTCCTGTTCATACCTGATGGGTTTGCATTTCCAATGGCCTGGATGACCG
GTCAAAGCTGGAGCTGCCTCAAGAGGCTAACCTCTGCTTTGTGGACATTGACAACCCTTCAATTGAGTTGCCAGA
GGACTTGCCACAGTTCCCCAACAAATTTGGAGTTTGTCCAGGAAGTCTCTGAGATTCTCATGGCATTGGAATTCC
CCCTGAAGGGAATCTTCATTGCAGTGAGAGTGCCTCCAAGCTGAAGAGGCTGCGGGCCTCTGAGCTTGTCTCGGA
CAAGAGGAATGGGAACATTTGCTGGCTCCCCTTTGCATTTCTACGAGCTTCTTAAGGAGAATGAAACTATTGCCCG
GCTGCAAGCCTTGGTCAAGAGAACTGGGGTGAGCCTGGAAAAGTTGGAAGTGCCTGAAGACCCAGCAGCAATAA
GGATCTCAAAGTTCAAGTGTGATGAAGAAGAACTCAGGATTTACCAGCTAAACATTCAGATCCGGGAAGTTTTTGC
AAATCGTTTCACTCAGATGTTTGCAGATTATGAGGTGTTTGTTCATCCAACCCAGCCAGGATAAGGAATCCTGGTT
TACCAACAGGGAGCAAAATGCAAACTTTGATAAAGCATCTTTTCTGTGATCAGCCTGAGCCCTACCTGCCCTT
CCTCTCAAGATTCCTGGAGACCCAGATGTTTGCATCTTTTCATTGACAACAAAATAATGTGTGATGATGATGA
TAAAGACCTGTACTCCGGGTATTTGATTTCCGAGTTGACAAGATCAGGCTGTTGAATGTTCCGACACCTACTCT

20

30

40

CCGTACATCCATGTACCAGAAGTGTAACACTGTGGATGAAGCAGAGAAAGCAATTGAGCTGCGTCTGGCAAAAAT
 TGACCATACTGCAATTCACCCACATTTACTTTGACATGAAGATTGGACAAGGGAAATATGAGCCGGGCTTCTTCCC
 TAAGCTGCAGTCTGATGTACTTTCCACTGGGCCAGCCAGCAACAAGTGGACGAAAAGGAATGCCCTGCCCAGTG
 GAGGCGGAAAGATCGGCAGAAGCAGCACACAGAACACCTGCGTTTAGATAATGACCAGAGGGAGAAGTACATCCA
 GGAAGCCAGGACTATGGGCAGCACTATCCGCCAGCCAAACTGTCCAACCTCTCTCCATCAGTGATTGCCAGAC
 CAATTGGAAGTTTGTAGAGGGCCTGCTGAAGGAATGCCGCAATAAGACCAAGAGGATGCTGGTGGAAAAGATGGG
 CCGAGAAGCTGTGGAGCTAGGGCATGGGGAGGTGAACATCACAGGGGTGGAAGAGAACACCCTGATTGCCAGCCT
 TTGTGATCTCCTGGAAAGGATCTGGAGTCATGGACTACAAGTGAACAGGGGAAATCAGCCTTATGGTCCCACCT
 GTTACATTATCAGGACAACCGGCAGAGAAAACCTCACATCAGGAAGCCTCAGTACCTCAGGAATACTTCTTGATTC
 AGAACGTAGGAAGTCTGATGCCAGCTCACTCATGCCTCCCCTGAGGATCTCCCTGATTTCAGGATATGAGGCACAT
 CCAGAACATCGGGGAAATCAAGACTGATGTGGGAAAGGCCAGAGCATGGGTGCGACTGTCCATGGAAAAAAGTT
 ACTTTCAGACACCTGAAGCAGCTCCTCTCAGACCATGAGCTCACCAAAAAGTTATATAAGCGCTATGCCTTCCT
 GCGCTGTGATGACGAGAAGGAGCAGTTCCCTCTATCACCTCCTGTCTTCAATGCCGTCGATTACTTTTGCTTCAC
 CAATGTCTTCACAACATCTCTGATCCCGTACCACATTCTGATCGTACCAAGCAAGAAGCTGGGGGCTCCATGTT
 CACTGCCAACCCATGGATCTGTATATCAGGAGAATGGGTGAGACACAGATCATGCAGATTCCAGGAATGTGCT
 AGAGATGACCTTCGAGTGCCAGAACTTGGGGAAGCTTACTACTGTCCAGATTGGCCATGATAACTCTGGGCTGTA
 TGCCAAATGGCTGGTGGAGTATGTGATGGTCAGGAATGAGATCACAGGACATACCTACAAGTTCCCGTGTGGCCG
 GTGGTTAGGGAAGGGCATGGATGATGGAAGCCTGGAGCGGATCCTAGTTGGGGAGCTGCTCACATCCCAGCCTGA
 GGTGGATGAGAGGCCATGCCGACCCCGCCGCTGCAGCAGTCCCCAGTGTATCCGGAGGCTTGTACCATCTC
 ACCCAACAACAAGCCCAAGCTGAACACTGGGCAGATCCAGGAGTCCATCGGGGAGGCAGTCAATGGCATTTGTGAA
 GCACTTCCATAAGCCTGAGAAAGAGCGAGGCAGTCTGACGCTGTTGCTCTGTGGAGAGTGTGGCCTTGTCTCGGC
 CTTGGAACAGGCTTTCAGCATGGATTTAAATCGCCCCGGCTCTTCAAAAATGTCTTCATTTGGGATTTCTTGGA
 AAAAGCACAACCTATTATGAGACATFAGAGAAGAATGAAGTAGTCCCTGAGGAAAACCTGGCATAACAAGAGCCCG
 GAACCTCTGCCGATTTGTCACTGCAATCAACAATACTCCCCGGAACATCGGCAAGGATGGCAAGTTTCAGATGCT
 GGTGTGCTTGGGAGCCAGAGATCACCTCCTACACCCTGGATTGCCCTGCTGGCTGACTGCCCCATCACTGCaCA
 CATGTATGAGGATGTGGCACTGATCAAAGACCATACACTTGTCAATTCCCTTGATTCTGTGTGCTGCAGACATTGCA
 GGAGTTCAACATCACGCTGGAGACGTCCCTTGTCAAGGGCATCGACATCTGACCCTCCAGCACCAGCCAGCAGCA
 GGACTGAGAAAGACTCACCTGCAGCTCTGACCTTTTTTTCCCAAAGGGACTTAAGCGATTGTGCAGGAGTAGGAG
 ACAAATGTACTACTACTGTAAAAAGAAAACCTAGAGGATTTTTTGGAATAAATAATCTATTTTAGAGTTTATTTGC
 TGATTTGCTTTTTTACACACTTTCATGTGAAAGAGTGATAGGGAGAGGGAGCGAGGCTGGTGCCGCTTATTTTGAA
 GCTGGTGCCCTCCCTCGCCGTGGCCACATGCTGGAAGCCTGAGGCCTCCCTGGACTGAGCCTGTGGCACTGCGTG
 CGGGACAGTTATGTTTCTTGGCCCGTCGCATTAATGAGGGCCTTCCACATCATTTTTTAAACTAATGTTTTTCTA
 TATTAACATTATTATGGATATTTGGCTTTCATAGGCCACACACAGGTGTGCTGCGCGGGAAGCCCATGCTCCAA
 TCAAAGGGATTTTTTAGTAGTGCCCTCAAGCAAGCACCAGATGAGTCCACGATTTTCTTTTTTTGTCAGTAT
 TGTTTTGGGAAGGAGACATGCCGGGATGTGTATCGTGCCAAATACCACATTTCCCTGTTGGCACAGTTTCACAGAA
 GFAAACATAAGCATGTTTTAACAGGTTTTCTTTTTCTTTTTTTTAAATGTTTTATTTAATTAACCCGCC
 ATTTGTGTGTTTTTAAGTATTTCTTTTTTTTAAAGGAAAAGGAAAAGCTTGTACAATCTAACTGGCTATGTTATTAT
 TATTAAATTTATGTTTTGCAACTTAGAAACCAGCTACAGTATGGCCCACTTAATAAAACACCTGAAACAAAAAAA
 AAAAAAAAAA

10
20
30
40

GID3 ポリヌクレオチドコード配列：配列番号 8

ATGAGTGGCGGCGGCGGAGGGGGCTCGGCGCCAGTTCGCTTCGCGGACTACTTTGTCACTGCGGACTGGAC
 ACGGAGACCGGGCTGGAGCCGGACGAGCTGTCCGATTTATGCCAGTACATACAGGCTTCTAAAGCCAGGGATGGT

【表 7】

GCCAGCCCTTTCATTTCAAGTACGACTGAAGGAGAAAATTTTGAGCAGACACCATTGAGAAGAACATTCAAATCT
AAGGTCCCTTGCACGATATCCTGAGAACGTAGAATGGAATCCCTTTGACCAAGATGCAGTAGGAATGCTATGTATG
CCGAAAGGGCTGGCATTCAAGACCCAGGCTGATCCCAGGGAGCCCAATTCATGCCTTTATTATCACAAGGGAG
GATGGCTCTCGGACATTTGGGTTTGCCCTCACATTTTATGAAGAGGTGACTAGCAAGCAGATCTGCAGTGCAATG
CAGACCCTCTACCACATGCACAATGCTGAGTATGATGTCCTACATGCTCCCCCTGCTGATGACAGAGACCAGAGC
AGCATGGAGGATGGTGAAGACACTCCTGTGACCAAACTGCAGCGCTTCAACTCCTATGACATTTAGCCGGGACACT
CTCTACGTCTCTAAGTGCATCTGCCTCATCACACCCATGCTTTTCATGAAGGCATGTCGGAGCGTCTGGAGCAA
CTCCACCAGGCAGTCACTTCACCTCAGCCCCCTCCACTGCCCCTTGAGAGCTACATATAACAACGTACTCTACGAG
GTGCCGCTCCCACCTCCTGGCCGGTCCCTTGAAGTTTCTGGGGTCTATGGGCCAATAATCTGCCAGAGACCAAGT
ACCAATGAGCTTCCCCTATTTGACTTTCTGTCAAAGAGGTTTGTGAAGTCTCGGGGTGGAGAATGTGTTTCAG
CTTTTTACTTGTGCCCTTCTGGAGTTTCAAATCCTGCTCTACTCACAGCATTACCAGAGACTGATGACTGTGGCG
GAGACGATTACAGCTCTCATGTTTCCCTTTCAGTGGCAGCATGTCATGTCCTATTCTCCCAGCTTCTCTCCTG
CATTTCTTAGATGCTCCTGTTCATACCTGATGGGFTTGCATTTCCAATGGCCTGGATGACCGGTCAAAGCTGGAG
CTGCCTCAAGAGGCTAACCTCTGCTTTGTGGACATGACAACCACTTCATTTGAGTTGCCAGAGGACTTGGCCACAG
TTCCCCAACAAATTTGGAGTTTGTCCAGGAAGTCTCTGAGATTCTCATGGCATTTGGAATTTCCCCCTGAAGGGAAT
CTTCATTGCAGTGAGAGTGCCTCCAAGCTGAAGAGGCTGCGGGCTCTGAGCTTGTCTCGGACAAGAGGAATGGG
AACATTGCTGGCTCCCCTTTGCATTTCTACGAGCTTCTTAAGGAGAATGAAACTATTGCCCGGTGCAAGCCTTG
GTCAAGAGAACTGGGGTGAGCCTGGAAAAGTTGGAAGTGCCTGAAGACCCCAGCAGCAATAAGGATCTCAAAGTT
CAGTGTGATGAAGAAGAACTCAGGATTTACCAGCTAAACATTCAGATCCGGGAAGTTTGTGCAAATCGTTTCACT
CAGATGTTTGCAGATTATGAGGTGTTGTTCATCCAACCCAGCCAGGA'PAAGGAATCCTGGTTTACCAACAGGGAG
CAAATGCAAAACTTTGATAAAGCATCTTTTCTGTTCAGATCAGCCTGAGCCCTACCTGCCCCTTCCCTCTCAAGATTC
CTGGAGACCCAGATGTTTGCATCTTTTCATTTGACAACAAAATAATGTGTTCATGATGATGATAAAGACCCTGTA
CTCCGGGTATTTGATTTCCGAGTTGACAAGATCAGGCTGTTGAATGTTTCGGACACCTACTCTCCGTACATCCATG
TACCAGAAGTGTACCACTGTGGATGAAGCAGAGAAAAGCAATTTGAGCTGCGTCTGGCAAAAATTTGACCATACTGCA
ATTCACCCACATTTACTTTGACATGAAGATTTGACAAGGGAAATATGAGCCGGGCTTCTTCCCTAAGCTGCAGTCT
GATGTACTTTCCACTGGGCCAGCCAGCAACAAGTGGACGAAAAGGAATGCCCTGCCAGTGGAGGCGGAAAGAT
CGGCAGAAGCAGCACACAGAACACCTGCGTPTAGATAATGACCAGAGGGAGAAGTACATCCAGGAAGCCAGGACT
ATGGGCAGCACTATCCGCCAGCCAAACTGTCCAACCTCTCTCCATCAGTGTGCCCAGACCAATTTGGAAGTTT
GTAGAGGGCCTGCTGAAGGAATGCCGCAATAAGACCAAGAGGATGCTGGTGGAAAAGATGGGCCGAGAAGCTGTG
GAGCTAGGGCATGGGGAGGTGAACATCACAGGGGTGGAAGAGAACACCCCTGATTTGCCAGCCTTTGTGATCTCCTG
GAAAGGATCTGGAGTCACTGACTACAAGTGAACAGGGGAAATCAGCCTTATGGTCCCACCTGTTACATTTATCAG
GACAACCGGCAGAGAAAACCTCACATCAGGAAGCCTCAGTACCTCAGGAATACTTCTTGTATTCAGAACGTAGGAAG
TCTGATGCCAGCTCACTCATGCCTCCCCCTGAGGATCTCCCTGATTCAGGATATGAGGCACATCCAGAACATCGGG
GAAATCAAGACTGATGTGGAAAGGCCAGAGCATGGGTGCGACTGTCCATGGAAAAAAAGTTACTTTCCAGACAC
CTGAAGCAGCTCCTCTCAGACCATGAGCTCACCAAAAAGTTATATAAGCGCTATGCC'PTCCTGCGCTGTGATGAC
GAGAAGGAGCAGTTCCCTCTATCACCTCCTGCTTTCATGCCGTCGATTACTTTTGTCTCACCAATGTCTTACA
ACTATCCTGATCCCGTACCACATTTCTGATCGTACCAAGCAAGAAGCTGGGGGGCTCCATGTTTCACTGCCAACCCA
TGGATCTGTATATCAGGAGAATTTGGGTGAGACACAGATCATGCAGATTTCCAGGAATGTGCTAGAGATGACCTTC
GAGTGCCAGAACTTTGGGAAGCTTACTACTGTCCAGATTTGGCCATGATAACTCTGGGCTGTATGCCAAATGGCTG
GTGGAGTATGTGATGGTCAGGAATGAGATCACAGGACATACCTACAAGTTCCCGTGTGGCCGGTGGTTAGGGAAG
GGCATGGATGATGGAAGCCTGGAGCGGATCCTAGTTGGGGAGCTGCTCACATCCCAGCTGAGGTGGATGAGAGG
CCATGCCGGACCCCGCCGCTGCAGCAGTCCCCCAGTGTTCATCCGGAGGCTTGTACCATCTCACCCAACAACAAG
CCCAAGCTGAACACTGGGCAGATCCAGGAGTCCATCGGGAGGCAGTCAATGGCATTTGTGAAGCACTTCCATAAG

10

20

30

40

【表 8】

CCTGAGAAAGAGCGAGGCAGTCTGACGCTGTTGCTCTGTGGAGAGTGTGGCCTTGTCCTCGGCCTTGGAACAGGCT
 TTCCAGCATGGATTTAAATCGCCCCGGCTCTTCAAAAATGTCTTCATTTGGGATTTCCCTGGAAAAAGCACAAACC
 TATTATGAGACATTAGAGAAGAATGAAGTAGTCCCTGAGGAAAACGGCATAACAAGAGCCCGGAACCTCTGCCGA
 TTTGTCACTGCAATCAACAATACTCCCCGGAACATCGGCAAGGATGGCAAGTTTCAGATGCTGGTGTGCTTGGGA
 GCCAGAGATCACCTCCTACACCACTGGATTGCCCTGCTGGCTGACTGCCCCATCACTGCaCACATGTATGAGGAT
 GTGGCACTGATCAAAGACCATACTTGTCAATTCCTTGATTTCGTGTGCTGCAGACATTGCAGGAGTTCAACATC
 ACGCTGGAGACGTCCCTTGTCAAGGGCATCGACATCTGA

GID3 ポリペプチド 配列: 配列番号 9

MSGGGGGGSAPSRFADYFVICGLDTETGLEPDELSALCQYIQASKARDGASPFISSTTEGENFEQT
 PLRRTFKSKVLARYPENVEWNPFDQDAVGMLCMPKGLAFKQTQADPREPQFHAFIITREDGSRTFGFA
 LTFYEEVTSKQICSAMQTLYHMNAEYDVLHAPPADDRDQSSMEDGEDTPVTKLQRFNSYDISRDTL
 YVSKICLITPMSFMKACRSVLEQLHQAVTSPQPPPLPLESYIYNVLYEVPLPPPGRSLKFSGVYGP
 IICQRPSTNELPLDFDPVKEVFELLVENVFQLFTCALLEFQILLYSQHYQRLMTVAETITALMFPF
 QWQHVVYPILPASLLHFLDAPVPYLMGLHSNGLDDRSKLELPQEANLCFVDIDNHFIELPEDLPQFP
 NKLEFVQEVSEILMAFGIPPEGNLHCSESASKLKRRLASELVSDKRNGNIAGSPLHSYELLKENETI
 ARLQALVKRTGVSLEKLEVREDPSSNKDLKVQCDEEELRIYQLNIQIREVFANRFTQMFADYEVFVI
 QPSQDKESWFTNREQMQNFDKASFLSDQPEPYLPFLSRFLETQMFASFIDNKIMCHDDDDKDPVLRV
 FDSRVDKIRLLNVRTPTLRRTSMYQKCTTVDEAEKAIELRLAKIDHTAIHPHLLDMKIGQKYEFGF
 PKLQSDVLSTGPASNKWKRNAPAQWRRKDRQKQHEHLRLDNDQREKYIQEARTMGSTIRQPKLSN
 LSPSVIAQTNWKFVEGLLKECRNKTKRMLVEKMGREAVELGHGEVNITGVEENTLIASLCDLLERIW
 SHGLQVKQGSALWSHLLHYQDNRQRKLTSGSLSTSGILLDSERRKSDASSLMPPLRISLIQDMRHI
 QNIGEIKTDVVGKARAWVRLSMEKKLLSRHLKQLLSDHELTKKLYKRYAFLRCDDEKEQFLYHLLSFN
 AVDYFCFTNVFTTILIPYHILIVPSKKLGGSMFTANPWICISGELGETQIMQIPRNVLEMTFECQNL
 GKLTTVQIGHDNSGLYAKWLVEYVMVRNEITGHYKFCGRWLKGMDDGSLERILVGEELLTSQPEV
 DERPCRTPLPQQSPSVIRRLVTISPNNPKLNTGQIQESIGEAVNGIVKHFHKPEKERGSLTLLLCG
 ECGLVSALEQAFQHGFKSPRLFKNVFIWDFLEKAQTYETLEKNEVVPEENWHTRARNFCRFVTAIN
 NTPRNIGKDGKFQMLVCLGARDHLLHHWIALADCPITAHMYEDVALIKDHTLVNSLIRVLQTLQEF
 NITLETSLVKGIDI

GID4 ポリヌクレオチド: 配列番号 10

GTCCTGGCTAACTCATCTCCAGACCTAAGTTGGGAAAGGGGAGGGGAGCGCGGAAAGCGGAGAAGCCG
 GAGGAGACGCTCCGGAGTGACCAGCGACGGCTGAACGCAGCCCGCCCTCCCCAAGTCGACGCCGCAA
 CCCGGGGAAAGCAGGAGGACCATGCGGCAGTAGCAGCCATGCTGCCCTTTCCTGCTGGCCACACTGGG
 CACCACAGCCCTCAACAACAGCAACCCCAAGGACTACTGCTACAGCGCCCGCATCCGCAGCACTGTC
 CTGCAGGGCCTGCCCTTTGGGGGCGTCCCCACCGTGCTGGCTCTCGACTTCATGTGCTTCCCTTGCAC
 TGCTGTTCTTATTCTCTATCCTCCGGAAGGTGGCTGGGACTATGGGCGGCTGGCCTTGGGTGACAGA
 TGCAGACAGGCTTCGGCGGCAGGAGAGGGACCGAGTGGAAACAGGAATATGTGGCTTCAGCTATGCAC
 GGGACAGCCATGACCGGTATGAGCGTCTCACCTCTGTCTCCAGCTCCGTTGACTTTGACCAAAGGG
 ACAATGGTTTCTGTTCTTGGCTGACAGCCATCTTCAGGATAAAGGATGATGAGATCCGGGACAAATG

TGGGGGCGATGCCGTGCACTACCTGTCCTTTCAGCGGCACATCATCGGGCTGCTGGTGGTTGTGGGC
 GTCCTCTCCGTAGGCATCGTGCTGCCGTGCAACTTCTCAGGGGACCTGCTGGAGAACAATGCCTACA
 GCTTTGGGAGAACCACCATTTGCCAACTTGAATCAGGGAACAACCTGCTATGGCTGCACACCTCCTT
 CGCCTTCCTGTATCTGCTGCTCACCGTCTACAGCATGCGTAGACACACCTCCAAGATGCGCTACAAG
 GAGGATGATCTGGTGAAGCGGACCTCTTCATCAATGGAATCTCCAAATATGCAGAGTCAGAAAAGA
 TCAAGAAGCATTTTGAAGGAAGCCTACCCCAACTGCACAGTTCGGAAGCCCGCCGTGTTACAACGT
 GGCTCGCCTAATGTTCTCGATGCAGAGAGGAAGAAGGCCGAGCGGGGAAAGCTGTACTTCACAAAC
 CTCCAGAGCAAGGAGAACGTGCCTACCATGATCAACCCCAAGCCCTGTGGCCACCTCTGCTGCTGTG
 TGGTGCGAGGCTGTGAGCAGGTGGAGGCCATTGAGTACTACACAAAGCTGGAGCAGAAGCTGAAGGA
 AGACTACAAGCGGGAGAAGGAGAAGGTGAATGAGAAGCCTCTTGGCATGGCCTTTGTCACCTTCCAC
 AATGAGACTATCACCGCCATCATCCTGAAGGACTTCAACGTGTGTAATGCCAGGGCTGCACCTGCC
 GTGGGGAGCCACGCCCTCATCCTGCAGCGAGTCCCTGCACATCTCCAACCTGGACCCTGTCTTATGC
 CCTGACCCTCAGAACATCTACTGGGAGCACCTCTCCATCCGAGGCTTCATCTGGTGGCTGCGCTGC
 CTGGTCATCAATGTGCTCCTCTTCATCCTCCTCTTCTTCTCACCCTCCAGCCATCATCATCACCA
 CCATGGACAAGTTCAACGTCACCAAGCCTGTGGAGTACCTCAACAACCCCATCATCACCCAGTCTTT
 CCCCACCCTGCTGCTGTGGTGCTTCTCGGCCCTCCTTCCCACCATCGTCTACTACTCAGCCTTCTTT
 GAAGCCACTGGACACGCTCTGGGGAGAACAGGACAACCATGCACAAGTGCTACACTTCTCTCATCT
 TCATGGTGCTGCTCCTACCCTCGCTGGGACTGAGCAGCCTGGACCTCTTCTTCCGCTGGCTCTTTGA
 TAAGAAATTTCTGGCTGAGGCAGCTATTCGGTGTGAGTGTGTTCTGCCCCGACAACGGCGCCTTC
 TTCGTGAACTACGTCAATGCTCAGCCTTTATCGGCAACGCCATGGACCTGCTGCGCATCCCAGGCC
 TGCTCATGTACATGATCCGGCTCTGCCCTGGCGCGCTCGGCCGCCGAGAGGCGCAACGTGAAGCGGCA
 TCAGGCCTACGAGTTCCAGTTTGGCGCAGCCTACGCCTGGATGATGTGCGTCTTCACGGTGGTCATG
 ACCTACAGTATCACCTGCCCATCATCGTGCCCTTCGGGCTCATGTACATGCTGCTGAAGCACCTGG
 TAGACAGGTACAATCTCTACTACGCCACCTGCGGCCAAGCTGGACAAGAAGATCCACTCGGGGGC
 TGTGAACCAGGTGGTGGCCGCGCCATCCTCTGCCTCTTCTGGCTGCTCTTCTTTTCCACCATGCGC
 ACGGGGTTCCTAGCTCCCACGTCTATGTTACATTTGTGGTCTGGTCATCACCATCGTCATCTGTC
 TCTGCCACGTCTGCTTTGGACACTTCAAATACCTCAGTGCCCACAACCTACAAGATTGAGCACACGGA
 GACAGATACTGTGGACCCCAAGCAATGGACGGCCCCCACTGCTGCTGCTGTCCCCAAATCTGCG
 AAATACATCGCTCAGGTGCTGCAGGACTCAGAGGTGGACGGGGATGGGGATGGGGCTCCTGGGAGCT
 CAGGGGATGAGCCCCATCATCCTCATCCCAAGATGAGGAGTTGCTGATGCCACCCGACGCCCTCAC
 GGACACAGACTTCCAGTCTTGCAGGACAGCCTCATAGAGAATGAGATTCACCAGTAAGGGGAGGGA
 GGGGCCCTGGAGGCCACATCCTGCCCCACCCACCCCACTCCACGGACACTAAAACGCTAATAAT
 TTATTAGATCTAAAGCCCCCTCCTCCCCAGCCCCCTGCTTTTCAATTAAGGTATTTAAACTTGGGGGTTT
 CACTGCTCTCCCCATGATGGAGGGAGGGAGCCCCCAACCTCAGTGAGGAGAGCCCCGAGCCGGCC
 CCGGGGCAAAGAGGGGTGCAGAGGGAGTTCCCCAGATCAGTACCCCCACCCCTCCCAGCTAGTA
 GCATGACCAGGAGAGGGTTAATGAGAGCCAAGAGGAGTACCTGGTGCACCTGGTGCAGGTTGGCTGGA
 GACCTGGGGGGCAGGTGGATCTGGGGCTGTTCCCCCCCCCTCCGTTTTTTCCACCCACAGTTCCTCC
 TGGGATCTGGCCCTCCAGGGAAGTGGAGCCTCCAGCCCCTAGGGGATGCATGAGGGGGGAGGGGGTG
 CTGAGTGGGAGGAAGAGTCAGGCTCACAGCTGGGGTGGCCTGGGGGTGGGGGTGGGCAAGGCTGACA
 CTGGAAATGGGTTTTTGCACCTGTTTTTTTTTTGGTTTTTTTGTCTTTTTTTGTTTTTTCTTTTA

10

20

30

40

【表 1 0】

AAATAAAAACAAAGAAAAGCTCTGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
AAAAAAA

GID4 ポリヌクレオチドコード配列：配列番号11

ATGCTGCCCTTTCTGCTGGCCACACTGGGCACCACAGCCCTCAACAACAGCAACCCCAAGGACTACT
GCTACAGCGCCCGCATCCGCAGCACTGTCCTGCAGGGCCTGCCCTTTGGGGGCGTCCCCACCGTGCT
GGCTCTCGACTTCATGTGCTTCCTTGCACTGCTGTTCTTATCTCTATCCTCCGGAAGGTGGCCTGG
GACTATGGGCGGCTGGCCTTGGTGACAGATGCAGACAGGCTTCGGCGGCAGGAGAGGGACCGAGTGG
AACAGGAATATGTGGCTTCAGCTATGCACGGGGACAGCCATGACCCGGTATGAGCGTCTCACCTCTGT
CTCCAGCTCCGTTGACTTTGACCAAAGGGACAATGGTTTCTGTTCCCTGGCTGACAGCCATCTTCAGG
ATAAAGGATGATGAGATCCGGGACAAATGTGGGGGCGATGCCGTGCACTACCTGTCCTTTCAGCGGC
ACATCATCGGGCTGCTGGTGGTTGTGGGCGTCCCTCCTCGTAGGCATCGTGCTGCCTGTCAACTTCTC
AGGGGACCTGCTGGAGAACAATGCCTACAGCTTTGGGAGAACCACCATTGCCAACTTGAAATCAGGG
AACAACTGCTATGGCTGCACACCTCCTTCGCCTTCCCTGTATCTGCTGCTCACCGTCTACAGCATGC
GTAGACACACCTCCAAGATGCGCTACAAGGAGGATGATCTGGTGAAGCGGACCCTCTTCATCAATGG
AATCTCCAAATATGCAGAGTCAGAAAAGATCAAGAAGCATTTTGAGGAAGCCTACCCCAACTGCACA
GTTCTCGAAGCCCGCCCGTGTACAAACGTGGCTCGCCTAATGTTCCCTCGATGCAGAGAGGAAGAAGG
CCGAGCGGGGAAAGCTGTACTTCACAAACCTCCAGAGCAAGGAGAACGTGCCTACCATGATCAACCC
CAAGCCCTGTGGCCACCTCTGCTGCTGTGTGGTGCAGGCTGTGAGCAGGTGGAGGCCATTGAGTAC
TACACAAAGCTGGAGCAGAAGCTGAAGGAAGACTACAAGCGGAGAGGAGAAGGTGAATGAGAAGC
CTCTTGGCATGGCCTTTGTACCTTCCACAATGAGACTATCACCGCCATCATCCTGAAGGACTTCAA
CGTGTGTAATGCCAGGGCTGCACCTGCCGTGGGGAGCCACGCCCTCATCCTGCAGCGAGTCCCTG
CACATCTCCAAGTGGACCGTGTCTTATGCCCCTGACCCTCAGAACATCTACTGGGAGCACCTCTCCA
TCCGAGGCTTCATCTGGTGGCTGCGCTGCCTGGTCATCAATGTCGTCCCTTTCATCCTCCTCTTCTT
CCTCACCACTCCAGCCATCATCATCACCAATGGACAAGTCAACGTCACCAAGCCTGTGGAGTAC
CTCAACAACCCCATCATCACCCAGTCTTCCCCACCCTGCTGCTGTGGTGGCTTCTCGGCCCTCCTTC
CCACCATCGTCTACTACTCAGCCTTCTTTGAAGCCCACTGGACACGCTCTGGGGAGAAGGACAAC
CATGCACAAGTGCTACACTTTCCTCATCTTCATGGTGTGCTCCTACCCTCGCTGGGACTGAGCAGC
CTGGACCTCTTCTTCCGCTGGCTCTTTGATAAGAAATCTTGGCTGAGGCAGCTATTCGGTTTGAGT
GTGTGTTCCCTGCCCGACAACGGCGCCTTCTTCGTGAACCTACGTCATTGCCTCAGCCTTTATCGGCAA
CGCCATGGACCTGCTGCGCATCCCAGGCTGCTCATGTACATGATCCGGCTCTGCCTGGCGCGCTCG
GCCGCCGAGAGGCGCAACGTGAAGCGGCATCAGGCTACGAGTTCAGTTTGGCGCAGCCTACGCCT
GGATGATGTGCGTCTTACGGTGGTCATGACCTACAGTATCACCTGCCCATCATCGTGCCCTTCGG
GCTCATGTACATGCTGCTGAAGCACCTGGTAGACAGGTACAATCTCTACTACGCCTACCTGCCGGCC
AAGCTGGACAAGAAGATCCACTCGGGGGCTGTGAACCAGGTGGTGGCCGCGCCCATCCTCTGCCTCT
TCTGGCTGCTCTTCTTTCCACCATGCGCACGGGGTTCCCTAGCTCCCAGTCTATGTTACATTTGT
GGTCCCTGGTCATCACCATCGTCATCTGTCTCTGCCACGCTGCTTTGGACACTTCAAATACCTCAGT
GCCACAACCTACAAGATTGAGCACACGGAGACAGATACTGTGGACCCAGAAAGCAATGGACGGCCCC
CCACTGCTGCTGCTGTCCCAAATCTGCGAAATACATCGCTCAGGTGCTGCAGGACTCAGAGGTGGA

10

20

30

40

【表 1 1】

CGGGGATGGGGATGGGGCTCCTGGGAGCTCAGGGGATGAGCCCCATCATCCTCATCCCAAGATGAG
 GAGTTGCTGATGCCACCCGACGCCCTCACGGACACAGACTTCCAGTCTTGCGAGGACAGCCTCATAG
 AGAATGAGATTCACCAGTAA

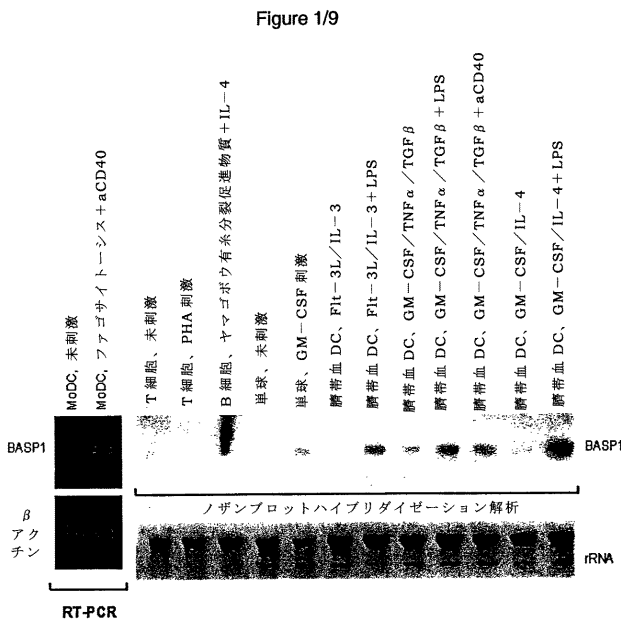
GID4 ポリペプチド：配列番号 12

MLPFLLATLGTALNNSNPKDYCY SARIRSTVLQGLPFGGVPTVLALDFMCF LALLFLFSILRKVAW
 DYGR LALVTDADRLRRQERDRVEQEYVASAMHGDSH DRYERLTSVSSSVDFDQ RDNGFCSWLTAIFR
 IKDDEIRDKCGDAVHYLSFQRHI IGLLVVGVLSVGIVLPVNFSGDLLENNAYSFGR TTIANLKSG
 NLLWLHTSFAFLYLLLTVYSMRRHTSKMRYKEDDLVKRTL FINGISKYAESEKIKKHFE EAYPNCT
 VLEARPCYNVARLMFLDAERKKAERGKLYFTNLQSKENVP TMINPKPCGHLCCC VVRGCEQVEAIEY
 YTKLEQKLKEDYKREKEKVNEKPLGMAFVTFHNETITAI I LKDFNVCKCQGC TCRGEP RPSSCSESL
 HISNWTVSYPDPQNIYWEHLSIRGFIWWLRCLVIN VVLFILLFFLTTPAII ITTMDKFNVT K PVEY
 LNNPIITQFFPTLLLWCF SALLPTIVYYSAFFEAHWTRSGENR TTMHKCYTFLIFMVLLL PSLGLSS
 LDLFFRWLFDKKFLAEAAIRFECVFLPDNGAFFVNYVIASAFIGNAMDLLRIPGLLMYIRLCLARS
 AAERNVKRHQAYEFQFGAAYAWMMCVFTVVM TYSITCPIIVPFGLMYMLLKHLDVDRYNLYAYLPA
 KLDKKI HSGAVNQVVAAPILCLFWLLFFSTMRTGFLAPTSMFTFVVLVITIVICLCHVCFGHFKYLS
 AHNYKIEHTETD TDVDRSNGRPPTAAAVPKSAKYIAQVLQDSEVDGDGDGAPGSSGDEPPSSSSQDE
 ELLMPPDALTD TDFQSCEDSLIENEIHQ

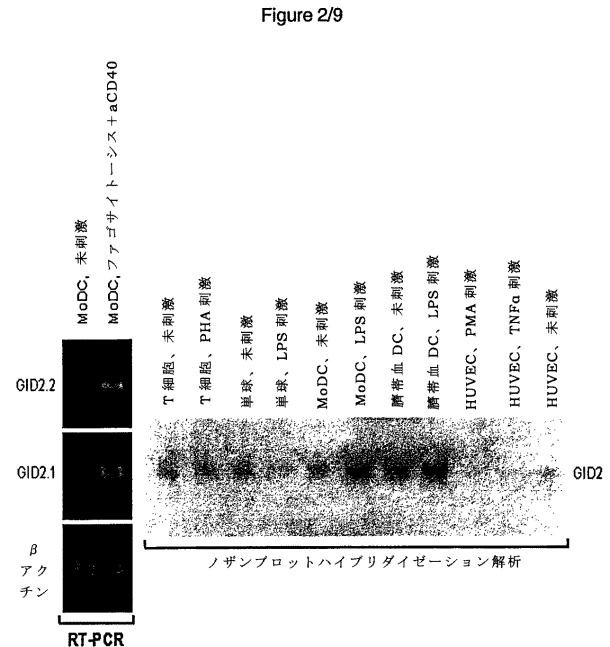
10

20

【 図 1 】

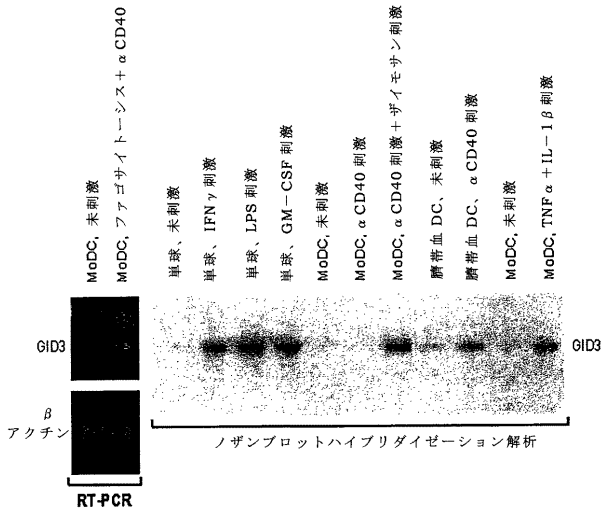


【 図 2 】



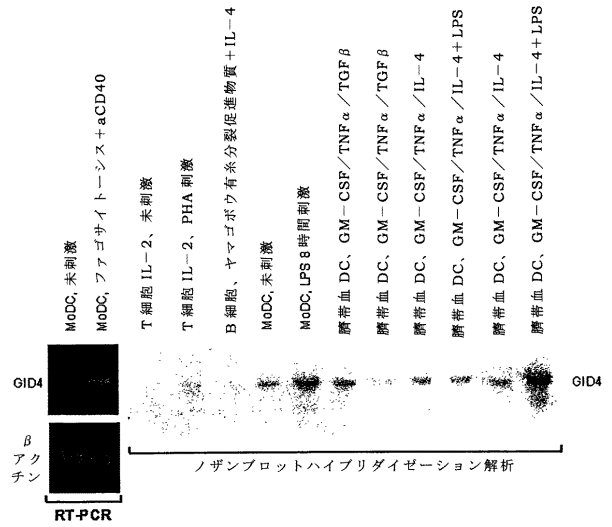
【 図 3 】

Figure 3/9



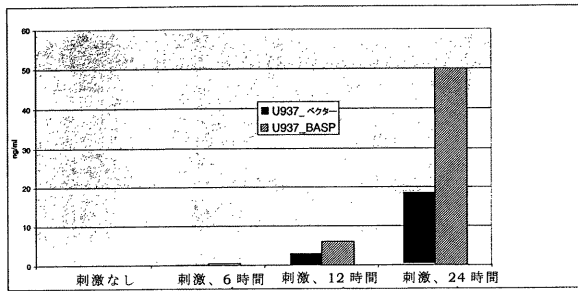
【 図 6 】

Figure 6/9



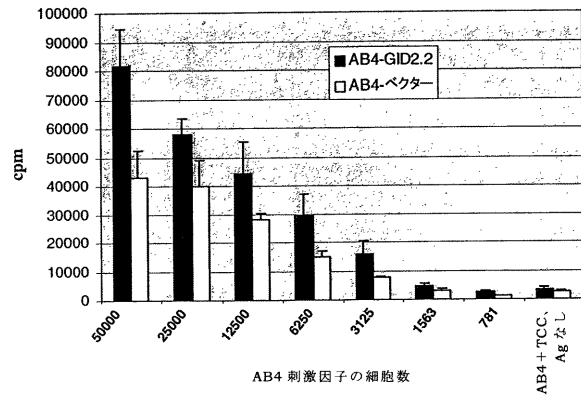
【 図 7 】

Figure 7/9



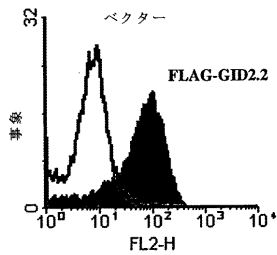
【 図 9 】

Figure 9/9



【 図 8 】

Figure 8/9



【国際公開パンフレット】

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

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau(43) International Publication Date
30 January 2003 (30.01.2003)

PCT

(10) International Publication Number
WO 03/008579 A2

- (51) International Patent Classification: C12N 15/11, C07K 14/47, 16/18, C12Q 1/68, G01N 33/53, 33/68, A61K 38/16, 39/395, 31/7088, A61P 29/00, 37/00, 35/00, 31/00
- (21) International Application Number: PCT/EP02/07924
- (22) International Filing Date: 16 July 2002 (16.07.2002)
- (25) Filing Language: English
- (26) Publication Language: English
- (30) Priority Data:
60/305,932 17 July 2001 (17.07.2001) US
60/313,550 20 August 2001 (20.08.2001) US
60/315,123 27 August 2001 (27.08.2001) US
60/318,484 10 September 2001 (10.09.2001) US
- (71) Applicant (for all designated States except AT, US): NOVARTIS AG [CH/CN]; Lichtstrasse 35, CH-4056 Basel (CH).
- (71) Applicant (for AT only): NOVARTIS-ERFINDUNGEN VERWALTUNGSGESELLSCHAFT m.b.H. [AT/AU]; Brunner Strasse 59, A-1230 Vienna (AT).
- (72) Inventors: and
- (75) Inventors/Applicants (for US only): CERWENKA,
- Adelheid [AT/AU]; Stolzenthalergasse 17/22, A-1080 Wien (AT). KALTHOFF, Frank, Stephan [DE/AT]; Mödlinger-Strasse 3/6, A-2353 Guntramsdorf (AT). PHARES, William, F. [US/AT]; Julius-Tandler-Platz 4/21, A-1090 Wien (AT).
- (74) Agent: GROS, Florent; Novartis AG, Corporate Intellectual Property, Patent & Trademark Department, CH-4002 Basel (CH).
- (81) Designated States (national): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LT, LU, LV, MA, MD, MK, MN, MX, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SE, SG, SI, SK, TJ, TM, TN, TR, TT, UA, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.
- (84) Designated States (regional): Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IT, LI, MC, NI, PT, SI, SK, TR).
- Published:
— without international search report and to be republished upon receipt of that report
- For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.



WO 03/008579 A2

(54) Title: ORGANIC COMPOUNDS

(57) Abstract: An isolated BASP1, GID 2.1, GID 2.2, GID3 and GID4 gene expressed in dendritic cells of the immune system, BASP1, GID 2.1, GID 2.2, GID3 and GID4 polypeptides expressed by such gene and their function in the identification of compounds which are antagonists to BASP1, GID 2.1, GID 2.2, GID3 and GID4 polypeptides.

WO 03/008579

PCT/EP02/07924

- 1 -

Organic Compounds

The present invention relates to genes isolated from dendritic cells and proteins (polypeptides) encoded by such genes, e.g. including the therapeutic intervention in diseases e.g. associated with abnormal immunological reactivity, by inhibiting or activating
5 (modulating) the action of such genes/ proteins in dendritic cells.

Dendritic cells (DCs) are professional antigen-presenting leukocytes which play a central role in the induction of primary immune responses and tolerance. In the immature state DCs may reside in different tissues of the body where they are capable of capturing antigen from
10 invading pathogens and responding to inflammatory molecules. Following antigen capture DCs mature into antigen-presenting cells and migrate into lymphoid organs to activate T cells (Banchereau, M. and R.M. Steinman, Nature 329 [1998] 245-252). For example, Langerhans cells (LC), residing in the skin, have been shown to present a variety of
15 antigens that may be generated in or penetrate into skin. In contact hypersensitivity, topical application of a reactive hapten may activate LC to migrate out of the epidermis into draining lymph nodes, where LC may present antigen to selected T cells. During the contact between LC and T-cells, LC may provide signals to the T-cell that induce T-cell proliferation and differentiation into effector cells. Depending on the type of T-cells and the kind of
20 interacting molecules involved, cytotoxic, regulatory and helper T-cells may be formed. DC's have also been shown to engulf all kinds of apoptic cells and may therefore play a critical role in the maintenance of tolerance to self-antigens (Steinman, R.M and K. Inaba, J. Leukoc. Biol. 66 [1999] 205-208). Diseases in which DCs, as potent initiating and regulatory cells of immune responses, play a causal or contributory role may be targets for DC-specific
25 pharmaceutical intervention, such as in chronic inflammatory diseases, autoimmune diseases, transplant rejection crises, and including e.g. inflammatory skin diseases such as contact hypersensitivity and atopic dermatitis; and in diseases characterized by immune suppression or hyporeactivity, including e.g. AIDS and cancer.

DCs may be isolated from peripheral blood by negative selection (enrichment) i.e. selective
30 removal of other cell types that are present or separation from these other cell types like monocytes (CD14+), T-cells (CD3+), B-cells (CD19+) and NK-cells (CD16+) by capturing on specific monoclonal antibody (mAb)-coated magnetic beads or plastic surfaces, e.g.

WO 03/008579

PCT/EP02/07924

- 2 -

monocytes or immature progenitor cells by cultivation of cell isolated by capture with specific mAb as described, e.g. according to a method as conventional.

RNA may be isolated from DCs, cDNA and cDNA libraries may be generated; and differential gene expression patterns of DCs may be obtained by e.g. oligonucleotide fingerprinting, RNA-cDNA hybridization profiling, subtractive hybridization, or sequencing, e.g. according to methods as conventional.

We have found from cDNA synthesized from RNA of isolated human DCs, recombinant clones containing copies of genes having the names as set out in TABLE 1.

10

TABLE 1

Gene name	Sequence of	
	nucleotides	amino acids
BASP1	SEQ ID NO:1	
GID2.1	SEQ ID NO:2	
GID2.1 CODING	SEQ ID NO:3	SEQ ID NO:4
GID2.2 CODING	SEQ ID NO:5	SEQ ID NO:6
GID3	SEQ ID NO:7	
GID3 CODING	SEQ ID NO:8	SEQ ID NO:9
GID4	SEQ ID NO:10	
GID4 CODING	SEQ ID NO:11	SEQ ID NO:12

From cDNA libraries of isolated DCs, recombinant clones containing copies of the BASP1 (also named NAP22, or CAP) transcript may be identified, which have the nucleotide sequence SEQ ID NO:1, encoding the polypeptide identical to that in the SwissProt sequence database under the accession number P80723 for BASP1, that was derived from protein sequencing data (Mosevitsky, M.I., *Biochimie* **79** [1997] 373-384). SEQ ID NO:1 differs by several substitutions, small deletions and insertions, to the polynucleotide sequences in GenBank, accession numbers AF039656 (NAP22)(Park, S., *Mol. Cells* **8** [1998] 471-477) and NM_006317 (7 nucleotide differences) and BC000518 (one nucleotide difference). The BASP1 protein is known to be expressed in spinal cord and brain (Iino, S. and S. Maekawa, *Brain Res.* **834** [1999] 66-73; Iino, S., *Neuroscience* **91** [1999] 1435-1444), where it has been observed to be localized on membrane microdomains (rafts) in neuronal cells, and this localization is cholesterol-dependent (Maekawa, S., *J. Biol. Chem.* **274** [1999]

WO 03/008579

PCT/EP02/07924

- 3 -

21369-21374). It has been demonstrated that the BASP1 protein contains a calmodulin-binding domain (Takasaki, A., *J. Biol. Chem.* 274 [1999] 11848-11853), suggesting a functional role in metabolic activation in neuronal cells in response to calcium flux, and that changes in localization in neuronal cells occur during development of neuronal polarity

5 (Kashihara, M., *Neurosci. Res.* 37 [2000] 315-325).

We have now observed that BASP1 expression in DCs, with relevance to function of the gene in DCs and associated immunological reactivity, is induced in response to treatment with agents known to potentiate the ability of DCs to stimulate T cells, this property of DCs being central to their key regulatory role within the immune system. The induction of BASP1

10 gene expression in response to stimulation of DC is shown in Figure 1.

Furthermore, we have observed that the ectopic expression of BASP 1 can modulate expression of inflammatory cytokines, such as IL-8 (see Example 15 and Figure 7).

We have also found that from cDNA synthesized from RNA of isolated human DC,

15 recombinant clones containing copies of GID2.1 and GID2.2 transcripts of a GID2 gene (polynucleotide) may be isolated and identified. Re-amplification of the identified sequences directly from cDNA from DC and analysis of multiple clones reveals that the consensus sequences comprise the polynucleotide sequence SEQ ID NO:2, the polypeptide-coding sequence SEQ ID NO:3, and the correspondingly encoded polypeptide sequence SEQ ID

20 NO:4 of the GID2.1 transcript; and the polynucleotide sequence SEQ ID NO:5 and the correspondingly encoded polypeptide sequence SEQ ID NO:6 of the GID2.2 transcript. SEQ ID NO:2 and SEQ ID NO:5 are presumably differentially spliced transcripts of the GID2 gene (polynucleotide), that reflects diversity in the coding potential of the GID2 gene. The encoded GID2 polypeptide sequences GID2.1 SEQ ID NO:4 and GID2.2 SEQ ID NO:6 are

25 homologous to two known proteins: the V7 (CD101) leukocyte surface glycoprotein, and a regulatory protein of the prostaglandin F₂ α receptor (FPRP); and to an uncharacterized KIAA1436 protein. V7 is expressed on activated T cells, monocytes, and granulocytes, as well as subpopulations of T cells and certain accessory cells, and has been shown to play a

30 role in signal-1 transduction in T cells, i.e. in mediation of signals generated through crosslinking of the T cell receptor complex (Ruegg, C.L. et al., *J. Immunol.* 154 [1995] 4434-4443). Murine FPRP has been shown to bind physically to F₂ α receptor molecules, preventing their surface translocation and thus negatively regulating cellular stimulation by prostaglandin F₂ (Orlicky, D.J. and S.K. Nordeen, *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids* 55 [1996] 261-268; Orlicky D.J., *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids* 54 [1996]

WO 03/008579

PCT/EP02/07924

- 4 -

247-259). The GID2 polypeptides GID2.1 SEQ ID NO:4 and GID2.2 SEQ ID NO:6, as well as the homologous V7 protein and FPRP, contain multiple immunoglobulin-like and major histocompatibility complex domains, and are putative novel members of the immunoglobulin superfamily that is involved in critical intracellular signals necessary for many immune-related activities. We have observed that GID2 expression in DC, with relevance to function of the gene in DC and associated immunological reactivity, is induced in response to treatment with agents known to potentiate the ability of DC to stimulate T cells, this property of DC being central to their key regulatory role within the immune system. The induction of GID2 gene polynucleotide expression in response to stimulation of DC is shown in Figure 2. Furthermore, we have observed that ectopic expression of GID2.2 in antigen-presenting cells positively regulates T cell proliferation (see Example 16 and Figures 8 and 9).

GID2 genes (polynucleotides) and polypeptides described herein are GID2 genes (polynucleotides) and polypeptides provided by the present invention.

We have further found that from cDNA synthesized from RNA of isolated human DC, recombinant clones containing copies of the transcripts of a GID3 gene may be isolated and identified. Re-amplification of the identified sequences directly from cDNA from DC, and analysis of multiple clones reveals that the consensus sequences comprise the polynucleotide sequences SEQ ID NO:7, the polypeptide-coding sequences SEQ ID NO:8, and the corresponding encoded polypeptide sequence SEQ ID NO:9 of the GID3 transcript. The latter sequence contains four potential N-glycosylation sites, specific to the consensus sequence Asn-Xaa-Ser/Thr (Marshall, R.D., *Annu. Rev. Biochem.* 41 [1972] 673-702) at positions 466, 760, 783 and 1274; and strong homology (4.7e-44) to the DENN (AEX-3) domain from aa residues 248-390. The human serine- and leucine-rich DENN protein possesses a RGD cellular adhesion motif and a leucine-zipper-like motif associated with protein dimerization, and shows partial homology to the receptor binding domain of tumor necrosis factor alpha. DENN is virtually identical to MADD, a human MAP kinase-activating death domain protein that interacts with type I tumor necrosis factor receptor. DENN displays significant homology to Rab3 GEP, a rat GDP/GTP exchange protein specific for Rab3 small G proteins implicated in intracellular vesicle trafficking. DENN also exhibits strong similarity to *Caenorhabditis elegans* AEX-3, which interacts with Rab3 to regulate synaptic vesicle release (Lim, D., et al., *Genome* 41 [1998] 543-552). Examples of other proteins containing DENN (AEX-3) domains are: a hypothetical protein from *Schizosaccharomyces pombe*

WO 03/008579

PCT/EP02/07924

- 5 -

(Q9Y7Q7), the human DENN protein (Q15741), the human MADD protein (O15293), the *Caenorhabditis elegans* protein AEX-3 (O02626), and the rat Rab3 small G protein (O08873). From homology relationships of the GID3 protein to orthologues, it may be deduced that GID3 may play an effector regulatory role as e.g. an adapter molecule in certain cellular processes that are GTP-dependent. The GID3 polypeptide sequences SEQ ID NO:9 are identical to the hypothetical human 147 KDA protein (TREMBL:Q9UFV0) and the KIAA1090 protein (one point mutational difference) (TREMBL:Q9UPR1); 95.8% identical (a 24-residue gap and numerous point mutations) to the hypothetical mouse 144.1 KDA protein (TREMBL:Q9QYZ2), containing the Rab6 GTP-binding protein associated protein fragment TREMBL:Q62146 identified in a yeast two-hybrid screen (Janoueix-Lerosey, I., et al., J. Biol. Chem. **270** [1995] 14801-14808). The Rab proteins are Ras-like GTP-binding proteins involved in the regulation of vesicular transport through the endocytic and secretory pathway (Valencia, A., et al., Biochemistry **30** [1991] 4637-4648; Pfeffer, S.R., Curr. Opin. Cell Biol. **6** [1994] 522-526; Nuoffer, C. and W.E. Balch, Annu. Rev. Biochem. **63** [1994] 949-990), and Rab6 is thought to regulate intra-Golgi membrane transport (Goud, B., et al., Nature **345** [1990] 553-556; Martinez, O., et al. J. Cell Biol. **127** [1994] 1575-1588). The fragment of the mouse Rab6-associated homolog TREMBL:Q62146 was shown to preferentially interact with the GTP-bound form of Rab6 (Janoueix-Lerosey, I., et al., J. Biol. Chem. **270** [1995] 14801-14808), and thus speculated to represent either an effector of Rab6 or a GAP protein. One other potential process in which GID3 may function is suggested by its relationship to the orthologous *D.melanogaster* Crag protein (23% identity/72.1% alignment) of the GenBank AAF46398 sequence entry, identified as a calmodulin-binding protein (Xian-Zhong, S.X., et al. J. Biol. Chem. **274** [1998] 31297-31307). The latter physical interaction is thought to reflect a possible co-regulatory function with calmodulin in signal-transduced events, in which calmodulin is a major cellular sensor of calcium flux. In addition, calmodulin has been shown itself to bind to another Rab protein, Rab3A (Park, J.B., et al., J. Biol. Chem. **272** [1997] 20857-20865). We have observed that GID3 expression in DCs, with relevance to function of the gene in DCs and associated immunological reactivity, is induced in response to treatment with agents known to potentiate the ability of DCs to stimulate T cells, this property of DCs being central to their key regulatory role within the immune system. The induction of GID3 gene (polynucleotide) expression in response to stimulation of DC is shown in Figure 3. GID3 genes (polynucleotides) and GID3 polypeptides (protein) described herein are GID3 genes (polynucleotides) and GID3 polypeptides (protein) provided by the present invention.

WO 03/008579

PCT/EP02/07924

- 6 -

We have also found that from cDNA synthesized from RNA of isolated human DC, recombinant clones containing copies of the transcripts of a GID4 gene may be isolated and identified; re-amplification of the identified sequences directly from cDNA from DC, and analysis of multiple clones, reveals that the consensus sequences consist of the polynucleotide sequences SEQ ID NO:11, the polypeptide-coding sequences SEQ ID NO:12, and the corresponding encoded polypeptide sequence SEQ ID NO:12 of the GID4 transcript. The latter sequence consists of a large (832 amino acid) protein containing from 6 to 8 potential transmembrane domains dispersed along the length of the polypeptide. There are 7 potential asparagine N-glycosylation sites (positions 15, 177, 266, 368, 406, 462 and 511) specific to the consensus sequence Asn-Xaa-Ser/Thr (Marshall, R.D., Annu. Rev. Biochem. 41 [1972] 673-702). Additional motifs found in GID4 include one potential cAMP/cGMP-dependent protein kinase phosphorylation site at the threonine 224 residue, according to the rule of two consecutive, N-adjacent basic residues (Fremisco, J.R. et al., J. Biol. Chem. 255 [1980] 4240-4245; Glass, D.B. and S.B. Smith, J. Biol. Chem. 258 [1983] 14797-14803; Glass, D.B. et al., J. Biol. Chem. 264 [1986] 2987-2993); 17 potential casein kinase II phosphorylation sites (at serine or threonine residues 76, 114, 283, 337, 397, 456, 535, 603, 746, 779, 791, 792, 800, 801, 814, 820 and 824) according to the consensus (S/T)(x2)(D/E) rule (Pinna, L.A., Biochim. Biophys. Acta 1054 [1990] 267-289); 8 potential protein kinase C phosphorylation sites (at serine or threonine residues 25, 222, 227, 253, 388, 424, 700 and 768) according to the consensus (S/T)(x)(R/K) rule (Woodget, J.R., et al., Eur. J. Biochem. 161 [1986] 177-148; Kishimoto, A., et al., J. Biol. Chem. 260 [1985] 12492-12499); 4 potential tyrosine kinase phosphorylation sites (at tyrosine residues 86, 143, 257 and 258) according to the consensus (R/K)(x2/3)(D/E)(x3/2)(Y) rule (Patschinsky, T., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 79 [1982] 973-977; Hunter, T., J. Biol. Chem. 257 [1982] 4843-4848; Cooper, J.A. et al., J. Biol. Chem. 259 [1984] 7835-7841); and 4 potential N-myristoylation sites (at glycine residues 35, 39, 621 or 787; these are internal glycine residues, and N-terminal myristoylation at any of these sites depends upon proteolytic cleavage of the GID4 protein, in this case a precursor protein, that would expose one of the glycine residues at the N-terminus that would then be subject to the action of the transfer enzyme, myristoyl CoA:protein N-myristoyl transferase) according to the consensus pattern defined by Towler, D.A. et al., Annu. Rev. Biochem. 57 [1988] 69-99 and Grand, R.J.A., Biochem. J. 258 [1989] 625-638. The GID4 protein contains a well-conserved (E = 1.2e-89) large polypeptide domain from residues 348-809 termed DUF221 (a PFAM signature) that is

WO 03/008579

PCT/EP02/07924

- 7 -

characteristic of many hypothetical transmembrane proteins of unknown function. The sequence homology of the GID4 protein sequence to the consensus DUF221 sequence is shown in Figure 4. 5 to 6 of the putative transmembrane domains in GID4 lie within this domain. Known examples of the DUF221-containing family of proteins include the

5 hypothetical *S. cerevisiae* Ylr241w (SwissProt access number S59387), and the 107.7 KDA protein encoded by the gene *ymr266w* (SwissProt accession number Q03516); the hypothetical *S. pombe* 90.9 kda protein encoded by the gene *spac2g11.09* (SwissProt access number Q09809); the 81.9 KDA protein of the plant *Arabidopsis thaliana* (TREMBL:Q9C8G5); the *D. melanogaster* 760-amino acid CG11210 protein (TREMBL:Q9V364); an

10 hypothetical human 807-amino acid KIAA0792 protein (TREMBL:O94886), and an hypothetical human 93.3/93.8 KDA protein (TREMBL:Q9P1W3 and Q9P1W1). The most closely related known human proteins are the KIAA0792 protein (TREMBL:O94886; Nagase, T., et al., *DNA Res.* 5 [1998] 277-286), that aligns with the GID4 polypeptide sequence SEQ ID NO:12 (2.1e-174) over a 753-amino acid overlap with 59.0% identity; and the 93.3/93.8

15 KDA protein (TREMBL:Q9P1W3 and Q9P1W1) that aligns (4.8e-128) with 43.0% identity over an 817-amino acid overlap. DUF221-containing proteins in very distantly related organisms also display striking homology, as the *D. melanogaster* 760-amino acid CG11210 protein (TREMBL:Q9V364; Adams, M.D., et al., *Science* 287 [2000] 2185-2195), that aligns with the GID4 protein sequence SEQ ID NO:12 (8.3e-49) with 33.3% identity in 729-amino

20 acid overlap; and the 81.9 KDA protein of the plant *Arabidopsis thaliana* (TREMBL:Q9C8G5; Theologis, A., et al., *Nature* 408 [2000] 816-820), that aligns (8.6e-14) with 23.2% identity in a 656-amino acid overlap. In addition to the overall sequence homology of these proteins, there is also a conserved structural organization, as defined by the relative position of the DUF221 domain within the protein, and the distribution of potential transmembrane domains

25 and N-glycosylation sites; this relationship is depicted in Figure 5. The 370 C-terminal sequences of the GID4 protein are identical to a known hypothetical protein fragment (TREMBL:Q9NSG5).

We have observed that GID4 expression in DCs, with relevance to function of the gene in DCs and associated immunological reactivity, is induced in response to treatment with

30 agents known to potentiate the ability of DCs to stimulate T cells, this property of DCs being central to their key regulatory role within the immune system. The induction of GID4 gene expression in response to stimulation of DC is shown in Figure 6. By homology of the GID4 protein to the *S. cerevisiae* Ylr241w protein, that is categorized as a member of the major facilitator superfamily of transmembrane proteins, of unknown function (Nelissen, B. et al.,

WO 03/008579

PCT/EP02/07924

- 8 -

- FEMS Microbiol. Reviews 21 [1997] 113-134), a putative activity of the GID4 protein in stimulated DCs or other cells is to participate in mediation of activation signals or other processes occurring at cellular membranes during e.g. change of cellular state as in maturation or differentiation or cellular activation, or at the interface between other cellular compartments and membrane surfaces, through concerted interactions with other cellular proteins, that are critical for said change of cellular state. In the case of DC, this change of state (e.g. cellular activation) is amplified phenotypically during interaction of DC with T cells for normal immunological responses.
- 5
- 10 In one aspect the present invention provides an isolated
- BASP1 gene expressed in dendritic cells (DCs) of the immune system or
 - GID2 gene (polynucleotide) expressed in dendritic cells of the immune system or
 - GID3 gene, e.g. expressed in dendritic cells of the immune system or
 - GID4 gene, e.g. expressed in dendritic cells of the immune system.
- 15
- In another aspect the present invention provides an isolated
- BASP1 gene comprising the sequence of SEQ ID NO:1 or
 - GID2 gene comprising the sequences SEQ ID NO:2, and/or SEQ ID NO:3 and/or SEQ ID NO:5 or
 - 20 - GID3 gene comprising the sequence SEQ ID NO:7, e.g. containing the coding sequence SEQ ID NO:8 or
 - GID4 gene comprising the sequence SEQ ID NO:11, e.g. containing the coding sequence SEQ ID NO:12.
- 25 - A BASP1 gene expressed in DCs of the immune system according to the present invention encodes a BASP1 polypeptide, e.g. of the SwissProt P80723 entry. A BASP1 polypeptide of the present invention includes a polypeptide of the SwissProt P80723 entry.
- A GID2 polynucleotide (gene) provided by the present invention encodes GID2 polypeptides (protein), e.g. of sequences GID2.1 SEQ ID NO:4 and/or GID2.2 SEQ ID NO:6.
 - 30 - A GID2 polypeptide of the present invention thus includes a polypeptide of the sequences GID2.1 SEQ ID NO:4 and/or GID2.2 SEQ ID NO:6.
 - A GID3 gene provided by the present invention encodes a GID3 polypeptide, e.g. of SEQ ID NO:9. A GID3 polypeptide of the present invention includes a polypeptide of SEQ ID NO:9.

WO 03/008579

PCT/EP02/07924

- 9 -

- A GID4 gene (polynucleotide) according to the present invention encodes a GID4 polypeptide, e.g. of the sequence SEQ ID NO:12. A GID4 polypeptide (protein) of the present invention includes a polypeptide of the sequences SEQ ID NO:12.

- 5 In another aspect the present invention provides an isolated polypeptide e.g. expressed in dendritic cells of the immune system of
- BASP1, e.g. of the SwissProt P80723 entry encoded by a BASP1 gene or
 - GID2, e.g. of SEQ ID NO:4 and/or SEQ ID NO:6 e.g. encoded by a GID2 gene or
 - GID3 polypeptide, e.g. of SEQ ID NO:9, e.g. encoded by a GID3 gene, e.g. or
- 10 - GID4 polypeptide, e.g. of SEQ ID NO:12, e.g. encoded by a GID4 gene.

"Polynucleotide", if not otherwise specified herein, includes any polyribonucleotide or polydeoxyribonucleotide, which may be unmodified RNA or DNA, or modified RNA or DNA, including, and without limitation, single- and double-stranded RNA or DNA, and RNA or DNA

15 that is a mixture of single- and double-stranded regions.

"Polypeptide", if not otherwise specified herein, includes any peptide or protein comprising two or more amino acids joined to each other by peptide bonds.

- The genes (polynucleotide) expressed in DCs according to the present invention includes
- 20 the polynucleotide of corresponding sequences as set out in TABLE 1 (e.g. SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO:7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO:10 and SEQ ID NO: 11) and variants thereof, e.g. that may occur naturally in DC; e.g. including allelic variants, and transcriptional and post-transcriptionally modified variants thereof, and/or their complements; encoding a polypeptide sequence of the genes as set out in TABLE 1
- 25 (e.g. SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 9 and SEQ ID NO:12) and including allelic variants thereof, and variations due to transcriptional and post-transcriptional differences in the polynucleotides, and variations due to post-translational modification. The polynucleotides and polypeptides according to the present invention in DCs of the immune system include sequences expressed in cells closely related to DC and of a similar
- 30 immunological function according to the present invention; and e.g. orthologous variants expressed in DC of the immune system in laboratory animals commonly used in pharmaceutical research, and cells closely related to DCs in those species according to the present invention, where said variations are due to mechanisms commonly known to occur

WO 03/008579

PCT/EP02/07924

- 10 -

during species divergence; and e.g. allelic, transcriptional and post-transcriptional, and post-translational variants of said orthologous sequences.

5 "Allelic variant" of the gene of the present invention is a form of the polynucleotide and polypeptide of the gene existent within a given species that differs from the SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO:7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO:10 and SEQ ID NO: 11 and the SwissProt P80723 entry, respectively, and the complementary polynucleotide sequences, where the differences may be attributed to mutation that has occurred during species evolution by mechanisms that are commonly known. Typically,
10 allelic variants have identity of greater than 95%, e.g. such as 97% or 99%, and less than 100%, over the entire sequence length; said identity being calculated as the percentage of identical nucleotide or amino acid residues at corresponding positions within an optimal linear alignment of the entire lengths of the sequences.

15 "Transcriptional variant" of the gene is a polynucleotide and an encoded polypeptide existent within a given species that differs from the sequences as given in TABLE 1 and e.g. the SwissProt P80723 entry, respectively, and the corresponding polynucleotide complementary sequences, by containing additional sequence segments, or by lacking sequence segments, at the beginning or end of an optimal linear alignment of the entire lengths of the sequences;
20 where said variation may be attributed to the position of initiation and/or termination of RNA synthesis from the gene chromosomal template by mechanisms that are commonly known.

"Post-transcriptional variant" of the gene is a polynucleotide and an encoded polypeptide of the gene existent within a given species that differs from the given sequences e.g. SEQ ID
25 NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO:7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO:10 and SEQ ID NO: 11 and the SwissProt P80723 entry, respectively, and the complementary polynucleotide sequences, by containing additional sequence segments, or by lacking sequence segments, at the beginning or end or within an optimal linear alignment of the entire lengths of the sequences; where said variant may be attributed to the excision
30 and splicing of RNA sequence segments synthesized from the chromosomal template by mechanisms that are commonly known.

"Post-translational variant" of the gene is a polypeptide sequence of the gene existent within a given species that differs from the given sequences and e.g. SwissProt P80723 entry by

WO 03/008579

PCT/EP02/07924

- 11 -

lacking sequence segments, or containing additional sequence segments, at the beginning or end of an optimal linear alignment of the entire lengths of the sequences, where the difference in sequence length may be attributed to specific proteolytic modification; or that differs from the given sequences and e.g. SwissProt P80723 entry by containing biochemical alterations of specific amino acid residues contained within that sequence, that may include e.g. phosphorylation, myristoylation, acetylation, e.g. an alteration among the many types of biochemical alterations of proteins that are commonly known to exist.

"Orthologous variant" of the gene is a polynucleotide and an encoded polypeptide of the gene that exists in a second species, where the differences from the given sequences e.g. SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO:7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO:10 and SEQ ID NO: 11 and the SwissProt P80723 entry, respectively, and the complementary polynucleotide sequences, seen in an optimal linear alignment of the entire lengths of the sequences may be attributed to mutation that has occurred during species divergence during evolution by mechanisms that are commonly known.

"Alignment" is the placing together of two linear sequences according to the identity or relatedness, or complementarity, of the constituent single nucleotidyl or amino acid residues along those linear sequences, or segments or blocks of those residues, with allowance for minimal single-residue or segment deviations, such that the overall relatedness of the sequences may be determined. Said relatedness is a measure of the identity of polynucleotide or polypeptide sequences and may be calculated by conventional methods, employing e.g. commercially available computer programs.

A polynucleotide according to the present invention, e.g. including (existing) variants or parts thereof, may be obtained from natural sources as a molecular clone from cDNA or a cDNA library derived from mRNA from DCs or other cells, or from genomic DNA, by using standard cloning, screening and sequencing methods, e.g. identification of a BASP1 polynucleotide sequence from a cDNA library by the expressed sequence tag (EST) analysis (Adams, M.D. et al., *Science* 252 [1991] 1651-1656; Adams, M.D. et al., *Nature* 355 [1992] 632-634; Adams, M.D. et al., *Nature* 377 [1995] Suppl.:3-174). A BASP1 polynucleotide, or variants or parts thereof, may also be synthesized according to a method as conventional. A BASP1 polypeptide according to the present invention, e.g. including (existing) variants or parts thereof, may be obtained from natural sources, e.g. may be isolated from cells or tissues; a

WO 03/008579

PCT/EP02/07924

- 12 -

polypeptide, or variants or parts thereof, may also be synthesized according to a method as conventional.

A polynucleotide (gene) according to the present invention may be incorporated as part of a recombinant molecule as appropriate to the use of recombinant molecules according to skills
5 in the art, e.g. to confer properties of utility or of altered gene function according to the present invention, by combining the gene sequences with exogenous DNA sequences (i.e., DNA sequences that are not contained within polynucleotides according to the present invention) that confer such properties, e.g. according to methods as conventional. If a polynucleotide is used for the production of a polypeptide, the polynucleotide sequence may
10 include other sequences, e.g. the coding sequence for the mature polypeptide (or fragment thereof) by itself; or the polypeptide coding sequences (or fragment thereof) fused in continuous reading frame with exogenous coding sequences, such as those encoding a leader or secretory sequence, a pre-, or pro- or prepro- protein sequence, or other fusion peptide portions, e.g. such that are commonly used for such purposes. For example, an
15 exogenous marker sequence that facilitates purification of the recombinant polypeptide can be combined. The marker sequence may be as appropriate, e.g. including an hexa-histidine peptide, as provided in the pQE vector (Qiagen, Inc.) and e.g. described in Gentz et al., Proc Natl Acad Sci USA 86 [1989] 821-824), or e.g. an hemagglutinin (HA) tag. A recombinant polynucleotide according to the present invention may also contain non-coding nucleotide
20 sequences, e.g. non-translated sequences, such as splicing and polyadenylation signals, ribosome binding sites, localization sequences, and sequences that stabilize or destabilize mRNA, e.g. any of the several non-coding sequences commonly known to confer regulatory properties as appropriate, e.g. according to skills of the art; non-coding nucleotide sequences may occur naturally in transcripts or transcriptional variants of the gene according to the present invention, or polynucleotide sequences as appropriate, e.g.
25 according to methods as conventional.

A recombinant molecule containing a gene sequences used for the production of an appropriate polypeptide or polyribonucleotide or the complementary polyribonucleotide, or parts thereof, may also include specific mutations, e.g. as occur naturally in allelic or
30 homologous or orthologous variants of the gene, e.g. as may be introduced in the gene sequence artificially by methods as conventional, that result in modified functional properties of the corresponding polypeptide or polyribonucleotide or the complementary polyribonucleotide according to the present invention.

WO 03/008579

PCT/EP02/07924

- 13 -

In another aspect the present invention provides a vector containing a gene (polynucleotide) according to the present invention; e.g. and/or a polypeptide according to the present invention.

- 5 A vector containing a sequence as set out in TABLE 1 may be produced as appropriate, e.g. according to a method as conventional. A vector containing a sequence may be produced e.g. to artificially add specific properties to the sequence, such as properties changing physical transfer, autonomous or cell-dependent replication, expression and selection. Such vector may e.g. be produced by combining the polynucleotide sequence with exogenous
- 10 DNA sequences that confer desired properties, e.g. according to a method as conventional, e.g. using an appropriate vector that may be obtained commercially. Expression properties of the polynucleotide contained within the vector may be e.g. determined by incorporating the naturally occurring gene promoter, or promoters of other genes, e.g. genes of eukaryotes, of prokaryotes or of viruses, as is appropriate for the desired expression; e.g.
- 15 according to skills in the art, e.g. according to a method as conventional.
A vector containing a gene according to the present invention may be useful, e.g. to obtain an expression system which is able to produce a polynucleotide or a recombinant polypeptide, polyribonucleotide or its complement, e.g. in a host cell, such as in a compatible host cell. For example, a BASP1, GID2, GID3 or GID4 or recombinant BASP1, GID2, GID3
- 20 or GID4 polypeptide may be synthesized according to the present invention in a genetically engineered host cell; e.g. by use of a vector comprising a BASP1, GID2, GID3 or GID4 gene to incorporate into the host cell an expression system for the corresponding gene, e.g. for the production of a BASP1 polypeptide, such as a BASP1 polypeptide of the SwissProt P80723 entry, or e.g. a part or variant(s) thereof according to the present invention. Cell-free
- 25 transcription or translation systems may also be used to produce a polynucleotide or polypeptide, e.g. using RNAs derived from a recombinant DNA vector containing the polynucleotide sequences according to the present invention; e.g. according to a method as conventional.
- A vector containing a gene promoter sequence, i.e. sequences obtained from chromosomal
- 30 DNA lying proximal to the chromosomal template of a polynucleotide that control transcriptional expression of a gene according to the present invention, may be produced as appropriate. Such a vector may also contain polynucleotides according to the present invention, e.g. and as described above, i.e. the vector physically links sequences specifying the properties of a gene transcriptional expression with those specifying the gene activity; or

WO 03/008579

PCT/EP02/07924

- 14 -

may also contain exogenous sequences comprising an indicator molecule that may be easily and quantifiably detected, i.e. the vector physically links sequences specifying the properties of the gene transcriptional expression with those specifying a simple indicator of the gene promoter activity.

5

In another aspect the present invention provides an expression system comprising a gene (polynucleotide) according to the present invention, e.g. an isolated polynucleotide that has been modified as described above; or an isolated gene promoter sequence, e.g. as described above; contained as part of a recombinant vector, e.g. comprising a polynucleotide according to the present invention as a part of an expression vector, wherein said expression system or part thereof is capable of producing a corresponding polynucleotide and/or polypeptide according to the present invention, e.g. or said expression system or part thereof is subject to transcriptional control by an appropriate promoter sequences, e.g. as described above, e.g. comprising an expression system or part thereof capable of expression any of the recombinant vectors described above; when said expression system or part thereof is present in a compatible host cell.

In another aspect the present invention provides a process for the production of an altered host cell comprising a polynucleotide according to the present invention, e.g. as defined above,

- or the complementary polynucleotide sequence or variants thereof,
- or modifications thereof,
- or parts of such polynucleotides,
- or recombinant molecules containing such polynucleotides,

e.g. as described above; or

of a host cell that contains such polynucleotides that are capable of producing a polypeptide corresponding to the specific polynucleotide; or
of a host cell that contains a polypeptide of the above mentioned or variants thereof, or modifications or parts thereof;

e.g. an altered host cell that contains and is capable of expressing any of the expression systems described above;

which process comprises transferring said polynucleotides or polypeptides into the host cells; e.g. where the process may be used to transfer or modify the activity of the gene according to the present invention in said host cells.

30

WO 03/008579

PCT/EP02/07924

- 15 -

Transfer includes e.g. transformation, transfection, tranfection, electroporation or microinjection, e.g. according, e.g. analogously, to methods as conventional.

- 5 In another aspect the present invention provides a process for the production of a stable transgenic host cell that contains a gene (polynucleotide) according to the present invention as part of an expression system, or any of the expression systems described above, comprising transferring DNA of a suitable recombinant vector containing a polynucleotide into a host cell, e.g. introducing a gene expression system into a suitable host cell,
10 and isolating the cells that maintain the transferred DNA stably, e.g. said cells being defined as stable transgenic host cells.

- The stable transgenic host cell according to the present invention under appropriate culture conditions produces a corresponding polyribonucleotide, or a complement thereof, e.g. of
15 given sequences, or variants or modifications or parts thereof, e.g. as described above. The stable transgenic host cell according to the present invention may be capable of producing a polypeptide that corresponds to said polyribonucleotide. That process according to the present invention may be used to stably transfer or modify the activity of the gene according to the present invention under appropriate conditions in said transgenic host cells.

- 20 In another aspect the present invention provides an isolated host cell comprising an expression system according to the present invention, e.g. a stable gene-containing transgenic host cell; e.g. produced and isolated by a process described above.

- 25 In another aspect the present invention provide a process for producing a polynucleotide and/or a polypeptide according to the present invention comprising culturing an isolated, altered or stable transgenic host cell as described above, that supports an expression system according to the invention, under conditions sufficient for the production of a polynucleotide and/or polypeptide of the present invention, and recovering said
30 polynucleotide or polypeptide from the culture; e.g. wherein the sequence of the recovered polynucleotide or polypeptide, and the composition of the recovered material, is determined by the nature of the polynucleotide within a vector comprising the expression system, the action of the supporting host cell, and the biochemical methods of isolation of the material.

WO 03/008579

PCT/EP02/07924

- 16 -

Introduction of polynucleotides into host cells may be e.g. effected as appropriate, e.g. according to a method as conventional, e.g. according to Davis et al., Basic Methods in Molecular Biology (1986); Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd Ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989), e.g. including methods as calcium phosphate-mediated transfection, DEAE-dextran-mediated transfection, transfection, microinjection, cationic lipid-mediated transfection, electroporation, transduction, scrape loading, ballistic introduction, infection.

Examples of appropriate host cells include e.g. bacterial cells, such as streptococci, staphylococci, E. coli, Streptomyces and Bacillus subtilis cells; fungal cells, such as yeast and Aspergillus cells; insect cells such as Drosophila S2 and Spodoptera Sf9 cells; isolated animal cells such as CHO, COS, HeLa, C127, CCL39, 3T3, BHK, HEK293 and Raji lymphoma cells; and plant cells.

Appropriate expression systems include e.g. chromosomal, episomal and virus-derived systems, e.g., vectors derived from bacterial plasmids, from bacteriophage, from transposons, from yeast episomes, from insertion elements, from yeast chromosomal elements, from viruses such as baculoviruses, papova viruses such as SV40, vaccinia viruses, adenoviruses, fowl pox viruses, pseudorabies viruses and retroviruses, and vectors derived from combinations thereof, such as those derived from plasmid and bacteriophage genetic elements, such as cosmids and phagemids. An expression systems may contain control regions that regulate as well as engender expression. Generally, any system or vector suitable to maintain, propagate or express polynucleotides and polypeptides in a host may be used. The appropriate nucleotide sequence may be inserted into an expression system according to a method as conventional, e.g. according to Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual (supra).

A polynucleotide or polypeptide according to the present invention, expressed by a host cell that has been engineered to support an expression system according to the present invention, may be isolated from the host cells in sufficient yield and purity by any appropriate method, e.g. including methods of (biochemical) extraction and separation, e.g. such as according to conventional methods. The yield and purity may be that suitable for the purposes for which the isolated material may be used. For example, a polynucleotide of the present invention may be isolated as a double-or single-stranded DNA recombinant phagemid molecule from bacterial host cells, or as a polyribonucleotide, dependent upon the

WO 03/008579

PCT/EP02/07924

- 17 -

nature of the vector comprising the expression system, e.g. for the purpose of obtaining larger amounts of purified polynucleotide. Polynucleotide that is incorporated in a suitable system expressing infectious or noninfectious viral particles may be isolated in an appropriate form, e.g. in a form appropriate for biological experiments or screening assays

5 designed to detect modulation of gene activity according to the present invention. A corresponding polypeptide may be isolated in an appropriate form, e.g. in a form appropriate for biological experiments or screening assays designed to detect modulation of gene activity according to the present invention, or, in some cases, the host cells expressing the corresponding polypeptide may be used directly for such assays. The polypeptide may be

10 used to generate antibodies in commonly used laboratory animals. Isolation and purification of a polypeptide may be performed as appropriate, e.g. according to methods as conventional; e.g. including combinations of appropriate methods. Appropriate methods e.g. include direct harvesting from expression host cell cultures, extraction, such as detergent extraction acid extraction; centrifugation, such as

15 ultracentrifugation, density gradient centrifugation; precipitation, such as ammonium sulfate or ethanol precipitation; chromatography, such as including anion or cation exchange chromatography, phosphocellulose chromatography, hydrophobic interaction chromatography, affinity chromatography, hydroxylapatite chromatography, lectin chromatography, high performance liquid chromatography If a polypeptide according to the

20 invention is denatured during isolation and or purification, regeneration of the active conformation, e.g. refolding of a denatured form of the polypeptide to a non-denatured form, may be carried out as appropriate, e.g. according to a method as conventional. "Isolated and purified", if not otherwise specified herein, includes the meaning "separated from the coexisting material", e.g. "altered by the hand of man" from the natural state.

25 A polynucleotide or polypeptide or vector or expression system or host cell according to the present invention may be used as a research reagent, and as material for the discovery of treatments for the animal and human diseases. Such diseases include diseases in which immunological reactions are a primary component of etiology, progression and/or

30 exacerbating symptoms associated with the disease; and include e.g. acute and chronic inflammatory diseases, including for example inflammatory skin diseases such as allergic and atopic dermatitis, and chronic inflammatory diseases whose symptoms appear in other tissues such as intestine and colon, lung and vascular tissue; e.g. abnormal immune reactivity in autoimmune diseases, or undesired immunological reactions associated with

WO 03/008579

PCT/EP02/07924

- 18 -

therapeutic treatment of diseases as in transplant rejection crises; e.g. immune hypo-reactivity or suppression in diseases such as cancer, and that associated with persistent viral or microbial infection. E.g. an antagonist of the interaction between the polypeptide and calmodulin may disrupt calcium-mediated transduction pathways necessary for dendritic cell activation in immunological reactions associated with diseases, e.g. diseases as described above. E.g. alternatively, antagonists of the induction steps leading to overexpression of the gene according to the present invention in dendritic cells during immune activation may block calcium-mediated transduction pathways in these cells. Activated dendritic cells in which the gene activity is antagonized may modulate or direct T cell responses associated with amplification of immune stimulation signals.

In another aspect the present invention provides the use of a gene according to the present invention as a diagnostic reagent.

15 Detection of abnormal expression, or an allelic form, of the gene of the present invention associated with a dysfunction will provide a diagnostic tool, e.g. in a diagnostic assay, that may add to or define a diagnosis of a disease or susceptibility to a disease. Allelic variants of the gene may be detected in DNA of individuals, and expression of the gene may be detected in cDNA, or as protein using antibodies or other methods, e.g. according to methods as conventional.

20 DNA or RNA or protein for diagnosis may be obtained from a subject's cells, such as from blood, urine, saliva, tissue biopsy or autopsy material. Genomic DNA may be used directly for detection or may be amplified enzymatically by using PCR or other amplification techniques prior to analysis. RNA or cDNA may also be used in the analysis similarly.

25 Deletions and insertions may be detected by a change in size of the amplified product in comparison to that from a normal subject. Point mutations may be identified by hybridizing amplified DNA to labeled BASP1 gene nucleotide sequences. Perfectly matched sequences may be distinguished from mismatched duplexes, e.g. by RNase digestion or by differences in melting temperatures. DNA sequence differences may also be detected by alterations in electrophoretic mobility of DNA fragments in gels, with or without denaturing agents, or by direct DNA sequencing, e.g. according to Myers et al., Science (1985) 230:1242. Sequence changes at specific locations may also be revealed by nuclease protection assays, such as RNase and S1 protection or the chemical cleavage method, e.g. according to Cotton et al., Proc Natl Acad Sci USA (1985) 85: 4397-4401. An array of oligonucleotides probes

30

WO 03/008579

PCT/EP02/07924

- 19 -

comprising the polynucleotide sequence of the present invention or fragments thereof may be constructed to conduct efficient screening of e.g. specific allelic polymorphisms. Array technology methods may e.g. be used to address a variety of questions in molecular genetics including gene expression, genetic linkage, and genetic variability, e.g. according to
5 M. Chee et al., Science (1998) 274: 610-613.

Decreased or increased expression may be determined from RNA expressed in a subject's cells, e.g. according to a method as conventional for the quantitation of polynucleotides, such as PCR, RT-PCR, RNase protection, Northern blotting and other hybridization
10 methods. Assay techniques that may be used to determine levels of a protein, such as a polypeptide, in a subject's cells may be carried out, e.g. according to a method as conventional. Such assay techniques include radioimmunoassays, competitive binding assays, Western Blot analysis and ELISA assays using antibodies prepared against the polypeptide; e.g. identification in two-dimensional separation gels, and liquid phase
15 separation techniques followed by sequence or molecular weight analysis. A diagnostic assays offer a process for diagnosing or determining a susceptibility to diseases, e.g. acute and chronic inflammatory diseases, including for example inflammatory skin diseases such as allergic and atopic dermatitis, and chronic inflammatory diseases whose symptoms appear in other tissues such as intestine and colon, lung and vascular
20 tissue; e.g. abnormal immune reactivity in autoimmune diseases, or undesired immunological reactions associated with therapeutic treatment of diseases as in transplant rejection crises; e.g. immune hypo-reactivity or suppression in diseases such as cancer, and that associated with persistent viral or microbial infection; through detection of allelic polymorphisms and abnormal expression of the gene of the present invention, e.g. according
25 to a method as described above, e.g. including a method as conventional.

Thus in another aspect, the present invention provides a diagnostic kit for a disease or susceptibility to a disease as described above, comprising:

- 30 (a) a gene according to the present invention, e.g. including a variant or fragment as described;
- (b) a nucleotide sequence complementary to that of (a);
- (c) a polypeptide according to the present invention, e.g. including a polypeptide of an amino acid sequence which has at least 80% identity thereto, e.g. including a fragment

WO 03/008579

PCT/EP02/07924

- 20 -

or a variant of a polypeptide of an amino acid sequence which has at least 80% identity to said polypeptide of the present invention; or
d) an antibody to a polypeptide according to the present invention.

5 In any such kit, (a), (b), (c) or (d) may comprise a substantial component, including an appropriate environment of a sample to be tested, e.g. and appropriate means to determine the effect of any of a), b), c) or d) in a sample to be tested.

A gene (polynucleotide) according to the present invention may also be useful for
10 chromosome identification. The sequence is specifically targeted to and can hybridize with a particular location on an individual human chromosome, and/or the sequences may be identified in GenBank chromosomal sequence database entries. Susceptibilities to many diseases, including e.g. viral diseases and arthritis, have been mapped according to such methods in rodents. The mapping of relevant sequences to chromosomes according to the
15 present invention is an important first step in correlating those sequences with gene associated disease. Once a sequence has been mapped to a precise chromosomal location, the physical position of the sequence on the chromosome may be correlated with genetic map data. Such data are found e.g. in V. McKusick, Mendelian Inheritance in Man (available on-line through Johns Hopkins University Welch Medical Library). The relationship between
20 genes and diseases that have been mapped to the same chromosomal region may be identified through linkage analysis (coinheritance of gene sequences that are physically located within a defined chromosomal region). The differences in the cDNA or genomic sequence between affected and unaffected individuals may also be determined. If a mutation is observed in some or all of the affected individuals but not in any normal
25 individuals, then the mutation is likely to be a causative factor of the disease, or susceptibility to the disease, e.g. a factor of a mechanism that is involved in relevant biological activities necessary for the development or progression of an indication of the disease.
In another aspect the present invention provides genetically modified animals, e.g. useful in laboratory research for gene function studies according to the present invention in vivo, e.g.
30 mice or rats, e.g. lower eukaryotic organisms such as *D. melanogaster* or *Caenorhabditis*, wherein orthologous or homologous gene sequences at the orthologous gene locus or at other loci are modified; e.g. created by homologous or non homologous recombination methods in germ line cells or other appropriate cells, and commonly used breeding techniques. For reviews of such techniques, see e.g. Capecchi, M., Science 244 [1989]

WO 03/008579

PCT/EP02/07924

- 21 -

1288-1292; Benoist, C. and D. Mathis, Curr. Opin. Immunol. **5** [1993] 900-902; Charreau, B. et al., Transgenic Res. **5** [1996] 223-234; Moreadith, R.W. and N.B. Radford, J. Mol. Med. **75** [1997] 208-216; Nomura, T., Lab. Anim. Sci. **47** [1997] 113-117; Cohen-Tannoudji, M. and C. Babinet, Mol. Hum. Reprod. **4** [1998] 929-938. Such genetic modifications may include e.g. substitutions of orthologous or homologous gene sequences, e.g. or fragments or variants thereof, e.g. such as described herein, that may be part of an expression system, e.g. as described above, at the orthologous gene locus or at other loci, e.g. insertions of any of the said sequences at the orthologous gene locus or at other loci, e.g. deletions of the orthologous gene locus. Such genetic modifications may include stable alterations as described, or may include conditional modifications wherein e.g. the specific deletion event or e.g. the expression of the said inserted or substituted sequences may occur in only selected cells, or in selected cells upon an appropriate treatment of the genetically modified organisms. Any of the genetic variants described above may be produced in laboratory animals that have been inbred or engineered at other loci to effect specific immunological responses, e.g. within a genetic background that is highly susceptible to a specific challenge, e.g. to effect a more reproducible or penetrating immunological response following specific challenge, e.g. to effect immunological reactions in response to challenge that may be more characteristic of those observed in humans, or that have been inbred or engineered at other loci to effect specific responses in other biological systems in order to study complex organismal interactions in vivo.

In another aspect the present invention provides genetically modified animals, e.g. useful in laboratory research for gene function studies in vivo, e.g. genetically modified mice or rats, e.g. genetically modified lower eukaryotic organisms such as *D. melanogaster* or *Caenorhabditis*, wherein orthologous or homologous gene sequences at the orthologous gene locus or at other loci are modified (in respect with normal unmodified gene sequences); e.g. which genetically modified animals may be created by homologous or nonhomologous recombination methods in germ line cells or other appropriate cells, and commonly used breeding techniques.

For reviews of techniques for genetic modification of laboratory animals see e.g. Capecchi, M., Science **244** [1989] 1288-1292; Benoist, C. and D. Mathis, Cur. Opin. Immunol. **5** [1993] 900-902; Charreau, B. et al., Transgenic Res. **5** [1996] 223-234; Moreadith, R.W. and N.B. Radford, J. Mol. Med. **75** [1997] 208-216; Nomura, T., Lab. Anim. Sci. **47** [1997] 113-117;

WO 03/008579

PCT/EP02/07924

- 22 -

Cohen-Tannoudji, M. and C. Babinet, Mol. Hum. Reprod. 4 [1998] 929-938. Such genetic modifications include e.g. substitutions of orthologous or homologous gene sequences, or fragments or variants thereof, that may be part of an expression system according to the present invention, at the orthologous gene locus or at other loci by modified sequences, e.g. insertions of a modified sequence at the orthologous gene locus or at other loci, e.g. deletions of the orthologous gene locus. Such genetic modifications may include stable alterations, or may include conditional modifications wherein e.g. the specific deletion event or e.g. the expression of the said inserted or substituted sequences may occur in only selected cells, or in selected cells upon an appropriate treatment of the genetically modified organisms. Any of genetic variants, e.g. such as described above, may be produced in laboratory animals that have been inbred or engineered at other loci to effect specific immunological responses, e.g. within a genetic background that is highly susceptible to a specific challenge, e.g. to effect a more reproducible or penetrating immunological response following specific challenge, e.g. to effect immunological reactions in response to challenge that may be more characteristic of those observed in humans, or that have been inbred or engineered at other loci to effect specific responses in other biological systems in order to study complex organismal interactions in vivo.

In another aspect the present invention provides an (isolated) antibody against a polypeptide of the present invention, e.g. of polypeptide sequences as listed in TABLE 1, e.g. including fragments or variants thereof, e.g. as described herein.

A polypeptide of the present invention, or cells expressing such a polypeptide, may be used as an immunogen to produce antibodies immunospecific for a corresponding polypeptide. The term "immunospecific" means that the antibodies have substantially greater affinity for the polypeptides than their affinity for other related polypeptides in the prior art. Antibodies generated against a polypeptide of the present invention may be obtained e.g. by administering the polypeptide or an epitope-bearing fragment, analog or expression cell to an animal, preferably non-human, using routine protocols. For preparation of monoclonal antibodies, any technique which provides antibodies, e.g. produced by continuous cell line cultures may be used, e.g. including the hybridoma technique (Kohler, G. and C. Milstein, Nature 256 [1975] 495-497), the trioma technique, the human B-cell hybridoma technique (Kozbor et al., Immunology Today 4 [1983] 72) and the EBV-hybridoma technique (Cole et al., In Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, pp. 77-96, Alan R. Liss, Inc. [1985]).

WO 03/008579

PCT/EP02/07924

- 23 -

Techniques for the production of single chain antibodies (US 4,946,778) can also be adapted to produce single chain antibodies to GID2 polypeptides. Also, transgenic mice, or other organisms including other mammals, may be used to express humanized antibodies. Antibodies as described above may be used as appropriate, e.g. in the isolation or in the identification of a host cell expressing a polypeptide of the present invention; e.g. for the purification of a polypeptide of the present invention by affinity chromatography.

5 Antibodies against a polypeptide of the present invention may also be useful in the treatment of diseases, e.g. include diseases in which immunological reactions are a primary component of etiology, progression and/or exacerbating symptoms associated with the disease.

10 An antibody according to the present invention includes e.g. a bispecific antibody binding to the polypeptide of the present invention and to a polypeptide of a viral, bacterial or eukaryotic parasite, or the polypeptide encoded by a second host gene that may be expressed either in the same cell as the polypeptide of the present invention or in a second cell.

15 In another aspect the present invention provides a bispecific antibody binding to the polypeptide of the present invention and binding to a second polypeptide of a viral, bacterial or eukaryotic parasite, e.g. wherein said second polypeptide is encoded by a second host gene that may be expressed either in the same cell as the polypeptide of the present invention or in a second cell, including e.g. a cancer cell.

20 Instead of a bispecific antibody also another bispecific reagent having the ability to bind to the polypeptide of the present invention and to a polypeptide of a viral, bacterial or eukaryotic parasite, or to the polypeptide encoded by a second host gene that may be expressed either in the same cell as the polypeptide of the present invention or in a second cell, including e.g. a cancer cell, may be used.

25 In another aspect the present invention provides a bispecific reagent which is other than an antibody, having the ability to bind to a polypeptide of the present invention and a viral, bacterial or eukaryotic parasite or to a cancer cell.

30 In another aspect the present invention provides a method for inducing an immunological response in a mammal that comprises inoculating said mammal with a polypeptide of the

WO 03/008579

PCT/EP02/07924

- 24 -

present invention in an amount sufficient to produce antibody and/or T cell immune response(s) to protect said mammal from diseases, e.g. including diseases in which immunological reactions are a primary component of etiology, progression and/or exacerbating symptoms associated with the disease.

5

In another aspect the present invention provides a method of inducing an immunological response in a mammal that comprises delivering a polypeptide of the present invention via a vector directing expression of a corresponding polynucleotide in vivo in order to induce an immunological response to produce antibody and/or T cell immune response(s) to protect

10

said mammal from diseases; and, in another aspect, an immunological/vaccine formulation (composition) that, when introduced into a mammal, induces an immunological response in that mammal to a polypeptide of the present invention, wherein said formulation comprises a polypeptide of the present invention, or an expression vector comprising a polynucleotide of the present invention, or host cells

15

comprising cells from the mammal that is treated that contain an expression vector comprising a polynucleotide of the present invention.

A vaccine formulation may further comprise a suitable carrier. Since a polypeptide according to the present invention may be broken down in the digestive system, said vaccine

20

formulation is preferably administered parenterally (including subcutaneously, intramuscularly, intravenously, intradermally, etc. by injection). Immunological/vaccine formulations suitable for parenteral administration include aqueous and non-aqueous sterile injection solutions that may contain anti-oxidants, buffers, bacteriostatic agents and solutes that render the formulation isotonic with the blood of the recipient; and aqueous and non-aqueous sterile suspensions that may include suspending agents or thickening agents. The formulations may be presented in unit-dose or multi-dose containers, for example sealed ampoules and vials, and may be stored in a freeze-dried condition requiring only the addition of the sterile liquid carrier immediately prior to use. The vaccine formulation may further

25

comprise additives, e.g. additives according, e.g. analogously, to conventional additives in vaccine formulations, and may be in the form of appropriate systems, e.g. including oil-in-water systems. The dosage will depend e.g. on the specific activity and stability, and may be readily determined by routine experimentation.

30

WO 03/008579

PCT/EP02/07924

- 25 -

In another aspect the present invention provides a screening assay for agonists and antagonists of polypeptide activity and expression in dendritic cells of the immune system. A polypeptide of the present invention may be responsible for many biological functions, including many pathologies. Accordingly, it is desirable to find compounds and drugs which stimulate the activity of a polypeptide of the present invention or expression of the gene of the present invention on the one hand (agonists), and which can inhibit the function of a polypeptide of the present invention or expression of the gene of the present invention on the other hand (antagonists). A polypeptide or functional mimetics, e.g. according to Coligan et al., *Current Protocols in Immunology* 1(2):Chapter 5 (1991), may be used to assess the binding of agonists or antagonists of the polypeptide, e.g. in cells, cell-free preparations, chemical libraries, and natural product mixtures, e.g. in a screening assay.

Screening procedures may involve the production of appropriate cells which express the polypeptide of the invention. Appropriate cells include cells e.g. from mammals, yeast, or *Drosophila*. Cells expressing the polypeptide of the present invention may be contacted with (exposed to) a test compound to observe stimulation or inhibition of a functional response; or effects on levels of polypeptide expression or biochemical activity, or of a marker gene whose expression is subject to control by transcriptional elements controlling gene expression according to the invention. Alternatively purified polypeptide, or mixtures containing other polypeptides that interact physically, may be contacted (exposed) in solution with (to) a test compound to observe binding to the polypeptide, or effects of the compound on polypeptide binding to other polypeptides in the mixture.

A screening assay may be used in cells expressing a polypeptide of the present invention to test whether the candidate compound results in an alteration of signal generated by the action of the polypeptide, e.g. using detection systems appropriate to the cells expressing the polypeptide. Such an effect is referred to as "downstream" of the action of the polypeptide. For example, in a cell supporting an expression system comprised of the polypeptide of the present invention, preferably in a dendritic cell or a cell of similar properties according to the invention, an inhibitor of the activity of the polypeptide would also effect inhibition of the activity of a second cellular gene product that is dependent upon the polypeptide activity; most preferably assay of the activity of the second gene product is suitable to specific high throughput assay, e.g. may be readily determined by sensitive e.g. colorimetric, fluorescence, phosphorescence, radiometric or antibody techniques, i.e. according to skills in the art, e.g. by a method as conventional. A second type of screening

WO 03/008579

PCT/EP02/07924

- 26 -

assay referred to as "reporter gene assay" may be used in cells supporting an expression system according to the invention, that comprises a vector wherein transgene expression is controlled by the natural gene promoter, and the transgene comprises a recombinant polypeptide of the present invention fused to a marker gene that may be detected according to its level of expression, according to the invention. For example, in a cell supporting an expression system comprised of the promoter and a recombinant polypeptide transgene fused to the E.coli β -galactosidase polypeptide, preferably in a dendritic cell or a cell of similar properties according to the present invention, an inhibitor of the expression of the gene according to the present invention will be mimicked in the assay by an affect upon the transgene expression, that may be readily measured e.g. by the β -galactoside esterase enzymatic activity of the β -galactosidase fusion polypeptide; many such fusion marker genes are known, as e.g. other enzymes such as luciferase and alkaline phosphatase, as e.g. an epitope tag that may be detected with an appropriate antibody, i.e. according to skills in the art using conventional methods.

Agonists and antagonists of a polypeptide of the present invention, e.g. including (poly)peptides, monoclonal antibodies, low molecular weight chemical compounds, antisense oligonucleotides, may have immune modulatory activities and may be used in the treatment of diseases, e.g. such as in acute and chronic inflammatory diseases, including for example inflammatory skin diseases such as allergic and atopic dermatitis, and chronic inflammatory diseases whose symptoms appear in other tissues such as intestine and colon, lung and vascular tissue; e.g. abnormal immune reactivity in autoimmune diseases, or undesired immunological reactions associated with therapeutic treatment of diseases as in transplant rejection crises; e.g. immune hypo-reactivity or suppression in diseases such as cancer, and that associated with persistent viral or microbial infection.

A screening assay may comprise the steps of mixing a candidate compound with a solution containing a polypeptide of the present invention to form a mixture, and determining the binding of the compound to the polypeptide; for example, a complex formed between a polypeptide and a compound e.g. may have altered intrinsic biophysical properties that be determined, e.g. may decrease reactivity of a polypeptide with a specific antibody. Alternatively, a complex formed between a polypeptide of the present invention and a compound may have altered binding properties to a calmodulin polypeptide, according to the present invention; where an assay would consist in a first step of mixing a polypeptide with a test compound, as a second step of adding a calmodulin polypeptide to the mixture, and as

WO 03/008579

PCT/EP02/07924

- 27 -

a third step of measuring effects of the compound on binding of the corresponding substance and calmodulin polypeptides, relative to such binding in the absence of any compound, by e.g. altered intrinsic biophysical properties of the complex of the substance and calmodulin polypeptides.

5

Thus in another aspect, the present invention provides an assay for screening to identify agonists or antagonists, e.g. including low molecular weight compounds in chemical libraries and natural product libraries, and antisense oligonucleotides, which decrease or enhance the production and or the biological activity of a polypeptide according to the present invention, e.g. a method of identifying an agonist or antagonist, which comprises:

10

(a) a polypeptide of the present invention or a modified polypeptide fused to a marker polypeptide, according to the present invention;

(b) a host cell supporting an expression system comprising a polypeptide of the present invention or a modified polypeptide fused to a marker polypeptide, according to the present invention;

15

(c) a host cell supporting an expression system comprising the gene promoter and a recombinant polynucleotide transgene fused to a marker polynucleotide that expresses the fusion polypeptide according to the present invention; or

(d) an antibody to a polypeptide of the present invention or to a modified polypeptide fused to a marker polypeptide, according to the present invention;

20

e.g. and means for a contact with a candidate compound;

e.g. and means for determining the affect of the candidate compound on any of a), b), c) or d); e.g. determining whether in the presence of the candidate compound there is a decrease or enhancement in the expression and or the biological activity of a gene according to the

25

present invention; e.g. by comparison of the activity of any of a), b), c) or d) in the presence and in the absence of the candidate compound.

It will be appreciated that in any such screening assay, a), b), c) or d) may comprise a substantial component.

30

A candidate compound includes any one of the chemical entities as described above, present in e.g. natural or synthetic compound libraries, i.e. systematic collections of chemical entities, for which the affect on any of a), b), c) or d) in an assay for screening according to the present invention is unknown.

WO 03/008579

PCT/EP02/07924

- 28 -

An antagonist or agonist is a candidate compound for which an affect on any of a), b), c) or d) has been found in a screening assay or using a method for identifying antagonists or agonists as described above. An antagonist or agonist may decrease or enhance, respectively, the expression and or the biological activity of a gene according to the present invention.

In another aspect the present invention provides an antagonist or an agonist of the expression and or the biological activity of a gene according to the present invention, that is characterized in that said antagonist or agonist can be provided according to the method of screening and identification as described above.

In another aspect the present invention provides an antagonist or agonist as described above that may have immune modulatory activities and may be used as a pharmaceutical intervention in the treatment of diseases, e.g. such as acute and chronic inflammatory diseases, including for example inflammatory skin diseases such as allergic and atopic dermatitis, and chronic inflammatory diseases whose symptoms appear in other tissues such as intestine and colon, lung and vascular tissue; e.g. such as abnormal immune reactivity in autoimmune diseases, or undesired immunological reactions associated with therapeutic treatment of diseases as in transplant rejection crises; e.g. immune hypo-reactivity or suppression in diseases such as cancer, and that associated with persistent viral or microbial infection; e.g.

An antagonist or an agonist of the expression and or the biological activity of a gene according to the present invention, that is characterized in that said antagonist or agonist can be provided by the following method steps:

- 25 A) contacting
- (a) a polypeptide according to TABLE 1;
 - (b) a host cell supporting an expression system comprising a polypeptide according to TABLE 1;
 - (c) a host cell supporting an expression system comprising the gene promoter and a recombinant polynucleotide transgene fused to a marker polynucleotide that expresses the fusion polypeptide according to TABLE 1; or
 - (d) an antibody to a polypeptide according to TABLE 1.
- 30 with a candidate compound,
- B) determining the effect of the candidate compound on any of a), b), c) or d);

WO 03/008579

PCT/EP02/07924

- 29 -

C) choosing an agonist or antagonist determined in step B).

An antagonist or agonist according to the present invention may be useful as a pharmaceutical intervention in treatment of a disease.

5

In another aspect the present invention provides an antagonist or an agonist according to the present invention for use as a pharmaceutical.

10 For that use, several approaches are available. If the activity of a gene of the present invention in dendritic cells, or cells of the immune system of similar biological function, according to the present invention, is present in excess in a disease, one approach comprises administering to a subject an antagonist according to the present invention, e.g. in combination with a pharmaceutically acceptable excipient, in an amount effective to inhibit the expression or activity of a gene of the present invention, i.e. of a polypeptide of a gene, 15 or by affecting a second activity dependent upon the activity of a gene of the present invention, and thereby alleviating the abnormal condition associated with a disease. If the activity of a gene in dendritic cells, or cells of the immune system of similar biological function, according to the present invention, is present in paucity in a disease, one approach comprises administering to a subject an agonist according to the present invention, e.g. in combination with a pharmaceutically acceptable excipient, in an amount effective to enhance the expression or activity of a gene of the present invention, i.e. of a polypeptide of a gene, 20 or by affecting a second activity dependent upon the activity of a gene, and thereby alleviating the abnormal condition associated with a disease.

25 In another aspect the present invention provides an antagonist or agonist of the expression or activity of a gene of the present invention in dendritic cells, or cells of the immune system of similar biological function, according to the present invention, that alters the biological activity of those cells in interacting with, i.e. having a biological affect upon, other types of cells or similar cells, either treated or untreated by, and/or affected or unaffected by 30 exposure to, the antagonist or agonist.

For example, T cells may be stimulated or energized by interaction with dendritic cells that have been altered by treatment with an antagonist or agonist according to the present

WO 03/008579

PCT/EP02/07924

- 30 -

invention, by administering the antagonist or agonist to a subject and thus exposing both said dendritic cells and T cells of the subject to the agent.

In yet another approach expression of a gene of the present invention in dendritic cells, or cells of the immune system of similar biological function, according to the present invention, may be inhibited using expression blocking techniques. Such known techniques involve the use of antisense oligonucleotides, either internally generated or separately administered, e.g. according to O'Connor, J. Neurochem (1991) 56:560, in Oligodeoxynucleotides as Antisense Inhibitors of Gene Expression, CRC Press, Boca Raton, Fla. (1988). Alternatively, oligomers, e.g. oligonucleotides that form triple helices with a gene according to the present invention, may be supplied, e.g. according to Lee et al., Nuc Acids Res (1979) 6:3073; Cooney et al., Science (1988) 241:456; Dervan et al., Science (1991) 251:1360. Such oligomers may be administered per se or may be expressed in vivo.

For treatment of abnormal conditions in diseases related to a paucity in expression of a gene of the present invention in dendritic cells, or cells of the immune system of similar biological function, according to the present invention, gene therapy may be used to effect the endogenous expression of a gene as a transgene according to the present invention by the relevant cells in a subject who is thus treated. For example, a gene according to the present invention may be engineered for expression in a replication-defective retroviral vector; a retroviral expression construct obtained may be isolated and introduced into a packaging cell transduced with said construct, thus producing infectious viral particles comprising a principle of transfer of an expression system of a gene according to the invention. Said viral particles may be isolated and directly administered to a subject as treatment; or first administered to isolated cells of a subject for establishment of the expression system, then said treated isolated cells re-introduced into the subject. Alternatively, gene therapy may be used to establish an expression system comprised of a form of a gene whose activity antagonizes that of an endogenous gene, e.g. comprised of a transdominant inhibitor form of a gene, as a treatment of abnormal conditions in diseases related to an excess in expression of an endogenous gene in dendritic cells, or cells of the immune system of similar biological function, according to the present invention. For an overview of gene therapy, see e.g. Chapter 20, Gene Therapy and other Molecular Genetic-based Therapeutic Approaches, (and references cited therein) in Human Molecular Genetics, T Strachan and A P Read, BIOS Scientific Publishers Ltd (1996).

WO 03/008579

PCT/EP02/07924

- 31 -

In a further aspect the present invention provides a method of treating abnormal conditions related to both an excess of and insufficient level of expression of a gene according to the present invention; or related to both an excess of and insufficient activity of a polypeptide according to the present invention, comprising administering a therapeutically effective amount of an agonist or antagonist according to the present invention to a subject in need of said treating; e.g. including a method of treating abnormal conditions in diseases related to either an excess or a paucity of the expression or activity, or abnormal activity, of a gene in dendritic cells, or cells of the immune system of similar biological function, according to the present invention, by any of the approaches described above. Such diseases include e.g. acute and chronic inflammatory diseases, including for example inflammatory skin diseases such as allergic and atopic dermatitis, and chronic inflammatory diseases whose symptoms appear in other tissues such as intestine and colon, lung and vascular tissue; e.g. such as abnormal immune reactivity in autoimmune diseases, or undesired immunological reactions associated with therapeutic treatment of diseases as in transplant rejection crises; e.g. immune hypo-reactivity or suppression in diseases such as cancer, and that associated with persistent viral or microbial infection.

In a further aspect the present invention provides a method of treating acute and chronic inflammatory diseases, including for example inflammatory skin diseases such as allergic and atopic dermatitis, and chronic inflammatory diseases whose symptoms appear in other tissues such as intestine and colon, lung and vascular tissue; e.g. such as abnormal immune reactivity in autoimmune diseases, or undesired immunological reactions associated with therapeutic treatment of diseases as in transplant rejection crises; e.g. immune hypo-reactivity or suppression in diseases such as cancer, and that associated with persistent viral or microbial infection; comprising administering a therapeutically effective amount of an agonist or antagonist, preferably an antagonist, according to the present invention to a subject in need of such treatment.

In a further aspect the present invention provides a pharmaceutical composition comprising a pharmaceutically effective amount of an agonist or an antagonist according to the present invention; e.g. an agonist or an antagonist of the expression or activity of a gene of the present invention, in combination with pharmaceutically acceptable carrier(s)/excipient(s).

WO 03/008579

PCT/EP02/07924

- 32 -

In a further aspect the present invention provides a method of treating diseases as described above by administering an effective amount of an agonist or antagonist in the form of a pharmaceutical composition to a subject in need of such treatment.

5 Preferred forms of systemic administration of a pharmaceutical composition according to the present invention include injection, typically by intravenous injection. Other injection routes, such as subcutaneous, intramuscular, or intraperitoneal, may be used. Alternative means for systemic administration include transmucosal and transdermal administration, e.g. using penetrants such as bile salts or fusidic acids or other detergents, or solvents such as dimethyl sulfoxide or alcohols. In addition, if properly formulated in enteric or encapsulated formulations, oral administration may also be possible. Administration of a composition according to the present invention may also be topical and/or localized, e.g. in the form of salves, pastes, gels, etc..

10 The dosage range required may depend on the choice of an agonist or antagonist, the route of administration, the nature of the pharmaceutical composition, the clinical condition of a subject to be treated, and the judgment of the attending practitioner. Suitable dosages, however, may be in the range of 0.1 to 100 µg of an agonist or antagonist per kg body weight of a subject. Variations in the needed dosage, however, may be expected in view of the variety of compounds available and the differing efficiencies of various routes of administration. For example, oral administration would be expected to require higher dosages than administration by intravenous injection. Variations in these dosage levels may be adjusted, e.g. according to a standard empirical routine for optimization.

15 Polypeptides and polynucleotides used in treatment may also be generated endogenously in a subject, e.g. in need of such treatment, in treatment modalities often referred to as "gene therapy", e.g. as described above. Thus, for example, cells from a subject may be engineered ex vivo with a polynucleotide, such as DNA or RNA, to encode a polypeptide or polynucleotide of the present invention, e.g. by use of a retroviral plasmid vector as a principle of transfer as described above. Engineered cells may be introduced into the subject, e.g. in need of such treatment.

20 In another aspect the present invention provides a gene of the present invention expressed in DCs of the immune system, e.g. comprising the polynucleotide sequence as given in TABLE 1, and encoding a protein of the corresponding polypeptide sequence, whose

WO 03/008579

PCT/EP02/07924

- 33 -

expression in DCs is regulated by inflammatory stimuli, as a specific molecular target in DCs for therapeutic intervention in diseases in which immunological reactions are a primary component of etiology, progression and/or exacerbating symptoms associated with the disease.

5 Such diseases include e.g. diseases as described above.

Description of the Figures

10 **FIGURE 1** is an analysis of the expression of the **BASP1** gene in dendritic cells and other cell types of the immune system demonstrating the relevance of the induced expression in dendritic cells stimulated by specific conditions of cellular activation that relate to the activity of dendritic cells within the immune system. **BASP1** expression is stimulated in monocyte-derived dendritic cells by stimulation by phagocytosis of zymosan yeast particles and
15 crosslinking of the **CD40** protein expressed on the surface of the cells, as shown by comparison of the first two lanes to the left, in which the level of expression is measured by the relative amount of DNA of the full length coding sequences of **BASP1** obtained by repeated cycles of DNA synthesis from cDNA from mRNA from unstimulated and stimulated cells (upper panel); the difference observed is specific for the expression of the **BASP1**
20 gene, shown by comparison to that of a second gene, β -Actin (lower panel). The upper panel to the right shows results of Northern blot hybridization analysis of **BASP1** mRNA expression in many types of cell samples; the lower panel to the right is an image of the same blot used for hybridization analysis (dye staining of cellular RNA transferred onto the blot, revealing that equivalent amounts of total RNA from the different cell samples have been analyzed,
25 and equivalent quality of the prepared RNAs, judged by the relative intactness of the ribosomal RNA [rRNA] species that are most apparent from the staining in the image). Unstimulated and stimulated (treatment with the lectin phytohemagglutinin [PHA]) T cells reveal little or no detectable **BASP1** expression by hybridization (the first two lanes to the left of the upper right panel); stimulated B cells (treatment with pokeweed mitogen and IL-4)
30 reveal slight expression (lane 3); unstimulated monocytes reveal little or no expression, whereas stimulated monocytes (treated with GM-CSF) reveal detectable but relatively low expression (lanes 4 and 5, respectively); umbilical cord blood dendritic cells cultured in the presence of Flt-3 Ligand and IL-3 reveal little or no expression, whereas detectable expression is induced by stimulation of such cells with LPS (lanes 6 and 7, respectively);

WO 03/008579

PCT/EP02/07924

- 34 -

umbilical cord blood dendritic cells cultured in the presence of GM-CSF, TNF α and TGF β reveal detectable expression, that is significantly induced by treatment of cells with LPS, and somewhat induced by treatment by crosslinking of the CD40 protein expressed on the surface of the cells with anti-CD40 antibody (lanes 8, 9 and 10, respectively); umbilical cord
5 blood dendritic cells cultured in the presence of GM-CSF and IL-4 reveal little expression, that is strongly induced by treatment of cells with LPS (lanes 11 and 12, respectively).

FIGURE 2 is an analysis of the expression of a GID2 gene (polynucleotide) in DC and other cell types of the immune system demonstrating the relevance of the induced expression in
10 DC stimulated by specific conditions of cellular activation that relate to the activity of DC within the immune system. GID2.1 and GID2.2 expression is stimulated in monocyte-derived DC by stimulation by phagocytosis of zymosan yeast particles and crosslinking of the CD40 protein expressed on the surface of the cells, as shown by comparison of the first two lanes to the left, in which the level of expression is determined by the relative amount of DNA of
15 the full length coding sequences (SEQ ID NO:3 and SEQ ID NO:5) obtained by repeated cycles of DNA synthesis from cDNA from mRNA from unstimulated and stimulated cells (upper panel). The difference observed is specific for the expression of the GID2 polynucleotide, shown by comparison to that of a second gene, β -Actin (lower panel). The panel to the right shows results of Northern blot hybridization analysis of GID2 mRNA
20 expression in many types of cell samples: unstimulated and stimulated (treatment with the lectin phytohemagglutinin [PHA]) T cells reveal little GID2 expression (the first two lanes to the left of the panel); unstimulated and LPS-stimulated monocytes reveal little expression (lanes 3 and 4, respectively); unstimulated MoDC reveal slight expression, that is significantly increased by stimulation with LPS (lanes 5 and 6, respectively); unstimulated
25 umbilical cord blood DC reveal appreciable levels of expression, that is further increased by LPS stimulated (lanes 7 and 8, respectively); little or no expression is detected in human umbilical cord vein endothelial cells (HUVEC) stimulated by phorbol myristate (PMA), by TNF α , or stimulated (lanes 9, 10 and 11, respectively).

30 **FIGURE 3** is an analysis of the expression of the GID3 gene in DC and monocytes, demonstrating the relevance of the induced expression in these two types of cells in response to immune-inflammatory stimuli. GID3 expression is stimulated in monocyte-derived DC by stimulation by phagocytosis of zymosan yeast particles and crosslinking of the CD40 protein expressed on the surface of the cells, as shown by comparison of the first

WO 03/008579

PCT/EP02/07924

- 35 -

two lanes to the left, in which the level of expression is determined by the relative amount of DNA of the full length coding sequences (SEQ ID NO:8) obtained by repeated cycles of DNA synthesis from cDNA (from mRNA) from unstimulated and stimulated cells (upper panel); the difference observed is specific for the expression of the GID3 gene, shown by comparison to that of a second gene, β -Actin (lower panel). The panel to the right shows results of Northern blot hybridization analysis of GID3 mRNA expression in several different cell samples: unstimulated monocytes (the first left lane in the panel to the right) reveal no GID3 expression, whereas stimulation of monocytes by interferon- γ (IFN- γ), bacterial lipopolysaccharide (LPS) or granulocyte-macrophage colony stimulating factor (GM-CSF) significantly elevate GID3 expression (lanes 2, 3 and 4, respectively). Monocyte-derived DC, either unstimulated (lanes 5 and 10) or stimulated by CD40 cross-linking (lane 6), express low or undetectable levels of GID3, however expression is significantly elevated in these cells by a combination of phagocytosis/CD40 cross-linking (lane 7) (confirming results in the panel to the left) or a combination of the inflammatory cytokines TNF α /IL-1 β (lane 11); unstimulated umbilical cord blood DC reveal a low level of expression (lane 8), that is increased by CD40 cross-linking (lane 9).

FIGURE 4 shows the sequence homology of the GID4 protein sequence to the consensus DUF221 sequence. Figure 4 is an alignment of the GID4 polypeptide sequences from position 348-809 of SEQ ID NO:12 with the DUF221 PFAM signature, obtained by search of the PFAM Database Release 6 using the HMMR software (Washington University, St. Louis).

FIGURE 5 shows a conserved structural organization, as defined by the relative position of the DUF221 domain within the GID4 protein, and the distribution of potential transmembrane domains and N-glycosylation sites. In Figure 5 the structure arrangement of the GID4 protein sequence SEQ ID NO:12 is compared with respect to the position of the DUF221 domain, the potential transmembrane domains, and the potential N-glycosylation sites, with the corresponding arrangement of these elements in the sequences of the homologous human proteins KIAA0792 (TREMBL:Q94886) and 93.3/93.8 KDA (TREMBL:Q9P1W3 and Q9P1W1), and the *D. melanogaster* protein CG11210 (TREMBL:Q9V364). The method of analysis is described in Example 1.

WO 03/008579

PCT/EP02/07924

- 36 -

FIGURE 6 shows the induction of GID4 gene expression in response to stimulation of DC. In Figure 6 an analysis of the expression of the GID4 gene in DC and other types of cells of the immune system, demonstrating the specificity of induced GID4 expression in DC, and the relevance of induced expression to inflammatory stimuli is given. GID4 expression is stimulated in monocyte-derived DC by stimulation by phagocytosis of zymosan yeast particles and crosslinking of the CD40 protein expressed on the surface of the cells, as shown by comparison of the first two lanes in the panels to the left, in which the level of expression is measured by the relative amount of DNA of the full length coding sequences (SEQ ID NO:12) obtained by repeated cycles of DNA synthesis from cDNA (from mRNA) from unstimulated and stimulated cells (upper panel); the difference observed is specific for the expression of the GID4 gene, shown by comparison to that of a second gene, β -Actin (lower panel). The panel to the right shows results of Northern blot hybridization analysis of GID4 mRNA expression in several different cell samples: unstimulated T cells cultured with IL-2 (the first left lane in the panel to the right) reveal no GID4 expression, whereas GID4 expression in stimulated T cells (treatment with the lectin phytohemagglutinin, lane 2) and stimulated B cells (treatment with pokeweed mitogen and IL-4, lane 3) is detectable, albeit at very low levels. GID4 is expressed at low levels in unstimulated monocyte-derived DC (MoDC), significantly increased by stimulation with bacterial lipopolysaccharide (LPS) (lanes 4 and 5, respectively). Expression at levels comparable to that in unstimulated MoDC is also seen in DC obtained by culturing umbilical cord blood precursor cells with GM-CSF/TNF α /TGF β (lane 7) or GM-CSF/TNF α /IL-4 (lanes 8 and 10); somewhat higher levels of GID4 are seen in LPS-stimulated DC derived from precursor cells cultivated with Flt-3 ligand and IL-3 (lane 6); LPS stimulation for 6 hr and 18 hr (lanes 9 and 11, respectively) of DC derived from precursor cells cultivated with GM-CSF/TNF α /IL-4 reveals a marked increase in GID4 expression with longer stimulation. Methods are detailed in Example 2.

FIGURE 7 shows IL-8 secretion measured by specific ELISA following LPS-stimulation of cells that ectopically express BASP 1 (U937_BASP) compared to vector control-containing cells (U937_vector).

FIGURE 8 shows the results of a FACS analysis of antigen-presenting cells that ectopically express an epitope-tagged GID2.2 polynucleotide compared to vector control-containing cells, confirming expression of GID2.2 on the surface of AB4 cells.

WO 03/008579

PCT/EP02/07924

- 37 -

FIGURE 9 shows the antigen-dependent stimulation of a T cell clone (TCC) by co-cultivation with antigen-presenting cells (AB4) that ectopically express GID2.2 polypeptide (AB4-GID2.2) compared with control vector-containing AB4 cells. In the analysis, the ratio of antigen-presenting cells to TCC is varied as indicated. As antigen-negative control a 1:1 mixture of 50000 AB4 cells and 50000 TCC is also shown.

WO 03/008579

PCT/EP02/07924

- 38 -

EXAMPLES

Example 1

Isolation of BASP1, GID2, GID3 and GID4 Polynucleotides from Dendritic Cells and Sequence Analysis

- 5 cDNA clones comprising BASP1, GID2, GID3 and GID4 sequences of varying 5' lengths are isolated from cDNA libraries prepared from dendritic cell mRNA by hybridization with a small (200-bp) BASP1, GID2, GID3 and GID4 probe derived from subtraction of cDNA prepared from stimulated (zymosan and anti-CD40 antibody) and unstimulated dendritic cell mRNA, and comparison of sequences of the cDNA clones with the GenBank database using the
- 10 BLASTN algorithm identified the sequences as >98% identical to that of the entry for NAP22 (another name for BASP1), AF039656 or using the FRAMES software of the GCG SeqWeb (Wisconsin Package) in the case of the GID probes. For confirmation of the recombinant cDNA phagemid clones, and the predicted open reading frames, oligonucleotide primers flanking the coding sequences are used to independently obtain clones directly from
- 15 dendritic cell cDNA by repeated cycles of synthesis using a thermostable DNA polymerase (KlenTaq Polymerase, Clontech), and the sequences of three different clones thus derived yields the consensus
- SEQ ID NO: 1 encoding a BASP1 polypeptide;
SEQ ID NO:3 encoding a GID2.1 polypeptide;
- 20 SEQ ID NO:5 encoding a GID2.2 polypeptide; (the polypeptide sequences SEQ ID NO:4 and SEQ ID NO:6 correspond to said encoding polynucleotide sequences);
SEQ ID NO:8 encoding a GID3 polypeptide; (the polypeptide sequence GID3 SEQ ID NO:9 corresponds to the polynucleotide sequence SEQ ID NO:8);
consensus SEQ ID NO:12 encoding a GID4 polypeptide; (the polypeptide sequence GID4
- 25 SEQ ID NO:12 corresponds to the polynucleotide sequence SEQ ID NO:12).

It was observed that inclusion of 5% dimethyl sulfoxide, which lowers the effective melting temperature of polynucleotide duplex structures, is necessary for reproducible synthesis with KlenTaq polymerase, most likely due to the strikingly GC-rich sequence content of SEQ ID

30 NO: 1 and related sequences such as AF039656. Since
i) the translation of SEQ ID NO: 1 agrees 100% with the BASP1 polypeptide sequence of the SwissProt database entry P80723, that was derived from protein sequencing, i.e. independent of any in vitro cDNA or DNA synthetic steps; and

WO 03/008579

PCT/EP02/07924

- 39 -

ii) sequences of three BASP1 DNA clones synthesized as described above from dendritic cell cDNA, using KlenTaq polymerase in the presence of 5% dimethyl sulfoxide, agree with the consequence SEQ ID NO: 1;

we conclude that SEQ ID NO: 1 reflects the correct sequence of BASP1 expressed as mRNA in dendritic cells and that the sequences in the GenBank database entries AF039656 and NM_006317 (described in the first section of the invention) are incorrect.

Monocyte-derived dendritic cells

Human monocytes obtained by countercurrent elutriation are seeded into Costar 6-well plates (Costar, Cambridge, MA) at 8×10^5 cells/ml in RPMI1640 medium (Gibco-BRL, Rockville, MD) containing 10% fetal calf serum and supplemented with GM-CSF (Novartis AG, Basel, Switzerland)(300U/ml) and rIL-4 (R&D Systems)(200U/ml). Cultures are fed on day 3 by exchanging half of the medium with fresh medium that had been supplemented with GM-CSF and rIL-4 to achieve the final concentrations indicated above.

15

RNA isolation, cDNA and DNA synthesis, and construction of recombinant plasmid clones

RNA is isolated using the Trizol reagent (Gibco-BRL, Rockville MD). cDNA is synthesized using the combination of SuperScript (RNaseH activity destroyed by mutation), Moloney leukemia virus reverse transcriptase, RNaseH, DNA polymerase and DNA ligase purified from *E. coli* (Gibco-BRL, Rockville MD); for cDNA libraries, the cDNA is modified by ligation of linker-adaptors, specific digestion with the restriction enzymes Sall and NotI according to design, and ligation into the pSPORT1 plasmid vector DNA (Gibco-BRL, Rockville MD) as a Sall-NotI insertion.

For independent derivation of DNA directly from cDNA template, repeated cycles of DNA synthesis are performed with KlenTaq thermostable DNA polymerase (containing a 3'-5' exonuclease proofreading activity to lower the frequency of polymerase error)(Clontech) in the presence of 5% (v/v) dimethyl sulfoxide, as extension products of the following synthetic oligonucleotides

for BASP1 DNA:
5'-CGAGCCGAAGTCCAAGATGG-3' and 5'-GGTCCTTGTCCTTTCACG-3'
for GID2.1 DNA:
5'-CCACGCATGACGGTGCATG-3' and 5'-GGAACTCAGGGTATCCCAC-3'
for GID2.2 DNA:

WO 03/008579

PCT/EP02/07924

- 40 -

5'-ATGGGGCGCCCTCAGGCCAC-3' and 5'-TCACCGTTTTCGAAGCCTCTTC-3'

for GID3 and GID4:

5'-GGCGCCATGAGTGGCGGCGG-3' and 5'-GGTGCTGGGAGGTCAGATGTCG-3'

(all from Genset, Paris),

- 5 followed by end repair with the Klenow fragment of DNA polymerase (New England Biolabs), and ligation into EcoRI-digested pSPORT1 plasmid vector DNA whose ends had been blunted with the same enzyme.

Alignment of DNA sequences and analysis of databases

- 10 The algorithm ClustalW is used in alignment of DNA sequences; the BLASTN algorithm is used to identify similar sequences present in the GenBank-EMBL DNA sequence databases; the BLASTX algorithm is used to identify sequences in the SwissProt protein sequence database similar to polypeptide sequences encoded by DNA.
- Transmembrane helix prediction is performed according to G. von Heijne, *J. Mol. Biol.* 225 [1992] 487-494. Polypeptide motifs are obtained by Motif search of the PROSITE Dictionary of Protein Sites and Patterns. HMMPFAM are obtained by searching the HMM database HMMER 2.1.1 [Dec 1998], Washington University School of Medicine.
- 15

Example 2

- 20 **Expression of BASP1, GID2, GID3 and GID4 mRNA in Dendritic Cells and Other Cells of the Immune System**

Methods

- Monocytes, T cells and B cells are isolated from peripheral blood by enrichment by centrifugal elutriation; cord blood dendritic cells are obtained as precursor cells from umbilical cord blood and cultivated in the presence of factors that promote their differentiation into immature dendritic cells. RNA isolation, cDNA synthesis, and repeated cycles of DNA synthesis using a thermostable DNA polymerase, are performed as described above. Separation of RNA by electrophoresis, blotting and hybridization with a synthetic oligonucleotide probe (Northern hybridization analysis) are performed as described in Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2nd Ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989).
- 25
- 30

As shown in the figures 1, 2, 3 and 4, expression of appropriate mRNA in dendritic cells and other types of cells of the immune system, unstimulated or stimulated by relevant immune

WO 03/008579

PCT/EP02/07924

- 41 -

activation signals, may be analyzed by either 1) RT-PCR of the full-length *BASP1* coding polynucleotides (using the primers described above), and normalizing that expression for that of a uniformly expressed polynucleotide sequence such as β -actin mRNA; or 2) Northern hybridization analysis.

- 5 Such an analysis indicates the following for the different substances:
- Expression of *BASP1* mRNA according to the invention is significantly enhanced in various types of dendritic cells, and dendritic cells matured by cultivation in different specific growth factors and cytokines, by the relevant stimuli. Furthermore, much lower levels of expression of *BASP1* mRNA are detected in stimulated or unstimulated T cells, B cells or monocytes; of
 - 10 the latter three types of immune cells, monocytes stimulated with GM-CSF do show detectable *BASP1* mRNA expression, but not as pronounced as in stimulated dendritic cells.
 - Expression of *GID2* mRNA is significantly enhanced in various types of DC, and DC matured by cultivation in different specific growth factors and cytokines, by the relevant stimuli. Furthermore, much lower levels of expression of *GID2* mRNA are detected in
 - 15 stimulated or unstimulated T cells, monocytes or endothelial cells.
 - Expression of *GID3* mRNA is significantly enhanced in monocytes, monocyte-derived DC, and DC matured from cord blood precursor cells, by the specific stimuli relevant to immune system activation, e.g. inflammatory stimuli.
 - Expression of *GID4* mRNA is significantly enhanced in monocyte-derived DC by a
 - 20 phagocytic stimulation combined with CD40 cross-linking, and by bacterial lipopolysaccharide (LPS) stimulation in monocyte-derived DC, and in DC matured from cord blood precursor cells by cultivation with granulocyte-macrophage colony stimulating factor (GM-CSF), tumor necrosis factor- α (TNF α) and interleukin-4 (IL-4). In contrast, only
 - 25 detectable or no *GID4* expression is seen in unstimulated or stimulated T cells, or in stimulated B cells. Thus, *GID4* expression is restricted, relative to T and B cells, to DC, and the induced *GID4* expression in DC by specific inflammatory stimuli demonstrates the relevance to activation of the immune system.

Example 3

30 Production of *BASP1*, *GID2*, *GID3* and *GID4* Polypeptides and Recombinant Polypeptides

Based upon experience and commonly used methods in the production of recombinant proteins, expression vectors can be prepared for the production of the *BASP1*, *GID2*, *GID3* and *GID4* polypeptide and variants thereof. The expressed transgenic polypeptide from

WO 03/008579

PCT/EP02/07924

- 42 -

stably transfected producer cells may be isolated and purified, and used for the generation of antibodies and functional studies, as well as in screening assays. Recombinant variants of appropriate polypeptides containing N- and C-terminal tag, as well as the unmodified forms of the polypeptide, may be produced. Expression of tagged recombinant protein may be performed by preparing constructs in the FLAG-containing pcDNA vectors obtained commercially (inVitrogen and Sigma, as well as other suppliers). Proteins may be produced in E.coli strains that are also available commercially. For producing large amounts of proteins that are post-translationally modified (e.g. glycosylated), the Baculovirus expression vectors in insect cells may be used, or vectors designed for selection and expression in yeast cells; in both cases, expression vectors and suitable producer cells may be obtained commercially, and are commonly used. Protein in mg amounts is produced, as it is of advantage for immunizations, and necessary for functional studies and screening assays according to the invention.

15 Example 4**Generation of Monoclonal Antibodies**

Monoclonal antibodies may be obtained by common methods used in mice immunized with the produced BASP1, GID2, GID3 and GID4 protein, where antibodies produced by the resulting hybridoma cell lines may be screened against, and the antibodies purified by affinity chromatography using, the immunizing protein. Tag-containing recombinant BASP1, GID2, GID3 or GID4 protein may also be used to immunize mice to produce antibodies, in which case antibodies produced by the resulting hybridoma cell lines will be screened for epitope-specific antibodies either against the unmodified form of the BASP1, GID2, GID3 or GID4 protein, or against both the tag-containing protein and a second tag-containing protein, such as glutathione-S-transferase (GST)-tag fusion proteins. The antibodies may be used in studies to detect expression of appropriate polypeptides in functional studies, such as inhibiting BASP1, GID2, GID3 or GID4 expression with antisense oligonucleotides, and testing the effects of low molecular weight antagonists and agonists identified in screening assays, described below. Antibodies may also comprise a component of a diagnostic method and kit.

Example 5**Inhibition of BASP1, GID2, GID3 and GID4 Expression with Antisense Oligonucleotides**

WO 03/008579

PCT/EP02/07924

- 43 -

The use of synthetic antisense oligonucleotides (ASO) composed of small sequence stretches, preferably 18-20 nucleotides in length, that are complementary to specific sequences of the sense polyribonucleotide (mRNA) strand of a given gene, that when introduced into cells will bind that mRNA producing duplex structures thereby being recognized by double-strand RNase enzymes that subsequently degrade the intact mRNA molecule and abrogate expression of the encoded protein of that gene, is a commonly used method for studies of gene function. For inhibition of BASP1 expression, ASO containing complementary BASP1, GID2, GID3 or GID4 sequences are introduced into dendritic cells, and certain cell lines that express BASP1, GID2, GID3 or GID4 mRNA, by common techniques such as e.g. the use of liposomal agents that are commercially available (e.g. Lipofectamine and Lipofection, GIBCO-BRL). The effects of the ASO are determined by any of several methods, such as RNase protection assays, S1 nuclease assays, PCR, or ELISA assays using an anti-BASP1 monoclonal antibody described above. Several different ASO, each containing sequences complementary to different regions of the BASP1, GID2, GID3 or GID4 mRNA, are tested for activity in the assays described, and the most effective ASO are selected for uses described in subsequent examples below. The specificity of the activity of the ASO are determined by determining the activity of ASO of a related sequence that contains several, preferably 3 to 5, nucleotide substitutions in the assays described, e.g. controlling the activity of a specific ASO by using a "mismatch" ASO in selected assays.

Example 6**Identifying Activation Markers in Dendritic Cells and Cell Lines Dependent upon BASP1, GID2, GID3 or GID4 Expression**

There are numerous surface membrane-associated proteins expressed in dendritic cells, e.g. MHC Class II proteins, CD40, CD80 and CD86, and soluble mediators secreted by dendritic cells, e.g. G-CSF, IL-12 and IL-1, that are recognized as playing a role in amplification of immunological signals from dendritic cells to T cells and other types of cells of the immune system (heterotypic responses), and to other dendritic cells (homotypic responses). The expression of these types of genes, that may be termed activation markers, in dendritic cells increases dramatically as the cells are activated by immunological signals. The role of BASP1, GID2, GID3 or GID4 expressed in dendritic cells stimulated in different ways, such as with LPS, TNF α , phagocytically, or using appropriate antibodies or ligands to crosslink specific surface proteins, or combinations of such stimuli, upon induction of activation markers in the stimulated cells, is determined by introducing ASO into the cells as

WO 03/008579

PCT/EP02/07924

- 44 -

described above, followed by stimulation of the cells, and assaying for the expression levels of the activation markers. The specificity of the inhibition is controlled by comparison with cells in which mismatch ASO are introduced as described above, and or using cells that are not treated with ASO in the assay. The expression of the activation markers are determined
5 by any of several methods, such as RNase protection assays, S1 nuclease assays, PCR, ELISA or FACS assays using appropriate antibodies. Activation markers in cell lines described above are also identified by these same methods.

Example 7**10 Determination of Interactions of BASP1, GID2, GID3 or GID4 with other Dendritic Cell Membrane-Associated Proteins**

The membrane or subcellular localization of the BASP1, GID2, GID3 or GID4 protein expressed in dendritic cells is examined by fractionating membrane preparations according to density by centrifugation, to determine if the protein is associated with raft structures, as
15 has been demonstrated in neuronal cells (Maekawa, S., *J. Biol. Chem.* 274 [1999] 21369-21374). In this analysis, proteins contained within various cellular fractions, e.g. cytoplasmic, membrane raft and non-raft membrane fractions, are further fractionated by electrophoresis under denaturing conditions in polyacrylamide gels (SDS gel electrophoresis), blotted onto filters and subjected to Western analysis using the BASP1, GID2, GID3 or GID4 antibody
20 described above. Unstimulated dendritic cells and cells treated with immunological stimuli, such as LPS, TNF α , phagocytically, or using appropriate antibodies or ligands to crosslink specific surface proteins, or combinations of such stimuli, are analyzed to determine if there is altered localization of the BASP1, GID2, GID3 or GID4 protein in response to cellular activation. Other cellular proteins that closely interact physically with BASP1, GID2, GID3 or
25 GID4 in the different fractions, and BASP1, GID2, GID3 or GID4 antibody, with or without treatment with reversible bivalent crosslinking agents (commercially available from Sigma Chemical Company or Pierce), followed by 2D gel separations (isoelectric focusing combined with denaturing SDS gel electrophoresis) and partial microsequencing analysis. The physical interaction of BASP1, GID2, GID3 or GID4 with a second protein expressed in
30 dendritic cells that is identified by these techniques is confirmed by the reverse experiment, in which immunoprecipitation is performed with specific antibody to the second protein, followed by Western blotting analysis using the BASP1, GID2, GID3 or GID4 antibody. Specific antibodies against many known membrane-associated surface proteins are commercially available. The physical interaction with BASP1, GID2, GID3 or GID4 any

WO 03/008579

PCT/EP02/07924

- 45 -

second protein identified and confirmed in dendritic cells is also confirmed in cell lines described above, when that protein is also shown to be expressed in those cell lines.

Example 8**5 Mapping BASP1, GID2, GID3 or GID4 Protein Domains Specifying Protein-Protein Interactions**

The DNA expression vector that encodes a modified recombinant BASP1, GID2, GID3 or GID4 protein fused to a tag-polypeptide described above, for example a FLAG epitope, is mutagenized at certain sites by small in-frame insertions that may disrupt domain function within BASP1, GID2, GID3 or GID4. The mutagenized constructs are introduced into cell lines expressed above, and other cellular proteins that physically with the recombinant, mutagenized BASP1, GID2, GID3 or GID4 variant proteins are identified by the methods described above, using an antibody specific for the tag-polypeptide to purify the protein complexes. For example, the domain within the BASP1, GID2, GID3 or GID4 protein that is necessary for the physical interaction with calmodulin, known to occur in neuronal cells (Takasaki, A., *J. Biol. Chem.* 274 [1999] 11848-11853) should be identified in this way. Confirmation and finer mapping of the BASP1, GID2, GID3 or GID4 protein domain is then performed using the tag-fusion recombinant BASP1, GID2, GID3 or GID4 expression constructs by introducing deletions and point mutations into the BASP1, GID2, GID3 or GID4 protein sequence. In this way, interaction-defective BASP1, GID2, GID3 or GID4 variant proteins are defined, and they may be produced using the expression vectors in producer cells as described above. In addition, a minimal BASP1, GID2, GID3 or GID4 linear polypeptide sequence may be defined, termed an interaction polypeptide sequence, that may be necessary for BASP1, GID2, GID3 or GID4 to interact with the second protein.

Example 9**Interference with BASP1, GID2, GID3 or GID4 Activities in Dendritic Cells Using Polypeptides**

Interaction polypeptide sequences described above are introduced into dendritic cells by using infectious, replication-defective mammalian expression vectors, derived from e.g. suitable scaffolds based upon lentiviruses or spumaviruses, that encode are capable of expressing polypeptides within the infected cells. The effect of the expressed interaction polypeptides in interfering with the interaction of endogenous BASP1, GID2, GID3 or GID4 protein with second proteins as described above, are assayed in proteins extracted from the

WO 03/008579

PCT/EP02/07924

- 46 -

cells by immunoprecipitation with the anti- BASP1, GID2, GID3 or GID4 antibody described above, followed by analysis of the co-immunoprecipitated proteins, preferably by Western blot analysis using a specific antibody directed against the second protein, as described above. The specificity of a given interaction-interference polypeptide is determined by
5 introducing mutations, i.e. 2 to 4 amino acid substitutions, into the polypeptide in the expression vector, and testing such "mismatch" interaction-interference control polypeptides in the assay. In this way, interaction-interference polypeptides may be identified, and they may be produced in pure form by synthetic methods as conventional.

10 Example 10**Identification of Activation Markers in Dendritic Cells and Cell Lines Dependent upon Specific Physical Interaction of BASP1, GID2, GID3 or GID4 with Second Cellular Proteins**

The necessity of specific physical interaction of BASP1, GID2, GID3 or GID4 with second
15 cellular proteins expressed in dendritic cells, and cell lines as described above, that are stimulated in different ways, such as with LPS, TNF α , phagocytically, or using appropriate antibodies or ligands to crosslink specific surface proteins, or combinations of such stimuli, for the induction of activation markers in the stimulated cells, is determined by introducing interaction-interference polypeptides into the cells as described above using replication-
20 defective infectious viral expression vectors, followed by stimulation of the cells, and assaying for the expression levels of the activation markers. The specificity of the assay is determined by introducing mismatch interaction-interference control polypeptides into the cells that are subjected to the assay

25 Example 11**Phenotypic Properties of Dendritic Cells that are Dependent on BASP1, GID2, GID3 or GID4 Expression and or Specific Physical Interaction of BASP1, GID2, GID3 or GID4 with Second Cellular Proteins**

The functional importance of BASP1, GID2, GID3 or GID4 expressed in dendritic cells, in
30 terms of immunologically relevant cellular activities, or properties, are assessed in the following two assays:

i) Dendritic Cell Migration Assays

An early step during activation of immature dendritic cells is the acquisition of migratory capability, that is assessed by e.g. placing the cells into one chamber of a two-chamber

WO 03/008579

PCT/EP02/07924

- 47 -

system separated by a semipermeable membrane, and measuring the proportion of the cells that migrate through the membrane into the second chamber; or performing microphotography of cells that are suspended in a highly viscous medium that impedes Brownian movement, as collagen-containing gels. The dependence of migratory capacity upon BASP1, GID2, GID3 or GID4 expression is assayed in dendritic cells in which specific ASO directed against BASP1, GID2, GID3 or GID4 mRNA have been introduced, as described above. The specificity of the ASO is determined by including a mismatch ASO in the assay, as described above. The dependence of migratory capacity upon specific physical interaction of BASP1, GID2, GID3 or GID4 with second cellular proteins expressed in dendritic cells is assayed in cells into which specific interaction-interference polypeptides have been introduced, as described above. The specificity of action of the interaction-interference polypeptides is determined by introducing a mismatch interaction-interference control polypeptide into the cells subjected to assay, as described above.

ii) T Cell Activation by Dendritic Cells and Cell Lines

As dendritic cells mature in response to activation, they become increasingly more potent in their ability to activate T cells to replicate by presentation of antigen. This is referred to as the T cell activation capacity of dendritic cells, and it is assayed by mixing a series of decreasing ratios of dendritic cells (that are pre-exposed to a suitable antigen for presentation) to T cells together in culture medium, e.g. 1:5 to 1:25 to 1:100 to 1:300 to 1:1000 etc.; incubating them for typically 5 to 7 days, during which time the dendritic cells process the antigen internally and present the epitopes from their surface in complexes with MHC class II proteins, that in turn form complexes with the T cell receptor surface proteins, among other cell-cell communication signals comprising the process of activation; then determining the degree of T cell replication stimulated by the activation process, e.g. by determining the incorporation of radioactive substrates for DNA synthesis in the replicating T cells. For example, the strength of activation capacity of dendritic cells, or potency, is expressed as the number of T cells per dendritic cell at which the highest degree of T cell replication is stimulated; e.g. the greater the number of T cells that may be stimulated to replicate by a single dendritic cell represents a correspondingly higher activation capacity of that dendritic cell. The dependence of such activation capacity upon BASP1, GID2, GID3 or GID4 expression in dendritic cells is assayed in cells into which specific ASO directed against BASP1, GID2, GID3 or GID4 mRNA have been introduced, as described above. The specificity of the ASO is determined by including a mismatch ASO in the assay, as described above. The dependence upon specific physical interaction of BASP1, GID2, GID3 or GID4

WO 03/008579

PCT/EP02/07924

- 48 -

with second cellular proteins expressed in dendritic cells is assayed in cells into which specific interaction-interference polypeptides have been introduced, as described above. The specificity of action of the interaction-interference polypeptides is determined by introducing a mismatch interaction-interference control polypeptide into the cells subjected to assay, as described above.

Example 12**Recombinant Reporter Gene Vectors Containing BASP1, GID2, GID3 or GID4 Promoter Sequences and Expression in Dendritic Cells and Cell Lines**

10 Transcriptional regulation of mRNA synthesis is typically exerted through chromosomal DNA sequences present directly upstream of the position of mRNA synthesis initiation (i.e. the chromosomal sequences adjacent to the template sequences, flanking the side of initiation), that is termed the gene promoter, and small DNA elements referred to as transcriptional enhancers that may lie distal to the promoter sequences. The chromosomal DNA sequences
15 that would potentially comprise the BASP1, GID2, GID3 or GID4 gene promoter are amplified by PCR, e.g. amplified DNA fragments of lengths varying from 100 to 200 to 500 to 1000 bp, and cloned within a recombinant mammalian expression vector capable of expressing a marker protein that may be easily detected, such as luciferase, whereby when the recombinant expression vector is introduced into mammalian cells the expression of the
20 marker is dependent upon the promoter activity of the inserted amplified DNA fragment. In this way i) the BASP1, GID2, GID3 or GID4 promoter may be functionally defined and grossly localized, and ii) the activity of complex cellular factors, and events that control the activity of those factors, upon which enhanced BASP1, GID2, GID3 or GID4 mRNA expression depends, e.g. such as occurs during dendritic cell activation, may be
25 conveniently and quantitatively monitored by the amount of the marker protein expressed in the cells into which the recombinant expression vector has been introduced. The recombinant expression vector is introduced into dendritic cells BASP1, GID2, GID3 or GID4 promoter is regulated. The degree to which the level of marker expression accurately reflects the activity of the BASP1, GID2, GID3 or GID4 promoter in the recombinant expression
30 vector in an assay designed to measure such effects, as opposed to other unrelated effects, is assessed by including a second marker in a second recombination vector subject to transcriptional control by a second promoter whose activity is unaffected by changes in cellular events occurring during an assay; and the first marker in the second recombinant vector subject to transcriptional control by the said second promoter.

WO 03/008579

PCT/EP02/07924

- 49 -

Example 13

Screening Assays for Low Molecular Weight Agonists or Antagonists of BASP1, GID2, GID3 or GID4 Expression or Activity

- 5 Several types of assays are suited for high throughput screening of libraries of small molecular weight compounds, e.g. collections of natural products and combinatorial chemistry libraries, e.g. antisense oligonucleotides, peptides, antibodies and mimetics. Antagonists or agonists of BASP1, GID2, GID3 or GID4 expression, or of the functional activity of the BASP1, GID2, GID3 or GID4 protein, are screened according to the following
- 10 assays:
- i) Cellular Screening Assays for Antagonists or agonists of BASP1, GID2, GID3 or GID4 expression
- The recombinant expression vector containing a marker protein, whose expression is subject to the BASP1, GID2, GID3 or GID4 promoter, as described above, is introduced into a cell
- 15 line in which that promoter is shown to be induced by suitable cellular stimulation, as described above. In screening assays, the cells containing the expression vector are contacted with substances present in the libraries, then they are treated under conditions shown to activate the BASP1, GID2, GID3 or GID4 promoter, and compounds screened that result in either higher marker expression (potential agonists), or lower marker expression
- 20 (potential antagonists), relative to cells that are not exposed to any substance, are selected.
- ii) Cellular Screening Assays for Antagonists or Agonists of BASP1, GID2, GID3 or GID4 Activity
- Cellular activation markers in cell lines whose expression upon stimulation is dependent upon BASP1, GID2, GID3 or GID4 expression, and or upon specific physical interaction of
- 25 BASP1, GID2, GID3 or GID4 with second cellular proteins, as described above, are used as indicators of BASP1 cellular activity. An indicator is selected such that its expression may be conveniently and quantitatively detected in cellular assays, such as using antibodies specific for the indicator protein coupled with second signal-generating systems dependent upon bound antibody, e.g. color or fluorescence-generating reactions, e.g. proximity fluorescence
- 30 or other detectable energy transfer methods. In screening assays, the cells are contacted with substances present in the libraries, then they are treated under conditions shown to activate BASP1, GID2, GID3 or GID4 expression, and compounds screened that result in either activation marker (indicator) expression (potential agonists), or lower activation marker

WO 03/008579

PCT/EP02/07924

- 50 -

expression (potential antagonists), relative to cells that are not exposed to any substance, are selected.

iii) Screening Assays for Compounds that Specifically Bind **BASP1, GID2, GID3 or GID4** Protein

5 **BASP1, GID2, GID3 or GID4** protein isolated and produced, described above, is contacted with substances present in the libraries in an assay such that a substance bound with protein may be discriminated from free (unbound) substance and protein. Substances bound to protein, for example, may alter intrinsic biophysical properties of that protein that may thereby be detected; or a substance may be linked to an indicator molecule of which a
10 biophysical property may be altered when the linked substance binds to, and therefore brings into the proximity to the indicator, a protein molecule; or for example in types of competition assays, in which an antibody or a mimetic, that may be detected when it is bound to a protein, is competed for that binding by the presence of a substance that itself binds to that protein.

15 iv) Screening Assays for Antagonists or Agonists of the Physical Interaction of **BASP1, GID2, GID3 or GID4** Protein with a Second Protein

BASP1, GID2, GID3 or GID4 protein isolated and produced, described above, is contacted with substances present in the libraries, then a second protein that interacts with **BASP1, GID2, GID3 or GID4** protein (described above) is added, in an assay such that the **BASP1, GID2, GID3 or GID4** bound to second protein may be discriminated from the free proteins,
20 and thereby a substance that increases the physical interaction of the two proteins (potential agonist) or decreases it (potential antagonist) is selected. For example, alterations in biophysical properties of the proteins associated with protein-protein binding, as described above, may be used to detect physical interaction; or a competition type of assay with
25 antibody or a mimetic; or an altered biochemical activity of a second protein bound to **BASP1, GID2, GID3 or GID4** that is suitable for a high throughput assay.

Example 14

Assessment of the Activity of Isolated Antagonists or Agonists of **BASP1, GID2, GID3 or GID4 Expression or Activity Identified in Screening Assays**

30 The activity of antagonists and agonists is tested in any of a number of different assays to reveal properties of specificity or toxicity or utility:

- i) Isolated dendritic cells or cells of similar function or cell lines as described above or unrelated cells or cell lines are contacted with increasing concentrations of the

- antagonist or agonist that is being tested, and the level of BASP1, GID2, GID3 or GID4 mRNA or protein expressed is determined by any of the methods described above and compared with that of untreated cells, and cells treated with antisense oligonucleotides and mismatch control antisense oligonucleotides as described above. Effects of the antagonist or agonist upon the expression of BASP1, GID2, GID3 or GID4 mRNA or protein are compared to that upon the expression of a second unrelated cellular gene.
- 5
- ii) Isolated dendritic cells or cells of similar function or cell lines described above are contacted with increasing concentrations of the antagonist or agonist that is being tested, and the level of expressed activation markers dependent upon BASP1, GID2, GID3 or GID4 expression as described above are determined by any of the methods described above and compared with that of untreated cells, and cells treated with antisense oligonucleotides and mismatch antisense oligonucleotides as described above.
- 10
- iii) Isolated dendritic cells or cells of similar function or cell lines described above are contacted with increasing concentrations of the antagonist or agonist that is being tested, and the level of expressed activation markers dependent upon specific physical interaction of BASP1, GID2, GID3 or GID4 with second cellular proteins as described above are determined by any of the methods described above and compared with that of untreated cells, and cells treated with interaction-interference polypeptides and mismatch control polypeptides as described above.
- 15
- 20
- iv) Isolated dendritic cells or cells of similar function are contacted with increasing concentrations of the antagonist or agonist that is being tested, and the effect on cellular migration is determined as described above, and compared with that of untreated cells, cells treated with antisense oligonucleotides and mismatch antisense oligonucleotides as described above, and cells treated with interaction-interference polypeptides and mismatch control polypeptides as described above.
- 25
- v) Isolated dendritic cells or cells of similar function or cell lines as described above are contacted with increasing concentrations of the antagonist or agonist that is being tested, and the effect on T cell activation capacity of the cells is determined as described above, and compared with that of untreated cells, cells treated with antisense oligonucleotides and mismatch antisense oligonucleotides as described above, and cells treated with interaction-interference polypeptides and mismatch control polypeptides as described above.
- 30

WO 03/008579

PCT/EP02/07924

- 52 -

- vi) Isolated dendritic cells or cells of similar function or cell lines as described above or unrelated cells or cell lines are contacted with increasing concentrations of the antagonist or agonist that is being tested, and the effect on cellular replication or viability is determined, as e.g. by the incorporation of radioactive or fluorogenic precursors of DNA synthesis, or e.g. the exclusion of colored or fluorescent dyes indicative of viability or membrane integrity, or e.g. by using commercially available kits based upon specific antibodies reacting with cellular components of dying cells.
- vii) Isolated dendritic cells or cells of similar function or cell lines as described above or unrelated cells or cell lines are contacted with increasing concentrations of the antagonist or agonist that is being tested, and the effects on gene expression profiles is determined by DNA microarray hybridization techniques, and compared with those of cells treated with BASP1, GID2, GID3 or GID4 antisense oligonucleotides and mismatch control oligonucleotides, or interaction-interference polypeptides and mismatch control interaction-interference polypeptides, or antagonists or agonists of the activity of a second cellular gene unrelated to BASP1, GID2, GID3 or GID4.
- viii) Isolated dendritic cells or cells of similar function or cell lines as described above or unrelated cells or cell lines are contacted with increasing concentrations of the antagonist or agonist that is being tested, and the effects on the profile of cellular proteins expressed and the state of those proteins is determined by proteomics techniques, and compared with those of cells treated with BASP1, GID2, GID3 or GID4 antisense oligonucleotides and mismatch control oligonucleotides, or interaction-interference polypeptides and mismatch control interaction-interference polypeptides, or antagonists or agonists of the activity of a second cellular gene unrelated to BASP1, GID2, GID3 or GID4.
- ix) Isolated dendritic cells or cells of similar function or cell lines as described above that contain a recombinant reporter gene expression vector as described above are contacted with increasing concentrations of the antagonist or agonist that is being tested, and the effects on the activity of the BASP1, GID2, GID3 or GID4 promoter sequences contained in the reporter vector are measured as described above and compared with those obtained with a second reporter vector containing the promoter of a second cellular gene unrelated to BASP1, GID2, GID3 or GID4, and with untreated cells containing either of the said reporter vectors, and with cells containing either of the said reporter vectors that are treated with antagonists or agonists of the expression of a second cellular gene that is unrelated to BASP1, GID2, GID3 or GID4.

WO 03/008579

PCT/EP02/07924

- 53 -

- x) Purified BASP1, GID2, GID3 or GID4 protein and a second cellular interacting protein as described above are contacted with increasing concentrations of the antagonist or agonist that is being tested, and the effects on protein-protein interaction are determined by any of the methods described above and compared with those seen in the absence of treatment, with those seen in the presence of purified interaction-interference polypeptides and mismatch control interaction-interference polypeptides, or with those seen with treated and untreated mutated interaction-defective BASP1, GID2, GID3 or GID4 protein described above and a second interacting protein, or with any of the said purified proteins treated with antagonists or agonists of the interaction of proteins that are unrelated to the BASP1, GID2, GID3 or GID4 protein.
- xi) Isolated dendritic cells or cells of similar function, or tissues that contain said cells, that are either untreated or treated with increasing concentrations of the antagonist or agonist that is being tested, are grafted into a suitable laboratory animal permissive for graft transplantation (e.g. SCID mice, e.g. irradiated animals) used in pharmaceutical testing that is subsequently challenged by an immune stimulus and the effects of the test substances on subsequent immunological reactions are determined, and compared with those seen with isolated cells or tissues treated with antisense oligonucleotides and mismatch antisense oligonucleotides as described above, or cells or tissues treated with interaction-interference polypeptides and mismatch control polypeptides as described above, or cells or tissues treated with unrelated antagonists or agonists as described above.
- xii) Isolated dendritic cells or cells of similar function, or tissues that contain said cells are grafted into a suitable laboratory animal permissive for graft transplantation (e.g. SCID mice, e.g. irradiated animals) used in pharmaceutical testing, that is subsequently challenged by an immune stimulus and either untreated or treated with increasing concentrations of the antagonist or agonist that is being tested, and the effects of the test substances on subsequent immunological reactions are determined, and compared with those seen in the absence of pharmaceutical treatment.
- xiii) Isolated dendritic cells or cells of similar function, or tissues that contain said cells, that are obtained from a suitable laboratory animal used in pharmaceutical testing, and that express the endogenous orthologue of that species of the BASP1, GID2, GID3 or GID4 gene, that are either untreated or treated with increasing concentrations of the antagonist or agonist that is being tested, are grafted into said animal that is subsequently challenged by an immune stimulus and the effects on subsequent

WO 03/008579

PCT/EP02/07924

- 54 -

- Immunological reactions are determined, and compared with those seen with isolated cells or tissues treated with antisense oligonucleotides and mismatch antisense oligonucleotides isolated for that orthologue as described above, or cells or tissues treated with interaction-interference polypeptides and mismatch control polypeptides isolated for that orthologue as described above, or cells or tissues treated with unrelated antagonists or agonists as described above.
- 5
- xiv) Isolated dendritic cells or cells or suitable cell lines of similar function, that are obtained from a suitable laboratory animal used in pharmaceutical testing, and that have been engineered or treated such that they express a form of the orthologue of that species of the *BASP1*, *GID2*, *GID3* or *GID4* gene that corresponds in functional properties or properties of utility to any of the variants and or recombinants of the *BASP1*, *GID2*, *GID3* or *GID4* gene of humans, that are produced and introduced by any of the pertinent methods described and according to the invention, that are either untreated or treated with increasing concentrations of the antagonist or agonist that is being tested, are grafted into said animal that is subsequently challenged by an immune stimulus and the effects on subsequence immunological reactions are determined, and compared with those seen with isolated cells treated with antisense oligonucleotides and mismatch antisense oligonucleotides isolated for that orthologue as described above, or cells treated with interaction-interference polypeptides and mismatch control polypeptides isolated for that orthologue as described above, or cells or tissues treated with unrelated antagonists or agonists as described above.
- 10
- 15
- 20
- xv) Isolated dendritic cells or cells or cell lines of similar function that are obtained from a suitable laboratory animal used in pharmaceutical testing, and that have been engineered or treated such that they express the human *BASP1*, *GID2*, *GID3* or *GID4* gene or a variant or recombinant form of it that comprises altered functional properties or properties of utility according to the invention, that are produced and introduced by any of the pertinent methods described and according to the invention, that are either untreated or treated with increasing concentrations of the antagonist or agonist that is being tested, are grafted into said animal that is subsequently challenged by an immune stimulus and the effects on subsequence immunological reactions are determined, and compared with those seen with isolated cells or tissues treated with antisense oligonucleotides and mismatch antisense oligonucleotides as described above.
- 25
- 30
- xvi) Isolated dendritic cells or cells or cell lines of similar function that are obtained from a suitable laboratory animal used in pharmaceutical testing, and that have been

engineered or treated such that they express a recombinant reporter gene vector whose expression is dependent upon the BASP1, GID2, GID3 or GID4 promoter sequences as described, or upon the promoter of the orthologous BASP1, GID2, GID3 or GID4 gene of the laboratory animal used in testing that is produced by the methods described and according to the invention, that are either untreated or treated with increasing concentrations of the antagonist or agonist that is being tested, are grafted into said animal that is subsequently challenged by an immune stimulus and the effects on the activity of the promoter contained within the recombinant reporter vector are determined, and compared with those seen with untreated cells or cells treated with antagonists or agonists of the expression of a second gene unrelated to BASP1, GID2, GID3 or GID4.

xvii) Laboratory animals commonly used in pharmaceutical testing, into which have been grafted any of the isolated dendritic cells or cells or cell lines of similar function as described, that have been untreated or treated to express any of the gene forms or complements or variants or recombinants of BASP1, GID2, GID3 or GID4 or orthologues of BASP1, GID2, GID3 or GID4 or recombinant reporter gene vectors containing BASP1, GID2, GID3 or GID4 or appropriate orthologous promoter sequences as described, that are subsequently challenged by an immune stimulus, are treated with increasing concentrations of an antagonist or agonist that is being tested, and any of the effects described above are determined by any of the methods described above, and compared with those effects seen in animals treated or untreated with antisense oligonucleotides, interaction-interference polypeptides or antagonists or agonists of the expression or activity of a second gene that is unrelated to BASP1, GID2, GID3 or GID4.

xviii) Transgenic laboratory animals according to the invention that have been engineered to stably or conditionally contain and express the human BASP1, GID2, GID3 or GID4 gene or complement or variants or recombinants, or reporter gene vectors containing the human or orthologous BASP1, GID2, GID3 or GID4 promoter sequences, according to the invention, where the transgene is produced as a heterozygous or homozygous substitution of the endogenous BASP1, GID2, GID3 or GID4 orthologous gene or a substitution or insertion at a second locus, that are subsequently challenged by an immune stimulus, are treated with increasing concentrations of an antagonist or agonist that is being tested, and any of the effects described above are determined by any of the methods described above, and compared with those effects seen in animals treated or untreated with antisense oligonucleotides, interaction-interference polypeptides or

WO 03/008579

PCT/EP02/07924

- 56 -

- antagonists or agonists of the expression or activity of a second gene that is unrelated to BASP1, GID2, GID3 or GID4.
- xix) Genetically engineered laboratory animals which comprise homozygous deletions of the orthologous BASP1, GID2, GID3 or GID4 gene sequences or sufficient deletion to destroy BASP1, GID2, GID3 or GID4 activity according to the invention, that are challenged by an immune stimulus, are treated with increasing concentrations of the antagonist or agonist that is being tested, or isolated dendritic cells or cells of similar function from the animals are treated then re-introduced into the animals, and the effects on immunological reactions are determined and compared to those obtained in untreated animals or untreated cells re-introduced into the animals.
- xx) Any of the genetic variants described above are produced in laboratory animals that have been inbred or engineered at other loci to effect specific immunological responses, e.g. within a genetic background that is highly susceptible to a specific challenge, e.g. to effect a more reproducible or penetrating immunological response following specific challenge, e.g. to effect immunological reactions in response to challenge that may be more characteristic of those observed in humans, and these variant animals are challenged by an immune stimulus and treated with increasing concentrations of the antagonist or agonist that is being tested, or isolated dendritic cells or cells of similar function from these animals or any of the isolated cells altered as described above are either treated or untreated by an immune stimulus or with increasing concentrations of antagonist or agonist and re-introduced or introduced into the animals, and the effects on immunological reactions are determined and compared to those obtained in untreated animals or untreated isolated cells that are introduced into the animals.

25 Example 15

Overexpression of BASP1 in the myeloid cell line U937

U 937 promyelocytic cells expressing C-terminally FLAG tagged BASP1 or empty vector are established by retroviral gene transduction and subsequent FACS cell sorting. Transfectants are stimulated with 10 µg/ml LPS at 1×10^8 cells/ml. IL-8 secretion is measured by specific ELISA at the indicated time points (see e.g. Figure 7). No change in the levels of TNF- α secretion were observed (data not shown).

These data indicate that the ectopic expression of BASP1 can modulate secretion of IL-8, an inflammatory cytokine. Therefore the interference with the BASP1 pathway could be considered in disease such as inflammation and auto immune disease.

WO 03/008579

PCT/EP02/07924

- 57 -

Example 16**Overexpression of GID2.2 in antigen-presenting cells**

AB4 cells = EBV transformed B cells with a phenotype (e.g. surface markers like CD36, CD 40, CD83) and functionality (e.g. high expression of HLA-II antigen, ability to internalize, process and present the antigen as a complex with HLA-II) corresponding to dendritic cells expressing high levels of N-FLAG-GID2.2 or empty vector are established by retroviral transduction and subsequent FACS cell sorting (see e.g. Figure 8). Vector or GID 2.2 transduced AB4 cells are loaded with DerP1 protein (= dermatophagoides protein of Pteronyssinus; major allergenic protein of the house-dust-mite) and used to stimulate the proliferation of a DerP1 specific T cell clone. Antigen-specific proliferation of the T cell clone is measured (see e.g. Figure 9).

These data indicate that the ectopic expression of GID2.2 in antigen-presenting cells positively regulates T cell proliferation. Therefore interference with GID2.2 could be useful in disease where T cells are chronically stimulated such as in autoimmune disease, allergy and asthma.

WO 03/008579

PCT/EP02/07924

- 68 -

Patent Claims

1. An isolated gene expressed in dendritic cells of the immune system which is selected
from BASP1, GID2, GID3 and GID4.
5
2. An isolated gene according to claim 1 comprising the polynucleotide sequence of SEQ
ID NO:1, or SEQ ID NO:2, or SEQ ID NO:3, or SEQ ID NO:5, or SEQ ID NO:7, or SEQ
ID NO:8, or SEQ ID NO:10, or SEQ ID NO:11.
- 10 3. An isolated gene according to any one of claims 1 or 2 encoding a polypeptide of
sequence SEQ ID NO:4, or SEQ ID NO:6, or SEQ ID NO:9, or SEQ ID NO:12.
4. An isolated polypeptide encoded by a GID 2.1, GID 3 and/or GID 4 gene according to
any one of claims 1 to 3.
15
5. A vector comprising a gene according to any one of claims 1 to 3 and/or a polypeptide
according to claim 4 and/or SEQ ID NO:6.
6. An expression system comprising a gene according to any one of claims 1 to 3, or a
20 corresponding isolated promoter sequence as part of a recombinant vector, wherein
said expression system or part thereof is capable of producing a polynucleotide and/or
a polypeptide according to any one of claims 1 to 4 and/or a polypeptide according to
SEQ ID NO:6 when said expression system or part thereof is present in a compatible
host cell.
25
7. An isolated host cell comprising an expression system according to claim 6.
8. A diagnostic kit for a disease or susceptibility to a disease as described above,
comprising:
30 (a) a gene encoding a sequence of e.g. of SEQ ID NO: 4, or SEQ ID NO: 6, or
SEQ ID NO: 9, or SEQ ID NO: 12,

WO 03/008579

PCT/EP02/07924

- 69 -

- (b) a nucleotide sequence complementary to that of (a);
 - (c) a polypeptide; or
 - d) an antibody to a polypeptide.
- 5 9. An isolated antibody against a polypeptide as claimed in claim 4 or of SEQ ID NO:6.
10. An assay for screening to identify agonists or antagonists which decrease or enhance the production and or the biological activity of a polypeptide as claimed in claim 4, comprising
- 10 (a) a polypeptide as claimed in claim 4 or of SEQ ID NO:6;
- (b) a host cell supporting an expression system comprising a polypeptide as claimed in claim 4 or of SEQ ID NO:6;
- (c) a host cell supporting an expression system comprising the corresponding gene promoter and a recombinant polynucleotide transgene fused to a marker
- 15 polynucleotide that expresses the resulting fusion polypeptide comprising a polynucleotide as claimed in claim 4 or of SEQ ID NO:6; or
- (d) an antibody to a polypeptide as claimed in claim 4 or of SEQ ID NO:6.
11. An antagonist or an agonist of the expression and or the biological activity of a gene according to any one of claims 1 to 3, that is characterized in that said antagonist or agonist can be provided by the following method steps:
- 20 A) contacting
- (a) a polypeptide as claimed in claim 4 or of SEQ ID NO:6;
- (b) a host cell supporting an expression system comprising a polypeptide as claimed in claim 4 or of SEQ ID NO:6;
- 25 (c) a host cell supporting an expression system comprising the corresponding gene promoter and a recombinant polynucleotide transgene fused to a marker polynucleotide that expresses the resulting fusion polypeptide comprising a polypeptide as claimed in claim 4 or of SEQ ID NO:6; or
- 30 (d) an antibody to a polypeptide as claimed in claim 4 or of SEQ ID NO:6 with a candidate compound,
- B) determining the effect of the candidate compound on any of a), b), c) or d);
- C) choosing an agonist or antagonist determined in step B).

WO 03/008579

PCT/EP02/07924

- 70 -

12. An antagonist or an agonist according to claim 11 for use as a pharmaceutical.
13. A pharmaceutical composition comprising a pharmaceutically effective amount of an agonist or an antagonist according to claim 11 in combination with pharmaceutically acceptable carrier(s)/excipient(s).
5
16. A method of treating abnormal conditions related to both an excess of and insufficient level of expression of a gene according to any one of claims 1 to 3; or related to both an excess of and insufficient activity of a polypeptide as claimed in claim 4 or of SEQ ID NO:6, comprising administering a therapeutically effective amount of an agonist or antagonist according to claim 11 to a subject in need of said treating.
10
17. A method according to claim 16 wherein abnormal conditions which may be treated include acute and chronic inflammatory diseases, including for example inflammatory skin diseases such as allergic and atopic dermatitis, and chronic inflammatory diseases whose symptoms appear in other tissues such as intestine and colon, lung and vascular tissue; e.g. such as abnormal immune reactivity in autoimmune diseases, or undesired immunological reactions associated with therapeutic treatment of diseases as in transplant rejection crises; e.g. immune hypo-reactivity or suppression in diseases such as cancer, and that associated with persistent viral or microbial infection.
15
20
18. A gene according to claim 1 expressed in DCs of the immune system and encoding a protein of the corresponding polypeptide sequence, whose expression in DCs is regulated by inflammatory stimuli, as a specific molecular target in DCs for therapeutic intervention in diseases in which immunological reactions are a primary component of etiology, progression and/or exacerbating symptoms associated with the disease.
25
19. A bispecific reagent which is other than an antibody, having the ability to bind to a polypeptide as claimed in claim 4 or of SEQ ID NO:6 and to a viral, bacterial or eukaryotic parasite or to a cancer cell.
30
20. A method for inducing an immunological response in a mammal that comprises inoculating said mammal with a polypeptide as claimed in claim 4 or of SEQ ID NO:6 in

WO 03/008579

PCT/EP02/07924

- 71 -

an amount sufficient to produce antibody and/or T cell immune response(s) to protect said mammal from diseases.

21. An immunological/vaccine formulation (composition) that, when introduced into a
5 mammal, induces an immunological response in that mammal to a polypeptide as
claimed in claim 4 or of SEQ ID NO 6, wherein said formulation comprises a
polypeptide as claimed in claim 4 or of SEQ ID NO:6, or an expression vector
comprising a polypeptide as claimed in claim 4 or of SEQ ID NO:6, or host cells
10 comprising cells from said mammal that is treated that contain an expression vector
comprising a polypeptide as claimed in claim 4 or of SEQ ID NO:6.

15

20

25

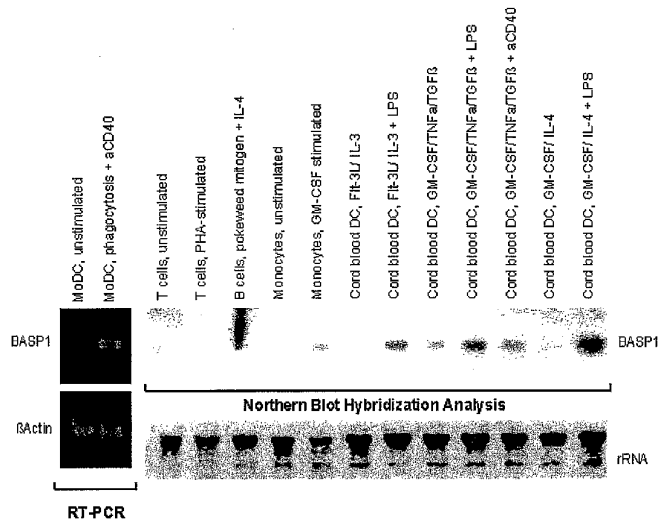
30

1L

WO 03/008579

PCT/EP02/07924

Figure 1/9

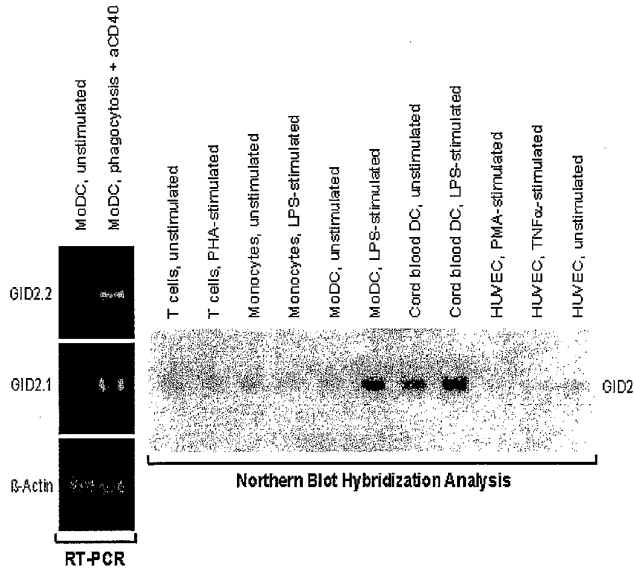


5

WO 03/008579

PCT/EP02/07924

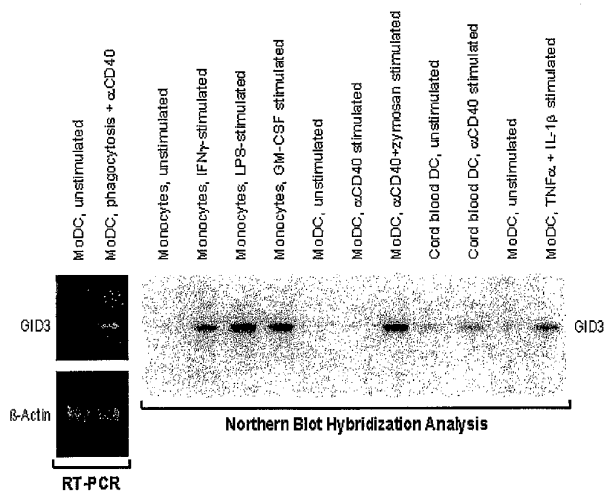
Figure 2/9



WO 03/008579

PCT/EP02/07924

Figure 3/9



WO 03/008579

PCT/EP02/07924

Figure 4/9

```

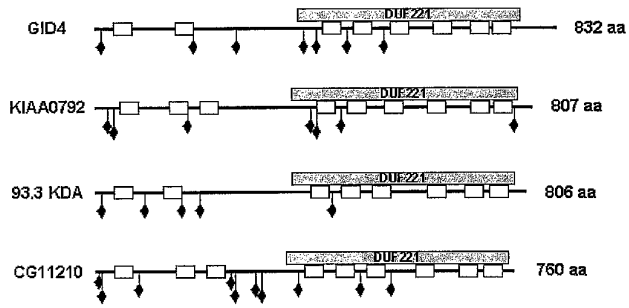
*->iqelxeslysgtksvpaaFvTksrygAqvaaqF..lkcgqlzhp
++ +e + + + ++aFvTf ++ +++++F+ +kcg ++
346 KR-EKEKUNEKPL---GMAPVTFMETITAIILEDFvwCKCQGCTCR 390
vqglptelApEPeDihWdMlrlsyFvdrifzrlsanvlfillifwiPV
++++p++ + +++ +W++ +++++P + + 1st +++++1 + it U
391 GEPFSSCSSESLHISNWTUSYAPDPQMIYWEHL SIRGPIWGLRCLUIMVU 440
afUgllslNIptLsklvPELkfilkdpkhflnsiIeGILPvvaLsiflsi
+f+ 1++1+tp ++ ++++++k+ ++n+iIe++P++L+ f+++
441 LFILLFELTTPAIIITMDKFNUTKPOEYLNMP IITQFPFLLLLWCTFSA 490
lPpimrylSkIqGlvSkSaeErsagrkyiFlvvnvFlvvtlsgsarsqv
1P it+y++ ++ ++++++e+z ++ k y Fl+++v+L+++1+ s++++
491 LPTIVFYSAPFEAHWTRSGENRTTHKCYTFLIFWULLLPGLSGLSGLDLF 540
esllkaKT.stesiprLLSvslPhqfdvtvglsvsvfvqfanFPisVails
++1++K +e+ +z+++v1P+ ++FF++Y+it+
541 FFWLFDKKELEAAIRFECVFLPDM-----GAPFVYVVIAS 576
GwagfggelLqIvplilflvkhiflktvprkKwDReeqlapfgygfgivl
+++g+++ LL+++L+++ ++ ++++++ +++++ ++ + eg+ +
577 PFIGNMDLLRIPGLMVMIRLCLARSAAER--RNKRRHQAYEFGFG&AY 624
PrilliflIgcYsIisP1ILpFglvyFilaYlvYkYqLiyOynhkhNYe
+++++f++ +YSi++P+I pFgl y +l++lv++Y+L+y+y ++ +
625 AMNMCUFTVAMTYSIITCP IUPFELMYHLLKGLVDRYMLYAYLPA--KL 672
skGkywvrvlfrriivGLvlsqclLGsELLEgkkgwvstllipllvIT
k ++ +v++ ++++++++L++s ++ g+ ++ +c+ +++++
673 DEKIHSGAUNQUVAAP ILCLFWLLFFSTMRIGFLAPTSMTTFOULVITIV 722
vlfhikyckkxkFpIkyiplseimakdkeseleessrepsfnlynlkeiks
+++ + c++ k 1+ +++ e + d+++ ++ rtp+ ++k++k
723 ICLCNVCFGHFKYLSAHNFKIERTETDTUDPRSNRPTAAA-UPESAKY 771
nasereeseekagakidlksty11PeR.....seaseeleslgc-*
a + +se +g d +++ P+++++++s +s+++e+1++
772 IAQVLQDSEVDG---DGDGA---PGSSgdppSSSSQDELLMP 809

```

WO 03/008579

PCT/EP02/07924

Figure 5/9



WO 03/008579

PCT/EP02/07924

Figure 6/9

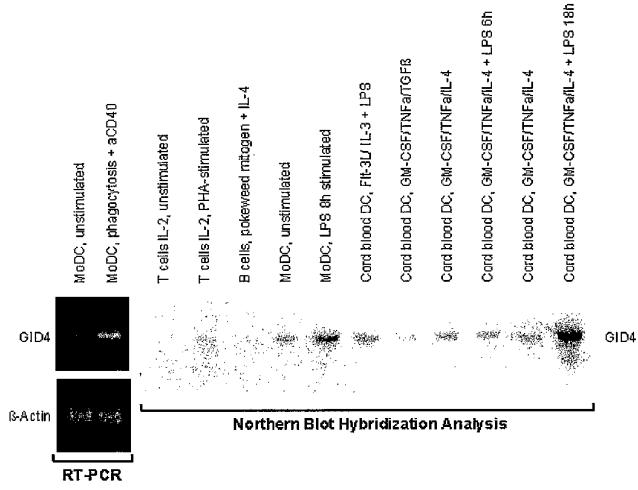
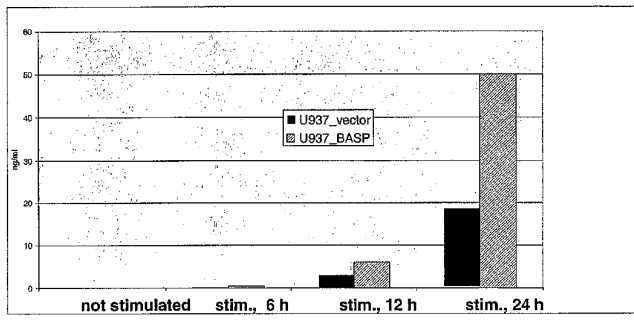


Figure 7/9

5



10

WO 03/008579

PCT/EP02/07924

Figure 8/9

5

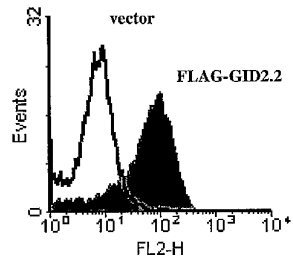
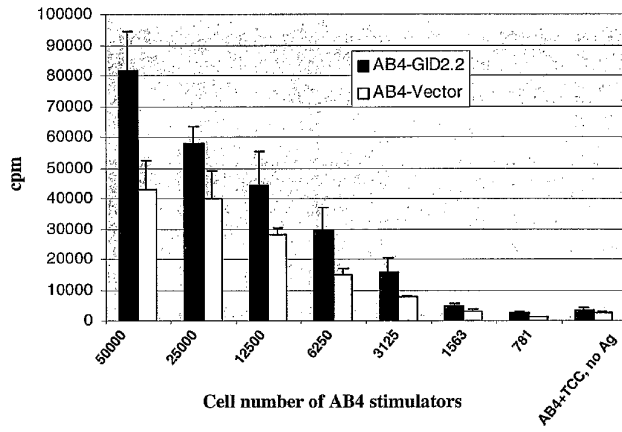


Figure 9/9

5



SEQUENCE LISTING

BASP1 polynucleotide: SEQ ID NO:1

GAGCCGAAC TCCAAGATGGGAGGCAAGCTCAGCAAGAAGAAAGGGCTACAATGTGAACGACGAGA
 AAGCCAAGGAGAAGACAAAGAGCCGAGGGCCGCGGCACGGAAGAGGGGACCCCGAAGGAGAG
 5 TGAGCCCCAGGCGGCCGACAGACCCGCGAGGCCAAGGAGGGCAAGGAGAACCCGACAGGACGCC
 GAGGGCAAGGCCGAGGAGAAGGAGGGCCGAGAGGACGCGGGCTGCCAAGGAGGAGGGCCCGAAGG
 CGGAGCCCGAGAAGACGGAGGGCGCGGCAGAGGCCAAGGCTGAGCCCGAAGGCGCCGAGCAGGA
 GCAGGGCGCCCGCCCGCTGCGGGCGGAGGCCCCCAAGCTGCTGAGGCCGCGCGGCCCGCCG
 GCCGAGAGCGCGGCCCTGCCGCGGGGAGGAGCCAGCAAGGAGGAAGGGGAACCCAAAAGACTG
 10 AAGCCCTCGAGTCCCTCCGCCCAGGAGACCAAAAGTACGGGGCCCAAGCTTCAGACTCAAAACC
 CGGCAGCTCGGAGGCTGCCCTCTTCCAAGGAGACCCCGCAGCCAGCGAAGCCCTAGTTCACACA
 CCCAAGGCCAGGGCCCGCAGCTCTGCAGAAGAGCCCAAGCCGTTGGAGGCCCGCGCAGCTAAT
 CCGACCAACCGTAACCTGAAAGAGTGACAAGGAC

15 GID2.1 polynucleotide sequence: SEQ ID NO:2

GCTGAGGAAGGAATGGCAGACATGGAGTGGGTGAGTGGCAGGACAGATCAAGGTTGAGTTGGAAC
 CAAGGCCCTGGTTAGGTCAGGAATCAGATGACTCTCTTCTGCTTCAGGTGCTCTGCTTCTAGTCCG
 CCAGAAATGGGATGCATCTGGATGCCAAGGCAATCCTGGGCCATGCCACCTCCTTGAGATCCAGGT
 20 GTCTTATATCACAGCATCCCTTCCCTATCTCAGAACAGGGTCCAAGCTGTGGACAAGCTTTCACAG
 GTCTCTCTTCTCTTTGTAGGCAGAGATCAAGAAATGGTGTCTGTGGCGGCAGAGGCCATGGAATGAGG
 AACAGGCATCTCCAACCTCTGCTTCTCCCTACAGGAATGGGATGCTGGGCCCGGGAGGTGCTG
 GTCCCCGAGGGGCCCTGTACCCGCTGGCTGGCACAGCTGTCTCCATCTCTGCAATGTGACGGCT
 ATGAGGGCCCTGCCAGCAGAACTTCGAGTGGTCTCTGTATAGGCCCGAGGCCAGATGACTGCACT
 GGGCATTGTCACTACCAAGGATACCCAGTCTCTCTATGCTGTCTTCAAGTCCCGAGTGGTGGCGGT
 25 GAGGTGCAGGTGCAGCGCCTACAAAGTGTGATGCCGTGGTCTCAAGATTGCCCGCCTGCAGGCCAGG
 ATGCCGGCATTATGAGTGCACACCCCTCCACTGATACCCGCTACCTGGGCAGCTACAGCGGCAA
 GGTGGAGCTGAGAGGTACTGGGCCCTGGGACGGGGTGGAGCCACACCCCTCTCAAGGCAGAAAGTC
 AAGGCCACAAGTGGCTATCTAGTTGCCCTTAGGTTTGTAGCCAAGGAACCTGAGGCCAAAGAG
 GTTAAGTGAATTTGCACAAAGTCAACCAATAACTCAGTGGCTGATGTGGGACTCAAACCCAGAGTTCC
 30 TCACCCAGGCCAGTGTCTATCTTATCATATTAAGACCCCTCCCTGGGAGAGAAGTGTCTTAAGTTG
 TCCAGTCCACTTTCCATPCCCAAGAACGAAGAAGACTGTTGGGTTGAATAGCTCTACTCTCTGGACA
 GTACAGGACCCAGATCTGGGAAAGAGAGTAGAGTTAGGGAAGGAGTTAGACCATGTGACATCTCTCAC
 TCTCTTAAGTTCTTTGTCTTCTGAGAAGAAAGAGCCGCTTTCTCAGTATTTCAAACAGAGGTCAG
 TCTCAAACATAAGGGTGAAGTAGGCGATGGGCTGGTTCATGAAATCTACAAGTATTTATTTGAGCGC
 35 CTGTGCTGTGCCAGTACTGCCCTTGGCACCACCTGAGTTACAGAAGAAATAATACAACATGCGAATCT
 TTGCCCTCTGGGAGCTCACAGTTTATTTAGGGAGATAGGCTATACACAGGAAACAGTAACAAGGGCT
 GCCAGTCCAGCCCTCCCTCACCTCCAGCTGTCTCTCCAGTCTTCCAGATGCTCTCCAGTGTCT
 GCTGCCCCCGAGGGCCCGAGGCCCAACCTCACCCCGCATGACGGTGCATGAGG
 GGCAGGAGCTGGCACTGGGCTGGCTGGCAGGACAAAGCACACAGAACACACACCTGGCAGTGTCT

WO 03/008579

2/10

PCT/EP02/07924

CTTTGGGCGATCTGTGCCCGAGGCACCAGTTGGGCGGTCAACTCTGCAGGAAGTGGTGGGAATCCGG
 TCAGACTTGGCCGTGGAGGCTGGAGCTCCCTATGCTGAGCGATTTGGCTGCAGGGGAGCTTCGTCTGG
 GCAAGGAAGGACCAGTACCGCATCGTAGTGGGGTGGCCAGGCAGGGGACGCAGGCACCTA
 CCACCTGCAGTGGCGCTGAGTGGATTCAAGGATCCTGATGGCAGCTGGCCCCAGATTGCAGAGAAAAGG
 5 GCCGCTCTGGCCACGTGGATGTGCAGACGCTGTCCAGCCAGCTGGCAGTGCAGATGGGGCTGGTG
 AACGTCGGATCGGCCAGGGGAGCCCTTGGAACTGCTGTGCAATGTGTACAGGGCACTTCCCCAGC
 AGCCGCTCATCTGCATACTCTGTAGGTTGGGAGATGGCACCTGCGGGGGCACCTGGGCCCGCCGC
 CTGGTAGCCAGCTGGACACAGAGGGTGTGGGACGCTGGGCCCTGGCTATGAGGGCCGACACATTG
 CCATGGAGAAAGTTGGCATCCAGAACATACCGGCTACGGCTAGAGGCTGCCAGGCTGGTGTGCGGG
 10 CACCTACCGCTGCCCTGCCAAAGCCATATGTTGAGGGTCTGGGACCCGGCTTCGTGAAAGCAGCCAGT
 GCCCGTCCCGGCTCTCCCTGTACATGTGCGGGAGGAAAGGTGAGAGGGGGTGGGCCCTGGACGGG
 GTTCGAGGATTTCAACCCCTTTCTCTGTTCATGACCCCTCCCTCTCCGTACAGCTGGTTGCA
 GGCCACAGCTTCAGCTCTCTTCTACCAAGATGTGGAAATACCTGAGTTTCCTGGGGCGTGGCT
 TGGCGGACGCCCTAACCCCATGCTCCCTGGCCCTGCACCCCTTGACCCCATGCTCTTGTCTGAG
 15 GTGTGTGCTGGAGCTGTGGCATGGCTAGCAGGAGGCACAGTGTACCGGGGAGACTGCCCTCCCT
 GCTGTGCAACATCTCTGTGCGGGTGGCCCCCAGGACTGCGGCTGGCCCGCAGCTGGTGGGTGGAG
 CGACCAGAGGACGAGAGCTCAGCTCTGTCCCTGCCAGCTGGTGGGTGGCGTAGGCCAGGATGGTG
 TGGCAGAGCTGGAGTCCCGGCTGGAGGAGGCCCTGTGAGCGTAGAGTGGTGGGGCCCCAAGCCA
 TCGGCTGAGACTACACAGCTTGGGGCCGAGCATGAAGCGGTGTACCACTGTGCCCCAGCCCTGG
 20 GTGCAGCATGCCACTACAGCTGGTACCAGCGGGCAGTCCCGCTCAGGGCTGTACAGTCTACC
 CCTACATGCAATGCCCTGGACACCCTATTTGTGCTCTGTGGTGGGTACAGGGGTGGCCCTAGTAC
 TGGTGCCTCTCTCTGGTACCATCTTCTGCTGCTCATGAAGAGGTTTCGAAAACGGTGTATCCCTT
 ACTCCCGAGTCTGTGAGGTGTGACTGTCTTCCGGCCAGCTFCCAAGCCCTCTCTGGTGTGCTGG
 ACACCCCTCTCCCTCTGTCCACTCTTCTTTAATTTATTTGACCTCCCACTACCCAGAATGGGAGCG
 25 TGGCTCCCTTCCCACTCCCTCCCAAGCCCTCCCTCTGGCTTCTGTCTGTGATCTCTTAG
 GGTATCTATAGGGAGGCCATTTCTCTCTGGAATTAGTTTCTAAAATGTGAATAAATTTGTTTT
 ATAAAAAAAAAAAAAAAAA

GID2.1 polynucleotide coding sequence: SEQ ID NO:3

30 ATGACGGTGCATGAGGGGACAGGAGCTGGCACTGGGCTGCCGCGGACAAAGCACACAGAAGCACA
 CACACCTGGCAGTGTCTTTGGGCGATCTGTGCCGAGGCACCAGTTGGGCGGTCAACTCTGCAGGA
 AGTGGTGGGAATCCGGTCAAGACTTGGCCGTGGAGGTGGAGCTCCCTATGCTGAGCGATTGGCTGCA
 GGGGAGCTTCTCTGGGCAAGGAAGGACCGATCGGTACCGCATGGTAGTAGGGGTGCCAGGCAG
 GGGACGCAGGCACCTACCACTGCCTGCGCTGAGTGGATTTCAGGATCCTGATGGCAGCTGGGCCA
 35 GATTCAGAGAAAAGGGCCGTCTTGGCCACGTGGATGTGCAGACGCTGTCCAGCCAGCTGGCAGTG
 ACAGTGGGGCTGGTGAACGTGGATCCGGCCAGGGGAGCCCTTGGAACTGCTGTGCAATGTGTCTCAG
 GGGCACTTCCCCAGCAGGCCGTATGCTGCATACCTCTGTAGGTGGGAGATGGCACCTGCGGGGGC
 ACCTGGGCCCGCCCTGGTAGCCAGCTGGACACAGAGGGTGTGGGACGCTGGGCCCTGGCTAT
 GAGGGCCGACACATTTGCCATGGAGAAGGTGGCATCCAGAACATACCGGCTACGGCTAGAGGCTGCCA

WO 03/008579

3/10

PCT/EP02/07924

GGCCCTGGTGTATGCGGGCACCTACCGCTGCCTCGCCAAAGCCTATGTTGAGGGTCTGGGACCCGGCT
 TCGTGAAGCAGCAGTGCCTCCGCTTCCTGTACATGTCGGGGAGGAGGTGAGAGGGGG
 CTGGGCCCTGGACGGGTTCGAGGATTGTCACCCCTTTCTCTGTTTCCATGACCCCTCCCTCT
 CCGTACAGTGTTCGAGGCCACAGCCTCACGCTCCTTCTACCAAGATTGTGGGAAATACCTGA

5

GID2.1 polypeptide sequence: SEQ ID NO:4

MTVHEGQELALGCLARTSTQKHTHLAVSFGRSVPEAPVGRSTLQEVVGI RSDLAVEAGAPYAERLAA
 GELRLKKEGTDRIYRMVVGAAQAGDAGTYHCTAAEWIQDPDGSWAQIAEKRAVLAHVDVQTLSSQLAV
 TVGPGERRIGPEFLLELCNVSGALFPAGRHAAYSVGNEMAPAGAPGRLVAQLDTHVGSGLPGY
 EGRHIAMEKVASRTYRLRLEAARPGDAGTYRCLAKAYVRGSGTRLREAAARSRLPFVHVREBERG
 LCPGRGSRIVNPFSPCFHDP SLSVSLQATASRSSSTKIVGIP

10

GID2.2 polynucleotide coding sequences: SEQ ID NO:5

ATGGGCGCCCTCAGGCCACGCTGCCTGCGCCCTTCGCTGCGCGCTGCTGCTGCTAAATGCTAGGAA
 15 TGGGATGCTGGGCCCGGAGGTGCTGGTCCCGAGGGGCCCTTGTACCCGCTGGCTGGCACAGCTGT
 CTCCATCTCCPGCAATGTCACCGGCTATGAGGGCCCTGCCAGCAGAACTTCGAGTGGTTCCTGTAT
 AGGCCCGAGGCCAGATACTGCACTGGCATTTGTCAGTACCAAGGATACCCAGTTCCTATGCTG
 TCTTCAAGTCCCGAGTGGTGGCGGTGAGGTGCAGGTGCAGCGCCTACAAGGTGATGCCGTGGTGT
 CAAGATTGCCCGCTCAGGCCAGGATGCCCGCATTTATGAGTGCACACCCCTCCACTGATACC
 20 CGCTACCTGGGCAGCTACAGCGGCAAGGTGGAGCTGAGAGTTCTTCCAGATGTCCCTCCAGGTGTCTG
 CTGCCCGCCAGGGCCCGAGGCCCGCAGGCCCAACCTCACCCCAAGCATGACGGTGCATGAGGG
 GCAGGAGCTGGCACTGGGTGCTTGGCGAGGACAAGCACACAGAAGCACACACCTGGCAGTGTCC
 TTTGGCGCATCTGTGCCAGGCCACAGTGGCGGTCAACTCTCCAGGAAGTGGTGGGAATCCGGT
 CAGACTTGGCCGTGGAGGTGGAGTCCCTATGCTGAGCGATTGGTGCAGGGGAGCTTCGTCTGGG
 25 CAAGGAAGGGACCGATCGGTACCGCATGGTAGTAGGGGTGCCAGGCAGGGGACGCAGGCACCTAC
 CACTGCACCTGCCGTGAGTGGATTCCAGGATCCTGATGGCAGCTGGGCCAGATTGACAGAAAAGGG
 CCGTCCCTGGCCACGTGGATGTGCAGACGCTGCCAGCCAGCTGGCAGTGCAGTGGGGCCTGGTGA
 ACGTCCGATCGGGCCAGGGGAGCCCTTGGAACTGCTGTGCAATGTGTGAGGGGCACTTCCCCAGCA
 GGCCTGCTGCTGCTACTCTGTAGGTGGGAGATGGCACCTGCGGGGGACCTGGGCCCGCCGCC
 30 TGGTAGCCAGCTGGACACAGAGGGTGTGGGACGCTGGCCCTGGCTATGAGGGCCGACACATTGC
 CATGGAGAAGTGGCATCCAGAACATACCGGCTACCGCTAGAGGCTGCCAGGCCCTGGTGTGCGGGC
 ACCTACCCTGCTCGCCAAAGCCTATGTTGAGGGTCTGGGACCCCGCTTCGTGAAGCAGCCAGTG
 CCCGTTCGCCGCTTCCCTGTACAGTGGCGGAGGAGGTGTGGTGTGGAAGCTGTGGCATGGCT
 AGCAGAGGCACAGTGTACCCGGGGAGACTGCCCTCCCTGCTGTGCAACATCTCTGTGGGGTGGC
 35 CCCCCAGGACTGGGCTGGCCGCGCAGCTGGTGGGTGGAGCGACCAAGGAGCGGAGAGCTCAGCTCTG
 TCCCTGCCAGCTGGTGGGTGGCGTAGGCCAGGATGGTGTGGCAGAGCTGGGAGTCCGGCCTGGAGG
 AGGCCCTGTACGCTAGAGCTGGTGGGGCCCGAAGCCATCGGCTGAGACTACACAGCTTGGGGCCC
 GAGGATGAAGGCGTGTACCACTGTGCCCCAGCCCTGGGTGCAGCATGCCGACTACAGCTGGTACC
 AGGCGGGCAGTGGCCGCTCAGGGCCTGTACAGTCTACCCCTACATGCATGCCCTGGACACCCCTATT

WO 03/008579

4/10

PCT/EP02/07924

TGTCCTCTGCTGGTGGGTACAGGGTGGCCCTAGTCACTGGTGCCTGTCTTGGTACCATCACT
TGCTGCTTCAATGAAGAGGCTTCGAAAACGGTGA

GID2.2 polypeptide sequence: SEQ ID NO:6

5 MGALRPTLLPPLPPLLLLLMLGMGCWAREVFLVPRGPLYRVAGTAVSISCNVTGYEGPAQQNFEWFLY
RFEAPDPTALGLIVSFKDTQFYSYAVFKSRVVAGEVQVQLQGDVAVLKIARLQAQDAGIYECHTPSTDT
RYLGSYSYSGKVELRVLVDVLIQVSAAPFGPRGRQAPTSPPRMTVHEGQELALGCLARTSTQKHTHLAVS
FGRSVPEAPVGRSTLQEVVGIKSDLAIEAGAPYAEERLAAGELRLGKEGTDYRMRVVGGAQAGDAGTY
HCTAAEWIQDPDGSWAQIAEKRAVLAHVQVTLSSQLAVTVGPGERRIGPGEPLLELNCVSGALPPA
GRHAAYSVGMEMAPAGAPGRLVAQLDTEGVGSLGPGYEGRHIAMEKVASRTRYRLREAAARPGDAG
10 TYRCLAKAYVRSRGLREAAASARSRLPVHVRVLEAVVWLAGGTVYRGETASLLCNI SVRGG
PPGLRLAASWVBERPEDGELSSVPAQLVGGVQDGVAEGLVPRGGPVSVELVGRSHRLRLHSLGP
EDBGVYHCAPSAWVQHADYSWYQAGSARSQPVTVVYPMHALDTLFLVPLVGTGVALVTGATVLTGTTT
CCPMKRLRKR

15

GID3 polynucleotide sequence: SEQ ID NO:7

CGGCCCGCGCCACTGAGTGGCGCGCGCGGGAGGGGCTCGGCGCCAGTCGCTTCGCCGACTACTTTGTCAT
CTGCGGACTGGACACGGAGACCGGGCTGGAGCCGGACGAGCTGTCGGCATTATGCCAGTACATACAGGCTCTTAA
AGCCAGGGATGGTCCGCCCTTTCATTTCAAGTACGACTGAAGGAGAAAATTTGAGCAGACACCATTTGAGAAG
20 AACATTCAAATCTAAGTCTTGCACGATATCTGAGAAGTAGAATGGAATCCCTTTGACCAAGATGCAGTAGG
AATGCTATGTATGCCGAAAGGGCTGGCAITCAAGACCCAGGCTGATCCAGGGAGCCCAATTCATGCTTTAT
TATCACAGGGAGGATGGCTCTCGGACATTTGGGTTTGCCTCACATTTATGAAGAGGTGACTGCAAGCAGAT
CTGCAGTGCATGACAGCCCTTACCACATGCACATGCTGAGTATGATGTCTACATGCTCCCCCTGCTGATGA
CAGAGACCAGACAGCATGGAGGATGGTGAAGACATCTCTGACCAAACTGCAGCGCTTCAACTCCTATGACAT
25 TAGCCGGACACTCTCTACGCTCTTAAGTGCATCTGCCTCATCACCCATGCTTTTCATGAAGGATGTCGGAG
CGTGTGAGCAACTCCACCAGGCACTTCACTCAGCCCCCTCCACTGCCCCCTGAGAGCTACATATACAA
CGTACTCTACAGAGTCCCGCTCCCACTCCCTGGCCGGTCTTGAAGTTTCTGGGGTCTATGGGCCAATAATCTG
CCAGAGCCAAATGACATGAGCTTCCCTATTTGACTTTCCTCTCAAAGAGGTTTTCGAATGCTCGGGTGGTA
GAATGTGTTTCACTTTTACTTGTGCCCCCTCTGGAGTTTCAAATCTCTCTACTCACAGCATTTACAGAGACT
30 GATGACTGTGGCGSAGAGATACAGCTCTCATGTTTCCFTTCCAGTGGCAGCATGCTATGTCCTTATTCCTC
AGCTTCTCTCCGCAATTTCTTAGATGCTCTGTTCCATACCTGATGGGTTTGCATTCCAAATGGCCCTGGATGACCG
GTCAAAGCTGGAGTGCCTCAAGAGGCTAACCTCTGCTTTGTGACATGACACCACTTCAATGAGTTTSCCAGA
GGACTTGCACAGTTCCTCCAAACAATTTGAGTTTGTCCAGGAAGTCTCTGAGATTCATGGCAATTTGGAATTC
CCCTGAAAGGAAATCTTCATGCAATGAGAGTGCCTCCAAAGCTGAAAGGGCTGCGGGCTCTGAGCTTGTCTCGGA
35 CAAGGGATGGGAAACATTTGCTGGCTCCCTTTGCAATTCCTACGAGCTTCTTAAGGAGAAATGAAACTATTTGCCG
GCTGCAAGCTTGTTCAAAGAACTGGGGTGGAGCTGGAAAAGTTGGAAGTGGCTGAAGACCCAGCAGCAATAA
GGATCTCAAAGTTCAGTGTGATGAGAAAGAACTCAGGATTTACAGCTAAACATTCAGATCCGGGAAGTTTTCG
AAATCGTTTCACTCAGATGTTTGCAGATTAAGAGGTGTTTTCATCCAAACCAGCCAGGATAAGGAATCCTGGTT
TACCACAGGGAGCAATGCAAAAATTTGATAAAGCATCTTTCTGTGATCAGCTGAGCCCTGAGCCCTACCTGCCCTT
40 CCTCTCAAGATTCCTGGAGACCCAGATGTTTGCATCTTTCATTTGACAAACAATAATGTCATGATGATGATGA
TAAAGACCTGACTCCGGTATTTGATTCCTCCGAGTTGACAGATCAGGCTGTTGAATGTTCCGACACTACTCT

WO 03/008579

5/10

PCT/EP02/07924

CCGTACATCCATGTACCAGAAGTGTACCACCTGTGGMTGAAGCAGAGAAAGCAATGAGCTGCGTCTGGCAAAAAT
 TGACCATACATCGCAATTCACCCACATTTACTTGCATGAAGATTGGACAAGGGAAATMTAGCCGGGCTCTTTCCC
 TAAGCTGCAGCTGTAGTACTTTCCACTGGGCCAGCCAGCAACAAAGTGGACGAAAGGAATGCCCCGTCGCCAGTG
 GAGGCGGAAAGATCGGCAGAAGCAGCACACAGAACACCTGCGTTTGTAGATAATGACCAGAGGGAAGTACTTCCA
 5 GGAAGCCAGGACTATGGCAGCCTATCCGCCAGCCCAACTGTCCACCTCTCTCCATCAGTGTATGGCCAGAC
 CAATTTGCAAGTGTGTAGAGGGCTGCTGAAGGAATGCCCAATTAAGACCAAGAGGATGCTGTTGGAAAAGATGGG
 CCGAGAAGCTGTGAGCTAGGGCATGGGGAGGTGAACATCACAGGGGTGGAAGAAACACCTTGATTTGCCAGCCT
 TTTGTGATCTCTGGAAAGGATCTGGAGTCTAGGACTACAAAGTGAACAGGGGAAATCAGCCTTATGGTCCCACCT
 GTTACATATACAGGACAACCGCAGAGAAAACTCACATCAGGAAGCTCAGTACTCAGGAATACTTCTTGTATTC
 10 AGAACGTAGGAAGTCTGTATGCCAGCTCACTCATGCTCCCTGAGGATCTCCCTGATTCAGGATATGAGGCACAT
 CCAGAACATCGGGGAAATCAAGACTGATGTGGAAAGGCCAGAGCATGGGTGGGACTGTCCATGGGAAAAAAGTT
 ACTTTCCAGACACCTGAAGCAGCTCCCTCAGACCATGAGCTCACAAAAGTTATATAAGCCGTATGCCCTTCT
 CGCGTGTATGACGAGAGGAGCAGTTCCTCTATCACCTCTCTGCTTTCAATGCCCCTCGATTTACTTTTGTTCAC
 CAATGTCTTCAACAATTCCTGATCCCGTACCACATTTCTGATGTAACCAAGCAAGAAGCTGGGGGCTCCATGTT
 15 CACTGCCAACCCATGGATCTGTATATCAGGAGAAATGGGTGAGACACAGATCATGCAGATTCGCCAGGAATGTGCT
 AGAGTGCACCTTCCAGTCCAGAACTTGGGGAAGCTTACTACTGTCCAGATTTGGCCATGATAACTTGGGCTGTA
 TGCCAAATGGCTGGTGGAGTATGTGATGTTGAGGAAATGAGATCACAGGACATACCTACAAGTTCCCGTGTGGCCG
 GTGGTTAGGAAAGGCAATGGATGATGGAAGCTGGAGCCGATCCAGTTGGGGAGCTGCTCACATCCAGCCCTGA
 GGTGATGAGAGGCCATGCCGACCCCGCCCTGACAGTCCCCAGTGTCACTCGGAGGCTTGTATCCATCTC
 20 ACCCAACAACAAGCCAAAGCTGAACACTGGCAGATCCAGGATCCATCGGGGAGGCACTCAATGGCATTGTGAA
 GCACCTTCCATAAGCCTGAGAAAGAGCCAGGAGCTGACGCTGTGCTCTGTGGAGAGTGGGCCCTGTCTCGGC
 CTTGGAAACAGGCTTTCCAGCATGGATTTAAATGCCCGGCTCTTCAAAAATGCTTTCATTTGGGATTTCCCTGGA
 AAAAGCACAACTTATATGAGACATTAAGAGAAGTGAAGTACTCCCTGAGGAAAATGGCATTAACAAGAGCCG
 GAACCTTCTGCCGATTGTCACTGCAATCAACAATACTCCCGGAAACATGGCAAGGATGGCAAGTTTTCAGATGCT
 25 GGTGTGCTTGGGAGCCAGAGATCACCTCCTACACCACTGGATTCGCCCTGCTGGCTGACTGCCCCATCACTGCaCa
 CATGTATGAGGATGTGGCAGTGTCAAGACCATACACTGTTCATCTCTTGTATGCTGTGCTGCAGACATTTGCA
 GGATTTCAACATCACGCTGGAGAGCTCCCTTGTCAAGGCAATCGACATTTGACCTTCCAGCACCAGCCAGCAGCA
 GGACTGAGAAAGACTCACCCGACGCTGACCTTTTCCCAAGGGACTTAAGCGAATGTGCAGGATGAGGAG
 ACBAATGTACACTCCTGTAAAAGAAAACATGAGGATTTTGGAAATAATATCTATTTTAGAGTTTATTTGCT
 30 TGATTTGCTTTTACACACTTTTATGTAAGAGTGTATAGGGAGAGGGAGCGAGGCTGTTGCCGCTTATTTTGA
 GCTGGTCCCTCCCTGCGGTTGGCCACATGCTGGAAGCTTGAAGCTCCCTGGACTGAGCCTTGGCACTGGCACTGCCCTG
 CGGACAGTATGTTTCCCTTGGCCCGTGCATTAATGAGGCCCTTCCACATCATTTTAAACTAATGTTTTCFTA
 TATTAACATATATGATATTTGGCTTTCATAGGCCACACACAGGTGTGCTGCCGGGAAAGCCCATGCTCCAA
 TCAAAGGGATTTTAGTAGTGCCTTAAGCAAGCACCGATGAGTCCAGTCCACCTATTTCTTTTGTTCAGATAT
 35 TGTTTGGGAGGAGACATGCCGGATGTGTATGTCGAATACCAATTTCTGTTGGCAGATTTACAGAA
 GTAAACAATAGCATGTTTAAACAGTTTTCTTTCTTTTCTTTTAAAATGTTTATTTATTTAAACCCGCC
 ATTTGCTGTTTAAAGTATTTCTTTTAAAGGAAAGGAAAGCTTGTCAAAATCAACTGGCTATGTTATAT
 TATTAATTTATGTTTGGCACTTAGAAACAGCTACAGTATGGCCACTTAAATAAACACCTGAACAAAAA
 AAAAAAAA

40
GID3 polynucleotide coding sequence: SEQ ID NO:8

ATGAGTGGCGGCGCGGAGGGGGCTCGGCCGCCAGTCCGCTTCCCGACTACTTTGTCTATCTGGGACTGGAC
 ACGGACCGCGGCTGGAGCCGAGCTGTGGCATTTATGCCAGTACATACAGGCTTCTAAAGCCAGGGATGGT

WO 03/008579

6/10

PCT/EP02/07924

GCCAGCCCTTTTCAATTTCAAGTACGACTGAAGGAGAAAATTTTGAGCAGACACCATTGAGAAGAACAATTCAAATCT
 AAGGTCCTTGACGATATCCTGAGAAOFTAGAATGGAATCCCTTTGACCAAGATGCACTAGGAATGCTNTGTATG
 CCGAAAGGCITGGCATTCAAGACCCAGGCTGATCCAGGGAGCCCAATTCATGCCCTTATATCACAAAGGAG
 5 GATGGCTCICGACATTTGGGTTTGCCTCACATTTATGAAGAGGTGACTAGCAAGCAGATCTGCAGTGCATG
 CAGACCCTTACCCACATGCACAATGCTGATGATGATGCTTACATGCTCCCCCTGCTGATGACAGAGACCAGAGC
 AGCATGGAGGATGGTGAAGACACTCCTGTGACCAAACTGCAGCGCTTCAACTCCTATGACATFAGCCGGGACATP
 CICTAGCTCTTAAGTGCATCTGCCTCATCACACCCATGCTTTTATGAAGGCAATGTCGGAGCGTCTGGAGCAA
 CTCCACAGGCACTCACTFACCTCAGCCCCCTCCACTGCCCTTGAGAGCTACATAFACAACGTACTCTACGAG
 GTGCCCTCCACCTTCCGGGCTCCTTGAAGTTTCTGGGGTCTATGGGCAATAATCTGCCAGAGACCAAGT
 10 ACCAATGAGCTTCCCCTATTGACTTTCCGTCAAGAGGTTTGAACCTGCTCCGGGTGGAGATGTTGTTTCAG
 CTTTTTACTTGTGCCCTTCTGGAGTTTCAAATCTGCTACTCACAGCATTACCAGAGACTGATGACTGTGGCG
 GAGACGATACAGCTCTCATGTTTCCCTTCCAGTGGCAGCATGCTATGCTCCCTATTTCTCCAGCTTCTCCTG
 CATTTCTTGAATGCTTCTGTTCATACCTGATGGGTTTGCATTTCCAATGGCTGGATGACCGGTCAAAGCTGGG
 CTGCCCTCAAGAGGCTAACCTCTGCTTGTGGACMTTGACAACCACTTCAATGAGTTGCCAGAGGACTTTGCCACAG
 15 TTCCCAACAAMTGGAGTTTGTCCAGGAAGTCTCTGAGATCTCATGSCATTTGGAAATTCCTCCGTAAGGGAAT
 CTTCAATTGAGTGGAGTGCCTCAAGCTGAAGAGGCTCCGGGCTCTGAGCTTGTCTCGGACAGAGGAATGGG
 AACATGCTGGCTCCCCTTTCATTCCTACGAGCTTCTTAAGGAGAAAGAACTATTGCCCGGCTGCAAGCTTG
 GTCAAGGAACTGGGCTGAGCTGGAAAGTTGGAAGTGGCTGAAGACCCAGCAGCAATAAGGATCTCAAAGT
 CAGTGTGATGAAGAAGAACTCAGGATTTACAGCTAACATTCAGATCCGGGAAGTTTGTCAAATCGTTCACT
 20 CAGATGTTTGCAGATTAATGAGGTGTTTGTCACTCAACCCAGCCAGGATRAAGGAATCCTGCTTACCAACAGGGAG
 CAAATGCAAAACTTTGATAAAGCATCTTTCTGTGTCAGATCAGCTGAGCCCTACCTGCCCTTCTCTCAAGATTC
 CTGGAGACCAGATGTTTGCATCTTTCATTGACAAACAAATAATGCTCATGATGATGATAAAGACCTGTA
 CTCCGGTATTGATTCOCGAGTTGACAAGATCAGGCTGTGATGTTGGGACACCTACTCTCCGTACATCCATG
 TACCAGAAGTGCACACTGTGGATGAAGCAGAGAAAGCAATTTGAGCTGCTGCTGGCAAAAATTTGACCATACTGCA
 25 ATTCACCCACATTTACTTTGACATGAAGATTTGGACAAGGAAATATGAGCCGGGCTTCTTCCCTAAGCTGCAGTCT
 GATGTACTTTCCACTGGGCCAGCCAGCAACAAGTGGACGAAAGGAATGCCCTGCCAGTGGAGGGGAAAGAT
 CGGCAGAGCCAGCACAGAAACCTCGGTTTATGATARTGACCAGAGGAGAAAGTACATCCAGAAAGCCAGGACT
 ATGGCCAGCACTATCCCCAGCCCAAAGCTGTCACCTCTCTCAATCAGTGAATGGCCAGACCAATTTGGAAGTTT
 GTAGAGGGCTGCTGAAGGAATGCCGCAATAAGACCAAGAGGATGCTGTGGAAAAGATGGCCGAGAGCTGTG
 30 GAGCTAGGGCTGGGAGGTGAACATCACAGGGGTGGAGAGAAACACCTGATTTGCCAGCCTTTTGTGATCTCCTG
 GAAAGGATCTGGAGTCACTGGACTACAAGTGAACAAGGGAAATCAGCCCTATGGTCCCACCTTTTACATTTACAG
 GACACCCGGCAGAGAAAATCACAATCAGGAAGCCTCAGTACCTCAGGAATACTTCTTGTATCAGAACGTAGGAG
 TCTGATGCCAGCTCACTCATGCTCCCTGAGGATCTCCCTGATTCRSGATATGAGGCACATCCAGAACATCGGG
 GAAATCAAGACTGATGTTGGAAAGGCCAGAGCTGGGTGGACTGTCCATGGAAAAAAGTTACTTTCCAGACAC
 35 CTGAAAGCTCCTCTCAGACCATGAGCTACCCAAAAGTTATATAGCGCTATGCCCTTCTGCGCTGTGATGAC
 GAGAGGAGCAGTTCCCTTATCACCTCCTGCTTTTCAATGCCGTCGATTACTTTTGTCTTCCAAATGCTTCCACA
 ACTATCTGATCCCGTACCACATTTCTGATGTTACCAAGCAGAGCTGGGGGCTCCATGTTCACTTCCAAACCA
 TGGATCTGTATCAGGAGAAATTTGGGTGAGACACAGATCATGAGATCCCGAGGAATGTGCTAGAGATGACCTTC
 GAGTCCGAAACTTTGGGAAAGCTTACTACTGTCCAGATTTGCCATGATACTCTGGGCTGTATGCCAAATGGCTG
 40 GTGAGTATGTGATGGTICAGGAATGAGATCACAGGACATACCTACAAGTTCCCGTGTGGCCGGTGTAGGGAG
 GGCATGATGATGAGGAGCCTGGAGCGGATCCTAGTTGGGAGCTGCTCACATCCAGCCTGAGGTGGATGAGAGG
 CCAATGCCGACCCCGGCTGACAGGATCCCAAGTTTCATCCGGAGGCTTGTACCACTCACGCCCAACAAAG
 CCCAAGCTGAACTGGGAGATCCAGGATCCATCGGGAGGCAATGGCATGTTGAAGCACTTCCATAAG

WO 03/008579

7/10

PCT/EP02/07924

5 CCTCGAGAAAGAGCGAGGACAGTCTGAAGCTGTGCTCTGTGGAGAGTGTGGCCCTTGTCTCGGCCCTTGGAAACAGGCT
 TTCCAGCATGGATTTAAATCGCCCGGCTCTCAAAAATGTCTCATTTGGGATTTCTGGAAAAAGCACAACCC
 TATTATGAGACATTAGAGAAGAATGAAGTAGTCCCTGAGGAAAACGGCATAACAAGAGCCCGGAACCTCTGCGCA
 TTTGTCACTGCAATCAACAATACTCCCGAACATCGGCAAGGATGGCAAGTTTCAGATGCTGCTGTCTGGGA
 GCCAGAGATCACCTCTACACCACCTGGATTGCCCTGCTGGCTGACTGCCCATCAGTGCACACATGATGAGGAT
 GTGGCACTGATCAAGACCATACACTGTCAATTCCTGATTCGTTGCTGCAGACATTGCAGGAGTTCACACATC
 ACCGTGGAGACGTCCTTGTCAAGGGCATCGACATCTGA

GID3 polypeptide sequence: SEQ ID NO:9

10 MSGGGGGGGSA PRFADYFVICGLDTEFGLPEDELSALCQYIQASKARDGASPFISSTTEGENFEQT
 PLRRTFKSKVLARYPENVEWNPFDQDAVHMLCMPKGLAPKTQADPREPQFHAFITITREDSRTPGFA
 LTFYEEVTSKQICSAMQTLYHMNAEYDVLHAPPADDRDQSSMEDGEDTPVTKLQRFNSYDISRDTL
 YVSKICLITPMSFMKACRSVLEQLHQAVTSPQPPPLESVIYNVLYEVPLPPGRSLKPSGVYGP
 IICQRPSTNELPLDFVKEVFEVLLGVENVFLQFTCALLEFQILLYSQHYQRLMVAETITALMFPF
 15 QWQHVYVPLILPASLLHFLDAPVPLMGLHNSGLDDRSLKLELPBANLFCVVIDNHFIELEPBDLPQFP
 NKLEFVQEVSEILMAFGIPPEGNLHCSASLKRRLRASELVDKRNAGSPLHSYELLKENETI
 ARLQALVKRTGVSLEKLEVEDPSSNKDLKVCDEEELRIYQLNIQIREVFANRFTQMFADYEVFVI
 QPSQDKESWFTNREQMNFDKASPLSDQPEPYLPFLSRPLETQMFASFIDNKIMCHDDDDKDPVLRV
 FDSRVDKIRLLNVRTPLRRTSMYQKCTTVDEAEKAIELRLAKIDHTAIHPHLLDMKIQGKYEPGPF
 20 PKLQSDVLTGSPASNKWKTRNAPAQWRRRDRQKHTEHLRLDNDQREKYIQEARTMGSTIRQPKLSN
 LSPSVIAQTNWKVFEGLLBCRNKTRKMLVEKMGREAVELGHGEVNTIGVEENTLIASLCDLLERIW
 SHGLQVQKKSALWSHLLHYQDNRQRKLTSGSLSTSGILLDSERRKSDASSLMPPLRISLIQDMRHI
 QNIGETKTDVKGARAWVRLSMEKLLSRHLKQLLSDHELTKKLYKRYAFLRCDDEKEQFLYHLLSFN
 AVDYPCPTNVTITLIPYHILIVPSKLLGSMFTANFWICISGELGETQIMQIPRNVLEMTFECQNL
 25 GKLTIVQIGHDNSGLYAKWLVVEYVMVRNEITGHYKFPFCGRWLKGMDDGSLERILVGELETSQPEV
 DERPCRTPLQQSPSVIRRLVTSFNPKLNTGQIQESIGBAVNGIVKHPKPEKERGSLTLLCG
 ECGLSALEQAFQHGPKSPRLFKNVFIWDFLEKAQTYETLEKNEVVPENWHTRARNFCRFVAIN
 NTPRNIGKDGKQMLVCLGARDHLLHEWIALLDACPITAHMYEDVALIKDHTLVNSLIRVLTQLQEF
 NITLETSLVKGIDI

30

GID4 polynucleotide: SEQ ID NO:10

GTCCTGGCTAACTCATCTCCAGACCTAAGTTGGGAAAGGGGAGGGGAGCCCGGAAGCGGAGAGCCG
 GAGGAGACGCTCCGAGCTGACCAAGCAGCGGCTGAACGCAGCCCGCCCTCCCAAGTCGACCGCGCAA
 CCCGGGAAAGCAGGAGGACCATCCGCGAGTAGCAGCCATGCTGCCCTTCTGCTGGCCACACTGGG
 35 CACCACAGCCCTCAACAACAGCAACCCCAAGGACTACTGCTACAGCGCCCGCATCCGACAGCATGTC
 CTGCAGGGCCTGCCCTTGGGGCGCTCCCAACCGTCTGGCTTCGACTTCATGTGCTTCCTGCAC
 TGCTGTCTTATTTCTCTATCCTCCGGAAGGTGGCTGGGACTATGGGCGGCTGGCTTGTGACAGCA
 TGCAGACAGGCTTCGGCGCAGGAGGGACCGAGTGAACAGGAATATGTGGCTTCAGCTATGCAC
 GGGACAGCCATGACCGGTATGAGCGTCTCACCCTCTGCTCCAGCTCCGTTGACTTTGACCAAAAGG
 40 ACAATGTTCTGTTCTCGCTGACAGCCATCTTCAGGATAAAGGATGATGAGATCCGGGACAAATG

TGGGGCCGATGCGGTGCACCTACCTGTCTTTTCAGCGGCACATCATCGGGCTGCTGGTGGTTGTGGGC
 GTCCCTCCCGTAGGCAFCGTGCTGCTGCTCAACTTCTCAGGGGACCTGCTGGGAAACAATGCCCTACA
 GCCTTGGGAGAACCACTTGGCAACTTGAATCAGGGAACAACCTGCTATGGCTGCACACCTCCCTT
 5 CGCCTTCCGTATCTGCTGCTCACCCTACAGCATGCGTAGACACACCTCCAAGATCCGCTACAAG
 GAGGATGATCTGGTGAAGCGGACCTCTTCACTCAATGGAATCTCCAAATATGCAAGATCAGAAAAGA
 TCAAGAAGCATTTTGAAGGAGCTACCCCACTGCACAGTTCTCGAAGCCCGCCGCTTTACAACGT
 GGCTCGCTAATGTTCCTGATGAGAGAGGAAAGAGCGGAGCGGGAAAGCTGTACTTCAACAAC
 CTCCAGAGCAAGGAGAAGCTGCCCTACCATGATCAACCCCAAGCCCTGTGGCCACCTCTGCTGCTGTG
 TGGTCCGAGGCTGTGAGCAGGTGGAGGCCATGAGTACTACACAAGCTGGAGCAGAAGCTGAAGGA
 10 AGACTACAAGCGGGAGAGGAGAAGTGAATGAGAAGCCTCTTGGCATGGCCTTGTACACCTCCAC
 AATGAGACTATCACCCTCATCTGAGGACTTCAACGCTGTAAATGCCAGGGCTGCACCTGCC
 GTGGGAGCCACGCCCTCATCTGCAGGAGTCCCTGCACATCTCAACTGGACCTGTCTATGTC
 CCCTGACCTCAGAACATCTACTGGGAGCCTCTCCATCCGAGGCTTCACTGTTGGTGGCTGCTGTC
 CTGCTCATCAATGTGCTCTTCTATCTCTCTCTCTCTCCTCACCCTCCAGCCATCATCATCAACA
 15 CCATGGACAAGTTCAACCTCACCAGCCTGTGGAGTACCTCAACAACCCCATCATCACCAGTCTCT
 CCCCACCTGCTGCTGTGGTGTCTCTGCGCCTCTTCCACCCTCGTACTACTCAGCCTTCTTT
 GAAAGCCACTGGACACGCTCTGGGAGAACAGGACAACCATGCACAAGTGTACACTTCTCTCATCT
 TCAATGGTGTCTCTACCTCGTGGGACTGAGCAGCTGGACCTCTCTCTCCGCTGGCTCTTTGA
 TAAGAAATCTTGGCTGAGGCAGCTATCTCGGTTGAGTGTGTCTCTCCCGACAACCGGCGCTTC
 20 TTCGTGAATACGTCATGCTCAGCCTTATTCGGCAACGCCATGGACCTGCTCCGCATCCAGGCC
 TGCTCATGTACATGATCCGCTCTGCTGGCGCTCGGCGCCGAGAGGCGCAACGTGAAGCGGCA
 TCAGGCCACAGTTCAGTTCGCGCAGCCTACGCTGGATGATGTGCGCTTTCACGTTGGTCAATG
 ACCTACAGTATCACCCTGCCCCATCATCTGCTGCTTCCGGCTCATGTACATGCTGCTGAAGCACCTGG
 TAGACAGGTACAATCTTACTACGCTACCTGCGCGCCAGCTGGACAAGAATCCACTCGGGGC
 25 TGTGAACCAAGTGGTGGCCGCGCCATCTCTGCTCTTCTGGCTGCTCTCTTTTCCACCATGGCC
 ACGGGTTCTAGCTCCACGCTTATGTTACATTTGTGGTCTTGGTCAACCACTGCTATCTGTCT
 TCTGCCACGCTGCTTTGGACACTTCAAATACCTCAGTGCACCAACTACAAGATTGAGCACACGGA
 GACAGATACTGTGGACCCAGAAAGCAATGGAGCGGCCCCCACTGCTGCTGCTTCCCAAACTGCG
 AAATACATCGCTCAGGTGCTGCAGGACTCAGAGTGGACGGGGATGGGGATGGGGCTCTGGGAGCT
 30 CAGGGATGAGCCCCCATCATCTCATCCAAAGATGAGGAGTGTGATGCCACCCGAGCCCTCAC
 GGACACAGACTTCCAGTCTTGCAGGACAGCCTCATAGAGAATGAGATTACCAGTAAGGGGAGGGA
 GGGGCCCTGGAGGCCACATCTGCCCCACCCACCCCACTCCACAGGACACTAAAACGCTAATAAT
 TTAATAGATCAAAAGCCCTTCCCTCCCAAGCCCTGCTTTTATTAAGGTAATTAAACTTGGGGTTT
 CACTGCTCTCCCCATGATGGAGGGAGGGAGCCCCCAACCTCAGTGAAGAGAGCCCCGAGCCGCCC
 35 CCGGGCAAGAGGGGTGCAGAGGAGTCCCCAGATCAGTACCCCCACCCCTCCCAAGCTAGTA
 GCATGACAGGAGAGGGTTAATGAGAGCCAAGAGGAGTACCTGCTGACCTGGTGGCTGGCTGGA
 GACCTGGGGGAGAGTGGATCTGGGGCTGTCCCCCCCCCTCCGTTTTTCCACCCACAGTCTCTCC
 TGGGATCTGGCCCTCCAGGGAAGTGGAGCCTCCAGCCCTAGGGGATGCATGAGGGGGAGGGGTG
 CTGAGTGGGAGGAGTCAAGCTCAGCTGGGGTGGCTGGGGTGGGGTGGGCAAGGCTGACA
 40 CTGAAAATGGTTTTTTGCACGTTTTTTTTTTGGTTTTTTTTTGTCTTTTTTGTTTTTTCTTTA

AAATAAAAAACAAAGAAAGCTCTGAAA
AAAAAAA

GID4 polynucleotide coding sequences: SEQ ID NO:11

5 ATGCTGGCCCTTCTGCTGGCCACACTGGGCACCAAGCCCTCAACAACAGCAACCCCAAGGACTACT
 GCTACACGCCCCGCATCCGACGACTGTCTGCAGGGCCTGCCCTTGGGGGGCTCCCCACCGTGCCT
 GGCTCTCGACTTCATGTGCTTCCCTTGCACCTGCTTCTTATTCTCTATCCTCCGGAAGGTGGCCTGG
 GACTATGGGCGGCTGGCCTTGTGACAGATGCAGACAGGCTTCGGCCGGCAGGAGAGGGACCCGAGTGG
 AACAGGAAATATGTGGCTTTCAGTATGACCGGGACAGCCATGACCCGTATGAGCGTCTCACCTCTGT
 10 CTCCAGCTCCGTTGACTTTGACCAAGGGACAATGGTTTCTGTTCCTGGCTGACAGCCATCTTCAGG
 ATAAAGGATGATGAGATCCGGGACAAATGTGGGGGGATGCGGTGCACCTACCTGTCTTCAGCGGC
 ACATCATCGGGCTGCTGGTGGTGTGGGCGCTCCTCCGTAGGCATCGTGTGCTGCTCACTTCTC
 AGGGACCTGTCTGGAGAACAAATGCTTACAGCTTGGGAGAACCCACCATGGCCAACTTGAATCAGG
 AACAACTGTATGGCTGCACACCTCCTTCGCTTCTGTATCTGCTGCTCACCGTCTACAGCATGC
 15 GTAGACACACCTCCAAGATGCGCTACAAGGAGGATGATCTGGTGAAGCGGACCCCTTCAATCAATGG
 AATCTCCAAATATGACAGAGTCAAGAAAGATCAAGAGCATTGTGAGGAAGCCACCCCAACTGCACA
 GTTCTCGAAGCCCGCGTGTTCACACGTGGCTCGCTTAATGTCTCGATGCAGAGAGGAAAGG
 CCGAGCGGGAAAGCTGTACTTCAAAACCTCCAGAGCAAGGAGAACCTGCTTACCATGATCAACCC
 CAAGCCCTGTGGCCACCTCTGCTGCTGTGGTGGGAGGCTGTGAGCAGGTGGAGGCCATGAGTAC
 20 TACACAAAGCTGGAGCAGAAGCTGAAGGAAGACTACAAGCGGGAGAGGAGAGGTGAATGAGAAGC
 CTCTTGGCATGCGCTTTGTCACCTTCCACAATGAGACTATCACCGCCATCATCTCTGAAGGACTTCAA
 CGTGTGTAATCCAGGGCTGCACCTGCCGTGGGGAGCCACGCCCTCATCTGCAGCGAGTCCCTG
 CACATCTCCAAGCTGACCCGTGTCTATGCCCCGACCCTCAGAACATCTACTGGGAGCACCTTCCA
 TCCGAGGCTTCACTGTGGCTGCGCTGCCCTGGTTCATCAATGCTGCTCTTCACTCCCTCTCTCT
 25 CCTCACCACTCCAGCCATCATCATACCACCATGGACAAGTTCACGTCACCAAGCCTGTGGAGTAC
 CTCACAACCCCATCATCACCCAGTCTTCCCAACCTGCTGCTGTGGTGTCTCTCGGCCCTCCTTC
 CCACCATCGTCTACTACTCAGCCTTCTTTGAAGCCACTGGACAAGCTTGGGGAGAACAGGACAA
 CATGCACAAGTGTACACTTTCCTCATCTTCATGGTGTCTCTACCCCTGCTGGGACTGAGCAGC
 CTGGACCTCTTCCGCTGGCTCTTTGATAAGAAATCTTGGCTGAGGCAGCTATTCGGTTTGTAGT
 30 GTGTGTCTGCCGACACGGGCGCTTCTTCGTGAACACTACGTCATTGCCCTCAGCCTTTATCGGCAA
 CGCCATGGACCTGTGCGCATCCAGGCTGCTCATGTACATGATCCGGCTGTGCCCTGGCGCGCTCG
 GCCGCCGAGAGGCGCAAGCTGAAGCGGCATCAGGCTTACGAGTTCAGTGTGGCGCAGCTACGCT
 GGATGATGTGGCTTTCACGGTGTCTATGACCTACAGTATCACCTGCCCATCATGTGCCCTTCGG
 GCTCATGTACATGTCTGTGAAGCACCTGTGTAGACAGGTACAATCTCTACTACGCTTACCTGCCGCGCC
 35 AAGCTGGACAAGAAGATCCACTCGGGGCTGTGAACAGGTGGTGGCGCGCCATCTCTGCTCT
 TCTGGCTGCTCTTCTTTCACCATGCGCACGGGFTCTAGCTCCACGCTATGTTCACATTTGT
 GGTCTGTGTCATCACCATCTGCTCTGCTCTGCTGCTGCTTTGGACACTTCAAAATACCTCAGT
 GCCCCAACATCAAGATTGAGCACAGGAGACAGATACTGTGGACCCAGAAAGCAATGGACGGCCCC
 CCACCTGCTGCTGTGCCCCAAATTCGGAAATACATCGCTCAGGCTGCTGACGACTCAGAGTGGAA

WO 03/008579

10/10

PCT/EP02/07924

CGGGGATGGGGATGGGGCTCCTGGGAGCTCAGGGGATGAGCCCCATCATCCTCATCCCAAGATGAG
GAGTTGCTGATGCCACCCGACGCCCTCACGGACACAGACTCCAGTCTTGGCAGGACAGCCTCATAG
AGAATGAGATTCACAGTAA

5 **GID4 polypeptide: SEQ ID NO:12**

MLPFLALTLGTTALNNSNPKDYCSARIRSTVLQGLFFGGVPTVLALDFMCFLLALLFLFSILRKVAV
DYGRALAVTDADRLRQERDRVQEVVASAMHGDSHRYERLTSVSSVDFDQRDNGFCSWLTAIPR
TKDDEIRDKCGGDAVHYLSFQRHIIGLLVVVGVLSVGIPLVNFSGDLENNAYSFGRTTIANLKSG
NNLLWLETSFAFLYLLLVYSMRRHTSKMRYKEDDLVKRTLFINIGISKYABSEKIKKHFEAYPNCT
10 VLEARPCYNVARLMFLDAERKKAERGKLYFTNLQSKENVPTMINPKPCGHLCCCVVRCQVEAEIY
YTKLEQKLKEDYKREKEKVNEKPLGMAFVTFPHNETITAILKDFNVCKCQGCCTCRGEPSPSSCSESL
HISNWTVSYAPDPQNIYWEHLSIRGFIWVLRCLVINVVLFILLPFLTPAIIITMDKFNVTKEPVEY
LNNPITTFPFLLLWCFSALEPTIVYSAFFEAHWTRSGENRTTMHKCYTFLIFMVLPLPSLGLSS
LDLFRWLFDKFLAEAAIRFBCVFLPDNGAFFVNVYIASAFIGNAMDLLRIPGLLMYMRCLCLARS
15 AAERRNVKRRHQAYEFQFGAAYAMMCMVFTVMYTSITCFITVFPGLMYMLLKHLDVDRVNYAYLPA
KLDKKIHSQAVNQVVAAPILCLFWLLFFSTMRTGFLAPTSMTFVVLVITIVICLCHVCFGHPKYL
AHNYKIEHTETDITVDRSNGRPPFAAAVPKSAKYIAQVLQDSEVDGDDGAPGSSGDEFPSSSSQDE
ELLMPDALTDFQSCEDSLIENELHQ

【国際公開パンフレット(コレクトバージョン)】

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

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau(43) International Publication Date
30 January 2003 (30.01.2003)

PCT

(10) International Publication Number
WO 03/008579 A3

- (51) International Patent Classification: C12N 15/11, C07K 14/47, 16/18, C12Q 1/68, G01N 33/53, 33/68, A61K 38/16, 39/395, 31/7088, A61P 29/00, 37/00, 35/00, 31/00
- (52) International Application Number: PCT/EP02/07924
- (22) International Filing Date: 16 July 2002 (16.07.2002)
- (25) Filing Language: English
- (26) Publication Language: English
- (30) Priority Data:
60/305,932 17 July 2001 (17.07.2001) US
60/313,550 20 August 2001 (20.08.2001) US
60/315,123 27 August 2001 (27.08.2001) US
60/318,484 10 September 2001 (10.09.2001) US
- (71) Applicant (for all designated States except AT, US): NOVARTIS AG [CH/CH]; Lichtstrasse 35, CH-4056 Basel (CH).
- (71) Applicant (for AT only): NOVARTIS PHARMA GMBH [AT/AT]; Brunner Strasse 59, A-1230 Vienna (AT).
- (72) Inventors: and
- (75) Inventors/Applicants (for US only): CERWENKA, Adelheid [AT/AT]; Stolzenthalgasse 17/22, A-1080 Wien (AT). KALTHOFF, Frank, Stephan [DE/AT]; Müdlinger-Strasse 3/6, A-2353 Guntramsdorf (AT).
- PHARES, William, F. [US/AT]; Julius-Tandler-Platz 4/21, A-1090 Wien (AT).
- (74) Agent: GROS, Florent; Novartis AG, Corporate Intellectual Property, Patent & Trademark Department, CH-4002 Basel (CH).
- (81) Designated States (national): AL, AG, AL, AM, AI, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LT, LU, LV, MA, MD, ME, MG, MN, MX, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SE, SG, SI, SK, TJ, TM, TN, TR, TT, UA, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.
- (84) Designated States (regional): Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IT, LI, MC, NI, PT, SE, SK, TR).
- Published:
— with international search report
— before the expiration of the time limit for amending the claims and to be republished in the event of receipt of amendments
- (88) Date of publication of the international search report: 4 December 2003



WO 03/008579 A3

(54) Title: POLYNUCLEOTIDES EXPRESSED IN DENDRITIC CELLS AND POLYPEPTIDES ENCODED THEREBY

(57) Abstract: An isolated BASP1, GID 2.1, GID 2.2, GID3 and GID4 gene expressed in dendritic cells of the immune system, BASP1, GID 2.1, GID 2.2, GID3 and GID4 polypeptides expressed by such gene and their function in the identification of compounds which are antagonists to BASP1, GID 2.1, GID 2.2, GID3 and GID4 polypeptides.

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International Application No. PCT/EP 02/07924
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 C12N15/11 C07K14/47 C07K16/18 C12Q1/68 G01N33/53 G01N33/68 A61K38/16 A61K39/395 A61K31/7088 A61P29/00 A61P37/00 A61P35/00 A61P31/00		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 C12N C07K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, BIOSIS, Sequence Search, ENBASE, WPI Data, PAJ, EMBL, MEDLINE		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	BANCHEREAU J & STEINMAN R M: "Dendritic cells and the control of immunity" NATURE, MACMILLAN JOURNALS LTD. LONDON, GB, vol. 392, no. 6673, 19 March 1998 (1998-03-19), pages 245-252, XP002134557 ISSN: 0028-0836 cited in the application the whole document ----- -/--	1,2,5-7, 18
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C.		<input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. "Z" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 23 July 2003	Date of mailing of the international search report 24.10.2003	
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 6818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel: (+31-70) 340-3040, Tx: 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer Madruga, J.	

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1999)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP 02/07924

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	STEINMAN RALPH M ET AL: "Myeloid dendritic cells." JOURNAL OF LEUKOCYTE BIOLOGY, vol. 66, no. 2, August 1999 (1999-08), pages 205-208, XP008019908 ISSN: 0741-5400 cited in the application the whole document	1,2,5-7, 18
A	EP 1 087 012 A (JAPAN SCIENCE & TECH CORP) 28 March 2001 (2001-03-28) the whole document	1,2,5-7, 18
X	PARK S ET AL: "Characterization of bovine and human cDNAs encoding NAP-22 (22 kDa neuronal tissue-enriched acidic protein) homologs." MOLECULES AND CELLS. KOREA 31 AUG 1998, vol. 8, no. 4, 31 August 1998 (1998-08-31), pages 471-477, XP008019941 ISSN: 1016-8478 cited in the application the whole document	1,2,5-7, 18
X	MOSEVITSKY M I ET AL: "The BASP1 family of myristoylated proteins abundant in axonal termini. Primary structure analysis and physico-chemical properties." BIOCHIMIE (PARIS), vol. 79, no. 6, 1997, pages 373-384, XP002248480 ISSN: 0300-9084 cited in the application the whole document & DATABASE EMBL [Online] accession no. EBI Database accession no. P80723 abstract	1,2,5-7, 18
X	IINO SATOSHI ET AL: "Immunohistochemical demonstration of a neuronal calmodulin-binding protein, NAP-22, in the rat spinal cord." BRAIN RESEARCH, vol. 834, no. 1-2, 10 July 1999 (1999-07-10), pages 66-73, XP002248481 ISSN: 0006-8993 cited in the application the whole document	1,2,5-7, 18
	----- -/--	

3

Form PCT/ISA210 (continuation of second sheet) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP 02/07924

C. (Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DATABASE EMBL [Online] XP002248482 accession no. EBI Database accession no. BC000518 cited in the application abstract -----	1,2,5-7, 18
X	DATABASE EMBL [Online] XP002248483 accession no. EBI Database accession no. AF039656 cited in the application abstract -----	1,2,5-7, 18
X	DATABASE EMBL [Online] XP002248484 accession no. EBI Database accession no. AL523083 abstract -----	1,2,5-7, 18

3

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) July 1992

INTERNATIONAL SEARCH REPORT	International application No. PCT/EP 02/07924
Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)	
This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:	
1. <input type="checkbox"/> Claims Nos.: because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:	
2. <input checked="" type="checkbox"/> Claims Nos.: 14, 15 because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically: Claims 14 and 15 were not present in the application documents. Thus, no search has been done for said claims.	
3. <input type="checkbox"/> Claims Nos.: because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).	
Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)	
This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:	
see additional sheet	
1. <input type="checkbox"/> As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.	
2. <input type="checkbox"/> As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.	
3. <input type="checkbox"/> As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:	
4. <input checked="" type="checkbox"/> No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:	
1, 2, 5, 6, 7, 18 (all partially)	
Remark on Protest	<input type="checkbox"/> The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
	<input type="checkbox"/> No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/EP 02/07924

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1, 2, 5, 6, 7 and 18 (all in part)
An isolated gene, a polypeptide, a vector, an expression system, and a host cell; all related to BASP1 (SEQ ID NO:1).

2. claims: 1-13, 16-21 (all in part)
An isolated gene, a polypeptide, a vector, an expression system, a host cell, a diagnostic kit, an antibody, an assay to identify agonists or antagonists and a vaccine; all related to GID2 (SEQ ID NO:2-6).

3. claims: 1-13, 16-21 (all in part)
An isolated gene, a polypeptide, a vector, an expression system, a host cell, a diagnostic kit, an antibody, an assay to identify agonists or antagonists and a vaccine; all related to GID3 (SEQ ID NO:7-9).

4. claims: 1-13, 16-21 (all in part)
An isolated gene, a polypeptide, a vector, an expression system, a host cell, a diagnostic kit, an antibody, an assay to identify agonists or antagonists and a vaccine; all related to GID4 (SEQ ID NO:10-12).

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International Application No
PCT/EP 02/07924

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 1087012	A	28-03-2001	
		JP 2000279181 A	10-10-2000
		CA 2333908 A1	12-10-2000
		EP 1087012 A1	28-03-2001
		CN 1304448 T	18-07-2001
		WO 0060074 A1	12-10-2000

フロントページの続き

(51) Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 P 1/06	A 6 1 P 1/06	4 C 0 8 4
A 6 1 P 17/00	A 6 1 P 17/00	4 C 0 8 5
A 6 1 P 31/04	A 6 1 P 31/04	4 C 0 8 7
A 6 1 P 31/12	A 6 1 P 31/12	4 H 0 4 5
A 6 1 P 35/00	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 37/04	A 6 1 P 37/04	
A 6 1 P 37/06	A 6 1 P 37/06	
A 6 1 P 37/08	A 6 1 P 37/08	
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	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

(31)優先権主張番号 60/318,484

(32)優先日 平成13年9月10日(2001.9.10)

(33)優先権主張国 米国(US)

(81)指定国 EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,IE,I
T,LU,MC,NL,PT,SE,SK,TR),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ,EC,E
E,ES,FI,GB,GD,GE,GH,HR,HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LT, LU, LV, MA, MD, MK, MN, MX, NO, NZ, OM, PH, PL
,PT,RO,RU,SE,SG,SI,SK,TJ,TM,TN,TR,TT,UA,US,UZ,VN,YU,ZA,ZW

(72)発明者 アデルハイト・ツェルヴェンカ

ドイツ連邦共和国デー - 6 9 1 1 7 ハイデルベルク、ドライケーニツヒスシュトラッセ 1 - 3 番

(72)発明者 フランク・シュテファン・カルトホフ

オーストリア、アー - 2 3 5 3 グントラムスドルフ、メードリンガー - シュトラッセ 3 / 6 番

(72)発明者 ウィリアム・エフ・フェアーズ

スイス、ツェーハー - 4 0 5 6 バーゼル、ヴォゲーゼンシュトラッセ 4 7 番

F ターム(参考) 2G045 AA35 AA40 BA11 BB50 DA13 DA36 FB02 FB03

4B024 AA01 AA11 CA04 FA02

4B063 QA18 QQ96 QR80 QS38

4B064 AG02 CA19 CC24 DA01 DA13

4B065 AB01 BA02 CA24 CA44 CA46

4C084 AA13 AA17 MA37 MA52 MA55 MA56 MA59 MA66 NA14 ZA682

ZA892 ZB022 ZB052 ZB082 ZB092 ZB132 ZB262

4C085 AA03 BB11 GG02 GG03 GG04 GG05

4C087 AA01 AA02 BC83 MA37 MA52 MA55 MA56 MA59 MA66 NA14

ZA68 ZA89 ZB02 ZB05 ZB08 ZB09 ZB13 ZB26

4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 BA10 CA45 DA01 DA75 EA22 FA74

专利名称(译)	有机化合物		
公开(公告)号	JP2005500049A	公开(公告)日	2005-01-06
申请号	JP2003514896	申请日	2002-07-16
[标]申请(专利权)人(译)	瑞士商诺华公司		
申请(专利权)人(译)	诺华股份公司		
[标]发明人	アデルハイトツエルヴェンカ フランクシュテファンカルトホフ ウィリアムエフフェアーズ		
发明人	アデルハイトツエルヴェンカ フランクシュテファンカルトホフ ウィリアムエフフェアーズ		
IPC分类号	G01N33/50 A61K35/76 A61K38/00 A61K39/00 A61K45/00 A61K48/00 A61P1/06 A61P17/00 A61P29/00 A61P31/00 A61P31/04 A61P31/12 A61P35/00 A61P37/00 A61P37/04 A61P37/06 A61P37/08 C07K14/47 C07K16/18 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/08 C12N5/10 C12N15/09 C12P21/02 C12Q1/02 G01N33/15 G01N33/53 G01N33/566		
CPC分类号	A61K38/00 A61K2039/505 A61K2039/53 A61P1/06 A61P17/00 A61P29/00 A61P31/00 A61P31/04 A61P31/12 A61P35/00 C07K14/47		
FI分类号	C12N15/00.ZNA.A A61K35/76 A61K39/00.H A61K45/00 A61K48/00 A61P1/06 A61P17/00 A61P31/04 A61P31/12 A61P35/00 A61P37/04 A61P37/06 A61P37/08 C07K14/47 C07K16/18 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12P21/02.C C12Q1/02 G01N33/15.Z G01N33/50.Z G01N33/53.D G01N33/53.M G01N33/566 C12N5/00.A		
F-TERM分类号	2G045/AA35 2G045/AA40 2G045/BA11 2G045/BB50 2G045/DA13 2G045/DA36 2G045/FB02 2G045/FB03 4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/CA04 4B024/FA02 4B063/QA18 4B063/QQ96 4B063/QR80 4B063/QS38 4B064/AG02 4B064/CA19 4B064/CC24 4B064/DA01 4B064/DA13 4B065/AB01 4B065/BA02 4B065/CA24 4B065/CA44 4B065/CA46 4C084/AA13 4C084/AA17 4C084/MA37 4C084/MA52 4C084/MA55 4C084/MA56 4C084/MA59 4C084/MA66 4C084/NA14 4C084/ZA682 4C084/ZA892 4C084/ZB022 4C084/ZB052 4C084/ZB082 4C084/ZB092 4C084/ZB132 4C084/ZB262 4C085/AA03 4C085/BB11 4C085/GG02 4C085/GG03 4C085/GG04 4C085/GG05 4C087/AA01 4C087/AA02 4C087/BC83 4C087/MA37 4C087/MA52 4C087/MA55 4C087/MA56 4C087/MA59 4C087/MA66 4C087/NA14 4C087/ZA68 4C087/ZA89 4C087/ZB02 4C087/ZB05 4C087/ZB08 4C087/ZB09 4C087/ZB13 4C087/ZB26 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/CA45 4H045/DA01 4H045/DA75 4H045/EA22 4H045/FA74		
代理人(译)	小島 一晃		
优先权	60/305932 2001-07-17 US 60/313550 2001-08-20 US 60/315123 2001-08-27 US 60/318484 2001-09-10 US		
其他公开文献	JP2005500049A5		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

在免疫系统树突细胞中表达的分离的BSAP1，GID 2.1，GID 2.2，GID3和GID4基因，由该基因表达的BASP1，GID 2.1，GID 2.2，GID3和GID4多肽及其在鉴定compo8unds中的功能 BASP1，GID 2.1，GID 2.2，GID3和GID4多肽的拮抗剂。

遺伝子の名称	配列	
	ヌクレオチド	アミノ酸
BASP1	配列番号1	
GID2.1	配列番号2	
GID2.1コード	配列番号3	配列番号4
GID2.2コード	配列番号5	配列番号6
GID3	配列番号7	
GID3コード	配列番号8	配列番号9
GID4	配列番号10	
GID4コード	配列番号11	配列番号12