

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公表特許公報 (A) (11)特許出願公表番号

特表2003 - 521885

(P2003 - 521885A)

(43)公表日 平成15年7月22日(2003.7.22)

(51) Int. Cl ⁷	識別記号	F I	テ-コード* (参考)
C 1 2 N 15/09	ZNA	A 6 1 K 39/395	D 4 B 0 2 4
A 6 1 K 38/00			N 4 B 0 6 3
39/395		48/00	4 B 0 6 5
48/00		A 6 1 P 15/00	4 C 0 8 4
		35/00	4 C 0 8 5

審査請求 未請求 予備審査請求 (全181数) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2001 - 505560(P2001 - 505560)

(86)(22)出願日 平成12年6月23日(2000.6.23)

(85)翻訳文提出日 平成13年12月20日(2001.12.20)

(86)国際出願番号 PCT/US00/17328

(87)国際公開番号 W000/078802

(87)国際公開日 平成12年12月28日(2000.12.28)

(31)優先権主張番号 60/140,584

(32)優先日 平成11年6月23日(1999.6.23)

(33)優先権主張国 米国(US)

(31)優先権主張番号 60/144,722

(32)優先日 平成11年7月20日(1999.7.20)

(33)優先権主張国 米国(US)

(71)出願人 キュラジェン コーポレイション
アメリカ合衆国 コネチカット 06511,
ニューヘブン, ロング ワーフ ドライブ
555, 11ティ-エイチ フロア

(72)発明者 シムケッツ, リチャード エイ.
アメリカ合衆国 コネチカット 06516,
ニュー ハイバン, リート ストリート
191

(72)発明者 フェルナンデス, エルマ
アメリカ合衆国 コネチカット 06405,
ブランフォード, フローレンス ロード
ナンバー2 77

(74)代理人 弁理士 大塩 竹志

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 ポリヌクレオチドおよびそれらによってコードされるポリペプチド

(57)【要約】

本発明は、本明細書中で S E C X ポリペプチドと称される新規なポリペプチド、ならびに S E C X ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを提供する。S E C X ポリペプチドまたは S E C X ポリヌクレオチド、あるいはそれらの誘導体、改変体、変異体、またはフラグメントに免疫特異的に結合する抗体がまた、提供される。本発明はさらに、S E C X ポリペプチド、ポリヌクレオチド、および抗体が、広い範囲の病理学的状態を検出、予防、および処置する際に使用される方法を提供する。

```

1 CCGCTGACAGTGGGAGTCTCCAGTACTTGTGTGCTGGGGT
46 GACCTGGATTCCTCCGAGGCTCCAGAGCTCCCTCCCTCC
91 CTGTCTTAACACAGAGTGGCCATGGGTTCGACAAAGAGCTGGT
MetGlyTrpThrMetArgLeuVa
136 CACACAGCAGCTCTTACTGGGTCTCATGATGGTGTCTACTGGAGA
1ThrAlaAlaLeuLeuLeuGlyLeuMetValValThrGlyAs
181 CGAGGATGAGAAACAGCCCTGTGCCATGAGCCCTCTGGACGA
pGluAspGluAsnSerProCysAlaHisGluAlaLeuLeuAspGly
226 GGACACCTCTTTGGCCAGGCTTGAAGTTTCTACCCAGAGTT
uAspThrLeuPheCysGlnGlyLeuGluValPheTyrProGluLe
271 GGGGAACATTCGCTGCAAGTGTGTCCTGATGTTGTAACAATACAG
uGlyAsnIleGlyCysLysValValProAspCysAsnAsnTyrAr
316 ACAGAAAGATCACCTCTCTGGATGGAGCCGATAGCAAGTTCCCGG
gGlnLysIleThrSerTrpMetGluProIleValLysPheProGly
361 GGCCCTGGAACGGCCCAACCTATCTCCCTGGATGATGGATCCAGA
yalaValAspGlyAlaThrTyrIleLeuValMetValAspProAs
406 TGCCCTTAGCAGCAGCAGACCCAGACAGAGTTCTGGAGACTTGG
pAlaProSerArgAlaGluProArgGlnArgPheTrpArgHisTr
451 GCTGTAAACAGATATCAAGGCGCCGACCTGAAAGGAAAGAGAT
pLeuValThrAspIleLysGlyAlaAspLeuLysGlyLysIle
496 TCAAGCCAGGAGTTACAGCTTACAGGCTCCAGGCTCCCTCCAGCGC
eGlnGlyGlnIleLysSerAlaTyrGlnAlaProSerProSerAl
541 ACACAGTGGCTTCCATCCFACCACTTCTTGTACTATCTCAGGA
aHisSerGlyTheHisArgTyrGlnPheLeuValTyrLeuGlnIle
586 AGGAAAGTCACTCTCTCTCTCCCTCCAGGAAACAAACTCCAGG
uGlyLysValIleSerLeuLeuProLysGluAsnLysThrArgGly
631 CTCTGGAAATGGACAGATTTCTGAACCTTCCACTGGAGCCGA
ySerTrpLysMetAspArgPheLeuAsnArgPheHisLeuGlyGly
676 ACCTGAAACAGCAGCCCAAGTCTCATGCCAGAACTCCAGGACTC
uProGluAlaSerThrGlnPheMetThrGlnAsnTyrGlnAspSa
721 ACCAACCCTCCAGGCTCCAGAGAAAGGCCCAGCAGCCCAAGCA
rProThrLeuGlnAlaProArgGluArgAlaSerGluProLysHis
766 CAAAACCCAGGCGAGATAGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCT
eLysAspGlnAlaGluIleAlaAlaCys
811 CATCCGGGCGATGTTGGCCACACTGGCCACCCAGCAGCAAGTGGGTA
856 TGGAAACCCCTCTGGATACAGAACCCCTCTCTTCCAAATTAATA
901 AAAAAATCATCCAGGAAAAAATAAAAAA

```

【特許請求の範囲】

【請求項1】 単離されたポリペプチドであって、以下：

(a) 配列番号2、4、6、8、10、12、14、16および18からなる群より選択されるアミノ酸配列の成熟形態；

(b) 配列番号2、4、6、8、10、12、14、16および18からなる群より選択されるアミノ酸配列の成熟形態の改変体であって、ここで、該成熟形態中の1以上のアミノ酸が該成熟形態のアミノ酸とは異なり、ただし、該改変体は、該成熟形態のアミノ酸配列と15%以下のアミノ残基が異なる、改変体；

(c) 配列番号2、4、6、8、10、12、14、16および18からなる群より選択されるアミノ酸配列；および

(d) 配列番号2、4、6、8、10、12、14、16および18からなる群より選択されるアミノ酸配列の改変体であって、ここで該改変体の1以上のアミノ酸が該成熟形態のアミノ酸配列とは異なり、ただし、該改変体は、該アミノ酸配列と15%以下のアミノ酸残基が異なる、改変体、
からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチド。

【請求項2】 請求項1に記載のポリペプチドであって、前記ポリペプチドが、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16および18からなる群より選択されるアミノ酸配列の天然に存在する対立遺伝子改変体のアミノ酸配列を含む、ポリペプチド。

【請求項3】 請求項2に記載のポリペプチドであって、ここで、前記対立形質改変体が、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15および17からなる群から選択される核酸配列と1つのヌクレオチドだけ異なる核酸配列の翻訳物であるアミノ酸を含む、ポリペプチド。

【請求項4】 請求項1に記載のポリペプチドであって、ここで該改変体のアミノ酸配列が、保存的アミノ酸置換を含む、ポリペプチド。

【請求項5】 単離された核酸分子であって、該核酸分子が、以下：

(a) 配列番号2、4、6、8、10、12、14、16および18からなる群から選択されるアミノ酸配列の成熟形態；

(b) 配列番号2、4、6、8、10、12、14、16および18からなる

群より選択されるアミノ酸配列の成熟形態の改変体であって、ここで、該改変体における1以上のアミノ酸残基が、該成熟形態のアミノ酸配列とは異なり、ただし、該改変体は、該成熟形態のアミノ酸配列とは15%以下のアミノ酸残基が異なる、改変体；

(c) 配列番号2、4、6、8、10、12、14、16および18からなる群より選択されるアミノ酸配列；

(d) 配列番号2、4、6、8、10、12、14、16および18からなる群より選択されるアミノ酸配列の改変体であって、該改変体中の1以上のアミノ酸残基が、該成熟形態のアミノ酸配列とは異なり、ただし、該改変体は、該アミノ酸配列と15%以下のアミノ酸残基が異なる、改変体；

(e) 配列番号2、4、6、8、10、12、14、16および18からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むポリペプチドまたは該ポリペプチドの改変体の、少なくとも一部をコードする核酸フラグメントであって、ここで、該改変体の1以上のアミノ酸残基が、該成熟形態のアミノ酸配列とは異なり、ただし、該改変体は、該アミノ酸配列と15%以下のアミノ酸残基が異なる、改変体；および

(f) (a)、(b)、(c)、(d)または(e)の相補体を含む核酸分子からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むポリペプチドをコードする核酸配列を含む、核酸分子。

【請求項6】 請求項5に記載の核酸分子であって、ここで、前記核酸分子が天然に存在する対立遺伝子核酸改変体のヌクレオチド配列を含む、核酸分子。

【請求項7】 請求項5に記載の核酸分子であって、ここで、前記核酸分子が、天然に存在するポリペプチド改変体のアミノ酸配列を含むポリペプチドをコードする、核酸分子。

【請求項8】 請求項5に記載の核酸分子であって、前記核酸分子が、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15および17からなる群より選択される核酸配列と1つのヌクレオチドだけ異なる核酸配列。

【請求項9】 請求項5に記載の核酸分子であって、ここで、該核酸分子が以下：

(a) 配列番号1、3、5、7、9、11、13、15および17からなる群より選択されるヌクレオチド配列；

(b) ヌクレオチド配列であって、該ヌクレオチド配列が、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15および17からなる群より選択されるヌクレオチド配列と、1つ以上のヌクレオチドが異なり、ただし、20%以下のヌクレオチドが該ヌクレオチド配列と異なる、ヌクレオチド配列；

(c) (a)の核酸フラグメント；および

(d) (b)の核酸フラグメント；

からなる群より選択されるヌクレオチド配列を含む、核酸分子。

【請求項10】 請求項5に記載の核酸分子であって、ここで該核酸分子が、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15および17からなる群より選択されるヌクレオチド配列、または該ヌクレオチド配列の相補体、に、ストリンジントな条件下でハイブリダイズする、核酸分子。

【請求項11】 請求項5に記載の核酸分子であって、ここで、該核酸分子が、以下：

(a) 前記アミノ酸配列をコードするコード配列と、1以上のヌクレオチド配列が異なるコード配列を含む第1のヌクレオチド配列であって、ただし、該第1のヌクレオチド配列の該コード配列における20%以下のヌクレオチドが、該コード配列とは異なる、ヌクレオチド配列；

(b) 該第1のポリヌクレオチドに相補的な単離された第2のポリヌクレオチド；および

(c) (a)または(b)の核酸フラグメント；

からなる群より選択されるヌクレオチド配列を含む、核酸分子。

【請求項12】 請求項11に記載の核酸分子を含む、ベクター。

【請求項13】 前記核酸分子に作動可能に連結されたプロモーターをさらに含む、請求項12に記載のベクター。

【請求項14】 請求項12に記載のベクターを含む、細胞。

【請求項15】 請求項1に記載のポリペプチドに免疫特異的に結合する、抗体。

【請求項16】 前記抗体がモノクローナル抗体である、請求項15に記載の抗体。

【請求項17】 前記抗体がヒト化抗体である、請求項15に記載の抗体。

【請求項18】 サンプル中の請求項1に記載のポリペプチドの存在または量を決定するための方法であって、該方法は、以下：

(a) 該サンプルを提供する工程；

(b) 該サンプルを該ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体と接触させる工程；および

(c) 該ポリペプチドに結合する抗体の存在または量を決定する工程、を包含し、それによって該サンプル中のポリペプチドの存在または量を決定する、方法。

【請求項19】 サンプル中の請求項5に記載の核酸分子の存在または量を決定するための方法であって、該方法は、以下：

(a) 該サンプルを提供する工程；

(b) 該サンプルを該核酸分子に結合するプローブに接触させる工程；および

(c) 該核酸分子に結合する該プローブの存在または量を決定する工程、を包含し、それによって該サンプル中の該核酸分子の存在または量を決定する、方法。

【請求項20】 請求項1に記載のポリペプチドに結合する因子を同定する方法であって、該方法は、以下：

(a) 該ポリペプチドを該因子に接触する工程；および

(b) 該因子が該ポリペプチドに結合するか否かを決定する工程を包含する、方法。

【請求項21】 請求項1に記載のポリペプチドの発現または活性を調節する因子を同定するための方法であって、該方法が、以下：

(a) 該ポリペプチドを発現する細胞を提供する工程；

(b) 該細胞を候補因子と接触させる工程；および

(c) 該因子が該ポリペプチドの発現または活性を調節するか否かを決定する工程、

を包含し、それによって該ペプチドの発現または活性における変化が、該ポリペプチドの発現または活性を調節する該因子を示す、方法。

【請求項22】 請求項1に記載のポリペプチドの活性を調節するための方法であって、該方法が、該ポリペプチドを発現する細胞サンプルを、該ポリペプチドの活性を調節するために十分な量で該ポリペプチドに結合する化合物と接触させる工程を包含する、方法。

【請求項23】 SECX関連性障害を処置または予防するための方法であって、該方法が、そのような処置または予防が所望される被験体に、該被験体における該SECX関連性障害を処置または予防するために十分な量で、請求項1に記載のポリペプチドを投与する工程を包含する、方法。

【請求項24】 前記被験体がヒトである、請求項23に記載の方法。

【請求項25】 SECX関連性疾患を処置または予防する方法であって、該方法が、そのような処置または予防が所望される被験体に、該被験体の該SECX関連性障害を処置または予防するために十分な量で、請求項5に記載の核酸を投与する工程を包含する、方法。

【請求項26】 前記被験体がヒトである、請求項25に記載の方法。

【請求項27】 SECX関連性障害を処置または予防する方法であって、該方法が、そのような処置または予防が所望される被験体に、該被験体の該SECX関連性障害を処置または予防するために十分な量で、請求項15に記載の抗体を投与する工程を包含する、方法。

【請求項28】 前記被験体がヒトである、請求項15に記載の方法。

【請求項29】 請求項1に記載のポリペプチドおよび薬学的に受容可能なキャリアを含有する、薬学的組成物。

【請求項30】 請求項5に記載の核酸分子および薬学的に受容可能なキャリアを含有する、薬学的組成物。

【請求項31】 請求項15に記載の抗体および薬学的に受容可能なキャリアを含有する、薬学的組成物。

【請求項32】 請求項29に記載の薬学的組成物を1つ以上の容器に含む、キット。

【請求項33】 請求項30に記載の薬学的組成物を1つ以上の容器に含む、キット。

【請求項34】 請求項31に記載の薬学的組成物を1つ以上の容器に含む、キット。

【請求項35】 第1の哺乳動物被験体における請求項1に記載のポリペプチドの変化したレベルと関連する疾患の存在または素因を決定するための方法であって、該方法が、以下：

(a) 該第1の哺乳動物被験体由来のサンプル中の該ポリペプチドの発現レベルを測定する工程；および

(b) 工程(a)の該サンプル中の該ポリペプチドの量を、該疾患を有さないことが既知であるかまたは該疾患にかかりにくいことが既知の、第2の哺乳動物被験体由来のコントロールサンプル中に存在する該ポリペプチドの量と比較する工程を包含し、

ここで、該コントロールサンプルと比較した場合の該第1の被験体における該ペプチドの発現レベルにおける変化が、該疾患の存在または素因を示す、方法。

【請求項36】 第1の哺乳動物被験体における請求項5に記載の核酸分子の変化したレベルと関連する疾患の存在または素因を決定するための方法であって、該方法が、以下：

(a) 該第1の哺乳動物被験体由来のサンプル中の該核酸の量を測定する工程；および

(b) 工程(a)の該サンプル中の該核酸の量を、該疾患を有さないことが既知であるかまたは該疾患にかかりにくいことが既知の、第2の哺乳動物被験体由来のコントロールサンプル中に存在する該核酸の量と比較する工程を包含し、

ここで、該コントロールサンプルと比較した場合の該第1の被験体における該核酸レベルにおける変化が、該疾患の存在または素因を示す、方法。

【請求項37】 哺乳動物において病理学的状態を処置する方法であって、該方法が、該病理状態を緩和するために十分な量でポリペプチドを該哺乳動物に投与する工程を包含し、ここで、該ポリペプチドが、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16および18またはそれらの生物学的に活性なフラグメン

トの少なくとも1つのアミノ酸配列を含むポリペプチドに少なくとも95%同一なアミノ酸配列を有するポリペプチドである、方法。

【請求項38】 哺乳動物の病理学的状態を処置する方法であって、該方法が、該病理学的状態を緩和するために十分な量で請求項15に記載の抗体を該哺乳動物に投与する工程を包含する、方法。

【発明の詳細な説明】**【0001】**

(発明の分野)

本発明は、ポリヌクレオチドおよびそれによってコードされるポリペプチドに関する。

【0002】

(発明の背景)

多くの生物学的に重要なタンパク質は、複数の膜結合オルガネラを通過した後で細胞から分泌される。これらのタンパク質は、そのタンパク質中またはそのタンパク質の前駆体形態中での、ソーティングシグナルと呼ばれる配列モチーフの存在によってしばしば同定され得る。これらのソーティングシグナルは、適切な細胞オルガネラに対してそのタンパク質を標的化することを補助し得る。

【0003】

1つのタイプのソーティングシグナルは、シグナル配列（これは、シグナルペプチドまたはリーダー配列とも呼ばれている）である。このシグナル配列は、新たに合成されるポリペプチド上のアミノ末端伸長として存在し得る。シグナル配列は、小胞体（ER）として公知のオルガネラへタンパク質を「標的化」する能力を有する。

【0004】

シグナルペプチドは、一連のタンパク質 - タンパク質相互作用またはタンパク質 - 脂質相互作用に関与し、これは、シグナル配列を含むポリペプチドを、ERのチャンネルを介して移行させる。移行後、膜結合型酵素（シグナルペプチダーゼと呼ばれる）は、成熟タンパク質をシグナル配列から遊離させる。

【0005】

分泌型および膜結合型のタンパク質は、多くの生物学的に多様な活性に関与する。公知の分泌型タンパク質の例としては、インスリン、インターフェロン、インターロイキン、トランスフォーミング増殖因子、ヒト成長ホルモン、エリスロポエチン、およびリンホカインが挙げられる。これまでに、ヒト膜結合型および分泌型のタンパク質をコードする限定された数の遺伝子のみが同定されている

。

【0006】

(発明の要旨)

本発明は、新規な核酸およびそれによってコードされる分泌ポリペプチドの発見に一部基づく。新規な核酸およびポリペプチドには、SEC1、SEC2、SEC3、SEC4、SEC5、SEC6、SEC7、SEC8、SEC9、SEC10、SEC11、およびSEC12の核酸およびポリペプチドが挙げられる。これらの核酸およびポリペプチドは、本明細書中では、集合的に「SECX」と呼ばれる。

【0007】

従って、一つの局面において、本発明は、例えば、SECX核酸(例えば、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23および25のいずれか)を含む単離された核酸分子を提供する。いくつかの実施形態において、SECX核酸は、SECXポリペプチド(例えば、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22または24、あるいはそのフラグメント、ホモログ、アナログ、または誘導体のいずれかのアミノ酸配列を含むポリペプチド)をコードする。核酸は、例えば、SECXポリペプチドのアミノ酸配列を含むポリペプチドに対して少なくとも85%同一なポリペプチドをコードする核酸配列を含み得る。この核酸は、例えば、ゲノムDNAフラグメント、cDNA分子などであり得る。

【0008】

本明細書中に記載される核酸の一つ以上を含むベクター、および本明細書中に記載されるベクターまたは核酸を含む細胞もまた、本発明の範囲に含まれる。

【0009】

本発明はまた、上記核酸分子のいずれかを含むベクターを用いて形質転換された宿主細胞に関する。

【0010】

別の局面において、本発明は、SECX核酸および薬学的に受容可能なキャリアまたは希釈剤を含む、薬学的組成物を含む。

【0011】

さらなる局面において、本発明は、実質的に精製されたSECXポリペプチド（例えば、SECX核酸によってコードされるSECXポリペプチドのいずれか、ならびにそのフラグメント、ホモログ、アナログ、および誘導体）を含む。本発明はまた、SECXポリペプチドおよび薬学的に受容可能なキャリアまたは希釈剤を含む、薬学的組成物を含む。

【0012】

なおさらなる局面において、本発明は、SECXポリペプチドに特異的に結合する抗体を提供する。この抗体は、例えば、モノクローナル抗体またはポリクローナル抗体、ならびにそれらのフラグメント、ホモログ、アナログ、および誘導体であり得る。本発明はまた、SECX抗体および薬学的に受容可能なキャリアまたは希釈剤を含む、薬学的組成物を含む。本発明はまた、上記核酸分子のいずれかによってコードされるポリペプチドのエピトープに結合する単離された抗体に関する。

【0013】

本発明はまた、上記薬学的組成物のいずれかを含むキットを含む。

【0014】

本発明はさらに、SECX核酸（例えば、SECX核酸を含むベクター）を含む細胞を提供し、そしてこの核酸によってコードされるSECXポリペプチドを発現するのに十分な条件下で細胞を培養することによってSECXポリペプチドを産生するための方法を提供する。次いで、発現されたSECXポリペプチドは、細胞から回収される。好ましくは、その細胞は、ほとんどまたは全く内因性のSECXポリペプチドを産生しない。細胞は、例えば、原核生物細胞または真核生物細胞であり得る。

【0015】

本発明はまた、サンプルをSECXポリペプチドまたはSECX核酸に特異的に結合する化合物と接触させ、そして存在する場合、複合体形成を検出することによって、このサンプル中のSECXポリペプチドまたはSECX核酸を同定する方法に関する。

【0016】

本発明はさらに、SECXポリペプチドを化合物と接触させ、SECXポリペプチドの活性が改変されるか否かを決定することによって、SECXポリペプチドの活性を調節する化合物を同定する方法を提供する。

【0017】

本発明はまた、SECXポリペプチドを化合物と接触させ、その化合物が、SECXポリペプチドの活性を改変するか、SECXポリペプチドに結合するか、またはSECXポリペプチドをコードする核酸分子に結合するか否かを決定することによって同定される、SECXポリペプチド活性を調節する化合物に関する。

【0018】

別の局面において、本発明は、被験体のSECX関連障害の存在またはこの障害の素因を測定する方法を提供する。この方法は、被験体からのサンプルを提供する工程、およびこの被験体サンプル中のSECXポリペプチドの量を測定する工程を包含する。次いで、被験体サンプル中のSECXポリペプチドの量を、コントロールサンプル中のSECXポリペプチドの量と比較する。コントロールタンパク質サンプル中のSECXポリペプチドの量に対する被験体のタンパク質サンプル中のSECXポリペプチドの量における変化は、この被験体が、組織増殖関連状態を有することを示す。コントロールサンプルは、好ましくは、一致する個体（すなわち、年齢、性別、または他の一般的状態の類似する個体であって、組織増殖関連状態を有することが疑われていない個体）から取られる。あるいは、コントロールサンプルは、被験体が組織増殖関連障害を有すると疑われていない場合に、その被験体から取られ得る。いくつかの実施形態において、SECXは、SECX抗体を使用して検出される。

【0019】

さらなる局面において、本発明は、被験体におけるSECX関連障害の存在またはこの障害の素因を決定する方法を提供する。この方法は、被験体からの核酸サンプル（例えば、RNAもしくはDNA、またはその両方）を提供する工程、および被験体の核酸サンプル中のSECX核酸の量を測定する工程を包含する。

次いで、被験体核酸中のSECX核酸サンプルの量を、コントロールサンプル中のSECX核酸の量と比較する。コントロールサンプル中のSECXの量に対するサンプル中のSECX核酸の量における変化は、この被験体が組織増殖関連障害を有することを示す。

【0020】

なおさらなる局面において、本発明は、SECX関連障害を処置するかまたは予防するかまたは遅延させる方法を提供する。本方法は、このような処置または予防または遅延が望ましい被験体に、SECX核酸、SECXポリペプチド、またはSECX抗体を、被験体の組織増殖関連障害を処置、予防、または遅延するのに十分な量で投与する工程を包含する。

【0021】

他に規定しない限り、本明細書中で使用される全ての技術的用語および科学的用語は、本発明が属する技術分野の当業者によって共通して理解されるのと同じ意味を有する。本明細書中に記載される方法および材料と類似または等価な方法または材料が、本発明の実施または試験において使用され得るが、適切な方法および材料は以下に記載される。本明細書中で言及されるすべての刊行物、特許出願、特許、および他の参考文献は、その全体が参考として援用される。矛盾する場合には、定義を含む本明細書が優先される(control)。さらに、材料、方法、および実施例は、例示のみであって限定することを意図しない。

【0022】

本発明の他の特徴および他の利点は、以下の詳細な説明および上記の特許請求の範囲から明らかとなる。

【0023】

(発明の詳細な説明)

本発明は、ポリヌクレオチドおよびそれによってコードされるポリペプチドを提供する。12個の核酸配列およびそれらがコードするポリペプチドが本発明に含まれる。これらの配列は、集合的に「SECX核酸」または「SECXポリヌクレオチド」と呼ばれ、そして対応するコードされるポリペプチドは、「SECXポリペプチド」または「SECXタンパク質」と呼ばれる。他に示されない場

合、「SECX」は、SEC1、SEC2、SEC3、SEC4、SEC5、SEC6、SEC7、SEC8、SEC9、SEC10、SEC11、およびSEC12を含む。

【0024】

図20は、種々の開示されたSECX核酸およびそれらがコードするポリペプチドの要約を提供する。図20には、以下のような特徴が含まれる：

図20のカラム1は、「SECX番号」と題され、本発明に従う核酸に割り当てられたSECX番号を示す。

【0025】

図20のカラム2は、「クローンID番号」と題され、示されたSPについての第2のID番号を提供する。

【0026】

図20のカラム3は、「組織発現」と題され、示されたSECX核酸が発現される組織を示す。

【0027】

図20のカラム4～7は、示されたSECX核酸およびSECXポリペプチドについて示される構造的情報を記載する。

【0028】

図20のカラム8は、「タンパク質類似性」と題され、示されたSECXによってコードされるポリペプチドに関連するBLASTP Non-redundant Compositeデータベースからの以前に記載されたタンパク質を列挙する。これらの配列は、<http://www.ncbi.nlm.gov>から取り出し得る。

【0029】

図20のカラム9は、「タンパク質類似性」と題され、示されたSECXによってコードされるポリペプチドに関連する、以前に記載されたヒト配列を列挙する。

【0030】

図20のカラム10は、「シグナルペプチド切断部位」と題され、Signa

1 Pによって決定された、シグナルペプチドが切断される推定のヌクレオチド位置を示す。

【0031】

図20のカラム11は、「細胞内局在」と題され、示されたSECXポリペプチドの推定の細胞内局在を示す。

【0032】

表1は、開示されたSECX核酸およびSECXポリペプチドについての種々のSECX配列ならびに配列番号(SEQ ID NO:)に対応するクローンID番号を含む。

【0033】

【表1】

表 1

クローンID番号	SECX	配列番号 (核酸)	配列番号 (ポリペプチド)
3445452	SEC1	1	2
4011999	SEC2	3	4
17089878.0.5	SEC3	5	6
17089878.0.6	SEC4	7	8
1795045.0.61	SEC5	9	10
20422974.0.132	SEC6	11	12
20422974.2	SEC7	13	14
20936375.0.1	SEC8	15	16
20936785.0.1	SEC9	17	18
1795045.0.77	SEC10	19	20
20422974.0.132-ext2	SEC11	21	22
20936375.0.104	SEC12	23	24
SEC1 MatF		25	
SEC1 Rev		26	
Psec-V5-His 正方向		27	
Psec-V5-His 逆方向		28	
SEC2 F-Topo- 正方向		29	
SEC2 F-Topo- 逆方向		30	
SEC2 C- 正方向		31	
SEC2 SECR		32	
SEC10 正方向		33	
SEC10 逆方向		34	
Ag 36 (F)		35	
Ag 36 (R)		36	
Ag 36 (P)		37	
Ag 123 (F)		38	
Ag 123 (R)		39	
Ag 123 (P)		40	
Ag80 (F)		41	
Ag80 (R)		42	
Ag80 (P)		43	
Ag 37 (F)		44	
Ag 37 (R)		45	
Ag 37 (P)		46	
Ag 174 (F)		47	
Ag 174 (R)		48	
Ag 174 (P)		49	

【0034】

本明細書中で開示されるSECX核酸およびSECXポリペプチドについての核酸配列およびポリペプチド配列は、以下に提供される。

【0035】

本発明に従うSECX核酸、およびそれらがコードするポリペプチドは、種々の適用および状況において有用である。例えば、本発明に従う種々のSECX核酸およびSECXポリペプチドは、とりわけ、以前に記載されたタンパク質に対

するドメインおよび配列の関連性の存在に従う、タンパク質ファミリーの新規なメンバーとして有用である。

【0036】

本発明に従うSECX核酸およびSECXポリペプチドはまた、本発明に従う示されたSECXについての細胞型を同定するために使用され得る。このような細胞型の非限定的な例は、本発明に従うSECXについて、図20、カラム3において列挙される。本明細書中に開示されるSECX核酸およびSECXポリペプチドについてのさらなる有用性は、以下に記載される。

【0037】

(SEC1)

本発明に従うSEC1核酸およびSEC1ポリペプチドは、クローン3445452(配列番号1)の核酸配列を含む。この開示された配列は、932ヌクレオチド長であり、そしてヌクレオチド113~793のオープンリーディングフレーム(ORF)を含む。このORFは、25734.1ダルトンの推定分子量を有する227アミノ酸残基を含む分泌タンパク質(配列番号2)をコードする。この開示されたタンパク質のアミノ酸配列もまた、図1に示される。

【0038】

この開示されたSEC1核酸配列は、もともと前立腺組織において同定された。

【0039】

この開示されたSEC1ポリペプチド配列は、PSORTコンピュータプログラムによって、0.7380の確実性で原形質膜の外側に局在することが予測される。SignalPコンピュータプログラムは、切断可能なN末端配列が存在し、最も可能性の高い切断部位は、配列VTG-DEにおいて、残基22と23との間の切断部位であることを予測する。

【0040】

187残基のRattus norvegicusホスファチジルエタノールアミン結合タンパク質(PEBP)(23kDaモルヒネ結合タンパク質)(P23K)(ACC:P31044)に対して、このコードされたポリペプチドの

128残基のうちの52残基(40%)が同一であり、そして128残基のうちの72残基(56%)がポジティブである。

【0041】

186残基のヒトホスファチジルエタノールアミン結合タンパク質(PEBP)(ニューロペプチドH3)(ACC:P30086)に対して、このコードされたタンパク質はまた、120残基のうちの44残基(36%)が同一、そして120残基のうちの66残基(55%)のポジティブである。これらの類似性の結果として、本発明のSEC1タンパク質は、膜結合(membrane associated)機能または膜結合(membrane binding)機能を有するタンパク質を含む。

【0042】

SEC1ポリペプチドは、この開示されたSEC1核酸配列によってコードされる本発明の膜結合タンパク質、ならびに翻訳後修飾の結果としてそこから生じる任意の成熟タンパク質を含む。従って、本発明のタンパク質は、SEC1タンパク質の前駆体および任意の活性型の両方を含む。

【0043】

(SEC2)

本発明のSEC2核酸は、クローン4011999の核酸配列(配列番号3)を含む。この核酸配列は、図2に示される。この開示されるヌクレオチド配列は、734ヌクレオチドを含む。ORFは、ヌクレオチド66~68の開始コドンで始まるヌクレオチド配列中に存在する。終止コドンは、このORF中には存在しない。

【0044】

コードされたタンパク質は、図2に示されるような、223アミノ酸残基(配列番号4)を含み、推定分子量が24499ダルトンである、分泌タンパク質である。開示されるSEC2ポリペプチドは、確実性0.8056で、原形質膜に局在するとPSORTコンピュータープログラムによって推測される。SignalPコンピュータープログラムは、このタンパク質が、切断可能なN末端シグナル配列を保有するようであると推測する。有望な切断部位は、配列SLSL

Dにおいて、残基27と残基28との間である。

【0045】

開示されるSEC2ポリペプチドの残基79~153を含むセグメントは、270アミノ酸残基のヒトPMS2関連タンパク質HPMSR6 (SPTREMBL-ACC:Q13670) に対して76アミノ酸残基のうちの55残基(72%)が同一であり、そして上記ヒトPMS2関連タンパク質HPMSR6に対して76残基のうちの61残基(80%)がポジティブである。このタンパク質は、Nicolaidesら、Genomics 30:195~206、1995に記載される。

【0046】

残基109~219を含むこの開示されるポリペプチドのセグメントは、287残基のヒトウロプラキン(uroplakin) III (SPTREMBL-ACC:O75631) (分化依存性の細胞表面糖タンパク質) に対して127残基のうちの48残基(37%)が同一であり、そして上記ウロプラキンIIIに対して127残基のうちの69残基(54%)がポジティブである。

【0047】

ウロプラキンIIIは、47kDaの組織特異的かつ分化依存性の尿路上皮細胞表面糖タンパク質である。Wuら、J. Cell. Sci. 106:31~43、1993を参照のこと。47kDa糖タンパク質であるウロプラキンIII (UPIII) は、ウロプラキンI (27kDa) およびウロプラキンII (15kDa) とともに、非対称性単位膜(AUM)を形成し、この膜は、膀胱上皮の先端表面に特徴的である、高度に特殊化した生体膜である。脱グリコシル化およびcDNA配列決定により、UPIIIが、28.9kDaのコアタンパク質に結合した20kDaまでのN結合型糖を含むことが明らかになった。N末端シグナルペプチド配列およびカルボキシル末端付近に位置する単一の膜貫通ドメインの存在、ならびに可能なNグリコシル化部位すべてのアミノ末端位置は、I型(すなわち、N-エキソ/C-サイト)の膜貫通(spanning)立体構造の証拠となる。従って、UPIIIの細胞外ドメインの質量(20kDa、プラス20kDaまでの糖)は、その細胞内ドメインの質量(5kDa)を大幅に超

える。このような非対照的質量分布は、他の主要なウロプラキンにより共有される特徴であり、この分布は、AUMの管腔リーフレットが細胞質のリーフレットのほぼ2倍の厚さである理由に関する分子的説明を提供する。主要なAUMタンパク質間のUPIIIのみが重要な細胞質ドメインを保有するという事実は、この分子が、最終分化した尿路上皮細胞におけるAUM - 細胞骨格相互作用において重要な役割を果たし得ることを示唆する。

【0048】

本発明のタンパク質は、開示されるSEC2核酸によりコードされるアミノ酸配列を有するポリペプチド、ならびに翻訳後修飾の結果としてそのポリペプチドから生じる任意の成熟タンパク質を含む。従って、本発明のタンパク質は、そのSEC2タンパク質の前駆体および任意の活性形態の両方を包含する。本発明のSEC2タンパク質は、ウロプラキン様タンパク質の機能的活性を有するポリペプチドを含む。

【0049】

(SEC3)

本発明のSEC3核酸およびポリペプチドは、クローン17089878.0.5の核酸配列(配列番号5)を含む。この開示されるSEC3核酸配列は、2672ヌクレオチド長であり図3に示される。この配列は、ヌクレオチド264~2630を含むORFを含む。このORFは、788アミノ酸残基(配列番号6)の、推定分子量が88337ダルトンである、分泌タンパク質をコードする。コードされるポリペプチドの配列は、図2に示される。

【0050】

開示されるSEC3核酸の発現は、唾液腺および胎児脳組織において検出される。

【0051】

コードされるポリペプチドは、確実性0.4600で、原形質膜に局在するとPSORTコンピュータープログラムによって推測される。SignalPコンピュータープログラムは、切断可能なN末端シグナル配列が存在することを予測し、最も可能性のある切断部位は、配列CSP-EIにおいて、残基22と残基

23との間である。

【0052】

コードされるタンパク質は、*Gallus gallus* (ニワトリ)の789残基のカドヘリン-10前駆体(ACC:P79995)に対して788残基のうちの729残基(92%)が同一であり、そして上記カドヘリン-10前駆体に対して788残基のうちの758残基(96%)がポジティブである。さらに、このSEC3タンパク質は、790残基ヒトカドヘリン-6前駆体(腎臓カドヘリン; K-カドヘリン)(ACC:P55285)に対して790残基のうちの577残基(73%)が同一であり、そして上記ヒトカドヘリン-6前駆体に対して790残基のうちの676残基(85%)がポジティブである。

【0053】

このコードされるタンパク質はまた、ラットカドヘリン-10に対して650残基のうちの636残基(97%)が同一であり、そして上記ラットカドヘリン-10に対して650残基のうちの645残基(99%)がポジティブである。ラットカドヘリン-10は、653残基のタンパク質である。米国特許第5,597,725号および米国特許第5,646,250号を参照のこと。従って、本発明のSEC3ポリペプチドは、このカドヘリンタンパク質ファミリーの新規なメンバーを含む。

【0054】

以前に記載されたカドヘリンファミリーのメンバーとしては、例えば、ラットおよびヒトのカドヘリン-5、カドヘリン-8、カドヘリン-10、カドヘリン-11、カドヘリン-12およびカドヘリン-13が挙げられる。カドヘリンは、カルシウム依存性細胞接着タンパク質である。これらは、アミノ末端細胞外ドメイン(結合特異性を決定する)、疎水性膜貫通領域、およびカルボキシル末端細胞質ドメイン(このカドヘリンスーパーファミリーのメンバー間で高度に保存されている)を有する、グリコシル化内在性膜タンパク質である。このカルボキシル末端ドメインは、カテニンおよび他の細胞骨格関連タンパク質を介して、細胞骨格と相互作用する。カドヘリンタンパク質は、種々の癌におけるカドヘリンの役割の分析において使用され得る。このカドヘリンタンパク質の配列分析はま

た、カドヘリンの構造および機能の調査を可能にする。

【0055】

このカドヘリンタンパク質は、抗カドヘリン抗体を使用して単離され得る。これらの抗体はまた、カドヘリンの活性を調節するため、ならびにカドヘリンタンパク質の組織特異的分布を決定するために、使用され得る。カドヘリンの各サブクラスは、独自の組織分布パターンを有する。

【0056】

本発明のSEC3ポリペプチドは、開示されたSEC3核酸によりコードされるポリペプチド、ならびに翻訳後修飾の結果としてそれから生じる任意の成熟タンパク質を含む。従って、本発明のタンパク質は、このSEC3タンパク質の前駆体および任意の活性形態の両方を含む。

【0057】

(SEC4)

本発明のSEC4核酸は、17089878.0.6のヌクレオチド配列(配列番号7)を含み、この配列は、図4に示される。

【0058】

SEC4のヌクレオチド配列は、1820塩基対を含み、これは、ヌクレオチド285~1706のオープンリーディングフレームを含む。このORFは、分子量52922.6ダルトンを有する、473アミノ酸残基(配列番号8)のポリペプチドをコードする。コードされるポリペプチドの配列はまた、図4に示される。

【0059】

開示されるSEC4ポリペプチドは、確実性0.7000で、原形質膜に局在するとPSORTコンピュータープログラムによって推測され、切断可能なN末端シグナル配列を保有しないようである。

【0060】

コードされるポリペプチド配列(配列番号8)は、開示されたSEC3(配列番号6)タンパク質の短縮形態であるようである。コードされるSEC4ポリペプチドは、そのSEC3タンパク質のアミノ酸残基316で開始し、そのSEC

3タンパク質のC末端アミノ酸残基に対応するアミノ酸で終了する。

【0061】

開示されるSEC4ポリペプチドは、*Gallus gallus* (ニワトリ)由来の789残基のカドヘリン-10前駆体(ACC:P79995)に対して473残基のうちの445残基(94%)が同一であり、そして上記カドヘリン-10前駆体に対して473残基のうちの465残基(98%)がポジティブである。さらに、この開示されるポリペプチドは、790残基ヒトカドヘリン-6前駆体(腎臓カドヘリン; K-カドヘリン)(ACC:P55285)に対して476残基のうちの346残基(72%)が同一であり、そして上記ヒトカドヘリン-6前駆体に対して476残基のうちの415残基(87%)がポジティブである。SEC4は、従って、このカドヘリンタンパク質ファミリーの新規なメンバーを示すと考えられ、そしてSEC3のスプライス改変体を示し得る。

【0062】

SEC4によりコードされる本発明のタンパク質は、本明細書中に記載されるORFによりコードされているような開示されるタンパク質、ならびに翻訳後修飾の結果としてそれから生じる任意の成熟タンパク質を含む。従って、本発明のタンパク質は、このSEC4タンパク質の前駆体および任意の活性形態の両方を含む。

【0063】

(SEC5)

本発明によるSEC5核酸は、1795045.0.61の核酸配列(配列番号9)を含み、この配列は、図5に示される。

【0064】

開示されるヌクレオチド配列は、1508ヌクレオチドを含む。ヌクレオチド226~1461を含むオープンリーディングフレーム(ORF)が、この配列中に存在する。このORFは、推定分子量が46054.5ダルトンである、411アミノ酸残基(配列番号10)の分泌タンパク質をコードする。コードされるポリペプチドは、確実性0.4500で、細胞質に局在するとPSORTコンピュタープログラムによって推測され、切断可能なN末端シグナル配列を保有

しないようである。

【0065】

コードされるポリペプチドは、510アミノ酸残基のヒトリンパ球関連レセプターである、デス2 (ACC:000276) に対して198残基のうちの51残基(25%)が同一であり、そして上記デス2に対して198残基のうちの71残基(35%)がポジティブである。

【0066】

SEC5は、脳(特に、視床)、下垂体、および10個のヒト総RNA(脳、胎児脳、肝臓、胎児肝臓、骨格筋、脾臓、腎臓、心臓、肺および膵臓)において、発現される。

【0067】

本発明のSEC5タンパク質は、コードされるSEC5タンパク質、ならびに翻訳後修飾の結果としてそれから生じる任意の成熟タンパク質を含む。従って、本発明のタンパク質は、このSEC5タンパク質の前駆体および任意の活性形態の両方を含む。

【0068】

(SEC6)

本発明に従うSEC6核酸は、204229740.132の核酸配列(配列番号11)を含む。この開示された配列を、図6に示す。この配列は、2155ヌクレオチド長であり、ヌクレオチド166~1938に広がるORFを含む。このORFは、590アミノ酸残基(配列番号12)の分泌タンパク質をコードする。このコードされたタンパク質は、66532.5ダルトンの推定分子量を有する。

【0069】

このコードされるポリペプチドは、PSORTコンピュータープログラムによって、0.7480の確実性でマイクロボディ(ペルオキシソーム)に局在することが予想される。SignalPコンピュータープログラムによって、切断可能なN末端シグナル配列は存在しないが、おそらく切断部位は配列GIG-AE中の残基20と21との間に存在するであろうことが、推定される。

【0070】

このコードされるポリペプチドは、Mus Musculus (マウス)由来の834残基のセマフォリンI (semaphorin I) (神経ネットワーク発達におけるM-SEMAFA因子) (ACC:Q64151)に対して582残基のうちの497残基(85%)が同一であり、そしてこのセマフォリンIに対して582残基のうちの536残基(92%)がポジティブである。さらに、SEC6タンパク質は、862残基のヒトセマフォリン(ACC:Q92854)に対して506残基のうちの247残基(48%)が同一であり、そしてこのセマフォリンに対して506残基のうちの330残基(65%)がポジティブである。従って、SEC6は、新規ヒトセマフォリンを表すと考えられる。

【0071】

セマフォリンは、CD100として以前に同定された(Hallら、Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 93(21):11780-11785、1996)。ヒト白血球活性化抗原であるCD100は、セマフォリンであると報告される。セマフォリンは、近年、神経系発達の間在先駆ニューロン(pioneering neuron)を指向する神経化学忌避物質(neuronal chemorepellant)として記載された。さらに、CD100は、インビトロにおいてB細胞の凝集を誘導し、B細胞の生存性を改善することが示された。これらの結果より、CD100によって例示されるセマフォリンはまた、免疫系においても機能的役割を果たすことが、示唆される。本明細書中に記載される新規ヒトセマフォリン様タンパク質は、免疫系組織の増殖および/または分化において機能的役割を有し、そして、体の他の組織において同様の役割を有する。

【0072】

本発明のSEC6ポリペプチドは、開示されたSEC6ポリペプチド、および翻訳後修飾の結果として上記ポリペプチドから生じる任意の成熟タンパク質を含む。従って、本発明のタンパク質は、SEC6タンパク質の前駆体および任意の活性形態の両方を含む。

【0073】

(S E C 7)

本発明の S E C 7 核酸は、クローン 2 0 4 2 2 9 7 4 _ 2 の核酸配列 (配列番号 1 3) を含む。この開示されたヌクレオチド配列を、図 7 に示す。この開示されたヌクレオチド配列は、2 2 8 4 塩基対を含む。オープンリーディングフレーム (O R F) が、ヌクレオチド 1 6 6 ~ 1 9 5 6 に存在する。図 7 はまた、このコードされたタンパク質のアミノ酸配列 (配列番号 1 4) を示す。このコードされたタンパク質は、5 9 6 アミノ酸残基を含む分泌タンパク質であり、6 6 9 6 9 . 8 ダルトンの推定分子量を有する。

【 0 0 7 4 】

このコードされるポリペプチドは、P S O R T コンピュータープログラムによって、0 . 7 4 8 0 の確実性でマイクロボディ (ペルオキシソーム) に局在することが予想される。S i g n a l P コンピュータープログラムによって、切断可能な N 末端シグナル配列は存在しないが、おそらく切断部位は配列 G I G - A E 中の残基 2 0 と 2 1 との間に存在するであろうことが、推定される。

【 0 0 7 5 】

開示された S E C 7 タンパク質は、M u s M u s c u l u s の 8 3 4 残基のセマフォリン I (神経ネットワーク発達における M - S E M A F A 因子) (A C C : Q 6 4 1 5 1) に対して 5 8 5 残基のうちの 4 9 8 残基 (8 5 %) が同一であり、そしてこのセマフォリン I に対して 5 8 5 残基のうちの 5 4 0 残基 (9 2 %) がポジティブである。さらに、このタンパク質は、8 6 2 残基のヒトセマフォリンタンパク質 (A C C : Q 9 2 8 5 4) に対して 5 5 8 残基のうちの 2 6 5 残基 (4 7 %) が同一であり、そしてこのセマフォリンに対して 5 5 8 残基のうちの 3 5 3 残基 (6 3 %) がポジティブである。従って、S E C 7 は、新規ヒトセマフォリンを表すと考えられる。

【 0 0 7 6 】

S E C 7 によってコードされる本発明のタンパク質は、本明細書中に記載された O R F によってコードされている開示されたタンパク質、および翻訳後修飾の結果として上記タンパク質から生じる任意の成熟タンパク質を含む。従って、本発明のタンパク質は、S E C 7 タンパク質の前駆体および任意の活性形態の両方

を含む。

【0077】

本発明のSEC7ポリペプチドは、開示されたSEC7ポリペプチド、および翻訳後修飾の結果として上記ポリペプチドから生じる任意の成熟タンパク質を含む。従って、本発明のタンパク質は、SEC7タンパク質の前駆体および任意の活性形態の両方を含む。

【0078】

(SEC8)

本発明に従うSEC8核酸は、単離物20936375.0.1の核酸配列(配列番号15)を含む。この配列を、図8に示す。このヌクレオチド配列は、1930塩基対であり、ヌクレオチド148~1758のORFを含む。このORFは、536アミノ酸残基(配列番号16)を含む分泌タンパク質をコードし、これはまた、図8に示される。このコードされるタンパク質は、60306.7ダルトンの推定分子量を有し、そして、PSORTコンピュータープログラムによって、0.7000の確実性で原形質膜に局在することが予想される。SignalPコンピュータープログラムによって、切断可能なN末端シグナル配列は存在しないが、おそらく切断部位は配列SWC-CC中の残基15と16との間に存在するであろうことが、推定される。

【0079】

このコードされるタンパク質は、ジアゼパムレセプターまたはアゴニストとして活性を有するウシ脳膜タンパク質(SWISSPROT-ACC:P07106)に対して531残基のうちの453残基(85%)が同一であり、そしてこのタンパク質に対して531残基のうちの482残基(90%)がポジティブである。このウシタンパク質は、WO8604239-Aに記載される。このクローンの起源が腎臓由来であるという点、およびこのクローンが原形質膜に局在するという推察から、このコードされるタンパク質は、おそらく、シグナル伝達経路に關与するレセプターを示すようである。

【0080】

本発明のSEC8ポリペプチドは、開示されるSEC8ポリペプチド、および

翻訳後修飾の結果として上記ポリペプチドから生じる任意の成熟タンパク質を含む。従って、本発明のタンパク質は、SEC8ポリペプチドの前駆体および任意の活性形態の両方を含む。

【0081】

(SEC9)

本発明に従うSEC9核酸は、20936785.0.1の核酸配列(配列番号17)を含む。この配列を、図9に示す。この開示された630ヌクレオチド配列は、ヌクレオチド123~626のORFを含む。図9はまた、このORFが、167アミノ酸残基(配列番号18)を含む分泌タンパク質をコードすることを明らかにする。このコードタンパク質は、18440ダルトンの推定分子量を有し、そして、PSORTコンピュータープログラムによって、0.6400の確実性で原形質膜に局在することが予想される。SignalPコンピュータープログラムによって、切断不可能なN末端シグナル配列が存在するが、おそらく切断部位は配列TPR-LS中の残基31と32との間に存在するであろうことが、推定される。

【0082】

本発明のSEC9ポリペプチドは、開示されたSEC9ポリペプチド、および翻訳後修飾の結果として上記ポリペプチドから生じる任意の成熟タンパク質を含む。従って、本発明のタンパク質は、SEC9ポリペプチドの前駆体および任意の活性形態の両方を含む。

【0083】

(SEC10)

本発明に従うSEC10核酸は、図10に示される核酸配列(配列番号19)を含む。この開示された配列は、1737ヌクレオチドであり、ヌクレオチド296~1690のオープンリーディングフレームを含む。このオープンリーディングフレームは、464アミノ酸残基のポリペプチド(配列番号10)をコードし、このポリペプチドは、51645.6ダルトンの推定分子量を有する。この開示されたSEC10核酸は、脳、特に視床で発現される。

【0084】

このコードされるポリペプチドは、P S O R T コンピュータープログラムによって、0.4500の確実性で細胞質に局在し、切断可能なN末端シグナル配列は保有しないようであることが推定される。

【0085】

このコードされるポリペプチドは、510アミノ酸残基のヒトリンパ球関連レセプターのデス2 (death 2) (ACC:000276) に対して198残基のうちの51残基(25%)が同一であり、そしてこのレセプターにが対して198残基のうちの71残基(35%)がポジティブである。

【0086】

このコードされるSEC10タンパク質は、上記の開示されたSEC5ポリペプチドに関連する。SEC5タンパク質(1795045.0.61)とSEC10タンパク質とのアラインメントを、図14に示す。このアラインメントによって：(i) SEC10のスプライス改変体は、さらなる53残基を含むアミノ末端セグメントを保有すること；および(ii) SEC5配列とSEC10配列は、重複する領域の3番目のアミノ酸残基から始まって、同一であること、が示される。SEC5の核酸配列(配列番号9)およびSEC10の核酸配列(配列番号19)は、図5および図10に示される配列中に含まれる5'非翻訳領域において異なり、そしてSEC5が、スプライシングによって除去されると推定されるタンパク質領域をコードするセグメントを欠く点において異なる。

【0087】

本発明のSEC10ポリペプチドは、開示されたSEC10ポリペプチド、および翻訳後修飾の結果として上記ポリペプチドから生じる任意の成熟タンパク質を含む。従って、本発明のタンパク質は、SEC10ポリペプチドの前駆体および任意の活性形態の両方を含む。

【0088】

(SEC11)

本発明に従うSEC11核酸は、204229740.132__132の核酸配列(配列番号21)を含む。図11は、開示されたSEC11核酸配列を示す。この開示されたヌクレオチド配列は、2156ヌクレオチド長であり、そして

ヌクレオチド166～2040のオープンリーディングフレーム(ORF)を含む。このORFは、624アミノ酸残基を含むタンパク質をコードし、このタンパク質は、70478.1ダルトンの推定分子量を有する。SEC11タンパク質のポリペプチド(配列番号22)は、PSORTコンピュータープログラムによって、0.7480の確実性でマイクロボディ(ペルオキシソーム)に局在することが予想される。SignalPコンピュータープログラムによって、切断可能なN末端シグナル配列は存在しないが、おそらく切断部位は配列GIG-AE中の残基20と21との間に存在するであろうことが、推定される。

【0089】

SEC11は、Mus Musculus(マウス)由来の834残基のセマフォリンI(神経ネットワーク発達におけるM-SEMAFA因子)(ACC:Q64151)に対して599残基のうちの501残基(83%)が同一であり、そしてこのセマフォリンIに対して599残基のうちの542残基(90%)がポジティブである。さらに、SEC11タンパク質は、862残基のヒトセマフォリン(ACC:Q92854)に対して527残基のうちの256残基(48%)が同一であり、およびこのセマフォリンに対して527残基のうちの341残基(64%)がポジティブである。従って、SEC11は、新規ヒトセマフォリンを表すと考えられる。セマフォリンは、上に記載された。

【0090】

本発明のSEC11ポリペプチドは、開示されたSEC11ポリペプチド、および翻訳後修飾の結果として上記ポリペプチドから生じる任意の成熟タンパク質を含む。従って、本発明のタンパク質は、SEC11ポリペプチドの前駆体および任意の活性形態の両方を含む。

【0091】

(SEC12)

本発明に従うSEC12核酸は、20936375.0.104の核酸配列(配列番号23)を含む。この配列を、図12に示す。開示されたヌクレオチド配列は、1930塩基対であり、ヌクレオチド7～1608のオープンリーディングフレーム(ORF)を含む。このコードされるポリペプチドは、534アミノ

酸残基（配列番号24）を含み、このポリペプチドは、60037.7ダルトンの推定分子量を有する。このコードされるポリペプチドは図12に示され、そして、PSORTコンピュータープログラムによって、0.7000の確実性で原形質膜に局在することが予想される。SignalPコンピュータープログラムによって、切断可能なN末端シグナル配列は存在しないが、おそらく切断部位は配列SWC-CC中の残基15と16との間に存在するであろうことが、推定される。

【0092】

SEC12タンパク質は、ジアゼパムレセプターまたはアゴニストとして活性を有するウシ脳膜タンパク質（SWISSPROT-ACC:P07106）（これは、WO8604239に記載される）に対して531残基のうちの453残基（85%）が同一であり、そしてこのタンパク質に対して531残基のうちの482残基（90%）がポジティブである。このクローンの起源が腎臓由来であるという点、およびこのクローンが原形質膜に局在するという推察から、本発明のSEC12ポリペプチドは、おそらく、シグナル伝達経路に関与するレセプターを示すようである。

【0093】

この開示されたSEC12タンパク質は、上記の開示されたSEC8ポリペプチドに関連する。SEC8タンパク質と関連するSEC12タンパク質（配列番号24）とのアラインメントを、図13に示す。これより、これらの配列が、それぞれの427位/474位におけるミスマッチ、およびアミノ末端以外は、実質的に同一であることが示される。

【0094】

SEC12によってコードされる本発明のタンパク質は、本明細書中に記載されるORFによってコードされるとして開示されたタンパク質、および翻訳後修飾の結果として上記タンパク質から生じる任意の成熟タンパク質を含む。従って、本発明のタンパク質は、SEC12タンパク質の前駆体および任意の活性形態の両方を含む。

【0095】

(SEC核酸)

本発明の新規核酸は、SECXタンパク質もしくはSEC様タンパク質、またはその生物学的に活性な部分をコードする核酸を含む。従って、コードされるポリペプチドとしては、例えば、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、および/または24のアミノ酸配列が挙げられる。

【0096】

いくつかの実施形態において、本発明に従うSECX核酸は、成熟形態のSECXポリペプチドをコードする。本明細書中に使用される場合、本発明に開示される「成熟」形態のポリペプチドまたはタンパク質は、天然に存在するポリペプチドまたは前駆体形態またはプロタンパク質の産物である。天然に存在するポリペプチド、前駆体またはプロタンパク質としては、非限定的な例として、対応する遺伝子によってコードされる全長の遺伝子産物が挙げられる。あるいは、これは、本明細書中に記載されるオープンリーディングフレームによってコードされる、ポリペプチド、前駆体、またはプロタンパク質として定義され得る。産物の「成熟」形態は、再び非限定的な例として、一つ以上の天然に存在するプロセシング工程の結果として生じる。なぜなら、このプロセシング工程は、遺伝子産物を生じる細胞（すなわち、宿主細胞）内で起こり得るからである。「成熟」形態のポリペプチドまたはタンパク質を導くそのようなプロセシング工程の例としては、オープンリーディングフレームの開始コドンによってコードされるN末端メチオニン残基の切断、またはシグナルペプチドもしくはリーダー配列のタンパク質分解切断が挙げられる。従って、残基1～N（ここで、残基1は、N末端メチオニンである）を有する、前駆体ポリペプチドまたは前駆体タンパク質から生じる成熟形態は、N末端メチオニンの除去後に、残存する残基2～Nを有する。あるいは、残基1～N（ここで、残基1～残基MのN末端シグナル配列が、切断される）を有する、前駆体ポリペプチドまたは前駆体タンパク質から生じる成熟形態は、残存する残基M+1～残基Nの残基を有する。さらに、本明細書中に使用される場合、「成熟」形態のポリペプチドまたはタンパク質は、タンパク質分解切断事象以外の翻訳後修飾の工程から生じ得る。このようなさらなるプロセスとしては、非限定的な例として、グリコシル化、ミリスチル化またはリン酸化が挙

げられる。一般的に、成熟ポリペプチドまたは成熟タンパク質は、これらのプロセスの内の1つのみの作用、またはこれらのいずれかの組み合わせの作用から生じ得る。

【0097】

いくつかの実施形態において、1つ以上のSECXポリペプチドのアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードする核酸としては、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、または23の内のいずれかの核酸配列、あるいはこれらのフラグメントが挙げられる。さらに、本発明は、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、または23のいずれかの変異核酸または改変核酸、あるいはこれらのフラグメント（これらの任意の塩基は、SEC様の生物学的活性および生理学的機能を保持するタンパク質をさらにコードしながら、開示された配列から変えられ得る）が挙げられる。本発明はさらに、SECX核酸（例えば、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23）の核酸配列の相補体（そのフラグメント、誘導体、アナログおよびホモログを含む）を含む。本発明はさらに、構造に化学改変を含む、核酸もしくは核酸フラグメントあるいはこれらに対する相補体を含む。

【0098】

さらに、SECコード核酸（例えば、SECX mRNA）を同定するためのハイブリダイゼーションプローブとしての使用に十分な核酸フラグメント、およびSECX核酸分子の増幅または変異のためのポリメラーゼ連鎖反応（PCR）プラとしての使用のためのフラグメントが、含まれる。本明細書中に使用される場合、用語「核酸分子」は、DNA分子（例えば、cDNAまたはゲノムDNA）、RNA分子（例えば、mRNA）、ヌクレオチドアナログを用いて作製されたDNAアナログまたはRNAアナログ、ならびに、これらの誘導体、フラグメント、およびホモログを含むことが意図される。核酸分子は、一本鎖であっても、二本鎖であってもよいが、好ましくは、二本鎖DNAである。

【0099】

用語「プローブ」とは、種々の長さの核酸配列をいい、好ましくは、使用に依

存して、少なくとも約10ヌクレオチド(nt)、100nt、または例えば、約6,000ntほどの大きさの間である。プローブは、同一、類似または相補的な核酸配列の検出において使用される。より長いプローブは、通常、天然供給源または組換え供給源から入手され、非常に特異的であり、そしてオリゴマーよりもはるかに遅くハイブリダイズする。プローブは、一本鎖または二本鎖であり得、そしてPCR、メンブレンベースのハイブリダイゼーション技術またはELISAのような技術において特異性を有するように設計される。

【0100】

用語「単離された」核酸分子は、この核酸の天然の供給源中に存在するその他の核酸分子から分離されているものである。単離された核酸分子の例としては、ベクター中に含まれる組換えDNA分子、異種宿主細胞中に維持される組換えDNA分子、部分的または実質的に精製された核酸分子、および合成DNAまたはRNA分子が挙げられるが、これらに限定されない。好ましくは、「単離された」核酸は、この核酸が由来する生物のゲノムDNA中でこの核酸に天然に隣接する配列(すなわち、この核酸の5'末端および3'末端に位置する配列)を含まない。例えば、種々の実施形態で、単離されたSECX核酸分子は、この核酸が由来する細胞のゲノムDNA中でこの核酸に天然で隣接する、約50kb、25kb、5kb、4kb、3kb、2kb、1kb、0.5kb、または0.1kb未満のヌクレオチド配列を含み得る。さらに、「単離された」核酸分子、例えば、cDNA分子は、組換え技術により産生される場合、その他の細胞物質または培養培地を実質的に含まないか、または化学的に合成される場合、化学物質前駆体もしくはその他の化学物質を実質的に含まないものであり得る。

【0101】

本発明の核酸分子、例えば、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21もしくは23のヌクレオチド配列を有する核酸分子、またはこれらのヌクレオチド配列の任意の相補体は、標準的な分子生物学的技法および本明細書で提供される配列情報を用いて単離され得る。ハイブリダイゼーションプローブとして、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21または23の核酸の全部または一部を使用して、SECX核酸配列は、標

準的なハイブリダイゼーションおよびクローニング技術(例えば、Sambrookら(編)、MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL第2版、Cold Spring Harbor Laboratory Press、Cold Spring Harbor、NY、1989; およびAusubelら、(編)、CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY、John Wiley & Sons、New York、NY、1993に記載されるように)を用いて単離され得る。

【0102】

本発明の核酸は、標準的なPCR増幅技法に従って、テンプレートとしてcDNA、mRNAあるいはゲノムDNA、および適切なオリゴヌクレオチドプライマーを用いて増幅され得る。このように増幅された核酸は、適切なベクター中にクローン化され、そしてDNA配列分析により特徴付けられ得る。さらに、SECXヌクレオチド配列に対応するオリゴヌクレオチドは、標準的な合成技術、例えば、自動化DNA合成機を用いることにより調製され得る。

【0103】

本明細書で用いられる用語「オリゴヌクレオチド」は、一連の連結されたヌクレオチド残基をいい、このオリゴヌクレオチドは、PCR反応で用いられ得る十分な数のヌクレオチド塩基を有する。短いオリゴヌクレオチド配列は、ゲノム配列もしくはcDNA配列に基づき得るか、またはそれから設計され得、そして特定の細胞もしくは組織において、同一、類似もしくは相補的DNAまたはRNAを増幅し、確認し、もしくはその存在を示すために用いられる。オリゴヌクレオチドは、約10nt、50nt、または100ntの長さ、好ましくは約15nt~30ntの長さを有する核酸配列の部分を含む。1つの実施形態では、100ntより少ない長さの核酸分子を含むオリゴヌクレオチドは、さらに、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21もしくは23の少なくとも6個連続するヌクレオチド、またはその相補体を含む。オリゴヌクレオチドは、化学的に合成され得、そしてプローブとして用いられ得る。

【0104】

別の実施形態では、本発明の単離された核酸分子は、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、もしくは23に示されるヌクレオチド配列またはこのヌクレオチド配列の一部の相補体である核酸分子を含む。さらに別の実施形態では、本発明の単離された核酸分子は、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21または23のいずれかに相補的な核酸分子またはそのヌクレオチド配列の一部を含む。示されるヌクレオチド配列に相補的である核酸分子は、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21または23のいずれかに示されるヌクレオチド配列に十分相補的である核酸分子であり、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21または23のいずれかに示されるヌクレオチド配列に対しミスマッチがほとんどまたは全くなく水素結合し得、それによって安定な二本鎖を形成する。

【0105】

本明細書で用いる用語「相補的」は、核酸分子のヌクレオチド単位間のWatson-CrickまたはHoogsteen塩基対形成をいい、一方、用語「結合」は、2つのポリペプチドまたは化合物または関連ポリペプチドまたは化合物またはその組合せ間の物理的または化学的相互作用を意味する。結合は、イオン性、非イオン性、ファンデルワールス性、疎水性相互作用などを含む。物理的相互作用は直接的であるかまたは間接的であり得る。間接的相互作用は、別のポリペプチドまたは化合物を介するか、またはその効果に起因し得る。直接的結合は、別のポリペプチドもしくは化合物を介して、またはその効果に起因して生じないがその代わりその他の実質的な化学的中間体を伴わない相互作用をいう。

【0106】

さらに、本発明の核酸分子は、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21もしくは23のいずれか核酸配列の一部のみ（例えば、プローブまたはプライマーとして使用され得るフラグメント、あるいはSECXの生物学的に活性な部分をコードするフラグメント）を含み得る。本明細書中に提供されるフラグメントは、少なくとも6個の（連続する）核酸配列または少なくとも4個の（連続する）アミノ酸配列（それぞれ、核酸の場合には、特異的な八

ハイブリダイゼーションを可能にし、またはアミノ酸の場合には、エピトープの特異的な認識を可能にするに十分な長さ)として規定され、そして全長配列未満のせいぜいいくらかの部分である。フラグメントは、選択された核酸配列またはアミノ酸配列の任意の連続する部分に由来し得る。誘導体は、直接的にかまたは改変もしくは部分的置換によってかのいずれかでネイティブな化合物から形成される核酸配列またはアミノ酸配列である。アナログは、ネイティブな化合物に類似する構造を有する(しかし、同一ではない)が、特定の成分または側鎖に関してそれとは異なる核酸配列またはアミノ酸配列である。アナログは、合成物であり得るか、または進化的に異なる起源に由来し得、そして野生型と比較して、類似の代謝活性または反対の代謝活性を有し得る。

【0107】

誘導体およびアナログは、以下に記載のように、誘導体またはアナログが、修飾された核酸またはアミノ酸を含む場合、全長、または全長以外のものであり得る。本発明の核酸またはタンパク質の誘導体またはアナログは、種々の実施形態において、本発明の核酸もしくはタンパク質に、同一の大きさの核酸またはアミノ酸配列にわたって、または整列した配列に比較した場合(この整列は、当該分野で公知であるコンピューター相同性プログラムによって実施される)、少なくとも約70%、80%、85%、90%、95%、98%、もしくは99%もの同一性(好ましい同一性は、80~99%)で実質的に相同であるか、あるいはそのコードする核酸がストリンジェントの、中程度にストリンジェントの、または低いストリンジェントの条件下で上記のタンパク質をコードする配列の相補体にハイブリダイズし得る、領域を含む分子を包含するが、これらに限定されない。例えば、Ausubelら、CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY、John Wiley & Sons、New York、NY、1993、および以下を参照のこと。例示のプログラムは、Gapプログラム(Wisconsin Sequence Analysis Package、Version 8 for UNIX(登録商標)、Genetics Computer Group、University Research Park、Madison、WI)(デフォルト設定を使用、

これは、SmithおよびWatermanのアルゴリズム (Adv. Appl. Math., 1981, 2: 482 - 489、これらは、その全体が参考として本明細書中に援用される) を使用する) である。

【0108】

用語「相同な核酸配列」もしくは「相同なアミノ酸配列」、またはその改変体とは、上記で考察したように、ヌクレオチドレベルまたはアミノ酸レベルにおける相同性によって特徴付けられる配列をいう。相同なヌクレオチド配列は、SECXポリペプチドのアイソフォームをコードする配列をコードする。アイソフォームは、例えば、RNAの選択的スプライシングの結果として、同一の生物の異なる組織において発現され得る。あるいは、アイソフォームは、異なる遺伝子によってコードされ得る。本発明において、相同なヌクレオチド配列は、ヒト以外の種 (哺乳動物が挙げられるが、これに限定されず、従って、例えば、マウス、ラット、ウサギ、イヌ、ネコ、ウシ、ウマおよび他の生物が挙げられ得る) のSECXポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む。相同なヌクレオチド配列はまた、天然に生じる対立遺伝子改変体および本明細書に記載されるヌクレオチド配列の変異体が挙げられるが、これらに限定されない。しかし、相同的ヌクレオチド配列は、ヒトSECXタンパク質をコードするヌクレオチド配列を含まない。相同核酸配列は、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22または24のいずれかにおける保存的アミノ酸置換 (以下を参照のこと)、およびSECX活性を有するポリペプチドをコードする核酸配列を含む。SECXタンパク質の生物学的活性は以下に記載されている。相同的アミノ酸配列は、ヒトSECXポリペプチドのアミノ酸配列をコードしない。

【0109】

ヒトSECX遺伝子のクローニングから決定されたヌクレオチド配列は、他の細胞型 (例えば、他の組織由来) におけるSECXホモログ、ならびに他の哺乳動物由来のSECXホモログを同定および/またはクローニングする際の使用のために設計されるプローブおよびプライマーの作製を可能にする。このプローブ/プライマーは、代表的には、実質的に精製されたオリゴヌクレオチドを含む。このオリゴヌクレオチドは、代表的には、(例えば、配列番号1、3、5、7、

9、11、13、15、17、19、21もしくは23のいずれかの全てまたは部分を含む)SECX核酸の、少なくとも約12個、約25個、約50個、約100個、約150個、約200個、約250個、約300個、約350個または約400個以上の連続するセンス鎖ヌクレオチド配列に、ストリンジェントな条件下でハイブリダイズするヌクレオチド配列の領域を含む。あるいは、オリゴヌクレオチド配列は、SECX核酸をコードする鎖のアンチセンス鎖の幾つかまたは全てにハイブリダイズするヌクレオチド配列の領域を含み得る。例えば、オリゴヌクレオチドは、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21もしくは23のアンチセンス鎖ヌクレオチド配列またはこれらの核酸うちの1つの天然に存在する変異体の幾つかもしくは全て、を含み得る。

【0110】

ヒトSECXヌクレオチド配列に基づくプローブは、同じまたは相同なタンパク質をコードする転写物またはゲノム配列を検出するために使用され得る。種々の実施形態において、このプローブはさらに、プローブに付着した標識基を含み、例えば、この標識基は放射性同位体、蛍光化合物、酵素、または酵素補因子であり得る。このようなプローブは、SECXタンパク質を誤って発現する細胞または組織を同定するための診断試験キットの一部として、例えば、被験体由来の細胞のサンプル中のSECXをコードする核酸のレベルを測定すること(例えば、SECX mRNAレベルを検出すること、またはゲノムSECX遺伝子が変異しているかまたは欠失しているか否かを決定すること)によって使用され得る。

【0111】

用語「SECXの生物学的に活性な部分を有するポリペプチド」は、本発明のポリペプチドの活性に類似するが必ずしも同一ではない活性を示すポリペプチドをいい、用量依存性の有無に関わらず、特定の生物学的アッセイにおいて測定されるような成熟形態を含む。「SECXの生物学的に活性な部分」をコードする核酸フラグメントは、SECXの生物学的活性(SECXタンパク質の生物学的活性は、図20に要約される)を有するポリペプチドをコードする、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21もしくは23の一部を

単離し、SECXタンパク質のコードされた部分を発現させ（例えば、インビトロでの組換え発現によって）、そしてSECXのコードされた部分の活性を評価することによって調製され得る。

【0112】

（SECXの改変体）

本発明はさらに、遺伝コードの縮重に起因して、開示されるSECXヌクレオチド配列とは異なる核酸分子を包含する。それにより、これらの核酸は、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21もしくは23に示されるヌクレオチド配列によってコードされるタンパク質と同じSECXタンパク質をコードし得る。別の実施形態において、本発明の単離された核酸分子は、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22または24に示されるアミノ酸配列を有するタンパク質をコードするヌクレオチド配列を有する。

【0113】

配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21もしくは23に示されるヒトSECXヌクレオチド配列に加えて、SECXのアミノ酸配列における変化を導くDNA配列多型は、集団（例えば、ヒト集団）内に存在し得ることが、当業者によって理解される。SECX遺伝子中のこのような遺伝的多型は、天然の対立遺伝子のバリエーションに起因して、集団内の個体間に存在し得る。本明細書中で使用される場合、用語「遺伝子」および「組換え遺伝子」は、SECXタンパク質、好ましくは哺乳動物のSECXタンパク質をコードするオープンリーディングフレームを含む核酸分子をいう。このような天然の対立遺伝子のバリエーションは、代表的には、SECX遺伝子のヌクレオチド配列において1～5%の変動性を生じ得る。天然の対立遺伝子バリエーションの結果であり、そしてSECXの機能的活性を変化させない、SECX内の任意および全てのこのようなヌクレオチドのバリエーションならびに得られるアミノ酸多型は、本発明の範囲内であると意図される。

【0114】

さらに、他の種由来のSECXタンパク質をコードし、従って、SECX核酸

の核酸配列ヒト配列とは異なる（例えば、これは、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21もしくは23とは異なる）ヌクレオチド配列を有する核酸分子は、本発明の範囲内にあることが意図される。本発明のSECXのcDNAの天然の対立遺伝子改変体およびホモログに対応する核酸分子は、本明細書中に開示されるヒトSECX核酸に対するその相同性に基づいて、ストリンジントなハイブリダイゼーション条件下で、標準的なハイブリダイゼーション技術に従うハイブリダイゼーションプローブとしてヒトcDNAまたはその一部を用いて単離され得る。

【0115】

別の実施形態では、本発明の単離された核酸分子は、少なくとも6ヌクレオチド長であり、そしてストリンジントな条件下でSECX核酸のヌクレオチド配列を含む核酸分子（例えば、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21もしくは23）にハイブリダイズする。別の実施形態では、この核酸は、少なくとも10、25、50、100、250、500または750ヌクレオチド長である。なお別の実施形態では、本発明の単離された核酸分子は、コード領域にハイブリダイズする。本明細書中で用いられる場合、用語「ストリンジントな条件下でハイブリダイズする」は、ハイブリダイゼーションおよび洗浄に関して、互いに少なくとも60%相同なヌクレオチド配列が代表的には互いにハイブリダイズしたままである条件を記載することを意図する。

【0116】

ホモログ（すなわち、ヒト以外の種由来のSECXタンパク質をコードする核酸）または他の関連配列（例えば、パラログ（paralogs））は、特定のヒト配列の全てまたは一部をプローブとし、核酸ハイブリダイゼーションおよびクローニングに関して当該分野で周知の方法を使用して、低い、中程度の、または高いストリンジエンシーのハイブリダイゼーションによって入手され得る。

【0117】

本明細書で用いられる場合、語句「ストリンジントなハイブリダイゼーション条件」は、その条件下で、プローブ、プライマーまたはオリゴヌクレオチドが、その標的配列にハイブリダイズするが、その他の配列にはハイブリダイズしな

い条件をいう。ストリンジェントな条件は配列依存性であり、そして異なる状況で異なる。より長い配列は、より短い配列より高い温度で特異的にハイブリダイズする。一般に、ストリンジェントな条件は、規定されたイオン強度およびpHで、特定の配列の熱融解点(T_m)より約5%低いように選択される。この T_m は、標的配列に相補的なプローブの50%が、平衡状態で標的配列にハイブリダイズする(規定されたイオン強度、pHおよび核酸濃度下)温度である。標的配列は一般に過剰で存在するので、 T_m では、50%のプローブが平衡状態で占有されている。代表的には、ストリンジェントな条件は、pH7.0~8.3で、塩濃度が約1.0Mナトリウムイオンより少なく、代表的には約0.01~1.0Mナトリウムイオン(またはその他の塩)、そして温度が短いプローブ、プライマーまたはオリゴヌクレオチド(例えば、10nt~50nt)について少なくとも約30%、そしてより長いプローブ、プライマーおよびオリゴヌクレオチドについて少なくとも約60%であるような条件である。ストリンジェントな条件はまた、ホルムアミドのような、脱安定化剤の添加で達成され得る。

【0118】

ストリンジェントな条件は、当業者に公知であり、そしてCURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY, John Wiley & Sons, N.Y. (1989), 6.3.1-6.3.6に見出され得る。好ましくは、この条件は、互いに少なくとも約65%、約70%、約75%、約85%、約90%、約95%、約98%または約99%相同な配列が、代表的には互いにハイブリダイズしたままであるような条件である。ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件の非限定的な例は、6xSSC、50mM Tris-HCl (pH7.5)、1mM EDTA、0.02% PVP、0.02% Ficoll、0.02% BSA、および500mg/ml変性サケ精子DNAを含む高塩緩衝液中での65%でのハイブリダイゼーションである。このハイブリダイゼーションに、0.2xSSC、0.01% BSA中での50%での1回以上の洗浄が続く。ストリンジェントな条件下でSEX核酸(本明細書中に開示されるものを含む)の配列にハイブリダイズする、本発明の単離された核酸分子は、天然に存在する核酸分子に対応する。本明細書中で

使用される場合、「天然に存在する」核酸分子とは、天然に存在する（例えば、天然のタンパク質をコードする）ヌクレオチド配列を有する、RNA分子またはDNA分子をいう。

【0119】

第2の実施形態では、SECX核酸のヌクレオチド配列（例えば、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21もしくは23）またはそれらのフラグメント、アナログもしくは誘導体のヌクレオチド配列を含む核酸分子に、中程度のストリンジェンシー条件下でハイブリダイズし得る核酸配列が提供される。中程度のストリンジェンシーハイブリダイゼーション条件の非限定的な例は、55 での6×SSC、5×デンハルト溶液、0.5% SDSおよび100mg/ml変性サケ精子DNA中でのハイブリダイゼーション、続いて1×SSC、0.1% SDS中での37 での1回以上の洗浄である。用いられ得る中程度のストリンジェンシーの他の条件は、当該分野で周知である。例えば、Ausubelら（編）、1993、CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY, John Wiley & Sons, NYおよびKriegler, 1990、GENE TRANSFER AND EXPRESSION, A LABORATORY MANUAL, Stockton Press, NYを参照のこと。

【0120】

第3の実施形態では、任意のSECX核酸のヌクレオチド配列（これは、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21もしくは23にハイブリダイズする）、またはそれらのフラグメント、アナログもしくは誘導体のヌクレオチド配列を含む核酸分子に、低ストリンジェンシー条件下でハイブリダイズし得る核酸が提供される。低ストリンジェンシーハイブリダイゼーション条件の非限定的な例は、35%ホルムアミド、5×SSC、50 mM Tris-HCl (pH7.5)、5mM EDTA、0.02% PVP、0.02% Ficoll、0.2% BSA、100mg/mlの変性サケ精子DNA、10%（重量/容量）デキストラン硫酸中での40 でのハイブリダイゼーション、続いて2×SSC、25mM Tris-HCl (pH7.4)、5mM

EDTAおよび0.1% SDS中での50 での1回以上の洗浄である。用いられ得る低ストリンジェンシーの他の条件は、当該分野で周知である（例えば、種交差ハイブリダイゼーションについて用いられるように）。例えば、Ausubelら（編）、1993、CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY, John Wiley & Sons, NYならびにKriegler, 1990、GENE TRANSFER AND EXPRESSION, A LABORATORY MANUAL, Stockton Press, NY; ShiloおよびWeinberg, 1981, Proc Natl Acad Sci USA 78:6789-6792を参照のこと。

【0121】

（保存的変異）

集団中に存在し得る、SECX配列の天然に存在する対立遺伝子改変体に加えて、当業者は、SECX核酸のヌクレオチド配列（例えば、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21もしくは23）への変異によって変化が導入され得、それによって、SECXタンパク質の機能的能力を変更することなく、コードされるSECXタンパク質のアミノ酸配列に変化がもたらされることをさらに理解する。例えば、「非必須」アミノ酸残基にてアミノ酸置換をもたらすヌクレオチド置換は、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21もしくは23のいずれかの配列において行われ得る。「非必須」アミノ酸残基は、生物学的活性を変更することなく、SECXの野生型配列から、変更され得る残基であり、一方、「必須」アミノ酸残基は、生物学的活性に必要とされる。例えば、本発明のSECXタンパク質の間で保存されているアミノ酸残基は、特に変更を受け入れ難いと予測される。

【0122】

SECXファミリーメンバーのメンバーの間で保存されているアミノ酸残基は、ほとんど変更されにくいことが推測される。例えば、本発明に従うSECXタンパク質は、SECXファミリーメンバーにおいて典型的に保存領域である少なくとも1つのドメイン（例えば、図20に示される）を含み得る。このような場

合、これらの保存されたドメインは、変異を受け入れにくいようである。しかし、他のアミノ酸残基（例えば、SECXファミリーのメンバーの間で保存されていないか、または半分のみ保存されたアミノ酸残基）は、活性について必須でなくてもよく、従って、変更を受け入れる傾向が強い。

【0123】

本発明の別の局面は、活性に必須ではないアミノ酸残基における変化を含む、SECXタンパク質をコードする核酸分子に関する。このようなSECXタンパク質は、アミノ酸配列において、SECXポリペプチドのアミノ酸配列（例えば、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、もしくは24）とは異なるが、生物学的活性をなお保持する。1つの実施形態では、単離された核酸分子は、タンパク質をコードするヌクレオチド配列を含み、ここで、このタンパク質は、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、もしくは24のいずれかのアミノ酸配列に少なくとも約75%の相同性であるアミノ酸配列を含む。好ましくは、この核酸分子によってコードされるタンパク質は、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、もしくは24のいずれかに少なくとも約80%相同性であり、より好ましくは配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、もしくは24に少なくとも約90%、約95%、約98%相同性であり、そして最も好ましくは少なくとも約99%相同性である。

【0124】

SECXポリペプチド（例えば、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、もしくは24のいずれかのアミノ酸配列を含むポリペプチド）に相同なSECXタンパク質をコードする単離された核酸分子は、対応するSECXヌクレオチド配列に1以上のヌクレオチドの置換、付加または欠失を導入することにより作製され得、その結果、1以上のアミノ酸の置換、付加または欠失が、コードされるタンパク質に導入される。

【0125】

変異は、標準技術（例えば、部位特異的変異誘発およびPCR媒介変異誘発）によってSECX核酸に導入され得る。好ましくは、保存的アミノ酸置換が、1

以上の推定非必須アミノ酸残基にて作製される。「保存的アミノ酸置換」は、アミノ酸残基が類似の側鎖を有するアミノ酸残基で置換される、アミノ酸置換である。類似の側鎖を有するアミノ酸残基のファミリーは、当該分野で定義されている。これらのファミリーとしては、以下が挙げられる：塩基性側鎖を有するアミノ酸（例えば、リジン、アルギニン、ヒスチジン）、酸性側鎖を有するアミノ酸（例えば、アルパラギン酸、グルタミン酸）、非荷電極性側鎖を有するアミノ酸（例えば、グリシン、アスパラギン、グルタミン、セリン、トレオニン、チロシン、システイン）、非極性側鎖を有するアミノ酸（例えば、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン、トリプトファン）、分枝側鎖を有するアミノ酸（例えば、トレオニン、バリン、イソロイシン）および芳香族側鎖を有するアミノ酸（例えば、チロシン、フェニルアラニン、トリプトファン、ヒスチジン）。従って、SECX中の推定された非必須アミノ酸残基は、同じ側鎖のファミリー由来の別のアミノ酸残基で置換される。あるいは、別の実施形態では、変異は、SECXコード配列の全てまたは一部に沿って（例えば、飽和変異誘発（saturation mutagenesis）によって）ランダムに導入され得、そして得られる変異体は、SECXの生物学的活性についてスクリーニングされて、活性を維持する変異体を同定し得る。SECX核酸の変異誘発に続いて、コードされるタンパク質は、当該分野で公知の任意の組換え技術によって発現され得、そしてこのタンパク質の活性が決定され得る。

【0126】

1つの実施形態では、変異SECXタンパク質は、以下についてアッセイされ得る：(i)他のSECXタンパク質、他の細胞表面タンパク質、または生物学的に活性なそれらの部分と、タンパク質：タンパク質相互作用を形成する能力、(ii)変異SECXタンパク質と、SECXのレセプターとの間の複合体形成；(iii)変異SECXタンパク質が細胞内標的タンパク質またはその生物学的に活性な部分に結合する能力；（例えば、アビジンタンパク質）；(iv)SECXタンパク質に結合する能力；あるいは(v)抗SECXタンパク質抗体に特異的に結合する能力。

【0127】

(アンチセンス核酸)

本発明の別の局面は、SECX核酸(例えば、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21または23を含む核酸)、またはそのフラグメント、アナログもしくは誘導体を含む核酸分子に、ハイブリダイズし得るかまたは相補的である単離されたアンチセンス核酸分子に関する。「アンチセンス」核酸は、タンパク質をコードする「センス」核酸に相補的であるヌクレオチド配列、例えば、二本鎖cDNA分子のコード配列に相補的であるか、またはmRNA配列に相補的であるヌクレオチド配列を含む。特定の局面では、SECXコード鎖の少なくとも約10、25、50、100、250もしくは500ヌクレオチドまたはSECXコード鎖全体に相補的、またはその一部分にのみ相補的な配列を含むアンチセンス核酸分子が提供される。

【0128】

1つの実施形態では、アンチセンス核酸分子は、SECXをコードするヌクレオチド配列のコード鎖の「コード領域」に対するアンチセンスである。用語「コード領域」は、アミノ酸残基(例えば、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、または23のタンパク質コード領域)に翻訳されるコドンを含むヌクレオチド配列の領域をいう。別の実施形態では、このアンチセンス核酸分子は、SECXヌクレオチド配列のコード鎖の「非コード領域」に対するアンチセンスである。用語「非コード領域」は、アミノ酸に翻訳されない、コード領域に隣接する5'および3'配列をいう(すなわち、5'および3'非翻訳領域ともいう)。

【0129】

本明細書に開示されるSECXをコードするコード鎖配列が与えられれば、本発明のアンチセンス核酸は、WatsonおよびCrickまたはHoogsteen塩基対合の規則に従って設計され得る。このアンチセンス核酸分子は、SECXmRNAの全コード領域に相補的であり得るが、より好ましくは、SECXmRNAのコードまたは非コード領域の一部に対してのみアンチセンスであるオリゴヌクレオチドである。例えば、このアンチセンスオリゴヌクレオチドは

、SECXmRNAの翻訳開始部位を取り囲む領域に相補的であり得る。アンチセンスオリゴヌクレオチドは、例えば、長さが約5、10、15、20、25、30、35、40、45または50ヌクレオチドであり得る。本発明のアンチセンス核酸は、当該分野で公知の手順を用いる化学的合成または酵素的連結反応を用いて構築され得る。例えば、アンチセンス核酸（例えば、アンチセンスオリゴヌクレオチド）は、天然に存在するヌクレオチド、または分子の生物学的安定性を増大するため、もしくはアンチセンス核酸とセンス核酸との間に形成される二本鎖の物理的安定性を増大するために設計された種々に改変されたヌクレオチド（例えば、ホスホロチオエート誘導体およびアクリジン置換されたヌクレオチドが用いられ得る）を用いて化学的に合成され得る。

【0130】

アンチセンス核酸を生成するために用いられ得る改変されたヌクレオチドの例は：5 - フルオロウラシル、5 - ブロモウラシル、5 - クロロウラシル、5 - ヨードウラシル、ヒポキサンチン、キサンチン、4 - アセチルシトシン、5 - (カルボキシヒドロキシルメチル)ウラシル、5 - カルボキシメチルアミノメチル - 2 - チオウリジン、5 - カルボキシメチルアミノメチルウラシル、ジヒドロウラシル、 β - D - ガラクトシルケオシン、イノシン、N6 - イソペンテニルアデニン、1 - メチルグアニン、1 - メチルイノシン、2, 2 - ジメチルグアニン、2 - メチルアデニン、2 - メチルグアニン、3 - メチルシトシン、5 - メチルシトシン、N6 - アデニン、7 - メチルグアニン、5 - メチルアミノメチルウラシル、5 - メトキシアミノメチル - 2 - チオウラシル、 β - D - マンノシルケオシン、5' - メトキシカルボキシメチルウラシル、5 - メトキシウラシル、2 - メチルチオ - N6 - イソペンテニルアデニン、ウラシル - 5 - オキシ酢酸(v)、ヴィブトキソシン(wybutoxosine)、プソイドウラシル、ケオシン(queosine)、2 - チオシトシン、5 - メチル - 2 - チオウラシル、2 - チオウラシル、4 - チオウラシル、5 - メチルウラシル、ウラシル - 5 - オキシ酢酸メチルエステル、ウラシル - 5 - オキシ酢酸(v)、5 - メチル - 2 - チオウラシル、3 - (3 - アミノ - 3 - N - 2 - カルボキシプロピル)ウラシル、(acp3)w、および2, 6 - ジアミノプリンを含む。あるいは、このアンチセ

ンス核酸は、核酸がアンチセンス方向にサブクローン化された発現ベクターを用いて生物学的に産生され得る（すなわち、挿入された核酸から転写されたRNAは、以下のサブセクションでさらに記載されるように、目的の標的核酸に対してアンチセンス配向である）。

【0131】

代表的には、本発明のアンチセンス核酸分子は、それらがSECXタンパク質をコードする細胞mRNAおよび/またはゲノムDNAとハイブリダイズするか、またはそれらに結合するように、被検体に投与されるかまたはインサイチュ（*in situ*）で生成され、それによって、例えば、転写および/または翻訳を阻害することによりタンパク質の発現を阻害する。このハイブリダイゼーションは、従来のヌクレオチド相補性により、安定な二本鎖を形成するか、または、例えば、DNA二本鎖に結合するアンチセンス核酸分子の場合、二重らせんの主溝における特異的相互作用を通じてであり得る。本発明のアンチセンス核酸分子の投与経路の例は、組織部位における直接注入を含む。あるいは、アンチセンス核酸分子は、改変されて、選択された細胞を標的にし、次いで全身的に投与され得る。例えば、全身投与には、アンチセンス分子は、それらが選択された細胞表面上に発現されたレセプターまたは抗原に特異的に結合するように改変され得る（例えば、これは、このアンチセンス核酸分子を、細胞表面レセプターまたは抗原に結合するペプチドまたは抗体に連結することによる）。このアンチセンス核酸分子はまた、本明細書に記載のベクターを用いて細胞に送達され得る。アンチセンス分子の十分な細胞内濃度を達成するために、アンチセンス核酸分子が強力なpol IIまたはpol IIIプロモーターの制御下に配置されるベクター構築物が好適である。

【0132】

なお別の実施形態では、本発明のアンチセンス核酸分子は、アノマー核酸分子である。アノマー核酸分子は、相補的RNAと特異的な二本鎖ハイブリッドを形成し、そこでは、通常のユニットとは反対に、鎖は互いに平行に走る（Gaultierら、(1987) *Nucl. Acids Res.* 15:6625-6641）。このアンチセンス核酸分子はまた、2'-O-メチルリボヌク

レオチド (Inoueら (1987) *Nucl. Acids Res.* 15: 6131-6148)、またはキメラRNA-DNAアナログ (Inoueら、(1987) *FEBS Lett.* 215: 327-330) を含み得る。

【0133】

(リボザイムおよびPNA成分)

このような核酸改変は、非制限的な例として、改変された塩基、および糖リン酸骨格が改変または誘導体化されている核酸を含む。これらの改変は、少なくとも一部分、改変された核酸の化学的安定性を、増大するために実施され、その結果、これらは、例えば、被験体における治療的適用にアンチセンス結合性核酸として用いられ得る。

【0134】

さらに別の実施形態では、本発明のアンチセンス核酸はリボザイムである。リボザイムは、それらに対してリボザイムが相補的領域を有する一本鎖核酸 (例えば、mRNA) を切断し得るリボヌクレアーゼ活性をもつ触媒的RNA分子である。従って、リボザイム (例えば、ハンマーヘッドリボザイム (HaselhoffおよびGerlach (1988) *Nature* 334: 585-591 に記載されている)) は、SECX mRNA転写物を触媒的に切断し、それによってSECX mRNAの翻訳を阻害するために用いられ得る。SECX核酸に特異性を有するリボザイムは、本明細書に開示のSECX DNAのヌクレオチド配列 (例えば、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、または23) に基づいて設計され得る。例えば、Tetrahymena L-19 IVS RNAの誘導体を、活性部位のヌクレオチド配列が、SECXをコードするmRNAにおいて切断されるヌクレオチド配列に相補的であるように構築し得る。例えば、Cechら、米国特許第4,987,071号; およびCechら、米国特許第5,116,742号を参照のこと。あるいは、SECX mRNAは、RNA分子のプールから特異的リボヌクレアーゼ活性を有する触媒的RNAを選択するために用いられ得る (Bartelら (1993) *Science* 261: 1411-1418)。

【0135】

あるいは、SECX遺伝子発現は、SECX遺伝子の調節領域（例えば、SECXプロモーターおよび/またはエンハンサー）に相補的であるヌクレオチド配列を標的にし、標的細胞中のSECX遺伝子の転写を妨害する三重らせん構造を形成することによって阻害され得る。例えば、Helene (1991) *Anticancer Drug Des.* 6:569-84; Heleneら (1992) *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 660:27-36; および Maher (1992) *Bioassays* 14:807-15を参照のこと。

【0136】

種々の実施形態では、SECXの核酸は、塩基部分、糖部分またはリン酸骨格で改変され、例えば、分子の安定性、ハイブリダイゼーション、または溶解性を改善し得る。例えば、核酸のデオキシリボースリン酸骨格を改変してペプチド核酸を生成し得る (Hyrupら (1996) *Bioorg Med. Chem.* 4:5-23)。本明細書で用いる用語「ペプチド核酸」または「PNA」は、デオキシリボースリン酸骨格がプソイドペプチド (pseudopeptide) 骨格で置換され、かつ4つの天然のヌクレオ塩基のみが保持されている、核酸模倣物、例えば、DNA模倣物をいう。PNAの中性の骨格は、低イオン強度条件下で、DNAおよびRNAへの特異的ハイブリダイゼーションを可能にすることが示されている。PNAオリゴマーの合成は、Hyrupら (1996) 上述; Perry-O'Keefeら (1996) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93:14670-675に記載のような、標準的な固相ペプチド合成プロトコールを用いて実施され得る。

【0137】

SECXのPNAは、治療適用および診断適用で用いられ得る。例えば、PNAは、例えば、転写または翻訳抑止 (arrest) を誘導すること、または複製を阻害することによる、遺伝子発現の配列特異的調節のためのアンチセンスまたはアンチ遺伝子剤として用いられ得る。SECXのPNAはまた、例えば、PNA指向型PCRクランピング (PNA directed PCR clamping) による、例えば、遺伝子中の1塩基対変異の分析に; 他の酵素、例えば、S1ヌクレアーゼと組み合わせて用いる場合、人工の制限酵素として (Hy

rup (1966) 上述を参照のこと) ; あるいはDNA配列およびハイブリダイゼーションのプロブまたはプライマーとして (Hyrupら (1966) ; Perry - O'Keefe (1996) 上述を参照のこと) 用いられ得る。

【0138】

別の実施形態では、SECXのPNAは、例えば、それらの安定性または細胞の取り込みを増大するために、PNAに親油性基またはその他の補助基を結合することによるか、PNA-DNAキメラの形成によるか、またはリボソームの使用もしくは当該分野で公知のその他の薬物送達技法によって改変され得る。例えば、PNAとDNAの有利な性質を組み合わせ得る、SECXのPNA-DNAキメラが生成され得る。このようなキメラは、PNA部分の高い結合親和性および特異性を提供しながら、DNA部分と相互作用するために、DNA認識酵素、例えば、RNase HおよびDNAポリメラーゼを許容する。PNA-DNAキメラは、塩基スタッキング、ヌクレオ塩基間の結合の数、および配向の点から選択された適切な長さのリンカーを用いて連結され得る (Hyrup (1996) 上述を参照のこと)。PNA-DNAキメラの合成は、Finnら (1996、Nucl. Acids Res. 24: 3357-3363) に記載のように実施され得る。例えば、DNA鎖を、標準的なホスホルアミダイトカップリング化学を用いて固体支持体上で合成し得、そして改変ヌクレオシドアナログ、例えば、5'-(4-メトキシトリチル)アミノ-5'-デオキシ-チミジンホスホルアミダイトを、PNAとDNAの5'末端との間に用い得る (Magら (1989) Nucl. Acid Res. 17: 5973-5988)。次いで、PNAモノマーを段階的様式でカップリングし、5'PNAセグメントと3'DNAセグメントをもつキメラ分子を生成する (Finnら (1996) 上述を参照のこと)。あるいは、キメラ分子は、5'DNAセグメントと3'PNAセグメントを有して合成され得る。例えば、Petersenら (1975) Bioorg. Med. Chem. Lett. 5: 1119-11124を参照のこと。

【0139】

その他の実施形態では、このオリゴヌクレオチドは、ペプチド (例えば、インビボで宿主細胞レセプターを標的にするため)、または細胞膜を横切る輸送を容

易にする薬剤（例えば、Letsingerら、1989、Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 86:6553-6556; Lemaitreら、1987、Proc. Natl. Acad. Sci. 84:648-652; PCT公開番号WO88/09810を参照のこと）もしくは血液脳関門を横切る輸送を容易にする薬剤（例えば、PCT公開番号WO89/10134を参照のこと）のような他の付属基を含み得る。さらに、オリゴヌクレオチドは、ハイブリダイゼーショントリガー切断剤（例えば、Krolら、1988、BioTechniques 6:958-976を参照のこと）またはインターカーレーティング剤（例えば、Zon、1988、Pharm. Res. 5:539-549を参照のこと）を用いて改変され得る。この目的のために、このオリゴヌクレオチドは、例えば、ペプチド、ハイブリダイゼーショントリガー架橋剤、輸送剤、ハイブリダイゼーショントリガー切断剤などの他の分子に連結され得る。

【0140】

（SECXポリペプチド）

本発明のポリペプチドは、SECXポリペプチドのアミノ酸配列を含むポリペプチドを含む。いくつかの実施形態において、SECXポリペプチドは、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22または24のアミノ酸配列を含む。種々の実施形態において、SECXポリペプチドは、成熟SECXポリペプチドの配列よりも長い形態で提供される。例えば、SECXポリペプチドは、アミノ末端シグナル配列を含むとして提供され得る。他の実施形態において、SECXポリペプチドは、このポリペプチドの成熟形態として提供される。

【0141】

本発明はまた、変異タンパク質または改変タンパク質（この変異タンパク質または改変タンパク質のいずれかの残基は、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22または24に示される対応する残基から変化されているが、なおSECXの活性および生理学的機能を保持するタンパク質をコードする）、または、これらの機能フラグメントを含む。

【0142】

一般に、SECX様機能を保持するSECX改変体は、配列中の特定位置の残基が他のアミノ酸により置換され、そしてさらに、親タンパク質の2つの残基間にさらなる残基（単数または複数）を挿入する可能性、および親配列から1つ以上の残基を欠失する可能性を含む任意の改変体を含む。任意のアミノ酸置換、挿入または欠失は、本発明に包含される。好適な状況では、この置換は、上記で規定されるような保存的置換である。

【0143】

本発明の1つの局面は、単離されたSECXタンパク質、およびその生物学的に活性な部分、またはその誘導体、フラグメント、アナログもしくはホモログに関する。抗SECX抗体を惹起するための免疫原としての使用に適するポリペプチドフラグメントもまた提供される。1つの実施形態では、ネイティブSECXタンパク質が、標準的なタンパク質精製技法を用いる適切な精製スキームにより、細胞または組織供給源から単離され得る。別の実施形態では、SECXタンパク質は、組換えDNA技法により生産される。組換え発現の代替えとして、SECXタンパク質またはポリペプチドは、標準的なペプチド合成技法を用いて化学的に合成され得る。

【0144】

「精製された」ポリペプチドもしくはタンパク質または生物学的に活性なその部分は、SECXタンパク質が由来する細胞または組織供給源からの細胞材料またはその他の夾雑タンパク質を実質的に含まないか、化学的に合成されたとき、化学的前駆体またはその他の化学物質を実質的に含まない。用語「細胞材料を実質的に含まない」は、SECXタンパク質が、単離されるかまたは組換えにより産生される細胞の細胞成分から分離されている、SECXタンパク質の調製物を含む。1つの実施形態では、用語「細胞材料を実質的に含まない」は、非SECXタンパク質（本明細書ではまた「夾雑タンパク質」と呼ばれる）が約30%（乾燥重量による）より少ない、より好ましくは約20%より少ない非SECXタンパク質、なおより好ましくは約10%より少ない非SECXタンパク質、そして最も好ましくは約5%より少ない非SECXタンパク質を有する、SECXタ

ンパク質の調製物を含む。このSECタンパク質または生物学的に活性なその部分が組換え産生される場合、培養培地を実質的に含まないこともまた好適である。すなわち、培養培地は、SECタンパク質調製物の容量の約20%より少ないか、より好ましくは約10%より少ないか、そして最も好ましくは約5%より少ない。

【0145】

用語「化学的前駆体またはその他の化学物質を実質的に含まない」は、タンパク質の合成に関与した化学的前駆体またはその他の化学物質からSECタンパク質が分離されている、SECタンパク質の調製物を含む。1つの実施形態では、用語「化学的前駆体またはその他の化学物質を実質的に含まない」は、化学的前駆体または非SEC化学物質を約30%（乾燥重量による）より少なく、より好ましくは化学的前駆体または非SEC化学物質を約20%より少なく、なおより好ましくは化学的前駆体または非SEC化学物質を約10%より少なく、そして最も好ましくは化学的前駆体または非SEC化学物質を約5%より少なく有するSECタンパク質の調製物を含む。

【0146】

SECタンパク質の生物学的に活性な部分は、完全長のSECタンパク質より少ないアミノ酸配列を含み、そしてSECタンパク質の少なくとも1つの活性を示す、SECタンパク質のアミノ酸配列に十分に相通的であるか、またはそれに由来するアミノ酸配列を含むペプチドを含む。代表的には、生物学的に活性な部分は、SECタンパク質の少なくとも1つの活性を有するドメインまたはモチーフを含む。SECタンパク質の生物学的に活性な部分は、例えば、10、25、50、100またはそれ以上のアミノ酸の長さのポリペプチドであり得る。

【0147】

本発明のSECタンパク質の生物学的活性な部分は、上記で同定された保存ドメインの少なくとも1つを含み得る。さらに、このタンパク質のその他の領域が欠失したその他の生物学的に活性な部分が、組換え技法により調製され、ネイティブなSECタンパク質の1つ以上の機能的活性について評価され得る。

【0148】

いくつかの実施形態では、このSECタンパク質は、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、または24の任意の1つに実質的に相同であり、そして以下に詳細に記載されるように、天然の対立遺伝子バリエーションまたは変異誘発に起因してアミノ酸配列がなお異なるが、任意のSECタンパク質の機能的タンパク質活性を保持する。従って、別の実施形態では、このSECタンパク質は、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、または24のうちのいずれかのアミノ酸配列に、少なくとも約45%相同性、より好ましくはこのアミノ酸配列に、約55%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%またはさらに99%相同性のアミノ酸配列を含み、そして、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、または24の配列を有する対応するポリペプチドの対応するSECタンパク質の機能的活性を保持するタンパク質である。

【0149】

(2つ以上の配列間の相同性の決定)

2つのアミノ酸配列または2つの核酸の相同性のパーセントを決定するために、これらの配列を最適な比較の目的物にアラインする(例えば、第2のアミノ酸配列または核酸配列との最適アラインメントのために、第1のアミノ酸配列または核酸配列の配列中にギャップを導入し得る)。次いで、対応するアミノ酸位置またはヌクレオチド位置でアミノ酸残基またはヌクレオチドを比較する。第1の配列中の位置が第2の配列中の対応する位置と同じアミノ酸残基またはヌクレオチドで占められるとき、この分子はその位置で相同である(すなわち、本明細書で用いるとき、アミノ酸または核酸の「相同性」は、アミノ酸または核酸の「同一性」と等価である)。

【0150】

核酸配列相同性は、2つの配列間の同一性の程度で決定され得る。この相同性は、GCGプログラムパッケージで提供されるGAPソフトウェアのような当該分野で公知のコンピュータプログラムを用いて決定され得る。NeedlemanおよびWunsch, 1970. J. Mol. Biol. 48:443-4

53を参照のこと。GCG GAPソフトウェアを核酸配列比較のために以下：
5.0のGAP作成ペナルティーおよび0.3のGAP伸長ペナルティーの設定
を用い、上記で言及した類似の核酸配列のコード領域は、好ましくは、配列番号
1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、または23で示さ
れたDNA配列のCDS（すなわちコードする）部分と、少なくとも70%、7
5%、80%、85%、90%、95%、98%、または99%の同一性の程度
を示す。

【0151】

用語「配列同一性」は、2つのポリヌクレオチド配列またはポリペプチド配列
が、特定の比較領域にわたって残基ごとについて同一である程度をいう。用語「
配列同一性のパーセント」は、その比較領域にわたり2つの最適にアラインされ
た配列を比較すること、両方の配列において同一の核酸塩基（例えば、核酸の場
合、A、T、C、G、U、またはI）がある位置の数を決定し、一致した位置の
数を生成すること、比較領域中の位置の総数（すなわち、ウインドウサイズ）で
一致した位置の数を除すること、およびこの結果に100を乗じ配列同一性のパ
ーセントを得ることにより算出される。本明細書で用いる用語「実質的に同一」
は、ポリヌクレオチド配列の特徴を示し、ここで、このポリヌクレオチドは、比
較領域に亘って参照配列と比較したとき、少なくとも80%の配列同一性、好ま
しくは少なくとも85%の配列同一性そしてしばしば90～95%の配列同一性
、より通常は少なくとも99%の配列同一性を有する配列を含む。

【0152】

（キメラおよび融合タンパク質）

本発明はまた、SECXキメラタンパク質またはSECX融合タンパク質を提
供する。本明細書で用いられるとき、SECX「キメラタンパク質」または「融
合タンパク質」は、非SECXポリペプチドと作動可能に連結されたSECXポ
リペプチドを含む。「SECXポリペプチド」は、例えば、配列番号2、4、6
、8、10、12、14、16、18、20、22、および/または24に示さ
れるSECXタンパク質に相当するアミノ酸配列を有するポリペプチドをいう。
「非SECXポリペプチド」または「非SECXタンパク質」は、SECXポリ

ペプチドに実質的に相同ではないタンパク質に相当するアミノ酸配列を有するポリペプチドをいう（例えば、SECXタンパク質とは異なり、しかも同一かまたは異なる生物に由来するタンパク質）。SECX融合タンパク質の中で、SECXポリペプチドは、SECXタンパク質のすべてか、またはその一部分に対応し得る。1つの実施形態では、SECX融合タンパク質は、SECXタンパク質の少なくとも1つの生物学的に活性な部分を含む。別の実施形態では、SECX融合タンパク質は、SECXタンパク質の少なくとも2つの生物学的に活性な部分を含む。なお別の実施形態では、SECX融合タンパク質は、SECXタンパク質の少なくとも3つの生物学的に活性な部分を含む。融合タンパク質において、用語「作動可能に連結される」は、SECXポリペプチドおよび非SECXポリペプチドが互いにインフレームで融合していることを示すことを意図する。非SECXポリペプチドは、SECXポリペプチドのN末端またはC末端に融合され得る。

【0153】

1つの実施形態では、この融合タンパク質は、GST-SECX融合タンパク質であり、ここではSECX配列が、GST（グルタチオンS-トランスフェラーゼ）配列のC末端に融合される。このような融合タンパク質は、組換えSECXポリペプチドの精製を容易にし得る。

【0154】

別の実施形態では、この融合タンパク質は、そのN末端に異種シグナル配列を含むSECXタンパク質である。特定の宿主細胞では（例えば、哺乳動物宿主細胞）、SECXの発現および/または分泌は、異種シグナル配列の使用により増大され得る。

【0155】

なお別の実施形態では、この融合タンパク質は、SECX-免疫グロブリン融合タンパク質であり、ここではSECX配列が、免疫グロブリンタンパク質ファミリーのメンバーに由来する配列に融合される。本発明のこのSECX-免疫グロブリン融合タンパク質は、薬学的組成物中に取り込まれ、そして被験体に投与されて、細胞の表面上でSECXリガントとSECXタンパク質との間の相互作用

用を阻害し、それによってインビボのSECXシグナル伝達を抑制し得る。このSECX-免疫グロブリン融合タンパク質を用い、SECX同族リガンドの生物学的利用能に影響を与え得る。SECXリガンド/SECX相互作用の阻害は、増殖障害および分化障害の両方の処置、ならびに細胞生存を調節（例えば、促進または阻害）することに、治療的に有用であり得る。さらに、本発明のこのSECX-免疫グロブリン融合タンパク質は、被験体中で抗SECX抗体を産生するための免疫原として用い得、SECXリガンドを精製し、そしてSECXリガンドとのSECXの相互作用を阻害する分子を同定するスクリーニングアッセイで用いられ得る。

【0156】

本発明のSECXキメラタンパク質またはSECX融合タンパク質は、標準的な組換えDNA技法により産生され得る。例えば、異なるポリペプチド配列をコードするDNAフラグメントを、従来の技法に従って、例えば、連結のための平滑末端または粘着(stagger)末端、適切な末端を提供するための制限酵素消化、必要に応じて粘着(cohesive)末端のフィルイン、所望しない連結を避けるためのアルカリホスファターゼ処理、および酵素的連結を採用することにより、インフレイムで一緒に連結する。別の実施形態では、融合遺伝子を、自動化DNA合成機を含む従来技法により合成し得る。あるいは、遺伝子フラグメントのPCR増幅を、キメラ遺伝子配列を生成するために次いでアニーリングおよび再増幅され得る、2つの連続遺伝子フラグメント間の相補的オーバーハングを生じるアンカープライマーを用いて実施し得る（例えば、Ausbelら（編）CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY、John Wiley & Sons、1992を参照のこと）。さらに、融合成分（例えば、GSTポリペプチド）をすでにコードした多くの発現ベクターが市販されている。SECXをコードする核酸は、この融合成分がSECXタンパク質にインフレイム連結されるように、このような発現ベクター中にクローン化され得る。

【0157】

（SECXアゴニストおよびSECXアンタゴニスト）

本発明はまた、SECXアゴニスト（すなわち、模倣物）としてか、またはSECXアンタゴニストとしてかのいずれかで機能するSECXタンパク質の改変体に関する。SECXタンパク質の改変体、例えば、SECXタンパク質の離散した点変異または短縮型が、変異誘発により生成され得る。SECXタンパク質のアゴニストは、天然に存在する形態のSECXタンパク質と実質的に同じ生物学的活性、またはその生物学的活性のサブセットを保持し得る。SECXタンパク質のアンタゴニストは、天然に存在する形態のSECXタンパク質の1つ以上の活性を、例えば、SECXタンパク質を含む細胞シグナル伝達カスケードの下流または上流メンバーに競合的に結合することにより阻害し得る。従って、特異的生物学的効果が、限られた機能の改変体を用いた処理により惹起され得る。1つの実施形態では、このタンパク質の天然に存在する形態の生物学活性のサブセットを有する改変体を用いた被験体の処置は、SECXタンパク質の天然に存在する形態を用いた処置に対して被験体におけるより少ない副作用をもたらす。

【0158】

SECXアゴニスト（すなわち、模倣物）として、またはSECXアンタゴニストのいずれかとして機能するSECXタンパク質の改変体は、SECXタンパク質アゴニスト活性またはSECXタンパク質アンタゴニスト活性についてのSECXタンパク質の変異体（例えば、短縮型変異体）のコンビナトリアルライブラリーをスクリーニングすることにより同定され得る。1つの実施形態では、SECX改変体の多彩なライブラリーは、核酸レベルのコンビナトリアル変異誘発により生成され、そして多彩な遺伝子ライブラリーによりコードされる。SECX改変体の多彩なライブラリーは、例えば、合成オリゴヌクレオチドの混合物を遺伝子配列中に、潜在的なSECX配列の縮重セットが、個々のポリペプチドとしてか、あるいは、その中にSECX配列のセットを含む（例えば、ファージディスプレイのための）より大きな融合タンパク質のセットとして発現可能であるように、酵素的に連結することにより産生され得る。縮重オリゴヌクレオチド配列から潜在的なSECX改変体のライブラリーを産生するために用いられ得る種々の方法がある。縮重遺伝子配列の化学合成は、自動化DNA合成機中で実施され得、次いでこの合成遺伝子は、適切な発現ベクター中に連結される。遺伝子の

縮重セットの使用は、1つの混合物において、潜在的なSECX配列の所望のセットをコードする配列のすべての供給を可能にする。縮重オリゴヌクレオチドを合成する方法は当該分野で周知である。例えば、Narang (1983) Tetrahedron 39:3; Itakuraら (1984) Annu. Rev. Biochem. 53:323; Itakuraら (1984) Science 198:1056; Ikeら (1983) Nucl. Acid. Res. 11:477。

【0159】

(ポリペプチドライブラリー)

さらに、SECXタンパク質コード配列のフラグメントのライブラリーを用いて、SECXタンパク質の改変体のスクリーニングおよび引き続き選択のためのSECXフラグメントの多彩な集団を生成し得る。1つの実施形態では、コード配列フラグメントのライブラリーは、SECXコード配列の二本鎖PCRフラグメントを、1分子あたり約1つのみのニックが生じる条件下、ヌクレアーゼで処理すること、二本鎖DNAを変性させること、異なるニック産物からのセンス/アンチセンス対を含み得る二本鎖DNAを形成するためにこのDNAを再生すること、S1ヌクレアーゼを用いた処理により再形成された二本鎖から一本鎖部分を除去すること、および得られるフラグメントライブラリーを発現ベクター中に連結することにより生成し得る。この方法により、SECXタンパク質の種々のサイズのアミノ末端および内部フラグメントをコードする発現ライブラリーが派生し得る。

【0160】

点変異または短縮により作成されたコンビナトリアルライブラリーの遺伝子産物をスクリーニングするため、および選択された性質を有する遺伝子産物のcDNAライブラリーをスクリーニングするための種々の技法が当該分野で公知である。このような技法を、SECXタンパク質のコンビナトリアル変異誘発により生成された遺伝子ライブラリーの迅速なスクリーニングに適用可能である。大きな遺伝子ライブラリーをスクリーニングするための、高スループット分析に適した最も広く用いられる技法は、代表的には、遺伝子ライブラリーを複製可能な発

現ベクター中にクローニングすること、得られるベクターのライブラリーで適切な細胞を形質転換すること、およびこのコンビナトリアル遺伝子を、所望の活性の検出が、その産物が検出された遺伝子をコードするベクターの単離を容易にする条件下で発現することを含む。ライブラリー中の機能的変異の頻度を増大する新規技法であるリクルーシブアンサンブル変異誘発 (recursive ensemble mutagenesis) (REM) を、スクリーニングアッセイと組み合わせて用い、SECX 改変体を同定し得る。例えば、Arkin および Yourvan (1992) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89: 7811 - 7815; Delgrave ら (1993) Protein Engineering 6: 327 - 331 を参照のこと。

【0161】

(抗 SECX 抗体)

本発明は、本発明の任意の SECX ポリペプチドに免疫特異的に結合する、抗体または抗体フラグメント (F_{ab} または $(F_{ab})_2$ など) を含む。

【0162】

単離された SECX タンパク質、またはその部分もしくはフラグメントは、ポリクローナル抗体およびモノクローナル抗体調製のための標準的な技法を用いて、SECX ポリペプチドに結合する抗体を生成するための免疫原として用いられ得る。完全長の SECX タンパク質が用いられ得るか、あるいは、本発明は、免疫原としての使用のための SECX の抗原性ペプチドフラグメントを提供する。抗原性 SECX ペプチドは、例えば、配列番号 2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、または 24 のアミノ酸配列の SECX ポリペプチドの少なくとも 4 アミノ酸残基を含み、そしてこのペプチドに対して惹起された抗体が SECX と特異的な免疫複合体を形成するように、SECX のエピトープを含む。好ましくは、この抗原性ペプチドは、少なくとも 6、8、10、15、20、または 30 のアミノ酸残基を含む。より長い抗原性ペプチドが、使用および当業者に周知の方法に依存して、より短い抗原性ペプチドよりもしばしば好適である。

【0163】

本発明の特定の実施形態では、抗原性ペプチドにより含まれる少なくとも1つのエピトープは、SECXタンパク質の表面上に位置する領域、例えば、親水性領域である。抗体産生を標的にする手段として、親水性および疎水性の領域を示すヒドロパシープロット(hydrophathy plot)を、例えば、フリーエ変換とともにまたはなしの、Kyte-DoolittleまたはHopp-Woods法を含む、当該分野で周知の任意の方法により生成し得る(例えば、それらの全体が本明細書に参考として援用される、HoppおよびWoods、1981、Proc. Nat. Acad. Sci. USA 78:3824-3828; KyteおよびDoolittle 1982、J. Mol. Biol. 157:105-142を参照のこと)。

【0164】

例えば、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、または24を含むSECXタンパク質配列、またはその誘導体、フラグメント、アナログもしくはホモログを、これらのタンパク質成分に免疫特異的に結合する抗体の生成における免疫原として利用し得る。本明細書で用いる用語「抗体」は、免疫グロブリン分子、および免疫グロブリン分子の免疫学的に活性な部分、すなわち、SECXのような抗原に特異的に結合(すなわち、免疫反応)する抗原結合部位を含む分子をいう。このような抗体は、制限されずに、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、キメラ抗体、単鎖抗体、 F_{ab} および $F_{(ab')_2}$ フラグメント、および F_{ab} 発現ライブラリーを含む。特定の実施形態では、ヒトSECXタンパク質に対する抗体が開示される。当該分野で公知の種々の手順が、SECXタンパク質配列(例えば、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、または24のタンパク質配列)、またはその誘導体、フラグメント、アナログもしくはホモログに対する、ポリクローナル抗体またはモノクローナル抗体の産生のために用いられ得る。

【0165】

ポリクローナル抗体の産生のために、種々の適切な宿主動物(例えば、ウサギ、ヤギ、マウスまたはその他の哺乳動物)を、ネイティブタンパク質、またはその合成改変体、または前述の誘導体での注射により免疫化し得る。適切な免疫原

性調製物は、例えば、組換えにより発現されたSECタンパク質または化学的に合成されたポリペプチドを含み得る。この調製物は、アジュバントをさらに含み得る。免疫学的応答を増大するために用いられる種々のアジュバントは、制限されずに、フロイントの(完全および不完全)アジュバント、ミネラルゲル(例えば、水酸化アルミニウム)、表面活性物質(例えば、リゾレシチン、プルロニックポリオール、ポリアニオン、ペプチド、オイルエマルジョン、ジニトロフェノールなど)、Bacille Calmette-GuerinおよびCorynebacterium parvumのようなヒトアジュバント、または類似の免疫刺激剤を含む。所望であれば、SECに対して惹起された抗体分子は、哺乳動物(例えば、血液)から単離され、そしてさらに、IgGフラクションを得るためのプロテインAクロマトグラフィーのような、周知の技法により精製され得る。

【0166】

本明細書で用いられる用語「モノクローナル抗体」または「モノクローナル抗体組成物」は、SECの特定のエピトープと免疫反応し得る抗原結合部位の特定の1種のみを含む抗体分子の集団をいう。従って、代表的には、モノクローナル抗体組成物は、それと免疫反応する特定のSECタンパク質に対し、単一の結合親和性を示す。特定のSECタンパク質配列、またはその誘導體、フラグメント、アナログもしくはホモログに対するモノクローナル抗体の調製には、連続的な細胞株培養による抗体分子の産生のために提供する任意の技法が利用され得る。このような技法は、制限されずに、ハイブリドーマ技法(例えば、Kohler & Milstein, 1975 Nature 256:495-497を参照のこと); トリオーマ技法; ヒトB細胞ハイブリドーマ技法(例えば、Kozborら, 1983 Immunol. Today 4:72を参照のこと)およびヒトモノクローナル抗体を産生するためのEBVハイブリドーマ技法(例えば、Coleら, 1985 MONOCLONAL ANTIBODIES AND CANCER THERAPY, Alan R. Liss, Inc. 77-96頁を参照のこと)を含む。ヒトモノクローナル抗体を、本発明の実施において利用し得、そしてヒトハイブリドーマを用いることによるか(例えば、

Coteら、1983. Proc Natl Acad Sci USA 80 : 2026 - 2030を参照のこと)、またはインビトロでヒトB細胞をエプスタイン - バーウイルスで形質転換することにより(例えば、Coleら、1985 MONOCLONAL ANTIBODIES AND CANCER THERAPY、Alan R. Liss、Inc. 77 - 96頁を参照のこと)産生され得る。上記の引用の各々は、それらの全体が参考として本明細書に援用される。

【0167】

本発明によれば、技法は、SECタンパク質に特異的な単鎖抗体の産生のために適合され得る(例えば、米国特許第4,946,778号を参照のこと)。さらに、方法は、 F_{ab} 発現ライブラリーの構築のために適合され得(例えば、Huseら、1989 Science 246:1275 - 1281を参照のこと)、SECタンパク質配列、またはその誘導体、フラグメント、アナログもしくはホモログに対し、所望の特異性を有するモノクローナル F_{ab} フラグメントの迅速かつ有効な同定を可能にする。非ヒト抗体は、当該分野で周知の技法により「ヒト化」され得る。例えば、米国特許第5,225,539号を参照のこと。SECタンパク質に対するイディオタイプを含む抗体フラグメントを、当該分野で公知の技法により産生し得、これには、制限されないで：(i)抗体分子のペプシン消化により産生される $F_{(ab')_2}$ フラグメント；(ii) $F_{(ab')_2}$ フラグメントのジスルフィド架橋を還元することにより生成される F_{ab} フラグメント；(iii)抗体分子のパパインおよび還元剤での処理により生成される F_{ab} フラグメントおよび(iv) F_v フラグメントが含まれる。

【0168】

さらに、ヒトおよび非ヒト部分の両方を含むキメラ抗体およびヒト化モノクローナル抗体のような、組換え抗SEC抗体(これらは、標準組換えDNA技術を用いて作製され得る)は、本発明の範囲内である。このようなキメラ抗体およびヒト化モノクローナル抗体は、当該分野で公知の組換えDNA技術により生成され得る。この技術は例えば、以下に記載の方法を用いる：国際出願番号PCT/US86/02269；欧州特許出願番号184,187号；欧州特許出願番

号171, 496; 欧州特許出願番号173, 494; PCT国際公開番号WO 86/01533; 米国特許第4, 816, 567号; 米国特許第5, 225, 539号; 欧州特許出願番号125, 023号; Better \bar{r} (1988) Science 240:1041~1043; Liu \bar{r} (1987) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84:3439~3443; Liu \bar{r} (1987) J. Immunol. 139:3521~3526; Sun \bar{r} (1987) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84:214~218; Nishimura \bar{r} (1987) Cancer Res. 47:999~1005; Wood \bar{r} (1985) Nature 314:446~449; Shaw \bar{r} (1988) J. Natl. Cancer Inst. 80:1553~1559; Morrison (1985) Science 229:1202~1207; Oi \bar{r} (1986) BioTechniques 4:214; Jones \bar{r} (1986) Nature 321:552~525; Verhoeyan \bar{r} (1988) Science 239:1534; ならびに Beidler \bar{r} (1988) J. Immunol. 141:4053~4060。上記引用の各々は、それらの全体が参考として本明細書中に援用される。

【0169】

1つの実施形態において、所望の特異性を保有する抗体のスクリーニングのための方法は、当該分野内で公知の酵素結合イムノソルベント検定法 (ELISA) および他の免疫学的に媒介された技術を含むが、これに限定されない。特定の実施形態において、SECXタンパク質の特定のドメインに対して特異的である抗体の選抜は、このようなドメインを所有しているSECXタンパク質のフラグメントに結合するハイブリドーマの生成により容易にされる。従って、SECXタンパク質、またはそれらの誘導体、フラグメント、アナログまたはホモログ内の所望のドメインについて特異的である抗体がまた、本願明細書において提供される。

【0170】

抗SECX抗体は、SECXタンパク質の局在化および/または定量化に関する当該分野で公知の方法において用いられ得る (例えば、適切な生理学的なサン

プル内のSECタンパク質のレベルを測定する使用のために、診断方法における使用のために、タンパク質の画像化における使用のために、など)。所定の実施形態において、SECタンパク質、またはそれらの誘導体、フラグメント、アナログまたはホモログの抗体（これは、抗体由来の結合ドメインを含む）は、薬理的に活性な化合物（本明細書中、以降において「治療剤（Therapeutic）」）として利用される。

【0171】

抗SEC抗体（例えば、モノクローナル抗体）は、標準技術（例えばアフィニティークロマトグラフィまたは免疫沈降）によって、SECポリペプチドを単離するために用いられ得る。抗SEC抗体は、細胞からの天然のSECポリペプチド、そして宿主細胞において発現される組換え的に産生されたSECポリペプチドの精製を容易にし得る。さらに、抗SEC抗体が、（例えば、細胞の溶菌液または細胞上清における）SECタンパク質の発現の量およびパターンを評価するために、SECタンパク質を検出することに用いられ得る。抗SEC抗体は、例えば、所定の治療レジメンの有効性を決定するためなどに、臨床試験の手順の一部として組織におけるタンパク質レベルを診断的にモニターするために用いられ得る。検出は、抗体を検出可能物質に連結する（すなわち、物理的に連結する）ことにより容易になり得る。検出可能物質の例としては、種々の酵素、補欠分子族、蛍光物質、発光材料、生物発光材料および放射性物質が挙げられる。適切な酵素の例としては、西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、 α -ガラクトシダーゼまたはアセチルコリンエステラーゼが挙げられる；適切な補欠分子族複合体の例としては、ストレプトアビジン/ビオチンおよびアビジン/ビオチンが挙げられる；適切な蛍光物質の例としては、ウンベリフェロン、フルオレセイン、フルオレセインイソチオシアネート、ローダミン、ジクロロトリアジニルアミン（dichlorotriazinylamine）フルオレセイン、ダンシルクロリドまたはフィコエリトリンが挙げられる；発光材料の例としては、ルミノールが挙げられる；生物発光材料の例としては、ルシフェラーゼ、ルシフェリンおよびエクオリンが挙げられる；そして、適切な放射性物質の例としては ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{35}S または ^3H が挙げられる。

【0172】

(SECX組換え発現ベクターおよび宿主細胞)

本発明の別の局面は、SECXタンパク質、またはそれらの誘導体、フラグメント、アナログもしくはホモログをコードする核酸を含む、ベクター、好ましくは、発現ベクターに関する。本明細書において使用する場合、用語「ベクター」は、それに連結された別の核酸を輸送し得る核酸分子をいう。1つの型のベクターは、「プラスミド」である。これはさらなるDNAセグメントが連結され得る環状の二本鎖DNAループをいう。他の型のベクターは、ウイルス性ベクターであり、ここでさらなるDNAセグメントが、ウイルスゲノムに連結され得る。特定のベクターは、ベクターが導入される宿主細胞中で自律複製し得る(例えば、細菌性の複製起点を有する細菌ベクター、およびエピソーム性哺乳動物ベクター)。他のベクター(例えば、非エピソーム性哺乳動物ベクター)は、宿主細胞への導入の際、宿主細胞のゲノムに組み込まれ、そして、これにより宿主ゲノムとともに複製される。さらに、特定のベクターは、それらが作動可能に連結される遺伝子の発現を導き得る。このようなベクターは、本明細書において「発現ベクター」と呼ばれる。一般に、組換えDNA技術における有用な発現ベクターは、しばしばプラスミドの形態である。本願明細書において、「プラスミド」および「ベクター」は、プラスミドが最も一般的に用いられる形態のベクターであるので、交換可能に使用され得る。しかし、本発明は、等価の機能を果たす、ウイルス性ベクター(例えば、複製欠損レトロウイルス、アデノウイルス、およびアデノ随伴ウイルス)のような、このような他の形態の発現ベクターを含むことを意図する。

【0173】

本発明の組換え発現ベクターは、宿主細胞における核酸の発現に適切な形態の本発明の核酸を含む。これは、組換え発現ベクターが、発現されるべき核酸配列に作動可能に連結されている、発現に用いられるべき宿主細胞に基づいて選択される、1つ以上の調節配列を含むことを意味する。組換え発現ベクター内で、「作動可能に連結する」とは、目的のヌクレオチド配列が、(例えば、インビトロの転写/翻訳系において、またはベクターが宿主細胞に導入される場合は、宿主

細胞において)ヌクレオチド配列の発現を可能にする様式で調節配列に連結されるという意味を意図する。

【0174】

句「調節配列」は、プロモーター、エンハンサーおよび他の発現制御エレメント(例えば、ポリアデニル化シグナル)を含むことを意図する。このような調節配列は、例えば、Goeddel、GENE EXPRESSION TECHNOLOGY:METHODS IN ENZYMOLOGY 185、Academic Press、San Diego、Calif.(1990)に記載されている。調節配列は、多くの型の宿主細胞においてヌクレオチド配列の構成的発現を指向する配列、および特定の宿主細胞のみにおいてヌクレオチド配列の発現を指向する配列(例えば、組織特異的調節配列)を含む。発現ベクターの設計が、形質転換される宿主細胞の選択、所望のタンパク質の発現のレベルなどのような因子に依存し得ることは、当業者に明白である。本発明の発現ベクターは、宿主細胞に導入され得、それにより、本明細書に記載される核酸によりコードされるタンパク質またはペプチド(融合タンパク質またはペプチドを含む)(例えば、SECXタンパク質、またはSECXの変異形態、融合タンパク質など)を生成し得る。

【0175】

本発明の組換え発現ベクターは、原核生物細胞または真核生物細胞における、SECXタンパク質発現のために設計され得る。例えば、SECXタンパク質は、細菌細胞(例えば、Escherichia coli)、昆虫細胞(バキュロウイルス発現ベクターを用いる)、酵母細胞または哺乳動物細胞において発現され得る。適切な宿主細胞は、Goeddel、GENE EXPRESSION TECHNOLOGY:METHODS IN ENZYMOLOGY 185、Academic Press、San Diego、Calif.(1990)にさらに考察されている。あるいは、組換え型発現ベクターは、例えば、T₇プロモーター調節配列およびT₇ポリメラーゼを用いて、インビトロで転写および翻訳され得る。

【0176】

原核生物におけるタンパク質の発現は、最も頻繁には、融合タンパク質または非融合タンパク質のいずれかの発現を指向する構成的プロモーターまたは誘導性プロモーターを含むベクターを有する *Escherichia coli* において実行される。融合ベクターは、そこにコードされるタンパク質に、通常、組換えタンパク質のアミノ末端に、多数のアミノ酸を付加する。このような融合ベクターは、代表的には、以下の3つの目的のために役立つ：(i) 組換えタンパク質の発現を増加させること；(ii) 組換えタンパク質の可溶性を増加させること；および(iii) アフィニティー精製においてリガンドとして作用することによって組換えタンパク質の精製の際に補助すること。しばしば、融合発現ベクターにおいて、タンパク質分解性の切断部位が、融合部分の結合部に導入され、そしてこの組換えタンパク質により、融合タンパク質の精製の後に融合部分から組換えタンパク質を分離することが可能になる。このような酵素、およびその同族の認識配列は、第X₂因子、トロンビン、およびエンテロキナーゼを含む。代表的な融合発現ベクターとしては、グルタチオンS-トランスフェラーゼ(GST)、マルトース結合タンパク質、またはプロテインAを、それぞれ、標的の組換えタンパク質に融合する pGEX (Pharmacia Biotech Inc; Smith and Johnson (1988) Gene 67:31-40)、pMAL (New England Biolabs, Beverly, Mass.) および pRIT5 (Pharmacia, Piscataway, N.J.) が挙げられる。

【0177】

適切な誘導性非融合 *Escherichia coli* 発現ベクターの例には、pTrc (Amrannら (1988) Gene 69:301-315) および pET 11d (Studierら、GENE EXPRESSION TECHNOLOGY: METHODS IN ENZYMOLOGY 185, Academic Press, San Diego, Calif. (1990) 60-89) が挙げられる。

【0178】

Escherichia coli における組換えタンパク質発現を最大化す

るための1つのストラテジーは、組換えタンパク質をタンパク質分解的に切断する能力が損なわれた宿主細菌中でタンパク質を発現することである。例えば、Gottesman, GENE EXPRESSION TECHNOLOGY: METHODS IN ENZYMOLOGY 185, Academic Press, San Diego, Calif. (1990) 119-128を参照のこと。別のストラテジーは、各アミノ酸についての個々のコドンが、Escherichia coliにおいて優先的に利用されるコドンであるように、発現ベクターに挿入される核酸の核酸配列を変更することである(例えば、Wadaら(1992) Nucl. Acids Res. 20:2111-2118を参照のこと)。本発明のこのような核酸配列の変更は、標準的なDNA合成技術によって実行され得る。

【0179】

別の実施形態において、SECX発現ベクターは、酵母発現ベクターである。酵母Saccharomyces cerevisiaeにおける発現のためのベクターの例は、pYepSec1(Baldarira、(1987)EMBO J. 6:229-234)、pMfa(KurjanおよびHerskowitz、(1982)Cell 30:933-943)、pJRY88(Schultzら、(1987)Gene 54:113-123)、pYES2(Invitrogen Corporation, San Diego, Calif.)、およびpicZ(InVitrogen Corp, San Diego, Calif.)である。

【0180】

あるいは、SECXは、バキュロウイルス発現ベクターを使用して、昆虫細胞中で発現され得る。培養昆虫細胞(例えば、SF9細胞)中でのタンパク質の発現のために利用可能なバキュロウイルスベクターには、pAcシリーズ(Smithら(1983)Mol. Cell. Biol. 3:2156-2165)およびpVLシリーズ(LucklowおよびSummers(1989)Virology 170:31-39)が挙げられる。

【0181】

なお別の実施形態において、本発明の核酸は、哺乳動物発現ベクターを使用して、哺乳動物細胞中で発現される。哺乳動物発現ベクターの例には、pCDM8 (Seed (1987) Nature 329:840) および pMT2PC (Kaufmanら (1987) EMBO J. 6:187-195) が挙げられる。哺乳動物細胞中で使用される場合、発現ベクターの制御機能は、しばしば、ウイルスの調節エレメントによって提供される。例えば、一般に使用されるプロモーターは、ポリオーマ、アデノウイルス2、サイトメガロウイルス、およびシミアンウイルス40に由来する。原核生物細胞および真核生物細胞の両方のための他の適切な発現系については、例えば、Sambrookら、MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL. 第2版、Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1989の第16章および第17章を参照のこと。

【0182】

別の実施形態において、組換え哺乳動物発現ベクターは、特定の細胞型中で優先的に核酸の発現を指向し得る(例えば、組織特異的調節エレメントを使用して核酸を発現する)。組織特異的調節エレメントは、当該分野で公知である。適切な組織特異的なプロモーターの非限定的な例には、アルブミンプロモーター(肝臓特異的; Pinkertら (1987) Genes Dev. 1:268-277を参照のこと)、リンパ球特異的プロモーター(CalameおよびEaton (1988) Adv. Immunol. 43:235-275を参照のこと)、T細胞レセプターの特異的プロモーター(WinotoおよびBaltimore (1989) EMBO J. 8:729-733を参照のこと)および免疫グロブリンの特異的プロモーター(Banerjiら (1983) Cell 33:729-740; QueenおよびBaltimore (1983) Cell 33:741-748を参照のこと)、ニューロン特異的プロモーター(例えば、ニューロフィラメントプロモーター; ByrneおよびRuddle (1989) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:5473-

5477を参照のこと)、膵臓特異的プロモーター (Edlundら (1985) Science 230:912-916を参照のこと)、ならびに乳腺特異的プロモーター (例えば、ミルク乳清プロモーター; 米国特許第4,873,316号および欧州出願公開第264,166号) が挙げられる。発生的に調節されるプロモーターもまた含まれる (例えば、マウスホックス (murine hox) プロモーター (KesselおよびGruss (1990) Science 249:374-379) およびa-フェトプロテインプロモーター (CampeoおよびTilghman (1989) Genes Dev. 3:537-546を参照のこと)。

【0183】

本発明はさらに、アンチセンス方向で発現ベクターにクローニングされた本発明のDNA分子を含む組換え発現ベクターを提供する。すなわち、そのDNA分子は、SECX mRNAに対するアンチセンスであるRNA分子の発現 (DNA分子の転写によって) を可能にする様式で調節配列に作動可能に連結される。種々の細胞型においてアンチセンスRNA分子の連続的な発現を指向する、アンチセンス方向でクローニングされた核酸に作動可能に連結される調節配列 (ウイルスプロモーターおよび/もしくはエンハンサー) が選択され得るか、または例えば、アンチセンスRNAの構成的発現、組織特異的発現、または細胞特異的発現を指向する調節配列が、選択され得る。アンチセンス発現ベクターは、組換えプラスミド、ファージミド、または弱毒化されたウイルスの形態であり得、ここではアンチセンス核酸は、高効率の調節領域の制御下で産生され、その活性は、ベクターが導入される細胞型によって決定され得る。アンチセンス遺伝子を使用する遺伝子発現の調節の議論については、例えば、Weintraubら、「Antisense RNA as a molecular tool for genetic analysis」、Reviews - Trends in Genetics、第1巻(1)1986を参照のこと。

【0184】

本発明の別の局面は、本発明の組換え発現ベクターが導入された宿主細胞に関する。用語「宿主細胞」および「組換え宿主細胞」は、本明細書中で、交換可能

に使用される。このような用語は、特定の対象の細胞のみをいうのではなく、そのような細胞の子孫または潜在的な子孫をいうことが理解される。変異または環境的影響のいずれかに起因して、特定の改変が次の世代において生じ得るので、このような子孫は、実際、親の細胞と同一でないかもしれないが、なお、本明細書中で使用されるような用語の範囲内に含まれる。

【0185】

宿主細胞は、任意の原核生物細胞または真核生物細胞であり得る。例えば、SEXタンパク質は、細菌細胞（例えば、*Escherichia coli*）、昆虫細胞、酵母または哺乳動物細胞（例えば、チャイニーズハムスター卵巣細胞（CHO）またはCOS細胞）で発現され得る。他の適切な宿主細胞は、当業者に公知である。

【0186】

ベクターDNAは、従来的な形質転換またはトランスフェクション技術を介して原核生物細胞または真核生物細胞に導入され得る。本明細書中で使用される場合、用語「形質転換」および「トランスフェクション」とは、外来性の核酸（例えば、DNA）を宿主細胞中に導入するための当該分野で認識される種々の技術をいうことを意図し、これらには、リン酸カルシウムまたは塩化カルシウム共沈殿、DEAEデキストラン媒介トランスフェクション、リポフェクション、またはエレクトロポレーションが挙げられる。宿主細胞を形質転換またはトランスフェクトするための適切な方法は、Sambrookら（MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL. 第2版、Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1989）および他の実験室マニュアルに見出され得る。

【0187】

哺乳動物細胞の安定なトランスフェクションについては、使用される発現ベクターおよびトランスフェクション技術に依存して、細胞の少量の画分のみが外来DNAをそのゲノム中に組み込み得ることが知られている。これらの要素を同定

および選択するために、選択マーカー（例えば、抗生物質に対する耐性）をコードする遺伝子が、一般的には目的の遺伝子とともに宿主細胞に導入される。種々の選択マーカーには、薬物に対する耐性を付与するマーカー（例えば、G418、ハイグロマイシン、およびメトトレキサート）が含まれる。選択マーカーをコードする核酸は、SECXをコードするベクターと同じベクター上で宿主細胞に導入され得るか、または別々のベクター上で導入され得る。導入された核酸とともに安定にトランスフェクトされる細胞は、薬物選択によって同定され得る（例えば、選択マーカー遺伝子を取り込んだ細胞は生存するが、他の細胞は死滅する）。

【0188】

本発明の宿主細胞（例えば、培養中の原核生物宿主細胞および真核生物宿主細胞）は、SECXタンパク質を産生（すなわち、発現）するために使用され得る。従って、本発明はさらに、本発明の宿主細胞を使用して、SECXタンパク質を産生するための方法を提供する。1つの実施形態において、この方法は、SECXタンパク質が産生されるような適切な培地中で、本発明の宿主細胞（すなわち、ここに、SECXタンパク質をコードする組換え発現ベクターが導入されている）を培養する工程を包含する。別の実施形態において、この方法はさらに、培地または宿主細胞からSECXタンパク質を単離する工程を包含する。

【0189】

（トランスジェニック動物）

本発明の宿主細胞はまた、非ヒトトランスジェニック動物を作製するために使用され得る。例えば、1つの実施形態において、本発明の宿主細胞は、SECXタンパク質コード配列が導入された、受精した卵母細胞または胚性幹細胞である。次いで、これらの宿主細胞は、それらの内因性のSECX配列が変更されているゲノムまたは相同組換え動物に、外因性のSECX配列が導入されている、非ヒトトランスジェニック動物を作製するために使用され得る。このような動物は、SECXタンパク質の機能および/または活性を研究するため、およびSECXタンパク質の活性のモジュレーターを同定および/または評価するために有用である。本明細書中で使用される場合、「トランスジェニック動物」とは、非ヒ

ト動物、好ましくは哺乳動物であり、より好ましくは、ラットまたはマウスのような齧歯動物であり、ここでこれらの動物の1つ以上の細胞は、導入遺伝子を含む。トランスジェニック動物の他の例には、非ヒト霊長類、ヒツジ、イヌ、ウシ、ヤギ、ニワトリ、両生類などを含む。

【0190】

導入遺伝子は、細胞（この細胞からトランスジェニック動物が発生する）のゲノムに組み込まれ、そして成熟動物のゲノムに残存する外因性のDNAであり、それによって、このトランスジェニック動物の1つ以上の細胞型または組織においてコード遺伝子産物の発現を指向する。本明細書中で使用される場合、「相同組換え動物」とは、非ヒト動物であり、好ましくは哺乳動物、より好ましくはマウスであり、ここで、内因性SECX遺伝子は、この内因性の遺伝子と、動物の発生の前に動物の細胞（例えば、動物の胚細胞）に導入された外因性DNA分子との間の相同組換えによって、変更されている。

【0191】

本発明のトランスジェニック動物は、SECXをコードする核酸を、受精した卵母細胞の雄性前核に導入することによって（例えば、マイクロインジェクション、レトロウイルス感染によって）、およびこの卵母細胞が偽妊娠雌性フォスター動物（*foster animal*）中で発生することを可能にすることによって作製され得る。ヒトSECX DNA配列（例えば、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21または34）は、非ヒト動物のゲノムに導入遺伝子として導入され得る。あるいは、ヒトSECX遺伝子の非ヒトホモログ（例えば、マウスSECX遺伝子）は、ヒトSECX cDNAに対するハイブリダイゼーションに基づいて単離され得、そして導入遺伝子として使用され得る。イントロン配列およびポリアデニル化シグナルもまた導入遺伝子中に含まれ得、その導入遺伝子の発現の効率を増大させ得る。組織特異的調節配列は、特定の細胞に対して、SECXタンパク質の発現を指向するために、SECX導入遺伝子に作動可能に連結され得る。胚の操作およびマイクロインジェクションを介するトランスジェニック動物（特に、マウスのような動物）を作製するための方法は、当該分野で従来的になっており、そして例えば、米国特許第4,7

36, 866号; 同第4, 870, 009号; および同第4, 873, 191号; ならびにHogan 1986、MANIPULATING THE MOUSE EMBRYO, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.に記載されている。同様の方法は、他のトランスジェニック動物の作製のために使用される。トランスジェニック創始動物は、そのゲノムにおけるSECX導入遺伝子の存在および/またはその動物の組織または細胞中のSECX mRNAの発現に基づいて同定され得る。次いで、トランスジェニック創始動物は、導入遺伝子を保有するさらなる動物を繁殖させるために使用され得る。さらに、SECXタンパク質をコードする導入遺伝子を保有するトランスジェニック動物は、さらに、他の導入遺伝子を保有する他のトランスジェニック動物へと繁殖させ得る。

【0192】

相同組換え動物を作製するために、欠失、付加、または置換が導入されて、それによってSECX遺伝子が変化(例えば、機能的に破壊)されている、少なくとも、SECX遺伝子の一部を含むベクターを調製する。SECX遺伝子は、ヒト遺伝子(例えば、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21または23)であり得るが、より好ましくは、ヒトSECX遺伝子の非ヒトホモログである。例えば、ヒトSECX遺伝子のマウスホモログは、マウスゲノムにおいて内因性SECX遺伝子を変更するのに適切な相同組換えベクターを構築するために使用され得る。1つの実施形態において、そのベクターは、相同組換えに際して、内因性SECX遺伝子が、機能的に破壊される(すなわち、機能的タンパク質をもはやコードしない; 「ロックアウト」ベクターともいわれる)ように設計される。

【0193】

あるいは、このベクターは、相同組換えの際に、内因性SECX遺伝子が発現されるか、またはさもなければ、変更されるが、なお機能的タンパク質をコードするように設計され得る(例えば、上流の調節領域を変更して、それによって内因性SECXタンパク質の発現を変更し得る)。相同組換えベクターにおいて、SECX遺伝子の変更された部分は、SECX遺伝子のさらなる核酸によって、

その5'末端および3'末端で隣接され、相同組換えが、ベクターによって運ばれる外因性SECX遺伝子と胚幹細胞中の内因性SECX遺伝子との間で起こることを可能にする。さらなる隣接SECX核酸は、内因性遺伝子との首尾よい相同組換えに十分な長さである。代表的に、数キロベース(Kb)の隣接DNA(5'末端および3'末端の両方で)が、ベクターに含まれる。相同組換えベクターの記載について、例えば、Thomasら、1987、Cell 51:503を参照のこと。次いで、このベクターは、胚幹細胞株に導入され(例えば、エレクトロポレーションによって)、この導入されたSECX遺伝子が、内因性SECX遺伝子と相同組換えされた細胞が、選択される。例えば、Liら、1992、Cell 69:915を参照のこと。

【0194】

次いで、この選択された細胞を、動物(例えば、マウス)の胚盤胞へマイクロインジェクションして、凝集キメラを形成する。例えば、Bradley、1987、TERATOCARCINOMAS AND EMBRYONIC STEM CELLS: A PRACTICAL APPROACH、Robertson編、IRL、Oxford 113頁~152頁を参照のこと。次いで、キメラ胚を、適切な偽妊娠雌性フォスター動物に移植し得、そしてこの胚を、一定期間置く。それらの胚芽細胞中に相同組換えDNAを保有する子孫を使用して、動物を繁殖し得、ここで、この動物の全ての細胞は、導入遺伝子の生殖系列伝達によって、この相同組換えDNAを含む。相同的組換えベクターおよび相同的組換え動物を構築するための方法が、さらに以下に記載される; Bradley、1991、Curr. Opin. Biotechnol. 2:823-829; PCT国際公開番号: WO90/11354; WO91/01140; WO92/0968; およびWO93/04169。

【0195】

別の実施形態において、導入遺伝子の調節された発現を可能にする選択された系を含む、トランスジェニック非ヒト動物が産生され得る。このような系の1つの例は、バクテリオファージP1のcre/loxPリコンビナーゼ系である。cre/loxPリコンビナーゼ系の記載については、例えば、Laksora、

1992、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:6232-6236を参照のこと。リコンビナーゼ系の別の例は、Saccharomyces cerevisiaeのFLPリコンビナーゼ系である。O'Gormanら、1991、Science 251:1351-1355を参照のこと。Cre/loxPリコンビナーゼ系が導入遺伝子の発現を調節するために使用される場合、Creリコンビナーゼおよび選択されたタンパク質の両方をコードする導入遺伝子を含む動物が、必要となる。このような動物は、例えば、2種のトランスジェニック動物（一方は選択されたタンパク質をコードした導入遺伝子を含み、そして他方はリコンビナーゼをコードした導入遺伝子を含む）を交配することによる、「二重の」トランスジェニック動物の構築を介して提供され得る。

【0196】

本明細書中に記載されるトランスジェニック非ヒト動物のクローンがまた、Wilmutら、1997、Nature 385:810-813に記載される方法に従って、産生され得る。簡単には、トランスジェニック動物由来の細胞（例えば、体細胞）を、単離および誘導し、増殖サイクルから脱離させ、そしてG₀期に入らせ得る。次いで、この静止細胞を、例えば、電気パルスの使用を介して、静止細胞が単離される同種動物由来の摘出された卵母細胞へ融合し得る。次いで、この再構築された卵母細胞を培養し、これにより、これは桑実胚または未分化胚芽細胞に発達し、次いで、偽妊娠雌性フォスター動物に移される。この雌性フォスター動物の産生子孫は、この細胞（例えば、体細胞）が単離される動物のクローンである。

【0197】

（薬学的組成物）

本発明のSECX核酸分子、SECXタンパク質、および抗SECX抗体（これはまた、本明細書中で「活性化合物」といわれる）、ならびにそれらの誘導體、フラグメント、アナログ、およびホモログが、投与に適した薬学的組成物に組み込まれ得る。このような組成物は、代表的に、核酸分子、タンパク質または抗体、および薬学的に受容可能なキャリアを含む。本明細書中で使用される場合、

「薬学的に受容可能なキャリア」は、薬学的な投与に適合した、任意および全ての溶媒、分散媒体、コーティング、抗菌剤および抗真菌剤、等張剤および吸収遅延剤 (delaying agent) などを含むことが意図される。適切なキャリアは、当該分野における標準的な参考書である、Remington's Pharmaceutical Sciencesの最新版(本明細書中で参考として援用される)に記載される。このようなキャリアまたは賦形薬の好ましい例としては、水、生理食塩水、フィンガー溶液、デキストロース溶液、および5%ヒト血清アルブミンを含むが、これらに限定されない。リポソームおよび非水性(例えば、親油性)ビヒクル(例えば、不揮発性油)はまた、使用され得る。薬学的に活性物質である、このような媒体および薬剤の使用は、当該分野で周知である。この活性化合物と不適合性である任意の従来媒体または薬剤の範囲を除いて、組成物におけるその使用は、意図される。補助的な活性化合物もまた、この組成物に組み込まれ得る。

【0198】

本発明の薬学的組成物は、その意図される投与の経路と適合可能に処方される。投与経路の例としては、非経口(例えば、静脈内、皮内、皮下)、経口(例えば、吸入)、経皮的(すなわち、局所的)、経粘膜、および直腸投与が挙げられる。非経口、皮内、または皮下適用のために使用される溶液または懸濁液としては、以下の成分が挙げられ得る：滅菌賦形薬(注射のための水、生理食塩水溶液、不揮発性油、ポリエチレングリコール、グリセリン、プロピレングリコールまたは他の合成溶媒)；抗菌性剤(例えば、ベンジルアルコールまたはメチルパラベン)；抗酸化剤(例えば、アスコルビン酸または重亜硫酸ナトリウム)；キレート剤(例えば、エチレンジアミン四酢酸(EDTA))；緩衝液(例えば、アセテート、シトラーまたはホスフェート)；および張度の調整のための薬剤(例えば、塩化ナトリウムまたはデキストロース)。pHは、酸または塩基(例えば、塩酸または水酸化ナトリウム)を用いて調整され得る。非経口調製物は、ガラスまたはプラスチック製のアンプル、使い捨てシリンジまたは複数用量バイアルに封入され得る。

【0199】

注射使用に適した薬学的組成物は、滅菌の水溶液（ここで、水溶性）または分散液および滅菌注射可能な溶液または分散液の即時調製のための滅菌散剤を含む。静脈内投与について、適切なキャリアには、生理食塩水、静菌性水、Cremophor EL™（BASF、Parsippany、N.J.）またはリン酸塩緩衝化生理食塩水（PBS）が挙げられる。全ての場合において、組成物は、滅菌性であるべきであり、そして容易な注入性（syringeability）が存在する程度に流動的であるべきである。これは、製造および貯蔵の条件下で安定でなければならず、そして、細菌および真菌などの微生物の汚染作用に対して保護されるべきである。このキャリアは、例えば、以下を含む溶媒または分散媒体であり得る：例えば、水、エタノール、ポリオール（例えば、グリセロール、プロピレングリコール、および液体ポリエチレングリコールなど）ならびにそれらの適切な混合物。適切な流動性が、例えば、レシチンなどのコーティングの使用によって、分散の場合には要求される粒子サイズを維持することによって、および界面活性剤を使用することによって維持され得る。微生物の作用の予防は、種々の抗菌および抗真菌剤（例えば、パラベン、クロロブタノール、フェノール、アスコルビン酸、チメロサルなど）によって達成され得る。多くの場合、組成物中に等張剤（例えば、糖、ポリアルコール（例えば、マンニトール（mannitol）、ソルビトール）、塩化ナトリウム）を含むことが好ましい。注射可能組成物の長期の吸収は、吸収を遅らせる薬剤（例えば、アルミニウムモノステアレートおよびゼラチン）を組成物に含ませることによってもたらされ得る。

【0200】

滅菌注射可能溶液は、必要量のこの活性化合物（例えば、SECタンパク質または抗SEC抗体）を、適切な溶媒中に、上記で列挙される成分の1つまたは組み合わせと共に組み込み、必要な場合、続いて濾過滅菌することによって調製され得る。一般的に、分散液は、活性化合物を、基本分散媒体および上記で列挙される成分から必要とされる他の成分を含む滅菌ビヒクル中へ組み込むことによって調製される。滅菌注射可能溶液の調製のための滅菌散剤の場合において、調製方法は、真空乾燥および凍結乾燥であり、これにより、活性成分および予め

滅菌濾過されたその溶液からの任意のさらなる所望の成分の散剤を得る。

【0201】

経口組成物は、一般的に、不活性希釈剤または食用キャリアを含む。これらは、ゼラチンカプセルに封入され得るか、または錠剤へ圧縮され得る。経口治療投与の目的のために、この活性化合物は、賦形剤とともに組み込まれ得、そして錠剤、トローチ剤、またはカプセル剤の形態で使用され得る。経口組成物はまた、マウスウォッシュ (mouth wash) としての使用のために流体キャリアを使用して調製され得、ここで、この流体キャリア中のこの化合物は、経口的に適用され、そして素早く動かされ (スウィッシュ) (swish)、そして吐き出されるか、または飲み込まれる。薬学的に適合性の結合剤、および/またはアジュバント材料が、この組成物の一部として含まれ得る。錠剤、丸剤、カプセル剤、トローチ剤などが、以下のいずれかの成分または同様の性質の化合物を含み得る：結合剤 (例えば、微結晶セルロース、ガムトラガントまたはゼラチン)；賦形剤 (例えば、デンプンまたはラクトース)、崩壊剤 (例えば、アルギン酸)、PrimoGel、またはコーンスターチ；滑沢剤 (例えば、ステアリン酸マグネシウムまたはSterotes)；グライダント (glidant) (例えば、コロイド状二酸化ケイ素)；甘味剤 (例えば、スクロースまたはサッカリン)；あるいは香味剤 (例えば、ペパーミント、サリチル酸メチル、またはオレンジフレーバー)。

【0202】

吸入による投与について、この化合物は、適切な噴霧剤 (例えば、二酸化炭素のような気体) を含む圧縮容器またはディスペンサー、あるいは噴霧器から、エアロゾルスプレーの形態で送達される。

【0203】

全身的投与はまた、経粘膜手段または経皮手段によりなされ得る。経粘膜投与または経皮投与について、浸透されるバリアに対して適切な浸透剤が、処方において使用される。このような浸透剤は、一般的に、当該分野で公知であり、そして、例えば、経粘膜投与については、界面活性剤、胆汁酸塩、およびフシジン酸誘導体が挙げられる。経粘膜投与は、鼻スプレーまたは坐剤の使用を介して達成

され得る。経皮投与については、この活性化合物は、当該分野で一般的に公知である軟膏剤、軟膏、ゲル、またはクリーム剤へ処方される。

【0204】

この化合物はまた、直腸送達のための坐剤の使用（例えば、ココアバターおよび他のグリセリドのような従来の坐剤ベースと共に）または保持浣腸の形態で調製され得る。

【0205】

1つの実施形態において、この活性化合物は、身体からの迅速な排出に対してこの化合物を保護するキャリアを用いて調製され（例えば、制御放出処方物）、これには、移植片およびマイクロカプセル化された送達系が挙げられる。酢酸エチレンビニル、ポリ無水物、ポリグリコール酸、コラーゲン、ポリオルトエステル、およびポリ乳酸のような、生分解性、生体適合性ポリマーが使用され得る。このような処方物の調製のための方法は、当該業者には明らかである。これらの材料はまた、Alza Corporation and Nova Pharmaceuticals, Inc. から市販されている。リポソーム懸濁液（ウイルス抗原に対するモノクローナル抗体を含む、感染させた細胞へ標的化されるリポソームを含む）がまた、薬学的に受容可能なキャリアとして使用され得る。これらは、例えば、米国特許第4,522,811号に記載されるような、当業者に公知の方法に従って調製され得る。

【0206】

投与の容易さおよび投薬量の均一性のために、投薬単位形態で、経口組成物または非経口組成物を処方することが、特に有益である。本明細書で使用される投薬単位形態は、処置される被験体のための単位投薬量として適切な、物理的に個々の単位をいい；各単位は、必要とされる薬学的キャリアと関連して、所望の治療的效果を生じるように計算された所定量の活性化合物を含む。本発明の投薬単位形態についての詳細は、この活性化合物の固有の特性、および達成される特定の治療効果、ならびに個体の処置のためのこのような活性化合物を調合する当該分野に固有の制限によって決定されるか、あるいはこれらに直接依存する。

【0207】

本発明の核酸分子は、ベクターに挿入され得、そして遺伝子治療ベクターとして使用され得る。遺伝子治療ベクターは、被験体へ、例えば、静脈内注射、局所投与（例えば、米国特許第5,328,470号を参照のこと）または定位注射（例えば、Chenら、1994、Proc.Natl.Sci.USA.91:3054-3057を参照のこと）によって送達され得る。遺伝子治療ベクターの薬学的調製物には、受容可能な希釈剤中の遺伝子治療ベクターが挙げられ得、または遺伝子送達ビヒクルが埋包される徐放性マトリックスを含み得る。あるいは、完全な遺伝子送達ベクター（例えば、レトロウイルスベクター）が、組換え細胞からインタクトで産生され得る場合、この薬学的調製物は、遺伝子送達系を産生する1以上の細胞を含み得る。

【0208】

薬学的組成物は、投与のための使用説明書をととも、容器、包装、またはディスペンサーに含まれ得る。

【0209】

（スクリーニング方法および検出方法）

本明細書中で記載される核酸分子、タンパク質、タンパク質ホモログ、および抗体は、以下の1つ以上の方法において使用され得る：（A）スクリーニングアッセイ；（B）検出アッセイ（例えば、染色体マッピング、細胞型決定および組織型決定、法医学生物学）；（C）予測医学（例えば、診断アッセイ、予後アッセイ、臨床試験モニタリング、および薬理ゲノム学）；ならびに（D）処置の方法（例えば、治療的および予防的）。

【0210】

本発明の単離された核酸分子は、SECXタンパク質を発現するために（例えば、遺伝子治療適用の際に宿主細胞における組み換え発現ベクターを介して）使用され、SECX mRNA（例えば、生物学的サンプルにおける）またはSECX遺伝子における遺伝的病変を検出し得、そして以下にさらに記載されるようなSECX活性を調節し得る。さらに、SECXタンパク質を使用して、SECXタンパク質活性または発現を調節する薬物または化合物をスクリーニングし得、そしてSECXタンパク質の不十分かもしくは過剰な産生またはSECXタン

パク質形態の産生の減少またはSECX野生型タンパク質と比較して異常な活性によって特徴づけられる障害を処置し得る。さらに、本発明の抗SECX抗体は、SECXタンパク質を検出および単離し、そしてSECX活性を調節するために使用され得る。例えば、SECX活性は、成長および分化、抗体産生、および腫瘍増殖を含む。

【0211】

本発明は、さらに、本明細書中に記載されるスクリーニングアッセイによって同定される新規の薬剤および上記される処置のためのそれらの使用に関する。

【0212】

(スクリーニングアッセイ)

本発明は、調節因子、すなわち、SECXタンパク質に結合するか、あるいは例えば、SECXタンパク質発現もしくはSECXタンパク質活性に対して刺激効果もしくは阻害効果を有する、候補化合物もしくは候補薬剤、または試験化合物もしくは試験薬剤(例えば、ペプチド、ペプチド模倣物、低分子または他の薬物)を同定するための方法(本明細書中において「スクリーニングアッセイ」とも称される)を提供する。本発明はまた、本明細書中で記載されるスクリーニングアッセイにおいて同定される化合物を含む。

【0213】

1つの実施形態において、本発明は、SECXのタンパク質またはポリペプチド、あるいはその生物学的に活性な部分の膜結合形態に結合するか、またはそれら膜結合形態の活性を調節する、候補化合物もしくは試験化合物をスクリーニングするためのアッセイを提供する。本発明の試験化合物は、当該分野において公知のコンビナトリアルライブラリー法における多数のアプローチのいずれかを使用して得られ得、これらのライブラリーには、以下が挙げられる：生物学的ライブラリー；空間的にアクセス可能な平行固相もしくは溶液相ライブラリー；逆重畳を要する合成ライブラリー法；「1ビーズに1化合物(one-bead, one-compound)」ライブラリー法；およびアフィニティークロマトグラフィー選択を使用する合成ライブラリー法。生物学的ライブラリーアプローチはペプチドライブラリーに限定されるが、他の4つのアプローチは、ペプチド、

非ペプチドオリゴマーもしくは化合物の低分子ライブラリーに適用可能である。例えば、Lam (1997) *Anticancer Drug Design* 12:145を参照のこと。

【0214】

本明細書中で使用される場合、「低分子」とは、約5 kD未満の分子量、最も好ましくは約4 kD未満の分子量を有する組成物をいうように意味される。低分子は、例えば、核酸、ペプチド、ポリペプチド、ペプチド模倣体、糖、脂質または他の有機分子もしくは無機分子であり得る。化学的および/または生物学的混合物（例えば、真菌、細菌または藻類抽出物）のライブラリーは、当該分野で公知であり、そして本発明のアッセイのいずれかを用いてスクリーニングされ得る。

【0215】

分子ライブラリーの合成のための方法の例は、当該分野において、例えば以下に見出され得る：DeWittら, 1993, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 90:6909; Erbら, 1994, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 91:11422; Zuckermannら, 1994, *J. Med. Chem.* 37:2678; Choら, 1993, *Science* 261:1303; Carrellら, 1994, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 33:2059; Carrellら, 1994, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 33:2061; およびGallopら, 1994, *J. Med. Chem.* 37:1233。

【0216】

化合物のライブラリーは、溶液中（例えば、Houghten, 1992, *Biotechniques* 13:412~421）、あるいはビーズ上（Lam, 1991, *Nature* 354:82~84）、チップ上（Fodor, 1993, *Nature* 364:555~556）、細菌（Ladner 米国特許第5,223,409号）、孢子（Ladner 米国特許第5,233,409号）、プラスミド（Cullら, 1992, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 89:1865~1869）またはファージ上（

ScottおよびSmith、1990、Science 249:386~390; Devlin、1990、Science 249:404~406; Cwirllaら、1990、Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 87:6378~6382; Felici、1991、J. Mol. Biol. 222:301~310; Ladner、米国特許第5,233,409号)で調製され得る。

【0217】

1つの実施形態において、アッセイは細胞ベースのアッセイであり、ここで、膜結合形態のSECXタンパク質、またはその生物学的に活性な部分を細胞表面上に発現する細胞が、試験化合物と接触され、そしてこの試験化合物が、SECXタンパク質に結合する能力が、決定される。細胞は、例えば、哺乳動物起源または酵母細胞であり得る。この試験化合物がSECXタンパク質に結合する能力の決定は、例えば、その試験化合物を放射性同位体標識または酵素標識とカップリングさせて、その結果、この試験化合物のSECXタンパク質またはその生物学的に活性な部分に対する結合が、複合体におけるその標識化合物を検出することによって決定され得ることによって達成され得る。例えば、試験化合物は、¹²⁵I、³⁵S、¹⁴C、または³Hで直接的または間接的のいずれかで標識され得、そしてその放射性同位体が、放射線放射の直接の計数によるか、またはシンチレーション計数により、検出され得る。あるいは、試験化合物は、例えば、西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、またはルシフェラーゼで酵素的に標識され得、そしてこの酵素的標識が、適切な基質の生成物への転換を決定することにより、検出され得る。1つの実施形態において、このアッセイは、膜結合形態のSECXタンパク質、またはその生物学的に活性な部分をその細胞表面上に発現する細胞を、SECXと結合する公知の化合物と接触させて、アッセイ混合物を形成する工程、このアッセイ混合物に試験化合物を接触させる工程、ならびにこの試験化合物がSECXタンパク質と相互作用する能力を決定する工程を包含し、ここで、この試験化合物がSECXタンパク質と相互作用する能力を決定する工程が、この試験化合物が、公知の化合物と比較して、SECXまたはその生物学的に活性な部分と優先的に結合する能力を決定することを包含する。

【0218】

別の実施形態において、アッセイは、細胞ベースのアッセイであり、SECXタンパク質またはその生物学的に活性な部分の膜結合形態を細胞表面上で発現する細胞を、試験化合物と接触させる工程、ならびにこの試験化合物が、SECXタンパク質またはその生物学的に活性な部分の活性を調節（例えば、刺激または阻害）する能力を決定する工程を包含する。この試験化合物がSECX、またはその生物学的に活性な部分の活性を調節する能力の決定は、例えば、SECXタンパク質が、SECX標的分子に結合またはこれら標的分子と相互作用する能力を決定することによって、達成され得る。本明細書中において使用する場合には、「標的分子」とは、SECXタンパク質が自然に結合または相互作用する分子であり、例えば、SECX相互作用タンパク質を発現する細胞の表面の分子、第二の細胞の表面上の分子、細胞外の環境の分子、細胞膜の内部表面と会合する分子、または細胞質分子である。SECX標的分子は、本発明の非SECX分子またはSECXタンパク質またはポリペプチドであり得る。1つの実施形態において、SECX標的分子は、シグナル伝達経路の構成要素であり、これは、細胞膜を通る細胞内への細胞外シグナル（例えば、化合物が膜結合SECX分子に結合することにより発生するシグナル）の伝達を促進する。その標的は、例えば、触媒活性を有する第二の細胞内タンパク質または下流シグナル伝達分子のSECXとの会合を容易にするタンパク質であり得る。

【0219】

SECXタンパク質がSECX標的分子に結合するかまたはその標的分子と相互作用する能力の決定は、直接の結合を決定するための上記方法の1つにより、達成され得る。1つの実施形態において、SECXタンパク質がSECX標的分子に結合するかまたはその標的分子と相互作用する能力の決定は、その標的分子の活性を決定することにより、達成され得る。例えば、この標的分子の活性は、その標的の細胞第二メッセンジャー（すなわち、細胞内 Ca^{2+} 、ジアシルグリセロール、 IP_3 など）の誘導を検出すること、適切な基質の標的の触媒活性/酵素活性を検出すること、レポーター遺伝子（検出可能なマーカー（例えば、ルシフェラーゼ）をコードする核酸に作動可能に連結されたSECX応答性調節エレ

メントを含む)の誘導を検出すること、または細胞応答(例えば、細胞生存、細胞分化、または細胞増殖)を検出することにより、決定され得る。

【0220】

なお別の実施形態において、本発明のアッセイは、無細胞アッセイであり、SECタンパク質またはその生物学的に活性な部分を試験化合物に接触させる工程、ならびにその試験化合物がSECタンパク質またはその生物学的に活性な部分と結合する能力を決定する工程を包含する。この試験化合物の、SECタンパク質への結合は、上記のように、直接的または間接的にのいずれかで決定され得る。1つのそのような実施形態において、このアッセイは、SECタンパク質またはその生物学的に活性な部分を、SECに結合する公知の化合物に接触させて、アッセイ混合物を形成する工程、このアッセイ混合物を試験化合物に接触させる工程、ならびにその試験化合物がSECタンパク質と相互作用する能力を決定する工程を包含し、ここで、この試験化合物がSECタンパク質と相互作用する能力を決定する工程は、この試験化合物が、公知の化合物と比較して、SEC、またはその生物学的に活性な部分と優先的に結合する能力を決定することを含む。

【0221】

さらに別の実施形態において、アッセイは、無細胞アッセイであり、SECタンパク質またはその生物学的に活性な部分を試験化合物と接触させる工程、ならびにその試験化合物がSECタンパク質またはその生物学的に活性な部分の活性を調節(例えば、刺激または阻害)する能力を決定する工程を包含する。この試験化合物がSECの活性を調節する能力の決定は、例えば、SECタンパク質が、SEC標的分子に結合する能力を、直接的結合の決定のための上記方法の1つによって決定することにより、達成され得る。代替の実施形態において、この試験化合物がSECタンパク質の活性を調節する能力の決定は、SECタンパク質が、SEC標的分子をさらに調節する能力を決定することにより、達成され得る。例えば、この標的分子の適切な基質に対する触媒活性/酵素活性は、上に記載のように決定され得る。

【0222】

なお別の実施形態において、無細胞アッセイは、SECXタンパク質またはその生物学的に活性な部分を、SECXタンパク質に結合する公知の化合物に接触させてアッセイ混合物を形成する工程、このアッセイ混合物を試験化合物と接触させる工程、ならびにこの試験化合物がSECXタンパク質と相互作用する能力を決定する工程を包含し、ここで、この試験化合物がSECXタンパク質と相互作用する能力の決定は、SECXタンパク質が、SECX標的分子と優先的に結合するか、またはその標的分子の活性を優先的に調節する能力を決定する工程を包含する。

【0223】

本発明の無細胞アッセイは、SECXタンパク質の、可溶性の形態または膜結合形態の両方の使用に受け入れられる。膜結合形態のSECXタンパク質を含む無細胞アッセイの場合には、SECXタンパク質の膜結合形態が溶液中に維持されるように、可溶化剤を利用することが望ましくあり得る。このような可溶化剤の例としては、非イオン性界面活性剤が挙げられ、例えば、*n*-オクチルグルコシド、*n*-ドデシルグルコシド、*n*-ドデシルマルトシド、オクタノイル-N-メチルグルカミド、デカノイル-N-メチルグルカミド、Triton（登録商標）X-100、Triton（登録商標）X-114、Thesit（登録商標）、イソトリデシルポリ（エチレングリコールエーテル）_n（Isotridecylpoly(ethylene glycol ether)_n）、N-ドデシル-N,N-ジメチル-3-アンモニオ-1-プロパンスルホネート、3-（3-コラミドプロピル）ジメチルアンモニオ-1-プロパンスルホネート（3-（3-cholamidopropyl）dimethylammonio-1-propane sulfonate）（CHAPS）、または3-（3-コラミドプロピル）ジメチルアンモニオ-2-ヒドロキシ-1-プロパンスルホネート（3-（3-cholamidopropyl）dimethylammonio-2-hydroxy-1-propane sulfonate）（CHAPSO）である。

【0224】

本発明の上記アッセイ方法の1つより多い実施形態において、SECXタンパ

ク質、またはその標的分子のいずれかを固定して、そのタンパク質の一方または両方の非複合形態からの複合形態の分離を促進し、そしてそのアッセイの自動化に適用させることが、望ましくあり得る。試験化合物の、SECXタンパク質への結合、または候補化合物の存在下および非存在下での、SECXタンパク質の標的分子との相互作用は、これらの反応物を収容するために適切な任意の容器内で、達成され得る。このような容器の例としては、マイクロタイタープレート、試験管、および微小遠心管が挙げられる。1つの実施形態において、そのタンパク質の一方または両方がマトリックスに結合することを可能にするドメインを付加する融合タンパク質が、提供され得る。例えば、GST-SECX融合タンパク質またはGST標的融合タンパク質は、グルタチオンセファロースビーズ(Sigma Chemical, St. Louis, MO)またはグルタチオン誘導体化マイクロタイタープレート上に吸着され得、次いでこれらは、試験化合物と組み合わせられるか、あるいは試験化合物および吸着されない標的タンパク質、またはSECXタンパク質のいずれかと合わせられ、そしてこの混合物が、複合体形成を誘導する条件下で(例えば、塩およびpHに関する生理学的条件下で)インキュベートされる。インキュベーションに続いて、ビーズまたはマイクロタイタープレートウェルを洗浄して、結合していないあらゆる成分を除去し、ビーズの場合にはマトリックスを固定し、例えば上記のように、複合体を直接的または間接的のいずれかで決定する。あるいは、複合体がマトリックスから解離され得、そしてSECXタンパク質の結合レベルまたは活性レベルを、標準的な技術を使用して決定し得る。

【0225】

タンパク質をマトリックスに固定するための他の技術がまた、本発明のスクリーニングアッセイにおいて使用され得る。例えば、SECXタンパク質、またはその標的分子のいずれかが、ビオチンとストレプトアビジンとの結合を利用して、固定され得る。ビオチニル化SECXタンパク質または標的分子は、当該分野において周知の技術を使用して、ビオチンNHS(N-ヒドロキシスクシンイミド)から調製され得(例えば、ビオチニル化キット、Pierce Chemicals, Rockford, Ill.)、そしてストレプトアビジンコーティ

ングした96ウェルのプレート(Pierce Chemical)のウェルに固定され得る。あるいは、SECタンパク質、または標的分子と反応性であるがSECタンパク質のその標的分子への結合を妨害しない抗体が、そのプレートのウェルに誘導体化され得、そして結合していない標的またはSECタンパク質が、抗体の結合によってウェル内にトラップされ得る。このような複合体を検出するための方法としては、GST固定複合体に関する上記の方法に加えて、SECタンパク質または標的分子と反応性の抗体を使用する、複合体の免疫検出、ならびにSECタンパク質または標的分子に関する酵素活性の検出に依存する酵素結合アッセイが挙げられる。

【0226】

別の実施形態において、SECタンパク質発現のモジュレーターは、細胞を候補化合物と接触させ、そして細胞中のSEC mRNAまたはタンパク質の発現を決定する方法において同定される。候補化合物の存在下でのSEC mRNAまたはタンパク質の発現レベルは、候補化合物の非存在下でのSEC mRNAまたはタンパク質の発現レベルと比較される。次いで、候補化合物は、この比較に基づいて、SEC mRNAまたはタンパク質の発現のモジュレーターとして同定され得る。例えば、SEC mRNAまたはタンパク質の発現が候補化合物の非存在下より、その存在下における方が大きい(すなわち、統計的に有意に大きい)場合、この候補化合物は、SEC mRNAまたはタンパク質の発現の刺激物質として同定される。あるいは、SEC mRNAまたはタンパク質の発現が候補化合物の非存在下よりその存在下の方が少ない(統計的に有意に少ない)場合、この候補化合物は、SEC mRNAまたはタンパク質の発現のインヒビターとして同定される。細胞中のSEC mRNAまたはタンパク質の発現レベルは、SEC mRNAまたはタンパク質を検出するために本明細書中に記載の方法によって決定され得る。

【0227】

本発明のなお別の局面において、SECタンパク質は、ツーハイブリッドアッセイまたはスリーハイブリッドアッセイにおいて「ベイトタンパク質」として使用され得(例えば、米国特許第5,283,317号; Zervosら、19

93. Cell 72:223-232; Maduraら、1993. J Biol Chem 268:12046-12054; Bartelら、1993. Biotechniques 14:920-924; Iwabuschiraら、1993. Oncogene 8:1693-1696; および Brent WO94/10300を参照のこと)、SECX(「SECX結合タンパク質」または「SECX-bp」)に結合するか、またはこれと相互作用し、そしてSECX活性を調節する他のタンパク質を同定する。このようなSECX結合タンパク質はまた、例えば、SECX経路の上流または下流エレメントとしてSECXタンパク質によるシグナル伝達に関与するようである。

【0228】

ツーハイブリッドシステムは、分離可能なDNA結合ドメインおよび活性化ドメインからなる、大部分の転写因子のモジュール的性質に基づく。簡潔には、このアッセイは、2つの異なるDNA構築物を利用する。一方の構築物においては、SECXをコードする遺伝子が公知の転写因子(例えば、GAL-4)のDNA結合ドメインをコードする遺伝子に融合される。他方の構築物においては、DNA配列のライブラリー由来の、未同定タンパク質(「プレイ」または「サンプル」)をコードするDNA配列が、公知の転写因子の活性化ドメインをコードする遺伝子に融合される。「ベイト」および「プレイ」タンパク質がインビボで相互作用して、SECX依存性複合体を形成し得る場合、この転写因子のDNA結合ドメインおよび活性化ドメインは、非常に近くにある。近位にあることにより、転写因子に応答性の転写調節部位に作動可能に連結されたレポーター遺伝子(例えば、LacZ)の転写を可能にする。レポーター遺伝子の発現が検出され得、そして機能的転写因子を含む細胞コロニーは、単離され得、そしてSECXと相互作用するタンパク質をコードするクローニングされた遺伝子を得るために使用され得る。

【0229】

本発明は、本明細書中に記載されるように、上記のスクリーニングアッセイにより同定される新規の薬剤にさらに関連し、そして処置のためのその薬剤の使用に関する。

【0230】

(検出アッセイ)

本明細書中で同定される cDNA 配列の一部またはフラグメント (および対応する完全な遺伝子配列) は、ポリヌクレオチド試薬として多くの方法で使用され得る。例えば、制限するものではないが、これらの配列を使用して、(i) 染色体上にそれぞれの遺伝子をマッピングし得; 従って遺伝病と関連する遺伝子領域を位置決めし得; (ii) 微量の生物学的サンプルから個体を同定し得 (組織型決定); および (iii) 生物学的サンプルの法医学的識別を補助し得る。これらの適用のいくつかは、以下の節において記載される。

【0231】

(染色体マッピング)

一旦遺伝子の配列 (または配列の一部) が単離されると、この配列を用いて染色体上の遺伝子の位置をマッピングし得る。このプロセスは、染色体マッピングとよばれる。従って、SECX 配列の一部またはフラグメント (例えば、配列番号 1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、もしくは 23 の 1 つ以上の一部またはそのフラグメント、あるいはフラグメントもしくはその誘導体) は、染色体上の SECX 遺伝子の位置をマッピングするために、それぞれ使用され得る。SECX 配列を染色体にマッピングすることは、これらの配列と、疾患と関連する遺伝子とを相関付ける際の重要な第一歩である。

【0232】

簡潔には、SECX 遺伝子は、SECX 配列から PCR プライマー (好ましくは、15 ~ 25 bp の長さ) を調製することにより染色体にマッピングし得る。SECX 配列のコンピューター分析を用いて、ゲノム DNA における 1 つを超えるエクソンにまたがらないプライマーを迅速に選択し得、従って、増幅プロセスを複雑にし得る。次いで、これらのプライマーは、個々のヒト染色体を含む体細胞ハイブリッドの PCR スクリーニングのために使用され得る。SECX 配列に対応するヒト遺伝子を含むハイブリッドのみが、増幅されたフラグメントを生じる。

【0233】

体細胞ハイブリッドは、異なる哺乳動物由来の体細胞（例えば、ヒトおよびマウス細胞）を融合することにより調製される。ヒトおよびマウスのハイブリッドが増殖および分裂するにつれ、それらは、無作為な順序で徐々にヒト染色体を失うが、マウス染色体を維持する。マウス細胞は増殖できない（なぜなら、それらは特定の酵素を欠損している）が、ヒト細胞は増殖できる培地を使用することにより、必要な酵素をコードする遺伝子を含む1つのヒト染色体が維持される。種々の培地を使用することによって、ハイブリッド細胞株のパネルが確立され得る。パネルにおける各細胞株は、単一のヒト染色体または少数のヒト染色体いずれか、およびマウス染色体の完全なセットを含み、これにより、個々の遺伝子を特定のヒト染色体にマッピングすることが容易に可能になる（D' E u s t a c h i o ら、1983 . S c i e n c e 220 : 919 - 924）。ヒト染色体のフラグメントのみを含む体細胞ハイブリッドはまた、転座および欠失を伴うヒト染色体を使用することにより生成され得る。

【0234】

体細胞ハイブリッドのPCRマッピングは、特定の染色体に特定の配列を割り当てるための迅速な手順である。1つのサーマルサイクラーを用いて、一日に3つ以上の配列が割り当てられ得る。SECX配列を使用して、オリゴヌクレオチドプライマーを設計すると、下位位置決定（sublocalization）は、特定の染色体由来のフラグメントのパネルを用いて達成され得る。

【0235】

中期染色体スプレッドに対するDNA配列の蛍光インサイチュハイブリダイゼーション（FISH）は、一工程で正確な染色体位置を提供するためにさらに使用され得る。染色体スプレッドは、コルセミド（染色体紡錘体を破壊する）のような化学物質により分裂が中期においてブロックされた細胞を使用して行われ得る。この染色体は、トリプシンで短時間処理され得、次いで、ギムザ染色され得る。薄いバンドおよび濃いバンドのパターンが各染色体で発生し、その結果、この染色体は、個々に同定され得る。FISH技術は、500または600塩基ほどの長さのDNA配列と共に使用され得る。しかし、1,000塩基より大きなクローンは、簡単な検出に十分なシグナル強度で、独特の染色体位置に結合する

可能性がより高い。好ましくは、1,000塩基、そしてより好ましくは、2,000塩基が妥当な時間量で良好な結果を得るのに十分である。この技術の総説については、Vermaら、HUMAN CHROMOSOMES: A MANUAL OF BASIC TECHNIQUES (Pergamon Press, New York 1988)を参照のこと。

【0236】

染色体マッピングの試薬が、単一の染色体またはその染色体上の単一部位を印付けするために個々に使用され得るか、または試薬のパネルが、複数部位および/または複数染色体を印付けするために使用され得る。遺伝子の非コード領域に対応する試薬は、実際に、マッピング目的のために好ましい。コード配列は、遺伝子ファミリー内に保存され、これにより染色体マッピングの間に交叉ハイブリダイゼーションの機会が増大する可能性が高い。

【0237】

一旦配列が正確な染色体位置にマッピングされると、その配列の染色体上の物理的位置は、遺伝子マップデータと相関し得る。このようなデータは、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)において見出される。次いで、同じ染色体領域にマッピングされる遺伝子と疾患との間の関係は、例えば、Egelandら、1987. Nature, 325: 783-787に記載される連鎖分析(物理的に隣接する遺伝子の同時遺伝)を介して同定され得る。

【0238】

さらに、SEX遺伝子と関連する疾患に罹患した個体と、この疾患に罹患していない個体との間のDNA配列における差異が決定され得る。罹患した個体のいくらかまたは全てにおいて変異が認められるが、非罹患個体のいずれにおいても認められない場合、この変異は特定の疾患の原因である薬剤である可能性が高い。罹患個体と非罹患個体の比較は、一般に、染色体における構造的変化(例えば、染色体スプレッドから可視であるか、またはそのDNA配列に基づいたPC

Rを用いて検出可能な欠失または転座)を最初に探すことを包含する。最終的に、いくらかの個体に由来する遺伝子の完全な配列決定を行って、変異の存在を確認し、かつ多型に由来する変異を区別する。

【0239】

(組織型決定(tissue typing))

本発明のSECX配列はまた、わずかな生物学的サンプルから個体を識別するために使用され得る。この技術において、個体のゲノムDNAは、1つ以上の制限酵素で消化され、そして同定のために独特のバンドを生成するためにサザンプロット上でプロービングされる。本発明の配列は、RFLP(米国特許第5,272,057号に記載の「制限フラグメント長多型」)のためのさらなるDNAマーカーとして有用である。

【0240】

さらに、本発明の配列を用いて、個体のゲノムの選択された部分の実際の塩基ごとにDNA配列を決定する代替的技術を提供し得る。従って、本明細書中に記載のSECX配列を用いて、配列の5'末端および3'末端から2つのPCRプライマーを調製し得る。次いで、これらのプライマーを使用して、個体のDNAを増幅し得、そして引き続きこれを配列決定し得る。

【0241】

このように調製された個体由来の対応するDNA配列のパネルは、各個体が、対立遺伝子差異に起因するこのようなDNA配列の独特のセットを有するので、独特の個体識別を提供し得る。本発明の配列は、個体由来および組織由来の配列のこのような識別を得るために使用され得る。本発明のSECX配列は、ヒトゲノムの部分を独特に表す。対立遺伝子のバリエーションは、これらの配列のコード領域においてある程度生じ得、そして非コード領域においてより大きな程度に生じる。個々のヒト間での対立遺伝子のバリエーションが、各500塩基につき約1塩基の頻度で生じることが推定される。対立遺伝子のバリエーションの多さは、制限フラグメント長多型(RFLP)を含む単一ヌクレオチド多型(SNP)に起因する。

【0242】

本明細書中で記載の配列の各々は、ある程度、標準物質（これに対して個体からのDNAが識別の目的で比較され得る）として使用され得る。より多くの多型が非コード領域で生じるので、個体を区別するために、それほど多くの配列が必要であるわけではない。非コード配列は、各々100塩基の増幅された非コード領域配列を生じる、おそらく10~1,000プライマーのパネルを、ポジティブな個々の同定に快適に提供し得る。推定SECXコード配列（例えば、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、または23）が使用される場合、ポジティブな個体識別に関するプライマーのより多くの適切な数は、500~2,000である。

【0243】

（予測医療）

本発明はまた、診断アッセイ、予後アッセイ、薬物ゲノム（*pharmacogenomics*）およびモニタリング臨床試験が、予後（予測）の目的に使用され、これによって個体を予防的に処置する、予測医療の分野に関する。従って、本発明の1つの局面は、SECXタンパク質および/または核酸の発現、ならびにSECXの活性を、生物学的サンプル（例えば、血液、血清、細胞、組織）の関連で決定し、これによって、異常なSECXの発現または活性に関連して、個体が疾患または障害に罹患するかどうか、あるいは障害を発症するリスクがあるかどうかを決定する。本発明はまた、個体が、SECXタンパク質、核酸の発現または活性と関連した障害を発症するリスクがあるかどうかを決定するための予後的（または予測的）アッセイを提供する。例えば、SECX遺伝子における変異が、生物学的サンプルにおいてアッセイされ得る。このようなアッセイは、予後的または予測的な目的に使用され得、これによってSECXタンパク質、核酸の発現または活性によって特徴付けられるかまたは関連する障害の発病の前に個体を予防的に処置する。

【0244】

本発明の別の局面は、個体におけるSECXのタンパク質、核酸の発現あるいはSECX活性を決定するための方法を提供し、これによって、その個体についての適切な治療的または予防的薬剤（本明細書において「薬物ゲノム」とよばれ

る)を選択する。薬物ゲノムは、個体の遺伝型(例えば、特定の薬剤に対して応答する個体の能力を決定するために試験された個体の遺伝型)に基づいて個体の治療的または予防的処置のための薬剤(例えば、薬物)の選択を可能にする。

【0245】

本発明のなお別の局面は、臨床試験におけるSECXの発現または活性に対する薬剤(例えば、薬物、化合物)の影響をモニタリングすることに関する。

【0246】

これらおよび他の薬物は、以下の節でさらに詳細に記載される。

【0247】

(診断アッセイ)

生物学的サンプルにおけるSECXの存在または非存在を検出するための例示的な方法は、試験被験体から生物学的サンプルを得る工程、およびその生物学的サンプルをSECXタンパク質またはSECXタンパク質をコードする核酸(例えば、mRNA、ゲノムDNA)を検出し得る化合物もしくは薬剤とを接触させ、その結果、SECXの存在が、その生物学的サンプルにおいて検出される、工程を包含する。SECX mRNAもしくはゲノムDNAを検出するための薬剤は、SECX mRNAもしくはゲノムDNAにハイブリダイズし得る、標識された核酸プローブである。この核酸プローブは、例えば、全長SECX核酸もしくはその一部(例えば、少なくとも、15、30、50、100、250もしくは500ヌクレオチド長のオリゴヌクレオチドであり、ストリンジентな条件下でSECX mRNAまたはゲノムDNAと特異的にハイブリダイズするに十分である核酸)であり得る。本発明の診断アッセイにおける使用のための他の適切なプローブは本明細書中に記載されている。

【0248】

SECXのタンパク質を検出するための薬剤は、SECXのタンパク質に結合し得る抗体であり、好ましくは、検出可能な標識を有する抗体である。抗体は、ポリクローナルであり得るか、またはより好ましくはモノクローナル抗体であり得る。インタクトな抗体またはそのフラグメント(例えば、 F_{ab} または $F_{(ab)_2}$)が使用され得る。用語「標識(された)」とは、プローブまたは抗体に関して

、検出可能な物質をそのプローブもしくは抗体にカップリングさせる（すなわち、物理的に連結する）ことによってそのプローブまたは抗体を直接標識すること、ならびに、直接標識された別の試薬との反応性によってそのプローブもしくは抗体の間接的な標識をすることを包含することが意図される。間接的な標識の例としては、蛍光標識された二次抗体を用いた一次抗体の検出、および蛍光標識されたストレプトアビジンを用いて検出され得るようにDNAプローブのビオチンを用いた末端標識が挙げられる。用語「生物学的サンプル」とは、被験体から単離された、組織、細胞および生物学的流体ならびに被験体に存在する組織、細胞および流体を含むことが意図される。すなわち、本発明の検出方法を用いて、SECXのmRNA、タンパク質またはゲノムDNAを、生物学的サンプル中で、インビトロおよびインビボで検出し得る。例えば、SECXのmRNAの検出のためのインビトロ技術としては、ノーザンハイブリダイゼーションおよびインサイチュハイブリダイゼーションが挙げられる。SECXのタンパク質の検出のためのインビトロ技術としては、酵素連結免疫吸着アッセイ（ELISA）、ウェスタンブロット、免疫沈降および免疫蛍光が挙げられる。SECXのゲノムDNAを検出するためのインビトロ技術としては、サザンハイブリダイゼーションが挙げられる。さらに、SECXのタンパク質の検出のためのインビボ技術としては、標識された抗SECX抗体を被験体に導入することが挙げられる。例えば、その抗体は、放射性マーカーを用いて標識され得る。被験体における放射性マーカーの存在および位置は、標準的な画像化技術によって検出され得る。

【0249】

1つの実施形態において、この生物学的サンプルは、その試験被験体からのタンパク質分子を含む。あるいは、この生物学的サンプルは、その試験被験体からのmRNA分子またはその試験被験体からのゲノムDNA分子を含み得る。好ましい生物学的サンプルは、被験体から従来的手段によって単離された末梢血白血球サンプルである。

【0250】

別の実施形態において、本発明の方法はさらに、コントロール被験体からコントロール生物学的サンプルを得る工程、そのコントロールサンプルを、SECX

のタンパク質、mRNAもしくはゲノムDNAを検出し得る化合物もしくは薬剤と接触させ、その結果、SECXのタンパク質、mRNAもしくはゲノムDNAの存在がその生物学的サンプルにおいて検出される、工程、およびそのコントロールサンプルにおけるSECXのタンパク質、mRNAもしくはゲノムDNAの存在と、その試験サンプルにおけるSECXのタンパク質、mRNAもしくはゲノムDNAの存在とを比較する工程を包含する。

【0251】

本発明はまた、生物学的サンプルにおけるSECXの存在を検出するためのキットを包含する。例えば、このキットは、以下を備え得る：生物学的サンプルにおいてSECXのタンパク質またはmRNAを検出し得る、標識された化合物もしくは薬剤；そのサンプルにおいてSECXの量を決定するための手段；およびそのサンプルにおいて、標準と、SECXの量とを比較するための手段。この化合物または薬剤は、適切な容器内に包装され得る。このキットは、さらに、SECXのタンパク質または核酸を検出するためのキットを用いるための説明書を備え得る。

【0252】

(予後アッセイ)

本明細書において記載された診断方法をさらに利用して、SECXの異常発現または異常活性に関連した疾患もしくは障害を有するかまたはその発症の危険にある被験体を同定し得る。例えば、本明細書に記載されるアッセイ（例えば、上述の診断アッセイまたは下記のアッセイ）を利用して、SECXのタンパク質、核酸の発現または活性に関連する障害を有するかまたはその発症の危険にある被験体を同定し得る。あるいは、この予後アッセイを利用して、疾患または障害を有するかまたはその発症の危険にある被験体を同定し得る。従って、本発明は、SECXの異常発現または異常活性に関連する疾患もしくは障害を同定するための方法を提供する。ここで、試験サンプルは、被験体から得られ、そしてSECXのタンパク質または核酸（例えば、mRNA、ゲノムDNA）が検出され、ここで、SECXのタンパク質または核酸の存在は、SECXの異常発現または異常活性に関連する疾患または障害を有するかまたはその発症の危険にある被験体

についての診断指標である。本明細書において使用される「試験サンプル」とは、目的の被験体から得られた生物学的サンプルをいう。例えば、試験サンプルは、生物学的流体（例えば、血清）、細胞サンプル、または組織であり得る。

【0253】

さらに、本明細書に記載される予後アッセイを使用して、被験体が薬剤（例えば、アゴニスト、アンタゴニスト、ペプチド模倣物、タンパク質、ペプチド、核酸、低分子、または他の薬物候補）が投与されてSECXの異常発現または異常活性に関連する疾患または障害を処置し得るか否かを決定し得る。例えば、そのような方法を用いて、被験体が障害について薬剤を用いて有効に処置され得るか否かを決定し得る。従って、本発明は、SECXの異常発現または異常活性に関連する障害についての薬剤を用いて被験体が有効に処置され得るか否かを決定するための方法を提供する。ここで、試験サンプルが得られ、そしてSECXのタンパク質または核酸が検出される（例えば、ここで、SECXのタンパク質または核酸の存在は、SECXの異常発現または異常活性に関連する障害を処置するための薬剤が投与され得る被験体についての診断指標である）。

【0254】

本発明の方法はまた、SECXの遺伝子における遺伝的損傷を検出し、それによって、その損傷遺伝子を有する被験体が異常な細胞増殖および/または分化によって特徴付けられる障害についての危険にあるか否かを決定するためにも使用され得る。種々の実施形態において、本発明の方法は、その被験体由来の細胞のサンプルにおいて、SECXのタンパク質をコードする遺伝子の統合性に影響を与える変更の少なくとも1つによって特徴付けられる遺伝的損傷、あるいはSECXの遺伝子の誤発現の存在または非存在を検出する工程を包含する。例えば、そのような遺伝的損傷は、以下の少なくとも1つの存在を確認することによって検出され得る：(i) SECXの遺伝子からの1つ以上のヌクレオチドの欠失；(ii) SECXの遺伝子への1つ以上のヌクレオチドの付加；(iii) SECXの遺伝子の1つ以上のヌクレオチドの置換、(iv) SECXの遺伝子の染色体再配置；(v) SECXの遺伝子のメッセンジャーRNA転写物のレベルにおける変更、(vi) SECXの遺伝子の異常改変（例えば、ゲノムDNAのメ

チル化パターンの異常改変)、(vii) SECXの遺伝子のメッセンジャーRNA転写物の非野生型スプライシングパターンの存在、(viii) SECXのタンパク質の非野生型レベル、(ix) SECXの遺伝子の対立遺伝子の欠失、ならびに(x) SECXのタンパク質の不適切な翻訳後修飾。本明細書において記載されるように、当該分野において、多数の公知のアッセイ技術が存在し、これらは、SECXの遺伝子における損傷を検出するために使用され得る。好ましい生物学的サンプルは、従来手段によって被験体から単離された末梢血白血球サンプルである。しかし、有核細胞を含む任意の生物学的サンプルが使用され得、これには、例えば、頬粘膜細胞が挙げられる。

【0255】

特定の実施形態において、損傷の検出は、ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)におけるプローブ/プライマーの使用を包含する(例えば、米国特許第4,683,195号および同第4,683,202号を参照のこと)(例えば、アンカーPCRまたはRACE PCR)あるいは、連結連鎖反応(LCR)(例えば、Landegranら(1988)Science 241:1077-1080;およびNakazawaら(1994)Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91:360-364)を参照のこと。後者は、SECXの遺伝子における点変異を検出するために特に有用であり得る)(Abravayaら(1995)Nucl. Acids Res 23:675-682を参照のこと)。この方法は、患者から細胞のサンプルを収集する工程、核酸(例えば、ゲノム、mRNAまたはその両方)をそのサンプルの細胞から単離する工程、SECXの遺伝子に特異的にハイブリダイズする1つ以上のプライマーと、その核酸サンプルとをSECXの遺伝子のハイブリダイゼーションおよび増幅が(存在する場合)生じるような条件下で、接触させる工程、ならびに増幅産物の存在もしくは非存在を検出する工程、またはその増幅産物の大きさを検出する工程およびその長さをコントロールサンプルと比較する工程を包含し得る。PCRおよび/またはLCRは、本明細書に記載される変異を検出するために使用される技術のいずれかとともに予備的増幅工程として使用されるために所望され得ることが予想される。

【0256】

代替的な増幅方法としては、以下が挙げられる：自己維持配列複製（Guatelliら、1990、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87：1874 - 1878を参照のこと）、転写増幅系（Kwoh、ら、1989、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86：1173 - 1177を参照のこと）、Q-レプリカーゼ（Lizardiら、1988、BioTechnology 6：1197を参照のこと）、または他の任意の核酸増幅方法、それに続いて、当業者に周知な技術を用いて増幅された分子の検出。これらの検出スキームは、そのような分子が非常に少数で存在する場合、核酸分子の検出のために特に有用である。

【0257】

代替の実施形態において、サンプル細胞からのSECXの遺伝子における変異は、制限酵素切断パターンにおける変更によって同定され得る。例えば、サンプルおよびコントロールのDNAが単離され、増幅され（必要に応じて）、1つ以上の制限エンドヌクレアーゼを用いて消化され、そしてフラグメント長の大きさがゲル電気泳動によって決定され、そして比較される。サンプルDNAとコントロールDNAとの間のフラグメント長の大きさにおける差違は、そのサンプルDNAにおける変異を示す。さらに、配列特異的なリボザイムの使用（例えば、米国特許第5,493,531号を参照のこと）を使用して、リボザイム切断部位の発生または喪失によって特異的な変異の存在についてスコア付けし得る。

【0258】

他の実施形態において、SECXにおける遺伝的変異は、サンプル核酸およびコントロール核酸（例えば、DNAまたはRNA）を、数百または数千のオリゴヌクレオチドプローブを含む高密度アレイに対してハイブリダイズさせることによって同定され得る（例えば、Croninら（1996）Human Mutation 7：244 - 255；Kozalら（1996）Nat. Med. 2：753 - 759を参照のこと）。例えば、SECXにおける遺伝的変異は、Croninら（上記）に記載のように光生成DNAプローブを含む二次元アレイにおいて同定され得る。手短には、第一のプローブハイブリダイゼーションア

レイを用いて、サンプルおよびコントロールにおける長いストレッチのDNAを通じて走査して、連続的に重複するプローブの線形アレイを作成することによってその配列の間の塩基変化を同定し得る。この工程は、点変異の同定を可能にする。この工程に続いて、検出される全ての改変体または変異体に相補的な、より小さな特化されたプローブアレイを用いて、特定の変異の特徴付けを可能にする第二のハイブリダイゼーションアレイがある。各変異アレイは、一方が野生型遺伝子に対して相補的であり、そして他方が変異遺伝子に対して相補である並行プローブセットから構成される。

【0259】

なお別の実施形態において、当該分野で公知の種々の配列決定反応のいずれかを使用して、SECX遺伝子を直接配列決定し得、そしてサンプルのSECX配列と対応する野生型（コントロール）配列とを比較することによって、変異を検出し得る。配列決定反応の例としては、MaximおよびGilbert（1977）Proc. Natl. Acad. Sci. USA 74:560またはSanger（1977）Proc. Natl. Acad. Sci. USA 74:5463によって開発された技術に基づくものが挙げられる。診断アッセイを実施する場合、種々の自動化配列決定手順のいずれかを利用し得ることもまた意図される（例えば、Naevら、（1995）BioTechniques 19:448を参照のこと）。これらには、質量分析法による配列決定法（例えば、PCT国際公開番号WO 94/16101；Cohenら（1996）Adv. Chromatography 36:127-162；およびGriffinら（1993）Appl. Biochem. Biotechnol. 38:147-159を参照のこと）が含まれる。

【0260】

SECX遺伝子における変異を検出するための他の方法としては、切断薬剤からの保護を使用して、RNA/RNAもしくはRNA/DNAのヘテロ二重鎖におけるミスマッチ塩基を検出する方法が挙げられる（例えば、Myersら（1985）Science 230:1242を参照のこと）。一般に、「ミスマッチ切断」の当該分野の技術は、野生型のSECX配列を含む（標識された）R

NAまたはDNAを、組織サンプルから得られた潜在的な変異体RNAまたはDNAとハイブリダイズさせることによって形成されるヘテロ二重鎖を提供する工程によって始まる。この二本鎖の二重鎖を、二重鎖の一本鎖領域（例えば、そのコントロールとサンプルの鎖との間の塩基対ミスマッチに起因して存在するもの）を切断する薬剤を用いて処理する。例えば、RNA/DNA二重鎖を、RNaseを用いて処理し得、そしてDNA/DNAハイブリッドを、そのミスマッチ領域を酵素的に消化することに対して、S₁ヌクレアーゼを用いて処理し得る。他の実施形態において、DNA/DNAまたはRNA/DNAのいずれかの二重鎖を、ミスマッチ領域を消化するために、ヒドロキシルアミンまたは四酸化オスミウム、およびピペリジンを用いて処理し得る。次いで、そのミスマッチ領域の消化後、得られた材料を変性ポリアクリルアミドゲル上で、大きさで分離して、変異の部位を決定する。例えば、Cottonら(1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:4397; Saleebaら(1992) Methods Enzymol 217:286-295を参照のこと。1つの実施形態において、コントロールのDNAまたはRNAは、検出のために標識され得る。

【0261】

なお別の実施形態において、ミスマッチ切断反応は、二本鎖DNAにおけるミスマッチ塩基対を認識する1つ以上のタンパク質（いわゆる「DNAミスマッチ修復」酵素）を、細胞のサンプルから得られたSECX cDNAにおける点変異を検出およびマッピングするために規定された系において使用する。例えば、E. coliのmutY酵素は、G/AミスマッチでAを切断し、そしてHeLa細胞からのチミジンDNAグリコシダーゼは、G/TミスマッチでTを切断する（例えば、Hsuら(1994) Carcinogenesis 15:1657~1662を参照のこと）。例示的な実施形態に従って、SECX配列（例えば、野生型SECX配列）に基づくプローブは、試験細胞由来のcDNAまたは他のDNA産物にハイブリダイズされる。二重鎖は、DNAミスマッチ修復酵素を用いて処理され、そしてその切断産物（もしあれば）は、電気泳動プロトコルなどから検出され得る。例えば、米国特許第5,459,039号を参照のこと。

と。

【0262】

他の実施形態において、電気泳動の移動度における変化は、SECX遺伝子における変異を同定するために使用される。例えば、一本鎖配座多型(SSCP)は、変異体と野生型核酸との間の電気泳動の移動度における差異を検出するために使用され得る(例えば、Oritaら(1989)Proc.Natl.Acad.Sci.USA:86:2766;Cotton(1993)Mutat.Res.285:125~144;Hayashi(1992)Genet.Anal.Tech.Appl.9:73~79を参照のこと)。サンプルおよびコントロールSECX核酸の一本鎖DNAフラグメントは、変性され、そして再生される。一本鎖核酸の二次構造は、配列に従って変化し、電気泳動の移動度において得られる変化は、1つの塩基変化さえも検出し得る。DNAフラグメントは、標識され得るか、または標識されたプローブを用いて検出され得る。アッセイの感度は、二次構造が、配列中の変化に対してより感受的である、(DNAよりもむしろ)RNAを使用することによって増強され得る。1つの実施形態において、本発明の方法は、ヘテロ二重鎖分析を利用して、電気泳動の移動度における変化に基づいて二本鎖のヘテロ二重鎖分子を分離する(例えば、Keenら(1991)Trends Genet.7:5を参照のこと)。

【0263】

なお別の実施形態において、一定勾配の変性剤を含有するポリアクリルアミドゲルにおける変異体または野生型フラグメントの移動は、変性勾配ゲル電気泳動(DGGE)を使用してアッセイされる(例えば、Myersら(1985)Nature 313:495を参照のこと)。DGGEが分析の方法として使用される場合、DNAは、例えば、PCRにより約40bpの高融点GCリッチDNAのGCクランプを付加することによって、完全には変性されないことを確実に改変される。さらなる実施形態において、温度勾配は、コントロールおよびサンプルDNAの移動度における差異を同定するために、変性剤勾配の代わりに使用される(例えば、RosenbaumおよびReissner(1987)Biophys.Chem.265:12753を参照のこと)。

【0264】

点変異を検出するための他の技術の例としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：選択的オリゴヌクレオチドハイブリダイゼーション、選択的増幅、または選択的プライマー伸長。例えば、オリゴヌクレオチドプライマーは、既知の変異が中心的に配置されるように調製され得、次いで、完全なマッチが見出される場合にのみハイブリダイゼーションを許容する条件下で標的DNAにハイブリダイズされる（例えば、Saikiら(1986) *Nature* 324:163)；Saikiら(1989) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:6230を参照のこと）。このような対立遺伝子特異的オリゴヌクレオチドは、このオリゴヌクレオチドがハイブリダイズ膜に付着され、そして標識された標的DNAとハイブリダイズされる場合に、PCR増幅された標的DNAまたは多くの異なる変異にハイブリダイズされる。

【0265】

あるいは、選択的PCR増幅に依存する対立遺伝子特異的増幅技術は、本発明と合わせて使用され得る。特異的増幅についてのプライマーとして使用されるオリゴヌクレオチドは、分子の中心において（その結果、増幅は、差次的ハイブリダイゼーションに依存する）（例えば、Gibbsら(1989) *Nucleic Acids Res.* 17:2437~2448を参照のこと）か、あるいは適切な条件下でミスマッチが妨げられ得るかまたはポリメラーゼ伸長を減少し得る、1つのプライマーの3'の最末端で、目的の変異を保有し得る（例えば、Prossner(1993) *Tibtech.* 11:238を参照のこと）。さらに、変異の領域において新規な制限部位を導入することは、切断に基づく検出を行うために望ましくあり得る（例えば、Gaspariniら(1992) *Mol. Cell Probes* 6:1を参照のこと）。特定の実施形態において、増幅はまた、増幅用Taqリガーゼを使用して実施され得ることが予測される（例えば、Barany(1991) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:189を参照のこと）。このような場合において、連結は、5'配列の3'末端に完全なマッチが存在する場合にのみ生じ、増幅の存在または非存在を探索することによって、特定の部位で既知の変異の存在を検出するこ

とを可能にする。

【0266】

本明細書中に記載される方法は、例えば、本明細書中に記載される少なくとも1つのプローブ核酸または抗体試薬を含む、予めパッケージングされた診断キットを利用することによって実施され得、これは、例えば、SECX遺伝子に關与する疾患または疾病の症状または家族病歴を示す患者を診断するための臨床的設定において簡便に使用され得る。

【0267】

さらに、SECXが発現される任意の細胞型または組織（好ましくは、末梢白血球）は、本明細書中に記載される予後アッセイにおいて利用され得る。しかし、有核細胞を含む任意の生物学的サンプル（例えば、頬粘膜細胞を含む）が、使用され得る。

（薬理ゲノム学（Pharmacogenomics））

SECX活性（例えば、SECX遺伝子発現）に対する刺激性または阻害性の影響を有する因子、すなわちモジュレーターは、本明細書中に記載されるスクリーニングアッセイによって同定されるように、異常なSECX活性に關連する障害（例えば、癌または免疫障害）を処置（予防的または治療的に）するために個体に投与され得る。このような処置と合わせて、個体の薬理ゲノム学（すなわち、個体の遺伝子型と外来化合物または薬物に対するその個体の応答との間の關係についての研究）が、考慮され得る。治療剤の代謝における差異は、薬理的に活性な薬物の用量と血中濃度との間の關係を変更することによって、重篤な毒性または治療の失敗を導き得る。従って、個体の薬理ゲノム学は、個体の遺伝子型の考慮に基づく予防的または治療的処置のために有効な薬剤（例えば、薬物）の選択を許容する。このような薬理ゲノム学は、さらに、適切な投薬量および治療レジメンを決定するために使用され得る。従って、SECXタンパク質の活性、SECX核酸の発現、あるいは個体におけるSECX遺伝子の変異含量が決定されて、それによって個体の治療的または予防的処置のために適切な薬剤を選択し得る。

【0268】

薬理ゲノム学は、罹患した人において変更された薬物の性質および異常な作用に起因する、薬物に应答する臨床的に有意な遺伝性変更を扱う。例えば、Eichelbaum, 1996, Clin. Exp. Pharmacol. Physiol., 23:983~985; Linder, Clin. Chem., 1997, 43:254~266を参照のこと。一般に、2つの型の薬理ゲノム学状態が、区別され得る。遺伝的状态は、薬物が身体に作用する方法を変更する1つの因子として伝達されるか(変更された薬物作用)、または遺伝的状态は、身体が薬物に作用する方法を変更する1つの因子として伝達される(変更された薬物代謝)。これらの薬理ゲノム学状態は、稀な欠損としてか、または多型としてのいずれかで生じ得る。例えば、グルコース-6-リン酸デヒドロゲナーゼ(G6PD)欠損は、一般的な遺伝性酵素病であり、この主な臨床的合併症は、酸化剤薬物(抗マラリア剤、スルホンアミド、鎮痛薬、ニトロフラン)の摂取およびソラマメの摂取(consomption)後の溶血である。

【0269】

例示的な実施形態として、薬物代謝酵素の活性は、薬物作用の強度および期間の両方の主要な決定因子である。薬物代謝酵素(例えば、N-アセチルトランスフェラーゼ2(NAT2)およびシトクロムP450酵素CYP2D6およびCYP2C19)の遺伝的多型の発見は、幾人かの患者が予期される薬物効果を得ないか、または薬物の標準的かつ安全な用量を摂取した後に過大な薬物应答および深刻な毒性を示すことに関しての説明を提供した。これらの多型は、集団において2つの表現型(高い代謝能を持つ人(extensive metabolizer)(EM)および低い代謝能を持つ人(poor metabolizer)(PM))で発現される。PMの罹患率は、異なる集団の間で異なる。例えば、CYP2D6をコードする遺伝子は高度に多型であり、そしていくらかの変異がPMにおいて同定されており、この全ては機能的CYP2D6の非存在に至る。CYP2D6およびCYP2C19の低い代謝能を持つ人は、彼らが標準的な用量を受けるときに、かなり頻繁に過大な薬物应答および副作用を経験する。代謝産物が活性な治療的部分である場合、そのCYP2D6形成代謝産物であるモルヒネによって媒介されるコデインの鎮痛効果について実証されるように、

PMは治療的応答を示さない。他の極端なものは、標準的な用量に応答しない、いわゆる超迅速な代謝能を持つ人である。最近、超迅速な代謝の基準となる分子は、CYP2D6 遺伝子増幅に起因していることが同定されている。

【0270】

従って、SECXのタンパク質の活性、SECXの核酸の発現、あるいは個体におけるSECXの遺伝子の変異内容を決定されて、それによって、その個体の治療的または予防的処置のために適切な薬剤を選択し得る。さらに、薬理ゲノム学の研究を使用して、個体の薬物応答性の表現型の同定に対して薬物代謝酵素をコードする多型対立遺伝子の遺伝子型を適用し得る。この知見は、用量または薬物選択に適用される場合、有害な反応または治療の失敗を回避し得、従って、被験体をSECXの調節因子（例えば、本明細書中に記載される例示的なスクリーニングアッセイの1つによって同定される調節因子）を用いて処置する場合に治療的または予防的効率を増強し得る。

【0271】

（臨床試験の間の効果のモニタリング）

SECXの発現または活性（例えば、異常な細胞増殖および/または分化を調節する能力）に対する薬剤（例えば、薬物、化合物）の影響をモニタリングすることは、基本的なスクリーニングにおいてのみならず、臨床試験においてもまた適用され得る。例えば、本明細書中に記載されるようなスクリーニングアッセイによって決定される薬剤が、SECXの遺伝子発現、タンパク質レベルを増加するため、またはSECX活性をアップレギュレートする効力を、減少したSECXの遺伝子発現、タンパク質レベル、またはダウンレギュレートしたSECXの活性を示す被験体の臨床試験においてモニターし得る。あるいは、スクリーニングアッセイによって決定される薬剤が、SECXの遺伝子発現、タンパク質レベルを減少、またはSECXの活性をダウンレギュレートする効力を、増加したSECXの遺伝子発現、タンパク質レベル、またはアップレギュレートしたSECXの活性を示す被験体の臨床試験においてモニターし得る。このような臨床試験において、SECXの発現または活性、および好ましくは、例えば、細胞性増殖障害または免疫障害に関与した他の遺伝子が、「リードアウト（読み出し）（r

ead out)」、すなわち、特定の細胞の免疫応答のマーカーとして使用され得る。

【0272】

例えば、限定の目的ではないが、SECX遺伝子を含む遺伝子（これは、SECX活性（例えば、本明細書中に記載されるようなスクリーニングアッセイにおいて同定される）を調節する薬剤（例えば、化合物、薬物または低分子）を用いる処置によって、細胞内で調節される）が、同定され得る。従って、細胞性増殖障害に対する薬剤の効果を研究するために、例えば、臨床試験において、細胞が単離され得、そしてRNAが調製され得、そしてSECXおよびこの障害に関与する他の遺伝子の発現のレベルについて分析され得る。遺伝子発現のレベル（すなわち、遺伝子発現パターン）は、本明細書中に記載されるように、ノーザンブロット分析もしくはRT-PCRによるか、あるいは産生されるタンパク質の量を測定することによるか、本明細書中に記載されるような方法の1つによるか、あるいはSECXまたは他の遺伝子の活性のレベルを測定することによって、定量され得る。この様式で、この遺伝子発現パターンは、この薬剤に対する細胞の生理学的応答の指標であるマーカーとして作用し得る。従って、この応答状態は、この薬剤を用いる個体の処置の前、および処置の間の種々の時点で、決定され得る。

【0273】

1つの実施形態において、本発明は、薬剤（例えば、アゴニスト、アンタゴニスト、タンパク質、ペプチド、ペプチド模倣物、核酸、低分子、または本明細書中に記載されるスクリーニングアッセイによって同定される他の薬物候補物）を用いる、被験体の処置の効力をモニタリングするための方法を提供し、これは、以下の工程を包含する：(i) 薬剤の投与の前に、被験体から投与前サンプルを得る工程；(ii) この投与前サンプルにおいて、SECXのタンパク質、mRNA、またはゲノムDNAの発現のレベルを検出する工程；(iii) この被験体から1つ以上の投与後サンプルを得る工程；(iv) この投与後サンプルにおいて、SECXのタンパク質、mRNA、またはゲノムDNAの発現または活性のレベルを検出する工程；(v) この投与前サンプルにおけるSECXのタンパ

ク質、mRNA、またはゲノムDNAの発現または活性のレベルを、この投与後サンプルにおけるSECXのタンパク質、mRNA、またはゲノムDNAの発現または活性のレベルと比較する工程；ならびに(vi)従って、この被験体に対する薬剤の投与を変更する工程。例えば、この薬剤の増加した投与は、検出されるよりも高いレベルにSECXの発現または活性を増加するために(すなわち、この薬剤の効力を増加するために)望ましくあり得る。あるいは、この薬剤の減少した投与は、検出されるよりも低いレベルにSECXの発現または活性を減少するために(すなわち、この薬剤の効力を減少するために)望ましくあり得る。

【0274】

(処置の方法)

本発明は、異常なSECXの発現または活性に関連する障害の危険性(または感受性)があるか、またはこの障害を有する被験体を処置する予防的および治療的の両方の方法を提供する。

【0275】

(疾患および障害)

(その疾患または障害に罹患していない被験体と比較して)増加したレベルまたは生物学的活性によって特徴付けられる疾患および障害は、活性を拮抗する(すなわち、低減または阻害する)治療剤を用いて処置され得る。活性を拮抗する治療剤は、治療的または予防的な様式で、投与され得る。利用され得る治療剤としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない:(i)上記ペプチド、またはそのアナログ、誘導体、フラグメントもしくはホモログ;(ii)上記ペプチドに対する抗体;(iii)上記ペプチドをコードする核酸;(iv)アンチセンス核酸および「機能不全性」である(すなわち、上記ペプチドに対するコード配列のコード配列内の異種挿入に起因する)核酸の投与が、相同組換えによって上記ペプチドの内因性機能を「ロックアウトする」ために利用される(例えば、Capecci、1989、Science 244:1288~1292を参照のこと);または(v)上記ペプチドとその結合パートナーとの間の相互作用を変化させる、調節因子(すなわち、インヒビター、アゴニストおよびアンタゴニスト(本発明のさらなるペプチド模倣物または本発明のペプチドに対して

特異的な抗体を含む))。

【0276】

(その疾患または障害に罹患していない被験体と比較して)減少したレベルまたは生物学的活性によって特徴付けられる疾患および障害は、活性を増加させる(すなわち、活性に対するアゴニストである)治療剤を用いて処置され得る。活性をアップレギュレートする治療剤は、治療的または予防的な様式で、投与され得る。利用され得る治療剤としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない:上記ペプチド、またはそのアナログ、誘導体、フラグメントもしくはホモログ;あるいはバイオアベイラビリティ(bioavailability)を増加させるアゴニスト。

【0277】

増加したレベルまたは減少したレベルは、ペプチドおよび/またはRNAを定量することによって、容易に検出され得る。この定量は、患者の組織サンプルを(例えば、生検組織から)入手し、そしてそのサンプルを、その発現したペプチド(または上記ペプチドのmRNA)のRNAレベルまたはペプチドレベル、構造および/または活性をインビトロでアッセイすることによる。当該分野において周知の方法としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない:イムノアッセイ(例えば、ウェスタンブロット分析、ドデシル硫酸ナトリウム(SDS)ポリアクリルアミドゲル電気泳動が後に続く免疫沈降、免疫細胞化学などによる)および/またはmRNAの発現を検出するためのハイブリダイゼーションアッセイ(例えば、ノーザンアッセイ、ドットブロット、インサイチュハイブリダイゼーションなど)。

【0278】

(予防的方法)

1つの局面において、本発明は、被験体において異常なSECXの発現または活性と関連する疾患または状態を、SECXの発現または少なくとも1つのSECX活性を調節する薬剤をこの被験体に投与することによって予防するための方法を提供する。異常なSECXの発現または活性によって引き起こされるかまたはこれらに起因する、疾患にかかる危険がある被験体は、例えば、本明細書中に

記載の診断アッセイまたは予後アッセイのいずれか、またはそれらの組み合わせによって、同定され得る。予防薬剤の投与は、疾患または障害が予防されるか、あるいはその進行を遅らせられるように、このSECX異常の特徴である症状の発現の前に行い得る。このSECX異常の型に依存して、例えば、SECXアゴニスト薬剤またはSECXアンタゴニスト薬剤が、その被験体を処置するために使用され得る。その適切な薬剤は、本明細書中に記載のスクリーニングアッセイに基づいて決定され得る。

【0279】

(治療方法)

本発明の別の局面は、治療目的のためのSECXの発現または活性を調節する方法に関する。本発明の調節方法は、細胞を、その細胞に関するSECXタンパク質活性の活性のうちの1つ以上を調節する薬剤と接触させる工程を包含する。SECXタンパク質活性を調節する薬剤は、核酸またはタンパク質、SECXタンパク質の天然に存在する同族リガンド、ペプチド、SECXペプチド模倣物、または他の低分子のような、本明細書中に記載されるような薬剤であり得る。1つの実施形態において、この薬剤は、SECXタンパク質活性のうちの1つ以上を刺激する。このような刺激薬剤の例としては、活性なSECXタンパク質、およびその細胞に導入されたSECXをコードする核酸分子が挙げられる。別の実施形態において、この薬剤は、SECXタンパク質活性のうちの1つ以上を阻害する。このような阻害薬剤の例としては、アンチセンスSECX核酸分子、および抗SECX抗体が挙げられる。これらの調節方法は、インビトロで（例えば、その薬剤とともにその細胞を培養することによって）、あるいはインビボで（例えば、被験体にその薬剤を投与することによって）実施され得る。このように、本発明は、SECXのタンパク質または核酸分子の、異常な発現または異常な活性によって特徴付けられる、疾患または障害に罹患した個体を処置する方法を提供する。1つの実施形態において、この方法は、SECXの発現または活性を調節する（例えば、アップレギュレートまたはダウンレギュレートする）薬剤（例えば、本明細書中に記載のスクリーニングアッセイによって同定される薬剤）あるいはそのような薬剤の組み合わせを投与する工程を包含する。別の実施形態に

において、この方法は、SECXのタンパク質または核酸分子を、低減したかまたは異常な、SECXの発現または活性を補償するための治療として、投与する工程を包含する。

【0280】

SECX活性の刺激は、SECXが異常にダウンレギュレートされている状況、および/またはSECX活性の増加が有益な効果を有するようである状況において、望ましい。このような状況の1つの例は、被験体が、異常な細胞増殖および/または細胞分化によって特徴付けられる障害（例えば、癌または免疫関連疾患）を有する場合である。このような状況の別の例は、被験体が妊娠疾患（例えば、プレクランプシア（pre-eclampsia））を有する場合である。

【0281】

（治療の生物学的効果の決定）

本発明の種々の実施形態では、適切なインビトロまたはインビボアッセイを行い、特異的な治療効果を決定し、かつその投与が発症した組織の処置について示すか否かを決定する。

【0282】

種々の特異的な実施形態では、インビトロアッセイは、所定の治療が、細胞型に所望の効果を発揮するかどうかを決定するために、患者の疾患に関与する代表的な細胞型で行なわれ得る。治療において使用される化合物は、ヒト患者で試験する前に、適切な動物モデル系で試験され得、それらの適切な動物モデル系としては、ラット、マウス、ニワトリ、ウシ、サル、ウサギなどを含むがそれに限定されない。同様に、インビボ試験のために、当該分野で公知の任意の動物モデル系が、ヒト患者に投与する前に、使用され得る。

【0283】

（本発明の組成物の予防的使用および治療的使用）

本発明のSECX核酸およびタンパク質は、種々の潜在的な予防的適用および治療的適用において有用であり得る。非制限的な例のために、本発明のSECXタンパク質をコードするcDNAは、遺伝子治療において有用であり得、そしてそのタンパク質は、それが必要な被験体に投与されるときに、有用であり得る。

【0284】

図20に示されるように、開示されたSEC1ポリペプチド(配列番号2)は、ヒトホスファチジルエタノールアミン結合タンパク質(PEBP)に関し；開示されたSEC2ポリペプチド(配列番号4)は、ヒトウロプラキン(Uropilakin)IIIタンパク質に関し；開示されたSEC3ポリペプチド(配列番号6)は、ヒトカドヘリン-6タンパク質(腎-カドヘリン)に関し；開示されたSEC4ポリペプチド(配列番号8)は、ヒトカドヘリン-6タンパク質(腎-カドヘリン)に関し；開示されたSEC5ポリペプチド(配列番号10)は、ヒトリンパ球関連デス(Death)2レセプターに関し；開示されたSEC6ポリペプチド(配列番号12)は、ヒトセマフォリンタンパク質に関し；開示されたSEC7ポリペプチド(配列番号14)は、ヒトセマフォリンタンパク質に関し；開示されたSEC8ポリペプチド(配列番号16)は、ヒトジアゼパム結合インヒビター(DBI)タンパク質に関し；開示されたSEC9ポリペプチド(配列番号18)は、Aquifex aeolicus ATPシンターゼA鎖タンパク質に関し；開示されたSEC10ポリペプチド(配列番号20)は、ヒトリンパ球関連デス(Death)2レセプターに関し；開示されたSEC11ポリペプチド(配列番号22)は、ヒトセマフォリンタンパク質に関し；そして開示されたSEC12ポリペプチド(配列番号24)は、ヒトジアゼパム結合インヒビター(DBI)タンパク質に関する。これらのタンパク質のそれぞれの推定の生物学的機能および任意の関連障害は、上記で議論された。

【0285】

SRCXタンパク質をコードする新規の核酸、および本発明のSECXタンパク質の両方、またはそれらのフラグメントはまた、診断上の適用に有用であり得、ここで核酸またはタンパク質の存在または量が、評価される。これらの物質は、治療方法または診断方法における使用のための、本発明の新規の物質に免疫特異的に結合する抗体の産生において、さらに有用である。

【0286】

本発明を、次の非制限的な実施例において、さらに例証する。

【0287】

(実施例)

(実施例1： 放射ハイブリッドマッピングによるSEC8核酸の染色体局在化)

ヒト染色体マーカーを用いる放射ハイブリッドマッピングを、本発明の多数のSECXクローンの同定、開発、および特徴付けにおいて、実施した。これらの結果を得るために使用した手順は、Steenら、1999. A High-Density Integrated Genetic Linkage and Radiation Hybrid Map of the Laboratory Rat, Genome Res. 9: AP1-AP8 (1999年3月21日オンライン上で公開) に本来記載される方法の改変である。

【0288】

無作為化した放射により誘導したヒト染色体フラグメントを含む93細胞クローンのパネルは、96ウェルプレート内で、目的のクローンを同定するように設計したPCRプライマーを使用して、スクリーニングされた。例えば、この方法を使用して、SEC8タンパク質をコードする核酸配列が、第11染色体のWI-4920から-0.7cRのマップの距離およびWI-1421から-3.90cRのマップの距離に見出された。

【0289】

(実施例2： SEC1核酸の分子クローニング)

ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)を使用して、アミノ酸残基23~227に由来するSEC1タンパク質(標識番号3445452;配列番号2)の成熟形態をコードするDNAセグメントを増幅するために、オリゴヌクレオチドプライマーを設計した。正方向プライマー(配列番号25)は、インフレームBglII制限部位を含み、そして逆方向プライマー(配列番号26)は、インフレームSalI制限部位を含む。それらのプライマーの配列を以下に示す:

SEC1 MatF: AGATCTGACGAGGATGAGAACAGCCCG (配列番号25)

SEC1 Rev: CTCGTCGTCGACGCAGGCAGCTATCTCCGCCTGGTTTTTGTG (配列番号26)

それぞれのPCR反応は、50 μ l 総反応容量中に、5 ngのヒト精巢cDNA鋳型；1 μ MのSEC1 Mat FおよびSEC1 Revプライマー；5 μ MのdNTP (Clontech Laboratories、Palo Alto, CA) および1 μ lの50 \times Advantage-HF2ポリメラーゼ (Clontech Laboratories; Palo Alto, CA) を含んだ。以下のPCR反応条件を使用した：

- (a) 96 3分間
- (b) 96 30秒間、変性
- (c) 60 30秒間、プライマーアニーリング
- (d) 72 1分間、伸長

工程(b)～(d)を全35回繰り返す

- (e) 72 5分間、最終伸長。

【0290】

単一の650 bpの増幅産物を、アガロースゲル電気泳動により検出した。この産物を単離し、そしてpCR2.1クローニングベクター (Invitrogen、Carlsbad CA) に連結した。クローニングした挿入物のDNA配列を決定し、そして205アミノ酸残基のポリペプチドをコードするORFを含むことを見出した。その構築物を、3445452-pCR2.1-S262-1Cと名付け、そして挿入物のヌクレオチド配列は、図1に示される(配列番号1)。

【0291】

図1では、5'末端および3'末端に下線を引かれたヌクレオチドは、ベクター中のクローニング部位から始まる。従って、これらの配列は、SEC1ヌクレオチドを表さない。

【0292】

コードされたポリペプチドのアミノ酸配列はまた、図1に示される(配列番号2)。図1のアミノ基末端およびカルボキシル基末端に下線を引かれた残基は、ベクター中のクローニング部位から始まり、そしてSEC1アミノ酸残基を表さない。

【0293】

(実施例3：哺乳動物発現ベクターPcep4/Secの構築)

Pcep4/Secと命名された発現ベクター(それは、任意のタンパク質をIg鎖シグナルペプチドに融合することによって、異種タンパク質の発現および分泌を可能とする)を構築した。

【0294】

Pcep4/Secを構築するために、V5およびHis6を含むpCDNA3.1-V5His発現ベクター(Invitrogen; Carlsbad, CA)からフラグメントを増幅するために、2つのオリゴヌクレオチドプライマーpSec-V5-His Forward(配列番号27)およびpSec-V5-His Reverse(配列番号28)を、作製した。2つのプライマーの配列を以下に示す：

【0295】

【化1】

pSec-V5-His 正方向 : CTCGTCCTCGAGGGTAAGCCTATCCCTAAC (配列番号27) .
pSec-V5-His 逆方向 : CTCGTCGGGCCCTGATCAGCGGGTTTAAAC (配列番号28)

【0296】

次いで、PCR増幅産物を、XhoIおよびApaIで消化し、そしてIgリーダー配列(Invitrogen; Carlsbad, CA)を有するXhoI/ApaI-消化pSecTag2 Bベクターに連結した。生じるベクター(pSecV5Hisと命名される)の構造(インフレームIgリーダー配列およびV5-His6を含む)を、DNA配列分析によって検証した。

【0297】

ベクターpSecV5Hisを、正しいフレームで、上述の配列を保持するフラグメントを提供するために、PmeIおよびNheIで消化した。次いで、PmeI-NheIフラグメントを、BamHI/クレノウで処理し、そしてNheIで処理したベクターpCEP4(Invitrogen; Carlsbad

、CA)に連結した。得られたベクターは、pCEP4/Secと命名され、そしてPCMVおよび/またはPT7プロモーターの制御下でインフレームIgリーダ配列、目的のクローンの挿入部位、V5およびHis6配列を含んだ。

【0298】

発現されたタンパク質の検出および精製は、カルボキシル基末端のV5エピトープタグおよび6X Hisタグの存在によって補助される(Invitrogen; Carlsbad, CA)。

【0299】

(実施例4: HEK293細胞における成熟形態のSEC1ポリペプチド(3445452)の発現)

SEC1配列(配列番号1)(認識番号3445452)を含むBamHI-SalIフラグメントは、pCR2.1-cg3445452-S262-1C構築物より単離され、次いで、pCEP4/Sec-3445452と命名された発現ベクター構築物を産生するために、pCEP4/Secベクター(実施例3)にサブクローニングされた。

【0300】

次いで、このpCEP4/Sec-3352358ベクターを、製造業者の指示に従って、およびLipofectamine Plus™試薬(Gibco/BRL/Life Technologies; Rockville, MD)を用いて、293細胞にトランスフェクトした。細胞のペレットおよび上清をトランスフェクションの72時間後に収集し、そしてh3445452の発現について検査した。図16は、3445452が見かけ上40キロダルトン(kDa)の分子量を有する分泌タンパク質として発現されたことを示す、抗V5抗体とのウエスタンブロットティング(還元条件)を例証する。

【0301】

成熟タンパク質は、Asn147で、単一のN-グリコシル化部位を有すると予測される。タンパク質産物の見かけ上の分子量および電気泳動分離の後に拡散するタンパク質バンドの形が、タンパク質のグリコシル化(糖タンパク質の多様な炭水化物鎖の存在を含む)に起因し得ることがまた信じられている。

【0302】

(実施例5：SEC2ポリペプチドの細胞外ドメインの分子クローニング)

SEC2核酸(配列番号3)(識別番号4011999;配列番号3)の予想されるオープンリーディングフレーム(ORF)は、新規のI型膜貫通タンパク質をコードする。オリゴヌクレオチドプライマーを、アミノ酸残基1~197をコードするヌクレオチドのPCR増幅を可能とするために作製した。これらのヌクレオチドは、開示されたSEC2ポリペプチドの細胞外ドメインに対応する。正方向プライマー(SEC2 F-Topo-Forward)(配列番号29)は、インフレームBamHI制限部位を含み、コンセンサスコザック部位を形成するために、塩基ACCのトリプレットが続き、一方、逆方向プライマー(SEC2 F-Topo-Reverse)(配列番号30)は、インフレームXhoI制限部位を含む。2つのプライマーの配列は、以下に示される：

【0303】

【化2】

SEC2 F-Topo-正方向: GGATCC ACC ATG GTG CGA ACG CGG TGG
CAG CCT CAC (配列番号29)
SEC2 F-Topo-逆方向: CTCGAG ACA GCC GCT CCG TCG GCC AGG CCA
TGT (配列番号30)

【0304】

それぞれのPCR反応は、50 μ lの総反応容量中に、5ngのマウス精巢cDNAテンプレート; 1 μ MのSEC2 F-Topo-ForwardおよびSEC2 F-Topo-Reverseの各々; 5 μ MのdNTP(Clontech Laboratories; Palo Alto, CA)および1 μ lの50 \times Advantage-HF2ポリメラーゼ(Clontech Laboratories; Palo Alto, CA)を含んだ。以下の反応条件が使用された：

- (a) 96 3分間
- (b) 96 30秒間変性

(c) 70 30秒間、プライマーアニーリング。この温度を1 / P C R サイクルで次第に低下させた。

【0305】

(d) 72 1分間伸長

工程(b) ~ (d) を全10回繰り返す

(e) 96 30秒間、変性

(f) 60 30秒間、アニーリング

(g) 72 1分間、伸長

工程(e) ~ (g) を全25回繰り返す

(h) 72 5分間、最終伸長。

【0306】

約570bpの単一の増幅したPCR産物が、アガロースゲル電気泳動によって、検出された。次いで、その核酸は単離され、そしてトポイソメラーゼI媒介のクローニング方法によって、pCDNA3.1-V5-TOPOベクター (Invitrogen; Carlsbad, CA) に連結された。その挿入配列を、続いて、197アミノ酸残基を含むポリペプチドをコードするオープンリーディングフレーム(ORF)であると決定した。生じる構築物を、4011999-pCDNA3.1-TOPO-S69-Aと命名した。挿入核酸のヌクレオチド配列を、図2に示される配列(配列番号3)の対応する部分に100%同一であると決定した。

【0307】

(実施例6: SEC2ポリペプチドの成熟形態の細胞外ドメインをコードする核酸のクローニング)

2つのオリゴヌクレオチドプライマーを、成熟SEC2ポリペプチドの細胞外ドメインをコードする開示されたSEC2核酸(配列番号3)の領域内の配列をPCR増幅するために設計した。

【0308】

正方向プライマー(SEC2 C-Forward)(配列番号31)は、インフレームBamHI制限部位を含み、一方、逆方向プライマー(SEC2 S

ECR) (配列番号32) は、インフレーションXhoI制限部位を含んだ。2つの配列は、以下に示される：

【0309】

【化3】

SEC2 C- 正方向： GACGTC GGATCC CTA GAC CTG ATT GCC TAC GTG
CCG CAG (配列番号31)

SEC2 SECR: CTCGTC CTCGAG ACA GCC GCT CCG TCG GCC AGG CCA
TGT G (配列番号32)

【0310】

それぞれのPCR反応は、以下から成る；1 ngのcgm4011999 - p CDNA3.1 - TOPO - S69 - Aテンプレート；1 μMのSEC2 C - ForwardおよびSEC2 SECRプライマー；5 μMのdNTP (Clontech Laboratories；Palo Alto, CA)；および1 μlの50×Advantage - HF2ポリメラーゼ (Clontech Laboratories；Palo Alto, CA) (50 μlの総反応容量中)。以下のPCR反応条件を使用した：

- (a) 96 3分間
 - (b) 96 30秒間、変性
 - (c) 60 30秒間、プライマーアニーリング
 - (d) 72 1分間、伸長
- 工程(b)～(d)を全15回繰り返す
- (e) 72 5分間、最終伸長。

【0311】

約480 bpの単一の増幅したPCR産物を、アガロースゲル電気泳動によって検出した。次いで、その核酸を単離し、BamHIおよびXhoIで消化し、そしてpSecV5Hisベクターに挿入した。生じる構築物を、4011999 - pSecV5His - S151 - Aと命名した。挿入配列を、続いて、図2に示されるSEC2アミノ酸配列 (配列番号4) の対応する部分に100%同一

である170アミノ酸残基からなるポリペプチドをコードするオープンリーディングフレーム(ORF)であると決定した。

【0312】

(実施例7: ヒト胚性腎293細胞におけるSEC2ポリペプチドの発現)

SEC2核酸配列を含むBamHI-XhoIフラグメントは、pSecV5His-cg4011999-S151-A構築物(例えば、実施例6を参照のこと)から単離され、そしてベクターpCEP4/Sec(例えば、実施例3を参照のこと)にサブクローン化して、pCEP4/Sec-4011999と命名された発現ベクターを作製した。次いで、pCEP4/Sec-4011999構築物を、製造業者の指示に従って、そしてLipofectaminePlus™試薬(Gibco/BRL/Life Technologies; Rockville, MD)を用いて、293細胞にトランスフェクトした。細胞のペレットおよび上清をトランスフェクションの72時間後に収集し、そして抗V5抗体を用いるウェスタンブロッティング(還元条件)によって、SEC2ポリペプチドの発現について調査した。図17は、293細胞中で発現され、293細胞によって分泌されるときに、V5で検出されたSEC2産物が、約6~10kDaの見かけの分子量の3つの目立たないバンドであるように見えることを示す。これらの分子量は、予想値よりも低いことに注意すべきであり、そして翻訳後のタンパク質分解が、観察される電気泳動バンドを生じるために、細胞外または細胞内のどちらかで発生していることが推定される。タンパク質分解の証拠はまた、他の場合にこの系で観察された(データは示さず)。

【0313】

(実施例8: SEC10ポリペプチドをコードする核酸の分子クローニング)

SEC10核酸(配列番号19)(識別番号1795045.0.77)の予想されるオープンリーディングフレーム(ORF)は、464アミノ酸残基を含むポリペプチドをコードする。オリゴヌクレオチドプライマーを、ORF中の、アミノ酸残基1~391をコードする配列のPCR媒介増幅を容易するために作製した。正方向プライマー(SEC10 Forward)(配列番号33)は、CTCGTCクランプおよびBglII制限部位を含み、一方、逆方向プライ

マー (SEC10 Reverse) (配列番号33) は、CTCGTCクラン
プおよびインフレームXhoI制限部位を含んだ。2つのプライマーの配列は、
以下に示される：

【0314】

【化4】

SEC10 正方向: CTCGTC AGATCT ATG AAG AAC CAG GTA TGC AGT AAG
TGT G (配列番号33)
SEC10 逆方向: CTCGTC CTCGAG GGC TCC AGT CAT AGA TGT TGG TGG
TTT AAA (配列番号34)

【0315】

それぞれのPCR反応は、以下からなる；5ngのヒト視床cDNAテンプレ
ート；1μMのSEC10 ForwardおよびSEC10 Reverse
；5μMのdNTP (Clontech Laboratories；Palo
Alto, CA)；および1μlの50×Advantage-HF2ポリメ
ラーゼ (Clontech Laboratories；Palo Alto,
CA) (50μlの総反応容量中)。以下のPCR反応条件を使用した：

- (a) 96 3分間
- (b) 96 30秒間、変性
- (c) 70 30秒間、プライマーアニーリング。この温度を1 / PCR

Rサイクルで次第に低下させた。

【0316】

- (d) 72 3分間伸長
- 工程 (b) ~ (d) を全10回繰り返す
- (e) 96 30秒間、変性
 - (f) 60 30秒間、アニーリング
 - (g) 72 3分間、伸長
- 工程 (e) ~ (g) を全25回繰り返す
- (h) 72 10分間、最終伸長。

【0317】

約1.2Kbpの単一の増幅したPCR産物を、アガロースゲル電気泳動によって、検出した。次いで、その核酸を単離し、そしてpCR2.1ベクター (Invitrogen; Carlsbad, CA) に連結し、pCR2.1-cg1795045-S181-2と命名した。構築物を、配列決定し、そして1~391の残基をコードするクローン1795045.0.77の配列に100%同一であると確証した。

【0318】

(実施例9 ヒト胚性腎臓293細胞におけるSEC10ポリペプチドの発現)

開示されたSEC10核酸配列(配列番号19)(ID番号1795045.0.77)を含むBamHI-SalIフラグメントの配列を、pCR2.1-cg1795045-S181-2構築物から単離し、そして、pCEP4/Secベクターにサブクローニングし、pCEP4/Sec-1795045と称される発現ベクター構築物を作製した。次いで、pCEP4/Sec-1795045構築物を、Lipofectamine Plus™ Reagentを使用し、かつ製造者の指示書(Gibco/BRL/Life Technologies; Rockville, MD)に従って、HEK293細胞にトランスフェクトした。細胞のペレットおよび上清を、トランスフェクションの72時間後に収集し、そして抗V5抗体でのウエスタンブロッティング(還元条件)によって、SEC10発現について試験した。図18はSEC10が、293細胞によって発現され、そして分泌された場合に、約63kDaの明白な分子量のタンパク質として発現されることを示す。

【0319】

SEC10タンパク質の推定分子量は、約46kDaであり、従って、観察された高分子量は、タンパク質のグリコシル化に起因し得ることは可能であり得る。プログラムPROSITEは、SEC10ポリペプチドについての3つのNグリコシル化部位を推定する(すなわち、Asn111、Asn238、およびAsn393で)。

【0320】

(実施例10: SECX核酸配列の発現分析)

いくつかのSECXクローンの定量的な発現を、Perkin-Elmer Biosystems ABI PRISM(登録商標)7700 Sequence Detection Systemで行われたリアルタイム定量PCR(TAQMAN(登録商標)発現分析)によって41の正常サンプルおよび55の腫瘍サンプルにおいて評価した。この結果を、図19に示し、以下の略語を使用した:

ca. = 癌 (Carcinoma)

* = 転移から定着した (Established from Metastasis)

met = 転移 (Metastasis)

s cell var = 小細胞変異体 (Small Cell Variant)

non-s = 非小 (Non-Small)

squam = 鱗状 (Squamous)

pl. eff = 胸水 (Pleural Effusion)

glio = 神経膠腫 (Glioma)

astro = 星状細胞腫 (Astrocytoma)

neuro = 神経芽細胞腫 (Neuroblastoma)

初めに、96のRNAサンプルを、アクチンおよびGAPDHについて正規化した。RNA(約50ngの合計または約1ngのポリ(A)⁺)を、TAQMAN(登録商標)Reverse Transcription Reagents Kit(PE Biosystems; Foster City, CA; カタログ番号N808-0234)を使用し、かつ製造者のプロトコルに従ってランダムヘキサマーを使用してcDNAに転換した。反応を、総量の20μLで行い、そして30分間48°Cでインキュベートした。次いで、cDNA(5μLの反応混合物)を、TAQMAN(登録商標)反応のために、アクチンおよびGAPDH TAQMAN(登録商標) Assay Reagents(PE

Biosystems; Foster City, CA; それぞれ、カタログ番号431088Eおよび4310884E) およびTAQMAN (登録商標) ユニバーサルPCR Master Mix (PE Biosystems; Foster City, CA; カタログ番号4304447) を使用して、製造者のプロトコルに従って、分離プレートに移した。25 μ l の総量で、以下のパラメーターを使用して反応を行った: 2分間50 ; 10分間95 ; および15秒間95 / 1分間60 (合計40サイクルで)。

【0321】

結果を、ログスケールを使用してCT値(すなわち、所定のサンプルが、蛍光の閾値レベルで交差するサイクル)として記録した。ここで、所定のサンプルと最も低いCT値を有するサンプルとの間のRNA濃度の差は、CTのべき乗に対して2として示された。次いで、このRNAの差の逆数を取り、そして100で掛けることによって相対発現パーセントを得た。アクチンおよびGAPDHから得られた平均のCT値を、RNAサンプルを正規化するために使用した。最も高いCT値を産生するRNAサンプルは、さらなる希釈を必要としないが、他のサンプルを、それらのアクチン/GAPDH平均CT値に従って、このサンプルと比較して希釈した。

【0322】

正規化RNA(5 μ l)を、cDNAに転換し、そしてOne-Step RT-PCR Master Mix Reagents (PE Biosystems; Foster City, CA; カタログ番号4309169) および遺伝子特異的プライマーを使用して、製造者の指示に従って、TAQMAN (登録商標) を通じて分析した。プローブおよびプライマーを、入力としてそれぞれのクローンの配列を使用するPerkin Elmer Biosystem's Primer Express Softwareパッケージ(Apple Computer's Macintosh PCのためのVersion I)に従って各アッセイについて設計した。デフォルトの設定を、反応条件のために使用し、そして以下のパラメーターをプライマーの選択の前に確立した: (i) プライマー濃度 = 250 nM; (ii) プライマー溶解温度(T_m) 範囲 = 5

8 ° ~ 6 0 ° ; (i i i) プライマー至適 $T_m = 59$ ° ; (i v) 最大プライマー-差異 = 2 ° ; (v) プローブは、5'末端Gを有さない; (v i) プローブ T_m は、プローブ T_m よりも10 ° より高くないといけない;そして (v i i) アンプリコンのサイズは、75 bp ~ 100 bp でないといけない。選択されるプローブおよびプライマー (以下を参照のこと) は、Synthegen (Houston, TX) によって合成された。プローブを、結合していない色素を除去するためにHPLCによって二回精製し、そしてそれぞれ5'末端および3'末端に対するレポーターとクエンチャー色素の結合を確認するために質量分析によって評価した。反応における最終濃度は、以下であった:それぞれ正方向および逆方向プライマー = 900 nM ; およびプローブ = 200 nM

各組織および各細胞株由来の正規化されたRNAを、次いで (ten)、96ウェルのPCRプレート (Perkin Elmer Biosystems) の各ウェルに「スポットした」。PCR反応混合物 (2つのプローブ、SECX特異的プローブおよびSECXプローブで多重化された別の遺伝子特異的プローブ) を含む) をPE Biosystems 7700のための1X TaqMan™ PCR Master MIXを使用して調製した。この混合物は、以下を含んだ: 5mM MgCl₂; dNTP (dATP、dGTP、dCTP、およびdUTPを1:1:1:2の比で); 0.25 U/ml AmpliTaq Gold™ (PE Biosystems; Foster City, CA); 0.4 U/μl RNaseインヒビター; および0.25 U/μl逆転写酵素。次いで、逆転写を48 ° で30分間行い、続いて、以下のようなPCR媒介性増幅サイクルを行った: 95 ° で10分間; 95 ° で15秒間および60 ° で1分間の40サイクル。プライマー - プローブセットを各クローンの発現分析に使用し、そして実験の要旨を以下の提供した:

【0323】

【化5】

SEC1 (3445452)

- Ag 36 (F): 5'-CAGGTGGAAACGGTTCAGAAA-3' (配列番号 :35)
 Ag 36 (R): 5'-CATCTCTCTCCTTCCCAAGGAA-3' (配列番号 :36)
 Ag 36 (P): FAM-5'-CTGTCCATTTTCCAAGAGCCTCGAGTTTTGT-3'-TAMRA
 (配列番号 :37)

【0324】

SEC1は、例えば、甲状腺、視床下部、心臓、骨格筋、肺、精巣、および前立腺のような正常組織において主に発現される。

SEC3 (17089878.0.5) および SEC4 (17089878.0.6) (図19において、一般的に、17089878と称される)

【0325】**【化6】**

- Ag 123 (F): 5'-CAGGCACACTGACCATTCTGA-3' (配列番号 :38)
 Ag 123 (R): 5'-GAGCAGGGCTTCAGCACTG-3' (配列番号 :39)
 Ag 123 (P): FAM-5'-TGCCTTGGCTGTCACAAGCACACA-3'-TAMRA
 (配列番号 :40)

【0326】

SEC3およびSEC r プローブに相同な転写物を、脳組織の多様なクラスを含む正常組織、肝臓および肺ラージ細胞癌において、主に検出した。

【0327】**【化7】****SEC5 (1795045.0.61)**

- Ag80 (F): 5'-CAGAGGAAGGATCCAGTGAGTGT-3' (配列番号 :41)
 Ag80 (R): 5'-CATGGAGTATGGATCTGGAAATAGTC-3' (配列番号 :42)
 Ag80 (P): FAM-5'-CAGAGCGCCCTCCCTGTACCACAAA-3'-TAMRA
 (配列番号 :43)

【0328】

SEC5は、ほとんどの正常脳組織、乳腺、結腸癌HCT-116細胞、胃癌

細胞、肺スモール細胞癌組織、肺非スモール細胞癌、肺扁平上皮細胞癌、および前立腺癌転移において、発現されることが見出された。

SEC6 (20422974.0.132) ; SEC7 (20422974.2)
)、およびSEC11 (20422974.0.132) (図19において、一般的に20422974と称される)

【0329】

【化8】

Ag 37 (F): 5'-GGGAGTGGGCCTGACTTTCT-3' (配列番号:44)

Ag 37 (R): 5'-GCATGTGATGACCTCGGACA-3' (配列番号:45)

Ag 37 (P): FAM-5'-TTCAGGCATCTGCAACCTCCGTGG-3'-TAMRA
(配列番号:46)

【0330】

SEC6、SEC7、SEC11は、脂肪組織、多様な脳組織および脊髄、中枢神経系(CNS)癌、脾臓、リンパ節、結腸癌HCT-116細胞、胎児腎臓、胎児肺、肺スモール細胞、ラージ細胞、非スモール細胞および扁平上皮癌、乳腺、乳癌、卵巣および卵巣癌、胎盤、前立腺および前立腺癌骨転移細胞および黒色腫組織において発現される。

【0331】

【化9】

SEC12 (20936375.0.104)

Ag 174 (F): 5'-AGGACATAGGATGCAACACTTGAG-3' (配列番号:47)

Ag 174 (R): 5'-CCAGCGCTCCCCATCAC-3' (配列番号:48)

Ag 174 (P): TET-5'-ACCTGCCGGCCCTTGGTTCCT-3'-TAMRA (配列番号:49)

【0332】

この結果は、SEC12が、ほとんどの正常細胞および癌性組織において、高レベルで広く発現されることを示す。

【0333】

(他の実施形態)

本発明は、その詳細な記載と共に記載されたが、先の記載は、例示のためであり、本発明の範囲を限定しない。本発明の範囲は、添付の特許請求の範囲によって規定される。他の局面、利点、および改変は、上記の請求項の範囲内である。

【図面の簡単な説明】

【図1】

図1は、SEC1核酸配列(配列番号1)(SEC1核酸配列によってコードされるアミノ酸配列(配列番号2)を伴う)の表示である。

【図2】

図2は、本発明に従うSEC2核酸配列(配列番号3)(SEC2核酸配列によってコードされるアミノ酸配列(配列番号4)を伴う)の表示である。

【図3】

図3は、本発明に従うSEC3核酸配列(配列番号5)(SEC3核酸配列によってコードされるアミノ酸配列(配列番号6)を伴う)の表示である。

【図4】

図4は、本発明に従うSEC4核酸配列(配列番号7)(SEC4核酸配列によってコードされるアミノ酸配列(配列番号8)を伴う)の表示である。

【図5】

図5は、本発明に従うSEC5核酸配列(配列番号9)(SEC5核酸配列によってコードされるアミノ酸配列(配列番号10)を伴う)の表示である。

【図6】

図6は、本発明に従うSEC6核酸配列(配列番号11)(SEC6核酸配列によってコードされるアミノ酸配列(配列番号12)を伴う)の表示である。

【図7】

図7は、本発明に従うSEC7核酸配列(配列番号13)(SEC7核酸配列によってコードされるアミノ酸配列(配列番号14)を伴う)の表示である。

【図8】

図8は、本発明に従うSEC8核酸配列(配列番号15)(SEC8核酸配列によってコードされるアミノ酸配列(配列番号16)を伴う)の表示である。

【図9】

図9は、本発明に従うSEC9核酸配列（配列番号17）（SEC9核酸配列によってコードされるアミノ酸配列（配列番号18）を伴う）の表示である。

【図10】

図10は、本発明に従うSEC10核酸配列（配列番号19）（SEC10核酸配列によってコードされるアミノ酸配列（配列番号20）を伴う）の表示である。

【図11】

図11は、本発明に従うSEC11核酸配列（配列番号21）（SEC11核酸配列によってコードされるアミノ酸配列（配列番号22）を伴う）の表示である。

【図12】

図12は、本発明に従うSEC12核酸配列（配列番号23）（SEC12核酸配列によってコードされるアミノ酸配列（配列番号24）を伴う）の表示である。

【図13】

図13は、本発明のSEC12ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号24）（「2096375-0-104」）および本発明のSEC8ポリペプチド（配列番号16）（「2093675.0.1」）の比較である。

【図14】

図14は、クローン1795045.0.61（配列番号9）によってコードされるSEC5ポリペプチドのアミノ酸配列およびクローン1795045.77（配列番号19）によってコードされるSEC10ポリペプチドのアミノ酸配列のアラインメントの比較の表示である。

【図15】

図15は、SEC6ポリペプチドセマフォリン様アミノ酸配列（「20422974.0.132」）、SEC7ポリペプチドセマフォリン様アミノ酸配列（「20422974__2」）、およびSEC11ポリペプチド「20422974.0.132-ext2」セマフォリン様アミノ酸配列のアラインメントの表

示（以前に記載された2つのセマフォリンである、Q64151およびQ92854を伴う）である。

【図16】

図16は、293細胞によって分泌されるSEC1;3445452タンパク質（配列番号2）のウェスタンブロットの表示である。

【図17】

図17は、293細胞によって分泌されるSEC2;4011999タンパク質（配列番号4）のウェスタンブロットの表示である。

【図18】

図18は、293細胞によって分泌されるSEC10;1795045タンパク質（配列番号20）のウェスタンブロットの表示である。

【図19】

図19は、本発明に従う種々のSECX配列の発現分析の表示である。

【図20】

図20は、本発明に従うSECX核酸およびSECXポリペプチドの要約である。

【 図 1 】

```

1 CGCGTGCAGGTGGCAGTCCTCCCAAAGTACTTGTGTCCGGGTGGT
46 GGACTGGATTTCGCTGCGGAGCCCTGGAAGCTGCCTTTCCTTCTCC

91 CTGTGCTTAACCAGAGGTGCCCATGGGTTGGACAATGAGGCTGGT
    MetGlyTrpThrMetArgLeuVa

136 CACAGCAGCACTGTTACTGGGTCTCATGATGGTGGTCACTGGAGA
    lThrAlaAlaLeuLeuLeuGlyLeuMetMetValValThrGlyAs

181 CGAGGATGAGAACAGCCCGTGTGCCCATGAGGCCCTCTTGGACGA
    pGluAspGluAsnSerProCysAlaHisGluAlaLeuLeuAspGl

226 GGACACCCTCTTTTGCCAGGGCCTTGAAGTTTTCTACCCAGAGTT
    uAspThrLeuPheCysGlnGlyLeuGluValPheTyrProGluLe

271 GGGGAACATTGGCTGCAAGGTTGTTCCCTGATTGTAACAACACTACAG
    uGlyAsnIleGlyCysLysValValProAspCysAsnAsnTyrAr

316 ACAGAAGATCACCTCCTGGATGGAGCCGATAGTCAAGTTCCCGGG
    gGlnLysIleThrSerTrpMetGluProIleValLysPheProGl

361 GGCCGTGGACGGCGCAACCTATATCCTGGTGATGGTGGATCCAGA
    yAlaValAspGlyAlaThrTyrIleLeuValMetValAspProAs

406 TGCCCCTAGCAGAGCAGAACCCAGACAGAGATTCTGGAGACATTG
    pAlaProSerArgAlaGluProArgGlnArgPheTrpArgHisTr

451 GCTGGTAACAGATATCAAGGGCGCCGACCTGAAGGAAGGGAAGAT
    pLeuValThrAspIleLysGlyAlaAspLeuLysGluGlyLysIl

496 TCAGGGCCAGGAGTTATCAGCCTACCAGGCTCCCTCCCCACCGGC
    eGlnGlyGlnGluLeuSerAlaTyrGlnAlaProSerProProAl

541 ACACAGTGGCTTCCATCGCTACCAGTTCTTTGTCTATCTTCAGGA
    aHisSerGlyPheHisArgTyrGlnPhePheValTyrLeuGlnGl

586 AGGAAAAGTCATCTCTCTCCTTCCCAAGGAAAACAAAACCTCGAGG
    uGlyLysValIleSerLeuLeuProLysGluAsnLysThrArgGl

631 CTCTTGAAAATGGACAGATTTCTGAACCGTTTCCACCTGGGCGA
    ySerTrpLysMetAspArgPheLeuAsnArgPheHisLeuGlyGl

676 ACCTGAAGCAAGCACCCAGTTCATGACCCAGAACTACCAGGACTC
    uProGluAlaSerThrGlnPheMetThrGlnAsnTyrGlnAspSe

721 ACCAACCTCCAGGCTCCCAGAGAAAGGGCCAGCGAGCCCAAGCA
    rProThrLeuGlnAlaProArgGluArgAlaSerGluProLysHi

766 CAAAACCAGGCGGAGATAGCTGCCTGCTAGATAGCCGGCTTTTGC
    sLysAsnGlnAlaGluIleAlaAlaCys

811 CATCCGGGCATGTGGCCACACTGCCCACCACCGACGATGTGGGTA
856 TGGAACCCCTCTGGATACAGAACCCCTTCTTTTCCAAATTAAAA
901 AAAAAATCATCCAGGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

```

Fig. 1

【 図 2 】

1 GGAGGTGGGGTGAGACAGGACCAGCCCCCTAAGCCTGGTCAGGCCT
 46 GATCAAGTGCTGTGGCAGTCATGGTGCGAACGCGGTGGCAGCCTC
 MetValArgThrArgTrpGlnProH
 91 ACCCTCCGCCGCCCTGCTTCTCCTGGTGCTCGTGTGGCTCCCC
 isProProProProLeuLeuLeuLeuValLeuValTrpLeuProG
 136 AAAGCCTGAGTCTAGACCTGATTGCCTACGTGCCGCAGATAACAG
 InSerLeuSerLeuAspLeuIleAlaTyrValProGlnIleThrA
 181 CCTGGGACCTGGAAGGGAAGATCACAGCCACTACATTCTCTCTGG
 laTrpAspLeuGluGlyLysIleThrAlaThrThrPheSerLeuG
 226 AGCAGCCTCGGTGCGTCTTTGATGAGCATGTCTCAACTAAGGACA
 luGlnProArgCysValPheAspGluHisValSerThrLysAspT
 271 CCATCTGGCTAGTGGTGGCTTTCAGCAATGCCTCCAGGGACTTTC
 hrIleTrpLeuValValAlaPheSerAsnAlaSerArgAspPheG
 316 AGAACCACAGACTGCTGCTAAGATCCCGACCTTCCCACAGCTGC
 InAsnProGlnThrAlaAlaLysIleProThrPheProGlnLeuL
 361 TGACTGACGGCCACTATATGACATTACCCCTGTCCCTGGATCAGC
 euThrAspGlyHisTyrMetThrLeuProLeuSerLeuAspGlnL
 406 TGCCATGTGAGGACCTGACCGGTGGCAGTGGAGGTGTCCCCGTGC
 euProCysGluAspLeuThrGlyGlySerGlyGlyValProValL
 451 TTCGGGTGGGCAATGATTTTGGCTGTTACCAGCGACCCATTGCA
 euArgValGlyAsnAspPheGlyCysTyrGlnArgProTyrCysA
 496 ACGCCCCCTCCCCAGCCAGGGCCCTTACAGTGTGAAGTTCCTTG
 snAlaProLeuProSerGlnGlyProTyrSerValLysPheLeuV
 541 TAATGGATGCCCGCGCCACCCAAGGCTGAGACGAAGTGGTCCA
 alMetAspAlaAlaGlyProProLysAlaGluThrLysTrpSerA
 586 ACCCCATTTATCTCCACCAAGGAAAGAATCCCAACTCCATTGACA
 snProIleTyrLeuHisGlnGlyLysAsnProAsnSerIleAspT
 631 CATGGCCTGGCCGACGGAGCGGCTGTATGATCGTCATAACTTCCA
 hrTrpProGlyArgArgSerGlyCysMetIleValIleThrSerI
 676 TCCTCTTGCCCTGGCCGGCCTCTTGCTCCTGGCTTTCCTGGCAG
 leLeuSerAlaLeuAlaGlyLeuLeuLeuLeuAlaPheLeuAlaA
 721 CTTCCACTACGCGT
 laSerThrThrArg

Fig. 2

【 図 3 】

```

1 AAAGAGCTTGAGTTAGATTGAAGTAGAATCAGTGATAGAAAATAA
46 CAGCCGAAAACAAAACAAAAGGGGACATAGTGACAATTTCTCCTG
91 GGTTATTTTGGCTGGAACCAACTTCCATTATCCAGAAGCTGATAA
136 AAAAGCTTTGGGAAACATGAACAAAACATTGATGAAATGTTGGAA
181 ACCAGTTGAAACACAGTAAAACCAACTGGGTAAAATAGGACCACT

226 TCTCTTCATCTACACTGGGATTTGTCAAGAAGTGAACATATGACAA
MetThrI

271 TACATCAATTTTGGCTACTGTTTCTATTCTGGGTATGCCTGCCAC
leHisGlnPheLeuLeuLeuPheLeuPheTrpValCysLeuProH

316 ATTTCTGCTCTCCAGAAATAATGTTTCAGAAGGACGCCTGTGCCAC
isPheCysSerProGluIleMetPheArgArgThrProValProG

361 AGCAAAGAATTTTAAGTTCACGTGTACCAAGGAGTGATGGCAAAA
lnGlnArgIleLeuSerSerArgValProArgSerAspGlyLysI

406 TTCTCCATCGTCAAAAACGTGGTTGGATGTGGAATCAATTTTCT
leLeuHisArgGlnLysArgGlyTrpMetTrpAsnGlnPhePheL

451 TACTTGAAGAATATACAGGATCTGATTATCAGTACGTAGGCAAGC
euLeuGluGluTyrThrGlySerAspTyrGlnTyrValGlyLysL

496 TACATTCAGACCAAGATAAAGGAGATGGATCACTCAAATATATCT
euHisSerAspGlnAspLysGlyAspGlySerLeuLysTyrIleL

541 TATCTGGAGATGGAGCTGGTACTCTTTTTATTATTGATGAAAAAA
euSerGlyAspGlyAlaGlyThrLeuPheIleIleAspGluLysT

586 CAGGTGATATTCATGCCACAAGGCGAATTGATAGGGAGGAAAAGG
hrGlyAspIleHisAlaThrArgArgIleAspArgGluGluLysA

631 CCTTTTATACTCTACGCGCACAAAGCTATTAACAGAAGAACTCTGA
laPheTyrThrLeuArgAlaGlnAlaIleAsnArgArgThrLeuA

676 GGCCAGTAGAGCCAGAGTCAGAGTTTGTGATCAAAATTCATGATA
rgProValGluProGluSerGluPheValIleLysIleHisAspI

721 TCAATGACAATGAGCCAACGTTCCAGAAGAAATCTATACAGCTA
leAsnAspAsnGluProThrPheProGluGluIleTyrThrAlaS

766 GTGTTCCCGAAATGTCTGTTGTAGGTACTTCTGTGGTGCAAGTCA
erValProGluMetSerValValGlyThrSerValValGlnValT

811 CAGCTACAGATGCCGATGACCCTTCATATGGGAACAGCGCCAGAG
hrAlaThrAspAlaAspAspProSerTyrGlyAsnSerAlaArgV

856 TCATTTACAGCATACTTCAAGGGCAGCCCTATTTCTCTGTGGAGC
alIleTyrSerIleLeuGlnGlyGlnProTyrPheSerValGluP

901 CTGAAACAGGTATCATCAGGACTGCTTTACCGAACATGAACAGAG
roGluThrGlyIleIleArgThrAlaLeuProAsnMetAsnArgG

```

Fig. 3

【 図 3 - 1 】

946 AAAACAGAGAGCAATACCAAGTGGTCATCCAGGCCAAAGACATGG
 luAsnArgGluGlnTyrGlnValValIleGlnAlaLysAspMetG
 991 GCGGCCAGATGGGAGGCTTATCGGGGACAACCACTGTGAACATCA
 lyGlyGlnMetGlyGlyLeuSerGlyThrThrThrValAsnIleT
 1036 CGCTGACAGATGTCAATGACAACCCACCACGTTTCCCCAGAACA
 hrLeuThrAspValAsnAspAsnProProArgPheProGlnAsnT
 1081 CTATTCATCTTCGAGTTCTTGAATCCTCCCCAGTTGGCACAGCCA
 hrIleHisLeuArgValLeuGluSerSerProValGlyThrAlaI
 1126 TTGGAAGTGTCAAAGCAACTGATGCTGACACTGGGAAAATGCTG
 leGlySerValLysAlaThrAspAlaAspThrGlyLysAsnAlaG
 1171 AAGTAGAATACCGAATTATTGATGGTGACGGTACTGATATGTTTG
 luValGluTyrArgIleIleAspGlyAspGlyThrAspMetPhea
 1216 ACATCGTGACTGAGAAGGACACACAGGAAGGCATCATCACTGTGA
 spIleValThrGluLysAspThrGlnGluGlyIleIleThrValL
 1261 AAAAGCCACTCGACTATGAAAGCCGAAGACTTTTATACTCTGAAAG
 ysLysProLeuAspTyrGluSerArgArgLeuTyrThrLeuLysV
 1306 TCGAAGCAGAAAACACCCATGTAGATCCCCGTTTTTATTACCTAG
 alGluAlaGluAsnThrHisValAspProArgPheTyrTyrLeuG
 1351 GACCATTTAAAGATACTACCATAGTGAAAATCTCTATAGAAGATG
 lyProPheLysAspThrThrIleValLysIleSerIleGluAspV
 1396 TGGATGAACCTCCTGTTTTTAGTAGGTCCTCCTATCTGTTTGAAG
 alAspGluProProValPheSerArgSerSerTyrLeuPheGluV
 1441 TTCATGAAGATATTGAAGTGGGCACAATCATTTGGTACTGTAATGG
 alHisGluAspIleGluValGlyThrIleIleGlyThrValMeta
 1486 CAAGGGACCCAGATTCTATTTCCAGCCCCATTAGATTTTCCTTGG
 laArgAspProAspSerIleSerSerProIleArgPheSerLeuA
 1531 ATCGCCATACTGACCTTGACAGAATCTTTAACATTCATTCAGGAA
 spArgHisThrAspLeuAspArgIlePheAsnIleHisSerGlyA
 1576 ATGGATCTCTTTATACATCAAAACCTCTTGACCGTGAACATCTC
 snGlySerLeuTyrThrSerLysProLeuAspArgGluLeuSerG
 1621 AGTGGCATAATTCGTTAGTTATTGCTGCTGAAATCAACAATCCCA
 lnTrpHisAsnSerLeuValIleAlaAlaGluIleAsnAsnProL
 1666 AAGAGACAACACGCGTGGCTGTTTTTGTGAGAATTTTGGATGTTA
 ysGluThrThrArgValAlaValPheValArgIleLeuAspValA
 1711 ATGACAATGCCCCACAGTTTGCTGTGTTCTATGACACTTTTGTAT
 snAspAsnAlaProGlnPheAlaValPheTyrAspThrPheValC
 1756 GTGAAAATGCCAGACCAGGGCAGCTAATACAGACTATAAGTGCAG
 ysGluAsnAlaArgProGlyGlnLeuIleGlnThrIleSerAlaV

Fig. 3 Continued

【 図 3 - 2 】

1801 TAGACAAAGATGACCCTTTAGGTGGACAGAAATTTTTTTTCAGTT
 alAspLysAspAspProLeuGlyGlyGlnLysPhePhePheSerL
 1846 TAGCTGCTGTCAATCCAAACTTCACAGTACAGGATAATGAAGATA
 euAlaAlaValAsnProAsnPheThrValGlnAspAsnGluAspA
 1891 ATACTGCCAGAATCTTAACCAGAAAAATGGATTCAATAGACATG
 snThrAlaArgIleLeuThrArgLysAsnGlyPheAsnArgHisG
 1936 AAATCAGTACCTATCTCTTGCCTGTGGTGATATCAGACAATGATT
 luIleSerThrTyrLeuLeuProValValIleSerAspAsnAspT
 1981 ACCCGATTTCAGAGCAGCACAGGCACACTGACCATTTCGAGTGTGTG
 yrProIleGlnSerSerThrGlyThrLeuThrIleArgValCysA
 2026 CTTGTGACAGCCAAGGCAACATGCAATCCTGCAGTGCTGAAGCCC
 laCysAspSerGlnGlyAsnMetGlnSerCysSerAlaGluAlaL
 2071 TGCTCCTCCCTGCCGGCCTCAGCACTGGGGCCTTGATCGCCATCC
 euLeuLeuProAlaGlyLeuSerThrGlyAlaLeuIleAlaIleL
 2116 TCCTCTGCATCATCATTCTACTGGTTATAGTAGTACTGTTTTGCAG
 euLeuCysIleIleIleLeuLeuValIleValValLeuPheAlaA
 2161 CTCTGAAAGGACAGCGAAAAAAGAGCCTCTGATCTTGTCAAAAG
 laLeuLysGlyGlnArgLysLysGluProLeuIleLeuSerLysG
 2206 AAGATATCAGAGACAACATTGTGAGCTATAACGATGAGGGTGGTG
 luAspIleArgAspAsnIleValSerTyrAsnAspGluGlyGlyG
 2251 GAGAGGAGGACACCCAGGCCTTTGATATCGGCACCCCTGAGGAATC
 lyGluGluAspThrGlnAlaPheAspIleGlyThrLeuArgAsnF
 2296 CTGCAGCCATTGAGGAAAAAAGCTCCGGCGAGATATTATCCAG
 roAlaAlaIleGluGluLysLysLeuArgArgAspIleIleProG
 2341 AAACGTTATTTATTCTCGGAGGACTCCTACAGCTCCAGATAACA
 luThrLeuPheIleProArgArgThrProThrAlaProAspAsnT
 2386 CGGACGTCCGGGATTTTATTAATGAAAGGCTAAAAGAGCATGATC
 hrAspValArgAspPheIleAsnGluArgLeuLysGluHisAspL
 2431 TTGACCCACCCGACCCCTTACGACTCACTTGCAACCTATGCCT
 euAspProThrAlaProProTyrAspSerLeuAlaThrTyrAlaT
 2476 ATGAAGGAAATGATTCCATTGCTGAATCTCTGAGTTCATTAGAAT
 yrGluGlyAsnAspSerIleAlaGluSerLeuSerSerLeuGluS
 2521 CAGGTACTACTGAAGGAGACCAAACTACGATTACCTCCGAGAAT
 erGlyThrThrGluGlyAspGlnAsnTyrAspTyrLeuArgGluT
 2566 GGGGCCCTCGGTTTAATAAGCTAGCAGAAATGTATGGTGGTGGGG
 rpGlyProArgPheAsnLysLeuAlaGluMetTyrGlyGlyGlyG
 2611 AAAGTGACAAAGACTCTTAACGTAGGATATATGTTCTGTTCAAAC
 luSerAspLysAspSer
 2656 AAGAGAAAGTAACTCTACCCATGCTGTCTCCACTTCACAATATTT
 2701 GATATTCAGGAGCATTTCCTGCAGTCAGCACAATTTTTTTCTCA

Fig. 3 Continued

【 図 4 】

1 AAGATGGTAGCAAAGTAATGAGTTGAGAGTTGCTTTCAGTGGTGT
 46 GTTACCGGAGATAGAAAAATGAAGGATACAGGCTAAGGGACCAA
 91 CTGCAGTGTGATGGAACTGAGTTTTAATGATGCCTCTTAGGAAA
 136 TGACTTCCAACATGTAGTACACTATTCATCTTCGAGTTCTTGAAT
 181 CCTCCCCAGTTGGCACAGCCATTGGAAGTGTCAAAGCAACTGATG
 226 CTGACACTGGGAAAAATGCTGAAGTAGAATACCGAATTATTGATG

 271 GTGACGGTACTGATATGTTTTGACATCGTGACTGAGAAGGACACAC
 MetPheAspIleValThrGluLysAspThrG

 316 AGGAAGGCATCATCACTGTGAAAAAGCCACTCGACTATGAGAGCC
 InGluGlyIleIleThrValLysLysProLeuAspTyrGluSerA

 361 GAAGACTTTATACTCTGAAAGTCGAAGCAGAAAACACCCATGTAG
 rgArgLeuTyrThrLeuLysValGluAlaGluAsnThrHisvala

 406 ATCCCCGTTTTTATTACCTAGGACCATTTAAAGATACTACCATAG
 spProArgPheTyrTyrLeuGlyProPheLysAspThrThrIleV

 451 TGAAAATCTCTATAGAAGATGTGGATGAACCTCCTGTTTTTAGTA
 alLysIleSerIleGluAspValAspGluProProValPheSerA

 496 GGTCTCCTATCTGTTTGAAGTTCATGAAGATATTGAAGTGGGCA
 rgSerSerTyrLeuPheGluValHisGluAspIleGluValGlyT

 541 CAATCATTGGTACTGTAATGGCAAGGGACCCAGATTCTATTTCCA
 hrIleIleGlyThrValMetAlaArgAspProAspSerIleSerS

 586 GCCCCATTAGATTTTCCTTGGATCGCCATACTGACCTTGACAGAA
 erProIleArgPheSerLeuAspArgHisThrAspLeuAspArgI

 631 TCTTTAACATTCATTCAGGAAATGGATCTCTTTATACATCAAAAC
 lePheAsnIleHisSerGlyAsnGlySerLeuTyrThrSerLysP

 676 CTCTTGACCGTGAACATACTCAGTGGCATAATTCGTTAGTTATTG
 roLeuAspArgGluLeuSerGlnTrpHisAsnSerLeuValIleA

 721 CTGCTGAAATCAACAATCCCAAAGAGACAACACGCGTGGCTGTTT
 laAlaGluIleAsnAsnProLysGluThrThrArgValAlaValP

 766 TTGTGAGAATTTTGGATGTTAATGACAATGCCCCACAGTTTGCTG
 heValArgIleLeuAspValAsnAspAsnAlaProGlnPheAlaV

 811 TGTTCTATGACACTTTTTGTATGTGAAAATGCCAGACCAGGGCAGC
 alPheTyrAspThrPheValCysGluAsnAlaArgProGlyGlnL

 856 TAATACAGACTATAAGTGCAGTAGACAAAGATGACCCTTTAGGTG
 euIleGlnThrIleSerAlaValAspLysAspAspProLeuGlyG

 901 GACAGAAATTTTTTTTTCAGTTTAGCTGCTGTCATCCAAACTTCA
 lyGlnLysPhePhePheSerLeuAlaAlaValAsnProAsnPheT

 946 CAGTACAGGATAATGAAGATAATACTGCCAGAATCTTAACCAGAA
 hrValGlnAspAsnGluAspAsnThrAlaArgIleLeuThrArgL

Fig. 4

【 図 4 - 1 】

991 AAAATGGATTCAATAGACATGAAATCAGTACCTATCTCTTGCCTG
 ysAsnGlyPheAsnArgHisGluIleSerThrTyrLeuLeuProV
 1036 TGGTGTATATCAGACAATGATTACCCGATTCAGAGCAGCACAGGCA
 alValIleSerAspAsnAspTyrProIleGlnSerSerThrGlyT
 1081 CACTGACCATTTCGAGTGTGTGCTTGTGACAGCCAAGGCAACATGC
 hrLeuThrIleArgValCysAlaCysAspSerGlnGlyAsnMetG
 1126 AATCCTGCAGTGCTGAAGCCCTGCTCCTCCCTGCCGGCCTCAGCA
 lnSerCysSerAlaGluAlaLeuLeuLeuProAlaGlyLeuSerT
 1171 CTGGGGCCTTGATCGCCATCCTCCTCTGCATCATCATTCTACTGG
 hrGlyAlaLeuIleAlaIleLeuLeuCysIleIleIleLeuLeuV
 1216 TTATAGTAGTACTGTTTGCAGCTCTGAAAGGACAGCGAAAAAAG
 alIleValValLeuPheAlaAlaLeuLysGlyGlnArgLysLysG
 1261 AGCCTCTGATCTTGTCAAAAGAAGATATCAGAGACAACATTGTGA
 luProLeuIleLeuSerLysGluAspIleArgAspAsnIleValS
 1306 GCTATAACGATGAGGGTGGTGGAGAGGAGGACACCCAGGCCTTTG
 erTyrAsnAspGluGlyGlyGlyGluGluAspThrGlnAlaPheA
 1351 ATATCGGCACCCTGAGGAATCCTGCAGCCATTGAGGAAAAAAGC
 spIleGlyThrLeuArgAsnProAlaAlaIleGluGluLysLysL
 1396 TCCGGCGAGATATTATTCCAGAAACGTTATTTATTCCTCGGAGGA
 euArgArgAspIleIleProGluThrLeuPheIleProArgArgT
 1441 CTCCTACAGCTCCAGATAACACGGACGTCCGGGATTCATTAATG
 hrProThrAlaProAspAsnThrAspValArgAspPheIleAsnG
 1486 AAAGGCTAAAAGAGCATGATCTTGACCCACCCGACCCCCCTACG
 luArgLeuLysGluHisAspLeuAspProThrAlaProProTyrA
 1531 ACTCAC TTGCAACCTATGCCTATGAAGGAAATGATTCCATTGCTG
 spSerLeuAlaThrTyrAlaTyrGluGlyAsnAspSerIleAlaG
 1576 AATCTCTGAGTTCATTAGAATCAGGTACTACTGAAGGAGACAAA
 luSerLeuSerSerLeuGluSerGlyThrThrGluGlyAspGlnA
 1621 ACTACGATTACCTCCGAGAATGGGGCCCTCGGTTTAATAAGCTAG
 snTyrAspTyrLeuArgGluTrpGlyProArgPheAsnLysLeuA
 1666 CAGAAATGTATGGTGGTGGGGAAAGTGACAAAGACTCTTAACGTA
 laGluMetTyrGlyGlyGlyGluSerAspLysAspSer
 1711 GGATATATGTTCTGTTCAAACAAGAGAAAGTAACTCTACCCATGC
 1756 TGCTCCACTTCACAATATTTGATATTCAGGAGCATTTCTCTGCAG
 1801 TCAGCACAATTTTTTCTCA

Fig. 4 Continued

【図 5】

1 CAAAGGCTGGAGACAAGTGGGTTGGGGTTGGTTTTAATTTGGCA
 46 GTTGTAAATTAATGGTCAATTTAATAGTCCGTAATTGATGGCAGC
 91 CTGCTGTGGTACATGTGTGAAAGATTATCACTTTGAATATACGGA
 136 ATGTGATAGCAGTGGCTCCAGGTGGAGAGTTGCCATTCCAAATTC
 181 TGCAGTGGACTGCTCTGGCCTGCCTGACCCAGTGAGAGGCCAAAGA

 226 ATGCACTCTTCTTGGATCCCTCGTGGAACTACATAGAATCTAAT
 MetHisSerSerTrpIleProArgGlyAsnTyrIleGluSerAsn

 271 CGTGATGACTGCACGGTGTCTTTGATCTATGCTGTGCACCTTAAG
 ArgAspAspCysThrValSerLeuIleTyrAlaValHisLeuLys

 316 AAGTCAGGCTATGTCTTCTTTGAGTACCAGTATGTCGACAACAAC
 LysSerGlyTyrValPhePheGluTyrGlnTyrValAspAsnAsn

 361 ATCTTCTTTGAGTCTTTATTCAAATGATCAGTGCCAGGAGATG
 IlePhePheGluPhePheIleGlnAsnAspGlnCysGlnGluMet

 406 GACACCACCACTGACAAGTGGGTAAAACCTTACAGACAATGGAGAA
 AspThrThrThrAspLysTrpValLysLeuThrAspAsnGlyGlu

 451 TGGGGCTCTCATTCTGTAAATGCTGAAATCAGGCACAAACATACTC
 TrpGlySerHisSerValMetLeuLysSerGlyThrAsnIleLeu

 496 TACTGGAGAACTACAGGCATCCTTATGGGTTCTAAGGCGGTCAAG
 TyrTrpArgThrThrGlyIleLeuMetGlySerLysAlaValLys

 541 CCTGTGCTGGTAAAAAATATCACAATTGAAGGGGTGGCGTACACA
 ProValLeuValLysAsnIleThrIleGluGlyValAlaTyrThr

 586 TCAGAAATGTTTTCCCTGCAAGCCAGGCACATTCAGCAACAAACCA
 SerGluCysPheProCysLysProGlyThrPheSerAsnLysPro

 631 GGTTCATTCAACTGCCAGGTGTGTCCAGAAACACCTATTCTGAG
 GlySerPheAsnCysGlnValCysProArgAsnThrTyrSerGlu

 676 AAAGGAGCCAAAGAATGTATAAGGTGTAAAGACGACTCTCAATTT
 LysGlyAlaLysGluCysIleArgCysLysAspAspSerGlnPhe

 721 TCAGAGGAAGGATCCAGTGAGTGTACAGAGCGCCCTCCCTGTACC
 SerGluGluGlySerSerGluCysThrGluArgProProCysThr

 766 ACAAAAGACTATTTCCAGATCCATACTCCATGTGATGAAGAAGGA
 ThrLysAspTyrPheGlnIleHisThrProCysAspGluGluGly

 811 AAGACACAGATAATGTACAAGTGGATAGAGCCCAAATCTGCCGG
 LysThrGlnIleMetTyrLysTrpIleGluProLysIleCysArg

 856 GAGGATCTCACAGATGCTATTAGATTGCCCCCTTCTGGAGAGAAG
 GluAspLeuThrAspAlaIleArgLeuProProSerGlyGluLys

 901 AAGGATTGTCCGCCTTGCAACCCTGGATTTTATAACAATGGATCA
 LysAspCysProProCysAsnProGlyPheTyrAsnAsnGlySer

 946 TCTTCTTGCCATCCCTGTCTCCTGGAACATTTTCAGATGGAACC
 SerSerCysHisProCysProProGlyThrPheSerAspGlyThr

Fig. 5

【 5 - 1 】

991 AAAGAATGTAGACCATGTCCAGCAGGAACGGAGCCTGCAC TTGGC
LysGluCysArgProCysProAlaGlyThrGluProAlaLeuGly

1036 TTTGAATATAAATGGTGGAAATGTCCTTCCTGGCAACATGAAA ACT
PheGluTyrLysTrpTrpAsnValLeuProGlyAsnMetLysThr

1081 TCCTGCTTCAATGTTGGGAATTCAAAGTGGGATGGAATGAATGGT
SerCysPheAsnValGlyAsnSerLysCysAspGlyMetAsnGly

1126 TGGGAGGTGGCTGGAGATCATATCCAGAGTGGGGCTGGAGGTTCT
TrpGluValAlaGlyAspHisIleGlnSerGlyAlaGlyGlySer

1171 GACAATGATTACCTGATCTTAAACTTGCATATCCCAGGATTTAAA
AspAsnAspTyrLeuIleLeuAsnLeuHisIleProGlyPheLys

1216 CCACCAACATCTATGACTGGAGCCACGGGTTCTGAACTAGGAAGA
ProProThrSerMetThrGlyAlaThrGlySerGluLeuGlyArg

1261 ATAACATTTGTCTTTGAGACCCTCTGTTTCAGCTGACTGTGTTTTG
IleThrPheValPheGluThrLeuCysSerAlaAspCysValLeu

1306 TACTTCATGGTGGATATTAATAGAAAAAGTACAAATGTGGTAGAA
TyrPheMetValAspIleAsnArgLysSerThrAsnValValGlu

1351 TCGTGGGGTGGAAACCAAGAAAAACAAGCTTACACCCATATCATC
SerTrpGlyGlyThrLysGluLysGlnAlaTyrThrHisIleIle

1396 TTCAAGAATGCAACTTTTACATTTACATGGGGCATTCCCAGAGAA
PheLysAsnAlaThrPheThrPheThrTrpGlyIleProArgGlu

1441 CTAATTCAGGGTCCAAGATAATAGACGGTTCNCCATTGACATGT
LeuIleGlnGlyProArg

1486 TTGAAGGATTTATTCCCTATTAC

Fig. 5 Continued

【図 6 - 1】

901 TCCGACTGCTATGCCGAGCAGGTGGTGGCTCGTGTGGCCCGTGTC
 SerAspCysTyrAlaGluGlnValValAlaArgValAlaArgVal
 946 TGCAAGGGCGATATGGGGGGCGCACGGACCCTGCAGAGGAAGTGG
 CysLysGlyAspMetGlyGlyAlaArgThrLeuGlnArgLysTrp
 991 ACCACGTTCCCTGAAGGCGCGGCTGGCATGCTCTGCCCGAACTGG
 ThrThrPheLeuLysAlaArgLeuAlaCysSerAlaProAsnTrp
 1036 CAGCTCTACTTCAACCAGCTGCAGGCGATGCACACCCTGCAGGAC
 GlnLeuTyrPheAsnGlnLeuGlnAlaMetHisThrLeuGlnAsp
 1081 ACCTCCTGGCACAAACCACCTTCTTTGGGGTTTTTCAAGCACAG
 ThrSerTrpHisAsnThrThrPhePheGlyValPheGlnAlaGln
 1126 TGGGGTGACATGTACCTGTTCGGCCATCTGTGAGTACCAGTTGGAA
 TrpGlyAspMetTyrLeuSerAlaIleCysGluTyrGlnLeuGlu
 1171 GAGATCCAGCGGGTGTGTTGAGGGCCCCCTATAAGGAGTACCATGAG
 GluIleGlnArgValPheGluGlyProTyrLysGluTyrHisGlu
 1216 GAAGCCAGAAAGTGGGACCGCTACACTGACCCTGTACCCAGCCCT
 GluAlaGlnLysTrpAspArgTyrThrAspProValProSerPro
 1261 CGGCCTGGCTCGTGCATTAACAACCTGGCATCGGCGCCACGGCTAC
 ArgProGlySerCysIleAsnAsnTrpHisArgArgHisGlyTyr
 1306 ACCAGCTCCCTGGAGCTACCCGACAACATCCTCAACTTCGTCAAG
 ThrSerSerLeuGluLeuProAspAsnIleLeuAsnPheValLys
 1351 AAGCACCCGCTGATGGAGGAGCAGGTGGGGCCTCGGTGGAGCCGC
 LysHisProLeuMetGluGluGlnValGlyProArgTrpSerArg
 1396 CCCCTGCTCGTGAAGAAGGGCACCAACTTCACCCACCTGGTGGCC
 ProLeuLeuValLysLysGlyThrAsnPheThrHisLeuValAla
 1441 GACCGGGTTACAGGACTTGATGGAGCCACCTATACAGTGTGTTTC
 AspArgValThrGlyLeuAspGlyAlaThrTyrThrValLeuPhe
 1486 ATTGGCACAGGAGACGGCTGGCTGCTCAAGGCTGTGAGCCTGGGG
 IleGlyThrGlyAspGlyTrpLeuLeuLysAlaValSerLeuGly
 1531 CCCTGGGTTACCTGATTGAGGAGCTGCAGCTGTTTGACCAGGAG
 ProTrpValHisLeuIleGluGluLeuGlnLeuPheAspGlnGlu
 1576 CCCATGAGAAGCCTGGTGCTATCTCAGAGCAAGAAGCTGCTCTTT
 ProMetArgSerLeuValLeuSerGlnSerLysLysLeuLeuPhe
 1621 GCCGGCTCCCCTCTCAGCTGGTGCAGCTGCCCGTGGCCGACTGC
 AlaGlySerArgSerGlnLeuValGlnLeuProValAlaAspCys
 1666 ATAAAGTATCGCTCCTGTGCAGACTGTGTCTCGCCCGGGACCCC
 IleLysTyrArgSerCysAlaAspCysValLeuAlaArgAspPro

Fig. 6 Continued

【図6 - 2】

1711 TATTGCGCCTGGAGCGTCAACACCAGCCGCTGTGTGGCCGTGGGT
TyrCysAlaTrpSerValAsnThrSerArgCysValAlaValGly

1756 GGCCACTTTGGATCTTTACTGATCCAGCATGTGATGACCTCGGAC
GlyHisPheGlySerLeuLeuIleGlnHisValMetThrSerAsp

1801 ACTTCAGGCATTTGCAACCTCCGTGGCAGTAAGAAAGTCAGGCC
ThrSerGlyIleCysAsnLeuArgGlySerLysLysValArgPro

1846 ACTCCCAAAAACATCACGGTGGTGGCGGGCACAGACCTGGTGTG
ThrProLysAsnIleThrValValAlaGlyThrAspLeuValLeu

1891 CCCTGCCACCTCTCCTCCACTTGGCCCCGGGGTTCAGTGGTATTT
ProCysHisLeuSerSerThrTrpProArgGlySerValValPhe

1936 TAAACTTGCCTTCTTCCTGTACAGGGCTGGGAAAGGCTGTGTTAG
1981 GGGAAAAAAGGAAAGGGTGGGCCTGCTGTGGACAATGGCATACT
2026 CTCTCCAGCCCTAGGAGGAGGGCTCCTAACAGTGTAACTTATTG
2071 TGTCCCCGCGTATTTATTTGTTGTAAATATTTGAGTATTTTATA
2116 TTGACAAATAAAATGGAGAAAATGAAAAAAAAAAAAAAAAA

Fig. 6 Continued

【図 7 - 1】

901 TCCGACTGCTATGCCGAGCAGGTGGTGGCTCGTGTGGCCCGTGTG
 SerAspCysTyrAlaGluGlnValValAlaArgValAlaArgVal
 946 TGCAAGGGCGATATGGGGGGCGCACGGACCCTGCAGAGGAAGTGG
 CysLysGlyAspMetGlyGlyAlaArgThrLeuGlnArgLysTrp
 991 ACCACGTTCCCTGAAGGCGCGGCTGGCATGCTCTGCCCCGAAGTGG
 ThrThrPheLeuLysAlaArgLeuAlaCysSerAlaProAsnTrp
 1036 CAGCTCTACTTCAACCAGCTGCAGGCGATGCACACCCTGCAGGAC
 GlnLeuTyrPheAsnGlnLeuGlnAlaMetHisThrLeuGlnAsp
 1081 ACCTCCTGGCACAACACCACCTTCTTTGGGGTTTTTCAAGCACAG
 ThrSerTrpHisAsnThrThrPhePheGlyValPheGlnAlaGln
 1126 TGGGGTGACATGTACCTGTGCGCCATCTGTGAGTACCAGTTGGAA
 TrpGlyAspMetTyrLeuSerAlaIleCysGluTyrGlnLeuGlu
 1171 GAGATCCAGCGGGTGTGTTGAGGGCCCCCTATAAGGAGTACCATGAG
 GluIleGlnArgValPheGluGlyProTyrLysGluTyrHisGlu
 1216 GAAGCCCAGAAGTGGGACCGCTACACTGACCCTGTACCCAGCCCT
 GluAlaGlnLysTrpAspArgTyrThrAspProValProSerPro
 1261 CGGCCTGGCTCGTGCATTAACAACCTGGCATCGGCGCCACGGCTAC
 ArgProGlySerCysIleAsnAsnTrpHisArgArgHisGlyTyr
 1306 ACCAGCTCCCTGGAGCTACCCGACAACATCCTCAACTTCGTCAAG
 ThrSerSerLeuGluLeuProAspAsnIleLeuAsnPheValLys
 1351 AAGCACCCGCTGATGGAGGAGCAGGTGGGGCCCTCGGTGGAGCCGC
 LysHisProLeuMetGluGluGlnValGlyProArgTrpSerArg
 1396 CCCCTGCTCGTGAAGAAGGGCACCAACTTCACCCACCTGGTGGCC
 ProLeuLeuValLysLysGlyThrAsnPheThrHisLeuValAla
 1441 GACCGGTTACAGGACTTGATGGAGCCACCTATACAGTGCTGTTC
 AspArgValThrGlyLeuAspGlyAlaThrTyrThrValLeuPhe
 1486 ATTGGCACAGGAGACGGCTGGCTGCTCAAGGCTGTGAGCCTGGGG
 IleGlyThrGlyAspGlyTrpLeuLeuLysAlaValSerLeuGly
 1531 CCCTGGGTTACCTGATTGAGGAGCTGCAGCTGTTTGACCAGGAG
 ProTrpValHisLeuIleGluGluLeuGlnLeuPheAspGlnGlu
 1576 CCCATGAGAAGCCTGGTGCTATCTCAGAGCAAGAAGCTGCTCTTT
 ProMetArgSerLeuValLeuSerGlnSerLysLysLeuLeuPhe
 1621 GCCGGCTCCCGCTCTCAGCTGGTGCAGCTGCCCGTGGCCGACTGC
 AlaGlySerArgSerGlnLeuValGlnLeuProValAlaAspCys
 1666 ATAAAGTATCGCTCCTGTGCAGACTGTGTCTCGCCCGGGACCCC
 IleLysTyrArgSerCysAlaAspCysValLeuAlaArgAspPro

Fig. 7 Continued

【図7 - 2】

1711 TATTGCGCCTGGAGCGTCAACACCAGCCGCTGTGTGGCCGTGGGT
TyrCysAlaTrpSerValAsnThrSerArgCysValAlaValGly

1756 GGCCACTTTGGATCTTTACTGATCCAGCATGTGATGACCTCGGAC
GlyHisPheGlySerLeuLeuIleGlnHisValMetThrSerAsp

1801 ACTTCAGGCATTTGCAACCTCCGTGGCAGTAAGATACAGTCAGGC
ThrSerGlyIleCysAsnLeuArgGlySerLysIleGlnSerGly

1846 CCACTNCCCAAAAACATCACGGTGGTGGCGGGCACAGACCTGGTG
ProLeuProLysAsnIleThrValValAlaGlyThrAspLeuVal

1891 CTGCCCTGCCACCTCTCCTCCAACCTTGGCCCTGCCCGACTCCAAC
LeuProCysHisLeuSerSerAsnLeuAlaLeuProAspSerAsn

1936 CCCGAGGAGTCATCAGTATGAGGGGAACCCCCACCGCGTCGGCGG
ProGluGluSerSerVal

1981 ANAGCGTGGGAGGTGTAGCTCCTACTTTTGCACAGGCACCAGCTA
2026 TCTCAGGGACATGGCACGGGCACCTGCTCTGTCTGGGACAGATAC
2071 TGCCACGACCCACCCGGCCATGAGGACCTGCTCTGCTCAGCAGC
2116 GGCAC'TGCACTTGGTGTGGTCACCAGGGCACCAGCTCGCAGAAGG
2161 CATCTTCCCTCCTCTGTGAATCACAGACACCGGGACCCAGCC
2206 GCCAAAATTTCAAGGCAGAAGTTNAAGATGTGTGTTGNTGTAT
2251 TTGACATGTGTTTGTGTGTGTGTATGTGTGTG

Fig. 7 Continued

【 8 】

1 ACCGACGTCGAATATCCATGCATCCGCGTGCAGGTGGCAGACGGA
 46 CTCCGGCGGAATGGGGGTGTGGCTGCTCCGCCAGGGTCCCCAGG
 91 GTGGGAGAGCGGCTCCGCGGCCACCGATGCCCGGACCCCTCTGT

 136 CTTCTGCTAGACATGCTCTTCCTCTCGTTTCATGCAGGCTCTTGG
 MetLeuPheLeuSerPheHisAlaGlySerTrp

 181 GAAAGCTGGTGCTGCTGCTGCCTGATCCCGCCGACAGACCTTGG
 GluSerTrpCysCysCysCysLeuIleProAlaAspArgProTrp

 226 GACCGGGCCAACACTGGCAGCTGGAGATGGCGGACACGAGATCC
 AspArgGlyGlnHisTrpGlnLeuGluMetAlaAspThrArgSer

 271 GTGCACGAGACTAGGTTTGAGGCGGCCGTGAAGGTGATCCAGAGT
 ValHisGluThrArgPheGluAlaAlaValLysValIleGlnSer

 316 TTGCCGAAGAATGGTTCATTCCAGCCAACAAATGAAATGATGCTT
 LeuProLysAsnGlySerPheGlnProThrAsnGluMetMetLeu

 361 AAATTTTATAGCTTCTATAAGCAGGCAACTGAAGGACCCTGTAAA
 LysPheTyrSerPheTyrLysGlnAlaThrGluGlyProCysLys

 406 CTTTCAAGGCCTGGATTTTGGGATCCTATTGGAAGATATAAATGG
 LeuSerArgProGlyPheTrpAspProIleGlyArgTyrLysTrp

 451 GATGCTTGGAGTTCACCTGGGTGATATGACCAAAGAGGAAGCCATG
 AspAlaTrpSerSerLeuGlyAspMetThrLysGluGluAlaMet

 496 ATTGCATATGTTGAAGAAATGAAAAGATTATTGAAACTATGCCA
 IleAlaTyrValGluGluMetLysLysIleIleGluThrMetPro

 541 ATGACTGAGAAAAGTTGAAGAATTGCTGCGTGTATAGGTCCATTT
 MetThrGluLysValGluGluLeuLeuArgValIleGlyProPhe

 586 TATGAAATTGTCGAGGACAAAAAGAGTGGCAGGAGTTCTGATATA
 TyrGluIleValGluAspLysLysSerGlyArgSerSerAspIle

 631 ACCTCAGTCCGACTGGAGAAAATCTCTAAATGTTTAGAAGATCTT
 ThrSerValArgLeuGluLysIleSerLysCysLeuGluAspLeu

 676 GGTAATGTTCTCACTTCTACTCCAAACGCCAAAACCGTTAATGGT
 GlyAsnValLeuThrSerThrProAsnAlaLysThrValAsnGly

 721 AAAGCTGAAAGCAGTGACAGTGGAGCCGAGTCTGAGGAAGAAGAG
 LysAlaGluSerSerAspSerGlyAlaGluSerGluGluGluGlu

 766 GCCCAAGAAGAAGTGAAAGGAGCAGAACAAAGTGATAATGATAAG
 AlaGlnGluGluValLysGlyAlaGluGlnSerAspAsnAspLys

 811 AAAATGATGAAGAAGTCAGCAGACCATAAGAATTTGGAAGTCATT
 LysMetMetLysLysSerAlaAspHisLysAsnLeuGluValIle

Fig. 8

【 図 8 - 1 】

856 G T C A C T A A T G G C T A T G A T A A A G A T G G C T T T G T T C A G G A T A T A C A G
 ValThrAsnGlyTyrAspLysAspGlyPheValGlnAspIleGln
 901 A A T G A C A T T C A T G C C A G T T C T T C C C T G A A T G G C A G A A G C A C T G A A
 AsnAspIleHisAlaSerSerSerLeuAsnGlyArgSerThrGlu
 946 G A A G T A A A G C C C A T T G A T G A A A A C T T G G G G C A A A C T G G A A A A T C T
 GluValLysProIleAspGluAsnLeuGlyGlnThrGlyLysSer
 991 G C T G T T T G C A T T C A C C A A G A T A T A A A T G A T G A T C A T G T T G A A G A T
 AlaValCysIleHisGlnAspIleAsnAspAspHisValGluAsp
 1036 G T T A C A G G A A T T C A G C A T T T G A C A A G C G A T T C A G A C A G T G A A G T T
 ValThrGlyIleGlnHisLeuThrSerAspSerAspSerGluVal
 1081 T A C T G T G A T T C T A T G G A A C A A T T T G G A C A A G A A G A G T C T T T A G A C
 TyrCysAspSerMetGluGlnPheGlyGlnGluGluSerLeuAsp
 1126 A G C T T T A C G T C C A A C A A T G G A C C A T T T C A G T A T T A C T T G G G T G G T
 SerPheThrSerAsnAsnGlyProPheGlnTyrTyrLeuGlyGly
 1171 C A T T C C A G T C A A C C C A T G G A A A A T T C T G G A T T T C G T G A A G A T A T T
 HisSerSerGlnProMetGluAsnSerGlyPheArgGluAspIle
 1216 C A A G T A C C T C C T G G A A A T G G C A A C A T T G G G A A T A T G C A G G T G G T T
 GlnValProProGlyAsnGlyAsnIleGlyAsnMetGlnValVal
 1261 G C A G T T G A A G G A A A A G G T G A A G T C A A G C A T G G A G G A G A A G A T G G C
 AlaValGluGlyLysGlyGluValLysHisGlyGlyGluAspGly
 1306 A G G A A T A A C A G C G G A C C A C C A C C G G G A G A A G C G A G G C G G A G A A
 ArgAsnAsnSerGlyAlaProHisArgGluLysArgGlyGlyGlu
 1351 A C T G A C G A A T T C T A A T G T T A G A A G A G A A G A G G A C A T A G G A T G
 ThrAspGluPheSerAsnValArgArgGlyArgGlyHisArgMet
 1396 C A A C A C T T G A G C G A A G G A A C C A A G G G C C G G C A G G T G G G A A G T G G A
 GlnHisLeuSerGluGlyThrLysGlyArgGlnValGlySerGly
 1441 G G T G A T G G G G A G C G C T G G G G C T C C G A C A G A G G G T C C C G A G G C A G C
 GlyAspGlyGluArgTrpGlySerAspArgGlySerArgGlySer
 1486 C T C A A T G A G C A G A T C G C C C T C G T G C T G A T G A G A C T G C A G G A G G A C
 LeuAsnGluGlnIleAlaLeuValLeuMetArgLeuGlnGluAsp
 1531 A T G C A G A A T G T C C T T C A G A G A C T G C A G A A A C T G G A A T G C T G A C T
 MetGlnAsnValLeuGlnArgLeuGlnLysLeuGluMetLeuThr
 1576 G C T T T G C A G G C A A A A T C A T C A A C A T C A A C A T T G C A G A C T G C T C C T
 AlaLeuGlnAlaLysSerSerThrSerThrLeuGlnThrAlaPro
 1621 C A G C C C A C C T C A C A G A G A C C A T C T T G G T G G C C C T T C G A G A T G T C T
 GlnProThrSerGlnArgProSerTrpTrpProPheGluMetSer

Fig. 8 Continued

【 8 - 2 】

1666 CCTGGTGTGCTAACGTTTGCATCATATGGCCTTTTATTGCACAG
ProGlyValLeuThrPheAlaIleIleTrpProPheIleAlaGln
1711 TGGTTGGTGTATTTATACTATCAAAGAAGGAGAAGAAAACCTGAAC
TrpLeuValTyrLeuTyrTyrGlnArgArgArgArgLysLeuAsn
1756 TGAGGGAAAATGGTGTTCCTCAAGAAGACTACTGGAACCTGGAT
1801 GACCTCAGAATGAACTGGATTGTGGTGTTCACAAGAAAATCTTAG
1849 TTTGTGATGATTACATTGCTTTTGTGTGCCNGTAGTTTAGTTTG
1891 TGTACATATATACACATATATATTTTGCCTACACAAACG

Fig. 8 Continued

【 9 】

1 CATTCTAGCTGCCTGCTGCCTCCGCAGCGTCCCCCAGCTCTCCC
46 TGTGCTAACTGCCTGCACCTTGGACAGAGCGGGTGCCAAATCAG
91 AAGGATTAGTTGGGACCTGCCTTGGCGACCCCATGGCATCCCCCA
MetAlaSerProA
136 GAACCGTAACTATTGTGGCCCTCTCAGTGGCCCTGGGACTCTTCT
rgThrValThrIleValAlaLeuSerValAlaLeuGlyLeuPheP
181 TTGTTTTTCATGGGGACTATCAAGCTGACCCCAAGGCTCAGCAAGG
heValPheMetGlyThrIleLysLeuThrProArgLeuSerLysA
226 ATGCCTACAGTGAGATGAAACGTGCTTACAAGAGCTATGTTCCGAG
spAlaTyrSerGluMetLysArgAlaTyrLysSerTyrValArgA
271 CCCTCCCTCTGCTGAAGAAAATGGGGATCAATTCCATTCTCCTCC
laLeuProLeuLeuLysLysMetGlyIleAsnSerIleLeuLeuA
316 GAAAAAGCATTGGTGCCTTGAAGTGGCCTGTGGCATCGTCATGA
rgLysSerIleGlyAlaLeuGluValAlaCysGlyIleValMetT
361 CCCTTGTGCCTGGGCGTCCCAAAGATGTGGCCAACCTCTTCTTAC
hrLeuValProGlyArgProLysAspValAlaAsnPhePheLeuL
406 TGTGCTGGTGTGGCTGTGCTCTTCTTCCACCAGCTGGTCCGGTG
euLeuLeuValLeuAlaValLeuPhePheHisGlnLeuValGlyA
451 ATCCTCTCAAACGCTACGCCCATGCTCTGGTGTGTTGGAATCCTGC
spProLeuLysArgTyrAlaHisAlaLeuValPheGlyIleLeuL
496 TCACTTGCCGCTGTGATTGCTCGCAAGCCCGAAGACCGGTCTT
euThrCysArgLeuLeuIleAlaArgLysProGluAspArgSerS
541 CTGAGAAGAAGCCTTTGCCAGGGAATGCTGAGGAGCAACCCTCCT
erGluLysLysProLeuProGlyAsnAlaGluGluGlnProSerL
586 TATATGAGAAGGCCCTCAGGGCAAAGTGAAGGTGCATAGAAAA
euTyrGluLysAlaProGlnGlyLysValLysValSer

Fig. 9

【図10】

1 TGGCCCTCTGTCTGGCACTCCCTAGTGAGATGAACCCGGTACCT
 46 CAGATGGAAATGCAGAAATCACCCGTCCTTCTGCGTCGCTCAGCT
 91 GGGAGCTGTAGACCAGAGCTGTTCCATTTCGGCCATCTTGGCTCC
 136 TCCCTCGAAAGATTATCACTTTGAATATACGGAATGTGATAGCAG
 181 TGGCTCCAGGTGGAGAGTTGCCATTCCAAATTCGCAGTGGACTG
 226 CTCTGGCCTGCCTGACCCAGTGAGAGGCAAAGAATGCACCTTCTC

 271 CTGTGCTTCTGGAGAGTATCTAGAAATGAAGAACCAGGTATGCAG
 MetLysAsnGlnValCysSe

 316 TAAGTGTGGTGAAGGCACCTATTCCFTGGGCAGTGGCATCAAATT
 rLysCysGlyGluGlyThrTyrSerLeuGlySerGlyIleLysPh

 361 TGATGAATGGGATGAATTGCCGGCAGGATTTTCTAACATCGCAAC
 eAspGluTrpAspGluLeuProAlaGlyPheSerAsnIleAlaTh

 406 ATTCATGGACACTGTGGTGGGCCCTTCTGACAGCAGGCCAGACGG
 rPheMetAspThrValValGlyProSerAspSerArgProAspGl

 451 CTGTAACAACCTCTTCTTGGATCCCTCGTGGAACTACATAGAATC
 yCysAsnAsnSerSerTrpIleProArgGlyAsnTyrIleGluSe

 496 TAATCGTGATGACTGCACGGTGTCTTTGATCTATGCTGTGCACCT
 rAsnArgAspAspCysThrValSerLeuIleTyrAlaValHisLe

 541 TAAGAAGTCAGGCTATGTCTTCTTTGAGTACCAGTATGTCGACAA
 uLysLysSerGlyTyrValPhePheGluTyrGlnTyrValAspAs

 586 CAACATCTTCTTTGAGTTCCTTTATTCAAATGATCAGTGCCAGGA
 nAsnIlePhePheGluPhePheIleGlnAsnAspGlnCysGlnGl

 631 GATGGACACCACCACTGACAAGTGGGTAAAACCTACAGACAATGG
 uMetAspThrThrThrAspLysTrpValLysLeuThrAspAsnGl

 676 AGAATGGGGCTCTCATTCTGTAATGCTGAAATCAGGCACAAACAT
 yGluTrpGlySerHisSerValMetLeuLysSerGlyThrAsnIl

 721 ACTCTACTGGAGAACTACAGGCATCCTTATGGGTTCTAAGGCGGT
 eLeuTyrTrpArgThrThrGlyIleLeuMetGlySerLysAlaVa

 766 CAAGCCTGTGCTGGTAAAAAATATCACAATTGAAGGGGTGGCGTA
 lLysProValLeuValLysAsnIleThrIleGluGlyValAlaTy

 811 CACATCAGAATGTTTTCCCTTGCAAGCCAGGCACATTCAGCAACAA
 rThrSerGluCysPheProCysLysProGlyThrPheSerAsnLy

 856 ACCAGGTTCAATCAACTGCCAGGTGTGTCCAGAAACACCTATTTC
 sProGlySerPheAsnCysGlnValCysProArgAsnThrTyrSe

 901 TGAGAAAGGAGCCAAAGAATGTATAAGGTGTAAAGACGACTCTCA
 rGluLysGlyAlaLysGluCysIleArgCysLysAspAspSerGl

 946 ATTTTCAGAGGAAGGATCCAGTGAGTGTACAGAGCGCCCTCCCTG
 nPheSerGluGluGlySerSerGluCysThrGluArgProProCy

Fig. 10

【図10-1】

991 TACCACAAAAGACTATTTCCAGATCCATACTCCATGTGATGAAGA
 sThrThrLysAspTyrPheGlnIleHisThrProCysAspGluGl
 1036 AGGAAAGACACAGATAATGTACAAGTGGATAGAGCCCAAATCTG
 uGlyLysThrGlnIleMetTyrLysTrpIleGluProLysIleCy
 1081 CCGGGAGGATCTCACAGATGCTATTAGATTGCCCCCTTCTGGAGA
 sArgGluAspLeuThrAspAlaIleArgLeuProProSerGlyGl
 1126 GAAGAAGGATTGTCCGCCTTGCAACCCTGGATTTTATAACAATGG
 uLysLysAspCysProProCysAsnProGlyPheTyrAsnAsnGl
 1171 ATCATCTTCTTGCCATCCCTGTCTCCTGGAACATTTTCAGATGG
 ySerSerSerCysHisProCysProProGlyThrPheSerAspGl
 1216 AACCAAAGAATGTAGACCATGTCCAGCAGGAACGGAGCCTGCACT
 yThrLysGluCysArgProCysProAlaGlyThrGluProAlaLe
 1261 TGGCTTTGAATATAAATGGTGGAAATGTCCTTCCTGGCAACATGAA
 uGlyPheGluTyrLysTrpTrpAsnValLeuProGlyAsnMetLy
 1306 AACTTCCTGCTTCAATGTTGGGAATTCAAAGTCCGATGGAATGAA
 sThrSerCysPheAsnValGlyAsnSerLysCysAspGlyMetAs
 1351 TGTTGGGAGGTGGCTGGAGATCATATCCAGAGTGGGGCTGGAGG
 nGlyTrpGluValAlaGlyAspHisIleGlnSerGlyAlaGlyGl
 1396 TTCTGACAATGATTACCTGATCTTAAACTTGCATATCCCAGGATT
 ySerAspAsnAspTyrLeuIleLeuAsnLeuHisIleProGlyPh
 1441 TAAACCACCAACATCTATGACTGGAGCCACGGTTCTGAACTAGG
 eLysProProThrSerMetThrGlyAlaThrGlySerGluLeuGl
 1486 AAGAATAACATTTGTCTTTGAGACCCTCTGTTTCAGCTGACTGTGT
 yArgIleThrPheValPheGluThrLeuCysSerAlaAspCysVa
 1531 TTTGTACTTCATGGTGGATATTAATAGAAAAAGTACAAATGTGGT
 lLeuTyrPheMetValAspIleAsnArgLysSerThrAsnValVa
 1576 AGAATCGTGGGGTGAACCAAGAAAAACAAGCTTACACCCATAT
 lGluSerTrpGlyGlyThrLysGluLysGlnAlaTyrThrHisIl
 1621 CATCTTCAAGAATGCAACTTTTACATTTACATGGGGCATTCCCAG
 eIlePheLysAsnAlaThrPheThrPheThrTrpGlyIleProAr
 1666 AGAACTAATTCAGGGTCCAAGATAATAGACGGTTCNCCATTGAC
 gGluLeuIleGlnGlyProArg
 1711 ATGTTTGAAGGATTTATTCCTATTCAC

Fig. 10 Continued

【 図 11 - 1 】

901 TCCGACTGCTATGCCGAGCAGGTGGTGGCTCGTGTGGCCCGTGTG
 SerAspCysTyrAlaGluGlnValValAlaArgValAlaArgVal
 946 TGCAAGGGCGATATGGGGGGCGCACGGACCCTGCAGAGGAAGTGG
 CysLysGlyAspMetGlyGlyAlaArgThrLeuGlnArgLysTrp
 991 ACCACGTTCTGAAGGCGGGCTGGCATGCTCTGCCCCGAAGTGG
 ThrThrPheLeuLysAlaArgLeuAlaCysSerAlaProAsnTrp
 1036 CAGCTCTACTTCAACCAGCTGCAGGCGATGCACACCCTGCAGGAC
 GlnLeuTyrPheAsnGlnLeuGlnAlaMetHisThrLeuGlnAsp
 1081 ACCTCCTGGCACAACACCACCTTCTTTGGGGTTTTTCAAGCACAG
 ThrSerTrpHisAsnThrThrPhePheGlyValPheGlnAlaGln
 1126 TGGGGTGACATGTACCTGTCCGCCATCTGTGAGTACCAGTTGGAA
 TrpGlyAspMetTyrLeuSerAlaIleCysGluTyrGlnLeuGlu
 1171 GAGATCCAGCGGGTGTGTTGAGGGCCCCCTATAAGGAGTACCATGAG
 GluIleGlnArgValPheGluGlyProTyrLysGluTyrHisGlu
 1216 GAAGCCCAGAAGTGGGACCGCTACACTGACCCTGTACCCAGCCCT
 GluAlaGlnLysTrpAspArgTyrThrAspProValProSerPro
 1261 CGGCCTGGCTCGTGCATTAACAACCTGGCATCGGCGCCACGGCTAC
 ArgProGlySerCysIleAsnAsnTrpHisArgArgHisGlyTyr
 1306 ACCAGCTCCCTGGAGCTACCCGACAACATCCTCAACTTCGTCAAG
 ThrSerSerLeuGluLeuProAspAsnIleLeuAsnPheValLys
 1351 AAGCACCCGCTGATGGAGGAGCAGGTGGGGCCTCGGTGGAGCCGC
 LysHisProLeuMetGluGluGlnValGlyProArgTrpSerArg
 1396 CCCCTGCTCGTGAAGAAGGGCACCAACTTCACCCACCTGGTGGCC
 ProLeuLeuValLysLysGlyThrAsnPheThrHisLeuValAla
 1441 GACCGGTTACAGGACTTGATGGAGCCACCTATACAGTGTCTGTTT
 AspArgValThrGlyLeuAspGlyAlaThrTyrThrValLeuPhe
 1486 ATTGGCACAGGAGACGGCTGGCTGCTCAAGGCTGTGAGCCTGGGG
 IleGlyThrGlyAspGlyTrpLeuLeuLysAlaValSerLeuGly
 1531 CCCTGGGTTACCTGATTGAGGAGCTGCAGCTGTTTGACCAGGAG
 ProTrpValHisLeuIleGluGluLeuGlnLeuPheAspGlnGlu
 1576 CCCATGAGAAGCCTGGTGCTATCTCAGAGCAAAAAGCTGCTCTTT
 ProMetArgSerLeuValLeuSerGlnSerLysLysLeuLeuPhe
 1621 GCCGGCTCCCCTCTCAGCTGGTGCAGCTGCCCGTGGCCGACTGC
 AlaGlySerArgSerGlnLeuValGlnLeuProValAlaAspCys
 1666 ATTAAGTATCGCTCCTGTGCAGACTGTGTCTCGCCCGGGACCCC
 IleLysTyrArgSerCysAlaAspCysValLeuAlaArgAspPro

Fig. 11 Continued

【 図 11 - 2 】

1711 TATTGCGCCTGGAGCGTCAACACCAGCCGCTGTGTGGCCGTGGGT
TyrCysAlaTrpSerValAsnThrSerArgCysValAlaValGly

1756 GGCCACTCTGGATCTCTACTGATCCAGCATGTGATGACCTCGGAC
GlyHisSerGlySerLeuLeuIleGlnHisValMetThrSerAsp

1801 ACTTCAGGCATCTGCAACCTCCGTGGCAGTAAGAAAGTCAGGCC
ThrSerGlyIleCysAsnLeuArgGlySerLysLysValArgPro

1846 ACTCCCAAAAACATCACGGTGGTGGCGGGCACAGACCTGGTGCTG
ThrProLysAsnIleThrValValAlaGlyThrAspLeuValLeu

1891 CCCTGCCACCTCTCCTCCACTTGGCCCCGGGGTTCAGTGGTATTT
ProCysHisLeuSerSerThrTrpProArgGlySerValValPhe

1936 TATACTTGCCTTCTTCTGTACAGGGCTGGGAAAGGCTGTGTGAG
TyrThrCysLeuLeuProValGlnGlyTrpGluArgLeuCysGlu

1981 GGGAAAAAAGGAAAGGGTGGGCTGCTGTGGACAATGCCATACT
GlyLysLysArgLysGlyTrpAlaCysCysGlyGlnTrpHisThr

2026 CTCTTCCAGCCCTAGGAGGAGGGCTCCTAACAGTGTAACCTTATTG
LeuPheGlnPro

2071 TGTCCCCGCGTATTTATTTGTTGTAATAATTTGAGTATTTTATA
2116 TTGACAAATAAATGGAGAAAATGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

Fig. 11 Continued

【 図 12 】

1 CGCTCCATGTATNAGTTTCATGCAGGCTCTTGGGAAAGCTGGTGC
 MetTyr---PheHisAlaGlySerTrpGluSerTrpCys
 46 TGCTGCTGCCTGATTCCC GCCGACAGACCTTGGGACCGGGCCAA
 CysCysCysLeuIleProAlaAspArgProTrpAspArgGlyGln
 91 CACTGGCAGCTGGAGATGGCGGACACGAGATCCGTGCACGAGACT
 HisTrpGlnLeuGluMetAlaAspThrArgSerValHisGluThr
 136 AGGTTTGAGGCGGCCGTGAAGGTGATCCAGAGTTTGCCGAAGAAT
 ArgPheGluAlaAlaValLysValIleGlnSerLeuProLysAsn
 181 GATTCATTCCAGCCAACAATGAAATGATGCTTAAATTTTATAGC
 AspSerPheGlnProThrAsnGluMetMetLeuLysPheTyrSer
 226 TTCTATAAGCAGGCAACTGAAGGACCCTGTAAACTTTCAAGGCCCT
 PheTyrLysGlnAlaThrGluGlyProCysLysLeuSerArgPro
 271 GGATTTTGGGATCCTATTGGAAGATATAAATGGGATGCTTGGAGT
 GlyPheTrpAspProIleGlyArgTyrLysTrpAspAlaTrpSer
 316 TCACTGGGTGATATGACCAAAGAGGAAGCCATGATTGCATATGTT
 SerLeuGlyAspMetThrLysGluGluAlaMetIleAlaTyrVal
 361 GAAGAAATGAAAAGATTATTGAAACTATGCCAATGACTGAGAAA
 GluGluMetLysLysIleIleGluThrMetProMetThrGluLys
 406 GTTGAAGAATTGCTGCGTGTTCATAGGTCCATTTTATGAAATTGTC
 ValGluGluLeuLeuArgValIleGlyProPheTyrGluIleVal
 451 GAGGACAAAAAGAGTGGCAGGAGTCTGATATAACCTCAGTCCGA
 GluAspLysLysSerGlyArgSerSerAspIleThrSerValArg
 496 CTGGAGAAAATCTCTAAATGTTTAGAAGATCTTGGTAATGTTCTC
 LeuGluLysIleSerLysCysLeuGluAspLeuGlyAsnValLeu
 541 ACTTCTACTCCAAACGCCAAAACCGTTAATGGTAAAGCTGAAAGC
 ThrSerThrProAsnAlaLysThrValAsnGlyLysAlaGluSer
 586 AGTGACAGTGGAGCCGAGTCTGAGGAAGAAGAGGCCCAAGAAGAA
 SerAspSerGlyAlaGluSerGluGluGluGluAlaGlnGluGlu
 631 GTGAAAGGAGCAGAACAAGTGATAATGATAAGAAAATGATGAAG
 ValLysGlyAlaGluGlnSerAspAsnAspLysLysMetMetLys
 676 AAGTCAGCAGACCATAAGAATTTGGAAGTCATTGTCACTAATGGC
 LysSerAlaAspHisLysAsnLeuGluValIleValThrAsnGly
 721 TATGATAAAGATGGCTTTGTTTCAGGATATACAGAATGACATTCAT
 TyrAspLysAspGlyPheValGlnAspIleGlnAsnAspIleHis
 766 GCCAGTTCTTCCCTGAATGGCAGAAGCACTGAAGAAGTAAAGCCC
 AlaSerSerSerLeuAsnGlyArgSerThrGluGluValLysPro

Fig. 12

【 図 12 - 1 】

811 ATTGATGAAAAC TTGGGGCAA ACTGGAAAATCTGCTGTTTGCATT
 IleAspGluAsnLeuGlyGlnThrGlyLysSerAlaValCysIle
 856 CACCAAGATATAAATGATGATCATGTTGAAGATGTTACAGGAATT
 HisGlnAspIleAsnAspAspHisValGluAspValThrGlyIle
 901 CAGCATTGACAAGCGATT CAGACAGTGAAGTTTACTGTGATTCT
 GlnHisLeuThrSerAspSerAspSerGluValTyrCysAspSer
 946 ATGGAACAATTTGGACAAGAAGAGTCTTTAGACAGCTTTACGTCC
 MetGluGlnPheGlyGlnGluGluSerLeuAspSerPheThrSer
 991 AACAAATGGACCATTT CAGTATTACTTGGGTGGTCATTCCAGTCAA
 AsnAsnGlyProPheGlnTyrTyrLeuGlyGlyHisSerSerGln
 1036 CCCATGGAAAATTCTGGATTTCGTGAAGATATTC AAGTACCTCCT
 ProMetGluAsnSerGlyPheArgGluAspIleGlnValProPro
 1081 GGAAATGGCAACATTGGGAATATGCAGGTGGTTGCAGTTGAAGGA
 GlyAsnGlyAsnIleGlyAsnMetGlnValValAlaValGluGly
 1126 AAAGGTGAAGTCAAGCATGGAGGAGAAGATGGCAGGAATAACAGC
 LysGlyGluValLysHisGlyGlyGluAspGlyArgAsnAsnSer
 1171 GGAGCACCACACCGGGAGAAGCGAGGCGGAGAACTGACGAATTC
 GlyAlaProHisArgGluLysArgGlyGlyGluThrAspGluPhe
 1216 TCTAATGTTAGAAGAGGAAGAGGACATAGGATGCAACACTTGAGC
 SerAsnValArgArgGlyArgGlyHisArgMetGlnHisLeuSer
 1261 GAAGGAACCAAGGGCCGGCAGGTGGGAAGTGGAGGTGATGGGGAG
 GluGlyThrLysGlyArgGlnValGlySerGlyGlyAspGlyGlu
 1306 CGCTGGGGCTCCGACAGAGGGTCCCGAGGCAGCCTCAATGAGCAG
 ArgTrpGlySerAspArgGlySerArgGlySerLeuAsnGluGln
 1351 ATCGCCCTCGTGCTGATGAGACTGCAGGAGGACATGCAGAATGTC
 IleAlaLeuValLeuMetArgLeuGlnGluAspMetGlnAsnVal
 1396 CTT CAGAGACTGCAGAACTGGAAACGCTGACTGCTTTGCAGGCA
 LeuGlnArgLeuGlnLysLeuGluThrLeuThrAlaLeuGlnAla
 1441 AAATCATCAACATCAACATTGCAGACTGCTCCTCAGCCCACCTCA
 LysSerSerThrSerThrLeuGlnThrAlaProGlnProThrSer
 1486 CAGAGACCATCTTGGTGGCCCTTCGAGATGTCTCCTGGTGTGCTA
 GlnArgProSerTrpTrpProPheGluMetSerProGlyValLeu
 1531 ACGTTTGCCATCATATGGCCTTTTATTGCACAGTGGTTGGTGTAT
 ThrPheAlaIleIleTrpProPheIleAlaGlnTrpLeuValTyr

Fig. 12 Continued

【図 12 - 2】

```
1576 TTATACTATCAAAGAAGGAGAAGAAAAC TGAAGT GAGGAAAATGG
    LeuTyrTyrGlnArgArgArgArgLysLeuAsn

1621 TGTTTTCCCTCAAGAAGACTACTGGAAGTGGATGACCTCAGAATGA
1666 ACTGGATTGTGGTGTTT CACAAGAAAATCTTAGTTTGTGATGATTA
1711 CATGCTTTTTGTTGTCCAGTAGTTTAGTTTGTGTACATATATAC
1756 ACATATATATTTTTGCACTACACAAAACGATAACATTTTAAGGACTA
1801 ATATTGCTGATACTTGAATAATCAATCTCTACTAGGTTATAAGTA
1846 GTATACACAGATTTACCCTGCCCTTGAAGTGAAGGACATTAAT
1891 TATTAATGATCATTGGTAACATGTTTACCTGATTATCTTCATA
1936 GAGTAACATAAGCTGCTTTTCAAAGGTACCATTGTGATAATGAGA
1981 TCAAATTTATAAGTTATTATTTTTAATTTTCTAAATTAATAAAA
2026 GAAAGAATGCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
```

Fig. 12 Continued

【図 13】

```

20936375-0-104:  1  .MYXFHAGSWESWCCCLIPADRPWDRGQHWQLEMADTRSVHETRFEAA 48
                  |||
20936375.0.1:   1  MLFLSFHAGSWESWCCCLIPADRPWDRGQHWQLEMADTRSVHETRFEAA 50

49  VKVIQSLPKNDSFQPTNEMMLKFYSFYKQATEGPCKLSRPGFWDPIGRYK 98
    |||
51  VKVIQSLPKNGSFQPTNEMMLKFYSFYKQATEGPCKLSRPGFWDPIGRYK 100

99  WDAWSSLGDMTKEEAMIAIYVEEMKKIETMPMTEKVEELLRVIGPFYEV 148
    |||
101 WDAWSSLGDMTKEEAMIAIYVEEMKKIETMPMTEKVEELLRVIGPFYEV 150

149 EDKKSGRSSDITSVRLEKISKCLEDLGNVLTSTPNAKTVNGKAESSDSGA 198
    |||
151 EDKKSGRSSDITSVRLEKISKCLEDLGNVLTSTPNAKTVNGKAESSDSGA 200

199 ESEEEEEAEVKGAEQSDNDKMMKKSADHKNLEVIIVTNGYDKDGFVQDI 248
    |||
201 ESEEEEEAEVKGAEQSDNDKMMKKSADHKNLEVIIVTNGYDKDGFVQDI 250

249 QNDIHASSSLNGRSTEEVKPIDENLGQTGKSAVCIHQDINDDEHVEDVTGI 298
    |||
251 QNDIHASSSLNGRSTEEVKPIDENLGQTGKSAVCIHQDINDDEHVEDVTGI 300

299 QHLTSDSDSEVYCDSEMEQFGQEEESLDSFTSNNGPFQYYLGGHSSQPMENS 348
    |||
301 QHLTSDSDSEVYCDSEMEQFGQEEESLDSFTSNNGPFQYYLGGHSSQPMENS 350

349 GFREDIQVPPGNGNIGNMQVVAVEGKGEVKHGGEDGRNNSGAPHREKRGG 398
    |||
351 GFREDIQVPPGNGNIGNMQVVAVEGKGEVKHGGEDGRNNSGAPHREKRGG 400

399 ETDEFSNVRGRGRHMQHLSEGTKGRQVGSGGDGERWGS DRGSRGSLNEQ 448
    |||
401 ETDEFSNVRGRGRHMQHLSEGTKGRQVGSGGDGERWGS DRGSRGSLNEQ 450

449 IALVLMRLQEDMQNVLQRLQKLETLTALQAKSSTSTLQTAPQPTSQRPSW 498
    |||
451 IALVLMRLQEDMQNVLQRLQKLEMLTALQAKSSTSTLQTAPQPTSQRPSW 500

499 WPFEMSPGVLTFAIWPFIAQWL VYLYYQRRRRKLN 534
    |||
501 WPFEMSPGVLTFAIWPFIAQWL VYLYYQRRRRKLN 536

```

Fig 13

分析した配列 :

1. 1795045-0-77
2. 1795045-0-61

1795045077
1795045061

```

MKNQVCSKCGEGTVSLGSGTEKEDWDELPAQFSNLAFTMDTVGFSDSRPPDCCNASSWLEP
.....MSSWLEP

```

1795045077
1795045061

```

RGNYLESNRDDCTVSLIYAVHLKKSQVVFPEYQVADNNLEPEEFLONDQCOEMDHTJDKW
RGNYLESNRDDCTVSLIYAVHLKKSQVVFPEYQVADNNLEPEEFLONDQCOEMDHTJDKW

```

1795045077
1795045061

```

VKETDNCEWGSHSVLEKSGTNNLQWRFITGJLIMGSKAVKPVLVKNIITIEGVAVTSECRPCK
VKETDNCEWGSHSVLEKSGTNNLQWRFITGJLIMGSKAVKPVLVKNIITIEGVAVTSECRPCK

```

1795045077
1795045061

```

PGTFSENKPGSEFNCQVCPRNIVYSEKGAKECIRCKDDSOFSSEGSSECTERPPCTTKDYFQI
PGTFSENKPGSEFNCQVCPRNIVYSEKGAKECIRCKDDSOFSSEGSSECTERPPCTTKDYFQI

```

1795045077
1795045061

```

HTPEDEBCKTQIPIYKWIPEPKICREDDJDDAERLPPSCEKDKDCPPCNPFGFYNNGSSSCHPCP
HTPEDEBCKTQIPIYKWIPEPKICREDDJDDAERLPPSCEKDKDCPPCNPFGFYNNGSSSCHPCP

```

1795045077_cura_56
1795045061_cura_54

```

PGTFSDGTKECRPCPAGTEPPALGFEYKVMNVAIPGNMKTSCFNVGNKSKCDEMNNGWEVAGDH
PGTFSDGTKECRPCPAGTEPPALGFEYKVMNVAIPGNMKTSCFNVGNKSKCDEMNNGWEVAGDH

```

1795045077_cura_56
1795045061_cura_54

```

TQSGAGCCSDNDYIILNHLHTEGKPPISHTGATGSELEGRITFVVFETLCSADGCVLRFVWDFN
TQSGAGCCSDNDYIILNHLHTEGKPPISHTGATGSELEGRITFVVFETLCSADGCVLRFVWDFN

```

1795045077_cura_56
1795045061_cura_54

```

RKSTNVAESWGGTKEKQAYTHLEKNAVTFETWGLPRELITQGR
RKSTNVAESWGGTKEKQAYTHLEKNAVTFETWGLPRELITQGR

```


【 15 】 の 続 ②

```

204229740132exi2_cura_56
204229740132_cura_54
204229742_cura_54
q64151_semaphore_4c_prec_mus
q92854_semaphore
-----
204229740132exi2_cura_56
204229740132_cura_54
204229742_cura_54
q64151_semaphore_4c_prec_mus
q92854_semaphore
-----
204229740132exi2_cura_56
204229740132_cura_54
204229742_cura_54
q64151_semaphore_4c_prec_mus
q92854_semaphore
-----
LPKEPASPPFRPGPETDEKLDWVGVYSDGSLKIVPGHARCOPGGPPSPPPGIPGQPL
PKIVINTVPQLHSEKTYLKSNDNRLMLSLFFFFVLFCLFFYNCKYKGYLPRQCLKFRS
-----
PSPFRLHLGGGRNSNANGYVRLQGGEDRGGSGHPLPELADLRKLIQORQPLPDSNPEE
ALLIGKKKPKSDFCDREOSLKETLVEFGSFSQNGEHPKPALDRGYETEQDTTTSKVFTD
-----
REDSQRIDDLISARDKPFVVKCEKFAFADSDADGD

```

【図16】

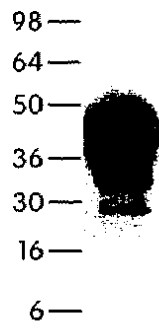


Fig. 16

【図17】

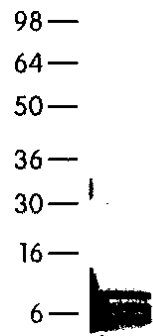


Fig. 17

【図18】

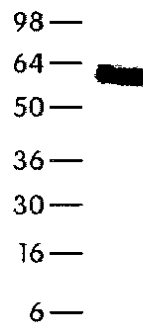


Fig. 18

【図19】

供給源の組織	相対的発現 (%)				
	3445452	17089878	1795045.0.61	20422974	20936375.0.1 04
内皮細胞	0.00	0.00	1.88	1.11	8.72
内皮細胞 (処理済)	0.00	0.01	4.58	1.99	9.74
膵臓	2.05	0.32	2.68	5.63	16.49
膵臓癌 CAPAN 2	0.01	0.00	0.07	1.91	40.05
脂肪	0.24	1.48	6.70	10.01	51.05
脂肪腺	0.92	0.43	1.36	9.54	75.26
甲状腺	21.17	0.00	1.96	6.25	30.78
唾液腺	7.59	0.13	1.56	5.67	24.66
下垂体	0.05	0.07	1.11	10.73	10.81
脳(胎児)	0.17	15.18	3.59	12.41	25.00
脳(全体)	1.96	34.15	52.85	28.32	38.16
脳(扁桃)	1.03	19.89	7.13	7.97	46.33
脳(小脳)	4.64	29.73	76.84	29.32	55.86
脳(海馬)	2.98	28.32	27.17	33.45	57.04
脳(視床下部)	10.51	1.18	12.67	4.12	38.69
脳(黒質)	6.25	7.18	23.49	16.61	67.36
脳(視床)	4.80	6.00	22.53	13.68	69.26
脊髄	1.76	4.24	7.64	29.12	50.70
CNS 癌(少)星状) U87-MG	0.03	0.00	1.99	2.16	29.73
CNS 癌(少)星状) U-118-MG	0.00	3.54	1.25	2.34	12.33
CNS 癌(星状) SW1783	0.00	0.17	0.00	0.74	13.03
CNS 癌*(神経)meil SK-N-AS	0.00	0.43	4.30	10.01	93.95
CNS 癌(星状) SF-539	0.07	0.14	0.00	9.81	14.16
CNS 癌(星状) SNB-75	0.00	0.06	0.23	11.58	8.84
CNS 癌(少) SNB-19	0.01	0.58	0.11	5.15	33.45
CNS 癌(少) U251	0.01	0.00	0.01	1.58	8.42
CNS 癌(少) SF-295	0.00	0.00	0.01	3.77	10.44
心臓	33.92	0.01	1.82	7.64	100.00
骨格筋	100.00	0.00	1.00	3.06	79.00
骨髄	1.05	3.72	0.43	1.69	18.17
脾臓	0.30	0.21	4.42	6.12	28.52
脾臓	0.14	0.13	2.59	17.43	24.49
リンパ節	0.28	0.28	1.92	10.51	11.74

【図20A】

secx	クローン番号	組織発現	長さ (nt)	ORF (nt)	アミノ酸長	コードされたシグナル残基の計算上の位置	タンパク質類似性 (BLAST P NonRedundant Compositeデータベース)	タンパク質類似性 (ヒト配列)	シグナルペプチド切断部位 (nt)	細胞内局在
1	3445452	前立腺	932	113-796	227	25734.1	ACC: P31044 アミノ酸シリンチン-10アミノ酸タンパク質 (PEBP); 23kDa ヒトヒネ結合タンパク質 (P23K) Rattus norvegicus. 187アミノ酸残基と 52/128 (40%) 同一; 72/128 (56%) ポテタイプ。	ACC: P31044 アミノ酸シリンチン-10アミノ酸タンパク質 (PEBP) Homo sapiens. 186アミノ酸残基と 44/120 (36%) 同一; 66/120 (55%) ポテタイプ。	yyyy. 最も可能性の高い切断部位 22位と23位の間の: VTG-E	外核膜結合性=0.7380 切断可能なN末端シグナル残基を有する構造
2	4011999	未知	734	66-735	223	24499	ptrn: SPTREMBL-AC C: Q13670 PMS2-1 遺伝子タンパク質 HPMRCHom Sapiens. 270アミノ酸残基と 76 (72%) 同一; 61/76 (80%) ポテタイプ。	ptrn: SPTREMBL-ACC: Q75631 Uroplakin III Homo sapiens. 287アミノ酸残基と 48/27 (87%) 同一; 69/127 (54%) ポテタイプ。	yyyy. 最も可能性の高い切断部位 27位と28位の間の: S-S-D	原形質膜結合性=0.80 56. 切断可能なN末端シグナル残基を有する構造
3	1789878 .0.5	胎児脳	2762	264-2630	788	88337	ACC: P79995 カドヘリン-10前駆体 ilus ea illus. 789アミノ酸残基と 729/788 (92%) 同一; 759/788 (96%) ポテタイプ。 ラットカドヘリン-10. 6537アミノ酸残基と 636/650 (97%) 同一; 646/650 (99%) ポテタイプ。	ACC: P55285 カドヘリン-6前駆体 (Homo sapiens. 7907アミノ酸残基と 577/790 (73%) 同一; 676/790 (85%) ポテタイプ。	yyyy. 最も可能性の高い切断部位 22位と23位の間の: CSEK-EI	原形質膜結合性=0.46 00. 切断可能なN末端シグナル残基を有する構造
4	1789878 .0.6	胎児脳	1820	285-1704	473	529226	ACC: P7995 789aa カドヘリン-10前駆体と 445/473 (94%) 同一; 465/473 (98%) ポテタイプ。	ACC: P55285 カドヘリン-6前駆体 (Homo sapiens. 790aa). 346/473 (72%) 同一; 415/476 (87%) ポテタイプ。		原形質膜結合性=0.70 00. 切断可能なN末端シグナル残基を有する構造

図20A

【図20B】

【図20】の続き①

secx	クローン番号	組織発現	長さ (nt)	ORF (nt)	アミノ酸	コードされたタンパク質の計算上の分子量	タンパク質類似性 (BLAST P NonRedundant Compositeデータベース)	タンパク質類似性 (ヒト配列)	シグナルペプチド切断部位 (nt)	細胞内局在
5	1795045. 0.61	脳 視床 下垂体	1508	226- 1461	411	46054.5	ACC: Q01276リンゴスレセター-2 Homo sapiens. 510アミノ酸と、51/198 (25%) 同一; 71/198 (35%) ポジティブ。 ACC: Q82854セマフォリン Homo sapiens. 862アミノ酸と、247/506 (48%) 同一; 330/506 (65%) ポジティブ。	ACC: Q01276リンゴスレセター-2 Homo sapiens. 510アミノ酸と、51/198 (25%) 同一; 71/198 (35%) ポジティブ。	yyyy. 最も可能性の高い切断部位 20位と21位の間に: G1 G-AE	細胞発現率=0.4500 切断可能なN末端シグナル残基を含む様
6	20422974. .0.132	リンパ 組織	2155	166- 1938	590	66532.5	ACC: Q64151セマフォリン1 (神経ネットワーク発現)における M-SEMAFA (因子) Mus musculus. 834アミノ酸と、497/585 (85%) 同一; 536/585 (92%) ポジティブ。 ACC: Q82854セマフォリン Homo sapiens. 862アミノ酸と、247/506 (48%) 同一; 330/506 (65%) ポジティブ。	ACC: Q82854セマフォリン Homo sapiens. 862アミノ酸と、247/506 (48%) 同一; 330/506 (65%) ポジティブ。	yyyy. 最も可能性の高い切断部位 20位と21位の間に: G1 G-AE	マイクロドメイン (ペリオキシナーン) 発現率=0.7480. 切断可能なN末端シグナル残基を含む様
7	20422974. _2	リンパ 組織	2284	166- 1956	596	66969.8	ACC: Q64151セマフォリン1 (神経ネットワーク発現)における M-SEMAFA (因子) Mus musculus. 834アミノ酸と、497/585 (85%) 同一; 540/585 (92%) ポジティブ。 ACC: P07106ウグズンDB1 (B.5%) 同一; 482/531 (90%) ポジティブ。	ACC: Q82854セマフォリン Homo sapiens. 862アミノ酸と、247/506 (48%) 同一; 330/506 (65%) ポジティブ。	yyyy. 最も可能性の高い切断部位 20位と21位の間に: G1 G-AE	マイクロドメイン (ペリオキシナーン) 発現率=0.7480. 切断可能なN末端シグナル残基を含む様
8	20936375. .0.1	腎臓	1930	148- 1758	536	60306.7	ACC: P07106ウグズンDB1 (B.5%) 同一; 482/531 (90%) ポジティブ。	ACC: O75521 DB1 (人間) ヒトタンパク質 Homo sapiens. 364アミノ酸と、37/91 (4.0%) 同一; 59/91 (6.3%) ポジティブ。	nmv. 最も可能性の高い切断部位 15位と16位の間に: SW C-CC	原形発現率=0.7000. 切断可能なN末端シグナル残基を含む様
9	20936785. .0.1	脳 胎児脳	930	123- 626	167	18440	ヒトタンパク質 HTMPN-46と、167/167 (100%) 同一。	ACC: P07106ウグズンDB1 (B.5%) 同一; 482/531 (90%) ポジティブ。	nmv. 最も可能性の高い切断部位 31位と32位の間に: TP R-L.S.	原形発現率=6400. 切断可能なN末端シグナル残基を含む様 III a型膜貫通タンパク質と類似

【図20B】

【図20C】

【図20の続き】2

secx	クローン番号	組織発現	長さ (nt)	ORF (nt)	アミノ酸数	コードされたタンパク質の計算上の分子量	タンパク質類似性 (BLASTP NonRedundant Composite データベース)	タンパク質類似性 (ヒト配列)	シグナルペプチド切断部位 (nt)	細胞内局在
1 0	179504 5.0.77	脳 視床	1737	296- 1690	464	51645.6	ACC: O00276リンパ球抗原シレクター-2 Homo sapiens. 5107ミノ/酸残基と、51/198 (25%) 同一; 71/198 (35%) ポテタイプ。	ACC: O00276リンパ球抗原シレクター-2 Homo sapiens. 5107ミノ/酸残基と、51/198 (25%) 同一; 71/198 (35%) ポテタイプ。		細胞発現率=0.45 00 切断可能な末端シグナル配列を有さない様様
1 1	2042297 4.0.132 _ext2	リンパ組織、 大動脈、乳房、 結膜、包皮、 生精巣、筋、 前立腺、脾臓、 胃、および肝臓	2156	166- 2040	624	70478.1	ACC: Q92854セマリン Homo sapiens. 8627ミノ/酸残基と、501/599 (83%) 同一; 542/599 (90%) ポテタイプ。	ACC: Q92854セマリン Homo sapiens. 8627ミノ/酸残基と、501/599 (83%) 同一; 542/599 (90%) ポテタイプ。	yyyy. 最も可能性の高い切断部位は20位と21位の間に G I G - A E	ミクロドメイン (VIL オキシナーン) 様様 性=0.7480. 切断可能な末端シグナル配列を有する様様
1 2	2093637 5.0.104	腎臓	1930	7- 1611	534	60037.3	ACC: P07106ヒンDBI 膜タンパク質と、453/531 (85%) 同一; 482/531 (90%) ポテタイプ。	ACC: O75521 DBI 膜タンパク質と、3647ミノ/酸残基と、37/91 (40%) 同一; 58/91 (63%) ポテタイプ。		原形発現率=0.7300. 切断可能な末端シグナル配列を有さない様様

【図20C】

【國際調查報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

		International Application No. PCT/US 00/17328
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
IPC 7	C12N15/12 C07K16/18	C07K14/47 C07K16/28
	C07K14/575 G01N33/53	C07K14/705 G01N33/68
	A61K38/17	
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	C07K	C12N
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, CHEM ABS Data, WPI Data, EMBL		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 5 888 742 A (CORLEY NEIL C ET AL) 30 March 1999 (1999-03-30) abstract; claims 1-10; figures SEQ.ID.3,4	1-21, 29-36
X	WO 99 06550 A (LACROIX BRUNO ;DUCLERT AYMERIC (FR); GENSET (FR); DUMAS MILNE EDWA) 11 February 1999 (1999-02-11) abstract; claims 1-37; figures SEQ.ID.460,488 page 608 -page 609	1-21, 29-36
Y	DATABASE EMBL [Online] Accession number AA089062, 20 October 1996 (1996-10-20) MARRA M. ET AL.: "Similar to TR:G1061426 G1061426 HPMSR6" XP002157693 abstract	1-21, 29-36

	-/--	
<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. "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
19 January 2001		16.02.01
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel: (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Gurdjian, D

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Internal Application No PCT/US 00/17328
--

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	NICOLAIDES NICHOLAS C ET AL: "Genomic organization of the human PMS2 gene family." GENOMICS, vol. 30, no. 2, 1995, pages 195-206, XP000978956 ISSN: 0888-7543 cited in the application the whole document ---	1-21, 29-36
Y	WO 99 02546 A (HUMAN GENOME SCIENCES INC ;LI YI (US); ROSEN CRAIG A (US); BREWER) 21 January 1999 (1999-01-21) page 382 -page 383; figure 11 ---	1-21, 29-36
X	KOOLS PATRICK ET AL: "The human cadherin-10 gene: Complete coding sequence, predominant expression in the brain, and mapping on chromosome 5p13-14." FEBS LETTERS, vol. 452, no. 3, 11 June 1999 (1999-06-11), pages 328-334, XP002157749 ISSN: 0014-5793 the whole document ---	1-21, 29-36
Y	FUSHIMI DAISUKE ET AL: "Cloning and expression analysis of cadherin-10 in the CNS of the chicken embryo." DEVELOPMENTAL DYNAMICS, vol. 209, no. 3, 1997, pages 269-285, XP000978893 ISSN: 1058-8388 abstract; figure 1 ---	1-21, 29-36
Y	US 5 646 250 A (SUZUKI SHINTARO) 8 July 1997 (1997-07-08) cited in the application column 53 -column 56; example 1 ---	1-21, 29-36
Y	DATABASE EMBL [Online] Accession number H18553, 2 July 1995 (1995-07-02) HILLIER L. ET AL.: " Soares infant brain INIB Homo sapiens cDNA clone" XP002157694 abstract ---	1-21, 29-36
Y	INAGAKI S ET AL: "Identification of a member of mouse semaphorin family." FEBS LETTERS, vol. 370, no. 3, 1995, pages 269-272, XP000978866 ISSN: 0014-5793 abstract; figure 1 ---	1-21, 29-36
	---	---

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No. PCT/US 00/17328
--

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	DATABASE EMBL [Online] Accession number AI638881, 29 April 1999 (1999-04-29) ROBERT STRAUSBERG: "similar to TR:Q64151 Q64151 SEMAPHORIN I " XP002157695 abstract ---	1-21, 29-36
Y	WO 97 17368 A (DANA FARBER CANCER INST INC ;HALL KATHRYN T (US); NADLER LEE M (US) 15 May 1997 (1997-05-15) page 86 -page 89; example 8 ---	1-21, 29-36
Y	DATABASE EMBL [Online] Accession number W01259, 25 April 1996 (1996-04-25) HILLIER L. ET AL. : "similar to contains A1u repetitive element; mRNA sequence." XP002157696 abstract ---	1-21, 29-36
Y	US 5 011 777 A (MARQUARDT HANS ET AL) 30 April 1991 (1991-04-30) abstract; figure 1 ---	1-21, 29-36
A	WO 98 45712 A (HUMAN GENOME SCIENCES INC ;FENG PING (US); NI JIAN (US); ROSEN CRA) 15 October 1998 (1998-10-15) page 2 -page 5; claims 1-23 ---	1-21, 29-36
A	WO 97 07198 A (GENETICS INST) 27 February 1997 (1997-02-27) page 1 -page 11 ---	1-21, 29-36
A	WO 99 05256 A (HARVARD COLLEGE) 4 February 1999 (1999-02-04) page 1 -page 7; claims 1-47 ---	1-21, 29-36
P,X	WO 99 61471 A (INCYTE PHARMA INC ;PATTERSON CHANDRA (US); CORLEY NEIL C (US); YUE) 2 December 1999 (1999-12-02) page 207; claim 9 ---	1-21, 29-36
P,X	WO 00 09552 A (GENETICS INST) 24 February 2000 (2000-02-24) page 555 -page 556; claim 94 ---	1-21, 29-36
P,X	WO 99 53051 A (DUCLERT AYMERIC ;GENSET (FR); DUMAS MILNE EDWARDS JEAN BAPTI (FR);) 21 October 1999 (1999-10-21) abstract; claims 1-21; figures SEQ.ID.7,8 -----	1-21, 29-36

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 00/17328**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. Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Although claims 23-28,37,38 and claim 22, as far as it concerns an in vivo method, are directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.
2. Claims Nos.:
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:
3. 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. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. 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. 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.:

Remark on Protest

 The additional search fees were accompanied by the applicant's protest. No protest accompanied the payment of additional search fees.

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

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

1. Claims: 1-38 partly

polypeptides with amino acid sequence with seq.id.2 and corresponding nucleotide sequence with seq.id.1 , corresponding vector, cell , antibody , method of determination of presence and predisposition to a disease , method of identifying a binding agent and pharmaceutical .

2. Claims: 1-38 partly

polypeptides with amino acid sequence with seq.id.4 and corresponding nucleotide sequence with seq.id.3 , corresponding vector, cell , antibody , method of determination of presence and predisposition to a disease , method of identifying a binding agent and pharmaceutical .

3. Claims: 1-38 partly

polypeptides with amino acid sequence with seq.id.6 and corresponding nucleotide sequence with seq.id.5 , corresponding vector, cell , antibody , method of determination of presence and predisposition to a disease , method of identifying a binding agent and pharmaceutical .

4. Claims: 1-38 partly

polypeptides with amino acid sequence with seq.id.8 and corresponding nucleotide sequence with seq.id.7 , corresponding vector, cell , antibody , method of determination of presence and predisposition to a disease , method of identifying a binding agent and pharmaceutical .

5. Claims: 1-38 partly

polypeptides with amino acid sequence with seq.id.10 and corresponding nucleotide sequence with seq.id.9 , corresponding vector, cell , antibody , method of determination of presence and predisposition to a disease , method of identifying a binding agent and pharmaceutical .

6. Claims: 1-38 partly

polypeptides with amino acid sequence with seq.id.12 and corresponding nucleotide sequence with seq.id.11 , corresponding vector, cell , antibody , method of determination of presence and predisposition to a disease , method of identifying a binding agent and pharmaceutical .

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

7. Claims: 1-38 partly

polypeptides with amino acid sequence with seq.id.14 and corresponding nucleotide sequence with seq.id.13 , corresponding vector, cell , antibody , method of determination of presence and predisposition to a disease , method of identifying a binding agent and pharmaceutical .

8. Claims: 1-38 partly

polypeptides with amino acid sequence with seq.id.16 and corresponding nucleotide sequence with seq.id.15 , corresponding vector, cell , antibody , method of determination of presence and predisposition to a disease , method of identifying a binding agent and pharmaceutical .

9. Claims: 1-38 partly

polypeptides with amino acid sequence with seq.id.18 and corresponding nucleotide sequence with seq.id.17 , corresponding vector, cell , antibody , method of determination of presence and predisposition to a disease , method of identifying a binding agent and pharmaceutical .

10. Claims: 1-38 partly

polypeptides with amino acid sequence with seq.id.20 and corresponding nucleotide sequence with seq.id.19 , corresponding vector, cell , antibody , method of determination of presence and predisposition to a disease , method of identifying a binding agent and pharmaceutical .

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/US 00/17328

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5888742 A	30-03-1999	US 6063767 A	16-05-2000
WO 9906550 A	11-02-1999	AU 8555198 A EP 1000148 A	22-02-1999 17-05-2000
WO 9902546 A	21-01-1999	AU 8474398 A EP 1000084 A AU 8066798 A EP 1042346 A WO 9856804 A	08-02-1999 17-05-2000 30-12-1998 11-10-2000 17-12-1998
US 5646250 A	08-07-1997	US 5597725 A CA 2111573 A EP 0604603 A JP 7500019 T WO 9321302 A US 5639634 A	28-01-1997 28-10-1993 06-07-1994 05-01-1995 28-10-1993 17-06-1997
WO 9717368 A	15-05-1997	AU 1021997 A	29-05-1997
US 5011777 A	30-04-1991	US 4714683 A US 4963485 A AU 589598 B AU 5359586 A EP 0210233 A ES 551233 D ES 8705897 A ES 557400 D ES 8802538 A JP 3169892 A JP 3155787 A JP 3169896 A JP 3163098 A JP 3172183 A JP 3193800 A JP 3178999 A JP 3154183 A JP 6004672 B JP 62501841 T MX 163576 B PT 81916 A,B WO 9313089 A WO 8604239 A US 4876367 A US 4806492 A US 4777270 A	22-12-1987 16-10-1990 19-10-1989 13-08-1986 04-02-1987 16-05-1987 01-08-1987 01-07-1988 16-10-1988 23-07-1991 03-07-1991 23-07-1991 15-07-1991 25-07-1991 23-08-1991 02-08-1991 16-07-1991 19-01-1994 23-07-1987 03-06-1992 01-02-1986 08-07-1993 31-07-1986 24-10-1989 21-02-1989 11-10-1988
WO 9845712 A	15-10-1998	AU 6952998 A EP 0974058 A	30-10-1998 26-01-2000
WO 9707198 A	27-02-1997	US 5707829 A AU 6712396 A AU 6768596 A CA 2227220 A CA 2229208 A EP 0839196 A EP 0851875 A JP 11510045 T	13-01-1998 18-02-1997 12-03-1997 06-02-1997 27-02-1997 06-05-1998 08-07-1998 07-09-1999

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No
PCT/US 00/17328

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9707198 A		US 6043344 A	28-03-2000
		WO 9704097 A	06-02-1997
		US 6074849 A	13-06-2000
		US 5969093 A	19-10-1999
WO 9905256 A	04-02-1999	US 6066460 A	23-05-2000
WO 9961471 A	02-12-1999	AU 4409099 A	13-12-1999
WO 0009552 A	24-02-2000	AU 5557099 A	06-03-2000
WO 9953051 A	21-10-1999	AU 3050199 A	01-11-1999
		EP 1068312 A	17-01-2001

フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テ-マ-コ-ト' (参考)	
A 6 1 P	15/00	A 6 1 P	37/02	4 H 0 4 5
	35/00	C 0 7 K	14/47	
	37/02		16/18	
C 0 7 K	14/47	C 1 2 N	1/15	
	16/18		1/19	
C 1 2 N	1/15		1/21	
	1/19	C 1 2 Q	1/68	A
	1/21	G 0 1 N	33/53	D
	5/10			M
C 1 2 Q	1/68		33/566	
G 0 1 N	33/53	C 1 2 N	15/00	Z N A A
			5/00	A
	33/566	A 6 1 K	37/02	

(31)優先権主張番号 60 / 154 , 520

(32)優先日 平成11年9月16日(1999 . 9 . 16)

(33)優先権主張国 米国 (U S)

(31)優先権主張番号 09 / 604 , 286

(32)優先日 平成12年6月22日(2000 . 6 . 22)

(33)優先権主張国 米国 (U S)

(81)指定国 E P (A T , B E , C H , C Y , D E , D K , E S , F I , F R , G B , G R , I E , I T , L U , M C , N L , P T , S E) , O A (B F , B J , C F , C G , C I , C M , G A , G N , G W , M L , M R , N E , S N , T D , T G) , A P (G H , G M , K E , L S , M W , M Z , S D , S L , S Z , T Z , U G , Z W) , E A (A M , A Z , B Y , K G , K Z , M D , R U , T J , T M) , A E , A G , A L , A M , A T , A U , A Z , B A , B B , B G , B R , B Y , B Z , C A , C H , C N , C R , C U , C Z , D E , D K , D M , D Z , E E , E S , F I , G B , G D , G E , G H , G M , H R , H U , I D , I L , I N , I S , J P , K E , K G , K P , K R , K Z , L C , L K , L R , L S , L T , L U , L V , M A , M D , M G , M K , M N , M W , M X , M Z , N O , N Z , P L , P T , R O , R U , S D , S E , S G , S I , S K , S L , T J , T M , T R , T T , T Z , U A , U G , U S , U Z , V N , Y U , Z A , Z W

(72)発明者 ヴァーネット, コリン

アメリカ合衆国 フロリダ 32060, ゲ
インズビル, エヌ.ダブリュー. 43ア
ールディー ストリート ピーナンパー
253 4830

(72)発明者 ヤン, メイジャ

アメリカ合衆国 コネチカット 06533,
イースト ライム, キャットバード
レーン 6

(72)発明者 ボルドッグ, フェレンク エル.
アメリカ合衆国 コネチカット 06473,
ノース ハイバン, ジャンセン レー
ン 22

(72)発明者 ハーマン, ジョン エル.
アメリカ合衆国 コネチカット 06437,
ガイルフォード, バーンシェド レー
ン 78

F ターム(参考) 4B024 AA01 AA11 BA80 CA04 DA02
DA05 DA06 DA11 DA12 EA02
EA04 GA11 HA12
4B063 QA19 QA20 QQ08 QQ43 QR08
QR42 QR56 QS25 QS34 QX02
4B065 AA01X AA57X AA72X AA90X
AB01 BA02 CA24 CA44 CA46
4C084 AA02 AA07 AA13 AA14 BA01
BA08 BA22 BA23 BA35 CA17
CA18 NA14 ZA812 ZB072
ZB262
4C085 AA13 AA14 AA16 BB11 BB31
CC04 CC05 CC21 CC22 CC23
EE01 EE06 FF02 FF11 FF13
GG01
4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 BA10
CA40 DA75 EA20 EA50 FA72
FA74

专利名称(译)	多核苷酸和由其编码的多肽		
公开(公告)号	JP2003521885A	公开(公告)日	2003-07-22
申请号	JP2001505560	申请日	2000-06-23
[标]申请(专利权)人(译)	CURAGEN CORP		
申请(专利权)人(译)	Kyurajen公司		
[标]发明人	シムケッツリチャードエイ フェルナンデスエルマ ヴァーネットコリン ヤンメイジャ ボルドッグフェレンクエル ハーマンジョンエル		
发明人	シムケッツ, リチャード エイ. フェルナンデス, エルマ ヴァーネット, コリン ヤン, メイジャ ボルドッグ, フェレンク エル. ハーマン, ジョン エル.		
IPC分类号	G01N33/53 A61K38/00 A61K39/395 A61K48/00 A61P15/00 A61P35/00 A61P37/02 C07K14/47 C07K14/515 C07K14/575 C07K14/705 C07K16/18 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C12N15/09 C12Q1/68 G01N33/566		
CPC分类号	A61K38/00 A61P15/00 A61P35/00 A61P37/02 C07K14/47 C07K14/4703 C07K14/515 C07K14/575 C07K14/705		
FI分类号	A61K39/395.D A61K39/395.N A61K48/00 A61P15/00 A61P35/00 A61P37/02 C07K14/47 C07K16/18 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12Q1/68.A G01N33/53.D G01N33/53.M G01N33/566 C12N15/00. ZNA.A C12N5/00.A A61K37/02		
F-TERM分类号	4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/BA80 4B024/CA04 4B024/DA02 4B024/DA05 4B024/DA06 4B024/DA11 4B024/DA12 4B024/EA02 4B024/EA04 4B024/GA11 4B024/HA12 4B063/QA19 4B063/QA20 4B063/QQ08 4B063/QQ43 4B063/QR08 4B063/QR42 4B063/QR56 4B063/QS25 4B063/QS34 4B063/QX02 4B065/AA01X 4B065/AA57X 4B065/AA72X 4B065/AA90X 4B065/AB01 4B065/BA02 4B065/CA24 4B065/CA44 4B065/CA46 4C084/AA02 4C084/AA07 4C084/AA13 4C084/AA14 4C084/BA01 4C084/BA08 4C084/BA22 4C084/BA23 4C084/BA35 4C084/CA17 4C084/CA18 4C084/NA14 4C084/ZA812 4C084/ZB072 4C084/ZB262 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/AA16 4C085/BB11 4C085/BB31 4C085/CC04 4C085/CC05 4C085/CC21 4C085/CC22 4C085/CC23 4C085/EE01 4C085/EE06 4C085/FF02 4C085/FF11 4C085/FF13 4C085/GG01 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/CA40 4H045/DA75 4H045/EA20 4H045/EA50 4H045/FA72 4H045/FA74		
优先权	60/140584 1999-06-23 US 60/144722 1999-07-20 US 60/154520 1999-09-16 US 09/604286 2000-06-22 US		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明提供了新颖的多肽，在本文中称为SECX多肽，以及编码SECX多肽的多核苷酸。还提供了与SECX多肽或SECK多核苷酸或其衍生物，变体，变体或片段免疫特异性结合的抗体。本发明进一步提供了将SEX多肽，多核苷酸和抗体用于检测，预防和治疗各种病理状况的方法。

