

(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 - 524402

(P2003 - 524402A)

(43)公表日 平成15年8月19日(2003.8.19)

(51) Int.Cl <sup>7</sup>	識別記号	F I	テ-マコード(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			H 4 B 0 6 3
39/395		48/00	4 B 0 6 4
		A 6 1 P 1/16	4 B 0 6 5
48/00		3/10	4 C 0 8 4

審査請求 未請求 予備審査請求(全185数) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2000 - 618452(P2000 - 618452)

(86)(22)出願日 平成12年5月12日(2000.5.12)

(85)翻訳文提出日 平成13年11月13日(2001.11.13)

(86)国際出願番号 PCT/US00/13291

(87)国際公開番号 W000/070046

(87)国際公開日 平成12年11月23日(2000.11.23)

(31)優先権主張番号 60/134,315

(32)優先日 平成11年5月14日(1999.5.14)

(33)優先権主張国 米国(US)

(31)優先権主張番号 60/175,744

(32)優先日 平成12年1月12日(2000.1.12)

(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 コネチカット州 06511  
ニュー ハイブン ロング ウォーフ ド  
ライブ 555

(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 ハイブン, 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, ナンバー2, フローレン  
ス ロード 77

(74)代理人 弁理士 山本 秀策

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 新規のポリヌクレオチドおよびそれによりコードされるポリペプチド

(57)【要約】

本発明は、S E C Xポリペプチドと称される、新規のポリペプチド、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、およびS E C Xに免疫特異的に結合する抗体、またはS E C Xポリペプチド、ポリヌクレオチドまたは抗体の誘導體、改変体、異変体もしくはフラグメントを提供する。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、広範囲の病的状態の検出および処置において、ならびに他の用途に使用される方法を提供する。

98 —

64 —

50 —

36 —

30 —

16 —

6 —

**【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、該ポリペプチドは、以下：

a) 配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18および20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、18および20からなる群から選択されるアミノ酸配列の成熟形態の改変体であって、ここで該改変体中の1つ以上のアミノ酸残基が、該成熟形態のアミノ酸配列と異なり、ただし、該改変体は、アミノ酸残基の15%以下が該成熟形態のアミノ酸配列と異なる、改変体；

c) 配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18および20からなる群から選択されるアミノ酸配列；ならびに

d) 配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18および20からなる群から選択されるアミノ酸配列の改変体であって、ここで該改変体中の1つ以上のアミノ酸残基が、該成熟形態のアミノ酸配列と異なり、ただし、該改変体は、アミノ酸残基の15%以下が該アミノ酸配列と異なる、改変体、からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、ポリペプチド。

【請求項2】 前記ポリペプチドが、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18および20からなる群から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、請求項1に記載のポリペプチド。

【請求項3】 請求項2に記載のポリペプチドであって、前記対立遺伝子改変体が、単一のヌクレオチドだけ、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17および19からなる群から選択される核酸配列と異なる核酸配列の翻訳であるアミノ酸配列を含む、ポリペプチド。

【請求項4】 前記改変体のアミノ酸配列が保存的アミノ酸置換を含む、請求項1に記載のポリペプチド。

【請求項5】 単離された核酸分子であって、該核酸分子は、以下：

a) 配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18および20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、18および20からなる群から選択されるアミノ酸配列の成熟形態の改変体であって、ここで該改変体中の1つ以上のアミノ酸残基が、該成熟形態のアミノ酸配列と異なり、ただし、該改変体は、アミノ酸残基の15%以下が該成熟形態のアミノ酸配列と異なる、改変体；

c) 配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18および20からなる群から選択されるアミノ酸配列；

d) 配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18および20からなる群から選択されるアミノ酸配列の改変体であって、ここで該改変体中の1つ以上のアミノ酸残基が、該成熟形態のアミノ酸配列と異なり、ただし、該改変体は、アミノ酸残基の15%以下が該アミノ酸配列と異なる、改変体；

e) 配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18および20からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むポリペプチドの少なくとも一部分、または該ポリペプチドの改変体をコードする核酸フラグメントであって、ここで該改変体中の1つ以上のアミノ酸残基が、該成熟形態のアミノ酸配列と異なり、ただし、該改変体は、アミノ酸残基の15%以下が該アミノ酸配列と異なる、核酸フラグメント；ならびに

f) a)、b)、c)、d)またはe)の相補体を含む核酸分子、からなる群から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】 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、請求項5に記載の核酸分子。

【請求項7】 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、請求項5に記載の核酸分子。

【請求項8】 前記核酸分子が、単一のヌクレオチドだけ、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17および19からなる群から選択される核酸配列と異なる、請求項5に記載の核酸分子。

【請求項9】 請求項5に記載の核酸分子であって、該核酸分子が、以下：

a) 配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17および19からなる群から選択される、ヌクレオチド配列；

b) 1つ以上のヌクレオチドだけ、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17および19からなる群から選択されるヌクレオチド配列と異なる、ヌクレオチド配列であって、ただし、ヌクレオチドの20%以下が、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；ならびに

d) b)の核酸フラグメント、

からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含む、核酸分子。

【請求項10】 前記核酸分子が、ストリンジェントな条件下で、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17および19からなる群から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ハイブリダイズする、請求項5に記載の核酸分子。

【請求項11】 請求項5に記載の核酸分子であって、該核酸分子が、以下：

a) 1つ以上のヌクレオチド配列だけ、前記アミノ酸配列をコードするコード配列と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中のコード配列において、ヌクレオチドの20%以下が、該コード配列と異なる、第1のヌクレオチド配列；

b) 第1のポリヌクレオチドの相補体である、単離された第2のポリヌクレオチド；ならびに

c) a)またはb)の核酸フラグメント、からなる群から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し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した該抗体の存在または量を決定する工程、を包含し、それにより、該サンプル中の該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と接触させる工程；および

(c) 該核酸分子に結合した該プローブの存在または量を決定する工程、を包含し、それにより、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薬剤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薬剤と接触させる工程；および

(b) 該薬剤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薬剤を同定するための方法であって、該方法は、以下：

(a) 該ポリペプチドを発現する細胞を提供する工程；

(c) 該細胞を該薬剤と接触させる工程；および

(d) 該薬剤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、これにより、該ペプチドの発現または活性の変化が、該薬剤が該ポリペプチドの発現または活性を調節することを示す、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、該方法は、該請求項1に記載のポリペプチドを発現する細胞サンプルを、該ポリペプチドに結合する化合物と、該ポリペプチドの活性を調節するのに十分な量で接触させる工程を包含する、方法。

【請求項23】 SECX関連障害を処置または予防する方法であって、該方法は、このような処置または予防を所望する被験体に、請求項1に記載のポリペプチドを、該被験体の該SECX関連障害を処置または予防するのに十分な量で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関連障害を処置または予防する方法であって、該方法は、このような処置または予防を所望する被験体に、請求項5に記載の核酸を、該被験体の該SECX関連障害を処置または予防するのに十分な量で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関連障害を処置または予防する方法であって、該方法は、このような処置または予防を所望する被験体に、請求項15に記載の抗体を、該被験体の該SECX関連障害を処置または予防するのに十分な量で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む、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む、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む、薬学的組成物。

【請求項32】 1つ以上の容器中に、請求項29に記載の薬学的組成物を

含む、キット。

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

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

【請求項35】 第1の哺乳動物被験体において、請求項1に記載のポリペプチドの変化したレベルに関連する疾患の存在またはその素因を決定するための方法であって、該方法は、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) 該工程(a)のサンプル中の該ポリペプチドの量を、該疾患を有さないか、または該疾患の素因とならないことが分かっている、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、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、該第1の被験体における該ポリペプチドの発現レベルの変化が、該疾患の存在またはその素因を示す、方法。

【請求項36】 第1の哺乳動物被験体において、請求項5に記載の核酸分子の変化したレベルに関連する疾患の存在またはその素因を決定するための方法であって、該方法は、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) 該工程(a)のサンプル中の該核酸の量を、該疾患を有さないか、または該疾患の素因とならないことが分かっている、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、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、該第1の被験体における該核酸のレベルの変化が、該疾患の存在またはその素因を示す、方法。

【請求項37】 哺乳動物における病的状態を処置する方法であって、該方法は、該哺乳動物に、該病的状態を軽減するのに十分な量のポリペプチドを投与する工程を包含し、ここで、該ポリペプチドは、配列番号2、4、6、8、10

、12、14、16、18、20、22、24、26、28および30のうち少なくとも1つのアミノ酸配列を含むポリペプチドと少なくとも95%同一のアミノ酸配列を有するポリペプチド、またはそれらの生物学的に活性なフラグメントである、方法。

【請求項38】 哺乳動物における病的状態を処置する方法であって、該方法は、該哺乳動物に、該病的状態を軽減するのに十分な量の請求項15に記載の抗体を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このようなポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド、ならびにそのポリペプチドおよびポリヌクレオチドを産生するためのベクター、宿主細胞、抗体および組換え方法に関する。

**【0002】****(発明の背景)**

真核生物細胞は、膜によって複数の機能的の異なる区画に細分され、これらは、オルガネラと呼ばれている。各オルガネラは、その適切な機能について必須であるタンパク質を含む。これらのタンパク質は、しばしばソーティングシグナルと呼ばれる配列モチーフを含み得る。こ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際に補助をし得る。さらに、ソーティングシグナルは、いくつかのタンパク質が細胞外に搬出または分泌されることを指向し得る。

**【0003】**

1つのタイプのソーティング配列は、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鎖A上のアミノ末端伸長として存在し、シグナル配列は、小胞体（ER）と呼ばれる細胞内オルガネラへタンパク質を標的化し得る。

**【0004】**

シグナル配列は、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、これらは、シグナル配列を含むポリペプチドを、ERにおけるチャネルを通して移行させる。移行後、膜結合型酵素（シグナルペプチダーゼと名付けられた）は、成熟タンパク質をシグナル配列から遊離させる。

**【0005】**

ERは、膜結合型タンパク質および分泌型タンパク質を、細胞質に残るタンパク質から分離するように機能する。一旦ERに標的化されると、分泌型および膜結合型の両方のタンパク質は、ゴルジ装置と呼ばれる別の細胞オルガネラへとさ

らに再分配され得る。そのゴルジは、ベシクル、リソソーム、原形質膜、ミトコンドリア、およびマイクロボディに対してタンパク質を指向させる。

#### 【0006】

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種多様な活性に関与している。公知の分泌型タンパク質の例としては、ヒトインスリン、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。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。

#### 【0007】

(発明の要旨)

本発明は、部分的に、新規な核酸配列およびそれらの配列によってコードされる分泌型ポリペプチドの発見に基づく。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。

#### 【0008】

従って、1つの局面において、本発明は、配列番号 $2n - 1$ のいずれかの配列を含む単離された核酸分子を提供し、ここで $n$ は $1 \sim 20$ の間の整数であり、この核酸分子は、新規なポリペプチド、またはそのフラグメント、ホモログ、アナログ、もしくは誘導体をコードする。その核酸分子は、例えば、配列番号 $2n$ のアミノ酸配列を含むポリペプチドと少なくとも85%同一であるポリペプチドをコードする核酸配列を含み得、ここで $n$ は $1 \sim 20$ の間の整数である。核酸は、例えば、ゲノムDNAフラグメント、またはcDNA分子であり得る。

#### 【0009】

本明細書に記載される1以上の核酸を含むベクター、および本明細書に記載されるベクターまたは核酸を含む細胞もまた、本発明に含まれる。

#### 【0010】

本発明はまた、上記に記載される核酸分子のいずれかを含むベクターで形質転換した宿主細胞に関する。

#### 【0011】

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。

【0012】

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、ならびにそのフラグメント、ホモログ、アナログ、および誘導体によってコードされたSECXポリペプチドのいずれか）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。

【0013】

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、上記の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上のエピトープに結合する単離された抗体に関する。

【0014】

本発明はまた、上記の薬学的組成物のいずれかを含むキットを含む。

【0015】

本発明はさらに、SECX核酸（例えば、SECX核酸を含むベクター）を含む細胞を提供する工程、およびそ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に十分な条件下で細胞を培養する工程によって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、ほとんど内因性SECXポリペプチドを生成しないか、または内因性SECXポリペプチドを全く生成しない。その細胞は、例えば、原核生物細胞または真核生物細胞であり得る。

【0016】

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る工程、および、存在する場合、複合体の形成を

検出する工程によって、サンプル中のSECXポリペプチドまたはSECX核酸を同定するための方法に関する。

【0017】

本発明はさらに、SECXポリペプチドを化合物と接触させる工程、およびSECXポリペプチド活性が修飾されるか否かを決定する工程によって、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。

【0018】

本発明はまた、SECXポリペプチドをその化合物と接触させる工程、およびその化合物が、SECXポリペプチドの活性を修飾するか、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工程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。

【0019】

別の局面において、本発明は、被験体におけるSECX関連傷害の存在または素因を決定する方法を提供する。この方法は、被験体からのサンプルを提供する工程および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、被験体サンプル中におけるSECXポリペプチドの量は、コントロールサンプル中におけるSECXポリペプチドの量と比較される。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タンパク質サンプル中のSECXポリペプチドの量の変化は、その被験体が、組織増殖関連条件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、適合した(matched)個体(すなわち、同様の年齢、性別、または他の一般的条件であるが、組織増殖関連条件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、その被験体が組織増殖関連障害を有すると疑われていない時点で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抗体を用いて検出される。

【0020】

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素因を決定する方法を提供する。この方法は、被験体から核酸サンプル(例

例えば、RNAまたはDNA、またはその両方)を提供する工程、および被験体核酸サンプルにおけるSECX核酸サンプル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核酸サンプルの量は、コントロールサンプル中のSECX核酸の量と比較される。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核酸の量の変化は、その被験体が組織増殖関連障害を有することを示す。

#### 【0021】

なおさらなる局面において、本発明は、SECX関連障害を処置または予防または遅延する方法を提供する。その方法は、このような処置または予防または遅延が所望される被験体に、SECX核酸、SECXポリペプチド、またはSECX抗体を、被験体における組織増殖関連障害を処置、予防または遅延するに十分な量で投与する工程を包含する。

#### 【0022】

他に規定しない限り、本明細書において使用されるすべ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通常理解されるのと同様の意味を有する。本明細書において記載されるものと類似または等価である方法および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を以下に記載する。本明細書において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、その全体が本明細書において参考として援用される。相反する場合、本明細書(定義を含む)が優先する。さらに、材料、方法、および実施例は、例示のみであり、そして限定を意図しない。

#### 【0023】

本発明の他の特徴および利点は、以下の詳細な説明および上記の特許請求の範囲から明白である。

#### 【0024】

(発明の詳細な説明)

本発明は、新規なポリペプチドおよびそれによってコードされるヌクレオチドを提供する。10個の新規な核酸配列およびそれらによってコードされ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たポリペプチドは、「SECXポリペプチド」または「SECXタンパク質」と呼ばれる。例えば、本発明に従うSECX核酸は、SECX核酸を含む核酸であり、そして本発明に従うSECX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である。他に示されない場合には、「SECX」は、本明細書中に開示される新規な配列のいずれかをいうことが意味される。

【0025】

表1は、SECX核酸およびそれらにコードされるポリペプチドの要約を提供する。

【0026】

表1の欄1は、「SECX番号」という表題であり、本発明に従う核酸に割り当てられたSECX番号を示す。

【0027】

表1の欄2は、「クローンID番号」という表題であり、示されるSECXについての第2のID番号を提供する。

【0028】

表1の欄3は、「組織発現」という表題であり、示されるSECX核酸が発現される組織を示す。

【0029】

表1の欄4～9は、示されるSECX核酸およびポリペプチドについて示されるような構造の情報を記載する。

【0030】

表1の欄10は、「タンパク質類似性」という表題であり、示されるSECXによってコードされるポリペプチドに関連する、以前に記載されたタンパク質を列挙する。以前に記載されたタンパク質についてのGenbank識別子(Identifier)が提供される。これらは、<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>から検索され得る。

【0031】

表1の欄11は、「シグナルペプチドの切断部位」という表題であり、Sig

n a l Pによって決定される、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。

【0032】

表1の欄12は、「細胞内局在」という表題であり、示されるSECXポリペプチドの推定の細胞内局在を示す。

【0033】

【表1】

表 1.

SECX 番号	クローン ID番号	組織発現	ヌクレオチド 長	オープン リーディング フレーム (nt)	アミノ酸 長	計算上の 分子量	Kozak	5' UTR 上の 停止	タンパク質類似性	シグナル ペプチド 切断部位 (aa)	細胞内 局在
1	FGF10AC00444 9		670	130-639	170	19663.4			Swiss New-Acc:O15520 線維芽細胞増殖因子-10 前駆体 (FGF-10) (ケラチン増殖 因子 2) - homo sapiens (ヒト), 208 aa.	22 および 23:	細胞外
2	10326230.0.38	脾臓	1680	177-1655	493	55238.6	あり	あり	Acc:O43354 BAC Clone GS099H08, 完全配列 - homo sapiens (human), 572 aa. with acc08279 meg4 - Rattus Norvegicus (rat), 1531 aa.	27 28: および	膜形質膜-
3	16399139.0.7	視床	1908	230-1669	480	53943.	あり	あり	Acc:BA.76820 KIAA0976 タンパク質 - homo sapiens (ヒト), 364 aa.	18 19: および	小胞体 (膜)
4	3440544.0.81	前立腺、 甲状腺、 胎盤、 腎臓、 脳、 胎児脳、 胎児腎臓、 滑膜、 膀胱、 腎臓、 腎臓	1597	122-1019	306	34243.1	あり	あり	Acc:AADL2839 y25eta.7b タンパク質 Caenorhabditis elegans, 287 aa. Acc:O14546 Polyspecific Organic Cation Transporter - homo sapiens (ヒト), 551 aa		膜形質膜

(表1のつぎ)

5	3581980.0.30	心臓、肝、 骨髄	1782	949-1332	128	1362.1	yes	yes	yes	Acc:BA024860 KIAA0430 proctin - homo sapiens (ヒト), 1056 aa (777アミノ酸)	細胞質
6	4418354.0.6	多数	1265	142-1236	365	49899.1	yes	yes	yes	Acc:Q62825 (rsc6) - Rattus Norvegicus (rat), 755 aa (777アミノ酸)	細胞質
7	4418354.0.9	多数	2833	142-2082	647	72791.2	yes	yes	yes	Acc:Q62825 (rsc6) - Rattus Norvegicus (R-), 755 aa (777アミノ酸) Acc:Q60645 Sec6 homolog - homo sapiens (ヒト), 471 aa (777アミノ酸)	細胞質
8	6779999.0.31	副腎	1213 nt	762-1028	89	10398.7	yes	yes	yes		30 31 外側
9	8484782.0.5	胎盤	1735 nt	890-1331	214	24449.8	yes	yes	yes	Acc:O14667 Gamma-Heraguin - homo sapiens (ヒト), 768 aa.	核
10	16399139.S124 A	視床	1908 nt	144-1433	430	48548.6				SPTREMBL-ACC:Q9Y212: KIAA0976	18 19 ミトコンドリア

表2は、割り当てられたSECX番号、クローン識別子番号および配列識別番号(配列番号)の相互参照を提供する。

【0034】

【表2】

表 2

SECX 番号	クローン識別子番号	配列番号 核酸	配列番号 ポリペプチド
1	FGF10AC004449	1	2
2	10326230.0.38	3	4
3	16399139.0.7	5	6
4	3440544.0.81	7	8
5	3581980.0.30	9	10
6	4418354.0.6	11	12
7	4418354.0.9	13	14
8	6779999.0.31	15	16
9	8484782.0.5	17	18
10	16399139.S124S	19	20

本発明に従うSECX核酸および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、「SECX核酸およびポリペプチド配列の開示された配列」と題された、本明細書の以下の節において提供される。

## 【0035】

本明細書中に記載される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型またはプロタンパク質の産物を含む。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、例えば、対応する遺伝子によってコードされる全長遺伝子産物が挙げられる。天然に存在するポリペプチドとしてはまた、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が挙げられる。「成熟」型のポリペプチドまたはタンパク質は、1つ以上の天然に存在するプロセシング工程が細胞（宿主細胞を含む）内で起こり得る場合に、その工程の結果として生じる。このプロセシング工程は遺伝子産物が現れるにつれて生じる（例えば、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アミノ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

タンパク質分解性の切断を介して)。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タンパク質から生じる成熟形態は、残りの残基2～Nを有する。あるいは、残基1～Nを有する前駆体ポリペプチドまたはタンパク質から生じる成熟形態(ここで、残基1～残基Mまでのアミノ末端シグナル配列が切断されている)は、残りの残基M+1～残基Nまでの残基を含む。「成熟」型のポリペプチドまたはタンパク質はまた、非タンパク質分解性の翻訳後修飾から生じ得る。このような非タンパク質分解プロセスとしては、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タンパク質は、これらのプロセスの1つのみの操作から生じ得るか、またはそれらのいずれかの組み合わせから生じ得る。

#### 【0036】

本明細書中で使用される場合、「同一の」残基とは、2つの配列のアラインメントにおける等価なヌクレオチド塩基またはアミノ酸残基が同じ残基である、2つの配列間の比較における残基に対応する。アラインメント中の2つの配列間の比較が、その比較における等価な位置の残基が同じアミノ酸であるか、または以下に定義する保存性アミノ酸であるかのいずれかを示す場合に、残基は、代替的に、「類似」または「ポジティブ」であると記載される。

#### 【0037】

本発明に従うSECX核酸およびそれらのコードされるポリペプチドは、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核酸およびポリペプチドは、特に、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って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。

#### 【0038】

本発明に従うSECX核酸および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例は、表1の第3列(本発明に従うSECX)に列挙される。本発明に従うSECX核酸およびポリペプチドについてのさらなる利用は、本明細書中に開示される。

## 【0039】

(SECX核酸およびポリペプチド配列の開示された配列)

(SEC1)

本発明に従うSEC1核酸およびポリペプチドは、FGF10\_\_AC004449の核酸配列およびコードされたポリペプチド配列を含む。推定オープンリーディングフレームは、ヒト線維芽細胞増殖因子10前駆体(SWISSNEW-Acc.No.O15520)(これは、ケラチノサイト増殖因子2としても公知(PCT公開WO98/16642-A1を参照のこと))と54%の同一性を有する170アミノ酸長の分泌タンパク質をコードする。

## 【0040】

開示されたSEC1ポリペプチド配列は、PSORTプログラムにより0.5374の確実性で細胞外に局在すると推定される。プログラムSignalPは、シグナルペプチドが存在し、AAG-TP配列において残基22と23との間に切断部位が存在する可能性が最も高いと推定する。

## 【0041】

線維芽細胞増殖因子(FGF)ファミリーは、多くの構造的に関連したポリペプチド増殖因子(これは、ヘパリン結合ポリペプチドである)を含む。これらの分子は、種々のヒト新生物に影響を与える。これらの発現は、転写、mRNA安定性および翻訳のレベルで制御される。FGFのバイオアベイラビリティは、翻訳後プロセッシングおよび調節されたタンパク質輸送によりさらに調節される。FGFは、代表的には、レセプターチロシンキナーゼ(FGFR)、ヘパラン硫酸プロテオグリカン(HSPG)、およびシステインリッチFGFレセプター(CFR)に結合する。

## 【0042】

FGFRは、FGFの大部分の生物学的活性のために必要である。HSPGは、FGF-FGFR相互作用を改変し、そしてCFRはFGF細胞内輸送に関与する。FGFシグナル伝達経路は、複雑であり、そしてインスリン様増殖因子、トランスホーミング増殖因子、骨形成タンパク質、およびDrosophila無翅活性化経路の脊椎動物ホモログと絡み合っている：それらは、主な体軸

、神経軸、四肢、および他の構造物の形成に影響を与える。FGFは、胚発生の主要なレギュレーターである。FGFの活性は、遺伝子発現および細胞骨格に対する影響を通して、基本的細胞機能の協調（例えば、生存、複製、分化、接着、および運動性）に依存する。

#### 【0043】

FGFシグナル伝達は、二重レセプター系により媒介され、この二重レセプター系は、4つの高親和性チロシンキナーゼレセプター（線維芽細胞増殖因子レセプター（FGFR）といわれる）、および低親和性ヘパラン硫酸プロテオグリカンレセプター（FGFRに対するリガンド提示を増強する）からなる。いくつかのFGF（FGF-1、FGF-2、FGF-3、FGF-4、FGF-5、FGF-6、およびFGF-7を含む）、ならびにいくつかのFGFR改変体（中でも、2免疫グロブリン様形態およびFGFR-1のIIIcスプライス改変体およびケラチノサイト増殖因子レセプター、FGFR-2のスプライス改変体）は、ヒト膵臓癌細胞株において発現され、そしてヒト膵臓癌もしくは慢性膵炎の膵炎において過剰に発現され、従って、これらの膵臓疾患の病理生物学において重要な役割を果たし得る。

#### 【0044】

さらに、SEC1は、38186bpのヒトメタロプロテアーゼトロンボスポンジン1（METH1）関連EST（AC004449）からの由来のいくつかのセグメントに対する高い類似性を有する（PCT公開WO99/37660-A1を参照のこと）。メタロプロテアーゼトロンボスポンジンは、インビトロおよびインビボ両方での脈管形成の強力なインヒビターである。従って、SEC1核酸およびポリペプチドは、脈管形成に関連する癌および他の障害を処置することにおいて有用であり得る。これらの癌および障害としては、以下が挙げられる：異常な創傷治癒、炎症、慢性関節リウマチ、乾癬、子宮内膜出血障害（endometrial bleeding disorder）、糖尿病性網膜症、いくつかの形態の黄斑変性、血管腫、および動脈-静脈先天異常。

#### 【0045】

FGF 10\_\_AC004449核酸およびコードされるポリペプチドは、以

下の配列を有する：

【0046】

【化1】

```

1  CCATTGGCCCGCGCTCCCCGCCCCAGCGAACCCGGCCCCGCCCGC
46  AGCGCCCCATTGGCCCCGCCGCGGAAGGCAGAGCCGCGGACGC

91  CCGGAGCGACGAGCGCGCAGCGAACCGGGTGCCGGGTCATGCGC
      MetArg

136  CGCCGCTGTGGCTGGGCCTGGCCTGGCTGCTGCTGGCGCGGGCG
      ArgArgLeuTrpLeuGlyLeuAlaTrpLeuLeuLeuAlaArgAla

181  CCGGACGCCGCGGGAACCCGAGCGCGTCCGGGGACCGCGCAGC
      ProAspAlaAlaGlyThrProSerAlaSerArgGlyProArgSer

226  TACCCGCACCTGGAGGGCGACGTGCGCTGGCGCGCCTCTTCTCC
      TyrProHisLeuGluGlyAspValArgTrpArgArgLeuPheSer

271  TCCACTCACTTCTTCCTGCGCGTGGATCCCGCGGCGCGTGCAG
      SerThrHisPhePheLeuArgValAspProGlyGlyArgValGln

316  GGCACCCGCTGGCGCCACGCCAGGACAGCATCCTGGAGATCCGC
      GlyThrArgTrpArgHisGlyGlnAspSerIleLeuGluIleArg

361  TCTGTACACGTTGGCGTCTGTTGTCATCAAAGCAGTGTCTCAGGC
      SerValHisValGlyValValValIleLysAlaValSerSerGly

406  TTCTACGTGGCCATGAACCGCCGGGGCCGCCTCTACGGGTCCGGA
      PheTyrValAlaMetAsnArgArgGlyArgLeuTyrGlySerArg

451  CTCTACACCGTGGACTGCAGGTTCCGGGAGCGCATCGAAGAGAAC
      LeuTyrThrValAspCysArgPheArgGluArgIleGluGluAsn

496  GGCCACAACACCTACGCCTCACAGCGCTGGCGCCGCCGCGGCCAG
      GlyHisAsnThrTyrAlaSerGlnArgTrpArgArgArgGlyGln

541  CCCATGTTCTGGCGCTGGACAGGAGGGGGGGCCCCGCCAGGC
      ProMetPheLeuAlaLeuAspArgArgGlyGlyProArgProGly

```

(773)

```

586  GGCCGGACGCGGCGGTACCACCTGTCCGCCCACTTCTGCCCCGTC
      GlyArgThrArgArgTyrHisLeuSerAlaHisPheLeuProVal

```

```

631  CTGGTCTCCTGAGGCCCTGAGAGGCCGGCGGCTCCCCAAG ( 配列番号 1)
      LeuValSer ( 配列番号 2)

```

## ( S E C 2 )

本発明に従う S E C 2 核酸およびポリペプチドは、10326230.0.38の核酸およびコードされたポリペプチド配列を含む。

## 【0047】

開示された S E C 2 ポリペプチドは、P S O R T プログラムにより0.4600の確実性で形質膜に局在すると推定される。プログラム S i g n a l P は、シグナルペプチドが存在し、A R A - G R 配列において残基27と28との間に切断部位が存在する可能性が最も高いと推定する。

## 【0048】

開示された S E C 2 ポリペプチドは、ヒト B A C C L O N E G S 0 9 9 H 0 8 ( G e n B a n k A c c . N o . : 0 4 3 3 5 4 ) においてコードされる522残基のタンパク質に対して、392アミノ酸残基のうち143(36%)同一性を有し、そしてこのタンパク質に対して392残基のうち220(56%)ポジティブである。

## 【0049】

S E C 2 核酸は、脳組織において高度に発現される。S E C 2 に対して相同な R N A の量を記載する発現情報および本発明に従う種々 S E C X 核酸は、実施例において記載され、これらは、表5に挙げられる。

## 【0050】

10326230核酸およびコードされるポリペプチドは、以下の配列を有する：

## 【0051】

【化2】

1 TGACAGGCCGGCCCGGTGAGGCGCCGCCGGGAGAGGCCGGACGGA  
46 GCTCCCAGACCCGGCCATGGGCTGAGACACGTCCTCGCCGAGCAGT  
91 GACCCTTCGGTACCCACCCAGAACATGCCCGGGTGACCTCCTCCC  
136 AGATCTTCCTTGTGGCCTTCCTCGCCCACTCCAGTGACACTATGC  
Meth  
181 ACCCCACCGTGACCCGAGAGGCCTCTGGCTCCTGCTGCCGTCCT  
isProHisArgAspProArgGlyLeuTrpLeuLeuLeuProSerL  
226 TGTCCCTGCTGCTTTTGGAGGTGGCCAGAGCTGGCCGAGCCGTGG  
euSerLeuLeuLeuPheGluValAlaArgAlaGlyArgAlaValV  
271 TTAGCTGTCTGCCGCTGCTTGTGCGCCAGCAACATCCTCAGCT  
alSerCysProAlaAlaCysLeuCysAlaSerAsnIleLeuSerC  
316 GCTCCAAGCAGCAGCTGCCCAATGTGCCCATTCCTTGCCAGTT  
ysSerLysGlnGlnLeuProAsnValProHisSerLeuProSerT  
361 ACACAGCACTACTGGACCTCAGTCACAACAACCTGAGCCGCTGC  
yrThrAlaLeuLeuAspLeuSerHisAsnAsnLeuSerArgLeuA  
406 GGGCCGAGTGGACCCCCACGCGCCTGACCCAACTGCACTCCCTGC  
rgAlaGluTrpThrProThrArgLeuThrGlnLeuHisSerLeuL

(77キ)

451 TGCTGAGCCACAACCACCTGAACTTCATCTCCTCTGAGGCCTTTT  
euLeuSerHisAsnHisLeuAsnPheIleSerSerGluAlaPheS

496 CCCCAGTACCCAACCTGCGCTACCTGGACCTCTCCTCCAACCAGC  
erProValProAsnLeuArgTyrLeuAspLeuSerSerAsnGlnL

541 TCGGTACACTGGATGAGTTCCTGTTCACTGACCTGCAAGTACTGG  
euArgThrLeuAspGluPheLeuPheSerAspLeuGlnValLeuG

586 AGGTGCTGCTGCTCTACAATAACCACATCATGGCGGTGGACCGGT  
luValLeuLeuLeuTyrAsnAsnHisIleMetAlaValAspArgC

631 GCGCCTTCGATGACATGGCCCAGCTGCAGAACTCTACTTGAGCC  
ysAlaPheAspAspMetAlaGlnLeuGlnLysLeuTyrLeuSerG

676 AGAACCAGATCTCTCGCTTCCCTCTGGAAGTGGTCAAGGAAGGAG  
lnAsnGlnIleSerArgPheProLeuGluLeuValLysGluGlyA

721 CCAAGCTACCCAACTAACGCTCCTGGATCTCTCTTCTAACAAGC  
laLysLeuProLysLeuThrLeuLeuAspLeuSerSerAsnLysL

766 TGAAGAACTTGCCATGCTGCTGACCTGCAGAAGCTGCCGGCCTGGA  
euLysAsnLeuProLeuProAspLeuGlnLysLeuProAlaTrpI

811 TCAAGAATGGGCTGTACTACATAACAACCCCTGAACTGCGACT  
leLysAsnGlyLeuTyrLeuHisAsnAsnProLeuAsnCysAspC

856 GTGAGCTCTACCAGCTGTTTTTCACTGGCAGTATCGGCAGCTGA  
ysGluLeuTyrGlnLeuPheSerHisTrpGlnTyrArgGlnLeuS

901 GCTCCGTGATGGACTTTCAAGAGGATCTGTACTGCATGAACTCCA  
erSerValMetAspPheGlnGluAspLeuTyrCysMetAsnSerL

946 AGAAGCTGCACAATGTCTTCAACCTGAGTTTCTCAACTGTGGCG  
ysLysLeuHisAsnValPheAsnLeuSerPheLeuAsnCysGlyG

991 AGTACAAGGAGCGTGCCTGGGAGGCCACCTGGGTGACACCTTGA  
luTyrLysGluArgAlaTrpGluAlaHisLeuGlyAspThrLeuI

1036 TCATCAAGTGTGACACCAAGCAGCAAGGGATGACCAAGGTGTGGG  
leIleLysCysAspThrLysGlnGlnGlyMetThrLysValTrpV

1081 TGACACCAAGTAATGAACGGGTGCTAGATGAGGTGACCAATGGCA  
alThrProSerAsnGluArgValLeuAspGluValThrAsnGlyT

1126 CAGTGAGTGTGTCTAAGGATGGCAGTCTTCTTTCCAGCAGGTGC  
hrValSerValSerLysAspGlySerLeuLeuPheGlnGlnValG

1171 AGGTGAGGACGGTGGTGTGTATACCTGCTATGCCATGGGAGAGA  
lnValGluAspGlyGlyValTyrThrCysTyrAlaMetGlyGluT

1216 CTTTCAATGAGACACTGTCTGTGAATTGAAAGTGCACAATTTCA  
hrPheAsnGluThrLeuSerValGluLeuLysValHisAsnPheT

1261 CCTTGACCGACACCATGACACCCCTCAACACAGCCTATAACCACCC  
hrLeuHisGlyHisHisAspThrLeuAsnThrAlaTyrThrThrL

1306 TAGTGGGCTGTATCCTTAGTGTGGTCCTGGTCTCATATACCTAT  
euValGlyCysIleLeuSerValValLeuValLeuIleTyrLeuT

1351 ACCTCACCCCTTGCCGCTGCTGGTGCCGGGGTGTAGAGAAGCCTT  
yrLeuThrProCysArgCysTrpCysArgGlyValGluLysProS

1396 CCAGCCATCAAGGAGACAGCCTCAGCTCTTCCATGCTTAGTACCA  
erSerHisGlnGlyAspSerLeuSerSerSerMetLeuSerThrT

1441 CACCCAACCATGATCCTATGGCTGGTGGGGACAAAGATGATGGTT  
hrProAsnHisAspProMetAlaGlyGlyAspLysAspAspGlyP

【0052】

【化3】

```

1486 TTGACCGGCGGCTGGCTTTCCTGGAACCTGCTGGACCTGGGCAGG
heAspArgArgValAlaPheLeuGluProAlaGlyProGlyGlnG
1531 GTCAAAACGGCAAGCTCAAGCCAGGCAACACCCCTGCCAGTGCCTG
lyGlnAsnGlyLysLeuLysProGlyAsnThrLeuProValProG
1576 AGGCCACAGGCAAGGGCCAAACGGAGCATGTCCGATCCAGAATCAG
luAlaThrGlyLysGlyGlnArgArgMetSerAspProGluSerV
1621 TCAGCTCGGTCTTCTCTGATACGCCCATTTGTGTGTGAGCAGGAT
alSerSerValPheSerAspThrProIleValVal (SEQ ID NO:4)

1666 GGGTTGGTGGGGAGA (SEQ ID NO:3)

```

### ( S E C 3 )

本発明に従う S E C 3 核酸およびポリペプチドは、16399139の核酸およびコードされたポリペプチド配列を含む。開示された S E C 3 は、P S O R T プログラムにより、0.6400の確実性で小胞体の膜に局在化することが推定される。プログラム S i g n a l P は、配列 V S S - V M において、残基 18 と 19 との間に最も見込みのある切断部位を有する、シグナルペプチドが存在するということを推定する。

#### 【 0 0 5 3 】

開示された S E C 3 ポリペプチドは、363残基のうちの362残基(99%)がヒト配列 K I A A 0 9 7 6 ( G e n B a n k 登録番号; B A A 7 6 8 2 0 ) によりコードされる364残基のタンパク質と同一であり、そして363残基の100.0%が陽性である。

#### 【 0 0 5 4 】

組織発現分析は、S E C 3 が、結腸癌細胞、腎臓癌細胞、および肝臓癌細胞において特に発現され得ることを示す(表5)。

#### 【 0 0 5 5 】

この16399139核酸およびコードポリペプチドは、以下の配列を有する:

#### 【 0 0 5 6 】

【化4】

1 GGCTTCCACCAAGTCCTCAATAACCTGAATACGCACAATATCT  
46 TAACCTTCATATTGGTTTTGGGATCTGCTTTGAGGTCCCATCT  
91 TCATTTAAAAAATAACAGAGACCTACCTACCGGTACGCATACA  
136 TACATATGTGTATATATATGTAACTAGACAAAGATCGCAGATCA  
181 TAAAGCAAGCTCTGCTTTAGTTTCCAAGAAGATTACAAAGAATTT  
  
226 AGAGATGTATTGTCAAGATTCCTGTGATTTCATGCCCTTTGGGT  
MetTyrLeuSerArgPheLeuSerIleHisAlaLeuTrpVa  
  
271 TACGGTGTCTCAGTATGCAGCCCTACCCITTGGTTTGGGGACA  
lThrValSerSerValMetGlnProTyrProLeuValTrpGlyHi  
  
316 TTATGATTTGTGTAAGACTCAGATTACACGGAAGAAGGAAAGT  
sTyrAspLeuCysLysThrGlnIleTyrThrGluGluGlyLysVa

(14) のアミノ酸配列

361 TTGGGATTACATGGCCCTGCCAGCCGGAATCCACGGACATGACAAA  
 lTrpAspTyrMetAlaCysGlnProGluSerThrAspMetThrLy

406 ATATCTGAAAGTAAAACCTCGATCCTCCGGATATTACCTGTGGAGA  
 sTyrLeuLysValLysLeuAspProProAspIleThrCysGlyAs

451 CCCTCTGAGACGTTCTGTGCAATGGGCAATCCCTACATGTGCAA  
 pProProGluThrPheCysAlaMetGlyAsnProTyrMetCysAs

496 TAATGAGTGTGATGCGAGTACCCCTGAGCTGGCACACCCCTGA  
 nAsnGluCysAspAlaSerThrProGluLeuAlaHisProProGl

541 GCTGATGTTTGAATTTGAAGGAAGACATCCCTCCACATTTTGGCA  
 uLeuMetPheAspPheGluGlyArgHisProSerThrPheTrpGl

586 GTCTGCCACTTGAAGGAGTATCCCAAGCCTCTCCAGGTTAACAT  
 nSerAlaThrTrpLysGluTyrProLysProLeuGlnValAsnIl

631 CACTCTGTCTTGGAGCAAACCATTGAGCTAACAGACAACATAGT  
 eThrLeuSerTrpSerLysThrIleGluLeuThrAspAsnIleVa

676 TATTACCTTTGAATCTGGGCGTCCAGACCAAATGATCCTGGAGAA  
 lIleThrPheGluSerGlyArgProAspGlnMetIleLeuGluLy

721 GTCTCTCGATTATGGACGAACATGGCAGCCCTATCAGTATTATGC  
 sSerLeuAspTyrGlyArgThrTrpGlnProTyrGlnTyrTyrAl

766 CACAGACTGCTTAGATGCTTTTCACATGGATCCTAAATCCGTGAA  
 aThrAspCysLeuAspAlaPheHisMetAspProLysSerValLy

811 GGATTTATCAGCATAACGGTCTTAGAAATCATTTCACAGAAGA  
 sAspLeuSerGlnHisThrValLeuGluIleIleCysThrGluGl

856 GTACTCAACAGGGTATACAACAATAGCAAATAATCCACTTTGA  
 uTyrSerThrGlyTyrThrThrAsnSerLysIleIleHisPheGl

901 AATCAAAGACAGGTTCCCGTTTTTGTCTGGACCTCGCCTACGCAA  
 uIleLysAspArgPheAlaPhePheAlaGlyProArgLeuArgAs

946 TATGGCTTCCCTCTACGGACAGCTGGATACAACCAAGAAACTCAG

(14のつぎ)

nMetAlaSerLeuTyrGlyGlnLeuAspThrThrLysLysLeuAr

991 AGATTTCTTTACAGTCACAGACCTGAGGATAAGGCTGTTAAGACC  
gAspPhePheThrValThrAspLeuArgIleArgLeuLeuArgPr

1036 AGCCGTTGGGAAATATTTGTAGATGAGCTACACTGGCAGCTA  
oAlaValGlyGluIlePheValAspGluLeuHisLeuAlaArgTy

1081 CTTTACGCGATCTCAGACATAAAGGTGCGAGGAAGGTGCAAGTG  
rPheTyrAlaIleSerAspIleLysValArgGlyArgCysLysCy

1126 TAATCTCCATGCCACTGTATGTGTGTATGACAACAGCAAATTGAC  
sAsnLeuHisAlaThrValCysValTyrAspAsnSerLysLeuTh

1171 ATGCGAATGTGAGCACAACACTACAGGTCCAGACTGTGGAAATG  
rCysGluCysGluHisAsnThrThrGlyProAspCysGlyLysCy

1216 CAAGAAGATTATCAGGGCCGACCTTGGAGTCCAGGCTCCTATCT  
sLysLysAsnTyrGlnGlyArgProTrpSerProGlySerTyrLe

1261 CCCCATCCCCAAGGCACTGCAAAATACCTGTATCCCCAGTATTTTC  
uProIleProLysGlyThrAlaAsnThrCysIleProSerIleSe

1306 CAGTATTGGTAATCCTCCAAAGTTTAAATAGSATATGGCCGAATAT  
rSerIleGlyAsnProProLysPheAsnArgIleTrpProAsnIl

1351 TTCTTCCCTTGAGGTTTCTAACCCAAACAAGTTGCTCCCAAAT  
eSerSerLeuGluValSerAsnProLysGlnValAlaProLysLe

1396 AGCTTTGTCAACAGTTTCTTCTGTTCAAGTTGCAAACCACAAGAG  
uAlaLeuSerThrValSerSerValGlnValAlaAsnHisLysAr

1441 AGCGAATGTCTGCGACAACGAGCTCCTGCACTGCCAGAACGGAGG  
gAlaAsnValCysAspAsnGluLeuLeuHisCysGlnAsnGlyGl

1486 GACGTGCCACAACAACGTCGCTGCTGTGCCCGGCCGATACAC  
yThrCysHisAsnAsnValArgCysLeuCysProAlaAlaTyrTh

1531 GGGCATCCTCTGCGAGAAGCTGCGGTGCGAGGAGGCTGCAGCTG  
rGlyIleLeuCysGluLysLeuArgCysGluGluAlaGlySerCy

(1つ4のつぎ)

1575 CCGCTCCGACTCTGGCCAGGGCGGCCCCCGCACGGCTCCCCAGC  
sGlySerAspSerGlyGlnGlyAlaProProHisGlySerProAl

1621 GCTGCTGCTGCTGACCACGCTGCTGGGAACCGCCAGCCCCCTGGT  
aLeuLeuLeuLeuThrThrLeuLeuGlyThrAlaSerProLeuVa

1666 GTTCTAGGTGTCACCTCCAGCCACACCGGACGGGCCTGTGCCCTG  
lPhe (SEQ ID NO:6)

1711 GGGAAGCAGACACAACCCAAACATTGCTACTAACAATAGGAAACA  
1756 CACACATACAGACACCCCACTCAGACAGTGTACAACTAAGAAG  
1801 GCCTAACTGAACCTAAGCCATATTTATCACCCGTGGACAGCACATC  
1848 CGAGTCAGGACTGTTAATTTCTGACTCCAGAGGAGTTGGCAGCTG  
1891 TTGATATTATCACTGCAA (SEQ ID NO:5)

( S E C 4 )

本発明に従う S E C 4 核酸およびポリペプチドは、3440544.0.81  
の核酸およびコードされたポリペプチド配列を含む。

【0057】

開示された S E C 4 ポリペプチドは、P S O R T プログラムにより、0.60  
00の確実性で原形質膜に局在化することが推定される。

【0058】

開示された S E C 4 ポリペプチドは、225残基のうちの95残基(42%)  
が *Caenorhabditis elegans* 由来の287残基の Y 2 5 C  
1 A 7 B タンパク質 (GenBank 登録番号; A A D 1 2 8 3 9) と同一  
であり、225残基のうちの95残基が陽性である。さらに、S E C 4 ポリペ  
チドは、174残基のうち44残基(25%)が、551残基のヒト多特異的 ( *p o l y s p e c i f i c* )  
有機カチオントランスポーター (GenBank  
登録番号; O 1 4 5 4 6) と同一であり、174残基のうち82残基(47%)  
が陽性である。

【0059】

この3440544.0.81核酸および対応するポリペプチドは、以下の配  
列を有する：

【0060】

## 【化5】

1 CTGGACCGAAACCGGCGGANAACCTGAGGCCCGAGCCTTCTGGG  
46 GACCCGGGGACGCCTAACCCCGCGAGACCCCTGCAAATTTTTT  
91 CCTCATAATTGGGAGAAGACTCACTGGCCGAATGGCAGCAGTAGA  
MetAlaAlaValAs  
136 TGATTGCAATTGAAGAATTTGGCAATGCAGCCACTTCTCTGAC  
pAspLeuGlnPheGluGluPheGlyAsnAlaAlaThrSerLeuTh  
181 AGCAAACCCAGATGCCACCACAGTAAACATTGAGGTTCCCTGGTGA

(化らのつぎ)

rAlaAsnProAspAlaThrThrValAsnIleGluValProGlyGl

226 AACCCCAAACATCAGCCAGGTTCCCAAGAGGCTCAGGAAGAGA  
uThrProLysHisGlnProGlySerProArgGlySerGlyArgGl

271 AGAAGATGATGAGTTACTGGGAAATGATGACTCTGACAAAACCTGA  
uGluAspAspGluLeuLeuGlyAsnAspAspSerAspLysThrGl

316 GTTACTTGCTGGACAGAAGAAAAGCTCCCCCTTTGGACATTTGA  
uLeuLeuAlaGlyGlnLysLysSerSerProPheTrpThrPheGl

361 ATACTACCAAACATTCCTTTGATGTGGACACCTACCTGGTCTTTGA  
uTyrTyrGlnThrPhePheAspValAspThrTyrLeuValPheAs

406 CAGAATTAAGGATCTCTTTGCCAATACCCGGGAAAACCTTTGT  
pArgIleLysGlySerLeuLeuProIleProGlyLysAsnPheVa

451 GAGGTTATATATCCGCAGCAATCCAGATCTCTATGGCCCCTTTG  
lArgLeuTyrIleArgSerAsnProAspLeuTyrGlyProPheTr

496 GATATGTGCCACGTTGGTCTTTGCCATAGCAATTAGTGGGAATCT  
pIleCysAlaThrLeuValPheAlaIleAlaIleSerGlyAsnLe

541 TTCCAACTTCTTGATCCATCTGGGAGAGAAGACGTACCATTATGT  
uSerAsnPheLeuIleHisLeuGlyGluLysThrTyrHisTyrVa

586 GCCCGAATTCGAAAAGTGTCCATAGCAGCTACCATCATCTATGC  
lProGluPheArgLysValSerIleAlaAlaThrIleIleTyrAl

631 CTATGCCTGGCTGGTTCCTCTGCACTCTGGGGTTTCCTCATGTG  
aTyrAlaTrpLeuValProLeuAlaLeuTrpGlyPheLeuMetTr

676 GAGAAACAGCAAAGTTATGAACATCGTCTCCTATTTCATTTCTGGA  
pArgAsnSerLysValMetAsnIleValSerTyrSerPheLeuGl

721 GATTGTGTGIGTCTATGGATATCCCTCTTCATTTATATCCCCAC  
uIleValCysValTyrGlyTyrSerLeuPheIleTyrIleProTh

766 CGCAATACTGTGGATTATCCCCAGAAAGCTGTTGTTGGATTCT  
rAlaIleLeuTrpIleIleProGlnLysAlaValArgTrpIleLe

(イチのつぎ)

811 AGTCATGATTGCCCTGGGCATCTCAGGATCTCTCTTGGCAATGAC  
uValMetIleAlaLeuGlyIleSerGlySerLeuLeuAlaMetTh

856 ATTTTGGCCAGCTGTTTCGTGAGGATAACCGACGCGTTGCATTGGC  
rPheTrpProAlaValArgGluAspAsnArgArgValAlaLeuAl

901 CACAATGTGACAATGTGTGCTCCATATGCTGCTTTCTGTGGG  
aThrIleValThrIleValLeuLeuHisMetLeuLeuSerValGl

946 CTGCTTGGCATACTTTTTGATGCACCAGAGATGGACCATCTCCC  
yCysLeuAlaTyrPhePheAspAlaProGluMetAspHisLeuPr

991 AACAACTACAGCTACTCCAAACCAACAGTTGCTGCAGCCAAGTC  
oThrThrThrAlaThrProAsnGlnThrValAlaAlaAlaLysSe

1036 CAGCTAATGAGGAAATCTCTTTTGTFTTTTGGAGCATGGTTCTT  
rSer (SEQ ID NO:8)

1081 TGGGAAGTGGCATCCACTGCAGGAAAGCAGAATGAGCAGAGCCAG  
1126 CAGAACTGATGGAGTGGCACAATTCAGTGTCTGGATGGTGGC  
1171 ACACCTGGCGCCTAATCACCCGTTTAAACAAGCAGAAATTAATGTT  
1216 GCTCAGCACATGTCTCTTCAGCTCTTCCTTTTCACCCATGGATG  
1261 ATCATTGCGAGCATGCGCTGATTGGACTGAAATGCCGGGAATAG  
1306 GTTAGGCAATGCTCAGTGCCTGCTCCCTTTGCCACCACAGTCAAATGA  
1351 CATGCTTCACTGTGGTACCTTAATACCTGAAATAGAACCATGGAA  
1396 AATTCTGATGTCTCTCTCTGAATTAATGACAGACTACCTGGGGG  
1441 ATCTCTTCTCTCCAAATGTTAGCCATCCTGAAGTAGCCGAACAG  
1486 TAGAACTTTGGTGGGGATTAACCGGAGCTTGAAAATTTGTCTT  
1531 TGGTAACCTGATACTGGACAGCTGAACTGAATGGCTGCAAATAA  
1576 ATACCTCACATGAAAAAAAAA (SEQ ID NO:7)

## ( S E C 5 )

本発明に従う S E C 5 核酸およびポリペプチドは、3581980.0.30  
の核酸およびコードされたポリペプチド配列を含む。

## 【 0 0 6 1 】

開示された S E C 5 ポリペプチドは、P S O R T プログラムにより、0.45  
00の確実性で細胞質に局在化することが推定される。開示された S E C 5 ポリ  
ペプチドは、90残基のうちの27残基(30%)が1056残基のヒトK I A  
A 0 4 3 0 タンパク質と同一であり、そして90残基のうちの38残基(42%  
)が陽性である。

## 【 0 0 6 2 】



(156のフタ)

LeuAlaGlnAsnProGlnAspTyrLysThrSerLeuLysProPhe

1216 TCCATGGGATCCCCACTCCACTGGTCCATCTCAACCTATGGCTG  
SerMetGlySerProThrProLeuValHisLeuAsnLeuTrpLeu

1261 CTCCTCCTCCAATCAGAACCCTCCCTTGCCTCCAATGAGTCAC  
LeuLeuLeuGlnSerGluProSerProCysThrProMetSerHis

1306 CTGCCATTCCCTACTCATGTCCTCCCTAAAGGCCCTTGTGCTCT  
LeuProPheLeuThrHisValLeuPro (SEQ ID NO:10)

1351 GCGCAAGAGCTCTGTCTGGAACACCAITTAGTTTCATTCCCAT

1396 CCATCAAACCTCCATCCCGTCCGACAGCCAGCTGAAACATTTTC

1441 TTCCAGGGAATTTGCTCCCTTGTGAGTATACTTACTGAGTTGCAT

1486 TGTAATTTGTGTAAGTGTGGTGTCCCTCACAAAAAGGAGCTTCT

1531 TTAAGGTCAGGGATAAAGTTGTAATCTAACTTCAGGGCCATCCAT

1576 AAAGGAGATATTCAAGTGAAGGTGGCTGAGTAAATGAATGGATGA

1521 CTCCAGAAACTTCTCCCTTCAAGGCCTCAGCTTCTTCCACTTFA

1566 GAATGAGAAGTGGGAGGAGCTGAATTAGAGTTTCTCTCAGCATT

1711 TTCTGAGAAGTCTAGCACTGCCAGATGCCTCTAAAGAACATATT

1756 CTGAGGCCTAATGGGTTTGAGAGATGC (SEQ ID NO:9)

(SEC6)

本発明に従うSEC6核酸およびポリペプチドは、4418354.0.6の核酸およびコードされたポリペプチド配列を含む。

【0065】

SEC6タンパク質のポリペプチドは、P S O R Tプログラムにより、0.6500の確実性で細胞質に局在化することが推定される。開示されたSEC6ポリペプチドは、364残基のうちの289残基(79%)がGenBank登録番号:Q62825の755残基の領域のラットタンパク質と同一であり、そして364残基のうちの301残基(82%)が陽性である。また、471ヒトホモログ(SPTREMBL:O60645)に対して、74残基に渡って100%の同一性が存在する。

【0066】

さらに、開示されたSEC6のヌクレオチド配列およびポリペプチド配列は、米国特許第5,989,818号(「818特許」)において開示される小胞輸送タンパク質に対して類似性を有している。開示されたSEC6核酸配列は、

その‘818特許において開示される2464bpのcDNAに対して、985bpのうちの934bp(94%)の同一性を有する。開示されたSEC6ポリペプチドは、その‘818特許において開示される対応するポリペプチドと、364残基のうちの301残基(82%)が同一であり、そして364残基のうちの306残基(84%)が陽性である。

【0067】

小胞輸送タンパク質に対する相同性に基づくと、本発明のSEC6ポリペプチドは、細胞増殖抑制活性、免疫調節活性および神経保護(neuroprotective)活性を示すことが予期される。このSEC6ポリヌクレオチドおよびそこにコードされるタンパク質は、癌、神経変性(neurodegenerative)障害および免疫障害の処置のために使用され得る。

【0068】

SEC6核酸は、ほとんどの組織において発現されて、特に高い発現が、特定の癌(例えば、結腸癌、大細胞癌および鱗状肺癌、乳癌および黒色腫(melanoma))において見出される。

【0069】

本発明に従う4418354.0.6核酸および対応するポリペプチドは、以下の配列を有する：

【0070】

【化7】

1 AAAAAAAAAAAAAAAAAAGCGGCCGCTGAATTCTAGGCGGC  
46 GCGCGCGCGCGCGCGCGCGCGCGCGCGTAGCCGTAGAGGTGCAC  
91 AGAGAACAACCCCTAGCATGAACAGTGTGAGGATCCACCAGCTTT  
  
136 TTCACCATGAAGGAGACAGACCGGGAGGCCGTTGCGACAGCAGGT  
MetLysGluThrAspArgGluAlaValAlaThrAlaGly  
  
181 GCAAAGGGTTGCTGGGATGCTCCAGCGCCCGGACCAGCTGGACAA  
AlaLysGlyCysTrpAspAlaProAlaProGlyProAlaGlyGln  
  
226 GGTGGAGCAGTATCGCAGGAGAGAAGCGCGAAGAAGGCCTCCGT  
GlyGlyAlaValSerGlnGluArgSerAlaGluGluGlyLeuArg  
  
271 GCAGGCCANGAATTTGAAGAGAGCGGATCTGAAAGCTCAGGTGCC  
GlyGly---GluPheGluGluSerGlySerGluSerSerGlyAla  
  
316 CGATTCTGTCTGTGGGTGAGCCGTCCTGGGGCCAAGTTGTGGTG  
ArgPheCysProValGlyGlnProSerTrpGlyGlnValValVal  
  
361 CTGCGCACAGGCCTCAGCCAGCTCCACAACGCCCTGAATGACGTC  
LeuArgThrGlyLeuSerGlnLeuHisAsnAlaLeuAsnAspVal  
  
406 AAAGACATCCAGCAGTCCGCTGGCAGACGTCAGCAAGGACTGGAGG  
LysAspIleGlnGlnSerLeuAlaAspValSerLysAspTrpArg  
  
451 CAGAGCATCAACACCATTGAGAGCCTCAAGGACGTCAAAGACGCC  
GlnSerIleAsnThrIleGluSerLeuLysAspValLysAspAla

(イ 7のつぎ)

496 GTGGTGCAGCACAGCCAGCTCGCCGCAGCCGTGGAGAACCCTCAAG  
ValValGlnHisSerGlnLeuAlaAlaAlaValGluAsnLeuLys

541 AACATCTTCTCAGTGCCTGAGATTNTGAGGGAGACCCAGGACCTA  
AsnIlePheSerValProGluIle---ArgGluThrGlnAspLeu

586 ATTGAACAAGGGGCACTCCTGCAAGCCCACGGGAAGCTGATGGA  
IleGluGlnGlyAlaLeuLeuGlnAlaHisArgGluAlaAspGly

631 CCTGGAGTCTCCCGGACGGCTGATGTACGAGCAGTACCCGATG  
ProGlyValLeuProGlyArgLeuMetTyrGluGlnTyrArgMet

676 GACAGTGGGAACACGGCTGACATGACCCCTCATCCATGGCTACTTT  
AspSerGlyAsnThrArgAspMetThrLeuIleHisGlyTyrPhe

721 GGCAGCACCCAGGGGCTCTCTGATGAGCTGGCTAAGCAGCTGTGG  
GlySerThrGlnGlyLeuSerAspGluLeuAlaLysGlnLeuTrp

766 ATGGTGCTGCAGAGGTCACTGGTCACTGTCCGCCGTGACCCACCC  
MetValLeuGlnArgSerLeuValThrValArgArgAspProThr

811 TTGCTGGTCTCAGTTGTTCAGGATCATTGAAAGGGGAAGAGAAAATT  
LeuLeuValSerValValArgIleIleGluArgGluGluLysIle

856 GACAGGGGCATACTTGACCGGAAAAAGCAAACCTGGCTTTGTTCCT  
AspArgArgIleLeuAspArgLysLysGlnThrGlyPheValPro

901 CCTGGGAGGCCCAAGAATTGGAAGGAGAAAATGTTACCATCTTG  
ProGlyArgProLysAsnTrpLysGluLysMetPheThrIleLeu

946 GAGAGGACTGTGACCACCAGAATTGAGGGCACACAGGCAGATACC  
GluArgThrValThrThrArgIleGluGlyThrGlnAlaAspThr

991 AGAGAGTCTGACAAGATGTGGCTTGTCCGCCACCTGGAAATTATA  
ArgGluSerAspLysMetTrpLeuValArgHisLeuGluIleIle

1036 AGGAAGTACGTCCTGGATGACCTCATTGTCCGCAAAAACCTGATG  
ArgLysTyrValLeuAspAspLeuIleValAlaLysAsnLeuMet

1081 GTTCAGTGCTTTCCCTCCCACTATGAGATCTTTAAGAACCCTCCTG  
ValGlnCysPheProProHisTyrGluIlePheLysAsnLeuLeu

(1つ目のつぎ)

1126 AACATGTACCACCAAGCCCTGAGCAGCGGATGCAGGACCTCGCA  
AsnMetTyrHisGlnAlaLeuSerThrArgMetGlnAspLeuAla

1171 TCGGAAGACCTGGAAGCCAATGAGATCGTGAGCCTCTTGACGTGG  
SerGluAspLeuGluAlaAsnGluIleValSerLeuLeuThrTrp

1216 GTCTTAAACACCTACACAAGGTAAAGCTAACCTGGCGCCTGTGT  
ValLeuAsnThrTyrThrArg (SEQ ID NO:12)

1261 GGCTC (SEQ ID NO:11)

(SEC7)

本発明に従うSEC7核酸およびポリペプチドは、4418354.0.9.の核酸およびコードされたポリペプチド配列を含む。

【0071】

SEC7は、その5'末端において、SEC6(上記参照のこと)と同一であるが、3'末端においてかなり伸長される。SEC7ポリペプチドは、PSORTプログラムにより、0.6500の確実性で細胞質に局在化することが推定される。

【0072】

クローン4418354.0.9によりコードされるポリペプチドは、620残基のうちの528残基(85%)が755残基のラットタンパク質(ACC:Q62825)のフラグメントと同一であり、そして620残基のうちの546残基(88%)が陽性である。それはまた、471残基のヒトホモログ(SPTREMBL:O60645)における、330残基に対して100%の同一性を有する。クローン4418354.0.9のタンパク質はまた、米国特許第5,989,818号に開示される754個のアミノ酸残基を有するヒトタンパク質小胞輸送タンパク質に対して、620残基のうち555残基(89%)の同一を示し、そして620残基のうち560残基(90%)が陽性を示す。この相同性に基づくと、本発明に従うSEC7は、細胞増殖抑制活性、免疫調節活性および神経保護(neuroprotective)活性を示すことが予期される。このポリヌクレオチドおよびそこにコードされるタンパク質は、癌、神経変性(

neurodegenerative) 障害および免疫障害の処置のために使用され得る。

【0073】

4418354.0.9 核酸およびコードされるポリペプチドは、以下の配列を有する：

【0074】

【化8】

```
1  AAAAAAAAAAAAAAAAAAAGCGGCCGCTGAATTCTAGGCGGC
46  GCGCGCGCGCGCGCGCGCGCGCGCGCGTAGCCGTAGAGGTGCAC
91  AGAGAACACCCCTAGCATGAACAGTGTGAGGATTCCACCAGCTTT
136 TTCACCATGAAGGAGACAGACCGGAGGCCGTTGCGACAGCAGGT
    MetLysGluThrAspArgGluAlaValAlaThrAlaGly
```

(178のつぎ)

181 GCAAAGGGTTGCTGGGATGCTCCAGCGCCCGGACCAGCTGGACAA  
AlaLysGlyCysTrpAspAlaProAlaProGlyProAlaGlyGln

226 GGTGGAGCAGTATCGCAGGAGAGAAGCGCGGAAGAAGGCCTCCGT  
GlyGlyAlaValSerGlnGluArgSerAlaGluGluGlyLeuArg

271 GGAGGCCANGAATTTGAAGAGAGCGGATCTGAAAGCTCAGGTGCC  
GlyGly---GluPheGluGluSerGlySerGluSerSerGlyAla

316 CGATTCTGTCTGTGGGTGAGCCGTCCTGGGGCCAGTTGTGGTG  
ArgPheCysProValGlyGlnProSerTrpGlyGlnValValVal

361 CTGCGCACAGGCCTCAGCCAGCTCCACAACGCCCTGAATGACGTC  
LeuArgThrGlyLeuSerGlnLeuHisAsnAlaLeuAsnAspVal

406 AAAGACATCCAGCAGTCCGCTGGCAGACGTCAGCAAGGACTGGAGG  
LysAspIleGlnGlnSerLeuAlaAspValSerLysAspTrpArg

451 CAGAGCATCAACACCATTGAGAGCCTCAAGGACGTCAAAGACGCC  
GlnSerIleAsnThrIleGluSerLeuLysAspValLysAspAla

496 GTGGTGACGACAGCCAGCTCGCCCGCAGCCGTTGGAGAACCTCAAG  
ValValGlnHisSerGlnLeuAlaAlaAlaValGluAsnLeuLys

541 AACATCTTCTCAGTGCCTGAGATTNTGAGGGAGACCCAGGACCTA  
AsnIlePheSerValProGluIle---ArgGluThrGlnAspLeu

586 ATTGAACAAGGGGCACTCCTGCAAGCCCACCGGAAGCTGATGGA  
IleGluGlnGlyAlaLeuLeuGlnAlaHisArgGluAlaAspGly

631 CCTGGAGTGCTCCCGGACGGCTGATGTACGAGCAGTACCGCATG  
ProGlyValLeuProGlyArgLeuMetTyrGluGlnTyrArgMet

676 GACAGTGGGAACACGCGTGACATGACCCTCATCCATGGCTACTTT  
AspSerGlyAsnThrArgAspMetThrLeuIleHisGlyTyrPhe

721 GGCAGCACGACAGGGCTCTCTGATGAGCTGGCTAAGCAGCTGTGG  
GlySerThrGlnGlyLeuSerAspGluLeuAlaLysGlnLeuTrp

766 ATGGTGCTGCAGAGGTCACTGGTCACTGTCCCGCTGACCCACC  
MetValLeuGlnArgSerLeuValThrValArgArgAspProThr

(18の7のき)

811 TTGCTGGTCTCAGTTGTCAGGATCATTGAAAGGGAGAGAAAATT  
LeuLeuValSerValValArgIleIleGluArgGluGluLysIle

856 GACAGGCGCATACTTGACCGGAAAAGCAAACCTGGCTTTGTTTCCT  
AspArgArgIleLeuAspArgLysLysGlnThrGlyPheValPro

901 CCTGGGAGGCCCAAGAATTGGAAGGAGAAAATGTTCCACCATCTTG  
ProGlyArgProLysAsnTrpLysGluLysMetPheThrIleLeu

946 GAGAGGACTGTGACCACCAGAATTGAGGGCACACAGGCAGATAACC  
GluArgThrValThrThrArgIleGluGlyThrGlnAlaAspThr

991 AGAGAGTCTGACACAGATGTGGCTTGTCGCCACCTGGAAATTATA  
ArgGluSerAspLysMetTrpLeuValArgHisLeuGluIleIle

1036 AGGAAGTACGTCCTCGATGACCTCATGTGCGCAAAAACCTGATG  
ArgLysTyrValLeuAspAspLeuIleValAlaLysAsnLeuMet

1081 GTTCAGTGCTTTCCTCCCACTATGAGATCTTTAAGAACCTCCTG  
ValGlnCysPheProProHisTyrGluIlePheLysAsnLeuLeu

1126 AACATGTACCACCAAGCCCTGAGCACCGGATGCAGGACCTCGCA  
AsnMetTyrHisGlnAlaLeuSerThrArgMetGlnAspLeuAla

1171 TCGGAAGACCTGGAAGCCATGAGATCGTGAGCCCTCTTGACGTGG  
SerGluAspLeuGluAlaAsnGluIleValSerLeuLeuThrTrp

1216 GTCTTAAACACCTACACAACTACTGAGATGATGAGGAACGTGGAG  
ValLeuAsnThrTyrThrSerThrGluMetMetArgAsnValGlu

1261 CTGGCCCCGGAAGTGGATGTCGGCACCCCTGGAGCCATTGCTTCT  
LeuAlaProGluValAspValGlyThrLeuGluProLeuLeuSer

1306 CCACACGTGGTCTCTGAGCTGCTTGACACGTACATGTCACGCTC  
ProHisValValSerGluLeuLeuAspThrTyrMetSerThrLeu

1351 ACTTCAAACATCATCGCCTGGCTGCGGAAAGCGCTGGAGACAGAC  
ThrSerAsnIleIleAlaTrpLeuArgLysAlaLeuGluThrAsp

1396 AAGAAAGACTGGGTCAAAGAGACAGAGCCAGAAGCCGACCAGGAC

(イヒ8のつぎ)

LysLysAspTrpValLysGluThrGluProGluAlaAspGlnAsp

1441 GGGTACTACCAGACCACACTCCCTGCCATTGTCTTCCAGATGTTT  
GlyTyrTyrGlnThrThrLeuProAlaIleValPheGlnMetPhe

1486 GAACAGAATCTTCAAGTTGCTGCTCAGATAAGTGAAGATTTGAAA  
GluGlnAsnLeuGlnValAlaAlaGlnIleSerGluAspLeuLys

1531 ACAAAGGTACTAGTTTTATGTCTTCAGCAGATGAATCTTTCCCTA  
ThrLysValLeuValLeuCysLeuGlnGlnMetAsnSerPheLeu

1576 AGCAGATATAAGATGAAGCGCAGCTGTATAAAGAAGAGCACCTG  
SerArgTyrLysAspGluAlaGlnLeuTyrLysGluGluHisLeu

1621 AGBAATCGGCAGCACCCCTCACTGCTACGTTCACTACATGATCGCC  
ArgAsnArgGlnHisProHisCysTyrValGlnTyrMetIleAla

1666 ATCATCAACCACTGCCAGACCTTCAAGGAATCCATAGTCAGTTTA  
IleIleAsnAsnCysGlnThrPheLysGluSerIleValSerLeu

1711 AAAAGAAAGTATTTAAGAATGAAGTGAAGAGGGTGTGTCTCCG  
LysArgLysTyrLeuLysAsnGluValGluGluGlyValSerPro

1756 AGCCAGCCCGCATGGACGGGATTTTAGACGCCATCGCGAAGGAG  
SerGlnProSerMetAspGlyIleLeuAspAlaIleAlaLysGlu

1801 GGCTGCAGCGGTTTGCTGGAGGAGTCTTCCTGGACCTGGAGCAA  
GlyCysSerGlyLeuLeuGluGluValPheLeuAspLeuGluGln

1846 CATCTGAATGAATTGATGACGAGAAGTGGCTATTAGGGTCAAAC  
HisLeuAsnGluLeuMetThrLysLysTrpLeuLeuGlySerAsn

1891 GCTGTAGACATTATCTGTGTCACCGTGGAAAGACTATTTCAACGAT  
AlaValAspIleIleCysValThrValGluAspTyrPheAsnAsp

1936 TTGCCAAAATTAAGCCGTATAAGAAGAGGATGACGGCCGAG  
PheAlaLysIleLysLysProTyrLysLysArgMetThrAlaGlu

1981 GCGCACCGCGCGTGGTGGTGGAGTACCFGCGGGCGGTCATGCA  
AlaHisArgArgValValValGlyValProAlaGlyGlyHisAla

(118のつぎ)

2026 GAAGCGCATTTCCTTCCGGAGCCCGGAGGAGCGCAAGGAGGGTGC  
GluAlaHisPheLeuProGluProGlyGlyAlaGlnGlyGlyCys

2071 CGAGAAGATGGTTAGGGAGGCAGAGCAGCGCGCTTCTGTTCGG  
ArgGluAspGly (SEQ ID NO:14)

2116 GAAGCTGGCGTCCGGTTTCGGGGAAGACGTGGACGGATACTGCGA  
2161 CACCATCGTGGCTGTGGCCGAAGTGATCAAGCTGACAGACCCTTC  
2206 TCTGCTCTACCTGGAGGTCTCCACTCTGGTCAGCAAGTATCCAGA  
2251 CATCAGGGATGACCACATCGGTGCGCTGCTGGCTGTGCGTGGGA  
2296 CGCCAGCCGTGACATGAAGCAGACCATCATGGAGACCCTGGAGCA  
2341 GGGCCCAGCACAGGCCAGCCCAGCTACGTGCCCTCTTCAAGGA  
2386 CATGTGGTCCCAGCCTGAACGTGGCCAAAGCTGCTCAAGTAGCC  
2431 TCCGCGGCTGCCCCTGCTGCGCCCTCCACAGCCTCGGTCCCTGC  
2476 CTTTAGAAACCGGGACAGCTGATTGCTCTCCTTGGCCACACGTG  
2521 CTCCTTTAGCTGCACGGCCCTGTCTTTAGGTGCCAGTGTGATGCA  
2566 CCGGGTGTGCGTCCAGTGAAGCCTCCCGAGGCCACGTGCGGAGGCC  
2611 CCTCACTGTGCTGTCAAAGCCCTGTGGGTGCAGGGCTCTGCCGCA  
2656 CAGCCTCTCTTGGGTGCTTGTGTTGTCAGTGTGAAAGTGTGT  
2701 GGGGCACAGAGGACGTGCACCTCCCTGCCCCTCCTCCTCCCTGGGC  
2746 CTTCAACCGCACCCCATCTGCTTAAGTGTGCGGAACCCCGTCACT  
2791 AATTAAAGTTTCTCGGCTTCCTCAGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA (SEQ ID NO:13)

(SEC8)

本発明に従うSEC8核酸およびポリペプチドは、6779999.0.31の核酸およびコードされたポリペプチド配列を含む。

【0075】

開示されたSEC8ポリペプチドは、プログラムSignalPにより、配列ARC-LVにおいて、残基30と31との間に最も見込みのある切断部位を有する、シグナルペプチド有するということが推定される。開示されたSEC8核酸は、小脳および精巣組織において発現される。

【0076】

本発明に従う6779999.0.31核酸および対応するポリペプチドは、以下の配列を有する：

【0077】

【化9】

1 CTATTTTGTATGGCCCTACCACTACAAGTATTTCTACATTCTT  
46 AAAGGTAATGGGAAAAACACAATAAGAATATATGCTAGACAC  
91 TGTAAGTGGGACACAAAGCCTCAACTATTTGCCATCTGTCCTGTT  
136 ACATAATTAATCCACTATTACCTATGTTTATTAGATTAATTATAC  
181 TTCTAGAAGTCTGTTCAGAGGCAAATAATCAGATATGGGCGGACTA  
226 AAGACTGATGAAATGGACAGACATACTCAGCAAGAACTTAGAGTG  
271 AACTTATATTTCTAACAGTAATGGAGTGGACAGTCATAAGACATT

(119の73)

316 CATAACAGTAAAACTATTTTCTAGAAATAATGAAATAGAGAAATGT  
 361 TCCTAATGAAGTATAAGATGTAAAACTGTATATGGAATATACTGT  
 406 ACATCAAGGAAAGACTGCAAGGAGATAAATATTCAAGTGCTTACT  
 451 CTGAATGTTAGACTTATAGGTGATTTTTTAATTTTTTAATGCTTT  
 496 TTCATGTTATCTCAGCTTCTTAGTTTTGATCTTATAATCAAAGAA  
 541 AAAAACATATCTTTGCTCCTTCTGTTATGGCCACTAAAAGAATAT  
 586 GAAGAAAGCTGCGTGTGGTGTTCATGCCTGTAGTCCCAGCTATT  
 631 TGGGAGACTGAGGCAAGAGGATTGCTTGAGCCCAGGAATTCTAAT  
 676 CCAGCTTGGGTAATATAACAAGACACTGTCTCTAAAAAAAAGTT  
  
 721 AAATAATTA AAAATTAAAAAAGAAAAAAGAACGAAGAGACATGA  
 Meta  
 766 GAGTTGAGAAAATAAAGAACCCCTTTGAGGAATGTGTCTCTGTTAT  
 rgValGluLysIleLysAsnProLeuArgAsnValSerLeuLeup  
  
 811 TCATCTTCATATATATCCAGTGCCAGACATTAGCTAGGTGCTTGG  
 heIlePheIleTyrIleGlnCysGlnThrLeuAlaArgCysLeuV  
  
 856 TAAACATTTGTTTTAAAGAATGGGCAACTAGGTGCGTAATATGAAA  
 alAsnIleCysLeuLysAsnGlyGlnLeuGlyArgGluTyrGluL  
  
 901 AACTGCTCAGCCTCAAAGAGATGCAAATTCAAATTATATATAATT  
 ysLeuLeuSerLeuLysGluMetGlnIleGlnIleIleTyrAsnP  
  
 946 TTCCCATATCAAATTAGCAAATATTTTGTTTTAATAAAAATCTTT  
 heProHisIleLysLeuAlaAsnIleLeuPheAsnLysAsnSerC  
  
 991 GTTGTGTTTTTTTTTAAGTTGGATTTTTTTGGAGATATAAATTGA  
 ysCysValPhePheLeuSerTrpIlePheLeuGluIle (SEQ ID NO:16)  
  
 1036 CATATAATAAAAATTCACCCTTTTTACAAATGTACAGTTTGATGCA  
 1081 TTTTGAAAAGCTGGATAATTGTGTAACCATGGCCACTATCAAGACA  
 1126 GGGAACTCTCCCATTTCCATCACCCTAAAATGTCCCCTGTACTC  
 1171 CATTCTCTCTCTTACTCCTAATACCATGCTGTCACTACTTTG  
 (SEQ ID NO:15)

(SEC9)

本発明に従うSEC9核酸およびポリペプチドは、8484782.0.5の核酸配列およびコードされるポリペプチド配列を含む。

【0078】

SEC9のポリペプチドは、核に位置付けられることが、PSORTプログラムによって、0.7600の確実性で推定されている。

【0079】

開示されたSEC9ポリペプチドは、768残基のヒト ヒレグリン(SPTREMBL-ACC:O14667)に対して同一な172残基のうちの109残基(63%)を有し、そして768残基のヒト ヒレグリン(SPTREMBL-ACC:O14667)とポジティブな172残基のうちの132残基(76%)を有する。SEC9ポリペプチドは、768残基のヒト ヒレグリン(PCT公開WO98/02541)に対して同一な172残基のうちの109残基(63%)を有し、そして768残基のヒト ヒレグリン(PCT公開WO98/02541)とポジティブな172残基のうちの132残基(76%)を有することが見出された。

【0080】

開示されたSEC9核酸は主に、副腎において発現され、そして中程度に、脳の組織において発現される。

【0081】

8484782.0.5核酸およびコードされるポリペプチドは、以下の配列を有する：

【0082】

【化10】

1 GAGAAAGGAGATTAAAAATAACCTCTGGATATTCCTCTCATGTGA  
 46 TCTTTATTCTGGATGAAGCATTAGGACAGCTAATAGCCGTGTGTC  
 91 ACTGTGTGATTTCTTCCTAAGACTAAGGACCCATCATTTTAGTG  
 136 CPACCTTCTTCATTTAAATGGAGAGTTGTAATTGCCAATGCTCAC  
 181 AGCTACTCCTGCTCCGGCAATTTGCTGCCAGAAGTGTGTTTTCTT  
 226 TTTTAAAAGGCAGTAAATTCAAGATGTTGTGGTGGATGTAGATT  
 271 TTGCTGCAAGGAAATAACAGCTGGTGTATGGAATTTCAATCTTTTG  
 316 ACTTCTAGATTGCCTGTGAAGAGCTGCTTCCTCGGAAGAGCACCC  
 361 TAAGGCTGGGTGGCCACTATCCTTTGCCCTTGGCAGAGCCAGCCAG  
 406 AAGGCCTAGGCACAACCCGCTGTGTTTGCTGACAGCCAACCTACC  
 451 CTGGAGTTCGGAGCGGCTTCCTAGGAAGACTGGGGAGCGGTAGA  
 496 AAAATGGCTCTGCTGAGATGAGCTCTTAATTAATGCACTGAGAGC  
 541 CTGCAAGTCCCACCTCTCAACAGGAATGATTGACGTCCAAGGATA  
 586 CATAAATTACACTAACTGAGCTCTGCCTCTATATAAGCTTTCCAC  
 631 ATCCAACCTCAGAGAAGCTAGGCTTGTACCATAACCAATACCC  
 676 CTGCTTGGCAACTCTAATGAGCAAAC TGCCGCAAATTTGAGAGAG  
 721 AACACACCTTTTTGATTTCTGCTCTTCTAAGACACAGTGATTTA  
 766 GAATTTCTGTTCAAGCAAGAGA ACTAAGACTTCTTTAAGAAGA  
 811 GAAGAGAGGCCAATGAGACTTGAACCCTGAGCCTAAGTTGTCACC  
  
 856 AGCAGGACTGATGTGCACACAGAAGGAATGAAGTATGGATGTGAA  
 MetAspValLy  
  
 901 AGAACGCAGGCCTTACTGCTCCCTGACCAAGAGCAGACGAGAGAA  
 sGluArgArgProTyrCysSerLeuThrLysSerArgArgGluLy  
  
 946 GGAACGGCGCTACACAAATTCCTCCGCAGACAATGAGGAGTGCCG  
 sGluArgArgTyrThrAsnSerSerAlaAspAsnGluGluCysAr  
  
 991 GGTACCCACACACAACCTCCTACAGTTCAGCGAGACATTGAAAGC  
 gValProThrHisAsnSerTyrSerSerSerGluThrLeuLysAl  
  
 1036 TTTTGATCATGATTCCTCGCGGCTGCTTTACGGCAACAGAGTGAA  
 aPheAspHisAspSerSerArgLeuLeuTyrGlyAsnArgValLy

(10のつぎ)

1081 GGATTTGGTTCACAGAGAAGCAGACGAGTTCACTAGACAAGGACA  
sAspLeuValHisArgGluAlaAspGluPheThrArgGlnGlyG1

1126 GAATTTTACCCTAAGGCAGTTAGGAGTTTGTGAACCAGCAACTCG  
nAsnPheThrLeuArgGlnLeuGlyValCysGluProAlaThrAr

1171 AAGAGGACTGGCATTTTGTGCGGAAATGGGGCTCCCTCACAGAGG  
gArgGlyLeuAlaPheCysAlaGluMetGlyLeuProHisArgG1

1216 TTACTCTATCAGTGCAGGGTCAGATGCTGATACTGAAAATGAAGC  
yTyrSerIleSerAlaGlySerAspAlaAspThrGluAsnGluAl

1261 AGTGATGTCCTCCAGAGCATGCCATGAGACTTTGGGGCAGGGGGTT  
aValMetSerProGluHisAlaMetArgLeuTrpGlyArgGlyPh

1306 CAAATCAGGCCGCAGCTCCTGCCTGTCAAGTCGGTCCAACCTCAGC  
eLysSerGlyArgSerSerCysLeuSerSerArgSerAsnSerAl

1351 CCTCACCTGACAGATACGGAGCACGAAAACAAGTCCGACAGTGA  
aLeuThrLeuThrAspThrGluHisGluAsnLysSerAspSerG1

1396 GAATGGAGGGTCAAGCAGTTGGTTCGGTTTTTCATTGGAATTTTA  
uAsnGlyGlySerSerSerTrpPheGlyPheHisTrpAsnPheTy

1441 TGTGAGTAAAGCTTCTGTFTGCTGCGCTGCCTAGGATTTTCTT  
rValSerLysAlaSerCysLeuLeuArgLeuProArgIlePheLe

1486 ATCCCACAAC TACAATGTGAACAAAGAGATGAGAGAGAATTATG  
uSerHisAsnTyrAsnValAsnLysGluMetArgGluLysLeuCy

1531 CTAATGCATTTTGGTGGATCAAATGAGTGTTCATGAGACAACTC  
s (SEQ ID NO:18)

1576 AAATTTTGTAGCTATATGGTGTGGAATATAATTTCAAAGACA

1621 ACTAAGCCCTAAAATAGGAGATTTATTTAAAACATAACTTTTCCT

1666 TGAATGAAAGGATGTTTTTGTTCCTTCTCTGACAAATATGATTTG

1711 AGAATAAAAGACCTGCCCGGGCAGCCGCTCGAGCCCTATAGTGAG  
(SEQ ID NO:17)

## (SEC10)

本発明に従うSEC10核酸およびポリペプチドは、16399139.S1  
24Aの核酸配列およびコードされるポリペプチド配列を含む。開示されるSEC  
C10ポリペプチドは、ミトコンドリアマトリクス空間に位置付けられることが

、PSORTプログラムによって、0.8044の確実性で推定されている。プログラムSignalPによって、VSS-VMの配列において、残基18と19との間に推定切断部位を有するシグナルペプチドが存在することが推定されている。

【0083】

SEC10ポリペプチドは、ヒト配列KIAA0976 (SPTREMBL-ACC:Q9Y2I2)によってコードされる364残基のタンパク質に対して同一な363残基のうちの361残基(99%)を有し、そしてヒト配列KIAA0976 (SPTREMBL-ACC:Q9Y2I2)によってコードされる364残基のタンパク質とポジティブな363残基のうちの362残基(99%)を有する。

【0084】

16399139.S124A核酸およびコードされるポリペプチドは、以下の配列を有する：

【0085】

【化11】

```

1      GTGATGGTGTATGACCGGTACCGGTAGAAATCGAGACCCAGGAGAGGGTTAGGGATAGGCTTACCTTCGAAACCGCGGGC
81     CCTCTAGACTCGAGCGGCGCCACTGTGCTGGATATCTGCAGAAATGGCCCTTAGATCTCCACCAATGATTTTGTCAAGATT
161    CCTGTGATTCATGCCCCCTTGGGGCTACGGTGTCTCAGTGTATGCAGCCCTACCCCTTGGTTTGGGGACATTATGATTTGT
241    GTAGACTCAGATTACACGGAAGAAGGSAAGTTTGGGATTACATGGCCCTGCCAGCCGGAATCCACGGAATGACAAAA
321    TATCTGAAAGTGAAGTCCGATCCTCCGGATATTACCTGTGGAGACCCCTCCTGAGACGTTCTGTGCAATGGGCAATCCCTA
401    CATGTGCAATAATGAGTGTGATGCGAGTACCCCTGAGCTGGCACACCCCTGAGCTGATGTTTGGATTTTGAAGGAAGAC
481    ATCCCTCCACATTTTGGCAGTCTGCCACTTGGGAAGGAGTATCCCAAGCCCTCCAGGTTAACATCACTCTGTCTTGGAGC
561    AAAACCATTGAGCTAACAGACAACATAGTTATTACCTTTGAACTCTGGGCGTCCAGACCAATGATCCTGGAGAAGTCTCT
641    CGATTATGGACGAACATGGCCGCCCTATCAGTATTATGCCACAGACTGCTTAGATGCTTTTCCATGGATCCTAAATCCG
721    TGAAGGATTATCACAGCATACGGTCTTAGAAATCATTGTGCAGAGAGTACTCAAAGGGTATACAACAAATAGCAA
801    ATAATCCACITTTGAAATCAAAGACAGGTTGCGGTTTTTTGTGGACCTCGCCTACGCAATATGGCTTCCCTCTACGGACA
881    GCTGGATACAAACGAAACTCAGAGATTTCTTTACAGTACAGACCTGAGGATAAGGCTGTTAAGACCAGCCGTTGGGG
961    AAATATTTGTAGATGAGCTACACTTGGCAGCTACTTTTACGCGATCTCAGACATAAAGGTGCGAGGAAGGTGCAAGTGT
1041   AATCTCCATGCCACTGTATGTGTATGACCAACGAAATGACATGCGAATGTGAGCAACAACACTACAGGTCCAGACTG
1121   TGGGAAATGCAAGAAGATTATCAGGGCCGACCTTGGAGTCCAGGCTCCTATCTCCCATCCCAAGGCCTGCAATA
1201   CCTGTATCCCCAGTATTTCCAGTATTTGGTACGAATGTCTGGCACAACGAGCTCCTGCACTGCCAGAACGGAGGGACGTGC
1281   CACAACAACGTGCGCTGCTGTGCCCGGCCGATACACGGGCATCCTCTGCGAGAAGCTGCGGTGCGAGGAGGCTGGCAG
1361   CTGCGGCTCCGACTCTGGCCAGGGCCGCGCCCGCACGGCTCCCTCAGAGAAGGGCAATTCACCACACTGGACTAGTGGAA
1441   TCCGAGCTCGGTACCAAGCTTAACTAGCCAGCTTGGGTCTCCCTATAGTGTGATTAATTTGATAAGCCAGTAAAGC
1521   AGTGGGTTCTCTAGTTAGCCAGAGACTCTGCTTATATAGACTCCACCGTACACGCTTACAA (SEQ ID NO: 19)

```

```

..1   MYLSRFLSIHALWATVSSVMQPYPLVNGHYDLCKTQIYTEEGKVWDYMACQPESTDMTKYLKVKLDPDITCGDPPETFC
81    AMGNPYMCNNECDASTPELAHPPELMFDFEGRHPSFVQWQSATWKEYPKPLQVNTITLSWSKTIELTDNIVITFESGRPDQM
161   ILEKSLDYGRTHQPYQYATDCLDAFHMDPKSVKDLQHTVLEIICTEYSTGYTTNSKIIHFEIKDRFAFFAGPRLRNM
241   ASLYGQLDITTKLRDFFVTDLRIRLLRPAVGEIFVDELHLARYFYAISDIKVRGRCKNLHATVQVYDNSKLTCECEHN
321   TTGPDGCKKKNYQGRPNWSPGSLPIPKGTANTCIPSISSIGTIVCDNELLHCQNGGTCHNVRCCLCPAAYTGILCEKLR
401   CEEAGSCGSDSQGAPPHGSLERGNSTTLD (SEQ ID NO: 20)

```

### (SECX核酸)

本発明の新規な核酸は、SECXもしくはSECX様タンパク質、またはそれらの生物学的に活性な部分をコードする核酸を含む。この核酸としては、配列番号 $2n$ （ここでは、 $n = 1 \sim 20$ ）のうちの1つ以上のアミノ酸配列を含むポリペプチドをコードする核酸が挙げられる。従って、コードされるポリペプチドは、例えば、配列番号2、4、...、16、および/または20のアミノ酸配列を含み得る。

### 【0086】

いくつかの実施形態では、配列番号 $2n$ （ここでは、 $n = 1 \sim 20$ ）のうちの1つ以上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 $2n - 1$ （ここでは、 $n = 1 \sim 20$ ）のいずれか、またはそれらのフラグメントの核酸配列が含まれる。さらに、本発明は、配列番号 $2n - 1$ （ここでは、

$n = 1 \sim 20$ ) のいずれかの変異体核酸もしくは改変体核酸、またはそれらのフラグメントを含み、これらの塩基のいずれも、開示された配列から変更され得るが、なおそのSECX様活性および生理的機能を維持するタンパク質をコードする。本発明はさらに、配列番号  $2n - 1$  (ここでは、 $n = 1 \sim 20$ ) のいずれかの核酸配列の相補体(それらのフラグメント、誘導體、アナログ、およびホモログを含む)を含む。本発明はさらに、構造が化学的改変を含む、核酸もしくは核酸フラグメント、またはそれらの相補体を含む。

【0087】

また、SECX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のため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)プライマーとしての使用のためのフラグメントを包含する。本明細書において使用される場合、用語「核酸分子」とは、DNA分子(例えば、cDNAまたはゲノムDNA)、RNA分子(例えば、mRNA)、それらのヌクレオチドアナログおよび誘導體、フラグメントおよびホモログを使用して生成されるDNAもしくはRNAのアナログを含むことを意図する。この核酸分子は、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。

【0088】

「プローブ」とは、可変の長さの核酸配列をいい、好ましくは、用途に依存して、少なくとも約10ヌクレオチド(nt)、100nt、または例えば、約6,000ntも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緩慢にハイブリダイズする。プローブは、一本鎖であっても二本鎖であってもよく、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得る。

【0089】

「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、異種宿主細胞中で維持される組換えDNA分子、部分的または実質的に精製された核酸分子、および合成の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体のゲノム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中の核酸分子に天然で隣接するヌクレオチド配列の約50kb、25kb、5kb、4kb、3kb、2kb、1kb、0.5kb、または0.1kb未満を含み得る。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に、他の細胞物質または培養培地を実質的に含まないものであり得るか、または化学的に合成される場合に、化学物質前駆体もしくは他の化学物質を実質的に含まないものであり得る。

#### 【0090】

本発明の核酸分子（例えば、配列番号2n-1（ここでは、n=1~20）のヌクレオチド配列またはこれらのヌクレオチド配列の任意の相補体を有する核酸分子）は、標準的な分子生物学的技術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2n-1（ここでは、n=1~20）の任意の核酸配列のすべてまたは部分を用いて、SECX核酸配列を、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に記載されるような）を用いて単離し得る。

#### 【0091】

本発明の核酸は、標準的なPCR増幅技術に従って、テンプレートとしてcDNA、mRNAあるいはゲノムDNAを使用し、そして適切なオリゴヌクレオチ

ドプライマーを使用して増幅され得る。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得、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。

#### 【0092】

本明細書で用いられる場合、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反応で用いられるに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配列を基礎にし得るか、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、類似または相補的なDNAまたはRNAを増幅し、確認し、またはその存在を明らかにするために用いられる。オリゴヌクレオチドは、約10nt、50nt、または100ヌクレオチドの長さ、好ましくは約15ヌクレオチド~30ヌクレオチド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、100ヌクレオチド未満の長さの核酸分子を含むオリゴヌクレオチドが、さらに、配列番号 $2n-1$ （ここでは、 $n=1\sim 20$ ）またはその相補体の中の少なくとも6個連続したヌクレオチドを含む。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。

#### 【0093】

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 $2n-1$ （ここでは、 $n=1\sim 20$ ）のいずれかに示されるヌクレオチド配列に対して相補的な核酸分子を含む。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 $2n-1$ （ここでは、 $n=1\sim 20$ ）のいずれか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に対して相補的な核酸配列を含む。示されるヌクレオチド配列に対して相補的な核酸分子は、配列番号 $2n-1$ （ここでは、 $n=1\sim 20$ ）のいずれかに示されるヌクレオチド配列に対して十分に相補的であり（これは、配列番号 $2n-1$ （ここでは、 $n=1\sim 20$ ）のいずれかに示されるヌクレオチド配列に対してほとんどまたは全くミスマッチを有さずに、水素結合され得る）、それによって安定な二重鎖を形成するものである。

## 【0094】

本明細書で用いる場合、用語「相補的」は、核酸分子のヌクレオチド単位間のワトソン - クリック塩基対形成またはフーグスティーン型塩基対形成をいい、そして用語「結合」は、2つのポリペプチド間または化合物間または関連ポリペプチド間または化合物間またはそれらの組合せ間の物理的または化学的な相互作用を意味する。結合は、イオンの、非イオンの、ファン・デル・ワールスの、疎水の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別の化合物によるか、またはその影響に起因し得る。直接的結合は、別のポリペプチドもしくは別の化合物によらないか、またはその影響に起因せずに生じるか、あるいは他の実質的な化学的中間体を伴わない相互作用をいう。

## 【0095】

さらに、本発明の核酸分子は、配列番号  $2n - 1$  (ここでは、 $n = 1 \sim 20$ ) のいずれかの核酸配列の一部のみ (例えば、プローブもしくはプライマーとして使用され得るフラグメント、または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。本発明で提供されるフラグメントは、少なくとも6個の (連続する) 核酸または少なくとも4個の (連続する) アミノ酸の配列として規定され、それぞれ、核酸の場合特異的ハイブリダイゼーションを、またはアミノ酸の場合エピトープの特異的認識を可能にするに十分な長さであり、そして多くとも完全長配列より短い特定の部分である。フラグメントは、選択される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、直接的であるかまたは改変もしくは部分的置換による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と類似ではあるが、同一ではなく、特定の成分または側鎖に関してネイティブな化合物とは異なる構造を有する核酸配列またはアミノ酸配列である。アナログは、合成によるか、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であるかまたは反対の代謝活性を有し得る。

## 【0096】

誘導体またはアナログが、以下に記載のように、改変された核酸またはアミノ

酸を含む場合、この誘導体およびアナログは、完全長であっても完全長以外であってもよい。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としては、種々の実施形態において、同一サイズの核酸配列またはアミノ酸配列にわたってか、または整列された配列に対して比較される場合（ここで、整列は、当該分野において公知のコンピューター相同性プログラムによって実施される）に、少なくとも約70%、80%、85%、90%、95%、98%、または99%さえも同一（好ましい同一性は、80~99%）程度、本発明の核酸またはタンパク質に対して実質的に相同である領域を含む分子、あるいはストリンジентな条件、中程度にストリンジентな条件、または低ストリンジентな条件下で、上述のタンパク質をコードする配列の相補体に対してそのコード核酸がハイブリダイズし得る分子が挙げられるが、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。例示的なプログラムは、Gapプログラム（Wisconsin Sequence Analysis Package、UNIX（登録商標）用バージョン8、Genetics Computer Group、University Research Park、Madison、WI）（デフォルトパラメータを使用）であり、これは、SmithおよびWatermanのアルゴリズム（Adv. Appl. Math.、1981、2:482-489（これは、その全体において、本明細書中で参考として援用される））を使用する。

#### 【0097】

「相同な核酸配列」または「相同なアミノ酸配列」またはそれらのバリエーションは、上記で論議されたような、ヌクレオチドレベルまたはアミノ酸レベルの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じ生物の異なる組織中で発現され得る。あるいは、アイソフォームは異なる遺伝子によりコードされ得る。本発明では、相同なヌクレオチド配列は、哺乳動物を含むがそれに限定

されない、それ故、例えば、マウス、ラット、ウサギ、イヌ、ネコ、ウシ、ウマ、および他の生物を含み得る、ヒト以外の種の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、本明細書に示されるヌクレオチド配列の天然に存在する対立遺伝子改変体および変異を含むがこれらに限定されない。しかし、相同な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。相同な核酸配列は、配列番号 $2n$ （ここで、 $n = 1 \sim 20$ ）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。相同なアミノ酸配列は、ヒトSECXポリペプチドのアミノ酸配列をコードしない。

#### 【0098】

ヒトSECX遺伝子のクローニングから決定されるヌクレオチド配列は、開示された細胞型の同定、および/または例えば、他の組織由来の他の細胞型におけるSECXホモログ、ならびに他の哺乳動物由来のSECXホモログのクローニングにおける使用のために設計されたプローブおよびプライマーの生成を可能にする。代表的には、このプローブ/プライマーは、実質的に精製されたオリゴヌクレオチドを含む。代表的には、このオリゴヌクレオチドは、ストリンジェントな条件下で、配列番号 $2n - 1$ （ここで、 $n = 1 \sim 20$ ）の少なくとも約12、25、50、100、150、200、250、300、350または400以上の連続したセンス鎖ヌクレオチド配列にハイブリダイズするヌクレオチド配列；または配列番号 $2n - 1$ （ここで、 $n = 1 \sim 20$ ）のアンチセンス鎖ヌクレオチド配列；または配列番号 $2n - 1$ （ここで、 $n = 1 \sim 20$ ）の天然に存在する変異体の一領域を含む。

#### 【0099】

ヒトSECXヌクレオチド配列に基づくプローブを用いて、このタンパク質もしく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し得る。種々の実施形態において、このプローブは、それに結合した標識基をさらに含み、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、例えば、SECX mRNAレベルを検出

することにより、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によって、またはゲノムSECX遺伝子の変異もしくは欠失したか否かを決定することによって、SECXタンパク質を誤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用いられ得る。

#### 【0100】

「SECXの生物学的に活性な部分を有するポリペプチド」は、特定の生物学的アッセイで測定したとき、用量依存性を伴ってまたは用量依存性を伴わずに、成熟形態を含む本発明のポリペプチドの活性に類似する（が、必ずしも同一である必要はない）活性を示すポリペプチドをいう。「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の生物学的活性を有するポリペプチドをコードする配列番号 $2n - 1$ （ここで、 $n = 1 \sim 20$ ）の一部分を単離すること（SECXタンパク質の生物学的活性を表1にまとめる）、（例えば、インビトロでの組換え発現により）SECXタンパク質のコードされた部分を発現すること、およびSECXのコードされた部分の活性を評価することにより調製され得る。

#### 【0101】

（SECX改変体）

本発明はさらに、遺伝暗号の縮重に起因して、開示されたSECXヌクレオチド配列とは異なる核酸分子を包含する。従って、これらの核酸は、配列番号 $2n - 1$ （ここで、 $n = 1 \sim 20$ ）によって示されるヌクレオチド配列によってコードされるSECXタンパク質と同じSECXタンパク質をコードする。別の実施形態では、本発明の単離されたSECX核酸分子は、配列番号 $2n - 1$ （ここで、 $n = 1 \sim 20$ ）のいずれか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。

#### 【0102】

配列番号 $2n - 1$ （ここで、 $n = 1 \sim 20$ ）のいずれかに示されるSECXヌクレオチド配列に加えて、SECXのアミノ酸配列中の変化をもたらすDNA配列多型が集団（例えば、ヒト集団）内に存在し得ることが当業者に認識される。

S E C X 遺伝子における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で存在し得る。本明細書で用いられる場合、用語「遺伝子」および「組換え遺伝子」は、S E C X タンパク質、好ましくは哺乳動物 S E C X 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、S E C X 遺伝子のヌクレオチド配列において 1 - 5 % の分散を生じ得る。天然の対立遺伝子バリエーションの結果であって、そして S E C X の機能的活性を変えない、S E C X 中の任意の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および得られるアミノ酸多型は、本発明の範囲内にあることが意図される。

#### 【0103】

さらに、他の種由来の S E C X タンパク質をコードし、そしてそれ故、配列番号  $2n - 1$  (ここで、 $n = 1 \sim 20$ ) のいずれかのヒト配列とは異なるヌクレオチド配列を有する核酸分子が、本発明の範囲内に含まれることが意図される。本発明の S E C X 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、ヒト cDNA またはその一部分を、ストリンジент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法によるハイブリダイゼーションプローブとして用い、本明細書に開示されたヒト S E C X 核酸に対するそれらの相同性に基づいて単離され得る。

#### 【0104】

別の実施形態では、本発明の単離された核酸分子は、長さが少なくとも 6 ヌクレオチドであり、そしてストリンジентな条件下で、配列番号  $2n - 1$  (ここで、 $n = 1 \sim 20$ ) のいずれかのヌクレオチド配列を含む核酸分子にハイブリダイズする。別の実施形態では、この核酸は、長さが少なくとも 10、25、50、100、250、500 または 750 ヌクレオチドである。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。本明細書で用いられる場合、用語「ストリンジентな条件下でハイブリダイズする」は、その条件下で、互いに少なくとも 60 % 相同である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、ハイブリダイゼーションおよび洗浄のための条件を記載することを意図する。

## 【0105】

ホモログ（すなわち、ヒト以外の種に由来する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（paralog））は、核酸のハイブリダイゼーションおよびクローニングの分野において周知の方法を用い、プローブとして特定のヒト配列のすべてまたは一部分との、低、中程度または高ストリンジェンシーハイブリダイゼーションにより得られ得る。

## 【0106】

本明細書で用いられる場合、語句「ストリンジェ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、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、より短い配列よりも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、特定の配列についての熱融解点（ $T_m$ ）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、（規定されたイオン強度、pHおよび核酸濃度下で）平衡状態で標的配列にハイブリダイズする温度である。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ナトリウムイオン未満、代表的には約0.01~1.0Mナトリウムイオン（または他の塩）、そして短いプローブ、プライマーまたはオリゴヌクレオチド（例えば、10nt~50nt）について温度が少なくとも約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、不安定化剤の添加で達成され得る。

## 【0107】

ストリンジェントな条件は、当業者に公知であり、そしてAusubelら（編）、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、代表的には、

互いに少なくとも約65%、70%、75%、85%、90%、95%、98%、または99%相同な配列が、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。ストリンジेंटなハイブリダイゼーション条件の非制限的な例は、65における、6×SSC、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を含む高塩緩衝液における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は、50における0.2×SSC、0.01% BSA中の1回以上の洗浄が続く。配列番号2n-1 (ここで、n=1~20)のいずれかの配列にストリンジेंटな条件下で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。本明細書で用いられる場合、「天然に存在する」核酸分子は、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。

#### 【0108】

第2の実施形態では、配列番号2n-1 (ここで、n=1~20)のいずれかのヌクレオチド配列を含む核酸分子、またはそのフラグメント、アナログもしくは誘導体に、中程度のストリンジエンシーの条件下で、ハイブリダイズ可能である核酸配列が提供される。中程度のストリンジエンシーのハイブリダイゼーション条件の非限定的な例は、55における、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中のハイブリダイゼーション、続いて37における1×SSC、0.1% SDS中における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エ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。

#### 【0109】

第3の実施形態では、低ストリンジエンシーの条件下で、配列番号2n-1 (

ここで、 $n = 1 \sim 20$ ) のいずれかのヌクレオチド配列を含む核酸分子、またはそのフラグメント、アナログもしくは誘導体にハイブリダイズ可能であ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、40 における、35%ホルムアミド、 $5 \times \text{SSC}$ 、50mM Tris-HCl (pH7.5)、5mM EDTA、0.02% PVP、0.02% Ficoll、0.2% BSA、100mg/ml 変性サケ精子DNA、10% (wt/vol) デキストラン硫酸中のハイブリダイゼーション、続いて50 における $2 \times \text{SSC}$ 、25mM Tris-HCl (pH7.4)、5mM EDTA、および0.1% SDS中の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(例えば、クロススピーシーズ(cross-species)ハイブリダイゼーションについて用いられるように)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; ShiloおよびWeinberg、1981、Proc Natl Acad Sci USA 78:6789-6792を参照のこと。

#### 【0110】

(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、変化が、配列番号 $2n - 1$  (ここで、 $n = 1 \sim 20$ ) のいずれかのヌクレオチド配列中に変異により導入され得、それによってSECXタンパク質の機能的な能力を改変することなく、コードされたSECXタンパク質のアミノ酸配列中の変化に至ることを当業者はさらに認識する。例えば、「非必須」アミノ酸残基におけるアミノ酸置換に至るヌクレオチド置換は、配列番号 $2n - 1$  (ここで、 $n = 1 \sim 20$ ) のいずれかの配列中に作製され得る。「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るのに対し、「必須」アミノ酸残基は、生物学的活性に必要である。例えば、

本発明のSECXタンパク質間で保存されているアミノ酸残基は、特に変更されにくいことが予測される。

#### 【0111】

多数のSECXファミリーのメンバーのメンバー間で保存されているアミノ酸残基は、より変更されにくいことが予想される。例えば、本発明によるSECXタンパク質は、SECXファミリーのメンバーにおいて代表的に保存される領域である、少なくとも1つのドメイン（例えば、表1に示される通り）を含み得る。それゆえ、これらの保存されるドメインは、変異されやすいようではない。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ないかまたは半ば保存されるだけであるアミノ酸残基）は、活性に必須でなくともよく、従って、より変更されやすいようである。

#### 【0112】

本発明の別の局面は、活性に必須ではないアミノ酸残基中の変化を含む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、配列番号 $2n$ （ここで、 $n = 1 \sim 20$ ）のいずれかとは異なり、なお生物学的活性を保持する。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 $2n$ （ここで、 $n = 1 \sim 20$ ）のいずれかのアミノ酸配列に少なくとも約75%相同であるアミノ酸配列を含む。好ましくは、この核酸によりコードされるタンパク質は、配列番号 $2n$ （ここで、 $n = 1 \sim 20$ ）のいずれかに少なくとも約80%相同であり、より好ましくは少なくとも約90%相同であり、少なくとも約95%相同であり、少なくとも約98%相同であり、そして最も好ましくは配列番号2に対して少なくとも約99%相同である。

#### 【0113】

配列番号 $2n - 1$ （ここで、 $n = 1 \sim 20$ ）のいずれかのタンパク質に相同であるSECXタンパク質をコードする単離された核酸分子は、1つ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中に導入されるように、対応するヌクレオチド配列、すなわち、対応する $n$ について配列番号 $2n - 1$ 中に1つ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

得る。

#### 【0114】

変異は、標準的な技法、例えば、部位特異的変異誘発およびPCR媒介変異誘発により、配列番号 $2n - 1$ （ここで、 $n = 1 \sim 20$ ）のいずれかのヌクレオチド配列中に導入され得る。好ましくは、保存的アミノ酸置換は、1つ以上の予測された非必須アミノ酸残基において作製される。「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規定されている。これらのファミリーとしては、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、アスパラギン酸、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、スレオニン、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）、分岐側鎖を有するアミノ酸（例えば、スレオニン、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）が挙げられる。従って、SECX中の予測された非必須アミノ酸残基は、同じ側鎖ファミリーから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コード配列のすべてまたは一部分に沿って、例えば、飽和変異誘発によりランダムに導入され得、そして得られる変異体をSECX生物学的活性についてスクリーニングして、活性を保持する変異体を同定し得る。配列番号 $2n - 1$ （ここで、 $n = 1 \sim 20$ ）のいずれかの変異誘発の後、コードされたタンパク質は、当該分野で公知の任意の組換え技法により発現され得、そしてこのタンパク質の活性が決定され得る。

#### 【0115】

1つの実施形態では、変異体SECXタンパク質は、(1)他のSECXタンパク質、他の細胞表面タンパク質、またはその生物学的に活性な部分とタンパク質：タンパク質相互作用を形成する能力、(2)変異体SECXタンパク質とSECXリガンドとの間の複合体形成；(3)変異体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（例えばアビジンタンパク質）に結合する能力；（４）BRAタンパク質に結合する能力；または（５）抗SECXタンパク質抗体を特異的に結合する能力についてアッセイされ得る。

#### 【0116】

##### （アンチセンス）

本発明の別の局面は、配列番号 $2n-1$ （ここで、 $n=1\sim 20$ ）のヌクレオチド配列を含むSECX核酸分子、またはそのフラグメント、アナログもしくは誘導体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分子のコード鎖に相補的であるか、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コード鎖全体のうちの少なくとも約10、25、50、100、250もしくは500ヌクレオチドに相補的、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。配列番号 $2n$ （ここで、 $n=1\sim 20$ ）のいずれかのSECXタンパク質のフラグメント、ホモログ、誘導体およびアナログをコードする核酸分子、または配列番号 $2n-1$ （ここで、 $n=1\sim 20$ ）のSECX核酸配列に相補的なアンチセンス核酸がさらに提供される。

#### 【0117】

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」に対して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 $2n$ （ここで、 $n=1\sim 20$ ）のいずれかに対応するヒトSECX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をコードするヌクレオチド配列のコード鎖の「非コード領域」に対して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'配列および3'配列をいう（すなわち、5'非翻訳領域および3'非翻訳領域ともいう）。

#### 【0118】

本明細書に開示されるSECXをコードするコード鎖配列(例えば、配列番号 $2n-1$ (ここで、 $n=1\sim 20$ )のいずれかのヌクレオチド配列)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の塩基対合の法則に従って設計され得る。このアンチセンス核酸分子は、SECX mRNAのコード領域全体に相補的であり得るが、より好ましくは、SECX mRNAのコード領域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、SECX mRNA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、またはこの分子の生物学的安定性を上昇させるため、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上昇させ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。

#### 【0119】

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としては、以下が挙げられる：5-フルオロウラシル、5-プロモウラシル、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、 $\beta$ -D-ガラクトシルキューオシン、イノシン、N<sup>6</sup>-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、N<sup>6</sup>-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

、 - D - マンノシルキユーオシン、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)、ワイプトキソシン、プソイドウラシル、キューオシン、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。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方向である)。

#### 【0120】

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に結合し、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ように、被検体に投与されるかまたはインサイチュで生成される。このハイブリダイゼーションは、安定な二重鎖を形成する従来のヌクレオチド相補性によってか、または、例えば、DNA二重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の経路の例は、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、選択された細胞を標的にするように改変され得、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もしく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polII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。

#### 【0121】

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)Nucleic 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)Nucleic 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。

#### 【0122】

(リボザイムおよびPNA部分)

このような改変は、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、改変された核酸の化学的安定性を、それらが、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ように少なくとも一部増大するために実施される。

#### 【0123】

なお別の実施形態では、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(Haselhof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をコードする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 cDNAのヌクレオチド配列(すなわち、配列番号2n-1(n=1~20))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べき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性RNAを選択するために用いられ得る。例えば、Bartelら(1993) Science 261:1411-1418を参照のこと。

#### 【0124】

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。一般に、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。

#### 【0125】

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を参照のこと)。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シュードペプチド(pseudopeptide)骨格で置換され、かつ4つの天然の核酸塩基(nucleobase)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) PNAS 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。

【0126】

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、転写または翻訳停止(arrest)を誘導すること、または複製を阻害することにより、遺伝子発現の配列特異的調節のためのアンチセンス剤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特異的PCRクランピングにより、例えば、遺伝子中の1塩基対変異の分析においてか；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(Hyrup B.(1966)上述)か；または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)上述；Perry-O'Keefe(1996)上述)用いられ得る。

【0127】

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、またはリポソームの使用もしくは当該分野で公知の薬物送達の他の技法の使用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認識酵素(例えば、RNase HおよびDNAポリメラーゼ)をDNA部分と相互作用させる。PNA-DNAキメラは、塩基スタッキング、核酸塩基間の結合の数、および方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)。PNA-DNAキメラの合成は、上記のHyrup(1966)およびFinnら(1996)Nucleic Acids Res 24:3357-63に記載のように実施され得る。例えば、DNA鎖を、標準的なホルホロ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-チミジンホスホロアミダイト)を、PNAとDNAの5'末端との間に用い得る(Magら(19

89) Nucl Acid Res 17:5973-88)。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)。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。Petersenら(1975) Bioorg Med Chem Lett 5:1119-11124を参照のこと。

#### 【0128】

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公報番号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公報番号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、Bio Techniques 6:958-976を参照のこと)または挿入剤(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。

#### 【0129】

(SECXポリペプチド)

本発明の新規タンパク質は、その配列が配列番号2n(n=1~20)のいずれかに提供されるSECX様タンパク質を含む。本発明はまた、そのSECX様活性および生理学的機能をなお維持するタンパク質またはその機能的フラグメントをコードしながら、その任意の残基が図1に示される対応する残基から変化し得る、変異体または改変体タンパク質を含む。例えば、本発明は、上記の改変体SECX核酸によりコードされるポリペプチドを含む。この変異体または改変体

タンパク質において、その残基のうちの20%までまたはそれ以上が、そのように変化され得る。

#### 【0130】

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ている任意の改変体を含み、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。任意のアミノ酸置換、挿入または欠失が、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。さらに、本発明の範囲を限定することなく、配列番号2n (n = 1 ~ 20) のいずれかの位置が、変異体タンパク質または改変体タンパク質が1つ以上の置換を含み得るように、置換され得る。

#### 【0131】

本発明はまた、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、またはその誘導體、フラグメント、アナログもしくは相同体を含む。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。組換え発現に代わって、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。

#### 【0132】

「単離された」もしくは「精製された」タンパク質または生物学的に活性なその部分は、そのSECXタンパク質が由来する細胞または組織供給源由来の細胞物質または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他の化学物質を実質的に含まない。用語「細胞物質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生産された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「細胞物質を実質的に含まない」は、約30% (乾

乾燥重量による)より少ない非S E C X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)、より好ましくは約20%より少ない非S E C Xタンパク質、なおより好ましくは約10%より少ない非S E C Xタンパク質、そして最も好ましくは約5%より少ない非S E C Xタンパク質を有する、S E C Xタンパク質の調製物を含む。このS E C Xタンパク質または生物学的に活性なその部分が組換えにより産生される場合、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、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。

#### 【0133】

用語「化学的前駆体または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おいて含まれる化学的前駆体または他の化学物質からS E C Xタンパク質が分離されている、S E C X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S E C X化学物質を約30%(乾燥重量による)より少く、より好ましくは化学的前駆体または非S E C X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S E C X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S E C X化学物質を約5%より少なく有する、S E C Xタンパク質の調製物を含む。

#### 【0134】

S E C Xタンパク質の生物学的に活性な部分は、完全長のS E C Xタンパク質より少ないアミノ酸配列を含み、そしてS E C Xタンパク質の少なくとも1つの活性を示す、S E C Xタンパク質のアミノ酸配列(例えば、配列番号2に示されるアミノ酸配列)に十分に相通的であるアミノ酸配列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、S E C X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。S E C X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長のポリペプチドであり得る。

#### 【0135】

本発明のSECタンパク質の生物学的活性な部分は、FGFファミリーのタンパク質間で保存された上記ドメインの少なくとも1つを含み得る。さらに、そのタンパク質の他の領域が欠失されている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得、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。

#### 【0136】

ある実施形態では、このSECタンパク質は、配列番号 $2n$  ( $n = 1 \sim 20$ ) のいずれかのアミノ酸配列を有する。他の実施形態では、このSECタンパク質は、配列番号 $2n$  ( $n = 1 \sim 20$ ) のいずれかに実質的に相同であり、そして配列番号 $2n$  ( $n = 1 \sim 20$ ) のいずれかのタンパク質の機能的活性を保持するが、下記に詳細に記載されるように、天然の対立遺伝子変動または変異誘発に起因して、アミノ酸配列がなお異なる。従って、別の実施形態では、このSECタンパク質は、配列番号 $2n$  ( $n = 1 \sim 20$ ) のいずれかのアミノ酸配列に少なくとも約45%相同であり、そしてより好ましくは約55%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%または99%相同でさえあるアミノ酸配列を含み、かつ配列番号 $2n$  ( $n = 1 \sim 20$ ) の配列を有する対応するポリペプチドの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。

#### 【0137】

(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のために整列される(例えば、配列間の最適アラインメントのために、比較されている配列のいずれかにギャップが導入され得る)。次いで、対応するアミノ酸位置またはヌクレオチド位置のアミノ酸またはヌクレオチドが、比較される。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「相同性」は、アミノ酸または核酸「同一性」と等価である)。

#### 【0138】

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 48:443-453を参照のこと。以下の設定：GAP作成ペナルティー=5.0およびGAP伸長ペナルティー=0.3、で核酸配列比較のためにGCG GAPソフトウェアを使用すると、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 $2n-1$  ( $n=1\sim 20$ )に示されたDNA配列のCDS(コード)部分と、少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%、または99%の同一性の程度を示す。

【0139】

用語「配列同一性」は、2つのポリヌクレオチドまたはポリペプチド配列が、比較の特定の領域に亘って残基ごとベースで同一である程度をいう。用語「配列同一性のパーセンテージ」は、その比較の領域に亘り最適に配列された2つの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)が存在する位置の数を決定して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、ウィンドウサイズ)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テージを得ることによって、算出される。本明細書で用いる場合、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場合、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。用語「ポジティブな残基のパーセンテージ」は、その比較の領域に亘り最適に配列された2つの配列を比較すること、両方の配列において上記に規定されるような、同一および保存的アミノ酸置換が存在する位置の数を決定して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、ウィンドウサイズ)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、ポジティブな残基のパーセンテージを得ることによって、算出される。

## 【0140】

(キメラおよび融合タンパク質)

本発明はまた、SECXキメラまたは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、SECXに相当するアミノ酸配列を有するポリペプチドをいい、その一方、「非SECXポリペプチド」は、このSECXタンパク質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する。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。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。

## 【0141】

例えば、1つの実施形態では、SECX融合タンパク質は、第2のタンパク質の細胞外ドメインに作動可能に連結されたSECXポリペプチドを含む。このような融合タンパク質はさらに、SECX活性を調節する化合物のためにスクリーニングアッセイにおいて利用され得る(このようなアッセイは以下に詳細に記載される)。

## 【0142】

別の実施形態では、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(すなわち、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の精製を容易にし得る。

## 【0143】

なお別の実施形態では、この融合タンパク質は、そのN末端に異質シグナル配列を含むSECXタンパク質である。例えば、ネイティブなSECXシグナル配列を除去し、別のタンパク質からのシグナル配列で置き換え得る。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、異質シグナル配列の使用により増大され得る。

## 【0144】

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1つ以上のドメインを含む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を阻害し、それによってインビボのSECX媒介信号伝達を抑制し得る。1つの非制限的な例において、本発明の考慮されたSECXリガントは、SECXレセプターである。このSECX-免疫グロブリン融合タンパク質を用い、SECX同族リガントの生体利用性を調節し得る。SECXリガント/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、および細胞生存を調節（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リガントを精製し、そしてSECXリガントとの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。

## 【0145】

本発明のSECXキメラまたは融合タンパク質は、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

レームと一緒に連結する。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ル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ー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。

#### 【0146】

（SECXアゴニストおよびアンタゴニスト）

本発明はまた、SECXアゴニスト（模倣物）として、またはSECXアンタゴニストとして機能する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有する。

#### 【0147】

SECXアゴニスト（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またはアンタゴニスト活性のための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、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、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的合成は、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量を可能にする。縮重オリゴヌクレオチドを合成する方法は当該分野で公知である（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) Nucleic Acid Res 11:477）。

#### 【0148】

（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く選択のための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N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。

【0149】

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、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いくつか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体の頻度を増大する新規技法であるリクルーシブエンセブル変異誘発(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(ArkinおよびYourvan(1992)PNAS 89:7811-7815; Delgraveら(1993)Protein Engineering 6:327-331)。

【0150】

(抗SECX抗体)

本発明は、本発明の任意のポリペプチドに免疫特異的に結合する、 $F_{ab}$ または $(F_{ab})_2$ のような抗体または抗体フラグメントをさらに包含する。

【0151】

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。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。SECXの抗原

性ペプチドは、配列番号  $2n$  (ここで  $n = 1 \sim 20$ ) のいずれかに示されるアミノ酸配列の少なくとも4アミノ酸残基を含む。この抗原性ペプチドは、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。この抗原性ペプチドは、少なくとも6、8、10、15、20、または30の残基を含む。本発明の1つの実施形態において、抗原性ペプチドは、配列番号  $2n$  (ここで、 $n = 1 \sim 20$ ) のいずれかの少なくとも6個の連続したアミノ酸を含むポリペプチドを含む。

#### 【0152】

本発明の特定の実施形態では、抗原性ペプチドにより包含される少なくとも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を、例えば、フーリ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。

#### 【0153】

本明細書で開示されるように、配列番号  $2n$  (ここで  $n = 1 \sim 20$ ) のいずれかのSECXタンパク質配列、またはその誘導體、フラグメント、アナログもしくは相同体を、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(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、Fab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、配列番号  $2n$  (ここで  $n = 1$

～20)のいずれかのSECタンパク質配列、またはその誘導体、フラグメント、アナログもしくは相同体に対するポリクローナル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。これらのタンパク質のいくつかを以下で論議する。

#### 【0154】

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有し得る。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-Guérin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。

#### 【0155】

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、またはその誘導体、フラグメント、アナログもしくは相同体に対して惹起された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(Koh

ler & 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 (Kozborら、1983 Immunol Today 4:72) 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 (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 (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 (Cote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。

#### 【0156】

本発明によれば、技法は、SECX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)、SECXタンパク質配列、またはその誘導体、フラグメント、アナログもしくは相同体に対し、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。上記の引例の各々は、本明細書中において参考として援用される。SECX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(i v) F<sub>v</sub>フラグメントが含まれる。

【0157】

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SECX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WO86/01533；米国特許第4,816,567号；欧州特許出願番号125,023号；Betterら(1988)Science 240:1041~1043；Liuら(1987)PNAS 84:3439~3443；Liuら(1987)J Immunol 139:3521~3526；Sunら(1987)PNAS 84:214~218；Nishimuraら(1987)Cancer Res 47:999~1005；Woodら(1985)Nature 314:446~449；Shawら(1988)J Natl Cancer Inst 80:1553~1559；Morrison(1985)Science 229:1202~1207；Oiら(1986)BioTechniques 4:214；米国特許第5,225,539号；Jonesら(1986)Nature 321:552~525；Verhoeyanら(1988)Science 239:1534；ならびにBeidlerら(1988)J Immunol 141:4053~4060。上記引用の各々は、それらの全体において参考として本明細書中に援用される。

【0158】

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論は、当該分野内で公知の酵素結合抗体免疫吸着アッセイ(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。SECXタンパク質内の1つ以上のドメイン(例えば、FGF-9と比較したとき、SECXに対して特異的な第1の50戸のアミノ酸残基をスパニングするドメイン)、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上記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。

#### 【0159】

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SECXタンパク質のレベルを測定する使用のために、診断的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、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の抗体(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」]として利用される。

#### 【0160】

抗SECX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、SECXを単離するために用いられ得る。抗SECX抗体は、細胞からの天然のSECX、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SECXの精製を容易にし得る。さらに、抗SECX抗体が、(例えば、細胞の溶菌液または細胞上清における)SECXタンパク質を検出するために用いられ、SECXタンパク質の発現の量およびパターンを評価し得る。抗SECX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、 $\beta$ -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 $^{125}\text{I}$ 、 $^{131}\text{I}$ 、 $^{35}\text{S}$ または $^3\text{H}$ が挙げられる。

### 【0161】

(SECX組換え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。別の型のベクターは、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指向し得る。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。

## 【0162】

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。用語「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べき宿主細胞の選択、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は明白である。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。

## 【0163】

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発現のために設計され得る。例えば、SECXは、細菌細胞(例えば、E. 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、Sa

n Diego, Calif. (1990) にさらに考察されている。あるいは、組換え発現ベクターは、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。

#### 【0164】

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 *E. 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：(1) 組換えタンパク質の発現を増加させること；(2) 組換えタンパク質の可溶性を増加させること；および(3) 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、タンパク質分解の切断部位が、融合部分と組換えタンパク質との結合部に導入され、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Xa因子、トロンピン、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E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。

#### 【0165】

適切な誘導性非融合 *E. coli* 発現ベクターの例には、pTrc (Amann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。

【0166】

E. 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。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、E. 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(Wadara (1992) Nucleic Acids Res. 20: 2111-2118)。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。

【0167】

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S. cerevisiaeにおける発現のためのベクターの例には、pYepSec1 (Baldaire, (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.)が挙げられる。

【0168】

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) Vir

ology 170:31-39)が挙げられる。

【0169】

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。

【0170】

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（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）中で優先的に核酸の発現を指向し得る。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）、リンパ特異的プロモーター（CalameおよびEaton (1988) Adv Immunol 43:235-275）、T細胞レセプターの特定のプロモーターにおいて（WinotoおよびBaltimore (1989) EMBO J 8:729-733）および免疫グロブリンの特定のプロモーターにおいて（Banerjiら (1983) Cell 33:729-740；QueenおよびBaltimore (1983) Cell 33:741-748）、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)PNAS 86:5473-5477)、膵臓特異的プロモーター(Edlundら(1985)Science 230:912-916)、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 - フェトプロテインプロモーター(CampesおよびTilghman(1989)Genes Dev 3:537-546)。

#### 【0171】

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に対して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。調節配列は、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(例えば、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、または細胞型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、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。

#### 【0172】

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、特定の対象の細胞をいうのみでなく、そのような細胞の子孫または潜在的な子孫をも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。

【0173】

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、E. 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。

【0174】

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含まれる。宿主細胞を形質転換またはトランスフェクション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。

【0175】

安定な哺乳動物細胞のトランスフェクションのために、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、細胞のほんの一部のみが外来DNAをそのゲノムに組み込み得ることが知られている。これらの組み込み物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

トする遺伝子が、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（例えば、G418、ハイグロマイシン、およびメトトレキサート）に対する耐性を付与するものが含まれる。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、あるいは別のベクター上で導入され得る。導入された核酸で安定にトランスフェクトされた細胞は、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し、一方他の細胞は死滅する）。

#### 【0176】

本発明の宿主細胞（例えば、培養中の原核生物宿主細胞または真核生物宿主細胞）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、本方法は、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（ここに、SECXをコードする組換え発現ベクターが導入された）を培養する工程を包含する。別の実施形態において、本方法はさらに、培地または宿主細胞からSECXを単離する工程を包含する。

#### 【0177】

（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、このような宿主細胞は、外因性のSECX配列がそのゲノムに導入された非ヒトトランスジェニック動物、または内因性のSECX配列が変更された相同組換え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の機能および/または活性を研究するため、ならびにSECX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、非ヒト動物であり、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類であり、その動物の1つ以上の細胞が、導入遺伝子を含む。トランスジェニック動物の他の例としては、非ヒ

ト霊長類、ヒツジ、イヌ、ウシ、ヤギ、ニワトリ、両生類などが挙げられる。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かつ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、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された遺伝子産物の発現を指示する。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であり、より好ましくはマウスであり、ここで内因性のSECX遺伝子は、内因性の遺伝子と、その動物の発生の前にその動物の細胞（例えば、その動物の胚細胞）に導入された外因性のDNA分子との間の相同組換えによって変更されている。

【0178】

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、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、受精した卵母細胞の雄性前核に導入すること、および卵母細胞が偽妊娠した雌性養育動物（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。配列番号2n-1（ここでn=1~20）の配列のヒトのSECX DNA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、ヒトのSECX遺伝子の非ヒトホモログ（例えば、マウスのSECX遺伝子）は、ヒトの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（上にさらに記載される）、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（単数または複数）は、特定の細胞に対して、SECXタンパク質の発現を指示するように、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）を生成するための方法は、当該分野で慣習的になっており、そして例えば、米国特許第4,736,866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初代 ( founder ) 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もしくは細胞中の 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初代動物は、導入遺伝子を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 をコードする導入遺伝子を有するトランスジェニック動物は、さらに、他の導入遺伝子を有する他のトランスジェニック動物に繁殖され得る。

#### 【0179】

相同組換え動物を作製するために、SECX 遺伝子の少なくとも一部を含むベクターを調製する。この遺伝子において、欠失、付加、または置換が導入されて、それによってその SECX 遺伝子が増加されている (例えば、機能的に破壊される)。SECX 遺伝子はヒト遺伝子 (例えば、配列番号 2n - 1 (ここで n = 1 ~ 20)) であり得るが、より好ましくは、ヒトの SECX 遺伝子の非ヒトホモログである。例えば、配列番号 2n - 1 (ここで n = 1 ~ 20) のヒトの 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の 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、その内因性の SECX 遺伝子が、機能的に破壊されるように設計される (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)。

#### 【0180】

あるいは、このベクターは、相同組換えに際して、内因性 SECX 遺伝子が増加されるか、あるいはさもなければ、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、上流の調節領域が増加され、それによって内因性 SECX タンパク質の発現を増加し得る)。相同組換えベクターにおいて、SECX 遺伝子が増加された部分は、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、ベクターによって保有される外因性 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。さらなる隣接する SECX 核酸は、内因性遺伝子との首尾よい相同組換えのために十分な長さである。代表的に、数千ベースの隣

接するDNA(5'末端および3'末端の両方における)が、ベクターに含まれる。例えば、相同組換えベクターの記述についてThomasら(1987)Cell 51:503を参照のこと。このベクターは、(例えば、エレクトロポレーションによって)胚幹細胞株に導入され、導入されたSECX遺伝子が内因性SECX遺伝子と相同組換えした細胞が、選択される(例えば、Liら(1992)Cell 69:915を参照のこと)。

#### 【0181】

次いで、選択された細胞が、動物(例えば、マウス)の胚盤胞へ注入され、凝集キメラを形成する。例えば、Bradley(1987)のTERATOCA RCINOMAS AND EMBRYONIC STEM CELLS: A PRACTICAL APPROACH、Robertson編、IRL、Oxford、113頁~152頁を参照のこと。次いで、キメラ胚が、適切な偽妊娠雌性養育動物に移植され得、そしてその胚は分娩に到る。その生殖細胞中に相同組換えされたDNAを保有する子孫が、動物を繁殖させるために使用され得、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る、相同組換えされたDNAを含む。相同組換えベクターおよび相同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: WO90/1184; WO91/01140; WO92/0968; およびWO/93/04169。

#### 【0182】

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非ヒトトランスジェニック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述については、例えば、Laksora(1992)PNAS 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 251:181-185)。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する導入遺伝子を含み、他方はリコンビナーゼをコードする導入遺伝子を含む）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によって提供され得る。

#### 【0183】

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からの細胞（例えば、体細胞）は単離および誘導され、増殖サイクルから脱し、そしてG<sub>0</sub>期に入り得る。次いで、静止性細胞が、例えば、電気パルスの使用を介して、その静止性細胞が単離される同種の動物から除核された卵母細胞へ融合され得る。次いで、この再構築された卵母細胞は培養され、その結果、これは桑実胚または未分化胚芽細胞に発達し、次いで、偽妊娠雌性養育動物に移される。この雌性養育動物から生まれた子孫は、その細胞（例えば、その体細胞）が単離された動物のクローンである。

#### 【0184】

（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、「活性な化合物」ともいわれる）、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、典型的に、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、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、Remington's Pharmaceutical Sciences（当該分野の標準的参考文献）（本明細書中に参考として援用され

る)の最新版に記載される。このようなキャリアまたは希釈剤の好ましい例としては、水、生理食塩水、finger 溶液、デキストロース溶液、および5%ヒト血清アルブミンが挙げられるが、これらに限定されない。リポソームおよび非水性ビヒクル(例えば、不揮発性油)もまた、使用され得る。薬学的に活性な物質のための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。任意の従来の媒体または薬剤が活性な化合物と不適合である範囲を除いて、組成物におけるその使用が考慮される。補助活性化合物もまた、組成物へ組み込まれ得る。

#### 【0185】

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するように処方される。投与の経路の例には、非経口(例えば、静脈、皮内、皮下)投与、経口(例えば、吸入)投与、経皮(局所的)投与、経粘膜(transmucosal)投与、および直腸投与が挙げられる。非経口適用、皮内適用または皮下適用のために使用される溶液または懸濁液は、以下の成分を含み得る：注射用水、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のような、滅菌希釈剤；ベンジルアルコールまたはメチルパラベンのような、抗菌剤；アスコルビン酸または重亜硫酸ナトリウムのような、抗酸化剤；エチレンジアミン四酢酸のような、キレート剤；酢酸塩、クエン酸塩またはリン酸塩のような、緩衝液、および塩化ナトリウムまたはデキストロースのような、張度の調節のための薬剤。pHは、塩酸または水酸化ナトリウムのような酸または塩基で調整され得る。非経口調製物は、アンプル、使い捨てシリンジ、あるいはガラスまたはプラスチックから作製される多用量のバイアル中に入れられ得る。

#### 【0186】

注入使用に適した薬学的組成物は、滅菌水性溶液(ここで、水溶解性)または分散液、および滅菌の注入可能な溶液または分散液の即座の調製のための滅菌粉末を含む。静脈投与において、適切なキャリアには、生理食塩水、静菌水、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、滅菌性でなければならず、そして容易な注入性(syringabili

t y ) が存在する程度に流動性であるべきである。これは、製造および保存の条件下で安定でなければならず、そして、細菌および真菌のような微生物の汚染行為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であり得る：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、レシチンのようなコーティング剤の使用によって、分散液の場合に、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。微生物の作用の防止は、種々の抗菌剤および抗真菌剤（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、砂糖、ポリアルコール（例えば、マンニトール ( m a n i t o l )、ソルビトール）塩化ナトリウム）を含むことが好ましい。注入可能組成物の長時間吸収は、組成物に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）を含ませることによってもたらされ得る。

#### 【0187】

滅菌注射可能溶液は、必要量のこの活性化化合物（例えば、SECXタンパク質あるいは抗SECX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、活性化化合物を、塩基性分散媒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。滅菌注射可能液剤の調製のための滅菌散剤の場合において、調製方法は、減圧乾燥および凍結乾燥であり、これにより、活性成分および既に滅菌濾過されたその液剤からの任意のさらなる所望の成分の粉末を得る。

#### 【0188】

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、または錠剤へと圧縮され得る。経口治療投与の目的のために、この活性化化合物は、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、そしてさっと動かされ、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、任意の以下の成分または同様の性質を有する化合物を含み得る：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）；滑り剤（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）。

#### 【0189】

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、エアロゾル噴霧の形態で送達される。

#### 【0190】

全身的投与はまた、経粘膜手段または経皮手段により得る。経粘膜投与または経皮投与について、浸透される障壁に適切な浸透剤が、処方物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、鼻噴霧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。

#### 【0191】

この化合物はまた、直腸送達のための坐剤（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）または貯留（retention）浣腸の形態で調製され得る。

#### 【0192】

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、手に入れることができる。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。

#### 【0193】

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効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、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特徴によって決定されるか、あるいはこれらに直接依存する。

#### 【0194】

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、米国特許第5,703,055号に記載されるように、任意の多くの経路によって送達され得る。従って、送達にはまた、例えば静脈注射、局所投与（米国特許第5,328,470号を参照のこと）によって、または定位注射（例えば、Chenら（1994）PNAS 91:3054-3057を参照のこと）が挙げられ得る。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組み込まれる除放射性マトリックスが挙げられ得る。あるいは、完全な遺伝子送達ベクターが組換え細胞からインタクトで産生され得（例えば、レトロウイルスベクター）、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。

【0195】

薬学的組成物は、キット（例えば、投与のための使用説明書と共の容器、包装、またはディスペンサー）に含まれ得る。

【0196】

本発明においてまた、ヒト疾患（この疾患はSECX関連障害から選択される）に関連する症候群を処置するための医薬の製造における治療剤の使用もまた、本発明の範囲内であり、ここで、この治療剤は、SECXポリペプチド、SECX核酸、およびSECX抗体からなる群から選択される。

【0197】

（発明のさらなる使用および方法）

本明細書中で記載される核酸分子、タンパク質、タンパク質相同体、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、細胞および組織タイピング、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、および薬理ゲノミクス）；ならびに（d）処置の方法（例えば、治療および予防）。

【0198】

本発明の単離された核酸分子は、以下にさらに説明されるように、SECXタンパク質（例えば、遺伝子治療用途における宿主細胞中の組換え発現ベクター）を発現するため、SECX mRNA（例えば、生物学的サンプルにおいて）またはSECX遺伝子における遺伝子損傷を検出するため、ならびにSECX活性を調節するために使用され得る。さらに、SECXタンパク質は、SECX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するために、ならびにSECXタンパク質の不十分なもしくは過剰な産生によって、あるいはSECX野生型タンパク質と比較して減少したもしくは異常な活性を有するSECXタン

パク質形態の産生によって特徴付けられる障害を処置するために使用され得る。さらに、本発明の抗SECX抗体が、SECXタンパク質を検出して単離するため、およびSECX活性を調節するために使用され得る。

#### 【0199】

本発明は、さらに、上述の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、および本明細書中で記載されるような処置のためのそれらの使用に関する。

#### 【0200】

(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の発現またはSECXの活性に対して刺激効果または阻害効果を有する、候補または試験化合物または薬剤(例えば、ペプチド、ペプチド模倣物、小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。

#### 【0201】

1実施形態において、本発明は、SECX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任意のものを使用して得られ得、これには、以下が挙げられる：生物学的ライブラリー；空間的にアドレ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1化合物」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小分子ライブラリーに適用可能である(Lam(1997)Anticancer Drug Des 12:145)。

#### 【0202】

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;Carellら(1994)Angew Chem Int Ed Engl 33:2061;およびGallopら(1994)J Med Chem 37:1233。

#### 【0203】

化合物のライブラリーは、溶液中で(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 USP'409)、プラスミド(Cullら(1992)Proc Natl Acad Sci USA 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上記)において示され得る。

#### 【0204】

1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、SEC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、SECタンパク質に結合する能力が、決定される。例えば、細胞は、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SEC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、この試験化合物のSEC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検出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、 $^{125}\text{I}$ 、 $^{35}\text{S}$ 、 $^{14}\text{C}$ 、または $^3\text{H}$ 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り、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の膜結合形態をその細胞表面上に発現する細胞を、SEC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を試験化合物に接触させる工程、ならびにこの試験化合物が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が、この試験化合物がSEC、またはその生物学的に活性な部分と、公知の化合物と比較して優先的に結合する能力を決定する工程を包含する。

#### 【0205】

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、SEC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、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、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、SECタンパク質が、SEC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、SEC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、SEC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。SEC標的分子は、本発明の非SEC分子またはSECタンパク質またはポリペプチドであり得る。1実施形態において、

S E C X 標的分子は、シグナル伝達経路の構成要素であり、これは、細胞膜を通過して細胞内への細胞外シグナル（例えば、化合物が膜結合 S E C X 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分子の S E C X との会合を容易にするタンパク質であり得る。

#### 【0206】

S E C X タンパク質が S E C X 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、S E C X タンパク質が S E C X 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的に連結された S E C X 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、細胞生存度、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。

#### 【0207】

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、S E C X 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 S E C X 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、S E C X 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つの実施形態において、このアッセイは、S E C X タンパク質またはその生物学的に活性な部分を、S E C X 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 S E C X 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 S E C X 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、S E C

X、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工程を包含する。

【0208】

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。

【0209】

なお別の実施形態において、無細胞アッセイは、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と接触させる工程、ならびにこの試験化合物が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の決定は、SECタンパク質が、SEC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。

【0210】

本発明の無細胞アッセイは、SEC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SECを含む無細胞アッセイの場合には、SEC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には、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)<sub>n</sub> (Isotridecypoly(ethylene glycol ether)<sub>n</sub>、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)dimethylamminiol-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)dimethylamminiol-2-hydroxy-1-propane sulfonate) (CHAPSO)である。

#### 【0211】

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、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には、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の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、複合体形成に貢献する条件下(例えば、塩およびpHに関して生理学的条件)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。

#### 【0212】

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、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体化を利用して、固定され得る。ビオチニル化SECX、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被覆した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、SECX、または標的分子と反応性であるがSECX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SECXが、抗体の結合体化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には、GST固定複合体に関しての上記のものに加えて、SECX、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SECX、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。

#### 【0213】

別の実施形態において、SECX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SECX 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SECX 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SECX 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、SECX発現のモジュレーターとして同定され得る。例えば、SECX 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 (統計的に有意に大きい) 場合、この候補化合物は、SEC

X 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、SECX 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、SECX 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SECX mRNAまたはタンパク質の発現レベルは、SECX 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。

#### 【0214】

本発明のなお別の局面において、SECX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」として使用されて(例えば、米国特許第5,283,317号;Zervosら(1993)Cell 72:223-232;Maduraら(1993)J Biol Chem 268:12046-12054;Bartelら(1993)BioTechniques 14:920-924;Iwabuschira(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し得る。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。

#### 【0215】

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ラー的性質に基づく。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、L a c Z）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S E C X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。

#### 【0216】

スクリーニングがまた、インビボで実施され得る。例えば、1つの実施形態において、本発明は、試験化合物を投与することによるS E C X関連障害に対して、またはS E C X関連障害の増加した危険における試験動物に対してのS E C X関連障害に対して、活性のモジュレーター、あるいは潜在（l a t e n c y）または体質（p r e d i s p o s i t i o n）のモジュレーターをスクリーニングする方法を含む。いくつかの実施形態において、試験動物は、S E C Xポリペプチドを組換え的に発現する。化合物を投与した後、試験動物においてポリペプチドの活性が測定され、そして試験動物におけるタンパク質の活性が、上記ポリペプチドを投与されないコントロール動物におけるポリペプチドの活性と比較される。コントロール動物に関して上記試験動物における上記ポリペプチドの活性における変化は、S E C X関連障害に対する潜在のモジュレーターまたは体質のモジュレーターであることを示す。

#### 【0217】

いくつかの実施形態において、試験動物は、組換え試験動物であり、この試験動物は、試験タンパク質の導入遺伝子を発現するか、またはプロモーターの制御下で、野生型試験動物に関連して増加したレベルで導入遺伝子を発現する。好ましくは、プロモーターは、導入遺伝子のネイティブな遺伝子プロモーターである。

#### 【0218】

本発明は、さらに、上記スクリーニングアッセイにより同定される新規な因子および本明細書中に記載されるような処置のためのその使用に関する。

#### 【0219】

( 検出アッセイ )

本明細書中で同定される cDNA 配列のタンパク質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、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定し得る ; ( i i ) 微量の生物学的サンプルから個体を同定し得る ( 組織型決定 ) ; および ( i i i ) 生物学的サンプルの法医学的識別を助け得る。

【 0 2 2 0 】

本発明の S E C X 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ブロット上でプローブされる。本発明の配列は、R F L P ( 米国特許第 5 , 2 7 2 , 0 5 7 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。

【 0 2 2 1 】

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について実際の塩基ごとに 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 S E C X 配列を用いて、配列の 5 ' 末端および 3 ' 末端から 2 つの P C R 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、そしてこれを逐次的に配列決定し得る。

【 0 2 2 2 】

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、唯一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 S E C X 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は、各 5 0 0 塩基につき約 1 回の頻度で生じる。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 ( R F L P ) を含む単一ヌクレオチド多型 ( S N P ) に起因する。

#### 【0223】

本明細書中で記載の配列の各々は、いくらかの程度まで標準物質として使用され得、この標準物質に対して個体からのDNAが識別の目的で比較され得る。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。上記のように、配列番号  $2n - 1$  (ここで  $n = 1 \sim 20$ ) の非コード配列は、おそらく  $10 \sim 1,000$  プライマーのパネルを用いてポジティブな個体識別を不自由なく提供し得る。これらのプライマーは、各々が  $100$  塩基の増幅された非コード配列を生じる。推定コード配列が使用される場合、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、 $500 \sim 2,000$  である。

#### 【0224】

( 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 ( p h a r m a c o g e n o m i c s ) 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、S E C Xタンパク質および/または核酸の発現、ならびにS E C X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S E C X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、S E C Xのタンパク質、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、S E C Xの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S E C Xのタンパク質、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した障害の発病の前に個体を予防的に処置する。

#### 【0225】

本発明の別の局面は、個体におけるS E C Xのタンパク質、核酸の発現あるい

はSECXの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試薬（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、特定の試薬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試薬（例えば、薬物）の選択を可能にする。

【0226】

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試薬（例えば、薬剤、化合物）の影響をモニタリングすることに関する。

【0227】

（法医学的生物学における部分的なSECX配列の使用）

DNAに基づく識別技術はまた、法医学的生物学において使用され得る。法医学的生物学は、例えば、犯罪者をポジティブに識別するための手段として、犯罪現場で見いだされた生物学的証拠の遺伝子型決定を利用する科学分野である。このような識別を行うために、PCR技術を用いて非常に少量の生物学的サンプル（例えば、犯罪現場で見いだされた毛髪もしくは皮膚のような組織、または例えば、血液、唾液もしくは精液のような体液）から得られたDNA配列を増幅し得る。次いで、増幅された配列は標準物質と比較され、それによって、生物学的サンプルの起源の識別を可能にし得る。

【0228】

本発明の配列を使用して、ヒトゲノムにおける特定の遺伝子座に標的化され得るポリヌクレオチド試薬（例えば、PCRプライマー）を提供し得る。このPCRプライマーは、例えば、別の「識別マーカ―」（すなわち、特定の個体に独特な別のDNA配列）を提供することにより、DNAベースの法医学的識別の信頼性を増大し得る。上記のように、実際の塩基配列情報は、制限酵素で生成したフラグメントにより形成されるパターンに対する正確な代替手段として識別のために使用され得る。配列番号 $2n - 1$ （ここで $n = 1 \sim 20$ ）の非コード領域に標的化される配列は、より多くの多型が非コード領域に生じ、このことにより、この技術を使用して個体を区別することがより容易になるので、この用途のために特に適切である。ポリヌクレオチド試薬の例としては、SECX配列またはその

部分（例えば、配列番号  $2n - 1$ （ここで  $n = 1 \sim 20$ ）の1以上）の非コード領域に由来するフラグメント）が挙げられ、これは、少なくとも20塩基、好ましくは30塩基の長さを有する。

#### 【0229】

本明細書中に記載のSECX配列は、ポリヌクレオチド試薬（例えば、インサイチュハイブリダイゼーション技術において使用され得る標識プローブまたは標識可能プローブ）を提供して、特定の組織（例えば、脳組織など）を同定するためにさらに使用され得る。これは、法医学的病理学者に未知の起源の組織が提示された場合に非常に有用である。このようなSECXプローブのパネルを使用して、種により、および/または起源の型により組織を同定し得る。

#### 【0230】

類似の様式で、これらの試薬（例えば、SECXプライマーまたはプローブ）を用いて、組織培養物を夾雑物質についてスクリーニングし得る（すなわち、培養物中の異なる型の細胞の混在についてのスクリーニング）。

#### 【0231】

（予測医療）

本発明はまた、診断アッセイ、予後アッセイ、薬理ゲノム学（*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、個体が、異常なSECXの発現または活性に関連する疾患または障害に罹患するか否か、あるいは障害を発症する危険性を有するか否かを決定するための診断アッセイに関する。本発明はまた、個体が、SECXのタンパク質、核酸の発現または活性と関連する障害を発症する危険性を有するか否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のタンパク質、核酸の発現または活性によって特徴付けられ

るかまたは関連した障害の発病の前に個体を予防的に処置する。

【0232】

本発明の別の局面は、個体におけるSECXのタンパク質、核酸の発現またはSECXの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「薬理ゲノム学」とよばれる）を選択する。薬理ゲノム学は、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。

【0233】

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試薬（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。

【0234】

これらおよび他の薬剤は、以下の節でさらに詳細に記載される。

【0235】

（診断アッセイ）

細胞の増殖が役割を果たす他の状態としては、腫瘍、再狭窄、乾癬、デュブユイトラン拘縮、糖尿病合併症、カポジ肉種および慢性関節リウマチが挙げられる。

【0236】

SECXポリペプチドを使用して、相互作用するポリペプチド、サンプルまたは組織を同定し得る。この方法は、サンプルまたは組織をSECXと接触させる工程、SECXポリペプチドと相互作用するポリペプチドとの間の複合体を形成させる工程、および存在する場合に複合体を検出する工程を包含する。

【0237】

本発明のタンパク質を使用して、このタンパク質に特異的に結合する抗体の産生を刺激し得る。このような抗体は、サンプル中のタンパク質の出現を検出するための免疫診断的手順において使用され得る。本発明のタンパク質を使用して、このような増殖が好都合である条件下において細胞増殖（growth）および

細胞増殖 (proliferation) を刺激し得る。1つの例は、例えば、造血および血小板形成、胃腸管の裏打ちならびに毛包に対する化学治療剤の毒性副作用に反作用する。これらはまた、神経性障害 (例えば、アルツハイマー病が挙げられる) における新たな細胞増殖を刺激するために使用され得る。あるいは、アンタゴニストによる処置が為され得、ここでは、本発明のSECX様タンパク質に特異的に結合する抗体がこのタンパク質の特定の増殖誘導効果を抑止する。このような抗体は、例えば、増殖障害 (例えば、種々の腫瘍および良性過形成が挙げられる) の処置において有用であり得る。

#### 【0238】

配列番号  $2n - 1$  (ここで、 $n = 1 \sim 20$ ) のSECX核酸の任意の一部に対応するポリヌクレオチドまたはオリゴヌクレオチドを使用して、対応するORF遺伝子を含むDNAを検出し得るか、または対応するSECX遺伝子またはSECX様遺伝子の発現を検出し得る。例えば、表2に記載されるように特定の細胞または組織において発現されるSECX核酸を使用して、その特定の細胞型の存在を同定し得る。

#### 【0239】

生物学的サンプル中の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、および生物学的サンプルを、SECXタンパク質SECXタンパク質をコードするまたは核酸 (例えば、mRNA、ゲノムDNA) を検出し得る化合物または薬剤と接触させ、その結果、SECXの存在が生物学的サンプル中で検出される工程、を包含する。SECXの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、全長のSECXの核酸 (例えば、配列番号  $2n - 1$  (ここで、 $n = 1 \sim 20$ ) の核酸) もしくはその部分 (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、かつ上記のようにストリンジентな条件下でSECXの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

、本明細書において記載されている。

【0240】

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、FabまたはFab'）<sub>2</sub>）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る一次抗体の検出、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ビオチンを有するDNAプローブの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、インビトロおよびインビボで、生物学的サンプル中のSECXのmRNA、タンパク質またはゲノムDNAを検出し得る。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、酵素結合免疫吸着アッセイ（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の検出の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。

【0241】

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、そ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。

【0242】

別の実施形態において、この方法はさらに、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。

【0243】

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中のSECXの量を標準と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にキットを用いるための指示書を備え得る。

【0244】

(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性を有す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（例えば、増殖性障害または分化障害（例えば、過形成、腫瘍、再狭窄、乾癬、デュプイットラン拘縮、糖尿病合併症

、カポジ肉種または慢性関節リウマチなど) ; およびグリア関連障害 (例えば、大脳傷害、糖尿病ニューロパシー、大脳水腫、老年痴呆、アルツハイマー病など) ) を有するかまたはその発症の危険性を有す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性を有す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性を有す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場合、「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。

#### 【0245】

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 (例えば、増殖性傷害、分化傷害、グリア関連傷害など) のための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のため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。この方法において、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をその被験体に投与し得ることについての診断指標である)。

#### 【0246】

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増殖性傷害、分化傷害、グリア関連傷

害などの危険性を有するか否かまたはそれらに罹患してい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、この方法は、その被験体から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：(1) SECXの遺伝子からの1つ以上のヌクレオチドの欠失；(2) SECXの遺伝子への1つ以上のヌクレオチドの付加；(3) SECXの遺伝子の1つ以上のヌクレオチドの置換、(4) SECXの遺伝子の染色体再配置；(5) 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、(6) 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）、(7) 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、(8) SECXのタンパク質の非野生型レベル、(9) SECXの遺伝子の対立遺伝子の欠失、ならびに(10) 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の遺伝子における遺伝的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。

#### 【0247】

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)(例えば、米国特許第4,683,195号および同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)PNAS 91:360-364)を参照のこと)におけるプローブ/プライマーの使用を包含する。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 R

es 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。

#### 【0248】

代替的な増幅方法としては、以下が挙げられる：当業者に周知の技術を用いたその増幅された分子の検出の前の、自己維持配列複製（Guatelliら、1990、Proc Natl Acad Sci USA 87 : 1874 - 1878）、転写増幅系（Kwoh、ら、1989、Proc Natl Acad Sci USA 86 : 1173 - 1177）、Q-レプリカーゼ（Lizardiら、1988、BioTechnology 6 : 1197）、または他の任意の核酸増幅方法。これらの検出スキームは、そのような分子が非常に極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。

#### 【0249】

代替的な実施形態において、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。

## 【0250】

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（Croninら（1996）*Human Mutation* 7:244-255；Kozalら（1996）*Nature Medicine* 2:753-759）。例えば、SECXにおける遺伝的変異は、Croninら（上記）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、第一のプローブの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。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、この工程に続く。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のセットから構成される。

## 【0251】

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）*PNAS* 74:560またはSanger（1977）*PNAS* 74:5463によって開発された技術に基づく配列決定反応が挙げられる。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（Naevеら、（1995）*BioTechniques* 19:448）。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 Chromatogr* 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。

#### 【0252】

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のヘテロ二重鎖に基づくミスマッチ塩基を検出する方法が挙げられる(Myersら(1985)Science 230:1242)。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)RNA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。そのミスマッチ領域の消化後、次いで、得られた物質を変性ポリアクリルアミドゲル上で、大きさにより分離して、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。

#### 【0253】

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HeL

a細胞からのチミジンDNAグリコシラーゼは、G/TミスマッチでTを切断する(Hsuら(1994)Carcinogenesis 15:1657~1662)。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。

#### 【0254】

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、一本鎖コンホメーション多型(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(Oritaら(1989)Proc Natl Acad Sci USA:86:2766、また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つの塩基変化の検出さえも可能にする。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、DNAよりもむしろ、二次構造が配列中の変化に対してより感受的である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。

#### 【0255】

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するように改変される。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。

#### 【0256】

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。

#### 【0257】

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)(Gibbsら(1989) *Nucleic Acids Res* 17:2437~2448)か、あるいは適切な条件下で mismatches 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(Prossner(1993) *Tibtech* 11:238)。さらに、切断に基づく検出を行うために、変異領域に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、特定の部位における既知の変異の存在を検出することを可能にする。

#### 【0258】

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遺伝子を含む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。

#### 【0259】

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。

#### 【0260】

（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活性に関連する障害（例えば、神経障害、癌関連障害または妊娠障害）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関係についての研究）が、考慮され得る。治療剤の代謝における差異は、薬理学的に活性な薬物の用量と血中濃度との間の関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剤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。

#### 【0261】

薬理ゲノム学は、罹患された人における変更された薬物の性質および異常な作用に起因して、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およびLinder、1997、Clin Chem, 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。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遺伝的状态(変更された薬物作用)、また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遺伝的状态(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消費後の溶血である。

#### 【0262】

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持続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、または標準的かつ安全な用量の薬物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する説明を提供した。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))で表現される。PMの有病率は、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場合に、かなり頻繁に過大な薬物応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。

#### 【0263】

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して、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。

#### 【0264】

（臨床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、基本的な薬物スクリーニングおよび臨床試験に適用され得る。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、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薬剤の効力は、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され得る。あるいは、スクリーニングアッセイによって決

定される、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薬剤の効力は、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され得る。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、増殖または神経障害に關与するような他の遺伝子が、「リードアウト（読み出し）（read out）」、すなわち、特定の細胞の応答性のマーカーとして使用され得る。

#### 【0265】

例えば、SECX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およびこの障害に關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。

#### 【0266】

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、核酸、ペプチド模倣物、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、mR

NA、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ことが(すなわち、この薬剤の効力を増加すること)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ことが(すなわち、この薬剤の効力を減少すること)望ましくあり得る。

#### 【0267】

(処置方法)

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のある(または感受性)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。

#### 【0268】

(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)SECXペプチド、またはそのアナログ、誘導體、フラグメントもしくはホモログ；(ii)SECXペプチドに対する抗体；(iii)SECX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、SECX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SECX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、Capecchi、1989、Science 244

: 1288 ~ 1292を参照のこと) ; または(v) SECX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))。

#### 【0269】

(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: SECX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を増加させるアゴニスト。

#### 【0270】

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SECX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)。

#### 【0271】

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。

### 【0272】

本発明の別の局面は、治療目的のためのSECX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。

#### 【0273】

(治療剤の生物学的効果の決定)

本発明の種々の実施形態において、適切なインビトロまたはインビボアッセイを利用して、特定の治療剤の効果およびその投与が罹患組織の処置を示すか否かを決定する。

#### 【0274】

種々の特定の実施形態において、インビトロアッセイが患者の障害に関与する代表的な細胞型で行われ、所定の治療剤がこの細胞型に対して所望の効果を発揮するか否かを決定し得る。治療において使用する化合物は、ヒト被験体において試験する前に適切な動物モデル系において試験され得る。これらの動物モデル系としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：ラット、マウス、ニワトリ、ウシ、サル、ウサギなど。同様に、インビボ試験については、当該分野で公知の任意の動物モデル系が、ヒト被験体に対する投与の前に使用され得る。

#### 【0275】

(悪性疾患)

いくつかのSECXポリペプチドは、癌性細胞において発現される(例えば、表1および2を参照のこと)。従って、対応するORFタンパク質は、細胞増殖の調節に関連する。従って、本発明の治療剤は、細胞の過剰増殖および/または細胞増殖の制御の欠損(例えば、癌、悪性疾患および腫瘍)に関連する疾患または障害の治療的処置または予防的処置において有用であり得る。このような過剰増殖障害の総説について、例えば、Fishmanら、1985、MEDICINE、第2版、J. B. Lippincott Co., Philadelphia、PAを参照のこと。

#### 【0276】

本発明の治療剤を、悪性疾患および関連する障害の処置または予防における効力について、当該分野内において公知の任意の方法によってアッセイし得る。こ

のようなアッセイとしては、形質転換された細胞または患者の腫瘍由来の細胞を利用するインビトロアッセイ、ならびに癌または悪性疾患の動物モデルを使用するインビボアッセイが挙げられるが、これらに限定されない。可能性のある有効な治療剤は、例えば、コントロールと比較して、培養物中での腫瘍由来細胞または形質転換細胞の増殖を阻害するか、または動物モデルにおいて腫瘍の後退を生じる治療剤である。

【0277】

本発明の実施において、一旦、悪性疾患または癌が、活性を調節すること（すなわち、阻害するか、アンタゴナイズするか、またはアゴナイズする）による処置に対して感受性であることが示されると、引き続いて、その癌または悪性疾患が、タンパク質機能を調節するように作用する治療剤の投与によって処置または予防され得る。

【0278】

（前悪性状態）

癌または悪性疾患の治療処置または予防処置において有効な本発明の治療剤はまた、前悪性状態の処置および/または前悪性から新生物状態もしくは悪性疾患状態への進行を防ぐための処置のために投与され得る。このような予防的用途または治療的用途が、先行する新生物または癌への進行が知られているか、またはそれが疑われる状態（特に、過形成、化生、または最も特に、異形成からなる非新生物細胞増殖が生じた場合）において、示される。このような異常な細胞増殖の総説について、例えば、RobbinsおよびAngell、1976、BASIC PATHOLOGY、第2版、W.B.Saunders Co.、Philadelphia、PAを参照のこと。

【0279】

過形成は、細胞の構造または機能における有意な変化なしに、組織または器官における細胞数の増加を含む、制御された細胞の増殖の形態である。例えば、子宮内膜の過形成は、しばしば子宮内膜癌に進行することが実証されている。化生は、成熟した細胞または十分に分化した細胞の1つの型が、成熟した細胞の別の型に置換する、制御された細胞増殖の形態である。化生は、上皮組織細胞または

結合組織細胞において生じ得る。異形成は、一般に癌の前駆体であると考えられ、そして上皮において主に見出される。異形成は、非新生物細胞増殖の最も無秩序な形態であり、個々の細胞の均一性および細胞の構築上の配向の損失を含む。異形成は、慢性の刺激または炎症が存在する場所で特徴的に生じ、そしてしばしば、頸部、気道、口腔、および胆嚢において見出される。

#### 【0280】

あるいは、または過形成、化生、もしくは異形成として特徴付けられる異常な細胞増殖の存在に加えて、患者由来の細胞サンプル内で、インビボまたはインビトロのいずれかにおいて示される形質転換表現型または悪性疾患表現型の1つ以上の特徴の存在が、上記のタンパク質の活性を調節する能力を有する治療剤の予防的/治療的投与の望ましさの指標である。形質転換された表現型の特徴としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：(i)形態学的変化；(ii)よりゆるい、下層への付着；(iii)細胞間接触阻止の喪失；(iv)足場依存性の喪失；(v)プロテアーゼ放出；(vi)増加した糖輸送；(vii)減少した血清要求性；(viii)胎児抗原の発現；(ix)250kDa細胞表面タンパク質の消滅など。例えば、Richardsら、1986、MOLECULAR PATHOLOGY、W.B.Saunders Co.、Philadelphia、PAを参照のこと。

#### 【0281】

本発明の特定の実施形態において、悪性疾患についての以下の1つ以上の素因を示す患者が、治療剤の有効量の投与によって処置される：(i)悪性疾患に関連する染色体転座（例えば、慢性骨髄性白血病についてのフィラデルフィア染色体(bcr/abl)および濾胞性リンパ腫についてのt(14;18)など）；(ii)家族性ポリープ症またはガードナー症候群（結腸癌の可能性のある前兆）；(iii)未確認の重要性の単クローン性高ガンマグロブリン血症（多発性骨髄腫の可能性のある前駆体）；ならびに(iv)メンデル（遺伝子）遺伝パターンを示す癌または前癌疾患（例えば、結腸の家族性ポリープ症、ガードナー症候群、遺伝性外骨腫症、多発性内分泌腺腫症(polyendocrine adenomatosis)、ポイツ-ジェガーズ症候群、フォン・レックリ

ングハウゼン病の神経線維腫症、アミロイド産生および褐色細胞腫をともなう甲状腺髄様癌 (medullary thyroid carcinoma)、網膜芽細胞腫、頸動脈小体腫瘍、皮膚の黒色癌、眼内の黒色癌、色素性乾皮症、毛細血管拡張性運動失調、チェディアック - 東症候群、白子症、ファンコーニ再生不良性貧血およびブルーム症候群) を有する人の一親等。

【0282】

別の実施形態において、本発明の治療剤が、ヒト患者に投与されて、乳癌、結腸癌、肺癌、膵臓癌、または子宮癌、あるいは黒色腫または肉腫の進行を防ぐ。

【0283】

(過剰増殖性障害および異常増殖性 (dysproliferative) 障害)

本発明の1つの実施形態において、治療剤が、過剰増殖性障害または良性の異常増殖性障害の治療的処置または予防的処置において投与される。過剰増殖性疾患または障害の処置または予防における本発明の治療剤の効力が、当該分野において公知の任意の方法によってアッセイされ得る。このようなアッセイとしては、インビトロの細胞増殖アッセイ、過剰増殖性疾患または障害を有する動物モデルを使用するインビトロまたはインビボアッセイなどが挙げられる。可能性のある効果的な治療剤は、例えば、コントロールとの比較において、培養物中の細胞増殖を促進し得るか、あるいは動物モデルにおける増殖または細胞増殖を生じ得る。

【0284】

本発明の特定の実施形態は、肝臓の肝硬変 (癒痕が、正常な肝臓再生プロセスを上回る状態) ; 癒痕プロセスが正常な再生を妨げる、皮膚の形状を損じることを生じるケロイド (過形成性癒痕) 形成の処置 ; 乾癬 (皮膚の過剰な増殖および適切な細胞運命の決定の遅延によって特徴付けられる一般的な皮膚の状態) ; 良性腫瘍 ; 線維性嚢状態および組織肥厚 (例えば、良性膵臓肥厚) の処置または予防に関する。

【0285】

(神経変性障害)

いくつかのSECXタンパク質は、細胞成熟の脱調節およびアポトーシス（この両方が神経変性疾患の特徴である）に関係する細胞型において見出される。従って、本発明の治療剤（限定されることはないが、特に上記のタンパク質の活性を調節（または供給）する治療剤）が、神経変性疾患の処置または予防において効果的であり得る。神経変性障害に關与する上記のタンパク質の活性を調節する本発明の治療剤を、このような神経変性疾患および障害を処置または予防することにおける効力について、当該分野において公知の任意の方法によってアッセイし得る。このようなアッセイとしては、調節された細胞成熟もしくはアポトーシスの阻害についてのインビトロアッセイ、または神経変性疾患または障害を有する動物モデルを使用するインビボアッセイ、あるいは以下に記載する任意のアッセイが挙げられる。可能性のある効果的な治療剤は、例えば限定されないが、コントロールと比較して、調節された細胞成熟を促進し、培養物中の細胞アポトーシスを防ぎ、あるいは動物モデルにおける神経変性を減少する。

#### 【0286】

一旦、神経変性疾患または障害が、調節活性による処置に対して感受性であることが示されると、その神経変性疾患または障害は、活性を調節する治療剤の投与によって処置または予防され得る。このような疾患としては、加齢に關与する全ての変性性障害（特に、変形性関節症および神経変性障害）が挙げられる。

#### 【0287】

（器官移植に關連する障害）

いくつかのSECXは、器官移植に關連する障害（特に、限定されないが、器官拒絶反応）に關係し得る。本発明の治療剤（特に、活性を調節（または供給）する治療剤）は、器官移植に關連する疾患または障害の処置または予防において効果的であり得る。本発明の治療剤（特に、上記タンパク質のレベルまたは活性を調節する治療剤）は、器官移植に關連するこのような疾患および障害の処置または予防における効力について、当該分野で公知の任意の方法によってアッセイされ得る。このようなアッセイとしては、下記のような細胞培養モデルを使用するインビトロアッセイ、または器官移植に關連する疾患および障害の動物モデルを使用するインビボアッセイが挙げられ、例えば、以下を参照のこと。潜在的に

効果的な治療剤は、例えば、限定されないが、コントロールと比較して、動物モデルにおける免疫拒絶応答を減少する。

【0288】

従って、一旦、器官移植に関連する疾患および障害が、活性の調節による処置に対して感受性であることが示されると、このような疾患または障害は、活性を調節する治療剤の投与によって処置または予防され得る。

【0289】

(心臓血管疾患)

SECXは、アテローム性動脈硬化症のプラーク形成を含む、心臓血管障害に関係する。心臓血管疾患(脳血栓症または脳出血を含む)、虚血性心疾患または虚血性腎疾患、末梢血管疾患、または他の主要な血管の血栓症のような疾患、および他の疾患(真性糖尿病、高血圧、甲状腺機能不全、コレステロールエステル貯蔵病、全身性エリテマトーデス、ホモシステイン症(homocysteinemia)、および家族性のタンパク質または脂質プロセッシング疾患などを含む)は、アテローム性動脈硬化症に直接的または間接的のいずれかで関連する。従って、本発明の治療剤(特に、活性または形成を調節(または供給)する治療剤)は、アテローム性動脈硬化症に関連する疾患または障害の処置または予防に有効であり得る。本発明の治療剤(特に、レベルまたは活性を調節する治療剤)は、このような疾患および障害の処置または予防における効力について、当該分野で公知の任意の方法(以下に記載の方法を含む)によってアッセイされ得る。

【0290】

莫大な動物モデルおよび細胞培養モデルが、アテローム性動脈硬化症に関与するプロセスについて存在する。動物モデルの限定的かつ非排他的な列挙としては、以下が挙げられる: 早発性アテローム性動脈硬化症についてのノックアウトマウス(KurabayashiおよびYazaki, 1996, Int. Angiol. 15: 187-194)、アテローム動脈硬化症のトランスジェニックマウスモデル(Kappelら, 1994, FASEB J. 8: 583-592)、動物モデルのアンチセンスオリゴヌクレオチド処置(Callow, 1995, Curr. Opin. Cardiol. 10: 569-576)、アテロ

ーム性動脈硬化症についてのトランスジェニックウサギモデル (Taylor, 1997, Ann. N. Y. Acad. Sci. 811:146-152)、高コレステロール血症動物モデル (Rosenfeld, 1996, Diabetes Res. Clin. Pract. 30 (補遺):1-11)、高脂血症マウス (Paigenら、1994、Curr. Opin. Lipidol. 5:258-264)、および動物におけるリポキシゲナーゼの阻害 (Sigalら、1994、Ann. N. Y. Acad. Sci. 714:211-224)。さらに、インビトロ細胞モデルとしては、以下が挙げられるが、これらに限定されない: 低密度リポタンパク質に曝露された単球 (Frostegardら、1996、Atherosclerosis 121:93-103)、クローン化された血管平滑筋細胞 (Suttlesら、1995、Exp. Cell Res. 218:331-338)、内皮細胞由来の化学誘引物質に曝されたT細胞 (Katzら、1994、J. Leukoc. Biol. 55:567-573)、培養されたヒト大動脈内皮細胞 (Farberら、1992、Am. J. Physiol. 262:H1088-1085)、および泡沫細胞培養物 (Libbyら、1996、Curr Opin Lipidol 7:330-335)。潜在的に効果的な治療剤は、例えば、限定されないが、コントロールと比較して、細胞培養モデルにおける泡沫細胞形成を減少するか、またはアテローム性動脈硬化症の高コレステロール血症マウスモデルにおけるアテローム性動脈硬化症のプラーク形成を減少する。

#### 【0291】

従って、一旦、アテローム性動脈硬化症に関連する疾患または障害が、活性または形成の調節による処置に対して感受性であることが示されると、これらの疾患または障害は、活性を調節する治療剤の投与によって処置または予防され得る。

#### 【0292】

(サイトカインおよび細胞増殖/分化活性)

本発明のSECタンパク質は、サイトカイン活性、細胞増殖活性(誘導するか、または阻害するかのいずれか)、または細胞分化活性(誘導するか、または

阻害するかのいずれか)を示し得るか、あるいは特定の細胞集団における他のサイトカインの産生を誘導し得る。全ての既知のサイトカインを含む、現在までに発見された多くのタンパク質因子は、因子依存性の1以上の細胞増殖アッセイにおいて活性を示し、従って、これらのアッセイは、サイトカイン活性の簡便な確認法として役立つ。本発明のタンパク質の活性は、以下を含むが、これらに限定されない細胞株についての多くの従来の因子依存性細胞増殖アッセイの任意の1つによって確認される: 32D、DA2、DA1G、T10、B9、B9/11、BaF3、MC9/G、M+(preB M+)、2E8、RB5、DA1、123、T1165、HT2、CTLL2、TF-1、Mo7eおよびCMK。

#### 【0293】

本発明のタンパク質の活性は、数ある方法でもとりわけ、以下の方法によって測定され得る: 以下に記載されるアッセイを含むが、これらに限定されない、T細胞増殖または胸腺細胞増殖についてのアッセイ: CURRENT PROTOCOLS IN IMMUNOLOGY, Coliganら編、Green Publishing Associates and Wiley-Interscience (第3章および第7章); Takaiら、J Immunol 137:3494-3500、1986; Bertagnoliら、J Immunol 145:1706-1712、1990; Bertagnoliら、Cell Immunol 133:327-341、1991; Bertagnoliら、J Immunol 149:3778-3783、1992; Bowmanら、J Immunol 152:1756-1761、1994。

#### 【0294】

脾細胞、リンパ節細胞または胸腺細胞のサイトカイン産生および/または増殖についてのアッセイとしては、KruisbeekおよびShevach: CURRENT PROTOCOLS IN IMMUNOLOGY. Coliganら編、第1巻、3.12.1-14頁、John Wiley and Sons, Toronto 1994; およびSchreiber: CURRENT PROTOCOLS IN IMMUNOLOGY. Coliganら編、第1

巻、6.8.1-8頁、John Wiley and Sons, Toronto 1994に記載のアッセイが挙げられるが、これらに限定されない。

【0295】

造血細胞およびリンパ球産生細胞の増殖および分化についてのアッセイとしては、以下によって記載されるアッセイが挙げられるが、これに限定されない：Bottomlyら：CURRENT PROTOCOLS IN IMMUNOLOGY. Coliganら編、第1巻、6.3.1-6.3.12頁、John Wiley and Sons, Toronto 1991；deVriesら、J Exp Med 173:1205-1211, 1991；Moreauら、Nature 336:690-692, 1988；Greenbergerら、Proc Natl Acad Sci U.S.A. 80:2931-2938, 1983；Nordanら：CURRENT PROTOCOLS IN IMMUNOLOGY. Coliganら編、第1巻、6.6.1-5頁、John Wiley and Sons, Toronto 1991；Smithら、Proc Natl Acad Sci U.S.A. 83:1857-1861, 1986；Measurement of human Interleukin 11 - Bennettら：CURRENT PROTOCOLS IN IMMUNOLOGY. Coliganら編、第1巻、6.15.1頁、John Wiley and Sons, Toronto 1991；Ciarlettaら：CURRENT PROTOCOLS IN IMMUNOLOGY. Coliganら編、第1巻、6.13.1頁、John Wiley and Sons, Toronto 1991。

【0296】

抗原に対するT細胞クローン応答についてのアッセイ（とりわけ、増殖およびサイトカイン産生を測定することによって、APC-T細胞相互作用に影響し、そしてT細胞の効果を指向するタンパク質を同定する）としては、以下に記載されるアッセイが挙げられるが、これらに限定されない：CURRENT PROTOCOLS IN IMMUNOLOGY. Coliganら編、Green Publishing Associates and Wiley-Int

erscience (第3章、第6章および第7章); Weinbergerら、Proc Natl Acad Sci USA 77:6091-6095, 1980; Weinbergerら、Eur J Immun 11:405-411, 1981; Takaiら、J Immunol 137:3494-3500, 1986; Takaiら、J Immunol 140:508-512, 1988。

【0297】

(免疫刺激活性または免疫抑制活性)

本発明のSECXタンパク質はまた、免疫刺激活性または免疫抑制活性(アッセイが本明細書中に記載される活性を含むが、これらに限定されない)を示し得る。タンパク質は、種々の免疫不全および免疫障害(重症複合型免疫不全(SCID)を含む)の処置(例えば、Tリンパ球および/またはBリンパ球の成長および増殖の(上方または下方)調節、ならびにNK細胞および他の細胞集団の細胞溶解活性の誘発)において有用であり得る。これらの免疫不全は、遺伝性であり得るか、またはウイルス(例えば、HIV)および細菌感染または真菌感染によって引き起こされ得るか、あるいは自己免疫障害から生じ得る。より詳細には、ウイルス感染、細菌感染、真菌感染または他の感染によって引き起こされる感染性疾患は、本発明のタンパク質を使用して処置可能であり得、この感染としては、HIV、肝炎ウイルス、ヘルペスウイルス、ミコバクテリア、リーシュマニア種、マラリア種による感染、およびカンジダ症のような種々の真菌感染が挙げられる。もちろん、この点に関して、本発明のタンパク質はまた、免疫系に対するブーストが、一般に所望され得る(すなわち、癌の処置において)場合に有用であり得る。

【0298】

本発明のタンパク質を使用して処置され得る自己免疫障害としては、例えば、以下が挙げられる: 結合組織疾患、多発性硬化症、全身性エリテマトーデス、慢性関節リウマチ、自己免疫性肺炎、ギヤン-バレー症候群、自己免疫性甲状腺炎、インスリン依存性真性糖尿病、重症筋無力症、対宿主性移植片病および自己免疫性炎症性眼疾患。本発明のこのようなタンパク質はまた、喘息(特に、アレルギー

ギー性喘息)または他の呼吸系障害のような、アレルギー反応およびアレルギー状態の処置に有用であり得る。免疫抑制が所望される他の状態(例えば、器官移植を含む)もまた、本発明のタンパク質を使用して処置可能であり得る。

#### 【0299】

本発明のタンパク質を使用して、多くの方法で、免疫応答することもまた可能であり得る。下方調節は、すでに進行中の免疫応答を阻害またはブロックする形態であり得るか、免疫応答の誘導を妨げることを含み得る。活性化T細胞の機能は、T細胞応答を抑制することによってか、またはT細胞における特異的寛容を誘導することによってか、あるいはその両方によって阻害され得る。T細胞応答の免疫抑制は、一般に、抑制剤に対するT細胞の連続的曝露を必要とする、能動的な非抗原特異的プロセスである。寛容(T細胞における非応答性またはアネルギー(energy)を誘導することを含む)は、一般的に抗原特異的であり、そして寛容化剤に対する曝露が停止した後で持続するという点で免疫抑制と識別可能である。操作的には、寛容は、寛容化剤の非存在下における特異的抗原に対する再曝露の際に、T細胞応答の欠如によって実証され得る。

#### 【0300】

1以上の抗原機能(Bリンパ球抗原機能(例えば、B7のような)を含むが、限定されない)を下方調節するか、または妨げること(例えば、活性化T細胞による高レベルのリンホカイン合成を妨げること)は、組織、皮膚および器官の移植の状況、ならびに対宿主性移植片病(GVHD)において有用である。例えば、T細胞機能のブロックは、組織移植における組織破壊の減少を生じるはずである。代表的に、組織移植において、移植片の拒絶は、T細胞によるその外来としての認識、それに続く移植片を破壊する免疫反応を介して開始される。移植前に免疫細胞上でB7リンパ球抗原のその天然のリガンドとの相互作用を阻害またはブロックする分子(例えば、B7-2活性を有するペプチドの可溶性モノマー形態単独、あるいは別のBリンパ球抗原(例えば、B7-1、B7-3)またはブロッキング抗体の活性を有するペプチドのモノマー形態との組み合わせ)の投与は、対応する同時刺激シグナルの移行を伴わずに、免疫細胞上でその分子の天然のリガンドへの結合を導き得る。このような形態でBリンパ球抗原機能をブロッ

クすることは、免疫細胞（例えば、T細胞）によるサイトカイン合成を妨げ、従って、免疫抑制剤として作用する。さらに、同時刺激の欠如はまた、T細胞を活性化して、それによって被験体において寛容を誘導するのに十分であり得る。Bリンパ球抗原ブロッキング試薬による長期の寛容の誘導は、これらのブロッキング試薬の繰り返しの投与の必要性を回避し得る。被験体において十分な免疫抑制または寛容を達成するために、Bリンパ球抗原の機能をブロックすることもまた必要であり得る。

#### 【0301】

器官移植片拒絶またはGVHDの予防における特定のブロッキング試薬の効力は、ヒトにおける効力を予測する動物モデルを使用して評価され得る。使用され得る適切な系の例としては、ラットにおける同種異系の心臓移植片およびマウスにおける異種ランゲルハンス島細胞移植片が挙げられ、その両方は、Lenschowら、Science 257:789-792(1992)およびTurkaraら、Proc Natl Acad Sci USA、89:11102-11105(1992)に記載されるようなインビボでのCTLA4Ig融合タンパク質の免疫抑制効果を試験するために使用されている。さらに、GVHDのマウスモデル(Paul編、FUNDAMENTAL IMMUNOLOGY、Raven Press、New York、1989、846~847頁を参照のこと)は、その疾患の発症に対する、インビボでのBリンパ球抗原機能のブロックの効果を決定するために使用され得る。

#### 【0302】

ブロッキング抗原機能はまた、自己免疫疾患の処置に治療的に有用であり得る。多くの自己免疫疾患は、自己組織に対して反応性であり、そしてその疾患の病理に関係するサイトカインおよび自己抗体の産生を促進する、T細胞の不適切な活性化の結果である。自己反応性T細胞の活性化の予防は、疾患の症状を軽減し得るか、または排除し得る。Bリンパ球抗原のレセプター：リガンド相互作用を破壊することによってT細胞の同時刺激をブロックする試薬の投与は、T細胞の活性化を阻害し、そしてその疾患プロセスに関係し得る自己抗体またはT細胞誘導性サイトカインの産生を妨げるために使用され得る。さらに、ブロッキング試

薬は、疾患の長期の軽減を導き得る自己反応性T細胞の抗原特異的寛容を誘導し得る。自己免疫障害の予防または軽減におけるブロック試薬の効力は、ヒト自己免疫疾患のよく特徴付けられた多くの動物モデルを使用して決定され得る。例としては、マウス実験用自己免疫脳炎、MRL/lpr/lprマウスまたはNZBハイブリッドマウスにおける全身性エリテマトーデス、マウス自己免疫コラーゲン関節炎、NODマウスおよびBBラットにおける真性糖尿病、ならびにマウス実験用重症筋無力症が挙げられる(Paul編、FUNDAMENTAL IMMUNOLOGY、Raven Press、New York、1989、840~856頁を参照のこと)。

#### 【0303】

免疫応答を上方調節する手段として、抗原機能(好ましくは、Bリンパ球抗原機能)の上方調節もまた、治療に有用であり得る。免疫応答の上方調節は、既存の免疫応答を増強するか、または初期免疫応答を誘発する形態であり得る。例えば、Bリンパ球抗原機能の刺激を介して免疫応答を増強することは、ウイルス感染の場合において有用であり得る。さらに、全身性ウイルス疾患(例えば、インフルエンザ、感冒および脳炎)は、Bリンパ球抗原の刺激形態の全身性投与によって軽減され得る。

#### 【0304】

あるいは、抗ウイルス免疫応答は、患者からT細胞を除去し、本発明のペプチドを発現するか、または本発明の可溶性ペプチドの刺激形態を伴うかのいずれかの、ウイルス抗原でパルスしたAPCで、このT細胞をインビトロで同時刺激し、そして患者にこのインビトロ活性化T細胞を再導入することによって、感染患者において増強され得る。抗ウイルス免疫応答を増強する別の方法は、患者から感染細胞を単離し、本明細書中に記載されるような本発明のタンパク質をコードする核酸を、この感染細胞にトランスフェクトして(その結果、これらの細胞がその表面上にこのタンパク質の全てまたは一部を発現する)、そしてこのトランスフェクト細胞を患者に再導入することである。ここで、この感染細胞は、インビボでT細胞に対して同時刺激シグナルを送達し、それによってT細胞を活性化することが可能である。

## 【0305】

別の適用では、抗原機能（好ましくはBリンパ球抗原機能）の上方調節または増大が腫瘍免疫の誘導において有用であり得る。本発明の少なくとも1つのペプチドをコードする核酸をトランスフェクトされた腫瘍細胞（例えば、肉腫、黒色腫、リンパ腫、白血病、神経芽細胞腫、癌腫）を、被験体中の腫瘍特異的寛容を克服するために被験体に投与し得る。所望であれば、腫瘍細胞はトランスフェクトされてペプチドの組み合わせを発現し得る。例えば、患者から得られた腫瘍細胞に、B7-2-様活性を有するペプチド単独、またはB7-1-様活性および/またはB7-3-様活性を有するペプチドを組み合わせで発現する発現ベクターを用いて、エクスピボでトランスフェクトし得る。このトランスフェクトされた腫瘍細胞は、患者に戻され、トランスフェクトされた細胞の表面上にペプチドの発現を生じる。あるいは、遺伝子治療技法を用いて、インスピボのトランスフェクションのために腫瘍細胞を標的化し得る。

## 【0306】

腫瘍細胞の表面上のB細胞リンパ球抗原の活性を有する本発明のペプチドの存在は、T細胞に対して必要な同時刺激シグナルを提供し、トランスフェクトされた腫瘍細胞に対するT細胞媒介免疫応答を誘導する。さらに、MHCクラスIまたはMHCクラスII分子を欠くか、または十分な量のMHCクラスIまたはMHCクラスII分子を再発現しない腫瘍細胞は、MHCクラスI鎖タンパク質および<sub>2</sub>マイクログロブリンタンパク質、またはMHCクラスII鎖タンパク質およびMHCクラスII鎖タンパク質のすべてまたは一部（例えば、細胞質-ドメイン短縮化部分）をコードする核酸でトランスフェクトされ得、それによって細胞表面上にMHCクラスIまたはMHCクラスIIタンパク質を発現する。Bリンパ球抗原（例えば、B7-1、B7-2、B7-3）の活性を有するペプチドと組み合わせた適切なクラスIまたはクラスII MHCの発現は、トランスフェクトされた腫瘍細胞に対するT細胞媒介性免疫応答を誘導する。必要に応じて、不変鎖（invariant chain）のようなMHCクラスII関連タンパク質の発現をブロックするアンチセンス構築物をコードする遺伝子もまた、Bリンパ球抗原の活性を有するペプチドをコードするDNAで同時トランス

ンスフェクトし、腫瘍関連抗原の提示を促進し、そして腫瘍特異的免疫を誘導し得る。従って、ヒト被験体におけるT細胞媒介免疫応答の誘導は、被験体における腫瘍特異的寛容を十分に克服し得る。

【0307】

本発明のタンパク質の活性は、とりわけ、以下の方法により測定され得る：CURRENT PROTOCOLS IN IMMUNOLOGY. Coliganら編、Greene Publishing Associates and Wiley-Interscience (第3章、第7章)；Herrmannら、Proc Natl Acad Sci USA 78:2488-2492、1981；Herrmannら、J Immunol 128:1968-1974、1982；Handaら、J Immunol 20:1564-1572、1985；Takaiら、J Immunol 137:3494-3500、1986；Takaiら、J Immunol 140:508-512、1988；Herrmannら、Proc Natl Acad Sci USA 78:2488-2492、1981；Herrmannら、J Immunol 128:1968-1974、1982；Handaら、J Immunol 18:1564-1572、1985；Takaiら、J Immunol 137:3494-3500、1986；Bowmanら、J Virology 61:1992-1998；Takaiら、J Immunol 140:508-512、1988；Bertagnolliら、Cell Immunol 133:327-341、1991；Brownら、J Immunol 153:3079-3092、1994に記載のアッセイが挙げられるがこれらに限定されない、胸腺細胞または脾細胞の細胞傷害性のための適切なアッセイ。

【0308】

T細胞依存性免疫グロブリン応答およびアイソタイプスイッチングのための(特に、T細胞依存性抗体応答を調節し、そしてTh1/Th2プロフィールに影響するタンパク質を同定する)アッセイとしては、Maliszewski、J Immunol 144:3028-3033、1990；ならびにMond

およびBrunswick, CURRENT PROTOCOLS IN IMMUNOLOGY、Coliganら編、第1巻、3.8.1.-3.8.16、John Wiley and Sons、Toronto 1994に記載のアッセイが挙げられるがこれらに限定されない。

【0309】

混合リンパ球反応(MLR)アッセイ(特に、優先的にTh1およびCTL応答を生成するタンパク質を同定するアッセイ)としては、CURRENT PROTOCOLS IN IMMUNOLOGY. Coliganら編、Greene Publishing Associates and Wiley-Interscience(第3章、第7章); Takaiら、J Immunol 137:3494-3500、1986; Takaiら、J Immunol 140:508-512、1988; Bertagnolliら、J Immunol 149:3778-3783、1992に記載のアッセイが挙げられるがこれらに限定されない。

【0310】

樹状細胞依存性アッセイ(特に、ナイーブなT細胞を活性化する樹状細胞により発現されるタンパク質を同定するアッセイ)としては、Gueryら、J Immunol 134:536-544、1995; Inabaら、J Exp Med 173:549-559、1991; Macatoniaら、J Immunol 154:5071-5079、1995; Porgadorら、J Exp Med 182:255-260、1995; Nairら、J Virol 67:4062-4069、1993; Huangら、Science 264:961-965、1994; Macatoniaら、J. Exp Med 169:1255-1264、1989; Bhardwajら、J Clin Investig 94:797-807、1994; およびInabaら、J Exp Med 172:631-640、1990に記載のアッセイが挙げられるがこれらに限定されない。

【0311】

リンパ球生存/アポトーシスのためのアッセイ(特に、スーパー抗原誘導後に

アポトーシスを妨げるタンパク質およびリンパ球ホメオスタシスを調節するタンパク質を同定する)としては、Darzynkiewiczら、Cytometry 13:795-808、1992;Gorczycaら、Leukemia 7:659-670、1993;Gorczycaら、Cancer Res 53:1945-1951、1993;Itohら、Cell 66:233-243、1991;Zacharchuk、J Immunol 145:4037-4045、1990;Zamaiら、Cytometry 14:891-897、1993;Gorczycaら、Internat J Oncol 1:639-648、1992に記載のアッセイが挙げられるがこれらに限定されない。

#### 【0312】

T細胞の拘束および発生の初期段階に影響するタンパク質のアッセイとしては、Anticaら、Blood 84:111-117、1994;Fineら、Cell Immunol 155:111-122、1994;Galyら、Blood 85:2770-2778、1995;Tokiraら、Proc Nat Acad Sci USA 88:7548-7551、1991に記載のアッセイが挙げられるがこれらに限定されない。

#### 【0313】

(造血調節活性)

本発明のSECXタンパク質は、造血の調節において、そして結果として骨髄細胞不全またはリンパ球細胞不全の処置において有用であり得る。コロニー形成性細胞または因子依存性細胞株を支援する周縁の生物学的活性でさえ、造血を調節することにおける、例えば、単独またはその他のサイトカインとの組み合わせで、赤血球系前駆体細胞の成長および増殖を支援することにおける関与を示し、それによって、例えば、種々の貧血を処置することにおけるか、または赤血球系前駆体細胞および/または赤血球細胞の産生を刺激するための照射/化学的療法と組み合わせた使用のための有用性;例えば、結果として骨髄抑制を防ぐかまたは処置するための化学的療法と組み合わせる有用な、骨髄細胞(例えば、顆粒球および単球/マクロファージ)の成長および増殖を支持する(すなわち伝統的な

C S F 活性) ことにおける有用性 ; 巨核球そして結果として血小板の成長および増殖を支持し、それによって血小板減少症のような種々の血小板障害の予防または処置を可能にすること、そして一般に、血小板輸血に代わる使用か、またはそれへの優待のための有用性 ; および / または上記の任意および全ての造血幹細胞に成熟し得、そしてそれ故、種々の幹細胞障害 (再生不良性貧血および発作性夜行性ヘモグロビン尿を含むがこれらに限定されない、通常、移植で処置されるような障害) における治療有用性を見出す、造血幹細胞の成長および増殖を支持することにおける有用性、ならびに正常細胞または遺伝子治療のために遺伝子操作された細胞として、インビボまたはエキソビボ (すなわち、骨髄移植または末梢前駆体細胞移植 (同種または異種) と組み合わせた) のいずれかで、照射 / 化学的療法後に幹細胞区画を再増殖させることにおける有用性を示す。

【0314】

本発明のタンパク質の活性は、特に、以下の方法により測定され得る。

【0315】

種々の造血株の増殖および分化の適切なアッセイは上記で引用される。

【0316】

さらに、胚幹細胞分化のアッセイ (特に、胚分化造血に影響するタンパク質を同定するアッセイ) としては、Johanssonら、Cellular Biology 15:141-151、1995; Kellerら、Mol. Cell Biol. 13:473-486、1993; McClanahanら、Blood 81:2903-2915、1993に記載のアッセイが挙げられるが、これらに限定されない。

【0317】

幹細胞生存および分化のアッセイ (特にリンパ - 造血を調節するタンパク質を同定するアッセイ) としては、Methylcellulose colony forming assays、CULTURE OF HEMATOPOIETIC CELLS. Freshneyら、編、Vol 265-268頁、Wiley-Liss, Inc. New York, N.Y. 1994、Freshney; Hirayamaら、Proc Natl Acad Sci U

SA 89:5907-5911、1992; CULTURE OF HEMATOPOIETIC CELLS. Freshneyら、編、Vol 23-39頁、Wiley-Liss, Inc. New York, N.Y. 1994、McNieceおよびBridgeli; Nebenら、Exp Hematol 22:353-359、1994; CULTURE OF HEMATOPOIETIC CELLS. Freshneyら、編、Vol 1-21頁、Wiley-Liss, Inc. New York, N.Y. 1994、Ploemacher; CULTURE OF HEMATOPOIETIC CELLS. Freshneyら、編、Vol 163-179頁、Wiley-Liss, Inc. New York, N.Y. 1994、Sponceretら; CULTURE OF HEMATOPOIETIC CELLS. Freshneyら、編、Vol 139-162頁、Wiley-Liss, Inc. New York, N.Y. 1994、Sutherlandに記載のアッセイが挙げられるが、これらに限定されない。

【0318】

(組織増殖活性)

本発明のSECXタンパク質はまた、骨、軟骨、腱、靭帯および/または神経組織成長または再生のために使用される組成物、ならびに創傷治癒および組織修復および組織置換のために使用される組成物、そして火傷、切開および潰瘍の処置における有用性を有し得る。

【0319】

本発明のタンパク質は、骨が正常に形成されない状況で軟骨および/または骨増殖を誘導し、ヒトおよびその他の動物における骨折および軟骨損傷または欠損の治癒における適用を有する。本発明のタンパク質を採用するこのような調製物は、閉鎖骨折整復および開放骨折整復における予防的使用、そしてまた人工関節の改善された固定における使用を有し得る。骨形成剤により誘導されたデノボ骨形成は、先天的、外傷誘導、または腫瘍切除誘導脳顔面頭蓋欠陥の修復に寄与し、そしてまた美容成形手術に有用である。

【0320】

本発明のタンパク質はまた、歯周病の処置において、およびその他の歯修復プロセスで用いられ得る。このような薬剤は、骨形成性細胞を誘因するか、骨形成性細胞の増殖を刺激するか、骨形成性細胞の前駆体の分化を誘導する環境を提供し得る。本発明のタンパク質はまた、骨および/または軟骨修復の刺激によるか、または炎症プロセスにより媒介される組織破壊の炎症またはプロセス(コラゲナーゼ活性、破骨細胞活性など)をブロックすることによるような、骨粗鬆症または変形性関節炎の処置で有用であり得る。

#### 【0321】

本発明のタンパク質に起因し得る組織再生活性の別のカテゴリーは、腱/靭帯形成である。このような組織が通常形成されない状況で、腱/靭帯様組織またはその他の組織形成を誘導する本発明のタンパク質は、ヒトおよびその他の動物における、腱または靭帯断裂、変形およびその他の腱または靭帯欠陥の治癒における適用を有する。腱/靭帯様組織誘導性タンパク質を採用するこのような調製物は、腱または靭帯組織への損傷を予防する際の予防的使用、ならびに腱または靭帯の骨またはその他の組織への改善された固定、および腱または靭帯組織への欠陥を修復することにおける使用を有し得る。本発明の組成物により誘導されるデノボの腱/靭帯様組織形成は、先天的、外傷誘導、またはその他の起源のその他の腱または靭帯欠陥の修復に寄与し、そしてまた腱または靭帯の付着または修復のための美容成形手術で有用である。本発明の組成物は、腱形成性細胞または靭帯形成性細胞を誘引するか、腱形成性細胞または靭帯形成性細胞の増殖を刺激するか、腱形成性細胞または靭帯形成性細胞の前駆体の分化を誘導するか、または組織修復を行うためにインビボに戻すためにエキソビボで腱/靭帯の細胞または前駆体の増殖を誘導する環境を提供し得る。本発明の組成物はまた、腱炎、毛根管症候群およびその他の腱または靭帯欠陥の処置において有用であり得る。この組成物はまた、当該分野で周知であるキャリアとして、適切なマトリックスおよび/または金属イオン封鎖剤を含み得る。

#### 【0322】

本発明のタンパク質はまた、神経細胞の増殖のため、および神経および脳組織の再生のために、すなわち、中枢神経系疾患および末梢神経系疾患および神経障

害、ならびに神経細胞または神経組織への変性、死滅または外傷を含む機械的および外傷障害の処置のために有用であり得る。より詳細には、タンパク質は、末梢神経損傷、末梢神経障害および局所神経障害のような末梢神経系の疾患、ならびにアルツハイマー病、パーキンソン病、ハンチントン病、筋萎縮側索硬化症、およびシャイ - ドレーガー症候群のような中枢神経系の疾患の処置で用いられ得る。本発明に従って処置され得るさらなる症状は、脊髄障害、頭部外傷および発作のような脳血管性疾患のような機械的および外傷的障害を含む。化学的療法またはその他の医療治療から生じる抹消神経障害もまた、本発明のタンパク質を用いて治療可能であり得る。

#### 【0323】

本発明のタンパク質はまた、圧迫性潰瘍、血管不全に関連する潰瘍、手術または外傷創傷などを含むがこれらに限定されない非治癒創傷のより良好な、またはより迅速な閉鎖を促進するために有用であり得る。

#### 【0324】

本発明のタンパク質がまた、器官（例えば、脾臓、肝臓、腸、腎臓、皮膚、内皮を含む）、筋肉（平滑筋、骨格筋または心筋）および血管（血管内皮を含む）組織のようなその他の組織の生成または再生に、またはこのような組織を含む細胞の増殖を促進するために活性を示し得ることが予想される。所望の効果の一部は、繊維症瘢痕の阻害または調整によってであり得、正常組織を再生させる。本発明のタンパク質はまた、血管形成活性を示し得る。

#### 【0325】

本発明のタンパク質はまた、腸の保護または再生のため、および肺若しくは肝臓の繊維症、種々の組織における再灌流傷害、および全身サイトカイン損傷から生じる症状の処置のために有用であり得る。

#### 【0326】

本発明のタンパク質はまた、前駆体組織または細胞から上記の組織の分化を促進若しくは阻害するため；または上記の組織の増殖を阻害するために有用であり得る。

#### 【0327】

本発明のタンパク質の活性は、特に、以下の方法により測定され得る：

組織生成活性のためのアッセイは、制限されずに：国際特許公開番号WO95/16035（骨、軟骨、腱）；国際特許公開番号WO95/05846（神経、ニューロン）；国際特許公開番号WO91/07491（皮膚、内皮）に記載されるアッセイを含む。

【0328】

創傷治癒活性についてのアッセイは、制限されずに：Eaglst einおよびMenz、J. Invest. Dermatol 71:382-84(1978)によって改変されるような、Winter、Epidermal Wound Healing、71-112頁(MaibachおよびRovee編)、Year Book Medical Publishers、Inc.、Chicagoに記載のアッセイを含む。

【0329】

(アクチビン/インヒビン活性)

本発明のSECXタンパク質はまた、アクチビン関連活性またはインヒビン関連活性を示し得る。インヒビンは、卵胞刺激ホルモン(FSH)の放出を阻害するその能力によって特徴付けられ、一方、アクチビンは、卵胞刺激ホルモン(FSH)の放出を刺激するその能力によって特徴付けられる。従って、本発明のタンパク質は、単独またはインヒビンファミリーのメンバーとのヘテロ二量体において、雌性哺乳動物における受胎能を減少し、そして雄性哺乳動物における精子形成を減少するインヒビンの能力に基づく避妊薬として有用であり得る。他のインヒビンの十分な量の投与は、これら哺乳動物における不妊症を誘導し得る。あるいは、本発明のタンパク質は、ホモ二量体としてか、またはインヒビンb群の他のタンパク質サブユニットとのヘテロ二量体として、下垂体前葉の細胞からのFSH放出を刺激するアクチビン分子の能力に基づいて、受胎能誘導治療として有用であり得る。例えば、米国特許第4,798,885号を参照のこと。本発明のタンパク質はまた、ウシ、ヒツジ、およびブタのような家畜の一生の生殖効率を増加するように、性的に未熟な哺乳動物における受胎能の開始の促進のために有用であり得る。

## 【0330】

本発明のタンパク質の活性は、とりわけ、以下の方法によって測定され得る：  
アクチビン/インヒビン活性のアッセイとしては、以下に記載されるものが挙げられるが、これらに限定されない：Valeら、Endocrinology 91：562～572、1972；Lingら、Nature 321：779～782、1986；Valeら、Nature 321：776～779、1986；Masonら、Nature 318：659～663、1985；Forageら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 83：3091～3095、1986。

## 【0331】

(走化性/ケモキネシス活性)

本発明のタンパク質は、哺乳動物細胞（例えば、単球、線維芽細胞、好中球、T細胞、肥満細胞、好酸球、上皮細胞および/または内皮細胞を含む）についての走化性またはケモキネシス活性（例えば、ケモカインとして作用する）を有し得る。走化性およびケモキネシスタンパク質を使用して、所望の細胞集団を所望の作用部位に動員または誘引し得る。走化性またはケモキネシスタンパク質は、組織に対する創傷および他の外傷の処置、ならびに局所的感染の処置において、特に利点を提供する。例えば、リンパ球、単球または好中球の、腫瘍または感染部位への誘引は、腫瘍または感染因子に対する改善された免疫応答を生じ得る。

## 【0332】

タンパク質またはペプチドは、それが直接的または間接的に、特定の細胞集団の指向された方向付けまたは移動を刺激し得る場合、そのような細胞集団について走化性活性を有する。好ましくは、タンパク質またはペプチドは、細胞の移動を直接刺激する能力を有する。特定のタンパク質が細胞の集団について走化性活性を有するか否かは、細胞の走化性についての任意の公知のアッセイにおいて、そのようなタンパク質またはペプチドを使用することによって、容易に決定され得る。

## 【0333】

本発明のタンパク質の活性は、とりわけ、以下の方法によって測定され得る。

走化性活性についてのアッセイ（走化性を誘導するか、または妨げるタンパク質を同定する）は、細胞の膜を横切る移動を誘導するタンパク質の能力、ならびに1つの細胞集団の別の細胞集団に対する接着を誘導するタンパク質の能力を測定するアッセイからなる。移動および接着についての適切なアッセイとしては以下に記載されるものが挙げられるが、これらに限定されない：CURRENT PROTOCOLS IN IMMUNOLOGY、Coliganら編（第6.12章、Measurement of alpha and beta Chemokines 6.12.1~6.12.28）；Taubら、J Clin Invest 95：1370~1376、1995；Lindら、APMIS 103：140~146、1995；Mullerら、Eur J Immunol 25：1744~1748；Gruber etら、J Immunol 152：5860~5867、1994；Johnstonら、J Immunol 153：1762~1768、1994。

#### 【0334】

（うっ血活性および血栓崩壊活性）

本発明のタンパク質はまた、うっ血活性または血栓崩壊活性を示し得る。結果として、そのようなタンパク質は、種々の凝固障害（血友病のような遺伝性疾患を含む）の処置において有用であること、または凝固および外傷、外科手術または他の原因によって生じる創傷の処置における他のうっ血事象を促進することが予測される。本発明のタンパク質はまた、血栓症の溶解または形成阻害のため、およびそこから生じる状態（例えば、心臓血管および中枢神経系血管の梗塞（例えば、発作））の処置および予防のために有用であり得る。

#### 【0335】

本発明のタンパク質の活性は、とりわけ、以下の方法によって測定され得る。うっ血および血栓崩壊活性のアッセイとしては、以下に記載されるものが挙げられるが、これらに限定されない：Lin etら、J Clin Pharmacol 26：131~140、1986；Burdickら、Thrombosis Res 45：413~419、1987；Humphreyら、Fibrinolysis 5：71~79（1991）；Schaub、Prost

aglandins 35:467~474、1988。

【0336】

(レセプター/リガンド活性)

本発明のタンパク質はまた、レセプター、レセプターリガンドまたはレセプター/リガンド相互作用のインヒビターもしくはアゴニストとしての活性を実証し得る。そのようなレセプターおよびリガンドの例としては、限定することなく、サイトカインレセプターおよびそのリガンド、レセプターキナーゼおよびそのリガンド、レセプターホスファターゼおよびそのリガンド細胞間相互作用に關与するレセプターおよびそのリガンド(限定することなく、細胞接着分子(セレクチン、インテグリンおよびそのリガンドを含む)、ならびに抗原提示、抗原認識および細胞性免疫応答および液性免疫応答の発生に關与するレセプター/リガンド対を含む)が挙げられる。レセプターおよびリガンドはまた、關連するレセプター/リガンド相互作用の可能性のあるペプチドまたは低分子インヒビターのスクリーニングにおいて有用である。本発明のタンパク質(限定することなく、レセプターおよびリガンドのフラグメントを含む)が、それ自体で、レセプター/リガンド相互作用のインヒビターとして有用であり得る。

【0337】

本発明のタンパク質の活性は、とりわけ、以下の方法によって測定され得る。

【0338】

レセプター-リガンド活性の適切なアッセイとしては、限定することなく、以下に記載されるものが挙げられる: CURRENT PROTOCOLS IN IMMUNOLOGY、Coliganら編、Greene Publishing Associates and Wiley-Interscience(第7.28章、Measurement of Cellular Adhesion under static conditions 7.28.1-7.28.22)、Takaiら、Proc.Natl.Acad.Sci. USA 84:6864~6868、1987; Biererら、J. Exp. Med. 168:1145~1156、1988; Rosensteinら、J. Exp. Med. 169:149~160 1989; Stoltenbor

gら、J. Immunol. Methods 175:59~68、1994；  
Stittら、Cell 80:661~670、1995。

#### 【0339】

##### (抗炎症活性)

本発明のタンパク質はまた、抗炎症活性を示し得る。抗炎症活性は、炎症応答に関与する細胞に対する刺激を提供することによってか、細胞間相互作用（例えば、細胞接着）を阻害するか、または促進することによってか、炎症プロセスに関与する細胞の走化性を阻害するか、または促進することによってか、細胞の血管外遊出を阻害するか、または促進するかによってか、あるいは炎症応答を直接的により阻害するか、またはより促進する他の因子の産生を刺激するか、または抑制することによって、達成され得る。そのような活性を示すタンパク質を使用して、炎症状態（慢性状態または急性状態を含む）を処置し得る。これらの状態としては、限定することなく、感染に関連する炎症（例えば、敗血症性ショック、敗血症または全身性炎症応答症候群（SIRS））、虚血 - 灌流損傷、内毒素の致死性、関節炎、補体媒介性激症拒絶症、腎炎、サイトカイン誘導性肺損傷またはケモカイン誘導性胚損傷、炎症性腸疾患、クローン病、またはTNFもしくはIL-1のようなサイトカインの過剰産生より生じるものが挙げられる。本発明のタンパク質はまた、抗原性物質または抗原性材料に対する、アナフィラキシーおよび過敏症の処置のためにも、有用であり得る。

#### 【0340】

##### (腫瘍阻害活性)

腫瘍の免疫学的処置または予防について上記に記載された活性に加えて、本発明のタンパク質は、他の抗腫瘍活性を示し得る。タンパク質は、直接的または間接的（例えば、ADCCを介して）腫瘍増殖を阻害し得る。タンパク質は、腫瘍組織または腫瘍前駆体組織に作用することによって、腫瘍増殖を支持するために必要な組織の形成を阻害することによって（例えば、新脈管形成を阻害することによって）、腫瘍増殖を阻害する他の因子、物質または細胞型の産生を生じることによって、あるいは腫瘍増殖を促進する因子、物質または細胞型を、抑制、除去または阻害することによって、その腫瘍阻害活性を示し得る。

## 【0341】

## (他の活性)

本発明のタンパク質はまた、以下のさらなる活性または効果の1つ以上を示し得る：限定はされないが、細菌、ウイルス、真菌および他の寄生生物を含む感染因子の、増殖、感染または機能を阻害するか、あるいは死滅させること；身体的特徴（限定することなく身長、体重、髪の色、目の色、皮膚、赤肉に対する脂肉の比、または他の組織色素沈着、あるいは器官または身体部分のサイズまたは形状（例えば、胸部増大または減少、骨の形態または形状の変化）が挙げられる）を生じること（抑制することまたは増強すること）；バイオリズムあるいはサーカディアンサイクルまたはサーカディアンリズムを生じること；雄性被験体または雌性被験体の受胎能を生じること；食事脂肪、脂質、タンパク質、炭水化物、ビタミン、ミネラル、補因子または他の栄養因子もしくは栄養成分の、代謝、異化作用、同化作用、プロセッシング、利用、貯蔵または除去を生じること；行動的特徴（食欲、性欲、ストレス、認識（認識障害を含む）、うつ病（抑うつ障害を含む）および狂暴症を含むが、これらに限定されない）を生じること；鎮痛性効果または他の疼痛減少効果を提供すること；造血系列以外の系列における胚性幹細胞の分化または増殖を促進すること；ホルモン活性または内分泌活性；酵素の場合、酵素の欠損を矯正すること、および欠損関連疾患を処置すること；過剰増殖障害（例えば、乾癬）の処置；免疫グロブリン様活性（例えば、抗原または補体に結合する能力）；ならびにワクチン組成物において抗原として作用し、そのようなタンパク質または他の物質あるいはそのようなタンパク質と交差反応する実体に対する免疫応答を惹起する能力。

## 【0342】

一般的な神経障害としては、パーキンソン病、アルツハイマー病、ハンティングトン病、多発性硬化症、筋萎縮性側索硬化症、（ALS）、末梢神経障害、神経系の腫瘍、神経毒への曝露、急性脳損傷、末梢神経外傷または損傷、および他のニューロパシー、てんかん、ならびにノバリスが挙げられる。

## 【0343】

## (実施例)

## (実施例1 . S E C X核酸配列の染色体位置決定)

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、本発明の種々の S E C X核酸の染色体位置を決定するために実施した。Steen, R Gら (A Hiht - Density Integrated Genetic Linkage and Radiation Hybrid Map of the Laboratory Rat, Genome Research 1999 (1999年5月21日オンライン公開) 第9巻: AP1 - AP8、1999) に記載されるように、一般的にマッピングを実施した。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を、96ウェルプレート内で、本はつミ得の S E C X核酸を特異的に同定するよう設計した P C Rプライマーを使用して、スクリーニングした。種々の S E C X核酸に対する染色体を、第1のマーカー、第2のマーカー、および起点マーカーと共に表3に示す。

【0344】

【表3】

表 3.

SECX	座標	Chr.	第一のマーカー 遺伝子	第二のマーカー 遺伝子	起点マーカー
SEC2	10326230	1	AFMB014ZB9	GCT8C07	NIB1364
SEC3	16399139	1	AFMB014ZB9	GCT8C07	NIB1364
SEC4	3440544.0.81	1	DIS417	AFMA230VH5	NIB1364
SEC5	3581980.0.30	8	AFMA053XF1	CHLC.GATA50D 10	WI-6641
SEC6	4418354.0.6	5	---	WI-9907	WI-9907
SEC7	4418354.0.9	5	---	WI-9907	WI-9907
SEC8	6779999.0.31	9	WI-3309	CHLC.GATA28C 02	CHLC. GCT3G05
SEC9	8484782.0.5	4	AFM312WG1	WI-4886	WI-6657

## (実施例2 . 全長 F G F 1 0 - A C 0 0 4 4 4 9 の分子クローニング)

この実施例において、全長 F G F 1 0 - A C 0 0 4 4 4 9 クローンについてのクローニングを記載する。オリゴヌクレオチドプライマーを、全長 F G F 1 0 - A C 0 0 4 4 4 9 (配列番号1) 配列を P C R増幅するように設計した。正方向プライマーは、インフレーション B g l I I I 制限部位: 4301999 TOPO:

【0345】

## 【化12】

5'-AGATCT CCACC ATG CGC CGC CGC CTG TGG CTG GGC CTG-3' (配列番号21)

および4301999正方向:

【0346】

## 【化13】

5'-CTCGTC AGATCT CCACC ATG CGC CGC CGC CTG TGG CTG GGC CTG-3' (配列番号22)

を含む。正方向プライマー - はまた、ATG開始コドンの上流にコンセンサスKozak配列(CCACCC)を含む。

【0347】

逆方向プライマーは、インフレームXhoI制限部位: 4301999 TOPO:

【0348】

## 【化14】

5'-CTCGAG GGA GAC CAG GAC GGG CAG GAA GTG GGC GGA-3' (配列番号23)

および4301999逆方向:

【0349】

## 【化15】

5'-CTCGTC CTCGAG GGA GAC CAG GAC GGG CAG GAA GTG GGC GGA-3' (配列番号24)

を含む。

【0350】

独立したPCR反応を、5 ngのヒト胎児脳cDNAテンプレートおよび対応するプライマー対を使用して実施した。この反応混合物は、50 μLの容量中に、各々1 μMの4301999 TOPO正方向プライマーおよび4301999 TOPO逆方向プライマーあるいは4301999正方向プライマーおよび4301999逆方向プライマー、5マイクロモルのdNTP (Clontec

h Laboratories, Palo Alto CA)ならびに1 $\mu$ lの50x Advantage-HF 2ポリメラーゼ(Clontech Laboratories, Palo Alto CA)を含んだ。以下の反応条件を使用した:

- a) 96 3分
- b) 96 30秒 変性
- c) 70 30秒、プライマーアニーリング。この温度は、1 /サイクルで徐々に減少した。

【0351】

- d) 72 1分 伸長

工程b~dを10回繰り返す。

【0352】

- e) 96 30秒 変性
- f) 60 30秒 アニーリング
- g) 72 1分 伸長

工程e~gを25回繰り返す

- h) 72 5分 最終伸長。

【0353】

予測された510bp増幅産物を、両方のサンプルにおいてアガロースゲル電気泳動によって検出した。このフラグメントを、アガロースゲルから精製した。

4301999 TOPO正方向プライマーおよび4301999 TOPO逆方向プライマーを使用する反応から誘導されたフラグメントを、pCDNA3.1-TOPO-V5-Hisベクター(Invitrogen, Carlsbad, CA)にクローニングした。4301999 TOPO正方向プライマーおよび4301999 TOPO逆方向プライマーを使用する反応から誘導されたフラグメントを、pBIGHisベクター(CuraGen Corp.)にクローニングした。クローン化挿入物を配列決定しかつ予測された全長FGF10-AC004449をコードするオープンリーディングフレームとして確認した。このクローン化配列は、予測された配列に100%同一であることが、決定さ

れた。

【0354】

(実施例3 . FGF10 - AC004449の成熟形態の分子クローニング)  
この実施例において、FGF10 - AC004449クローンの成熟形態についてのクローニングを記載する。pCDNA3 . 1 - TOPO - V5 - His構築物由来の確認されたFGF10 - AC004449挿入物を、テンプレートとして使用して、オリゴヌクレオチドプライマーを、FGF10 - AC004449の成熟形態をPCR増幅するように設計した。PCR反応を、FGF10 - AC004449クローンの成熟形態を増幅するために、設定した。正方向プライマー、FGF10 - AC004449 C正方向：

【0355】

【化16】

5'-AGATCT ACC CCG AGC GCG TCG CGG GGA CCG-3' (配列番号26)

。逆方向プライマー、4301999逆方向：

【0356】

【化17】

5'-CTCGTC CTCGAG GGA GAC CAG GAC GGG CAG GAA GTG GGC GGA-3' (配列番号27)

。

【0357】

PCR反応を、50 $\mu$ Lの容量中の0.1ngのpCDNA3 . 1 - TOPO - VS - His - FGF10 - AC004449プラスミドDNAテンプレート(全長FGF10 - AC004449を表す)、各々1 $\mu$ Mの対応するプライマー対、5マイクロモルのdNTP(Clontech Laboratories, Palo Alto CA)および1 $\mu$ lの50x Advantage - HF 2ポリメラーゼ(Clontech Laboratories, Palo Alto CA)を使用して設定した。以下の反応条件を使用した：

a) 96 3分 変性

- b) 96 30秒 変性  
 c) 60 30秒 プライマーアニーリング  
 d) 72 1分 伸長

工程 b ~ d を 15 回繰り返す。

【0358】

- e) 72 5分 最終伸長。

【0359】

予測された450bp増幅産物を、アガロースゲル電気泳動によって検出した。このフラグメントを、アガロースゲルから精製し、そしてpCR2.1ベクター(Invitrogen, Carlsbad, CA)に連結した。クローン化挿入物を配列決定し、そしてこの挿入物を、FGF10-AC004449の予測された成熟形態をコードするオープンリーディングフレームとして確認した。

【0360】

(実施例4. 哺乳動物発現ベクターpCEP4/Secの調製)

発現ベクター、すなわちpCEP4/Secを、SECX核酸配列の発現を試験するために、構築した。pCEP4/Sec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、異種タンパク質発現および分泌を可能にする発現ベクターである。発現されたタンパク質の検出および精製は、C末端でのV5エピトプタグおよび6xHisタグ(Invitrogen, Carlsbad, CA)の存在によって補助される。

【0361】

pCEP4/SECを構築するために、オリゴヌクレオチドプライマーである、pSec-V5-His正方向；

【0362】

【化18】

5'-CTCGTCCTCGAGGGTAAGCCTATCCCTAAC-3' (西列番号28)

およびpSec-V5-His逆方向：

【0363】

## 【化19】

5'-CTCGTCGGGCCCTGATCAGCGGGTTTAAAC-3' (配列番号2)

を設計して、p c D N A 3 . 1 - V 5 H i s ( I n v i t r o g e n 、 C a r l s b a d 、 C A ) 発現ベクター ( V 5 および H i s 6 を含む ) 由来のフラグメントを増幅した。この P C R 産物を、X h o I および A p a I で消化し、そして I g リーダー配列を保有する、X h o I / A p a I で消化した p S e c T a g 2 B ベクター ( I n v i t r o g e n 、 C a r l s b a d 、 C A ) に連結した。得られるベクター p S e c V 5 H i s ( インフレーム I g - リーダーおよび V 5 - H i s 6 を含む ) の正しい構造を、DNA 配列分析により確認した。ベクター p S e c V 5 H i s を、P m e I および N h e I で消化して、正しいフレーム中に上記エレメントを保持するフラグメントを提供した。P m e I - N h e I フラグメントを、B a m H I / クレノウおよび N h e I で処理したベクター p C E P 4 ( I n v i t r o g e n 、 C a r l s b a d 、 C A ) に連結した。得られたベクターを、p C E P 4 / S e c と名付け、そして P C M V および / または P T 7 プロモーターの制御下で、インフレーム I g リーダー、目的のクローンの挿入のための部位、V 5 および H i s 6 を含む。

## 【0364】

( 実施例 5 . ヒト胚腎臓 2 9 3 細胞における F G F 1 0 A A C 0 0 4 4 の発現 )

F G F 1 0 A A C 0 0 4 4 配列を含む 0 . 5 k b の B g l I I I - X h o I フラグメントを、p C R 2 . 1 - F G F 1 0 - X から単離し、そして B a m H I - X h o I 消化 p C E P 4 / S e c にサブクローン化し、発現ベクター p C E P 4 / S e c - F G F 1 0 - X を生成した。p C E P 4 / S e c - F G F 1 0 - X ベクターを、L i p o f e c t a m i n e P l u s 試薬を用いて製造者指示 ( G i b c o / B R L ) に従ってヒト胚腎臓 2 9 3 細胞にトランスフェクトした。細胞ペレットおよび上清をトランスフェクションの 7 2 時間後収集し、そして抗 V 5 抗体を用いる還元条件下でウエスタンブロットによる F G F 1 0 A C 0 0 4 4 発現を調査した。図 1 に示されるように、F G F 1 0 A C 0 0 4 4 は、ヒト胚腎臓 2

93細胞によって分泌される33kDaのタンパク質として発現される。

【0365】

(実施例6.組換えE.coliにおけるFGF10AC0044の発現)  
ベクターpRSETA(Invitrogen Inc, Carlsbad, CA)を、XhoIおよびNcoI制限酵素で消化した。オリゴヌクレオチドリンカーGATGGTCAGCCTACおよびTCGAGTAGGCTGACを、37℃でアニーリングし、そしてXhoI-NcoI処理pRSETAに連結した。得られたベクターを制限分析および配列決定によって確認し、そしてpETMYと名付けた。BamHI-XhoIフラグメント(上記を参考のこと)を、BamHIおよびXhoI制限酵素で消化したpETMYに連結した。この発現ベクターを、pETMY-FGF10-Xと名付けた。このベクターにおいて、hFGF10-Xを、そのN末端で6xHisタグおよびT7エピトープに融合した。次いで、プラスミドpETMY-FGF10-Xを、E.coli発現宿主BL21(DE3, pLys)(Novagen, Madison, WI)に形質転換し、そしてタンパク質FGF10-Xの発現誘導を製造者指示に従って実施した。誘導後、全細胞を回収し、そしてタンパク質を、抗HisGly抗体(Invitrogen, Carlsbad, CA)を使用するウエスタンブロットイングによって分析した。図2は、FGF10AC0044が、E.coli細胞において、29kDaのタンパク質として発現されたことを示す。

【0366】

(実施例7.16399139.S124Aの分子クローニング)

この実施例において、全長16399139.S124Aクローンについてのクローニングが記載される。オリゴヌクレオチドプライマーを、全長配列をPCR増幅するように設計した。正方向プライマーは、16399139C-正方向  
:

【0367】

【化20】

5'-CTCGTCAGATCTGTGATGCAGCCCTACCCCTTGGTTTG-3' (西己列番号20)

を含む。

【0368】

逆方向プライマーは、16399139F - TOPO - 逆方向：

【0369】

【化21】

5'-CTCGAGGGAGCCGTGCGGGGGCGCGCCCTGGCCAGA-3' (配列番号31)

を含む。

【0370】

独立したPCR反応を、5 ngのヒト胎児脳cDNAテンプレートを、対応するプライマー対とともに使用して実施した。この反応混合物は、50 µLの容量中に、各々1 µMの16399139C - 正方向プライマーおよび16399139F - TOPO - 逆方向プライマー、5マイクロモルのdNTP (Clontech Laboratorys, Palo Alto CA) および1 µlの50x Advantage - HF 2ポリメラーゼ (Clontech Laboratories, Palo Alto CA) を含んだ。以下の反応条件を使用した：

- a) 96 3分
- b) 96 30秒 変性
- c) 70 30秒、プライマーアニーリング。この温度は、1 / サイクルで徐々に減少した。

【0371】

- d) 72 1分 伸長
- 工程b ~ dを10回繰り返す
- e) 96 30秒 変性
  - f) 60 30秒 アニーリング
  - g) 72 1分 伸長
- 工程e ~ gを25回繰り返す
- h) 72 5分 最終伸長。

## 【0372】

PCR産物を、pCR2.1ベクター(Invitrogen, Carlsbad CA)にクローニングし、そしてベクター特異的プライマーおよび以下の遺伝子特異的プライマーを使用して配列決定した:

## 【0373】

## 【化22】

16399139 S1: AATGAGTGTGATGCGAGT (配列番号32),  
 16399139 S2: CAGCATACGGTCTTAGAA (配列番号33)および  
 16399139 S3: ACATGCGAATGTGAGCAC (配列番号34)

## (実施例8. SECX核酸の組織発現分析)

種々のクローンの定量的組織発現を、Perkin-Elmer Biosystems ABI PRISM(登録商標)7700 Sequence Detection Systemで実施される実時間定量的PCR(real time quantitative PCR)(TAQMAN(登録商標))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。

## 【0374】

96のRNAサンプルを、 $\beta$ -アクチンおよびGAPDHに対して正規化した。cDNAを、RNA(約50ng総RNAまたは約1ngポリA+RNA)から、TAQMAN(登録商標)Reverse Transcription Reagents Kit(PE Biosystems, Foster City, CA; cat#N808-0234)およびランダムな6量体を使用し、製造者のプロトコールに従って、生成した。反応を、20 $\mu$ l中で実施し、そして30分間48 $^{\circ}$ Cでインキュベートした。次いで、cDNA(5 $\mu$ l)を、製造業者の指示に従って、 $\beta$ -アクチンおよびGAPDH TAQMAN(登録商標) Assay Reagents(PE Biosystems; cat.#'s 4310881Eおよび4310884Eの各々)およびTAQMAN(登録商標)universal PCR Master Mix(PE Biosystems; cat#4304447)を使用するTAQMAN(登録商標)反

応のために、分離プレートに移した。反応を、以下のパラメータを使用して25  $\mu$ l中で実施した：50 で2分；95 で10分；95 で15秒/60 で1分（40サイクル）。結果を、ログスケールを使用するCT値（所与のサンプルは、蛍光の閾値レベルを通過するサイクル）として記録し、2つのサンプル間のRNA濃度の差は、2のCT乗として示した。次いで、%相対発現を、このRNAの差の逆数を取り、そして100をかけることによって得る。 - アクチンおよびGAPDHについて得られた平均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値を発生するRNAサンプルは、さらなる希釈を必要としないが、他の全てのサンプルは、それらの - アクチン/GAPDHの平均CT値に従って、サンプルと比較して希釈した。

#### 【0375】

正規化RNA（5  $\mu$ l）を、cDNAに転換し、製造者の指示に従って、One Step RT-PCR Master Mix Reagents（PE Biosystems；cat.#4309169）および遺伝子特異的プライマーを使用するTAQMAN（登録商標）によって分析した。プローブおよびプライマーを、インプットとして本発明の核酸配列を使用する、Perkin Elmer Biosystem's Primer Express Softwareパッケージ（Apple Computer's Macintosh Power PC用のバージョンI）に従って、各アッセイに対して設計した。制限された特定のプローブおよびプライマーの概要を表4に示す。デフォルトの設定を、反応条件に対して使用し、そして以下のパラメータを、プライマーを選択する前に設定した：プライマーの濃度 = 250 nM、プライマーの融解温度（ $T_m$ ）範囲 = 58 ~ 60、プライマーの最適 $T_m$  = 59、プライマーの最大差 = 2、プローブは、5' Gを有さず、プローブ $T_m$ は、プライマー $T_m$ よりも10 高くなければならず、アンプリコンサイズは75 bp ~ 100 bpである。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, USA）によって合成された。プローブを、未結合の色素を除去するために2回HPLC精製し、プローブの5'末端および3'末端へのレポーター色素およびクエンチャー色素のカップリングを立証す

るために、質量分析法によって評価した。正方向プライマーおよび逆方向プライマーの最終濃度は、900 nMであり、そしてプローブの濃度は、200 nMであった。

#### 【0376】

PCRを以下のように実施し、各組織および各細胞株由来の正規化RNAを、96ウエルPCRプレート(Perkin Elmer Biosystems)の各ウエルにスポットした。2つのプローブ(SECXプローブで多重化されたSECX特異的プローブおよび別の遺伝子特異的プローブ)を含むPCRカクテルを、PE Biosystems 770の1xTaqMan™PCR Master Mix(5mMのMgCl<sub>2</sub>、dNTP(dA、G、C、U(1:1:1:2の比))、0.25U/ml AmpliTaq Gold™(PE Biosystems)、および0.4U/μlのRNaseインヒビター、および0.25U/μlの逆転写酵素を含む)を用いて設定した。逆転写を、48℃で30分間実施し、次いで増幅/PCRサイクルを以下のように実施した: 95℃で10分、次いで90℃で15秒間、60℃で1分間を40サイクル。

#### 【0377】

発現結果の概要を、表5に示す。所定のSECX配列についての示された細胞または組織における発現を、参照転写物に対する発現のパーセントとして示す。

#### 【0378】

#### 【表4】

表 4

SECX	プライム 同定	標的 配列位置	7 <sup>9</sup> 547-7 <sup>0</sup> 0-7 <sup>1</sup>	SEQ ID NO
SEC2	10326230.0.38	588-663	Ag 2(F): 5'-GTGCTGCTGCTCTACAATAACCA-3'	35
			Ag 2(R): 5'-GTTTCTGCAGCTGGGCCAT-3'	36
			Ag 2(P): FAM-5'-TGGACCGGTGCGCCTTCGAT-3'-TAMRA	37
SEC3	16399139.0.7	418-495	Ag 40 (F): 5'-GGCACGTCCCTCCGTTCT-3'	38
			Ag 40 (R): 5'-CTGTTCAAGTTGCAAACCAAG-3'	39
			Ag 40 (P): FAM-5'-CTGCGACAACGAGCTCCTGCACTG-3'-TAMRA	40
SEC5	3581980.0.30	5-80	Ag 151 (F): 5'-CCCATGTGACAGTGACGAAGTC-3'	41
			Ag 151 (R): 5'-AGTGTGATTGCCGGGTTTAC-3'	42
			Ag 151 (P): FAM-5'-CTGTTTTCTCTCGCGTCTCTCTGTTTCTGG-3'-TAMRA	43
SEC6	4418354	495-570	Ag 156 (F): 5'-AGCACCATCCACAGCTGCTT-3'	44
			Ag 156 (R): 5'-TGACCCTCATCCATGGCTACT-3'	45
			Ag 156 (P): TET-5'-CTCATCAGAGAGCCCTGCGTGC-3'-TAMRA	46
SEC8	6779999.0.31	610-688	Ag 108 (F): 5'-GCATGCCTGTAGTCCCAGCTA-3'	47
			Ag 108 (R): 5'-ACCCAAGCTGGATTAGAAATTCCT-3'	48
			Ag 108 (P): FAM-5'-AAGCAATCCTCTTGCCCTCAGTCTCCCAA-3'-TAMRA	49
SEC9	8484782.0.5	354-432	Ag18 (F): 5'-ACCCGCTGTGTTTGCTGAC-3'	50
			Ag18 (R): 5'-TTTTCTACCGCTCCCCAGTCT-3'	51
			Ag18 (P): FAM-5'-AACCTACCCTGGAGTCCGGAGCC-3'-TAMRA	52

【0379】

【表5】

表 5

	相対表示%					
	SEC2	SEC3	SEC5	SEC6	SEC8	SEC9
上皮細胞	0.46	0.00	0.00	8.42	0.45	0.00
上皮細胞(処理)	0.08	0.00	0.00	9.47	0.07	0.00
脾臓	4.87	0.03	0.16	28.32	0.39	0.00
脂肪	14.87	0.19	28.52	50.35	0.25	0.00
副腎	25.35	0.06	0.47	46.65	1.10	100.00
甲状腺	8.19	0.00	0.00	34.39	0.20	0.00
唾液	7.38	0.02	0.05	41.47	3.40	0.00
下垂体	3.00	0.00	0.74	22.38	0.05	0.00
脳(胎児)	12.24	4.04	26.24	12.41	4.18	4.42
脳(全体)	78.46	17.31	42.93	20.17	17.80	31.43
脳(脳核)	26.98	11.34	17.56	48.63	0.78	1.69
脳(小脳)	100.00	10.37	100.00	54.34	85.86	23.33
脳(海馬)	87.06	20.31	50.00	55.86	3.74	5.75
脳(視床下部)	21.61	0.11	0.02	50.35	3.77	0.54
脳(黒質)	28.92	6.34	4.18	68.30	2.94	0.31
脳(視床)	29.12	100.00	4.18	68.78	0.51	0.13
脊髄	4.94	0.44	0.00	30.15	0.02	0.00
心臓	0.00	0.00	4.54	52.49	0.30	0.00
骨格筋	15.18	0.00	0.00	100.00	0.23	0.00
骨髄	1.30	0.00	1.08	44.75	1.01	0.00
胸腺	7.23	0.03	0.03	56.25	13.97	0.00
脾臓	5.29	0.00	0.05	40.61	1.28	0.00
リンパ節	11.19	0.08	0.03	18.82	6.75	0.00
クローン(上行)	0.00	0.00	4.15	43.53	7.23	0.00
胃	10.51	0.05	5.75	22.69	5.11	0.00
小腸	3.47	0.02	0.43	29.52	7.08	0.00
膀胱	9.67	0.03	30.35	81.23	1.88	0.00
気管	5.95	0.00	3.49	24.83	5.11	0.00
腎臓	8.66	0.06	0.06	75.26	1.96	0.00
腎臓(胎児)	6.52	0.10	0.85	43.83	3.24	0.01
肝臓	3.85	0.00	0.47	24.49	9.02	0.00
肝臓(胎児)	0.95	0.00	1.29	34.63	0.26	0.00
肺	8.90	0.03	1.76	22.07	0.00	0.00
肺(胎児)	1.63	0.00	0.00	9.54	2.68	0.00
乳腺	13.97	0.00	4.74	44.44	1.99	0.00
卵巣	8.54	0.08	0.00	50.70	0.00	0.00
子宮筋層	2.80	0.00	5.59	27.74	1.31	0.00
子宮	5.87	0.13	0.08	46.33	2.70	0.00

(表5 のつぎ)

胎盤	4.45	0.00	1.41	43.83	0.00	0.00
前立腺	6.21	0.03	3.82	38.96	1.35	0.00
精巣	13.40	0.00	4.74	92.66	100.00	0.00
乳房 ca.* (pl. effusion) MCF-7	42.34	0.00	0.00	100.00	32.09	0.00
乳房 ca.* (pl. eff.) MDA-MB-231	10.08	0.00	0.00	16.72	4.45	0.00
乳房 ca. BT-549	37.37	0.00	0.22	18.95	0.00	0.00
乳房 ca.* (pl. effusion) T47D	28.13	0.00	1.98	51.76	100.00	0.00
乳房 ca. MDA-N	11.99	0.00	0.32	41.18	42.04	0.00
卵巣 ca. OVCAR-3	12.59	0.00	0.00	35.85	6.70	0.00
卵巣 ca.* (ascites) SK-OV-3	21.32	0.00	0.00	7.91	24.15	0.00
卵巣 ca. OVCAR-4	5.40	0.00	0.00	6.56	0.48	0.00
卵巣 ca. OVCAR-5	19.21	0.00	13.30	35.11	34.39	0.00
卵巣 ca. IGROV-1	7.13	0.00	0.27	21.46	16.61	0.00
卵巣 ca. OVCAR-8	52.49	0.00	0.87	55.86	64.17	0.00
CNS ca. (glio/astro) U87-MG	4.51	0.00	0.00	23.98	17.92	0.00
CNS ca. (astro) SW1783	2.90	0.00	0.33	12.07	8.30	0.00
CNS ca. (glio/astro) U-118-MG	0.29	0.00	0.00	13.77	25.88	0.00
CNS ca.* (neuro; met) SK-N-AS	9.15	0.00	0.34	32.31	5.48	0.00
CNS ca. (astro) SF-539	0.40	0.00	0.00	14.36	14.97	0.00
CNS ca. (astro) SNB-75	3.08	0.00	37.11	15.07	32.09	0.00
CNS ca. (glio) SNB-19	29.32	0.00	29.73	25.35	35.11	100.00
CNS ca. (glio) U251	12.07	0.00	0.54	10.73	10.01	0.00
CNS ca. (glio) SF-295	8.78	0.00	0.00	21.02	6.70	0.00
クローン ca. SW480	2.42	0.00	2.68	14.26	3.93	0.00
クローン ca.* (SW480 met) SW620	3.08	86.45	0.00	15.28	22.69	0.00
クローン ca. HT29	4.84	72.70	0.00	32.53	29.12	0.00
クローン ca. HCT-116	1.77	0.00	0.53	16.96	0.00	0.00
クローン ca. CaCo-2	4.90	0.00	9.67	15.18	5.56	0.00
胃 ca.* (liver met) NCI-N87	44.44	0.00	0.00	51.76	96.59	0.00
クローン ca. HCT-15	25.70	0.00	0.00	42.04	20.45	0.00
クローン ca. HCC-2998	9.09	2.29	0.00	64.62	38.42	0.00
腎臓 ca. 786-D	0.73	0.00	15.93	19.89	35.85	0.00
腎臓 ca. A498	0.13	0.00	40.05	24.49	5.08	0.00
腎臓 ca. RXF 393	0.68	0.00	19.34	3.56	5.26	0.00
腎臓 ca. ACHN	7.97	0.00	0.00	10.66	3.67	0.00
腎臓 ca. UC-31	4.77	0.00	0.00	17.68	7.97	0.00
腎臓 ca. TK-10	12.16	83.51	0.00	23.16	86.45	0.00
肝臓 ca. (hepatoblast) HepG2	5.75	100.00	6.84	34.87	28.13	0.00
肺 ca. (small cell) LX-1	1.86	0.00	18.17	20.45	28.92	0.00
肺 ca. (small cell) NCI-H69	1.77	0.00	0.71	13.12	25.00	1.30
肺 ca. (s. cell var.) SHP-77	82.36	0.00	100.00	15.71	0.00	0.00
肺 ca. (non-sm. cell) A549	5.59	0.00	0.00	33.92	42.63	0.00
肺 ca. (squam.) SW 900	11.42	0.00	0.00	59.87	22.07	0.00
肺 ca. (squam.) NCI-H596	3.02	0.00	0.00	16.61	28.72	60.71

(表5 のつぎ)

肺	ca. (non-s.cell) NCI-H23	20.88	0.00	1.01	32.31	27.93	0.00
肺	ca. (large cell) NCI-H460	61.13	0.00	14.56	54.71	0.00	0.00
肺	ca (non-s.cell) HOP-62	2.88	0.00	0.63	40.05	3.19	0.00
肺	ca. (non-s.cl) NCI-H522	37.37	0.00	0.00	18.56	33.68	0.00
膵臓	ca. CAPAN 2	0.02	0.00	4.12	17.08	12.76	0.00
前立腺	ca.* (bone met) PC-3	100.00	0.00	1.02	53.22	0.00	0.00
黒色腫	Hs688(A).T	1.94	0.00	0.00	8.36	0.11	0.00
黒色腫	* (met) Hs688(B).T	2.05	0.00	0.68	12.85	4.07	0.00
黒色腫	UACC-62	3.04	0.00	0.00	26.24	0.00	0.00
黒色腫	M14	17.19	0.00	39.50	16.49	22.22	0.00
黒色腫	LOX IMVI	8.78	0.00	0.00	9.02	3.54	0.00
黒色腫	* (met) SK-MEL-5	5.01	0.00	25.53	33.22	19.48	0.00
黒色腫	SK-MEL-28	9.15	0.00	0.32	100.00	14.66	0.00
黒色腫	UACC-257	1.72	0.00	0.37	100.00	15.93	0.00

Ca . = 癌

\* = 転移から定着される

met = 転移

s cell var = 小細胞の改変体

non - s = non - sm = non - small

squam = 鱗状

pl . eff = 胸水

gli o = 神経膠腫

astro = 星状細胞腫

neuro = 神経芽細胞腫

(他の実施形態)

本発明は、その詳細な説明と共に記載されるが、上の記載は、添付の特許請求の範囲の範囲によって規定される本発明の範囲を例示することを意図するが、限定することを意図しないと理解される。他の局面、利点および可変物は、以下のクレームの範囲内である。

【図面の簡単な説明】

【図1】

図1は、胎児腎臓293細胞におけるFGF10AC0044の発現を示すウ

エステンブロット分析の表示である。

【図2】

図2は、E. coli細胞におけるFGF10AC0044の発現を示すウェスタンブロット分析の表示である。

【図1】

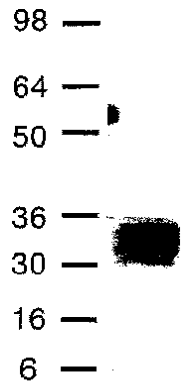


Fig. 1

【図2】

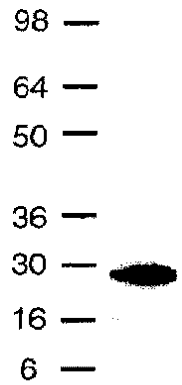


Fig. 2

## 【國際調查報告】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

		International Application No. PCT/US 00/13291
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
IPC 7	C12N15/12	C07K14/47
	A61K38/17	C07K16/18
		C07K14/50
		C07K16/28
		C07K14/705
		G01N33/53
		C07K14/475
		G01N33/68
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.
Y	DATABASE TREMBL 'Online! Accession number 060371, 1 August 1998 (1998-08-01) LAMERDIN J.E. ET AL.: XP002150340 abstract	1-21, 29-36
Y	WO 98 06844 A (COLEMAN TIMOTHY A ;HUMAN GENOME SCIENCES INC (US); JIMENEZ PABLO () 19 February 1998 (1998-02-19) page 1 -page 18; claims 1,17,18; 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
	-/-	
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C.		<input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.
* Special categories of cited documents:		
*A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance		*T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
*E* earlier document but published on or after the international filing date		*X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
*L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)		*Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
*O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means		*Z* document member of the same patent family
*P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
24 January 2001		6 February 2001
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

7

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 Int'l. Application No  
 PCT/US 00/13291

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 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
A	DATABASE EMBL 'Online! ROHLFING T. ET AL.: retrieved from EBI Database accession no. 043354 XP002158289 abstract ---	1-21, 29-36
A	DATABASE EMBL 'Online! GAN W.-B., ET AL.: "NETRIN PRECURSOR" retrieved from EBI Database accession no. 096659 XP002158290 abstract ---	1-21, 29-36
A	WO 98 28419 A (UNIV LELAND STANFORD JUNIOR) 2 July 1998 (1998-07-02) page 37 -page 41 ---	1-21, 29-36
A	DATABASE EMBL 'Online! 5 August 1998 (1998-08-05) MAHAIRAS G.G. ET AL.: "genomic survey sequence" retrieved from EBI Database accession no. aq072148 XP002158352 abstract ---	1-21, 29-36
X	DATABASE EMBL 'Online! 6 January 1998 (1998-01-06) YU W., ET AL.: "Homo sapiens clone 24666 sec6 homolog mRNA, partial cds." retrieved from EBI Database accession no. AF055006 XP002158291 abstract ---	1-21, 29-36
X	DATABASE EMBL 'Online! 30 September 1997 (1997-09-30) ROBERT STRAUSBERG: "contains Alu repetitive element" retrieved from EBI Database accession no. AA605057 XP002158300 abstract --- -/--	1-21, 29-36

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No PCT/US 00/13291
---

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	DATABASE EMBL 'Online! 10 May 1999 (1999-05-10) OOHASHI T. ET AL.: "Mus musculus mRNA for Ten-m3, complete cds." retrieved from EBI Database accession no. AB025412 XP002158294 abstract -----	1-21, 29-36
X	DATABASE EMBL 'Online! 9 April 1999 (1999-04-09) NAGASE T. ET AL.: "Homo sapiens mRNA for KIAA0976 protein, complete cds" retrieved from EBI Database accession no. AB023193 XP002158295 abstract -----	1-21, 29-36
P,X	WO 99 63088 A (BAKER KEVIN ;CHEN JIAN (US); GENENTECH INC (US); YUAN JEAN (US); G) 9 December 1999 (1999-12-09) claims 2,12; figures 72,74 -----	1-21, 29-36
P,X	US 5 989 818 A (LABRIE SAMUEL T ET AL) 23 November 1999 (1999-11-23) claim 3; figures SEQ.ID1,3 -----	1-21, 29-36

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/US 00/13291**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 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/SA/ 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 00/13291

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9806844 A	19-02-1998	AU 3977097 A	06-03-1998
		CN 1234071 A	03-11-1999
		EP 0950100 A	20-10-1999
		US 6077692 A	20-06-2000
WO 9845712 A	15-10-1998	AU 6952998 A	30-10-1998
		EP 0974058 A	26-01-2000
WO 9707198 A	27-02-1997	US 5707829 A	13-01-1998
		AU 6712396 A	18-02-1997
		AU 6768596 A	12-03-1997
		CA 2227220 A	06-02-1997
		CA 2229208 A	27-02-1997
		EP 0839196 A	06-05-1998
		EP 0851875 A	08-07-1998
		JP 11510045 T	07-09-1999
		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 9828419 A	02-07-1998	AU 5900198 A	17-07-1998
WO 9963088 A	09-12-1999	AU 4328699 A	20-12-1999
		AU 2212299 A	26-07-1999
		WO 9935170 A	15-07-1999
US 5989818 A	23-11-1999	NONE	

## フロントページの続き

(51)Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	テ-マ-コ-ト' (参考)	
A 6 1 P	1/16	A 6 1 P	7/00	4 C 0 8 5
	3/10		9/10	4 H 0 4 5
	7/00		11/06	
	9/10		17/02	
	11/06		17/06	
	17/02		19/08	
	17/06		21/04	
	19/08		25/00	
	21/04		25/14	
	25/00		25/16	
	25/14		25/28	
	25/16		27/02	
	25/28		27/14	
	27/02		29/00	1 0 1
	27/14		31/04	
	29/00	1 0 1	31/10	
	31/04		31/12	
	31/10		31/18	
	31/12		33/06	
	31/18		35/00	
	33/06		37/04	
	35/00		37/06	
	37/04	C 0 7 K	14/47	
	37/06		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			N
C 1 2 Q	1/68		33/566	
G 0 1 N	33/53	C 1 2 P	21/08	
		C 1 2 N	15/00	Z N A A
	33/566		5/00	A
// C 1 2 P	21/08	A 6 1 K	37/02	

- (31)優先権主張番号 6 0 / 1 8 8 , 2 7 4  
(32)優先日 平成12年3月10日(2000.3.10)  
(33)優先権主張国 米国( U S )  
(31)優先権主張番号 0 9 / 5 6 9 , 2 6 9  
(32)優先日 平成12年5月11日(2000.5.11)  
(33)優先権主張国 米国( U S )

(81)指定国 EP(AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AP(GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW

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

Fターム(参考) 4B024 AA01 AA11 BA80 CA04 DA02  
 DA05 DA12 EA02 EA04 GA11  
 4B063 QA19 QA20 QQ43 QR08 QR42  
 QR56 QS25 QS34 QX02  
 4B064 AG27 CA10 CA20 CC24 DA01  
 DA13  
 4B065 AA01X AA57X AA72X AA90X  
 AA93Y AB01 BA02 CA24  
 CA44 CA46  
 4C084 AA02 AA07 BA01 BA22 CA53  
 ZA02 ZA16 ZA33 ZA36 ZA45  
 ZA51 ZA59 ZA75 ZA89 ZA94  
 ZA96 ZB02 ZB08 ZB09 ZB11  
 ZB13 ZB15 ZB26 ZB33 ZB35  
 ZB38 ZC06  
 4C085 AA13 AA14 BB31 CC21 EE01  
 4H045 AA10 AA30 BA10 CA40 DA76  
 EA20 EA50 FA72 FA74

专利名称(译)	由此编码的新多核苷酸和多肽		
公开(公告)号	<a href="#">JP2003524402A</a>	公开(公告)日	2003-08-19
申请号	JP2000618452	申请日	2000-05-12
[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 ボルドッグフェレンク		
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 ボルドッグ, フェレンク		
IPC分类号	G01N33/53 A61K38/00 A61K38/17 A61K39/395 A61K48/00 A61P1/16 A61P3/10 A61P7/00 A61P9/10 A61P11/06 A61P17/02 A61P17/06 A61P19/08 A61P21/04 A61P25/00 A61P25/14 A61P25/16 A61P25/ /28 A61P27/02 A61P27/14 A61P29/00 A61P31/04 A61P31/10 A61P31/12 A61P31/18 A61P33/06 A61P35/00 A61P37/04 A61P37/06 C07K14/47 C07K14/475 C07K14/50 C07K14/705 C07K16/18 C07K16/28 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C12N15/09 C12N15/12 C12P21/08 C12Q1/68 G01N33/566 G01N33/68		
CPC分类号	A61K38/00 A61P1/16 A61P11/06 A61P17/02 A61P17/06 A61P19/08 A61P21/04 A61P25/00 A61P25/ /14 A61P25/16 A61P25/28 A61P27/02 A61P27/14 A61P29/00 C07K14/47 C07K14/4756 C07K14/50 C07K14/705		
FI分类号	A61K39/395.D A61K39/395.H A61K48/00 A61P1/16 A61P3/10 A61P7/00 A61P9/10 A61P11/06 A61P17/02 A61P17/06 A61P19/08 A61P21/04 A61P25/00 A61P25/14 A61P25/16 A61P25/28 A61P27/ /02 A61P27/14 A61P29/00.101 A61P31/04 A61P31/10 A61P31/12 A61P31/18 A61P33/06 A61P35/00 A61P37/04 A61P37/06 C07K14/47 C07K16/18 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12Q1/68.A G01N33/ /53.D G01N33/53.N G01N33/566 C12P21/08 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/DA12 4B024/ /EA02 4B024/EA04 4B024/GA11 4B063/QA19 4B063/QA20 4B063/QQ43 4B063/QR08 4B063/QR42 4B063/QR56 4B063/QS25 4B063/QS34 4B063/QX02 4B064/AG27 4B064/CA10 4B064/CA20 4B064/ /CC24 4B064/DA01 4B064/DA13 4B065/AA01X 4B065/AA57X 4B065/AA72X 4B065/AA90X 4B065/ /AA93Y 4B065/AB01 4B065/BA02 4B065/CA24 4B065/CA44 4B065/CA46 4C084/AA02 4C084/AA07 4C084/BA01 4C084/BA22 4C084/CA53 4C084/ZA02 4C084/ZA16 4C084/ZA33 4C084/ZA36 4C084/ /ZA45 4C084/ZA51 4C084/ZA59 4C084/ZA75 4C084/ZA89 4C084/ZA94 4C084/ZA96 4C084/ZB02 4C084/ZB08 4C084/ZB09 4C084/ZB11 4C084/ZB13 4C084/ZB15 4C084/ZB26 4C084/ZB33 4C084/ /ZB35 4C084/ZB38 4C084/ZC06 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/BB31 4C085/CC21 4C085/EE01 4H045/AA10 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/CA40 4H045/DA76 4H045/EA20 4H045/EA50 4H045/ /FA72 4H045/FA74		
优先权	60/134315 1999-05-14 US 60/175744 2000-01-12 US 60/188274 2000-03-10 US 09/569269 2000-05-11 US		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		
摘要(译)			

本发明提供了一种称为SEX多肽的新型多肽，以及编码SEX多肽的多核苷酸，以及与SEX免疫特异性结合的抗体，或SEX多肽，多核苷酸或抗体的衍生物，提供变体，变体或片段。本发明进一步提供了将SEX多肽，多核苷酸和抗体用于检测和治疗多种病理状况以及其他应用的方法。

