

(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 - 527108

(P2003 - 527108A)

(43)公表日 平成15年9月16日(2003.9.16)

(51) Int. Cl ⁷	識別記号	F I	テ-マ-ド [*] (参考)
C 1 2 N 15/09	ZNA	A 6 1 K 31/7088	2 G 0 4 5
A 6 1 K 31/7088		39/395	D 4 B 0 2 4
38/00			N 4 B 0 5 0
38/45			P 4 B 0 6 3
39/395		48/00	4 B 0 6 4

審査請求 未請求 予備審査請求 (全180数) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2001 - 560378(P2001 - 560378)

(86) (22)出願日 平成13年2月15日(2001.2.15)

(85)翻訳文提出日 平成14年8月15日(2002.8.15)

(86)国際出願番号 PCT/US01/04779

(87)国際公開番号 W001/061008

(87)国際公開日 平成13年8月23日(2001.8.23)

(31)優先権主張番号 60/182,637

(32)優先日 平成12年2月15日(2000.2.15)

(33)優先権主張国 米国(US)

(31)優先権主張番号 60/237,862

(32)優先日 平成12年10月4日(2000.10.4)

(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 ヴェルネ, コリーヌ アー. エム.
アメリカ合衆国 フロリダ 32060, ゲイ
ンズビル, エヌダブリュー 43アールディ
ー ストリート 4830 ピーナンバー-253

(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,
ウエスト ハイブン, リート ストリート
191

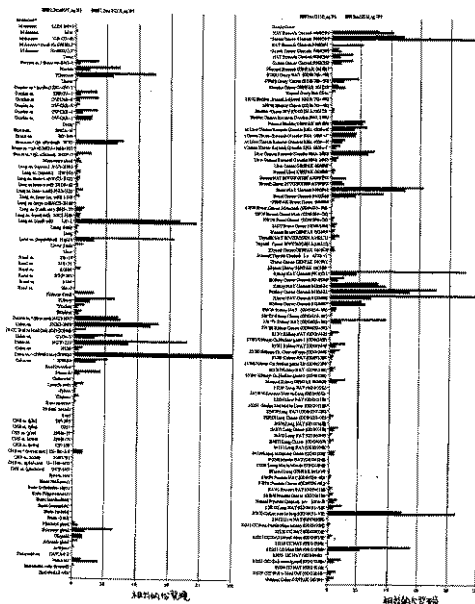
(74)代理人 弁理士 大塩 竹志

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 ポリペプチドおよびポリペプチドをコードする核酸

(57)【要約】

本発明は、新規の単離されたNOV XポリヌクレオチドおよびNOV Xポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドを提供する。NOV Xポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体、またはNOV Xのポリペプチド、ポリヌクレオチドもしくは抗体の、任意の誘導體、改変体、変異体もしくはフラグメントがまた、提供される。本発明はさらに、NOV Xのポリペプチド、ポリヌクレオチドおよび抗体が、病理学的状態の広い範囲の検出および処置に利用される方法、ならびに他の使用を提供する。本発明に従う種々のNOV X核酸およびポリペプチドは、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。さらに、NOV X核酸およびNOV Xポリペプチドはまた、NOV Xポリペプチドが属するファミリーのメンバーであるタンパク質を同定するために使用され得る。



【特許請求の範囲】

【請求項1】 単離されたポリペプチドであって、以下：

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

b) 配列番号2、4、6、8、10、12、もしくは14からなる群より選択されるアミノ酸配列の成熟形態の改変体であって、ここで、該成熟形態中の任意のアミノ酸が異なるアミノ酸に改変され、ただし、該成熟形態の配列中の15%以下のアミノ残基がそのように改変される、改変体；

c) 配列番号2、4、6、8、10、12、もしくは14からなる群より選択されるアミノ酸配列；

d) 配列番号2、4、6、8、10、12、もしくは14からなる群より選択されるアミノ酸配列の改変体であって、ここで該選択された配列中で特定される任意のアミノ酸が異なるアミノ酸に改変され、ただし、該配列中の15%以下のアミノ酸残基がそのように改変される、改変体；および

e) a) ~ d) のいずれかのフラグメントからなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、ポリペプチド。

【請求項2】 請求項1に記載のポリペプチドであって、該ポリペプチドが、配列番号2、4、6、8、10、12、もしくは14からなる群より選択される配列の天然に存在する対立遺伝子改変体である、ポリペプチド。

【請求項3】 請求項2に記載のポリペプチドであって、ここで、前記改変体が単一ヌクレオチド多型の翻訳である、ポリペプチド。

【請求項4】 請求項1に記載のポリペプチドであって、該ポリペプチドが本明細書中に記載の改変体ポリペプチドであり、ここで、前記選択された配列中で特定される任意のアミノ酸が保存的置換を提供するように改変される、ポリペプチド。

【請求項5】 単離された核酸分子であって、該核酸分子が、以下：

a) 配列番号2、4、6、8、10、12、もしくは14に提供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、もしくは14からなる群より選択

されるアミノ酸配列の成熟形態の改変体であって、ここで、該選択された配列の該成熟形態中の任意のアミノ酸が異なるアミノ酸に改変され、ただし、該成熟形態の配列中の15%以下のアミノ残基がそのように改変される、改変体；

c) 配列番号2、4、6、8、10、12、もしくは14からなる群より選択されるアミノ酸配列；

d) 配列番号2、4、6、8、10、12、もしくは14からなる群より選択されるアミノ酸配列の改変体であって、該選択された配列中で特定される任意のアミノ酸が異なるアミノ酸に改変され、ただし、該配列中の15%以下のアミノ酸残基がそのように改変される、改変体；

e) 配列番号2、4、6、8、10、12、もしくは14からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むポリペプチドまたは該ポリペプチドの任意の改変体の、少なくとも一部をコードする核酸フラグメントであって、ここで、該選択された配列の任意のアミノ酸が異なるアミノ酸に改変され、ただし、該配列中の10%以下のアミノ酸残基がそのように変化される、核酸フラグメント；および

f) 該核酸分子のいずれかの相補体からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むポリペプチドをコードする核酸配列を含む、核酸分子。

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

【請求項7】 改変体ポリペプチドをコードする請求項5に記載の核酸分子であって、ここで、該改変体ポリペプチドが天然に存在するポリペプチド改変体のポリペプチド配列を有する、核酸分子。

【請求項8】 請求項5に記載の核酸分子であって、ここで、該核酸分子が前記改変体ポリペプチドをコードする単一ヌクレオチド多型を含む、核酸分子。

【請求項9】 請求項5に記載の核酸分子であって、ここで、該核酸分子が以下：

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

b) ヌクレオチド配列であって、ここで、配列番号1、3、5、7、9、11

、もしくは13からなる群より選択されるヌクレオチド配列中の1つ以上のヌクレオチドが、該選択された配列からなる群より選択されるヌクレオチドから異なるヌクレオチドに改変され、ただし、15%以下のヌクレオチドがそのように改変される、ヌクレオチド配列；

c) 配列番号1、3、5、7、9、11、もしくは13からなる群より選択される配列の核酸フラグメント；および

d) 核酸フラグメントであって、ここで、配列番号1、3、5、7、9、11、もしくは13からなる群より選択されるヌクレオチド配列中の1つ以上のヌクレオチドが、該選択された配列からなる群より選択されるヌクレオチドから異なるヌクレオチドに改変され、ただし、15%以下のヌクレオチドがそのように改変される、核酸フラグメント；

からなる群より選択されるヌクレオチド配列を含む、核酸分子。

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

【請求項11】 請求項5に記載の核酸分子であって、ここで、該核酸分子が、以下：前記選択されたヌクレオチド配列のコード配列において特定される任意のヌクレオチドが、該選択された配列からなる群より選択されるヌクレオチドから異なるヌクレオチドに改変され、ただし、該選択されたコード配列中の15%以下のヌクレオチドがそのように変化されるヌクレオチド配列、第1のポリヌクレオチドに相補的な単離された第2のポリヌクレオチドまたはそれらの任意のフラグメント

を含む、核酸分子。

【請求項12】 請求項11に記載の核酸分子を含む、ベクター。

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

【請求項14】 請求項12に記載のベクターを含む、細胞。

【請求項15】 請求項1に記載のポリペプチドに免疫特異的に結合する、

抗体。

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

【請求項17】 前記抗体がヒト化抗体である、請求項15に記載の抗体。

【請求項18】 サンプル中の請求項1に記載のポリペプチドの存在または量を測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に導入する工程；および

(c) 該ポリペプチドに結合する抗体の存在または量を測定する工程であり、それによって該サンプル中のポリペプチドの存在または量を測定する工程を包含する、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測定するための方法であって、該方法は、以下：

(a) 該サンプルを提供する工程；

(b) 該サンプルを該核酸分子に結合するプローブに導入する工程；および

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

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

(a) 該ポリペプチドを該因子に導入する工程；および

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

【請求項21】 病態の処置における使用のための潜在的な治療因子を同定するための方法であって、ここで、該病態は、請求項1に記載のポリペプチドの異常な発現または異常な生理学的相互作用に関連し、該方法が、以下：

(a) 請求項1に記載のポリペプチドを発現しかつ該ポリペプチドに起因する特性または機能を有する細胞を提供する工程；

(b) 該細胞を、候補物質を含有する組成物と接触させる工程；および

(c) 該物質が該ポリペプチドに起因し得る該性質または該機能を改変するか否かを測定する工程であり、

これによって、該物質の存在中に観察された改変が、該細胞を、該物質を欠く組成物と接触させた際に観察されない場合、該物質が潜在的な治療因子として同定される、工程を包含する、方法。

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

【請求項23】 請求項1に記載のポリペプチドと関連する病態を処置または予防する方法であって、該方法が、そのような処置または予防が所望される被験体に、該被験体の該病態を処置または予防するに十分な量で請求項1に記載のポリペプチドを投与する工程を包含する、方法。

【請求項24】 前記被験体がヒトである、請求項23に記載の方法。

【請求項25】 請求項1に記載のポリペプチドと関連する病態を処置または予防する方法であって、該方法が、そのような処置または予防が所望される被験体に、該被験体の該病態を処置または予防するに十分な量でNOVX核酸を投与する工程を包含する、方法。

【請求項26】 前記被験体がヒトである、請求項25に記載の方法。

【請求項27】 請求項1に記載のポリペプチドと関連する病態を処置または予防する方法であって、該方法が、そのような処置または予防が所望される被験体に、該被験体の該病態を処置または予防するに十分な量でNOVX抗体を投与する工程を包含する、方法。

【請求項28】 前記被験体がヒトである、請求項27に記載の方法。

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

【請求項30】 請求項5に記載の核酸分子および薬学的に受容可能なキャ

リアを含有する、薬学的組成物。

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

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

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

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

【請求項35】 ヒトの疾患と関連する症候群を処置するための医薬品の製造における治療剤の使用であって、該疾患が請求項1に記載のポリペプチドと関連する病態から選択され、ここで、該治療剤が請求項1に記載のポリペプチドである、使用。

【請求項36】 ヒトの疾患と関連する症候群を処置するための医薬品の製造における治療剤の使用であって、該疾患が請求項1に記載のポリペプチドと関連する病態から選択され、ここで、該治療剤がNOVX核酸である、使用。

【請求項37】 ヒトの疾患と関連する症候群を処置するための医薬品の製造における治療剤の使用であって、該疾患が請求項1に記載のポリペプチドと関連する病態から選択され、ここで、該治療剤がNOVX抗体である、使用。

【請求項38】 請求項1に記載のポリペプチドと関連する病態に対する活性もしくは潜伏のモジュレーターまたは該病態の性質をスクリーニングするための方法であって、該方法が、以下：

a) 請求項1に記載のポリペプチドと関連する病態に対する増加した危険性のある試験動物に試験化合物を投与する工程であって、ここで、該試験動物は請求項1に記載のポリペプチドを組み換え発現する、工程；

b) 工程(a)の該化合物を投与する工程の後に該試験動物中の該ポリペプチドの活性を測定する工程；および

c) 該試験動物における該タンパク質の活性を、該ポリペプチドが投与されていないコントロール動物における該ポリペプチドの活性と比較する工程であって

、ここで、該コントロール動物と比較した該試験動物中の該ポリペプチドの活性における変化は、該試験化合物が請求項1に記載のポリペプチドと関連する病態の潜伏のモジュレーターまたは該病態の性質であることを示す、工程を包含する、方法。

【請求項39】 請求項38に記載の方法であって、ここで、前記試験動物が、野生型試験動物と比較して増加したレベルで、試験タンパク質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該導入遺伝子を発現する、組換え試験動物であり、ここで、該プロモーターは、該導入遺伝子のネイティブな遺伝子プロモーターではない、方法。

【請求項40】 第1の哺乳動物被験体における請求項1に記載のポリペプチドの変化したレベルと関連する疾患の存在または該疾患の性質を決定するための方法であって、該方法が、以下：

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

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

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

【請求項41】 第1の哺乳動物被験体における請求項5に記載の核酸分子の変化したレベルと関連する疾患の存在または該疾患の性質を決定するための方法であって、該方法が、以下：

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

b) 工程(a)の該サンプル中の該核酸の量を、該疾患を有さないことが既知であるかまたは該疾患にかかりにくいことが既知の、第2の哺乳動物被験体由来

のコントロールサンプル中に存在する該核酸の量と比較する工程であって、

ここで、該コントロールサンプルと比較した場合の該第1の被験体における該核酸のレベルにおける変化が、該疾患の存在または該疾患の性質を示す、工程を包含する、方法。

【請求項42】 哺乳動物において病理学的状態を処置する方法であって、該方法が、該病理状態を緩和するに十分な量でポリペプチドを該哺乳動物に投与する工程を包含し、ここで、該ポリペプチドが、配列番号2、4、6、8、10、12、もしくは14からなる群より選択されるアミノ酸配列またはそれらの生物学的に活性なフラグメントを含むポリペプチドに少なくとも95%同一なアミノ酸配列を有するポリペプチドである、方法。

【請求項43】 哺乳動物の病理学的状態を処置する方法であって、該方法が、該病理学的状態を緩和するに十分な量で請求項15に記載の抗体を該哺乳動物に投与する工程を包含する、方法。

【発明の詳細な説明】**【0001】****(発明の背景)**

本発明は、一般的に、核酸およびそれによってコードされるポリペプチドに関する。より詳細には、本発明は、細胞質、核、膜結合、および分泌ポリペプチドをコードする核酸、ならびにこれらの核酸およびポリペプ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】**(発明の要旨)**

本発明は、新規なポリペプチドをコードする新規なポリヌクレオチド配列の発見の一部に基づく。

【0003】

従って、一つの局面において、本発明は、配列番号1、3、5、7、9、11もしくは13の配列、あるいはそれらのフラグメント、ホモログ、アナログまたは誘導体を含む単離された核酸分子を提供する。この核酸は、例えば、配列番号2、4、6、8、10、12もしくは14のアミノ酸配列を含むポリペプチドに少なくとも85%同一なポリペプチドをコードする核酸配列を含み得る。この核酸は、例えば、ゲノムDNAフラグメント、またはcDNA分子であり得る。

【0004】

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

【0005】

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

【0006】

別の局面において、本発明は、NOVX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。

【0007】

さらなる局面において、本発明は、実質的に精製されたNOVXポリペプチド

(例えば、NOVX核酸によってコードされるNOVXポリペプチドのいずれか、ならびにそのフラグメント、ホモログ、アナログ、および誘導体)を含む。本発明はまた、NOVX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。

【0008】

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

【0009】

本発明はまた、上記薬学的組成物のいずれかを含むキットを含む。

【0010】

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

【0011】

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

【0012】

本発明はさらに、NOVXポリペプチドを化合物と接触させ、NOVXポリペ

プチドの活性が改変されるか否かを決定することによって、NOVX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。

【0013】

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

【0014】

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

【0015】

さらなる局面において、本発明は、被験体のNOVX関連障害の存在またはこの障害の素因を決定する方法を提供する。この方法は、核酸サンプル（例えば、RNAまたはDNAまたはその両方）を被験体から提供する工程、および被験体の核酸サンプル中のNOVX核酸の量を測定する工程を包含する。次いで、被験体核酸中のNOVX核酸サンプルの量を、コントロールサンプル中のNOVX核酸の量と比較する。コントロールサンプル中のNOVXの量に対するサンプル中のNOVX核酸の量における変化は、この被験体がNOVX関連障害を有するこ

とを示す。

【0016】

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

【0017】

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

【0018】

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

【0019】

(発明の詳細な説明)

本発明は、新規なヌクレオチドおよびそれによってコードされるポリペプチドを提供する。それらの配列は、集合的に「NOVX核酸」または「NOVXポリヌクレオチド」と呼ばれ、そして対応するコードされるポリペプチドは、「NOVXポリペプチド」または「NOVXタンパク質」と呼ばれる。他に示されない場合、「NOVX」は、本明細書中に開示された新規な配列のいずれかをいうことを意味する。表1は、種々の開示されるNOVX核酸およびそれらのコードされるポリペプチドの要約を提供する。実施例1は、新規な核酸がどのように同定されたかについての記載を提供する。

【0020】

【表1】

表1. 配列および対応する配列番号

NOVX 寄託	内部識別番号	配列番号 (核酸)	配列番号 (ポリペプチド)	相同性/発現
1	28804279.0.7	1	2	胎児腎臓で発現
2	28326488.0.55	3	4	胎児腎臓で発現
3	10312947.0.40	5	6	下垂体で発現
4	25330368.0.1	7	8	乳腺で発現
5	4004056.0.143	9	10	副腎、乳房、前立腺および胎児腎臓で発現
6	3084780.0.73	11	12	膵臓、胎児肺、胃で発現
7	SC20692369	13	14	N-アセチルグルコサミンルトランスフェラーゼと 相同性

NOVX核酸およびそれらのコードされるポリペプチドは、種々の用途および内容において有用である。本発明に従う種々のNOVX核酸およびポリペプチドは、先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。さらに、NOVX核酸およびNOVXポリペプチドはまた、NOVXポリペプチドが属するファミリーのメンバーであるタンパク質を同定するために使用され得る。

【0021】

例えば、NOV1およびNOV2核酸は、胎児の腎臓から単離された。従って、NOV1およびNOV2核酸、NOV1およびNOV2ポリペプチド、NOV1およびNOV2抗体ならびに本発明の他の組成物を使用して、腎形成および腎臓癌における新規の遺伝子、タンパク質およびシグナル伝達経路を同定し得る。同様に、NOV3核酸は下垂体が起源であり、そして従ってNOV3核酸を使用して、成長ホルモン調節、血管疾患およびクッシング症候群における新規の遺伝子、タンパク質およびシグナル伝達経路を同定し得る。

【0022】

また、NOV 4 核酸は、乳腺から単離され、そして染色体 2 1 a の領域に局在する。従って、NOV 4 核酸、NOV 4 ポリペプチド、NOV 4 抗体および本発明の他の組成物は、染色体 2 1 についてのマーカーとして使用され得、そして産褥性乳腺炎および乳癌における新規の遺伝子、タンパク質およびシグナル伝達経路を同定し得る。

【0023】

また、NOV 6 核酸は、膵臓から単離された。そういうものとして、NOV 6 核酸、NOV 6 ポリペプチド、NOV 6 抗体および本発明の他の組成物を使用して、糖尿病および膵臓癌における新規の遺伝子、タンパク質およびシグナル伝達経路を同定し得る。

【0024】

さらに、NOV 7 は、N - アセチルグルコサミニルトランスフェラーゼファミリーの新規のメンバーであり、そして NOV 7 核酸、NOV 7 ポリペプチド、NOV 7 抗体および本発明の他の組成物をそのように使用して、他のアセチルグルコサミニルトランスフェラーゼファミリーメンバーを同定し得る。

【0025】

この NOV X 核酸および NOV X ポリペプチドをまた使用して、NOV X 活性または NOV X 機能を阻害または増強する分子についてスクリーニングし得る。詳細には、本発明に従う核酸およびポリペプチドは、例えば、腎形成、細胞分化、細胞運動、細胞増殖および新脈管形成を調節または阻害する小分子の同定のための標的として使用され得る。

【0026】

本発明に従う NOV X 核酸および NOV X ポリペプチドについてのさらなる有用性が、本明細書中に開示される。

【0027】

(NOV 1)

本発明に従う NOV 1 配列は、ヒト胎児腎臓を含む胎児腎臓において見出されるポリペプチドをコードする核酸配列を含む。表 2 において示されるこの開示された核酸 (配列番号 1) は、579ヌクレオチド長であり、そしてヌクレオチド

30～32でのATG開始コドンで開始し、ヌクレオチド312～314でのTAA停止コドンで終了するオープンリーディングフレーム(ORF)を含む。Kozakコンセンサス配列は何もこの配列と関係がない。この例示的なORFは、94アミノ酸ポリペプチド(配列番号2)をコードする。NOV2ポリペプチドの予想分子量は10354.6ダルトン(Da)である。このコードされるタンパク質は、推定分泌タンパク質である。なぜならPSORT分析は、この細胞の外側に0.5135の確実度で見出したからである。このタンパク質は、切断可能なN末端シグナル配列を、部位36と部位37との間のもっともありそうな切断部位で有すると思われる。コード配列の上流および下流の推定非翻訳領域は、配列番号1において下線を付した。

【0028】

【表2】

表2

1	<u>TATGGAATAAAGAACCATGACGGAGTCCCATGCCGAGCCAGAGAAGAGAC</u>
51	<u>CACCACCCGAGAGAGGTTTCATCCTACCATGTAACCTCTGCTTACAGCCTA</u>
101	<u>CTTGCTTCTCACCGGCGTGCTGGGGACAGCAAAGTCTGAGGACTCTGGTT</u>
151	<u>GGTGTGGGCTGTGTGCAAGGAGAGCAGTGGCCATGGGATAAGGCCTCTG</u>
201	<u>CACAGCTCTAGAAGCTTCAATCCATTTCCACCCATACATCTCTTTGTGC</u>
251	<u>TCTCACACCCCCACAGCCCTTCTGGAATAAGACCATCACAGCACAGGGTT</u>
301	<u>TGCAAGATGTCTAATGCCAGTCATTCACAGGGCAGCTCAGACCCTGGCCT</u>
351	<u>GCGGTGCATACTAGGTGACTCCACATGAGGTGTCATGCTAGATCCTGCAG</u>
401	<u>GGAGAATAAGCACACACAGGCCCGTGACCCATGCTGTGGACTTCATGTTT</u>
451	<u>TAGGAGGTAGAGGGAGACAGACAAGAATCAAATGACTGTACTAGGCCGGG</u>
501	<u>CGCACTGGCTCACGCCTGTAATCCAGCACTTTGGGGAGGCCGAGGCAGG</u>
551	<u>TGGATCACGAGGCCAGGCCGTTTCGAGACCA</u> (配列番号 1)
1	MetArgSerGlnArgArgAspHisHisProArgGluValSerSerTyrHis
18	ValThrLeuLeuThrAlaTyrLeuLeuLeuThrGlyValLeuGlyThrAla
35	LysSerGluAspSerGlyTrpCysGlyProValCysLysGluSerSerGly
52	HisGlyIleArgProLeuHisSerSerArgSerPheAsnProIleSerThr
69	HisThrSerLeuCysAlaLeuThrProProGlnProPheTrpAsnLysThr
86	IleThrAlaGlnGlyLeuGlnAspVal (配列番号 2)

この開示されたNOV1核酸配列は、高い類似性(100%の同一性)をヒト染色体1の領域の部分に有し、これは、表3に示すように染色体1q42.13-43上のクローンRP4-709L21(EMBL受託番号078646.29)に含まれる。Online Mendelian Inheritance in Man(OMIM)データベースの探査は、この領域は、ヒトレニン遺伝子(これは本態性高血圧および腎不全に関係がある(OMIMデータベースエ

ントリーナンバー179820)) ; アンジオテンシンI (これもまた高血圧の発症および進行に関係がある (OMIMデータベースエントリーナンバー106150)) ; 前立腺癌の素因の遺伝子座 (OMIMデータベースエントリーナンバー602759) ; および前立腺癌遺伝子座 (OMIMデータベースエントリーナンバー176807) を含むことを示す。

【0029】

【表3】

表 3

```

NOV1: 1      tatggaataaagaaccatgacggagtcccatgcccagcagcagagaagagaccaccaccgccga 60
            |||
CHR 1: 96874  tatggaataaagaaccatgacggagtcccatgcccagcagcagagaagagaccaccaccgccga 96815

NOV1: 61     gagaggtttcatcctaccatgtaactctgcttacagcctacttgcttctcaccggcggtgc 120
            |||
CHR 1: 96814  gagaggtttcatcctaccatgtaactctgcttacagcctacttgcttctcaccggcggtgc 96755

NOV1: 121    tggggacagcaaaagtctgaggactctgggttgggtgtgggcctgtgtgcaaggagagcagtg 180
            |||
CHR 1: 96754  tggggacagcaaaagtctgaggactctgggttgggtgtgggcctgtgtgcaaggagagcagtg 96695

NOV1: 181    gccatgggataaggcctctgcacagctctagaagcttcaatcccatttccaccatacat 240
            |||
CHR 1: 96694  gccatgggataaggcctctgcacagctctagaagcttcaatcccatttccaccatacat 96635

NOV1: 241    ctctttgtgctctcacacccccacagcccttctggaataagaccatcacagcacaggggt 300
            |||
CHR 1: 96634  ctctttgtgctctcacacccccacagcccttctggaataagaccatcacagcacaggggt 96575

NOV1: 301    tgcaagatgtctaatgccagtcattcacagggcagctcagaccctggcctgcggtgcata 360
            |||
CHR 1: 96574  tgcaagatgtctaatgccagtcattcacagggcagctcagaccctggcctgcggtgcata 96515

NOV1: 361    ctaggtgactccacatgaggtgtcatgctagatcctgcagggagaataagcacacacagg 420
            |||
CHR 1: 96514  ctaggtgactccacatgaggtgtcatgctagatcctgcagggagaataagcacacacagg 96455

NOV1: 421    cccgtgacctatgctgtggacttcatgttctaggaggtagaggagacagacaagaatca 480
            |||
CHR 1: 96454  cccgtgacctatgctgtggacttcatgttctaggaggtagaggagacagacaagaatca 96395

NOV1: 481    aatgactgtactagggcggcgccactggctcacgcctgtaatcccagcactttggggagg 540
            |||
CHR 1: 96394  aatgactgtactagggcggcgccactggctcacgcctgtaatcccagcactttggggagg 96335

NOV1: 541    ccgaggcaggtggatcacgaggccaggcgttcgagacca 579 ( 配列番号 . 1)
            |||
CHR 1: 96334  ccgaggcaggtggatcacgaggccaggcgttcgagacca 96296 ( 配列番号 15)

```

染色体1のq42.13-43領域は、複数の高血圧関連遺伝子座を含む。NOV1核酸およびNOV1ポリペプチドを検出する試薬を使用して、腎臓組織を検出し得、そしてこれは1q42.13-43遺伝子座に含まれる遺伝子の発現

における変化の決定に有用である。NOV 1は、腎臓および高血圧関連タンパク質のメンバーの発現における変化に関係のある障害の処置において有用な、新しい診断組成物または治療組成物を提供する。また、NOV 1は前立腺癌の診断においても有用である。NOV 1核酸、NOV 1ポリペプチド、NOV 1抗体および本発明の他の組成物は、非限定的な例として、腎不全および肝硬変、発作、心不全および他の血管疾患を含む種々の疾患および病理学の処置および/または診断において有用である。

【0030】

(NOV 2)

本発明に従うNOV 2核酸は、表4に開示される核酸分子を含む。開示されたNOV 2核酸の起源の組織は、胎児腎臓である。この開示された配列は、ヒト染色体1に局在する。この開示された核酸(配列番号3)は、692ヌクレオチド長であり、そしてヌクレオチド224~226でのATG開始コドンで開始し、ヌクレオチド569~571でのTAA停止コドンで終了するオープンリーディングフレーム(ORF)を含む。この核酸配列は、Kozakコンセンサス配列を含む。この例示的なORFは、115アミノ酸ポリペプチド(配列番号4)をコードする。NOV 2ポリペプチドの予想分子量は、13671.8Daである。NOV 2は、PSORT分析によって、マイクロボディ(ペルオキシソーム)を0.6400の確実度で分離することが予想される。このタンパク質は、N末端シグナル配列を有さないと思われる。コード配列の上流および下流の推定非翻訳領域は、配列番号3において下線を付した。

【0031】

【表4】

表 4

1	<u>ATGACCATGCATCCATTTACAGTAAAGGGATTGCCTACATCTCAGACAAC</u>	
51	<u>ACTTCAATGTAAAGTACACAAATCAAGGAAACAGCTTCATCACTGATGTTA</u>	
101	<u>CCTTTAATCTAACAAGATCTCTATAAAACAAGAAAACCTCTACGTACAGA</u>	
151	<u>TCTTTTAAAATTAAGCAGGCATCTTTGCTGATCCACCTCTATAAGTTGC</u>	
201	<u>AGGTTGAGTATCTCTTATCTGAAATGCTAGAGACCAGAAGTGTTTCAGGT</u>	
251	<u>TTCAGATATTTAGATTTTGGAAATTTGCATATACACGAGATATCCAGGG</u>	
301	<u>GAAGAGACCCAAGTCTAAACATGAAATTCATTTATGTTTCATATACACCT</u>	
351	<u>CATATATATATAGCCTGAAGGTAATTTTATACAGTATTTATAATTTGTCC</u>	
401	<u>AAGGAACAAAGTTTTGACTGTGTTTTGACTATGACTCGTCATGTGAAGTC</u>	
451	<u>ATATGTGGAATTTTCCACTGTGGCATCACACAGGCACTCAAAAAGCTTC</u>	
501	<u>AGATTTGGGAGCATATTGGATTTGCATATTCAGATTAGGGATGCTCAAC</u>	
551	<u>CCATACTCAGTTTACCAGTAAAAAACATAATGTTTGCATTTACTCCTCC</u>	
601	<u>TTTTAATATATAATTTATTTTTGGTATGGGGGAAAAGACTGAGAACTTTA</u>	
651	<u>TTTCACCTGCCCGGCAGCCGCTCGAGCCCTATAGTGAGTAA</u> (配列番号 3)	
1	MetLeuGluThrArgSerValSerGlyPheArgTyrLeuAspPheGlyIle	
18	PheAlaTyrThrArgAspIleGlnGlyLysArgProLysSerLysHisGlu	
35	IleHisLeuCysPheIleTyrThrSerTyrIleTyrSerLeuLysValIle	
52	LeuTyrSerIleTyrAsnLeuSerLysGluGlnSerPheAspCysValLeu	
69	ThrMetThrArgHisValLysSerTyrValGluPheSerThrCysGlyIle	
86	ThrGlnAlaLeuLysLysLeuGlnIleTrpGluHisIleGlyPheArgIle	
103	PheArgLeuGlyMetLeuAsnProTyrSerValTyrGln (配列番号 4)	

NOV2 核酸配列は、表5に示すように、染色体11 (CHR11) (EMBL 受託番号AL133295) に対応するヒトゲノムクローンの領域と高い相同性 (98%の同一性) を有する。染色体11のp12-14.2領域は、複数の糖尿病関連遺伝子座を含む。このクローンは、11p12-14.2の領域に含まれる。Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) データベースの探査は、この領域は、LIMホメオボックス遺伝子1 (OMIMデータベースエントリーナンバー601999) およびマイトジェン活性化プロテインキナーゼ8 - 相互作用タンパク質 (MAPK8IP1; OMIMデータベースエントリーナンバー604641) ならびにII型真性糖尿病についての遺伝子座 (OMIMデータベースエントリーナンバー125853) およびインスリン遺伝子 (OMIMデータベースエントリーナンバー176730) を含むことを示す。

【0032】

【表5】

表5

NOV1: 1	atgaccatgcatccatttacagtaaaggattgcctacatctcagacaacacttcatgta	60
CHR11: 90905	atgaccatgcatccatttacagtaaaggattgcctacatctcagacaacacttcatgta	90846
NOV1: 61	aagtacacaaatcaaggaacagcttcatcactgatgttacctttaatctaacaaagatct	120
CHR11: 90845	aagtacacaaatcaaggaacagcttcatcactgatgttacctttaatctaacaaagatct	90786
NOV1: 121	ctataaaacaagaaaacctctacgtacagatcttttaaaattaagcaggcatctttgct	180
CHR11: 90785	ctataaaacaagaaaacctctacgtacagatcttttaaaattaagcaggcatctttgct	90726
NOV1: 191	gatccacctctataaagttgcaggttgagtatctcttatctgaaatgctagagaccagaag	240
CHR11: 90725	gatccacctctataaagttgcaggttgagtatctcttatctgaaatgctagagaccagaag	90666
NOV1: 241	tgtttcaggtttcagatatttagattttggaaatatttgcataatacacagagatattccaggg	300
CHR11: 90665	tgtttcaggtttcagatatttagattttggaaatatttgcataatacacagagatattccaggg	90606
NOV1: 301	gaagagaccaagtctaaacatgaaattcatttatgtttcatatacacctcatatatata	360
CHR11: 90605	gaagagaccaagtctaaacatgaaattcatttatgtttcatatacacctcatatatata	90546
NOV1: 361	tagcctgaaggtaattttatacagatatttataaatttgtccaaggaacaaagttttgactg	420
CHR11: 90545	tagcctgaaggtaattttatacagatatttataaatttgtccaaggaacaaagttttgactg	90486
NOV1: 421	tgttttgactatgactcgtcatgtgaagtcataatgtggaattttccacttgggcatcac	480
CHR11: 90485	tgttttgactatgactcgtcatgtgaagtcataatgtggaattttccacttgggcatcac	90426
NOV1: 481	acaggcactcaaaaagcttcagatatttgggagcatattggatttcgcetattcagattagg	540
CHR11: 90425	acaggcactcaaaaagcttcagatatttgggagcatattggatttcgcetattcagattagg	90366
NOV1: 541	gatgctcaaccataactcagtttaccagtnnnnnncataatgtttgcaattactcctcc	600
CHR11: 90365	gatgctcaaccataactcagtttaccagtaaaaaaacataatgtttgcaattactcctcc	90306
NOV1: 601	ttttaaatatataaatttttggatgggggaaagagtgagaactttatttccac	656 (配列番号16)
CHR11: 90305	ttttaaatatataaatttttggatgggggaaagagtgagaactttatttccac	90250 (配列番号17)

NOV2を使用して腎臓組織を検出し、そしてこれは11p12-14.2遺伝子座に含まれる遺伝子の発現における変化の決定に有用である。NOV2は、腎臓および糖尿病関連タンパク質のメンバーの発現における変化に関係のある障害の処置において有用な、新しい診断組成物または治療組成物を提供する。また、NOV2は癌の診断においても有用である。NOV2核酸、NOV2ポリペプチド、NOV2抗体および本発明の他の組成物は、非限定的な例として、腎不全および肝硬変、糖尿病、筋退化、網膜症および他の血管疾患を含む種々の疾患および病理学の処置および/または診断において有用である。

【0033】

(NOV3)

本発明に従うNOV3配列は、表6に開示される核酸分子を含む。開示された

配列は、アセチルグルコサミニルトランスフェラーゼと関連のあるポリペプチドをコードする。開示されたNOV3核酸配列の起源の組織は、下垂体である。開示されたNOV3配列と相同な配列は、8個のヒト成体組織および2個のヒト胎児組織（臍臓、胎盤および腎臓を含む）の混合物において見出される。

【0034】

この開示された核酸（配列番号5）は、表6で示すように、2,351ヌクレオチド長であり、そしてヌクレオチド260～262でのATG開始コドンで開始し、ヌクレオチド2,111～2,113でのTGA停止コドンで終了するオープンリーディングフレーム（ORF）を含む。このORFは、617アミノ酸ポリペプチド（配列番号6）をコードする。NOV3ポリペプチドの予想分子量は、70921.7Daである。このNOV3ポリペプチドは、推定分泌タンパク質であるが、PSORTに従って確立度0.6000で、さらに核酸局在化シグナルを運ぶ。シグナルPは、残基17および残基18との間に切断部位が存在し得ることを予想する。コード配列の上流および下流の推定非翻訳領域は、配列番号5において下線を付した。

【0035】

【表6】

表 6

1 TAAAAATACAAAAAATTAGCCGGGCGTAGTGGCGGGCGCCTGTAGTCCCA
 51 GCTACTTGGGAGGCTGAGGCAGGAGAATGGCGTGAACCCGGGAGGCAGAG
 101 CTGTCAGTGAGCCGAGATCCCGCCACTGCACTCCAGCCTGGGCGACAGAG
 151 CGAGACTCCGCTCTCAAAAAAAAAAAAAAAGAACATCCTGAGCCGGGCGTG
 201 GAAAAGCTCTTTCAGATGGCGCTTCCATCTCTGCGCCCTCGGGGTGGG
 251 GGCTGTCCCATGTTGCTCCTGCTGGGGCTCTCAGGCTTCTCTTTGCCC
 301 ACCCAAAGGAAAAATCCACTGCACCTCCACTTGGTACTGACCCGCTGG
 351 CCAGAAACATCCTGGAGACGCTCTTCCACACATGGATGGTGCCTGCATC
 401 GATCCCNFTGTGAGCTTTTATCATGCCGACCAGCTCAAGCCCCAGTCTC
 451 CTGATCCCCAACCAAGCACTACTCCGGCCTCTATGGGCTAATGAAGCTGG
 501 TGCTGCCCAATGCCCTGCTGCTGAGCTGGCCCGCTCATTTGCTGGAC
 551 ACGGATGTACCTTCGCTCTGACATCTCGGAGCTCTGGCCCTCTTTGC
 601 TCACTTTTCTGACACGCAGGCGATCGGTCTTGTGGAGAACCAGAGTACT
 651 GTACCTGGGCAACCTCTGGAAGAACCACAGGCCCTGGCCTGCTTGGGC
 701 CGGGGATTTAACACAGGTGTGATCCTGCTGGGCTGGACCGGCTCCGGCA
 751 GGCTGGCTGGGAGCAGATGTGGAGGCTGACAGCCAGGCGGGAGCTCCTTA
 801 GCCTGCCTGCCACCTCACTGGCTGACCAGGACATCTTCAAGCTGTGATC
 851 AAGGAGCACCCGGGCTAGTGCAGCGTCTGCCTTGTGCTGGAATGTGCA
 901 GCTGTGAGATCACACACTGGCCGAGCGCTGCTACTCTGAGGCGTCTGACC
 951 TCAAGGTGATCCACTGGAACCTACCAAGAAGCTTCGGGTGAAGAACAAG
 1001 CATGTGGAATCTTCCGCAATTTCTACTGACCTTCTCTGGAGTACCATGG
 1051 GAACCTGTGCGGAGAGAGCTCTTGTGTGCCCCAGCCAGCCCCACCTG
 1101 GTGCTGAGCAGTTGCAGCAGGCCCTGGCACAACCTGGACGAGGAAGACCC
 1151 TGCTTTGAGTTCGGCAGCAGCAGCTCACTGTGCACCGTGTGCATGTAC
 1201 TTTCTGCCCCATGAACCGCCACCCCGGCTCAGCATGTACCCCTTG
 1251 TGGCCAGCTGTCCATGGACCGGCTGACAGTGTGGAAGCCCTGTGACAG
 1301 CACTGGCCTGGCCCATGAGCCTGGCCTTGTACTGACAGACGCAAGAGC
 1351 TCAGCAGTTCCTGCATTTCTGTCGAGGCTCACCAGTGTCTGCTGCCCGG
 1401 AGGACGTGGCCTACCATGTGGTGTACCGTGAGGGGCCCTATACCCCGTC
 1451 AACCAGCTTCGCAACGTGGCCTTGGCCAGGCCCTCACGCCTTAGCTCT
 1501 CCTCAGTGACATTGACTTCTGCTGCTATTTCTCTCTACGACTACCTCA
 1551 GGGCCTCCATTGAGCAGCTGGGGCTGGGCAGCCGGCGCAAGGCAGCACTG
 1601 GTGGTGCCTGATTTGAGACCTGCGCTACCGCTTCACTTCCCCATTC
 1651 CAAGGTGGAGCTGTTGGCCTTGTGGATGGGGCACTCTCTACACCTTCA
 1701 GGTACCAGAGTGGCCCCGAGGCCACGCACCCACAGACTATGCCCGCTGG
 1751 CGGGAGGCTCAGGCCCGTACCGTGTGCAATGGGCGGCCAATATGAACC
 1801 CTACGTGTTGGTGCACGAGACTGTCCCGCTATGATCCTCGCTTGTGG
 1851 GCTTCGGCTGGAACAAAGTGGCCACATTTGGAGCTGGATGCCAGGAA
 1901 TATGAGTCTTGGTGTGCTGCCGAGGCCCTCACCATCCATCTGCCCCAGC
 1951 TCCAAGCCTGGACATCTCCCGCTTCCGCTCCAGCCCCACCTATCGTGACT
 2001 GCCTCCAGGCCCTCAAGGACGAATCCACCAGGACTTGTCCCGCCACCAT
 2051 GGGGCTGCTGCCCTCAAAATACCTCCAGCCCTGCAGCAGCCCCAGAGCCC
 2101 TGCCCGAGGCTGAGGCTGGGCCGGCGCTGCCCTCATCTTAGCATTGGGC
 2151 AGACACCAGGGCAACCTGCCCTCCGCCATCCCTGCTATTTAAATATTTA
 2201 AGGTCTCTGGGAAGGGCTGGGCAGAGCATCTGTGGGTGGGGTCTTCCC
 2251 CTTGCTGCTATTGTATGGCTGGGGACTGGTCTCTCTGCCCCAGCCAGT
 2301 TTGGGGCTGGTTCCCCCATCTTGAATGTTTATCCCTTTTTCATAATTA
 2351 A (配列番号 5)

(表6) つぎ

1 MetLeuLeuLeuLeuGlyProLeuArgLeuProLeuCysProProLysArg
 18 LysAsnProLeuHisLeuHisLeuValThrAspAlaValAlaArgAsnIle
 35 LeuGluThrLeuPheHisThrTrpMetValProAlaIleAspPro---Val
 52 SerPheTyrHisAlaAspGlnLeuLysProGlnValSerTrpIleProAsn
 69 LysHisTyrSerGlyLeuTyrGlyLeuMetLysLeuValLeuProAsnAla
 86 LeuProAlaGluLeuAlaArgValIleValLeuAspThrAspValThrPhe
 103 AlaSerAspIleSerGluLeuTrpAlaLeuPheAlaHisPheSerAspThr
 120 GlnAlaIleGlyLeuValGluAsnGlnSerAspTrpTyrLeuGlyAsnLeu
 137 TrpLysAsnHisArgProTrpProAlaLeuGlyArgGlyPheAsnThrGly
 154 ValIleLeuLeuArgLeuAspArgLeuArgGlnAlaGlyTrpGluGlnMet
 171 TrpArgLeuThrAlaArgArgGluLeuLeuSerLeuProAlaThrSerLeu
 188 AlaAspGlnAspIlePheAsnAlaValIleLysGluHisProGlyLeuVal
 205 GlnArgLeuProCysValTrpAsnValGlnLeuSerAspHisThrLeuAla
 222 GluArgCysTyrSerGluAlaSerAspLeuLysValIleHisTrpAsnSer
 239 ProLysLysLeuAlaHisValLysAsnLysHisValGluPhePheArgAsnPhe
 256 TyrLeuThrPheLeuGluTyrAspGlyAsnLeuLeuArgArgGluLeuPhe
 273 ValCysProSerGlnProProProGlyAlaGluGlnLeuGlnGlnAlaLeu
 290 AlaGlnLeuAspGluGluAspProCysPheGluPheArgGlnGlnGlnLeu
 307 ThrValHisArgValHisValThrPheLeuProHisGluProProProPro
 324 ArgProHisAspValThrLeuValAlaGlnLeuSerMetAspArgLeuGln
 341 MetLeuGluAlaLeuCysArgHisTrpProGlyProMetSerLeuAlaLeu
 358 TyrLeuThrAspAlaGluAlaGlnGlnPheLeuHisPheValGluAlaSer
 375 ProValLeuAlaAlaArgGlnAspValAlaTyrHisValValTyrArgGlu
 392 GlyProLeuTyrProValAsnGlnLeuArgAsnValAlaLeuAlaGlnAla
 409 LeuThrProTyrValPheLeuSerAspIleAspPheLeuProAlaTyrSer
 426 LeuTyrAspTyrLeuArgAlaSerIleGluGlnLeuGlyLeuGlySerArg
 443 ArgLysAlaAlaLeuValValProAlaPheGluThrLeuArgTyrArgPhe
 460 SerPheProHisSerLysValGluLeuLeuAlaLeuLeuAspAlaGlyThr
 477 LeuTyrThrPheArgTyrHisGluTrpProArgGlyHisAlaProThrAsp
 494 TyrAlaArgTrpArgGluAlaGlnAlaProTyrArgValGlnTrpAlaAla
 511 AsnTyrGluProTyrValValValProArgAspCysProArgTyrAspPro
 528 ArgPheValGlyPheGlyTrpAsnLysValAlaHisIleValGluLeuAsp
 545 AlaGlnGluTyrGluLeuLeuValLeuProGluAlaPheThrIleHisLeu
 562 ProHisAlaProSerLeuAspIleSerArgPheArgSerSerProThrTyr
 579 ArgAspCysLeuGlnAlaLeuLysAspGluPheHisGlnAspLeuSerArg
 596 HisHisGlyAlaAlaAlaLeuLysTyrLeuProAlaLeuGlnGlnProGln
 613 SerProAlaArgGly (配列番号)

この開示されたNOV3核酸配列は、表7に示されるように、染色体Y (CHR Y) (ジーンバンク受託番号AC006366.3)由来の配列を含むヒトBACゲノムクローンの領域と、高程度の相同性(100%の同一性)を有する。また、NOV3核酸配列は、表8に示されるように、染色体Y (CHR Y) (ジーンバンク受託番号AC010153.3)に対応する別の特徴化されないヒトBACゲノムクローンと、高程度の相同性(100%の同一性)を有する。NOV3ポリペプチドは、表9に示すように、アセチルグルコサミニルトランスフェラーゼ様タンパク質(GLYT; 受託番号PD042423)の領域と相同性(68%の同一性、78%の類似性)を有する。NOV3ポリペプチドはまた、表10に示すように、特徴化されていないヒトタンパク質KIAA0609 (KIAA; 受託番号AB0111181)と相同性(68%の同一性、78%の類似性)を有する。NOV3ポリペプチドのPfam探査は、表11に示すよ

うに、NOV3がアセチルグルコサミニルトランスフェラーゼファミリー（グリコシルトランスフェラーゼファミリー8）のメンバーであり、ここでNOV3ポリペプチドは公知のアセチルグルコサミニルトランスフェラーゼ（GLYT；受託番号PF01501）と整列化することを示す。このグリコシルトランスフェラーゼファミリー8は、糖残基をドナー分子に移動する酵素を含む。このファミリーのメンバーは、リポ多糖類生合成およびグリコーゲン合成に関する。このファミリーには、リポ多糖類ガラクトシルトランスフェラーゼ、リポ多糖類グリコシルトランスフェラーゼ1およびヒトグルコース生成（glycogenin）グルコシルトランスフェラーゼが挙げられる。

【0036】

【表7】

表7

NOV3: 1	taaaaatacaaaaaattagccggcgtagtgccggcgccctgtagtcccagctacttggg	60
CHR Y: 78289	taaaaatacaaaaaattagccggcgtagtgccggcgccctgtagtcccagctacttggg	78348
NOV3: 61	aggctgaggcaggagaatggcgtgaacccgggaggcagagcttgcaagtgagccgagatcc	120
CHR Y: 78349	aggctgaggcaggagaatggcgtgaacccgggaggcagagcttgcaagtgagccgagatcc	78408
NOV3: 121	cgccactgcaactccagcctggggcagacagagcgagactccgtctc	164 (配列番号 18)
CHR Y: 78409	cgccactgcaactccagcctggggcagacagagcgagactccgtctc	78452 (配列番号 19)

【0037】

【表8】

表8

NOV3: 1	taaaaatacaaaaaattagccggcgtagtgccggcgccctgtagtcccagctacttggg	60
CHR Y: 26694	taaaaatacaaaaaattagccggcgtagtgccggcgccctgtagtcccagctacttggg	26753
NOV3: 61	aggctgaggcaggagaatggcgtgaacccgggaggcagagcttgcaagtgagccgagatcc	120
CHR Y: 26754	aggctgaggcaggagaatggcgtgaacccgggaggcagagcttgcaagtgagccgagatcc	26813
NOV3: 121	cgccactgcaactccagcctggggcagacagagcgagactccgtctc	164 (配列番号 20)
CHR Y: 26814	cgccactgcaactccagcctggggcagacagagcgagactccgtctc	26857 (配列番号 21)

【0038】

【表9】

表9

NOV3: 22	HLHLVTDVARNILETLFHTWMPAIDPVSYPYHACQLKPQVSWIPNKHYSGLYGLMKLVL 81 * **+ **+* ** ** * ** **+ * **+***+*****+*****
GLY T: 169	HFHLIADSLAEQILATLFQTWMPAVR-VDFYNADLSEVSWIPNKHYSGLYGLMKLVL 227
NOV3: 82	PNALPAELARVIVLDTDVFASDISELWALEFAHFSDTQAIGLVENQSDWYLGNLWLNHRP 141 *** * ** ** **+***+***+***+* * * +*****+***** ** **
GLY T: 228	TKTLPANLERVIVLDTDITFATDLAELWAVFHKFKGQQVGLGVENQSDWYLGNLWLNHRP 287
NOV3: 142	WPALGRGFNTGVILLRDLRQAGWEQMWRLTARREJ.J.SI.PATSLADQDI FNAVIKEHPG 201 *****+***** **+**+ ***** ** * +*****+*****+**
GLY T: 288	WPALGRGYNTGVILLRDLRQAGWEQMWRLTARRELMGMLSTSLADQDI FNAVIKQNP 347
NOV3: 202	LVQRLPCVWNVQLSDHTLAERCYSEASDLKVIHWNSPKKLRVKKNKHEFFRNLYLTFLEY 261 ** +** * ** ** **+***+ * ** ** **+*****+*****+*****
GLY T: 348	LVYQLPCFVWNVQLSDHTRSEQCYRVDSDLKVIHWNSPKKLRVKKNKHEFFRNLYLTFLEY 407
NOV3: 262	DGNLLRRELFVCPSPPPGXXXXXXXPCFEFRQQQLTVHRVHVTFVFLXXXX- 320 ***** **+* ** ** **+***+***+ ***** ** * +**
GLY T: 408	DGNLLRRELFVCPSETDVNNENLQQLSELDEDDLCYEFRRERFTVVERTHLYFLHYEFEP 467
NOV3: 321	XXXXXDVTLVAQLSMDRLQMLEALCRHTPGPMSLALYLTDAEAQQFLHFVEASPVLAARQ 380 *****+***** **+**+ **+*****+*****+ ** * ** +**
GLY T: 468	SADNTDVTVAQLSMDRLQMLEALCKHWEGPISLALYLSDAEAQQFLRYAQQSEVLMRSRQ 527
NOV3: 381	DVAYHVYREGPLYPNQLRNVALAQAALTPYVFLSDIDELPAYSLYDYLRLASIEQLGLGS 440 +* **+***+ ** ** **+***+***** * **+*** ** * ** +
GLY T: 528	NVGYHIVYKEGQFYPVNLNRNVAMKHISTPYMFLSDIDELPMYGLYEYLRKSVIQLDLAN 587
NOV3: 441	RRKAALVVPAFETLRYRFSFPKSKVFLMALLDAGTL 476 (配列番号 22) * **+***** ** ** **+***+*** **
GLY T: 588	TKK-AMIVPAFETLRYRFSFPKSKAELLSMLDMGTL 622 (配列番号 23) ここで * は同一性を示し、+ は類似性を示す。

【0039】

【表10】

表10

NOV3: 22 HLHLVTDAYARNILETLFHTWMVPAIDPVSYPHADQLKPQVSWIPNKHYSGLYGLMKLV 81
 * **+ **++ ** ** * **++ * **++*+ **++**+**+**+**+**+**+**+*
 GLY T: 234 HFHLIADSIAEQILATLFQTMVPAVR-VDFYNADELKSEVSWIPNKHYSGIYGLMKLV 292
 NOV3: 82 PNALPAELARVIVLDTDVTFASDISELWALFAHFSDTQAI GLVENQSDWYLG NLWLNHRP 141
 * **+ * **++* **++**+**+**+**+**+ ** * **++* **++**+**+**+**+**+**+**+*
 GLY T: 293 TKTLPANLERVIVLDTDITFATDIAELWAVFHKFKGQV LGLVENQSDWYLG NLWLNHRP 352
 NOV3: 142 WPALGRGFNTGVILLR LRLRQAGWEQMWRLTARRELLSLPATS LADQDIFNAV IKEHPG 201
 * **++* **++**+**+**+**+**+**+**+ **++* **++**+**+**+**+**+**+**+*
 GLY T: 353 WPALGRGYNTGVILLRL LKLRKMKWEQMWRLTAE RELMGLSTSLADQDIFNAVIKQNP 412
 NOV3: 202 LVQRLPCVWNVQLSDHTLAERCYSEASDLKVIHWNSPK KLRVK NKHVEFFRN FYLTFLEY 261
 ++**+**+**+**+**+**+**+**+**+**+**+**+**+**+**+**+**+**+**+**+*
 GLY T: 413 LVYQLPCFVWNVQLSDHTRSEQC YRDVSDLKVIHWNSPK KLRVK NKHVEFFRN FYLTFLEY 472
 NOV3: 262 DGNLLRRELFVCPSPQPPGX XXXXXXXXXXPCFEFRQOQLTVHRVHVTF L-XXXX 320
 * **++* **++**+**+**+**+**+**+**+ **++* **++**+**+**+**+**+**+**+*
 GLY T: 473 DGNLLRRELFGCPSEADV NSENLOKQLSELDEDDLCYEFRRERF VVRHTRHLYFLHYEYEP 532
 NOV3: 321 XXXXDXDTLVAQLSMDRLQMLEALCRHPTFGPMSLALYLTD AEAOQFLHFVEASPV LAARQ 380
 * **++* **++**+**+**+**+**+**+**+ **++* **++**+**+**+**+**+**+**+*
 GLY T: 533 AADSTDVTLVAQLSMDRLQMLEA ICKHWEGPISLALYLSDAEAOQFLRYAQGSEVLM SRH 592
 NOV3: 381 DVAYHVYREGPLYPVNQLRVALAQALTPYVFLSDIDFLPAYS LYDYLRASIEQLGLGS 440
 ++**+**+**+**+**+**+**+**+**+**+**+**+**+**+**+**+**+**+**+**+*
 GLY T: 593 NVDYHIVYKEGQFYPVNL LRVAMKHISTPYMFLSDIDFLPMYGLY EYLKRSV IQLDLAN 652
 NOV3: 441 RRKAALVVP AFETLRYRFSFPHSKVELLALLDAGTLYTFRYGEWPRGHAPT DYARNREQ 500
 ++**+**+**+**+**+**+**+**+**+**+**+**+**+**+**+**+**+**+**+**+*
 GLY T: 653 TKK-AMIVPAFETLRYRLSFPKSKAELLSMLDMGT LTFRYHVVTKGHAPT NFAKWR TAT 711
 NOV3: 501 APYRVQWAANYEPYVVVRDCPRYDPRFVGF GWNKVAHIVELDAQEYELLVLP EAFTHL 560
 * **++* **++**+**+**+**+**+**+**+ **++* **++**+**+**+**+**+**+**+*
 GLY T: 712 TPYRVEWEADFEPYVVVRDCPEYDRRFVGF GWNKVAHIVELDVQ EYEYEVIVL ENAYMIHM 771
 NOV3: 561 PHAPSLDISRFRSSEPT YRDCLQALKDEFHQDLSRHHGAAALKYLPA 606 (配列番号 24)
 * **++* **++**+**+**+**+**+**+**+ **++* **++**+**+**+**+**+**+**+*
 GLY T: 772 PHAPSF DITKFRSNKQYRICKLTKLKEEFQQDMSRRYGF AALKYLTA 817 (配列番号 25)

この*は同一性表示、**は類似性表示

【0040】

【表11】

表 11

GLY T 434	LSELDLDCYEFRRERFTVHRTHLYFLHYEYEPADSTDVTLVAQLSMD 483	*****+ *+*****+ **** *+ *+ *+ *+ *****
NOV3 288	LAQLDBEDPCFEFRQQQLTVHRVHVTFLPHEPPPPRPH-DVTLVAQLSMD 336	
GLY T 484	RIQMLEAICKHWEGPISLALYLSDAEAQQFLRYAQQSEVLMSRHNHVGYHI 533	*****+*+*+ *+*****+*****+ *+ *+ *+ *+ *+ *+*
NOV3 337	RLQMLEALCRHTPGPMSLALYLTDAEAQQFLHFVEASPVLAARQDVAYHV 386	
GLY T 534	VYKEGQFYPVNLLRNVMKHI STPYMFLSDIDFLPMYGLYEYLRKSVIQL 583	***+**+ ****+ *****+ **** *****+ *+*****+ *+**
NOV3 387	VYREGPLYPVNQLRNVALAQLTPYVFLSDIDFLPAYSLYDYLRSIEQL 436	
GLY T 584	DLANTKKA-MIVPAFETLRYRLSFPKSKAELLSMLDMGTL 622 (配列番号 26)	*+ *+*+ *+*****+ **** *+ *****+ ****
NOV3 437	GLGSRKKAALVVPFAFETLRYRFSFPKSKVELLALLDAGTL 476 (配列番号 27)	

NOV3は、アセチルグルコサミニルトランスフェラーゼファミリーの新しいメンバーである。NOV3を使用して下垂体組織を検出し、そしてこれは生理学および病理学的な下垂体活性に関連する遺伝子の発現における変化の決定に有用である。アセチルグルコサミニルトランスフェラーゼ活性の欠失は、腫瘍増殖および腫瘍転移における減少と関連がある（例えば、Gransovskyら、2000 Nature Medicine 6(3):306を参照のこと）。NOV3は、癌腫形成および転移の発症および増殖の、診断および測定において有用である。NOV3は、下垂体およびアセチルグルコサミニルトランスフェラーゼタンパク質ファミリーのメンバーの発現における改変に関連する障害の処置において有用である、新しい診断組成物または治療組成物を提供する。NOV3核酸、NOV3ポリペプチド、NOV3抗体および本発明の他の組成物は、非限定的な例として、成長遅延および癌を含む種々の疾患および病理学の処置および/または診断において有用である。

【0041】

(NOV4)

本発明に従うNOV4核酸は、表12に開示される核酸分子を含む。開示されたNOV4核酸の起源の組織は、乳腺組織から単離された。この開示された配列（配列番号7）は、表12に示すように、812ヌクレオチド長であり、そしてヌクレオチド250～252でのATG開始コドンで開始し、ヌクレオチド646～648でのTGA停止コドンで終了するオープンリーディングフレーム（0

R F) を含む。この核酸配列は、K o z a k コンセンサス配列を含む。この例示的なO R F は、1 3 2 アミノ酸ポリペプチド (配列番号 8) をコードする。N O V 4 ポリペプチドの予想分子量は、1 3 3 4 8 D a である。P S O R T プログラムは、ミトコンドリアマトリックス間隙において、0 . 4 6 3 5 の中程度の確実度で局在化を予想する。コード配列の上流および下流の推定非翻訳領域は、配列番号 7 において下線を付した。

【 0 0 4 2 】

【表 1 2】

表 1 2

```

1  TTTT TTTTGGCAAACCCCATTTCTACTAAAAATACAAAATTAGCTGGG
51  TACCGTGGTGACACAGATAATCCCAGCTACTCAGGAGCATGAGGCAGGA
101 GAATCGCTTTAAAATGGGAGGCGGAGGCTGTAGTGAGCCAAGATTGTGCC
151 ACTGCACTCCAGCCTGGGCAACAAAGTGAGACTCTTATCTTACAGAAAA
201 AAAAGAATGCTTAGGAATCAACTCCCCCTCTAATGCCCAGACAGGTGAAA
251 TGAATTGCTCAGGCCACAGTTCTGCCAAGCCAGCACCAGCCAGTGGCAC
301 AGCAGAATGCAAGGAGGGAGTGGTACCTACTTTCACAGCATAGGTGCTGC
351 CGGGTCCCTCAGAGCAGGTGGCACAGTAATAAATGGCATCCCCGAGTCA
401 CAGCAGGGCTTGTTACAAGTCAGCTTGAAGAGCGACCAGTTATTCTCATT
451 GAAGTGGAGCTCCTTTTCTGGCCGCCATGAAGAGGTCCTCACATTTGG
501 CTACAAGGCGGGCCAGGACTGGGTGTAGAGTCCCCCAGCTTGGCATAG
551 GTGCCCTCCTTGCTGCTGATGTTGCTCAGGAGACCGTGACAGCTGAAGCTG
601 GGTGCTCCCGGTGGAGGCTTGACTGGACACGCTCAGCTGGGAGGATGAGG
651 CGGAGGGGGCCCTTTGCACTGGAGGCCAGGGCTCCCGCAGCCGCCTCTG
701 TGGCCCGCCAGCCCTGCTGCCGGAAGCCAGTGGCCCTGCCCTTGAAAGCT
751 TTCTCCAGAGGATCGGAAGAGGAGAAGACAGGATGGTGGCGGTTCCCGGG
801 GCTCACCGAATA ( 配列番号 7 )

```

```

1  MetThrCysSerGlyHisSerSerAlaGlnAlaSerThrSerGlnTrpHis
18  SerArgMetGlnGlyGlySerGlyThrTyrPheHisSerIleGlyAlaAla
35  GlyValLeuArgAlaGlyGlyThrValIleAsnGlyIleProArgValThr
52  AlaGlyLeuValThrSerGlnLeuGluGluArgProValIleLeuIleGlu
69  ValGluLeuLeuPheLeuAlaAlaHisGluGluValLeuThrPheGlyTyr
86  LysAlaGlyGlnGlyLeuGlyValGluSerProGlnLeuGlyIleGlyAla
103  LeuLeuAlaAlaAspValAlaGlnGluThrValGlnLeuLysLeuGlyAla
120  ProGlyGlyGlyLeuThrGlyHisAlaGlnLeuGlyGly ( 配列番号 8 )

```

N O V 4 核酸は、表 1 3 に示すように、ヒト染色体 2 1 q D N A (C H R 2 1 ; 受託番号 A P 0 0 1 6 9 5 . 1) の部分と相同性を有する。

【 0 0 4 3 】

【表 1 3】

表 13

```

NOV4: 13      aaaccccatctactactaaaaatacaaaaattagctgggtaccgtgggtgcacacagataat 72
              ||||| | ||||||||||||||||||| ||||| | | | |||||
CHR 21: 3708 aaaccccgctctactactaaaaatacaaaaattagctgggtgtgggtggcgcgccataat
              3767

NOV4: 73      cccagctactcaggaggatgaggcaggagagaatcgctttaaagtggaggcgaggctgta
              132
              ||||||||||||||| |||||||||||| | | || | ||||||| |||||
CHR 21: 3768 cccagctactcaggaggctgaggcaggagagaatcattgaaaccgggaggcgaggctgta
              3827

NOV4: 133      gtgagccaagattgtgccactgcactccagcctgggcaacaaagtgagactct 185 (配列番号 28)
              ||||| | | | ||||||| |||||||| ||||| |||||
CHR 21: 3828 gtgagccgagatcgtgccactgcattccagcctgggcaacagagtgagactct 3880 (配列番号 29)

```

NOV 4 は、ヒト染色体 2 1 q の領域についてのマーカーとして有用である。また、NOV 4 を使用して乳腺組織を検出し、そしてこれは生理学および病理学的な乳腺活性（例えば、乳癌および産褥性乳腺炎）に関連する遺伝子の発現における変化の決定に有用である。NOV 4 は、乳腺関連タンパク質ファミリーのメンバーの発現における改変に関連する障害の処置において有用である、新しい診断組成物または治療組成物を提供する。NOV 4 核酸、NOV 4 ポリペプチド、NOV 4 抗体および本発明の他の組成物は、非限定的な例として、細菌感染および癌を含む種々の疾患および病理学の処置および / または診断において有用である。

【 0 0 4 4 】

(NOV 5)

本発明に従うNOV 5 配列は、表 1 4 に示され核酸を含む。開示される核酸は、神経膜タンパク質に関連するポリヌクレオチドをコードする。開示されるNOV 5 核酸は、副腎、乳房、前立腺、精巣、子宮、骨髓、黒色腫、松果体、甲状腺、脾臓、胎盤、骨髓、乳腺、胎児胸腺 - C R L 7 0 4 6、骨形成肉腫細胞株 - H T B 9 6、胎児肺、視床、胎児腎臓およびバーキットリンパ腫 (R a j i) に存在する。発現配列タグ (E S T) データは、NOV 5 配列が、大動脈、血液、骨、脳、胸部、中枢神経系、結腸、包皮、肺細胞、心臓、腎臓、咽頭、肺、リンパ、筋肉、卵巣、膵臓、上皮小体、胎盤、プール (p o o l e d)、前立腺、胃、精巣、扁桃腺、子宮、全胚、血液、胸部、頸 (c c r v i x)、結腸、頭および

頸 (neck)、肺、子宮、ならびに胃に発現することを示唆する。開示される核酸 (配列番号9) は、表14に示されるように、2,059ヌクレオチドの長さであり、ヌクレオチド63 - 65のATG開始コドンで始まり、そしてヌクレオチド1,022 - 1,024のTGA終止コドンで終結するオープンリーディングフレーム (ORF) を含む。この核酸配列は、Kozakコンセンサス配列を含む。代表的なORFは、320アミノ酸ポリヌクレオチドをコードする (配列番号9)。NOV5ポリペプチドの推定分子量は、35,204.3Daである。コード配列の推定非転写領域上流および下流を、配列番号9において下線を引く。

【0045】

NOV5は、神経膜タンパク質またはプロリン - リッチ膜タンパク質であると推定される。PSORTアルゴリズムは、形質膜へのNOV5ポリペプチドの局在を0.60の確実度で推定する。

【0046】

【表14】

表 14.

1 CGCTCCGTCTGGAACGGCGCAGGTCCCAGCAGCTGGGGTCCCCCTCAGC
51 CCGTGAGCAGCCATGTCCAACCCAGCGCCCCACCACCATATGAGACCG
101 CAACCCCTGTACCCAGGCCCTCTGCCCCCTGGGGCTATGGGCAGCCAT
151 CTGTCCTGCCAGGAGGGTATCCTGCCTACCCTGGCTACCCGCAGCCTGGC
201 TACGGTCACCCTGCTGGCTACCCACAGCCCATGCCCCACCCACCCGAT
251 GCCCATGAACTACGGCCAGGCCATGGCTATGATGGGGAGGAGAGCGG
301 TGAGTGATAGCTTCGGCCCTGCAGAGTGGGATGACCCGAAAGTGGACAC
351 ACTTTTATCCGAAAGGTTTACTCCATCATCTCCGTGCAGCTGCTCATCAC
401 TGTGGCCATCATTGCTATCTTACCTTTGTGGAACCTGTCAGCGCCTTG
451 TGAGGAGAAATGTGGCTGTCTACTACGTGTCTATGCTGTCTTCGTTGTC
501 ACCTACCTGATCCTTGCCCTGCTGCCAGGGACCCAGACGCGCTTCCCATG
551 GAACATCATCTGCTGACCCCTTTTACTTTTGGCATGGGCTTCATGACGG
601 GCACCATTTCCAGTATGTACCAAACCAAAGCCGTCATCATTGCATGATC
651 ATCACTGC3GTGGTATCCATTCAGTACCATCTTCTGCTTTCAGACCAA
701 GGTGAGGGCATGGAGGGCCCTTCCCTGGCCCCCGACTCCCCTTCTTAT
751 CAGGCCCGGACCCCGGTACTAGGGATGTTCCCTAGAGACCTGATCCCC
801 TTCTCCTCATCCGCACCTACAAAATGTGTCTGTTTCTGCTCCTTAGAAT
851 GTTGTGGACATCCCATACCCCTAGGAGGCAGCACTGGGACTCCCTGGC
901 AGGGCCAGTCTGACTGGGCTGGTTGTACAGCCATCTGACAGGTGCTCT
951 TTCTTGCTTCCCTGGCAGGTGGACTTCACCTCGTGCACAGGCCTCTCTGT
1001 GTCCTGGGAATTTGCTCCTGGTGACTGGGATTTGCTACTAGCATTTGTGCT
1051 CTTAGCATTGTGCTCTACTTCCAATACGTTTACTGGCTCCACATGCTCTA
1101 TGCTGCTCTGGGGGCCATTGTTTCAACCCTGTCTCTGGCTTACGACACAC
1151 AGCTGGTCTGGGGAACCGGAAGCACACCATCAGCCCCGAGGACTACATC
1201 ACTGGCGCCCTGCAGATTTACACAGACATCATCTACATCTTACCTTTGT
1251 GCTGCAGCTGATGGGGCATCGCAATTAAGGAGCAAGCCCCATTTTACC
1301 CGATCCTGGGCTCTCCCTTCCAAGCTAGAGGGCTGGGCCCCTATGACTGTG
1351 GTCTGGGCTTTAGGCCCTTTCTTCCCTTGGATACATGCCAGTTTC
1401 CTTTCTGCTCTGGAGACAGGTGGCCTCTCTGGCTATGGATGTGTGGGTAC
1451 TTGGTGGGACGGAGGAGCTAGGGACTAACTGTTGCTCTTGGTGGGCTTG
1501 GCAGGACTAGGCTGAAGATGTGTCTTCTCCCGCCACCTACTGTATGAC
1551 ACCACATTTCTTAAACAGCTGGGGTGTGAGGAATATGAAAAGAGCCTA
1601 TTCGATAGCTAGAAGGGATATGAAAGGTAGAAGTGAAGTCAAGGTGAGC
1651 AGGTCCCCTCCCACCTCTGTACAGGCTTCTTACTACGTAGTTGGAGC
1701 TATTTCTTCCCCAGCAAAGCCAGAGAGCTTTGTCCCCGGCCTCCTGGAC
1751 ACATAGGCCATTATCCTGTATTCTTTGGCTTGGCATCTTTAGCTCAGG
1801 AAGGTAGAAGAGATCTGTGCCCATGGGTCTCCTTGCTTCAATCCCTCTT
1851 GTTTCAGTGACATATGTATTGTTTATCTGGGTTAGGGATGGGGACAGAT
1901 AATAGAACCAGCAAAGTAACCTATAAGGCCAGCATGGAACAGCATCTCC
1951 CCTGGGCTTGCTCCTGGCTTGTGACGCTATAAGACAGAGCAGGCCACATG
2001 TGGCCATCTGCTCCCATTCTTGAAGCTGCTGGGCCTCCTTGCAGGT
2051 TCTGGATCC (配列番号9)

(表14の続き①)

1 MetSerAsnProSerAlaProProProTyrGluAspArgAsnProLeuTyr
 16 ProGlyProLeuProProGlyGlyTyrGlyGlnProSerValLeuProGly
 35 GlyTyrProAlaTyrProGlyTyrProGlnProGlyTyrGlyHisProAla
 52 GlyTyrProGlnProMetProProThrHisProMetProMetAsnTyrGly
 69 ProGlyHisGlyTyrAspGlyGluGluArgAlaValSerAspSerPheGly
 86 ProGlyGluTrpAspAspArgLysValArgHisThrPheIleArgLysVal
 103 TyrSerIleIleSerValGlnLeuLeuIleThrValAlaIleIleAlaIle
 120 PheThrPheValGluProValSerAlaPheValArgArgAsnValAlaVal
 137 TyrTyrValSerTyrAlaValPheValValThrTyrLeuIleLeuAlaCys
 154 CysGlnGlyProArgArgArgPheProTrpAsnIleIleLeuLeuThrLeu
 171 PheThrPheAlaMetGlyPheMetThrGlyThrIleSerSerMetTyrGln
 188 ThrLysAlaValIleIleAlaMetIleIleThrAlaValValSerIleSer
 205 ValThrIlePheCysPheGlnThrLysValArgAlaTrpArgAlaLeuPro
 222 TrpProProAspSerProPheLeuSerGlyProAspProGlyThrLeuGly
 239 MetPheProArgAspLeuIleProPheSerSerSerAlaProThrLysLeu
 256 CysProValSerValLeuArgMetLeuTrpThrPheProTyrProLeuGly
 273 GlySerThrGlyThrProTrpGlnGlyGlnSerAspTrpAlaGlyCysHis
 290 SerHisLeuThrGlyAlaSerPheLeuLeuProGlyArgTrpThrSerPro
 307 ArgAlaGlnAlaSerSerValSerTrpGluLeuCysSerTrp (配列番号10)

開示されるNOV5核酸は、表15に示されるように、特徴のないヒトPP1
 201タンパク質をコードする遺伝子(PP1201:ジーンバンク受付番号:
 NM022152.1)の領域と高い程度の相同性(100%同一性)を有する。
 また、NOV5核酸は、表16に示されるように、染色体2由来のヒトBAC
 ゲノムクローンRP11-378A13(ジーンバンク受付番号:AC0210
 16.4;CHR2)の領域と高い相同性(99%同一性)を有する。さらに、
 NOV5核酸は、表17に示されるように、米国特許第5,483,716号か
 らのポリヌクレオチド配列の一部(配列番号2;ジーンバンク受付番号:AR
 062278)と高い相同性(100%相同性)を有する。さらにまた、NOV
 5核酸は、表18に示されるように、ラット神経膜タンパク質35(NMP35
 ;受付番号:AAC324631.1)と相同性(70%類似性、83%同一性
)を有する。

【0047】

【表15】

表 15.

NOV5: 1 cgctccgtctggaacggcgaggtcccagcagctggggttccccctcagcccgtagcag 60
 PP1201: 5 cgctccgtctggaacggcgaggtcccagcagctggggttccccctcagcccgtagcag 64

NOV5: 61 ccattgtccaaccccagcgcgccaccaccatagaagaccgcaaccccctgtaccaggcc 120
 PP1201: 65 ccattgtccaaccccagcgcgccaccaccatagaagaccgcaaccccctgtaccaggcc 124

NOV5: 121 ctctgccccctgggggctatgggcagccatctgtcctgccaggagggtatcctgcctacc 180
 PP1201: 125 ctctgccccctgggggctatgggcagccatctgtcctgccaggagggtatcctgcctacc 184

NOV5: 181 ctggctaccgcagcctggctacgggtaccctgctggctaccacagcccatgccccca 240
 PP1201: 185 ctggctaccgcagcctggctacgggtaccctgctggctaccacagcccatgccccca 244

NOV5: 241 cccaccgatgccatgaactacggcccaggccatggctatgatggggaggagagagcgg 300
 PP1201: 245 cccaccgatgccatgaactacggcccaggccatggctatgatggggaggagagagcgg 304

NOV5: 301 tgagtgatagcttcgggcctggagagtgggatgaccggaaagtgcgacacacttttatcc 360
 PP1201: 305 tgagtgatagcttcgggcctggagagtgggatgaccggaaagtgcgacacacttttatcc 364

NOV5: 361 gaaaggtttactccatcatctccgtgcagctgctcatcaactgtggccatcattgctatct 420
 PP1201: 365 gaaaggtttactccatcatctccgtgcagctgctcatcaactgtggccatcattgctatct 424

NOV5: 421 tcacctttgtggaacctgtcagcgccctttgtgaggagaaatgtggctgtctactacgtgt 480
 PP1201: 425 tcacctttgtggaacctgtcagcgccctttgtgaggagaaatgtggctgtctactacgtgt 484

NOV5: 481 cctatgctgtcttcgttgtcaacctacctgatccttgctgctgccagggaaccagagcc 540
 PP1201: 485 cctatgctgtcttcgttgtcaacctacctgatccttgctgctgccagggaaccagagcc 544

表5の続き①

NOV5: 541 gtttcccatggaacatcattctgctgaccctttttacttttgccatgggcttcatgacgg 600
 PPI201: 545 gtttcccatggaacatcattctgctgaccctttttacttttgccatgggcttcatgacgg 604

NOV5: 601 gcaccatttccagtatgtaccaaaccaagccgctcatcattgcaatgatcatcactgagg 660
 PPI201: 605 gcaccatttccagtatgtaccaaaccaagccgctcatcattgcaatgatcatcactgagg 664

NOV5: 661 tggatccatttccagtcaccatcttctgctttcagaccaagggtg 704 (配列番号30)
 PPI201: 665 tggatccatttccagtcaccatcttctgctttcagaccaagggtg 708 (配列番号31)

NOV5: 1053 tagcattgtgctctacttccaatacgtttactggctccacatgctctatgctgctctggg 1112
 PPI201: 777 tagcattgtgctctacttccaatacgtttactggctccacatgctctatgctgctctggg 836

NOV5: 1113 ggccatttgtttcaccctgttctctggcttacgacacacagctggctcctggggaaccggaa 1172
 PPI201: 837 ggccatttgtttcaccctgttctctggcttacgacacacagctggctcctggggaaccggaa 896

NOV5: 1173 gcacaccatcagccccgaggactacatcactggcgcctgcagatttacacagacatcat 1232
 PPI201: 897 gcacaccatcagccccgaggactacatcactggcgcctgcagatttacacagacatcat 956

NOV5: 1233 ctacatcttcacctttgtgctgagctgatgggggatcgcaattaaggagcaagccccc 1292
 PPI201: 957 ctacatcttcacctttgtgctgagctgatgggggatcgcaattaaggagcaagccccc 1016

NOV5: 1293 ttttcacccgatcctgggctctccctccaagctagaggctgggacctatgactgtgg 1352
 PPI201: 1017 ttttcacccgatcctgggctctccctccaagctagaggctgggacctatgactgtgg 1076

NOV5: 1353 ctgggctttaggcccttctccttccccttgagtaacatgccagtttctttctgtcctg 1412
 PPI201: 1077 ctgggctttaggcccttctccttccccttgagtaacatgccagtttctttctgtcctg 1136

NOV5: 1413 gagacaggtggcctctctggctatggatgtgtgggtacttgggtgggacggaggagctag 1472
 PPI201: 1137 gagacaggtggcctctctggctatggatgtgtgggtacttgggtgggacggaggagcag 1196

表15の続き②

NOV5: 1473 ggactaaactgttgcctcttgggtgggcttggcagggactaggctgaagatgtgtcttctccc
1532
|||||
PP1201: 1197 ggactaaactgttgcctcttgggtgggcttggcagggactaggctgaagatgtgtcttctccc
1256

NOV5: 1533 cgccacctactgtatgacaccacattcttccctaacagctggggttgagggaatatgaaa
1592
|||||
PP1201: 1257 cgccacctactgtatgacaccacattcttccctaacagctggggttgagggaatatgaaa
1316

NOV5: 1593 agagcctattcgatagctagaagggaatatgaaaggtagaagtgaactcaaggccaogag
1652
|||||
PP1201: 1317 agagcctattcgatagctagaagggaatatgaaaggtagaagtgaactcaaggccaogag
1376

NOV5: 1653 gttccctcccacotctgtccacaggcttcttgactacgtagtggagctatttcttccccc
1712
|||||
PP1201: 1377 gttccctcccacotctgtccacaggcttcttgactacgtagtggagctatttcttccccc
1436

NOV5: 1713 cagcaaagccagagagctttgtccccggcctcctggacacataggccattatcctgtatt
1772
|||||
PP1201: 1437 cagcaaagccagagagctttgtccccggcctcctggacacataggccattatcctgtatt
1496

NOV5: 1773 cctttggcttggcatcttttagctcaggaaggtagaagagatctgtgcccatgggtctccc
1832
|||||
PP1201: 1497 cctttggcttggcatcttttagctcaggaaggtagaagagatctgtgcccatgggtctccc
1556

NOV5: 1833 ttgcttcaatcccttctgtttcagtgacatatgtattgtttatctgggttagggatggg
1892
|||||
PP1201: 1557 ttgcttcaatcccttctgtttcagtgacatatgtattgtttatctgggttagggatggg
1616

NOV5: 1893 ggacagataatagaacgagcaaagtaacctatacaggccagcatggaacagcatctcccc
1952
|||||
PP1201: 1617 ggacagataatagaacgagcaaagtaacctatacaggccagcatggaacagcatctcccc
1676

NOV5: 1953 tgggcttgctcctggcttgtagcgtataagacagagcaggccacatgtggccatctgct
2012
|||||
PP1201: 1677 tgggcttgctcctggcttgtagcgtataagacagagcaggccacatgtggccatctgct
1736

NOV5: 2013 cccattcttgaagctgctggggcctccttgaggtctctggatc 2058 (別添32)
|||||
PP1201: 1737 cccattcttgaagctgctggggcctccttgaggtctctggatc 1782 (別添33)

【0048】

【表16】

表 16

NOV5: 1131	gttcctggcttacgacacacagctggtcctggggaaccggaagcacaccatcagcccca	1190
CHR 2: 21496	gttcctggcttacgacacacagctggtcctggggaaccggaagcacaccatcagcccca	21437
NOV5: 1191	ggactacatcactggcgcctgcagatttacacagacatcatctacatcttcaccttgt	1250
CHR 2: 21436	ggactacatcactggcgcctgcagatttacacagacatcatctacatcttcaccttgt	21377
NOV5: 1251	gctgcagctgatgggggatcgcaattaaggagcaagccccattttaccogatectgg	1310
CHR 2: 21376	gctgcagctgatgggggatcgcaattaaggagcaagccccattttaccogatectgg	21317
NOV5: 1311	ctctccctccaagctagaggctgggcctatgactgtggtctggcctttaggccctt	1370
CHR 2: 21316	ctctccctccaagctagaggctgggcctatgactgtggtctggcctttaggccctt	21257
NOV5: 1371	tccttccccttgagtaacatgccagtttccctttctgtcctggagacaggtggcctct	1430
CHR 2: 21256	tccttccccttgagtaacatgccagtttccctttctgtcctggagacaggtggcctct	21197
NOV5: 1431	ggctatggatgtgtgggtacttggtagggacggagctaggactaactgttgcctt	1490
CHR 2: 21196	ggctatggatgtgtgggtacttggtagggacggagctaggactaactgttgcctt	21137
NOV5: 1491	ggtgggcttggcagggactaggctgaagatgtgtctctcccggccactactgtatgac	1550
CHR 2: 21136	ggtgggcttggcagggactaggctgaagatgtgtctctcccggccactactgtatgac	21077
NOV5: 1551	accacattctcctaacagctggggttgtgaggaatatgaaaagacotattcgatagct	1610
CHR 2: 21076	accacattctcctaacagctggggttgtgaggaatatgaaaagacotattcgatagct	21017
NOV5: 1611	agaaggggaatatgaaaggtagaagtgacttcaaggtcacgaggttcccctcccactctg	1670
CHR 2: 21016	agaaggggaatatgaaaggtagaagtgacttcaaggtcacgaggttcccctcccactctg	20957
NOV5: 1671	tcacaggcttcttgactacgtagtgtggagctatttcttccccagcaaaagccagagact	1730
CHR 2: 20956	tcacaggcttcttgactacgtagtgtggagctatttcttccccagcaaaagccagagact	20897
NOV5: 1731	ttgtcccggcctcctggacacataggccattatcctgtattcctttggcttggcatctt	1790
CHR 2: 20896	ttgtcccggcctcctggacacataggccattatcctgtattcctttggcttggcatctt	20837
NOV5: 1791	ttagctcaggaaggtagaagagatctgtgccatgggtctccttgcctcaatcccttctt	1850
CHR 2: 20836	ttagctcaggaaggtagaagagatctgtgccatgggtctccttgcctcaatcccttctt	20777
NOV5: 1851	gtttcagtgacatagtattgtttatctgggttagggatgggggacagataacagaacga	1910
CHR 2: 20776	gtttcagtgacatagtattgtttatctgggttagggatgggggacagataacagaacga	20717
NOV5: 1911	gcaaagtaacctatacagccagcctggaaacagcatctcccctggccttgcctctggctt	1970
CHR 2: 20716	gcaaagtaacctatacagccagcctggaaacagcatctcccctggccttgcctctggctt	20657
NOV5: 1971	gtgacgctataagacagagcagggccacatgtggccatctgctcccattctttaaagctg	2030
CHR 2: 20656	gtgacgctataagacagagcagggccacatgtggccatctgctcccattctttaaagctg	20597
NOV5: 2031	ctggggcctccttgcaggtcttctggatc	2050 (原记录号34)
CHR 2: 20596	ctggggcctccttgcaggtcttctggatc	20569 (原记录号35)

【0049】

【表 17】

表 17

NOV5: 1053 tagcatttgctctacttccaatagctttactggctccacatgctctatgctgctctggg 1112
 |||
 Seq2: 924 tagcatttgctctacttccaatagctttactggctccacatgctctatgctgctctggg 983

NOV5: 1113 ggccatttgtttcaacctgttccctggcttacgacacacagctggctcctgggaaaccggaa 1172
 |||
 Seq2: 984 ggccatttgtttcaacctgttccctggcttacgacacacagctggctcctgggaaaccggaa 1043

NOV5: 1173 gcacaccatcagccccgaggactacatcactggcgcctgcagatttacacagacatcat 1232
 |||
 Seq2: 1044 gcacaccatcagccccgaggactacatcactggcgcctgcagatttacacagacatcat 1103

NOV5: 1233 ctacatcttcacctttgtgctgcagctgatggggatcgcaattaaggagcaagcccca 1292
 |||
 Seq2: 1104 ctacatcttcacctttgtgctgcagctgatggggatcgcaattaaggagcaagcccca 1163

NOV5: 1293 ttttcaaccgatcctgggctctccctccaagctagaggctggcctatgactgtggt 1352
 |||
 Seq2: 1164 ttttcaaccgatcctgggctctccctccaagctagaggctggcctatgactgtggt 1223

NOV5: 1353 ctgggctttaggcccccttccctcccttgagtaacatgccagtttcccttctgctctg 1412
 |||
 Seq2: 1224 ctgggctttaggcccccttccctcccttgagtaacatgccagtttcccttctgctctg 1283

NOV5: 1413 gagacaggtggcctctctggctatggatgtgtgggtacttggtgggacggaggactag 1472
 |||
 Seq2: 1284 gagacaggtggcctctctggctatggatgtgtgggtacttggtgggacggaggactag 1343

NOV5: 1473 ggactaactgttctcttgggtgggttggcagggactaggtgaagatgtgtctctccc 1532
 |||
 Seq2: 1344 ggactaactgttctcttgggtgggttggcagggactaggtgaagatgtgtctctccc 1403

NOV5: 1533 cgccacctactgtatgacaccacattcttccctaacagctggggttgtgaggaatatgaaa 1592
 |||
 Seq2: 1404 cgccacctactgtatgacaccacattcttccctaacagctggggttgtgaggaatatgaaa 1463

NOV5: 1593 agagcctattcgatagctagaagggaatatgaaaggtagaagtgacttcaaggctacgag 1652
 |||

(表17の続き①)

Seq2: 1464 agagccattatcgatagctagaagggaatatgaaaggtagaagtgacttcaaggtcacagag 1523

NOV5: 1653 gttccccctcccacctctgtcacaggcttcttggactacgtagttggagctatttcttcccc 1712
 ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| |||

Seq2: 1524 gttccccctcccacctctgtcacaggcttcttggactacgtagttggagctatttcttcccc 1593

NOV5: 1713 cagcaaagccagagagctttgtccccggcctcctggacacataggccattatctctgtatt 1772
 ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| |||

Seq2: 1584 cagcaaagccagagagctttgtccccggcctcctggacacataggccattatctctgtatt 1643

NOV5: 1773 cctttggcttggcatcttttagctcaggaaggtagaagagatctgtgccatgggtctcc 1832
 ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| |||

Seq2: 1644 cctttggcttggcatcttttagctcaggaaggtagaagagatctgtgccatgggtctcc 1703

NOV5: 1833 ttgcttcaatccttcttgtttcagtgacatagtattgtttatctgggttaggatggg 1892
 ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| |||

Seq2: 1704 ttgcttcaatccttcttgtttcagtgacatagtattgtttatctgggttaggatggg 1763

NOV5: 1893 ggacagataatagaacgagcaaagtaacctatacaggccagcatggaacagcatctcccc 1952
 ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| |||

Seq2: 1764 ggacagataatagaacgagcaaagtaacctatacaggccagcatggaacagcatctcccc 1823

NOV5: 1953 tgggtctgtctcctggcttgtgacgctataagacagagcaggccacatgtggccatctgct 2012
 ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| |||

Seq2: 1824 tgggtctgtctcctggcttgtgacgctataagacagagcaggccacatgtggccatctgct 1883

NOV5: 2013 ccccatctttaaagctgtggtggcctccttgcaggcttctggatc 2058 (配列番号35)

||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| |||

Seq2: 1884 ccccatctttaaagctgtggtggcctccttgcaggcttctggatc 1929 (配列番号37)

【0050】

【表 18】

表 18.

NOV5: 1051 LSIIVLYFQYVYWLHMLYAALGAICFTLFLAYDTQLVLSNKRKHTISPEDYITGALQIYTDI
 1230

++ *+*+ *+*+ *+*+ *+*+ *+*+ *+*+ *+*+ *+*+ *+*+ *+*+ *+*+ *+*+ *+*+ *+*+ *+*+ *+*+ *+*+

NMP 35: 241 LAILLPFQYVPLHAVYAVLGGVFTLFLAFDTQLLGMNRHRSLSPEEYIFGALNIYLDI 300

NOV5: 1231 IYIETFLQLMG 1266 (配列番号38)
 ***** *+*+ *

NMP 35: 301 IYIETFLQLFG 312 (配列番号39)

ここで、*は、同一性を示し、そして+は、類似性を示す。

【0051】

開示されるNOV5核酸は、マーカーD2S164とマーカーD2S163との間のヒト染色体2に位置する。開示されるNOV5核酸配列は、2q33-36に位置する。この領域についてのOnline Mendelian Inheritance in Man(OMIM)エントリーは、以下の疾患が、こ

の遺伝子座に関連することを示す。従って、この遺伝子は、これら疾患（数字は、障害についてのOMIMエントリーを示す）；ワールデンブルヒ症候群I型（3）；ワールデンブルヒ症候群III型，148820（3）；横紋筋肉腫、肺胞，268220；心臓、顔 - 難聴 - 手症候群，122880（3）；インスリン依存型糖尿病 - 12；筋萎縮側索硬化症 - 2、若年性退縮；エーレルス ダンロー症候群、X型；インスリン依存型糖尿病 - 13；白血病/リンパ腫，T細胞；ブヨルンスタッド症候群（捻転毛および難聴）；筋障害、デスミンズ関連、心臓骨格（cardioskeletal）、601419（3）；心臓筋障害、拡張性の1I；脳腱黄色腫症；フィンランド致死性新生児代謝症候群；舞踏病アテトーシス、家族性発作（発作性非運動遺伝子ジスキネジー）における治療的または診断的に使用され得る。

【0052】

発現パターン、マップ位置およびタンパク質相同性の情報は、NOV5が、このマップ位置（上記される）に関連する疾患を含む、イオンチャネルおよびグルタミン酸レセプターとして機能し得ることを示す。従って、この遺伝子は、これらの疾患およびこれらの疾患を含む他の組織における薬剤標的および抗体標的ならびに診断マーカーとして役に立ち得る。インビトロでの使用は、これらの疾患由来のこれらの組織および細胞型を含む全ての組織および細胞型に対する組織再生を含む。

【0053】

グルタミン酸レセプターは、哺乳動物脳におけるプレドミナント興奮性神経伝達物質レセプターであり、そして種々の正常神経生理学的プロセスにおいて活性化される。グルタミン酸レセプターの分類は、異なる薬理学的なアゴニストによる活性化に基づく。

【0054】

NOV5は、マーカーD2S164とマーカーD2S163との間のヒト染色体2の領域に対するマーカーとして有用である。また、NOV5は、神経組織ならびに副腎、乳房、前立腺、精巣、子宮、骨髄、黒色腫、松果体、甲状腺、脾臓、胎盤、骨髄、乳腺、胎児胸腺、胎児肺、視床、胎児腎臓およびパーキットリン

パ腫由来の組織を検出するために使用され得る。さらに、NOV5 核酸またはポリペプチドを検出する試薬は、副腎関連タンパク質ファミリーのメンバーの発現における交代に関連する障害の処置に有用な新しい診断的または治療的組成物を提供する。NOV5 核酸、ポリペプチド、抗体、および本発明の他の組成物は、非限定的な例として、これらに関連する神経学的な障害、異常な細胞、増殖および分化、ならびに癌を含む、種々の疾患および病原体の処置および/または診断に有用である。

【0055】

(NOV6)

本発明に従うNOV6 配列は、表19に示される核酸配列を含む。表19に示されるものはまた、開示される核酸配列によってコードされるポリペプチドである。このコードされるポリペプチドは、LIM-相互作用タンパク質に関連する。開示されるNOV6 核酸は、脾臓RNAから単離された。NOV6 核酸に相同な配列を発現する他の組織としては、脊髄、胃、胎児肺、ならびに細胞株U-937およびCADMECLAが挙げられる。開示される核酸(配列番号11)は、表19に示されるように、807ヌクレオチド長であり、そしてヌクレオチド207~209のATG開始コドンで始まり、そしてヌクレオチド612~614のTAG終止コドンで終わるオープンリーディングフレーム(ORF)を含む。Kozakコンセンサス配列は観察された。代表的なORFは、135アミノ酸ポリペプチドをコードする(配列番号12)。NOV6ポリペプチドの推定分子量は、14,712,5Daである。コード配列の推定の非転写領域の上流および下流を、配列番号11において下線を引く。

【0056】

【表19】

表 19.

1 CCAAGATACAAGCTGGAGTATTTAGGAGTGATATCTATAACTAGCACTCA
 51 AGTTATTC AACAAAATTTCGACCTGGACGAGACCCTGGTGCACAGCTCCTT
 101 CAAGCCAGTGAAACAACCGCGACTTCATCATCCCTGTGGAGATTGATGGGG
 151 TGGTCCACCAGGTCTACGTGTGAAGCGTCTCACGTGGATGAGTTCCTG
 201 CAGCGAATGGGCGAGCTCTTGAATGTGTGCTGTTCACTGCTAGCCTCGC
 251 CAAGTACGCAGACCAGTAGCTGACCTGCTGGACAAATGGGGGGCCTTCC
 301 GGGCCCCGGCTGTTTCGAGAGTCTGCGTCTTCCACCGGGGGAACACTACGTG
 351 AAGGACCTGAGCCGGTTGGGTTCGAGACCTGCGGCGGGTGCCTCATCCTGGA
 401 CAATTCACCTGCCTCCTATGTCTTCCATCCAGACAAATGCTGTGAGTGGG
 451 GCTGGACTGGGACTGGGACAGGAGCTGAGACCCAGGAAGGGTTCAGTCCA
 501 TTCAGGCCACCTTGGCCTCTTGGATCCCCAGTTGGGGGGTGGGTGCCCTC
 551 CCAGTCCCTTCCTGCATTTCATTGCTGTGCTGCTGCCGCCACTCCCCTCATC
 601 CACCTGCCCTGTAGCCATATGGTCTTTTCCCTCGCACAAAGCAGAGCAT
 651 CTGCCATGCACAGGGGGCCCCACAGGGCAACGGAGTTTGGAAAGTTTCAA
 701 TTTTTCGAATTGCCAGTTGTGACCTACTGATGGCCACAGAATTAATTTA
 751 GTGGGTTCTGATTGGGAATTTTAAACAAAATGAAATAGAATAGAAAATATC
 801 CAAAAA (配列番号11)

1 MetGlyGluLeuPheGluCysValLeuPheThrAlaSerLeuAlaLysTyr
 18 AlaAspProValAlaAspLeuLeuAspLysTrpGlyAlaPheArgAlaArg
 35 LeuPheArgGluSerCysValPheHisArgGlyAsnTyrValLysAspLeu
 52 SerArgLeuGlyArgAspLeuArgArgValLeuIleLeuAspAsnSerPro
 69 AlaSerTyrValPheHisProAspAsnAlaValSerAlaGlyTrpThrGly
 86 ThrGlyThrGlyAlaGluThrGlnGluGlyValSerProPheArgProPro
 103 TrpProLeuGlySerProValGlyGlyTrpValProSerGlnSerPheLeu
 120 HisSerLeuProValProAlaAlaHisSerProHisProProAlaLeu (配列番号12)

開示されるNOV6核酸の領域は、表20に示されるように、染色体2由来のヒトBACゲノムクローンRP11-378A13の領域(CHR2; ジーンバンク受付番号: AC021016.4)と高い程度の相同性(100%同一性)を有する。また、NOV6核酸は、表21に示されるように、神経抵抗性関連マクロファージタンパク質-1をコードする、ヒトSLC11A1遺伝子の領域(NRAM1; ジーンバンク受付番号: AF229163.1)と高い程度の相同性(100%同一性)を有する。さらに、NOV6核酸は、表22に示されるように、ヒト核LIM-インタラクター-相互作用因子の領域(LIM; 受付番号: XM002584.1)と高い程度の相同性(100%同一性)を有する。

【0057】

【表20】

表 20.

NOV6: 253	agtaacgcagaccagtagctgacctgctggacaaatggggggccttcogggcccggtgt	312
CHR 2: 149104	agtaacgcagaccagtagctgacctgctggacaaatggggggccttcogggcccggtgt	149163
NOV6: 313	ttcgagagtcctgcgtcttcacccgggggaactacgtgaaggacctgagccggttgggtc	372
CHR 2: 149164	ttcgagagtcctgcgtcttcacccgggggaactacgtgaaggacctgagccggttgggtc	149223
NOV6: 373	gagacctgcggcggtgctcactctggacaattcacctgcctcctatgtcttccatccag	432
CHR 2: 149224	gagacctgcggcggtgctcactctggacaattcacctgcctcctatgtcttccatccag	149283
NOV6: 433	acaatgctgtgagtgccggctggactggactggacagagctgagaccaggaagggg	492
CHR 2: 149284	acaatgctgtgagtgccggctggactggactggacagagctgagaccaggaagggg	149343
NOV6: 493	tcagtccattcaggccaccttggcctcttggatccccagttggggggtgggtgccctccc	552
CHR 2: 149344	tcagtccattcaggccaccttggcctcttggatccccagttggggggtgggtgccctccc	149403
NOV6: 553	agtecttctgcattcattgctgtgctgcgcgccactcccctcatccacctgcctgt	612
CHR 2: 149404	agtecttctgcattcattgctgtgctgcgcgccactcccctcatccacctgcctgt	149463
NOV6: 613	agccatatggtcttttccctcgcacaaagcagagcacttgcctgcacaggggccccca	672
CHR 2: 149464	agccatatggtcttttccctcgcacaaagcagagcacttgcctgcacaggggccccca	149523
NOV6: 673	cagggcaacggagtttggaaagtttcaattttccaatttccagttgtgacctactgatg	732
CHR 2: 149524	cagggcaacggagtttggaaagtttcaattttccaatttccagttgtgacctactgatg	149583
NOV6: 733	gcccacagaattaattttagtgggttctgattgggaattttaacaaatgaatagaatag	792
CHR 2: 149584	gcccacagaattaattttagtgggttctgattgggaattttaacaaatgaatagaatag	149643
NOV6: 793	aaaatatcc 801 (配列番号)	
CHR 2: 149644	aaaatatcc 149652 (配列番号)	

【0058】

【表21】

表 21.

NOV6: 253	agtacgcagaccagtagctgacctgctggacaatggggggccttcggggcccgctgt	312
NRAM1: 27097	agtacgcagaccagtagctgacctgctggacaatggggggccttcggggcccgctgt	27156
NOV6: 313	ttcgagagtctctgctcttccaccgggggaactacgtgaaggacctgagccggttgggtc	372
NRAM1: 27157	ttcgagagtctctgctcttccaccgggggaactacgtgaaggacctgagccggttgggtc	27216
NOV6: 373	gagacctgcggggggtgctcatcctggacaattcacctgctcctatgtcttccatccag	432
NRAM1: 27217	gagacctgcggggggtgctcatcctggacaattcacctgctcctatgtcttccatccag	27276
NOV6: 433	acaatgctgtgagtgcgggctggactgggactgggacaggagctgagaccaggaagggg	492
NRAM1: 27277	acaatgctgtgagtgcgggctggactgggactgggacaggagctgagaccaggaagggg	27336
NOV6: 493	tcagtcattcagggccaccttggcctcttggatccccagttgggggtgggtgccctccc	552
NRAM1: 27337	tcagtcattcagggccaccttggcctcttggatccccagttgggggtgggtgccctccc	27396
NOV6: 553	agtccttctgcattcattgctgtgctgcggccactccccctcattccactgacctgt	612
NRAM1: 27397	agtccttctgcattcattgctgtgctgcggccactccccctcattccactgacctgt	27456
NOV6: 613	agccatattggtctttccctcgcaaaagcagagcatctgccatgcacagggggcccca	672
NRAM1: 27457	agccatattggtctttccctcgcaaaagcagagcatctgccatgcacagggggcccca	27516
NOV6: 673	cagggaacggagtttggaaagtccaatttttgaattgocagttgtgacctactgatg	732
NRAM1: 27517	cagggaacggagtttggaaagtccaatttttgaattgocagttgtgacctactgatg	27576
NOV6: 733	gcccacagaattaatttagtgggttctgattgggaattttaacaaaatgaatagaatag	792
NRAM1: 27577	gcccacagaattaatttagtgggttctgattgggaattttaacaaaatgaatagaatag	27636
NOV6: 793	aaaatatcc 801 (配列番号40)	
NRAM1: 27637	aaaatatcc 27645 (配列番号42)	

【0059】

【表22】

表 22.

```

NOV6: 67  tcgacctggacgagaccctggtgcacagctccttcaagccagtgaaacaacgggacttca 126
          |||
LIM 1: 615 tcgacctggacgagaccctggtgcacagctccttcaagccagtgaaacaacgggacttca 674

NOV6: 127  tcatccctgtggagattgatggggtggccaccaggctacgtgttgaagcgtcctcaag 186
          |||
LIM 1: 675  tcatccctgtggagattgatggggtggccaccaggctacgtgttgaagcgtcctcaag 734

NOV6: 187  tggatgagttcctgcagcgaatgggagagctcttgaatgtgtgttcaactgctagcc 246
          |||
LIM 1: 735  tggatgagttcctgcagcgaatgggagagctcttgaatgtgtgttcaactgctagcc 794

NOV6: 247  tcgccaagtacgcagaccagtagctgacctgctggacaatggggggcctccggggccc 306
          |||
LIM 1: 795  tcgccaagtacgcagaccagtagctgacctgctggacaatggggggcctccggggccc 854

NOV6: 307  ggcgtgttccgagagtcctgcgtcttccaccgggggaactacgtgaaggacctgagccggt 366
          |||
LIM 1: 855  ggcgtgttccgagagtcctgcgtcttccaccgggggaactacgtgaaggacctgagccggt 914

NOV6: 367  tgggtcgagacctgcggcgggtgctcaccctggacaattcacctgcctcctatgtcttcc 426
          |||
LIM 1: 915  tgggtcgagacctgcggcgggtgctcaccctggacaattcacctgcctcctatgtcttcc 974

NOV6: 427  atccagacaatgctgt 442 (配列番号43)
          |||
LIM 1: 975  atccagacaatgctgt 990 (配列番号44)

```

NOV6は、ヒト染色体2に対するマーカーとして有用である。また、NOV6は、膵臓、脊髄、胃、および胎児肺由来の組織の検出に使用され得る。LIM-相互作用因子は、種々の転写因子に結合し得、そして多様な転写因子と接触させ、そして上位の活性化複合体形成するかまたはこのような複合体の形成をブロックするエンハンサーとして機能するようである。LIM-相互作用因子は、いくつかの組織、特に骨格系の発達制御に関連する。従って、このタンパク質は、骨格系における発達制御に関連する。NOV6は、膵臓関連相互作用タンパク質ファミリーのメンバーおよびLIM-相互作用タンパク質ファミリーのメンバーの発現における交代に関連する障害の処置に有用である新しい診断的または治療的組成物を提供することによって当該分野における必要性を満足させる。本発明のNOV6核酸、ポリペプチド、抗体および他の組成物は、非限定的な例として、膵臓の障害（例えば、糖尿病、異常細胞増殖および分化、ならびに癌）を含む、種々の疾患および病原体の処置および/または診断に有用である。

【0060】

LIMドメイン-結合因子をコードする遺伝子は、核タンパク質のLIMドメ

インに生理学的に相互作用するタンパク質に対するスクリーニングにおいて最初に単離された。これらのタンパク質は、種々の転写因子に結合し得、そして多様な転写因子と接触させ、そして上位の活性化複合体形成するかまたはこのような複合体の形成をブロックするエンハンサーとして機能するようである (Jurata および Gill, 1997, *Molec. Cell. Biol.* 17:5688 を参照のこと)。LIMドメイン - 結合因子をコードする遺伝子のファミリーは、マウス、Clim1 (Bachra, 1997, *Genes Dev.* 11:1370 を参照のこと) および Clim2 / Lbd1 / Nli (Agulnickら, 1996, *Nature* 384:270; Jurata および Gill, 1997, *Molec. Cell. Biol.* 17:5688; および Bachra, 1997, *Genes Dev.* 11:1370 を参照のこと) から単離された2つのメンバーならびにカエル、ニワトリおよびハエから単離されたこれらの相同体に関連する。従って、LIMドメイン - 結合因子が、多くの疾患因子の転写活性の配位に関連するようであるという事実は、複数の不自然な位置によって特徴付けられる疾患に関連している。

【0061】

疎水性プロット分析は、分泌タンパク質または形質膜局在型タンパク質と推定されるような、NOV6ポリペプチドのアミノ末端に疎水性ピークを示す。PSORTプログラムは、0.7480の高い確実度で微小体(ペルオキシソーム)における局在を推定する。N-末端シグナル配列は示さない。NOV6のProtein extracellular Locator Prediction Analysisは、このタンパク質が、細胞外に分泌されるか、または核に移行されることを推定する。

【0062】

(NOV7)

本発明に従うNOV7配列は、表23に示される核酸配列を含む。コードされるポリペプチドは、N-アセチルグルコサミン転移酵素III (GlcNAc-TIII)に関連する。NOV7核酸のオリジナルの組織は、膵臓である。この開示される核酸(配列番号13)は、表23に示されるように、2,357ヌク

レオチド長であり、そしてヌクレオチド18~20のATG開始コドンで始まり、そしてヌクレオチド2103~2105のTGA終止コドンで終わるオープンリーディングフレーム(ORF)を含む。代表的なORFは、695アミノ酸ポリペプチドをコードする(配列番号14)。コード配列の推定非転写領域の上流および下流を、配列番号13において下線を引く。

【0063】

【表23】

表 23.

CGCCCCGTCGGCGGCEATGCTGCCCCGAGGGCGGCCCGGGCGTCGGGGGCCCGGCGCTGTTGCTGCTGCTGCTGCTGCGAT
TCCTCCTGTTCGGTGGGAACCTGCGACCGGAGGCTGCGGAGAGCCGCGCCCTCGAAGGACCCCGGGGGCGGGCCCGGGGACACAAACCGCT
CCGACTGCGGCCCGGAGCGGCGCCGCGCCCGCCAAATGCGAGCTCTTTCATGTGGCCATCGTGTGTGCGGGGCATAACTCCAGCCGAGAGGTCA
CATCCTGTGTGAAGTCCATGCTCTTCTACAGGAAAJATCCACTGCACTCCACTTGTGTGACTGACGCCGTGGCCAGAAACATCTCGGAGACGCTCT
TCCACACATGGATGGTGCCTGTGTCCGTGTCACTTTTATCATGCGGACAGCTCAAGCCCGAGGTCTCTGTGATCCGCAACAAGCAGCTACTCC
GGCCCTCTATGGGCTAATGAAGCTGGTGTCTGCCCAATGCTTGGCTGCTGAGCTGGCCCGGCTCATTTGCTCTGGAACAAGATGTCACCTTCGCGCTC
TGACATCTCGGAGCTCTGGGCCCTCTTTGCTCACTTTCTGACACCGAGGGGATCGGTCTTGGGAGAAACAGAGTGACTGTTACCTGGCAACC
TCTGGAAGAACCCAGGCCCTGGCCCTGCTTTGGGCGGGGATTTAACACAGGTGTGATCCCTGCTGCGGCTGGACCGGCTCCGCGAGGCTGGCTGG
GAGCAGATGTGGAGGCTGACAGCCAGCGGGGAGCTCCTTACGCTGCGTCCACTCTACTGGCTGACAGGACATCTTCAACGCTGTGATCAAGGA
GCACCCGGGCTAGTGCAGCGCTGCTTGTGTCTGGAATGTGAGCTGTCAGATCACACACTGGCCGAGCGGCTACTCTGAGGCGCTGTGACC
TCAAGGTGATCCACTGGAATCACCAAAGAGCTTGGGTGAGAACAAAGCATGTGGAAATCTTCCGCAATTTCTA CCGTACCTTCTTGGAGTAC
GATGGAACTGCTGCTGCGAGAGAGCTCTTTGTGTGCCGAGCGAGCCCGGCTGCTGAGCAGTTGCAGAGGCGGCTGGCAACTGGACGA
GGAAGACCCCTGCTTTGAGTTCCGGCAGCAGCAGCTCACTGTGCAAGGTGTGCACTTCTCTGCCCCATGAAACCGCAACCCCGCGGCTC
ACGATGTACCTTGTGTGGCCGAGCTGCTCAATGGACCGGCTGCAGATGTTGGAAGCCCTGTGCGAGCACTGGCCCTGCGCCCATGAGCCCTGCGCTG
TACCTGACAGACGCAAGAGCTCAGCAGTTCCTGCATTTCTGCGAGGCTCACAGTGTCTGCTGCGCGCAGGACGTTGGCTACCATGTGGTGT
CGGTGAGGGGCGCTTATACCCGCTCAAACAGCTTCCGAAAGTGGCTTGGCCAGGCGCCCTCACCCCTTACCTCTTCTCACTGACATTTGACTCC
TGCTGCTTATTTCTCTAGACTACCTCAGGCGCTCCATTGAGCAGCTGGGGCTGGGCGAGCGGCGCAAGGCAGCACTGGTGGTGGCCGATT
GAGACCTTCCGCTACCGCTTCACTTCCCCCATTCGCAAGGTGGAGCTGTTGGCTGCTGGAATGCGGGCACTCTCTACACCTCAGGTACCACGA
GTGGCCCGGAGGCCAGCACCCACAGACTATGCCCGCTGGCGGGAGGCTCAGGCCCGGTACCGTGTGCAATGGCGGGCACTACTGAAACCTTAG
TGGTGGTCCAGAGACTGTCCCGCTATGATCTCTGCTTGTGGGCTTGGCTGGAACAAAGTGGCCACATTTGTGAGCTGTGATGCCAGGAA
TATGAGCTCCTGTGCTGCGGAGGCTTCAACATCCATCTGCCCCAGCTCCGAGGCTTGGACATCTCCGCTTCCGCTCCAGCCCCACCTATCG
TCACTGCTCCAGGCGCTCAAGGACGAAATCCACAGGAGCTGTCCCGCCACCATGGGCTGTGCGCTCAAAATCCTCCAGCCCTGACAGC
CCCAGACCCCTGCGGAGGCTGAGGCTGGGCGCGCTGCCCCATCTTAGCATTTGGGCAGACACAGGGCAACTGGCTTCCGCTCCGCTCCCTGC
TATTTAAATTTATTAAGTCTCTGGCAAGGCTGGGCGAGGATCTGTGGGCTGGGCTCTTCCCTTGTCTATTTGATGGCTGGGCACTGGT
CCTCTCTGCGCCAGCGAGTTTGGGCGCTGGTGCAGGCTGCTGAAATGCTTATCCCTTTTTCATAAATTAAGTTTAAACATCA

(配列番号13)

MLPRGRPRALGAAALLLLLLLFLFGGDLGREAAESRRPRRNPGFPAGTTTAPTAAARRR
PKCELLHVAIVCA GHNSRDVIL VKSMLFYRKNPLHLHLVTDVARNILETLFETWMVPAVRVSYFH
ADQLKPVQSWIPNKHYSGLYGLMKLVLPALPAELARVIVLDTVDVTFASDISELWALFAHPSDTQAIGLV
ENQSDWYLGNLWKNHRFPWALGRGFNTGVILLRLDRLRQAGWEQMWRLTARRELLSLPATSLADQDI
FNAVIKEHPGLVQRLPCVWVWVQLSDHTLAERCYSEASDLKVIHWNSPKKLRVKNKHVEFFRNLYLFLFE
YDGNLLRRELFCPSQPPPGAEQLQALALQDBEDPCFEFRQQQLTVHRVHVTFPLPHEPPPRPHDVTLV
AQLSMDRLQMLEALCRHWPGPMSLALVLTDAEAQQFLHFVEASPVLAARQDVA YHVVYREGPLYPVN
QLRNVALAQUALTPYVFLSDIDFLPAYSLYDYLASIEQLGLGSRKAALVVPAFETLRYRFSFPKSKVELL
ALLDAGTLYTFRYHEWPRGHAPTIDYARWREAQAPYRVQWAANYEPYVVVPRDCPRYDPRFVGFQWN
KVAHIVELDAQEYELLVLEAFTHLPHAPSLDISRFRSSPTYRDCLQALKDEFHQDLSRHGAAALKYLP
ALQPPQSPARG (配列番号14)

開示されるNOV7核酸は、表24に示されるように、ヒトグリコシル転移酵

素様タンパク質 (GLY T ; ジーンバンク受付番号 : NM004737.1) と相同性 (84%同一性) を有する。また、NOV7ポリペプチドは、表25に示されるように、ヒトN - アセチルグルコサミン転移酵素様タンパク質 (GLY T ; EMBL 受付番号 : 095461) と相同性 (70%同一性、83%類似性) を有する。さらに、表26に示されるように、開示されるNOV7ポリペプチドは、このファミリーの代表である公知のグリコソ転移酵素 (helicobacter pylori由来のLPS生合成タンパク質 (受付番号 : 7465085)) を有するNOV7のグリコソ転移酵素ドメインを含むPFAM整列である、多くのグリコソ転移酵素間に保存された共通領域を含む。

【0064】

開示されるNOV7核酸は、染色体11に位置する。NOV7配列は、少なくとも以下の組織 : 脳、扁桃腺、結腸、前立腺、肝臓、腎臓、胃、肺、松果体、膵臓、乳腺 / 乳房、子宮および骨髄に発現される。さらに、配列は、ヒトアセチルグルコサミン転移酵素相同体 (ジーンバンク受付番号 : HSA7583) の発現パターンと密接に関連するので、胎児脳において発現することが推定される。

【0065】

アセチルグルコサミン転移酵素に対するシグナル1P、Psortおよび / またはヒドロパシープロファイルは、この配列が、シグナルペプチドを有し、そしてリソソーム (p = 0.865) または (ファミリーの多くの特徴である) 細胞外 (p = 0.8200) に局在するようであることを推定する。

【0066】

本明細書中で開示されるアセチルグルコサミン転移酵素様タンパク質および核酸に対するタンパク質類似性の情報、発現パターンおよび局在位置は、このアセチルグルコサミン転移酵素が、アセチルグルコサミン転移酵素ファミリーの特徴的な構造的および / または生理学的な機能を有し得ることを示唆する。従って、本発明の核酸および (タンパク質をコードする) アミノ酸は、強力な診断および治療適用において有用である。これらは、特異的および / または選択的な核酸またはタンパク質診断マーカーおよび / またはタンパク質予測マーカーとして貢献を含み、ここで核酸またはタンパク質の存在または量は、以下のように強力な診

断適用と同様に、評価される：(i) タンパク質治療薬剤、(ii) 低分子薬剤標的、(iii) 抗体標的(治療的、診断的、薬剤標的/細胞毒性抗体)、(iv) 遺伝子治療に有用な核酸(遺伝子送達/遺伝子切断)、および(v) インビボおよびインビトロにおける組織再生を促進する組成物。

【0067】

本発明の核酸およびタンパク質をコードするアミノ酸は、以下に記載される種々の疾患および/または障害および/または他の病原体に関連する強力な診断および治療適用に有用である。例えば、本発明の組成物は、mgat2(正常胚発生の重度の機能障害に関連する)の先天性欠損を患う患者、特に、カルボハイドレート欠損糖タンパク質症候群II(cdgsII型またはcdg2)を患う患者の神経系における処置に有効性がある。先天性異常赤血球産生症のII型貧血の種々の形成の原因にも関連している。このアセチルグルコサミン転移酵素様遺伝子はまた、種々の癌および腫瘍抑制に対する診断および治療適用に使用され得る。さらに、このアセチルグルコサミン転移酵素様遺伝子はまた、子宮内膜症、受胎能、炎症性腸疾患(IBD)、憩室性疾患、糖尿病、膵炎、フォン-ヒッペル-リンダウ(VHL)症候群、肝硬変、移植、アルツマイマー病、発作、結節硬化、高カルシウム血症、パーキンソン病、ハンティングトン病、脳性麻痺、癲癇、レッシュ-ナイハン症候群、多発性硬化症、毛細血管拡張性運動失調、白質萎縮症、行動障害、嗜癖、不安、疼痛、神経防御、内分泌機能不全、成長障害および生殖障害、全身性エリテマトーデス、自己免疫疾患、ぜん息、気腫、アレルギー、ARDS、自己免疫疾患、腎動脈狭窄、間質性腎炎、糸球体腎炎、多発性嚢胞腎疾患、全身性エリテマトーデス、尿細管性アシドーシス、IgA腎症、高カルシウム血症、レッシュ-ナイハン症候群、膀胱炎および失調症に対する適用を有する。

【0068】

【表24】

表 26.

NOV 7:	158	LVLPSALPAEL--ARVIVLCTDVTFASDISZLNWALFAHFSDTQAIGLV-ENQSDWYLGNLW	215
GLY 8:	96	FTNLEENDENYFYGVLEVEKHHMMEGELFCNLDY--QRKKNFTLRMHLLRGNEAKGELD	153
NOV 7:	216	-----KNHRPWPALGR-----GENTGVILLRLDRLRQAGWEQMWR-LTAR	254
GLY 8:	154	FTKWCWPNMKALGIEYCVFPYTYTIKDFSNAYLNENYKKTILEARENPTLIHYDAWNGAV	213
NOV 7:	255	RELLSLPATSLADQDIFNAVIKE-----HGGLVQRLPCVWVNVQLSD-----HTLAER	301
GLY 8:	214	KP--WDYPPGLKADLWLNALAKTPFMSDWIDSIARVBIKSEKWHRYHSIVAYHYFPPLWK	271
NOV 7:	302	CYSE-----ASDLKVIHWNSP-----KKLRVKNKRVVEFFERNFYLTFL	338 (配列番号49)
GLY 8:	272	TEEQIAHDALKTFLDHYTFCILHAAIKQENLGMFLNHYFSAHAAIKENSLEMEL	325 (配列番号50)

ここで、*は、同一性を示し、そして+は、類似性を示す。

【0071】

NOV 7ポリペプチド配列は、3つの公知のまたは推定アセチルグルコサミン転移酵素 (AGT) - 様タンパク質、ヒトAGT - タンパク質 (hAGT; EMBL 受付: O095461)、ヒトタンパク質 KIAA0609 (KIAA; EMBL 受付: O60348) およびマウスAGT - 様タンパク質 (mAGT; EMBL 受付 Q9Z1M7) との CLUSTALW 整列分析に供した。結果を、表 27 に示す。

【0072】

【表 27】

表 27.

hAGT ----MLGICRGRKFLAASLSLLCI PAITWIYLFSGSFEDGKPVSLSPLESQAHSRYT
KIAA ATSERMLGICRGRKFLAASLSLLCI PAITWIYLFSGSFEDGKPVSLSPLESQAHSRYT
mAGT ----MLGICRGRKFLAASLTLCCI PAITWIYLFAGSFEDGKPVSLSPLESQAHSRYT
NOV7 -----MLPRGRPRALGAAALLL LLLGFL-LFGGDLG-----
 : *** : *.*: **: : : : **.*.:

hAGT ASSQRERESLEVRMREVEEENRALRRQLSLAQGRAPSHRRGNHNSKTYSMREEGTGDSENLR
KIAA ASSQRERESLEVRMREVEEENRALRRQLSLAQGRAPSHRRGNHNSKTYSMREEGTGDSENLR
mAGT ASSQRERESLEVRVREVEEENRALRRQLSLAQGGQSPAHRGNHNSKTYSMREEGTGDSENLR
NOV7 -----REAAESRRPRRNPGGPAPGTTAP-----TAARSRRR
 **.*..*.*. * . * * :.: * . . *

hAGT AGIVAGNSSECGQPVEKCEI HVAIVCAGYNASRDVVTLVKSVLFHRRNPLHFHLLIAD
KIAA AGIVAGNSSECGQPVEKCEI HVAIVCAGYNASRDVVTLVKSVLFHRRNPLHFHLLIAD
mAGT AGIVAGNSSECGQPVEKCEI HVAIVCAGYNASRDVVTLVKSVLFHRRNPLHFHLLIAD
NOV7 P-----PKCELLHVAIVCAGHNSRDVITLVKSMLFYRKNPLHLHLVTD
 *** :*****:****:****:****:****:****:***

hAGT SIAEQILATLEQTMVPAVRVDFYNADDELKSEVSWIPNKHYSGIYGLMKLVLTKTLPANL
KIAA SIAEQILATLEQTMVPAVRVDFYNADDELKSEVSWIPNKHYSGIYGLMKLVLTKTLPANL
mAGT SIAEQILATLEQTMVPAVRVDFYNADDELKSEVSWIPNKHYSGIYGLMKLVLTKTLPANL
NOV7 AVARNILETLFHTMVPVRVSYHADQLKPQVSWIPNKHYSGIYGLMKLVLPALPAEL
 :*.:** ***:*****.***:***:****:*****:*****:*****:*****:***

hAGT ERVIVLDTDI TEATDIAELWAVFHKFKGQQLGLVENSQSDWYLGNLWKNHRPWPALGGRY
KIAA ERVIVLDTDI TEATDIAELWAVFHKFKGQQLGLVENSQSDWYLGNLWKNHRPWPALGGRY
mAGT ERVIVLDTDI TEATDIAELWAVFHKFKGQQLGLVENSQSDWYLGNLWKNHRPWPALGGRY
NOV7 ARVIVLDTDVTEASDI SELWALFAHFSDTQALLGVENSQSDWYLGNLWKNHRPWPALGRGF
 *****:***:****:***: * .. *: *****:*****:***:

hAGT NTGVILLLLDKLRKMKWEQMWRLTAERELMGMMLSTSLADQDIFNAVIKQNPFLVYQLPCF
KIAA NTGVILLLLDKLRKMKWEQMWRLTAERELMGMMLSTSLADQDIFNAVIKQNPFLVYQLPCF
mAGT NTGVILLLLDKLRKMKWEQMWRLTAERELMGMMLSTSLADQDIFNAVIKQNPFLVYQLPCF
NOV7 NTGVILLRLDRLRQAGWEQMWRLTARELLSLPATSLADQDIFNAVIKEHPGLVQRLLPCV
 ***** **.*: *****.***.: :*****:*****:*** ** :***.

hAGT WNVQLSDHTRSEQCYRDVSDLKVIHWNSPKKLRVKNKHVEFFRNLYLTFLFYDGNLIRRE
KIAA WNVQLSDHTRSEQCYRDVSDLKVIHWNSPKKLRVKNKHVEFFRNLYLTFLFYDGNLIRRE
mAGT WNVQLSDHTRSEQCYRDVSDLKVIHWNSPKKLRVKNKHVEFFRNLYLTFLFYDGNLIRRE
NOV7 WNVQLSDHTLAERCYSEASDLKVIHWNSPKKLRVKNKHVEFFRNLYLTFLFYDGNLIRRE
 ***** :*:** :.*****:*****:*****:*****:*****:*****:***

hAGT LFGCPSEADVNSENLQQLSELDEDDLCYEFRRERFTVHRTHLYFLHYEYEPADSDT DVT
KIAA LFGCPSEADVNSENLQQLSELDEDDLCYEFRRERFTVHRTHLYFLHYEYEPADSDT DVT
mAGT LFGCPSETDVNNENLQQLSELDEDDLCYEFRRERFTVHRTHLYFLHYEYEPADSDT DVT
NOV7 LFGCPSPPPGAEQLQQLAQLDEEDPCFQFRQQQLTVHRVHVTFLPHE-PPPPRPHDVT
 ** ***: . * ** : * ** : * ** : * ** : * ** : * ** : * ** : * ** : * **

hAGT LVAQLSMDRLQMLEAICKHWEGPISLALYLSDAEAQQFLRYAQQSEVLMSSRHNVGYHIVY
KIAA LVAQLSMDRLQMLEAICKHWEGPISLALYLSDAEAQQFLRYAQQSEVLMSSRHNVGYHIVY
mAGT LVAQLSMDRLQMLEAICKHWEGPISLALYLSDAEAQQFLRYAQQSEVLMSSRHNVGYHIVY
NOV7 LVAQLSMDRLQMLEALCRHWPGPMSLALYLTDAEAQQFLHFVEASFVLAARQDVAHVYVY
 *****:*** **.*:*****:*****:*****:*****:*****:*****:***

hAGT KEGQFYPVNLNRNVA MKHISTPYMFLSDIDFLPMYGLVEYLKRSVIQLDLAN-TKKAMIV
KIAA KEGQFYPVNLNRNVA MKHISTPYMFLSDIDFLPMYGLVEYLKRSVIQLDLAN-TKKAMIV
mAGT KEGQFYPVNLNRNVA MKHISTPYMFLSDIDFLPMYGLVEYLKRSVIQLDLAN-TKKAMIV
NOV7 REGPLYFVNQLRNVALAQALT PYVFLSDIDFLPAYSLYDYLRASEQLGLGSRKKAALVV
 :** :**** ***: : * ** :***** **.* :*** **.* **.* : * ** : * **

(表27の続き①)

```

hAGT PAFETLRYRLSFPKSKAELLSMLDMGTLFTFRYHVWTKGHAPTNEAKWRTATTPYRVEWE
KIAA PAFETLRYRLSFPKSKAELLSMLDMGTLFTFRYHVWTKGHAPTNEAKWRTATTPYRVEWE
mAGT PAFETLRYRLSFPKSKAELLSMLDMGTLFTFRYHVWTKGHAPTNEAKWRTATTPYQVEWE
NOV7 PAFETLRYRFSFPKSKVELLALLDAGTLYTFRYHEWFRGHAPTOYARWREAQAPYRVQWA
*****:***:*.***:.* ***:***** *:*****:.*:** * :***:.*

hAGT ADFEPYVVVRRDCPEYDRRFVGFVGNKVAHIMELDVQYEYFTVLPNAYMIHMPHAPSFDI
KIAA ADFEPYVVVRRDCPEYDRRFVGFVGNKVAHIMELDVQYEYFTVLPNAYMIHMPHAPSFDI
mAGT ADFEPYVVVRRDCPEYDRRFVGFVGNKVAHIMELDAQEYEFVLPNAYMIHMPHAPSFDI
NOV7 ANYEPYVVVRRDCPRYDPRFVGFVGNKVAHIVELDAQEYELLVLPFAFTIHLPHAPSLDI
*:*:***** ***:.* *****:***:*****: ***:.*: ***:*****:.*

hAGT TKFRSNKQYRICLKTLLKEEFQQDMSRRYGFAALKYLTAEENS----- (配列番号51)
KIAA TKFRSNKQYRICLKTLLKEEFQQDMSRRYGFAALKYLTAEENS----- (配列番号52)
mAGT TKFRSNKQYRICLKTLLKEEFQQDMSRRYGFAALKYLTAEENS----- (配列番号53)
NOV7 SRFRSSPTYRDCLQALKDEFHQDLSRHGAAALKYLPALQQPQSPARG (配列番号54)
*:***. ** ***:***:***:***:.* *****.* :*.

```

ここで、*は同一性を示す、:は高い類似性を示し、そして.は低い類似性を示す。

【0073】

定量的発現分析(実施例2)および遺伝子発現の連続分析(SAGE;実施例3)は、NOV7核酸を使用して実施された。NOV7遺伝子は、病気に冒されていない組織、特に乳癌、肺癌、結腸癌、肺への結腸転移、卵巣癌および胃癌に対応する関連する癌のいくつかの型に過剰発現する(図1を参照のこと)。NOV7はまた、卵巣癌細胞株、OVCA432-2において過剰発現する(図2を参照のこと)。

【0074】

NOV7は、アセチルグルコサミン転移酵素ファミリーにおける新しいメンバーである。NOV7は、膵臓組織を検出するために使用され得、そして生理学および病原体学的な膵臓活性(例えば、糖尿病)に関連する遺伝子の発現における変化を決定するのに有用である。アセチルグルコサミン転移酵素活性の欠損は、腫瘍の増殖および転移における減少に関連する(Gransovskyら, 2000 Nature Medicine 6(3):306を参照のこと)。NOV7は、発癌性発生および進行ならびに転移性発生および進行を診断および測定に有用である。NOV7核酸およびポリペプチドは、膵臓およびアセチルグルコサミン転移酵素タンパク質ファミリーのメンバーの発現における交代に関連する障害の処置に有用な新しい診断的または治療的組成物を提供する。本発明の

NOV7、核酸、ポリペプチド、抗体および他の組成物は、非限定的な例として、糖尿病および癌に関連する、種々の疾患および病原体の処置および/または診断に有用である。

【0075】

アセチルグルコサミン転移酵素ファミリーは、ドナー分子に糖残基を転移する酵素を含む。このファミリーのメンバーは、リポ多糖生合成およびグリコーゲン合成に関連する。このファミリーは、リポ多糖グラクトシル転移酵素 (SWISSPROT 受付番号: P27128)、リポ多糖グルコシル転移酵素1 (SWISSPROT 受付番号: P27129) およびグリコゲニングルコシル転移酵素 (SWISSPROT 受付番号: P46976) を含む。

【0076】

アセチルグルコサミン転移酵素ファミリーの1つのメンバーは、Mgat3 遺伝子によってコードされ、そしてN-グリカンの核に二分したGlcNAcの添加を触媒する、N-アセチルグルコサミン転移酵素III (GlcNAc-TIII) である。GlcNAc-TIIIを欠いたマウスは、ジエチルニトロサミンによって誘導される肝臓腫瘍の停滞した進行を示す、挿入変異Mgat3tm1Pst (Mgat3neoと称される) に帰する。

【0077】

転移性の強力な種々の癌細胞は、GnT-V活性との関連すること、そして1-6分枝のN-アセチルグルコサミンを付随することが示されている。H-rasまたはv-sis/PDGF-Bの過剰発現は、トランスフェクションされた細胞において種々の程度に対するGnT-Vの活性を上方制御した。ヒト神経膠腫U-373MG細胞へのGnT-Vの安定したトランスフェクションは、インビトロでの神経膠腫侵襲における細胞形態および病巣の接着ならびに著名な増加の変化を生じた。アンチセンスN-アセチルグルコサミン転移酵素V cDNAを使用してトランスフェクションされたヒト肝臓癌細胞のアポトーシスに対する感受性を増加した。

【0078】

本発明の核酸およびタンパク質は、障害 (例えば、膵臓の障害、乳腺の障害、

および腎臓の障害（例えば、糖尿病、高血圧および癌）に関連する強力な治療適用に有用である。非限定的な例として、本発明の組成物は、腎系および膵臓系の障害を患う患者の処置に対する効力を有する。新規のタンパク質をコードする新規の核酸、本発明の新規のタンパク質またはそれらのフラグメントは、腺癌；リンパ腫；前立腺癌；子宮癌；免疫応答、AIDS、喘息、クローン病、多発性硬化症の処置、オールブライト遺伝性骨形成異常、疾患の病原体を理解する助けとなる種々のヒト障害の機能分析のための強力なアッセイ系の開発および種々の障害に対する新しい薬剤標的の開発にさらに有用であり得る。これらはまた、診断適用に使用され得、ここで核酸またはタンパク質に存在または量が、評価される。これらの材料は、治療方法または診断方法における使用のための本発明の新規の基質に免疫特異的に結合する抗体の産生においてさらに有用である。

【0079】

（NOVX核酸）

本発明の核酸は、NOVXポリペプチドまたはNOVXタンパク質をコードする核酸を含有する。本明細書において使用されるように、用語ポリペプチドおよびタンパク質は、交換可能である。

【0080】

いくつかの実施形態において、NOVX核酸は、成熟NOVXポリペプチドをコードする。本明細書中で使用される場合、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の「成熟」形態は、天然に存在するポリペプチドあるいは前駆体形態またはプロタンパク質の産物に関係する。天然に存在するポリペプチド、前駆体またはプロタンパク質としては、非制限例として、対応する遺伝子によってコードされる完全長遺伝子産物が挙げられる。あるいは、本明細書中で記載されるオープンリーディングフレームによってコードされる、ポリペプチド、前駆体またはプロタンパク質として規定されている。産物「成熟」形態は、さらに非制限例として、遺伝子産物が産生される細胞中で発生し得る、1以上の天然に存在するプロセッシング工程の結果として発生する。ポリペプチドまたはタンパク質の「成熟」形態に導くこのようなプロセッシング工程の例としては、オープンリーディングフレームの開始コドンによってコードされる、N-末端メチオニ

ン残基の切断、またはシグナルペプチドまたはリーダー配列のタンパク分解性切断が挙げられる。従って、残基1～N（ここで、残基1は、N-末端メチオニンである）を有する、前駆体ポリペプチドまたはタンパク質から生じる成熟形態は、N-末端メチオニンの除去後に残った残基2～N末端を有する。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のN末端シグナル配列が切断される）は、残った残基M+1～残基Nを有する。本明細書中でさらに使用されるように、ポリペプチドまたはタンパク質の「成熟」形態は、タンパク質分解性切断事象以外の、翻訳後改変事象の工程から生じ得る。このようなさらなるプロセスとしては、非制限例として、グリコシル化、ミリストイル化、またはリン酸化が挙げられる。一般に、成熟ポリペプチドまたは成熟タンパク質は、結果として、これらのプロセスの1つのみの作用、またはそれらの任意の組み合わせから得られ得る。

【0081】

NOVX核酸としては、とりわけ、配列番号1、3、5、7、9、11、もしくは13で提供される配列の核酸あるいはそれらのフラグメントである。さらに、本発明には、配列番号1、3、5、7、9、11、もしくは13の変異体核酸または改変体核酸あるいはそれらのフラグメントが挙げられ、任意のこれらの塩基は、配列番号1、3、5、7、9、11、もしくは13に示される対応する塩基から変化され得、NOVX様の活性および生理学的機能（すなわち、新脈管形成の調節、ニューロン発生）の少なくとも1つを維持するタンパク質をさらにコードする。本発明には、配列番号1、3、5、7、9、11、もしくは13の核酸配列の相補体（それらのフラグメント、誘導體、アナログおよびそれらのホモログを含む）がさらに挙げられる。本発明は、その構造が化学的改変を含む、核酸または核酸フラグメントあるいはそれらの相補体をさらに含む。

【0082】

本発明の1つの局面は、NOVX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単離された核酸分子に関する。また、NOVXをコードする核酸（例えば、NOVX mRNA）を同定するためにハイブリダイゼーションプロープとして使用するための十分な核酸フラグメントおよびNOVX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）プライマーとして使用するためのフラグメントも含まれる。本明細書において使用されるように、用語「核酸分子」は、DNA分子（例えば、cDNAまたはゲノムDNA）、RNA分子（例えば、mRNA）、ヌクレオチドアナログを使用して産生されるDNAまたはRNAのアナログ、ならびにそれらの誘導體、フラグメントおよびホモログを含むことが意図される。核酸分子は、一本鎖または二本鎖であり得るが、好ましくは、二本鎖DNAである。

【0083】

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

【0084】

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

養培地を実質的に含まないか、または化学的に合成される場合、化学物質前駆体もしくはその他の化学物質を実質的に含まないものであり得る。

【0085】

本発明の核酸分子、例えば、配列番号1、3、5、7、9、11、もしくは13のヌクレオチド配列を有する核酸分子、またはこれらのヌクレオチド配列の任意の相補体は、標準的な分子生物学的技法および本明細書で提供される配列情報を用いて単離され得る。ハイブリダイゼーションプローブとして、配列番号1、3、5、7、9、11、もしくは13の核酸の全部または一部を使用して、NOVX核酸配列は、標準的なハイブリダイゼーションおよびクローニング技術（例えば、Sambrookら（編）、MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL第2版、Cold Spring Harbor Laboratory Press、Cold Spring Harbor、NY、1989；およびAusubelら、（編）、CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY、John Wiley & Sons、New York、NY、1993）を用いて単離され得る。

【0086】

本発明の核酸は、標準的なPCR増幅技法に従って、テンプレートとしてcDNA、mRNAあるいはゲノムDNA、および適切なオリゴヌクレオチドプライマーを用いて増幅され得る。このように増幅された核酸は、適切なベクター中にクローン化され、そしてDNA配列分析により特徴付けられ得る。さらに、NOVX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。

【0087】

本明細書で用いられる用語「オリゴヌクレオチド」は、一連の連結されたヌクレオチド残基をいい、このオリゴヌクレオチドは、PCR反応で用いられ得る十分な数のヌクレオチド塩基を有する。短いオリゴヌクレオチド配列は、ゲノム配列もしくはcDNA配列に基づき得るか、またはそれから設計され得、そして特定の細胞もしくは組織において、同一、類似もしくは相補的DNAまたはRNA

を増幅し、確認し、もしくはその存在を示すために用いられる。オリゴヌクレオチドは、約10nt、50nt、または100ntの長さ、好ましくは約15nt~30ntの長さを有する核酸配列の部分を含む。1つの実施形態では、100ntより少ない長さの核酸分子を含むオリゴヌクレオチドは、さらに、配列番号1、3、5、7、9、11、もしくは13の少なくとも6個連続するヌクレオチド、またはその相補体を含む。オリゴヌクレオチドは、化学的に合成され得、そしてプローブとして用いられ得る。

【0088】

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

【0089】

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

【0090】

さらに、本発明の核酸分子は、配列番号1、3、5、7、9、11、もしくは13の核酸配列の一部のみ（例えば、プローブまたはプライマーとして使用され

得るフラグメント、あるいはNOVXの生物学的に活性な部分をコードするフラグメント)を含み得る。本明細書中に提供されるフラグメントは、少なくとも6個の(連続する)核酸配列または少なくとも4個の(連続する)アミノ酸配列(それぞれ、核酸の場合には、特異的なハイブリダイゼーションを可能にし、またはアミノ酸の場合には、エピトープの特異的な認識を可能にするに十分な長さ)として規定され、そして全長配列未満のせいぜいいくらかの部分である。フラグメントは、選択された核酸配列またはアミノ酸配列の任意の連続する部分に由来し得る。誘導体は、直接的にかまたは改変もしくは部分的置換によってかのいずれかでネイティブな化合物から形成される核酸配列またはアミノ酸配列である。アナログは、ネイティブな化合物に類似する構造を有する(しかし、同一ではない)が、特定の成分または側鎖に関してそれとは異なる核酸配列またはアミノ酸配列である。アナログは、合成物であり得るか、または進化的に異なる起源に由来し得、そして野生型と比較して、類似の代謝活性または反対の代謝活性を有し得る。

【0091】

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

は、Gapプログラム(Wisconsin Sequence Analysis Package、Version 8 for UNIX(登録商標)、Genetics Computer Group、University Research Park、Madison、WI)(デフォルト設定を使用、これは、SmithおよびWatermanのアルゴリズム(Adv. Appl. Math., 1981, 2:482-489、これらは、その全体が参考として本明細書中に援用される)を使用する)である。

【0092】

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

【0093】

ヒトNOVX遺伝子のクローニングから決定されたヌクレオチド配列は、他の細胞型(例えば、他の組織由来)におけるNOVXホモログ、ならびに他の哺乳

動物由来のNOVXホモログを同定および/またはクローニングする際の使用のために設計されるプローブおよびプライマーの作製を可能にする。このプローブ/プライマーは、代表的には、実質的に精製されたオリゴヌクレオチドを含む。このオリゴヌクレオチドは、代表的には、配列番号1、3、5、7、9、11、もしくは13の少なくとも約12個、約25個、約50個、約100個、約150個、約200個、約250個、約300個、約350個または約400個以上の連続するセンス鎖ヌクレオチド配列；または配列番号1、3、5、7、9、11、もしくは13のアンチセンス鎖ヌクレオチド配列；あるいは配列番号1、3、5、7、9、11、もしくは13の天然に存在する変異体の少なくとも約12個、約25個、約50個、約100個、約150個、約200個、約250個、約300個、約350個または約400個以上の連続するセンス鎖ヌクレオチド配列に、ストリンジェントな条件下でハイブリダイズするヌクレオチド配列の領域を含む。

【0094】

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

【0095】

「NOVXの生物学的に活性な部分を有するポリペプチド」は、本発明のポリペプチドの活性に類似するが必ずしも同一ではない活性を示すポリペプチドをいい、用量依存性の有無に関わらず、特定の生物学的アッセイにおいて測定されるような成熟形態を含む。「NOVX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、NOVXの生物学的活性（NOVXタンパク質の生物学的活性は、以下に記載される）を有するポリペプチドをコードする、配列番号1、3、5、7、9、11、もしくは13の一部を単離し、NOVXタンパク質のコードされた部分を発現させ（例えば、インビトロでの組換え発現によって）、そしてNOVXのコードされた部分の活性を評価することによって調製され得る。例えば、NOVX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、必要に応じて、ATP結合ドメインを含み得る。別の実施形態において、NOVX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、1つ以上の領域を含む。

【0096】

（NOVXの改変体）

本発明はさらに、遺伝コードの縮重に起因して、配列番号1、3、5、7、9、11、もしくは13に示されるヌクレオチド配列とは異なる核酸分子を包含する。それにより、これらの核酸は、配列番号1、3、5、7、9、11、もしくは13に示されるヌクレオチド配列によってコードされるタンパク質（例えば、配列番号2、4、6、8、10、12、もしくは14のポリペプチド）と同じNOVXタンパク質をコードする。別の実施形態において、本発明の単離された核酸分子は、配列番号2、4、6、8、10、12、もしくは14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。

【0097】

配列番号1、3、5、7、9、11、もしくは13に示されるヒトNOVXヌクレオチド配列に加えて、NOVXのアミノ酸配列における変化を導くDNA配列多型は、集団（例えば、ヒト集団）内に存在し得ることが、当業者によって理解される。NOVX遺伝子中のこのような遺伝的多型は、天然の対立遺伝子のバリエーションに起因して、集団内の個体間に存在し得る。本明細書中で使用される場合、用語「遺伝子」および「組換え遺伝子」は、NOVXタンパク質、好ましくは哺乳動物のNOVX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、NOVX遺伝子のヌクレオチド配列において1～5%の変動性を生じ得る。天然の対立遺伝子バリエーションの結果であり、そしてNOVXの機能的

活性を変化させない、NOVX内の任意および全てのこのようなヌクレオチドのバリエーションならびに得られるアミノ酸多型は、本発明の範囲内であると意図される。

【0098】

さらに、他の種由来のNOVXタンパク質をコードし、従って、配列番号1、3、5、7、9、11、もしくは13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は、本発明の範囲内にあることが意図される。本発明のNOVXのcDNAの天然の対立遺伝子改変体およびホモログに対応する核酸分子は、本明細書中に開示されるヒトNOVX核酸に対するその相同性に基づいて、ストリンジントハイブリダイゼーション条件下で、標準的なハイブリダイゼーション技術に従うハイブリダイゼーションプローブとしてヒトcDNAまたはその一部を用いて単離され得る。例えば、可溶性ヒトNOVX cDNAは、ヒトの膜結合NOVXに対するその相同性に基づいて単離され得る。同様に、膜結合ヒトNOVX cDNAは、可溶性ヒトNOVXに対するその相同性に基づいて単離され得る。

【0099】

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

【0100】

ホモログ（すなわち、ヒト以外の種由来のNOVXタンパク質をコードする核酸）または他の関連配列（例えば、パラログ（paralogs））は、特定の

ヒト配列の全てまたは一部をプローブとし、核酸ハイブリダイゼーションおよびクローニングに関して当該分野で周知の方法を使用して、低い、中程度の、または高いストリンジェンシーのハイブリダイゼーションによって入手され得る。

【0101】

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

【0102】

ストリンジェント条件は、当業者に公知であり、そしてCURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY, John Wiley & Sons, N.Y. (1989), 6.3.1-6.3.6に見出され得る。好ましくは、この条件は、互いに少なくとも約65%、約70%、約75%、約85%、約90%、約95%、約98%または約99%相同な配列が、代表的には互いにハイブリダイズしたままであるような条件である。ストリンジェントハイブリダイゼーション条件の非限定的な例は、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を含む高塩緩衝液中での65 °Cでのハイブリダイゼーションである。このハイブリダイゼーションに、0.2×SSC、0.01% BSA中での50 °Cでの1回以上の洗浄が続く。ストリンジェント条件下で配列番号1、3、5、7、9、11、もしくは13の配列にハイブリダイズする、本発明の単離された核酸分子は、天然に存在する核酸分子に対応する。本明細書中で使用される場合、「天然に存在する」核酸分子とは、天然に存在する（例えば、天然のタンパク質をコードする）ヌクレオチド配列を有する、RNA分子またはDNA分子をいう。

【0103】

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

【0104】

第3の実施形態では、配列番号1、3、5、7、9、11、もしくは13、またはそれらのフラグメント、アナログもしくは誘導体のヌクレオチド配列を含む核酸分子に、低ストリンジェンシー条件下でハイブリダイズし得る核酸が提供される。低ストリンジェンシーハイブリダイゼーション条件の非限定的な例は、3

5%ホルムアミド、5×SSC、50 mM Tris-HCl (pH7.5)、5mM EDTA、0.02% PVP、0.02% Ficoll、0.2% BSA、100mg/mlの変性サケ精子DNA、10% (重量/容量) デキストラン硫酸中での40 でのハイブリダイゼーション、続いて2×SSC、25mM Tris-HCl (pH7.4)、5mM EDTAおよび0.1% SDS中での50 での1回以上の洗浄である。用いられ得る低ストリンジェンシーの他の条件は、当該分野で周知である (例えば、種交差ハイブリダイゼーションについて用いられるように)。例えば、Ausubelら (編), 1993, CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY, John Wiley & Sons, NYならびにKriegler, 1990, GENE TRANSFER AND EXPRESSION, A LABORATORY MANUAL, Stockton Press, NY; ShiloおよびWeinberg, 1981, Proc Natl Acad Sci USA 78:6789-6792を参照のこと。

【0105】

(保存的変異)

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

【0106】

本発明の別の局面は、活性に必須ではないアミノ酸残基における変化を含む、

NOV Xタンパク質をコードする核酸分子に関する。このようなNOV Xタンパク質は、アミノ酸配列が、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、もしくは24とは異なるが、生物学的活性をなお保持する。1つの実施形態では、単離された核酸分子は、タンパク質をコードするヌクレオチド配列を含み、ここで、このタンパク質は、それぞれ、配列番号2、4、6、8、10、12、もしくは14のアミノ酸配列に少なくとも約75%の相同性であるアミノ酸配列を含む。好ましくは、この核酸分子によってコードされるタンパク質は、配列番号2、4、6、8、10、12、もしくは14に少なくとも約80%相同性であり、より好ましくは配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、もしくは24に少なくとも約90%、約95%、約98%相同性であり、そして最も好ましくは少なくとも約99%相同性である。

【0107】

タンパク質に相同なNOV Xタンパク質をコードする単離された核酸分子は、配列番号1、3、5、7、9、11、もしくは13のヌクレオチド配列に1以上のヌクレオチドの置換、付加または欠失を導入することにより作製され得、その結果、1以上のアミノ酸の置換、付加または欠失が、コードされるタンパク質に導入される。

【0108】

変異は、標準技術（例えば、部位特異的変異誘発およびPCR媒介変異誘発）によって配列番号1、3、5、7、9、11、もしくは13のヌクレオチド配列に導入され得る。好ましくは、保存的アミノ酸置換が、1以上の推定非必須アミノ酸残基にて作製される。「保存的アミノ酸置換」は、アミノ酸残基が類似の側鎖を有するアミノ酸残基で置換される、アミノ酸置換である。類似の側鎖を有するアミノ酸残基のファミリーは、当該分野で定義されている。これらのファミリーとしては、以下が挙げられる：塩基性側鎖を有するアミノ酸（例えば、リジン、アルギニン、ヒスチジン）、酸性側鎖を有するアミノ酸（例えば、アルパラギン酸、グルタミン酸）、非荷電極性側鎖を有するアミノ酸（例えば、グリシン、アスパラギン、グルタミン、セリン、トレオニン、チロシン、システイン）、非

極性側鎖を有するアミノ酸（例えば、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン、トリプトファン）、分枝側鎖を有するアミノ酸（例えば、トレオニン、バリン、イソロイシン）および芳香族側鎖を有するアミノ酸（例えば、チロシン、フェニルアラニン、トリプトファン、ヒスチジン）。従って、NOVX中の推定された非必須アミノ酸残基は、同じ側鎖のファミリー由来の別のアミノ酸残基で置換される。あるいは、別の実施形態では、変異は、NOVXコード配列の全てまたは一部に沿って（例えば、飽和変異誘発（saturation mutagenesis）によって）ランダムに導入され得、そして得られる変異体は、NOVXの生物学的活性についてスクリーニングされて、活性を維持する変異体を同定し得る。配列番号1、3、5、7、9、11、もしくは13の変異誘発に続いて、コードされるタンパク質は、当該分野で公知の任意の組換え技術によって発現され得、そしてこのタンパク質の活性が決定され得る。

【0109】

1つの実施形態では、変異NOVXタンパク質は、以下についてアッセイされ得る：（1）他のNOVXタンパク質、他の細胞表面タンパク質、または生物学的に活性なそれらの部分と、タンパク質：タンパク質相互作用を形成する能力、（2）変異NOVXタンパク質と、NOVXのレセプターとの間の複合体形成；（3）変異NOVXタンパク質が細胞内標的タンパク質またはその生物学的に活性な部分に結合する能力；（例えば、アビジンタンパク質）；（4）NOVXタンパク質に結合する能力；あるいは（5）抗NOVXタンパク質抗体に特異的に結合する能力。

【0110】

（アンチセンスNOVX核酸）

本発明の別の局面は、配列番号1、3、5、7、9、11、もしくは13またはそのフラグメント、アナログもしくは誘導体のヌクレオチド配列を含む核酸分子に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（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、少なくとも約10、約25、約50、約100、約250もしくは約500ヌクレオチドまたは全体のNOVXコード鎖、またはそれらの一部だけに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2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、もしくは24のNOVX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1、3、5、7、9、11、もしくは13のNOVXの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。

【0111】

1つの実施形態では、アンチセンス核酸分子は、NOVX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」とは、アミノ酸残基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(例えば、配列番号2、4、6、8、10、12、もしくは14に対応する、ヒト(huma)NOVXのタンパク質コード領域)。別の実施形態では、このアンチセンス核酸分子は、NOVX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」とは、コード領域に隣接する、アミノ酸に翻訳されない、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'非翻訳領域ともいわれる)。

【0112】

本明細書中に開示されるNOVXをコードするコード鎖配列(例えば、配列番号1、3、5、7、9、11、もしくは13)を考慮すれば、本発明のアンチセンス核酸は、WatsonおよびCrickまたはHoogsteenの塩基対合の規則に従って設計され得る。アンチセンス核酸分子は、NOVX 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、NOVX mRNAのコード領域または非コード領域の一部に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、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、NOVX 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、約10、約15、約20、約25、約30、約35、約40、約45または約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て、化学的合成または酵素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増大させるように、もしくはアンチセンス核酸とセンス核酸との間で形成される二重鎖の物理的安定性を増大させるように設計された種々に改変されたヌクレオチドを用いて化学的に合成され得る（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ヌクレオチドが用いられ得る）。

【0113】

アンチセンス核酸を作製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 - ブロモウラシル、5 - クロロウラシル、5 - ヨードウラシル、ヒポキサンチン、キサンチン、4 - アセチルシトシン、5 - (カルボキシヒドロキシメチル)ウラシル、5 - カルボキシメチルアミノメチル2 - チオウリジン、5 - カルボキシメチルアミノメチルウラシル、ジヒドロウラシル、 β - D - ガラクトシルクエオシン (galactosylqueosine)、イノシン、N6 - イソペンテニルアデニン、1 - メチルグアニン、1 - メチルイノシン、2, 2 - ジメチルグアニン、2 - メチルアデニン、2 - メチルグアニン、3 - メチルシトシン、5 - メチルシトシン、N6 - アデニン、7 - メチルグアニン、5 - メチルアミノメチルウラシル、5 - メトキシアミノメチル - 2 - チオウラシル、 β - D - マンノシルクエオシン (mannosylqueosine)、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、シュードウラシル、クエオシン (queosine)、2 - チオシトシン、5 - メチル - 2 - チオウラシル、2 - チオウラシル、4 - チオウラシル、5 - メチルウラシル、ウラシル - 5 - オキシ酢酸メチルエステル、ウラシル - 5 - オキシ酢酸 (v)、5 - メチル - 2 - チオウラシル、3 - (3 - アミノ - 3 - N - 2 - カルボキシプロピル)ウラシル、(acp3)w、および2, 6 - ジアミノプリン。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でサブクローニングされた発現ベクターを用いて生物学的に生成され得る（すなわち、挿入された核酸から転写されたRNAは、

以下の小節にさらに記載される、目的の標的核酸に対してアンチセンス方向である)。

【0114】

本発明のアンチセンス核酸分子は、代表的には被験体に投与されるか、またはインサイチュで生成され、その結果それらは、NOVXタンパク質をコードする細胞性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、それによってこのタンパク質の発現を、例えば転写および/または翻訳を阻害することによって阻害する。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には、二重らせんのメジャーグループ(major groove)における特異的相互作用を介してであり得る。本発明のアンチセンス核酸分子の投与経路の例としては、組織部位での直接的注射が挙げられる。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化するように改変され得、次いで全身に投与される。例えば、全身投与のために、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。これは、例えば、そのアンチセンス核酸分子を細胞表面レセプターまたは抗原に結合するペプチドまたは抗体に連結することによる。このアンチセンス核酸分子はまた、本明細書中に記載されるベクターを用いて細胞に送達され得る。アンチセンス分子の十分な細胞内濃度を達成するために、アンチセンス核酸分子が強力なpol IIプロモーターまたはpol IIIプロモーターの制御下に置かれているベクター構築物が、好ましい。

【0115】

なお別の実施形態において、本発明のアンチセンス核酸分子は、 σ -アノマー核酸分子である。 σ -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する。ここで、通常の σ -ユニットとは対照的に、鎖は、互いに平行に走行する(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。

【0116】

このような改変としては、非制限的な例として、改変塩基、および糖リン酸バックボーンが改変または誘導体化された核酸が挙げられる。これらの改変は、少なくとも一部は、改変された核酸の化学的安定性を増強するために実施され、その結果、それらは、例えば、被験体での治療的適用におけるアンチセンス結合核酸として使用され得る。

【0117】

(NOVXリボザイムおよびPNA部分)

なお別の実施形態において、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、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有する触媒性RNA分子であり、これらは、その一本鎖核酸に対して相補領域を有する。従って、リボザイム(例えば、ハンマーヘッド型リボザイム(HaselhofおよびGerlach(1988)Nature 334:585~591に記載される))を使用して、NOVX mRNA転写物を触媒的に切断し、それによってNOVX mRNAの翻訳を阻害し得る。NOVXをコードする核酸に特異性を有するリボザイムは、本明細書中に開示されるNOVX DNAのヌクレオチド配列(すなわち、配列番号1、3、5、7、9、11、もしくは13)に基づいて設計され得る。例えば、活性部位のヌクレオチド配列が、NOVXをコードするmRNA内で切断されるヌクレオチド配列に相補的である、テトラヒメナL-19 IVS RNAの誘導体が構築され得る。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、NOVX mRNAを使用して、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を選択し得る。例えば、Bartelら(1993)Science 261:1411~1418を参照のこと。

【0118】

あるいは、NOVX遺伝子発現は、NOVXの調節領域（例えば、NOVXのプロモーターおよび/またはエンハンサー）に相補的なヌクレオチド配列を標的化し、標的細胞中でNOVX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。一般には、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。

【0119】

種々の実施形態において、NOVX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、その分子の安定性、ハイブリダイゼーションまたは可溶性を改善し得る。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)。本明細書中で使用される場合、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偽ペプチド骨格によって置換され、そして4つの天然の核塩基 (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、低いイオン強度の条件下でDNAおよびRNAに対する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、上記のHyrupら (1996); Perry-O'Keefeら (1996) *PNAS* 93:14670~675において記載されるような標準的固相ペプチド合成プロトコールを用いて行われ得る。

【0120】

NOVXのPNAは、治療的適用および診断的適用において使用され得る。例えば、PNAは、例えば転写または翻訳の停止を誘導することまたは複製を阻害することによる、遺伝子発現の配列特異的調節のためのアンチセンスまたは抗遺伝子剤として使用され得る。NOVXのPNAはまた、例えばPNA指向性PCRクランピングによる遺伝子における一塩基対変異の分析において; 他の酵素 (例えば、S1ヌクレアーゼ) と組み合わせて使用される場合の人工制限酵素として (Hyrup B. (1996) 上記); またはDNA配列およびハイブリダ

イゼーションのプロープもしくはプライマーとして (Hyrupら (1996) 上記; Perry - O'Keefe (1996)、上記)、使用され得る。

【0121】

別の実施形態において、NOVXのPNAは、例えば、それらの安定性または細胞性取り込みを増強するために、PNAに脂溶性基または他のヘルパー基を結合することによって、PNA-DNAキメラの形成によって、またはリポソームもしくは当該分野において公知の薬物送達の他の技術の使用によって改変され得る。例えば、PNAおよびDNAの有利な特性を組合せ得る、NOVXのPNA-DNAキメラが生成され得る。PNA部分が高い結合親和性および特異性を提供する一方で、そのようなキメラは、DNA認識酵素(例えば、RNase HおよびDNAポリメラーゼ)がDNA部分と相互作用するのを可能にする。PNA-DNAキメラは、塩基のスタッキング、核塩基間の結合数および方向を考慮して選択される適切な長さのリンカーを使用して連結され得る(Hyrup (1996) 上記)。PNA-DNAキメラの合成は、Hyrup (1996) 上記およびFinnら (1996) *Nucl Acids Res* 24:3357~63において記載されるように行われ得る。例えば、DNA鎖は、標準的なホスホラ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され得、そして改変された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-チミジンホスホラミダイト)が、PNAとDNAの5'末端との間に使用され得る(Magら (1989) *Nucl Acid Res* 17:5973~88)。次いで、PNAモノマーが段階様式でカップリングされ、5' PNAセグメントおよび3' DNAセグメントを有するキメラ分子を生成する(Finnら (1996) 上記)。あるいは、5' DNAセグメントおよび3' PNAセグメントを用いて、キメラ分子が合成され得る。Petersenら (1975) *Bioorg Med Chem Lett* 5:1119~11124を参照のこと。

【0122】

他の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、以下のような他の付属の基を含み得る：ペプチド(例えば、インビボで宿主細胞レセプターを標的化するため

)、または細胞膜を横切る輸送を容易にする因子(例えば、Letsingerら、1989、Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 86:6553~6556; Lemaitreら、1987、Proc. Natl. Acad. Sci. 84:648~652; PCT公開番号WO88/09810を参照のこと)、または血液脳関門(例えば、PCT公開番号WO89/10134を参照のこと)。さらに、オリゴヌクレオチドは、ハイブリダイゼーション誘発切断剤(例えば、Krolら、1988、BioTechniques 6:958~976を参照のこと)、またはインターカレーター剤(例えば、Zon、1988、Pharm. Res. 5:539~549を参照のこと)で改変され得る。この目的のために、オリゴヌクレオチドは、別の分子(例えば、ペプチド、ハイブリダイゼーション誘発架橋剤、輸送剤、ハイブリダイゼーション誘発切断剤など)に結合され得る。

【0123】

(NOVXポリペプチド)

本発明のNOVXポリペプチドは、その配列が配列番号2、4、6、8、10、12、もしくは14に提供されるNOVX様タンパク質を含む。本発明はまた、なおそのNOVX活性および生理学的機能を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するが、その任意の残基が配列番号2、4、6、8、10、12、もしくは14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。いくつかの実施形態において、この変異体または改変体タンパク質において、20%までまたはそれ以上の残基がそのように変化され得る。いくつかの実施形態において、本発明に従ったNOVXポリペプチドは、成熟ポリペプチドである。

【0124】

一般に、NOVX様機能を保持するNOVX改変体は、配列中の特定位置の残基が他のアミノ酸により置換され、そしてさらに、親タンパク質の2つの残基間にさらなる残基を挿入する可能性、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。

【0125】

本発明の1つの局面は、単離されたNOVX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、アナログもしくはホモログに関する。抗NOVX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、ネイティブなNOVX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、NOVXタンパク質は、組換えDNA技法により生産される。組換え発現の代替えとして、NOVX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。

【0126】

「単離された」または「精製された」タンパク質またはその生物学的に活性な部分は、NOVXタンパク質の由来する細胞または組織供給源由来の細胞性物質または他の夾雑タンパク質を実質的に含まないか、あるいは化学合成される場合に化学前駆体または他の化学物質を実質的に含まない。用語「細胞性物質を実質的に含まない」は、NOVXタンパク質の調製物を含み、この調製物において、NOVXタンパク質が単離または組換え産生される細胞の細胞性成分から、NOVXタンパク質は分離されている。1つの実施形態において、用語「細胞性物質を実質的に含まない」は、非NOVXタンパク質（本明細書中において「夾雑タンパク質」とも呼ばれる）を約30%未満（乾燥重量にて）、より好ましくは非NOVXタンパク質を約20%未満、なおより好ましくは非NOVXタンパク質を約10%未満、そして最も好ましくは非NOVXタンパク質を約5%未満有する、NOVXタンパク質の調製物を含む。NOVXタンパク質またはその生物学的に活性な部分が組換え産生される場合、好ましくは、調製物はまた培養培地を実質的に含まない。すなわち、培養培地は、そのタンパク質調製物の容量の約20%未満、より好ましくは約10%未満、そして最も好ましくは約5%未満を示す。

【0127】

用語「化学前駆体または他の化学物質を実質的に含まない」は、タンパク質が

、そのタンパク質の合成に關与する化学前駆体または他の化学物質から分離されているNOVXタンパク質の調製物を含む。1つの実施形態において、用語「化学前駆体または他の化学物質を実質的に含まない」は、化学前駆体または非NOVXの化学物質を約30%未満（乾燥重量にて）、より好ましくは化学前駆体または非NOVX化学物質を約20%未満、なおより好ましくは化学前駆体または非NOVX化学物質を約10%未満、そして最も好ましくは化学前駆体または非NOVX化学物質を約5%未満有する、NOVXタンパク質の調製物を含む。

【0128】

NOVXタンパク質の生物学的に活性な部分は、全長NOVXタンパク質より少ないアミノ酸を含み、そしてNOVXタンパク質の少なくとも1つの活性を示す、NOVXタンパク質のアミノ酸配列（例えば、配列番号2、4、6、8、10、12、もしくは14に示されるアミノ酸配列）に十分に相同なアミノ酸配列、またはNOVXタンパク質のアミノ酸配列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、NOVX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。NOVXタンパク質の生物学的に活性な部分は、例えば、長さが10、25、50、100またはそれより多いアミノ酸であるポリペプチドであり得る。

【0129】

本発明のNOVXタンパク質の生物学的に活性な部分は、NOVXタンパク質間に保存される上記の同定されたドメインの少なくとも1つ（例えば、TSRモジュール）を含み得る。さらに、タンパク質の他の領域が欠失している他の生物学的に活性な部分は、組換え技術によって調製され得、そしてネイティブなNOVXタンパク質の機能的活性のうちの1つ以上について評価され得る。

【0130】

1つの実施形態において、NOVXタンパク質は、配列番号2、4、6、8、10、12、もしくは14に示されるアミノ酸配列を有する。他の実施形態において、NOVXタンパク質は、配列番号2、4、6、8、10、に実質的に相同であり、そして以下に詳細に議論されるように、天然の対立遺伝子改変体または変異誘発に起因してアミノ酸配列が異なるが、配列番号2、4、6、8、10、

12、もしくは14のタンパク質の機能的活性を保持する。従って、別の実施形態において、NOVXタンパク質は、配列番号2、4、6、8、10、12、もしくは14のアミノ酸配列に少なくとも約45%相同なアミノ酸配列を含み、そして、配列番号2、4、6、8、10、12、もしくは14のNOVXタンパク質の機能的活性を保持するタンパク質である。

【0131】

(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百分率を決定するために、配列は、至適な比較の目的のために整列される(例えば、ギャップは、配列間の最適な整列について比較される配列のいずれかに導入され得る)。次いで、対応するアミノ酸位置またはヌクレオチド位置でのアミノ酸残基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場合、分子はその位置で相同である(すなわち、本明細書中で使用される場合、アミノ酸または核酸の「相同性」は、アミノ酸または核酸の「同一性」と等価である)。

【0132】

核酸配列の相同性は、2つの配列間の同一性の程度として決定され得る。相同性は、当該分野において公知のコンピュータープログラム(例えば、GCGプログラムパッケージにおいて提供されるGAPソフトウェア)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。核酸配列比較のための以下の設定(GAP作製ペナルティー、5.0、およびGAP伸長ペナルティー、0.3)を用いてGCG GAPソフトウェアを使用すると、上記で言及される類似の核酸配列のコード領域は、配列番号1、3、5、7、9、11、もしくは13に示されるDNA配列のCDS(コード)部分と、好ましくは少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%または少なくとも99%の同一性の程度を示す。

【0133】

用語「配列同一性」は、2つのポリヌクレオチド配列またはポリペプチド配列

が、特定の比較領域にわたって、残基毎を基準として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、以下により算出される：この比較領域にわたって最適に整列された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、核酸の場合にはA、T、C、G、U、またはI）が存在する位置の数を決定し、一致した位置の数を導くこと、この一致した位置の数を、比較領域の内の位置の総数（すなわち、ウインドウサイズ）で除算すること、およびその結果を100で乗算して、配列同一性のパーセンテージを導くこと。用語「実質的な同一性」は、本明細書中で使用される場合、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、比較領域にわたり参照配列と比較して、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、そして頻繁には90～95%の配列同一性、より通常には少なくとも99%の配列同一性を有する配列を含む。用語「陽性（positive）残基の百分率」は、以下により算出される：その比較領域にわたって最適に整列された2つの配列を比較すること、同一のアミノ酸および保存的アミノ酸置換が、上記のように両方の配列において存在する位置の数を決定し、一致した位置の数を導くこと、この一致した位置の数を、比較領域中の位置の総数（すなわち、ウインドウサイズ）で除算すること、およびその結果を100で乗算して、陽性残基の百分率を導くこと。

【0134】

（キメラタンパク質および融合タンパク質）

本発明はまた、NOVXキメラタンパク質または融合タンパク質を提供する。本明細書中で使用される場合、NOVX「キメラタンパク質」またはNOVX「融合タンパク質」は、非NOVXポリペプチドに作動可能に連結された、NOVXポリペプチドを含む。「NOVXポリペプチド」は、NOVXに対応するアミノ酸配列を有するポリペプチドをいうが、「非NOVXポリペプチド」は、NOVXタンパク質に対して実質的に相同ではないタンパク質（例えば、NOVXタンパク質とは異なり、かつ同一でかまたは異なる生物体に由来するタンパク質）に対応するアミノ酸配列を有するポリペプチドをいう。NOVX融合タンパク質において、このNOVXポリペプチドは、NOVXタンパク質のすべてまたは一

部分に対応し得る。1つの実施形態では、NOVX融合タンパク質は、NOVX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、NOVX融合タンパク質は、NOVX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た」は、NOVXポリペプチドおよび非NOVXポリペプチドが、インフレームで互いに融合されていることを示すことが意図される。非NOVXポリペプチドは、NOVXポリペプチドのN末端またはC末端に融合され得る。

【0135】

例えば、1つの実施形態では、NOVX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連結されたNOVXポリペプチドを含む。このような融合タンパク質は、NOVX活性を調節する化合物についてのスクリーニングアッセイでさらに利用され得る（このようなアッセイは、以下に詳細に記載される）。

【0136】

別の実施形態においては、この融合タンパク質は、GST-NOVX融合タンパク質であり、ここではNOVX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NOVXの精製を容易にし得る。

【0137】

別の実施形態においては、この融合タンパク質は、NOVX-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NOVX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NOVX-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NOVXリガントとNOVX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NOVX媒介信号伝達を抑制し得る。1つの非限定的な例においては、意図される本発明のNOVXリガントは、NOVXレセプターである。このNOVX-免疫グロブリン融合タンパク質を用い、NOVX同族リガントの生体利用性に影響を与え得る。NOVXリガント/NOVX相互作用の阻害は、増殖障害および分化障害（例えば、癌）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、ならびに急性および慢性炎症性障害および過形成創傷治癒（例えば、過形成性癍痕およびケロイド）に、治療的に有用であり得る。さらに、本発明のこのNOVX-免疫グロブリン融合タンパク質は、被験体中で抗NOVX抗体を産生するための免疫原として用いられ得、NOVXリガンドを精製し、そしてNOVXリガンドとのNOVX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。

【0138】

本発明のNOVX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、インフレームで一緒に連結する。別の実施形態では、融合遺伝子を、自動化DNA合成機を含む従来技法により合成し得る。あるいは、遺伝子フラグメントのPCR増幅を、キメラ遺伝子配列を生成するために次いでアニー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。NOVXをコードする核酸は、この融合成分がNOVX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。

【0139】

（NOVXアゴニストおよびアンタゴニスト）

本発明はまた、NOVXアゴニスト（模倣物）として、またはNOVXアンタゴニストとして機能するNOVXタンパク質の改変体に関する。NOVXタンパク質の改変体、例えば、NOVX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。NOVXタンパク質のアゴニストは、天然に存在

する形態のNOV X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。NOV Xタンパク質のアンタゴニストは、天然に存在する形態のNOV Xタンパク質の1つ以上の活性を、例えば、NOV X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、NOV X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。

【0140】

NOV Xアゴニスト(模倣物)として、またはNOV Xアンタゴニストのいずれかとして機能するNOV Xタンパク質の改変体は、NOV X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NOV X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、NOV X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。NOV X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NOV X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NOV X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、遺伝子配列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NOV X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NOV X配列の所望のセットをコードする配列のすべての供給を可能にする。縮重オリゴヌクレオチドを合成する方法は当該分野で公知である(例えば、Narang(1983)Tetrahedron 39:3;Itakuraら(1984)Annu Rev Biochem 53:323;Ita

kuraら(1984) Science 198:1056; Ikeら(1983) Nucl Acid Res 11:477を参照のこと)。

【0141】

(ポリペプチドライブラリー)

さらに、NOVX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、NOVX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NOVX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、NOVXコード配列の二本鎖PCRフラグメントを、1分子あたり約1つのみのニックが生じる条件下、ヌクレアーゼで処理すること、二本鎖DNAを変性させること、異なるニック産物からのセンス/アンチセンス対を含み得る二本鎖DNAを形成するためにこのDNAを再生すること、S1ヌクレアーゼを用いた処理により再形成された二本鎖から一本鎖部分を除去すること、および得られるフラグメントライブラリーを発現ベクター中に連結することにより生成し得る。この方法により、NOVX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。

【0142】

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、NOVX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、NOVX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)。

【0143】

(NOVX抗体)

NOVXタンパク質に対する抗体、またはNOVXタンパク質のフラグメントもまた、本発明に含まれる。本明細書中で使用される場合、用語「抗体」は、免疫グロブリン分子、および免疫グロブリン (Ig) 分子の免疫学的に活性な部分 (すなわち、抗原に特異的に結合する (免疫反応する) 抗原結合部位を含む分子) をいう。このような抗体としては、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、キメラ抗体、単鎖抗体、 F_{ab} フラグメント、 F_{ab} フラグメントおよび $F_{(ab)2}$ フラグメント、ならびに F_{ab} 発現ライブラリーが挙げられるが、これらに限定されない。一般的に、ヒト由来の抗体分子は、IgG、IgM、IgA、IgEおよびIgDの任意のクラスに関連し、これらは分子内に存在する重鎖の性質によってお互いに異なる。特定のクラスは同様にサブクラス (例えば、 IgG_1 、 IgG_2 など) を有する。さらに、ヒトにおいては、軽鎖は鎖または鎖であり得る。本明細書中で抗体に対する参照は、ヒト抗体種のすべてのこのようなクラス、サブクラスおよび型に対する参照を含む。

【0144】

本発明の単離されたNOVX関連タンパク質は、抗原、またはその一部もしくはフラグメントとして役立つことが意図され得、そしてさらに、免疫原として使用され、ポリクローナル抗体およびモノクローナル抗体の調製のための標準的な技術を用いて、抗原に免疫特異的に結合する抗体を生成し得る。全長タンパク質が使用され得るか、あるいは本発明は、免疫原として使用するための抗原の抗原性ペプチドフラグメントを提供する。抗原性ペプチドフラグメントは、全長タンパク質のアミノ酸配列 (例えば、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、もしくは20において示されるアミノ酸配列) の少なくとも6アミノ酸残基を含み、そしてそれらのエピトープを含み、その結果このペプチドに対

して惹起された抗体は、全長タンパク質またはこのエピトープを含む任意のフラグメントと特定の免疫複合体を形成する。好ましくは、抗原性ペプチドは、少なくとも10アミノ酸残基、または少なくとも15アミノ酸残基、または少なくとも20アミノ酸残基、または少なくとも30アミノ酸残基を含む。この抗原性ペプチドにより含まれる好ましいエピトープは、そのペプチド表面上に位置するタンパク質の領域であり；通常、これらは親水性領域である。

【0145】

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、NOVXタンパク質の表面上に位置するNOVX関連タンパク質の領域、例えば、親水性領域である。ヒトNOVX関連タンパク質配列の疎水性分析は、NOVX関連タンパク質のどの領域が特に親水性であるか、そしてそれ故、抗体産生を標的にするために有用な表面残基をコードするようであるかを示す。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。抗原性タンパク質またはその誘導体、フラグメント、アナログもしくはホモログ内の1つ以上のドメインに対して特異的な抗体はまた、本明細書中で提供される。

【0146】

本発明のタンパク質、またはその誘導体、フラグメント、アナログ、ホモログもしくはオルソログは、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産生における免疫原として利用され得る。

【0147】

当該分野において公知の種々の手順が、本発明のタンパク質、またはその誘導体、フラグメント、アナログ、ホモログもしくはオルソログに対して指向される

ポリクローナル抗体またはモノクローナル抗体の産生のために使用され得る（例えば、Antibodies: A Laboratory Manual, Harlow E, および Lane D, 1998, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY（本明細書中に参考として援用される）を参照のこと）。これらの抗体のうちのいくつかは、以下で考察される。

【0148】

（ポリクローナル抗体）

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、マウスまたは他の動物）は、ネイティブなタンパク質、その合成改変体、または前記の誘導体を用いる1以上の注射によって免疫され得る。適切な免疫原性調製物は、例えば、天然に存在する免疫原性タンパク質、免疫原性タンパク質を提示する化学的に合成されたポリペプチド、または組換え的に発現される免疫原性タンパク質を含み得る。さらに、このタンパク質は、免役されている哺乳動物において免疫原性であることが知られている第2のタンパク質に結合体化され得る。このような免疫原性タンパク質の例としては、キーホールリンペットヘモシアニン、血清アルブミン、ウシサイログロブリン、および大豆トリブシンインヒビターが挙げられるが、これらに限定されない。この調製物はさらに、アジュバントを含み得る。種々のアジュバントが免疫学的応答を増加させるために使用され、このようなアジュバントとしては、Freund's（完全および不完全）、ミネラルゲル（例えば、水酸化アルミニウム）、界面活性物質（例えば、リゾレシチン、プルロニック(pluronic)ポリオール、ポリアニオン、ペプチド、油乳濁液、ジニトロフェノールなど）、ヒトにおいて使用可能なアジュバント（例えば、Bacille Calmette - Guerin および Corynebacterium parvum）または類似の免疫刺激剤が挙げられるが、これらに限定されない。使用され得るアジュバントのさらなる例としては、MPL - TDMアジュバント（モノホスホリルリピドA、合成トレハロースジコリノミコレート）が挙げられる。

【0149】

免疫原性タンパク質に対して指向されるポリクローナル抗体分子は、哺乳動物から（例えば、血液から）単離され得、そして周知の技術（例えば、プロテインAまたはプロテインGを用いるアフィニティクロマトグラフィー（これは、主に免疫血清のIgG画分を提供する））によってさらに精製され得る。続いて、または代替的に、求められている免疫グロブリンの標的である特定の抗原またはその抗原のエピトープがカラムに固定され、免疫アフィニティクロマトグラフィーによって免疫特異的抗体を精製し得る。免疫グロブリンの精製は、例えば、D. Wilkinson (The Scientist (The Scientist, Inc., Philadelphia PAより発行)、第14巻、第8号(2000年4月17日)、25~28頁)によって考察される。

【0150】

(モノクローナル抗体)

本明細書で用いられる用語「モノクローナル抗体」(MAb)または「モノクローナル抗体組成物」は、独特の軽鎖遺伝子産物および独特の重鎖遺伝子産物からなる唯一の分子種の抗体分子を含む抗体分子の集団をいう。特に、モノクローナル抗体の相補性決定領域(CDR)は、すべての分子の集団に同一である。従って、MAbは、抗原への独特の結合親和性によって特徴付けられる抗原の特定のエピトープと免疫反応可能な抗原結合部位を含む。

【0151】

モノクローナル抗体は、ハイブリドーマ方法（例えば、KohlerおよびMilstein, Nature, 256:495(1975)に記載されるような方法）を使用して調製され得る。ハイブリドーマ方法において、マウス、ハムスター、または他の適切な宿主細胞は、免疫因子で代表的に免疫され、免疫因子に特異的に結合する抗体を産生するか、または産生し得るリンパ球を誘発する。あるいは、リンパ球は、インビトロで免疫され得る。

【0152】

免疫因子としては、代表的に、タンパク質抗原、そのフラグメントまたはその融合タンパク質が挙げられる。一般的には、以下のいずれかである：ヒト起源の細胞が望まれる場合は、末梢血リンパ球が使用され、または非ヒト哺乳動物供給

源が望まれる場合は、脾臓細胞またはリンパ節細胞が使用される。次いで、適切な融合因子（例えば、ポリエチレングリコール）を使用して、リンパ球を不死化細胞株に融合し、ハイブリドーマ細胞を形成する（Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, Academic Press (1986) 第59-103頁）。不死化細胞株は、哺乳動物細胞、特にげっ歯類、ウシおよびヒト起源の骨髄腫細胞に通常形質転換される。通常ラットまたはマウスの骨髄腫細胞株が使用されるハイブリドーマ細胞は、1以上の物質（融合されていない不死化細胞の増殖も生存も阻害する）を適切に含む適切な培養培地中で培養され得る。例えば、親の細胞が酵素、ヒポキサンチングアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ（HGPR TまたはHPRT）を欠く場合、ハイブリドーマからの培養培地は、代表的にヒポキサンチン、アミノプテリン、およびチミジンを含み（「HAT培地」）、それらの物質はHGPR T欠失細胞の増殖を阻害する。

【0153】

好ましい不死化細胞株は、効率的に融合する細胞株であり、それらは選択された抗体産生細胞の安定な高レベルの抗体の発現を支持し、そしてHAT培地のような培地に敏感である。より好ましい不死化細胞株はマウス骨髄腫細胞株であり、それらを、例えば、Salk Institute Cell Distribution Center, San Diego, CaliforniaおよびAmerican Type Culture Collection, Manassas, Virginiaから得ることが可能である。ヒト骨髄腫およびマウス-ヒト骨髄腫細胞株はまた、ヒトモノクローナル抗体の産生について記載される（Kozbor, J. Immunol., 133:3001 (1984) ; Brodeurら、Monoclonal Antibody Production Techniques and Application, Marcel Dekker, Inc., New York, (1987) 第51-63頁）。

【0154】

次いで、ハイブリドーマ細胞が培養される培養培地は、抗原に対するモノクロ

ーナル抗体の存在についてアッセイされ得る。好ましくは、ハイブリドーマ細胞によって産生されるモノクローナル抗体の結合特異性は、免疫沈降によって決定されるか、またはインビトロ結合アッセイ（例えば、ラジオイムノアッセイ（RIA）または酵素結合イムノソルベント検定法（ELISA））によって決定される。このような技術およびアッセイは、当該分野で公知である。モノクローナル抗体の結合親和性は、例えば、MunsonおよびPollard, Anal. Biochem., 107:220(1980)のスキッチャード分析によって決定され得る。好ましくは、標的抗原に対する高い程度の特異性および高結合親和性を有する抗体が、単離される。

【0155】

所望のハイブリドーマ細胞が同定された後、希釈手順を限定することによって、クローンをサブクローニングし得、そして標準方法によって増殖し得る。例えば、この目的のために適切な培養培地としては、Dulbecco's Modified Eagle's MediumおよびRPMI-1640培地が挙げられる。あるいは、ハイブリドーマ細胞は、哺乳動物内の腹水としてインビボで増殖され得る。

【0156】

サブクローンによって分泌されたモノクローナル抗体は、従来の免疫グロブリン精製手順（例えば、タンパク質Aセファロース、ヒドロキシアパタイトクロマトグラフィー、ゲル電気泳動、透析、またはアフィニティークロマトグラフィー）によって、培養培地または腹水から、単離または精製され得る。

【0157】

モノクローナル抗体はまた、組換えDNA方法（例えば、米国特許第4,816,567号に記載される方法）によって作製され得る。本発明のモノクローナル抗体をコードするDNAは、従来の手順を使用して（例えば、マウス抗体の重鎖および軽鎖をコードする遺伝子に特異的に結合し得るオリゴヌクレオチドプローブを使用することによって）容易に単離され得、そして配列決定され得る。本発明のハイブリドーマ細胞は、このようなDNAの好ましい供給源として役立つ。一旦単離されると、DNAは、発現ベクターに配置され得、次いでそれらは、

宿主細胞（例えば、さもなければ免疫グロブリンタンパク質を産生しないサルC O S細胞、チャイニーズハムスター卵巣（C H O）細胞、または骨髓腫細胞）にトランスフェクトされ、組換え宿主細胞内でのモノクローナル抗体の合成を得る。DNAはまた、例えば、相同なマウス配列の代わりにヒト重鎖および軽鎖定常ドメインをコードする配列の置換（米国特許第4,816,567号；Morrison, Nature 368, 812-13 (1994)）によってか、または非免疫グロブリンポリペプチドについてのコード配列のすべてまたは一部の配列をコードする免疫グロブリンへの共有結合的な連結によって改変され得る。このような非免疫グロブリンポリペプチドは、本発明の抗体の定常領域に置換され得るか、または本発明の抗体の1つの抗原結合部位の可変領域に置換され得、キメラ二価の抗体を作製する。

【0158】

（ヒト化抗体）

本発明のタンパク質抗原に対する抗体は、さらにヒト化抗体またはヒト抗体を含み得る。これらの抗体は、投与された免疫グロブリンに対するヒトの免疫応答を引き起こさないヒトへの投与に適する。抗体のヒト化形態は、キメラ免疫グロブリン、免疫グロブリン鎖またはそれらのフラグメント（例えば、Fv、Fab、Fab'、F(ab')₂または他の抗体の抗原結合配列）であり、それらは主にヒト免疫グロブリンの配列から構成され、そして非ヒト免疫グロブリンに由来する最小の配列を含む。ヒト化は、ヒト抗体の対応する配列についてのげっ歯類CDRまたはCDR配列の置換によって、Winterおよび共同研究者の方法（Jonesら、Nature, 31:522-525 (1986)；Riechmannら、Nature, 332:323-327 (1988)；Verhoeyenら、Science, 239:1534-1536 (1988)）の後に達成され得る。（米国特許第5,225,539号もまた参照のこと。）いくつかの場合において、ヒト免疫グロブリンのFv骨格（framework）残基は、対応する非ヒト残基によって置換される。ヒト化抗体はまた、患者の抗体においても、移入されたCDRまたは骨格配列においても見出されない残基を含み得る。一般に、ヒト化抗体は、すべての少なくとも1つ、および代表的に

は2つの可変領域を実質的に含む。これらの領域内で、すべてのまたは実質的にすべてのCDR領域は非ヒト免疫グロブリンの領域に対応し、そしてすべてまたは実質的にすべての骨格領域はヒト免疫グロブリンコンセンサス配列の領域に対応する。ヒト化抗体はまた、免疫グロブリン定常領域(Fc)、代表的には、ヒト免疫グロブリンの少なくとも一部を必要に応じて含む(Jonesら、1986; Riechmannら、1988; およびPresta、Curr. Op. Struct. Biol., 2: 593-596 (1992))。

【0159】

(ヒト抗体)

CDRを含む軽鎖および重鎖の両方の全体配列がヒト遺伝子から本質的に生じる抗体分子に、ヒト抗体は十分に関連する。このような抗体を、「ヒト抗体」、または「十分なヒト抗体」と本明細書中で呼ぶ。ヒトモノクローナル抗体は、トリオーマ(trioma)技術によって調製され得る; ヒトB細胞ハイブリドーマ技術(Kozborら、1983 Immunol Today 4:72を参照のこと)およびヒトモノクローナル抗体を産生するためのEBVハイブリドーマ技術(Coleら、1985: MONOCLONAL ANTIBODIES AND CANCER THERAPY, Alan R. Liss, Inc., 第77-96頁)。ヒトモノクローナル抗体は、本発明の実行において使用され得、そしてヒトハイブリドーマの使用によってか(Coteら、1983. Proc Natl Acad USA 80:2026-2030を参照のこと)、またはインビトロでのEpstein Barr Virusを用いたヒトB細胞による形質転換によって(Coleら、1985: MONOCLONAL ANTIBODIES AND CANCER THERAPY, Alan R. Liss, Inc., 第77-96頁を参照のこと)産生され得る。

【0160】

さらに、ヒト抗体はまた、さらなる技術(ファージディスプレイライブラリー(HoogenboomおよびWinter, J. Mol. Biol., 227:381 (1991); Marksら、J. Mol. Biol., 222:581 (1991))を含む)を使用して産生され得る。同様に、ヒト免疫グロブリン

ン位置をトランスジェニック動物（例えば、内因性免疫グロブリン遺伝子が、部分的または完全に不活化されているマウス）に導入することによって、ヒト抗体は作製され得る。チャレンジの際にヒト抗体産生が観察され、このことはすべての点（遺伝子再配列、アセンブリ、および抗体レパートリーを含む）でヒトにおいて観察されたものに密接に類似する。このアプローチは、例えば、以下に記載される：米国特許第5,545,807号；同第5,545,806号；同第5,569,825号；同第5,625,126号；同第5,633,425号；同第5,611,016号、およびMarksら（Bio/Technology 10、779-783（1992））；Lonbergら（Nature 368 856-859（1994））；Morrison（Nature 368、812-13（1994））；Fishwildら（Nature Biotechnology 14、845-51（1996））；Neuberger（Nature Biotechnology 14、826（1996））；ならびにLonbergおよびHuszar（Intern.Rev.Immunol. 13 65-93（1995））。

【0161】

ヒト抗体は、抗原によるチャレンジに应答して動物の内因性抗体よりもヒト抗体を十分に産生するように改変されたトランスジェニック非ヒト動物を使用して、さらに産生され得る。（PCT刊行物WO94/02602を参照のこと。）非ヒト宿主における重免疫グロブリン鎖および軽免疫グロブリン鎖をコードする内因性遺伝子は、耐えられなくなっており、そしてヒト重鎖および軽鎖免疫グロブリンをコードする活性な位置は、宿主のゲノムに挿入される。例えば、要求性ヒトDNAセグメントを含む酵母人工染色体を使用して、ヒト遺伝子は組み込まれる。次いで、すべての所望の改変を提供する動物を、完全な改変の相補体よりもより少ない改変の相補体を含む中間トランスジェニック動物を雑種することによって子孫として得る。このような非ヒト動物の好ましい実施形態は、マウスであり、PCT刊行物WO96/33735およびWO96/34096に開示されるようにXenomous™と呼ばれる。この動物は、ヒト免疫グロブリンを十分に分泌するB細胞を産生する。目的の免疫原を有する免疫後の動物から（

例えば、ポリクローナル抗体の調製)、あるいは動物由来の不死化されたB細胞(例えば、モノクローナル抗体を産生するハイブリドーマ)から、抗体を直接得ることが可能である。さらに、ヒト可変領域を有する免疫グロブリンをコードする遺伝子は、抗体を直接得るために回復され、そして発現され得るか、または抗体のアナログ(例えば、1本鎖F_v分子)を得るために、さらに改変され得る。

【0162】

内因性免疫グロブリン重鎖の発現を欠く非ヒト宿主(マウスとして例証される)を作製するための方法の例は、米国特許第5,939,598号に記載される。それを、以下の工程を包含する方法によって得ることが可能である:位置の再配列を防ぎ、そして再配列された免疫グロブリン重鎖位置の転写物の形成、および選択マーカーをコードする遺伝子を含む標的ベクターによって影響される欠失を防ぐために、胚幹細胞における少なくとも1つの内因性重鎖位置由来のJセグメント遺伝子を欠失する工程;およびトランスジェニックマウス(その体細胞および生殖細胞は、選択マーカーをコードする遺伝子を含む)を、胚幹細胞から作製する工程。

【0163】

目的の抗体(例えば、ヒト抗体)を産生する方法は、米国特許第5,916,771号に開示される。それは以下の工程を包含する:重鎖をコードするヌクレオチド配列を含む発現ベクターを、培養中の1つの哺乳動物宿主細胞に導入する工程、軽鎖をコードするヌクレオチド配列を含む発現ベクターを、別の哺乳動物宿主細胞に導入する工程、およびハイブリッド細胞を形成するために2つの細胞融合する工程。ハイブリッド細胞は、重鎖および軽鎖を含む抗体を発現する。

【0164】

この手順のさらなる改善において、免疫原上の臨床的に関連するエピトープを同定する方法、および関連するエピトープに高い親和性で免疫特異的に結合する抗体を選択する関連する方法は、PCT刊行物WO99/53049に開示される。

【0165】

(F_{a**b**}フラグメントおよび1本鎖抗体)

本発明に従って、技術は、本発明の抗原性タンパク質に特異的な1本鎖抗体の産生に適用され得る(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に適用され得(例えば、Huseら、1989 Science 246:1275-1281を参照のこと)、タンパク質またはその誘導体、フラグメント、アナログまたはホモログについての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効果的な同定を可能にする。タンパク質抗原に対するイディオタイプを含む抗体フラグメント((i)抗体分子のペプシン消化によって産生される $F_{(ab')_2}$ 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って産生された F_{ab} フラグメント(iii)ペプシンおよび還元剤を用いた抗体分子の処理によって産生された F_{ab} フラグメント、および(iv) F_v フラグメントを含むが、これらに限定ない)は、当該分野で公知の技術によって産生され得る。

【0166】

(二重特異的抗体)

二重特異的抗体は、モノクローナル抗体(好ましくはヒトモノクローナル抗体またはヒト化されたモノクローナル抗体)であって、これは少なくとも2つの異なる抗原に対して結合特異性を有する。この場合において、結合特異性の1つは、本発明の抗原性タンパク質に対してである。第2の結合標的は、任意の他の抗原であり、そして有利には細胞表面タンパク質あるいはレセプターまたはレセプターサブユニットである。

【0167】

二重特異的抗体を作製する方法は、当該分野で公知である。伝統的に、二重特異的抗体の組換え生成は、2つの免疫グロブリンの重鎖/軽鎖の対の同時発現に基づき、ここでこの2つの重鎖は異なる特異性を有する(MilsteinおよびCuello、Nature, 305:537-539(1983))。免疫グロブリンの重鎖および軽鎖のランダムな組み合わせのために、これらのハイブリドーマ(クアドローマ)は、10の異なる抗体分子の潜在的混合物を作製し、このうち1つのみが正確な二重特異的構造を有する。この正確な分子の精製は、

通常アフィニティクロマトグラフィー工程によって達成される。同様の手順は、1993年5月13日開示のWO93/08829、およびTraunckerら、1991 EMBO J.、10:3655-3659において開示される。

【0168】

所望の結合特異性(抗体-抗原結合部位)を有する抗体可変ドメインは、免疫グロブリン定常領域配列に融合され得る。この融合は、好ましくは免疫グロブリン重鎖定常ドメインを有し、ヒンジ、CH₂、およびCH₃領域の少なくとも部分を含む。この融合物中の少なくとも1つに存在する軽鎖結合のために必要な部位を含む第1の重鎖定常領域(CH₁)を有することが好ましい。この免疫グロブリン重鎖融合体、および所望の場合、この免疫グロブリン軽鎖をコードするDNAは、別々の発現ベクターに挿入され、そして適切な宿主生物体に同時トランスフェクトされる。二重特異的抗体の作製のさらなる詳細は、例えば、Sureshら、Methods in Enzymology, 121:210(1986)を参照のこと。

【0169】

WO96/27011に記載される別のアプローチに従って、抗体分子の対の間の界面は、組換え細胞培養物から回収されるヘテロダイマーのパーセンテージを最大化するために操作され得る。好ましい界面は、抗体定常領域のCH₃領域の少なくとも一部を含む。この方法において、第1の抗体分子の界面からの1つ以上の小さなアミノ酸側鎖は、より大きな側鎖(例えば、チロシンまたはトリプトファン)で置換される。大きな側鎖についての同一または同様のサイズの代償的な「空洞」は、大きなアミノ酸側鎖を小さなアミノ酸側鎖(例えば、アラニンまたはスレオニン)で置換することによって、第2の抗体分子の界面上に生成される。このことは、ホモダイマーのような他の不必要な最終生成物よりも、ヘテロダイマーの収量を増加するための機構を提供する。

【0170】

二重特異的抗体は、全長抗体または抗体フラグメント(例えば、F(ab'))₂(二重特異的抗体)として調製され得る。抗体フラグメントから二重特異的抗体

を作製するための技術は、文献において記載される。例えば、二重特異的抗体は、化学結合を使用して調製され得る。Brennanら、Science 229: 81 (1985)は、インタクトな抗体がタンパク分解的に切断されてF(ab')₂フラグメントを作製する手順を記載する。これらのフラグメントは、ビスナルジチオールを安定化し、そして分子間ジスルフィド形成を阻止するために、ジチオール錯化剤ナトリウム亜ヒ酸塩の存在下で還元される。次いで、この作製されたF(ab')₂フラグメントは、チオニトロベンゾエート(TBN)誘導体に変換される。次いで、F(ab')₂-TBN誘導体の1つは、メルカプトエチルアミンでの還元によってF(ab')₂-チオールに再変換され、そしてこれは等モル量の他のF(ab')₂-TBN誘導体と混合されて二重特異的抗体を形成する。生成された二重特異的抗体は、酵素の選択的固定化のための薬剤として使用され得る。

【0171】

さらに、F(ab')₂フラグメントは、E. coliから直接回収され得、そして化学的にカップリングされて二重特異的抗体を形成する。Shalabyら、J. Exp. Med. 175: 217-225 (1992)は、完全にヒト化された二重特異的抗体F(ab')₂分子の生成を記載する。各F(ab')₂フラグメントは、E. coliから別々に分泌され、そしてインビトロの化学的カップリングに供され、二重特異的抗体を形成する。従って、形成されたこの二重特異的抗体は、Erbb2レセプターを過剰発現する細胞および正常なヒトT細胞に結合し得、そしてヒト胸部腫瘍標的に対するヒト細胞傷害性リンパ球の溶解性活性を誘引し得る。

【0172】

組換え細胞培養物から直接二重特異的抗体フラグメントを作製し、そして単離するための種々の技術が記載されてきた。例えば、二重特異的抗体は、ロイシンジッパーを使用して産生される。Kostelnyら、J. Immunol. 148(5): 1547-1553 (1992)。FosおよびJunタンパク質由来のロイシンジッパーペプチドは、遺伝子融合によって2つの異なる抗体のF(ab')₂部分に結合される。この抗体ホモダイマーは、ヒンジ領域で還元されてモノマーを形成し、次いで再酸化されて抗体ヘテロダイマーを形成する。この方法

はまた、抗体ホモダイマーの産生のために使用され得る。Hollingerら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448 (1993)に記載されるこの「ディアボディー (diabody)」技術は、二重特異的抗体フラグメントを作製するための代替的な機構を提供した。このフラグメントは、短すぎて同じ鎖上の2つのドメインの間を対にできないリンカーによって軽鎖可変領域 (V_L) に接続された重鎖可変領域 (V_H) を含む。従って、1つのフラグメントの V_H および V_L ドメインは、別のフラグメントの相補的な V_L および V_H ドメインと対になるように強制され、これによって2つの抗原結合部位が形成する。単鎖 Fv (sFv) ダイマーの使用によって二重特異的抗体フラグメントを作製するための別のストラテジーもまた、報告されてきた。Gruberら、J. Immunol. 152:5368 (1994)を参照のこと。

【0173】

2つ以上の結合価を有する抗体が意図される。例えば、三重特異的抗体が調製され得る。Tuttら、J. Immunol. 147:60 (1991)。

【0174】

例示的な二重特異的抗体は、2つの異なるエピトープに結合し得、このうち少なくとも1つは、本発明のタンパク質抗原に起源を有する。あるいは、免疫グロブリン分子の抗抗原性アームは、T細胞レセプター分子のような白血球 (例えば、CD2、CD3、CD28、またはB7)、あるいはIgGに対するFcレセプター (FcR) (例えば、FcRI (CD64)、FcRII (CD32) およびFcRIII (CD16)) 上の標的化分子に結合するアームに、特定の抗原を発現する細胞に対する細胞の防御機構に焦点を合わせるように結合され得る。二重特異的抗体はまた、特定の抗原を発現する細胞に対する細胞傷害性因子に指向するために使用され得る。これらの抗体は抗原結合アーム、および細胞傷害性因子または放射性核種キレーター (例えば、EOTUBE、DPTA、DOTA、またはTETA) に結合するアームを保有する。目的の別の二重特異的抗体は、本明細書中に記載のタンパク質抗原に結合し、そしてさらに組織因子 (TF) に結合する。

【0175】

(ヘテロ接合体抗体)

ヘテロ接合体抗体はまた、本発明の範囲内である。ヘテロ接合体抗体は、2つの共有結合した抗体からなる。このような抗体は、例えば、免疫系細胞を不必要な細胞に標的化するために(米国特許第4,676,980号)、およびHIV感染の処置のために(WO91/00360; WO92/200373; EP03089)提案されてきた。この抗体(架橋剤を含む抗体を含む)は、インビトロで、合成タンパク質化学において公知の方法を使用して調製され得ることが意図される。例えば、免疫毒素は、ジスルフィド交換反応の使用またはチオエーテル結合の形成によって構築され得る。この目的のための適切な試薬の例としては、イミノチオレートおよびメチル-4-メルカプトブチルイミデート、ならびに例えば米国特許第4,676,980号において開示される試薬が挙げられる。

【0176】

(エフェクター機能操作)

本発明の抗体を、エフェクター機能について、例えば癌の処置における抗体の効力を増大するように改変することが望ましい。例えば、システイン残基は、Fc領域に導入され得、これによってこの領域における鎖間ジスルフィド結合の形成を可能にする。従って、作製されるこのホモダイマー抗体は、改良されたインターナリゼーションの可能性および/または増加した補体媒介細胞死滅、ならびに抗体依存性細胞傷害性(ADCC)を有し得る。Caronら、J. Exp. Med., 176: 1191-1195(1992)およびShopes、J. Immunol. 148: 2918-2922(1992)を参照のこと。増大した抗腫瘍活性を有するホモダイマー抗体はまた、Wolffら、Cancer Research、53: 2560-2656(1993)に記載されるヘテロ二官能性架橋剤を使用して調製され得る。あるいは、抗体は操作され得、これは二重のFc領域を有し、そしてこれによって増大した補体溶解およびADCCの可能性を有し得る。Stevensonら、Anti-Cancer Drug Design, 3: 219-230(1989)を参照のこと。

【0177】

(免疫接合体)

本発明はまた、細胞傷害性の薬剤（例えば、化学療法剤、毒素（例えば、細菌、真菌、植物、または動物起源の酵素学的に活性な毒素、あるいはそれらのフラグメント）、または放射性同位体（すなわち、放射性接合体））に結合した抗体を含む免疫接合体に関する。

【0178】

このような免疫接合体の作製において有用な化学療法剤は、上記に記載される。使用され得る酵素学的に活性な毒素およびそれらのフラグメントとしては、ジフテリアA鎖、ジフテリア毒素の非結合活性フラグメント、外毒素A鎖（*Pseudomonas aeruginosa*由来）、リシンA鎖、アブリンA鎖、モデシン（*modeccin*）A鎖、 α -サルシン、*Aleurites fordii*タンパク質、ジアンチン（*dianthin*）タンパク質、*Phytolacca americana*タンパク質（PAPI、PAPII、およびPASP-S）、*momordica charantia*インヒビター、クルシン（*curcin*）、クロチン（*crotin*）、*sepaonaria officinalis*インヒビター、ゲロニン（*gelonin*）、ミトゲリン（*mitogellin*）、レストリクトシン（*restrictocin*）、フェノマイシン（*phenomycin*）、エノマイシン（*enomycin*）、およびトリコテセン（*tricothecene*）が挙げられる。種々の放射性核種は、放射性結合した抗体の作製のために利用可能である。その例としては、²¹²Bi、¹³¹I、¹³¹In、⁹⁰Y、および¹⁸⁶Reが挙げられる。

【0179】

抗体および細胞傷害性因子の接合体は、種々の二官能性タンパク質結合因子（例えば、N-スクシンイミジル-3-(2-ピリジルジチオール)プロピオネート（SPDP）、イミノチオラン（*iminothiolane*）（IT）、イミドエステルの二官能性誘導体（例えば、ジメチルアジピミデート HCL）、活性エステル（例えば、ジスクシンイミジルスベレート）、アルデヒド（例えば、グルタルアルデヒド（*glutaredialdehyde*））、ビスアジド化合物（例えば、ビス(p-アジドベンゾイル)ヘキサンジアミン）、ビス-ジアゾニ

ウム誘導体（例えば、ビス - (p - ジアゾニウムベンゾイル) - エチレンジアミン）、ジイソシアネート（例えば、トリエン 2 , 6 - ジイソシアネート）、およびビス - 活性フッ素化合物（例えば、1 , 5 - ジフルオロ - 2 , 4 - ジニトロベンゼン）) を使用して作製される。例えば、リシン免疫毒素は、V i t e t t a ら、S c i e n c e , 2 3 8 : 1 0 9 8 (1 9 8 7) に記載されるように調製され得る。炭素 - 1 4 - 標識 1 - イソチオシアナトベンジル - 3 - メチルジエチレントリアミン五酢酸 (M X - D T P A) は、放射性ヌクレオチドの抗体への結合のための例示的なキレート剤である。W O 9 4 / 1 1 0 2 6 を参照のこと。

【 0 1 8 0 】

別の実施形態において、腫瘍の前標的化における利用のために、この抗体は、「レセプター」（例えば、ストレプトアビジン）に結合され得、ここで抗体 - レセプター接合体は患者に投与され、続いて除去剤を使用して結合していない接合体が循環から除去され、次いで細胞傷害性因子に次々に結合する「リガンド」（例えば、アビジン）が投与される。

【 0 1 8 1 】

(N O V X 組換え発現ベクターおよび宿主細胞)

本発明の別の局面は、N O V X 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。本明細書中で使用される場合、用語「ベクター」は、これが接続された別の核酸を輸送し得る核酸分子をいう。ベクターの 1 つの型は「プラスミド」であり、これはさらなる D N A セグメントが連結し得る環状の二本鎖 D N A ループをいう。ベクターの別の型はウイルス性ベクターであり、ここでさらなる D N A セグメントはこのウイルス性ゲノムに連結され得る。特定のベクターは宿主細胞中で自発的に複製し得、この中に導入される（例えば、細菌の複製起源を有する細菌ベクターおよびエピソームの哺乳類ベクター）。他のベクター（例えば、非エピソーム哺乳類ベクター）は、宿主細胞に導入される際に宿主細胞のゲノムに組み込まれ、そしてこれによって宿主のゲノムと同調して複製される。さらに、特定のベクターは、これ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、本明細書中で「発現ベクター」といわれる。一般に、組換えDNA技術において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。本明細書において、「プラスミド」および「ベクター」は、このプラスミドはベクターの最も一般的に使用される形態であるため、交換可能に使用され得る。しかし、本発明は、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）のような発現ベクターのこのような他の形態を含むことを意図し、これは等価な機能を果たす。

【0182】

本発明の組換え発現ベクターは、本発明の核酸を、宿主細胞における核酸の発現に適切な形態で含み、これはこの組換え発現ベクターが、発現のために使用される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意味し、これは発現される核酸配列に作動可能に連結される。組換え発現ベクターにおいて、「作動可能に連結」は、目的のヌクレオチド配列が、ヌクレオチド配列の発現を可能にする（例えば、このベクターが宿主細胞に導入される場合、インビトロ転写/翻訳系または宿主細胞において）ような様式で調節配列に連結されることを意味することを意図する。

【0183】

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理解される。本発明の発現ベクターは、宿主細胞に導入され、それにより、本明細書に記載されるような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融合ペプチド

を含む) (例えば、NOV Xタンパク質、NOV Xタンパク質の変異形態、融合タンパク質など) を生成し得る。

【0184】

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、NOV Xタンパク質の発現のために設計され得る。例えば、NOV Xタンパク質は、細菌細胞(例えば、*Escherichia coli*)、昆虫細胞(バキュロウイルス発現ベクターを用いる)、酵母細胞または哺乳動物細胞において発現され得る。適切な宿主細胞は、Goeddel、GENE EXPRESSION TECHNOLOGY: METHODS IN ENZYMOLOGY 185、Academic Press、San Diego、Calif. (1990)においてさらに考察される。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。

【0185】

原核生物におけるタンパク質の発現は、最も頻繁には、融合タンパク質または非融合タンパク質のいずれかの発現を指向する構成的プロモーターまたは誘導性プロモーターを含むベクターを有する*Escherichia coli*において実行される。融合ベクターは、そこにコードされるタンパク質に、通常、組換えタンパク質のアミノ末端に、多数のアミノ酸を付加する。このような融合ベクターは、代表的には、以下の3つの目的のために役立つ: (i) 組換えタンパク質の発現を増加させること; (ii) 組換えタンパク質の溶解度を増加させること; および (iii) 親和性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、融合部分の結合部に導入され、そして融合タンパク質の精製の後に、組換えタンパク質が組換えタンパク質の融合部分から分離されることを可能にする。このような酵素、およびその同族の認識配列は、第Xa因子、トロンビン、およびエンテロキナーゼを含む。代表的な融合発現ベクターとしては、グルタチオンS-トランスフェラーゼ(GST)、マルトース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。

【0186】

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

【0187】

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させることである。例えば、Gottesman, GENE EXPRESSION TECHNOLOGY: METHODS IN ENZYMOLOGY 185, Academic Press, San Diego, Calif. (1990) 119-128を参照のこと。別のストラテジーは、各アミノ酸についての個々のコドンが、E. coliにおいて優先的に利用されるように、発現ベクターに挿入される核酸の核酸配列を変更することである(例えば、Wadaら (1992) Nucl. Acids Res. 20:2111-2118を参照のこと)。本発明の核酸配列のこのような変更は、標準的なDNA合成技術によって実行され得る。

【0188】

別の実施形態において、NOVX発現ベクターは、酵母発現ベクターである。酵母Saccharomyces cerevisiaeにおける発現のためのベクターの例には、pYepSec1 (Baldariら、(1987) EMBO J 6:229-234)、pMfa (KurjanおよびHerskowi

tz、(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。

【0189】

あるいは、NOVX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。培養された昆虫細胞(例えば、SF9細胞)中でタンパク質の発現のために利用可能なバキュロウイルスベクターには、pAcシリーズ(Smithら(1983) Mol Cell Biol 3:2156-2165)およびpVLシリーズ(LucklowおよびSummers(1989) Virology 170:31-39)が挙げられる。

【0190】

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。

【0191】

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。適切な組織特異的プロモーターの非限定的な例としては、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)、特に、T細胞レセプタープロモーター(WinotoおよびBaltimore(1989) *EMBO J* 8:729-733)および免疫グロブリン(Banerjiら(1983) *Cell* 33:729-740; QueenおよびBaltimore(1983) *Cell* 33:741-748)のプロモーター、ニューロン特異的プロモーター(例えば、ニューロフィラメントプロモーター; ByrneおよびRuddle(1989) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:5473-5477)、膵臓特異的プロモーター(Edlundら(1985) *Science* 230:912-916)、および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)。

【0192】

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、NOVX 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。種々の細胞型におけるアンチセンス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が選択され得る。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、ウイルスプロモーターおよび/もしくはエンハンサー、または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、例えば、Weintraubら、「Antisense RNA as a molecular tool for genetic analysis」、Reviews - Trends in Genetics、第1巻(1)1986を参照のこと。

【0193】

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、特定の改変は次の世代において存在し得るので、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。

【0194】

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、NOVX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、ヒト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。

【0195】

ベクターDNAは、従来的な形質転換またはトランスフェクション技術を介して原核生物細胞または真核生物細胞に導入され得る。本明細書中で使用される場合、用語「形質転換」および「トランスフェクション」とは、外来性の核酸(例えば、DNA)を宿主細胞中に導入するための当該分野で認識される種々の技術をいうことを意図し、これらには、リン酸カルシウムまたは塩化カルシウム共沈殿、DEAEデキストラン媒介トランスフェクション、リポフェクション、また

はエレクトロポレーションが含まれる。宿主細胞を形質転換またはトランスフェクトするための適切な方法は、Sambrookら(MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL. 第2版、Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1989)および他の実験室マニュアルに見出され得る。

【0196】

哺乳動物細胞の安定なトランスフェクションについては、使用される発現ベクターおよびトランスフェクション技術に依存して、細胞のほんの一部のみが外来DNAをそのゲノム中に組み込み得ることが知られている。これらの要素を同定および選択するために、選択マーカー(例えば、抗生物質に対する耐性)をコードする遺伝子が、一般的には目的の遺伝子とともに宿主細胞に導入される。種々の選択マーカーには、薬物に対する耐性を付与するマーカー(例えば、G418、ハイグロマイシン、およびメトトレキサート)が含まれる。選択マーカーをコードする核酸は、NOVX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、あるいは別々のベクター上で導入され得る。導入された核酸とともに安定にトランスフェクトされる細胞は、薬物選択によって同定され得る(例えば、選択マーカー遺伝子を取り込んだ細胞は生存するが、他の細胞は死滅する)。

【0197】

本発明の宿主細胞(例えば、培養中の原核生物宿主細胞および真核生物宿主細胞)は、NOVX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、NOVXタンパク質を産生するための方法を提供する。1つの実施形態において、この方法は、NOVX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、NOVXタンパク質をコードする組換え発現ベクターが導入されている)を培養する工程を包含する。別の実施形態において、この方法はさらに、培地または宿主細胞からNOVXを単離する工程を包含する。

【0198】

(トランスジェニックNOVX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、NOVXタンパク質コード配列が導入される、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、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、ここで外因性のNOVX配列は、それらのゲノムまたは相同組換え動物(ここで内因性のNOVX配列が変更されている)に導入される。このような動物は、NOVXタンパク質の機能および/または活性を研究するため、およびNOVXタンパク質の活性のモジュレーターを同定および/または評価するために有用である。本明細書中で使用される場合、「トランスジェニック動物」とは、非ヒト動物、好ましくは哺乳動物であり、より好ましくは、ラットまたはマウスのような齧歯動物であり、ここでこれらの動物の1つ以上の細胞は、導入遺伝子を含む。トランスジェニック動物の他の例には、非ヒト霊長類、ヒツジ、イヌ、ウシ、ヤギ、ニワトリ、両生類などを含む。導入遺伝子は、細胞のゲノムに組み込まれ(この細胞からトランスジェニック動物が発生する)、そして成熟動物のゲノムに残存する外因性のDNAであり、それによって、このトランスジェニック動物の1つ以上の細胞型または組織においてコード遺伝子産物の発現を指向する。本明細書中で使用される場合、「相同組換え動物」とは、非ヒト動物であり、好ましくは哺乳動物、より好ましくはマウスであり、ここで、内因性NOVX遺伝子は、この内因性の遺伝子と、動物の発生の前に動物の細胞(例えば、動物の胚細胞)に導入された外因性DNA分子との間の相同組換えによって、変更されている。

【0199】

本発明のトランスジェニック動物は、NOVXをコードする核酸を、(受精した卵母細胞の雄性前核に導入することによって例えば、マイクロインジェクション、レトロウイルス感染によって)、およびこの卵母細胞が偽妊娠雌性フォスター動物(foster animal)中で発生することを可能にすることによって作製され得る。配列番号1、3、5、7、9、11、もしくは13を含む配

列は、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NOVX遺伝子の非ヒトホモログ（例えば、マウスNOVX遺伝子）は、ヒトNOVX 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（上述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、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、NOVXタンパク質の発現を指向するために、NOVX導入遺伝子に作動可能に連結される。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、当該分野で従来的になっており、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動物は、そのゲノムにおけるNOVX導入遺伝子の存在および/またはその動物の組織または細胞中のNOVX 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、NOVXタンパク質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へと繁殖させ得る。

【0200】

相同組換え動物を作製するために、欠失、付加、または置換が導入されて、それによってNOVX遺伝子が変化（例えば、機能的に破壊）されている、少なくとも、NOVX遺伝子の一部を含むベクターを調製する。NOVX遺伝子は、ヒト遺伝子（例えば、配列番号1、3、5、7、9、11、もしくは13のDNA）であり得るが、より好ましくは、ヒトNOVX遺伝子の非ヒトホモログである。例えば、配列番号1、3、5、7、9、11、もしくは13のヒトNOVX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NOVX遺伝子を変更す

るのに適切な相同組換えベクターを構築するために使用され得る。1つの実施形態において、そのベクターは、相同組換えに際して、内因性NOVX遺伝子が、機能的に破壊される（すなわち、機能的タンパク質をもはやコードしない；「ノックアウト」ベクターともいわれる）ように設計される。

【0201】

あるいは、このベクターは、相同組換えの際に、内因性NOVX遺伝子が変異されるか、あるいはさもなければ、変更されるが、なお機能性タンパク質をコードするように設計される（例えば、上流の調節領域を変更して、それによって内因性NOVXタンパク質の発現を変更し得る）。相同組換えベクターにおいて、NOVX遺伝子の変更された部分は、NOVX遺伝子のさらなる核酸によって、その5'末端および3'末端で隣接され、相同組換えが、ベクターによって運ばれる外因性NOVX遺伝子と胚幹細胞中の内因性NOVX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NOVX核酸は、内因性遺伝子との首尾よい相同組換えに十分な長さである。代表的に、数キロベースの隣接するDNA（5'末端および3'末端の両方）が、ベクターに含まれる。例えば、相同組換えベクターの記載について、Thomasら（1987）Cell 51:503を参照のこと。このベクターは、胚幹細胞株に導入され（例えば、エレクトロポレーションによって）、この導入されたNOVX遺伝子が、内因性NOVX遺伝子と相同組換えされた細胞が、選択される（例えば、Liら（1992）Cell 69:915を参照のこと）。

【0202】

次いで、この選択された細胞を、動物（例えば、マウス）の胚盤胞へ注入して、凝集キメラを形成する。例えば、Bradley（1987）のTERATOCARCINOMAS AND EMBRYONIC STEM CELLS: A PRACTICAL APPROACH、Robertson編、IRL、Oxford 113頁～152頁を参照のこと。次いで、キメラ胚を、適切な偽妊娠雌性フォスター動物に移植し得、そしてこの胚を、一定期間置く。それらの胚芽細胞中に相同組換えDNAを保有する子孫を使用して、動物を繁殖し得、ここで、この動物の全ての細胞は、導入遺伝子の生殖系列伝達によって、この相

同組換えDNAを含む。相同的組換えベクターおよび相同的組換え動物を構築するための方法が、さらに以下に記載される；Bradley(1991) *Curr. Opin. Biotechnol.* 2: 823-829；PCT国際公開番号：WO90/11354；WO91/01140；WO92/0968；およびWO93/04169。

【0203】

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

【0204】

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

オスター動物の産生子孫は、この細胞（例えば、体細胞）が単離される動物のクローンである。

【0205】

（薬学的組成物）

本発明のNOVX核酸分子、NOVXタンパク質、および抗NOVX抗体（これはまた、本明細書中で「活性化合物」といわれる）、ならびにそれらの誘導體、フラグメント、アナログ、およびホモログが、投与に適した薬学的組成物に組み込まれ得る。このような組成物は、代表的に、核酸分子、タンパク質または抗体、および薬学的に受容可能なキャリアを含む。本明細書中で使用される場合、「薬学的に受容可能なキャリア」は、薬学的な投与に適合した、任意および全ての溶媒、分散液、コーティング、抗菌剤および抗真菌剤、等張剤および吸収遅延剤（delaying agent）などを含むことが意図される。適切なキャリアは、当該分野における標準的な参考書である、Remington's Pharmaceutical Sciencesの最新版（本明細書中で参考として援用される）に記載される。このようなキャリアまたは賦形薬の好ましい例としては、水、生理食塩水、フィンガー溶液、デキストロース溶液、および5%ヒト血清アルブミンを含むが、これらに限定されない。リポソームおよび非水性ビヒクル（例えば、不揮発性油）はまた、使用され得る。薬学的に活性物質である、このような媒体および薬剤の使用は、当該分野で周知である。この活性化合物と不適合性である任意の従来媒体または薬剤の範囲を除いて、組成物におけるその使用は、意図される。補足的な活性化合物はまた、この組成物に組み込まれ得る。

【0206】

本明細書中に開示された抗体は、免疫リポソームとして処方され得る。この抗体を含むリポソームは、当該分野で公知の方法によって調製される（例えば、Epsteinら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82:3688 (1985); Hwangら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77:4030 (1980); および米国特許第4,485,045号および同第4,544,545号において記載される）。増強された循環時間を有

するリポソームは、米国特許第5,013,556号に開示される。

【0207】

特に、有用であるリポソームは、ホスファチジルコリン、コレステロール、およびPEG誘導体化ホスファチジルエタノールアミン(PEG-PE)を含有する脂質組成物との逆層蒸発法によって生成され得る。リポソームは、規定された孔径のフィルターを通して押し出され、所望の直径を有するリポソームを生じる。本発明の抗体のFabフラグメントは、Martinら、J. Biol. Chem., 257:286-288(1982)に記載のようにジスルフィド交換反応を介してリポソームに結合体化され得る。化学治療剤(例えば、Doxorubicin)は、必要に応じてリポソーム内に含まれ得る。Gabizonら、J. National Cancer Inst., 81(19):1484(1989)を参照のこと。

【0208】

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

【0209】

注射使用に適した薬学的組成物は、滅菌の水溶液(ここで、水溶性)または分

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

【0210】

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

【0211】

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

【0212】

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

【0213】

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、浸透されるバリアに対して適切な浸透剤が、処方において使用される。このような浸透剤は、一般的に、当該分野で公知であり、そして、例えば、経粘膜投与については、界面活性剤、胆汁酸塩、およびフシジン酸誘導体が挙げられる。経粘膜投与は、鼻スプレーまたは坐剤によって達成され得る。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。

【0214】

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

【0215】

1つの実施形態において、この活性化化合物は、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. から商業的に入手可能である。リポソーム懸濁液（ウイルス抗原に対するモノクローナル抗体を含む、感染させた細胞へ標的化されるリポソームを含む）がまた、薬学的に受容可能なキャリアとして使用され得る。これらは、例えば、米国特許第4,522,811号に記載されるような、当業者に公知の方法に従って調製され得る。

【0216】

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

【0217】

本発明の核酸分子は、ベクターに挿入され得、そして遺伝子治療ベクターとし

て使用され得る。遺伝子治療ベクターは、被験体へ、例えば、静脈内注射、局所投与（米国特許第5,328,470号を参照のこと）または定位注射（例えば、Chenら（1994）Proc. Natl. Sci. USA. 91:3054-3057を参照のこと）によって送達され得る。遺伝子治療ベクターの薬学的調製物には、受容可能な希釈剤中の遺伝子治療ベクターが挙げられ得、または遺伝子送達ビヒクルが組み込まれる徐放性マトリックスを含み得る。あるいは、完全な遺伝子送達ベクターが、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）、この薬学的調製物は、遺伝子送達系を産生する1以上の細胞を含み得る。

【0218】

本発明のタンパク質に特異的に結合する抗体、ならびに本明細書中で開示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分子は、薬学的組成物の形態で種々の障害の処置のために投与され得る。このような組成物を調製する際に関する原理および考慮、ならびに成分の選択の際の手引きは、例えば、RemingtonのThe Science And Practice Of Pharmacy 第19編（Alfonso R. Gennaroら、編）Mack Pub. Co., Easton, Pa:1995; Drug Absorption Enhancement: Concepts, Possibilities, Limitations, And Trends, Harwood Academic Publishers, Langhorne, Pa., 1994; およびPeptide And Protein Drug Delivery (Advances In Parenteral Sciences, Vol. 4)、1991、M. Dekker, New York. に提供される。抗原性タンパク質が、細胞内にあり、そして完全な抗体が、インヒビターとして使用される場合、抗体を内在化することが、好ましい。しかし、リポソームはまた、抗体または抗体フラグメントを細胞に送達するために使用され得る。抗体フラグメントが、使用される場合、標的タンパク質の結合ドメインに特異的に結合する最小の抑制フラグメントが、好ましい。例えば、抗体の可変領域配列に基づいて、標的タンパク質配列に結合する能力を維持するペプチド分子は、設計され得

る。このようなペプチドは、化学的に合成され得、そして/または組み換えDNA技術によって産生され得る。例えば、Marascoら、1993 Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:7889-7893を参照のこと。本明細書中の処方物はまた、処置される特定の指標について必要な1より多くの活性化合物を含み得、好ましくは、互いに悪影響を与えない相補的活性を有する化合物を含み得る。あるいは、またはさらに、この組成物は、その機能を増強する薬剤（例えば、細胞毒性剤、サイトカイン、化学療法剤または増殖抑制剤）を含み得る。このような分子は、意図される目的のために有効である量で組み合わせられて適切に存在する。活性成分はまた、例えば、コアセルベーション技術または界面重合化によって調製されたマイクロカプセル（例えば、それぞれ、ヒドロキシメチルセルロースまたはゼラチン-マイクロカプセルおよびポリ-(メタクリル酸メチル)マイクロカプセル)で、コロイド状薬物送達系（例えば、リポソーム、アルブミン微粒子、マイクロエマルジョン、ナノ粒子、およびナノカプセル）またはマクロエマルジョンにおいてトラップされ得る。

【0219】

インビボ投与のために使用される処方物は、滅菌である。これは、滅菌濾過膜を通す濾過によって容易に達成される。

【0220】

徐放性調製物は、調製され得る。徐放性調製物の適切な例としては、抗体を含有する固体疎水性ポリマーの半透性マトリックスが挙げられ、このマトリックスは、成形された粒子（例えば、フィルムまたはマイクロカプセル）の形態である。徐放性マトリックスの例としては、ポリエステル、ヒドロゲル（例えば、ポリ(2-ヒドロキシエチル-メタクリレート)またはポリ(ビニルアルコール)）、ポリラクチド（米国特許第3,773,919号）、L-グルタミン酸のコポリマーおよびエチル-L-グルタメート、非分解性エチレン-ビニルアセテート、分解性乳酸-グリコール酸コポリマー（例えば、LUPRON DEPOTTM（乳酸-グリコール酸コポリマーおよび酢酸ロイプロリドで構成される注入可能なミクロスフェア）、ならびにポリ-D-()-3-ヒドロキシ酪酸が挙げられる。エチレン-ビニルアセテートおよび乳酸-グリコール酸のようなポリマ

一は、100日を超えて分子の放出を可能にする一方で、特定のヒドロゲルは、より短い期間でタンパク質を放出する。

【0221】

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

【0222】

(スクリーニング方法および検出方法)

本発明の単離された核酸分子は、NOVXタンパク質を発現するために(例えば、遺伝子治療適用の際に宿主細胞における組み換え発現ベクターを介して)使用され、NOVX mRNA(例えば、生物学的サンプルにおける)またはNOVX遺伝子における遺伝的病変を検出し得、かつ以下にさらに記載されるようなNOVX活性を調節し得る。さらに、NOVXタンパク質は、NOVXタンパク質活性または発現を調節する薬物または化合物をスクリーニングし、ならびにNOVXタンパク質の不十分かもしくは過剰な産生またはNOVXタンパク質形態の産生の減少またはNOVX野生型タンパク質と比較して異常な活性によって特徴づけられる障害を処置するために使用され得る。さらに、本発明の抗NOVX抗体は、NOVXタンパク質を検出および単離し、ならびにNOVX活性を調節するために使用され得る。例えば、NOVX活性は、成長および分化、抗体産生、および腫瘍増殖を含む。

【0223】

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

【0224】

(スクリーニングアッセイ)

本発明は、調節因子、すなわち、NOVXタンパク質に結合するか、あるいは例えば、NOVXタンパク質発現またはNOVXタンパク質活性に対して刺激効果または阻害効果を有する、候補化合物または候補薬剤、あるいは試験化合物または試験薬剤(例えば、ペプチド、ペプチド模倣物、低分子または他の薬物)を同定するための方法(本明細書中において「スクリーニングアッセイ」とも称さ

れる)を提供する。本発明はまた、本明細書中で記載されるスクリーニングアッセイにおいて同定される化合物を含む。

【0225】

1つの実施形態において、本発明は、NOVXのタンパク質またはポリペプチド、あるいはその生物学的に活性な部分の膜結合形態に結合するか、またはそれら膜結合形態の活性を調節する、候補化合物もしくは試験化合物をスクリーニングするためのアッセイを提供する。本発明の試験化合物は、当該分野において公知のコンビナトリアルライブラリー法における任意の多数のアプローチを使用して得られ得、これらのライブラリーには、以下が挙げられる：生物学的ライブラリー；空間的にアクセス可能な平行固相もしくは溶液相ライブラリー；逆重畳を要する合成ライブラリー法；「1ビーズ1化合物」ライブラリー法；およびアフィニティクロマトグラフィー選択を使用する合成ライブラリー法。生物学的ライブラリーアプローチはペプチドライブラリーに限定されるが、他の4つのアプローチは、ペプチド、非ペプチドオリゴマーもしくは化合物の低分子ライブラリーに適用可能である(Lam(1997)Anticancer Drug Design 12:145)。

【0226】

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

【0227】

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。

【0228】

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 米国特許第5,233,409号)、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、米国特許第5,233,409号)において示され得る。

【0229】

1つの実施形態において、アッセイは細胞ベースのアッセイであり、ここで、膜結合形態のNOVXタンパク質、またはその生物学的に活性な部分を細胞表面上に発現する細胞が、試験化合物と接触され、そしてこの試験化合物が、NOVX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NOVXタンパク質に結合する能力の決定は、例えば、その試験化合物を放射性同位体標識または酵素標識とカップリングさせて、その結果、この試験化合物のNOVXタンパク質またはその生物学的に活性な部分に対する結合が、複合体におけるその標識化合物を検出することによって決定され得ることによって達成され得る。例えば、試験化合物は、¹

²⁵I、³⁵S、¹⁴C、または³Hで直接的または間接的のいずれかで標識され得、そしてその放射性同位体が、放射線放射の直接の計数により、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つの実施形態において、このアッセイは、膜結合形態のNOVXタンパク質、またはその生物学的に活性な部分とその細胞表面上に発現する細胞を、NOVXと結合する公知の化合物と接触させて、アッセイ混合物を形成する工程、このアッセイ混合物に試験化合物を接触させる工程、ならびにこの試験化合物がNOVX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NOVXタンパク質と相互作用する能力を決定する工程が、この試験化合物が、公知の化合物と比較して、NOVX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。

【0230】

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、これは、膜結合形態のNOVXタンパク質またはその生物学的に活性な部分を細胞表面上で発現する細胞を、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、NOVX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、NOVX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、NOVXタンパク質が、NOVX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、NOVX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、NOVXタンパク質を発現する細胞表面上の分子、第二の細胞表面上の分子、細胞外環境中の分子、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。NOVX標的分子は、非NOVX分子あるいは本発明のNOVXタンパク質またはポリペプチドである。1つの実施形態において、NOVX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

って細胞内への細胞外シグナル（例えば、化合物が膜結合NOVX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NOVXとの会合を容易にするタンパク質であり得る。

【0231】

NOVXタンパク質がNOVX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、直接的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、NOVXタンパク質がNOVX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、その標的の細胞セカンドメッセンジャー（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、適切な基質への標的の触媒活性/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NOVX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。

【0232】

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、NOVX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NOVX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、NOVX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つのこのような実施形態において、このアッセイは、NOVXタンパク質またはその生物学的に活性な部分を、NOVXを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NOVX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NOVX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、NOVX、またはその生物学的に活性な部分と優先的に相互作用する能力を

決定する工程を包含する。

【0233】

さらに別の実施形態において、アッセイは、無細胞アッセイであり、NOVX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NOVX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NOVXの活性を調節する能力の決定は、例えば、NOVXタンパク質が、NOVX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NOVXタンパク質の活性を調節する能力の決定は、NOVXタンパク質が、NOVX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、上記のように決定され得る。

【0234】

なお別の実施形態において、無細胞アッセイは、NOVXタンパク質またはその生物学的に活性な部分を、NOVXタンパク質を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NOVX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NOVXタンパク質と相互作用する能力の決定は、NOVXタンパク質が、NOVX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。

【0235】

本発明の無細胞アッセイは、NOVXタンパク質の、可溶性の形態または膜結合形態の両方の使用に受け入れられる。膜結合形態のNOVXタンパク質を含む無細胞アッセイの場合には、NOVXタンパク質の膜結合形態が溶液中に維持されるように、可溶化剤を利用することが望ましくあり得る。このような可溶化剤の例には、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)_n (Isotridecypoly(ethylene glycol ether)_n、N - ドデシル - N , N - ジメチル - 3 - アンモニオ - 1 - プロパンスルホネート、3 - (3 - コラミドプロピル)ジメチルアンモニオ - 1 - プロパンスルホネート(3 - (3 - cholamidopropyl)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。

【0236】

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、NOV Xタンパク質またはその標的分子のいずれかを固定して、そのタンパク質の一方または両方の非複合形態からの複合形態の分離を促進し、そしてそのアッセイの自動化に適用させることが、望ましくあり得る。試験化合物の、NOV Xタンパク質への結合、または候補化合物の存在下および非存在下での、NOV Xタンパク質の標的分子との相互作用は、これらの反応物を収容するために適切な任意の容器内で、達成され得る。このような容器の例には、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実施形態において、そのタンパク質の一方または両方がマトリックスに結合することを可能にするドメインを付加する融合タンパク質が、提供され得る。例えば、GST - NOV X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NOV X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NOV Xタンパク質の結合レベルまたは活性レベルを、標準的な技術を使用して決定し得る。

【0237】

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、NOV Xタンパク質、またはその標的分子のいずれかが、ビオチンとストレプトアビジンとの結合を利用して、固定され得る。ビオチニル化NOV Xタンパク質、または標的分子は、当該分野において周知の技術を使用して、ビオチン-NHS (N-ヒドロキシスクシンイミド) から調製され得 (例えば、ビオチニル化キット、Pierce Chemicals、Rockford、Ill.)、そしてストレプトアビジンで被覆した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、NOV Xタンパク質、または標的分子と反応性であるがNOV X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NOV Xタンパク質が、抗体の結合によってウェル内にトラップされ得る。このような複合体を検出するための方法には、GST固定複合体に関しての上記のものに加えて、NOV Xタンパク質または標的分子と反応性の抗体を使用する、複合体の免疫検出、ならびにNOV Xタンパク質、または標的分子に関する酵素活性の検出に依存する酵素結合アッセイが挙げられる。

【0238】

別の実施形態において、NOV Xタンパク質発現のモジュレーターは、細胞を候補化合物と接触させ、そして細胞中のNOV X 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NOV X 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NOV X 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、NOVX mRNAまたはタンパク質発現のモジュレーターとして同定され得る。例えば、NOVX mRNAまたはタンパク質の発現が候補化合物の非存在下より、その存在下における方が大きい(すなわち、統計的に有意に大きい)場合、この候補化合物は、NOVX 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、NOVX 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、NOVX 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NOVX mRNAまたはタンパク質の発現レベルは、NOVX 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。

【0239】

本発明のなお別の局面において、NOVX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; Iwabuchiら、1993 Oncogene 8:1693-1696; および Brent WO94/10300を参照のこと)、NOVX(「NOVX結合タンパク質」または「NOVX-bp」)に結合するか、またはこれと相互作用し、そしてNOVX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NOVX結合タンパク質はまた、例えば、NOVX経路の上流または下流エレメントとしてNOVXタンパク質によるシグナル伝達に関与するようである。

【0240】

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、NOVX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、D

NA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、NOVX依存性複合体を形成し得る場合、この転写因子のDNA結合ドメインおよび活性化ドメインは、非常に近くにある。近位にあることにより、転写因子に応答性の転写調節部位に作動可能に連結されたレポーター遺伝子(例えば、LacZ)の転写を可能にする。レポーター遺伝子の発現が検出され得、そして機能的転写因子を含む細胞コロニーは、単離され得、そしてNOVX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。

【0241】

本発明はさらに、上記のスクリーニングアッセイにより同定される新規な薬剤および本明細書中に記載されるような処置のためのこの薬剤の使用に関する。

【0242】

(検出アッセイ)

本明細書中で同定されるcDNA配列の一部またはフラグメント(および対応する完全な遺伝子配列)は、ポリヌクレオチド試薬として多くの方法で使用され得る。例えば(限定はされない)、これらの配列を使用して、(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(ii)生物学的サンプルの法医学的識別を助け得る。これらの適用のうちのいくつかは、以下の節において記載される。

【0243】

(組織型決定(tissue typing))

本発明のNOVX配列は、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、RFLP(米国特許第5,272,057号に記載の「制限フラグメント長多型」)のためのさらなるDNAマーカーとして有用である。

【0244】

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NOVX配列を用いて、配列の5'末端および3'末端から2つのPCRプライマーを調製し得る。次いで、これらのプライマーを使用して、個体のDNAを増幅し得、引き続いて、配列決定し得る。

【0245】

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NOVX配列は、ヒトゲノムの部分を独特に表す。対立遺伝子変異は、これらの配列のコード領域においてある程度生じ、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変異は、各500塩基につき約1回の頻度で生じると見積もられる。対立遺伝子変異の多さは、制限フラグメント長多型(RFLP)を含む単一ヌクレオチド多型(SNP)に起因する。

【0246】

本明細書中で記載の配列の各々は、ある程度、標準物質(これに対して個体からのDNAが識別の目的で比較され得る)として使用され得る。より多くの多型が非コード領域で生じるので、個体を区別するために、それほど多くの配列が必要であるわけではない。非コード配列は、おそらく10~1,000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(例えば、配列番号1、3、5、7、9、11、もしくは13における配列)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適切な数は、500~2,000である。

【0247】

(予測医療)

本発明はまた、診断アッセイ、予後アッセイ、薬物ゲノム(pharmacogenomics)

genomics) 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、NOVXタンパク質および/または核酸の発現、ならびにNOVX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NOVX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。異常なNOVX発現活性に関連した障害としては、例えば、腎臓および膵臓の機能不全の障害(例えば、糖尿病、高血圧、肝硬変、および癌)が挙げられる。

【0248】

本発明はまた、個体が、NOVX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、NOVX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NOVXのタンパク質、核酸の発現または生物学的活性によって特徴付けられるかまたはそれに関連した障害の発病の前に個体を予防的に処置する。

【0249】

本発明の別の局面は、個体におけるNOVXタンパク質、核酸の発現または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因子(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、特定の因子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)に基づいた、個体の治療的または予防的処置のための因子(例えば、薬物)の選択を可能にする。

【0250】

本発明のなお別の局面は、臨床試験におけるNOVXの発現または活性に対する因子(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。

【0251】

これらおよび他の因子は、以下の節でさらに詳細に記載される。

【0252】

(診断アッセイ)

生物学的サンプルにおけるNOVXの存在または非存在を検出するための例示的な方法は、試験被験体から生物学的サンプルを得る工程、およびその生物学的サンプルをNOVXタンパク質またはNOVXタンパク質をコードする核酸(例えば、mRNA、ゲノムDNA)を検出し得る化合物もしくは薬剤とを接触させ、その結果、NOVXの存在が、その生物学的サンプルにおいて検出される、工程を包含する。NOVXのmRNAまたはゲノムDNAを検出するための薬剤は、NOVXのmRNAまたはゲノム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NOVX核酸(例えば、配列番号1、3、5、7、9、11、もしくは13またはその部分の核酸(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、そしてストリンジентな条件下でNOVX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中に記載される。

【0253】

NOVXタンパク質を検出するための1つの薬剤は、NOVXと結合し得る抗体、好ましくは、検出可能な標識を有する抗体である。本発明のタンパク質に対する抗体は、タンパク質の局在および/または定量化に関連する、当該分野で公知の方法において使用され得る(例えば、適切な生理学的サンプル内のタンパク質のレベルの測定における使用のため、診断方法における使用のため、タンパク質の画像化における使用のためなど)。所定の実施形態では、タンパク質に対する抗体または抗原結合ドメインを含むその誘導体、フラグメント、アナログまたはホモログは、薬理的に活性な組成物として使用される。

【0254】

本発明のタンパク質に特異的な抗体は、標準技術(例えば、免疫親和性クロマトグラフィまたは免疫沈降)によって、タンパク質を単離するために用いられ得る。このような抗体は、細胞からの天然のタンパク質抗原の精製および宿主細胞

において発現される組換え的に産生された抗原の精製を容易にし得る。さらに、抗原タンパク質の発現の量およびパターンを評価するために、このような抗体を用いて（例えば、細胞の溶解液または細胞上清における）抗原タンパク質を検出し得る。このタンパク質に対する抗体は、例えば、所定の処置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カップリングする（すなわち、物理的に連結する）ことにより容易にされ得る。検出可能な物質の例としては、種々の酵素、補欠分子団、蛍光物質、発光物質、生物発光物質および放射性物質が挙げられる。適切な酵素の例としては、西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、 α -ガラクトシダーゼまたはアセチルコリンエステラーゼが挙げられ；適切な補欠分子団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；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；発光物質の例としては、ルミノールが挙げられ；生物発光物質の例としては、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、そして、適切な放射性物質の例としては ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{35}S または ^3H が挙げられる。

【0255】

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 $F(ab')_2$ ）が使用され得る。用語「標識（された）」とは、プローブまたは抗体に関して、検出可能な物質をそのプローブもしくは抗体にカップリングさせる（すなわち、物理的に連結する）ことによって、そのプローブまたは抗体を直接標識すること、ならびに、直接標識される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を間接的に標識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

チンを用いる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、生物学的サンプル中のNOVXのmRNA、タンパク質またはゲノムDNAを、インビトロおよびインビボで検出し得る。例えば、NOVX 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。NOVX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。NOVXゲノムDNAを検出するためのインビトロ技術としては、サザンハイブリダイゼーションが挙げられる。さらに、NOVX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NOVX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、放射性マーカを用いて標識され得る。この被験体における放射性マーカ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。

【0256】

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。

【0257】

1つの実施形態において、本発明の方法はさらに、コントロール被験体からコントロール生物学的サンプルを得る工程、そのコントロールサンプルを、NOVXのタンパク質、mRNAもしくはゲノムを検出し得る化合物または薬剤と接触させ、その結果、NOVXのタンパク質、mRNAまたはゲノム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NOVXのタンパク質、mRNAまたはゲノムDNAの存在と、その試験サンプルにおけるNOVXのタンパク質、mRNAまたはゲノムDNAの

存在とを比較する工程を包含する。

【0258】

本発明はまた、生物学的サンプルにおけるNOVX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NOVXのタンパク質またはmRNAを検出し得る、標識された化合物または薬剤；そのサンプルにおいてNOVXの量を決定するための手段；およびそのサンプルにおけるNOVX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、適切な容器内にパッケージングされ得る。このキットは、さらに、NOVX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説明書を備え得る。

【0259】

(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、NOVX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、NOVXのタンパク質、核酸の発現または活性に関連する障害を有するかまたはその発症の危険性を有する被験体を同定し得る。このような障害としては、腎臓および膵臓の機能不全の障害（例えば、糖尿病、高血圧、肝硬変、および癌）が挙げられる。

【0260】

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、NOVX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NOVX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、NOVXのタンパク質または核酸の存在は、NOVX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。

【0261】

さらに、本明細書に記載される予後アッセイを使用して、被験体に薬剤（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）を投与してNOVX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、このような方法を使用して、被験体が障害のための薬剤で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、NOVXの異常発現または異常活性に関連する障害についての薬剤を用いて、被験体が有効に処置され得るか否かを決定するための方法を提供する。ここで、試験サンプルが得られ、そしてNOVXのタンパク質または核酸が検出される（例えば、ここで、NOVXのタンパク質または核酸の存在は、この薬剤が投与されてNOVXの異常発現または異常活性に関連する障害が処置され得る被験体についての、診断指標である）。

【0262】

本発明の方法はまた、NOVX遺伝子における遺伝的損傷を検出し、それによって、その損傷遺伝子を有する被験体が異常な細胞増殖および/または分化によって特徴付けられる障害についての危険性を有す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、NOVX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少なくとも1つの変更によって特徴付けられる遺伝的損傷の存在または非存在、あるいはNOVX遺伝子の誤発現を検出する工程を包含する。例えば、そのような遺伝的損傷は、以下の少なくとも1つの存在を確認することによって検出され得る：(i) NOVX遺伝子からの1つ以上のヌクレオチドの欠失；(ii) NOVX遺伝子への1つ以上のヌクレオチドの付加；(iii) NOVX遺伝子の1つ以上のヌクレオチドの置換、(iv) NOVX遺伝子の染色体再配置；(v) NOVX遺伝子のメッセンジャーRNA転写物のレベルにおける変更、(vi) NOVX遺伝子の異常改変（例えば、ゲノムDNAのメチル化パターンの異常改変）、(vii) NOVX遺伝子のメッセンジャーRNA転写物の非野生型スプライシングパターンの存在、(viii) NOVXタンパク質の非野生型レ

ベル、(ix)NOVX遺伝子の対立遺伝子の欠失、ならびに(x)NOVX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、NOVX遺伝子における損傷を検出するために使用され得る、多数の公知のアッセイ技術が存在する。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。

【0263】

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号および同第4,683,202号を参照のこと)(例えば、アンカーPCRまたはRACE PCR)、あるいは、連結連鎖反応(LCR)(例えば、Landegranら(1988)Science 241:1077-1080;およびNakazawaら(1994)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 91:360-364を参照のこと)におけるプローブ/プライマーの使用を包含する。後者は、NOVX遺伝子における点変異を検出するために特に有用であり得る)(Abravayaら,1995 Nucl Acids Res 23:675-682を参照のこと)。この方法は、患者から細胞のサンプルを収集する工程、核酸(例えば、ゲノム、mRNAまたはその両方)をそのサンプルの細胞から単離する工程、NOVX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、NOVX遺伝子(存在する場合)のハイブリダイゼーションおよび増幅が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サイズ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、本明細書中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ことが望ましくあり得ることが予想される。

【0264】

代替的な増幅方法としては、以下が挙げられる：当業者に周知な技術を用いた

、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を参照のこと)、転写増幅系 (Kwohら、1989、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:1173-1177を参照のこと)、Qレプリカーゼ (Lizardiら、1988、BioTechnology 6:1197を参照のこと)、または他の任意の核酸増幅方法。これらの検出スキームは、核酸分子が非常に極少数で存在する場合に、そのような核酸分子の検出のために特に有用である。

【0265】

代替の実施形態において、サンプル細胞からのNOVX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異は、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。

【0266】

他の実施形態において、NOVXにおける遺伝子変異は、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) Nat. Med. 2:753-759)。例えば、NOVXにおける遺伝子変異は、Croninら(前出)に記載されるように光生成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、プローブの第一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にわたって走査し、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、その配列間の

塩基変化を同定し得る。この工程は、点変異の同定を可能にする。この工程に第二のハイブリダイゼーションアレイが続き、これは、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ることによる特定の変異の特徴付けを可能にする。各変異アレイは、一方が野生型遺伝子に対して相補的であり、そして他方が変異遺伝子に対して相補である並行プローブセットから構成される。

【0267】

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、NOVX遺伝子を直接配列決定し得、そしてサンプルNOVX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、MaxamおよびGilbert(1977) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 74:560またはSanger(1977) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 74:5463によって開発された技術に基づくものが挙げられる。診断アッセイを実施する場合、種々の自動化配列決定手順のいずれかを利用し得ることもまた意図される（例えば、Naevら(1995) Biotechniques 19:448を参照のこと）。これらには、質量分析法による配列決定法（例えば、PCT国際公開番号WO 94/16101; Cohenら(1996) Adv 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。

【0268】

NOVX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NOVX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。

【0269】

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NOVX cDNAにおける点変異を検出およびマッピングするために規定された系において使用する。例えば、E. coliのmutY酵素は、G/AミスマッチでAを切断し、そしてHeLa細胞からのチミジンDNAグリコシラーゼは、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、NOVX配列（例えば、野生型NOVX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、電気泳動プロトコー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。

【0270】

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、NOVX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NOVX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。

【0271】

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

【0272】

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。

【0273】

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ミスマッチが妨げられ得るかまたはポリメラーゼ伸長を減少し得る、1つのプライマーの3'の最末端で、目的の変異を保有し得る(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。

【0274】

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、NOVX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。

【0275】

さらに、NOVX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。

【0276】

（薬理ゲノム学（Pharmacogenomics））

NOVX活性（例えば、NOVX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、障害（例えば、腎臓および膵臓の機能不全の障害（例えば、糖尿病、高血圧、肝硬変、および癌））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、NOVXタンパク質の活性、NOVX核酸の発現、あるいは個体におけるNOVX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。

【0277】

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、薬物に反応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 Ch

em, 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。

【0278】

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応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の場合に、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。

【0279】

従って、NOVXのタンパク質の活性、NOVXの核酸の発現、あるいは個体におけるNOVX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NOVX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。

【0280】

（臨床試験中の効果のモニタリング）

NOVX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、NOVXの遺伝子発現、タンパク質レベルを増加するため、またはNOVX活性をアップレギュレートする薬剤の効力は、減少したNOVX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NOVX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、NOVXの遺伝子発現、タンパク質レベルを減少、またはNOVX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NOVX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NOVX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、NOVX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。

【0281】

例えば、NOVXを含む遺伝子（これは、NOVX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NOVXおよびこの障害に関与する他の遺伝子の発現のレベルについて分析され得る。遺伝子発現のレベル（すなわち、遺伝子発現パターン）は、本明細書中に記載されるように、ノーザンブロット分析もしくはRT-PCRによるか、あるいは産生されるタンパク質の量を測定することによるか、本明細書中に記載されるような方法の1つによるか、あるいはNOVX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。

【0282】

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、NOVXのタンパク質、mRNA、またはゲノムDNAの発現のレベルを検出する工程；(iii) この被験体から1つ以上の投与後サンプルを得る工程；(iv) この投与後サンプルにおいて、NOVX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NOVX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NOVX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NOVX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NOVX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。

【0283】

(処置方法)

本発明は、異常なNOVX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。異常なNOVX発現に関連する障害には、例えば、腎臓および膵臓の機能不全の障害(例えば、糖尿病、高血圧、肝硬変、および癌)が挙げられる。これらの治療方法は、以下により詳細に記載される。

【0284】

(疾患および障害)

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

【0285】

(その疾患または障害に罹患していない被験体と比較して)減少したレベルまたは生物学的活性によって特徴付けられる疾患および障害は、活性を増加させる

(すなわち、活性に対するアゴニストである)治療剤を用いて処置され得る。活性をアップレギュレートする治療剤は、治療的または予防的な様式で、投与され得る。利用され得る治療剤としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない:上記ペプチド、またはそのアナログ、誘導體、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ーを増加させるアゴニスト。

【0286】

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

【0287】

(予防的方法)

1つの局面において、本発明は、被験体において異常なNOVXの発現または活性と関連する疾患または状態を、NOVXの発現または少なくとも1つのNOVX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NOVX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NOVX異常の特徴である症状の発現の前に行い得る。このNOVX異常の型に依存して、例えば、NOVXアゴニスト薬剤またはNOVX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。本発明の予防方法は、以下の小区分において、さらに議論される。

【0288】

(治療方法)

本発明の別の局面は、治療目的のためにNOVXの発現または活性を調節する方法に関する。本発明の調節方法は、細胞を、その細胞に関するNOVX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。NOVX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、NOVXタンパク質の天然に存在する同族リガンド、ペプチド、NOVX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、NOVX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NOVXタンパク質、およびその細胞に導入されたNOVX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、NOVX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NOVX核酸分子、および抗NOVX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、NOVX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、NOVX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、NOVX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、NOVX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。

【0289】

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

【0290】

本発明の抗体（ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、ヒト化抗体、および完全なヒト抗体を含む）は、治療剤として使用され得る。このような薬剤は、一般的に、被験体における疾患および病理を処置または予防するために使用される。抗体調製物（好ましくは、その標的抗原について高い特異性および高い親和性を有するもの）は、被験体に対して投与され、そして一般的に、その標的との結合に起因して効果を有する。このような効果は、所定の抗体分子と問題の標的抗原との間の相互作用の特異的性質に依存して、2つの種類のうちの1つであり得る。第1の例では、抗体の投与は、標的とそれが天然に結合する内因性リガンドとの結合を抑制または阻害し得る。この場合、抗体は、標的に結合し、そして天然に存在するリガンドの結合部位をマスクし、ここでそのリガンドは、エフェクター分子として働く。従って、レセプターは、シグナル伝達経路を媒介する。そのリガンドは、シグナル伝達の原因である。

【0291】

あるいは、その効果は、標的分子上のエフェクター結合部位への結合によって、抗体が生理学的結果を誘発するものであり得る。この場合、標的（存在し得ないかまたは疾患もしくは病理を欠損し得る内因性リガンドを有するレセプター）が、代理のエフェクターリガンドとして抗体を結合して、レセプターによって、レセプターに基づくシグナル伝達事象を開始する。

【0292】

治療的に有効な量の本発明の抗体は、治療目的を達成するために必要とされる量を一般的にいう。上記のように、これは、いくつかの場合において標的の機能を妨害し、そして他の場合において生理学的応答を促進する、抗体とその標的抗

原の間の結合相互作用であり得る。投与されるために必要とされる量は、その特異的抗原についての抗体の結合親和性にさらに依存し、そしてまた、その量は、投与される抗体が、その抗体が投与される自由な体積の他の被験体から枯渇される速度に依存する。本発明の抗体または抗体フラグメントの治療的有効用量の一般的な範囲は、非限定的な量として、約0.1mg/kg体重～約50mg/kg体重である。一般的な投薬の頻度は、例えば、毎日2回～1週間に1回の範囲であり得る。

【0293】

(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行って、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。

【0294】

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關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。

【0295】

本発明はさらに、以下の実施例において記載され、この実施例は、特許請求の範囲において記載される本発明の範囲を限定しない。

【0296】

(実施例)

(実施例1：NOV1-7核酸を同定する方法)

本発明のNOV1-7核酸配列を、本発明のDNA配列の、全長および/もしくは部分に及ぶcDNAフラグメントの実験室でのクローニング、ならびに/または公開されているヒト配列データベースから、本発明のDNA配列の全長およ

び/もしくは部分をインシリコ(in silico)予測することによって誘導した。実験室でのクローニングを、以下のような方法によって行った: Seq Calling™、RACE、エキソン連結、CuraSelect。これらの方法を、簡潔にまとめると以下ようになる。

【0297】

Seq Calling™: cDNAを、種々のヒトサンプルより誘導する。これらのサンプルは、異なるドナー由来の、複数の組織型、正常状態および疾患状態、生理的状态、ならびに発生学的状態を表す。サンプルを、組織全体、初代細胞または組織培養初代細胞または細胞株として得た。細胞および細胞株を、遺伝子発現を調節する生物学的薬剤または化学的薬剤(例えば、増殖因子、ケモカイン、またはステロイド)で処理し得た。次いで、誘導されたcDNAを、CuraGen独自のSeq Calling技術を使用して配列決定した。全てのサンプルからのcDNA配列を、それらの自体および公開されたESTを用い、CuraGenのSeq CallingアセンブリのヒトSeq Callingデータベースを生成する為のバイオインフォマティクスプログラムを使用してアセンブルした。各アセンブリは、同一または異なったヒトサンプル由来の、1つ以上の重複したcDNA配列を含む。フラグメントおよびESTを、アセンブリに対する構成要素として含めるとき、別のアセンブリの構成要素とこれらとの重複している範囲を、50bpを超えてものにおいて、95%を最小値とした。各アセンブリは、遺伝子および/またはこれの改変体(例えば、スプライス形態および/または一塩基多型(SNPs)ならびにこれらの組合せ)を表し得る。さらに、配列トレース(traces)を、手動により評価し、そして適切な場合は、修正のために編集した。

【0298】

RACE: cDNA端の高速増幅(Rapid amplification of cDNA ends)(RACE)のようなポリメラーゼ連鎖反応に基づいた技術を、本発明のcDNAの推定配列を単離するか、または完成させるために使用した。通常、複数のクローンを、Seq Callingプロセスと同様にアセンブルされた配列を誘導するためのSeq Callingの場合のように

、1つ以上のサンプルから配列決定した。さらに、配列トレースを、手動で評価し、そして適切な場合は、修正のために編集した。

【0299】

エキソン連結：本配列をコードするcDNAを、ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）により、以下のヒトcDNAのプールについて、クローニングした：副腎、骨髄、脳 - 扁桃、脳 - 小脳、脳 - 海馬、脳 - 黒質、脳 - 視床、脳全体、胎児の脳、胎児の腎臓、胎児の肝臓、胎児の肺、心臓、腎臓、リンパ腫（lymphoma） - ラージ（Raji）、乳腺、膵臓、下垂体、胎盤、前立腺、唾液腺、骨格筋、小腸、脊髄、脾臓、胃、精巣、胸腺、気管、子宮。プライマーを、本発明のDNA / タンパク質配列の完全長または部分（1つ以上のエキソン）についてのインシリコ予測に基づいてか、または深く関連するヒト配列もしくは、他の種由来の配列に対する予測されたエキソンの翻訳された相同性によって、設計した。通常、複数のクローンを、Seq Callingプロセスと同様にアSEMBLされた配列を誘導するためのSeq Callingの場合のように、1つ以上のサンプルから配列決定した。さらに、配列トレースを、手動で評価し、そして適切な場合は、修正のために編集した。

【0300】

改変体の配列はまた、本出願に含まれる。改変体の配列は、単一ヌクレオチド（SNP）多型を含み得る。SNPは、いくつかの例で、SNPを含むヌクレオチド配列が、cDNAとして始まるということの意味する「cSNP」として呼ばれる。SNPは、いくつかの方法で生じ得る。例えば、SNPは、多型部位における、1つのヌクレオチドの別のヌクレオチドとの置換に起因する。このような置換は、遷移 またはトランスバージョンのいずれかであり得る。SNPはまた、参照対立遺伝子に対する、1ヌクレオチド欠失または1ヌクレオチド挿入により生じ得る。従って、この多型部位は、1つの対立遺伝子が別の対立遺伝子中の特定のヌクレオチドに関してギャップを保持する部位である。遺伝子中に存在するSNPは、この遺伝子によってコードされているアミノ酸配列の改変を、SNPの位置で生じる。遺伝子内SNPはまた、SNPを含むコドンが遺伝子コードの冗長性の結果として同一のアミノ酸をコードしている場合には、サイレント

であり得る。遺伝子領域外、または遺伝子内だがイントロン中に存在するSNPは、タンパク質のアミノ酸配列のいずれにおいても変化を生じないが、発現パターンの改変された調節（例えば、一時的な発現、生理学的応答調節、細胞型発現調節、発現強度、転写メッセージの安定性における改変）を生じ得る。

【0301】

例えば、ゲノムクローンAC068385を、アセチルグルコサミニルトランスフェラーゼ (Acetylglucosaminyltransferase) および/またはアセチルグルコサミニルトランスフェラーゼファミリーのメンバーについてのCuraGen Corporationの配列ファイルを使用し、GenBankにより利用可能であるかまたはHuman Genome Project Sequencing Centersから得られる、日々作製されるゲノムファイルに対して実行したTBLASTNによって、第11染色体上で同定した。これらのゲノムクローンをエキソン予測プログラムGenscanおよびGrailならびに他の分析プログラム（すなわち、BLASTN、TBLASTN、TFASTN、TFASTA、BLASTX）によって分析し、アミノ酸鎖へ翻訳される場合に、目的のオリジナルの、タンパク質またはタンパク質ファミリーに対する類似性が維持される推定エキソン（すなわち推定コード配列）に対応する領域を同定した。いくつかのさらなるゲノム領域をまた、本発明に包含されるものとして同定し得た。これは、SeqCallingアセンブリ（SeqCallingは、発現量全体が低い遺伝子の差次的発現を含む差次的発現されたフラグメントを同定するCuraGen Corporation's独自技術である）および/またはこれらの領域にマップされたESTならびにこれらのアセンブリおよび/またはESTをまた、相同性またエキソン予測によって定義された領域と重ね合わされたからか、または、このアセンブリおよび/またはESTの配置が、相同性または本発明に含まれるエキソン予測により定義されたゲノム領域の近傍内に存在するからである。

【0302】

このようにして同定された配列を、手動で結び付け、次いでまたCuraGenのSeqCallingを使用し、アセンブリ配列および/または公開され利

用可能であるEST配列から取得した1つ以上のさらなる配列を使用することにより伸長した。SeqCallingアセンブリ配列を、予測配列を使用して、CuraGenのSeqCallingデータベースに対してBLASTNサーチすることにより同定した。この予測配列に対して100%同一な領域を有していたSeqCallingアセンブリ配列を、さらなる分析のために選択した。これは、この同一性が、選択されたクローンとして、同一のゲノムの位置由来であることを示すからである。SeqCallingアセンブリである、s3aq:139758431; s3aq:134071499およびs3aq:105331086を、適切に有意な類似度を有しているとして同定した。SeqCallingアセンブリs3aq:139758431は、237つの構成要素を有しており; s3aq:134071499は、18つの構成要素を有しており; s3aq:105331086は、3つの構成要素を有している。

【0303】

以下の供給源からの配列は、本明細書中で同定された新規配列に到達したのものとして含まれる: AC068385、s3aq:139758431、s3aq:134071499、およびs3aq:105331086。

【0304】

新規のアセチルグルコサミニルトランスフェラーゼ様遺伝子または、次いで誘導されたこのスプライス形態のうちの1つについての、DNA配列およびタンパク質配列を、本明細書中でNOV7 (CuraGen登録番号SC20692369) として示した。

【0305】

(実施例2. 種々の細胞および組織におけるNOV7の定量発現分析)

様々なクローンの定量発現分析を、様々な正常細胞および病理学的に誘導された細胞、細胞株、ならびに組織由来のRNAサンプルを含むマイクロタイプレートを使用して評価した。これには、リアルタイム定量PCR (RTQ PCR; TAQMAN (登録商標)) を使用した。RTQ PCRを、Perkin-Elmer Biosystems ABI PRISM (登録商標) 7700配列検出システムに基づいて実施した。サンプルの様々な収集物をプレート

上にアセンブルし、そしてこれをパネル1（正常な供給源および癌である供給源からの細胞および細胞株を含む）およびパネル3（様々な癌である供給源に由来するサンプルを含む）と呼ぶ。

【0306】

第1に、RNAサンプルをアクチンおよびGAPDHのような構成的に発現している遺伝子に対して正規化した。RNA（合計約50ngまたは約1ngポリA+）を、TAQMAN（登録商標）Reverse Transcription Reagents Kit（PE Biosystems, Foster City, CA; カタログ番号N808-0234）および製造者のプロトコールに従ったランダムな6量体を使用してcDNAに変換した。反応を、20μlで実施し、そして30分間48℃でインキュベートした。次いで、cDNA（5μl）を、製造業者のプロトコールに従って、アクチンおよびGAPDH TAQMAN（登録商標）Assay Reagents（PE Biosystems; カタログ番号は、それぞれ、4310881Eおよび4310884Eである）およびTAQMAN（登録商標）universal PCR Master Mix（PE Biosystems; カタログ番号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25μl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、対数スケールを使用するCT値（所与のサンプルが、蛍光の閾値レベルを超えるサイクル）として記録し、所与のサンプルと最も低いCT値を有するサンプルとの間のRNA濃度の差は、 2^{CT} 乗として示した。次いで、相対発現パーセントを、このRNAの差の逆数をとって100を掛けることにより得る。アクチンおよびGAPDHについて得られたCTの平均値は、RNAサンプルを正規化するために使用した。最も高いCT値を生じる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、 2^{-CT} - アクチン/GAPDHの平均CT値に従ってこのサンプルと比較して希釈した。

【0307】

正規化RNA（5μl）を、cDNAに転換し、製造者の指示に従って、On

e Step RT-PCR Master Mix Reagents (PE Biosystems; カタログ番号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、インプットとして標的配列を使用する、Perkin Elmer BiosystemのPrimer Express Software パッケージ (Apple ComputerのMacintosh Power PC用のバージョンI) または他のアルゴリズムに従って、各アッセイに対して設定した。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、プライマーの融点 (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 であり。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、未反応の色素を除去するために2回HPLC精製し、プローブのそれぞれ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、マススペクトルによって評価した。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、各々900 nMであり、そしてプローブの濃度は、200 nMであった。

【0308】

PCR条件: 各組織および各細胞株由来の正規化RNAを、96ウェルPCRプレート (Perkin Elmer Biosystems) の各ウェルにスポットした。2つのプローブ (標的特異的プローブおよび標的プローブで多重化された別の遺伝子特異的プローブ) を含むPCRカクテルを、PE Biosystems 7700の1x TaqMan™ PCR Master Mix (5mMのMgCl₂、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、次いで以下の増幅 / PCR サイクルを実施した : 95 で 10 分、次いで 90 で 15 秒間、60 で 1 分間を 40 サイクル。

【0309】

パネル1の結果について、以下の略記が使用される。

【0310】

ca. = 癌、

* = 転移から樹立された、

met = 転移、

small cell var = 小細胞変異体、

non-s = non-sm = 非小、

squam = 扁平上皮 (squamous)、

pl. eff = pleffusion = 滲出、

glia = グリア細胞、

astro = 星状細胞、および

neuro = 中枢神経系。

【0311】

クローン20692369を研究するために使用したプライマー - プロブセットは、Ag795であり、これは表28に示され、パネル1についてのTaqMan分析の結果は、表29に示される。

【0312】

表28 . プライマー - プロブセット (Ag795)

【0313】

【表28】

プライマー	配列	TM, °C	長さ	開始位置
順方向	5'-TGGAGAACCAGAGTGACTGGTA-3' (配列番号54)	59.8	22	597
プローブ	FAM-5'- AACCTCTGGAAGAACCACAGGCCCT- 3'-TAMRA (配列番号55)	70	25	626
逆方向	5'-AGCAGGATCACACCTGTGTAA-3' (配列番号56)	59.7	22	672

表29. パネル1の細胞におけるクローン20692369の実時間発現分析

【0314】

【表29】

糸目系裁名	Rel. Expr., %	Rel. Expr., %	糸目系裁名	Rel. Expr., %	Rel. Expr., %
	1.2tm9 54f	1.2tm1 127f		1.2tm9 54f	1.2tm1 27f
内皮系細胞	0.0	0.0	腎臓 ca.786-0	0.0	0.0
内皮系細胞 (処置した)	0.3	1.2	腎臓 ca.A498	0.0	0.0
腎臓	43.8	18.4	腎臓 ca. RXF 393	0.0	0.0
膵臓癌 CAPAN2	0.2	0.3	腎臓 ca. ACHN	0.0	4.9
胃小野 (new lot*)	1.1	5.0	腎臓 ca. UO-31	0.0	0.0
甲状腺	19.6	20.3	腎臓 ca. TK-10	0.0	0.2
唾液腺	9.2	27.7	肝臓	0.6	1.4
下垂体	12.5	8.4	肝臓 (胎児)	0.6	7.3
脳 (胎児)	0.0	0.0	肝臓 ca. (胚芽細胞腫) HepG2	9.7	53.6
脳 (全て)	0.0	0.0	肝臓	1.9	5.2
脳 (扁桃)	0.0	0.0	肝臓 (胎児)	2.8	4.8
脳 (小脳)	0.0	0.0	肝臓 ca. (小脳腫) LX-1	67.8	59.9
脳 (海馬)	0.2	0.6	肝臓 ca. (小脳腫) NCI-H69	2.5	3.2
脳 (視床)	0.1	0.2	肝臓 ca. (小脳腫 var) SEH-77	5.7	7.8
小脳皮質	0.0	0.0	肝臓 ca. (大脳腫) NCI-H460	0.1	0.2
脊髄	0.1	0.3	肝臓 ca. (非小脳腫) A549	0.2	2.7
中脳神経系 Ca. (小脳細胞 / 星状細胞) U87-MG	0.0	0.0	肝臓 ca. (自発小脳腫) NCI-H23	1.2	4.6
中脳神経系 Ca. (小脳細胞 / 星状細胞) U-118-MG	0.0	0.0	肝臓 ca. (非小脳腫) HOP-62	1.8	1.5
中脳神経系 Ca. (星状細胞) SW1783	0.0	0.0	肝臓 ca. (非小脳腫) NCI-H522	2.3	3.2
中脳神経系 (神経系細胞; 転移) SK-N-AS	7.4	7.9	肝臓 ca. (癌腫) SW 900	1.7	3.7
中脳神経系 Ca. (星状細胞) SF-539	0.2	0.1	肝臓 ca. (癌腫) NCI-H596	1.8	2.4
中脳神経系 Ca. (星状細胞) SN1757	0.0	0.0	乳がん	7.1	5.7

(表29の続き ①)

中脳神経系ca.(神経細胞) SNB-19	0.3	0.5	乳癌ca.*(pl. 浸出) MCF-7	1.5	8.3
中脳神経系ca.(神経細胞) U251	0.2	0.1	乳癌ca.*(pl.cf) MDA-MB-231	0.1	0.0
中脳神経系ca.(神経細胞) SN-215	0.0	0.0	乳癌ca.*(pl. 浸出) T47D	16.6	19.9
心臓	0.0	0.0	乳癌ca. BT-549	0.0	0.0
骨格筋(new lot*)	0.1	0.0	乳癌ca. MDA-N	0.0	0.0
骨髄	0.7	1.9	卵巣	0.7	3.5
月経	1.9	4.8	卵巣 ca. OVCAR-3	15.8	17.3
月経	2.0	3.2	卵巣 ca. OVCAR-4	4.4	13.7
リンパ節	4.5	12.7	卵巣 ca. OVCAR-5	0.9	2.4
糸状腸直腸	0.0	0.3	卵巣 ca. OVCAR-8	1.7	8.6
胃	5.7	24.0	卵巣 ca. IGROV-1	3.5	13.7
小腸	1.1	1.0	卵巣 ca.*(腹水) SK-OV-3	0.0	0.2
糸状腸ca. SW480	14.0	21.9	子宮	0.4	2.0
糸状腸ca.*(SW480 転移) SW620	100.0	100.0	胎盤	33.2	76.3
糸状腸ca. HT29	3.0	5.3	前立腺	8.0	25.4
糸状腸ca. HCT-116	31.6	68.8	前立腺*(骨転移) PC-3	2.4	11.0
糸状腸ca. CaCo-2	15.3	36.4	精巣	1.5	2.1
Mod Diffへの83219CC セル(ODO3866)	0.4	3.3	黒色腫 Hs688(A).T	0.0	0.0
糸状腸ca. HCC-2998	41.5	47.6	黒色腫*(転移) Hs688(B).T	0.0	0.0
胃 ca.*(肝臓転移) NCI-N87	29.3	29.5	黒色腫 UACC-62	0.1	0.0
膀胱	3.7	6.3	黒色腫 M14	0.2	1.2
乳管	5.2	15.4	黒色腫 LOX IMVI	0.0	0.0
腎臓	11.5	29.1	黒色腫*(転移) SK-MEL-5	0.3	0.3
腎臓(胎児)	0.0	18.4	胎児	0.0	0.2

表29の結果は、クローン20692369がいくつかの大腸癌サンプルにおいては高度に発現されるが、正常な結腸直腸においては全く発現されないことを示している。このクローンはまた、肺の小細胞癌サンプル、肝臓癌サンプルにおいて差次的に高度に発現され、特定の他の癌サンプルにおいて中度に発現される。このクローンはまた、これらの癌組織に関連しない特定の正常組織においても発現される。

【0315】

パネル3についての結果を表30に示す。

【0316】

表30. パネル3の細胞におけるクローン20692369の実時間発現分析

【0317】

【表30】

組織名	Rel. Exp. % 3D tm 374	組織名	Rel. Exp. % 3 Dtm
94905_Daoy_髄芽細胞腫/小脳_sscDNA	0.3	94954_Ca Ski_頸部頰表皮癌(転移)_sscDNA	3.4
94906_TF671_髄芽細胞腫/小脳_sscDNA	0.2	94955_ES-2_卵巣明細胞癌_sscDNA	0.0
94907_D283_Med_髄芽細胞腫/小脳_sscDNA	5.6	94957_Ramos/6時間刺激";PMA/イオノマイシンで6時間刺激_sscDNA	0.2
94908_PFSK-1_初期神経外胚葉/小脳_sscDNA	0.5	94958_Ramos/14時間刺激";PMA/イオノマイシンで14時間刺激_sscDNA	0.2
94909_XF-498_CNS_sscDNA	34.2	94962_MEG-01_慢性骨髄性白血病(巨核芽球)_sscDNA	0.0
94910_SNB-78_CNS/神経膠腫_sscDNA	0.1	94963_Raji_パーキットリンパ腫_sscDNA	0.0
94911_SF-268_CNS/髄芽細胞腫_sscDNA	0.3	94964_Daudi_パーキットリンパ腫_sscDNA	0.0
94912_T98G-78_髄芽細胞腫_sscDNA	0.0	94965_U266_B細胞プラズマ細胞腫/骨髄腫_sscDNA	0.1
96776_SK-N-SH_神経芽細胞腫(転移)_sscDNA	1.4	94968_CA46_パーキットリンパ腫_sscDNA	0.1
94913_SF-295_CNS/髄芽細胞腫_sscDNA	0.0	94970_RL_非ホジキンB細胞リンパ腫_sscDNA	0.0
94914_小脳_sscDNA	0.3	94972_JM1_プレB細胞リンパ腫/白血病_sscDNA	0.1
96777_小脳_sscDNA	0.1	94973_Jurkat_T細胞リンパ腫_sscDNA	0.3
94916_NCI-H292_粘液性頰表皮肺癌_sscDNA	8.8	94974_TF-1_赤白血病_sscDNA	0.0
94917_DMS-114_小細胞肺癌_sscDNA	0.8	94975_HUT 78_T細胞リンパ腫_sscDNA	0.1
94918_DMS-79_小細胞肺癌/粘液性頰表皮_sscDNA	57.4	94977_U937_顆粒球性リンパ腫_sscDNA	0.0
94919_NCI-H146_小細胞肺癌/粘液性頰表皮_sscDNA	25.5	94980_KU-812_骨髄性リンパ腫_sscDNA	0.0
94920_NCI-H526_小細胞肺癌/粘液性頰表皮_sscDNA	24.5	94981_769-P_明細胞腎臓癌_sscDNA	0.1

(表30の続き①)

94921_NCI-N417_小細胞肺癌/神経内分泌_sscDNA	0.0	94983_Ceki-2_明細胞腎臓癌_sscDNA	0.4
94923_NCI-H82_小細胞肺癌/神経内分泌_sscDNA	4.7	94984_SW 839_明細胞腎臓癌_sscDNA	0.0
94924_NCI-H157_扁平上皮細胞肺癌(転移)_sscDNA	0.4	94986_G401_ウィルムス腫瘍_sscDNA	0.0
94925_NHI-H1155_大細胞肺癌/神経内分泌_sscDNA	1.7	94987_Hs756T_肺癌(LN転移)_sscDNA	0.1
94926_NHI-H1299_大細胞肺癌/神経内分泌_sscDNA	2.2	94988_CAPAN-1_膵臓癌(肝臓転移)_sscDNA	8.4
94927_NHI-H727_肺カルチノイド_sscDNA	14.9	94989_SU86_86_膵臓癌(肝臓転移)_sscDNA	10.8
94928_NHI-UMC-11_肺カルチノイド_sscDNA	100.0	94990_BxPC-3_膵臓癌_sscDNA	1.1
94929_LX-1_小細胞肺癌_sscDNA	28.3	94991_HPAC_膵臓癌_sscDNA	1.0
94930_Colo-205_大腸癌_sscDNA	0.4	94992_MIA PaCa-2_膵臓癌_sscDNA	0.0
94931_KM12_大腸癌_sscDNA	18.1	94993_CFPAC-1_膵臓癌_sscDNA	5.2
94932_KM20L2_大腸癌_sscDNA	1.4	94994_PANG-1_膵臓癌上皮癌_sscDNA	0.3
94933_NHI-H716_大腸癌_sscDNA	0.4	94996_T24_膀胱癌(移行細胞)_sscDNA	0.1
94935_SW-48_大腸癌_sscDNA	37.1	94997_5637_膀胱癌_sscDNA	0.1
94936_SW1116_大腸癌_sscDNA	11.0	94998_HT-1197_膀胱癌_sscDNA	3.7
94937_LS 174T_大腸癌_sscDNA	12.6	94999_UM-UC-3_膀胱癌(移行細胞)_sscDNA	0.0
94938_SW-94B_大腸癌_sscDNA	3.8	95000_A204_横紋筋肉腫_sscDNA	1.8
94939_SW-480_大腸癌_sscDNA	17.4	95001_HT-1080_横紋筋肉腫_sscDNA	0.0
94940_NCI-SNU-5_胃癌_sscDNA	15.8	95002_MG-63_骨肉腫(骨)_sscDNA	0.0
94941_KATO III_胃癌_sscDNA	0.5	95003_SK-LMS-1_平滑筋肉腫(外陰部)_sscDNA	0.3
94943_NCI-SNU-16_胃癌_sscDNA	0.0	95004_SJRH30_横紋筋肉腫(骨髄転移)_sscDNA	0.0
94944_NCI-SNU-1_胃癌_sscDNA	0.2	95005_A431_頸表皮癌_sscDNA	1.5
94946_RF-1_胃腺癌_sscDNA	0.2	95007_WM266-4_黒色腫_sscDNA	0.0
94947_RF-4B_胃腺癌_sscDNA	0.1	95010_DU 145_前立腺癌(脳転移)_sscDNA	0.0
94949_NCI-N87_胃癌_sscDNA	15.0	95012_MDA-MB-468_乳癌_sscDNA	1.8
94951_OVCAR-5_卵巣癌_sscDNA	1.9	95013_SCC-4_舌の扁平上皮細胞_sscDNA	0.0
94952_RL95-2_子宮癌_sscDNA	8.5	95014_SCC-9_舌の扁平上皮細胞_sscDNA	0.0
94953_HelaS3_頸部腺癌_sscDNA	0.0	95015_SCC-4_舌の扁平上皮細胞_sscDNA	0.0
		95017_CAL 27-4_舌の扁平上皮細胞_sscDNA	2.8

表30に示す結果は、いくつかの肺癌組織、大腸癌組織および胃癌組織が、クローン20692369の高度な発現を示すという表29からの結果を確証し、かつ伸展する。

【0318】

表29および表30の結果は、種々の癌のためのプローブとしてのクローン20692369の使用、および特異的抗体のための潜在的な治療標的としてのその遺伝子産物の使用、このような癌を処置する際の使用を確立する。

【0319】

(実施例3．種々の細胞および組織におけるNOV7の遺伝子発現の連続分析)

遺伝子発現の連続分析(SAGE)は、SAGEタグ、一般に約20のヌクレオチドの下で、メッセンジャーRNAの特定の位置に生じる短いポリヌクレオチド配列、を使用する。SAGEタグを使用して、対応する転写物および転写された遺伝子を同定し得る。SAGE分析は、腫瘍細胞株由来のライブラリーから相補的なデオキシリボ核酸(cDNA)を供給することから始まる。cDNAをプライマー部位と連結し得る。次いで、例えば、DNAを増幅するために適切なプライマーを使用して、配列タグを作製する。cDNAライブラリー間のこれらのタグの差異を測定することによって、腫瘍細胞株において異常発現される配列を同定し得る。図2に示すように、SAGEをNOV7核酸について行った。

【0320】

(実施例4．クローン28804279.0.7の成熟形態の分子クローニング)

オリゴヌクレオチドプライマーを、表6に記載されるタンパク質配列(配列番号6)の37~94残基からの28804279.0.7タンパク質の成熟形態をコードするDNAセグメントを増幅するために設計した。順方向プライマーは、インフレーションBamHI制限部位を含み、逆方向プライマーはインフレーションXhoI制限部位を含む。このプライマーの配列は、以下である：

28804279.0.7順方向：

GGATCCGAGGACTCTGGTTGGTGTGGGCCCTGTGTGC
(配列番号57)、

28804279.0.7逆方向：

CTCGAGGACATCTTGCAAACCCTGTGCTGTGATGG
(配列番号58)。

【0321】

PCR反応を、50μlのサンプル容量で、5ngのヒト胎児腎臓cDNAテンプレート、各々1μMの、28804279.0.7順方向プライマーおよび

28804279.0.7逆方向プライマー、5 μ MのdNTP (Clontech Laboratories, Palo Alto CA)ならびに1 μ lの50x Advantage-HF 2ポリメラーゼ (Clontech Laboratories) 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
- b) 96 30秒変性
- c) 70 30秒、プライマーアニーリング。この温度を、徐々に、1 / サイクル単位で減少した。
- d) 72 1分伸長
- 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
- e ~ gを25回繰り返す
- h) 72 5分最終伸長

約160bpの予測サイズを有する単一増幅産物を、アガロースゲル電気泳動によって検出した。この産物を、20 μ lの最終容積においてQuiaX (QIAGEN Inc, Valencia CA) によって単離した。

【0322】

単離した産物を、pCR2.1ベクター (Invitrogen, Carlsbad, CA) に連結し、そして配列決定した。ヌクレオチド配列を、表6に示される配列 (配列番号6) のクローン28804279.0.7の138~257塩基に対応する部分に100%相同であると決定した。この構築物をpCR2.1-28804279.0.7-S371-2Bと呼ぶ。

【0323】

(実施例5.20692369__EXTの成熟形態の分子クローニング)

オリゴヌクレオチドプライマーを、20692369__EXT (表23; 配列番号14) の細胞外部分をコードするDNAセグメントを増幅するために、設計した。順方向プライマーは、インフレーションBg1I制限部位を含み、逆方向プラ

イマーは、インフレーションXhoI制限部位を含む。このプライマーの配列は、以下である：

20692369 MAT-FORW:

AGATCTCGGGAGGCTGCGGAGAGCCGCCGCTCGACG (配列番号59)、

20692369 REV:

CTCGAGGCCTCGGGCAGGGCTCTGGGGCTGCTGCAGG (配列番号60)。

【0324】

PCR反応を、50 μ lの容量で、30の成熟組織に対応する5 ngのヒトcDNAテンプレートの混合物、各々1 μ Mの、28804279.0.7MAT-FORWプライマーおよび28804279.0.7REVプライマー、5 μ MのdNTP (Clontech Laboratories, Palo Alto CA)ならびに1 μ lの50x Advantage-HF 2ポリメラーゼ (Clontech Laboratories) 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
- b) 96 30秒変性
- c) 70 30秒、プライマーアニーリング。この温度を、徐々に、1 / サイクル単位で減少した。
- d) 72 3分伸長
- 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 3分伸長
- e ~ gを25回繰り返す
- h) 72 10分最終伸長

約2 kbの予測サイズを有する単一増幅産物を、アガロースゲル電気泳動によって検出した。この産物を、20 μ lの最終容積においてQuiaX (QLA

GEN Inc, Valencia CA) によって単離した。

【0325】

単離した産物を、pCR2.1ベクター (Invitrogen, Carlsbad, CA) に連結して、pCR2.1-20692369-S929-2C と呼ばれる構築物を提供した。これを、以下の配列決定プライマーを用いて、配列決定した：

【0326】

【化1】

20692369 S1:	CACTTGGTGACTGACGCCGT	(自己列番号61)
20692369 S2:	ACGGCGTCAGTCACCAAGTG	(自己列番号62)
20692369 S3:	CGGCAGGCTGGCTGGGAGC	(自己列番号63)
20692369 S4:	GCTCCCAGCCAGCCTGCCG	(自己列番号64)
20692369 S5:	GCTGCGGAGAGAGCTCTT	(自己列番号65)
20692369 S6:	AAGAGCTCTCTCCGCAGC	(自己列番号66)
20692369 S7:	CGAGGCCTCACCAGTGCTTGC	(自己列番号67)
20692369 S8:	GCAAGCACTGGTGAGGCCTCG	(自己列番号68)
20692369 S9:	GCACTCTCTACACCTTCAG	(自己列番号69)
20692369 S10:	CTGAAGGTGTAGAGAGTGC	(自己列番号70)

得られた配列は、挿入物が、20692369__EXTの変異体をコードするORFであることを示す。DNA挿入物の5'末端は、予測DNA配列と異なった(以下を参照のこと)。この理由は、順方向プライマー(20692369 MAT-FORW; 配列番号59)がインフレームでないからであった。20692369__EXTのクローン化した変異体を発現するのを可能にするために、インフレームの5'プライマーを設計した。このプライマーの配列を、以下に示す。

【0327】

20692369-S929__2C-FORW: AGATCTAACCGCTCCGACTGCGGCCCGCAGC (配列番号71)。

【0328】

PCR反応を、50 μ lの容量で、テンプレートとしてpCR2.1-20692369-S929-2C DNA、各々1 μ Mの、20692369-S929__2C-FORWプライマー(配列番号71)および20692369-REVプライマー(配列番号60)、5 μ MのdNTP(Clontech Laboratories, Palo Alto CA)ならびに1 μ lの50 \times Advantage-HF 2ポリメラーゼ(Clontech Laboratories)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
 - b) 96 30秒変性
 - c) 60 30秒、アニーリング
 - d) 72 3分伸長
- (b、cおよびdを15回繰り返す)
- e) 72 10分伸長

単離したPCR産物を、pCR2.1ベクターに連結して、pCR2.1-20692369__EXT-A98__10Aと呼ばれる構築物を提供し、そして配列決定した。得られた配列を、表31(配列番号72)に示し、そしてこの配列は、挿入物が20692369__EXTの変異体をコードすることを確証する。

【0329】

表31. pCR2.1-20692369__EXT-A98__10Aにおけるクローン化された挿入物のDNA配列

【0330】

【表31】

AACCGCTCCGACTGCGGCCCGCAGCCGCCGCCGCCCAAGTGGGAGCTCTTGC
 ATGTGGCCATCGTGTGTGCGGGGCATAACTCCAGCCGAGACGTCATCACCCCTGGT
 GAAGTCCATGCTCTTCTACAGGAAAAATCCACTGCACCTCCACTTGGTGACTGAC
 GCCGTGGCCAGAAACATCCTGGAGACGCTCTCCACACATGGATGGTGCTGCTG
 TCCGTGTGAGCTTTATCATACCGACCAGCTCAAGCCCCAGGTCTCCTGGATCCCC
 AACCAAGCACTACTCCGGCCTCTATGGGCTAATGAAGCTGGTGCTGCCAGTGCCT
 TGCTGTGAGCTGGCCCCGCTCATTGTCTGGACACGGATGTACCTTCGCCTCT
 GACATCTCGGAGCTCTGGGCCCTCTGTGCTCACTTTTCTGACACGCAGGGCATCGG
 TCTTGTGGAGAACCAGAGTACTGGTACCTGGGCAACCTCTGGAAGAACCACAGG
 CCCTGGCCTGCCTTGGGCCGGGATTAACACAGGTGTGATCCTGCTGCGGCTGG
 ACCGGCTCCGGCAGGCTGGCTGGGAGCAGATGTGGAGGCTGACAGCCAGGCGGG
 AGCTCCTTAGCTGCCTGCCACCTCACTGGCTGACCAGGACATCTCAACGCTGTG
 ATCAAGGAGCACCCGGGGCTAGTGCAGCGTCTGCCTTGTGTCTGGAATGTGCAGC
 TGTCAGATCACACTGGCCGAGCGCTGCTACTCTGAGGCGTCTGACCICAAGGT
 GATCCACTGGAACCTACCAAAGAAGCTTCGGGTGAAGAACAAGCATGTGGAATTC
 TTCGCAATTTCTACCTGACCTTCCTGGAGTACGATGGGAACCTGCTGCGGAGAGA
 GCTCTTTGTGTGCCCCAGCCAGCCCCACCTGGTGTGAGCAGTTGCAGCAGGCC
 TGGCACAACCTGGACGAGGAAGACCCCTGCTTTGAGTTCCGGCAGCAGCAGCTCAC
 TGTGCACCGTGTGCAATGCACTTTCCTGCCCATGAACCGCCACCCCCCGGCTC
 ACGATGTACCCCTGTGGCCAGCTGTCCATGGACCGGCTGCAGATGTTGGAAGC
 CCTGTGCAGGCACTGGCCTGGCCCATGAGCCTGGCCTGTACCTGACAGACGCA
 GAAGCTCAGCAGTTCTGCATTTCTGCGAGGCTCACCAGTGCTTGCTGCCCGGCA
 GGACGTGGCCTACCATGTGGTGTACCGTGAGGGGCCCTATACCCCGTCAACCAG
 CTTCGCAACGTGGCCTTGGCCAGGCCCTCACGCCTACGTCTTCTCAGTGACAT
 TGACTTCTGCCTGCCTATTCTCTCTACGACTACCTCAGGGCCTCCATTGAGCAGC
 TGGGGCTGGGCAGCCGGCGCAAGGCAGCACTGGTGGTGGCCGCAATTGAGACCT
 GCGCTACCGCTTCAGCTTCCCCATTCCAAGGTGGAGCTGTTGGCCTTGCTGGATG
 CGGGCACTCTCTACACCTTCAGGTACCACGAGTGGCCCCGAGGCCACGCACCCAC
 AGACTATGCCCGCTGGCGGGAGGCTCAGGCCCGTACCGTGTGCAATGGCGGGCC
 AACTATGAACCCTACGTGGTGGTGCCACGAGACTGTCCCCGCTATGATCCTCGCTT
 TGTGGGCTTCGGCTGGAACAAAGTGGCCACATTGTGGAGCTGGATGCCAGGAA
 TATGAGCTCCTGGTGTGCTGCCCGAGGCCCTCACCATCCATCTGCCACCGCTCCAAG
 CCTGGACATCTCCCGCTTCCGCTCCAGCCCCACCTATCGTGACTGCCTCCAGGCC
 TCAAGGACGAATTCCACCAGGACTTGTCCCGCCACCATGGGGCTGCTGCCCTCAA
 ATACCTCCCAGCCCTGCAGCAGCCCCAGAGCCCTGCCCGAGGC

(配列番号72)

挿入pCR2.1-20692369_EXT-A98_10Aによってコー
ドされるポリペプチドのアミノ酸配列を、表32に示す(配列番号73)。

【0331】

表32

【0332】

【表32】

NRSDCGPQPPPPKCELLHVAIVCAGHNSSRDVITLVKSMLFYRKNPLHLHLVT
 DAVARNILETLFHTWMVPAVRVSFYHTDQLKPQVSWIPNKHYSGLYGLMKLVLP
 PAELARVIVLDTDVTFASDISELWALCAHFSDTQAIGLVENQSDWYLGNLWKNHRPW
 PALGRGFNTGVILLRLDRLRQAGWEQMWRLTARRELLSLPATSLADQDFNAVIKEHP
 GLVQRLPCVWNVQLSDHTLAERCYSEASDLKVIHWNSPKKLRVKNKHVEFFRNFYLT
 FLEYDGNLLRRELFCPSQPPPGAEQLQALQALQDEEDPCFEFRQQQLTVHRVHVTF
 PHEPPPRPHDVTLVAQLSMDRLQMLEALCRHWPGPMSLALYLTDAEAQQFLHFVEA
 SPVLAARQDVAYHVYREGPLYPNQLRNVALAALTPYVFLSDIDFLPAYSLYDYL
 RASIEQLGLGSRKKAALVVPFETLRYRFSFPHSKVELLALLDAGTLYTFRYHEWPRG
 HAPTDYARWREAQAPYRVQWAANYEPYVVVPRDCPRYDPRFVCGFGWNVVAHIVEL
 DAQEYELLVLPFAFTIHLPHAPSLDISFRSSPTYRDCLQALKDEFHQDL^{SRHHGAAAL}
 KYLPALQQPQSPARG (配列番号73)

クローン10312947.0.40によってコードされるアセチルグルコサ
 ミン転移酵素様タンパク質とSC20692369extとpCR2.1-20
 692369__EXT-A98__10Aとの間の関係を、以下に示すClust
 a IWアルゴリズムを用いて調製される配列において示す。

【0333】

【化2】

```

SC20692369ext      MLPRGRPRALGAAALLLLGLLGLLFGGDLGREAAESSRRPRRNPGGPAP
PCR2.1-20692369_EXT-A98  -----NRSDCGPQP
10312947.0.40

SC20692369ext      GTTTAPTAAASRRRPPKCELLHVALVCAGHNSRDVYLLVKSMLFTRKNP
PCR2.1-20692369_EXT-A98  -----PPFPKCELLHVALVCAGHNSRDVITLVKSMFLFTRKNP
10312947.0.40
** : . : . : ****

SC20692369ext      LHLHLVTDAVARNILETLFHTWVPAVR--VSFYHADQLKQVSNIPNKH
PCR2.1-20692369_EXT-A98  LHLHLVTDAVARNILETLFHTWVPAVR--VSFYHTDQLKQVSNIPNKH
10312947.0.40
*****:*****

SC20692369ext      YSGLYGLMKLVLP9SALPAELARVIVLDTDVTFASDISELWALCAHFSDTQ
PCR2.1-20692369_EXT-A98  YSGLYGLMKLVLP9SALPAELARVIVLDTDVTFASDISELWALCAHFSDTQ
10312947.0.40
*****:*****

SC20692369ext      AIGLVENQSDWYLGNLWKNHRFPWALGRGFNTGVILLRLDRLRQAGWECM
PCR2.1-20692369_EXT-A98  AIGLVENQSDWYLGNLWKNHRFPWALGRGFNTGVILLRLDRLRQAGWECM
10312947.0.40
*****:*****

SC20692369ext      WRLTARRNLLSLPATSLADQDIFNAVIKEHPGLVQRLPCVWNVQLSDHTL
PCR2.1-20692369_EXT-A98  WRLTARRNLLSLPATSLADQDIFNAVIKEHPGLVQRLPCVWNVQLSDHTL
10312947.0.40
*****:*****

SC20692369ext      AERCYSEASDLKVIHWN5PKGLRVKNKIVEFFRNTYLTFLSYDGNLLRRE
PCR2.1-20692369_EXT-A98  AERCYSEASDLKVIHWN5PKGLRVKNKIVEFFRNTYLTFLSYDGNLLRRE
10312947.0.40
*****:*****

SC20692369ext      LTVCPSPQPPGAEQLQALQALQDEEDPCFETRQOQLTVHRVHTFLPHEP
PCR2.1-20692369_EXT-A98  LTVCPSPQPPGAEQLQALQALQDEEDPCFETRQOQLTVHRVHTFLPHEP
10312947.0.40
*****:*****

SC20692369ext      PPRPHDVTLVACLSDRLQMLEALCRHWPGPMSLALYLTDAEAQQLHF
PCR2.1-20692369_EXT-A98  PPRPHDVTLVACLSDRLQMLEALCRHWPGPMSLALYLTDAEAQQLHF
10312947.0.40
*****:*****

SC20692369ext      VEASPVLAARQDVAYKVVYREGELYFVNQLRNVLAQAALTPYVFLSDIDF
PCR2.1-20692369_EXT-A98  VEASPVLAARQDVAYKVVYREGELYFVNQLRNVLAQAALTPYVFLSDIDF
10312947.0.40
*****:*****

SC20692369ext      LPAYSLYDYLRSIEQLGLGSRKKAALVVPAFETLRYRFSFPHSKVYELLA
PCR2.1-20692369_EXT-A98  LPAYSLYDYLRSIEQLGLGSRKKAALVVPAFETLRYRFSFPHSKVYELLA
10312947.0.40
*****:*****

SC20692369ext      LLDAGTLITFRVHEWPRGHAPTDYARWREAQAPYRVQWAAANYEZYVVVPR
PCR2.1-20692369_EXT-A98  LLDAGTLITFRVHEWPRGHAPTDYARWREAQAPYRVQWAAANYEZYVVVPR
10312947.0.40
*****:*****

SC20692369ext      DCFRYDPRFVSGFNKVAHIVELDAQEYELLVLEPAFTIHLPHAPSLDIS
PCR2.1-20692369_EXT-A98  DCFRYDPRFVSGFNKVAHIVELDAQEYELLVLEPAFTIHLPHAPSLDIS
10312947.0.40
*****:*****

SC20692369ext      RFRSSPTYRDCLQALKDEEFHQDLSRHHGAAALKYLPALQCQSPARG
(配列番号74)
PCR2.1-20692369_EXT-A98  RFRSSPTYRDCLQALKDEEFHQDLSRHHGAAALKYLPALQCQSPARG
(配列番号73)
10312947.0.40  RFRSSPTYRDCLQALKDEEFHQDLSRHHGAAALKYLPALQCQSPARG
(配列番号75)
*****:*****

```

ここで、*は同一性を示し、:は強い類似性を示し、そして.は弱い類似性を示す。

【0334】

(他の実施形態)

本発明は、その詳細な説明とともに記載されてきたが、前述の説明は例示であって、本発明の範囲を限定することを意図するのではない。本発明の範囲は、添付の特許請求の範囲の範囲により規定される。他の局面、利点および改変は、下記の特許請求の範囲の範囲内にある。

【図面の簡単な説明】

【図1】

図1は、正常組織および細胞系ならびに疾患組織および細胞系におけるNOV 7核酸を測定する、定量的遺伝子発現分析の結果を示す。

【図2】

図2は、多くの腫瘍細胞系誘導ライブラリーにおけるNOV 7核酸の、遺伝子発現プロフィール分析を示す。

【図1】

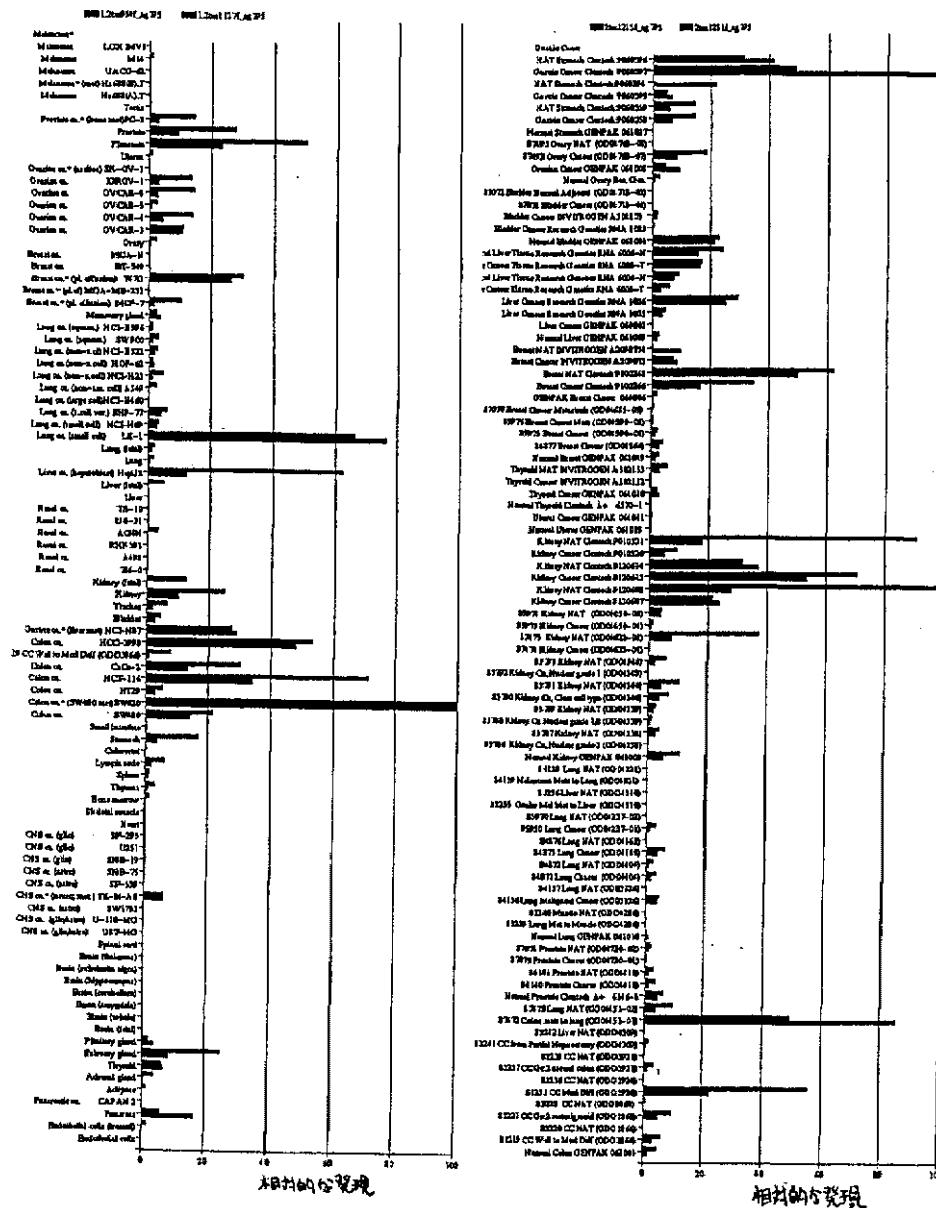


FIG. 1

【図2】

Hs.86543:ESTs, KIAA0609タンパク質とわずかな相同性 [H.sapiens]

SAGE ライブラリーデータに基づいた情報のみによる識別の概要

SAGE ライブラリーで見出される情報のみによる識別

CCCGAGGCTG	ライブラリー名	100万ごとの 識別	識別 回数	識別総数
	SAGE H128	30	1	32420
GGTGCTGCCC	ライブラリー名	100万ごとの 識別	識別 回数	識別総数
	SAGE Tu102	17	1	57636
	SAGE OVT-7	18	1	54914
GGGCTGCTGC	ライブラリー名	100万ごとの 識別	識別 回数	識別総数
	SAGE HCT116	49	3	60322
	SAGE Caco 2	48	3	61801
	SAGE Chen Tumor Pr	29	2	68384
	SAGE CAPAN1	26	1	37928
	SAGE CAPAN2	43	1	23222
	SAGE SW837	49	3	60986
	SAGE OVCA432-2	349	1	2861
	SAGE OV1063-3	51	2	38838
	SAGE Tu102	34	2	57636
	SAGE Tu98	61	3	49005
	SAGE Duke mhh-1	82	4	48488
	SAGE Duke H341	22	1	44563
	SAGE LNCaP	44	1	22637
	SAGE OVT-6	23	1	42336
	SAGE OVT-7	36	2	54914
	SAGE OVT-8	59	2	33575
	SAGE IOSE28-11	41	2	48498
GGGTGCTGC	ライブラリー名	100万ごとの 識別	識別 回数	識別総数
	SAGE A+	32	1	30551

FIG. 2

【國際調查報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

		Internat'l Application No PCT/US 01/04779
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
IPC 7	C12N15/12 C12N15/54 C07K14/47 C07K14/705 C12N9/10 C12N15/70 C12N1/21 C07K16/18 C07K16/42 C12Q1/68 G01N33/577 G01N33/68 A61K38/00	
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 C12N C07K C12Q G01N A61K		
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) WPI Data, PAJ, CAB Data, SEQUENCE SEARCH, BIOSIS, EPO-Internal, EMBL		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DATABASE EMBL SEQUENCE DATABASE [Online] Hinxton, UK; 12 June 1999 (1999-06-12) S. DONEILY: "Human DNA sequence from clone RP4-709L21 on chromosome 1q42.13-43. Contains two exons of the GALNT2 for UDP-N-acetyl-alpha-D-galactosamine:polypep tide N-acetylgalactosaminyltransferase 2 (GalNAc-T2), ESTs, STSs and GSSs" XP002177598 EMBL:HSJ709L21, Accession no. AL078646; from nucleotide 96296 to 96874; abstract --- A EP 0 879 885 A (SMITHKLINE BEECHAM CORP) 25 November 1998 (1998-11-25) the whole document --- -/--	5-11
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C.		<input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.
* Special categories of cited documents:		
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claims or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. "E" document member of the same patent family
Date of the actual completion of the international search: 17 September 2001		Date of mailing of the international search report 18 01 02
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5618 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer HORNIG H.

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 Internat'l Application No
 PCT/US 01/04779

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 98 42738 A (FLORENCE KIMBERLY A ; HUMAN GENOME SCIENCES INC (US); GREENE JOHN M) 1 October 1998 (1998-10-01) the whole document ---	
A	EP 0 334 962 A (ORIENTAL YEAST CO LTD) 4 October 1989 (1989-10-04) the whole document ---	
A	US 5 403 717 A (HOLMES ERIC H) 4 April 1995 (1995-04-04) the whole document ---	
A	EP 0 943 685 A (BASF AG) 22 September 1999 (1999-09-22) the whole document ---	
A	WD 97 44360 A (FUJII RYO ; HINUMA SHUJI (JP); TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES LTD (JP);) 27 November 1997 (1997-11-27) the whole document -----	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 International application No.
 PCT/US 01/04779
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 and 42-43 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.:
1-43 partly

Remark on Protest

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

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

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

1. Claims: (1-43)-partially

An isolated polypeptide comprising an amino acid selected from SEQ ID No. 2; an isolated nucleic acid molecule comprising a nucleic acid sequence encoding a polypeptide comprising said amino acid sequence; said nucleic acid molecule, wherein said molecule comprises a nucleic acid sequence SEQ ID No. 1; a vector comprising said nucleic acid molecule; a cell comprising said vector; an antibody that binds immunospecifically to said polypeptide NOV1; a method for determining the presence or amount of said polypeptide in a sample; a method of identifying an agent that binds to said polypeptide; a method for identifying a potential therapeutic agent using said polypeptide; a method for modulating the activity of said polypeptide; a pharmaceutical comprising said polypeptide; a kit comprising said pharmaceutical; a method for screening for a modulator of activity or of latency or predisposition to a pathology associated with said polypeptide; a method for determining the presence of or predisposition to a disease associated with altered levels of said polypeptide; a method of treating a pathological state in a mammal comprising said polypeptide respectively said antibody;

2. Claims: (1-43)-partially

Idem as invention 1 but limited to NOV2, respectively SEQ ID Nos. 3 and 4.

3. Claims: (1-43)-partially

Idem as invention 1 but limited to NOV3, respectively SEQ ID Nos. 5 and 6;

4. Claims: (1-43)-partially

Idem as invention 1 but limited to NOV4, respectively SEQ ID Nos. 7 and 8.

5. Claims: (1-43)-partially

Idem as invention 1 but limited to NOV5, respectively SEQ ID Nos. 9 and 10.

6. Claims: (1-43)-partially

Idem as invention 1 but limited to NOV6, respectively SEQ ID

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Nos. 11 and 12.

7. Claims: (1-43)-partially

Idem as invention 1 but limited to NOV7, respectively SEQ ID
Nos. 13 and 14.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

Information on patent family members

PCT/US 01/04779

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date	
EP 0879885	A	25-11-1998	CA 2221836 A1 EP 0879885 A1 JP 10327881 A JP 2000106889 A	23-11-1998 25-11-1998 15-12-1998 18-04-2000
WO 9842738	A	01-10-1998	AU 6564698 A EP 0970110 A1 JP 2001522239 T WO 9842738 A1 AU 6562798 A AU 8768498 A EP 1002132 A1 WO 9907891 A1 AU 9679898 A EP 1019506 A1 JP 2001519156 T WO 9918208 A1	12-10-1998 12-01-2000 13-11-2001 01-10-1998 20-10-1998 01-03-1999 24-05-2000 18-02-1999 27-04-1999 19-07-2000 23-10-2001 15-04-1999
EP 0334962	A	04-10-1989	JP 1065454 A JP 2579497 B2 CA 1335071 A1 DE 3853582 D1 DE 3853582 T2 EP 0334962 A1 WO 8902474 A1 US 4994374 A	10-03-1989 05-02-1997 04-04-1995 18-05-1995 02-11-1995 04-10-1989 23-03-1989 19-02-1991
US 5403717	A	04-04-1995	US 4971905 A	20-11-1990
EP 0943685	A	22-09-1999	DE 19805351 A1 EP 0943685 A2 JP 11318452 A	12-08-1999 22-09-1999 24-11-1999
WO 9744360	A	27-11-1997	WO 9744359 A1 AU 5875796 A AU 6775496 A EP 0836621 A1 JP 11511030 T WO 9744360 A1	27-11-1997 09-12-1997 09-12-1997 22-04-1998 28-09-1999 27-11-1997

フロントページの続き

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テ-マ-コ-ト' (参考)
A 6 1 K 39/395		A 6 1 P 1/04	4 B 0 6 5
			4 C 0 8 4
			4 C 0 8 5
A 6 1 P 1/04		3/00	4 C 0 8 6
		1/16	4 H 0 4 5
		1/18	
		3/10	
		3/14	
		5/00	
		11/06	
		11/16	
		13/12	
		15/00	
		21/00	
		25/00	
		25/04	
		25/08	
		25/14	
		25/16	
		25/18	
		25/22	
		25/28	
		25/30	
		27/02	
		27/16	
		35/00	
		35/02	
		37/02	
		37/06	
		37/08	
	1 0 1	43/00	1 0 1
C 0 7 K 14/47		C 0 7 K 14/47	
		16/18	
		16/40	
C 1 2 N 1/15		C 1 2 N 1/15	
		1/19	
		1/21	
		9/10	
		C 1 2 Q 1/02	
		1/19	
		1/21	
		5/10	
		9/10	
C 1 2 Q 1/02		G 0 1 N 33/15	A
			Z
		33/50	Z
		1/48	D
		1/68	M
G 0 1 N 33/15			
		33/566	
		33/577	B

33/53	C 1 2 P 21/08	
	C 1 2 N 15/00	Z N A A
33/566	5/00	A
33/577	A 6 1 K 37/02	
// C 1 2 P 21/08	37/52	

(31)優先権主張番号 6 0 / 2 4 0 , 3 1 6
(32)優先日 平成12年10月13日(2000 . 10 . 13)
(33)優先権主張国 米国 (U S)

(31)優先権主張番号 0 9 / 7 8 3 , 4 3 6
(32)優先日 平成13年2月14日(2001 . 2 . 14)
(33)優先権主張国 米国 (U S)

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

(72)発明者 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 ,
ウエスト ハイブン , リート ストリ
ート 191

(72)発明者 ラステリ , ルカ
アメリカ合衆国 コネチカット 06437 ,
ゲイルフォード , ペPPERブッシュ
レーン 52

(72)発明者 バーゲス , キャサリン イー .
アメリカ合衆国 コネチカット 06109 ,
ウェザーズフィールド , キャリッジ
ヒル ドライブ 90

(72)発明者 タウピール , レイモンド ジェイ . ジ
ュニア
アメリカ合衆国 コネチカット 06512 ,
イースト ハイブン , ホルムズ スト
リート 47

F ターム(参考) 2G045 AA25 AA40 BA13 BB03 BB20
CA25 CA26 CB01 CB17 CB21
DA12 DA13 DA14 DA36 DA77
FB02 FB03 FB04 FB05 FB06
FB07 HA16

4B024 AA01 AA11 BA10 BA31 CA04
CA09 DA02 DA06 EA02 EA04
GA11 GA18 GA19 HA03 HA14

4B050 CC01 CC03 DD11 LL01 LL03

4B063 QA01 QA18 QQ20 QQ42 QR32
QR38 QR55 QR77 QR82 QS25
QS34 QS39 QX01 QX07

4B064 AG27 CA10 CA19 CC24 DA01

4B065 AA26X AA90X AA93Y AB01
AC14 BA01 CA24 CA27 CA44

4C084 AA01 AA02 AA06 AA07 BA01
BA22 CA53 DC25 ZA022
ZA062 ZA082 ZA162 ZA182
ZA222 ZA332 ZA362 ZA592
ZA602 ZA662 ZA752 ZA812
ZA942 ZB072 ZB082 ZB132
ZB262 ZB272 ZC032 ZC212
ZC352 ZC392

4C085 AA13 AA14 BB11 BB22 DD63
DD88

4C086 AA01 AA03 AA04 EA16 MA01
MA04 NA14 ZA02 ZA06 ZA08
ZA16 ZA18 ZA22 ZA33 ZA36
ZA59 ZA60 ZA66 ZA75 ZA81
ZA94 ZB07 ZB08 ZB13 ZB26
ZB27 ZC03 ZC21 ZC35 ZC39

4H045 AA10 AA11 AA30 BA10 CA40
DA75 DA76 DA86 DA89 EA20
FA72 FA74

专利名称(译)	多肽和编码多肽的核酸		
公开(公告)号	JP2003527108A	公开(公告)日	2003-09-16
申请号	JP2001560378	申请日	2001-02-15
[标]申请(专利权)人(译)	CURAGEN CORP		
申请(专利权)人(译)	Kyurajen公司		
[标]发明人	ヴェルネコリーヌアーエム シムケッツリチャードエイ ラストレルカ バーゲスキャサリンイー タウピールレイモンドジェイジュニア		
发明人	ヴェルネ, コリーヌ アー. エム. シムケッツ, リチャード エイ. ラストリ, ルカ バーゲス, キャサリン イー. タウピール, レイモンド ジェイ. ジュニア		
IPC分类号	G01N33/50 A61K31/7088 A61K38/00 A61K38/45 A61K39/395 A61K48/00 A61P1/04 A61P1/16 A61P1/18 A61P3/00 A61P3/10 A61P3/14 A61P5/00 A61P9/00 A61P11/06 A61P11/16 A61P13/12 A61P15/00 A61P21/00 A61P25/00 A61P25/04 A61P25/08 A61P25/14 A61P25/16 A61P25/18 A61P25/22 A61P25/28 A61P25/30 A61P27/02 A61P27/16 A61P35/00 A61P35/02 A61P37/02 A61P37/06 A61P37/08 A61P43/00 C07K14/47 C07K16/18 C07K16/40 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C12N9/10 C12N15/09 C12N15/12 C12N15/54 C12P21/08 C12Q1/02 C12Q1/48 C12Q1/68 G01N33/15 G01N33/53 G01N33/566 G01N33/577		
CPC分类号	A61K38/00 A61P1/04 A61P1/16 A61P1/18 A61P3/00 A61P3/14 A61P11/06 A61P11/16 A61P13/12 A61P15/00 A61P21/00 A61P25/00 A61P25/04 A61P25/08 A61P25/14 A61P25/16 A61P25/18 A61P25/22 A61P25/28 A61P25/30 A61P27/02 A61P27/16 A61P35/00 A61P35/02 C07K14/47 C12N9/1051		
FI分类号	A61K31/7088 A61K39/395.D A61K39/395.N A61K39/395.P A61K48/00 A61P1/04 A61P1/16 A61P1/18 A61P3/00 A61P3/10 A61P3/14 A61P5/00 A61P9/00 A61P11/06 A61P11/16 A61P13/12 A61P15/00 A61P21/00 A61P25/00 A61P25/04 A61P25/08 A61P25/14 A61P25/16 A61P25/18 A61P25/22 A61P25/28 A61P25/30 A61P27/02 A61P27/16 A61P35/00 A61P35/02 A61P37/02 A61P37/06 A61P37/08 A61P43/00.101 C07K14/47 C07K16/18 C07K16/40 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N9/10 C12Q1/02 C12Q1/48 C12Q1/68.A G01N33/15.Z G01N33/50.Z G01N33/53.D G01N33/53.M G01N33/566 G01N33/577.B C12P21/08 C12N15/00.ZNA.A C12N5/00.A A61K37/02 A61K37/52		
F-TERM分类号	2G045/AA25 2G045/AA40 2G045/BA13 2G045/BB03 2G045/BB20 2G045/CA25 2G045/CA26 2G045/CB01 2G045/CB17 2G045/CB21 2G045/DA12 2G045/DA13 2G045/DA14 2G045/DA36 2G045/DA77 2G045/FB02 2G045/FB03 2G045/FB04 2G045/FB05 2G045/FB06 2G045/FB07 2G045/HA16 4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/BA10 4B024/BA31 4B024/CA04 4B024/CA09 4B024/DA02 4B024/DA06 4B024/EA02 4B024/EA04 4B024/GA11 4B024/GA18 4B024/GA19 4B024/HA03 4B024/HA14 4B050/CC01 4B050/CC03 4B050/DD11 4B050/LL01 4B050/LL03 4B063/QA01 4B063/QA18 4B063/QQ20 4B063/QQ42 4B063/QR32 4B063/QR38 4B063/QR55 4B063/QR77 4B063/QR82 4B063/QS25 4B063/QS34 4B063/QS39 4B063/QX01 4B063/QX07 4B064/AG27 4B064/CA10 4B064/CA19 4B064/CC24 4B064/DA01 4B065/AA26X 4B065/AA90X 4B065/AA93Y 4B065/AB01 4B065/AC14 4B065/BA01 4B065/CA24 4B065/CA27 4B065/CA44 4C084/AA01 4C084/AA02 4C084/AA06 4C084/AA07 4C084/BA01 4C084/BA22 4C084/CA53 4C084/DC25 4C084/ZA022 4C084/ZA062 4C084/ZA082 4C084/ZA162 4C084/ZA182 4C084/ZA222 4C084/ZA332 4C084/ZA362 4C084/ZA592 4C084/ZA602 4C084/ZA662 4C084/ZA752 4C084/ZA812 4C084/ZA942 4C084/ZB072 4C084/ZB082 4C084/ZB132 4C084/ZB262 4C084/ZB272 4C084/ZC032 4C084/ZC212 4C084/ZC352 4C084/ZC392 4C085/AA13 4C085		

/AA14 4C085/BB11 4C085/BB22 4C085/DD63 4C085/DD88 4C086/AA01 4C086/AA03 4C086/AA04
4C086/EA16 4C086/MA01 4C086/MA04 4C086/NA14 4C086/ZA02 4C086/ZA06 4C086/ZA08 4C086
/ZA16 4C086/ZA18 4C086/ZA22 4C086/ZA33 4C086/ZA36 4C086/ZA59 4C086/ZA60 4C086/ZA66
4C086/ZA75 4C086/ZA81 4C086/ZA94 4C086/ZB07 4C086/ZB08 4C086/ZB13 4C086/ZB26 4C086
/ZB27 4C086/ZC03 4C086/ZC21 4C086/ZC35 4C086/ZC39 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA30
4H045/BA10 4H045/CA40 4H045/DA75 4H045/DA76 4H045/DA86 4H045/DA89 4H045/EA20 4H045
/FA72 4H045/FA74

优先权
60/182637 2000-02-15 US
60/237862 2000-10-04 US
60/240316 2000-10-13 US
09/783436 2001-02-14 US

外部链接 [Espacenet](#)

摘要(译)

本发明提供了新颖的分离的NOVX多核苷酸和由NOVX多核苷酸编码的多肽。还提供了与NOVX多肽或NOVX多肽，多核苷酸或抗体的任何衍生物，变体，突变体或片段免疫特异性结合的抗体。本发明进一步提供了方法以及其他用途，其中NOVX多肽，多核苷酸和抗体被用于检测和治疗多种病理状况。根据与蛋白质的结构域和序列相关性的存在，根据本发明的各种NOVX核酸和多肽可用作蛋白质家族的新成员。此外，NOVX核酸和NOVX多肽也可用于鉴定蛋白质，该蛋白质是NOVX多肽所属的家族的成员。

