

(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 - 529334

(P2003 - 529334A)

(43)公表日 平成15年10月7日(2003.10.7)

(51) Int.Cl ⁷	識別記号	F I	テ-マコード (参考)
C 1 2 N 15/09	ZNA	A 6 1 K 39/395	N 2 G 0 4 5
A 6 1 K 38/00		48/00	4 B 0 2 4
39/395		A 6 1 P 3/10	4 B 0 6 3
48/00		11/06	4 B 0 6 4
A 6 1 P 3/10		19/02	4 B 0 6 5

審査請求 未請求 予備審査請求 (全202数) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2001 - 530480(P2001 - 530480)

(86)(22)出願日 平成12年10月13日(2000.10.13)

(85)翻訳文提出日 平成14年4月12日(2002.4.12)

(86)国際出願番号 PCT/US00/28480

(87)国際公開番号 W001/027277

(87)国際公開日 平成13年4月19日(2001.4.19)

(31)優先権主張番号 60/159,231

(32)優先日 平成11年10月13日(1999.10.13)

(33)優先権主張国 米国(US)

(31)優先権主張番号 60/175,670

(32)優先日 平成12年1月12日(2000.1.12)

(33)優先権主張国 米国(US)

(71)出願人 キュラジェン コーポレイション
アメリカ合衆国 コネチカット州 06511
ニュー ハイブン ロング ウォーフ ド
ライブ 555

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

(72)発明者 リッシェンスタイン, ヘンリー
アメリカ合衆国 コネチカット 06443,
マディソン, シープ パスチュア ロード
24

(74)代理人 弁理士 山本 秀策 (外 2 名)
最終頁に続く

(54)【発明の名称】 タンパク質、およびそれにコードされるポリヌクレオチド

(57)【要約】

本発明は、M B S P X ポリペプチドと称される新規ポリペプチド、ならびにM B S P X ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、およびM B S P X またはM B S P X ポリペプチド、ポリヌクレオチド、もしくは抗体、またはそれらの誘導体、改変体、変異体、もしくはフラグメントに免疫特異的に結合する抗体を提供する。本発明は、さらに、M B S P X ポリペプチド、ポリヌクレオチド、および抗体が、広範な病理状態の検出および処置において、ならびに他の用途において使用される方法を提供する。

98 —
64 —
50 —
36 —

【特許請求の範囲】

【請求項1】 単離されたポリペプチドであって、以下：

(a) 配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20および22により与えられるアミノ酸配列の成熟形態；

(b) 配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20および22により与えられるアミノ酸配列の成熟形態の改変体であって、ここで、該成熟形態における任意のアミノ酸が、異なるアミノ酸配列に変化しており、ただし、該成熟形態の配列のうちの15%以下のアミノ酸残基が、このように変化している、改変体；

(c) 配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20および22により与えられるアミノ酸配列；

(d) 配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20および22により与えられるアミノ酸配列の改変体であって、ここで選択された配列に示されるにおける任意のアミノ酸が、異なるアミノ酸配列に変化しており、ただし、該配列のうちの15%以下のアミノ酸残基が、このように変化している、改変体；ならびに

(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、14、16、18、20および22により与えら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、単一のヌクレオチドの多型の翻訳産物である、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、は、本明細書中で記載される改変体ポリペプチドであり、ここで、前記選択された配列に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変化される、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、14、16、18、20および

22により与えられるアミノ酸配列の成熟形態；

(b) 配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20および22により与えられるアミノ酸配列の成熟形態の改変体であって、ここで、選択された配列の該成熟形態における任意のアミノ酸が、異なるアミノ酸配列に変化しており、ただし、該成熟形態の配列のうちの15%以下のアミノ酸残基が、このように変化している、改変体；

(c) 配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20および22により与えられるアミノ酸配列；

(d) 配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20および22により与えられるアミノ酸配列の改変体であって、選択された配列に示される任意のアミノ酸が、異なるアミノ酸配列に変化しており、ただし、該配列のうちの15%以下のアミノ酸残基が、このように変化している、改変体；

(e) 配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20および22により与えら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、選択された配列の任意のアミノ酸が、異なるアミノ酸配列に変化しており、ただし、該成熟形態の配列のうちの10%以下のアミノ酸残基が、このように変化している、核酸フラグメント；ならびに

(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のヌクレオチドの多型を含む、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、13、15、17、19、および21により与えら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、13、15、17、19、および21により与えられるヌクレオチド配列における1つ以上のヌクレオチドが、選択された配列によって与えられるヌクレオチドから異なるヌクレオチドに変化しており、ただし、15%以下のヌクレオチドが、このように変化している、ヌクレオチド配列；

(c) 配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、および21により与えられる配列の核酸フラグメント；ならびに

(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、13、15、17、19、および21により与えられるヌクレオチド配列における1つ以上のヌクレオチドが、選択された配列によって与えられるヌクレオチドから異なるヌクレオチドに変化しており、ただし、15%以下のヌクレオチドが、このように変化している、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、13、15、17、19、および21により与えら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、ストリンジェ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、前記核酸分子が、選択されたヌクレオチドのコード配列に示される任意のヌクレオチドが、該選択された配列によって与えられる配列から異なるヌクレオチドに変化しているヌクレオチド配列であって、ただし、該選択されるコード配列におけるヌクレオチドの15%以下がこのように変化している、ヌクレオチド配列、該第一のポリヌクレオチドの相補体である単離された第二のポリヌクレオチド、またはこれらのいずれか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決定するための方法であって、該方法は、以下：

(a) 該サンプルを提供する工程；

(b) 該サンプルを該ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体に導入する工程；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決定して、それによって該サンプル中のポリペプチドの存在または量を決定する工程、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決定するための方法であって、該方法は、以下：

(a) 該サンプルを提供する工程；

(b) 該サンプルを該核酸分子に結合するプローブに導入する工程；および

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

【請求項21】 病理を処置する際に使用するための潜在的な治療剤を同定

するための方法であって、ここで、該病理が、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ており、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、候補物質を含む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特性または機能を変化させるか否かを決定し、これによって、該物質の存在下で観察される変更が、該細胞が該物質を欠く組成物と接触される際には観察されない場合には、該物質が、潜在的な治療剤として同定される、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、請求項1に記載のポリペプチドを発現する細胞サンプルを、該ポリペプチド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理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、該被験体における該病理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理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、該被験体における該病理を処置または予防するに十分な量でMBSPX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理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、該被験体における該病理を処置または予防するに十分な量でMBSPX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】 請求項1に記載のポリペプチドと関連する病理に対する活性もしくは潜伏性のモジュレーターまたは該病理の素因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理に対する危険性が増加した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に対する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理に対する潜伏性のまたは素因のモジュレーターであることを示す、工程、を包含する、方法。

【請求項36】 請求項35に記載の方法であって、ここで、前記試験動物が、野生型試験動物に対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37】 第1の哺乳動物被験体における請求項1に記載のポリペプチドの変化したレベルと関連する疾患の存在または素因を決定するための方法であって、該方法が、以下：

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

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

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ポリペプチドの発現レベルにおける変化が、該疾患の存在または素因を示す、工程を包含する、方法。

【請求項38】 第1の哺乳動物被験体における請求項5に記載の核酸分子の変化したレベルと関連する疾患の存在または素因を決定するための方法であって、該方法が、以下：

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

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

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素因を示す、工程を包含する、方法。

【請求項39】 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、該病理学的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、14、16、18、20および22により与えら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40】 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】****(発明の分野)**

本発明は、一般に、ポリヌクレオチドおよびポリペプチドに関する。本発明は、より特定すると、ポリヌクレオチド配列およびこのようなポリヌクレオチドによってコードされる膜結合タンパク質または分泌タンパク質、ならびにベクター、宿主細胞、抗体ならびにこのポリペプチドおよびポリヌクレオチドを産生するための組換え方法に関する。

【0002】**(発明の背景)**

真核生物細胞は、膜によって、オルガネラといわれる複数の機能的に異なる区画へと部分分割される。各オルガネラは、その適切な機能に必須なタンパク質を含む。これらのタンパク質は、しばしば選別シグナルといわれる配列モチーフを含み得る。この選別シグナルは、タンパク質がそれらの適切な細胞オルガネラに標的化することを補助し得る。さらに、選別シグナルは、細胞からいくつかのタンパク質が搬出される（すなわち、分泌される）ことを指向し得る。

【0003】

選別シグナルの1つの型は、シグナル配列である。（これはまた、シグナルペプチドまたはリーダー配列ともいわれる。）このシグナル配列は、新しく合成されたポリペプチド鎖上のアミノ末端伸長物として存在する。シグナル配列は、タンパク質を小胞体（ER）と呼ばれる細胞内オルガネラに標的化する。

【0004】

このシグナル配列は、タンパク質間相互作用およびタンパク質 - 脂質相互作用のアレイに参加し、ERにおけるチャンネルを通して、シグナル配列を含むポリペプチドの移行を生じる。移行後に、膜結合酵素（シグナルペプチダーゼ）は、シグナル配列から成熟タンパク質を遊離させる。

【0005】

ERは、細胞質に残存するタンパク質から膜結合タンパク質および分泌タンパク質を分離するように機能する。一旦、ERに標的化されると、分泌タンパク質

および膜結合タンパク質の両方が、ゴルジ装置と呼ばれる別の細胞オルガネラにさらに分配され得る。ゴルジは、タンパク質を、小胞、リソソーム、原形質膜、ミトコンドリアおよび他の細胞オルガネラに指向する。

【0006】

ヒト膜結合タンパク質および分泌タンパク質をコードする、限られた数の遺伝子のみが、同定されている。既知の分泌タンパク質の例としては、ヒトインスリン、インターフェロン、インターロイキン、トランスフォーミング増殖因子、ヒト成長ホルモン、エリトロポイエチン、およびリンホカインが挙げられる。さらなる新規なヒト分泌タンパク質およびこれらをコードする遺伝子を同定および特徴付けすることの必要性が、存在する。

【0007】

(発明の要旨)

本発明は、新規なにとポリヌクレオチド配列およびこれらの配列によりコードされる膜結合ポリペプチドまたは分泌ポリペプチドの発見に一部基づく。これらのヒト核酸およびそれによってコードされるポリペプチドは、本明細書中では、集散的に「MBSPX」と呼ばれる。

【0008】

したがって、1つの局面において、本発明は、新規ポリペプチドをコードする単離された核酸分子、またはそのフラグメント、ホモログ、アナログ、もしくは誘導体を提供する。例えば、その核酸は、配列番号 $2n$ （ここで、 n は1～11の間の整数である）のアミノ酸配列を含むポリペプチドに少なくとも85%同一であるポリペプチドをコードする核酸配列、あるいはそのフラグメント、ホモログ、アナログ、もしくは誘導体を含み得る。その核酸は、例えば、ゲノムDNA由来の1つ以上のフラグメント、またはcDNA分子、もしくはRNA分子を含み得る。特定の実施形態において、この核酸分子は、配列番号 $2n-1$ （ここで、 n は1～11の間の整数である）のいずれかの配列を含み得る。これらのポリペプチドおよび核酸は、本明細書中に開示されるように、膜結合タンパク質または分泌タンパク質に関連する。

【0009】

本発明の範囲内にはまた、本明細書に記載される1つ以上の核酸を含むベクター、および本明細書に記載されるベクターもしくは核酸を含む細胞が含まれる。

【0010】

本発明はまた、上記の任意の核酸分子を含むベクターによって形質転換された宿主細胞に関する。

【0011】

別の局面において、本発明は、MBSPX核酸および薬学的に受容可能なキャリアもしくは希釈剤を含む薬学的組成物を含む。

【0012】

さらなる局面において、本発明は、実質的に精製されたMBSPXポリペプチド（例えば、MBSPX核酸によってコードされる任意のMBSPXポリペプチド、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、MBSPXポリペプチドおよび薬学的に受容可能なキャリアもしくは希釈剤を含む薬学的組成物を含む。

【0013】

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

【0014】

本発明はまた、上記の任意の薬学的組成物を含むキットを含む。

【0015】

本発明はさらに、MBSPX核酸（例えば、MBSPX核酸を含むベクター）を含有する細胞を提供すること、および核酸によってコードされるMBSPX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MBSPXポリペプチドを産生するための方法を提供する。その発現されたMBSPXポ

リペプチドは、次いで、その細胞から回収される。好ましくは、その細胞は、内因性のMBSPXポリペプチドをほとんどか、全く産生しない。その細胞は、例えば、原核生物または真核生物であり得る。

【0016】

本発明はまた、サンプル中のMBSPXポリペプチドまたは核酸を、そのサンプルを、そのポリペプチドもしくは核酸に特異的に結合する化合物と接触させること、およびもし存在すれば、複合体の形成を検出することによって同定する方法に関する。

【0017】

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

【0018】

本発明はまた、MBSPXポリペプチドをその化合物と接触させ、そしてその化合物がMBSPXポリペプチドの活性を調節するか、MBSPXポリペプチドに結合するか、それともMBSPXポリペプチドをコードする核酸分子に結合するか決定することによって同定したMBSPXポリペプチド活性を調節する化合物に関する。

【0019】

別の局面において、本発明は、被験体において、MBSPX関連障害の存在またはMBSPX関連障害に対する素因を決定する方法を提供する。その方法は、その被験体からのサンプルを提供する工程、およびその被験体サンプルにおけるMBSPXポリペプチドの量を測定する工程を包含する。その被験体のサンプルにおけるMBSPXポリペプチドの量は、次いで、コントロールサンプル中のMBSPXポリペプチドの量と比較される。その被験体タンパク質サンプル中のMBSPXポリペプチドの量における、コントロールタンパク質サンプル中のMBSPXポリペプチドの量と比較しての変更は、その被験体が、免疫系における機能不全に関連する病理、織増殖関連条件、または神経学的障害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、整合した個体（すなわち、同様の年

齡、性、その他の条件の個体であるが、免疫系における機能不全に関連する病理、組織増殖関連条件、または神経学的障害を有すると疑われていない個体)から得られる。あるいは、そのコントロールサンプルは、その被験体が免疫系における機能不全に関連する病理、組織増殖関連条件、または神経学的障害を有すると疑われないときの時点で、被験体から得られ得る。いくつかの実施形態において、MBSPXポリペプチドは、MBSPX抗体を使用して検出される。

【0020】

さらなる局面において、本発明は、被験体において、MBSPX関連障害の存在、またはMBSPX関連障害に対する素因を決定する方法を提供する。その方法は、被験体からの核酸サンプル(例えば、RNAもしくはDNA、またはその両方)を提供する工程、およびその被験体の核酸サンプル中のMBSPX核酸の量を測定する工程を包含する。その被験体核酸中のMBSPX核酸サンプルの量は、次いで、コントロールサンプル中のMBSPX核酸の量と比較される。コントロールサンプル中のMBSPXの量と比較してのサンプル中のMBSPX核酸の量の変化は、その被験体が免疫系における機能不全に関連する病理、組織増殖関連条件、または神経学的障害を有することを示す。

【0021】

なおさらなる局面において、本発明は、MBSPX関連障害を処置または予防または遅延するための方法を提供する。その方法は、そのような処置または予防または遅延が所望される被験体に、MBSPX核酸、MBSPXポリペプチド、またはMBSPX抗体を、被験体における免疫系における機能不全に関連する病理、組織増殖関連条件、または神経学的障害を処置、予防、遅延するために十分な量において投与する工程を包含する。

【0022】

特に規定されない限り、本明細書において使用される全ての技術用語および科学用語は、本発明が属する当業者に一般に理解されるのと同じ意味を有する。本明細書に記載されるものと類似かまたは等価な方法および材料が、本発明の実施または試験において使用され得るが、適切な方法および材料が以下に記載される。本明細書において言及される全ての刊行物、特許出願、特許、および他の参考

文献は、その全体が参考として本明細書において援用される。コンフリクトする場合には、定義を含めて本明細書が支配する。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。

【0023】

本発明のその他の特徴および利点は、以下の詳細な説明、および特許請求の範囲から明らかである。

【0024】

(発明の詳細な説明)

本発明は、新規ポリペプチドおよびそれによってコードされるヌクレオチドを提供する。本発明には、11の新規核酸配列およびこれらにコードされるポリペプチドが含まれる。これらの配列を、包括的に「MBSPX核酸」または「MBSPXポリヌクレオチド」と称し、そして対応するコードされるポリペプチドを、「MBSPXポリペプチド」または「MBSPXタンパク質」と称する。他に示さない限り、「MBSPX」とは、本明細書中に開示される配列のいずれかということの意味する。

【0025】

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

【0026】

表1の欄1は、「MBSPX No.」と表題を付され、本発明による核酸に割り当てられたMBSPX番号を示す。

【0027】

表1の欄2は、「クローン同定番号」と表題を付され、示されるMBSPXに対する第二の同定番号を提供する。

【0028】

表1の欄3は、「クローンの起源の組織」と表題を付され、示されるMBSPX核酸が発現される組織を示す。

【0029】

表1の欄4～9は、示されるMBSPXの核酸およびポリペプチドに対して示

されたような構造情報を示す。

【0030】

表1の欄10は、「タンパク質類似性」と表題を付され、示されるMBSPXによってコードされるポリペプチドに関連する、以前に記載されたタンパク質を列挙する。以前に記載されたタンパク質についてのGenBankの同定が与えられる。これらは、例えば、<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>から検索可能である。

【0031】

表1の欄11は、「シグナルペプチド切断部位」と表題を付され、SignalPによって決定される場合にシグナルペプチドが切断される推定アミノ酸位置を示す。

【0032】

表1の欄12は、「細胞局在化」と表題を付され、示されるMBSPXポリペプチドの推定細胞局在化を示す。

【0033】

【表1】

表 1.

MBSPPX No.	クローン同定番号	クローンの起源の組織	N ₂	オーナン リ-ライブラ アライム (nt)	AA アライム	計算分子量	クワック類似性	シパルバアチド 切断部位	細胞局在化
1	10354784.0.335	下垂体	3562	728-2945	739	80202.4	ACC:O14631, ヒト CDO; ACC:O35158 ラット CDO	残基 25と26 との間 :STA-EA	原形質膜
2	10354784.0.335.S3 347A	下垂体	3562	728-2945	739	80202.4	ACC:O14631, ヒト CDO; ACC:O35158 ラット CDO	残基 25と26 との間 :STA-EA	原形質膜
3	17939072.0.47	脳、副腎、 骨、骨肉腫	950	83-602	173	19445.9	SPTREMBL-ACC:O00602, ヒトスゴリン	切断部位が 検出されず	リソソーム内腔
4	21417374.0.9	肝臓	2523	1-2512	837	91208.5	SPTREMBL-ACC:Q62888, ラットニコロリソソム2	残基 14と15 との間 :GGA-QR	原形質膜
	3207791.0.59	未知	1665	77-1388	437	47136.5	なし	切断部位が 検出されず	小胞体膜

10								ACC:AAD20029, "UNKNOWN" タンパク質フラグメント	:GRA-LP	
11	27978313.0.29	未知	1288	733-1003	90	9358.1	SPTREMBL-ACC:Q59765. <i>Rhodospirillum rubrum</i> ニコチンアミドヌクレオチド トランスヒドロロキサナーゼ、 サブユニットβ	残基 96と47 との間 :CWG-AT	原形質膜	

(表1の続き)

表2は、割り当てられたMBSPX番号、クローン同定番号および配列同定番号(配列番号)の引用を与える。

【0034】

【表2】

表 2.

MBSPX No.	クローン同定番号	配列番号	配列番号
		核酸	ポリペプチド
1	10354784.0.335	1	2
2	10354784.0.335.S3347A	3	4
3	17939072.0.47	5	6
4	21417374.0.9	7	8
5	3207791.0.59	9	10
6	3207791.0.128	11	12
7	3499605.0.64	13	14
8	AQ013000.0.21	15	16
9	16401346.0.337	17	18
10	20604798.0.1	19	20
11	27978313.0.29	21	22

本発明による、MBSPX核酸およびこれらにコードされるポリペプチドは、種々の用途および関連において有用である。本発明による種々のMBSPXの核酸およびポリペプチドは、とりわけ、ドメインの存在、および以前に記載されたタンパク質に対する配列関連性に従うタンパク質ファミリーの新規メンバーとして有用である。

【0035】

例えば、MBSP1およびMBSP2核酸およびこれらにコードされるポリペ

プチドは、I g / フィブロネクチン I I I 型反復ファミリー（特に、C D O、導入遺伝子、血清、および足場により調節される、I g / フィブロネクチン I I I 型反復ファミリーのメンバー）に属するタンパク質の特徴である構造的モチーフを含む。C D Oは、I g スーパーファミリーの細胞接着分子（C A M）であり、これは、コンフルエントな休止細胞の血清刺激によってダウンレギュレートされ、そして導入遺伝子により形質転換された細胞において構成的にダウンレギュレートされる。I g / フィブロネクチン I I I 型ファミリーメンバーは、例えば、腫瘍抑制因子として機能し得、結腸直腸腫瘍における少なくとも1つのI g スーパーファミリーメンバー（D C C）のタンパク質発現の損失は、第I I 段階および第I I I 段階の疾患を患う患者において、生存率のネガティブな予後マーカーである。別のI g スーパーファミリーメンバー（C - C A M / B G P - 1）は、結腸直腸悪性疾患および前立腺悪性疾患においてダウンレギュレートされ、そしてその発現の異所性の修復は、このような腫瘍由来の細胞株の腫瘍形成性を抑制した。従って、本発明のM B S P 1 およびM B S P 2 の核酸およびポリペプチド、抗体ならびに関連化合物は、種々の癌に関連する治療適用において、有用である。さらに、C A Mは、細胞増殖の制御において役割を果たし、そしてこれによって、C A Mは、腫瘍形成性表現型の誘導および/または維持に参与し得る。従って、本発明によるM B S P 1 およびM B S P 2 の核酸およびポリペプチド、抗体ならびに関連化合物は、悪性腫瘍および前悪性条件の処置において有用である。

【0036】

I g / フィブロネクチン I I I 型反復ファミリーのメンバー（例えば、神経細胞接着分子（N - C A M）、L 1、F 1 1 / コンタクチン（c o n t a c t i n）など）はまた、神経系の発生プロセス（細胞移動、軸索伸長、ならびに軸索の誘導および束形成が挙げられる）に参与する。D C Cはまた、ネツリン - 1（軸索を発生中の神経系に移動させるための誘導合図として作用する、分泌タンパク質である膜関連タンパク質）に対するレセプターのレセプターまたは構成要素として、機能し得る。従って、本発明のM B S P 1 およびM B S P 2 の核酸およびポリペプチド、抗体および関連化合物は、種々の神経学的疾患（例えば、パーキ

ンソン病、アルツハイマー病、筋萎縮性側索硬化症および精神医学的障害)に関する治療適用において、有用である。

【0037】

M B S P 3 核酸およびコードされるポリペプチドは、タンパク質のフィコリン (f i c o l i n) ファミリーに属するタンパク質に特徴的な構造的モチーフを含む。フィコリンとは、コラーゲン様かつ線維素原様 (F B G) 配列を含み、そしてこれらは、C q 1 およびコレクチンと類似の全体的構造を有する。フィコリンは、種々の微生物病原体の表面のオリゴ糖に結合すること、および食菌作用の開始を補助することによって、先天免疫において重要な役割を果たす。従って、本発明による M B S P 3 の核酸、ポリペプチド、抗体および関連化合物は、免疫系における機能不全 (例えば、自己免疫疾患、慢性炎症、および急性炎症性応答障害) を処置する際に、有用である。

【0038】

M B S P 4 核酸およびコードされたポリペプチドは、タンパク質のニューロリギンファミリーに属するタンパク質の特徴である構造モチーフを含む。ニューロリギンはニューレキシンに結合し、それにより、ニューロン間の細胞 - 細胞相互作用を媒介する。ニューロリギンは、ニューロン間の認識プロセスを媒介する際に機能する別個のアイソフォームを有する脳特異的タンパク質の多重遺伝子ファミリーを構成する。従って、本発明の M B S P 4 核酸、ポリペプチド、抗体および関連化合物は、種々の神経性疾患 (例えば、パーキンソン病、アルツハイマー病、筋萎縮側索硬化症および神経性障害) に関する治療学的適用において有用である。

【0039】

M B S P 5 および M B S P 6 核酸およびそれらのコードされたポリペプチドは、タンパク質のプレクチンファミリーに属するタンパク質に特徴的である構造モチーフを含む。プレクチン (中間体フィラメント連結タンパク質) は、筋細胞膜、核膜、および筋肉における筋原線維間ネットワーク、ならびに皮膚における半接着斑に通常関連している。プレクチンは、筋肉および皮膚の構造の完全性および正常な神経筋伝達に必須である。プレクチンは、外傷後のグリア反応において

重要な役割を果たしている。従って、本発明のMBS P 5およびMBS P 6 核酸、ポリペプチド、抗体および関連化合物は、外傷（例えば、創傷および発作によって作成された外傷）を処置する際に有用である。プレクチンは、皮膚、骨格筋、および心臓細胞構築の完全性を維持する際に必須である。プレクチン欠損は、基底細胞癌において見出される異常に構築された半接着班を生じ得、そして、これらの癒着構造の変化は、腫瘍周囲のくぼみを生じ得る。プレクチン欠損は、筋ジストロフィーおよび筋萎縮側索硬化症（EBS）、およびEBS - O g n a、常染色体優性の重篤な皮膚水疱形成疾患に関連する。プレクチンは、筋障害の常染色体劣性型に代表的な限局性外傷（微小コア / 多コア疾患）に関与し、心筋細胞構築の維持において重要である。従って、本発明のMBS P 5およびMBS P 6 核酸、ポリペプチド、抗体および関連化合物は、筋ジストロフィー、EBS、心筋症および癌の処置において有用である。

【0040】

MBS P 7 核酸およびコードされたポリペプチドは、ヒトN33タンパク質に特徴的な構造モチーフを含む。N33は、多数の結腸癌細胞株およびいくつかの原発性結腸直腸腫瘍におけるメチル化によって沈黙される候補腫瘍サプレッサー遺伝子である。N33のメチル化はまた、g l i o b l a s t o m a m u l t i f o r m eにおいて発生することが示されている。従って、本発明のMBS P 7 核酸、ポリペプチド、抗体および関連化合物は、種々の癌について、またはこれらの癌の処置においての診断マーカーとして有用である。

【0041】

MBS P 8 核酸およびコードされたポリペプチドは、ケラチノサイト増殖因子（KGF）に特徴的な構造モチーフを含む。ケラチノサイト増殖因子は、種々の組織由来の上皮組織のみで発現される線維芽細胞増殖因子（FGF）ファミリー（代替的にはFGF - 7と命名される）のヘアピン結合メンバーである。KGFは、肝細胞および胃腸上皮細胞を含む広範な種々の上皮細胞、II型肺細胞、移行性尿路上皮細胞および全層化扁平上皮のケラチサイトにおける増殖および分化の重要なパラクリンメディエータである。KGFは、上皮および粘膜（例えば、胃腸管、肺、膀胱、および毛包を含む）に対する傷害（例えば、照射および化学

療法誘導傷害)に対する細胞保護剤として作用する。従って、本発明のMBS P 8 核酸、ポリペプチド、抗体および関連化合物は、炎症の処置のため、種々の組織および器官の修復のため、ならびにヒト上皮の悪性腫瘍の処置のための治療学的適用において有用である。

【0042】

MBS P 11 核酸およびコードされたポリペプチドは、ニコチンアミドヌクレオチドトランスヒドロゲナーゼファミリーのタンパク質に特徴的な構造モチーフを含む。エネルギー伝達ニコチンアミドヌクレオチドトランスヒドロゲナーゼは、膜貫通水素イオン輸送に連結した反応中でのNAD(H)とNADP(H)との間の水素化物イオンの直接の輸送を触媒する膜結合酵素である。腫瘍細胞は、しばしば、正常細胞の増殖を損なう虚血性微小環境中に存在する。これらの条件下の細胞内酸性化を最小にするために、これらの細胞は、水素イオン輸送メカニズムを上方制御し得る。従って、本発明のMBS P 11 核酸、ポリペプチド、抗体および関連化合物は、虚血性状態および種々の癌(悪性乳癌および固形腫瘍を含む)を処置する際に有用である。

【0043】

(1. MBS P 1 . クローン10354784.0.335、III型Ig / フィブロネクチン反復ファミリーの新規のメンバー)

本発明に従う、MBS P 1 核酸およびポリペプチドは、クローン10354784.0.335の核酸およびコードされたポリペプチド配列を含む。本発明のポリヌクレオチドは、クローン10354784.0.335として同定された。10354784.0.335は、3562ヌクレオチドの全長クローンであり、ヌクレオチド728~2945由来のタンパク質の全体コード配列を含む(本明細書中で「10354784.0.335タンパク質」ともいわれる)。このクローンは、本来下垂体腺組織から得られた。

【0044】

10354784.0.335のヌクレオチド配列は、配列番号1に報告されている。前述のヌクレオチド配列に対応する10354784.0.335タンパク質の推定アミノ酸配列は、配列番号2に報告されている。

【0045】

10354784.0.335について、本明細書中で開示されたヌクレオチド配列を、BLASTN検索プロトコルを使用するGenBankデータベースに対して検索した。BLASTN検索は、ヒトCDOmRNA、3986bp (GenBank登録番号: AF004841) に対して71%の同一性(632ヌクレオチドに対して450)を示した。

【0046】

公に利用可能なGenBankデータベースBLASTPにおける検索は、ACC: O35158ラットCDOタンパク質(1256aa)と50%の同一性(265/525)、そして、ACC: O14631ヒトCDO(1240aa)と50%の同一性(259/518)を示した。DCOは、III型Ig/フィブロネクチン反復ファミリーの癌調節、血清調節、および固定調節メンバーである(Kangら、J. Cell Biol. 138(1), 203-213(1997))。相同性に基づいて、10354784.0.335タンパク質および各相同性タンパク質またはペプチドは、少なくともいくつかの活性を共有し得る。

【0047】

10354784.0.335を、SignalPepおよびPSort検索プロトコルを使用して、他のデータベースに対して検索した。10354784.0.335は、位置25と位置26との間(STA-EA)の切断部位を有する切断可能なアミノ末端シグナルペプチドを有するようである。このタンパク質は、たいてい原形質膜に位置するようである。推定分子量は、80202.4ダルトンである。

【0048】

10354784.0.335核酸およびコードされたポリペプチドは、以下の配列を有する:

【0049】

【化1】

1 GTATCATTTCCATTCTTTTGGGGCCTCCGAAACTGTATAAAT
46 TCAGGTTTTAGAAAACCTGGGTGTGTCCCTGGTTGGCATATAAAG

【0050】

【化2】

91 CGGAATCACACATAGTCCCCTTGCTCCTTGAAGGTTGCTGAGGAA
 136 CGGCACACATTAGAGAGTAAACAGGCCTTTCAGTGAGTTCTCTGC
 181 AGTTTGTCCACAGTGTGAAAAAAGATTACAGCTTCCAGCTGT
 226 GCACCTGAGGAAGTACATAGGTGATTTGCATTGGGGACCTTGCA
 271 ATATGAGAAATGCATGTGTTTAAACAGTGGATTCCATTGAGCTCA
 316 GCCGGAGGCCCGCTCTGAGATGCTCACTGAGAGACAGTTGGGCCT
 361 GAGAACCATAGGGTGGGTTGAGAGCATGGCAGATTCTTGTTC
 406 CATCTCATCTTCAGCCTCACAGCGCACATACTGAGTGCAAGCAGA
 451 AAGAAATATCTGTACCATTAACTGCCTCTACACTCCCTCACCT
 496 TTCTCTCTTTGCCAGCACACAGTTAACTGTGCATATGTTATGTTG
 541 ATGCTGCTGTTCTTCTGTGTTATCTCATTTCTACTCATAACAGC
 586 TCCCTGCAGAAGCAGTCCCTGTTTCTGATAAGGACACCAAGCCCC
 631 AAGGGAATTCTGTAGCAGCCCCACTCTACATAGGTTGAAAGACC
 676 CGGAATGGCTGTTTGATCCCATCTCCATGCTCTCTGGGACTGCCT
 721 CCTGGGCATGCTCTACNAGGACATCCTGGTNNCCACAGCCTTC

 MetLeuTyr---AspIleLeuVal---HisThrProSe
 766 TGTCTTGCCCTCCTTGCCCTCCAGGCTCCACCGCTGAGGCTGC

 rValLeuAlaLeuLeuAlaProProGlySerThrAlaGluAlaAl
 811 CCGCATCATCTACCCCCAGAGGCCAAACCATCATTGTCACCAA

 aArgIleIleTyrProProGluAlaGlnThrIleIleValThrLy
 856 AGGCCAGAGTCTCATTCTGGAGTGTGTGGCCAGTGGAAATCCCACC

 sGlyGlnSerLeuIleLeuGluCysValAlaSerGlyIleProPr
 901 CCCACGGGTCACCTGGGCCAAGGATGGGTCCAGTGTACCCGGCTA

 oProArgValThrTrpAlaLysAspGlySerSerValThrGlyTy
 946 CAACAAGACGCGCTTCTGCTGAGCAACCTCCTCATCGACACCAC

 xAsnLysThrArgPheLeuLeuSerAsnLeuLeuIleAspThrTh
 991 CAGCGAGGAGACTCAGGCACCTCCCGGTGCATGCCGACAATGG

 rSerGluGluAspSerGlyThrSerArgCysMetProAspAsnGl
 1036 GGTGGGCAGCCCGGGCAGCGGTATCCTCTACAATGTCCAGGT

 yValGlyGlnProGlyAlaAlaValIleLeuTyrAsnValGlnVa

【0051】

【化3】

1081 GTTGAACCCCTGAGGTCACCATGGAGCTATCCCAGCTGGTCAT
 lPheGluProProGluValThrMetGluLeuSerGlnLeuValIl
 1126 CCCCTGGGGCCAGAGTGCCAAGCTTACCTGTGAGGTCCGTGGGAA
 eProTrpGlyGlnSerAlaLysLeuThrCysGluValArgGlyAs
 1171 CCCCCGCCCTCCGTGCTGTGGCTGAGGAATGCTGTGCCCTCAT
 nProProProSerValLeuTrpLeuArgAsnAlaValProLeuIl
 1216 CTCCAGCCAGCGCTCCGGCTCTCCCGCAGGGCCCTGCCGTGCT
 eSerSerGlnArgLeuArgLeuSerArgArgAlaLeuArgValLe
 1261 CAGCATGGGGCCTGAGGACGAAGGCGTCTACCAGTGCATGGCCGA
 uSerMetGlyProGluAspGluGlyValTyrGlnCysMetAlaGl
 1306 GAACGAGGTTGGGAGCGCCCATGCCGTAGTCCAGCTGCCGACCTC
 uAsnGluValGlySerAlaHisAlaValValGlnLeuArgThrSe
 1351 CAGGCCAAGCATAACCCCAAGGCTATGGCAGGATGCTGAGCTGGC
 rArgProSerIleThrProArgLeuTrpGlnAspAlaGluLeuAl
 1396 TACTGGCACACCTCCTGTATCACCCCTCCAACTCGGCAACCCCTGA
 aThrGlyThrProProValSerProSerLysLeuGlyAsnProGl
 1441 GCAGATGCTGAGGGGCAACCGCGCTCCCCAGACCCCAACGTC
 uGlnMetLeuArgGlyGlnProAlaLeuProArgProProThrSe
 1486 AGTGGGGCCTGCTTCCCCGAGTGTCCAGGAGAGAAGGGGAGGG
 rValGlyProAlaSerProGlnCysProGlyGluLysGlyGlnGl
 1531 GGCTCCCGCCGAGGCTCCCATCATCCTCAGCTCGCCCCGCACCTC
 yAlaProAlaGluAlaProIleIleLeuSerSerProArgThrSe
 1576 CAAGACAGACTCATATGAACGGTGTGGCGCCCTCGGCATGAGGG
 rLysThrAspSerTyrGluLeuValTrpArgProArgHisGluGl
 1621 CAGTGGCCGGGCGCCAATCCTCTACTATGTGGTGAACACCCGCAA
 ySerGlyArgAlaProIleLeuTyrTyrValValLysHisArgLy
 1666 GGTCAAAATTCCTCTGACGATGGACCATCTCTGGCATCCAGC
 sValThrAsnSerSerAspAspTrpThrIleSerGlyIleProAl
 1711 CAACCGGCACCGCCTGACCCTCACCAGACTTGACCCCGGAGCTT
 aAsnArgHisArgLeuThrLeuThrArgLeuAspProGlySerLe

【0052】

【化4】

1756 GTATGAAGTGGAGATGGCAGCTTACAACTGTGCGGGAGAGGGCCA
 uTyrGluValGluMetAlaAlaTyrAsnCysAlaGlyGluGlyG1
 1801 GACAGCCATGGTCACCTTCCGAACTGGACGGCGGCCAAACCCGA
 nThrAlaMetValThrPheArgThrGlyArgArgProLysProG1
 1846 GATCATGGCCAGCAAAGAGCAGCAGATCCAGAGAGACGACCCCTGG
 uIleMetAlaSerLysGluGlnGlnIleGlnArgAspAspProG1
 1891 AGCCAGTCCCCAGAGCAGCAGTCCCCAGAGCAGCAGCCAGCCAGA
 yAlaSerProGlnSerSerSerProGlnSerSerSerGlnProAs
 1936 CCACGGCCGCTCTCCCCCCAGAAGCTCCCGACAGGCCACCACAT
 pHisGlyArgLeuSerProProGluAlaProAspArgProThrI1
 1981 CTCCACGGCCTCCGAGACCTCAGTGACGTGACCTGGATTCCCCG
 eSerThrAlaSerGluThrSerValTyrValThrTrpIleProAr
 2026 TGGGAATGGTGGGTCCCAATCCAGTCCTCCGTGTGGAGTACAA
 gGlyAsnGlyGlyPheProIleGlnSerPheArgValGluTyrLy
 2071 GAAGCTAAAGAAAGTGGGAGACTGGATTCTGCCACCAGCCCCAT
 sLysLeuLysLysValGlyAspTrpIleLeuAlaThrSerAlaI1
 2116 CCCCCCATCGCGGCTGTCCGTGGAGATCACGGCCCTAGAGAAAGG
 eProProSerArgLeuSerValGluIleThrGlyLeuGluLysG1
 2161 AGCCTCCTACAAGTTTCGAGTCCGGCTCTGAACATGCTGGGGGA
 yAlaSerTyrLysPheArgValArgAlaLeuAsnMetLeuGlyG1
 2206 GAGCGAGCCCAGCGCCCCCTCTCGGCCCTACGTGGTGTGGGGCTA
 uSerGluProSerAlaProSerArgProTyrValValSerGlyTy
 2251 CAGCGGTGCGGTGTACGAGAGGCCCGTGGCAGGTCTTATATCAC
 rSerGlyArgValTyrGluArgProValAlaGlyProTyrIleTh
 2296 CTTACGGATGCGGTCAATGAGACCACCATCATGCTCAAGTGGAT
 rPheThrAspAlaValAsnGluThrThrIleMetLeuLysTrpMe
 2341 GTACATCCAGCAAGTAACAACAACCCCCAATCCATGGCTTTTA
 tTyrIleProAlaSerAsnAsnAsnThrProIleHisGlyPheTy
 2386 TATCTATTATCGACCCACAGACAGTGACAATGATAGTGACTACAA
 rIleTyrTyrArgProThrAspSerAspAsnAspSerAspTyrLy

【0053】

【化5】

2431 GAAGGATATGGTGAAGGGGACAAGTACTGGCACTCCATCAGCCA
 sLysAspMetValGluGlyAspLysTyrTrpHisSerIleSerHi
 2476 CCTGCAGCCAGAGACCTCCTACGACATTAAGATGCAGTGCTTCAA
 sLeuGlnProGluThrSerTyrAspIleLysMetGlnCysPheAs
 2521 TGAAGGAGGGGAGAGCGAGTTCAGCAACGTGATGATCTGTGAGAC
 nGluGlyGlyGluSerGluPheSerAsnValMetIleCysGluTh
 2566 CAAAGCTCGGAAGTCTTCTGGCCAGCCTGGTCGACTGCCACCCCC
 rLysAlaArgLysSerSerGlyGlnProGlyArgLeuProProPr
 2611 AACTCTGGCCCCACCACAGCCGCCCTTCTGAAACCATAGAGCG
 oThrLeuAlaProProGlnProProLeuProGluThrIleGluAr
 2656 GCCGGTGGGCACTGGGGCCATGGTGGCTCGCTCCAGCGACCTGCC
 gProValGlyThrGlyAlaMetValAlaArgSerSerAspLeuPr
 2701 CTATCTGATTGTGGGGTCGTCCTGGGCTCCATCGTTCTCATCAT
 oTyrLeuIleValGlyValValLeuGlySerIleValLeuIleIl
 2746 CGTCACCTTCATCCCTTCTGCTGTGGAGGGCCTGGTCTAAGCA
 eValThrPheIleProPheCysLeuTrpArgAlaTrpSerLysGl
 2791 AAAACATACACAGACCTGGGTTTTCTCGAAGTGCCCTTCCACC
 nLysHisThrThrAspLeuGlyPheProArgSerAlaLeuProPr
 2836 CTCCTGCCCGTATACTATGGTGCCATGGGAGGACTCCAGGCCA
 oSerCysProTyrThrMetValProLeuGlyGlyLeuProGlyHi
 2881 CCAGGCAGTGGACAGCCCTACCTCAGTGGCATCAGTGGACGGCC
 sGlnAlaValAspSerProThrSerValAlaSerValAspGlyPr
 2926 TGTGCTAATGGATCCACATGAATAGGGGCTGCCCTCGGCTGCA
 oValLeuMetGlySerThr (配列番号2)
 2971 GTGGGCTACCCGGGCATGAAGCCCCAGCAGCACTGCCAGGGGAG
 3016 CTTCAGCAGCAGAGTGACACCAGCAGCCTGCTGAGGCAGACCCAT
 3061 CTTGGCAATGGATATGACCCCCAAAGTCACCAGATCACGAGGGGT
 3106 CCCAAGTCTAGCCCGGACGAGGGCTTTTCTTATACACTGCCC
 3151 GACGACTCCACTCACCAGCTGCTGCAGCCCCATCAGACTGCTGC
 3196 CAACGCCAGGAGCAGCCTGCTGCTGTGGGCCAGTCAGGGGTGAGG

【0054】

【化6】

3241 AGAGCCCCGACAGTCCTGTCTGGAAGCAGTGTGGACCCCTCCA
 3286 TTTCACCTCAGGGCCCCCATGTGCTTGGCCCTTGTGCCAGTTGAA
 3331 GAGGTGGACAGTCCTGACTCCTGCCAAGTGAGTGGAGGAGACTGG
 3376 TGTCCCCAGCACCCCGTAGGGCCCTACGTAGGACAGGAACCTGGA
 3421 ATGCAGCTCTCCCGGGGCCACTGGTGCCTGTGTCTTTTGAACA
 3466 CCACCTCTCACAATTTAGGCAGAAGCTGATATCCAGAAAGACTA
 3511 TATATGTTTTTTTTTTTAAAAAAAAAAAAAAAAACCCCGGGGGG
 3556 GGGCCCC (配列番号1)

(2. MBSP2. クローン10354784. 0. 335. S3347A、
III型Ig/フィブロネクチン反復ファミリーの新規のメンバー)

本発明に従う、MBSP2核酸およびポリペプチドは、クローン10354784. 0. 335. S3347Aの核酸およびコードされたポリペプチド配列を含む。

【0055】

クローン10354784. 0. 335. S3347Aは、III型Ig/フィブロネクチン反復ファミリーの新規のメンバーである。本発明のポリヌクレオチドは、クローン10354784. 0. 335. S3347Aとして同定されている。10354784. 0. 335. S3347Aは、3562ヌクレオチドの全長クローンであり、ヌクレオチド728~2945のタンパク質の全コード配列を含む(本明細書中で「10354784. 0. 335. タンパク質」ともいわれる)。このクローンは、本来下垂体腺組織から得られた。

【0056】

10354784. 0. 335. S3347Aのヌクレオチド配列は、以下に報告されている。前述のヌクレオチド配列に対応する10354784. 0. 335. S3347Aタンパク質の推定アミノ酸配列は、以下に報告される。

【0057】

関連配列10354784. 0. 335のヌクレオチド配列(同時係属米国特許第60/159,231において開示される、1999年10月13日出願)

をBLASTN検索プロトコルを使用してGenBankデータベースに対して検索した。BLASTN検索は、配列10354784.0.335が、ヒトCDOmRNA、3986bp (GenBank登録番号AF004841) に対して71%の同一性(632ヌクレオチドに対して450)を示した。

【0058】

公に利用可能なGenBankデータベースBLASTPにおける検索は、関連配列10354784.0.335にコードされるタンパク質が、ACC:O35158ラットCDOタンパク質(1256aa)と50%の同一性(265/525)、そして、ACC:O14631ヒトCDO(1240aa)と50%の同一性(259/518)を示した。DCOは、III型Ig/フィブロネクチン反復ファミリーの癌調節、血清調節、および固定調節メンバーである(Kangら、J. Cell Biol. 138(1), 203-213(1997))。相同性に基づいて、10354784.0.335タンパク質および10354784.0.335.S3347Aタンパク質ならびに各相同性タンパク質またはペプチドは、少なくともいくつかの活性を共有し得る。

【0059】

関連ポリペプチド配列10354784.0.335を、SignalPepおよびPSort検索プロトコルを使用して、他のデータベースに対して検索した。10354784.0.335は、位置25と位置26との間(STA-EA)の切断部位を有する切断可能なアミノ末端シグナルペプチドを有するようである。このタンパク質は、たいてい原形質膜に位置するようである。タンパク質10354784.0.335の推定分子量は、80202.4ダルトンである。

【0060】

10354784.0.335.S3347核酸は、以下の配列を有する：

【0061】

【化7】

GTATCATTTTCCATTCTTTTGGGGCCTCCGAAACTGTATAAATTTAGGTTTGTAGAAAACCTGGGTGTGTCCCTGGTTG
 8 GCATATAAAGCGGAATCACACATAGTCCCTTGCTCCTTGAAGGTTGCTGAGGAACGGCACACATTAGAGAGTAAACAGG
 16 CCTTCAGTGAGTTCTCTGCAGTTTGTCCACAGTGTGAAAAAGATTACAGCTTTCCAGCTGTGCACCTGAGGAAGTA
 24 CATAGGTGATTGCATTTGGGGACCTTGCAATATGAGAAATGCATGTGTTAAACAGTGGATTCCATTAGCTCAGCCGG
 32 AGGCCGGCTCTGAGATGCTCACTGAGAGACAGTTGGGCCTGAGAACCATAGGTTGGGTTGAGAGCATGGCAGATTCTTG
 40 TTCCCATCTCATCTTCAGCCTCACAGGCGACATACTGAGTGCAGCAGAAAGAAATATCTGTACCATTAAACTGCCTC
 48 TACACTCCCTCACCTTTCTCTCTTTGCCAGGACACAGTTAACTGTGCATATGTTATGTTGATGCTGCTGTTCTTCTGTGT
 56 TATCTCATTTCTTACTCATAACAGCTCCCTGCAGAGCAGTCCCTGTTTCTGATAAGGACACCAAGCCCCAAGGGAATC
 64 TGTAGCACGCCCACTCTACATAGGTTGAAAGACCCGGAATGGCTGTTGATCCCATCTCCATGCTCTCTGGGACTGCCT
 72 CCTGGGCATGCTCTACNAGGACATCCTGGTNNCCACACGCCTTCTGTCTTGCCCTCCTTGCCCTCCAGGCTCCACCG
 80 CTGAGGCTGCCCGCATCATCTACCCCCAGAGGCCAAACCATCATCGTCACCAAGGCCAGAGTCTCATTCTGGAGTGT
 88 GTGCCAGTGGAAATCCACCCCCACGGGTACCTGGGCCAAGGATGGGTCCAGTGTACCCGGCTACAACAAGATGGCCTT
 96 CCTGCTGAGCAACCTCCTCATCGACACCACCAGCGAGGAGACTCAGGCACCTACCGCTGCATGGCCGACAATGGGGTTG
 104 GGCAGCCCCGGGCAGCGGTCTCCTCTACAATGTCCAGGTGTTTGAACCCCTGAGGTACCCATGGAGCTATCCCAGCTA
 112 GTCATCCCTGGGGCCAGAGTGCCAGCTTACCTGTGAGGTGCGTGGGACCCCCGCCCCTCCGTGCTGGCTGAGGAA
 120 TGCTGTGCCCTCATCTCCAGCCAGCGCTCCGGCTCTCCCGCAGGGCCCTGCCGCTGCTCAGCATGGGGCTGAGGACG
 128 AAGGCGTCTACCAGTGCATGGCCGAGAACGAGGTTGGGAGCGCCCATGCCGTAGTCCAGCTGCCGACCTCCAGGCCAAGC
 136 ATAACCCCAAGGCTATGGCAGGATGCTGAGCTGGCTACTGGCACACCTCCTGTATCACCTCCAACCTCGGCAACCTGA
 144 GCAGATGCTGAGGGGGCAACCGGCGCTCCCCAGACCCCCAACGTAGTGGGGCCTGCTTCCCCGAGTGTCCAGGAGAGA
 152 AGGGGCAGGGGCTCCCGCGAGGCTCCCATCATCTCAGCTCGCCCCGACCTCCAAGACAGACTCATATGAACTGGTG

【0062】

【化8】

160 TGGCGGCCTCGGCATGAGGGCAGTGGCCGGGGCCCAATCCTCTACTATGTGGTGAACACCGCAAGGTACAAAATCCTC
 168 TGACGATTGGACCATCTCTGGCATTCCAGCCAACCGGCACCGCCTGACCCCTCACCAGACTTGACCCCGGGAGCTTGTATG
 176 AAGTGGAGATGGCAGCTTACAACTGTGCGGGAGAGGGCCAGACAGCCATGGTCACCTTCCGAACTGGACGGCGGCCAAA
 184 CCCCAGATCATGGCCAGCAAAGAGCAGCAGATCCAGAGAGACGACCCCTGGAGCCAGTCCCCAGAGCAGCAGTCCCCAGAG
 192 CAGCAGCCAGCCAGACCAGCGCCGCTCTCCCCCAGAAGCTCCCGACAGGCCACCATCTCCACGGCCTCCGAGACCT
 200 CAGTGTACGTGACCTGGATTCCCCGTGGGAATGGTGGGTTCCCAATCCAGTCCTTCCGTGTGGAGTACAAGAAGCTAAAG
 208 AAAGTGGGAGACTGGATTCTGGCCACCAGCCCATCCCCCATCGCGGTGTCCGTGGAGATCACGGCCTAGAGAAAGG
 216 AGCCTCCTACAAGTTTCGAGTCCGGGCTCTGAACATGCTGGGGGAGAGCGAGCCAGCGCCCCCTCTCGGCCCTACGTGG
 224 TGTCCGGCTACAGCGGTTCGCTGTACGAGAGGCCCGTGGCAGGTCCTTATATCACCTTCACGGATGCGGTCAATGAGACC
 232 ACCATCATGCTCAAGTGGATGTACATCCCAGCAAGTAACAACAACCCCAATCCATGGCTTTTATATCTATTATCGACC
 240 CACAGACAGTGACAATGATAGTGACTACAAGAAGTATGGTGGAGGGGACAAGTACTGGCACTCCATCAGCCACCTGC
 248 AGCCAGAGACCTCCTACGACATTAAGATGCAGTCTCAATGAAGSAGGGGAGCGAGTTCAGCAACGTGATGATCTGT
 256 GAGACCAAAGCTCGGAAGTCTTCTGGCCAGCCTGGTTCGACTGCCACCCCAACTCTGGCCCCACCACAGCCGCCCTTCC
 264 TGAAACCATAGAGCGGCCGGTGGGCACTGGGGCCATGGTGGCTCGTCCAGCGACCTGCCCTATCTGATTGTCGGGGTGC
 272 TCCTGGGCTCCATCGTTCATCATCGTCACCTTCATCCCCTTCTGCTTGTGGAGGGCCTGGTCTAAGCAAAAACATACA
 280 ACAGACCTGGGTTTTCCTCGAAGTGCCTTCCACCCTCCTGCCGTATACTATGGTGCATTTGGAGGACTCCCAGGCCA
 288 CCAGGCAGTGGACAGCCCTACCTCAGTGGCATCAGTGGACGGCCCTGTGCTAATGGGATCCACATGAATAGGGGCTGCC
 296 CTCGGCTGCAGTGGGCTACCCGGGCATGAAGCCCCAGCAGCACTGCCAGGCGAGCTTCAGCAGCAGAGTACACCAGCA
 304 GCCTGCTGAGGCAGACCCATCTTGCAATGGATATGACCCCAAAGTCACCAGATCAGGAGGGTCCCAAGTCTAGCCCG
 312 GACGAGGGCTCTTCTTATACACTGCCCGACGACTCCACTCACCAGCTGCTGCAGCCCCATCAGCACTGCTGCCAACG
 320 CCAGGAGCAGCCTGCTGCTGTGGGCCAGTCAGGGGTGAGGAGAGCCCCGACAGTCCGTGCTGGAAGCAGTGTGGGACC
 328 CTCCATTTCACTCAGGGCCCCCATGCTGCTTGGGCCTTGTGCCAGTTGAAGAGGTGGACAGTCCCTGACTCCTGCCAAGT
 336 AGTGGAGGAGACTGGTGTCCCAGCACCCGTAAGGGCCCTACGTAGGACAGGAACCTGGAATGCAGCTCTCCCCGGGGCC
 344 ACTGGTGCCTGTCTTTTGAACACCACCTCTCACAATTTAGGCAGAAGCTGATATCCAGAAAGACTATATATTGTTT
 352 TTTTTTAAAAAATAAAAAAAAAAACCCTGGGGGGGGCCCC (配列番号3)

10354784.0.335.S3347Aのコードされたポリペプチドは、以下の配列を有する：

【0063】

【化9】

1 MLYXDILVXHTPSVLALLAPPGSTAEAAARIIPPEAQTIIIVTKGQSLILECVASGIPPPRVTWAKDGSSTGYNKMRFL
 81 SNLLIDTTSEEDSGTYRCMADNGVQPGAAVILYNVQVFEPPEVTMELSQLVIPWQGSAKLTCEVRGNPPPSVLWRNAV
 161 PLISSQRLRLSRRALRVLSMGPEDEGVYQMAENEVGSAAVAVQLRTSRPSITPRLWQDAELATGTPPVSPSKLGNPEQM
 241 LRGQPALPRPPTSVGFASPCPGKEKQGAPAEAPIILSSPRTSKTDSYELVWRPRHEGSGRAFILYYVVKHRKVTNSDD
 321 WTISGIPANRHRLTLRLDPGSLYEVEMAAYNCAGEGQTAMVTFRTGRRPKPEIMASKEQQIQRDDPGASPOSSSQSS
 401 QPDHGRLSPPEAPDRPTISTASETSVYVTWIPRNGGGFPIQSFVVEYKLLKKGWILATSAIPPSRLSVEITGLEKGS
 481 YKFRVRALNMLGESEPSAPSRPYVVGYSGRVYERFVAGPYITFTDAVNETTIMLKWMIIPASNNNTPIHGFYIYRPT
 561 SDNDSYKDMVEGDKYHWSISHLQPETSYDIKMCFNEGGESEFSNVMICETKARKSSGQGRPLPPTLAPPQPPLPEY
 641 IERFVGTGAMVARSSDLPYLVIVGVLGSIIVLIVTFIFPCLWRAWKQKHTTDLGFPRALPPSCPYTMVPLGGLPGHQ
 721 VDSPTSVASVDGPFVLMGST (配列番号4)

このタンパク質配列は、10354784.0.335においても見出されるORFを示す。

【0064】

(3.MBSP3.クローン17939072.0.47)

本発明に従う、MBSP3核酸配列およびポリペプチドは、クローン17939072.0.47の核酸およびコードされたポリペプチド配列を含む。

【0065】

本発明のポリヌクレオチドは、クローン17939072.0.47として同定されている。17939072.0.47は、950ヌクレオチドの全長クローンであり、ヌクレオチド83~602のタンパク質の全コード配列を含む(本明細書中で「17939072.0.47タンパク質」ともいわれる)。このクローンは、本来異なった組織(脳、副腎腺、骨および骨肉腫を含む)から得られた。

【0066】

17939072.0.47のヌクレオチド配列は、配列番号5に報告されている。前述のヌクレオチド配列に対応する17939072.0.47タンパク質の推定アミノ酸配列は、配列番号6に報告される。

【0067】

17939072.0.47について本明細書中で開示されるのヌクレオチド

配列をBLASTN検索プロトコルを使用してGeneBankデータベースに対して検索した。BLASTN検索は、マウス脂肪細胞特異的mRNA、1725 bp (GeneBank登録番号M61737) に対して65%の相同性(246ヌクレオチドの161); マウス脈管形成3 (Ang3) mRNA、1530 bp (GeneBank登録番号AF113707) に対して59%の同一性(240ヌクレオチドの272); ならびに、マウスフィコリン (ficolin) B mRNA、919 bp (GeneBank登録番号AF06321) に対して64%の同一性(264ヌクレオチドの169) を示した。

【0068】

173アミノ酸のアミノ酸配列を用いる、公に利用可能なGeneBankデータベースBLASTPにおける検索は、ヒトフィコリン、326アミノ酸 (SP TREMBL - ACC : 000602) に対して、53%の同一性(90アミノ酸の48) を示した。相同性に基づいて、17939072.0.47タンパク質および各相同性タンパク質またはペプチドは、少なくともいくつかの活性を共有し得る。

【0069】

17939072.0.47について、本明細書中に開示されたヌクレオチド配列およびアミノ酸配列を、SignalPepおよびPSort検索プロトコルを使用して、他のデータベースに対して検索した。17939072.0.47は、アミノ末端シグナルペプチドを有していないようである。このタンパク質は、たいていリソソームの管腔に位置するようである。推定分子量は、19945.9ダルトンである。

【0070】

17939072.0.47核酸およびコードされたポリペプチドは、以下の配列を有する：

【0071】

【化10】

541 CACAAGCCTGGCAGCTGTAGAGCCGCTAACCTCCCGACACCTCCC
 aThrSerLeuAlaAlaValGluProLeuThrSerArgHisLeuPr
 586 TCACCACACAGGACCCTGAGTGAGGAGGAGGGGCTGGAAACCTGG
 oHisHisThrGlyPro (配列番号6)
 631 GATGGGTTGGCCAAAGGAGAACCTCAGGCTCCTGGCCTGGCCCAG
 676 CTCCTTCTGCCCCAAGGTAGCTTAGCCCATCCAGACTGGTCCTGA
 721 AGTCTGTCCCTCCATTGGCATGAAGTCTGCCCTCAGCAGTCCGG
 766 CCTCACAGGCTGTACTTTTCATGGTGCTCTTACCTTCTGGCCCCC
 811 ATCCAGAACATTCTGTGAGTGAATTCGCAAGCATACTAGCATGTG
 856 ATATTAGGGAGTTTGCAATAAATTATTGATGCTGATGTAGAAAAA
 901 AAAAGCTTTCAGTGAAGATGGCAGGGCCAGAACTGTTGCTTGACT
 946 CCAAC (配列番号5)

(4. MBSP4. クローン21417374. 0. 9、ヒトニューロリジン
 2ホモログ)

本発明に従う、MBSP4核酸およびポリペプチドは、クローン214173
 74. 0. 9の核酸およびコードされたポリペプチド配列を含む。

【0073】

本発明のポリヌクレオチドは、クローン21417374. 0. 9として同定
 された。21417374. 0. 9は、2523ヌクレオチドの全長クローンで
 あり、ヌクレオチド1~2512までの分泌されたタンパク質の全コード配列を
 含む(本明細書中で「21417374. 0. 9タンパク質」ともいわれる)。
 このクローンは、本来膵臓から得られた。

【0074】

21417374. 0. 9のヌクレオチド配列は、配列番号7に報告されてい
 る。前述のヌクレオチド配列に対応する21417374. 0. 9タンパク質の
 推定アミノ酸配列は、配列番号8に報告される。

【0075】

21417374. 0. 9について本明細書中に開示されるヌクレオチド配列
 をBLASTN検索プロトコルを使用してGeneBankデータベースに対して

検索した。BLASTN検索は、ラットニューログリン2 mRNA、3993 bp (GenBank登録番号U41662) に対して91%の同一性(2523ヌクレオチドの2311)を示した。837アミノ酸の推定アミノ酸配列を、公に利用可能なGenBankデータベースBLASTPで検索し、そして、ラットニューログリン2 (SPTREMBL-ACC:Q62888)の配列に97%同一である(837アミノ酸の813)。相同性に基づいて、21417374.0.9タンパク質および各相同性タンパク質またはペプチドは、少なくともいくつかの活性を共有し得る。

【0076】

21417374.0.9について本明細書中で開示されるヌクレオチド配列およびアミノ酸配列を、SignalPepおよびPSort検索プロトコルを使用して、他のデータベースに対して検索した。21417374.0.9は、位置14と位置15との間の切断部位(GGA-QR)を有する切断可能なアミノ末端シグナルペプチドを有するようである。このタンパク質は、たいてい原形質膜に位置するようである。推定分子量は、91208.5ダルトンである。

【0077】

21417374.0.9核酸およびコードされたポリペプチドは、以下の配列を有する：

【0078】

【化12】

1 ATGTGGCTCCTGGCGCTGTGTCTGGTGGGGCTGGGCGGGGCTCAA
 MetTrpLeuLeuAlaLeuCysLeuValGlyLeuGlyGlyAlaGln
 46 CGCGGGGAGGGGTCCCGGGCGGCGCCCCGGGCGGCCCCGGC
 ArgGlyGlyGlyGlyProAlaAlaAlaProProGlyGlyProGly
 91 CTGGGCCTCGGCAGCCTCGGCGAGGAGCGCTTCCCGGTGGTGAAC
 LeuGlyLeuGlySerLeuGlyGluGluArgPheProValValAsn
 136 ACGGCCTACGGCGAGTGC CGCGGTGTGCGGCGGAGCTCAACAAC
 ThrAlaTyrGlyArgValArgGlyValArgArgGluLeuAsnAsn
 181 GAGATCCTGGGCCCCGTGCGTGCAGTTCCTGGGCGTCCCCTACGCC
 GluIleLeuGlyProValValGlnPheLeuGlyValProTyrAla
 226 ACGCCGCCCTGGGCGCGCGCGCTTCCAGCCGCTGAGGCGCCC
 ThrProProLeuGlyAlaArgArgPheGlnProProGluAlaPro
 271 GCCTCGTGGCCCCGGGTGCGCAACGCCACCACCCTGCCCGCCGCC
 AlaSerTrpProGlyValArgAsnAlaThrThrLeuProProAla
 316 TGCCCCGAGAACCTGCACGGGGCGCTGCCCGCCATCATGCTGCCT
 CysProGlnAsnLeuHisGlyAlaLeuProAlaIleMetLeuPro
 361 GTGTGGTTCACCGACAACCTGGAGCGGGCCGACCTACGTGCAG
 ValTrpPheThrAspAsnLeuGluAlaAlaAlaThrTyrValGln
 406 AACGAGCGGAGGACTGCCTGTACCTCAACCTCTACGTGCCACC
 AsnGlnSerGluAspCysLeuTyrLeuAsnLeuTyrValProThr
 451 GAGGACGGTCCGCTCACAAAAAACGTGACGAGGCGGACGCTCAAT
 GluAspGlyProLeuThrLysLysArgAspGluAlaThrLeuAsn

【0079】

【化13】

496 CCGCCAGACACAGATATCCGTGACCCTGGGAAGAAGCCTGTGATG
ProProAspThrAspIleArgAspProGlyLysLysProValMet
541 CTGTTTCTCCATGGCGGCTCCTACATGGAGGGGACCGAAACATG
LeuPheLeuHisGlyGlySerTyrMetGluGlyThrGlyAsnMet
586 TTCGATGGCTCAGTCCTGGCTGCCTATGGCAACGTCATTGTAGCC
PheAspGlySerValLeuAlaAlaTyrGlyAsnValIleValAla
631 ACGCTCAACTACCGTCTTGGGGTGCTCGGTTTTCTCAGCACCGGG
ThrLeuAsnTyrArgLeuGlyValLeuGlyPheLeuSerThrGly
676 GACCAGGCTGCAAAAGGCAACTATGGGCTCCTGGACCAGATCCAG
AspGlnAlaAlaLysGlyAsnTyrGlyLeuLeuAspGlnIleGln
721 GCCCTGCGCTGGCTCAGTGAAAACATCGCCCACTTTGGGGGCGAC
AlaLeuArgTrpLeuSerGluAsnIleAlaHisPheGlyGlyAsp
766 CCCGAGCGTATCACCATCTTTGGTCCGGGGCAGGGGCTCCTGC
ProGluArgIleThrIlePheGlySerGlyAlaGlyAlaSerCys
811 GTCAACCTTCTGATCCTCTCCACCATTGAGAAGGGCTGTCCAG
ValAsnLeuLeuIleLeuSerHisHisSerGluGlyLeuPheGln
856 AAGGCCATCGCCAGAGTGGCACCGCCATTCCAGCTGGTCTGTG
LysAlaIleAlaGlnSerGlyThrAlaIleSerSerTrpSerVal
901 AACTACCAGCCGCTCAAGTACACGGGCTGCTGGCAGCCAAGGTG
AsnTyrGlnProLeuLysTyrThrArgLeuLeuAlaAlaLysVal
946 GGCTGTGACCGAGAGGACAGTGTGAAGCTGTGGAGTGTCTGCGC
GlyCysAspArgGluAspSerAlaGluAlaValGluCysLeuArg
991 CGGAAGCCCTCCCGGAGCTGGTGGACCAGGACGTGCAGCCTGCC
ArgLysProSerArgGluLeuValAspGlnAspValGlnProAla
1036 CGGTACCACATCGCCTTTGGGCCCGTGGTGGATGGCGACGTGGTC
ArgTyrHisIleAlaPheGlyProValValAspGlyAspValVal
1081 CCCGATGACCCCTGAGATCCTCATGCAGCAGGGAGAATTCCTCAAC
ProAspAspProGluIleLeuMetGlnGlnGlyGluPheLeuAsn
1126 TACGACATGCTCATCGGTGTCAACCAGGGAGAGGGCCTCAAGTTC
TyrAspMetLeuIleGlyValAsnGlnGlyGluGlyLeuLysPhe

【0080】

【化14】

1171 GTGGAGGACTCTGCAGAGAGCGAGGACGGTGTGTCTGCCAGCGCC
 ValGluAspSerAlaGluSerGluAspGlyValSerAlaSerAla
 1216 TTTGACTTCACTGTCTCCAACCTTTGTGGACAACCTGTATGGCTAC
 PheAspPheThrValSerAsnPheValAspAsnLeuTyrGlyTyr
 1261 CCGGAAGGCAAGGATGTGCTTCGGGAGACCATCAAGTTTATGTAC
 ProGluGlyLysAspValLeuArgGluThrIleLysPheMetTyr
 1306 ACAGACTGGGCCGACCGGGACAATGGCGAAATGCCCGCAAACC
 ThrAspTrpAlaAspArgAspAsnGlyGluMetArgArgLysThr
 1351 CTGCTGGCGCTCTTACTGACCACCAATGGGTGGCACCAGCTGTG
 LeuLeuAlaLeuPheThrAspHisGlnTrpValAlaProAlaVal
 1396 GCCACTGCCAAGCTGCACGCCGACTACCAGTCTCCCGTCTACTTT
 AlaThrAlaLysLeuHisAlaAspTyrGlnSerProValTyrPhe
 1441 TACACCTTCTACCACCACTGCCAGGCGGAGGGCCGGCCTGAGTGG
 TyrThrPheTyrHisHisCysGlnAlaGluGlyArgProGluTrp
 1486 GCAGATGCGCGCACGGGATGAACTGCCCTATGTCTTTGGCGTG
 AlaAspAlaAlaHisGlyAspGluLeuProTyrValPheGlyVal
 1531 CCCATGGTGGGTGCCACCGACTCTTCCCCTGTAACCTCTCCAAG
 ProMetValGlyAlaThrAspLeuPheProCysAsnPheSerLys
 1576 AATGACGTCATGCTCAGTCCCGTGGTCATGACCTACTGGACCAAC
 AsnAspValMetLeuSerAlaValValMetThrTyrTrpThrAsn
 1621 TTCGCCAAGACTGGGGACCCCAACCAGCCGGTCCCGCAGGATAACC
 PheAlaLysThrGlyAspProAsnGlnProValProGlnAspThr
 1666 AAGTTCATCCACACCAAGCCCAATCGCTTCGAGGAGGTGGTGTGG
 LysPheIleHisThrLysProAsnArgPheGluGluValValTrp
 1711 AGCAAATTC AACAGCAAGGAGAAGCAGTATCTGCACATAGGCCTG
 SerLysPheAsnSerLysGluLysGlnTyrLeuHisIleGlyLeu
 1756 AAGCCACGCGTGGCGGACAACCTACCGGCCAACAAGGTGCCTTC
 LysProArgValAlaAspAsnTyrArgAlaAsnLysValAlaPhe
 1801 TGGCTGGAGCTCGTGCCCCACCTGCACAACCTGCACACGGAGCTC
 TrpLeuGluLeuValProHisLeuHisAsnLeuHisThrGluLeu

【0081】

【化15】

1846 TTCACCACCACCACGCGCCTGCCTCCCTACGCCACGCGCTGGCCG
 PheThrThrThrThrArgLeuProProTyrAlaThrArgTrpPro
 1891 CCTCGTCCCCCGCGCGTGGCGCCCCGGGCACACGCCGCCCCCG
 ProArgProProArgArgGlyAlaProGlyThrArgArgProPro
 1936 CCGCCTGCCACCCCTGCCTCCCGAGCCCGAGCCCGAGCCCGGCCA
 ProProAlaThrLeuProProGluProGluProGluProGlyPro
 1981 AGGGCCTATGACCGCTTCCCCGGGACTCACGGGACTACTCCACG
 ArgAlaTyrAspArgPheProGlyAspSerArgAspTyrSerThr
 2026 GAGCTGAGCGTGACCGTGGCCGTGGGTGCCTCCCTCCTCTCCTC
 GluLeuSerValThrValAlaValGlyAlaSerLeuLeuPheLeu
 2071 AACATCCTGGCCTTGTCTGCCCTCTACTACAAGCGGGACCGGCGG
 AsnIleLeuAlaPheAlaAlaLeuTyrTyrLysArgAspArgArg
 2115 CAGGAGCTGCGGTGCAGGCGGCTTAGCCACGTTGGCGGCTCAGGC
 GlnGluLeuArgCysArgArgLeuSerProArgGlyGlySerGly
 2161 TCTGGCGTGCCTGGTGGGGCCCCCTGCTCCCCCGCGGGCCGT
 SerGlyValProGlyGlyGlyProLeuLeuProAlaAlaGlyArg
 2206 GAGCTGCCACCAGAGGAGGAGCTGGTGTCACTGCAGCTGAAGCGG
 GluLeuProProGluGluGluLeuValSerLeuGlnLeuLysArg
 2251 GGTGGTGGCGTCCGGCGGACCCCTGCCGAGGCTCTGCGCCCTGCC
 GlyGlyGlyValGlyAlaAspProAlaGluAlaLeuArgProAla
 2296 TGCCCCCGGACTACCCCTGGCCCTGGCCCGGGCACCGGACGAT
 CysProProAspTyrThrLeuAlaLeuArgArgAlaProAspAsp
 2341 GTGCCTCTCTGGCCCCGGGGCCCTGACCCTGCTGCCAGTGGC
 ValProLeuLeuAlaProGlyAlaLeuThrLeuLeuProSerGly
 2386 CTGGGGCCACCGCCACCCACCGCCCCCTCCCTGCTGCAGATC
 LeuGlyProProProProProProProProSerLeuLeuGlnIle
 2431 TTCGGCCCTTCCCCCGCCCCCTCCACCGCCACCAGCCACAAC
 PheGlyProPheProProProProProProThrAlaThrSerHisAsn
 2476 AACACGCTACCCACCCCACTCCACCCTCGGGTATAGGGGGTG
 AsnThrLeuProHisProHisSerThrThrArgVal (配列番号8)

2521 GGT (配列番号7)

(5.MBSP5.クローン3207791.0.59、新規のタンパク質)
 本発明に従う、MBSP5核酸配列およびポリペプチドは、クローン3207

791.0.59の核酸およびコードされたポリペプチド配列を含む。

【0082】

本発明のポリヌクレオチドは、クローン3207791.0.59として同定される。3207791.0.59は、1665ヌクレオチドの全長クローンであり、ヌクレオチド77~1388のタンパク質の全コード配列を含む（本明細書中で「3207791.0.59タンパク質」ともいわれる）。

【0083】

3207791.0.59のヌクレオチド配列は、配列番号9に報告されている。前述のヌクレオチド配列に対応する3207791.0.59タンパク質の推定アミノ酸配列は、配列番号10に報告される。

【0084】

3207791.0.59について、本明細書中で開示されるヌクレオチド配列をBLASTN検索プロトコルを使用してGeneBankデータベースに対して検索した。BLASTN検索は、ヒトクローンA9A2BRB7(CAC)n/(GTG)n反復含有mRNA、1047bp(GeneBank登録番号U00952)に対して98%の相同性(3'末端の513ヌクレオチドの505)を示した。核酸配列はまた、プレクチン、14189bp(GENBANK - acc:Z54367)のヒト遺伝子に対して56%の同一性(641ヌクレオチドの362)を示した。

【0085】

437アミノ酸のアミノ酸配列を使用する、公に利用可能なGeneBankデータベースBLASTPにおける検索は、公知のタンパク質に対して有意な相同性を示さなかった。

【0086】

3207791.0.59について、本明細書中で開示されるヌクレオチド配列およびアミノ酸配列を、SignalPepおよびPSort検索プロトコルを使用して、他のデータベースに対して検索した。3207791.0.59は、アミノ末端シグナルペプチドを有さないようである。このタンパク質は、たいいてい小網膜に位置するようである。推定分子量は、47136.5ダルトンであ

る。

【0087】

3207791.0.59核酸およびコードされたポリペプチドは、以下の配列を有する：

【0088】

【化16】

```
1 CAACAAGTTAAGCTGAAGACCGAAGCAAGAGCTGGTTCAGGTGGC
46 AGCCACAGCAGCCTCAGGGACCTCAGCAACTATGGCCTCCTGCCC
MetAlaSerCysPr
```

【0089】

【化17】

91 AGACTCTGATAATAGCTGGGTGCTTGCTGGCTCCGAGAGCCTGCC
 oAspSerAspAsnSerTrpValLeuAlaGlySerGluSerLeuPr
 136 AGTGGAGACTGGGCCCGCATCCAGGATGGACCCAGAATCTGA
 oValGluThrLeuGlyProAlaSerArgMetAspProGluSerGl
 181 GAGAGCCCTGCAGGCCCTCACAGCCCTCCAAGACAGATGGAA
 uArgAlaLeuGlnAlaProHisSerProSerLysThrAspGlyLy
 226 AGAATTAGCTGGGACCATGGATGGAGAAGGGACGCTCTCCAGAC
 sGluLeuAlaGlyThrMetAspGlyGluGlyThrLeuPheGlnTh
 271 TGAAAGCCCTCAGTCTGGCAGCATCTAACAGAGGAGACTGAGGT
 rGluSerProGlnSerGlySerIleLeuThrGluGluThrGluVa
 316 CAAGGGCACCCCTGGAAGGTGATGTTTGTGGTGTGGAGCCTCCTGG
 lLysGlyThrLeuGluGlyAspValCysGlyValGluProProGl
 361 CCCAGGAGACACAGTAGTCCAGGGAGACCTGCAGGAGACCACCGT
 yProGlyAspThrValValGlnGlyAspLeuGlnGluThrThrVa
 406 GGTGACAGGCCTGGGACCAGACACAGGACCTGGAAGGCCAGAG
 iValThrGlyLeuGlyProAspThrGlnAspLeuGluGlyGlnSe
 451 CCCTCCACAGAGCCTGCCTTCAACCCCAAGCAGCTTGGATCAG
 rProProGlnSerLeuProSerThrProLysAlaAlaTrpIleAr
 496 GGAGGAGGGCCGCTGCTCCAGCAGTGACGATGACACCGACGTTGA
 gGluGluGlyArgCysSerSerSerAspAspAspThrAspValAs
 541 CATGSAGGGTCTGCGGAGACGGCGGGCCGGGAGGCGGCCACC
 pMetGluGlyLeuArgArgArgArgGlyArgGluAlaGlyProPr
 586 TCAGCCCATGGTGGCCCTGGCTGTGGAGAACCAGGCTGGGGGTGA
 oGlnProMetValProLeuAlaValGluAsnGlnAlaGlyGlyGl
 631 GGGTGCAGGCGGGAGCTGGGCATCTCCCTCAACATGTGCCTCCT
 uGlyAlaGlyGlyGluLeuGlyIleSerLeuAsnMetCysLeuLe
 676 TGGGGCCCTGGGTCTGCTTGGCCTGGGGTCTCCTCTTCTCAGG
 uGlyAlaLeuGlyLeuLeuGlyLeuGlyValLeuLeuPheSerGl
 721 TGGCCTCTCAGAGTCTGAGACTGGGCCCATGGAGGAAGTGGAGCG
 yGlyLeuSerGluSerGluThrGlyProMetGluGluValGluAr

【0090】

【化18】

766 GCAGGTCCTCCCAGACCCCGAGGTGCTGGAAGCTGTGGGGGACAG
 gGlnValLeuProAspProGluValLeuGluAlaValGlyAspAr
 811 GCAGGATGGGCTAAGGGAACAGCTGCAGGCCCCAGTGCCTCCTGA
 gGlnAspGlyLeuArgGluGlnLeuGlnAlaProValProProAs
 856 CAGTGTCCCAGCCTGCAAAACATGGGTCTTCTGCTGGACAAGCT
 pSerValProSerLeuGlnAsnMetGlyLeuLeuLeuAspLysLe
 901 GGCCAAGGAGAACCAGGACATCCGGCTGCTGCAGGCCCAGCTGCA
 uAlaLysGluAsnGlnAspIleArgLeuLeuGlnAlaGlnLeuGl
 946 GGCCCAAAGGAAGAGCTTCAGAGCCTGATGCACCAGCCCAAAGG
 nAlaGlnLysGluGluLeuGlnSerLeuMetHisGlnProLysGl
 991 GCTAGAGGAGGAGAATGCCAGCTCCGGGGGGCTCTGCAGCAGGG
 yLeuGluGluGluAsnAlaGlnLeuArgGlyAlaLeuGlnGlnGl
 1036 CGAAGCCTTCCAGCGGGCTCTGGAGTCAGAGCTGCAGCAGCTGCG
 yGluAlaPheGlnArgAlaLeuGluSerGluLeuGlnGlnLeuAr
 1081 GGCCCGGCTCCAGGGGCTGGAGGCCGACTGTGTCCGGGGCCAGA
 gAlaArgLeuGlnGlyLeuGluAlaAspCysValArgGlyProAs
 1126 TGGGGATGGCATCTTCCGTCATGACCGCCTCCGCTTCCGGGATTT
 pGlyAspGlyIlePheArgHisAspArgLeuArgPheArgAspPh
 1171 TGTGGATGCCCTGGAGGACAGCTTGGAGGAGGTGGCTGTGCAACA
 eValAspAlaLeuGluAspSerLeuGluGluValAlaValGlnGl
 1216 GACAGGTGATGATGATGAAGTAGATGACTTTGAGGACTTCATCTT
 nThrGlyAspAspAspGluValAspAspPheGluAspPheIlePh
 1261 CAGCCACTTCTTTGGAGACAAAGCACTGAAGAAGAGGTCAGGGAA
 eSerHisPhePheGlyAspLysAlaLeuLysLysArgSerGlyLy
 1306 GAAGGACAGCACTCACAGAGCCCAAGAGCTGCGGGGCCAGGGA
 sLysAspLysHisSerGlnSerProArgAlaAlaGlyProArgGl
 1351 GGGGCACAGCCATAGCCACCACCACCACCACCGGGCTGACACCC
 uGlyHisSerHisSerHisHisHisHisHisArgGly (配列番号10)
 1396 TGCCCCACAGGGAATGGCCTTGGCCTGGCCACGCCCAAGATCCCA
 1441 GCGTTATCTAATCTCTGGAGGGTGGACTCTGTCTTGGCTTGTG

【0091】

【化19】

1486 GTGTCTCAGATATCTTTCACACAGTAGAGCAAATCACCAGCCC
1531 TGCACTGATGTCACTTTATGTAGAAAAAGGCCCTAGCTGGACCTG
1576 CGTTGCCGTCTATGCAAATGCATGCAAATACTCCAGGCCCTGGGA
1621 TGTGGGCTTGTGTTTTGTCACTGTGAAGGGGAGATGGGAGAGGA (配列番号9)

(6.MBSP6.クローン3207791.0.128、新規の分泌されたタンパク質)

本発明に従う、MBSP6核酸およびポリペプチドは、クローン3207791.0.128の核酸およびコードされたポリペプチド配列を含む。

【0092】

本発明のポリヌクレオチドは、クローン3207791.0.128として同定される。3207791.0.128は、2739ヌクレオチドの全長クローンであり、ヌクレオチド670~2275のタンパク質の全コード配列を含む(本明細書中で「3207791.0.128タンパク質」ともいわれる)。

【0093】

3207791.0.128および3207791.0.59は、改変体をスプライスするようである。3207791.0.128のヌクレオチド4~1133;2017~2552および3207791.0.59のヌクレオチド1~1108;1129~1665は、99.88%同一であり;3207791.0.128のアミノ酸1~155および450~535ならびに3207791.0.59のヌクレオチド197~351および352~437は、99.585%同一である。

【0094】

3207791.0.128のヌクレオチド配列は、配列番号11に報告されている。前述のヌクレオチド配列に対応する3207791.0.128タンパク質の推定アミノ酸配列は、配列番号12に報告される。

【0095】

3207791.0.128について、本明細書中で開示されるヌクレオチド

配列をBLASTN検索プロトコルを使用してGeneBankデータベースに対して検索した。BLASTN検索は、ヒトクローンA9A2BRB7(CAC)_n / (GTG)_n反復含有mRNA、1047bp(GeneBank登録番号U00952)に対して98%の相同性(1042ヌクレオチドの1029)を示した。535アミノ酸のアミノ酸配列は、公知のタンパク質に対して有意な相同性を示さなかった。

【0096】

3207791.0.128について、本明細書中で開示されるヌクレオチド配列およびアミノ酸配列を、SignalPepおよびPSort検索プロトコルを使用して、他のデータベースに対して検索した。3207791.0.128は、たいてい位置22と位置23との間(GLS-ES)に切断部位を有する切断可能なアミノ末端シグナルペプチドを有するようである。このタンパク質は、細胞の外側に最も位置するようである。推定分子量は、60290.7ダルトンである。3207791.0.128は、たいてい分泌タンパク質であるようである。

【0097】

3207791.0.128核酸およびコードされたポリペプチドは、以下の配列を有する：

【0098】

【化20】

1 CTGCAACAAGTTAAGCTGAAGACCGAAGCAAGAGCTGGTTCAGGT
 46 GGCAGCCACAGCAGCCTCAGGGACCTCAGCAACTATGGCCTCCTG
 91 CCCAGACTCTGATAATAGCTGGGTGCTTGCTGGCTCCGAGAGCCT
 136 GCCAGTGGAGACACTGGGCCCCGGCATCCAGGATGGACCCAGAATC
 181 TGAGAGAGCCCTGCAGGCCCTCACAGCCCCTCCAAGACAGATGG
 226 GAAAGAATTAGCTGGGACCATGGATGGAGAAGGGACGCTCTTCCA
 271 GACTGAAAGCCCTCAGTCTGGCAGCATTCTAACAGAGGAGACTGA
 316 GGTCAAGGGCACCCCTGGAAGGTGATGTTTGTGGTGTGGAGCCTCC
 361 TGGCCCAGGAGACACAGTAGTCCAGGGAGACCTGCAGGAGACCAC
 406 CGTGGTGACAGGCCTGGGACCAGACACACAGGACCTGGAAGGCCA
 451 GAGCCCTCCACAGAGCCTGCCTTCAACCCCCAAAGCAGCTTGGAT
 496 CAGGGAGGAGGCCCGCTGCTCCAGCAGTGACGATGACACCGACGT
 541 GGACATGGAGGCTCTGCGGAGACGGCGGGCCGGGAGGCCGGCCC
 586 ACCTCAGCCCATGGTGCCTTGGCTGTGGAGAACCAGGCTGGGGG
 631 TGAGGGTGCAGGCGGGGAGCTGGGCATTTTCCCCTCAACATGTGC

 MetCys
 676 CTCCTGGGGCCCTGGTTCGCTTGGCCTGGGGTCTCCTCTTC
 LeuLeuGlyAlaLeuValLeuLeuGlyLeuGlyValLeuLeuPhe
 721 TCAGGTGGCCTCTCAGAGTCTGAGACTGGGCCCATGGAGGAAGTG
 SerGlyGlyLeuSerGluSerGluThrGlyProMetGluGluVal
 766 GAGCGGCAGGTCTCCAGACCCCGAGGTGCTGGAAGCTGTGGGG
 GluArgGlnValLeuProAspProGluValLeuGluAlaValGly
 811 GACAGGCAGGATGGGCTAAGGGAACAGCTGCAGGCCCCAGTGCCT
 AspArgGlnAspGlyLeuArgGluGlnLeuGlnAlaProValPro
 856 CCTGACAGTGTCCCAGCCTGCAAAACATGGGTCTTCTGCTGGAC
 ProAspSerValProSerLeuGlnAsnMetGlyLeuLeuLeuAsp

【0099】

【化21】

901 AAGCTGGCCAAGGAGAACCAGGACATCCGGCTGCTGCAGGCCCCAG
 LysLeuAlaLysGluAsnGlnAspIleArgLeuLeuGlnAlaGln
 946 CTGCAGGCCCAAAAGGAAGAGCTTCAGAGCCTGATGCACCAGCCC
 LeuGlnAlaGlnLysGluGluLeuGlnSerLeuMetHisGlnPro
 991 AAAGGGCTAGAGGAGGAGAATGCCAGCTCCGGGGGGCTCTGCAG
 LysGlyLeuGluGluGluAsnAlaGlnLeuArgGlyAlaLeuGln
 1036 CAGGGCGAAGCCTTCCAGCGGGCTCTGGAGTCAGAGCTGCAGCAG
 GlnGlyGluAlaPheGlnArgAlaLeuGluSerGluLeuGlnGln
 1081 CTGCGGGCCCCGGCTCCAGGGGCTGGAGGCCGACTGTGTCCGGGGC
 LeuArgAlaArgLeuGlnGlyLeuGluAlaAspCysValArgGly
 1126 CCAGATGGGGTGTGCCTCAGTGGGGTAGAGGCCACAGGGTGAC
 ProAspGlyValCysLeuSerGlyGlyArgGlyProGlnGlyAsp
 1171 AAGCCATCAGGGAGCAAGGCCCCAGGGAGCAGGAGCCAGAATC
 LysAlaIleArgGluGlnGlyProArgGluGlnGluProGluLeu
 1216 AGCTTCCTGAAGCAGAAGGAACAGCTGGAGGCTGAGGCACAGGCA
 SerPheLeuLysGlnLysGluGlnLeuGluAlaGluAlaGlnAla
 1261 TTAAGCAAGAGTTAGAGAGGCAGCGCGCTGCTGGGGTCTGTA
 LeuArgGlnGluLeuGluArgGlnArgArgLeuLeuGlySerVal
 1306 CAGCAGGATCTGGAGAGGAGCTTGCAGGATGCCAGCCCGGGGAC
 GlnGlnAspLeuGluArgSerLeuGlnAspAlaSerArgGlyAsp
 1351 CCAGCTCATGCTGGCTTGGCTGAGCTGGGCCACAGATTGGCCCCAG
 ProAlaHisAlaGlyLeuAlaGluLeuGlyHisArgLeuAlaGln
 1396 AAAGTGCAGGGCCTGGAGAACTGGGGCCAGGACCCCTGGGGTCTCT
 LysLeuGlnGlyLeuGluAsnTrpGlyGlnAspProGlyValSer
 1441 GCCAATGCCTCAAAGGCCTGGCCACCAGAAGTCCCACCTCCAGAAT
 AlaAsnAlaSerLysAlaTrpHisGlnLysSerHisPheGlnAsn
 1486 TCTAGGGAGTGGAGTGGAAAGGAAAAGTGGTGGGATGGGCAGAGA
 SerArgGluTrpSerGlyLysGluLysTrpTrpAspGlyGlnArg
 1531 GACCGGAAGGCTGAGCACTGGAAACATAAGAAGGAAGAATCTGGC
 AspArgLysAlaGluHisTrpLysHisLysLysGluGluSerGly

【0100】

【化22】

1576 CGGGAAAGGAAGAAGAACTGGGGAGGTCAGGAGGACAGGGAGCCA
 ArgGluArgLysLysAsnTrpGlyGlyGlnGluAspArgGluPro
 1621 GCAGGAAGGTGGAAGGAGGGCAGGCCAAGGGTGGAGGAGTCGGGG
 AlaGlyArgTrpLysGluGlyArgProArgValGluGluSerGly
 1666 AGCAAGAAGGAGGGCAAGCGACAGGGCCCGAAGGAACCCCAAGG
 SerLysLysGluGlyLysArgGlnGlyProLysGluProProArg
 1711 AAAAGTGGTAGCTTCCACTCCTCTGGAGAAAAGCAGAAGCAACCT
 LysSerGlySerPheHisSerSerGlyGluLysGlnLysGlnPro
 1756 CGGTGGAGGGAAGGGACTAAGGGCAGCCATGACCCCTGCCATCC
 ArgTrpArgGluGlyThrLysGlySerHisAspProLeuProSer
 1801 TGGGCAGAGCTGTTGAGGCCAAGTACCGGGCACCCAGGGCTGC
 TrpAlaGluLeuLeuArgProLysTyrArgAlaProGlnGlyCys
 1846 TCAGGTGTGGACGAGTGTGCCCGGAGGAGGGCCTGACTTTCTTT
 SerGlyValAspGluCysAlaArgGlnGluGlyLeuThrPhePhe
 1891 GGCACAGAGCTAGCCCCAGTGGCGCAACAGGAGCTGGCCTCTCTG
 GlyThrGluLeuAlaProValArgGlnGlnGluLeuAlaSerLeu
 1936 CTAAGAACATACTTGGCAGGCTGCCCTGGGCTGGGCAGCTGACC
 LeuArgThrTyrLeuAlaArgLeuProTrpAlaGlyGlnLeuThr
 1981 AAGGAGCTACCCCTCTCACCTGCTTCTTTGGTGAGGATGGCATC
 LysGluLeuProLeuSerProAlaPhePheGlyGluAspGlyIle
 2026 TTCCGTCATGACCGCTCCGCTTCCGGGATTTTGTGGATGCCCTG
 PheArgHisAspArgLeuArgPheArgAspPheValAspAlaLeu
 2071 GAGGACAGCTTGGAGGAGGTGGCTGTGCAACAGACAGGTGATGAT
 GluAspSerLeuGluGluValAlaValGlnGlnThrGlyAspAsp
 2116 GATGAAGTAGATGACTTTGAGGACTTCATCTTCAGCCACTTCTTT
 AspGluValAspAspPheGluAspPheIlePheSerHisPhePhe
 2161 GGAGCAAAGCACTGAAGAAGAGGTGAGGAAGAAGGACAAGCAC
 GlyAspLysAlaLeuLysLysArgSerGlyLysLysAspLysHis
 2206 TCACAGAGCCCAAGAGCTGCGGGCCCGAGGAGGGGCACAGCCAT
 SerGlnSerProArgAlaAlaGlyProArgGluGlyHisSerHis

【0101】

【化23】

2251 AGCCACCACCACCACCACCGGGGCTGACACCCTGCCCCACAGGGA
 SerHisHisHisHisHisArgGly (配列番号12)

2296 ATGGCCTTGGCCTGGCCCAGCCCAAGATCCCAGCGTTATCTAACT

2341 CCTGGAGGGTGGACTCTGTCTGGCTTGTGGTGTCTCAGATA

2386 TCTTTCACACAGTAGAGCAAAATCACCAGCCCTGCACTGATGTCA

2431 CTTTATGTAGAAAAGGCCTTAGCTGGACCTGCGTTGCCCTCTAT

2476 GCAAATGCATGCAAATACTCCAGGCCCTGGGATGTGGGCTTGTGT

2521 TTTGTCACTGTGAAGGGGAGATGGGAGAGGAGCCTGTTTTGGGG

2566 TGGGGTCTGGGAAGGCAATCTGATTCTGAAGCTAAAGAGCTTTC

2611 ATCCTCTGAGTGTATGTCCCATAGTGGGCCCTTGACCCACAT

2656 GCTGACCGGTGCCTTGGGATTTGACTAGAGTTGCTGCTTCCAAAC

2701 CTAACAAAACCCAGGGTAAGTCCTCGTGGGCTCG (配列番号11)

(7. MBSP7. クローン3499605. 064、腫瘍サプレッサー遺伝子N33に対するホモログ)

本発明に従う、MBSP7核酸配列およびポリペプチドは、クローン3499605. 064の核酸およびコードされたポリペプチド配列を含む。

【0102】

本発明のポリヌクレオチドは、クローン3499605. 064として同定される。3499605. 064は、681ヌクレオチドの全長クローンであり、ヌクレオチド43～463のタンパク質の全コード配列を含む(本明細書中で「3499605. 0. 64タンパク質」ともいわれる)。このクローンは、本来下垂体腺組織から得られる。

【0103】

3499605. 064のヌクレオチド配列は、配列番号13に報告されている。前述のヌクレオチド配列に対応する3499605. 064タンパク質の推定アミノ酸配列は、配列番号14に報告される。

【0104】

公に利用可能なGeneBankデータベースBLASTPにおける検索は、140アミノ酸のアミノ酸配列が、ラット移植関連タンパク質(335aa)(A

CC:O35777)の配列に対して75%同一(100/132)であり、そして、ヒトN33タンパク質(348aa)(ACC:Q13454)の配列に対して72%相同(89/122)であることを示した。N33は、染色体8p22上に位置する候補腫瘍サプレッサー遺伝子であり、多数の結腸癌細胞株およびいくつかの原発性結腸直腸腫瘍におけるメチル化機構によって沈黙されることが見出された(Levyら、Genes Chromosomes Cancer 1999 24(1):42-7; MacGroganら、1996、Genomics 35(1), 55-65)。相同性に基づいて、3499605.064タンパク質および各相同なタンパク質またはペプチドは、少なくともいくらかの活性を共有し得る。

【0105】

3499605.064について、本明細書中で記載されるヌクレオチド配列をBLASTN検索プロトコルを使用してGenBankデータベースに対して検索した。BLASTN検索は、ラット移植関連タンパク質(IG2)(1219bp)(GenBank登録番号AF008554)をコードするmRNAに対して84%の同一性(413ヌクレオチドの350)およびヒトN33タンパク質(1342bp)(GenBank登録番号U42349)をコードするmRNAに対して71%の同一性(311ヌクレオチドの221)を示した。

【0106】

3499605.064について、本明細書中で開示されるヌクレオチド配列およびアミノ酸配列を、SignalPepおよびPSort検索プロトコルを使用して、他のデータベースに対して検索した。3499605.064は、位置29と位置30との間(ASA-QR)に切断部位を有する切断可能なアミノ末端シグナルペプチドを有するようである。このタンパク質は、たいてい細胞の外側に位置するようである。推定分子量は、16035.8ダルトンである。

【0107】

3499605.064核酸およびコードされたポリペプチドは、以下の配列を有する：

【0108】

【化24】

1 CACGCGAGCAAAGTGGCACTTATAGAAGGGAGAGGAGCGAACATG
 Met
 46 GCAGCGGTTGGCGGTTTTGGTGTGTCTCTGTGACCATGGTGGTG
 AlaAlaArgTrpArgPheTrpCysValSerValThrMetValVal
 91 GCGCTGCTCATCGTTTGCAGCGTTCCCTCAGCCTCTGCCCAAAGA
 AlaLeuLeuIleValCysAspValProSerAlaSerAlaGlnArg
 136 AAGAAGGAGATGGTGTATCTGAAAAGGTTAGTCAGCTGATGGAA
 LysLysGluMetValLeuSerGluLysValSerGlnLeuMetGlu
 181 TGGACTAACAAAAGACCTGTAATAAGAATGAATGGAGACAAGTTC
 TrpThrAsnLysArgProValIleArgMetAsnGlyAspLysPhe
 226 CGTCGCCTTGTGAAAGCCCCACCGAGAAATTACTCCGTTATCGTC
 ArgArgLeuValLysAlaProProArgAsnTyrSerValIleVal
 271 ATGTTCACTGCTCTCCAACGCATAGACAGTGTGTCGTTTGCAAG
 MetPheThrAlaLeuGlnLeuHisArgGlnCysValValCysLys
 316 CAAGCTGATGAAGAATCCAGATCCTGGGCAAACCTCCTGGGCGAT
 GlnAlaAspGluGluPheGlnIleLeuGlyLysLeuLeuGlyAsp
 361 ACTCCAGTGCATTACCAACAGGATATTTTTTGCCATGGTGGAT
 ThrProValHisSerProThrGlyTyrPhePheAlaMetValAsp
 406 TTTGATGAAGGCTCTGATGTATTTTCAGATGGTAAGATCTTTGGTT
 PheAspGluGlySerAspValPheGlnMetValArgSerLeuVal
 451 TATTCTGCTATATAAAAATAGGTAAAATATAGTGAAAGTGAATA
 TyrSerAlaIle (配列番号14)
 496 TATTTTTTCAGTGGCTATAAGACATTAAATGGGATGCTCTTATG
 541 TAAGATCTAGAGTAGCAAACATAAAAGTTAACTTGAGCTAACCAT
 586 AAAATGTAGTTATCAATGCTAACCTACTAGAATATGGAAATTGAG
 631 TAGTATTTAAATAACATACATTTTTATTGTAGTAAAATATATAAA
 676 ACAAAC (配列番号13)

(8.MBSP8.クローンAQ013000.0.21、新規のケラチノサイト増殖因子)

本発明に従う、MBSP8核酸配列およびポリペプチドは、クローンAQ013000.0.21の核酸およびコードされたポリペプチド配列を含む。

【0109】

本発明のポリヌクレオチドは、クローンAQ013000.0.21として同定される。AQ013000.0.21は、670ヌクレオチドの全長クローンであり、ヌクレオチド180～471のタンパク質の全コード配列を含む（本明細書中で「AQ013000.0.21タンパク質」ともいわれる）。このクローンの本来の組織供給源は、未知である。

【0110】

AQ013000.0.21のヌクレオチド配列は、配列番号15に報告されている。前述のヌクレオチド配列に対応するAQ013000.0.21タンパク質の推定アミノ酸配列は、配列番号16に報告される。

【0111】

AQ013000.0.21について、本明細書中で開示されるヌクレオチド配列をBLASTN検索プロトコルを使用してGenBankデータベースに対して検索した。BLASTN検索は、ヒトケラチノサイト増殖因子mRNA、3853bp（GenBank登録番号M60828）に対して94%の相同性（509ヌクレオチドの481）を示したが；AQ013000.0.21の5'領域は異なっている。

【0112】

97アミノ酸のアミノ酸配列は、164アミノ酸のヒトケラチノサイト増殖因子アナログC（1,15,102）Sタンパク質（patp:W61426、特許出願WO9824813、Amgen Inc）の配列に対して89.691%同一である。公に利用可能なGenBankデータベースBLASTPにおけるさらなる検索は、ヒトケラチノサイト増殖因子前駆体（KGF；線維芽細胞増殖因子-7；FGF-7；194aa）（SWISSPROT-ACC:P21781）と95%の同一性（97アミノ酸の93）を示した。

【0113】

ケラチノサイト増殖因子アナログは、胃腸（GI）管の上皮細胞の細胞保護作用、増殖および/または分化を増加するために、患者に投与され得る。この方法を使用して、胃潰瘍および十二指腸潰瘍、照射領域および化学療法領域における

ような腸毒性、びらん性胃炎を含むG I 管のびらん、食道炎、食道逆流またはクローン病もしくは潰瘍性大腸炎のような炎症性腸疾患を処置または予防し得る。相同性に基づいて、AQ013000.0.21タンパク質および各相同性タンパク質またはペプチドは、少なくともいくらかの活性を共有し得る。

【0114】

AQ013000.0.21について、本明細書中で開示されるヌクレオチド配列およびアミノ酸配列を、SignalPepおよびPSort検索プロトコルを使用して、他のデータベースに対して検索した。AQ013000.0.21は、切断可能なアミノ末端シグナルペプチドを有するようである。このタンパク質は、たいてい小胞体の膜に位置するようである。推定分子量は、11009.6ダルトンである。

【0115】

AQ013000.0.21核酸およびコードされたポリペプチドは、以下の配列を有する：

【0116】

【化25】

1 CTATCTGGTGTTTGTGTGTATCTGTGTGGGTCGGGGTCTTGGG
 46 CTGAGTAAATAATCACATTAATAATTTTAAAACTCCGATTAAA
 91 ACAGAAATAAGAACAACCGCCATTCTGGATCATTGCAAGCT
 136 GAACGAATACTTGACATGTCTTTCTGTGATTCCTTGACAGATATCA
 M
 181 TGGAAATCAGGACAGTAGCAGTTGGGATTGTGGCAATCAAAGGGG
 etGluIleArgThrValAlaValGlyIleValAlaIleLysGlyV
 226 TGGAAAGTGAATTCTATCTTGCAACGAACGAGGAAGGAAAACCTCT
 alGluSerGluPheTyrLeuAlaThrAsnGluGluGlyLysLeuT
 271 ATGCAAAGAAGGAATACAATGAAGATTGTAACCTCAAAGATCTAA
 yrAlaLysLysGluTyrAsnGluAspCysAsnPheLysAspLeuI
 316 TTCTGGAAAACCATTACAACACATATGCAGCAGCTAAATGGACAA
 leLeuGluAsnHisTyrAsnThrTyrAlaAlaAlaLysTrpThrA
 361 ACAACGGAGGGGAAATGTTTGTGGCCTTAAATCAAAGGGGATTC
 snAsnGlyGlyGluMetPheValAlaLeuAsnGlnLysGlyIleP
 406 CTGTAAGAGGAAAAAAAAAAGGAAGGACCAAAAACCAGCCCACT
 roValArgGlyLysLysLysArgLysAspGlnLysProAlaHisP
 451 TTCTTCCTATGGCAATAACTTAATTGCATATGGTATATAAGAAC
 heLeuProMetAlaIleThr (配列番号14)
 496 CAGTCCAGCAGGAGATTTCTTTAAGTGGACTGTTTTCTTCTT
 541 CTCAAAATTTCTTTCCTTTTATTTTCTAGAAATCAAGAAAGGCT
 586 GGAAAATACTGAAAATACTGATCAAGCTGGACTTGCGCATTTATG
 631 TTTGTTTTAAGGCACTGCATTAAGAGACATTTGAAAAGT (配列番号15)

(9.MBSP9.クローン16401346.0.337、新規の分泌されたタンパク質)

本発明に従う、MBSP9核酸およびポリペプチドは、クローン16401346.0.337の核酸およびコードされたポリペプチド配列を含む。

【0117】

本発明のポリヌクレオチドは、クローン16401346.0.337として同定される。16401346.0.337は、1135ヌクレオチドの全長ク

ローンであり、ヌクレオチド261～980のタンパク質の全コード配列を含む（本明細書中で「16401346.0.337タンパク質」ともいわれる）。
c u r a 75 16401346.0.337と関連するこのタンパク質は、ネガティブリーディングフレーム（フレーム：-3）でコードされる。この配列は、逆相補鎖であることが示され、そして推定されたNからCの向きで、タンパク質の読みを可能にするように番号を付け替えられる。

【0118】

16401346.0.337のヌクレオチド配列は、配列番号17に報告されている。前述のヌクレオチド配列に対応する16401346.0.337タンパク質の推定アミノ酸配列は、配列番号18に報告される。

【0119】

16401346.0.337について、本明細書中で開示されるヌクレオチド配列をBLASTN検索プロトコルを使用してGeneBankデータベースに対して検索した。BLASTN検索は、-アイソタイプ2、6323bp由来のSRCRドメインタンパク質-膜についてのGeodia cydonium mRNAに対して57%の相同性（335ヌクレオチドの194）を示した（GeneBank登録番号Y14953）。

【0120】

240アミノ酸のアミノ酸配列は、公に利用可能なGeneBankデータベースBLASTPにおいて検索され、そして公開されているタンパク質に対して、有意な相同性を示さなかった。

【0121】

16401346.0.337について、本明細書中で開示されるヌクレオチド配列およびアミノ酸配列を、SignalPepおよびPSort検索プロトコルを使用して、他のデータベースに対して検索した。16401346.0.337は、位置57と位置58との間：ILG-KNにシグナルペプチドを有する切断可能なアミノ末端を有するようである。このタンパク質は、たいていリソソームの管腔に位置するようである。推定分子量は、25397.2ダルトンである。

【0122】

16401346.0.337 核酸およびコードされたポリペプチドは、以下の配列を有する：

【0123】

【化26】

```

1  TTTGCCTATTTTCATTAGCAGATGAGGATCCTCTTGCTGCTCCTAG
46  GCAGGGCCCCACAGAAAACCTCCTCCCAAGTTGCCAGATTGATCC
91  TAGGGGTTTGCACACCCTTTTGTCTCCTCTTCCCTGCCAGTGAT
136 CTGGGAGTCAGGGGAGGAGGTGAGTTTGCTGAACTTACATGGCCA
181 TCTAAAGCCCAGTGATCATCTTTGAACTTATTCATAAAGATCTCC
226 ACAGGCCCTGTAATCTGGTACACCTGGAGTAGGAGATGAAAATCT
                                     MetLysIleP
271 TCTTTCTTGTAAAGTCCAGCCAAGTGCAGCTCCACGCCACTGTGG
    hePheLeuValSerSerSerGlnValGlnLeuHisAlaThrValV
316 TCGATCATGGTGGCATTGACCTGCTGTTGGCAACTTGGGAGGCCA
    alAspHisGlyGlyIleAspLeuAlaValGlyAsnLeuGluAlaS
361 GTCACTCTGAGCATGGCTGGCTGCTTCTCCCTGGTATTCATAG
    erHisSerGluHisGlyTrpLeuLeuLeuProLeuValPheIleG
406 GCCCCTTTCCACAGGAATTCTTGGCAAAAACATCCCCAGGAATC
    lyProPheProGlnGlyIleLeuGlyLysAsnIleProArgAsnG
451 AAGGCTTGGGTGAGCGGTGGCTCCCGGCAGTGTGATGGGTCTC
    lnGlyLeuGlyGluArgTrpLeuProGlySerValAspGlySerP
496 CCACTGGCCGGACCTCCAGGCAGATGGGCGGCTTGCCCTGTCCAG
    roThrGlyProAspLeuGlnAlaAspGlyArgLeuAlaCysProA
541 CTGCCATCCGCCTTGCAGGTGCGGTGCTCGGAGCCACCCTTGAGG
    laAlaIleArgLeuAlaGlyAlaValLeuGlyAlaThrLeuGluG

```

【0124】

【化27】

586 GAGAAGCCCTCCTGGCAGGAGTAGATGAGCGTGTAGCCCATGGAG
 lyGluAlaLeuLeuAlaGlyValAspGluArgValAlaHisGlyG
 631 GGCAAATCCAGGGCCCCGACGTTGGCATGCCGTTGGCGTCTCTGGC
 lyGlnIleGlnGlyProAspValGlyMetArgTrpArgLeuTrpL
 676 TGCTGCAGTGGTGGGGACACAGTCAGGTGGGGTCCACTCCAG
 euProAlaValValGlyAspThrValArgTrpGlySerThrProG
 721 GTCAGGTTGGGAGGCAGGTCCTGGTGGTGGAGCCCTGAAGCAGG
 lyGlnValTrpGluAlaGlyProGlyGlyGlyAlaLeuLysGlnV
 766 TAGCCTTTTGGACAACGGAGAGGACTGTGCTTCCACCTGGTAG
 alAlaPheLeuThrThrGluGluAspCysAlaSerAsnLeuValA
 811 CCTGAGAATTGTTCTGTATCCCAAAGTGGCACACCAGGTTCC
 laLeuArgIleValLeuTyrProLysLeuTrpHisThrArgValA
 856 GCACACGTGGTCAGGGTCGGATCTATGCAGCTGGGCTGGGTGCCA
 rgThrArgGlyGlnGlyArgIleTyrAlaAlaGlyLeuGlyAlaT
 901 CTCATGTCCCATCATGCTTGGGTCGTTTCATGAATTCCATGAGAA
 hrProCysProIleMetLeuGlySerPheMetAsnSerMetArgI
 946 TTGTTGGGAAGTTCATGAGTTTAGGAATCAAAGTATAGCATTAG
 leValGlyLysPheMetSerLeuGlyIleLysVal (配列番号18)
 991 GGCCACTTTCCTGTCTCGGGAGGCCCCCAAGCTTAAGCCC
 1036 CTGTATACGTGTGACATGCTGGCCTCAAGATTCATGTCACATATT
 1081 GAAATACCAATAGAAATGTGCAGGAGCGGAGGGACAGCGACACC
 1126 TGGTTCCTAA (配列番号19)

cura 75 16401346.0.337と関連するこのタンパク質は、
 ネガティブリーディングフレームでコードされる。この配列は、逆相補鎖であ
 ることが示され、そして推定されたNからCの向きで、タンパク質の読みを可能
 にするように番号を付け替えられる。

【0125】

(10.MBSP10.クローン20604798.0.1)

本発明に従う、MBSP10核酸配列およびポリペプチドは、クローン206
 04798.0.1の核酸およびコードされたポリペプチド配列を含む。

【0126】

本発明のポリヌクレオチドは、クローン20604798.0.1として同定される。20604798.0.1は、2437ヌクレオチドの全長クローンであり、ヌクレオチド147～1595の分泌されたタンパク質の全コード配列を含む（本明細書中で「20604798.0.1タンパク質」ともいわれる）。

【0127】

20604798.0.1のヌクレオチド配列は、配列番号19に報告されている。前述のヌクレオチド配列に対応する20604798.0.1タンパク質の推定アミノ酸配列は、配列番号20に報告される。

【0128】

20604798.0.1について、本明細書中で開示されるヌクレオチド配列をBLASTN検索プロトコルを使用してGenBankデータベースに対して検索した。BLASTN検索は、Homo sapiensクローン24936 mRNA配列、1783bp（GenBank登録番号AF131849）に対して99%の相同性（1760ヌクレオチドの1759）を示した。20604798.0.1の5'末端の最初の678ヌクレオチドは、24936 mRNA配列に対して同一性を示さない。

【0129】

483アミノ酸のアミノ酸配列は、ヒト「未知の」タンパク質フラグメント、182aa（TREMBLNEW-ACC:AAD20029）に対して、カルボキシル末端の182アミノ酸と100%同一である。20604798.0.1のアミノ末端181アミノ酸は、既知のタンパク質に対して有意な相同性を示さなかった。

【0130】

20604798.0.1について、本明細書中で開示されるヌクレオチド配列およびアミノ酸配列を、SignalPおよびPSort検索プロトコルを使用して、他のデータベースに対して検索した。20604798.0.1は、位置33と位置34との間：GRA-LPにたいいてい切断部位を有する切断可能なアミノ末端シグナルペプチドを有するようである。このタンパク質は、たいいてい細胞の外側に位置するようである。推定分子量は、54857.8ダルトン

である。

【0131】

20604798.0.1核酸およびコードされたポリペプチドは、以下の配列を有する：

【0132】

【化28】

```
1 TCCGGAAGGAGACGTGGCGCGGTTGGGCCGTTGATACCCGGGCG
46 CTTTATAGTCCCGCCGCTCCTCCTCCACCTCCTCCTCCTCCTCC
91 TCTCCTCCTGGAGCAGAGGAGGTTGTGGCGGTGGCTGGAGAAAGC
136 GCGCGCGGAGGATGGAGGAAGGAGGCGCGCGGTACGGAGTCTGG
      MetGluGluGlyGlyGlyGlyValArgSerLeuV
181 TCCCGGGCGGGCCGGTGTACTGGTCCTCTGCGGCCTCCTGGAGG
      alProGlyGlyProValLeuLeuValLeuCysGlyLeuLeuGluA
226 CGTCCGGCGGGCCGAGCCCTTCCTCAACTCAGCGATGACATCC
```

【0133】

【化29】

laSerGlyGlyGlyArgAlaLeuProGlnLeuSerAspAspIleP
 271 CTTTCCGAGTCAACTGCCCCGGCACCAGATTCTCTCTGCCACAA
 roPheArgValAsnTrpProGlyThrGluPheSerLeuProThrT
 316 CTGGAGTTTTATATAAAGAAGATAATTATGTCATCATGACAAC
 hrGlyValLeuTyrLysGluAspAsnTyrValIleMetThrThrA
 361 CACATAAAGAAAAATATAAATGCATACTTCCCCTTGTGACAAGTG
 laHisLysGluLysTyrLysCysIleLeuProLeuValThrSerG
 406 GGGATGAGGAAGAAGAAAAGGATTATAAAGGCCCTAATCCAAGAG
 lyAspGluGluGluGluLysAspTyrLysGlyProAsnProArgG
 451 AGCTTTTGAGCCACTATTTAAACAAAGCAGTTGTTCTACAGAA
 luLeuLeuGluProLeuPheLysGlnSerSerCysSerTyrArgI
 496 TTGAGTCTTATGGACTTACGAAGTATGTCATGGAAAACACATTC
 leGluSerTyrTrpThrTyrGluValCysHisGlyLysHisIleA
 541 GGCAGTACCATGAAGAGAAGAAACTGGTCAGAAAATAAATATTC
 rgGlnTyrHisGluGluLysGluThrGlyGlnLysIleAsnIleH
 586 ACGAGTACTACCTTGGGAATATGTTGGCCAAGAACCTTCTATTGG
 isGluTyrTyrLeuGlyAsnMetLeuAlaLysAsnLeuLeuPheG
 631 AAAAGAACGAGAAGCAGAAGAAAAGGAAAAATCAATGAGATTTC
 luLysGluArgGluAlaGluGluLysGluLysSerAsnGluIleP
 676 CCACTAAAAATATCGAAGGTCAGATGACACCATACTATCCTGTGG
 roThrLysAsnIleGluGlyGlnMetThrProTyrTyrProValG
 721 GAATGGGAAATGGTACACCTTGTAGTTTGAACAGAACCGGCCCA
 lyMetGlyAsnGlyThrProCysSerLeuLysGlnAsnArgProA
 766 GATCAAGTACTGTGATGTACATATGTCATCCTGAATCTAAGCATG
 rgSerSerThrValMetTyrIleCysHisProGluSerLysHisG
 811 AAATCTTTCAGTAGCTGAAGTTACAACTTGTGAATATGAAGTTG
 luIleLeuSerValAlaGluValThrThrCysGluTyrGluValV
 856 TCATTTTGACACCACTCTTGTGCAGTCATCCTAAATATAGGTTCA
 alIleLeuThrProLeuLeuCysSerHisProLysTyrArgPheA
 901 GAGCATCTCCTGTGAATGACATATTTTGTCAATCACTGCCAGGAT

【0134】

【化30】

rgAlaSerProValAsnAspIlePheCysGlnSerLeuProGlyS
 946 CTCCATTTAAGCCCCTCACCCCTGAGGCAGCTGGAGCAGCAGGAAG
 erProPheLysProLeuThrLeuArgGlnLeuGluGlnGlnGluG
 991 AAATACTAAGGGTGCCTTTTAGGAGAAATAAGAGGAAGATTGCG
 luIleLeuArgValProPheArgArgAsnLysGluGluAspLeuG
 1036 AATCAACTAAAGAAGAGAGATTTCAGCGATCCACAAGTCGATTG
 lnSerThrLysGluGluArgPheProAlaIleHisLysSerIleA
 1081 CTATTGGCTCTCAGCCAGTGTCTACTGTGGGACAACCCACATAT
 laIleGlySerGlnProValLeuThrValGlyThrThrHisIleS
 1126 CCAAATTGACAGATGACCAACTCATAAAGAGTTTCTTAGTGGTT
 erLysLeuThrAspAspGlnLeuIleLysGluPheLeuSerGlyS
 1171 CTTACTGCTTTCGTGGGGTGTCTGGTGGTGGAAATATGAATTCT
 erTyrCysPheArgGlyGlyValGlyTrpTrpLysTyrGluPheC
 1216 GCTATGGCAAACATGTACATCAATACCATGAGGACAAGGATAGTG
 ysTyrGlyLysHisValHisGlnTyrHisGluAspLysAspSerG
 1261 GGAAAACCTCTGTGGTGTCTGGGACATGGAAACCAAGAAGAGCATA
 lyLysThrSerValValValGlyThrTrpAsnGlnGluGluHisI
 1306 TTGAATGGGCTAAGAAGAATACTGCTAGAGCTTATCATCTTCAAG
 leGluTrpAlaLysLysAsnThrAlaArgAlaTyrHisLeuGlnA
 1351 ACGATGGTACCCAGACAGTCAGGATGGTGTCCACATTTTATGGAA
 spAspGlyThrGlnThrValArgMetValSerHisPheTyrGlyA
 1396 ATGGAGATATTTGTGATATACTGACAAACCAAGACAGGTGACTG
 snGlyAspIleCysAspIleThrAspLysProArgGlnValThrV
 1441 TAAACTAAAGTGCAAGAATCAGATTCACCTCATGCTGTACTG
 alLysLeuLysCysLysGluSerAspSerProHisAlaValThrV
 1486 TATATATGCTAGAGCCTCACTCCTGTCAATATATCTTGGGGTTG
 alTyrMetLeuGluProHisSerCysGlnTyrIleLeuGlyValG
 1531 AATCTCCAGTGATCTGTAAATCTTAGATACAGCAGATGAAAATG
 luSerProValIleCysLysIleLeuAspThrAlaAspGluAsnG
 1576 GACTTCTTTCTCTCCCAACTAAAGGATATTAAGTTAGGGGAAA

【0135】

【化31】

lyLeuLeuSerLeuProAsn (配列番号20)

1621 GAAAAGATCATTGAAAGTCATGATAATTTCTGTCCCACTGTGTCT
 1666 CATTATAGAGTTCTCAGCCATTGGACCTCTTCTAAAGGATGGTAT
 1711 AAAATGACTCTCAACCACFTTGTGAATACATATGTGTATATAAGA
 1756 GGTATTGATAAACTTCTGAGGCAGACATTTGTCTCGCTTTTTTT
 1801 CATTTTTGTTGTGCTTATAAACTGACTGTTTTTTCTTTGCTTGGA
 1846 TACTGTGATTCCAAAATAAATCTCATCCAAGCAAGTTAGAGTCCA
 1891 GCCTAATCAAAATGTCATAAATGTTGTACCTATTGAAAGTTTTTAA
 1936 ATAATAGATTTATTATGTAATTATAGTATATGTAAGTAGCTAAT
 1981 GAAGTAAAGATCATGAAGAAAGAAATTGATAGGTGTAATGAGAG
 2026 ACCATGTAAAATATGTAAATTTCTAGTACCTGAAATCCTTTCAACA
 2071 GATTTTTATATAGCAACTGCTCTCTGCAAGTAGTTAAACTAGAAA
 2116 CTGGGCACATGGTAGAGGCTCACATGGGAGTTGCTCCTCACCCCTG
 2161 TTAATCTCAAGAACTCTTATTTATAATAGGTTGCTTCTCTCTCA
 2206 GAACTTTTATCTATTACTTTTTTCTTCTTATGAGTATGTTACTC
 2251 TCAGAGTATCTATCTGATGTAGACAGTTGGTGATGCTTCTGAGAC
 2296 TCAGAATGGTTTACTCTAACAAAACACTGTGCTGTCTATCCCTTG
 2341 TACTTGCCTACTGTAATATGGATTTCACTTCTGAACAGTTTACAG
 2386 CACAATATTTATTTTAAAGTGAATAAAATGTCCACAAGCAGTGTT
 2431 GTCATGT (配列番号19)

(11.MBSP11.クローン27978313.0.29、新規の膜タンパク質)

本発明に従う、MBSP11核酸配列およびポリペプチドは、クローン27978313.0.29の核酸およびコードされたポリペプチド配列を含む。

【0136】

本発明のポリヌクレオチドは、クローン27978313.0.29として同定される。27978313.0.29は、1288ヌクレオチドの全長クローンであり、ヌクレオチド733~1003のタンパク質の全コード配列を含む(本明細書中で「27978313.0.29タンパク質」ともいわれる)。

【0137】

27978313.0.29のヌクレオチド配列は、配列番号21に報告されている。前述のヌクレオチド配列に対応する27978313.0.29タンパク質の推定アミノ酸配列は、配列番号22に報告される。

【0138】

公に利用可能なGeneBankデータベースBLASTPにおける検索は、90アミノ酸のアミノ酸配列が、*Rhodospirillum rubrum*ニコチンアミドヌクレオチドトランスヒドロゲナーゼ、サブユニット(464アミノ酸)(SPTREMBL-ACC:Q59765)に対して61%相同(44アミノ酸の27)であることを示した。相同性に基づいて、27978313.0.29タンパク質および各相同性タンパク質またはペプチドは、少なくともいくつかの活性を共有し得る。

【0139】

27978313.0.29について、本明細書中で開示されるヌクレオチド配列およびアミノ酸配列を、SignalPepおよびPSort検索プロトコルを使用して、他のデータベースに対して検索した。27978313.0.29は、位置46と位置47との間：CWG-ATに切断部位を有する切断可能なアミノ末端シグナルペプチドを有するようである。このタンパク質は、たいてい原形質膜に位置するようである。推定膜タンパク質の推定分子量は、9358.1ダルトンである。

【0140】

27978313.0.29核酸およびコードされたポリペプチドは、以下の配列を有する：

【0141】

【化32】

1 TTACTCACTATAGGGCTCGAGCGGCTGCCCGGGCAGGTGAACTGG
46 TGAGCCTGGCTGTGTATCACCTGGATAACCTCTGAGCTGAAGAGC
91 TGTGCCAGCAAAGCCCTTGAGCTCATGTGGGCATGGGGACAGTC
136 TGAGGACAGGAGGAACAGCAAGGAGACCTCAGGCTGCGCTCAGGA
181 GGCTTCGGTGGCAGGTCAGATTGCTCTTACAATTTGGCAACCATC
226 TTATGAATATTGTGGGTAAAAGAAATAATCAGTGTCCCGGTAG
271 CCAAGTTTTTAATGTAAAAAGATGACAATATAGAATAAAATGA
316 ACCCCTGCAGGGTTCCGTGGGAGTATTACCATGAGAGCATCAT
361 CTGTGCGTAGGCTGTGCTCCCTGCCAGCGGTGGGCTTCCAGCAG
406 GCGGCCTTGGCTCTGCGTGTGACATGCTCAGCCTGCAGCACCGTG
451 TGCCCTCCTGAGCAGCTCTGCTCTGGTGGATGCTCTCAGCAGAAA
496 ACACACAACCTTCGTGGTCCCCTCTTCTGCCCTGGGTGGGCCAGG
541 GTGCGGGTGTGCATCCCATGCCAGGACTGCCAGGCAGGCCGCAT
586 GGTCCAGCCACCAGGTCAGGTGTCAGGCGCTGCTCCAGACCGCTG
631 CGTCTCTGATCTTGGCATGGCTCAGCAGCCTCCGGCTTGGCCGT
676 GGGTGGTTCCTGCTCACCTGTTTCTGAGTGACCAACCTGAAACT

【0142】

【化33】

の誘導体、フラグメントおよびホモログを含むことが意図される。この核酸分子は、一本鎖であっても二本鎖であってもよいが、好ましくは二本鎖DNAである。

【0144】

「単離された」核酸分子は、核酸の天然供給源に存在する他の核酸分子から分離される核酸分子である。好ましくは、「単離された」核酸は、核酸が由来する生物のゲノムDNA内の核酸に天然に隣接する配列（すなわち、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、種々の実施形態において、単離されたMBSPX核酸分子は、核酸が由来する細胞のゲノムDNA内の核酸分子に天然に隣接する、約5 kb、4 kb、3 kb、2 kb、1 kb、0.5 kbまたは0.1 kb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、実質的に、組換え技術によって産生される場合に、他の細胞物質もしくは培養培地を含み得ないか、または化学的に合成される場合に、化学前駆体もしくは他の化学物質を含み得ない。

【0145】

いくつかの実施形態において、MBSPX核酸は、成熟形態MBSPXポリペプチドをコードする。本明細書中に使用される場合、用語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または前駆体型またはMBSPXタンパク質の産物である。天然に存在するポリペプチド、前駆体、またはプロタンパク質には、非制限的な例として、対応する遺伝子によってコードされる全長遺伝子産物が含まれる。あるいは、それは、本明細書中に記載されるオープンリーディングフレームによってコードされる、ポリペプチド、前駆体、またはプロタンパク質として定義され得る。産物「成熟」型が生じる場合、再び、非制限的な例として、1つ以上の天然に存在するプロセス工程が細胞または宿主細胞内（ここで、遺伝子産物が生じる）で起こり得る場合に、その工程の結果として生じる。ポリペプチドまたはタンパク質の「成熟」形態を生じるプロセッシング工程のような例としては、オープンリーディングフレームの開始コドンによってコードされるN末端メチオニン残基の切断、またはシグナルペプチドもしくはリーダー配列のタンパク質分解性の切断が挙げられる。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末端のメチオニンの除去後、残りの残基2~Nを有する。あるいは、残基1~Nを有する前駆体ポリペプチドまたはタンパク質から生じる成熟形態(ここで、残基1~残基MまでのN末端シグナル配列が切断されている)は、残りの残基M+1~残基Nまでの残基を有する。本明細書中でさらに使用されるように、「成熟」型のポリペプチドまたはタンパク質は、タンパク質分解事象ではなく、翻訳後修飾の工程から生じ得る。このようなさらなるプロセスには、非限定的な例示として、グリコシル化、ミリスチル化、またはリン酸化が挙げられる。一般的に、成熟ポリペプチドまたはタンパク質は、これらのプロセスの1つのみの操作から生じ得るか、またはそれらのいずれかの組み合わせから生じ得る。

【0146】

本発明の核酸分子(例えば、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23のヌクレオチド配列を有する核酸分子、またはこれらのヌクレオチド配列のいずれかの相補体)は、標準的な分子生物学技術および本明細書中に提供される配列情報を使用して単離され得る。ハイブリダイゼーションプローブとして、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、または23の核酸配列の全てまたは一部を使用して、MBSPX分子は、標準的なハイブリダイゼーション技術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)を使用して単離され得る。

【0147】

本発明の核酸は、cDNA、mRNA、あるいはゲノムDNAを、標準的なPCR増幅技術に従うテンプレートおよび適切なオリゴヌクレオチドプライマーとして使用して、増幅され得る。このように増幅された核酸は、適切なベクター中

にクローニングされ得、そしてDNA配列分析によって特徴付けられ得る。さらに、MBSPXヌクレオチド配列に対応するオリゴヌクレオチドは、標準的な合成技術によって（例えば、自動化DNA合成機を使用して）調製され得る。

【0148】

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1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、または23に示されるヌクレオチド配列の相補体である核酸分子を含む。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1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、または23に示されるヌクレオチド配列、あるい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、13、15、17、19、21、または23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、13、15、17、19、21、または23に示されるヌクレオチド配列に十分相補的である核酸分子であり、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、または23に示されるヌクレオチド配列にミスマッチがほとんどないか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。

【0149】

さらに、本発明の核酸分子は、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、または23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MBSPX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つかの部分である。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また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。ホモログは、異なる種に由来する特定の遺伝子の核酸配列およびアミノ酸配列である。

【0150】

誘導体およびアナログは、以下に記載されるように、この誘導体またはアナログが改変核酸または改変アミノ酸を含む場合、全長または全長以外であり得る。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、同一サイズの核酸配列またはアミノ酸配列に対して、または整列が当該分野において公知のコンピューター相同性プログラムによって実行される整列された配列に比較される場合に、少なくとも約30%、50%、70%、80%、または95%同一性（ここで好ましくは80~95%の同一性）によって本発明の核酸またはタンパク質に実質的に相同である領域、あるいはそのコードする核酸がストリンジェント、中程度にストリンジェント、もしくは低いストリンジェント条件下で前述のタンパク質をコードする配列の相補体をハイブリダイズし得る領域を含む分子を含むがそ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。

【0151】

ヒトMBSPX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MBSPXホモログ、ならびに他の哺乳動物由来のMBSPX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、13、15、17、19、21、または23の少なくとも約12個、25個、50個、100個、150個、200個、250個、300個、350個ま

たは400個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、13、15、17、19、21、または23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、13、15、17、19、21、または23の天然に存在する変異体の少なくとも約12個、25個、50個、100個、150個、200個、250個、300個、350個または400個の連続するヌクレオチド配列に、ストリンジент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。

【0152】

ヒトMBSPX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、標識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、MBSPX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MBSPXをコードする核酸のレベルを測定すること（例えば、MBSPX mRNAレベルを検出すること、またはゲノムMBSPX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。

【0153】

「MBSPX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。「MBSPX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、MBSPXの生物学的活性（MBSPXのタンパク質の生物学的活性は、上記に記載される）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、13、15、17、19、21、または23の一部を単離し、MBSPXのコードされた部分を発現し（例えば、インビトロでの組換え発現によって）、そしてMBSPX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。

【0154】

(MBSPX改変体)

本発明はさらに、遺伝子コードの縮重に起因して配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21または23に示されるヌクレオチド配列とは異なり、そしてそれ故、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21または23で示されるヌクレオチド配列によってコードされるのと同じMBSPXタンパク質をコードする核酸分子を包含する。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2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22または24に示されるアミノ酸配列を有するタンパク質をコードするヌクレオチド配列を有する。

【0155】

配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21または23で示されるヒトMBSPXヌクレオチド配列に加えて、MBSPXのアミノ酸配列中の変化に至るDNA配列多形性が集団(例えば、ヒト集団)内に存在し得ることが当業者に認識され得る。MBSPX遺伝子におけるこのような遺伝的多形性は、自然の対立遺伝子の変動に起因して集団内の個体間で存在し得る。本明細書で用いられる用語「遺伝子」および「組換え遺伝子」は、MBSPXタンパク質、好ましくは哺乳動物MBSPX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。このような自然の対立遺伝子変動は、代表的には、MBSPX遺伝子のヌクレオチド配列において1-5%の分散を生じ得る。自然の対立遺伝子変動の結果であり、そしてMBSPXの機能的活性を変えないMBSPX中のこのようなヌクレオチド変動および得られるアミノ酸多形性の任意およびすべては、本発明の範囲内にあることが意図される。

【0156】

さらに、他の種からのMBSPXタンパク質をコードし、そしてそれ故、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21または23のヒト配列とは異なるヌクレオチド配列を有する核酸分子が、本発明の範囲内に含まれることが意図される。本発明のMBSPX cDNAの自然の対立遺伝子改変体および相同体に相当する核酸分子は、ヒトcDNA、またはその一部分を、ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下、標準的なハイブリダイゼーシ

オン技法によるハイブリダイゼーションプローブとして用い、本明細書に開示されたヒトMBSPX核酸に対するそれらの相同性を基に単離され得る。例えば、可溶性のヒトMBSPX cDNAは、ヒトの膜結合MBSPX cDNAに対するその相同性を基に単離され得る。同様に、膜結合ヒトMBSPX cDNAは、可溶性ヒトMBSPX cDNAに対するその相同性を基に単離され得る。

【0157】

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、長さが少なくとも6ヌクレオチドであり、そしてストリンジェントな条件下で、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21または23のヌクレオチド配列を含む核酸分子にハイブリダイズする。別の実施形態では、この核酸は、長さが少なくとも10、25、50、100、250または500ヌクレオチドである。別の実施形態では、本発明の単離された核酸分子はコード領域にハイブリダイズする。本明細書で用いられる用語「ストリンジェントな条件下でハイブリダイズする」は、その条件下で、互いに少なくとも60%相同性であるヌクレオチド配列が、代表的には互いにハイブリダイズしたままである、ハイブリダイゼーションおよび洗浄のための条件を記載することを意図する。

【0158】

ホモログ（すなわち、ヒト以外の種に由来するMBSPXタンパク質をコードする核酸）またはその他の関連配列（例えばパラログ）は、核酸ハイブリダイゼーションおよびクローニングの分野において周知の方法を用い、プローブとして特定のヒト配列のすべてまたは一部分との、低、中程度または高ストリンジェンシーハイブリダイゼーションにより得られ得る。

【0159】

ストリンジェントな条件は、当業者に公知であり、そしてCURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY、John Wiley & Sons、N.Y.（1989）、6.3.1-6.3.6に見出され得る。好ましくは、この条件は、代表的には、互いに少なくとも約65%、70%、75%、85%、90%、95%、98%、または99%相同な配列が、互いにハイブリダイズしたままであるような条件である。ストリンジェントなハ

ハイブリダイゼーション条件の非制限的な例は、65 における、6×SSC、50mM Tris-HCl (pH7.5)、1mM EDTA、0.02% PVP、0.02% Ficoll、0.02% BSA、および500mg/ml 変性サケ精子DNAを含む塩濃度の高い緩衝液中でのハイブリダイゼーション、次いで50 における0.2×SSC、0.01% BSA中の1回以上の洗浄である。配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21または23の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相当する。本明細書で用いられる「天然に存在する」核酸分子は、天然にある（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またはDNA分子をいう。

【0160】

第2の実施形態では、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21または23のヌクレオチド配列を含む核酸分子、またはそのフラグメント、アナログまたは誘導体に、中程度のストリンジェンシーの条件下で、ハイブリダイズ可能である核酸配列が提供される。中程度のストリンジェンシーハイブリダイゼーション条件の非制限的な例は、55 における、6×SSC、5×デンハート溶液、0.5% SDSおよび100mg/ml 変性サケ精子DNA中のハイブリダイゼーション、次いで37 における1×SSC、0.1% SDS中における1回以上の洗浄である。用いられ得る中程度のストリンジェンシーのその他の条件は、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。

【0161】

第3の実施形態では、低ストリンジェンシーの条件下で、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21または23のヌクレオチド配列を含む核酸分子、そのフラグメント、アナログまたは誘導体にハイブリダイズ可

能である核酸が提供される。低ストリンジェンシーハイブリダイゼーション条件の非制限的な例は、40 における、35%ホルムアミド、5×SSC、50mM Tris-HCl (pH7.5)、5mM EDTA、0.02%PVP、0.02%Ficoll、0.2%BSA、100mg/ml変性サケ精子DNA、10%(wt/vol)硫酸デキストラン中のハイブリダイゼーション、次いで50 における2×SSC、25mM Tris-HCl (pH7.4)、5mM EDTA、および0.1%SDS中の1回以上の洗浄である。用いられ得る(例えば、クロススピーシーズハイブリダイゼーション)低ストリンジェンシーのそ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; ShiloおよびWeinberg、1981、Proc Natl Acad Sci USA 78:6789-6792を参照のこと。

【0162】

(保存的変異)

集団中に存在し得るMBSPX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、変化が、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21または23のヌクレオチド配列中に変異により導入され得、それによってMBSPXタンパク質の機能的能力を改変することなく、コードされたMBSPXタンパク質のアミノ酸中の変化に至ることをさらに認識する。例えば、「非必須」アミノ酸残基におけるアミノ酸置換に至るヌクレオチド置換が、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21または23の配列中に作成され得る。「非必須」アミノ酸残基は、生物学的活性を改変することなく、MBSPXの野生型配列から改変され得る残基であり、ここで「必須」アミノ酸残基は、生物学的活性に必要である。例えば、本発明のMBSPXタンパク質間で保存されているアミノ酸残基は、特に改変されにくいことが予測される。

。

【0163】

本発明の別の局面は、活性に必須ではないアミノ酸残基中の変化を含むMBS P 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MBS P Xタンパク質は、アミノ酸配列において、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22または24と異なり、なお生物学的活性を保持する。1つの実施形態では、単離された核酸分子は、タンパク質をコードするヌクレオチド配列を含み、ここで、このタンパク質は、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22または24のアミノ酸配列に少なくとも約45%相同であるアミノ酸配列を含む。好ましくは、この核酸分子によりコードされるタンパク質は、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22または24に少なくとも約60%相同であり、より好ましくは、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22または24に少なくとも約70%相同であり、なおより好ましくは、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22または24に少なくとも約80%相同であり、さらにより好ましくは、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22または24に少なくとも約90%相同であり、そして最も好ましくは、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22または24に少なくとも約95%相同である。

【0164】

配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22または24のタンパク質に相同であるMBS P Xタンパク質をコードする単離された核酸分子は、1つ以上のアミノ酸置換、付加または欠失がコードされたタンパク質中に導入されるように、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21または23のヌクレオチド配列中に1つ以上のヌクレオチド置換、付加または欠失を導入することにより作製され得る。

【0165】

変異は、標準的な技法、例えば、部位特異的変異誘発およびPCR媒介変異誘発により、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21または23中に導入され得る。好ましくは、保存的アミノ酸置換は、1つ以上の

予測された非必須アミノ酸残基において作製される。「保存的アミノ酸置換」は、アミノ酸残基が、類似の側鎖を有するアミノ酸残基で置換されるものである。類似の側鎖を有するアミノ酸残基のファミリーは当該分野で規定されている。これらのファミリーは、塩基性側鎖をもつアミノ酸（例えば、リジン、アルギニン、ヒスチジン）、酸性側鎖をもつアミノ酸（例えば、アスパラギン酸、グルタミン酸）、非荷電極性側鎖をもつアミノ酸（例えば、グリシン、アスパラギン、グルタミン、セリン、スレオニン、チロシン、システイン）、非極性側鎖をもつアミノ酸（例えば、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン、トリプトファン）、分岐側鎖をもつアミノ酸（例えば、スレオニン、バリン、イソロイシン）、および芳香族側鎖をもつアミノ酸（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）を含む。従って、MBS PX中の予測された非必須アミノ酸残基は、同じ側鎖ファミリーからの別のアミノ酸残基で置換される。あるいは、別の実施形態では、変異は、MBS PXコード配列のすべてまたは一部分に沿って、例えば、飽和変異誘発によりランダムに導入され得、そして得られる変異体をMBS PX生物学的活性についてスクリーニングされ得、活性を保持する変異体を同定する。配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21または23の変異誘発の後、コードされたタンパク質は、当該分野で公知の任意の組換え技法により発現され得、そしてタンパク質の活性が測定され得る。

【0166】

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

【0167】

(アンチセンス)

本発明の別の局面は、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17

、19、21または23のヌクレオチド配列を含む核酸分子、またはそのフラグメント、アナログもしくは誘導体にハイブリダイズし得るかまたは相補的である単離されたアンチセンス核酸分子に関する。「アンチセンス」核酸は、タンパク質をコードする「センス」核酸に相補的であるヌクレオチド配列、例えば、二本鎖cDNA分子のコード鎖に相補的であるか、またはmRNA配列に相補的であるヌクレオチド配列を含む。特定の局面では、全MBSPXコード鎖の少なくとも約10、25、50、100、250または500ヌクレオチドに相補的、またはその一部分にのみ相補的な配列を含むアンチセンス核酸分子が提供される。配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22または24のMBSPXタンパク質のフラグメント、相補体、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、13、15、17、19、21または23のMBSPX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。

【0168】

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

【0169】

本明細書に開示されるMBSPX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、13、15、17、19、21または23)が与えられれば、本発明のアンチセンス核酸は、WatsonおよびCrickまたはHoogsteen塩基対合の規則に従って設計され得る。このアンチセンス核酸分子は、MBSPX mRNAの全コード領域に相補的であり得るが、より好ましくは、MBSPX mRNAのコードまたは非コード領域の一部に対し

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

【0170】

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

c p 3) w、 および 2 , 6 - ジアミノプリンを含む。あるいは、このアンチセンス核酸は、核酸がアンチセンス方向にサブクローン化された発現ベクターを用いて生物学的に産生され得る（すなわち、挿入された核酸から転写されたRNAは、以下のサブセクションでさらに記載されるように、目的の標的核酸に対してアンチセンス配向である）。

【0171】

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

【0172】

なお別の実施形態では、本発明のアンチセンス核酸分子は、アノマー核酸分子である。アノマー核酸分子は、相補的RNAと特異的な二本鎖ハイブリッドを形成し、そこでは、通常のユニットとは反対に、鎖は互いに平行に走る（Gaultierら、（1987）Nucleic acid Res 15:6

625-6641)。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。

【0173】

(リボザイムおよびPNA成分)

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

【0174】

あるいは、MBSPX遺伝子発現は、MBSPXの調節領域(例えば、MBSPXプロモーターおよび/またはエンハンサー)に相補的であるヌクレオチド配列を標的にし、標的細胞中のMBSPX遺伝子の転写を妨害する三重らせん構造

を形成することによって阻害され得る。一般に、Helene (1991) *Anticancer Drug Des.* 6:569-84; Heleneら (1992) *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 660:27-36; および Maher (1992) *Bioassays* 14:807-15を参照のこと。

【0175】

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

【0176】

MBSPXのPNAは、治療適用および診断適用で用いられ得る。例えば、PNAは、例えば、転写または翻訳抑止 (arrest) を誘導すること、または複製を阻害することにより、遺伝子発現の配列特異的調節のためのアンチセンスまたはアンチ遺伝子剤として用いられ得る。MBSPXのPNAはまた、例えば、PNA特異的PCRクランピングによる、例えば、遺伝子中の1塩基対変異の分析に; 他の酵素、例えば、S1ヌクレアーゼと組み合わせて用いる場合、人工の制限酵素として (Hyrup B. (1966) 上述); またはDNA配列およびハイブリダイゼーションのプローブまたはプライマーとして (Hyrupら (1966) 上述; Perry-O'Keefe (1996) 上述) 用いられ得る。

【0177】

別の実施形態では、MBSPXのPNAは、例えば、それらの安定性または細胞の取り込みを増大するために、PNAに親油性基またはその他の補助基を結合することによるか、PNA-DNAキメラの形成によるか、またはリポソームの使用もしくは当該分野で公知のその他の薬物送達の技法によって改変され得る。例えば、PNAとDNAの有利な性質を組み合わせ得る、MBSPXのPNA-DNAキメラが生成され得る。このようなキメラは、PNA部分の高い結合親和性および特異性を提供しながら、DNA部分と相互作用するために、DNA認識酵素、例えば、RNaseHおよびDNAポリメラーゼを可能にする。PNA-DNAキメラは、塩基スタッキング、ヌクレオ塩基間の結合の数、および配向の点から選択された適切な長さのリンカーを用いて連結され得る(Hyrup(1996)上述)。PNA-DNAキメラの合成は、上記のHyrup(1966)およびFinnら(1996)Nucl Acids Res 24:3357-63に記載のように実施され得る。例えば、DNA鎖を、標準的なホルホルアミダイトカップリング化学を用いて固体支持体上で合成し得、そして改変ヌクレオシドアナログ、例えば、5'-(4-メトキシトリチル)アミノ-5'-デオキシ-チミジンホスホルアミダイトを、PNAとDNAの5'末端との間に用い得る(Magら(1989)Nucl Acid Res 17:5973-88)。次いで、PNAモノマーを段階的様式でカップリングし、5'PNAセグメントと3'DNAセグメントをもつキメラ分子を生成する(Finnら(1996)上述)。あるいは、キメラ分子は、5'DNAセグメントと3'PNAセグメントを用いて合成され得る。Petersenら(1975)Bioorg Med Chem Lett 5:1119-11124を参照のこと。

【0178】

その他の実施形態では、このオリゴヌクレオチドは、ペプチド(例えば、インビボで宿主細胞レセプターを標的にするため)、または細胞膜を横切る輸送を容易にする薬剤(例えば、Letsingerら、1989、Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.86:6553-6556;Lemaitreら、1987、Proc.Natl.Acad.Sci.84:648-652

；PCT公報番号WO088/09810を参照のこと)もしくは血液脳関門を横切る輸送を容易にする薬剤(例えば、PCT公報番号WO89/10134を参照のこと)のような他の付属基を含み得る。さらに、オリゴヌクレオチドは、ハイブリダイゼーショントリガー切断剤(例えば、Krolら、1988、BioTechniques 6:958-976を参照のこと)またはインターカーレーティング剤(例えば、Zon、1988、Pharm.Res.5:539-549を参照のこと)を用いて改変され得る。この目的のために、このオリゴヌクレオチドは、例えば、ペプチド、ハイブリダイゼーショントリガー架橋剤、輸送剤、ハイブリダイゼーショントリガー切断剤などの他の分子に連結され得る。

【0179】

(MBSPXタンパク質)

本発明の1つの局面は、単離されたMBSPXタンパク質、およびその生物学的に活性な部分、またはその誘導体、フラグメント、アナログもしくは相同体に関する。抗MBSPX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MBSPX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、MBSPXタンパク質は、組換えDNA技法により生産される。組換え発現の代替として、MBSPX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。

【0180】

「単離された」または「精製された」タンパク質または生物学的に活性なその部分は、MBSPXタンパク質が由来する細胞または組織供給源からの細胞材料またはその他の夾雑タンパク質を実質的に含まないか、化学的に合成されたとき、化学的前駆体またはその他の化学物質を実質的に含まない。用語「細胞材料を実質的に含まない」は、MBSPXタンパク質が、単離されるかまたは組換えにより産生された細胞の細胞成分から分離されているこのタンパク質の調製物を含む。1つの実施形態では、用語「細胞材料を実質的に含まない」は、非MBSPX

Xタンパク質（本明細書ではまた「汚染タンパク質」と呼ばれる）が約30%（乾燥重量による）より少ない、より好ましくは約20%より少ない非MBSPXタンパク質、なおより好ましくは約10%より少ない非MBSPXタンパク質、そして最も好ましくは約5%より少ない非MBSPXタンパク質を有する、MBSPXタンパク質の調製物を含む。このMBSPXタンパク質または生物学的に活性なその部分が組換えにより産生されるとき培養培地を実質的に含まないこともまた好適である。すなわち、培養培地は、タンパク質調製物の容量の約20%より少ないか、より好ましくは約10%より少ないか、そして最も好ましくは約5%より少ない。

【0181】

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

【0182】

MBSPXタンパク質の生物学的に活性な部分は、完全長のMBSPXタンパク質より少ないアミノ酸配列を含み、そしてMBSPXタンパク質の少なくとも1つの活性を示す、MBSPX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、20、22または24で示されるアミノ酸配列）に十分に相長的であるか、またはそれに由来するアミノ酸配列を含むペプチドを含む。代表的には、生物学的に活性な部分は、MBSPXタンパク質の少なくとも1つの活性をともしドメインまたはモチーフを含む。MBSPXタンパク質の生物学的に活性な部分は、例えば、10、25、50、100またはそれ以上のアミノ酸の長さのポリペプチドであり得る。

【0183】

さらに、このタンパク質のその他の領域が欠失したその他の生物学的に活性な部分が、組換え技法により調製され、ネイティブなMBSPXタンパク質の1つ以上の機能的活性について評価され得る。

【0184】

ある実施形態では、このMBSPXタンパク質は、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22または24に示されるアミノ酸配列を有する。他の実施形態では、このMBSPXタンパク質は、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22または24に実質的に相同であり、そして以下に詳細に記載されるように、天然の対立遺伝子変動または変異誘発に起因してアミノ酸配列がなお異なるが、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22または24のタンパク質の機能的活性を保持する。従って、別の実施形態では、このMBSPXタンパク質は、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22または24のアミノ酸配列に少なくとも約45%相同であるアミノ酸配列を含み、そして配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22または24のMBSPXタンパク質の機能的活性を保持するタンパク質である。

【0185】

(2つ以上の配列間の相同性の決定)

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

【0186】

核酸配列相同性は、2つの配列間の同一性の程度で決定され得る。この相同性は、GCGプログラムパッケージで提供されるGAPソフトウェアのような当該分野で公知のコンピュータプログラムを用いて決定され得る。NeedlemanおよびWunsch 1970 J Mol Biol 48:443-453を参照のこと。GCG GAPソフトウェアを核酸配列比較のために以下の設定を用い：5.0のGAP作成ペナルティおよび0.3のGAP伸長ペナルティ、上記で言及した類似の核酸配列のコード領域は、好ましくは、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21または23で示されたDNA配列のCDS（すなわちコードする）部分と、少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%、または99%の同一性の程度を示す。

【0187】

用語「配列同一性」は、2つのポリヌクレオチドまたはポリペプチド配列が、比較の特定の領域に亘って残基ごとについて同一である程度をいう。用語「配列同一性のパーセント」は、その比較の領域に亘り最適にアラインされた配列を比較すること、両方の配列において同一の核酸塩基（例えば、核酸の場合、A、T、C、G、U、またはI）がある位置の数を決定し、一致した位置の数を生成すること、比較領域中の位置の総数（すなわち、ウインドウサイズ）で一致した位置の数を除すること、およびこの結果に100を乗じ配列同一性のパーセントを得ることにより算出される。本明細書で用いる用語「実質的に同一」は、ポリヌクレオチド配列の特徴を示し、ここで、このポリヌクレオチドは、比較領域に亘って参照配列と比較したとき、少なくとも80%の配列同一性、好ましくは少なくとも85%の配列同一性そしてしばしば90~95%の配列同一性、より通常は少なくとも99%の配列同一性を有する配列を含む。

【0188】

（キメラおよび融合タンパク質）

本発明はまた、MBSPXキメラまたは融合タンパク質を提供する。本明細書で用いられるとき、MBSPX「キメラタンパク質」または「融合タンパク質」は、非MBSPXポリペプチドと作動可能に連結されたMBSPXポリペプチド

を含む。「MBS PXポリペプチド」は、MBS PXに相当するアミノ酸配列を有するポリペプチドをいい、その一方、「非MBS PXポリペプチド」は、このMBS PXタンパク質に実質的に相同ではないタンパク質に相当するアミノ酸配列を有するポリペプチドをいう（例えば、MBS PXタンパク質とは異なり、しかも同一かまたは異なる生物に由来するタンパク質）。MBS PX融合タンパク質の中で、MBS PXポリペプチドは、MBS PXタンパク質のすべてか、またはその一部分に対応し得る。1つの実施形態では、MBS PX融合タンパク質は、MBS PX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、MBS PX融合タンパク質は、MBS PXタンパク質の少なくとも2つの生物学的に活性な部分を含む。なお別の実施形態では、MBS PX融合タンパク質は、MBS PXタンパク質の少なくとも3つの生物学的に活性な部分を含む。融合タンパク質において、用語「作動可能に連結される」は、MBS PXポリペプチドおよび非MBS PXポリペプチドが互いにインフレームで融合していることを示すことを意図する。非MBS PXポリペプチドは、MBS PXポリペプチドのN末端またはC末端に融合され得る。

【0189】

なお別の実施形態では、この融合タンパク質は、GST-MBS PX融合タンパク質であり、ここではMBS PX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MBS PXの精製を容易にし得る。

【0190】

別の実施形態では、この融合タンパク質は、そのN末端に異種シグナル配列を含むMBS PXタンパク質である。例えば、ネイティブなMBS PXシグナル配列を除去し、別のタンパク質からのシグナル配列で置き換え得る。特定の宿主では（例えば、哺乳動物宿主細胞）、MBS PXの発現および/または分泌は、異種シグナル配列の使用により増大され得る。

【0191】

なお別の実施形態では、この融合タンパク質は、MBS PX-免疫グロブリン融合タンパク質であり、ここではMBS PX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MBS PX - 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MBS PXリガントとMBS PX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MBS PX媒介信号伝達を抑制し得る。このMBS PX - 免疫グロブリン融合タンパク質を用い、MBS PX同族リガンドの生体利用性に影響を与え得る。MBS PXリガント/MBS PX相互作用の阻害は、増殖障害および分化障害の両方の処置、および細胞生存を調節（例えば、促進または阻害）することに、治療的に有用であり得る。さらに、本発明のこのMBS PX - 免疫グロブリン融合タンパク質は、被験体中で抗MBS PX抗体を産生するための免疫原として用い得、MBS PXリガンドを精製し、そしてMBS PXリガントとのMBS PX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。

【0192】

本発明のMBS PX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。MBS PXをコードする核酸は、この融合成分がMBS PX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。

【0193】

(MBSPXアゴニストおよびアンタゴニスト)

本発明はまた、MBSPXアゴニスト(模倣物)として、またはMBSPXアンタゴニストとして機能するMBSPXタンパク質の改変体に関する。MBSPXタンパク質の改変体、例えば、MBSPX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。MBSPXタンパク質のアゴニストは、天然に存在する形態のMBSPX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。MBSPXタンパク質のアンタゴニストは、天然に存在する形態のMBSPXタンパク質の1つ以上の活性を、例えば、MBSPX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、MBSPX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。

【0194】

MBSPXアゴニスト(模倣物)として、またはMBSPXアンタゴニストのいずれかとして機能するMBSPXタンパク質の改変体は、MBSPX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MBSPX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、MBSPX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。MBSPX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MBSPX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MBSPX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MBSPX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MBSPX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; Itakuraら(1984)Science 198:1056; Ikeら(1983)Nucl Acid Res 11:477)。

【0195】

(ポリペプチドライブラリー)

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

【0196】

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、MBSPX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、MBSPX 改変体を同定し得る (Arklin および Yourvan (1992) PNAS 89:7811-7815; Delgrave ら (1993) Protein Engineering 6:327-331)。

【0197】

(抗MBSPX抗体)

単離されたMBSPXタンパク質、またはその部分もしくはフラグメントは、ポリクローナル抗体およびモノクローナル抗体調製のための標準的な技法を用いて、MBSPXに結合する抗体を生成するための免疫原として用いられ得る。完全長のMBSPXタンパク質が用いられ得るが、あるいは、本発明は、免疫原としての使用のためのMBSPXの抗原性ペプチドフラグメントを提供する。MBSPXの抗原性ペプチドは、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、または24で示されるアミノ酸配列の少なくとも8アミノ酸残基を含み、そしてこのペプチドに対して惹起された抗体がMBSPXと特異的な免疫複合体を形成するように、MBSPXのエピトープを含む。好ましくは、この抗原性ペプチドは、少なくとも10のアミノ酸残基を含み、より好ましくは少なくとも15のアミノ酸残基を含み、さらにより好ましくは少なくとも20のアミノ酸残基を含み、そして最も好ましくは少なくとも30のアミノ酸残基を含む。この抗原ペプチドに含まれる好ましいエピトープは、例えば親水性領域のような、このタンパク質の表面上に位置するMBSPXの領域である。

【0198】

本明細書で開示されるように、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、または24のMBSPXタンパク質配列、またはその

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

【0199】

ポリクローナル抗体の産生のために、種々の適切な宿主動物（例えば、ウサギ、ヤギ、マウスまたはその他の哺乳動物）を、ネイティブタンパク質、またはその合成改変体、または前述の誘導体での注射により免疫化し得る。適切な免疫原調製物は、例えば、組換えにより発現されたMBSPXタンパク質または化学的に合成されたMBSPXポリペプチドを含有し得る。この調製物は、アジュバントをさらに含み得る。免疫学的応答を増大するために用いられる種々のアジュバントは、制限されずに、フロイントの（完全および不完全）アジュバント、ミネラルゲル（例えば、水酸化アルミニウム）、表面活性物質（例えば、リゾレシチン、プルロニックポリオール、ポリアニオン、ペプチド、オイルエマルジョン、ジニトロフェノールなど）、Bacille Calmette - Guerin およびCorynebacterium parvumのようなヒトアジュバント、または類似の免疫刺激剤を含む。所望であれば、MBSPXに対する抗体分子は、哺乳動物（例えば、血液）から単離され、そしてさらに、IgGフラクションを得るためのプロテインAクロマトグラフィーのような、周知の技法により精製され得る。

【0200】

本明細書で用いられる用語「モノクローナル抗体」または「モノクローナル抗体組成物」は、MBSPXの特定のエピトープと免疫反応し得る抗原結合部位の1種のみを含む抗体分子の集団をいう。従って、代表的には、モノクローナル抗体組成物は、それと免疫反応する特定のMBSPXタンパク質に対し、単一の結合親和性を示す。特定のMBSPXタンパク質、またはその誘導體、フラグメント、アナログもしくは相同体に対するモノクローナル抗体の調製には、連続的な細胞株培養による抗体分子の産生のために提供する任意の技法が利用され得る。このような技法は、制限されずに、ハイブリドーマ技法(Kohler & Milstein, 1975 Nature 256:495-497を参照のこと) ; トリオーマ技法 ; ヒトB細胞ハイブリドーマ技法(Kozborら、1983 Immunol Today 4:72) およびヒトモノクローナル抗体を産生するためのEBVハイブリドーマ技法(Coleら、1985 MONOCLONAL ANTIBODIES AND CANCER THERAPY, Alan R. Liss, Inc. 77-96頁を参照のこと)を含む。ヒトモノクローナル抗体を、本発明の実施において利用し得、そしてヒトハイブリドーマを用いることによるか(Coteら、1983. Proc Natl Acad Sci USA 80:2026-2030を参照のこと)、またはインビトロでヒトB細胞をエプスタイン-バーウイルスで形質転換することにより(Coteら、1985 MONOCLONAL ANTIBODIES AND CANCER THERAPY, Alan R. Liss, Inc. 77-96頁を参照のこと)産生され得る。上記の引用の各々は、それらの全体が参考として本明細書に援用される。

【0201】

本発明によれば、技法は、MBSPXタンパク質に特異的な単鎖抗体の産生のために適合され得る(例えば、米国特許第4,946,778号を参照のこと)。さらに、方法は、F_{ab}発現ライブラリーの構築のために適合され得(例えば、Huseら、1989 Science 246:1275-1281を参照のこと)、MBSPXタンパク質、またはその誘導體、フラグメント、アナログもしくは相同体に対し、所望の特異性を有するモノクローナルF_{ab}フラグメントの

迅速かつ有効な同定を可能にする。非ヒト抗体は、当該分野で周知の技法により「ヒト化」され得る。例えば、米国特許第5,225,539号を参照のこと。MBSPXタンパク質に対するイディオタイプを含む抗体フラグメントを、当該分野で公知の技法により産生し得、これには、制限されないで：(i)抗体分子のペプシン消化により産生される $F_{(ab')_2}$ フラグメント；(ii) $F_{(ab')_2}$ フラグメントのジスルフィド架橋を還元することにより生成される F_{ab} フラグメント；(iii)抗体分子のパパインおよび還元剤での処理により生成される F_{ab} フラグメントおよび(iv) F_v フラグメントが含まれる。

【0202】

さらに、ヒトおよび非ヒト部分の両方を含むキメラ抗体およびヒト化モノクローナル抗体のような、組換え抗MBSPX抗体（これらは、標準組換えDNA技術を用いて作製され得る）は、本発明の範囲内である。このようなキメラ抗体およびヒト化モノクローナル抗体は、当該分野で公知の組換えDNA技術により生成され得る。この技術は例えば、以下に記載の方法を用いる：国際出願番号PCT/US86/02269；欧州特許出願番号184,187号；欧州特許出願番号171,496；欧州特許出願番号173,494；PCT国際公開番号WO86/01533；米国特許第4,816,567号；欧州特許出願番号125,023号；Better \bar{r} (1988)Science 240:1041~1043；Liu \bar{r} (1987)PNAS 84:3439~3443；Liu \bar{r} (1987)J Immunol. 139:3521~3526；Sun \bar{r} (1987)PNAS 84:214~218；Nishimura \bar{r} (1987)Cancer Res 47:999~1005；Wood \bar{r} (1985)Nature 314:446~449；Shaw \bar{r} (1988)J Natl Cancer Inst 80:1553~1559；Morrison(1985)Science 229:1202~1207；Oi \bar{r} (1986)BioTechniques 4:214；米国特許第5,225,539号；Jones \bar{r} (1986)Nature 321:552~525；Verhoeyan \bar{r} (1988)Science 239:1534；ならびにBeidler \bar{r} (1988)J Immunol 141:4053~4060。

【0203】

1つの実施形態において、所望の特異性を保有する抗体のスクリーニングのための方法論は、当該分野内で公知の酵素結合抗体免疫吸着アッセイ（ELISA）および他の免疫学的に媒介された技術を含むが、これに限定されない。

【0204】

抗MBSPX抗体は、MBSPXタンパク質の局在化および/または定量化に関する当該分野で公知の方法において用いられ得る（例えば、適切な生理学的なサンプル内のMBSPXタンパク質のレベルを測定する使用のために、診断的方法における使用のために、タンパク質の画像化における使用のために、など）。所定の実施形態において、MBSPXタンパク質、またはそれらの誘導体、フラグメント、アナログまたはホモログの抗体（抗体由来の結合ドメインを含む）は、薬理的に活性な化合物〔本明細書中、以降において「治療剤」〕として利用される。

【0205】

抗MBSPX抗体（例えば、モノクローナル抗体）は、標準技術（例えばアフィニティークロマトグラフィまたは免疫沈降）によって、MBSPXを単離するために用いられ得る。抗MBSPX抗体は、細胞からの天然のMBSPX、そして宿主細胞において発現される組換え的に産生されたMBSPXの精製を容易にし得る。さらに、抗MBSPX抗体が、（例えば、細胞の溶菌液または細胞上清における）MBSPXタンパク質を検出するために用いられ、MBSPXタンパク質の発現の量およびパターンを評価し得る。抗MBSPX抗体は、例えば、所定の治療レジメンの有効性を決定するために、臨床試験の手順の一部として組織におけるタンパク質レベルを診断的にモニターするために用いられ得る。検出は、抗体を検出可能物質に連結する（すなわち、物理的に連結する）ことにより容易になり得る。検出可能物質の例としては、種々の酵素、補欠分子族、蛍光物質、発光材料、生物発光材料および放射性物質が挙げられる。適切な酵素の例としては、西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、 α -ガラクトシダーゼまたはアセチルコリンエステラーゼが挙げられる；適切な補欠分子族複合体の例としては、ストレプトアビジン/ビオチンおよびアビジン/ビオチンが挙

げられる；適切な蛍光物質の例としては、ウンベリフェロン、フルオレセイン、フルオレセインイソチオシアネート、ローダミン、ジクロロトリアジニルアミン (dichlorotriazinylamine) フルオレセイン、ダンシルクロリドまたはフィコエリトリンが挙げられる；発光材料の例としては、ルミノールが挙げられる；生物発光材料の例としては、ルシフェラーゼ、ルシフェリンおよびエクオリンが挙げられる；そして、適切な放射性物質の例としては¹²⁵I、¹³¹I、³⁵Sまたは³Hが挙げられる。

【0206】

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

【0207】

本発明の組換え発現ベクターは、宿主細胞における核酸の発現に適切な形態の本発明の核酸を含む。これは、組換え発現ベクターが、発現されるべき核酸配列に作動可能に連結されている、発現に用いられるべき宿主細胞に基づいて選択される、1つ以上の調節配列を含むことを意味する。組換え発現ベクター内で、「作動可能に連結する」とは、目的のヌクレオチド配列が、(例えば、インビトロの転写/翻訳系において、またはベクターが宿主細胞に導入される場合は、宿主細胞において)ヌクレオチド配列の発現を可能にする様式で調節配列に連結されるという意味を意図する。用語「調節配列」は、プロモーター、エンハンサーおよび他の発現制御エレメント(例えば、ポリアデニル化シグナル)を含むことを意図する。このような調節配列は、例えば、Goeddel; GENE EXPRESSION TECHNOLOGY: METHODS IN ENZYMOLOGY 185、Academic Press、San Diego、Calif. (1990)に記載されている。調節配列は、多くの型の宿主細胞においてヌクレオチド配列の構成的発現を指向する配列、および特定の宿主細胞のみにおいてヌクレオチド配列の発現を指向する配列(例えば、組織特異的調節配列)を含む。発現ベクターの設計が形質転換されるべき宿主細胞の選択、所望のタンパク質の発現のレベルなどのような因子に依存し得ることは当業者には明白である。本発明の発現ベクターは、宿主細胞に導入され得、それにより、本明細書に記載される核酸によりコードされるタンパク質またはペプチド(融合タンパク質またはペプチドを含む)(例えば、MBSPXタンパク質、またはMBSPXの変異形態、融合タンパク質など)を生成し得る。

【0208】

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、MBSPX発現のために設計され得る。例えば、MBSPXは、細菌細胞(例えば、E. coli)、昆虫細胞(バキュロウイルス発現ベクターを用いる)、酵母細胞または哺乳動物細胞において発現され得る。適切な宿主細胞は、Goeddel; GENE EXPRESSION TECHNOLOGY: METHODS IN ENZYMOLOGY 185、Academic Press、

San Diego, Calif. (1990) にさらに考察されている。あるいは、組換え型発現ベクターは、例えば、T7プロモーター調節配列およびT7ポリメラーゼを用いて、インビトロで転写および翻訳され得る。

【0209】

原核生物におけるタンパク質の発現は、最も頻繁には、融合タンパク質または非融合タンパク質のいずれかの発現を指向する構成的プロモーターまたは誘導性プロモーターを含むベクターを有する *E. coli* において実行される。融合ベクターは、そこにコードされるタンパク質に、通常、組換えタンパク質のアミノ末端に、多数のアミノ酸を付加する。このような融合ベクターは、代表的には、以下の3つの目的のために役立つ：(1) 組換えタンパク質の発現を増加させること；(2) 組換えタンパク質の可溶性を増加させること；および(3) アフィニティー精製においてリガンドとして作用することによって組換えタンパク質の精製の際に補助すること。しばしば、融合発現ベクターにおいて、タンパク質分解の切断部位が、融合部分の結合部に導入され、そしてこの組換えタンパク質により、融合タンパク質の精製の後に融合部分から組換えタンパク質を分離することが可能になる。このような酵素、およびその同族の認識配列は、第Xa因子、トロンピン、およびエンテロキナーゼを含む。代表的な融合発現ベクターとしては、グルタチオンS-トランスフェラーゼ(GST)、マルトース結合タンパク質、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。

【0210】

適切な誘導性非融合 *E. coli* 発現ベクターの例には、pTrc (Amannら (1988) *Gene* 69:301-315) および pET 11d (Studierら、*GENE EXPRESSION TECHNOLOGY: METHODS IN ENZYMOLOGY* 185, Academic P

ress, San Diego, Calif. (1990) 60-89) が挙げられる。

【0211】

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

【0212】

別の実施形態において、MBSPX発現ベクターは、酵母発現ベクターである。酵母*S. cerevisiae*における発現のためのベクターの例には、pYepSec1 (Baldaire, (1987) EMBO J 6: 229-234)、pMFA (KurjanおよびHerskowitz, (1982) Cell 30: 933-943)、pJRY88 (Schultzら, (1987) Gene 54: 113-123)、pYES2 (Invitrogen Corporation, San Diego, Calif.)、およびpicZ (Invitrogen Corp., San Diego, Calif.) が挙げられる。

【0213】

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

およびpVLシリーズ(LucklowおよびSummers(1989) *Virology* 170:31-39)が挙げられる。

【0214】

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。

【0215】

別の実施形態において、組換え哺乳動物発現ベクターは、特定の細胞型(例えば、組織特異的調節エレメントを使用して核酸を発現する)中で優先的に核酸の発現を指向し得る。組織特異的調節エレメントは、当該分野で公知である。適切な組織特異的なプロモーターの非限定的な例には、アルブミンプロモーター(肝臓特異的; Pinkertら(1987) *Genes Dev* 1:268-277)、リンパ特異的プロモーター(CalameおよびEaton(1988) *Adv Immunol* 43:235-275)、T細胞レセプターの特定のプロモーターにおいて(WinotoおよびBaltimore(1989) *EMBO J* 8:729-733)および免疫グロブリンの特定のプロモーターにおいて(Banerjiら(1983) *Cell* 33:729-740; QueenおよびBaltimore(1983) *Cell* 33:741-7

48)、ニューロン特異的プロモーター(例えば、ニューロフィラメントプロモーター; ByrneおよびRuddle(1989)PNAS 86:5473-5477)、膵臓特異的プロモーター(Edlundら(1985)Science 230:912-916)、ならびに乳腺特異的プロモーター(例えば、ミルク乳清プロモーター; 米国特許第4,873,316号および欧州出願公開第264,166号)が挙げられる。発生的に調節されるプロモーターもまた含まれる(例えば、マウスホックス(murine hox)プロモーター(KesselおよびGruss(1990)Science 249:374-379)および - フェトプロテインプロモーター(CampesおよびTilghman(1989)Genes Dev 3:537-546)。

【0216】

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

【0217】

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、特定の改変が次の世代において生じ得るので、このような子孫は、実際、親の細胞と同一でないかもしれないが、なお、本明細書中で使用されるような用語の範囲内に含まれる。

【0218】

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、M B S P Xタンパク質は、細菌細胞（例えば、E . c o l i）、昆虫細胞、酵母または哺乳動物細胞（例えば、チャイニーズハムスター卵巣細胞（C H O）またはC O S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。

【0219】

ベクターDNAは、従来的な形質転換またはトランスフェクション技術を介して原核生物細胞または真核生物細胞に導入され得る。本明細書中で使用される場合、用語「形質転換」および「トランスフェクション」とは、外来性の核酸（例えば、DNA）を宿主細胞に導入するための当該分野で認識される種々の技術をいうことを意図し、これらには、リン酸カルシウムまたは塩化カルシウム共沈殿、D E A E デキストラン媒介トランスフェクション、リポフェクション、またはエレクトロポレーションが含まれる。宿主細胞を形質転換またはトランスフェクションするための適切な方法は、S a m b r o o k ら（M O L E C U L A R C L O N I N G : A L A B O R A T O R Y M A N U A L . 第2版、C o l d S p r i n g H a r b o r L a b o r a t o r y , C o l d S p r i n g H a r b o r L a b o r a t o r y P r e s s , C o l d S p r i n g H a r b o r , N . Y . , 1 9 8 9）および他の実験室マニュアルに見出され得る。

【0220】

安定な哺乳動物細胞のトランスフェクションのために、使用される発現ベクターおよびトランスフェクション技術に依存して、細胞のほんの一部のみが外来DNAをそのゲノムに組み込み得ることが知られている。これらの要素を同定およ

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（例えば、G418、ハイグロマイシン、およびメトトレキサート）に対する耐性を付与するものが含まれる。選択マーカーをコードする核酸は、MBSPX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。導入された核酸で安定にトランスフェクトされた細胞は、薬物選択によって同定され得る（例えば、選択マーカー遺伝子を取り込んだ細胞は生存し、一方他の細胞は死滅する）。

【0221】

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、MBSPX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、MBSPXタンパク質を産生するための方法を提供する。1つの実施形態において、本発明の方法は、MBSPX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、MBSPXをコードする組換え発現ベクターが導入された）を培養する工程を包含する。別の実施形態において、本発明はさらに、培地または宿主細胞からMBSPXを単離する工程を包含する。

【0222】

（トランスジェニック動物）

本発明の宿主細胞はまた、非ヒトトランスジェニック動物を作製するために使用され得る。例えば、1つの実施形態において、本発明の宿主細胞は、MBSPXコード配列が導入された、受精した卵母細胞または胚性幹細胞である。次いで、このような宿主細胞は、外因性のMBSPX配列がそのゲノムに導入された非ヒトトランスジェニック動物、または内因性のMBSPX配列が変更された相同組換え動物を作製するために使用され得る。このような動物は、MBSPXの機能および/または活性を研究するため、ならびにMBSPX活性のモジュレーターを同定および/または評価するために有用である。本明細書中で使用される場合、「トランスジェニック動物」とは、非ヒト動物であり、好ましくは哺乳動物であり、より好ましくは、ラットまたはマウスのような齧歯類であり、その動物

の1つ以上の細胞が、導入遺伝子を含む。トランスジェニック動物の他の例としては、非ヒト霊長類、ヒツジ、イヌ、ウシ、ヤギ、ニワトリ、両生類などが挙げられる。導入遺伝子は、細胞（この細胞からトランスジェニック動物が発生する）のゲノムに組み込まれかつ成熟動物のゲノムに残存する、外因性のDNAであり、それによって、トランスジェニック動物の1つ以上の細胞型または組織においてコードされた遺伝子産物の発現を指示する。本明細書中で使用される場合、「相同組換え動物」とは、非ヒト動物であり、好ましくは哺乳動物であり、より好ましくはマウスであり、ここで内因性のMBSPX遺伝子は、内因性の遺伝子と、その動物の発生の前にその動物の細胞（例えば、その動物の胚細胞）に導入された外因性のDNA分子との間の相同組換えによって変更されている。

【0223】

本発明のトランスジェニック動物は、MBSPXをコードする核酸を、例えば、マイクロインジェクション、レトロウイルス感染によって、受精した卵母細胞の雄性前核に導入すること、および卵母細胞が偽妊娠した雌性養育動物（*foster animal*）中で発生することを可能にすることによって作製され得る。配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、または23のヒトのMBSPX cDNA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、ヒトのMBSPX遺伝子の非ヒトホモログ（例えば、マウスのMBSPX遺伝子）は、ヒトのMBSPX 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（以下にさらに記載される）、そして導入遺伝子として使用され得る。イントロン配列およびポリアデニル化シグナルもまた導入遺伝子中に含まれ得、その導入遺伝子の発現の効率を増大させ得る。組織特異的調節配列（単数または複数）は、特定の細胞に対して、MBSPXタンパク質の発現を指示するように、MBSPX導入遺伝子に作動可能に連結され得る。胚の操作およびマイクロインジェクションを介するトランスジェニック動物（特に、マウスのような動物）を生成するための方法は、当該分野で慣習的になっており、そして例えば、米国特許第4,736,866号；同第4,870,009号；および同第4,873,191号；ならびにHogan 1986、MANIPULATING THE MOUSE EMBRYO, Cold

Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.に記載されている。同様の方法は、他のトランスジェニック動物の作製のために使用される。トランスジェニック初代 (founder) 動物は、そのゲノムにおけるMBSPX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MBSPX 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、MBSPXをコードする導入遺伝子を有するトランスジェニック動物は、さらに、他の導入遺伝子を有する他のトランスジェニック動物に繁殖させ得る。

【0224】

相同組換え動物を作製するために、MBSPX遺伝子の少なくとも一部を含むベクターを調製する。この遺伝子において、欠失、付加、または置換が導入されて、それによってそのMBSPX遺伝子が増加されている（例えば、機能的に破壊される）。MBSPX遺伝子はヒト遺伝子（例えば、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、または23のcDNA）であり得るが、より好ましくは、ヒトのMBSPX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、13、15、17、19、21、または23のヒトのMBSPX遺伝子のマウスホモログは、マウスゲノムにおいて内因性のMBSPX遺伝子を変更するのに適切な相同組換えベクターを構築するために使用され得る。1つの実施形態において、そのベクターは、相同組換えに際して、その内因性のMBSPX遺伝子が、機能的に破壊されるように設計される（すなわち、機能的タンパク質をもはやコードしない；「ロックアウト」ベクターともいわれる）。

【0225】

あるいは、このベクターは、相同組換えに対して、内因性MBSPX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、なお機能的タンパク質をコードするように、設計され得る（例えば、上流の調節領域が増加され、それによって内因性MBSPX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、MBSPX遺伝子の変更された部分は、MBSPX遺伝子のさらなる

核酸によって、その5'末端および3'末端で隣接され、相同組換えが、ベクターによって保有される外因性MBSPX遺伝子と胚幹細胞中の内因性MBSPX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MBSPX核酸は、内因性遺伝子との首尾よい相同組換えのために十分な長さである。典型的に、数千ベースの隣接するDNA(5'末端および3'末端の両方における)が、ベクターに含まれる。例えば、相同組換えベクターの記述についてThomasら(1987)Cell 51:503を参照のこと。このベクターは、(例えば、エレクトロポレーションによって)胚幹細胞株に導入され、導入されたMBSPX遺伝子が内因性MBSPX遺伝子と相同組換えした細胞が、選択される(例えば、Liら(1992)Cell 69:915を参照のこと)。

【0226】

次いで、選択された細胞が、動物(例えば、マウス)の胚盤胞へ注入され、凝集キメラを形成する。例えば、Bradley(1987)の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、キメラ胚が、適切な偽妊娠雌性養育動物に移植され得、そしてその胚は分娩に到る。その生殖細胞中に相同組換えされたDNAを保有する子孫が、動物を繁殖させるために使用され得、この動物の全ての細胞は、導入遺伝子の生殖系列伝達による、相同組換えされたDNAを含む。相同組換えベクターおよび相同組換え動物を構築するための方法が、さらに以下に記載される; Bradley(1991)Curr Opin Biotechnol 2:823-829; PCT国際公開番号: WO90/11354; WO91/01140; WO92/0968; およびWO/93/04169。

【0227】

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

992) PNAS 89: 6232 - 6236を参照のこと。リコンビナーゼ系の別の例は、Saccharomyces cerevisiaeのFLPリコンビナーゼ系である(O'Gormanら(1991) Science 251: 1351 - 1355)。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。

【0228】

本明細書中に記載されるトランスジェニック非ヒト動物のクローンがまた、Wilmutら(1997) Nature 385: 810 - 813に記載される方法に従って、産生され得る。簡単には、トランスジェニック動物からの細胞(例えば、体細胞)は単離および誘導される、増殖サイクルから出、そしてG₀フェーズに入り得る。次いで、静止性細胞が、例えば、電気パルスの使用により、その静止性細胞が単離される同種の動物から摘出された卵母細胞へ融合され得る。次いで、この再構築された卵母細胞は培養され、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、偽妊娠雌性養育動物に移される。この雌性養育動物から産まれた子孫は、その細胞(例えば、その体細胞)が単離された動物のクローンである。

【0229】

(薬学的組成物)

本発明のMBSPX核酸分子、MBSPXタンパク質、および抗MBSPX抗体(これはまた、本明細書中で、「活性な化合物」とも呼ばれる)、ならびにそれらの誘導體、フラグメント、アナログ、および相同体が、投与に適した薬学的組成物に組み込まれ得る。このような組成物は、典型的に、核酸分子、タンパク質または抗体、および薬学的に受容可能なキャリアを含む。本明細書中で使用される場合、「薬学的に受容可能なキャリア」は、薬学的な投与に適合した、任意

および全ての溶媒、分散媒、コーティング、抗菌剤および抗真菌剤、等張剤および吸収遅延剤 (delaying agent) などを含むことが意図される。薬学的に活性な物質におけ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。任意の従来の媒体または薬剤が活性な化合物と不適合である範囲を除いて、組成物におけるその使用が考慮される。補助活性化合物はまた、組成物へ組み込まれ得る。

【0230】

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

【0231】

注入使用に適した薬学的組成物は、滅菌水性溶液（ここで、水溶解性）または分散液、および滅菌の注入可能な溶液または分散液の即座の調製のための滅菌粉末を含む。静脈投与において、適切なキャリアには、生理食塩水、静菌水、Cremophor EL™ (BASF, Parsippany, N.J.) またはリン酸塩緩衝化生理食塩水 (PBS) が挙げられる。全ての場合において、組成物は、滅菌性でなければならず、そして容易な注入性 (syringability) が存在する程度に流動性であるべきである。これは、製造および保存の条

件下で安定でなければならず、そして、細菌および真菌のような微生物の汚染行為に対して保護されるべきである。このキャリアは、例えば、以下を含む溶媒または分散媒であり得る：水、エタノール、ポリオール（例えば、グリセロール、プロピレングリコール、および液体ポリエチレングリコールなど）ならびにそれらの適切な混合物。適切な流動性が、例えば、レシチンのようなコーティングの使用によって、分散液の場合に、要求される粒子サイズを維持することによって、および界面活性剤を使用することによって維持され得る。微生物の作用の防止は、種々の抗菌剤および抗真菌剤（例えば、パラベン、クロロブタノール、フェノール、アスコルビン酸、チメロサルなど）によって達成され得る。多くの場合、組成物中に等張剤（例えば、砂糖、ポリアルコール（例えば、マンニトール（manitol）、ソルビトール）塩化ナトリウム）を含むことが好ましい。注入可能組成物の長時間吸収は、組成物に吸収を遅らせる薬剤（例えば、アルミニウムモノステアレートおよびゼラチン）を含ませることによってもたらされ得る。

【0232】

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

【0233】

経口組成物は、一般的に、不活性希釈剤または食用キャリアを含む。これらは、ゼラチンカプセルに封入され得るか、または錠剤へと圧縮され得る。経口治療投与の目的のために、この活性化化合物は、賦形剤とともに組み込まれ得、そして錠剤、トローチ剤、またはカプセル剤の形態で使用され得る。経口組成物はまた

、マウスウォッシュとしての使用のために流体キャリアを使用して調製され得、ここで、この流体キャリア中のこの化合物は、経口的に適用され、そしてさっと動かされ、そして吐き出されるか、または飲み込まれる。薬学的に適合性の結合剤、および/またはアジュバント材料が、この組成物の一部として含まれ得る。錠剤、丸剤、カプセル剤、トローチ剤などが、任意の以下の成分または同様の性質を有する化合物を含み得る：結合剤（例えば、微結晶セルロース、ガムトラガントまたはゼラチン）；賦形剤（例えば、デンプンまたはラクトース）、崩壊剤（例えば、アルギン酸、Primogel、またはコーンスターチ）；滑沢剤（例えば、ステアリン酸マグネシウムまたはSterotes）；滑り剤（glidant）（例えば、コロイド状二酸化ケイ素）；甘味剤（例えば、スクロースまたはサッカリン）；あるいは香味剤（例えば、ペパーミント、サリチル酸メチル、またはオレンジフレーバー）。

【0234】

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

【0235】

全身的投与はまた、経粘膜手段または経皮手段により得る。経粘膜投与または経皮投与について、浸透される障壁に適切な浸透剤が、処方物において使用される。このような浸透剤は、一般的に、当該分野で公知であり、そして、例えば、経粘膜投与については、界面活性剤、胆汁酸塩、およびフシジン酸誘導体が挙げられる。経粘膜投与は、鼻噴霧または坐剤の使用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。

【0236】

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

【0237】

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およびNova Pharmaceuticals, Inc. から市販され、手に入れることができる。リポソーム懸濁剤（ウイルス抗原に対するモノクローナル抗体を用いて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。

【0238】

投与の容易さおよび投薬量の均一性のために、投薬単位形態で、経口組成物または非経口組成物を処方することが、特に有益である。本明細書で使用される投薬単位形態は、処置される被験体のための単位投薬量として適切な物理的に個々の単位をいい；各単位は、必要とされる薬学的キャリアと関連して所望の治療的効果を生じるように計算された、所定量の活性化化合物を含む。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独特の特徴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。

【0239】

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、例えば静脈注射、局所投与（米国特許第5,328,470号を参照のこと）によって、または定位注射（例えば、Chenら（1994）PNAS 91:3054-3057を参照のこと）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は、受容可能な希釈剤中の遺伝子治療ベクターを含み得、または遺伝子送達ビヒクルが組み込まれる除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る場合（例えば、レトロウイルスベクター）、薬学的調製物は、遺伝子送達系を産生する1以上の細胞を含み得る。

【0240】

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

【0241】

（発明の使用および方法）

本発明の単離された核酸分子は、以下にさらに説明されるように、MBSPXタンパク質（例えば、遺伝子治療用途における宿主細胞中の組換え発現ベクターを介して）を発現するため、MBSPX mRNA（例えば、生物学的サンプルにおいて）またはMBSPX遺伝子における遺伝子損傷を検出するため、ならびにMBSPX活性を調節するために使用され得る。さらに、MBSPXタンパク質は、MBSPX活性または発現を調節する薬物または化合物をスクリーニングするために、ならびにMBSPXタンパク質の不十分なもしくは過剰な産生によって、あるいはMBSPX野生型タンパク質と比較して減少したもしくは異常な活性を有するMBSPXタンパク質形態の産生によって特徴付けられる障害（例えば、ガンまたはプレクランプシア（preclampsia）のような増殖性障害、免疫系障害および炎症、神経学的障害、ならびに皮膚および筋肉異常）を処置するために使用され得る。さらに、本発明の抗MBSPX抗体が、MBSPXタンパク質を検出して単離するため、およびMBSPX活性を調節するために使用され得る。

【0242】

本発明は、さらに、上述のスクリーニングアッセイによって同定される新規の薬剤、および本明細書中で記載されるような処置のためのそれらの使用に関する。

【0243】

（スクリーニングアッセイ）

本発明は、調節因子、すなわち、MBSPXタンパク質に結合するか、あるいは例えば、MBSPXの発現またはMBSPXの活性に対して刺激効果または阻

害効果を有する、候補または試験化合物または薬剤（例えば、ペプチド、ペプチド模倣物、小分子または他の薬物）を同定するための方法（本明細書中において「スクリーニングアッセイ」とも称される）を提供する。

【0244】

1実施形態において、本発明は、MBSPXタンパク質またはポリペプチド、あるいはその生物学的に活性な部分の膜結合形態に結合するか、または膜結合形態の活性を調節する、候補化合物もしくは試験化合物をスクリーニングするためのアッセイを提供する。本発明の試験化合物は、当該分野において公知のコンビナトリアルライブラリー法における多数のアプローチの任意のものを使用して得られ得、これには、以下が挙げられる：生物学的ライブラリー；空間的にア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ークロマトグラフィー選択を使用する合成ライブラリー法。生物学的ライブラリーアプローチはペプチドライブラリーに限定されるが、他の4つのアプローチは、ペプチド、非ペプチドオリゴマーもしくは化合物の小分子ライブラリーに適用可能である（Lam(1997) Anticancer Drug Des 12:145）。

【0245】

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

【0246】

化合物のライブラリーは、溶液中で（例えば、Houghten(1992)）

BioTechniques 13:412~421)、あるいはビーズ上(Lam(1991)Nature 354:82~84)、チップ上(Fodor(1993)Nature 364:555~556)、細菌(Ladner 米国特許第5,223,409号)、孢子(Ladner USP'409)、プラスミド(Cullis(1992)Proc Natl Acad Sci USA 89:1865~1869)またはファージ上(ScottおよびSmith(1990)Science 249:386~390;Devlin(1990)Science 249:404~406;Cwirllaら(1990)Proc Natl Acad Sci U.S.A.87:6378~6382;Felici(1991)J Mol Biol 222:301~310;Ladner上記)において示され得る。

【0247】

1実施形態において、アッセイは細胞ベースのアッセイであり、ここで、MBSPXタンパク質、またはその生物学的に活性な部分の膜結合形態を細胞表面上に発現する細胞が、試験化合物と接触され、そしてこの試験化合物が、MBSPX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MBSPXタンパク質に結合する能力の決定は、例えば、その試験化合物を放射性同位体標識または酵素標識とカップリングさせて、この試験化合物のMBSPXタンパク質またはその生物学的に活性な部分に対する結合が複合体におけるその標識化合物を検出することによって決定され得ることによって、達成され得る。例えば、試験化合物は、¹²⁵I、³⁵S、¹⁴C、または³Hで直接的または間接的のいずれかで標識され得、そしてその放射性同位体が、放射線放射の直接の計数により、またはシンチレーション計数により、検出され得る。あるいは、試験化合物は、例えば、西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、またはルシフェラーゼで酵素的に標識され得、そしてこの酵素的標識が、適切な基質の生成物への転換を決定することにより、検出され得る。1実施形態において、このアッセイは、MBSPXタンパク質、またはその生物学的に活性な部分の膜結合形態をその細胞表面上に発現する細胞を、MBSPXと結合する公知の化合物と接触させて、アッセイ混合物を

形成する工程、このアッセイ混合物を試験化合物に接触させる工程、ならびにこの試験化合物がM B S P Xタンパク質と相互作用する能力を決定する工程を包含し、ここでこの試験化合物がM B S P X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M B S P X、またはその生物学的に活性な部分と、公知の化合物と比較して優先的に結合する能力を決定する工程を包含する。

【0248】

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、M B S P Xタンパク質またはその生物学的に活性な部分の膜結合形態を細胞表面上で発現する細胞を、試験化合物と接触させる工程、ならびにこの試験化合物が、M B S P X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M B S P X、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、M B S P Xタンパク質が、M B S P X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、M B S P X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、M B S P Xタンパク質を発現する細胞の表面の分子、第二の細胞の表面上の分子、細胞外の環境の分子、細胞膜の内部表面と会合する分子、または細胞質分子である。M B S P X標的分子は、本発明の非M B S P X分子またはM B S P Xタンパク質またはポリペプチドであり得る。1実施形態において、M B S P X標的分子は、シグナル伝達経路の構成要素であり、これは、細胞膜を通過して細胞内への細胞外シグナル（例えば、化合物が膜結合M B S P X分子に結合することにより発生するシグナル）の伝達を促進する。その標的は、例えば、触媒活性を有する第二の細胞間タンパク質または下流シグナル分子のM B S P Xとの会合を容易にするタンパク質であり得る。

【0249】

M B S P Xタンパク質がM B S P X標的分子に結合するかまたはその標的分子と相互作用する能力の決定は、直接の結合を決定するための上記方法の1つにより、達成され得る。1実施形態において、M B S P Xタンパク質がM B S P X標的分子に結合するかまたはその標的分子と相互作用する能力の決定は、その標的

分子の活性を決定することにより、達成され得る。例えば、この標的分子の活性は、その標的の細胞第二メッセンジャー（すなわち、細胞内 Ca^{2+} 、ジアシルグリセロール、 IP_3 など）の誘導を検出すること、適切な基質の標的の触媒活性 / 酵素活性を検出すること、レポーター遺伝子（検出可能なマーカー（例えば、ルシフェラーゼ）をコードする核酸に作動的に連結された MBSPX 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。

【0250】

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、MBSPX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MBSPX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、MBSPX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実施形態において、このアッセイは、MBSPXタンパク質またはその生物学的に活性な部分を、MBSPXに結合する公知の化合物に接触させて、アッセイ混合物を形成する工程、このアッセイ混合物を試験化合物に接触させる工程、ならびにその試験化合物がMBSPX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MBSPX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、MBSPX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。

【0251】

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、MBSPX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MBSPX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MBSPXの活性を調節する能力の決定は、例えば、MBSPXタンパク質が、MBSPX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

において、この試験化合物がMBSPXの活性を調節する能力の決定は、MBSPXタンパク質が、MBSPX標的分子をさらに調節する能力を決定することにより、達成され得る。例えば、この標的分子の適切な基質に対する触媒活性/酵素活性は、上に記載のように決定され得る。

【0252】

なお別の実施形態において、無細胞アッセイは、MBSPXタンパク質またはその生物学的に活性な部分を、MBSPXに結合する公知の化合物に接触させてアッセイ混合物を形成する工程、このアッセイ混合物を試験化合物と接触させる工程、ならびにこの試験化合物がMBSPX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MBSPXタンパク質と相互作用する能力の決定は、MBSPXタンパク質が、MBSPX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。

【0253】

本発明の無細胞アッセイは、MBSPX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MBSPXを含む無細胞アッセイの場合には、MBSPX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)、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)dimethylammonium-1-propane sulfonate)(CHAPS)、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)dimethylammonium-2-hydroxy-1-

propane sulfonate) (CHAPSO)、または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である。

【0254】

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、MBSPX、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、MBSPX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、MBSPX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され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 - MBSPX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MBSPX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MBSPX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。

【0255】

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、MBSPXまたはその標的分子のいずれかが、ビオチンとストレプトアビジンとの結合体化を利用して、固定され得る。ビオチン化されたMBSPX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、ビオチン化キット、Pierce Chemicals、Rockford、Ill.)、そしてストレプトアビジン被覆した96ウェルのプレート (Pierce Chemical) のウェルに固定され得る。あるいは、MBSPXまたは標的分子と反応性であるがMBSPX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MBSPXが、抗体の結合体化によってウェル内にトラップされ得る。このような複合体を検出するための方法には、GST固定複合体に関しての上記のものに加えて、MBSPX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MBSPXまたは標的分子と関連した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。

【0256】

別の実施形態において、MBSPX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MBSPX 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MBSPX 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MBSPX 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、MBSPX発現のモジュレーターとして同定され得る。例えば、MBSPX mRNAまたはタンパク質の発現が候補化合物の非存在下より、その存在下における方が大きい (統計的に有意に大きい) 場合、この候補化合物は、MBSPX 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、MBSPX 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、MBSPX 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MBSPX mRNAまたはタンパク質の発現レベルは、MBSPX 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。

【0257】

本発明のなお別の局面において、MBSPXタンパク質は、ツーハイブリッド

アッセイまたはスリーハイブリッドアッセイにおいて「ベイトタンパク質」として使用されて(例えば、米国特許第5,283,317号; Zervosら(1993) Cell 72:223-232; Maduraら(1993) J Biol Chem 268:12046-12054; Bartelら(1993) BioTechniques 14:920-924; Iwabuschiraら(1993) Oncogene 8:1693-1696; および Brent WO94/10300を参照のこと)、MBSPX(「MBSPX結合タンパク質」または「MBSPX-bp」)に結合するか、またはこれと相互作用し、そしてMBSPX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MBSPX結合タンパク質はまた、例えば、MBSPX経路の上流または下流エレメントとしてMBSPXタンパク質によるシグナル伝達に関与するようである。

【0258】

ツーハイブリッドシステムは、分離可能なDNA結合ドメインおよび活性化ドメインからなる、大部分の転写因子のモジュールの性質に基づく。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、MBSPXをコードする遺伝子が公知の転写因子(例えば、GAL-4)のDNA結合ドメインをコードする遺伝子に融合される。他方の構築物においては、DNA配列のライブラリー由来の、未同定タンパク質(「プレイ」または「サンプル」)をコードするDNA配列が、公知の転写因子の活性化ドメインをコードする遺伝子に融合される。「ベイト」および「プレイ」タンパク質がインピボで相互作用して、MBSPX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(close MBSPXimity)。この近位にあること(This MBSPXimity)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MBSPX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。

【0259】

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上記の処置のためのこの薬剤の使用に関する。

【0260】

(検出アッセイ)

本明細書中で同定される cDNA 配列の部分またはフラグメント (および対応する完全な遺伝子配列) は、ポリヌクレオチド試薬として多くの方法で使用され得る。例えば、これらの配列を使用して、(i) 染色体上にそれぞれの遺伝子をマッピングし得; 従って遺伝病と関連する遺伝子領域を位置決定し得る; (ii) 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 (iii) 生物学的サンプルの法医学的識別を助け得る。これらの適用は、以下の節において記載される。

【0261】

(染色体マッピング)

一旦遺伝子の配列 (または配列の一部) が単離されると、この配列を用いて染色体上に遺伝子の位置をマッピングし得る。このプロセスは、染色体マッピングとよばれる。従って、本明細書中に記載の MBSPX 配列の一部またはフラグメントを用いて、それぞれ、MBSPX 遺伝子の位置を染色体上にマッピングし得る。MBSPX 配列を染色体にマッピングすることは、これらの配列と、疾患と関連する遺伝子とを相関付ける際の重要な第一歩である。

【0262】

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

【0263】

体細胞ハイブリッドは、異なる哺乳動物由来の体細胞（例えば、ヒトおよびマウス細胞）を融合することにより調製される。ヒト細胞およびマウス細胞のハイブリッドが増殖および分裂するにつれ、それらは、無作為な順序で徐々にヒト染色体を失うが、マウス染色体を維持する。マウス細胞は増殖できない（それらは特定の酵素を欠損するので）が、ヒト細胞は増殖できる培地を使用することにより、必要な酵素をコードする遺伝子を含む1つのヒト染色体が維持される。種々の培地を使用することによって、ハイブリッド細胞株のパネルが確立され得る。パネルにおける各細胞株は、単一のヒト染色体または少数のヒト染色体いずれかおよびマウス染色体の完全なセットを含み、これにより、個々の遺伝子を特定のヒト染色体にマッピングすることが容易に可能になる（D' Eustachioら（1983）*Science* 220:919-924）。ヒト染色体のフラグメントのみを含む体細胞ハイブリッドはまた、転座および欠失を伴うヒト染色体を使用することにより生成され得る。

【0264】

体細胞ハイブリッドのPCRマッピングは、特定の染色体に特定の配列を割り当てるための迅速な手順である。1つのサーマルサイクラーを用いて一日に3つ以上の配列が割り当てられ得る。MBSPX配列を使用して、オリゴヌクレオチドプライマーを設計すると、下位位置決定（sublocalization）は、特定の染色体由来のフラグメントのパネルを用いて達成され得る。

【0265】

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

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

【0266】

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

【0267】

一旦配列が正確な染色体位置にマッピングされると、その配列の染色体上の物理的位置は、遺伝子マップデータと相関し得る。このようなデータは、例えば、McKusick, MENDELIAN INHERITANCE IN MAN (Johns Hopkins University Welch Medical Libraryを通じてオンラインで入手可能)において見いだされる。次いで、同じ染色体領域にマッピングされる遺伝子と疾患との間の関係は、例えば、Egelandら(1987) Nature, 325:783-787に記載される連鎖分析(物理的に隣接する遺伝子の同時遺伝)によって同定され得る。

【0268】

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

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

【0269】

(組織型決定(tissue typing))

本発明のMBSPX配列はまた、わずかな生物学的サンプルから個体を識別するために使用され得る。この技術において、個体のゲノムDNAは、1つ以上の制限酵素で消化され、そして同定のために独特のバンドを生成するためにサザンブロット上でプローブされる。本発明の配列は、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。

【0270】

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MBSPX配列を用いて、配列の5'末端および3'末端から2つのPCRプライマーを調製し得る。次いで、これらのプライマーを使用して、個体のDNAを増幅し得、そしてこれを逐次的に配列決定し得る。

【0271】

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、個体および組織からこのような識別配列を得るために使用され得る。本発明のMBSPX配列は、ヒトゲノムの部分を独特に表す。対立遺伝子のバリエーションは、これらの配列のコード領域においてある程度生じ得、そして非コード領域においてより大きな程度に生じる。個々のヒト間での対立遺伝子のバリエーションは、各500塩基につき約1回の頻度で生じる。対立遺伝子のバリエーションの多さは、制限フラグメント長多型(RFLP)を含む単一ヌクレオチド多型(SNP)に起因する。

【0272】

本明細書中で記載の配列の各々は、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、ある程度、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。配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、または23の非コード配列は、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2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22または24のアミノ酸配列をコードする核酸配列)が使用される場合、ポジティブな個体識別に関するプライマーのより多くの適切な数は、500~2,000である。

【0273】

(予測医療)

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

【0274】

本発明の別の局面は、個体におけるMBSPXのタンパク質、核酸の発現あるいはMBSPXの活性を決定するための方法を提供し、これによって、その個体

についての適切な治療的または予防的試薬（本明細書において「薬物ゲノム」とよばれる）を選択する。薬物ゲノムは、個体の遺伝型（例えば、特定の試薬に対して応答する個体の能力を決定するために試験された個体の遺伝型）に基づいて個体の治療的または予防的処置のための試薬（例えば、薬物）の選択を可能にする。

【0275】

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

【0276】

これらおよび他の試薬は、以下の節でさらに詳細に記載される。

【0277】

（診断アッセイ）

生物学的サンプルにおけるMBSPX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MBSPXのタンパク質またはMBSPX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、MBSPX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。MBSPXのmRNAもしくはゲノムDNAを検出するための薬剤は、MBSPX mRNAもしくはゲノムDNAにハイブリダイズし得る、標識された核酸プローブである。この核酸プローブは、例えば、全長のMBSPXの核酸（例えば、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、もしくは23）もしくはその部分の核酸（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、ストリンジェントな条件下でMBSPXのmRNAまたはゲノムDNAと特異的にハイブリダイズするに十分である核酸）であり得る。本発明の診断アッセイにおける使用のための他の適切なプローブは本明細書において記載されている。

【0278】

MBSPXのタンパク質を検出するための薬剤は、MBSPXのタンパク質に

結合し得る抗体であり、好ましくは、検出可能な標識を有する抗体である。抗体は、ポリクローナルであり得るか、またはより好ましくはモノクローナルであり得る。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 $(ab')_2$ ）が使用され得る。用語「標識（された）」とは、プローブまたは抗体に関して、検出可能な物質をそのプローブもしくは抗体にカップリングさせる（すなわち、物理的に連結する）ことによってそのプローブまたは抗体を直接標識すること、ならびに、直接標識された別の試薬との反応性によってそのプローブもしくは抗体の間接的な標識をすることを包含することが意図される。間接的な標識の例としては、蛍光標識された二次抗体を用いた一次抗体の検出、および蛍光標識されたストレプトアビジンを用いて検出され得るようにDNAプローブのビオチンを用いた末端標識が挙げられる。用語「生物学的サンプル」とは、被験体から単離された、組織、細胞および生物学的流体ならびに被験体に存在する組織、細胞および流体を含むことが意図される。すなわち、本発明の検出方法を用いて、MBSPXのmRNA、タンパク質またはゲノムDNAを、生物学的サンプル中で、インビトロおよびインビボで検出し得る。例えば、MBSPXのmRNAの検出のためのインビトロ技術としては、ノーザンハイブリダイゼーションおよびインサイチュハイブリダイゼーションが挙げられる。MBSPXのタンパク質の検出のためのインビトロ技術としては、酵素連結免疫吸着アッセイ（ELISA）、ウェスタンブロット、免疫沈降および免疫蛍光が挙げられる。MBSPXのゲノムDNAを検出するためのインビトロ技術としては、サザンハイブリダイゼーションが挙げられる。さらに、MBSPXのタンパク質の検出のためのインビボ技術としては、標識された抗MBSPX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。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。

【0279】

1つの実施形態において、この生物学的サンプルは、その試験被験体からのタンパク質分子を含む。あるいは、この生物学的サンプルは、その試験被験体からのmRNA分子またはその試験被験体からのゲノムDNA分子を含み得る。好ま

しい生物学的サンプルは、被験体から従来的手段によって単離された末梢血白血球サンプルである。

【0280】

別の実施形態において、本発明の方法はさらに、コントロール被験体からコントロール生物学的サンプルを得る工程、そのコントロールサンプルを、MBSPXのタンパク質、mRNAもしくはゲノムDNAを検出し得る化合物もしくは薬剤と接触させ、その結果、MBSPXのタンパク質、mRNAもしくはゲノムDNAの存在がその生物学的サンプルにおいて検出される、工程、およびそのコントロールサンプルにおけるMBSPXのタンパク質、mRNAもしくはゲノムDNAの存在と、その試験サンプルにおけるMBSPXのタンパク質、mRNAもしくはゲノムDNAの存在とを比較する工程を包含する。

【0281】

本発明はまた、生物学的サンプルにおけるMBSPX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MBSPXのタンパク質またはmRNAを検出し得る、標識された化合物もしくは薬剤；そのサンプルにおいてMBSPXの量を決定するための手段；および標準と、そのサンプルにおけるMBSPXの量とを比較するための手段。この化合物または薬剤は、適切な容器内に入れられ得る。このキットは、さらに、MBSPXのタンパク質または核酸を検出するためにキットを用いるための指示書を備え得る。

【0282】

(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、MBSPXの異常発現または異常活性に関連した疾患もしくは障害を有するかまたはその発症の危険にある被験体を同定し得る。例えば、本明細書に記載されるアッセイ（例えば、上述の診断アッセイまたは下記のアッセイ）を利用して、MBSPXのタンパク質、核酸の発現または活性に関連する障害（例えば、癌または線維症障害）を有するかまたはその発症の危険に有る被験体を同定し得る。あるいは、この予後アッセイを利用して、疾患または障害を有するかまたはその発症の危険に有る被験

体を同定し得る。従って、本発明は、MBSPX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MBSPX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、MBSPXのタンパク質または核酸の存在は、MBSPXの異常発現または異常活性に関連する疾患または障害を有するかまたはその発症の危険にある被験体についての診断指標である。本明細書において使用される「試験サンプル」とは、目的の被験体から得られた生物学的サンプルをいう。例えば、試験サンプルは、生物学的流体（例えば、血清）、細胞サンプル、または組織であり得る。

【0283】

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

【0284】

本発明の方法はまた、MBSPXの遺伝子における遺伝的損傷を検出し、それによって、その損傷遺伝子を有する被験体が異常な細胞増殖および/または分化によって特徴付けられる障害についての危険に有るか否かを決定するためにも使用され得る。種々の実施形態において、本発明の方法は、その被験体からの細胞のサンプルにおいて、MBSPXのタンパク質をコードする遺伝子の統合性に影響を与える変更の少なくとも1つによって特徴付けられる遺伝的損傷、あるいは

MBSPXの遺伝子の誤発現の存在または非存在を検出する工程を包含する。例えば、そのような遺伝的損傷は、以下の少なくとも1つの存在を確認することによって検出され得る：(1) MBSPXの遺伝子からの1つ以上のヌクレオチドの欠失；(2) MBSPXの遺伝子への1つ以上のヌクレオチドの付加；(3) MBSPXの遺伝子の1つ以上のヌクレオチドの置換、(4) MBSPXの遺伝子の染色体再配置；(5) MBSPXの遺伝子のメッセンジャーRNA転写物のレベルにおける変更、(6) MBSPXの遺伝子の異常改変（例えば、ゲノムDNAのメチル化パターンの異常改変）、(7) MBSPXの遺伝子のメッセンジャーRNA転写物の非野生型スプライシングパターンの存在、(8) MBSPXのタンパク質の非野生型レベル、(9) MBSPXの遺伝子の対立遺伝子の欠失、ならびに(10) MBSPXのタンパク質の不適切な翻訳後修飾。本明細書において記載されるように、当該分野において、多数の公知のアッセイ技術が存在し、これらは、MBSPXの遺伝子における損傷を検出するために使用され得る。好ましい生物学的サンプルは、従来手段によって被験体から単離された末梢血白血球サンプルである。しかし、有核細胞を含む任意の生物学的サンプルが使用され得、これには、例えば、頬粘膜細胞が挙げられる。

【0285】

特定の実施形態において、損傷の検出は、ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)におけるプローブ/プライマーの使用を包含する(例えば、米国特許第4,683,195号および同4,683,202号を参照のこと)(例えば、アンカーPCRまたはRACE PCR)あるいは、連結連鎖反応(LCR)(例えば、Landegranら(1988) *Science* 241:1077-1080; およびNakazawaら(1994) *PNAS* 91:360-364)を参照のこと。後者は、MBSPXの遺伝子における点変異を検出するために特に有用であり得る)(Abravayaら(1995) *Nucl Acids Res* 23:675-682を参照のこと)。この方法は、患者から細胞のサンプルを収集する工程、核酸(例えば、ゲノム、mRNAまたはその両方)をそのサンプルの細胞から単離する工程、MBSPX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MBSPXの遺伝子のハ

ハイブリダイゼーションおよび増幅が（存在する場合）生じるような条件下で、接触させる工程、ならびに増幅産物の存在もしくは非存在を検出する工程、またはその増幅産物の大きさを検出する工程およびその大きさをコントロールサンプルと比較する工程を包含し得る。PCRおよび/またはLCRは、本明細書に記載される変異を検出するために使用される技術のいずれかとともに予備的増幅工程として使用されるために所望され得ることが予想される。

【0286】

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

【0287】

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

【0288】

他の実施形態において、MBSPXにおける遺伝的変異は、サンプル核酸およびコントロール核酸（例えば、DNAまたはRNA）を、数百または数千のオリゴヌクレオチドプローブを含む高密度アレイに対してハイブリダイズさせること

によって同定され得る (Croninら (1996) Human Mutation 7:244-255; Kozalら (1996) Nature Medicine 2:753-759)。例えば、MBSPXにおける遺伝的変異は、Croninら、上記のように光生成DNAプローブを含む二次元アレイにおいて同定され得る。手短には、第一のプローブハイブリダイゼーションアレイを用いて、サンプルおよびコントロールにおける長いストレッチのDNAを通じて走査して、連続的に重複するプローブの線形アレイを作製することによってその配列の間の塩基変化を同定し得る。この工程は、点変異の同定を可能にする。この工程に続いて、検出される全ての改変体または変異体に相補的な、より小さな特化されたプローブアレイを用いて、特定の変異の特徴付けを可能にする第二のハイブリダイゼーションアレイがある。各変異アレイは、一方が野生型遺伝子に対して相補的であり、そして他方が変異遺伝子に対して相補である並行プローブセットから構成される。

【0289】

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、MBSPX遺伝子を直接配列決定し得、そしてサンプルのMBSPX配列と対応する野生型(コントロール)配列とを比較することによって、変異を検出し得る。配列決定反応の例としては、MaximおよびGilbert (1977) PNAS 74:560またはSanger (1977) PNAS 74:5463によって開発された技術に基づくものが挙げられる。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 (Naeverら、(1995) BioTechniques 19:448)。これらには、質量分析法による配列決定法(例えば、PCT国際公開番号WO 94/16101; Cohenら (1996) Adv Chromatogr 36:127-162; およびGriffinら (1993) Appl Biochem Biotechnol 38:147-159を参照のこと)が含まれる。

【0290】

MBSPX遺伝子における変異を検出するための他の方法としては、切断薬剤

からの保護を使用して、RNA/RNAもしくはRNA/DNAのヘテロ二重鎖におけるミスマッチ塩基を検出する方法が挙げられる(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MBSPX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。次いで、そのミスマッチ領域の消化後、得られた材料を変性ポリアクリルアミドゲル上で、大きさで分離して、変異の部位を決定する。例えば、Cottonら(1988) Proc Natl Acad Sci USA 85:4397; Saleebaら(1992) Methods Enzymol 217:286-295を参照のこと。1つの実施形態において、コントロールのDNAまたはRNAは、検出のために標識され得る。

【0291】

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MBSPX 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、MBSPX配列(例えば、野生型MBSPX配列)に基づくプローブは、試験細胞由来のcDNAまたは他のDNA産

物にハイブリダイズされる。二重鎖は、DNAミスマッチ修復酵素を用いて処理され、そしてその切断産物（もしあれば）は、電気泳動プロトコルなどから検出され得る。例えば、米国特許第5,459,039号を参照のこと。

【0292】

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

【0293】

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（Myersら（1985）Nature 313:495）。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（R

osenbaumおよびReissner(1987)Biophys Chem 265:12753)。

【0294】

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(Saikiら(1986)Nature 324:163); Saikiら(1989)Proc Natl Acad Sci USA 86:6230)。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が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。

【0295】

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、変異の領域において新規な制限部位を導入することは、切断に基づく検出を行うために望ましくあり得る(Gaspariniら(1992)Mol Cell Probes 6:1)。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(Barany(1991)Proc Natl Acad Sci USA 88:189)。このような場合において、連結は、5'配列の3'末端に完全なマッチが存在する場合にのみ生じ、増幅の存在または非存在

を探索することによって、特定の部位で既知の変異の存在を検出することを可能にする。

【0296】

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、MBSPX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。

【0297】

さらに、MBSPX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。

【0298】

（薬理ゲノム学（Pharmacogenomics））

MBSPX活性（例えば、MBSPX遺伝子発現）に対する刺激性または阻害性の影響を有する因子、すなわちモジュレーターは、本明細書中に記載されるスクリーニングアッセイによって同定されるように、異常なMBSPX活性に関連する障害（例えば、癌または免疫障害、神経障害、筋ジストロフィー、または表皮水疱症）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、MBSPXタンパク質の活性、MBSPX核酸の発現、あるいは個体におけるMBSPX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。

【0299】

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

【0300】

例示的な実施形態として、薬物代謝酵素の活性は、薬物作用の強度および期間の両方の主要な決定因子である。薬物代謝酵素(例えば、N-アセチルトランスフェラーゼ2(NAT2)およびシトクロムP450酵素CYP2D6およびCYP2C19)の遺伝的多型の発見は、幾人かの患者が予期される薬物効果を得ないか、または薬物の標準的かつ安全な用量を摂取した後に過大な薬物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))で発現される。PMの罹患率は、異なる集団の間で異なる。例えば、CYP2D6をコードする遺伝子は高度に多型であり、そしていくらかの変異がPMにおいて同定されており、この全ては機能的CYP2D6の非存在に至る。CYP2D6およびCYP2C19の低い代謝能を持つ人は、彼らが標準的な用量を受けるときに、かなり頻繁に過大な薬物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。

【0301】

従って、MBSPXのタンパク質の活性、MBSPXの核酸の発現、あるいは個体におけるMBSPXの遺伝子の変異内容を決定されて、それによって、その個体の治療的または予防的処置のために適切な薬剤を選択し得る。さらに、薬理ゲノム学の研究を使用して、個体の薬物応答性の表現型の同定に対して薬物代謝酵素をコードする多型対立遺伝子の遺伝子型を適用し得る。この知見は、用量または薬物選択に適用される場合、有害な反応または治療の失敗を回避し得、従って、被験体をMBSPX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。

【0302】

（臨床試験の間の効果のモニタリング）

MBSPX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においてのみならず、臨床試験においてもまた適用され得る。例えば、本明細書中に記載されるようなスクリーニングアッセイによって決定される薬剤が、MBSPXの遺伝子発現、タンパク質レベルを増加するため、またはMBSPX活性をアップレギュレートする効力を、減少したMBSPX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MBSPXの活性を示す被験体の臨床試験においてモニターし得る。あるいは、スクリーニングアッセイによって決定される薬剤が、MBSPXの遺伝子発現、タンパク質レベルを減少、またはMBSPXの活性をダウンレギュレートする効力を、増加したMBSPX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MBSPXの活性を示す被験体の臨床試験においてモニターし得

る。このような臨床試験において、MBSPXの発現または活性、および好ましくは、例えば、細胞性増殖障害に関与した他の遺伝子が、「リードアウト（読み出し）（read out）」、すなわち、特定の細胞の免疫応答のマーカースとして使用され得る。

【0303】

例えば、限定の目的ではないが、MBSPXを含む遺伝子（これは、MBSPX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MBSPX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MBSPX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。

【0304】

1つの実施形態において、本発明は、薬剤（例えば、アゴニスト、アンタゴニスト、タンパク質、ペプチド、ペプチド模倣物、核酸、低分子、または本明細書中に記載されるスクリーニングアッセイによって同定される他の薬物候補物）を用いる、被験体の処置の効力をモニタリングするための方法を提供し、これは、以下の工程を包含する：（i）薬剤の投与前に、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、MBSPX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

において、MBSPX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MBSPX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MBSPX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MBSPXの発現または活性を増加するために(すなわち、この薬剤の効力を増加するために)望ましくあり得る。あるいは、この薬剤の減少した投与は、検出されるよりも低いレベルにMBSPXの発現または活性を減少するために(すなわち、この薬剤の効力を減少するために)望ましくあり得る。

【0305】

(処置の方法)

本発明は、異常なMBSPX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。

【0306】

(障害)

(その疾患または障害に罹患していない被験体と比較して)増加したレベルまたは生物学的活性によって特徴付けられる疾患および障害は、活性を拮抗する(すなわち、低減または阻害する)治療剤を用いて処置され得る。活性を拮抗する治療剤は、治療的または予防的な様式で、投与され得る。利用され得る治療剤としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：(i)上記ペプチド、またはそのアナログ、誘導体、フラグメントもしくはホモログ；(ii)上記ペプチドに対する抗体；(iii)上記ペプチドをコードする核酸；(iv)アンチセンス核酸および「機能不全性」である(すなわち、上記ペプチドに対するコード配列のコード配列内の異種挿入に起因する)核酸の投与が、相同組換えによって上記ペプチドの内因性機能を「ロックアウトする」ために利用される(例えば、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)) 。

【0307】

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

【0308】

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) 。

【0309】

(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 M B S P X の発現または活性と関連する疾患または状態を、M B S P X の発現または少なくとも 1 つの M B S P X 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MBSPX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MBSPX異常の特徴である症状の発現の前に行い得る。このMBSPX異常の型に依存して、例えば、MBSPXアゴニスト薬剤またはMBSPX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。

【0310】

(治療方法)

本発明の別の局面は、治療目的のためにMBSPX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MBSPX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。MBSPX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、MBSPXタンパク質の天然に存在する同族リガンド、ペプチド、MBSPX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、MBSPX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MBSPXタンパク質、およびその細胞に導入されたMBSPX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、MBSPX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MBSPX核酸分子、および抗MBSPX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、MBSPX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、MBS

P X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、M B S P X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、M B S P X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。

【0311】

M B S P X活性の刺激は、M B S P 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M B S P 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）を有する場合である。このような状況の別の例は、被験体が妊娠疾患（例えば、プレクランプシア（*preclampsia*））を有する場合である。

【0312】

本発明は、本明細書に記載される特定の実施形態によって、範囲が限定されることはない。実際、本明細書において記載されたものに加えて、本発明の種々の改変が、上記の記載および添付の図面から、当業者に明らかとなる。そのような改変は、添付の特許請求の範囲の範囲内にあることが意図される。

【0313】

本発明はさらに、以下の実施例によって例示されるが、これらは、限定として解釈されるべきではない。本出願を通じて引用される全ての参考文献、特許および公開された特許出願の内容が、本明細書によって参考として援用される。

【0314】

（疾患経路）

（治療剤の生物学的効果の決定）

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

【0315】

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發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。

【0316】

(悪性疾患)

前述のタンパク質は、細胞増殖の調節に關与する。従って、本発明の治療剤は、細胞の過剰増殖および/または細胞増殖の制御の欠損(例えば、癌、悪性疾患および腫瘍)に關連する疾患または障害の治療的処置または予防的処置において有用である。そのような過剰増殖障害の総説について、例えば、Fishmanら、1985、MEDICINE、第2版、J.B.Lippincott Co.、Philadelphia、PAを参照のこと。

【0317】

本発明の治療剤を、悪性疾患および關連する障害の処置または予防における効力について、当該分野内において公知の任意の方法によってアッセイし得る。そのようなアッセイとしては、形質転換された細胞または患者の腫瘍由来の細胞を利用するインビトロアッセイ、ならびに癌または悪性疾患の動物モデルを使用するインビボアッセイが挙げられるが、これらに限定されない。可能性のある有効な治療剤は、例えば、コントロールと比較して、培養物中での腫瘍由来細胞または形質転換細胞の増殖を阻害するか、または動物モデルにおいて腫瘍の後退を生じる治療剤である。

【0318】

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

または予防され得る。

【0319】

(前悪性状態)

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

【0320】

過形成は、細胞の構造または機能における有意な変化なしに、組織または器官における細胞数の増加を含む、制御された細胞の増殖の形態である。例えば、子宮内膜の過形成は、しばしば子宮内膜癌に進行することが実証されている。化生は、成熟した細胞または十分に分化した細胞の1つの型が、成熟した細胞の別の型に置換する、制御された細胞増殖の形態である。化生は、上皮組織細胞または結合組織細胞において生じ得る。異形成は、一般に癌の前駆体であると考えられ、そして上皮において主に見出される。異形成は、非新生物細胞増殖の最も無秩序な形態であり、個々の細胞の均一性および細胞の構築上の配向の損失を含む。異形成は、慢性の刺激または炎症が存在する場所で特徴的に生じ、そしてしばしば、頸部、気道、口腔、および胆嚢において見出される。

【0321】

あるいは、または過形成、化生、または異形成として特徴付けられる異常な細胞増殖の存在に加えて、患者由来の細胞サンプル内で、インビボまたはインビトロのいずれかにおいて示される形質転換表現型または悪性疾患表現型の1つ以上の特徴の存在が、上記のタンパク質の活性を調節する能力を有する治療剤の予防的/治療的投与の望ましさの指標である。形質転換された表現型の特徴としては

、以下が挙げられるが、これらに限定されない：(i)形態学的変化；(ii)よりゆるい、下層への付着；(iii)細胞間接触阻止の喪失；(iv)足場依存性の喪失；(v)プロテアーゼ放出；(vi)増加した糖輸送；(vii)減少した血清要求性；(viii)胎児抗原の発現；(ix)250kDa細胞表面タンパク質の消滅など。例えば、Richardsら1986、MOLECULAR PATHOLOGY、W.B.Saunders Co、Philadelphia、PAを参照のこと。

【0322】

本発明の特定の実施形態において、悪性疾患についての以下の1つ以上の素因を示す患者が、治療剤の有効量の投与によって処置される：(i)悪性疾患に関連する染色体転座（例えば、慢性骨髄性白血病についてのフィラデルフィア染色体(bcr/abl)および濾胞性リンパ腫についてのt(14;18)など）；(ii)家族性ポリープ症またはガードナー症候群（結腸癌の可能性のある前兆）；(iii)未確認の重要性の単クローン性高ガンマグロブリン血症（多発性骨髄腫の可能性のある前駆体）；ならびに(iv)メンデル（遺伝子）遺伝パターンを示す癌または前癌疾患（例えば、結腸の家族性ポリープ症、ガードナー症候群、遺伝性外骨腫症、多発性内分泌腺腫症(polyendocrine adenomatosis)、ポイツ-ジェガーズ症候群、フォン・レックリングハウゼン病の神経線維腫症、アミロイド産生および褐色細胞腫をともなう甲状腺髄様癌(medullary thyroid carcinoma)、網膜芽細胞腫、頸動脈小体腫瘍、皮膚の黒色癌、眼内の黒色癌、色素性乾皮症、毛細血管拡張性運動失調、チェディアック-東症候群、白子症、ファンコーニ再生不良性貧血およびブルーム症候群)を有する人の一親等。

【0323】

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

【0324】

(過剰増殖性障害および異常増殖性(dysproliferative)障害)

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

【0325】

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

【0326】

（神経変性障害）

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

を減少する。

【0327】

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

【0328】

（器官移植に關連する障害）

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

【0329】

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

【0330】

（心臓血管疾患）

MBSPXは、アテローム性動脈硬化症のプラーク形成を含む、心臓血管障害に關係し得る。心臓血管疾患（脳血栓症または脳出血を含む）、虚血性心疾患または虚血性腎疾患、末梢血管疾患、または他の主要な血管の血栓症、および他の疾患（真性糖尿病、高血圧、甲状腺機能不全、コレステロールエステル貯蔵病、

全身性エリテマトーデス、ホモシステイン症 (homocysteinemia)、および家族性のタンパク質または脂質プロセシング疾患などを含む) のような疾患は、アテローム性動脈硬化症に直接的または間接的のいずれかで関連する。従って、本発明の治療剤 (特に、活性または形成を調節 (または供給) する治療剤) は、アテローム性動脈硬化症に関連する疾患または障害の処置または予防に有効であり得る。本発明の治療剤 (特に、レベルまたは活性を調節する治療剤) は、このような疾患および障害の処置または予防における効力について、当該分野で公知の任意の方法 (以下に記載の方法を含む) によってアッセイされ得る。

【0331】

広範な動物モデルおよび細胞培養モデルが、アテローム性動脈硬化症に関与するプロセスについて存在する。動物モデルの限定的かつ非排他的な列挙としては、以下が挙げられる：早発性アテローム性動脈硬化症についてのノックアウトマウス (Kurabayashi および Yazaki, 1996, Int. Angiol. 15: 187 - 194)、アテローム動脈硬化症のトランスジェニックマウスモデル (Kappelら, 1994, FASEB J. 8: 583 - 592)、動物モデルのアンチセンスオリゴヌクレオチド処置 (Callow, 1995, Curr. Opin. Cardiol. 10: 569 - 576)、アテローム性動脈硬化症についてのトランスジェニックウサギモデル (Taylor, 1997, Ann. N. Y. Acad. Sci. 811: 146 - 152)、高コレステロール血症動物モデル (Rosenfeld, 1996, Diabetes Res. Clin. Pract. 30 (補遺): 1 - 11)、高脂血症マウス (Paigenら, 1994, Curr. Opin. Lipidol. 5: 258 - 264)、および動物におけるリポキシゲナーゼの阻害 (Sigalら, 1994, Ann. N. Y. Acad. Sci. 714: 211 - 224)。さらに、インビトロ細胞モデルとしては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：低密度リポタンパク質に曝露された単球 (Frostedgardら, 1996, Atherosclerosis 121: 93 - 103)、クローン化された血管平滑筋細胞 (Suttlesら, 1995, Exp. Cell R

es. 218:331-338)、内皮細胞由来の化学誘引物質に曝されたT細胞(Katzら、1994、J. Leukoc. Biol. 55:567-573)、培養されたヒト大動脈内皮細胞(Farberら、1992、Am. J. Physiol. 262:H1088-1085)、および泡沫細胞培養物(Libbyら、1996、Curr Opin Lipidol 7:330-335)。潜在的に効果的な治療剤は、例えば、限定されないが、コントロールに対して比較して、細胞培養モデルにおいて泡沫細胞形成を減少するか、またはアテローム性動脈硬化症の高コレステロール血症マウスモデルにおいてアテローム性動脈硬化症のプラーク形成を減少する。

【0332】

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

【0333】

(サイトカインおよび細胞増殖/分化活性)

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

【0334】

本発明のタンパク質の活性は、数ある方法でもとりわけ、以下の方法によって

測定され得る：以下に記載されるアッセイを含むが、これらに限定されない、T細胞増殖または胸腺細胞増殖についてのアッセイ：Current Protocols in Immunology, Coliganら編、Greene Publishing Associates and Wiley-Interscience (第3章および第7章)；Takaiら、J Immunol 137:3494-3500、1986；Bertagnoliら、J Immunol 145:1706-1712、1990；Bertagnoliら、Cell Immunol 133:327-341、1991；Bertagnoliら、J Immunol 149:3778-3783、1992；Bowmanら、J Immunol 152:1756-1761、1994。

【0335】

脾細胞、リンパ節細胞または胸腺細胞のサイトカイン産生および/または増殖についてのアッセイとしては、KruisbeekおよびShevach：Current Protocols in Immunology. Coliganら編、第1巻、3.12.1-14頁、John Wiley and Sons, Toronto 1994；およびSchreiber：Current Protocols in Immunology. Coliganら編、第1巻、6.8.1-8頁、John Wiley and Sons, Toronto 1994に記載のアッセイが挙げられるが、これらに限定されない。

【0336】

造血細胞およびリンパ球産生細胞の増殖および分化についてのアッセイとしては、以下によって記載されるアッセイが挙げられるが、これに限定されない：Bottomlyら：Current Protocols in Immunology. Coliganら編、第1巻、6.3.1-6.3.12頁、John Wiley and Sons, Toronto 1991；deVriesら、J Exp Med 173:1205-1211、1991；Moreauら、Nature 336:690-692、1988；Greenbergerら、Proc Natl Acad Sci U.S.A. 80:293

1-2938, 1983; Nordan: Current Protocols in Immunology. Coliganら編、第1巻、6.6.1-5頁、John Wiley and Sons, Toronto 1991; Smithら、Proc Natl Acad Sci U.S.A. 83:1857-1861, 1986; Measurement of human Interleukin 11 - Bennettら: Current Protocols in Immunology. Coliganら編、第1巻、6.15.1頁、John Wiley and Sons, Toronto 1991; Ciarlettaら: Current Protocols in Immunology. Coliganら編、第1巻、6.13.1頁、John Wiley and Sons, Toronto 1991。

【0337】

抗原に対するT細胞クローン応答についてのアッセイ(とりわけ、増殖およびサイトカイン産生を測定することによって、APC-T細胞相互作用に影響し、そしてT細胞の効果を指向するタンパク質を同定する)としては、以下に記載されるアッセイが挙げられるが、これらに限定されない: Current Protocols in Immunology. Coliganら編、Green Publishing Associates and Wiley-Interscience(第3章、第6章および第7章); Weinbergerら、Proc Natl Acad Sci USA 77:6091-6095, 1980; Weinbergerら、Eur J Immun 11:405-411, 1981; Takaiら、J Immunol 137:3494-3500, 1986; Takaiら、J Immunol 140:508-512, 1988。

【0338】

(免疫刺激活性または免疫抑制活性)

本発明のMBSPXタンパク質はまた、免疫刺激活性または免疫抑制活性(アッセイが本明細書中に記載される活性を含むが、これらに限定されない)を示し得る。タンパク質は、種々の免疫不全および免疫障害(重症複合型免疫不全(S

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

【 0 3 3 9 】

本発明のタンパク質を使用して処置され得る自己免疫障害としては、例 えば、以下が挙げられる : 結合組織疾患、多発性硬化症、全身性エリテマトーデス、慢性関節リウマチ、自己免疫性肺炎、ギヤン - バレー症候群、自己免疫性甲状腺炎、インスリン依存性真性糖尿病、重症筋無力症、対宿主性移植片病および自己免疫性炎症性眼疾患。本発明のこのようなタンパク質はまた、喘息 (特に、アレルギー性喘息) または他の呼吸系障害のような、アレルギー反応およびアレルギー状態の処置に有用であり得る。免疫抑制が所望される他の状態 (例 えば、器官移植を含む) もまた、本発明のタンパク質を使用して処置可能であり得る。

【 0 3 4 0 】

本発明のタンパク質を使用して、多くの方法で、免疫応答することが可能であり得る。下方調節は、すでに進行中の免疫応答を阻害もしくはブロックする形態であり得るか、または免疫応答の誘導を妨げることを含み得る。活性化 T 細胞の機能は、 T 細胞応答を抑制することによってか、または T 細胞における特異的寛容を誘導することによってか、あるいはその両方によって阻害され得る。 T 細胞応答の免疫抑制は、一般に、抑制剤に対する T 細胞の連続的曝露を必要とする、能動的な非抗原特異的プロセスである。寛容 (T 細胞における非応答性またはア

エネルギー (energy) を誘導することを含む) は、一般的に抗原特異的であり、そして寛容化剤に対する曝露が停止した後も持続するという点で免疫抑制と識別可能である。操作的には、寛容は、寛容化剤の非存在下における特異的抗原に対する再曝露の際に、T細胞応答の欠如によって実証され得る。

【0341】

1以上の抗原機能を(Bリンパ球抗原機能(例えば、B7のような)を含むが、限定されない)を下方調節するか、または妨げること(例えば、活性化T細胞による高レベルのリンホカイン合成を妨げること)は、組織、皮膚および器官の移植の状況、ならびに対宿主性移植片病(GVHD)において有用である。例えば、T細胞機能のブロックは、組織移植における組織破壊の減少を生じるはずである。代表的に、組織移植において、移植片の拒絶は、T細胞によるその外来としての認識、それに続く移植片を破壊する免疫反応を介して開始される。移植前に免疫細胞上でB7リンパ球抗原のその天然のリガンドとの相互作用を阻害またはブロックする分子(例えば、B7-2活性を有するペプチドの可溶性モノマー形態単独、あるいは別のBリンパ球抗原(例えば、B7-1、B7-3)またはブロッキング抗体の活性を有するペプチドのモノマー形態との組み合わせ)の投与は、対応する同時刺激シグナルの移行を伴わずに、免疫細胞上でその分子の天然のリガンドへの結合を導き得る。このような形態でBリンパ球抗原機能をブロックすることは、免疫細胞(例えば、T細胞)によるサイトカイン合成を妨げ、従って、免疫抑制剤として作用する。さらに、同時刺激の欠如はまた、T細胞を活性化して、それによって被験体において寛容を誘導するのに十分であり得る。Bリンパ球抗原ブロッキング試薬による長期の寛容の誘導は、これらのブロッキング試薬の繰り返しの投与の必要性を回避し得る。被験体において十分な免疫抑制または寛容を達成するために、Bリンパ球抗原の機能をブロックすることも必要であり得る。

【0342】

器官移植片拒絶またはGVHDの予防における特定のブロッキング試薬の効力は、ヒトにおける効力を予測する動物モデルを使用して評価され得る。使用され得る適切な系の例としては、ラットにおける同種異系の心臓移植片およびマウス

における異種膵臓島細胞移植片が挙げられ、その両方は、Lenschowら、*Science* 257:789-792(1992)およびTurkaraら、*Proc Natl Acad Sci USA*, 89:11102-11105(1992)に記載されるようなインビボでのCTLA4Ig融合タンパク質の免疫抑制効果を試験するために使用されている。さらに、GVDHのマウスモデル(Paul編、*Fundamental Immunology*, Raven Press, New York, 1989, 846~847頁を参照のこと)は、その疾患の発症に対する、インビボでのBリンパ球抗原機能のブロックの効果を決定するために使用され得る。

【0343】

ブロッキング抗原機能はまた、自己免疫疾患の処置に治療的に有用であり得る。多くの自己免疫疾患は、自己組織に対して反応性であり、そしてその疾患の病理に関係するサイトカインおよび自己抗体の産生を促進する、T細胞の不適切な活性化の結果である。自己反応性T細胞の活性化の予防は、疾患の症状を軽減し得るか、または排除し得る。Bリンパ球抗原のレセプター：リガンド相互作用を破壊することによってT細胞の同時刺激をブロックする試薬の投与は、T細胞の活性化を阻害し、そしてその疾患プロセスに関係し得る自己抗体またはT細胞誘導性サイトカインの産生を妨げるために使用され得る。さらに、ブロッキング試薬は、疾患の長期の軽減を導き得る自己反応性T細胞の抗原特異的寛容を誘導し得る。自己免疫障害の予防または軽減におけるブロッキング試薬の効力は、ヒト自己免疫疾患のよく特徴付けられた多くの動物モデルを使用して決定され得る。例としては、マウス実験用自己免疫脳炎、MRL/lpr/lprマウスまたはNZBハイブリッドマウスにおける全身性エリテマトーデス、マウス自己免疫コラーゲン関節炎、NODマウスおよびBBラットにおける真性糖尿病、ならびにマウス実験用重症筋無力症が挙げられる(Paul編、*Fundamental Immunology*, Raven Press, New York, 1989, 840~856頁を参照のこと)。

【0344】

免疫応答を上方調節する手段として、抗原機能(好ましくは、Bリンパ球抗原

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

【0345】

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

【0346】

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

面上にペプチドの発現を生じる。あるいは、遺伝子治療技法を用いて、インビボのトランスフェクションのために腫瘍細胞を標的化し得る。

【0347】

腫瘍細胞の表面上のB細胞リンパ球抗原の活性を有する本発明のペプチドの存在は、T細胞に対して必要な同時刺激シグナルを提供し、トランスフェクトされた腫瘍細胞に対するT細胞媒介免疫応答を誘導する。さらに、MHCクラスIまたはMHCクラスII分子を欠くか、または十分な量のMHCクラスIまたはMHCクラスII分子を再発現しない腫瘍細胞は、MHCクラスI鎖タンパク質および β_2 マイクログロブリンタンパク質、またはMHCクラスII鎖タンパク質およびMHCクラスII鎖タンパク質のすべてまたは一部(例えば、細胞質-ドメイン短縮化部分)をコードする核酸でトランスフェクトされ得、それによって細胞表面上にMHCクラスIまたはMHCクラスIIタンパク質を発現する。Bリンパ球抗原(例えば、B7-1、B7-2、B7-3)の活性を有するペプチドと組み合わせた適切なクラスIまたはクラスII MHCの発現は、トランスフェクトされた腫瘍細胞に対するT細胞媒介性免疫応答を誘導する。必要に応じて、不変鎖(invariant chain)のようなMHCクラスII関連タンパク質の発現をブロックするアンチセンス構築物をコードする遺伝子もまた、Bリンパ球抗原の活性を有するペプチドをコードするDNAで同時トランスフェクトされ得、腫瘍関連抗原の提示を促進し、そして腫瘍特異的免疫を誘導する。従って、ヒト被験体におけるT細胞媒介免疫応答の誘導は、被験体における腫瘍特異的寛容を十分に克服し得る。

【0348】

本発明のタンパク質の活性は、とりわけ、以下の方法により測定され得る：CURRENT PROTOCOLS IN IMMUNOLOGY. Coliganら編、Greene Publishing Associates and Wiley-Interscience(第3章、第7章)；Herrmannら、Proc Natl Acad Sci USA 78:2488-2492、1981；Herrmannら、J Immunol 128:1968-1974、1982；Handaら、J Immunol 135:156

4-1572、1985; Takaiら、J Immunol 137:349
 4-3500、1986; Takaiら、J Immunol 140:508
 -512、1988; Herrmannら、Proc Natl Acad Sci USA 78:2488-2492、1981; Herrmannら、J
 Immunol 128:1968-1974、1982; Handaら、J
 Immunol 135:1564-1572、1985; Takaiら、J
 Immunol 137:3494-3500、1986; Bowmanら、
 J Virology 61:1992-1998; Takaiら、J Imm
 unol 140:508-512、1988; Bertagnolliら、C
 ell Immunol 133:327-341、1991; Brownら、
 J Immunol 153:3079-3092、1994に記載のアッセイ
 が挙げられるがこれらに限定されない、胸腺細胞または脾細胞の細胞傷害性のた
 めの適切なアッセイ。

【0349】

T細胞依存性免疫グロブリン応答およびアイソタイプスイッチングのための（
 特に、T細胞依存性抗体応答を調節し、しかもTh1/Th2プロフィールに影響するタンパク質を同定する）アッセイとしては、Maliszewski、J
 Immunol 144:3028-3033、1990; ならびにMond
 およびBrunswick、CURRENT PROTOCOLS IN IM
 MUNOLOGY、Coliganら編、第1巻、3.8.1.-3.8.16
 、John Wiley and Sons、Toronto 1994に記載
 のようなアッセイが挙げられるがこれらに限定されない。

【0350】

混合リンパ球反応（MLR）アッセイ（特に、優先的にTh1およびCTL応
 答を生成するタンパク質を同定するアッセイ）としては、CURRENT PR
 OTOCOLS IN IMMUNOLOGY、Coliganら編、Gree
 ne Publishing Associates and Wiley-I
 nterscience（第3章、第7章）; Takaiら、J Immuno
 l 137:3494-3500、1986; Takaiら、J Immuno

l 140:508-512、1988; Bertagnolliら、J Immunol 149:3778-3783、1992に記載のアッセイが挙げられるがこれらに限定されない。

【0351】

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

【0352】

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

【0353】

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

【0354】

(造血調節活性)

本発明のMBSPXタンパク質は、造血の調節において、そして結果として骨髄細胞不全またはリンパ球細胞不全の処置において有用であり得る。コロニー形成性細胞または因子依存性細胞株を支援する周縁の生物学的活性でさえ、造血を調節することにおける、例えば、単独またはその他のサイトカインとの組み合わせで、赤血球系前駆体細胞の成長および増殖を支援することにおける関与を示し、それによって、例えば、種々の貧血を処置することにおけるか、または赤血球系前駆体細胞および/または赤血球細胞の産生を刺激するための照射/化学的療法と組み合わせた使用のための有用性; 例えば、結果として骨髄抑制を防ぐかまたは処置するための化学的療法と組み合わせて有用な、骨髄細胞(例えば、顆粒球および単球/マクロファージ)の成長および増殖を支持する(すなわち伝統的なCSF活性)ことにおける有用性; 巨核球そして結果として血小板の成長および増殖を支持し、それによって血小板減少症のような種々の血小板障害の予防または処置を可能にすること、そして一般に、血小板輸血に代わる使用か、またはそれへの優待のための有用性; および/または上記の任意および全ての造血幹細胞に成熟し得、そしてそれ故、種々の幹細胞障害(再生不良性貧血および発作性夜行性ヘモグロビン尿を含むがこれらに限定されない、通常、移植で処置されるような障害)における治療有用性を見出す、造血幹細胞の成長および増殖を支持することにおける有用性、ならびに正常細胞または遺伝子治療のために遺伝子操作された細胞として、インビボまたはエキソビボ(すなわち、骨髄移植または末梢前駆体細胞移植(同種または異種)と組み合わせた)のいずれかで、照射/化学的療法後に幹細胞区画を再増殖させることにおける有用性を示す。

【0355】

本発明のタンパク質の活性は、特に、以下の方法により測定され得る：
種々の造血株の増殖および分化の適切なアッセイは上記で引用される。

【0356】

胚性幹細胞分化のアッセイ（特に、胚分化造血に影響するタンパク質を同定するアッセイ）は、制限されずに：Johanssonら、Cell Biol 15:141-151、1995；Kellerら、Molecular Cellular Biology 13:473-486、1993；McClanahanら、Blood 81:2903-2915、1993に記載のアッセイを含む。

【0357】

幹細胞生存および分化のアッセイ（特にリンパ-造血を調節するタンパク質を同定するアッセイ）は、制限されずに：メチルセルロースコロニー形成アッセイ、CULTURE OF HEMATOPOIETIC CELLS. Freshneyら、編、Vol 265-268頁、Wiley-Liss, Inc. New York, N.Y 1994における、Freshney, M.G.；Hirayamaら、Proc Natl Acad Sci USA 89:5907-5911、1992；CULTURE OF HEMATOPOIETIC CELLS. Freshneyら、編、Vol 23-39頁、Wiley-Liss, Inc. New York, N.Y 1994における、McNieceおよびBridgeli；Nebenら、Exp Hematol 22:353-359、1994；CULTURE OF HEMATOPOIETIC CELLS. Freshneyら、編、Vol 1-21頁、Wiley-Liss, Inc. New York, N.Y 1994における、Plösch；CULTURE OF HEMATOPOIETIC CELLS. Freshneyら、編、Vol 163-179頁、Wiley-Liss, Inc. New York, N.Y 1994における、Sponceretら；CULTURE OF HEMATOPOIETIC CELLS. Freshneyら、編、Vol 139-162頁、Wiley-Liss

, Inc. New York, N. Y 1994における、Sutherland、に記載のアッセイを含む。

【0358】

(組織増殖活性)

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

【0359】

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

【0360】

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

【0361】

本発明のタンパク質に寄与し得る組織再生活性の別のカテゴリーは、腱/靭帯形成である。このような組織が通常形成されない状況で、腱/靭帯様組織またはその他の組織形成を誘導する本発明のタンパク質は、ヒトおよびその他の動物における、腱または靭帯断裂、変形およびその他の腱または靭帯欠陥の治癒におけ

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

【0362】

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

【0363】

本発明のタンパク質はまた、圧迫性潰瘍、血管不全に関連する潰瘍、手術または外傷創傷などを含むがこれらに限定されない非治癒創傷のより良好な、または

より迅速な閉鎖を促進するために有用であり得る。

【0364】

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

【0365】

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

【0366】

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

【0367】

本発明のタンパク質の活性は、とりわけ、以下の方法により測定され得る：

組織生成活性のためのアッセイとしては、以下が挙げられるがこれらに限定されない：国際特許公開番号WO95/16035（骨、軟骨、腱）；国際特許公開番号WO95/05846（神経、ニューロン）；国際特許公開番号WO91/07491（皮膚、内皮）に記載されるアッセイ。

【0368】

創傷治癒活性のためのアッセイとしては、以下が挙げられるがこれらに限定されない：Eaglst einおよびMenz、J. Invest. Dermatol 71:382-84(1978)によって改変されるような、Winter、Epidermal Wound Healing、71-112頁(Maibach, H. I. およびRovee, D. T. 編)、Year Book Medical Publishers, Inc., Chicagoに記載のア

ッセイ。

【0369】

(アクチビン/インヒビン活性)

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

【0370】

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

【0371】

(走化性/ケモキネシス活性)

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

【0372】

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

【0373】

本発明のタンパク質の活性は、とりわけ、以下の方法によって測定され得る。

【0374】

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

Immunol 25:1744~1748; Gruber et al., J Immunol 152:5860~5867, 1994; Johnston et al., J Immunol 153:1762~1768, 1994。

【0375】

(止血活性および血栓崩壊活性)

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

【0376】

本発明のタンパク質の活性は、とりわけ、以下の方法によって測定され得る：止血および血栓崩壊活性のアッセイとしては、以下に記載されるものが挙げられるが、これらに限定されない：Lin et al., J. Clin. Pharmacol. 26:131~140, 1986; Burdick et al., Thrombosis Res. 45:413~419, 1987; Humphrey et al., Fibrinolysis 5:71~79 (1991); Schaub, Prostaglandins 35:467~474, 1988。

【0377】

(レセプター/リガンド活性)

本発明のタンパク質はまた、レセプター、レセプターリガンドまたはレセプター/リガンド相互作用のインヒビターもしくはアゴニストとしての活性を実証し得る。そのようなレセプターおよびリガンドの例としては、以下が挙げられるがこれらに限定されない：サイトカインレセプターおよびそのリガンド、レセプターキナーゼおよびそのリガンド、レセプターホスファターゼおよびそのリガンド細胞間相互作用に關与するレセプターおよびそのリガンド(限定することなく、細胞接着分子(セレクチン、インテグリンおよびそのリガンド)、ならびに抗原

提示、抗原認識および細胞性免疫応答および液性免疫応答の発生に關与するレセプター/リガンド対を含む)。レセプターおよびリガンドはまた、關連するレセプター/リガンド相互作用の可能性のあるペプチドまたは低分子インヒビターのスクリーニングにおいて有用である。本發明のタンパク質(限定することなく、レセプターおよびリガンドのフラグメントを含む)が、それ自体で、レセプター/リガンド相互作用のインヒビターとして有用であり得る。

【0378】

本發明のタンパク質の活性は、とりわけ、以下の方法によって測定され得る：レセプター-リガンド活性の適切なアッセイとしては、限定することなく、以下に記載されるものが挙げられる：CURRENT PROTOCOLS IN IMMUNOLOGY、J. E. Coligan, A. M. Kruisbeek, D. H. Margulies, E. M. Shevach, W. Strober 編、Greene Publishing Associates and Wiley-Interscience (第7.28章、Measurement of Cellular Adhesion under static conditions 7.28.1-7.28.22)、Takaiら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84:6864~6868、1987; Biererら、J. Exp. Med. 168:1145~1156、1988; Rosensteinら、J. Exp. Med. 169:149~160 1989; Stoltenborgら、J. Immunol. Methods 175:59~68、1994; Stittら、Cell 80:661~670、1995。

【0379】

(抗炎症活性)

本發明のタンパク質はまた、抗炎症活性を示し得る。抗炎症活性は、炎症応答に關与する細胞に対する刺激を提供することによってか、細胞間相互作用(例えば、細胞接着)を阻害するかもしくは促進することによってか、炎症プロセスに關与する細胞の走化性を阻害するかもしくは促進することによってか、細胞の血管外遊出を阻害するかもしくは促進することによってか、あるいは炎症応答を直

接的により阻害するかもしくはより促進する他の因子の産生を刺激するかもしくは抑制することによって、達成され得る。そのような活性を示すタンパク質を使用して、炎症状態（慢性状態または急性状態を含む）（限定することなく、感染に関連する炎症（例えば、敗血症性ショック、敗血症または全身性炎症応答症候群（SIRS））、虚血 - 再灌流損傷、内毒素の致死性、関節炎、補体媒介性激症拒絶症、腎炎、サイトカイン誘導性胚損傷またはケモカイン誘導性肺損傷、炎症性腸疾患、クローン病、またはTNFもしくはIL-1のようなサイトカインの過剰産生より生じるものが挙げられる）を処置し得る。本発明のタンパク質はまた、抗原性物質または抗原性材料に対する、アナフィラキシーおよび過敏症の処置のためにも、有用であり得る。

【0380】

（腫瘍阻害活性）

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

【0381】

（他の活性）

本発明のタンパク質はまた、以下のさらなる活性または効果の1つ以上を示し得る：限定はされないが、細菌、ウイルス、真菌および他の寄生生物を含む感染因子の、増殖、感染または機能を阻害するか、あるいは死滅させること；身体的特徴（限定することなく身長、体重、髪の色、目の色、皮膚、脂肪対除脂肪比率、または他の組織色素沈着、あるいは器官または身体部分のサイズまたは形状（例えば、胸部増大または減少、骨の形態または形状の変化）など）を生じること（抑制することまたは増強すること）；バイオリズムあるいはサーカディアンサ

イクルまたはサーカディアンリズムを生じること；雄性被験体または雌性被験体の受胎能を生じること；食事脂肪、脂質、タンパク質、炭水化物、ビタミン、ミネラル、補因子または他の栄養因子もしくは栄養成分（単数または複数）の、代謝、異化作用、同化作用、プロセッシング、利用、貯蔵または除去を生じること；行動的特徴（食欲、性欲、ストレス、認識（認識障害を含む）、うつ病（抑うつ障害を含む）および狂暴症を含むが、これらに限定されない）を生じること；鎮痛性効果または他の疼痛減少効果を提供すること；造血系列以外の系列における胚性幹細胞の分化または増殖を促進すること；ホルモン活性または内分泌活性；酵素の場合、酵素の欠損を矯正すること、および欠損関連疾患を処置すること；過剰増殖障害（例えば、乾癬）の処置；免疫グロブリン様活性（例えば、抗原または補体に結合する能力など）；ならびにワクチン組成物において抗原として作用し、そのようなタンパク質または他の物質あるいはそのようなタンパク質と交差反応する実体に対する免疫応答を惹起する能力。

【0382】

（実施例）

（実施例1．10354784．0．335．S3347a（MBSP2の分子クローニング）

オリゴヌクレオチドプライマーを、残基26～653の細胞外10354784．0．335．S3347a成熟形態をコードするDNAセグメントをPCR増幅するために設計した。順方向プライマーとしては、インフレイムBg1HI制限部位を含み、そして逆方向プライマーは、インフレイムXhoI制限酵素部位を含む。プライマーの配列は、以下である：

10354784成熟形態： AGA TCT GAG GCT GCC C
GC ATC ATC TAC CCC CCA GAG（配列番号23）

10354784逆方向： CTC GAG GCG AGC CAC CA
T GGC CCC AGT GCC（配列番号24）

PCR反応を、50μl容量で、ヒト腎臓、下垂体および心臓組織由来の5ngのcDNAテンプレート、1μMの、10354784成熟形態（Mat F）プライマーおよび10354784逆方向（Rev）プライマー、5μMのd

NTP (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, Palo Alto CA) を使用して、設定した。以下の反応条件を、使用した：

- a) 96 3分
- b) 96 30秒変性
- c) 70 30秒、プライマーアニ - 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 - リング
- g) 72 3分伸長
- e ~ g を 25 回繰り返す
- h) 72 5分最終伸長

全ての3つの反応は、アガロースゲル電気泳動により検出される約 1 . 8 k b p の大きさの増幅された産物を生じた。この腎臓産物を単離し、そして pCR2 . 1 ベクター (Invitrogen Corp.、Carlsbad) に連結し、そしてベクター特異的プライマーおよび以下の遺伝子特異的プライマーを使用して配列決定した：

1 0 3 5 4 7 8 4 S1 : T C C G T G C T G T G G C T G A G
G (配列番号 25)、

1 0 3 5 4 7 8 4 S2 : C C T C A G C C A C A G C A C G G
A (配列番号 26)、

1 0 3 5 4 7 8 4 S3 : A C C T C C A A G A C A G A C T C
A T A T (配列番号 27)、

1 0 3 5 4 7 8 4 S4 : A T A T G A G T C T G T C T T G G
A G G T (配列番号 28)、

1 0 3 5 4 7 8 4 S5 : A C G G C C T C C G A G A C C T C

A (配列番号29)、

10354784 S6: TGA GGT CTC GGA GGC CG

T (配列番号30)、

10354784 S7: CCA CAG ACA GTG ACA AT

G (配列番号31)および

10354784 S8: CAT TGT CAC TGT CTG TG

G (配列番号32)。

【0383】

この構築物をpCR2.1-cg10354784.0.335-S334-7Aと呼ぶ。クローニングされたインサートを628のアミノ酸残基を有するポリペプチドをコードするORFとして決定し、これを以下の表3に示す。クローン10354784.0.335の配列(配列番号1)と比較して6ヌクレオチドの変化が存在する。これらのヌクレオチド変化は、クローン10354784.0.335(配列番号2)にコードされるポリペプチドと比較してアミノ酸配列(表4に示される)において3つの変化をもたらした。他の3つのヌクレオチド変化は、アミノ酸配列を変化しないサイレントな変異である。

【0384】

【表3】10354784.0.335.S334-7aのDNA配列分析

GAGGCTGCCCCGATCATCTACCCCCAGAGGCCAAAC
 CATCATTGTACCAAAGGCCAGAGTCTCATTCTGGAGTGTGTGGCCAGTGGAAATCCCACCCCCACGGGTC
 ACCTGGGCCAAGGATGGGTCCAGTGTACCCGGCTACAACAAGACGCGCTTCCTGCTGAGCAACCTCCTCA
 TCGACACCACCAGCGAGGAGGACTCAGGCACCTCCCGGTGCATGCCGACAATGGGGTTGGGCAGCCCGG
 GGCAGCGGTATCCTCTACAATGTCCAGGTGTTTGAACCCCTGAGGTACCATGGAGCTATCCCAGCTG
 GTCATCCCCTGGGGCCAGAGTGCCAAGCTTACCTGTGAGGTGCGTGGGAACCCCCCGCCCTCCCGTGTGT
 GGCTGAGGAATGCTGTGCCCTCATCTCCAGCCAGCGCTCCGGCTCTCCCGCAGGGCCCTGCGCGTGTCT
 CAGCATGGGGCCTGAGGACGAAGGCGTCTACCAGTGCATGGCCGAGAACGAGGTTGGGAGCGCCCATGCC
 GTAGTCCAGCTGCGGACCTCCAGGCCAAGCATAACCCCAAGGCTATGGCAGGATGCTGAGCTGGCTACTG
 GCACACCTCCTGTATCACCTCCAAACTCGGCACCCCTGAGCAGATGCTGAGGGGGCAACCGGCGCTCCC
 CAGACCCCCAACGTGAGTGGGGCCTGCTTCCCCCGAGTGTCCAGGAGAGAAGGGGCAGGGGGCTCCCCGC
 GAGGCTCCCATCATCTCAGCTCGCCCCGACCTCCAAGACAGACTCATATGAACTGGTGTGGCGGCCTC
 GGCATGAGGGCAGTGGCCGGGCCAATCCTCTACTATGTGGTGAACACCCGCAAGTCCACAAATTCCTC
 TGACGATTGGACCATCTCTGGCATTCCAGCCAACCGGCACCGCCTGACCCTCACCAGACTTGACCCCGGG
 AGCTTGTATGAAGTGGAGATGGCAGCTTACAACCTGTGCGGGAGAGGGCCAGACAGCCATGGTCACTTCC
 GAACTGGACGGCGGCCAAACCCGAGATCATGGCCAGCAAAGAGCAGCAGATCCAGAGAGACGACCCTGG
 AGCCAGTCCCAGAGCAGCAGTCCCCAGAGCAGCAGCCAGCCAGACCACGGCCGCTCTCCCCCAGAA
 GCTCCCCGACAGGCCACCATCTCCACGGCCTCCGAGACCTCAGTGTACGTGACCTGGATTCCCCGTGGGA
 ATGGTGGGTTCCCAATCCAGTCTTCCGTGTGGAGTACAAGAAGCTAAAGAAAGTGGGAGACTGGATTCT
 GGCCACCAGCGCCATCCCCCATCGCGGCTGTCCGTGGAGATCACGGCCCTAGAGAAAGGAGCCTCCTAC
 AAGTTTCGAGTCCGGGCTCTGAACATGCTGGGGGAGAGCGAGCCAGCGCCCCCTCTCGGCCCTACGTGG
 TGTGCGGCTACAGCGGTGCGGTGTACGAGAGGCCCGTGGCAGGTCTTATATCACCTTACGGATGCGGT
 CAATGAGACCACCATCATGCTCAAGTGGATGTACATCCCAGCAAGTAAACAACAACCCCCAATCCATGGC
 TTTTATATCTATTATCGACCACAGACAGTGAATGATAGTACTACAAGAAGGATATGGTGGGAGGGG
 ACAAGTACTGGCACTCCATCAGCCACCTGCAGCCAGAGACCTCCTACGACATTAAGATGCAGTGTCTCAA
 TGAAGGAGGGGAGAGCGAGTTCAGCAACGTGATGATCTGTGAGACCAAAGCTCGGAAGTCTTCTGGCCAG
 CCTGGTCGACTGCCACCCCAACTCTGGCCCCACCACAGCCGCCCCCTTCTGAAACCATAGAGCGGCCGG
 TGGGCATGGGGCCATGGTGGCTCGC (配列番号 3)

【 0 3 8 5 】

【表 4】 10354784.0.335.S334-7A の推定アミノ酸配列

EAARI IYPPEAQT IIVTKGQSLILECVASGI PPRVTWAKDGSSVTGYNKTRFLLSNL
 LIDTTSHEDSGTSRCMPDNGVGPAAVILYNVQVFEPPEVTMELSQLVIPWQSAKLTCEVR
 GNPPPSVLWLRNAVPLISSQRLRLSRRALRVLSMGPEDEGVYQMAENEVGSAAHVQQLRTSR
 PSITPRIWQDAELATGTPPVSPSKLGNPEQMLRGQPALPRPPTSVGPASPQCPGEKGGAPAE
 APIILSSPRTSKTDSEYELVWRPRHEGSGRAPILYYVVKHRKVTNSSDDWTISGIPANRHRLTL
 TRLDPGSLYEVEMAAYNCAGEGQTAMVTFRTGRRPKPEIMASKEQQIQRDDPGAS PQSSSPQS
 SSQPDHGRLSPPEAPDRPTISTASETSVYVTWI PRGNGGFPIQSFRVEYKCLKKVGDWILATS
 AIPPSRLSVEITGLEKGASYKFRVRALNMLGESEPSAPSRPYVVS GYSGRVYERP VAGPYITF
 TDAVNETT IMLKWMYIPASNNTPIHGFYIYYRPTDSDNDSYK KDMVEGDKYWHSI SHLQPE
 TSYDIKMQCFNEGGESEFSNVMICETKARKSSGQPGRLPPPTLAPPQPPLPETIERPVGTGAM
 VAR (配列番号 4)

発明の詳細な説明で述べたように、クローン0354784.0.335のヌクレオチド配列を、BLASTN検索プロトコルを使用してGenBankデータベースに対して検索した。BLASTN検索は、配列10354784.0.335がヒトCDOmRNA(3986bp)(GenBank登録番号AF004841)に対して71%の同一性(632ヌクレオチドのうち450)を有するというを示した。

【0386】

公に利用可能なGenBankデータベースBLASTPにおける検索は、関連配列10354784.0.335にコードされるタンパク質が、ACC:O35158ラットCDOタンパク質(1256aa)と50%の同一性(525残基のうち265)を有し、そしてACC:O14631ヒトCDO(1240aa)と50%の同一性(518残基のうち259)を有することを示した。CDOは、Ig/フィブロネクチンIII型反復ファミリーのオンコジーン、血清、および固定(anchoragere)調節メンバーである(Kangら, J. Cell Biol. 138(1), 203-213(1997))。相同性に基づいて、10354784.0.335および10354784.0.335.S3347Aタンパク質ならびに各相同タンパク質またはペプチドは、少なくともいくつかの活性を共有する。

【0387】

(実施例2. 哺乳動物発現ベクターpCEP4/Secの調製)

オリゴヌクレオチドプライマー、

pSec-V5-His 順方向: CTCGTCCTCGAGGGTAAGCCTATCCCTAAC (配列番号33) および

pSec-V5-His 逆方向: CTCGTCGGGCCCTGATCAGCGGGTTTAAAC (配列番号34)

を、V5およびHis6を含むpcDNA3.1-V5His(Invitrogen, Carlsbad, CA)発現ベクターからフラグメントを増幅するように設計した。PCR産物を、XhoIおよびApaIで消化し、そしてIgリーダー配列(Invitrogen, Carlsbad CA)を含む、Xh

oI/ApaI消化したpSecTag2Bベクターに連結した。得られたベクターpSecV5Hisの正確な構造(インフレームでIg-リーダーおよびV5-His6を含む)を、DNA配列分析により確認した。ベクターpSecV5HisをPmeIおよびNheIで消化して、上記エレメントを正確なフレームで保持するフラグメントを生じた。このPmeI-NheIフラグメントを、BamHI/KlenowおよびNheI処理されたベクターpCEP4(Invitrogen, Carlsbad, CA)に連結した。得られたベクターはpCEP4/Secと命名され、そしてPCMVおよび/またはPT7プロモーターの制御下に、インフレームIg-リーダー、目的のクローンの挿入部位、V5およびHis6を含む。pCEP4/Secは、任意のタンパク質をIg鎖シグナルペプチド融合することによって異種タンパク質発現および分泌を可能にする発現ベクターである。発現タンパク質の検出および精製は、C-末端におけるV5エピトープタグおよび6×Hisタグの存在により補助される(Invitrogen, Carlsbad, CA)。

【0388】

(実施例3. ヒト胚性腎臓293細胞におけるh10354784の発現)
BglII-XhoIフラグメント含有h10354784配列を、pCR2.1-cg10354784-S334-7Aから単離し、そしてベクターpCEP4/Sec(実施例2)にサブクローン化し、発現ベクターpCEP4/Sec-10354784を作製した。pCEP4/Sec-1035478ベクター4を、293細胞に、LipofectaminePlus試薬を使用して製造者の指示(Gibco/BRL/Life Technologies, Rockville, MD)に従ってトランスフェクトした。細胞ペレットおよび上清を、トランスフェクション後72時間で収集し、抗V5抗体を用いて還元条件下ウェスタンブロッティング法によって、10354784発現について試験した。図1は、h10354784が、293細胞により上清に分泌される約70kDaの見掛けの分子量(Mr)を有する主要な産物と共に複数のサイズのポリペプチドとして発現されることを示す。これは、68794.1Daの推定値に近い。

【0389】

(実施例4 . ヒト胚性腎臓293細胞における20604798の発現)

BglII - XhoIフラグメント含有h20604798配列を、pCR2 . 1 - cg20604798 - S319 - 2Dから単離し、そしてベクターpCEP4 / Sec (実施例2) にサブクローン化し、発現ベクターpCEP4 / Sec - 20604798を作製した。pCEP4 / Sec - 20604798ベクターを、293細胞に、LipofectaminePlus試薬を使用して製造者の指示 (Gibco / BRL / Life Technologies , MD) に従ってトランスフェクトした。細胞ペレットおよび上清を、トランスフェクション後72時間で収集し、抗V5抗体を用いて還元条件下ウェスタンブロッティング法によって、20604798発現について試験した。図2は、20604798が、293細胞により上清に分泌される、Mrが約62kDaの弱い強度のバンド、および約53kDaのMrを有する主要な産物の2つのポリペプチドとして発現されることを示す。使用された分子量標準は、SeeBlue Marker (Invitrogen , Carlsbad , CA) であった。

【0390】

(実施例5 . ヒト胚性腎臓293細胞における3207791の発現)

BamHI - XhoIフラグメント含有3207791配列を、pCR2 . 1 - cg3207791 - S320 - 3Eから単離し、そしてベクターpCEP4 / Sec (実施例2) にサブクローン化し、発現ベクターpCEP4 / Sec - 3207791を作製した。pCEP4 / Sec - 3207791ベクターを、293細胞に、LipofectaminePlus試薬を使用して製造者の指示 (Gibco / BRL / Life Technologies , Rockville , MD) に従ってトランスフェクトした。細胞ペレットおよび上清を、トランスフェクション後72時間で収集し、抗V5抗体を用いて還元条件下ウェスタンブロッティング法によって、h3207791発現について試験した。図3は、3207791が、293細胞により上清に分泌される、約 (approximately) 80kDaのMrを有する主要な産物と共に多数のサイズのポリペプチドとして発現されることを示す。使用された分子量標準は、SeeB

lue Marker (Invitrogen, Carlsbad, CA) であった。

【0391】

(実施例6. クローン20604798.0.1 (MBSP10)の成熟形態の分子クローニング)

推定オープンリーディングフレームクローン20604798.0.1は、483アミノ酸残基分泌タンパク質をコードする。この成熟形態(残基34~483を含むと推定される)をコードするcDNAをクローニングのために標的化した。オリゴヌクレオチドプライマーを、このポリペプチドをコードするDNAセグメントをPCR増幅するために設計した。順方向プライマーは、インフレームBamHI制限部位を含み、そして逆方向プライマーは、インフレームXhoI制限部位を含む。以下はプライマーの配列である:

20604798 順方向: CTCGTCGGATCCCTTCCTCAAC
TCAGCGATGACATCC (配列番号35) および

20604798 逆方向: CTCGTCCTCGAGGTTGGGGAGA
GAAAGAAGTCC (配列番号36)。

【0392】

PCR反応を、50 μ l容量で、ヒト下垂体由来の5ngのcDNAテンプレート、1 μ Mの、それぞれ20604798順方向(Forw)プライマーおよび20604798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50 \times Advantage-HF 2ポリメラーゼ(Clontech Laboratories, Palo Alto CA)を使用して設定した。使用された反応条件は、実施例1に記載される条件と同じであった。

【0393】

アガロースゲル電気泳動で検出される主要な産物のバンド(約(apMBSP Ximately)1350bpのサイズを有する)を単離し、そしてpCR2.1ベクター(Invitrogen Corp, Carlsbad)に連結した。このDNAをベクター由来プライマーおよび以下の遺伝子特異的プライマー

を使用して配列決定した：

20604798 S1 : TACAGAATTGAGTCTTATTGG (配列番号37)、

20604798 S2 : CCAATAAGACTCAATTCTGTA (配列番号：38)、

20604798 S3 : TCAGTAGCTGAAGTTACAAC (配列番号39)、

20604798 S4 : AGTTGTAAC TTCAGCTACTGA (配列番号40)、

20604798 S5 : GGTTCTTACTGCTTTCGTGGG (配列番号41)、

20604798 S6 : CCCACGAAAGCAGTAAGAACC (配列番号42)。

【0394】

クローニングされた構築物を、pCR2.1-20604798-S319-2dと呼ぶ。このインサートは、クローン20604798.0.1の配列(配列番号19)に正確に適合するORFであり、そして予測される450残基のポリペプチド(配列番号20)をコードすることが決定された。

【0395】

(実施例7. クローン3207791.0.128(MBSP6)の成熟形態の分子クローニング)

クローン3207791.0.128の推定オープンリーディングフレームは、535アミノ酸残基分泌タンパク質をコードする。残基23~535にわたるこの推定成熟形態をコードするcDNAをクローニングのために標的化した。オリゴヌクレオチドプライマーを、DNA配列をPCR増幅するために設計した。順方向プライマーは、インフレームBamHI制限部位を含み、そして逆方向プライマーは、インフレームXhoI制限部位を含む。以下はプライマーの配列である：

3207791 順方向：CTCGTCGGATCCGAGTCTGAGACT

GGGCCCATGGAGG (配列番号43)、および
3207791 逆方向: CTCGAGGCCCGGTGGTGGTGGTG
GTGGCTATGGCTG (配列番号44)。

【0396】

PCR反応を、50 μ l容量で、ヒト下垂体由来の5ngのcDNAテンプレート、1 μ Mの、各20604798順方向プライマーおよび20604798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, Palo Alto CA)を使用して設定した。使用された反応条件は、実施例に記載される条件と同じであった。

【0397】

1つの主要な増幅産物 (1500bpの大きさ) をアガロースゲル電気泳動で検出した。この産物を単離し、そしてpCR2.1ベクター (Invitrogen Corp, Carlsbad) に連結した。このDNAをベクター由来プライマーおよび以下の遺伝子特異的プライマーを使用して配列決定した:

3207791 S1: GAAGCCTTCCAGCGGGCTCTG (配列番号45)、

3207791 S2: CAGAGCCCGCTGGAAGGCTTTC (配列番号46)、

3207791 S3: GGCTTGGCTGAGCTGGGCCAC (配列番号47)、

3207791 S4: GTGGCCCAGCTCAGCCAAGCC (配列番号48)、

3207791 S5: CGACAGGGCCCGAAGGAACC (配列番号49)、

3207791 S6: GGTTCTTTCGGGCCCCTGTTCG (配列番号50)、

3207791 S7: GCAGCTGACCAAGGAGCTAC (配列番号51)

号51)および

3207791 S8:GTAGCTCCTTGGTCAGCTGC(配列番号52)。

【0398】

クローニングされた構築物を、pCR2.1-cg3207791.0.128-pCR2.1-S320-3Eと呼ぶ。このインサートを513アミノ酸のポリペプチドをコードするORFと決定した。

【0399】

pCR2.1-cg3207791.0.128-pCR2.1-S320-3E中のインサートのヌクレオチド配列を、表5に示す。これは、2つの位置(太字で示される)で、対応する配列のクローン3207791.0.128と異なる:

【0400】

【表5】

```
GAGTCTGAGACTGGGCCCATGGAGGAAGTGGAGCGGCAGGTCCTCCCAGACCCCGAGGTGCTGGAAGCT
GTGGGGGACAGGCAGGATGGGCTAAGGGAACAGCTGCAGGCCCCAGTGCCCTCTGACAGTGTCCCCAGC
CTGCAAAACATGGGTCTTCTGCTGGACAAGCTGGCCAAGGAGAACCAGGACATCCGGCTGCTGCAGGCC
CAGCTGCAGGCCCAAAGGAAGAGCTTACAGAGCCTGATGCACCAGCCCAAAGGGCTAGAGGAGGAGAAT
GCCAGCTCCGGGGGGCTCTGCAGCAGGGCGAAGCCTTCCAGCGGGCTCTGGAGTCAGAGCTGCAGCAG
CTGCGGGCCCGGCTCCAGGGGCTGGAGGCCGACTGTGTCCGGGGCCAGATGGGGTGTGCTCAGTGGG
GATAGAGGCCCAAGGGTGACAAGGCCATCAGGGAGCAAGGCCCCAGGGAGCAGGAGCCAGAACTCAGC
TTCTGAAGCAGAAGGAACAGCTGGAGGCTGAGGCACAGGCATTAAGGCAAGAGTTAGAGAGGCAGCGA
CGGCTGCTGGGGTCTGTACAGCAGGATCTGGAGAGGAGCTTGCAGGATGCCAGCCGCGGGGACCCAGCT
CATGCTGGCTTGGCTGAGCTGGGCCACAGATTGGCCAGAACTGCAGGGCTGGAGAACTGGGGCCAG
GACCCTGGGGTCTCTGCCAATGCCTCAAAGGCCTGGCACCAGAAGTCCCCTTCCAGAACTTAGGGAG
TGGAGTGGAAAGGAAAAGTGGTGGGATGGGCAGAGAGACCGGAAGGCTGAGCACTGGAAACATAAGAAG
GAAGAACTCTGGCCGGGAAAGGAAGAAGAACTGGGGAGGTCAGGAGGACAGGGAGCCAGCAGGAAGGTGG
AAGGAGGGCAGGCCAAGGGTGGAGGAGTCCGGGAGCAAGAAGGAGGGCAAGCGACAGGGCCCGAAGGAA
CCCCAAGGAAAAGTGGTAGCTTCCACTCCTCTGGAGAAAAGCAGAAGCAACCTCGGTGSAGGGAAGGG
ACTAAGGACAGCCATGACCCCTGCCATCCTGGGCAGAGCTGTTGAGGCCAAGTACCGSGCACCCCAAG
GGCTGCTCAGGTGTGGACGAGTGTGCCCGGCAGGAGGGCCTGACTTCTTTGGCACAGAGCTAGCCCCA
GTGCGGCAACAGGAGCTGGCCTCTCTGCTAAGAACATACTTGGCACGGCTGCCCTGGGCTGGGCAGCTG
ACCAAGGAGCTACCCCTCTCACCTGCTTCTTTGGTGAGGATGGCATCTTCCGTGATGACCGCCTCCGC
TTCCGGGATTTTGTGGATGCCCTGGAGGACAGCTTGGAGGAGGTGGCTGTGCAACAGACAGGTGATGAT
GATGAAGTAGATGACTTTGAGGACTTCATCTTCAGCCACTTCTTTGGAGACAAAGCACTGAAGAAGAGG
TCAGGGAAGAAGGACAAGCACTCACAGAGCCCAAGAGCTGCGGGGCCAGGGAGGGGCACAGCCATAGC
CACCAACCACCACCGGGGC
```

(配列番号 11).

pCR2.1cg3207791.0.128-pCR2.1-S320-3Eにおけるインサートによりコードされるポリペプチドのアミノ酸配列を表6に示す。表5に示される2つのヌクレオチドの差は、ポリペプチドにおける2つのアミノ酸差を翻訳する。

【0401】

【表6】

ESETGPMEEVERQVLPDPEVLEAVGDRQDGLREQLQAPVPPDSVPSLQNMGLLLDKL
AKENQDIRLLQAQLQAQKEELQSLMHQPKGLEEENAQLRGALQQGEAFQRALESELQQLRAR
LQGLEADCVRGPDGVCLSGDRGPQGDKAIREQGPREQPELSFLKQKEQLEAEAQALRQELER
QRRLGSVQQDLERSLQDASRGDPAHAGLAELGHRLAQKLQGLNWDGDPGVSANASKAW
HQKSHFQNSREWSGKEKWWDGQRDRKAEHWKHKKEESGRERKKNWGGQEDREPAGRWKE
GRPRVEESGSKKEGKRQGPKEPPRKSFSHSSGEKQKQPRWREGTKDSDPLPSWAELLRPKY
RAPQGCSGVDECARQEGLTFFGTELPVRRQELASLLRITYLARLPWAGQLTKELPLSPAFFGE
DGIFRHDRLRFRDFVDALEDSLEEVAVQQTGDDDEVDDEFIFSHFFGDKALKKRSGKKDKH
SQSPRAAGPREGHSHSHHHHRG (配列番号 12).

(実施例8. 実時間発現分析)

種々のクローンの定量的発現を、Perkin-Elmer Biosystems ABI PRISM (登録商標) 7700 配列検出システムで実施される実時間定量的PCR (TAQMAN (登録商標)) によって、約41個の正常サンプルおよび約55個の腫瘍サンプルにおいて評価した。

【0402】

初めに、96個のRNAサンプルを、 β -アクチンおよびグリセルアルデヒド-3-ホスフェートデヒドロゲナーゼ (GAPDH) に対して正規化した。RNA (合計約50ngまたは約1ngポリA+) を、製造業者のプロトコルに従って、TAQMAN (登録商標) 逆転写試薬キット (PE Biosystems, Foster City, CA; カタログ番号N808-0234) およびランダムヘキサマーを使用してcDNAに転換した。反応を20 μ lにおいて実施し、そして30分間、48 $^{\circ}$ Cにおいてインキュベートした。次いで、cDNA (5 μ l) を、製造業者のプロトコルに従って、 β -アクチンおよびGAPDH

TAQMAN (登録商標) アッセイ試薬 (PE Biosystems ; それぞれ、カタログ番号4310881Eおよび4310884E) ならびにTAQMAN (登録商標) ユニバーサルPCR Master Mix (PE Biosystems ; カタログ番号4304447) を使用するTAQMAN (登録商標) 反応のために別個のプレートに移した。反応を、以下のパラメータを使用して25 μ lにおいて実施した: 50 $^{\circ}$ Cにて2分; 95 $^{\circ}$ Cにて10分; 95 $^{\circ}$ Cにて15秒/60 $^{\circ}$ Cにて1分(40サイクル)。結果は、対数スケールを使用してCT値(所定のサンプルが蛍光の閾値レベルを越えるサイクル)として記録され、所定のサンプルと最も小さなCT値を有するサンプルとの間のRNA濃度における差異がCTの二乗として表された。次いで、このRNA差の逆数を取り、そして100を掛けることにより相対発現パーセントを得る。アクチンおよびGAPDHについて得られる平均CT値を使用して、RNAサンプルを正規化した。最高のCT値を生成するRNAサンプルは、さらなる希釈を必要としないが、全ての他のサンプルをそれらの - アクチン/GAPDH平均CT値に従って、このサンプルに対して希釈した。

【0403】

正規化されたRNA(5 μ l)をcDNAに転換し、そして製造業者の指示に従って、One 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、入力として標的クローンの配列を使用するPerkin Elmer Biosystem's Primer Express Softwareパッケージ(Apple ComputerのMacintosh Power PC用バージョンI)に従って、各アッセイのために設計した。デフォルト設定を反応条件に使用し、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: プライマー濃度 = 250 nM、プライマー融解温度(T_m)範囲 = 58 $^{\circ}$ C ~ 60 $^{\circ}$ C、プライマー最適 T_m = 59 $^{\circ}$ C、最大プライマー差 = 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 $^{\circ}$ C高くなければならない、アンプリコンサイズは、75 bp ~ 100 bp

である。選択されたプローブおよびプライマー（下記を参照のこと）を、Synthegen (Houston, TX, USA) によって合成した。プローブを、HPLCにより二重精製して、結合していない色素を取り除き、そして質量分析法により評価して、それぞれ、プローブの5'末端および3'末端へのレポーター色素および消光色素の結合を確認した。これらの最終濃度は、以下の通りであった：順方向プライマーおよび逆方向プライマーは、各々900 nM、ならびにプローブは、200 nM。

【0404】

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(SEQXプローブとマルチプレックス化した(multiplexed)SEQX特異的プローブおよび別の遺伝子に特異的なプローブ)を、PE Biosystems 7700用1 x TaqManT MPCR Master Mixを使用して、5mM MgCl₂, dNTPs (dA, G, C, U (1:1:1:2比率))、0.25 U/ml AmpliTaq Gold™ (PE Biosystems) および0.4 U/μl RNaseインヒビター、ならびに0.25 U/μl 逆転写酵素と共にセットした。逆転写を、48 °Cで30分間実施し、次いで、以下のような増幅/PCRサイクルを実施した：95 °Cで10分間、次いで、以下の40サイクル：95 °Cで15秒間、60 °Cで1分間。

【0405】

プライマープローブセットAg70を使用して、クローン17939072.0.47 (MBSP3) の発現を種々の組織で検出した。

【0406】

順方向：ACCGTGACAGCGACCATTC (配列番号53)

逆方向：GTGTGGCAGTTGCGGTACC (配列番号54)

プローブ：Fam-AACTGTGCCGCCTTCTACCGCG-Tamra (配列番号55)

結果を表7に示す。クローン17939072.0.47 (MBSP3) は多

くの癌細胞株で発現されるが、同族の正常細胞株では発現しない。

【0407】

【表7】

正常組織 or 腫瘍組織	相対発現 (%)	正常組織 or 腫瘍組織	相対発現 (%)
内皮細胞	0.00	腎臓 ca. 786-0	5.33
内皮細胞 (処理)	0.00	腎臓 ca. A498	63.29
膵臓	0.00	腎臓 ca. RXF 393	28.13
膵臓 ca. CAPAN 2	3.47	腎臓 ca. ACHN	2.12
脂肪	1.53	腎臓 ca. UO-31	0.48
副腎	24.66	腎臓 ca. TK-10	0.48
甲状腺	0.65	肝臓	0.00
唾液	0.13	肝臓(胎児)	0.00
下垂体	0.06	肝臓 ca. (胚芽細胞) HepG2	3.00
脳(胎児)	3.93	肺	0.28
脳(全体)	3.30	肺 (胎児)	1.88
脳(扁桃)	23.98	肺 ca. (小細胞) LX-1	87.06
脳(小脳)	0.38	肺 ca. (小細胞) NCI-H69	14.97

(表7の続き)

脳 (海馬)	100.00	肺 ca. (s.cell var.) SHP-77	17.08
脳 (視床下部)	0.24	肺 ca. (large cell) NCI-H460	60.71
脳 (黒質)	0.98	肺 ca. (non-sm. cell) A549	12.50
脳 (視床)	30.57	肺 ca. (non-s.cell) NCI-H23	0.90
脊髄	0.43	肺 ca. (non-s.cell) HOP-62	0.82
CNS ca. (glio/astro) U87-MG	0.78	肺 ca. (non-s.cl) NCI-H522	12.07
CNS ca. (glio/astro) U-118-MG	0.17	肺 ca. (squam.) SW 900	12.24
CNS ca. (astro) SW1783	11.50	肺 ca. (squam.) NCI-H596	2.11
CNS ca.* (神経 ; met) SK-N-AS	0.06	乳癌	1.81
CNS ca. (astro) SF-539	37.89	乳癌 ca.* (pl. effusion) MCF-7	38.96
CNS ca. (astro) SNB-75	4.07	乳癌 ca.* (pl.ef) MDA-MB-231	1.18
CNS ca. (glio) SNB-19	19.89	乳癌 ca.* (pl. effusion) T47D	12.33
CNS ca. (glio) U251	61.99	乳癌 ca. BT-549	48.63
CNS ca. (glio) SF-295	2.02	乳癌 ca. MDA-N	0.03
心臓	0.47	卵巣	0.10
骨格筋	0.00	卵巣 ca. OVCAR-3	0.21
骨髄	0.00	卵巣 ca. OVCAR-4	0.03
胸腺	0.00	卵巣 ca. OVCAR-5	30.15
脾臓	0.15	卵巣 ca. OVCAR-8	26.06
十二指腸	0.03	卵巣 ca. IGROV-1	0.07
結腸 (上行)	0.96	卵巣 ca.* (腹水) SK-OV-3	1.73
胃	0.08	子宮筋腫	0.75
小腸	1.09	子宮	0.17
大腸 ca. SW480	2.61	胎盤	1.50
大腸 ca.* (SW480 met) SW620	30.99	前立腺	0.35
大腸 ca. HT29	0.23	前立腺 ca.* (骨 met) PC-3	15.60
大腸 ca. HCT-116	36.86	精巣	57.04

(表7の続き)

結腸 ca. CaCo-2	0.49	黒色腫 Hs688(A).T	0.26
結腸 ca. HCT-15	7.48	黒色腫 * (met) Hs688(B).T	1.07
結腸 ca. HCC-2998	1.28	黒色腫 UACC-62	0.14
腎臓 ca.* (肝臓 met) NCI-N87	35.11	黒色腫 M14	0.20
膀胱	0.11	黒色腫 LOX IMVI	1.10
気管	0.30	黒色腫 * (met): SK-MEL-5	0.51
腎臓	0.06	黒色腫 SK-MEL-28	0.11
腎臓 (転写)	1.05	黒色腫 UACC-257	0.59

ca. = 癌腫、

* = 転移から確立された

met = 転移

s cell var = 小細胞改変体

non-s = non-sm = 非小

squam = 扁平 (squamous)

pl. eff = pleffusion = 胸水

glio = 神経膠腫

astro = 星状細胞腫

neuro = 神経芽腫。

【0408】

(実施例9. 放射ハイブリッドマッピングは、本発明のクローンの染色体位置を同定する)

ヒト染色体マーカーを用いる放射ハイブリッドマッピングを、本発明に記載の多数のクローンについて実施した。これらの結果を得るために使用した手順は、Steen、RGら (A Hiht-Density Integrated Genetic Linkage and Radiation Hybrid Map of the Laboratory Rat, Genome Re

search 1999 (1999年5月21日オンラインで公開) 第9巻: AP1-AP8、1999)に記載される手順に類似する。RHマッピングの詳細な手順は、例えば、Coxら(1990) Science 250:245-250; Boehnkeら(1991) Am J Hum Genet 49:1174-1188; およびWalterら(1994) Nat Genet 7:22-28に見出され得る。

【0409】

無作為化した放射により誘導したヒト染色体フラグメントを含む93細胞クローンのパネルを、96ウェルプレート内で、探されるクローンを独特の様式で同定するよう設計したPCRプライマーを使用して、スクリーニングした。表8は、本発明の3つのクローンについて得られた結果を提供し、これらのマーカーが本発明の遺伝子にまたがり、そしてそのcRにおける距離がこれらの遺伝子を隔てている。

【0410】

【表8】

MBSPX 番号	クローン	染色体	マーカー-cR からの距離	マーカー-cRからの距離
1	10354784.0.335	3	WI-1780, 0.0	--
9	16401346.0.337	1	WI-611, 4.1	DIS195, 6.7
10	20604798.0.1	2	WI-4077, 0.0	--
7	3499605.0.64	1	AFM311ZG1, 11.6	CHLC.GATA31D10, 5.1

(他の実施形態)

特定の実施形態が、本明細書中に詳細に開示されてきたが、この開示は例示のみの目的のための例であって、添付の特許請求の範囲に対する限定を意図するのではない。詳細には、種々の置換、変更、および改変が、本発明の特許請求の範囲に規定される本発明の精神および範囲から逸脱することなく、本発明に対して

なされ得ることが本発明者らにより企図される。従って、他の局面、利点および改変は、上記の特許請求の範囲の範囲内にある。

【図面の簡単な説明】

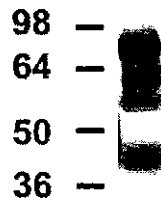
【図1】 図1は、pCEP4/Sec-10354784でトランスフェクトされた293細胞によって分泌されるタンパク質の発現を示す、ウェスタンブロットの表現である。

【図2】 図2は、pCEP4/Sec-20604798でトランスフェクトされた293細胞によって分泌されるタンパク質の発現を示す、ウェスタンブロットの表現である。

【図3】 図3は、pCEP4/Sec-3207791でトランスフェクトされた293細胞によって分泌されるタンパク質の発現を示す、ウェスタンブロットの表現である。

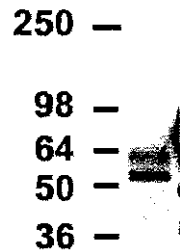
【図1】

Figure 1.



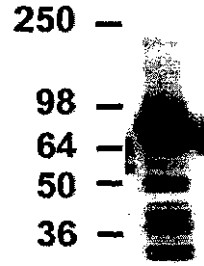
【図2】

Figure 2.



【図3】

Figure 3.



【國際調查報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/US 00/28480

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER					
IPC 7	C12N15/12	C07K14/47	C07K14/705	C07K16/18	A61K38/17
	C12Q1/68	G01N33/53	G01N33/68		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC					
B. FIELDS SEARCHED					
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)					
IPC 7 C07K C12N					
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched					
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)					
EPO-Internal, SEQUENCE SEARCH, BIOSIS					
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT					
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages				Relevant to claim No.
X	WO 98 04697 A (SINAI SCHOOL MEDICINE ;GAO MJN (US); KANG JONG SUN (US); KRAUSS RO) 5 February 1998 (1998-02-05) 43.826% identity (46.812% ungapped) in 737 aa overlap (17-737:210-915) with seq.2 page 15, line 15 - line 20; claims 1-28; figures 1,SEQ.1.2.				1-22, 29-38
A	WO 97 07198 A (GENETICS INST) 27 February 1997 (1997-02-27) page 1 -page 11				1-22, 29-38
P,X	WO 00 12708 A (BAKER KEVIN ;GENENTECH INC (US); GODDARD AUDREY (US); GURNEY AUSTI) 9 March 2000 (2000-03-09) 89.474% identity (99.055% ungapped) in 703 aa overlap (23-724:224-859) with seq.2 abstract; claims 1-27; figure SEQ.58				1-19, 29-34
-/--					
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C.			<input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.		
* Special categories of cited documents :					
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance			"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention		
"E" earlier document but published on or after the international filing date			"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone		
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)			"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.		
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means			"&" document member of the same patent family		
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed					
Date of the actual completion of the international search			Date of mailing of the international search report		
5 November 2001			08. 02. 2002		
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl. Fax: (+31-70) 340-3616			Authorized officer Gurdjian, D		

6

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/US 00/28480

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
E	WO 01 19856 A (YANG MEIJIA ;BOLDOG FERENC L (US); CURAGEN CORP (US); FERNANDES EL) 22 March 2001 (2001-03-22) 98.919% identity (99.728% ungapped) in 740 aa overlap (1-739:1-735) with seq.2 ; abstract; claims 1-41; figure SEQ.12; table 7 -----	1-22, 29-38

6

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 00/28480**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 23-28,39-40 and partly 22 , as far as it concerns an in vivo method , are directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.
2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:
3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see additional sheet

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
1-40 (all partially)

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: 1-40 partly

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

2. Claims: 1-40 partly

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

3. Claims: 1-40 partly

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

4. Claims: 1-40 partly

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

5. Claims: 1-40 partly

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

6. Claims: 1-40 partly

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

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

7. Claims: 1-40 partly

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

8. Claims: 1-40 partly

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

9. Claims: 1-40 partly

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

10. Claims: 1-40 partly

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

11. Claims: 1-40 partly

polypeptides with amino acid sequence with seq.id.22 and corresponding nucleotide sequence with seq.id.21 , corresponding vector, cell , antibody , method of determination of presence and predisposition to a disease , method of identifying a binding/modulating agent and

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

pharmaceutical .

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No.

PCT/US 00/28480

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9804697	A	05-02-1998	WO 9804683 A1	05-02-1998
			WO 9804697 A1	05-02-1998

WO 9707198	A	27-02-1997	US 5707829 A	13-01-1998
			AU 727480 B2	14-12-2000
			AU 6712396 A	18-02-1997
			AU 727489 B2	14-12-2000
			AU 6768596 A	12-03-1997
			CA 2227220 A1	06-02-1997
			CA 2229208 A1	27-02-1997
			EP 0839196 A2	06-05-1998
			EP 0851875 A2	08-07-1998
			JP 11510045 T	07-09-1999
			JP 2001520510 T	30-10-2001
			US 6043344 A	28-03-2000
			WO 9704097 A2	06-02-1997
			WO 9707198 A2	27-02-1997
			US 6074849 A	13-06-2000
			US 5969093 A	19-10-1999

WO 0012708	A	09-03-2000	AU 5590899 A	21-03-2000
			EP 1144629 A2	17-10-2001
			WO 0012708 A2	09-03-2000
			AU 6041399 A	10-04-2000
			EP 1115863 A1	18-07-2001
			WO 0017353 A1	30-03-2000

WO 0119856	A	22-03-2001	AU 7377300 A	17-04-2001
			WO 0119856 A2	22-03-2001
			AU 5634700 A	09-01-2001
			WO 0078802 A2	28-12-2000
			AU 7868000 A	10-05-2001
			AU 8023100 A	23-04-2001
			WO 0125437 A2	12-04-2001
			WO 0127277 A2	19-04-2001

フロントページの続き

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テ-マ-コ-ト' (参考)
A 6 1 P 11/06		A 6 1 P 21/04	4 C 0 8 4
19/02		25/00	4 C 0 8 5
21/04		29/00	1 0 1 4 H 0 4 5
25/00		31/04	
29/00	1 0 1	31/10	
31/04		31/12	
31/10		31/20	
31/12		31/22	
31/20		33/02	
31/22		33/06	
33/02		35/00	
33/06		37/00	
35/00		37/06	
37/00		C 0 7 K 14/47	
37/06		16/18	
C 0 7 K 14/47		19/00	
16/18		C 1 2 N 1/15	
19/00		1/19	
C 1 2 N 1/15		1/21	
1/19		C 1 2 P 21/02	C
1/21		21/08	
5/06		C 1 2 Q 1/02	
5/10		1/68	A
C 1 2 P 21/02		G 0 1 N 33/15	Z
21/08		33/50	Z
C 1 2 Q 1/02		33/53	D
1/68			M
G 0 1 N 33/15		33/566	
33/50		C 1 2 N 15/00	Z N A A
33/53		5/00	A
			E
33/566		A 6 1 K 37/02	

(31)優先権主張番号 0 9 / 6 8 8 , 5 9 8

(32)優先日 平成12年10月12日(2000 . 10 . 12)

(33)優先権主張国 米国(U S)

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

(72)発明者 ボルドッジ, フェレンチ エル.
 アメリカ合衆国 コネチカット 06473,
 ノース ハイブン, ジャンセン レーン 22

Fターム(参考) 2G045 AA40 BA11 BB50 DA12 DA13
 DA14 DA36 FB02 FB03
 4B024 AA01 AA11 BA80 CA04 CA07
 CA09 CA20 DA03 EA04 FA02
 GA13 HA11 HA13 HA14 HA17
 4B063 QA01 QA05 QA19 QQ02 QQ21
 QQ41 QQ43 QQ53 QQ61 QQ79
 QQ89 QR08 QR32 QR35 QR40
 QR42 QR56 QR62 QR72 QR77
 QR80 QS16 QS25 QS34 QS36
 QX02
 4B064 AG01 AG27 CA10 CA19 CA20
 CC01 CC24 DA01 DA13
 4B065 AA01X AA58X AA72X AA93X
 AA93Y AB01 AC14 BA02
 BA05 BA30 CA24 CA44 CA46
 4C084 AA01 AA07 AA13 DC50 NA14
 ZA012 ZA592 ZA942 ZA962
 ZB082 ZB152 ZB262 ZB332
 ZB352 ZB382
 4C085 AA14 AA16 BB31 CC22 DD33
 DD62
 4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 BA10
 BA41 CA40 DA76 EA20 EA50
 FA72 FA74

专利名称(译)	由此编码的蛋白质和多核苷		
公开(公告)号	JP2003529334A	公开(公告)日	2003-10-07
申请号	JP2001530480	申请日	2000-10-13
[标]申请(专利权)人(译)	CURAGEN CORP		
申请(专利权)人(译)	Kyurajen公司		
[标]发明人	シムケッツリチャードエイ リッシェンスタインヘンリー ボルドッジフェレンチエル		
发明人	シムケッツ, リチャード エイ. リッシェンスタイン, ヘンリー ボルドッジ, フェレンチ エル.		
IPC分类号	G01N33/50 A61K38/00 A61K38/17 A61K39/395 A61K48/00 A61P3/10 A61P11/06 A61P19/02 A61P21/04 A61P25/00 A61P29/00 A61P31/04 A61P31/10 A61P31/12 A61P31/20 A61P31/22 A61P33/02 A61P33/06 A61P35/00 A61P37/00 A61P37/06 C07K14/47 C07K14/705 C07K16/18 C07K19/00 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/06 C12N5/10 C12N15/09 C12N15/12 C12P21/02 C12P21/08 C12Q1/02 C12Q1/68 G01N33/15 G01N33/53 G01N33/566 G01N33/68		
CPC分类号	A61K38/00 A61P3/10 A61P11/06 A61P19/02 A61P21/04 A61P25/00 A61P29/00 A61P31/04 A61P31/10 A61P31/12 A61P31/20 A61P31/22 A61P33/02 A61P33/06 A61P35/00 A61P37/00 A61P37/06 C07K14/47 C07K14/705		
FI分类号	A61K39/395.N A61K48/00 A61P3/10 A61P11/06 A61P19/02 A61P21/04 A61P25/00 A61P29/00.101 A61P31/04 A61P31/10 A61P31/12 A61P31/20 A61P31/22 A61P33/02 A61P33/06 A61P35/00 A61P37/00 A61P37/06 C07K14/47 C07K16/18 C07K19/00 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12P21/02.C C12P21/08 C12Q1/02 C12Q1/68.A G01N33/15.Z G01N33/50.Z G01N33/53.D G01N33/53.M G01N33/566 C12N15/00.ZNA.A C12N5/00.A C12N5/00.E A61K37/02		
F-TERM分类号	2G045/AA40 2G045/BA11 2G045/BB50 2G045/DA12 2G045/DA13 2G045/DA14 2G045/DA36 2G045/FB02 2G045/FB03 4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/BA80 4B024/CA04 4B024/CA07 4B024/CA09 4B024/CA20 4B024/DA03 4B024/EA04 4B024/FA02 4B024/GA13 4B024/HA11 4B024/HA13 4B024/HA14 4B024/HA17 4B063/QA01 4B063/QA05 4B063/QA19 4B063/QQ02 4B063/QQ21 4B063/QQ41 4B063/QQ43 4B063/QQ53 4B063/QQ61 4B063/QQ79 4B063/QQ89 4B063/QR08 4B063/QR32 4B063/QR35 4B063/QR40 4B063/QR42 4B063/QR56 4B063/QR62 4B063/QR72 4B063/QR77 4B063/QR80 4B063/QS16 4B063/QS25 4B063/QS34 4B063/QS36 4B063/QX02 4B064/AG01 4B064/AG27 4B064/CA10 4B064/CA19 4B064/CA20 4B064/CC01 4B064/CC24 4B064/DA01 4B064/DA13 4B065/AA01X 4B065/AA58X 4B065/AA72X 4B065/AA93X 4B065/AA93Y 4B065/AB01 4B065/AC14 4B065/BA02 4B065/BA05 4B065/BA30 4B065/CA24 4B065/CA44 4B065/CA46 4C084/AA01 4C084/AA07 4C084/AA13 4C084/DC50 4C084/NA14 4C084/ZA012 4C084/ZA592 4C084/ZA942 4C084/ZA962 4C084/ZB082 4C084/ZB152 4C084/ZB262 4C084/ZB332 4C084/ZB352 4C084/ZB382 4C085/AA14 4C085/AA16 4C085/BB31 4C085/CC22 4C085/DD33 4C085/DD62 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/BA41 4H045/CA40 4H045/DA76 4H045/EA20 4H045/EA50 4H045/FA72 4H045/FA74		
优先权	60/159231 1999-10-13 US 60/175670 2000-01-12 US 09/688598 2000-10-12 US		
外部链接	Espacenet		
摘要(译)			

本发明，称为MBSPX多肽的新型多肽，和编码MBSPX多肽的多核苷酸，以及MBSPX或MBSPX多肽，多核苷酸或抗体，或衍生物，变体，变体或提供了与片段免疫特异性结合的抗体。本发明进一步提供了将MBSPX多肽，多核苷酸和抗体用于检测和治疗多种病理状况以及其他应用的方法。

MBSPX多肽	多核苷酸	氨基酸序列	分子量 (kDa)	等电点 (pI)	疏水性	疏水性指数	疏水性指数	
1	10557943335	Y-L-S-L	3502	7.29-8.95	7.29	8000.24	ACCC14601-E1 CDG-ACC05195-F1 CDG	疏水性指数 疏水性指数 疏水性指数 疏水性指数 疏水性指数
2	10557943335	Y-L-S-L	3502	7.29-8.95	7.29	8000.24	ACCC14601-E1 CDG-ACC05195-F1 CDG	疏水性指数 疏水性指数 疏水性指数 疏水性指数 疏水性指数
3	10557943335	Y-L-S-L	3502	7.29-8.95	7.29	8000.24	ACCC14601-E1 CDG-ACC05195-F1 CDG	疏水性指数 疏水性指数 疏水性指数 疏水性指数 疏水性指数
4	10557943335	Y-L-S-L	3502	7.29-8.95	7.29	8000.24	ACCC14601-E1 CDG-ACC05195-F1 CDG	疏水性指数 疏水性指数 疏水性指数 疏水性指数 疏水性指数
5	10557943335	Y-L-S-L	3502	7.29-8.95	7.29	8000.24	ACCC14601-E1 CDG-ACC05195-F1 CDG	疏水性指数 疏水性指数 疏水性指数 疏水性指数 疏水性指数