

(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2002－540083
(P2002－540083A)
(43)公表日 平成14年11月26日(2002.11.26)

(51)Int.Cl ⁷	識別記号	F I	テマコード [*] （参考）	
A 6 1 K 39/395		A 6 1 K 39/395	U	2 G 0 4 5
			D	4 B 0 2 4
			Y	4 B 0 6 4
31/713		31/713		4 C 0 8 4
35/36		35/36		4 C 0 8 5
審査請求 未請求 予備審査請求（全411数） 最終頁に続く				

(21)出願番号	特願2000－606303(P2000－606303)	(71)出願人	ヒューマン ジノーム サイエンスーズ， インコーポレイテッド HUMAN GENOME SCIEN CES，INC. アメリカ合衆国 メリーランド 20850，ロ ックビル，キー ウェスト アベニュー 9410
(86)(22)出願日	平成12年3月22日(2000.3.22)	(72)発明者	ニ， ジアン アメリカ合衆国 メリーランド 20853， ロックビル，マナーフィールド ロード 5502
(85)翻訳文提出日	平成13年9月20日(2001.9.20)	(74)代理人	弁理士 山本 秀策
(86)国際出願番号	PCT/US00/07521		
(87)国際公開番号	W000/56405		
(87)国際公開日	平成12年9月28日(2000.9.28)		
(31)優先権主張番号	60/125,683		
(32)優先日	平成11年3月22日(1999.3.22)		
(33)優先権主張国	米国(US)		
(31)優先権主張番号	60/126,522		
(32)優先日	平成11年3月26日(1999.3.26)		
(33)優先権主張国	米国(US)		
		最終頁に続く	

(54)【発明の名称】 ヒト腫瘍壊死因子レセプター様2

(57)【要約】

本発明は、腫瘍壊死因子ファミリーのレセプターの新規なメンバーに関する。本発明は、ヒトTR2レセプターをコードする単離された核酸分子およびその2つのスプライス改変体を提供する。TR2ポリペプチドもまた、ベクター、宿主細胞およびこれらを産生するための組換え方法と同様に提供される。本発明はさらに、TR2レセプター活性のアゴニストおよびアンタゴニストを同定するためのスクリーニング方法に関する。TR2レセプターの異常な発現に関連する疾患状態を検出するための診断方法もまた提供される。TR2レセプターを発現する細胞の異常な増殖および分化に関連する疾患状態を処置するための治療方法もまたさらに提供される。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 関節炎または炎症を処置するための方法であって、該方法は、治療有効量の以下：

(a) 配列番号2のアミノ酸136～247からなるポリペプチドに結合する抗体を含む第1の治療剤；ならびに

(b) 以下からなる群より選択される第2の治療剤：

(i) 腫瘍壊死因子ブロッキング剤；

(ii) 免疫抑制剤；

(iii) 抗炎症剤；

(iv) 抗マラリア剤；および

(v) 抗代謝産物剤、

を個体に投与する工程を包含する、方法。

【請求項2】 前記第1の治療剤が、配列番号2のアミノ酸1～164からなるポリペプチドに結合する抗体を含む、請求項1に記載の方法。

【請求項3】 前記抗体が、モノクローナル抗体である、請求項1に記載の方法。

【請求項4】 前記抗体が、ポリクローナル抗体である、請求項1に記載の方法。

【請求項5】 前記抗体が、キメラ抗体である、請求項1に記載の方法。

【請求項6】 前記抗体が、ヒト化抗体である、請求項1に記載の方法。

【請求項7】 前記抗体が、単鎖Fv抗体である、請求項1に記載の方法。

【請求項8】 前記抗体が、Fab抗体フラグメントである、請求項1に記載の方法。

【請求項9】 前記第1の治療剤および前記第2の治療剤が、同時に前記個体に投与される、請求項1に記載の方法。

【請求項10】 前記第1の治療剤および前記第2の治療剤が、異なった時点で前記個体に投与される、請求項1に記載の方法。

【請求項11】 前記腫瘍壊死因子ブロッキング剤が、以下：

(a) TNF- α ；

(b) TNF- β ; および
(c) TNF- γ 、
からなる群より選択されるタンパク質に結合する抗体を含む、請求項1に記載の方法。

【請求項12】 前記免疫抑制剤が、以下：

(a) シクロスポリン；
(b) シクロホスファミド；
(c) メチルプレドニゾン；
(d) プレドニゾン；
(e) アザチオプリン；
(f) FK-506；および
(g) 15-デオキシスパガリン、
からなる群より選択される、請求項1に記載の方法。

【請求項13】 前記抗マラリア剤が、以下：

(a) ヒドロキシクロロキン；
(b) クロロキン；および
(c) キナクリン、
からなる群より選択される、請求項1に記載の方法。

【請求項14】 前記抗代謝産物が、メトトレキサートである、請求項1に記載の方法。

【請求項15】 組成物であって、以下：

(a) 配列番号2のアミノ酸-36~247からなるポリペプチドに結合する抗体を含む第1の治療剤；ならびに
(b) 以下からなる群より選択される第2の治療剤：
(i) 腫瘍壊死因子ブロック剤；
(ii) 免疫抑制剤；
(iii) 抗炎症剤；
(iv) 抗マラリア剤；および
(v) 抗代謝産物剤、

を含む、組成物。

【請求項16】 関節炎または炎症の処置のための方法であって、治療有効量の請求項15に記載の組成物を、個体に投与する工程を包含する、方法。

【請求項17】 薬学的に受容可能なキャリアまたは賦形剤をさらに含む、請求項15に記載の組成物。

【請求項18】 関節炎の治療のための方法であって、治療有効量の請求項17に記載の組成物を個体に投与する工程を包含する、方法。

【請求項19】 癌を処置するための方法であって、該方法は、治療有効量の以下：

(a) 配列番号2のアミノ酸-36~247からなるポリペプチドに結合する抗体を含む第1の治療剤；ならびに

(b) 以下からなる群より選択される第2の治療剤：

(i) 化学療法剤；

(ii) 抗生物質；

(iii) 抗代謝産物剤；および

(iv) 免疫抑制剤、

を個体に投与する工程を包含する、方法。

【請求項20】 前記癌が、B細胞系列関連癌である、請求項19に記載の方法。

【請求項21】 前記B細胞系列関連癌が、B細胞リンパ腫である、請求項20に記載の方法。

【請求項22】 前記第1の治療剤が、配列番号2のアミノ酸1~164からなるポリペプチドに結合する抗体を含む、請求項19に記載の方法。

【請求項23】 前記第1の治療剤および第2の治療剤が、同時に前記個体に投与される、請求項19に記載の方法。

【請求項24】 前記第1の治療剤および前記第2の治療剤が、異なった時点で前記個体に投与される、請求項19に記載の方法。

【請求項25】 前記化学治療剤が、以下：

(a) ドキソルビシン；

- (b) ブレオマイシン；
- (c) ダウノルビシン；
- (d) ダクチノマイシン；および
- (e) マイトマイシンC、

からなる群より選択される、請求項19に記載の方法。

【請求項26】 組成物であって、以下：

(a) 配列番号2のアミノ酸-36～247からなるポリペプチドに結合する抗体を含む第1の治療剤；ならびに

(b) 以下からなる群より選択される第2の治療剤：

- (i) 化学療法剤；
- (i i) 抗生物質；
- (i i i) 抗代謝産物剤；および
- (i v) 免疫抑制剤、

を含む、組成物。

【請求項27】 癌の処置のための方法であって、治療有効量の請求項26に記載の組成物を、個体に投与する工程を包含する、方法。

【請求項28】 薬学的に受容可能なキャリアまたは賦形剤をさらに含む、請求項26に記載の組成物。

【請求項29】 癌の処置のための方法であって、治療有効量の請求項28に記載の組成物を、個体に投与する工程を包含する、方法。

【請求項30】 癌の処置のための方法であって、該方法は、治療有効量の以下：

(a) 免疫グロブリンのFc領域に共有結合した、配列番号2のアミノ酸1～164を含む第1の治療剤；ならびに

(b) 以下からなる群より選択される第2の治療剤：

- (i) 化学療法剤；
- (i i) 抗生物質；
- (i i i) 抗代謝産物剤； および
- (i v) 免疫抑制剤、

を個体に投与する工程を包含する、方法。

【請求項31】 前記癌が、B細胞系列関連癌である、請求項30に記載の方法。

【請求項32】 前記B細胞系列関連癌が、B細胞リンパ腫である、請求項31に記載の方法。

【請求項33】 前記第1の治療剤および第2の治療剤が、同時に前記個体に投与される、請求項30に記載の方法。

【請求項34】 前記第1の治療剤および前記第2の治療剤が、異なった時点で前記個体に投与される、請求項30に記載の方法。

【請求項35】 免疫不全を処置するためまたは抗原に対するインビボでの白血球応答を増強するための方法であって、該方法は、治療有効量の以下：

(a) 配列番号2のアミノ酸-36～247からなるポリペプチドに結合する抗体を含む第1の治療剤；ならびに

(b) 以下からなる群より選択される第2の治療剤：

(i) サイトカイン；

(i i) 脈管形成因子；および

(i i i) 線維芽細胞増殖因子、

を個体に投与する工程を包含する、方法。

【請求項36】 前記免疫不全が、B細胞免疫不全である、請求項35に記載の方法。

【請求項37】 前記白血球が、B細胞である、請求項35に記載の方法。

【請求項38】 前記第1の治療剤が、配列番号2のアミノ酸1～164からなるポリペプチドに結合する抗体を含む、請求項35に記載の方法。

【請求項39】 前記第1の治療剤および前記第2の治療剤が、同時に前記個体に投与される、請求項35に記載の方法。

【請求項40】 前記第1の治療剤および前記第2の治療剤が、異なった時点で前記個体に投与される、請求項35に記載の方法。

【発明の詳細な説明】**【0001】**

(発明の背景)

(発明の分野)

本発明は、腫瘍壊死因子 (TNF) レセプターファミリーの新規なメンバーに関する。より詳細には、ヒトTNFレセプター関連タンパク質をコードする単離された核酸分子が提供され、このタンパク質は、マウスCD40に対する顕著な相同性を有する、図1A～図1BのTR2レセプターとして本明細書中で引用される。2つの異なるTR2スプライシング変異体 (TR2-SV1およびTR2-SV2と呼ばれる) もまた、提供される。ヒト2型TNFレセプター (TNF-R II) に相同であるTR2ポリペプチドもまた、提供される。TR2レセプターポリペプチドを産生するための、ベクター、宿主細胞および組換え方法もまた提供される。本発明はまた、TR2レセプターポリペプチドの機能的活性の阻害および増強の両方、ならびにTR2レセプター遺伝子発現を検出するための診断方法に関する。

【0002】

(関連技術)

ヒト腫瘍壊死因子 α (TNF- α) および β (TNF- β またはリンホトキシン) は、ポリペプチド媒介物の広範なクラスに関連するメンバーである。ポリペプチド媒介物には、インターフェロン、インターロイキン、および成長因子 (集会的にサイトカインと呼ばれる) が含まれる (Beutler, B. および Cerami, A., Annu. Rev. Immunol., 7:625-655 (1989))。

【0003】

腫瘍壊死因子 (TNF- α および TNF- β) は、元々、その抗腫瘍活性の結果として発見されたが、現在は、生物学的なプロセスおよび病理学の宿主における重要な役割を演じる多面的なサイトカインとして認識される。現在までに、TNF関連サイトカインファミリー、TNF- α 、TNF- β (リンホトキシン- α)、LT- β 、TRAIL、ならびにFasレセプター、CD30、CD27

、CD40、OX40、および4-1BBレセプターのリガンドの10個の公知のメンバーが存在する。これらのタンパク質は、TNF- β を除き、膜アンカーとしてしばしば使用される保存C末端配列および可変N末端配列を有する。TNF- α およびTNF- β の両方が、TNFレセプターに結合した場合、ホモトリマーとして機能する。

【0004】

TNFは、多くの細胞型（単球、線維芽細胞、T細胞、ナチュラルキラー（NK）細胞を含む）によって、そして主に、活性化されたマクロファージによって産生される。TNF- α は、腫瘍の迅速な壊死、免疫刺激、自己疾患、移植片拒絶、抗ウイルス応答の生成、敗血症性ショック、大脳マラリア、細胞傷害性、化学治療の間に生成される電離放射線の有害な効果（例えば、酵素の変性、脂質の過酸化、およびDNA損傷）に対する防御（Nataら、J. Immunol. 136（7）：2483（1987））、成長調節、脈管内皮効果、および代謝効果における役割を有することが報告されている。TNF- α はまた、内皮細胞による種々の因子（PAI-1、IL-1、GM-CSF、IL-6を含む）の分泌を誘発して、細胞増殖を促進する。さらに、TNF- α は、Eセレクトイン、ICAM-1、およびVCAM-1のような種々の細胞接着分子をアップレギュレートする。TNF- α およびFasリガンドはまた、プログラムされた細胞死を誘導することが示されている。

【0005】

TNF- β は、抗ウイルス状態および腫瘍壊死の誘導、多形核白血球の活性化、クラスI主要組織適合性複合体抗原の内皮細胞上への誘導、接着分子の内皮上への誘導、ならびに成長ホルモン刺激を含む多くの活性を有する（Ruddle, N. およびHomer, R., Prog. Allergy, 40:162-182（1988））。

【0006】

TNF- α およびTNF- β の両方は、成長調節に関与し、そして分化のいくつかの段階で造血細胞と相互作用し、種々の型の前駆細胞の増殖を阻害し、そして未成熟の骨髄単球細胞の増殖を誘導する。Porter, A. Tibtech

9:158-162 (1991)。

【0007】

「ノックアウト」マウスを用いた最近の研究は、TNF- β 産生に欠損があるマウスが、末梢リンパ器官の異常な発達および脾臓の構造における形態学的な変化を示すことを示した (Aggarwalら、Eur Cytokine Netw, 7 (2): 93-124 (1996) で概説)。リンパ器官に関して、膝窩の、鼠径部の、大動脈傍の、腸間膜の、腋窩の、および子宮頸部のリンパ節は、TNF- β -/-マウスにおいて発達しなかった。さらに、TNF- β -/-マウスからの末梢血は、正常マウスに比較して白血球が3倍減少していた。しかし、TNF- β -/-マウス由来の末梢血は、その正常の対応物に比較して4倍多いB細胞を含んでいた。さらに、TNF- β は、TNF- α と比較して、EBV感染B細胞の増殖を誘導することが示されている。これらの結果は、TNF- β が、リンパ球の発達に関与することを示す。

【0008】

TNF- α TNF- β またはTNF- β によって媒介される種々の細胞性応答の誘導における第一の工程は、特定の細胞表面または可溶性レセプターへの結合である。約55 kDa (TNF-R I) および75 kDa (TNF-R II) の2つの異なるTNFレセプターが同定されており (Hohmanら、J. Biol. Chem., 264: 14927-14934 (1989))、両方のレセプター型に対応するヒトおよびマウスcDNAが、単離され、そして特徴づけられている (Loetscherら、Cell, 61: 351 (1990))。両方のTNF-Rは、細胞外領域、膜貫通領域、および細胞内領域を含む細胞表面レセプターの典型的な構造を共有する。

【0009】

これらの分子は、細胞に結合した形態においてだけでなく、インタクトなレセプターの切断された細胞外ドメインからなる可溶性形態 (Nopharら、EMBO Journal, 9 (10): 3269-76 (1990))、およびさもなくば膜貫通ドメインが欠失したインタクトなレセプターにおいても存在する。TNF-R I およびTNF-R II の細胞外ドメインは、28%の同一性を共

有し、そして有意なサブユニット間配列相同性を有する4つの反復システインリッチモチーフによって特徴づけられる。大部分の細胞型および組織は、両方のTNFレセプターを発現するようであり、そして両方のレセプターが、シグナル伝達において活性であるが、それらは異なる細胞性応答を媒介し得る。さらに、TNF-R IIは、PCT WO 94/09137に示されるように、TNFによるヒトT細胞増殖のみを媒介する。

【0010】

TNF-R I依存性応答には、C-FOS、IL-6、およびマンガンスーパーオキシドジスムターゼmRNAの蓄積、プロスタグランジンE₂合成、IL-2レセプターおよびMHCクラスIおよびII細胞表面抗原の発現、成長阻害、ならびに細胞傷害性が含まれる。TNF-R Iはまた、ホスホリパーゼA₂、プロテインキナーゼC、ホスファチジルコリン特異的ホスホリパーゼC、およびスフィンゴミエリナーゼのようなセカンドメッセンジャー系を誘発する(Pfefferら、Cell, 73:457-467(1993))。

【0011】

いくつかのインターフェロンおよび他の因子が、TNFレセプターの発現を調節することが示されている。例えば、レチノイン酸は、いくつかの細胞型においてTNFレセプターの産生を誘導する一方、他の細胞において産生をダウンレギュレートすることが示されている。さらに、TNF-αは、両方の型のレセプターの局在化をもたらすことが示されている。TNF-αは、TNF-R Iの内部移行およびTNF-R IIの分泌を誘導する(Aggarwalら、前出において総説される)。従って、両方のTNF-Rの産生および局在化は、種々の因子によって調節される。

【0012】

酵母ツーハイブリッド系は、両方の型のTNF-Rに会合するリガンドを同定するために使用されてきた(Aggarwalら、前出およびVandenabeeleら、Trends in Cell Biol. 5:392-399(1995)において総説される)。いくつかのタンパク質が同定されており、それらは、マウスTNF-Rの細胞質ドメインと相互作用する。これら2つのタン

パク質は、アポトーシスのバキュロウイルスインヒビターに関連するようであり、これはプログラムされた細胞死の調節におけるTNF-Rの直接的役割を示唆する。

【0013】

(発明の要旨)

本発明は、配列番号26、図1A～図1B（配列番号2）、図4A～図4C（配列番号5）および図7A～図7B（配列番号8）に示されるアミノ酸配列、または1995年2月13日にATCC受託番号97059、97058、および97057として寄託されたTR2レセプターをコードするcDNAによってコードされるアミノ酸配列を有する、TR2レセプターおよびそのスプライス変異体をコードするポリヌクレオチドを含むか、あるいはそのポリヌクレオチドからなる単離された核酸分子を提供する。本発明はまた、本発明の単離された核酸分子を含む組換えベクターおよびその組換えベクターを含む宿主細胞、ならびにそのようなベクターおよび宿主細胞の作製方法および組換え技術によるTR2ポリペプチドまたはペプチドの産生のためのそれらの使用のための方法に関する。

【0014】

本発明はさらに、本明細書中に記載されるポリヌクレオチドによってコードされるアミノ酸配列を有する単離されたTR2ポリペプチドを提供する。

【0015】

本発明はまた、TR2レセプターによって誘導される細胞応答を増強または阻害し得る化合物を同定するためのスクリーニング方法を提供し、この方法は、TR2レセプターを発現する細胞を候補化合物と接触させる工程、細胞応答をアッセイする工程、およびその細胞応答を標準の細胞応答と比較する工程を包含し、その標準は、接触が候補化合物の非存在下で行われた場合にアッセイされ、それによって、標準を超えて増加した細胞応答はその化合物がアゴニストであることを示し、そして標準を超えて減少した細胞応答はその化合物がアンタゴニストであることを示す。

【0016】

別の局面において、候補化合物がTR2レセプターに対する細胞リガンドの結

合に対して効果を有するか否かを決定する工程を含む、アゴニストおよびアンタゴニストについてのスクリーニングアッセイが提供される。特に、この方法は、TR2レセプターをリガンドポリペプチドおよび候補化合物と接触させる工程、ならびにTR2レセプターへのリガンド結合が、候補化合物の存在に起因して、増加または減少するか否かを決定する工程を含む。

【0017】

本発明はさらに、TR2レセプター発現における変化に起因して異常な細胞増殖から生じる疾患状態の診断または予後判定の間に有用である診断方法を提供する。

【0018】

本発明のさらなる局面は、身体においてTR2レセプター活性のレベルの増加を必要とする個体を処置するための方法に関し、この方法は、本発明の単離されたTR2ポリペプチドまたはそのアゴニストの治療的有効量を含む、組成物を、そのような個体に投与する工程を包含する。

【0019】

本発明のなおさらなる局面は、身体においてTR2レセプター活性のレベルの減少を必要とする個体を処置するための方法に関し、この方法は、TR2レセプターアンタゴニストの治療的有効量を含む、組成物を、そのような個体に投与する工程を包含する。

【0020】

本発明はさらに、本発明のポリペプチドの可溶性形態を提供する。可溶性ペプチドは、アミノ酸配列によって規定され、ここでその配列は、膜貫通ドメインを欠くポリペプチド配列を含むか、あるいはそのポリペプチド配列からなる。TR2レセプターのそのような可溶性形態は、レセプターの膜結合型のアンタゴニストとして有用である。

【0021】

(好ましい実施形態の詳細な説明)

本発明は、TR2ポリペプチド(図1A～図1B(配列番号2))およびそのスプライス変異体、TR2-SV1(図4A～図4C(配列番号5))ならびに

TR2-SV2（図7A～図7C（配列番号8））をコードするポリヌクレオチドを含むか、あるいはそのポリヌクレオチドからなる単離された核酸分子を提供し、これらのアミノ酸配列は、cDNAを配列決定することにより決定された。図1A～図1Bに示されるTR2タンパク質は、マウスCD40レセプター（図2（配列番号3））と配列相同性を共有する。1995年2月13日にAmerican Type Culture Collection, 10801 University Blvd, Manassas, VA 20110-2209, USAに寄託がなされ、そしてATCC受託番号97059が付与された。図1A～図1B（配列番号1）に示されるヌクレオチド配列は、ATCC受託番号97059を割り当てられた寄託プラスミド（クローンID HLHAB49）に含まれるcDNAと同じアミノ酸コード配列を含むと考えられているcDNAを配列決定することによって得られた。

【0022】

本発明のTR2レセプターは、少なくとも4つのヌクレオチドおよび2つのアミノ酸において変更を含むいくつかの対立遺伝子改変体を含む。同定されたヌクレオチド配列改変体は、図1A～図1B（配列番号1）に示すように、ヌクレオチド314でのグアニンまたはアデニンのいずれか、およびヌクレオチド386、624、および627でのチミンまたはシトシンのいずれかを含む。ヌクレオチド624および627での同定された変更はサイレントであるが、ヌクレオチド386での変更は、セリンまたはフェニルアラニンのいずれかをコードするヌクレオチド385～387でのコドンを生じ、ヌクレオチド314での変更は、リジンまたはアルギニンのいずれかをコードするヌクレオチド313～315でのコドンを生じる。

【0023】

図4A～図4C（配列番号4）および図7A～図7B（配列番号7）に示されるヌクレオチド配列もまた、1995年2月13日にAmerican Type Culture Collectionに寄託され、そしてそれぞれ、ATCC受託番号97058（TR2-SV1）および97057（TR2-SV2）が付与されたcDNAを配列決定することによって得られた。寄託されたcD

NAは、pBluescript SK (－) プラスミド (Stratagene, La Jolla, CA) 中に含まれる。

【0024】

本明細書中で使用される場合、句「スプライス変異体」とは、選択的RNAスプライシングを受けた、最初に同じゲノムDNA配列から転写されたRNA分子から産生されたcDNA分子をいう。選択的RNAスプライシングは、最初のRNA転写物がスプライシング（一般的にイントロンの除去）を受け、これがそれぞれ異なるアミノ酸配列をコードし得る1より多くのmRNA分子の産生を生じる場合に起こる。用語「スプライス変異体」はまた、上記のcDNA分子によってコードされるタンパク質をいう。

【0025】

本明細書中で使用される場合、「TR2タンパク質」、「TR2レセプター」、「TR2レセプタータンパク質」および「TR2ポリペプチド」とは、配列番号26、図1A～図1B（配列番号2）、図4A～図4C（配列番号5）、または図7A～図7C（配列番号8）ならびにTR2対立遺伝子変異体において示されるタンパク質に対応するアミノ酸配列同一性およびレセプター活性の領域を有するタンパク質をコードするゲノムDNA配列の選択的スプライシングから生じるすべてのタンパク質をいう。配列番号26および図1A～図1Bに示されるTR2タンパク質、図4A～図4Cに示されるTR2-SV1タンパク質、ならびに図7A～図7Cに示されるTR2-SV2タンパク質は、このようなレセプタータンパク質の例である。

【0026】

（核酸分子）

他に示されない限り、本明細書中でDNA分子を配列決定することによって決定されたすべてのヌクレオチド配列は、自動化DNA配列決定機（例えば、Applied Biosystems, Inc. からのModel 373）を用いて決定され、そして本明細書中で決定されるDNA分子によってコードされるポリペプチドのすべてのアミノ酸配列は、上記のように決定されるDNA配列の翻訳によって推定された。従って、この自動化アプローチによって決定された任

意のDNA配列について当該分野において公知のように、本明細書中で決定される任意のヌクレオチド配列はいくつかの誤りを含み得る。自動化によって決定されるヌクレオチド配列は、配列決定されたDNA分子の実際のヌクレオチド配列に対して、代表的には少なくとも約90%の同一、より代表的には少なくとも約95%から少なくとも約99.9%の同一である。実際の配列は、当該分野において周知の手動DNA配列決定方法を含む他のアプローチによってより正確に決定され得る。当該分野においてまた公知のように、実際の配列と比較した、決定されたヌクレオチド配列における単一の挿入または欠失は、ヌクレオチド配列の翻訳におけるフレームシフトを引き起こし、その結果、決定されたヌクレオチド配列によってコードされる推定されるアミノ酸配列は、このような挿入または欠失の点にて始まる配列決定されたDNA分子によって実際にコードされるアミノ酸配列とは完全に異なる。

【0027】

配列番号26、図1A～図1B、図4A～図4C、または図7A～図7Cにおけるヌクレオチド配列のような、本明細書中に提供される情報を使用して、TR2ポリペプチドをコードする本発明の核酸分子は、標準的なクローニングおよびスクリーニング手順（例えば、出発物質としてmRNAを使用してcDNAをクローニングするために使用されるようなもの）を使用して得られ得る。本発明の例示として、図1A～図1B（配列番号1）に記載される核酸分子は、活性化ヒトTリンパ球に由来するcDNAライブラリーにおいて見出された。図4A～図4C（配列番号4）および図7A～図7C（配列番号7）に記載される核酸分子は、ヒト胎児心臓および刺激された（stimulated）ヒト単球にそれぞれ由来するcDNAライブラリーにおいて見出された。

【0028】

実施例6において記載されるように、TR2 mRNAは、多くの組織（肺、脾臓、および胸腺を含む）において検出され、そしてヒト細胞において遍在的に発現され得る。TR2 RNAもまた、Bリンパ球（CD19⁺）、CD4⁺（T_{H1}クローンおよびT_{H2}クローン）およびCD8⁺の両方のTリンパ球、単球、および内皮細胞において発現することが見出された。

【0029】

実施例6においてもまた注目されるように、TR2 mRNAの産生は、TNF α によってMG63細胞中で誘導可能であった。さらに、TR2 mRNAの蓄積は、PMAまたはDMSO処理の際に、HL60細胞、U937細胞、およびTHP細胞において観察された。PMAおよびDMSOは、これらの3つの細胞型の分化を誘導することが知られている薬剤である。

【0030】

図1A～図1B（配列番号1）のTR2 cDNAの決定されたヌクレオチド配列は、約283アミノ酸残基の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み、約36アミノ酸残基の推定リーダー配列および約30,417 kDaの推定分子量を有する。アミノ酸残基約37～残基約283（配列番号2のアミノ酸残基1～247）の推定成熟TR2レセプターのアミノ酸配列は、図1A～図1Bに示される。この文脈において、「約」は、数個（5、4、3、2、または1）アミノ酸だけより大きいかもしれない、特に列挙される値を含む。実施例6において注記されるように、リーダー配列切断部位の位置は、TR2-Fc融合タンパク質について確認され、そして図1A～図1Bに示されるアミノ酸36とアミノ酸37との間（配列番号2のアミノ酸残基-1～1）に見出された。図1A～図1B（配列番号2）に示されるTR2タンパク質は、配列番号3に示されるマウスCD40タンパク質に対して、約29%同一であり、そして約47%類似である（図2を参照のこと）。

【0031】

同様に、決定されたTR2のスプライス変異体TR2-SV1のcDNAヌクレオチド配列（図4A～図4C（配列番号4））は、約185アミノ酸残基の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み、約36アミノ酸残基の推定リーダー配列および約19.5 kDaの推定分子量を有する。アミノ酸残基約37～残基約185（配列番号5のアミノ酸残基1～149）の推定成熟TR2-SV1レセプターのアミノ酸配列は、図4A～図4C（配列番号5）に示される。この文脈において、「約」は、数個（5、4、3、2、または1）アミノ酸だけより大きいかもしれない、特に列挙される値を含む。図4A～

図4C（配列番号5）に示されるTR2-SV1タンパク質は、配列番号6に示されるヒト2型TNFレセプタータンパク質に対して、約25%同一であり、そして約48%類似である（図5を参照のこと）。

【0032】

決定されたTR2のスプライス変異体TR2-SV2のcDNAヌクレオチド配列（図7A～図7C（配列番号7））は、約136アミノ酸残基の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み、推定リーダー配列を含まず、そして14kDaの推定分子量を有する。アミノ酸残基約1～残基約136の推定成熟TR2-SV2レセプターのアミノ酸配列は、図7A～図7C（配列番号8）に示される。この文脈において、「約」は、数個（5、4、3、2、または1）アミノ酸だけより大きいかまたはより小さい、特に列挙される値を含む。図7A～図7C（配列番号8）に示されるTR2-SV2タンパク質は、配列番号9に示されるヒト2型TNFレセプタータンパク質に対して、約27%同一であり、そして約45%類似である（図8を参照のこと）。

【0033】

図1A～図1B、図4A～図4C、および図7A～図7Cに示されるTR2、TR2-SV1、およびTR2-SV2レセプタータンパク質のヌクレオチド配列およびアミノ酸配列の両方の比較は、ほぼ同一であるいくつかの領域を示す。図1A～図1B（配列番号2）に示されるTR2レセプタータンパク質のアミノ酸配列は、図4A～図4C（配列番号5）に示されるTR2-SV1レセプタータンパク質のアミノ酸配列に対して、約60%同一であり、そして約73%類似であるが、それらのそれぞれの配列の最初の約100アミノ酸においては、2つのタンパク質は1つの位置で異なる（図10）。

【0034】

同様に、図1A～図1B（配列番号2）のTR2レセプタータンパク質のアミノ酸配列は、図7A～図7C（配列番号8）に示されるTR2-SV2レセプタータンパク質のアミノ酸配列に対して、約60%同一であり、そして約71%類似であるが、しかし、2つのタンパク質は、TR2-SV2タンパク質び中心部分の60アミノ酸のストレッチにわたって、ほぼ同一である（図11）。

【0035】

対照的に、TR2-SV1タンパク質およびTR2-SV2タンパク質は、互いに対してアミノ酸レベルではわずかに約20%同一であり、そして約38%類似である。図1A～図1B（配列番号2）に示されるTR2タンパク質に対するこれらのタンパク質のいずれかの比較とは違って、これらのタンパク質は、TR2-SV2タンパク質の全体の136アミノ酸配列にわたってそれらの相同性を共有する（図12）。

【0036】

開示されたTR2タンパク質をコードするcDNAのそれらのヌクレオチド配列に関して、これらの配列の比較は、TR2 cDNAは、核酸レベルではほぼ同一な大きな領域を共有していることを示す（図13A～図13D、図14A～図14D、および図15A～図15F）。TR2およびTR2-SV1タンパク質をコードするcDNA配列は、例えば、それぞれのタンパク質のN末端とそれらの5'および3'非コード領域の両方をコードするそれらのヌクレオチド配列においてほぼ同一な大きな領域を共有する（図13A～図13D）。さらに、TR2-SV1およびTR2-SV2タンパク質をコードするcDNAのヌクレオチド配列は、顕著な相同性を共有するが、しかしこの同一性は、それらのそれぞれのコード配列を十分に超えた3'領域に限定されている（図15A～図15F）。

【0037】

2つの異なるcDNA配列間のほぼ同一なこのような領域は、延長された配列のストレッチにわたって維持される場合、当業者に、それぞれの分子は、もともと同一ゲノムDNA配列から転写されたことを示す。当業者はさらに、1つより多いコドンが同じアミノ酸をコードし得るので、2つのタンパク質間のアミノ酸レベルでの同一性は、これらのタンパク質をコードするDNA配列が同じ同一性の類似領域を共有することを必ずしも意味しないことを理解する。上記のデータは、本発明のTR2レセプターは、単一のゲノムDNA配列から転写され、そして1つの最初のRNA転写物の複数のスプライス変異体を表すことを示す。

【0038】

選択的にスプライシングされるRNAから生成された関連するタンパク質は、スプライス改変体と呼ばれ、当該分野で公知である。例えば、src遺伝子の転写物は、選択的RNAスプライシングを受けて、細胞型特異的産物を生成する。大部分の細胞において、Srcタンパク質は、533アミノ酸からなるが、一方神経細胞においては、さらなる短いエキソンがmRNAに含まれ、539アミノ酸のタンパク質を生じる。Alberts, B. ら、MOLECULAR BIOLOGY OF THE CELL (第3版、Garland Publishing, Inc. 1994)、455を参照のこと。同様に、性特異的mRNA転写物が、Drosophilaにおいて同定されており、ここでは、選択的mRNAスプライシングは、雄においては約550アミノ酸長であり、雌においては約430アミノ酸長である、Dsxと名付けられたタンパク質を生じる。これらの2つのスプライス改変体タンパク質は、約400アミノ酸の共通のコア配列を共有する。同書457を参照のこと。

【0039】

本発明の例において、図1A～図1B（配列番号2）に示されるTR2レセプタータンパク質は、RNAによってコードされる全長ポリペプチドであると考えられ、そこからTR2レセプタータンパク質が翻訳される。図4A～図4C（配列番号5）に示されるTR2-SV1スプライス改変体をコードするRNAは、図1A～図1Bに示されるアミノ酸配列のアミノ酸残基102をコードする領域において挿入を含み、そして図1A～図1Bに示されるアミノ酸配列のアミノ酸残基184をコードする領域において欠失を含むと考えられている。図7A～図7Cに示されるTR2-SV2スプライス改変体をコードするRNAは、図1A～図1Bに示されるアミノ酸配列のアミノ酸残基102をコードするヌクレオチド配列から開始し、そして図1A～図1Bに示されるアミノ酸配列のアミノ酸残基184および234をコードする領域において挿入を含むと考えられている。

【0040】

示されるように、本発明はまた、本発明のTR2レセプターの成熟形態を提供する。シグナル仮説によれば、哺乳動物細胞により分泌されるタンパク質は、粗面小胞体を越える成長タンパク質鎖の搬出が一旦開始されると成熟タンパク質か

ら切断されるシグナル配列または分泌リーダー配列を有する。ほとんどの哺乳動物細胞および昆虫細胞でさえも、同じ特異性で分泌タンパク質を切断する。しかし、いくつかの場合において、分泌タンパク質の切断は、全く一様であるというわけではなく、それはそのタンパク質に関して2つ以上の成熟種を生じる。さらに、分泌タンパク質の切断特異性は、完全タンパク質の一次構造によって最終的に決定されるということが長く知られている。すなわち、それは、ポリペプチドのアミノ酸配列に固有のものである。従って、本発明は、ATCC寄託番号97059および97058として同定される寄託物中に含まれるcDNAによりコードされるアミノ酸配列ならびに配列番号26、図1A-1B（配列番号2）および図4A-4C（配列番号5）において示されるようなアミノ酸配列を有する成熟TR2ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を提供する。ATCC寄託番号97059および97058として同定される寄託物内に含まれるcDNAによってコードされるアミノ酸配列を有する成熟TR2ポリペプチドによって、寄託されたプラスミドに含まれるcDNAのヒトDNA配列によってコードされる完全オープンリーディングフレームの哺乳動物細胞（例えば、以下に記載されるようなCOS細胞）における発現によって産生されるTR2レセプターの成熟形態が意図される。

【0041】

本発明はまた、図7A-7C（配列番号8）のTR2-SV2レセプタータンパク質（ATCC寄託番号97057内に含まれるcDNAによりコードされるアミノ酸配列を有し、分泌リーダー配列を含まない）をコードする核酸配列を提供する。

【0042】

タンパク質が分泌リーダーおよびそのリーダー配列のための切断部位を有するか否かを予想するための方法が利用可能である。例えば、McGeochの方法（Virus Res. 3:271-286（1985））およびvon Heijneの方法（Nucleic Acids Res. 14:4683-4690（1986））が使用され得る。これらの各方法についての公知の哺乳動物分泌タンパク質の切断点推定の正確さは、75～80%の範囲である。von

Heinje、前出。しかし、この2つの方法は、必ずしも所定のタンパク質に関して同じ推定切断点を作製しない。

【0043】

この場合において、図1A-1B（配列番号2）、図4A-4C（配列番号5）および図7A-7C（配列番号8）に示される完全TR2ポリペプチドの推定アミノ酸配列は、コンピュータープログラム（「PSORT」）（K. NakaiおよびM. Kanehisa、Genomics 14:897-911（1992）、これはアミノ酸配列に基づくタンパク質の細胞位置を推定するための熟練したシステムである）によって分析された。McGeochおよびvon Heinjeの方法を、局在化のこの計算推定の部分として援用する。PSORTプログラムによる分析は、配列番号2および配列番号5において、アミノ酸-1とアミノ酸1との間の切断部位を推定した。その後、完全アミノ酸配列を、von Heinの（-1、-3）ルールの単純形態を適用して、目視検査によってさらに分析した。von Heinje、前出。従って、配列番号2に示されるTR2タンパク質およびTR-2SV1タンパク質に対するリーダー配列が、配列番号2および配列番号5の両方におけるアミノ酸残基-36~-1から構成されることが推定されるが、その推定成熟TR2タンパク質は、配列番号2に示されるTR2タンパク質のアミノ酸残基1~247および配列番号5に示されるTR-2-SV1のアミノ酸残基1~149から構成される。

【0044】

実施例6に記載されるように、TR2-Fc融合タンパク質のリーダー配列の切断部位を、発現された融合タンパク質のアミノ酸分析を使用して、確認した。この融合タンパク質は、アミノ酸37にて始まることが見出されており、これは、配列番号2および配列番号5におけるアミノ酸1に対応し、リーダー配列の切断部位が、このタンパク質のアミノ酸36と37との間にあることを示す（配列番号2および配列番号5におけるアミノ酸残基-1~-1に対応する）。

【0045】

しかし、当業者が理解するように、配列決定誤差の可能性ならびに異なる公知のタンパク質におけるリーダーについての切断部位の変異性に起因して、ATC

C寄託番号97059のcDNAによりコードされるTR2レセプターポリペプチドは、およそ283個のアミノ酸を含むが、250～316個のアミノ酸の範囲のどこかに存在し得；そしてこのタンパク質のリーダー配列は、およそ36個のアミノ酸であるが、およそ30～およそ2個のアミノ酸の範囲のどこかに存在し得る。同様に、ATCC寄託番号97058のcDNAによりコードされるTR2-SV1レセプターポリペプチドは、およそ185個のアミノ酸を含むが、163～207個のアミノ酸の範囲のどこかに存在し得；そしてこのタンパク質のリーダー配列は、およそ36個のアミノ酸であるが、およそ30～およそ42個のアミノ酸の範囲のどこかに存在し得る。さらに、ATCC寄託番号97057のcDNAによりコードされるTR2-SV2レセプターポリペプチドは、およそ136個のアミノ酸を含むが、120～152個のアミノ酸の範囲のどこかに存在し得る。この文脈において、「およそ」とは、特に列挙された値およびいくつ（5、4、3、2、または1）のアミノ酸だけ大きいかまたは小さい値を含む。

【0046】

配列番号26に示されるTR2タンパク質についてのリーダー配列は、配列番号26において、アミノ酸残基-38～-1から構成されることが推定されるが、推定される成熟TR2タンパク質は、配列番号26においてアミノ酸残基1～245から構成される。

【0047】

示されるように、本発明の核酸分子は、RNAの形態（例えば、mRNA）で、またはDNAの形態（例えば、クローニングにより得られるか、もしくは合成的に生成された、cDNAおよびゲノムDNAを含む）であってもよい。このDNAは、二本鎖であってもまたは一本鎖であってもよい。一本鎖DNAまたは一本鎖RNAは、コード鎖（センス鎖としてもまた公知である）であってもよいし、または非コード鎖（アンチセンス鎖としてもいわれる）であってもよい。

【0048】

「単離された」核酸分子とは、その天然の環境から取り出された核酸分子（DNA、またはRNA）を意図する。例えば、ベクターに含まれる組換えDNA分

子は、本発明の目的のために単離されたと考えられる。単離されたDNA分子のさらなる例は、異種宿主細胞中で維持される組換えDNA分子、または溶液中の（部分的に、または実質に）精製されたDNA分子を含む。単離されたRNA分子は、本発明のインビボまたはインビトロのDNA分子のRNA転写産物を含む。本発明に従う単離された核酸分子は、合成的に生成されたそのよう分子をさらに含む。

【0049】

しかし、ライブラリー（例えば、ゲノムライブラリーまたはcDNAライブラリー）のメンバーであり、かつライブラリーの他のクローンから単離されていないクローン中に含まれる核酸（例えば、ライブラリーのクローンおよび他のメンバーを含む均質な溶液の形態で）、または細胞もしくは細胞溶解物から単離または取り出された染色体（例えば、核型における場合「染色体スプレッド（spread）」）は、本発明の目的に関して「単離されて」いない。さらに本明細書中で議論するように、本発明に従う単離された核酸分子は、天然に、組換え的にまたは合成的に産生され得る。

【0050】

本発明の単離された核酸分子としては、配列番号26または図1A-1B（配列番号1）にて示されるオープンリーディングフレーム（ORF）を含むか、あるいはそれらから構成されるDNA分子；配列番号26（最後の245個のアミノ酸）または図1A-1B（配列番号2）（最後の247個のアミノ酸）にて示される成熟TR2レセプターについてのコード配列を含むか、あるいはそれらから構成されるDNA分子；および遺伝子コードの縮重に起因して、上記の配列とは実質的に異なるが、配列番号26または図1A-1B（配列番号2）にて示されるTR2レセプタータンパク質をなおもコードする配列を含むか、あるいはそれらから構成されるDNA分子が挙げられる。当然のことながら、遺伝コードは当該分野で周知である。従って、当業者にとって、そのような縮重改変体を生成することは慣用的である。

【0051】

同様に、本発明の単離された核酸分子としては、図4A-4C（配列番号4）

にて示されるオープンリーディングフレーム（ORF）を含むか、あるいはそれらから構成されるDNA分子；図4A-4C（配列番号5）（最後の149個のアミノ酸）にて示される成熟TR2-SV1レセプターについてのコード配列を含むか、あるいはそれらから構成されるDNA分子；および遺伝コードの縮重に起因して、上記の配列とは実質的に異なるが、TR2-SV1レセプターをなおもコードする配列を含むか、あるいはそれらから構成されるDNA分子が挙げられる。

【0052】

さらに、本発明の単離された核酸分子としては、図7A-7C（配列番号7）にて示されるオープンリーディングフレーム（ORF）を含むか、あるいはそれらから構成されるDNA分子および遺伝コードの縮重に起因して、上記の配列とは実質的に異なるが、TR2-SV2レセプターをなおもコードする配列を含むか、あるいはそれらから構成されるDNA分子が挙げられる。

【0053】

別の局面において、本発明は、1995年2月13日にATCC寄託番号97059、97058および97057としてそれぞれ寄託されたプラスミド中に含まれるcDNAによってコードされるアミノ酸配列を有するTR2、TR2-SV1およびTR2-SV2ポリペプチドをコードする単離された核酸分子を提供する。さらなる実施形態において、これらの核酸分子は、N-末端メチオニンを欠失する成熟ポリペプチドまたは全長ポリペプチドをコードする。本発明はさらに、配列番号25、図1A-1B（配列番号1）、図4A-4C（配列番号4）、および図7A-7C（配列番号7）に示されるヌクレオチド配列を有する、単離された核酸分子；上記の寄託されたcDNAに含まれるcDNAのヌクレオチド配列；または上記の配列の1つに相補的な配列を有する核酸分子を提供する。このような単離された分子、特に、DNA分子は、例えば、染色体を用いたインサイチュハイブリダイゼーションによる遺伝子地図のためのプローブとして、そして例えばノーザンブロット分析によるヒト組織における本発明のTN2レセプター遺伝子の発現を検出するためのプローブとして有用である。

【0054】

本発明のさらなる実施形態は、(a) 配列番号26、図1A-1B (配列番号2のアミノ酸残基-36~247)、図4A-4C (配列番号5のアミノ酸残基-36~149) または図7A-7C (配列番号8のアミノ酸残基1~136) に示される完全アミノ酸配列を有するTR2ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列；(b) 配列番号26、図1A-1B (配列番号2のアミノ酸残基-35~247)、図4A-4C (配列番号5のアミノ酸残基-35~149) または図7A-7C (配列番号8のアミノ酸残基2~136) に示される完全アミノ酸配列をコードするが、N末端メチオニンを欠失するヌクレオチド；(c) 配列番号26のおよそ1位~およそ245位、図1A~1Bのおよそ37位~283位 (配列番号2のアミノ酸残基1~247)、または図4A~4Cのおよそ37位~およそ185位におけるアミノ酸配列 (配列番号5のアミノ酸残基1~149)、あるいは図7A-7C (配列番号8) のおよそ1位~およそ136位におけるアミノ酸配列を有する成熟TR2レセプター (任意の付随のリーダー配列が除去された全長ポリペプチド) をコードするヌクレオチド配列；(d) それぞれ、ATCC寄託番号97059、97058、および97057に含まれるcDNAによりコードされるリーダーを含む、完全アミノ酸配列を有するTR2、TR2-SV1もしくはTR2-SV2ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列；(e) それぞれ、ATCC寄託番号97059および97058に含まれるcDNAによりコードされるアミノ酸配列を有する成熟TR2もしくはTR2-SV1レセプターをコードするヌクレオチド配列；(f) TR2もしくはTR2-SV1レセプター細胞外ドメインをコードするヌクレオチド配列；(g) TR2レセプター膜貫通ドメインをコードするヌクレオチド配列；(h) TR2レセプター細胞内ドメインをコードするヌクレオチド配列；(i) 欠失された膜貫通ドメインの全てまたは部分を有するTR2レセプター細胞外ドメインおよび細胞内ドメインをコードするヌクレオチド配列；ならびに(j) (a)、(b)、(c)、(d)、(e)、(f)、(g)、(h) または(i) のヌクレオチド配列のいずれかと相補的なヌクレオチド配列と少なくとも80%同一、およびより好ましくは少なくとも85%、90%、92%、95%、96%、97%、98%または99%同一であるヌクレオチド配列を有するポリヌクレオチドを含むか

、あるいはそれらからなる単離された核酸分子を含む。この文脈において、「およそ」とは、特に列挙された値およびいくつか（5、4、3、2、または1）のアミノ酸だけ大きいかまたは小さい値を含む。

【0055】

例えば、TR2レセプターポリペプチドをコードする参照ヌクレオチド配列に少なくとも95%「同一」のヌクレオチド配列を有するポリヌクレオチドによって、ポリヌクレオチド配列がTR2レセプターをコードする参照ヌクレオチド配列のそれぞれ100ヌクレオチドあたり5つまでの不一致（mismatch）を含み得ることを除いて参照配列に同一である、ということが、意図される。言いかえると、参照ヌクレオチド配列に少なくとも95%同一のヌクレオチド配列を有するポリヌクレオチドを得るために、参照配列におけるヌクレオチドの5%までが、欠失され得るかまたは別のヌクレオチドで置換され得るか、あるいは参照配列における全ヌクレオチドの5%までの多くのヌクレオチドが、参照配列に挿入され得る。参照配列のこれらの不一致は、参照ヌクレオチド配列の5'または3'末端位置または参照配列におけるヌクレオチドの中で個々にかまたは参照配列内の1以上の隣接した群においてのいずれかで分散されて、これらの末端部分の間のどこでも起こり得る。この参照（問い合わせ）配列は、本明細書中で記載されるように、配列番号25、図1A-1B（配列番号1）、図4A-4C（配列番号4）、または図7A-7C（配列番号7）に示されるヌクレオチド配列をコードする全TR2レセプター、あるいは任意のTR2レセプターポリヌクレオチドフラグメント（例えば、本明細書中に記載される、任意のTR2レセプターN末端欠失および／またはC末端欠失のアミノ酸配列をコードするポリヌクレオチド）、改変体、誘導体もしくはアナログであり得る。

【0056】

実際問題として、任意の特定の核酸分子が、例えば、配列番号25、図1A-1B（配列番号1）、図4A-4C（配列番号4）、または図7A-7C（配列番号7）に示されるコードヌクレオチド配列に対して、あるいは寄託されたcDNAのヌクレオチド配列に対して少なくとも80%、85%、90%、92%、95%、96%、97%、98%、または99%同一であるか否かは、公知のコ

ンピュータープログラム（例えば、Best fit program (Wisconsin Sequence Analysis Package, Version 8 for Unix (登録商標), Genetics Computer Group, University Research Park, 575 Science Drive, Madison, WI 53711)）を使用して従来どおり決定され得る。Best fitは、SmithおよびWatermanの局所的相同性アルゴリズムを用いて、2つの配列間の最も良好な相同性セグメントを見出す(Advances in Applied Mathematics 2:482~489 (1981))。Best fitまたは任意の他の配列整列プログラムを用いて、特定の配列が、本発明に従う参照配列に対して、例えば、95%同一であるか否かを決定する場合は、当然のことながら、同一性のパーセントが参照ヌクレオチド配列の全長にわたり計算され、そして参照配列におけるヌクレオチド数全体の5%までの相同性におけるギャップが許容されるように、パラメーターが設定される。

【0057】

特定の実施形態では、参照（問い合わせ）配列（本発明の配列）と対象配列との間の同一性（全体的な配列整列ともいわれる）は、Brutlagらのアルゴリズム(Comp. App. Biosci. 6:237~245 (1990))に基づくFASTDBコンピュータプログラムを使用して決定される。%同一性を計算するために、DNA配列のFASTDB整列において使用される好ましいパラメーターは: Matrix=Unitary、k-tuple=4、Mismatch Penalty=1、Joining Penalty=30、Randomization Group Length=0、Cutoff Score=1、Gap Penalty=5、Gap Size Penalty=0.05、Window Size=500または対象ヌクレオチド配列の長さ（どちらかより短い方）である。この実施形態に従って、対象配列が、5'または3'欠失に起因して（内部の欠失が理由ではなく）問い合わせ配列よりも短い場合、FASTDBプログラムが、同一性パーセントを算定する場合に、対象配列の5'短縮化および3'短縮化を考慮しないという事実を考慮して、手

動の補正が結果に対してなされる。問い合わせ配列と比較して5'末端または3'末端が短縮化された対象配列については、同一性パーセントは、一致／整列していない、対象配列の5'および3'である問い合わせ配列の塩基数を、問い合わせ配列の総塩基のパーセントとして計算することにより補正される。ヌクレオチドが一致／整列しているか否かの決定は、FASTDB配列整列の結果によって決定される。次いで、このパーセントが、指定されたパラメーターを使用する上記のFASTDBプログラムによって計算された同一性パーセントから差し引かれ、最終的な同一性パーセントスコアに到達する。この補正されたスコアが、本実施形態の目的で使用されるものである。問い合わせ配列と一致／整列していない対象配列の5'塩基および3'塩基の外側の塩基のみが、FASTDB整列に示されるように、同一性パーセントスコアを手動で調整する目的で計算される。例えば、90塩基の対象配列が、同一性パーセントを決定するために100塩基の問い合わせ配列と整列される。その欠失は、対象配列の5'末端で生じ、従ってFASTDB整列は、5'末端の最初の10塩基の一致／整列を示さない。10個の不对合塩基は、配列の10%（整合していない5'末端および3'末端での塩基の数／問い合わせ配列中の塩基の総数）を表し、そのため10%が、FASTDBプログラムによって計算される同一性パーセントのスコアから差し引かれる。残りの90残基が完全に整合する場合、最終的な同一性パーセントは90%である。別の例において、90残基の対象配列が、100塩基の問い合わせ配列と比較される。この場合、その欠失は内部欠失であり、そのため問い合わせ配列と整合／整列しない対象配列の5'末端または3'末端の塩基は存在しない。この場合、FASTDBによって算定される同一性パーセントは、手動で補正されない。再度、問い合わせ配列と整合／整列しない対象配列の5'末端および3'末端の塩基のみが手動で補正される。他の手動の補正は、本実施形態の目的のためにはなされない。

【0058】

本出願は、それらが、TR2レセプターの機能的活性を有するポリペプチドをコードするか否かとは関係なく、本明細書中に開示される（例えば、本明細書中に開示されるN末端欠失および／またはC末端欠失のアミノ酸配列を有するポリ

ペプチドをコードする) 核酸配列 (例えば、配列番号2のアミノ酸50～283をコードする核酸分子)) に対して少なくとも80%、85%、90%、92%、95%、96%、97%、98%、または99%同一である核酸分子に関する。これは、特定の核酸分子が、TR2レセプター活性を有するポリペプチドをコードしない場合でさえ、当業者は、例えば、ハイブリダイゼーションプローブまたはポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) プライマーとして、核酸分子を使用する方法をなお理解しているという理由のためである。TR2レセプター活性を有するポリペプチドをコードしない本発明の核酸分子の使用としては、とりわけ、以下が挙げられる: (1) cDNAライブラリー中のTR2レセプター遺伝子またはその対立遺伝子もしくはスプライス (splice) 改変体の単離; (2) TR2レセプター遺伝子の正確な染色体位置を提供するための、分裂中期染色体スプレッドへのインサイチュハイブリダイゼーション (例えば、「FISH」) (Vermaら, Human Chromosomes: A Manual of Basic Techniques, Pergamon Press, New York (1988) に記載される); および (3) 特定の組織におけるTR2レセプターmRNA発現を検出するためのノーザンブロット分析。

【0059】

しかし、配列番号25、図1A-1B (配列番号1)、図4A-4C (配列番号4) または図7A-7C (配列番号7) に示される核酸配列、または寄託されたcDNAの核酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、92%、95%、96%、97%、98%、または99%同一である配列を有する核酸分子であって、実際に、TR2レセプター活性を有するポリペプチドをコードする核酸分子が好ましい。

【0060】

好ましくは、本発明のポリヌクレオチドフラグメントは、TR2機能的活性を実証するポリペプチドをコードする。「TR2レセプター活性を有するポリペプチド」によって、例えば、特定の免疫アッセイおよび生物学的アッセイにおいて測定された場合、本発明のTR2レセプター (例えば、完全 (全長) TR2レセプターポリペプチド、成熟TR2レセプターポリペプチド、分泌TR2レセプタ

ーポリペプチド、および可溶性TR2レセプターポリペプチド（例えば、TR2レセプターの細胞外ドメインに含まれる配列を有する）の活性と類似するが必ずしも同一でない活性を示すポリペプチドが意図される。例えば、TR2レセプター活性は、TR2レセプターリガンド（例えば、AIM II（国際公開第WO97/34911号）、リンホトキシン- α 、およびヘルペスウイルスタンパク質HSV1gD）と結合するTR2レセプターポリペプチドの能力を決定することによって慣用的に測定され得る。TR2レセプター活性は、以下の実施例6に記載されるように、リンパ球増殖を阻害する、ポリペプチドFc融合タンパク質の能力を決定することによって測定され得る。TR2レセプター活性はまた、ポリペプチドの能力（例えば、遊離しているか、または細胞表面上に発現される同族リガンドが、そのレセプターを発現するインタクトな細胞における増殖活性を与える能力）を決定することによって測定され得る。

【0061】

他の方法が、当業者に公知であり、かつ本発明の範囲内である。

【0062】

もちろん、遺伝子コードの縮重のために、当業者は、寄託されたcDNAの核酸配列あるいは配列番号25、図1A-1B（配列番号1）、図4A-4C（配列番号4）または図7A-7C（配列番号7）に示される核酸配列に少なくとも80%、85%、90%、92%、95%、96%、97%、98%、または99%同一である配列を有する多数の核酸分子が「TR2レセプター活性を有する」ポリペプチドをコードすることを直ちに認識する。実際に、これらのヌクレオチド配列の縮重改変体の全てが同じポリペプチドをコードするので、このことは、上記の比較アッセイを行うことすら必要なく、当業者に明らかである。縮重改変体でないそのような核酸分子について、妥当な数がまたTR2タンパク質活性を有するポリペプチドをコードすることが、当該分野でさらに認識される。これは、当業者が、タンパク質の機能に有意に影響する可能性が低いか、またはその可能性がないかのいずれかのアミノ酸置換（例えば、1つの脂肪族アミノ酸の第二の脂肪族アミノ酸での置換）を十分に知っているからである。

【0063】

例えば、表現型的にサイレントなアミノ酸置換を如何にして生じるかに関するガイダンスが、Bowie, J. U. ら、「Deciphering the Message in Protein Sequences: Tolerance to Amino Acid Substitutions」Science 247:1306-1310 (1990) に提供され、ここで筆者らは、タンパク質が、アミノ酸置換に驚くほど寛容性であることを示す。

【0064】

本発明はさらに、本明細書中に記載される単離された核酸分子のフラグメントを含むか、またはそれらから構成されるポリヌクレオチドに関する。寄託されたcDNAのヌクレオチド配列または配列番号25、図1A-1B（配列番号1）、図4A-4C（配列番号4）もしくは図7A-7C（配列番号7）示されるヌクレオチド配列を有する単離された核酸分子のフラグメントによって、少なくともおよそ15nt長、およびより好ましくは少なくともおよそ20nt長、さらにより好ましくは少なくともおよそ30nt長、およびなおより好ましくは、少なくともおよそ40nt長のフラグメントが意図され、これらは本明細書中で議論されるような診断プローブおよびプライマーとして有用である。この文脈において、「およそ」とは、特に列挙された値およびいくつか（5、4、3、2、または1）のヌクレオチドだけ大きいかまたは小さい値を含む。

【0065】

もちろん、50、75、100、125、150、175、200、225、250、275、300、325、350、375、400、425、450、475、500、525、550、575、600、625、650、675、700、725、750、775、800、825または848nt長のより大きなフラグメントもまた、本発明に従って有用であり、寄託されたcDNAのヌクレオチド配列または配列番号25、図1A-1B（配列番号1）、図4A-4C（配列番号4）もしくは図7A-7C（配列番号7）に示されるほとんど（全てではないとしても）のヌクレオチド配列に対応するフラグメントも同様に有用である。例えば、少なくとも20nt長のフラグメントによって、寄託されたcDNAのヌクレオチド配列または配列番号25、図1A-1B（配列番号1）、

図4A-4C（配列番号4）もしくは図7A-7C（配列番号7）に示されるヌクレオチド配列に由来する20個以上の連続する塩基を含むフラグメントが意図される。

【0066】

本発明の好ましい核酸フラグメントとしては、成熟TR2-SV1レセプター（図4A-4Cにおいて、およそ37～およそ185のアミノ酸残基（配列番号5における、アミノ酸残基1～149）を構成すると推定される）および完全TR2-SV2レセプター（図7A-7C（配列番号8）において、およそ1～およそ136のアミノ酸残基を構成すると推定される）を含むか、あるいはそれらから構成されるポリペプチドをコードする核酸分子が挙げられる。この文脈において、「およそ」とは、特に列挙された値およびいくつか（5、4、3、2、または1）のアミノ酸だけ大きいかまたは小さい値を含む。

【0067】

上記のリーダー配列と同様に、細胞外ドメイン、膜貫通ドメインおよび細胞内ドメインを構成するアミノ酸残基が、コンピュータ分析によって推定される。従って、当業者が理解するように、各ドメインを定義するために使用される判定基準に依存して、これらのドメインを構成するアミノ酸残基は、わずかに変動し得る（例えば、およそ1～およそ15アミノ酸残基まで）。この文脈において、「およそ」とは、特に列挙された値およびいくつか（5、4、3、2、または1）のアミノ酸だけ大きいかまたは小さい値を含む。

【0068】

本発明の好ましい核酸フラグメントとしてはまた、以下をコードする核酸分子が挙げられる：図1A-1B（配列番号2）のTR2レセプタータンパク質の細胞外ドメイン（図1A-1Bにおいて、およそ37～およそ200アミノ酸残基（配列番号2における、アミノ酸残基1～164）を構成すると推定される）を含むか、あるいはそれから構成されるポリペプチド；TR2レセプター膜貫通ドメイン（図1A-1Bにおいて、アミノ酸残基201～225（配列番号2における、アミノ酸残基165～189））を含むか、あるいはそれから構成されるポリペプチド；TR2レセプター細胞内ドメイン（図1A-1Bにおいて、およそ

そ226～およそ283アミノ酸残基（配列番号2における、アミノ酸残基190～247）を構成すると推定される）を含むか、あるいはそれから構成されるポリペプチド；ならびに欠失された膜貫通ドメインの全てまたは部分を有する、図1A-1B（配列番号2）のTR2レセプタータンパク質の細胞外ドメインおよび細胞内ドメインを含むか、あるいはそれから構成されるポリペプチド。この文脈において、「およそ」とは、特に列挙された値およびいくつか（5、4、3、2、または1）のアミノ酸だけ大きいかまたは小さい値を含む。

【0069】

本発明の好ましい核酸フラグメントとしてはまた、配列番号26に示されるアミノ酸配列（付随するリーダー配列（それぞれ、配列番号26のアミノ酸残基38～162および配列番号26のアミノ酸残基1～162）を有するアミノ酸配列およびそれを有さないアミノ酸配列の両方）を有するTR2タンパク質の細胞外ドメインのアミノ酸残基をコードする核酸分子が挙げられる。

【0070】

本発明の好ましい核酸フラグメントはまた、TR2レセプタータンパク質のエピトープ保有部分をコードする核酸分子を含む。詳細には、本発明のそのような核酸フラグメントとしては以下をコードする核酸分子が挙げられる：図1A-1Bにおけるおよそ39～およそ70アミノ酸残基（配列番号2におけるアミノ酸残基3～34）から選択される1、2、3、4、5個以上のアミノ酸配列を含むか、あるいはそれらから構成されるポリペプチド；図1におけるおよそ106～およそ120のアミノ酸残基（配列番号2におけるアミノ酸残基70～80）を含むか、あるいはそれから構成されるポリペプチド；図1A-1Bにおけるおよそ142～およそ189アミノ酸残基（配列番号2のアミノ酸残基106～153）を含むか、あるいはそれから構成されるポリペプチド；図1A-1Bにおけるおよそ276～およそ283アミノ酸残基（配列番号2のアミノ酸残基240～247）を含むか、あるいはそれから構成されるポリペプチド；図4A-4Cにおけるおよそ39～およそ70アミノ酸残基（配列番号5のアミノ酸残基3～34）を含むか、あるいはそれから構成されるポリペプチド；図4A-4Cにおけるおよそ99～およそ136アミノ酸残基（配列番号5のアミノ酸残基63～

100) ; 図4A-4Cにおけるおよそ171~およそ185アミノ酸残基(配列番号5のアミノ酸残基135~149) ; 図7A-7Cにおけるおよそ56~およそ68アミノ酸残基(配列番号8) ; 図7A-7Cにおけるおよそ93~およそ136アミノ酸残基(配列番号8)。この文脈において、「およそ」とは、特に列挙された値およびいくつか(5、4、3、2、または1)のアミノ酸だけ大きいかまたは小さい値を含む。本発明者らは、上記ポリペプチドフラグメントがTR2レセプターの抗原領域であることを決定した。TR2タンパク質の他のそのようなエピトープ保有部分を決定するための方法が、以下に詳細に記載される。これらのポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドはまた、本発明に含まれる。

【0071】

TR2レセプターポリヌクレオチドフラグメントの代表的な例としては、例えば、配列番号1のおよそ1~64、65~100、101~150、151~200、201~250、251~300、301~350、351~372、373~450、451~500、501~550、551~600、601~650、651~700、701~750、751~800、801~850、851~900、901~950、951~1000、1001~1050、1051~1100、1070~1113、1101~1150、1151~1200、1201~1250、1251~1300、1301~1350、1351~1400、1401~1450、1451~1500、1501~1550、1551~1600、もしくは1601~1670ヌクレオチドに由来する配列、ATCC寄託番号97059として同定される寄託物に含まれるcDNAもしくはこれらのフラグメントのいずれかの相補鎖を含むか、またはそれらから構成される、フラグメントが挙げられる。この文脈において、「およそ」とは、いずれかの末端もしくは両末端において、特に列挙された範囲(いくつか(5、4、3、2、または1)のヌクレオチドだけ大きいかまたは小さい)を含む。これらのポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドもまた、本発明に含まれる。

【0072】

本発明のTR2レセプターポリヌクレオチドフラグメントのさらなる代表的な例としては、例えば、配列番号4のおよそ373～433、373～450、451～500、501～550、551～600、601～650、651～700、701～750、751～800、801～850、851～900、もしくは901～927のヌクレオチド、配列番号7のおよそ247～300、301～350、351～372、373～450、451～500、501～550、551～600、もしくは601～654ヌクレオチド、またはATCC寄託番号97058もしくは97057として同定される寄託物に含まれるcDNAあるいはこれらのポリヌクレオチドのいずれかの相補鎖に由来する配列を含むか、あるいはそれらから構成される、フラグメントが挙げられる。この文脈において、「およそ」とは、いずれかの末端もしくは両末端において、特に列挙された範囲（いくつか（5、4、3、2、または1）のヌクレオチドだけ大きいかまたは小さい）を含む。これらのポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドもまた、本発明に含まれる。

【0073】

図1A-1Bに開示される、一つ以上のTR2レセプターのシステイン反復領域が、TR2レセプターとそのリガンド（例えば、AIM II（国際公開第WO97/34911号）、リンホトキシン- α 、およびヘルペスウイルスタンパク質HSV1糖タンパク質D（gD））との間の相互作用について重要であると考えられる。従って、本発明の特定の実施形態は、図16に開示され、かつ実施例6に記載されるシステイン反復領域A、B、CまたはDのアミノ酸配列を含むか、あるいはそれらから構成される、ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドに関する。本発明のさらなる実施形態は、図16に開示され、かつ実施例6に記載されるシステイン反復領域A～Dの1、2、3、または4つ全ての任意の組み合わせを含むか、あるいはそれらから構成される、TR2レセプターポリペプチドをコードするポリヌクレオチドに関する。本発明のさらなる好ましい実施形態は、図16に開示され、かつ実施例6に記載されるシステイン反復領域A、B、C、またはDのTR2レセプターアミノ酸配列を含むか、あるいはそれらから構成される、ポリペプチドに関する。本発明のさらなる実施形態は、図16に開

示され、かつ実施例6に記載されるシステイン反復領域A-Dの1、2、3、または4つ全ての任意の組み合わせを含むか、あるいはそれらから構成される、TR2レセプターポリペプチドに関する。

【0074】

特定の実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、1、2、または3つすべての上記のシステインリッチモチーフをコードするポリヌクレオチド配列に対して、少なくとも80%、85%、90%、92%、95%、96%、97%、98%、または99%同一であるポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはそれらのポリヌクレオチド配列からなる。本発明はまた、異種ポリヌクレオチド配列に融合された上記ポリヌクレオチド配列を含む。これらの核酸配列および／またはポリヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチドもまた、本発明に包含される。

【0075】

別の実施形態では、本発明は、ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下で、1、2、または3つすべての上記のシステインリッチモチーフ、上記の本発明のポリヌクレオチド、またはそれらの相補鎖に対してハイブリダイズするポリヌクレオチドを含むか、あるいはそれらのポリヌクレオチドからなる単離された核酸分子を提供する。本明細書中で使用される場合の句「ストリンジェントな条件」の意味は、以下において記載される。

【0076】

好ましくは、本発明のポリヌクレオチドフラグメントは、TR2レセプターの1以上の機能的活性を示すポリペプチドをコードする。TR2レセプターの「機能的活性」を示すポリペプチドとは、全長（完全な）TR2レセプタータンパク質と関連した1以上の公知の機能的活性を示し得るポリペプチドを意味する。このような機能的活性としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：生物学的活性（例えば、B細胞増殖の阻害）、抗原性、免疫原性（TR2レセプターポリペプチドに結合する抗体を産生する能力）、抗TR2レセプター抗体に結合する（または、結合について、TR2レセプターポリペプチドと競合する）能力、本発明のTR2レセプターポリペプチドとマルチマーを形成する能力、なら

びにTR2レセプターポリペプチド（例えば、AIM II（国際公開番号WO 97/34911）、リンホトキシン- α 、およびヘルペスウイルスタンパク質HSV1糖タンパク質D（gD）についてのレセプターまたはリガンドに結合する能力。

【0077】

TR2レセプターポリペプチド、ならびにそのフラグメント、改変体、誘導体、およびアナログの機能的活性は、種々の方法によりアッセイされ得る。

【0078】

例えば、TR2レセプター抗体と結合するか、またはTR2レセプター抗体との結合に関して全長TR2レセプターポリペプチドと競合する能力をアッセイする、1つの実施形態において、当該分野において公知の種々のイムノアッセイが使用され得る。このようなアッセイとしては、放射イムノアッセイ、ELISA（酵素結合イムノソルベント検定法）、「サンドイッチ」イムノアッセイ、イムノラジオメトリックアッセイ、ゲル拡散沈降反応、免疫拡散アッセイ、インサイチュイムノアッセイ（例えば、金コロイド、酵素または放射性同位体標識を用いる）、ウェスタンブロット、沈降反応、凝集アッセイ（例えば、ゲル凝集アッセイ、血球凝集アッセイ）、補体結合アッセイ、免疫蛍光アッセイ、プロテインAアッセイ、および免疫電気泳動アッセイなどのような技術を用いる競合および非競合アッセイ系が挙げられるが、これらに限定されない。1つの実施形態では、抗体結合が、一次抗体上の標識を検出することによって検出される。別の実施形態では、この一次抗体は、この一次抗体に対する二次抗体または試薬の結合を検出することによって検出される。さらなる実施形態では、この二次抗体が標識される。多くの手段が、イムノアッセイにおける結合の検出について当該分野で公知であり、そして本発明の範囲内である。

【0079】

別の実施形態において、TR2レセプターリガンドが同定される場合（例えば、AIM II（国際公開番号WO 97/34911）、リンホトキシン- α 、およびヘルペスウイルスタンパク質HSV1 gD）、または本発明のポリペプチドフラグメント、改変体、または誘導体がマルチマー化する能力が評価される

場合、結合が、例えば、還元および非還元ゲルクロマトグラフィー、タンパク質アフィニティークロマトグラフィー、ならびにアフィニティブロットングのような当該分野で周知の手段によって、アッセイされ得る。一般には、Phizicky、E. ら、Microbiol. Rev. 59:94-123 (1995)を参照のこと。別の実施形態では、その基質へのTR2レセプターの結合の生理学的相関（シグナル伝達）がアッセイされ得る。

【0080】

さらに、本明細書中で記載されるアッセイ（例えば、実施例6および8を参照のこと）および当該分野において公知の他のアッセイは、TR2レセプターポリペプチドならびにそのフラグメント、改変体、誘導体、およびアナログがTR2レセプター関連生物学的活性（例えば、インビトロまたはインビボでの、B細胞増殖の阻害）を誘発する能力を測定するために慣用的に適用され得る。他の方法は、当業者に公知であり、そして本発明の範囲内である。

【0081】

別の局面では、本発明は、ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下で、上記の本発明の核酸分子（例えば、上記のポリヌクレオチドフラグメントの相補体またはATCC受託番号97059、97058、および97057に含まれるcDNA）の1つのポリヌクレオチドの部分にハイブリダイズするポリヌクレオチドを含むか、あるいはそれらのポリヌクレオチドからなる単離された核酸分子を提供する。「ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件」とは、50%ホルムアミド、5×SSC（750mM NaCl、75mMクエン酸三ナトリウム）、50mMリン酸ナトリウム（pH7.6）、5×デンハルト溶液、10%硫酸デキストラン、および20μg/ml変性剪断サケ精子DNAを含むかあるいはそれらからなる溶液中での42℃での一晚インキュベーション、続いて0.1×SSC中で約65℃にてフィルターを洗浄することを意図される。

【0082】

ポリヌクレオチドの「部分」にハイブリダイズするポリヌクレオチドとは、少なくとも約15ヌクレオチド（nt）、そしてより好ましくは少なくとも約20nt、さらにより好ましくは少なくとも約30nt、そしてなおより好ましくは

約30～70ntの参照ポリヌクレオチドにハイブリダイズするポリヌクレオチド（DNAまたはRNAのいずれか）を意図する。この文脈において、「約」は、特に列挙された値、および数個（5、4、3、2、または1）のヌクレオチドだけより大きいまたはより小さい値を含む。これらは、上記および以下により詳細に議論される診断プローブおよびプライマーとして有用である。

【0083】

「少なくとも20ntの長さ」のポリヌクレオチドの部分とは、例えば、参照ポリヌクレオチド（例えば、寄託されたcDNAまたは、配列番号25、図1A～1B（配列番号1）、図4A～4C（配列番号4）、または図7A～7C（配列番号7）に示されるようなヌクレオチド配列）のヌクレオチド配列からの、20以上連続したヌクレオチドを意図する。

【0084】

当然のことながら、ポリA配列（例えば、配列番号25、図1A～1B（配列番号1）、図4A～4C（配列番号4）、または図7A～7C（配列番号7）に示されるTR2レセプターcDNA配列の3'末端ポリ（A）値域（tract））、あるいはT（またはU）残基の相補的ストレッチに対してのみハイブリダイズするポリヌクレオチドは、本発明の核酸の部分にハイブリダイズするために使用される本発明のポリヌクレオチドには含まれない。なぜなら、このようなポリヌクレオチドは、ポリ（A）ストレッチまたはその相補体を含む任意の核酸分子（例えば、特に、オリゴdTプライムしたcDNAライブラリーから生成された任意の二本鎖cDNAクローン）にハイブリダイズするからである。

【0085】

示されるように、TR2ポリペプチドをコードする本発明の核酸分子は、それ自体によって成熟ポリペプチドのアミノ酸配列をコードする核酸分子；および成熟ポリペプチドおよび付加的な配列（例えば、約36アミノ酸のリーダー配列または分泌配列（例えば、プレー、またはプロー、またはプレプロタンパク質配列）をコードする配列）のコード配列；付加的な非コード配列（例えば、イントロンならびに非コード5'配列および3'配列（例えば、転写、mRNAプロセッシングにおいて役割（例えば、リボソーム結合およびmRNAの安定性）を果た

す、転写された非翻訳配列（スプライシングおよびポリアデニル化シグナルを含む）が挙げられるが、これらに限定されない）を伴う、成熟ポリペプチドのコード配列（上記の付加的なコード配列を有しても有さなくともよい）；付加的なアミノ酸についてコードする付加的なコード配列（例えば、さらなる機能性を提供するコード配列）を含み得るが、これらに限定されない。従って、このポリペプチドをコードする配列は、マーカー配列（例えば、融合ポリペプチドの精製を容易にするペプチドをコードする配列）に融合され得る。本発明のこの局面の特定の好ましい実施形態において、マーカーアミノ酸配列は、とりわけヘキサヒスチジンペプチド（例えば、pQEベクター（QIAGEN, Inc.）において提供されるタグ）であり、その多くが市販されている。Gentzら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:821-824 (1989)において記載されるように、例えば、ヘキサヒスチジンは、融合タンパク質の簡便な精製を提供する。「HA」タグは、インフルエンザ血球凝集素タンパク質由来のエピトープに対応する、精製に有用な別のペプチドであり、これは、Wilsonら、Cell 37:767 (1984)によって記載される。以下に議論するように、他のこのような融合タンパク質は、そのNまたはC末端でFcに融合するTR2レセプターを含む。

【0086】

本発明は、本発明の核酸分子の改変体にさらに関し、この改変体はTR2レセプターの部分、アナログまたは誘導体をコードする。改変体は、天然に存在し得る（例えば、天然の対立改変体）。「対立改変体」は、生物体の染色体上の所定の遺伝子座を占有する遺伝子のいくつかの代替形態のうちの1つを意図する。Genes II, Lewin, B. 編、John Wiley & Sons, New York (1985)。

【0087】

天然に存在しない改変体は、当該分野で公知の変異誘発技術（オリゴヌクレオチド媒介変異誘発、アラニンスキャニング、PCR変異誘発、部位特異的変異誘発（例えば、Carterら、Nucl. Acids Res. 13:4331 (1986)；およびZollerら、Nucl. Acids Res. 10:

6487 (1982) を参照のこと)、カセット変異誘発 (例えば、Wells ら、Gene 34:315 (1985) を参照のこと)、限定選択変異誘発 (例えば、Wells ら、Philos. Trans. R. Soc. London Ser A 317:415 (1986) を参照のこと) が挙げられるが、これらに限定されない) を使用して産生され得る。

【0088】

このような改変体としては、1以上のヌクレオチドを含み得るヌクレオチドの置換、欠失、または付加によって生成される改変体が挙げられる。改変体は、コード領域、非コード領域、または両方において変更され得る。コード領域における変更は、保存的または非保存的なアミノ酸の置換、欠失または付加を生成し得る。これらの中で特に好ましいのは、TR2レセプターの特性および活性またはそれらの部分を変更しない、サイレントな置換、付加、および欠失である。これに関してまた特に好ましいのは、保存的置換である。

【0089】

(ベクターおよび宿主細胞)

本発明はまた、本発明の単離されたDNA分子を含むベクター、この組換えベクターで遺伝子操作された宿主細胞、および組換え技術によるTR2ポリペプチドまたはそのフラグメントの産生に関する。

【0090】

ポリヌクレオチドは、宿主における増殖のために選択可能マーカーを含むベクターに連結され得る。一般に、プラスミドベクターは、リン酸カルシウム沈澱物のような沈澱物中か、または荷電された脂質との複合体中で導入される。ベクターがウイルスである場合、ベクターは、適切なパッケージング細胞株を用いてインビトロでパッケージングされ得、次いで宿主細胞に形質導入され得る。

【0091】

DNA挿入物を、適切なプロモーター (いくつか挙げると、例えば、ファージλPLプロモーター、E. coliのlac、trp、およびtacプロモーター、SV40初期プロモーターおよび後期プロモーター、ならびにレトロウイルスLTRのプロモーター) に作動可能に連結されるべきである。他の適切なプロ

モーターは、当業者に公知である。発現構築物はさらに、転写開始、終結のための部位、および転写領域において、翻訳のためのリボソーム結合部位を含む。構築物によって発現される成熟転写物のコード部分は、好ましくは、翻訳されるべきポリペプチドの末端に適切に位置付けられた開始および終結のコドン（UAA、UGA、またはUAG）での翻訳開始を含む。

【0092】

示されたように、発現ベクターは、好ましくは、少なくとも1つの選択マーカーを含む。このようなマーカーとしては、真核生物細胞培養についてはジヒドロ葉酸レダクターゼ、またはネオマイシン耐性、ならびにE. coliおよび他の細菌における培養についてはテトラサイクリン耐性遺伝子、およびアンピシリン耐性遺伝子が挙げられる。適切な異種宿主の代表的な例としては、細菌細胞（例えば、E. coli細胞、Streptomyces細胞、およびSalmonella typhimurium細胞）；真菌細胞（例えば酵母細胞）；昆虫細胞（例えば、Drosophila S2細胞およびSpodoptera Sf9細胞）；動物細胞（例えば、CHO細胞、COS細胞、およびBowes黒色腫細胞）；ならびに植物細胞が挙げられるが、これらに限定されない。上記の宿主細胞のための適切な培養培地および条件は当該分野で公知である。

【0093】

細菌での使用のために好ましいベクターのなかでも、pQE70、pQE60およびpQE-9（QIAGENから入手可能）；pBSベクター、Phagescriptベクター、Bluescriptベクター、pNH8A、pNH16a、pNH18A、pNH46A（Stratageneから入手可能）；およびptrc99a、pKK223-3、pKK233-3、pDR540、pRIT5（Pharmaciaから入手可能）が挙げられる。好ましい真核生物ベクターのなかには、pWLNEO、pSV2CAT、pOG44、pXT1およびpSG（Stratageneから入手可能）；ならびにpSVK3、pBPV、pMSGおよびpSVL（Pharmaciaから入手可能）がある。他の適切なベクターは、当業者に容易に明白である。

【0094】

構築物の宿主細胞への導入は、リン酸カルシウムトランスフェクション、DEAE-デキストラン媒介トランスフェクション、カチオン性脂質媒介トランスフェクション、エレクトロポレーション、形質導入、感染、または他の方法によってもたらされる。このような方法は、多くの標準的な実験マニュアル（例えば、Davisら、Basic Methods In Molecular Biology（1986））に記載される。

【0095】

ポリペプチドは、改変形態（例えば、融合タンパク質）で発現され得、そして分泌シグナルだけでなく、さらなる異種機能領域もまた含み得る。例えば、付加のアミノ酸（特に、荷電アミノ酸）の領域は、宿主細胞における、精製の間の、またはその後の取り扱いおよび保存の間の、安定性および持続性を改善するように、ポリペプチドのN末端に付加され得る。ペプチド部分はまた、精製を容易にするようにポリペプチドに付加され得る。このような領域は、このポリペプチドの最終調製より前に、取り除かれ得る。とりわけ、分泌または排出を発生させ、安定性を改善し、そして精製を容易にするための、ペプチド部分のポリペプチドへの付加は、よく知られており、当該分野で慣用的な技術である。好ましい融合タンパク質は、タンパク質の可溶化に有用な免疫グロブリン由来の異種領域を含む。例えば、EP-A-0 464 533（カナダ対応出願第2045869号）は、別のヒトタンパク質、またはその一部とともに免疫グロブリン分子の定常領域の種々の部分を含む融合タンパク質を開示する。多くの場合、融合タンパク質中のFc部分は、治療および診断における使用に十分に有利であり、従って、例えば改善された薬物動態学的特性を生じる（EP-A 0232 262）。一方、いくつかの使用について、融合タンパク質が、記載される有利な様式で、発現され、検出され、そして精製された後に、Fc部分が欠失され得ることが望ましい。これは、Fc部分が、治療および診断における使用に対して障害となると判明する場合（例えば、融合タンパク質が免疫のための抗原として使用される場合）である。薬物探索において、例えばhIL-5のようなヒトタンパク質は、ヒトhIL-5レセプターのアンタゴニストを同定するための高処理能力スクリーニングアッセイの目的でFc部分と融合されている。D. Bennett

ら, The Journal of Molecular Recognition Vol. 8:52-58 (1995)、およびK. Johansonら, The Journal of Biological Chemistry Vol. 270 No. 16:9459-9471 (1995)を参照のこと。

【0096】

TR2レセプターは、硫酸アンモニウム沈澱またはエタノール沈澱、酸抽出、陰イオンまたは陽イオン交換クロマトグラフィー、ホスホセルロースクロマトグラフィー、疎水性相互作用クロマトグラフィー、アフィニティークロマトグラフィー、ヒドロキシルアパタイトクロマトグラフィーおよびレクチンクロマトグラフィーを含むが、これらに限定されない周知の方法によって組換え細胞培養物から回収され得、そして精製され得る。最も好ましくは、高速液体クロマトグラフィー（「HPLC」）が精製のために使用される。本発明のポリペプチドは以下を含む：天然の精製産物；化学合成手順の産物；および原核生物宿主または真核生物宿主（例えば、細菌細胞、酵母細胞、高等植物細胞、昆虫細胞、および哺乳動物細胞を含む）から組換え技術によって産生された産物。組換え産生手順において用いられる宿主に依存して、本発明のポリペプチドは、グリコシル化されていても、またはグリコシル化されていなくてもよい。さらに、本発明のポリペプチドはまた、いくつかの場合、宿主媒介プロセスの結果として、改変された開始メチオニン残基を含み得る。

【0097】

本明細書中に議論されるベクター構築物を含む宿主細胞を包含することに加えて、本発明はまた、脊椎動物起源（特に哺乳動物起源）の初代の宿主細胞、二次的な宿主細胞および不死化された宿主細胞を含む。これらの細胞は、内因性遺伝物質（例えば、TR2レセプターコード配列）を欠失または置換するように、および／または本発明のTR2レセプターポリヌクレオチドと作動可能に連結された遺伝物質（例えば、異種ポリヌクレオチド配列）を含むように操作されており、そして内因性TR2レセプターポリヌクレオチドを活性化、変化、および／または増幅する。例えば、当該分野で公知の技術を使用して、異種制御領域配列（

例えば、プロモーターおよび／またはエンハンサー）および相同組換えを介した内因性TR2レセプターポリヌクレオチド配列を作動可能に連結し得る（例えば、1997年6月24日発行の米国特許第5,641,670号；1996年9月26日公開の国際公開WO96/29411；1994年8月4日公開の国際公開WO94/12650；Kollerら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:8932-8935（1989）；およびZijlstraら、Nature 342:435-438（1989）、これらの開示の各々は、その全体が参考として参照される）。

【0098】

（TR2ポリペプチドおよびフラグメント）

本発明はさらに、寄託されたcDNAによってコードされるアミノ酸配列、または配列番号26、図1A～1B（配列番号2）、図4A～4C（配列番号5）、または図7A～7C（配列番号8）に示されるアミノ酸配列を有する単離されたTR2ポリペプチド、あるいは、上記ポリペプチドの部分を含むペプチドもしくはポリペプチド、あるいは上記ポリペプチドの部分からなるペプチドもしくはポリペプチドを提供する。

【0099】

本発明のポリペプチドは、膜に結合され得るか、または可溶性の循環形態であり得る。可溶性ペプチドは、アミノ酸配列によって規定され、ここで膜貫通ドメインを欠くポリペプチド配列を含むか、あるいはそのポリペプチド配列からなる。TR2レセプターのこのような可溶性形態の1例は、分泌リーダー配列（しかし、細胞内ドメインおよび膜貫通ドメインの両方を欠く）を有するTR2-SV1スプライス改変体である。従って、TR2-SV1レセプタータンパク質は、このタンパク質を発現する細胞から、分泌形態で分泌されているようである。

【0100】

本発明のポリペプチドは、膜貫通領域ならびに細胞内領域および細胞外領域を有する膜結合レセプターとして存在し得るか、または本発明のポリペプチドは、可溶性形態で存在し得、ここでは膜貫通ドメインが欠失している。TR2レセプターのこのような形態の1例が、図1A～1B（配列番号2）に示されるTR

2レセプターであり、これは、リーダー配列に加えて、膜貫通ドメイン、細胞内ドメイン、および細胞外ドメインを含む。従って、TR2レセプターのこの形態は、このタンパク質を発現する細胞の細胞質膜に局在しているようである。

【0101】

本発明のポリペプチドはまた、以下を含む：寄託されたcDNA（リーダーを含む）によってコードされるポリペプチド；寄託されたcDNA（リーダーを含まない）（すなわち、成熟タンパク質）によってコードされるポリペプチド；配列番号26、図1A～1B（配列番号2）または図4A～4C（配列番号5）のポリペプチド（リーダーを含む）、配列番号26、図1A～1B（配列番号2）または図4A～4C（配列番号5）のポリペプチド（リーダーを含むが、N末端メチオニンを含まない）；配列番号26、図1A～1B（配列番号2）または図4A～4C（配列番号5）のポリペプチド（リーダーを含まない）；図7A～7C（配列番号8）のポリペプチド；配列番号26または図1A～1B（配列番号2）に示されるTR2レセプターの細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン、および細胞内ドメイン；上記のポリペプチドに対して、少なくとも80%同一、より好ましくは、少なくとも85%、90%、92%、または95%同一、なおより好ましくは少なくとも96%、97%、98%、または99%同一であるポリペプチド。そしてまた、少なくとも30アミノ酸、およびより好ましくは少なくとも50アミノ酸を有する、このようなポリペプチドの部分も含まれる。

【0102】

TR2ポリペプチドの参照アミノ酸配列に対して、少なくとも例えば、95%「同一」なアミノ酸配列を有するポリペプチドによって、このポリペプチド配列がTR2レセプターの参照（reference）アミノ酸配列の100アミノ酸につき5つまでのアミノ酸の変化を含み得ることを除いて、このポリペプチドのアミノ酸配列が、この参照配列に同一であることが意図される。換言すれば、参照アミノ酸配列に対して少なくとも95%同一なアミノ酸配列を有するポリヌクレオチドを得るために、参照配列のアミノ酸残基の5%までが、欠失、もしくは別のヌクレオチドで置換され得るか、または参照配列の総アミノ酸残基の5%までの多くのアミノ酸が、この参照配列内に挿入され得る。これらの参照配列の

変化は、参照アミノ酸配列のアミノ末端もしくはカルボキシ末端の位置、またはこれらの末端の位置間の任意の場所で、参照配列内の残基の中で個々に、もしくは参照配列内の1つ以上の連続した群のいずれかで分散して生じ得る。

【0103】

実際問題として、任意の特定のポリペプチドが、例えば、配列番号26、図1A～1B（配列番号2）、図4A～4C（配列番号5）、または図7A～7C（配列番号8）に示されるアミノ酸配列に対して、あるいは寄託されたcDNAの1つによってコードされたアミノ酸配列に対して、少なくとも80%、85%、90%、92%、95%、96%、97%、98%または99%同一であるか否かが、Bestfitプログラム（Wisconsin Sequence Analysis Package, Version 8 for Unix（登録商標）、Genetics Computer Group, University Research Park, 575 Science Drive, Madison, WI 53711）のような公知のコンピュータプログラムを使用して、習慣的に決定され得る。特定の配列が、例えば、本発明に従う参照配列と95%同一であるか否かを決定するためにBestfitまたは任意の他の配列整列プログラムを使用する場合、当然ながら、パラメータは、同一性の割合が、参照アミノ酸配列の全長にわたって計算され、そして参照配列のアミノ酸残基の全数の5%までの相同性のギャップが容認されるように、設定される。

【0104】

特定の実施形態において、参照（問い合わせ）配列（本発明の配列）と対象配列との間の同一性（全体的な配列整列とも言われる）は、Brutlagら（Comp. App. Biosci. 6:237-245（1990））のアルゴリズムに基づいたFASTDBコンピュータプログラムを使用して決定される。FASTDBアミノ酸配列整列において使用される好ましいパラメータは：Matrix=PAM 0、k-tuple=2、Mismatch Penalty=1、Joining Penalty=20、Randomization Group Length=0、Cutoff Score=1、Window Size=配列長、Gap Penalty=5、Gap Size Pen

alt y=0.05、Window Size=500、または対象アミノ酸配列の長さ（どちらかより短い方）である。この実施形態に従って、対象配列が、N-またはC-末端欠失に起因して（内部欠失のためではない）、問い合わせ配列よりも短い場合、手動の補正が結果に対してなされる。これは、FASTDBプログラムが、全体的な同一性パーセントを算定する場合に、対象配列のN末端切断およびC末端切断を考慮しないからである。N末端およびC末端で短縮されている対象配列について、問い合わせ配列に対して、同一性パーセントは、問い合わせ配列の総塩基のパーセントとして、対応する対象残基と一致／整列しない、対象配列のN末端およびC末端である問い合わせ配列の残基の数を計算することによって補正される。残基が一致／整列されているか否かの決定は、FASTDB配列整列の結果によって決定される。次いで、このパーセントは、同一性パーセントから差し引かれ、上記のFASTDBプログラムによって特定のパラメーターを使用して計算され、最終的な同一性パーセントのスコアに到達する。この最終的な同一性パーセントのスコアは、本発明の目的で使用されるものである。問い合わせ配列と一致／整列していない対象配列のN末端およびC末端側の残基のみが、同一性パーセントのスコアを手動で調整する目的のために考慮される。すなわち、対象配列の最も遠いN末端およびC末端残基の外側に位置する問い合わせ残基位置のみである。例えば、90アミノ酸残基の対象配列は、同一性パーセントを決定するために100残基の問い合わせ配列と整列される。欠失が対象配列のN末端で生じ、そしてそれゆえFASTDB整列は、N末端での最初の10残基の一致／整列を示さない。10個の不对合残基は、配列の10%（一致していないN末端およびC末端での残基の数／問い合わせ配列中の残基の総数）を表し、その結果FASTDBプログラムによって計算される同一性パーセントのスコアから10%が差し引かれる。残りの90残基が完全に一致した場合、最終的な同一性パーセントは90%である。別の例において、90残基の対象配列が、100残基の問い合わせ配列と比較される。この場合、欠失は、内部欠失であり、そのため問い合わせ配列と一致／整列しない対象配列のN末端またはC末端の残基は存在しない。この場合、FASTDBによって算定される同一性パーセントは、手動で補正されない。再び、FASTDB整列において示される、問

い合わせ配列と一致／整列しない対象配列のN末端およびC末端の外の残基位置のみが手動で補正される。他の手動の補正は、この実施形態の目的のためにはなされない。

【0105】

TR2レセプターのいくつかのアミノ酸配列は、タンパク質の構造または機能に有意に影響することなく変更され得ることが理解される。配列におけるこのような差異が意図される場合、タンパク質において活性を決定する重要な領域が存在することを記憶しておくべきである。従って、本発明はさらに、実質的にTR2レセプター活性を示すTR2レセプターの改変体、またはTR2タンパク質の領域（例えば、以下に考察するタンパク質部分）を含むTR2レセプターの改変体を含む。このような変異体としては、欠失、挿入、逆位、反復、および型置換（type substitution）が挙げられる。どのアミノ酸の変換が、表現型的にサイレントであるようであるかに関する指針は、Bowie, J. U. ら「Deciphering the Message in Protein Sequences: Tolerance to Amino Acid Substitutions」、Science 247:1306-1310（1990）に見出される。

【0106】

従って、配列番号26、図1A～1B（配列番号2）、図4A～4C（配列番号5）、もしくは図7A～7C（配列番号8）のフラグメント、誘導体もしくはアナログ、または寄託されたcDNAによってコードされるフラグメント、誘導体もしくはアナログは、以下であり得る：（i）1以上のアミノ酸残基が、保存的または非保存的アミノ酸残基（好ましくは、保存的アミノ酸残基）で置換されたものであり、そしてこのような置換されたアミノ酸残基は、遺伝コードによってコードされるものであっても、そうでなくともよいもの、または（ii）1以上のアミノ酸残基が、置換基を含むもの、または（iii）成熟ポリペプチドが、別の化合物（例えば、ポリペプチドの半減期を増加させる化合物（例えば、ポリエチレングリコール））に融合されているもの、または（iv）さらなるアミノ酸が、成熟ポリペプチド（例えば、IgG Fc融合領域ペプチド、またはリ

ーダー配列もしくは分泌配列、または成熟ポリペプチドまたはプロタンパク質配列の精製のために使用される配列)に融合されているもの。このようなフラグメント、誘導体およびアナログは、本明細書の教示から当業者の範囲内であるとみなされる。これらのフラグメント、誘導体、またはアナログをコードするポリヌクレオチドもまた、本発明によって包含される。

【0107】

特に興味をもたれるのは、別の荷電したアミノ酸および中性または負に荷電したアミノ酸を用いる荷電したアミノ酸の置換である。後者は、正電荷の減少したポリペプチドを生じ、TR2タンパク質の特性を改善する。凝集の防止は、非常に所望される。タンパク質の凝集は、活性の損失を生じるだけでなく、(それらは免疫原性であり得るため)薬学的処方物を調製する際にも問題となり得る(Pinckardら、Clin. Exp. Immunol. 2:331-340 (1967); Robbinsら、Diabetes 36:838-845 (1987); Clelandら、Crit. Rev. Therapeutic Drug Carrier Systems 10:307-377 (1993))。

【0108】

アミノ酸の置換はまた、細胞表面のレセプターに対する結合の選択性を変化させ得る。Ostadeら、Nature 361:266-268 (1993)は、TNFレセプターの2つの公知の型の1つのみに対するTNF- α の選択的な結合を生じる特定の変異体を記載する。従って、本発明のTR2レセプターは、天然の変異または人為的操作のいずれかに由来して、1以上のアミノ酸の置換、欠失、または付加を含み得る。

【0109】

示されるように、変化は、重要でない性質の変化(例えば、タンパク質の折り畳みまたは活性に顕著には影響しない保存的アミノ酸置換)が好ましい(表Iを参照のこと)。

【0110】

【表1】

表 I

保存的アミノ酸置換

芳香族	フェニルアラニン トリプトファン チロシン
疎水性	ロイシン イソロイシン バリン
極性	グルタミン アスパラギン
塩基性	アルギニン リジン ヒスチジン
酸性	アスパラギン酸 グルタミン酸
小さい	アラニン セリン スレオニン メチオニン グリシン

機能に必須の本発明のTR2タンパク質におけるアミノ酸は、当該分野で公知の方法（例えば、部位特異的変異誘発またはアラニンスキャニング変異誘発（CunninghamおよびWells、Science 244:1081-1085（1989）））により同定され得る。後者の手順は、分子中の各残基で1つずつのアラニン変異を導入する。次いで、生じる変異体分子は、インビトロでのレセプター結合およびインビトロ増殖活性のような生物学的活性について試験される。リガンドーレセプター結合のために重要な部位はまた、構造分析（例

えば、結晶化、核磁気共鳴または光親和性標識化)によって決定され得る (Smithら、J. Mol. Biol. 224: 899-904 (1992) および de Vosら、Science 255: 306-312 (1992))。

【0111】

本発明のポリペプチドは、好ましくは単離された形態で提供される。「単離されたポリペプチド」とは、そのネイティブな環境から取り出されたポリペプチドを意図する。従って、組換え宿主細胞により産生され、そしてそれに含まれるポリペプチドは、本発明の目的について「単離されている(単離された)」と考えられる。また、「単離されたポリペプチド」として意図されるのは組換え宿主から部分的にまたは実質的に精製されたポリペプチドである。例えば、TR2レセプターの組換え産生されたバージョンは、SmithおよびJohnson, Gene 67: 31-40 (1988)に記載される一工程の方法により実質的に精製され得る。

【0112】

本発明のポリペプチドは、本発明のポリペプチドに結合する抗体を産生するための供給源として、そして当業者に周知の方法を使用するSDS-PAGEゲルの、または分子篩ゲル濾過カラムの分子量マーカーとしての用途を含むが、それに限定されない用途を有する。

【0113】

本発明のTR2ポリペプチドはまた、混合リンパ球反応(MLR)を阻害し得る。以下の実施例6に考察されるように、TR2ポリペプチドは、三元の(three-way) MLRを阻害する。3元のMLRを実施するためのさらなる方法は、Harropら、Jour. Immunol. 161: 1786-1794 (1998) (参考として本明細書において援用される)において考察される。

【0114】

本出願はまた、本明細書において n^1-m^1 、 n^2-m^2 、 n^3-m^3 、 n^4-m^4 、および/または n^5-m^5 として列挙されるTR2レセプターポリペプチド配列に少なくとも80%、85%、90%、92%、95%、96%、97%、98%

または99%同一であるポリペプチドを含むタンパク質に関する。好ましい実施形態において、本出願は、本明細書において列挙される特定のTR2レセプターN末端欠失およびC末端欠失のアミノ酸配列を有するポリペプチドに少なくとも80%、85%、90%、92%、95%、96%、97%、98%または99%同一である、ポリペプチドを含むタンパク質に関する。これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドもまた本発明により包含される。

【0115】

特定の好ましい実施形態において、本発明のTR2レセプタータンパク質は、上記の融合タンパク質を含むかあるいはそれらの融合タンパク質から構成される。ここで、このTR2レセプターポリペプチドは、本明細書において、 n^1-m^1 、 n^2-m^2 、 n^3-m^3 、 n^4-m^4 、および／または n^5-m^5 として記載されるポリペプチドである。好ましい実施形態において、本出願は、本明細書に列挙される特定のN末端欠失およびC末端欠失のアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードするアミノ酸配列に少なくとも80%、85%、90%、92%、95%、96%、97%、98%または99%同一である、核酸分子に関する。これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドもまた本発明により包含される。

【0116】

上述のように、タンパク質のN末端からの1つ以上のアミノ酸の欠失が、タンパク質の1つ以上の生物学的機能の喪失の改変をもたらすとしても、他の機能的活性は依然として保持され得る。従って、ポリペプチドの完全な形態または成熟形態を認識する抗体を誘導および／または結合する短縮化TR2ムテインの能力は、一般的に完全なポリペプチドまたは成熟ポリペプチドの大部分よりも少ない残基がN末端から除去される場合、保持される。完全なポリペプチドのN末端残基を欠く特定のポリペプチドが、このような免疫学的活性を保持するか否かは、本明細書中に記載の慣用的な方法および当該分野で公知の他の慣用的な方法により容易に決定され得る。多数の欠失されたN末端アミノ酸残基を有するTR2ムテインがいくつかの生物学的活性または免疫学的活性を保持し得るということはあるそうである。実際、6つ程度の少ないTR2アミノ酸残基で構成されたペプチドはしばしば、免疫応答を誘発し得る。

【0117】

従って、本発明はさらに、図1A～1B（すなわち、配列番号2）に示されるTR2アミノ酸配列のアミノ末端から278位置のグリシン残基までの1個以上の残基を欠失するポリペプチド、およびこのようなポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを提供する。特に、本発明は、図1A～1B（配列番号2）の残基 n^1 ～283のアミノ酸配列を含むか、あるいはこのようなアミノ酸配列からなるポリペプチドを提供し、ここで、 n^1 は、2～278の範囲の整数である。これらのポリペプチドによってコードされるポリヌクレオチドはまた、本発明により包含される。

【0118】

より詳細には、本発明は、図1A～1Bに示されるTR2配列の以下の残基のアミノ酸を含むか、あるいはこれのアミノ酸配列からなるポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを提供する：

【0119】

【数1】

E-2 ~ H-283; P-3 ~ H-283; P-4 ~ H-283; G-5 ~ H-283; D-6 ~
 H-283; W-7 ~ H-283; G-8 ~ H-283; P-9 ~ H-283; P-10 ~ H-283; P-11 ~
 H-283; W-12 ~ H-283; R-13 ~ H-283; S-14 ~ H-283; T-15 ~ H-283; P-16 ~
 H-283; K-17 ~ H-283; T-18 ~ H-283; D-19 ~ H-283; V-20 ~ H-283; L-21 ~
 H-283; R-22 ~ H-283; L-23 ~ H-283; V-24 ~ H-283; L-25 ~ H-283; Y-26 ~
 H-283; L-27 ~ H-283; T-28 ~ H-283; F-29 ~ H-283; L-30 ~ H-283; G-31 ~
 H-283; A-32 ~ H-283; P-33 ~ H-283; C-34 ~ H-283; Y-35 ~ H-283; A-36 ~
 H-283; P-37 ~ H-283; A-38 ~ H-283; L-39 ~ H-283; P-40 ~ H-283; S-41 ~
 H-283; C-42 ~ H-283; K-43 ~ H-283; E-44 ~ H-283; D-45 ~ H-283; E-46 ~
 H-283; Y-47 ~ H-283; P-48 ~ H-283; V-49 ~ H-283; G-50 ~ H-283; S-51 ~
 H-283; E-52 ~ H-283; C-53 ~ H-283; C-54 ~ H-283; P-55 ~ H-283; K-56 ~
 H-283; C-57 ~ H-283; S-58 ~ H-283; P-59 ~ H-283; G-60 ~ H-283; Y-61 ~
 H-283; R-62 ~ H-283; V-63 ~ H-283; K-64 ~ H-283; E-65 ~ H-283; A-66 ~
 H-283; C-67 ~ H-283; G-68 ~ H-283; E-69 ~ H-283; L-70 ~ H-283; T-71 ~
 H-283; G-72 ~ H-283; T-73 ~ H-283; V-74 ~ H-283; C-75 ~ H-283; E-76 ~
 H-283; P-77 ~ H-283; C-78 ~ H-283; P-79 ~ H-283; P-80 ~ H-283; G-81 ~
 H-283; T-82 ~ H-283; Y-83 ~ H-283; I-84 ~ H-283; A-85 ~ H-283; H-86 ~
 H-283; L-87 ~ H-283; N-88 ~ H-283; G-89 ~ H-283; L-90 ~ H-283; S-91 ~
 H-283; K-92 ~ H-283; C-93 ~ H-283; L-94 ~ H-283; Q-95 ~ H-283; C-96 ~
 H-283; Q-97 ~ H-283; M-98 ~ H-283; C-99 ~ H-283; D-100 ~ H-283; P-101
 ~ H-283; A-102 ~ H-283; M-103 ~ H-283; G-104 ~ H-283; L-105 ~ H-283;
 R-106 ~ H-283; A-107 ~ H-283; S-108 ~ H-283; R-109 ~ H-283; N-110 ~
 H-283; C-111 ~ H-283; S-112 ~ H-283; R-113 ~ H-283; T-114 ~ H-283;
 E-115 ~ H-283; N-116 ~ H-283; A-117 ~ H-283; V-118 ~ H-283; C-119 ~
 H-283; G-120 ~ H-283; C-121 ~ H-283; S-122 ~ H-283; P-123 ~ H-283;
 G-124 ~ H-283; H-125 ~ H-283; F-126 ~ H-283; C-127 ~ H-283; I-128 ~
 H-283; V-129 ~ H-283; Q-130 ~ H-283; D-131 ~ H-283; G-132 ~ H-283;
 D-133 ~ H-283; H-134 ~ H-283; C-135 ~ H-283; A-136 ~ H-283; A-137 ~
 H-283; C-138 ~ H-283; R-139 ~ H-283; A-140 ~ H-283; Y-141 ~ H-283;
 A-142 ~ H-283; T-143 ~ H-283; S-144 ~ H-283; S-145 ~ H-283; P-146 ~
 H-283; G-147 ~ H-283; Q-148 ~ H-283; R-149 ~ H-283; V-150 ~ H-283;
 つぎあり

つづき
 Q-151 ~ H-283; K-152 ~ H-283; G-153 ~ H-283; G-154 ~ H-283; T-155 ~
 H-283; E-156 ~ H-283; S-157 ~ H-283; Q-158 ~ H-283; D-159 ~ H-283;
 T-160 ~ H-283; L-161 ~ H-283; C-162 ~ H-283; Q-163 ~ H-283; N-164 ~
 H-283; C-165 ~ H-283; P-166 ~ H-283; P-167 ~ H-283; G-168 ~ H-283;
 T-169 ~ H-283; F-170 ~ H-283; S-171 ~ H-283; P-172 ~ H-283; N-173 ~
 H-283; G-174 ~ H-283; T-175 ~ H-283; L-176 ~ H-283; E-177 ~ H-283;
 E-178 ~ H-283; C-179 ~ H-283; Q-180 ~ H-283; H-181 ~ H-283; Q-182 ~
 H-283; T-183 ~ H-283; K-184 ~ H-283; C-185 ~ H-283; S-186 ~ H-283;
 W-187 ~ H-283; L-188 ~ H-283; V-189 ~ H-283; T-190 ~ H-283; K-191 ~
 H-283; A-192 ~ H-283; G-193 ~ H-283; A-194 ~ H-283; G-195 ~ H-283;
 T-196 ~ H-283; S-197 ~ H-283; S-198 ~ H-283; S-199 ~ H-283; H-200 ~
 H-283; W-201 ~ H-283; V-202 ~ H-283; W-203 ~ H-283; W-204 ~ H-283;
 F-205 ~ H-283; L-206 ~ H-283; S-207 ~ H-283; G-208 ~ H-283; S-209 ~
 H-283; L-210 ~ H-283; V-211 ~ H-283; I-212 ~ H-283; V-213 ~ H-283; I-214
 ~ H-283; V-215 ~ H-283; C-216 ~ H-283; S-217 ~ H-283; T-218 ~ H-283;
 V-219 ~ H-283; G-220 ~ H-283; L-221 ~ H-283; I-222 ~ H-283; I-223 ~
 H-283; C-224 ~ H-283; V-225 ~ H-283; K-226 ~ H-283; R-227 ~ H-283;
 R-228 ~ H-283; K-229 ~ H-283; P-230 ~ H-283; R-231 ~ H-283; G-232 ~
 H-283; D-233 ~ H-283; V-234 ~ H-283; V-235 ~ H-283; K-236 ~ H-283;
 V-237 ~ H-283; I-238 ~ H-283; V-239 ~ H-283; S-240 ~ H-283; V-241 ~
 H-283; Q-242 ~ H-283; R-243 ~ H-283; K-244 ~ H-283; R-245 ~ H-283;
 Q-246 ~ H-283; E-247 ~ H-283; A-248 ~ H-283; E-249 ~ H-283; G-250 ~
 H-283; E-251 ~ H-283; A-252 ~ H-283; T-253 ~ H-283; V-254 ~ H-283;
 I-255 ~ H-283; E-256 ~ H-283; A-257 ~ H-283; L-258 ~ H-283; Q-259 ~
 H-283; A-260 ~ H-283; P-261 ~ H-283; P-262 ~ H-283; D-263 ~ H-283;
 V-264 ~ H-283; T-265 ~ H-283; T-266 ~ H-283; V-267 ~ H-283; A-268 ~
 H-283; V-269 ~ H-283; E-270 ~ H-283; E-271 ~ H-283; T-272 ~ H-283;
 I-273 ~ H-283; P-274 ~ H-283; S-275 ~ H-283; F-276 ~ H-283; T-277 ~
 H-283; および G-278 ~ H-283

本発明はまた、上記のポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列に少なくとも、80%、85%、90%、92%、95%、96%、97%、98%または99%同一であるポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこのようなポリヌクレオチド配列からなる核酸分子に関する。本発明はまた、異種ポリヌクレオチド配列に融合した上記のポリヌクレオチド配列を包含する。これらのポリヌクレオチド配列によりコードされるポリペプチドもまた本発明により包含される。

【0120】

また上述のように、タンパク質のC末端からの1つ以上のアミノ酸の欠失が、

タンパク質の1つ以上の生物学的機能の喪失を改変するとしても、他の生物学的活性は依然として保持され得る。従って、短縮化TR2ムテインが、このポリペプチドの完全な形態または成熟形態を認識する抗体を誘導および／または結合する能力は、一般的にこの完全なポリペプチドまたは成熟ポリペプチドの大部分よりも少ない残基がC末端から除去される場合に保持される。完全なポリペプチドのC末端残基を欠く特定のポリペプチドがこのような免疫学的活性を保持するか否かは、本明細書中に記載される慣用的な方法および当該分野で公知の他の慣用的な方法により容易に決定され得る。C末端アミノ酸残基の多数が欠失されたTR2ムテインがいくつかの生物学的活性または免疫学的活性を保持し得るということはあるそうである。実際、6つ程度の少ないTR2アミノ酸残基で構成されたペプチドはしばしば、免疫応答を誘発し得る。

【0121】

従って、本発明はさらに、図1A～1B（配列番号2）に示されるTR2ポリペプチドのアミノ酸配列のアカルボキシ末端から6位のアスパラギン酸残基までの1個以上の残基を欠失するポリペプチド、およびこのようなポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを提供する。特に、本発明は、図1A～1B（すなわち、配列番号2）のアミノ酸配列の残基1-m¹を含むか、あるいはこれからなるポリペプチドを提供する。ここで、m¹は、6～282の範囲の整数である。これらのポリペプチドによりコードされるポリヌクレオチドもまた本発明により包含される。

【0122】

より詳細には、本発明は、図1A～1Bに示されるTR2配列の配列の以下の残基のアミノ酸配列を含むか、あるいはこれらのアミノ酸配列からなるポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを提供する：

【0123】

【数2】

M-1 $\sim$ N-282; M-1 $\sim$ P-281; M-1 $\sim$ S-280; M-1 $\sim$ R-279; M-1 $\sim$
 G-278; M-1 $\sim$ T-277; M-1 $\sim$ F-276; M-1 $\sim$ S-275; M-1 $\sim$ P-274; M-1 $\sim$ I-273;
 M-1 $\sim$ T-272; M-1 $\sim$ E-271; M-1 $\sim$ E-270; M-1 $\sim$ V-269; M-1 $\sim$ A-268; M-1
 $\sim$ V-267; M-1 $\sim$ T-266; M-1 $\sim$ T-265; M-1 $\sim$ V-264; M-1 $\sim$ D-263; M-1 $\sim$
 P-262; M-1 $\sim$ P-261; M-1 $\sim$ A-260; M-1 $\sim$ Q-259; M-1 $\sim$ L-258; M-1 $\sim$
 A-257; M-1 $\sim$ E-256; M-1 $\sim$ I-255; M-1 $\sim$ V-254; M-1 $\sim$ T-253; M-1 $\sim$
 A-252; M-1 $\sim$ E-251; M-1 $\sim$ G-250; M-1 $\sim$ E-249; M-1 $\sim$ A-248; M-1 $\sim$
 E-247; M-1 $\sim$ Q-246; M-1 $\sim$ R-245; M-1 $\sim$ K-244; M-1 $\sim$ R-243; M-1 $\sim$
 Q-242; M-1 $\sim$ V-241; M-1 $\sim$ S-240; M-1 $\sim$ V-239; M-1 $\sim$ I-238; M-1 $\sim$
 V-237; M-1 $\sim$ K-236; M-1 $\sim$ V-235; M-1 $\sim$ V-234; M-1 $\sim$ D-233; M-1 $\sim$
 G-232; M-1 $\sim$ R-231; M-1 $\sim$ P-230; M-1 $\sim$ K-229; M-1 $\sim$ R-228; M-1 $\sim$
 R-227; M-1 $\sim$ K-226; M-1 $\sim$ V-225; M-1 $\sim$ C-224; M-1 $\sim$ I-223; M-1 $\sim$ I-222;
 M-1 $\sim$ L-221; M-1 $\sim$ G-220; M-1 $\sim$ V-219; M-1 $\sim$ T-218; M-1 $\sim$ S-217; M-1
 C-216; M-1 $\sim$ V-215; M-1 $\sim$ I-214; M-1 $\sim$ V-213; M-1 $\sim$ I-212; M-1 $\sim$
 V-211; M-1 $\sim$ L-210; M-1 $\sim$ S-209; M-1 $\sim$ G-208; M-1 $\sim$ S-207; M-1 $\sim$
 L-206; M-1 $\sim$ F-205; M-1 $\sim$ W-204; M-1 $\sim$ W-203; M-1 $\sim$ V-202; M-1 $\sim$
 W-201; M-1 $\sim$ H-200; M-1 $\sim$ S-199; M-1 $\sim$ S-198; M-1 $\sim$ S-197; M-1 $\sim$
 T-196; M-1 $\sim$ G-195; M-1 $\sim$ A-194; M-1 $\sim$ G-193; M-1 $\sim$ A-192; M-1 $\sim$
 K-191; M-1 $\sim$ T-190; M-1 $\sim$ V-189; M-1 $\sim$ L-188; M-1 $\sim$ W-187; M-1 $\sim$
 S-186; M-1 $\sim$ C-185; M-1 $\sim$ K-184; M-1 $\sim$ T-183; M-1 $\sim$ Q-182; M-1 $\sim$
 H-181; M-1 $\sim$ Q-180; M-1 $\sim$ C-179; M-1 $\sim$ E-178; M-1 $\sim$ E-177; M-1 $\sim$
 L-176; M-1 $\sim$ T-175; M-1 $\sim$ G-174; M-1 $\sim$ N-173; M-1 $\sim$ P-172; M-1 $\sim$
 S-171; M-1 $\sim$ F-170; M-1 $\sim$ T-169; M-1 $\sim$ G-168; M-1 $\sim$ P-167; M-1 $\sim$ P-166;
 M-1 $\sim$ C-165; M-1 $\sim$ N-164; M-1 $\sim$ Q-163; M-1 $\sim$ C-162; M-1 $\sim$ L-161; M-1
 $\sim$ T-160; M-1 $\sim$ D-159; M-1 $\sim$ Q-158; M-1 $\sim$ S-157; M-1 $\sim$ E-156; M-1 $\sim$
 T-155; M-1 $\sim$ G-154; M-1 $\sim$ G-153; M-1 $\sim$ K-152; M-1 $\sim$ Q-151; M-1 $\sim$
 V-150; M-1 $\sim$ R-149; M-1 $\sim$ Q-148; M-1 $\sim$ G-147; M-1 $\sim$ P-146; M-1 $\sim$
 つぎもあり

つづき

S-145; M-1 ~ S-144; M-1 ~ T-143; M-1 ~ A-142; M-1 ~ Y-141; M-1 ~ A-140; M-1 ~ R-139; M-1 ~ C-138; M-1 ~ A-137; M-1 ~ A-136; M-1 ~ C-135; M-1 ~ H-134; M-1 ~ D-133; M-1 ~ G-132; M-1 ~ D-131; M-1 ~ Q-130; M-1 ~ V-129; M-1 ~ I-128; M-1 ~ C-127; M-1 ~ F-126; M-1 ~ H-125; M-1 ~ G-124; M-1 ~ P-123; M-1 ~ S-122; M-1 ~ C-121; M-1 ~ G-120; M-1 ~ C-119; M-1 ~ V-118; M-1 ~ A-117; M-1 ~ N-116; M-1 ~ E-115; M-1 ~ T-114; M-1 ~ R-113; M-1 ~ S-112; M-1 ~ C-111; M-1 ~ N-110; M-1 ~ R-109; M-1 ~ S-108; M-1 ~ A-107; M-1 ~ R-106; M-1 ~ L-105; M-1 ~ G-104; M-1 ~ M-103; M-1 ~ A-102; M-1 ~ P-101; M-1 ~ D-100; M-1 ~ C-99; M-1 ~ M-98; M-1 ~ Q-97; M-1 ~ C-96; M-1 ~ Q-95; M-1 ~ L-94; M-1 ~ C-93; M-1 ~ K-92; M-1 ~ S-91; M-1 ~ L-90; M-1 ~ G-89; M-1 ~ N-88; M-1 ~ L-87; M-1 ~ H-86; M-1 ~ A-85; M-1 ~ I-84; M-1 ~ Y-83; M-1 ~ T-82; M-1 ~ G-81; M-1 ~ P-80; M-1 ~ P-79; M-1 ~ C-78; M-1 ~ P-77; M-1 ~ E-76; M-1 ~ C-75; M-1 ~ V-74; M-1 ~ T-73; M-1 ~ G-72; M-1 ~ T-71; M-1 ~ L-70; M-1 ~ E-69; M-1 ~ G-68; M-1 ~ C-67; M-1 ~ A-66; M-1 ~ E-65; M-1 ~ K-64; M-1 ~ V-63; M-1 ~ R-62; M-1 ~ Y-61; M-1 ~ G-60; M-1 ~ P-59; M-1 ~ S-58; M-1 ~ C-57; M-1 ~ K-56; M-1 ~ P-55; M-1 ~ C-54; M-1 ~ C-53; M-1 ~ E-52; M-1 ~ S-51; M-1 ~ G-50; M-1 ~ V-49; M-1 ~ P-48; M-1 ~ Y-47; M-1 ~ E-46; M-1 ~ D-45; M-1 ~ E-44; M-1 ~ K-43; M-1 ~ C-42; M-1 ~ S-41; M-1 ~ P-40; M-1 ~ L-39; M-1 ~ A-38; M-1 ~ P-37; M-1 ~ A-36; M-1 ~ Y-35; M-1 ~ C-34; M-1 ~ P-33; M-1 ~ A-32; M-1 ~ G-31; M-1 ~ L-30; M-1 ~ F-29; M-1 ~ T-28; M-1 ~ L-27; M-1 ~ Y-26; M-1 ~ L-25; M-1 ~ V-24; M-1 ~ L-23; M-1 ~ R-22; M-1 ~ L-21; M-1 ~ V-20; M-1 ~ D-19; M-1 ~ T-18; M-1 ~ K-17; M-1 ~ P-16; M-1 ~ T-15; M-1 ~ S-14; M-1 ~ R-13; M-1 ~ W-12; M-1 ~ P-11; M-1 ~ P-10; M-1 ~ P-9; M-1 ~ G-8; M-1 ~ W-7; M-1 ~ D-6

本発明はまた、上記のポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列に少なくとも、80%、85%、90%、92%、95%、96%、97%、98%または99%同一であるポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこのようなポリヌクレオチド配列からなる核酸分子に関する。本発明はまた、異種ポリヌクレオチド配列に融合した上記のポリヌクレオチド配列を包含する。これらのポリヌクレオチド配列によりコードされるポリペプチドはまた、本発明により包含される。

【0124】

本発明はまた、TR2ポリペプチドのアミノ末端およびカルボキシ末端の両方から1つ以上のアミノ酸を欠失しているポリペプチドを提供する。これは、一般に、図1A~1B（すなわち、配列番号2）の残基 n^1 ~ m^1 を有するとして記載され得、ここで n^1 および m^1 は上記のような整数である。これらのポリペプチド

によりコードされるポリヌクレオチドもまた本発明により包含される。

【0125】

また上述のように、タンパク質のN末端からの1つ以上のアミノ酸の欠失が、このタンパク質の1つ以上の生物学的活性の喪失の改変をもたらすとしても、他生物学的活性は依然として保持され得る。従って、短縮化TR2-SV1ムテインがこのポリペプチドの完全形態または成熟形態を認識する抗体を誘導および／または結合する能力は、一般に、この完全ポリペプチドまたは成熟ポリペプチドの大部分よりも少ない残基がN末端から除去される場合に保持される。完全なポリペプチドのN末端残基を欠く特定のポリペプチドがこのような免疫学的活性を保持するか否かは、本明細書中に記載される慣用的な方法および当該分野で公知の他の慣用的な方法により容易に決定され得る。多数のN末端アミノ酸残基欠失を有するTR2-SV1ムテインが、いくつかの生物学的活性または免疫学的活性を保持し得るようである。実際、6つ程度の少ないTR2-SV1アミノ酸残基から構成されるペプチドは、しばしば免疫応答を惹起し得る。

【0126】

従って、本発明はさらに、図4A～4C（すなわち、配列番号5）に示されるTR2-SV1アミノ酸配列のアミノ末端からの1個以上の残基から、180位のトレオニン残基までの1つ以上の残基を欠失するポリペプチド、およびこのようなポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを提供する。詳細には、本発明は、図4A～4C（配列番号5）のアミノ酸配列の残基 n^2-185 を含むか、あるいはこれらからなるポリペプチドを提供し、ここで、 n^2 は、2～180の範囲の整数であり、180は、TR2-SV1ポリペプチドの免疫原性活性に少なくとも必要であると考えられる完全TR2-SV1ポリペプチドのN末端からの最初の残基の位置である。これらのポリペプチドによりコードされるポリヌクレオチドはまた本発明により包含される。

【0127】

より詳細には、本発明は、図4A～4Cに示されるTR2-SV1配列の以下の残基のアミノ酸配列を含むか、あるいはこのようなアミノ酸配列からなるポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを提供する：

【0128】

【数3】

E-2 ∼ A-185; P-3 ∼ A-185; P-4 ∼ A-185; G-5 ∼ A-185; D-6 ∼
 A-185; W-7 ∼ A-185; G-8 ∼ A-185; P-9 ∼ A-185; P-10 ∼ A-185; P-11 ∼
 A-185; W-12 ∼ A-185; R-13 ∼ A-185; S-14 ∼ A-185; T-15 ∼ A-185; P-16 ∼
 A-185; R-17 ∼ A-185; T-18 ∼ A-185; D-19 ∼ A-185; V-20 ∼ A-185; L-21 ∼
 A-185; R-22 ∼ A-185; L-23 ∼ A-185; V-24 ∼ A-185; L-25 ∼ A-185; Y-26 ∼
 A-185; L-27 ∼ A-185; T-28 ∼ A-185; F-29 ∼ A-185; L-30 ∼ A-185; G-31 ∼
 A-185; A-32 ∼ A-185; P-33 ∼ A-185; C-34 ∼ A-185; Y-35 ∼ A-185; A-36 ∼
 A-185; P-37 ∼ A-185; A-38 ∼ A-185; L-39 ∼ A-185; P-40 ∼ A-185; S-41 ∼
 A-185; C-42 ∼ A-185; K-43 ∼ A-185; E-44 ∼ A-185; D-45 ∼ A-185; E-46 ∼
 A-185; Y-47 ∼ A-185; P-48 ∼ A-185; V-49 ∼ A-185; G-50 ∼ A-185; S-51 ∼
 A-185; E-52 ∼ A-185; C-53 ∼ A-185; C-54 ∼ A-185; P-55 ∼ A-185; K-56 ∼
 A-185; C-57 ∼ A-185; S-58 ∼ A-185; P-59 ∼ A-185; G-60 ∼ A-185; Y-61 ∼
 A-185; R-62 ∼ A-185; V-63 ∼ A-185; K-64 ∼ A-185; E-65 ∼ A-185; A-66 ∼
 A-185; C-67 ∼ A-185; G-68 ∼ A-185; E-69 ∼ A-185; L-70 ∼ A-185; T-71 ∼
 A-185; G-72 ∼ A-185; T-73 ∼ A-185; V-74 ∼ A-185; C-75 ∼ A-185; E-76 ∼
 A-185; P-77 ∼ A-185; C-78 ∼ A-185; P-79 ∼ A-185; P-80 ∼ A-185; G-81 ∼
 A-185; T-82 ∼ A-185; Y-83 ∼ A-185; I-84 ∼ A-185; A-85 ∼ A-185; H-86 ∼
 A-185; L-87 ∼ A-185; N-88 ∼ A-185; G-89 ∼ A-185; L-90 ∼ A-185; S-91 ∼
 A-185; K-92 ∼ A-185; C-93 ∼ A-185; L-94 ∼ A-185; Q-95 ∼ A-185; C-96 ∼
 A-185; Q-97 ∼ A-185; M-98 ∼ A-185; C-99 ∼ A-185; D-100 ∼ A-185; P-101
 ∼ A-185; D-102 ∼ A-185; I-103 ∼ A-185; G-104 ∼ A-185; S-105 ∼ A-185;
 P-106 ∼ A-185; C-107 ∼ A-185; D-108 ∼ A-185; L-109 ∼ A-185; R-110 ∼
 フフをあり

つぎ
 A-185; G-111 ~ A-185; R-112 ~ A-185; G-113 ~ A-185; H-114 ~ A-185;
 L-115 ~ A-185; E-116 ~ A-185; A-117 ~ A-185; G-118 ~ A-185; A-119 ~
 A-185; H-120 ~ A-185; L-121 ~ A-185; S-122 ~ A-185; P-123 ~ A-185; G-124
 ~ A-185; R-125 ~ A-185; Q-126 ~ A-185; K-127 ~ A-185; G-128 ~ A-185;
 E-129 ~ A-185; P-130 ~ A-185; D-131 ~ A-185; P-132 ~ A-185; E-133 ~
 A-185; V-134 ~ A-185; A-135 ~ A-185; F-136 ~ A-185; E-137 ~ A-185; S-138
 ~ A-185; L-139 ~ A-185; S-140 ~ A-185; A-141 ~ A-185; E-142 ~ A-185;
 P-143 ~ A-185; V-144 ~ A-185; H-145 ~ A-185; A-146 ~ A-185; A-147 ~
 A-185; N-148 ~ A-185; G-149 ~ A-185; S-150 ~ A-185; V-151 ~ A-185;
 P-152 ~ A-185; L-153 ~ A-185; E-154 ~ A-185; P-155 ~ A-185; H-156 ~
 A-185; A-157 ~ A-185; R-158 ~ A-185; L-159 ~ A-185; S-160 ~ A-185;
 M-161 ~ A-185; A-162 ~ A-185; S-163 ~ A-185; A-164 ~ A-185; P-165 ~
 A-185; C-166 ~ A-185; G-167 ~ A-185; Q-168 ~ A-185; A-169 ~ A-185;
 G-170 ~ A-185; L-171 ~ A-185; H-172 ~ A-185; L-173 ~ A-185; R-174 ~
 A-185; D-175 ~ A-185; R-176 ~ A-185; A-177 ~ A-185; D-178 ~ A-185;
 G-179 ~ A-185; および T-180 ~ A-185

。本発明はまた、上記のポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列に少なくとも80%、85%、90%、92%、95%、96%、97%、98%または99%同一であるポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこのようなポリヌクレオチド配列からなる核酸分子に関する。本発明はまた、異種ポリヌクレオチド配列に融合された上記のポリヌクレオチド配列を包含する。これらのポリヌクレオチド配列によりコードされるポリペプチドもまた本発明により包含される。

【0129】

また上記のように、タンパク質のC末端からの1つ以上のアミノ酸の欠失が、このタンパク質の1つ以上の生物学的活性の喪失を改変するとしても、他の機能的活性は依然として保持され得る。従って、短縮化TR2-SV1ムテインがこのポリペプチドの完全な形態もしくは成熟の形態を認識する抗体を誘導および／または結合する能力は、一般に、この完全ポリペプチドまたは成熟ポリペプチドの大部分よりも少ない残基がC末端から除去される場合に保持される。完全なポリペプチドのC末端残基を欠く特定のポリペプチドがこのような免疫学的活性を保持するか否かは、本明細書中に記載される慣用的な方法および当該分野で公知の他の慣用的な方法により容易に決定され得る。多数のC末端アミノ酸残基欠失を有するTR2-SV1ムテインが、いくつかの生物学的活性または免疫学的活

性を保持し得るようである。実際、6つ程度の少ないTR2-SV1アミノ酸残基から構成されるペプチドは、しばしば免疫応答を惹起し得る。

【0130】

従って、本発明はさらに、図4A～4C（配列番号5）に示されるTR2-SV1ポリペプチドのアミノ酸配列のカルボキシ末端から6位のアスパラギン酸残基まで1つ以上の残基を欠失するポリペプチド、およびこのようなポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを提供する。詳細には、本発明は、図4A～4C（すなわち、配列番号5）の残基1～ m^2 のアミノ酸配列を含むか、またはこのようなアミノ酸配列からなるポリペプチドを提供し、ここで、 m^2 は、6～184の範囲の整数である。これらのポリペプチドによりコードされるポリヌクレオチドもまた本発明により包含される。

【0131】

より詳細には、本発明は、図4A～4Cに示されるTR2-SV1の配列の以下の残基のアミノ酸配列を含むか、あるいはこのようなアミノ酸配列からなるポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを提供する：

【0132】

【数4】

M-1 ~ R-184; M-1 ~ G-183; M-1 ~ G-182; M-1 ~ P-181; M-1 ~
 T-180; M-1 ~ G-179; M-1 ~ D-178; M-1 ~ A-177; M-1 ~ R-176; M-1 ~
 D-175; M-1 ~ R-174; M-1 ~ L-173; M-1 ~ H-172; M-1 ~ L-171; M-1 ~
 G-170; M-1 ~ A-169; M-1 ~ Q-168; M-1 ~ G-167; M-1 ~ C-166; M-1 ~
 P-165; M-1 ~ A-164; M-1 ~ S-163; M-1 ~ A-162; M-1 ~ M-161; M-1 ~
 S-160; M-1 ~ L-159; M-1 ~ R-158; M-1 ~ A-157; M-1 ~ H-156; M-1 ~
 P-155; M-1 ~ E-154; M-1 ~ L-153; M-1 ~ P-152; M-1 ~ V-151; M-1 ~
 S-150; M-1 ~ G-149; M-1 ~ N-148; M-1 ~ A-147; M-1 ~ A-146; M-1 ~
 H-145; M-1 ~ V-144; M-1 ~ P-143; M-1 ~ E-142; M-1 ~ A-141; M-1 ~
 S-140; M-1 ~ L-139; M-1 ~ S-138; M-1 ~ E-137; M-1 ~ F-136; M-1 ~
 A-135; M-1 ~ V-134; M-1 ~ E-133; M-1 ~ P-132; M-1 ~ D-131; M-1 ~
 P-130; M-1 ~ E-129; M-1 ~ G-128; M-1 ~ K-127; M-1 ~ Q-126; M-1 ~
 R-125; M-1 ~ G-124; M-1 ~ P-123; M-1 ~ S-122; M-1 ~ L-121; M-1 ~
 H-120; M-1 ~ A-119; M-1 ~ G-118; M-1 ~ A-117; M-1 ~ E-116; M-1 ~
 L-115; M-1 ~ H-114; M-1 ~ G-113; M-1 ~ R-112; M-1 ~ G-111; M-1 ~
 R-110; M-1 ~ L-109; M-1 ~ D-108; M-1 ~ C-107; M-1 ~ P-106; M-1 ~
 S-105; M-1 ~ G-104; M-1 ~ I-103; M-1 ~ D-102; M-1 ~ P-101; M-1 ~
 D-100; M-1 ~ C-99; M-1 ~ M-98; M-1 ~ Q-97; M-1 ~ C-96; M-1 ~ Q-95;
 M-1 ~ L-94; M-1 ~ C-93; M-1 ~ K-92; M-1 ~ S-91; M-1 ~ L-90; M-1 ~
 G-89; M-1 ~ N-88; M-1 ~ L-87; M-1 ~ H-86; M-1 ~ A-85; M-1 ~ I-84; M-1
 ~ Y-83; M-1 ~ T-82; M-1 ~ G-81; M-1 ~ P-80; M-1 ~ P-79; M-1 ~ C-78;
 M-1 ~ P-77; M-1 ~ E-76; M-1 ~ C-75; M-1 ~ V-74; M-1 ~ T-73; M-1 ~
 G-72; M-1 ~ T-71; M-1 ~ L-70; M-1 ~ E-69; M-1 ~ G-68; M-1 ~ C-67; M-1
 ~ A-66; M-1 ~ E-65; M-1 ~ K-64; M-1 ~ V-63; M-1 ~ R-62; M-1 ~ Y-61;
 M-1 ~ G-60; M-1 ~ P-59; M-1 ~ S-58; M-1 ~ C-57; M-1 ~ K-56; M-1 ~
 P-55; M-1 ~ C-54; M-1 ~ C-53; M-1 ~ E-52; M-1 ~ S-51; M-1 ~ G-50; M-1
 ~ V-49; M-1 ~ P-48; M-1 ~ Y-47; M-1 ~ E-46; M-1 ~ D-45; M-1 ~ E-44;
 M-1 ~ K-43; M-1 ~ C-42; M-1 ~ S-41; M-1 ~ P-40; M-1 ~ L-39; M-1 ~
 A-38; M-1 ~ P-37; M-1 ~ A-36; M-1 ~ Y-35; M-1 ~ C-34; M-1 ~ P-33; M-1
 ~ A-32; M-1 ~ G-31; M-1 ~ L-30; M-1 ~ F-29; M-1 ~ T-28; M-1 ~ L-27;
 M-1 ~ Y-26; M-1 ~ L-25; M-1 ~ V-24; M-1 ~ L-23; M-1 ~ R-22; M-1 ~
 L-21; M-1 ~ V-20; M-1 ~ D-19; M-1 ~ T-18; M-1 ~ R-17; M-1 ~ P-16; M-1
 ~ T-15; M-1 ~ S-14; M-1 ~ R-13; M-1 ~ W-12; M-1 ~ P-11; M-1 ~ P-10;
 M-1 ~ P-9; M-1 ~ G-8; M-1 ~ W-7; ~~また~~ M-1 ~ D-6

。本発明はまた、上記のポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列に少な
 くとも80%、85%、90%、92%、95%、96%、97%、98%また
 は99%同一であるポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこのようなポリヌ
 クレオチド配列からなる核酸分子に関する。本発明はまた、異種ポリヌクレオチ
 ド配列に融合された上記のポリヌクレオチド配列を包含する。これらのポリヌク
 レオチド配列によりコードされるポリペプチドもまた、本発明により包含される

。

【0133】

本発明はまた、TR2-SV1ポリペプチドのアミノ末端およびカルボキシ末端の両方から1個以上のアミノ酸欠失を有するポリペプチドを提供し、ここで、一般に、図4A～4C（すなわち、配列番号5）の残基 $n^2 \sim m^2$ を有し得、ここで n^2 および m^2 は上記のような整数であるとして記載され得る。これらのポリペプチドによりコードされるポリヌクレオチドもまた、本発明により包含される。

【0134】

前述のように、タンパク質のN末端からの1つ以上のアミノ酸の欠失が、このタンパク質の1つ以上の生物学的活性の喪失を改変するとしても、他の生物学的活性は依然として保持され得る。従って、短縮化TR2-SV2ムテインが、このポリペプチドの完全形態または成熟形態を認識する抗体を誘導および／または結合する能力は、一般に、この完全ポリペプチドまたは成熟ポリペプチドの大部分よりも少ない残基がN末端から除去される場合に保持される。完全なポリペプチドのN末端残基を欠く特定のポリペプチドがこのような免疫学的活性を保持するか否かは、本明細書中に記載される慣用的な方法および当該分野で公知の他の慣用的な方法により容易に決定され得る。多数のN末端アミノ酸残基欠失を有するTR2-SV2ムテインが、ある程度の生物学的活性または免疫学的活性を保持し得るようである。実際、6つ程度の少ないTR2-SV2アミノ酸残基から構成されるペプチドは、しばしば免疫応答を惹起し得る。

【0135】

従って、本発明はさらに、図7A～7C（すなわち、配列番号8）に示されるTR2-SV2のアミノ酸配列のアミノ末端から、131位のセリン残基までの1個以上の残基を欠失するポリペプチド、およびこのようなポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを提供する。詳細には、本発明は、図7A～7C（すなわち、配列番号8）のアミノ酸配列の残基 $n^3 - 136$ を含むか、あるいはこれからなるポリペプチドを提供し、ここで、 n^3 は、2～131の範囲の整数である。これらのポリペプチドによりコードされるポリヌクレオチドもまた、本発明により包含される。

【0136】

より詳細には、本発明は、図7A～7Cに示されるTR2-SV2配列の以下の残基のアミノ酸配列を含むか、あるいはこのようなアミノ酸配列からなるポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを提供する：

【0137】

【数5】

L-2～K-136; G-3～K-136; T-4～K-136; S-5～K-136; G-6～K-136; H-7～K-136; L-8～K-136; V-9～K-136; W-10～K-136; L-11～K-136; S-12～K-136; Q-13～K-136; G-14～K-136; F-15～K-136; S-16～K-136; L-17～K-136; A-18～K-136; G-19～K-136; R-20～K-136; P-21～K-136; G-22～K-136; S-23～K-136; S-24～K-136; P-25～K-136; W-26～K-136; P-27～K-136; V-28～K-136; D-29～K-136; A-30～K-136; V-31～K-136; L-32～K-136; A-33～K-136; C-34～K-136; G-35～K-136; W-36～K-136; C-37～K-136; P-38～K-136; G-39～K-136; L-40～K-136; H-41～K-136; V-42～K-136; P-43～K-136; P-44～K-136; L-45～K-136; S-46～K-136; P-47～K-136; S-48～K-136; S-49～K-136; W-50～K-136; T-51～K-136; P-52～K-136; A-53～K-136; M-54～K-136; G-55～K-136; L-56～K-136; R-57～K-136; A-58～K-136; S-59～K-136; R-60～K-136; N-61～K-136; C-62～K-136; S-63～K-136; R-64～K-136; T-65～K-136; E-66～K-136; N-67～K-136; A-68～K-136; V-69～K-136; C-70～K-136; G-71～K-136; C-72～K-136; S-73～K-136; P-74～K-136; G-75～K-136; H-76～K-136; F-77～K-136; C-78～K-136; I-79～K-136; V-80～K-136; Q-81～K-136; D-82～K-136; G-83～K-136; D-84～K-136; H-85～K-136; C-86～K-136; A-87～K-136; A-88～K-136; C-89～K-136; R-90～K-136; A-91～K-136; Y-92～K-136; A-93～K-136; T-94～K-136; S-95～K-136; S-96～K-136; P-97～K-136; G-98～K-136; Q-99～K-136; R-100～K-136; V-101～K-136; Q-102～K-136; K-103～K-136; G-104～K-136; G-105～K-136; T-106～K-136; E-107～K-136; S-108～K-136; Q-109～K-136; D-110～K-136; T-111～K-136; L-112～K-136; C-113～K-136; Q-114～K-136; N-115～K-136; C-116～K-136; P-117～K-136; R-118～K-136; G-119～K-136; P-120～K-136; S-121～K-136; L-122～K-136; P-123～K-136; M-124～K-136; G-125～K-136; P-126～K-136; W-127～K-136; R-128～K-136; N-129～K-136; V-130～K-136; S-131～K-136

。本発明はまた、上記のポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列に少なくとも80%、85%、90%、92%、95%、96%、97%、98%または99%同一であるポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこのようなポリヌクレオチド配列からなる核酸分子に関する。本発明はまた、異種ポリヌクレオチ

ド配列に融合された上記のポリヌクレオチド配列を包含する。これらのポリヌクレオチド配列によりコードされるポリペプチドもまた、本発明により包含される。

【0138】

また上記のように、タンパク質のC末端からの1つ以上のアミノ酸の欠失が、このタンパク質の1つ以上の生物学的機能の喪失を改変するとしても、他の生物学的活性は依然として保持され得る。従って、短縮化TR2-SV2ムテインがこのポリペプチドの完全な形態、または成熟形態を認識する抗体を誘導および／または結合する能力は、一般に、この完全ポリペプチドまたは成熟ポリペプチドの大部分よりも少ない残基がC末端から除去される場合に保持される。完全なポリペプチドのC末端残基を欠く特定のポリペプチドがこのような免疫学的活性を保持するか否かは、本明細書中に記載される慣用的な方法および当該分野で公知の他の慣用的な方法により容易に決定され得る。多数のC末端アミノ酸残基の欠失を有するTR2-SV2ムテインが、いくつかの生物学的活性または免疫学的活性を保持し得るようである。実際、6つ程度の少ないTR2-SV2アミノ酸残基から構成されるペプチドは、しばしば免疫応答を惹起し得る。

【0139】

従って、本発明はさらに、図7A～7C（すなわち、配列番号8）に示されるTR2-SV2ポリペプチドのアミノ酸配列のカルボキシ末端から6位のグリシン残基までの1つ以上の残基を欠失するポリペプチド、およびこのようなポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを提供する。詳細には、本発明は、図7A～7C（すなわち、配列番号8）の残基1～ m^3 のアミノ酸配列を含むポリペプチドを提供し、ここで、 m^3 は、6～135の範囲の整数である。これらのポリペプチドによりコードされるポリヌクレオチドもまた、本発明により包含される。

【0140】

より詳細には、本発明は、図7A～7Cに示すTR2-SV2配列の配列のうちの以下の残基のアミノ酸配列を含むかあるいはこれらのアミノ酸配列からなるポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを提供する：M-1～S-135；

$M-1 \sim P-134$; $M-1 \sim R-133$; $M-1 \sim T-132$; $M-1 \sim S-131$; $M-1 \sim V-130$; $M-1 \sim N-129$; $M-1 \sim R-128$; $M-1 \sim W-127$; $M-1 \sim P-126$; $M-1 \sim G-125$; $M-1 \sim M-124$; $M-1 \sim P-123$; $M-1 \sim L-122$; $M-1 \sim S-121$; $M-1 \sim P-120$; $M-1 \sim G-119$; $M-1 \sim R-118$; $M-1 \sim P-117$; $M-1 \sim C-116$; $M-1 \sim N-115$; $M-1 \sim Q-114$; $M-1 \sim C-113$; $M-1 \sim L-112$; $M-1 \sim T-111$; $M-1 \sim D-110$; $M-1 \sim Q-109$; $M-1 \sim S-108$; $M-1 \sim E-107$; $M-1 \sim T-106$; $M-1 \sim G-105$; $M-1 \sim G-104$; $M-1 \sim K-103$; $M-1 \sim Q-102$; $M-1 \sim V-101$; $M-1 \sim R-100$; $M-1 \sim Q-99$; $M-1 \sim G-98$; $M-1 \sim P-97$; $M-1 \sim S-96$; $M-1 \sim S-95$; $M-1 \sim T-94$; $M-1 \sim A-93$; $M-1 \sim Y-92$; $M-1 \sim A-91$; $M-1 \sim R-90$; $M-1 \sim C-89$; $M-1 \sim A-88$; $M-1 \sim A-87$; $M-1 \sim C-86$; $M-1 \sim H-85$; $M-1 \sim D-84$; $M-1 \sim G-83$; $M-1 \sim D-82$; $M-1 \sim Q-81$; $M-1 \sim V-80$; $M-1 \sim I-79$; $M-1 \sim C-78$; $M-1 \sim F-77$; $M-1 \sim H-76$; $M-1 \sim G-75$; $M-1 \sim P-74$; $M-1 \sim S-73$; $M-1 \sim C-72$; $M-1 \sim G-71$; $M-1 \sim C-70$; $M-1 \sim V-69$; $M-1 \sim A-68$; $M-1 \sim N-67$; $M-1 \sim E-66$; $M-1 \sim T-65$; $M-1 \sim R-64$; $M-1 \sim S-63$; $M-1 \sim C-62$; $M-1 \sim N-61$; $M-1 \sim R-60$; $M-1 \sim S-59$; $M-1 \sim A-58$; $M-1 \sim R-57$; $M-1 \sim L-56$; $M-1 \sim G-55$; $M-1 \sim M-54$; $M-1 \sim A-53$; $M-1 \sim P-52$; $M-1 \sim T-51$; $M-1 \sim W-50$; $M-1 \sim S-49$; $M-1 \sim S-48$; $M-1 \sim P-47$; $M-1 \sim S-46$; $M-1 \sim L-45$; $M-1 \sim P-44$; $M-1 \sim P-43$; $M-1 \sim V-42$; $M-1 \sim H-41$; $M-1 \sim L-40$; $M-1 \sim G-39$; $M-1 \sim P-38$; $M-1 \sim C-37$; $M-1 \sim W-36$; $M-1 \sim G-35$; $M-1 \sim C-34$; $M-1 \sim A-33$; $M-1 \sim L-32$; $M-1 \sim V-31$; $M-1 \sim A-30$; $M-1 \sim D-29$; $M-1 \sim V-28$; $M-1 \sim P-27$; $M-1 \sim W-26$; $M-1 \sim P-25$; $M-1 \sim S-24$; $M-1 \sim S-23$; M

—1～G—22；M—1～P—21；M—1～R—20；M—1～G—19；M—1～A—18；M—1～L—17；M—1～S—16；M—1～F—15；M—1～G—14；M—1～Q—13；M—1～S—12；M—1～L—11；M—1～W—10；M—1～V—9；M—1～L—8；M—1～H—7；およびM—1～G—6。本発明はまた、上記のポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列に対して少なくとも80%、85%、90%、92%、95%、96%、97%、98%または99%同一なポリヌクレオチド配列を含むかまたはこのポリヌクレオチド配列からなる核酸分子に関する。本発明はまた、異種ポリヌクレオチド配列に融合された上記のポリヌクレオチド配列を包含する。これらのポリヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチドもまた本発明によって包含される。

【0141】

本発明はまた、1以上のアミノ酸がTR2—SV2ポリペプチドのアミノ末端およびカルボキシル末端の両方から欠失されたポリペプチドを提供し、これは一般に、図7A～7C（すなわち、配列番号8）の残基 n^3 ～ m^3 を有するように記載され得、ここで、 n^3 および m^3 は、上記に記載される通りの整数である。これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドもまた本発明によって包含される。

【0142】

さらに、本発明はさらに、配列番号2（図1A～1B）に示される、159位のグリシン残基までのTR2アミノ酸配列の推定の細胞外ドメインのアミノ末端から1以上の残基が欠失したポリペプチド、およびこのようなポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを提供する。詳細には、本発明は、配列番号2の残基 n^4 ～164のアミノ酸配列を含むかあるいはこれらのアミノ酸配列からなるポリペプチドを提供し、ここで、 n^4 は、1～159の範囲の整数である。これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドもまた本発明によって包含される。

【0143】

より詳細には、本発明は、配列番号2（これは、図1A～1Bにおけるアミノ

酸残基が、N末端からC末端へと、1～283まで連続して番号が付けられているが、配列番号2におけるアミノ酸残基が推定シグナルペプチドの位置を反映して-36～-247まで連続して番号が付けられていることを除いて、図1A～1Bに示されるものと同一である）に示されるTR2アミノ酸配列のうちの以下の残基のアミノ酸配列を含むかあるいはこれらのアミノ酸配列からなるポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを提供する：P-1～H-164；A-2～H-164；L-3～H-164；P-4～H-164；S-5～H-164；C-6～H-164；K-7～H-164；E-8～H-164；D-9～H-164；E-10～H-164；Y-11～H-164；P-12～H-164；V-13～H-164；G-14～H-164；S-15～H-164；E-16～H-164；C-17～H-164；C-18～H-164；P-19～H-164；K-20～H-164；C-21～H-164；S-22～H-164；P-23～H-164；G-24～H-164；Y-25～H-164；R-26～H-164；V-27～H-164；K-28～H-164；E-29～H-164；A-30～H-164；C-31～H-164；G-32～H-164；E-33～H-164；L-34～H-164；T-35～H-164；G-36～H-164；T-37～H-164；V-38～H-164；C-39～H-164；E-40～H-164；P-41～H-164；C-42～H-164；P-43～H-164；P-44～H-164；G-45～H-164；T-46～H-164；Y-47～H-164；I-48～H-164；A-49～H-164；H-50～H-164；L-51～H-164；N-52～H-164；G-53～H-164；L-54～H-164；S-55～H-164；K-56～H-164；C-57～H-164；L-58～H-164；Q-59～H-164；C-60～H-164；Q-61～H-164；M-62～H-164；C-63～H-164；D-64～H-164；P-65～H-164；A-66～H-164；M-67～H-164；G-68～H-164；L-69～H-164；R-70～H-164；A-71～H-164；S-72～H-164；R-73～H-164；N-74～H-164；C-75～H-164；S-76～H-164；R-77～H-164；T-78～

H-164; E-79~H-164; N-80~H-164; A-81~H-164; V-82~H-164; C-83~H-164; G-84~H-164; C-85~H-164; S-86~H-164; P-87~H-164; G-88~H-164; H-89~H-164; F-90~H-164; C-91~H-164; I-92~H-164; V-93~H-164; Q-94~H-164; D-95~H-164; G-96~H-164; D-97~H-164; H-98~H-164; C-99~H-164; A-100~H-164; A-101~H-164; C-102~H-164; R-103~H-164; A-104~H-164; Y-105~H-164; A-106~H-164; T-107~H-164; S-108~H-164; S-109~H-164; P-110~H-164; G-111~H-164; Q-112~H-164; R-113~H-164; V-114~H-164; Q-115~H-164; K-116~H-164; G-117~H-164; G-118~H-164; T-119~H-164; E-120~H-164; S-121~H-164; Q-122~H-164; D-123~H-164; T-124~H-164; L-125~H-164; C-126~H-164; Q-127~H-164; N-128~H-164; C-129~H-164; P-130~H-164; P-131~H-164; G-132~H-164; T-133~H-164; F-134~H-164; S-135~H-164; P-136~H-164; N-137~H-164; G-138~H-164; T-139~H-164; L-140~H-164; E-141~H-164; E-142~H-164; C-143~H-164; Q-144~H-164; H-145~H-164; Q-146~H-164; T-147~H-164; K-148~H-164; C-149~H-164; S-150~H-164; W-151~H-164; L-152~H-164; V-153~H-164; T-154~H-164; K-155~H-164; A-156~H-164; G-157~H-164; A-158~H-164; およびG-159~H-164。本発明はまた、上記のポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列に対して少なくとも80%、85%、90%、92%、95%、96%、97%、98%または99%同一なポリヌ

クレオチド配列を含むかまたはこのポリヌクレオチド配列からなる核酸分子に関する。本発明はまた、異種ポリヌクレオチド配列に融合された上記のポリヌクレオチド配列を包含する。これらのポリヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチドもまた本発明によって包含される。

【0144】

本発明はさらに、配列番号2における6位のシステイン残基までの、配列番号2（図1A～1B）に示されるTR2のアミノ酸配列の推定の細胞外ドメインのカルボキシ末端から1以上の残基が欠失したポリペプチド、およびこのようなポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを提供する。詳細には、本発明は、配列番号2（図1A～1B）の1～ m^4 の残基のアミノ酸配列を含むかあるいはこれらのアミノ酸配列からなるポリペプチドを提供し、ここで、 m^4 は6～164の範囲の整数である。これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドもまた本発明によって包含される。

【0145】

より詳細には、本発明は、配列番号2（図1A～1Bにおけるアミノ酸残基が、N末端からC末端へと、1～283まで連続して番号が付けられているが、配列番号2におけるアミノ酸残基が推定シグナルペプチドの位置を反映して-36～-247まで連続して番号が付けられていることを除いて、図1A～1Bに示される配列と同一である）に示すTR2配列の配列のうちの以下の残基のアミノ酸配列を含むかあるいはこれらのアミノ酸配列からなるポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを提供する：P-1～H-164；P-1～S-163；P-1～S-162；P-1～S-161；P-1～T-160；P-1～G-159；P-1～A-158；P-1～G-157；P-1～A-156；P-1～K-155；P-1～T-154；P-1～V-153；P-1～L-152；P-1～W-151；P-1～S-150；P-1～C-149；P-1～K-148；P-1～T-147；P-1～Q-146；P-1～H-145；P-1～Q-144；P-1～C-143；P-1～E-142；P-1～E-141；P-1～L-140；P-1～T-139；P-1～G-138；P-1～N-137；P-1～P-136；P-1～S-135；P-1～F-134；

$P-1 \sim T-133$; $P-1 \sim G-132$; $P-1 \sim P-131$; $P-1 \sim P-130$; $P-1 \sim C-129$; $P-1 \sim N-128$; $P-1 \sim Q-127$; $P-1 \sim C-126$; $P-1 \sim L-125$; $P-1 \sim T-124$; $P-1 \sim D-123$; $P-1 \sim Q-122$; $P-1 \sim S-121$; $P-1 \sim E-120$; $P-1 \sim T-119$; $P-1 \sim G-118$; $P-1 \sim G-117$; $P-1 \sim K-116$; $P-1 \sim Q-115$; $P-1 \sim V-114$; $P-1 \sim R-113$; $P-1 \sim Q-112$; $P-1 \sim G-111$; $P-1 \sim Q-110$; $P-1 \sim P-110$; $P-1 \sim S-109$; $P-1 \sim S-108$; $P-1 \sim T-107$; $P-1 \sim A-106$; $P-1 \sim Y-105$; $P-1 \sim A-104$; $P-1 \sim R-103$; $P-1 \sim C-102$; $P-1 \sim A-101$; $P-1 \sim A-100$; $P-1 \sim C-99$; $P-1 \sim H-98$; $P-1 \sim D-97$; $P-1 \sim G-96$; $P-1 \sim D-95$; $P-1 \sim Q-94$; $P-1 \sim V-93$; $P-1 \sim I-92$; $P-1 \sim C-91$; $P-1 \sim F-90$; $P-1 \sim H-89$; $P-1 \sim G-88$; $P-1 \sim P-87$; $P-1 \sim S-86$; $P-1 \sim C-85$; $P-1 \sim G-84$; $P-1 \sim C-83$; $P-1 \sim V-82$; $P-1 \sim A-81$; $P-1 \sim N-80$; $P-1 \sim E-79$; $P-1 \sim T-78$; $P-1 \sim R-77$; $P-1 \sim S-76$; $P-1 \sim C-75$; $P-1 \sim N-74$; $P-1 \sim R-73$; $P-1 \sim S-72$; $P-1 \sim A-71$; $P-1 \sim R-70$; $P-1 \sim L-69$; $P-1 \sim G-68$; $P-1 \sim M-67$; $P-1 \sim A-66$; $P-1 \sim P-65$; $P-1 \sim D-64$; $P-1 \sim C-63$; $P-1 \sim M-62$; $P-1 \sim Q-61$; $P-1 \sim C-60$; $P-1 \sim Q-59$; $P-1 \sim L-58$; $P-1 \sim C-57$; $P-1 \sim K-56$; $P-1 \sim S-55$; $P-1 \sim L-54$; $P-1 \sim G-53$; $P-1 \sim N-52$; $P-1 \sim L-51$; $P-1 \sim H-50$; $P-1 \sim A-49$; $P-1 \sim I-48$; $P-1 \sim Y-47$; $P-1 \sim T-46$; $P-1 \sim G-45$; $P-1 \sim P-44$; $P-1 \sim P-43$; $P-1 \sim C-42$; $P-1 \sim P-41$; $P-1 \sim E-40$; $P-1 \sim C-39$; $P-1 \sim V-38$; $P-1 \sim T-37$; $P-1 \sim G-36$; $P-1 \sim T-35$; $P-1 \sim L-34$; $P-1 \sim E-33$; $P-1 \sim G-32$; $P-1 \sim C-31$; $P-1 \sim A-30$; $P-1 \sim E-29$; $P-1 \sim K-28$; $P-1 \sim V-27$; $P-1 \sim R-26$; $P-1 \sim Y-25$; $P-1 \sim G-24$; $P-1 \sim P-23$; P

—1～S—22；P—1～C—21；P—1～K—20；P—1～P—19；P—1～C—18；P—1～C—17；P—1～E—16；P—1～S—15；P—1～G—14；P—1～V—13；P—1～P—12；P—1～Y—11；P—1～E—10；P—1～D—9；P—1～E—8；P—1～K—7；およびP—1～C—6。本発明はまた、上記のポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列に対して少なくとも80%、85%、90%、92%、95%、96%、97%、98%または99%同一であるポリヌクレオチド配列を含むかあるいはこのポリヌクレオチド配列からなる核酸分子に関する。本発明はまた、異種ポリヌクレオチド配列に融合された上記のポリヌクレオチド配列を包含する。これらのポリヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチドもまた本発明によって包含される。

【0146】

本発明はまた、配列番号2（図1A～1B）の残基 n^4 ～ m^4 を有すると一般に記載され得る、可溶性TR2ポリペプチドのアミノ末端およびカルボキシル末端の両方から1以上のアミノ酸が欠失されたポリペプチドを提供し、ここで、 n^4 および m^4 は、上記の通りの整数である。これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドもまた本発明によって包含される。

【0147】

さらに、本発明はさらに、144位のトレオニン残基までの、配列番号5（図4A～4C）に示されるTR2—SV1アミノ酸配列の推定の細胞外ドメインのアミノ末端からの1以上の残基が欠失したポリペプチド、ならびにこのようなポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを提供する。詳細には、本発明は、配列番号5の n^5 ～149の残基のアミノ酸配列を含むかあるいはこれらのアミノ酸配列からなるポリペプチドを提供し、ここで、 n^5 は、1～144の範囲の整数である。これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドもまた本発明によって包含される。

【0148】

より詳細には、本発明は、配列番号5（これは、図4A～4Cにおけるアミノ酸残基が、N末端からC末端へと、1～185まで連続して番号が付けられてい

るが、配列番号5におけるアミノ酸残基が推定シグナルペプチドの位置を反映して-36~149まで連続して番号が付けられていることを除いて、図4A~4Cに示されるものと同一である)に示されるTR2-SV1アミノ酸配列のうちの以下の残基のアミノ酸配列を含むかあるいはこれらのアミノ酸配列からなるポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを提供する：P-1~A-149；A-2~A-149；L-3~A-149；P-4~A-149；S-5~A-149；C-6~A-149；K-7~A-149；E-8~A-149；D-9~A-149；E-10~A-149；Y-11~A-149；P-12~A-149；V-13~A-149；G-14~A-149；S-15~A-149；E-16~A-149；C-17~A-149；C-18~A-149；P-19~A-149；K-20~A-149；C-21~A-149；S-22~A-149；P-23~A-149；G-24~A-149；Y-25~A-149；R-26~A-149；V-27~A-149；K-28~A-149；E-29~A-149；A-30~A-149；C-31~A-149；G-32~A-149；E-33~A-149；L-34~A-149；T-35~A-149；G-36~A-149；T-37~A-149；V-38~A-149；C-39~A-149；E-40~A-149；P-41~A-149；C-42~A-149；P-43~A-149；P-44~A-149；G-45~A-149；T-46~A-149；Y-47~A-149；I-48~A-149；A-49~A-149；H-50~A-149；L-51~A-149；N-52~A-149；G-53~A-149；L-54~A-149；S-55~A-149；K-56~A-149；C-57~A-149；L-58~A-149；Q-59~A-149；C-60~A-149；Q-61~A-149；M-62~A-149；C-63~A-149；D-64~A-149；P-65~A-149；D-66~A-149；I-67~A-149；G-68~A-149；S-69~A-149；P-70~A-149；C-71~A-149；D-72~A-149；L-73~A-149；R-74~A-149；G-75~A-149；R-76~A-149；G-77~A-149；H-78~A-149；L-79~A-149；E-80~A-149；A-81

～A-149；G-82～A-149；A-83～A-149；H-84～A-149；L-85～A-149；S-86～A-149；P-87～A-149；G-88～A-149；R-89～A-149；Q-90～A-149；K-91～A-149；G-92～A-149；E-93～A-149；P-94～A-149；D-95～A-149；P-96～A-149；E-97～A-149；V-98～A-149；A-99～A-149；F-100～A-149；E-101～A-149；S-102～A-149；L-103～A-149；S-104～A-149；A-105～A-149；E-106～A-149；P-107～A-149；V-108～A-149；H-109～A-149；A-110～A-149；A-111～A-149；N-112～A-149；G-113～A-149；S-114～A-149；V-115～A-149；P-116～A-149；L-117～A-149；E-118～A-149；P-119～A-149；H-120～A-149；A-121～A-149；R-122～A-149；L-123～A-149；S-124～A-149；M-125～A-149；A-126～A-149；S-127～A-149；A-128～A-149；P-129～A-149；C-130～A-149；G-131～A-149；Q-132～A-149；A-133～A-149；G-134～A-149；L-135～A-149；H-136～A-149；L-137～A-149；R-138～A-149；D-139～A-149；R-140～A-149；A-141～A-149；D-142～A-149；G-143～A-149；およびT-144～A-149。本発明はまた、上記のポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列に対して少なくとも80%、85%、90%、92%、95%、96%、97%、98%または99%同一なポリヌクレオチド配列を含むかまたはこのポリヌクレオチド配列からなる核酸分子に関する。本発明はまた、異種ポリヌクレオチド配列に融合された上記のポリヌクレオチド配列を包含する。これらのポリヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチドもまた本発明によって包含される。

【0149】

本発明はさらに、配列番号5における6位のシステイン残基までの、配列番号

5（図4A～4C）に示されるTR2-SV1のアミノ酸配列の推定の細胞外ドメインのカルボキシ末端から1以上の残基が欠失されたポリペプチド、およびこのようなポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを提供する。詳細には、本発明は、配列番号5（図4A～4C）の1-m⁵残基のアミノ酸配列を含むかまたはこのアミノ酸配列からなるポリペプチドを提供し、ここで、m⁵は、6～149の範囲の整数である。これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドもまた本発明によって包含される。

【0150】

より詳細には、本発明は、配列番号5（これは、図4A～4Cにおけるアミノ酸残基が、N末端からC末端へと、1～185まで連続して番号が付けられているが、配列番号5におけるアミノ酸残基が推定シグナルペプチドの位置を反映して-36～149まで連続して番号が付けられていることを除いて、図4A～4Cに示される配列と同一である）に示されるTR2-SV1配列の配列のうちの以下の残基のアミノ酸配列を含むかあるいはこれらのアミノ酸配列からなるポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを提供する：P-1～A-149；P-1～R-148；P-1～G-147；P-1～G-146；P-1～P-145；P-1～T-144；P-1～G-143；P-1～D-142；P-1～A-141；P-1～R-140；P-1～D-139；P-1～R-138；P-1～L-137；P-1～H-136；P-1～L-135；P-1～G-134；P-1～A-133；P-1～Q-132；P-1～G-131；P-1～C-130；P-1～P-129；P-1～A-128；P-1～S-127；P-1～A-126；P-1～M-125；P-1～S-124；P-1～L-123；P-1～R-122；P-1～A-121；P-1～H-120；P-1～P-119；P-1～E-118；P-1～L-117；P-1～P-116；P-1～V-115；P-1～S-114；P-1～G-113；P-1～N-112；P-1～A-111；P-1～A-110；P-1～H-109；P-1～V-108；P-1～P-107；P-1～E-106；P-1～A-105；P-1～S-104；P-1～L-103；P-1～S-102；P-1～E-101；P-1～F-100；P-1～A-99；P-1～V-9

8 ; P-1 ~ E-97 ; P-1 ~ P-96 ; P-1 ~ D-95 ; P-1 ~ P-94 ; P-1 ~ E-93 ; P-1 ~ G-92 ; P-1 ~ K-91 ; P-1 ~ Q-90 ; P-1 ~ R-89 ; P-1 ~ G-88 ; P-1 ~ P-87 ; P-1 ~ S-86 ; P-1 ~ L-85 ; P-1 ~ H-84 ; P-1 ~ A-83 ; P-1 ~ G-82 ; P-1 ~ A-81 ; P-1 ~ E-80 ; P-1 ~ L-79 ; P-1 ~ H-78 ; P-1 ~ G-77 ; P-1 ~ R-76 ; P-1 ~ G-75 ; P-1 ~ R-74 ; P-1 ~ L-73 ; P-1 ~ D-72 ; B-1 ~ C-71 ; P-1 ~ P-70 ; P-1 ~ S-69 ; P-1 ~ G-68 ; P-1 ~ I-67 ; P-1 ~ D-66 ; P-1 ~ P-65 ; P-1 ~ D-64 ; P-1 ~ C-63 ; P-1 ~ M-62 ; P-1 ~ Q-61 ; P-1 ~ C-60 ; P-1 ~ Q-59 ; P-1 ~ L-58 ; P-1 ~ C-57 ; P-1 ~ K-56 ; P-1 ~ S-55 ; P-1 ~ L-54 ; P-1 ~ G-53 ; P-1 ~ N-52 ; P-1 ~ L-51 ; P-1 ~ H-50 ; P-1 ~ A-49 ; P-1 ~ I-48 ; P-1 ~ Y-47 ; P-1 ~ T-46 ; P-1 ~ G-45 ; P-1 ~ P-44 ; P-1 ~ P-43 ; P-1 ~ C-42 ; P-1 ~ P-41 ; P-1 ~ E-40 ; P-1 ~ C-39 ; P-1 ~ V-38 ; P-1 ~ T-37 ; P-1 ~ G-36 ; P-1 ~ T-35 ; P-1 ~ L-34 ; P-1 ~ E-33 ; P-1 ~ G-32 ; P-1 ~ C-31 ; P-1 ~ A-30 ; P-1 ~ E-29 ; P-1 ~ K-28 ; P-1 ~ V-27 ; P-1 ~ R-26 ; P-1 ~ Y-25 ; P-1 ~ G-24 ; P-1 ~ P-23 ; P-1 ~ S-22 ; P-1 ~ C-21 ; P-1 ~ K-20 ; P-1 ~ P-19 ; P-1 ~ C-18 ; P-1 ~ C-17 ; P-1 ~ E-16 ; P-1 ~ S-15 ; P-1 ~ G-14 ; P-1 ~ V-13 ; P-1 ~ P-12 ; P-1 ~ Y-11 ; P-1 ~ E-10 ; P-1 ~ D-9 ; P-1 ~ E-8 ; P-1 ~ K-7 ; および P-1 ~ C-6 。 本発明はまた、上記のポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列に対して少なくとも80%、85%、90%、92%、95%、96%、97%、98%または99%同一なポリヌクレオチド配列を含むかあるいはこのポリヌクレオチド配列からなる核酸分子に関する。本発明はまた、異種ポリヌクレオチド配列に融合された上記のポリヌクレオチド配列を包含する。これらのポリヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチドもまた本発明によって包含される。

【0151】

本発明はまた、可溶性TR2-SV1ポリペプチドのアミノ末端およびカルボキシル末端の両方から1以上のアミノ酸が欠失したポリペプチドを提供し、これは一般に、配列番号5（図4A～4C）の残基 $n^5 \sim m^5$ を有すると記載され得、ここで n^5 および m^5 は、上記の通りの整数である。これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドもまた本発明によって包含される。

【0152】

さらに、本発明のポリペプチドのうちの1以上のアミノ酸残基（例えば、アルギニン残基およびリジン残基）は、別の残基で欠失または置換されて、例えば、フリンまたはケキシン（kexin）のようなプロテアーゼによる所望でないプロセッシングを除去し得る。

【0153】

本発明はさらに、本発明のポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド配列を含むタンパク質を提供する。

【0154】

本発明の特に好ましいフラグメントの中には、本発明のTR2レセプターの構造特性または機能特性によって特徴付けられるフラグメントがある。このようなフラグメントとしては、完全（すなわち、全長）TR2レセプター（配列番号2）のJameson-Wolfプログラムのデフォルトパラメータ）を用いる同定されたときの、以下を含むかあるいは以下からなるアミノ酸残基が挙げられる： α ヘリックスおよび α ヘリックス形成領域（「 α 領域」）、 β シートおよび β シート形成領域（「 β 領域」）、ターンおよびターン形成領域（「ターン領域」）、コイルおよびコイル形成領域（「コイル領域」）、親水性領域、疎水性領域、 α 両親媒性領域、 β 両親媒性領域、表面形成領域および高抗原性指数領域（すなわち、1.5以上の抗原性指数を有する4以上の連続したアミノ酸を含む）。特定の好ましい領域は、図3に示す領域であり、そして図1A～1B（配列番号2）に示すアミノ酸配列の分析によって同定される上記の型の領域を含むがこれらに限定されず、このような好ましい領域としては、これらのコンピュータプログラムのデフォルトパラメータを用いて推定した場合の、以下が挙げられ

る；Garnier-Robson推定 α 領域、 β 領域、ターン領域およびコイル領域；Chou-Fasman推定 α 領域、 β 領域、ターン領域およびコイル領域；Kyte-Doolittle推定親水性領域および疎水性領域；Eisenberg α 両親媒性領域および β 両親媒性領域；Emini表面形成領域；ならびにJameson-Wolf高抗原性指数領域。これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドもまた本発明によって包含される。

【0155】

さらなる実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、TR2レセプターの機能的特性をコードする。これに関する本発明の好ましい実施形態としては、1以上の以下の機能的ドメインのうちの1、2、3、4以上を含むかあるいはこれらからなるフラグメントが挙げられる：TR2レセプターの α ヘリックスおよび α ヘリックス形成領域（「 α 領域」）、 β シートおよび β シート形成領域（「 β 領域」）、ターンおよびターン形成領域（「ターン領域」）、コイルおよびコイル形成領域（「コイル領域」）、親水性領域、疎水性領域、 α 両親媒性領域、 β 両親媒性領域、可撓性領域、表面形成領域および高抗原性指数領域。

【0156】

図3、6および9ならびに表II、IIIおよびIXに示すTR2レセプターの構造的または機能的特性を提示するデータを、デフォルトパラメーターでのDNA*STARセットの種々の同定されたモジュールおよびアルゴリズムを用いて生成した。好ましい実施形態では、表IIの第VII欄、第IX欄、第XII欄および第XIV欄に提示するデータを用いて、抗原性についての高い程度の可能性を示す、TR2レセプターの領域を決定し得る。高い抗原性の領域を、免疫応答の開始プロセスにおいて抗原認識が生じ得る環境においてポリペプチドの表面に曝露されるようである、ポリペプチドの領域を表す値を選択することによって、第VII欄、第IX欄、第XII欄および／または第IV欄に示すデータから決定する。

【0157】

これらに関して特定の好ましい領域を、図3、6および9に示すが、これらの領域は、それぞれ、表II、IIIおよびIVに示すように、図3、6および9

に提示するデータの表形式の提示を用いることによって提示または同定され得る。図3、6および9を生成するために用いられる（元々のデフォルトパラメーターに設定される）DNA*STARコンピューターアルゴリズムを用いて、表形式で図3、6および9におけるデータを提示した。（それぞれ、表II、IIIおよびIVを参照のこと）。

【0158】

図3、6および9ならびに表II、IIIおよびIVに示す上記の好ましい領域としては、図1、4および7に示すアミノ酸配列の分析によって同定される上記の型の領域が挙げられるがこれらに限定されない。図3、6および9ならびに表II、IIIおよびIVに示すように、このような好ましい領域としては、以下が挙げられる：Garnier-Robsonの α 領域、 β 領域、ターン領域およびコイル領域（表II、表IIIおよび表IVにおける第I欄、第III欄、第V欄および第VII欄）、Chou-Fasmanの α 領域、 β 領域およびターン領域（表II、表IIIおよび表IVにおける第II欄、第IV欄および第VI欄）、Kyte-Doolittleの親水性領域（表II、表IIIおよび表IVにおける第VIII欄）、Hopp-Woodsの疎水性領域（表II、表IIIおよび表IVにおける第IX欄）、Eisenbergの α 両親媒性領域および β 両親媒性領域（表II、表IIIおよび表IVにおける第X欄および第XI欄）、Karplus-Schulzの可撓性領域（表II、表IIIおよび表IVにおける第XII欄）、Jameson-Wolfの高抗原性指数領域（表II、表IIIおよび表IVにおける第XIII欄）、ならびにEminiの表面形成領域（表II、表IIIおよび表IVにおける第XIV欄）。

【0159】

【表2】

表 II

残基	位置	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV
Met	1	.	.	B	.	.	.	.	0.58	-0.24	.	.	.	1.15	1.53
Glu	2	.	.	B	.	.	.	.	0.97	-0.24	.	*	.	1.40	1.19
Pro	3	.	.	.	.	.	T	C	1.07	-0.67	*	*	.	2.35	1.55
Pro	4	.	.	.	.	T	T	.	1.11	-0.19	*	*	.	2.50	1.65
Gly	5	.	.	.	.	T	T	.	1.29	-0.37	.	*	F	2.25	0.94
Asp	6	.	.	.	.	T	T	.	1.68	0.06	*	*	F	1.40	0.94
Trp	7	.	.	.	.	T	.	.	1.47	0.06	.	.	F	0.95	0.94
Gly	8	.	.	.	.	.	.	C	1.39	0.06	*	*	F	0.65	1.47
Pro	9	.	.	.	.	.	T	C	1.71	0.54	*	*	F	0.15	0.93
Pro	10	.	.	.	.	.	T	C	1.76	0.54	*	*	F	0.30	1.73
Pro	11	.	.	.	.	T	T	.	1.44	0.01	*	*	F	0.80	2.34
Trp	12	.	.	.	.	T	T	.	1.52	0.07	*	*	F	0.80	2.18
Arg	13	.	.	.	.	T	.	.	1.91	0.07	*	*	F	0.94	2.18
Ser	14	.	.	.	.	.	.	C	1.81	-0.36	*	*	F	1.68	2.82
Thr	15	.	.	.	.	.	T	C	2.02	-0.30	*	*	F	2.22	3.88
Pro	16	.	.	.	.	.	T	C	1.38	-1.21	.	*	F	2.86	3.30
Lys	17	.	.	.	.	T	T	.	0.86	-0.57	.	*	F	3.40	1.83
Thr	18	.	.	B	.	.	T	.	0.86	-0.27	.	*	F	2.36	1.05
Asp	19	.	.	B	B	.	.	.	0.34	-0.76	*	*	F	1.92	1.32
Val	20	.	.	B	B	.	.	.	-0.20	-0.50	*	*	.	1.28	0.55
Leu	21	.	.	B	B	.	.	.	-0.80	0.14	*	.	.	0.04	0.28
Arg	22	.	.	B	B	.	.	.	-1.09	0.34	*	*	.	-0.30	0.14
Leu	23	.	.	B	B	.	.	.	-1.59	1.10	*	*	.	-0.60	0.29
Val	24	.	.	B	B	.	.	.	-1.90	1.14	*	*	.	-0.60	0.29
Leu	25	.	.	B	B	.	.	.	-1.74	0.94	*	*	.	-0.60	0.22
Tyr	26	.	.	B	B	.	.	.	-1.74	1.73	*	*	.	-0.60	0.23
Leu	27	.	.	B	B	.	.	.	-2.20	1.73	*	*	.	-0.60	0.25
Thr	28	.	.	B	B	.	.	.	-1.98	1.51	.	.	.	-0.60	0.30
Phe	29	.	.	B	B	.	.	.	-1.33	1.33	.	.	.	-0.60	0.19

残基 位置 表 II の続き

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV
Leu	.	.	B	B	.	.	.	-1.19	1.00	.	.	.	-0.60	0.37
Gly	.	.	B	B	.	.	.	-1.19	0.89	.	.	.	-0.60	0.14
Ala	.	.	B	.	.	T	.	-0.97	1.16	.	.	.	-0.20	0.25
Pro	.	.	.	.	T	T	.	-0.87	0.87	.	.	.	0.20	0.30
Cys	.	.	.	.	T	T	.	-0.76	0.61	.	.	.	0.20	0.47
Tyr	.	.	B	.	.	T	.	-0.76	0.69	.	.	.	-0.20	0.47
Ala	.	.	B	.	.	.	.	-0.62	0.87	.	.	.	-0.40	0.25
Pro	.	.	B	.	.	.	.	-0.33	0.87	.	.	.	-0.40	0.72
Ala	.	.	B	.	.	.	.	-0.79	0.69	.	.	.	-0.14	0.62
Leu	.	.	B	.	.	T	.	-0.08	0.50	.	.	.	0.32	0.33
Pro	.	.	B	.	.	T	.	0.17	0.00	.	.	.	1.03	0.42
Ser	.	.	.	.	T	T	.	0.76	-0.43	.	.	F	2.29	0.73
Cys	.	.	.	.	T	T	.	0.97	-0.93	.	.	F	2.60	1.47
Lys	.	A	B	.	.	.	.	1.31	-1.61	.	.	F	1.94	1.65
Glu	.	A	B	.	.	.	.	1.91	-1.29	.	.	F	1.68	1.93
Asp	.	A	.	.	T	.	.	1.27	-1.24	.	.	F	1.82	5.56
Glu	.	A	B	.	.	.	.	1.22	-1.17	.	.	F	1.16	2.06
Tyr	.	A	B	.	.	.	.	1.59	-0.74	.	.	.	0.75	1.18
Pro	.	.	.	.	T	.	.	1.54	-0.36	.	.	.	0.90	0.95
Val	.	.	.	.	T	.	.	0.88	-0.36	.	.	F	1.05	0.95
Gly	.	.	.	.	T	T	.	0.21	0.21	.	.	F	0.65	0.32
Ser	.	.	.	.	T	T	.	0.00	0.03	.	*	F	0.65	0.11
Glu	.	.	.	.	T	T	.	0.29	0.03	.	*	F	0.90	0.23
Cys	.	.	B	.	.	T	.	-0.17	-0.61	.	*	.	1.50	0.47
Cys	.	.	B	.	.	T	.	0.39	-0.47	.	*	.	1.45	0.19
Pro	.	.	.	.	T	T	.	0.52	-0.47	.	.	.	2.10	0.15
Lys	.	.	.	.	T	T	.	0.48	-0.04	.	.	F	2.50	0.42
Cys	.	.	.	.	T	T	.	0.23	-0.19	*	*	F	2.25	0.78
Ser	.	.	.	.	T	T	C	1.01	0.00	*	*	F	1.20	0.79
Pro	.	.	.	.	T	T	.	0.82	-0.43	.	*	F	1.75	0.77
Gly	.	.	.	.	T	T	.	1.08	0.21	.	*	F	1.05	1.07
Tyr	.	.	B	.	.	T	.	1.03	-0.36	.	*	.	0.85	1.60

残基	位置	表 II の続き													
		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV
Arg	62	.	A	B	.	.	.	.	1.11	-0.74	*	*	.	0.75	1.79
Val	63	.	A	B	.	.	.	.	0.74	-0.67	*	*	.	0.75	1.83
Lys	64	.	A	B	.	.	.	.	0.61	-0.53	*	*	.	0.60	0.63
Glu	65	.	A	B	.	.	.	.	0.96	-0.86	*	*	.	0.60	0.32
Ala	66	.	A	B	.	.	.	.	0.39	-0.86	*	*	.	0.60	0.74
Cys	67	.	A	B	.	.	.	.	-0.03	-0.81	*	*	.	0.60	0.30
Gly	68	.	A	.	.	T	.	.	0.48	-0.33	*	*	.	0.70	0.25
Glu	69	.	A	.	.	T	.	.	0.12	0.10	*	*	F	0.25	0.25
Leu.	70	.	.	.	B	T	.	.	-0.73	0.09	*	*	F	0.25	0.67
Thr	71	.	.	.	B	T	.	.	-0.81	0.16	*	*	F	0.25	0.50
Gly	72	.	.	.	B	T	.	.	-0.14	0.30	*	*	F	0.25	0.16
Thr	73	.	.	.	B	T	.	.	-0.01	0.30	*	*	F	0.25	0.33
Val	74	.	.	B	B	.	.	.	-0.68	0.04	*	*	.	-0.30	0.35
Cys	75	.	.	B	B	.	.	.	-0.08	0.13	.	.	.	-0.30	0.19
Glu	76	.	.	B	B	.	.	.	0.02	0.13	.	.	.	-0.23	0.20
Pro	77	.	.	.	.	T	.	.	0.02	0.07	.	.	F	0.59	0.42
Cys	78	.	.	.	.	.	.	C	0.02	-0.14	.	.	F	1.06	0.78
Pro	79	.	.	.	.	.	T	C	0.63	-0.23	.	.	F	1.33	0.65
Pro	80	.	.	.	.	T	T	.	0.41	0.53	.	.	F	0.70	0.66
Gly	81	.	.	.	.	T	T	.	-0.18	0.79	.	.	F	0.63	0.86
Thr	82	.	.	B	.	.	T	.	0.00	0.71	.	.	F	0.16	0.56
Tyr	83	.	.	B	.	.	.	.	-0.14	0.79	.	.	.	-0.26	0.49
Ile	84	.	.	B	.	.	.	.	0.07	1.04	.	.	.	-0.33	0.41
Ala	85	.	.	B	.	.	.	.	-0.07	1.01	.	.	.	-0.40	0.46
His	86	.	.	B	.	.	T	.	-0.53	0.96	.	.	.	-0.20	0.29
Leu	87	.	.	B	.	.	T	.	-0.52	0.89	*	.	.	-0.20	0.34
Asn	88	.	.	B	.	T	T	.	-0.23	0.59	*	*	.	0.20	0.45
Gly	89	.	.	.	.	T	T	.	-0.01	0.09	*	.	F	0.65	0.66
Leu	90	.	.	.	.	T	.	.	-0.23	0.16	*	*	F	0.45	0.43
Ser	91	.	.	.	.	T	T	.	-0.20	0.16	*	.	F	0.65	0.22
Lys	92	.	.	.	.	T	T	.	-0.06	0.16	*	*	.	0.50	0.39
Cys	93	.	.	B	.	.	T	.	-0.06	0.30	*	*	.	0.10	0.25

表 II の続き

残基 位置

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV
Leu	.	.	B	.	.	T	.	-0.31	0.01	*	.	.	0.10	0.33
Gln	.	A	B	.	.	.	.	-0.17	0.24	*	.	.	-0.30	0.16
Cys	.	A	B	.	.	.	.	0.13	0.81	*	.	.	-0.60	0.16
Gln	.	A	B	.	.	.	.	-0.12	0.24	*	.	.	-0.30	0.33
Met	.	A	B	.	.	.	.	-0.04	-0.01	.	.	.	0.30	0.29
Cys	.	A	B	.	.	.	.	0.17	0.09	.	*	.	-0.30	0.55
Asp	.	.	B	.	.	.	.	-0.18	0.13	.	.	.	-0.10	0.31
Pro	.	.	B	.	.	.	.	-0.32	0.16	.	*	.	-0.10	0.31
Ala	.	A	B	.	.	.	.	-0.21	0.23	.	*	.	-0.30	0.48
Met	.	A	B	.	.	.	.	-0.20	-0.34	.	*	.	0.30	0.57
Gly	.	A	B	.	.	.	.	0.17	0.16	*	*	.	-0.30	0.37
Leu	.	A	B	.	.	.	.	0.28	0.11	*	*	.	-0.30	0.49
Arg	.	A	B	.	.	.	.	0.49	-0.39	*	*	.	0.64	0.97
Ala	.	A	B	.	.	.	.	0.41	-0.60	*	*	.	1.43	1.58
Ser	.	.	.	.	T	T	.	0.71	-0.46	*	*	F	2.42	1.03
Arg	.	.	.	.	T	T	.	1.17	-0.76	*	*	F	2.91	0.70
Asn	.	.	.	.	T	T	.	1.67	-0.76	*	*	F	3.40	1.36
Cys	.	.	.	.	T	T	.	1.56	-0.77	*	*	F	3.06	1.47
Ser	.	.	.	.	T	.	.	2.14	-1.16	*	.	F	2.52	1.30
Arg	.	A	.	.	T	.	.	1.86	-0.76	*	*	F	1.98	1.30
Thr	.	A	.	.	T	.	.	0.89	-0.66	*	*	F	1.64	2.44
Glu	.	A	.	.	T	.	.	0.22	-0.59	*	.	F	1.30	1.35
Asn	.	A	B	.	.	.	.	0.54	-0.40	*	.	F	0.45	0.37
Ala	.	A	B	.	.	.	.	0.18	0.03	*	.	.	-0.30	0.25
Val	.	A	.	.	T	.	.	-0.23	0.11	*	*	.	0.10	0.08
Cys	.	.	.	.	T	.	.	-0.13	0.50	.	.	.	0.00	0.07
Gly	.	.	.	.	T	.	.	-0.48	0.53	.	.	.	0.00	0.10
Cys	.	.	.	.	T	.	.	-0.51	0.46	.	.	.	0.00	0.13
Ser	.	.	.	.	T	T	C	-0.62	0.31	.	.	.	0.30	0.34
Pro	.	.	.	.	T	T	.	-0.43	0.53	.	*	F	0.35	0.30
Gly	.	.	.	.	T	T	.	-0.66	0.67	.	.	.	0.20	0.30
His	.	.	B	.	.	T	.	-1.17	0.79	.	.	.	-0.20	0.16

残基	位置	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV
Phe	126	.	.	B	B	.	.	.	-0.50	1.04	.	.	.	-0.60	0.07
Cys	127	.	.	B	B	.	.	.	-0.20	1.01	.	.	.	-0.32	0.13
Ile	128	.	.	B	B	.	.	.	-0.33	0.99	.	*	.	-0.04	0.16
Val	129	.	.	B	.	T	.	.	0.01	0.51	.	*	.	0.64	0.18
Gln	130	.	.	.	.	T	T	.	0.01	-0.27	.	.	F	2.37	0.57
Asp	131	.	.	.	.	T	T	.	0.04	-0.34	*	.	F	2.80	1.11
Gly	132	.	.	.	.	T	T	.	0.12	-0.46	*	.	F	2.37	0.80
Asp	133	.	A	.	.	T	.	.	0.42	-0.60	*	.	F	1.99	0.47
His	134	.	A	.	.	T	.	.	0.61	-0.50	.	*	.	1.56	0.28
Cys	135	.	A	B	.	.	.	.	0.72	0.07	.	*	.	-0.02	0.15
Ala	136	.	A	B	.	.	.	.	0.13	-0.36	.	*	.	0.30	0.18
Ala	137	.	A	B	.	.	.	.	0.23	0.14	.	*	.	-0.30	0.13
Cys	138	.	A	B	.	.	.	.	-0.36	0.40	.	*	.	-0.30	0.39
Arg	139	.	A	B	.	.	.	.	-0.63	0.33	.	*	.	-0.30	0.39
Ala	140	.	A	B	.	.	.	.	-0.27	0.31	.	*	.	-0.30	0.56
Tyr	141	.	.	B	.	.	.	.	0.02	0.20	.	*	.	0.05	1.39
Ala	142	.	.	B	.	T	.	.	0.40	0.01	*	*	.	-0.10	0.95
Thr	143	.	.	.	.	.	.	.	0.72	0.44	.	*	F	0.30	1.45
Ser	144	.	.	.	.	.	C	.	0.61	0.37	.	*	F	0.25	0.92
Ser	145	.	.	.	.	.	C	.	1.31	0.01	*	*	F	0.60	1.57
Pro	146	.	.	.	.	T	T	C	0.70	-0.49	*	*	F	1.20	2.14
Gly	147	.	.	.	.	T	T	.	1.29	-0.33	*	.	F	1.40	1.18
Gln	148	.	.	B	.	.	.	.	1.64	-0.31	*	.	F	1.00	1.53
Arg	149	.	.	B	.	.	.	.	1.60	-0.70	*	.	F	1.40	1.98
Val	150	.	.	B	.	.	.	.	1.56	-0.70	*	.	F	1.70	1.98
Gln	151	.	.	B	.	T	T	.	1.46	-0.70	*	.	F	2.20	1.13
Lys	152	.	.	B	.	.	T	.	1.80	-0.61	*	.	F	2.35	0.83
Gly	153	.	.	.	.	.	T	C	1.50	-0.61	*	.	F	3.00	1.94
Gly	154	.	.	.	.	.	T	C	1.39	-0.87	*	*	F	2.70	1.50
Thr	155	.	.	.	.	.	.	C	2.24	-0.87	*	.	F	2.45	1.30
Glu	156	.	.	.	.	.	.	C	1.93	-0.87	*	.	F	2.40	2.20
Ser	157	.	.	B	.	T	T	.	1.08	-0.81	*	.	F	2.75	3.20

残基位置		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV
Gln	158	.	.	.	.	T	T	.	0.76	-0.56	*	.	F	2.70	1.83
Asp	159	.	.	.	.	T	T	.	1.10	-0.47	*	.	F	2.50	0.57
Thr	160	.	.	B	.	.	T	.	1.41	-0.07	*	.	F	1.85	0.73
Leu	161	.	.	.	.	T	.	.	0.74	-0.06	*	.	.	1.65	0.68
Cys	162	.	.	.	.	T	T	.	0.83	0.11	.	.	.	1.00	0.22
Gln	163	.	.	.	.	T	T	.	0.62	0.54	.	.	.	0.45	0.23
Asn	164	.	.	.	.	T	T	.	0.28	0.49	*	.	.	0.20	0.44
Cys	165	.	.	B	.	.	T	.	0.28	0.23	.	.	F	0.25	0.81
Pro	166	.	.	.	.	.	T	C	0.39	0.14	.	.	F	0.45	0.67
Pro	167	.	.	.	.	T	T	.	0.76	0.53	.	.	F	0.35	0.36
Gly	168	.	.	.	.	T	T	.	0.54	0.51	.	.	F	0.35	0.91
Thr	169	.	.	.	.	T	T	.	0.54	0.37	.	*	F	0.65	0.91
Phe	170	.	.	B	.	.	T	.	0.87	0.34	.	*	F	0.05	0.94
Ser	171	.	.	.	.	.	T	C	0.77	0.34	.	*	F	0.45	0.94
Pro	172	.	.	.	.	.	T	C	0.17	0.40	.	*	F	0.45	0.94
Asn	173	.	.	.	.	T	T	.	0.51	0.60	.	*	F	0.35	0.90
Gly	174	.	.	.	.	.	T	C	0.82	-0.19	.	*	F	1.20	1.16
Thr	175	.	A	.	.	.	.	C	0.86	-0.57	.	*	F	1.10	1.30
Leu	176	.	A	.	.	.	.	C	1.16	-0.43	.	.	F	0.65	0.43
Glu	177	.	A	B	.	.	.	.	1.33	-0.43	.	.	F	0.45	0.76
Glu	178	.	A	B	.	.	.	.	1.33	-0.36	.	.	F	0.30	0.72
Cys	179	.	A	B	.	.	.	.	1.37	-0.44	.	*	.	0.45	1.50
Gln	180	.	A	.	.	T	.	.	1.72	-0.64	*	*	.	1.15	1.25
His	181	.	A	.	.	T	.	.	1.87	-0.64	.	*	.	1.15	1.45
Gln	182	.	A	.	.	T	.	.	1.57	-0.07	.	*	F	1.00	1.45
Thr	183	.	.	.	.	T	T	.	1.28	-0.26	.	*	F	1.40	1.12
Lys	184	.	.	.	.	T	T	.	1.13	0.26	.	*	F	0.65	0.87
Cys	185	.	.	.	.	T	T	.	0.28	0.44	.	*	.	0.20	0.41
Ser	186	.	.	.	.	T	T	.	-0.00	0.69	.	.	.	0.20	0.21
Trp	187	.	.	B	B	.	.	.	0.04	0.69	.	*	.	-0.60	0.15
Leu	188	.	.	B	B	.	.	.	-0.23	0.69	*	.	.	-0.60	0.57
Val	189	.	.	B	B	.	.	.	-0.62	0.61	*	.	.	-0.60	0.43

表 II の續

残基	位置	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV
Thr	190	.	.	B	B	.	.	.	-0.54	0.66	.	.	.	-0.39	0.40
Lys	191	.	.	B	B	.	.	.	-0.59	0.24	.	.	F	0.27	0.50
Ala	192	.	.	B	.	.	.	.	-0.61	-0.01	.	.	F	1.28	0.66
Gly	193	.	.	.	.	T	T	C	-0.10	-0.17	.	.	F	1.89	0.66
Ala	194	.	.	.	.	T	T	C	0.46	-0.27	.	.	F	2.10	0.44
Gly	195	.	.	.	.	T	T	C	0.47	0.11	.	.	F	1.29	0.59
Thr	196	.	.	.	.	T	T	C	0.39	-0.00	.	.	F	1.68	0.80
Ser	197	.	.	.	.	.	.	C	0.69	0.07	.	.	F	0.82	1.07
Ser	198	.	.	.	.	T	T	C	0.18	0.49	.	.	F	0.51	1.14
Ser	199	.	.	.	.	T	T	C	0.48	0.70	.	.	F	0.15	0.59
His	200	.	.	.	.	T	T	.	0.53	1.13	.	.	.	0.20	0.46
Trp	201	.	.	B	.	T	T	.	0.14	1.66	.	.	.	-0.20	0.36
Val	202	.	.	B	B	.	.	.	-0.37	2.06	.	.	.	-0.60	0.23
Trp	203	.	.	B	B	.	.	.	-0.37	2.36	.	.	.	-0.60	0.14
Trp	204	.	.	B	B	.	.	.	-0.41	2.24	.	.	.	-0.60	0.18
Phe	205	.	.	B	B	.	.	.	-0.68	1.76	.	.	.	-0.60	0.24
Leu	206	.	.	.	.	T	T	C	-1.20	1.50	.	.	.	0.00	0.31
Ser	207	.	.	.	.	T	T	C	-1.20	1.27	.	*	F	0.15	0.24
Gly	208	.	.	.	.	T	T	.	-1.80	1.00	.	.	F	0.35	0.21
Ser	209	.	.	.	.	T	T	C	-2.37	0.90	.	*	F	0.15	0.17
Leu	210	.	.	.	.	.	.	C	-2.56	0.86	.	.	.	-0.40	0.10
Val	211	.	.	B	B	.	.	.	-2.60	1.16	.	*	.	-0.60	0.07
Ile	212	.	.	B	B	.	.	.	-2.97	1.37	.	.	.	-0.60	0.04
Val	213	.	.	B	B	.	.	.	-2.92	1.56	.	.	.	-0.60	0.02
Ile	214	.	.	B	B	.	.	.	-2.93	1.26	.	.	.	-0.60	0.04
Val	215	.	.	B	B	.	.	.	-2.98	1.10	.	.	.	-0.60	0.09
Cys	216	.	.	B	B	.	.	.	-2.47	1.06	.	.	.	-0.60	0.09
Ser	217	.	.	B	B	.	.	.	-2.39	0.84	.	.	.	-0.60	0.13
Thr	218	.	.	B	B	.	.	.	-2.42	0.84	.	.	.	-0.60	0.14
Val	219	.	.	B	B	.	.	.	-2.42	0.89	.	.	.	-0.60	0.19
Gly	220	.	.	B	B	.	.	.	-2.23	1.00	.	.	.	-0.60	0.10
Leu	221	.	.	B	B	.	.	.	-2.42	1.19	.	*	.	-0.60	0.04

表 II の続き

残基	位置	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV
Ile	222	.	.	B	B	.	.	.	-2.08	1.34	*	.	.	-0.60	0.04
Ile	223	.	.	B	B	.	.	.	-1.66	0.70	*	*	.	-0.60	0.07
Cys	224	.	.	B	B	.	.	.	-0.69	0.27	.	.	.	-0.30	0.18
Val	225	.	.	B	B	.	.	.	-0.30	-0.41	.	.	.	0.30	0.49
Lys	226	.	.	B	B	.	.	.	0.30	-1.10	*	*	F	1.24	1.40
Arg	227	.	.	B	B	.	.	.	1.30	-1.36	*	*	F	1.78	4.04
Arg	228	.	.	.	.	T	.	.	1.84	-1.93	.	*	F	2.52	10.65
Lys	229	.	.	.	.	.	T	C	2.51	-2.14	.	*	F	2.86	5.27
Pro	230	.	.	.	.	.	T	.	2.51	-2.14	.	*	F	3.40	4.49
Arg	231	.	.	.	.	T	T	.	1.61	-1.50	.	*	F	3.06	1.70
Gly	232	.	.	.	.	T	T	.	1.54	-0.86	*	*	F	2.57	0.63
Asp	233	.	.	B	B	.	.	.	0.58	-0.86	*	.	F	1.43	0.82
Val	234	.	.	B	B	.	.	.	-0.36	-0.64	*	*	F	1.09	0.31
Val	235	.	.	B	B	.	.	.	-1.00	0.04	.	*	.	-0.30	0.22
Lys	236	.	.	B	B	.	.	.	-1.41	0.26	*	*	.	-0.30	0.10
Val	237	.	.	B	B	.	.	.	-1.92	0.64	*	*	.	-0.60	0.18
Ile	238	.	.	B	B	.	.	.	-1.92	0.64	*	.	.	-0.60	0.18
Val	239	.	.	B	B	.	.	.	-0.96	0.40	*	*	.	-0.30	0.15
Ser	240	.	.	B	B	.	.	.	-0.06	0.40	*	*	.	-0.08	0.40
Val	241	.	.	B	B	.	.	.	0.01	-0.24	*	*	.	0.89	1.15
Gln	242	.	.	B	B	.	.	.	0.87	-0.93	*	.	F	1.56	3.03
Arg	243	.	.	.	B	.	.	C	1.76	-1.17	.	.	F	1.98	3.91
Lys	244	.	.	.	B	.	.	C	2.02	-1.56	.	*	F	2.20	9.13
Arg	245	.	A	.	.	.	.	C	2.32	-1.70	.	*	F	1.98	5.33
Gln	246	.	A	.	.	.	.	C	2.83	-2.10	.	*	F	1.76	4.71
Glu	247	.	A	.	.	.	.	C	2.83	-1.67	.	*	F	1.54	2.33
Ala	248	.	A	.	.	.	.	C	2.13	-1.67	.	*	F	1.32	2.06
Glu	249	.	A	.	.	.	.	C	1.78	-1.17	.	*	F	1.10	1.20
Gly	250	.	A	.	.	.	.	C	0.81	-1.09	*	*	F	1.10	1.00
Glu	251	A	A	.	B	.	.	.	-0.08	-0.44	.	*	F	0.45	0.74
Ala	252	A	A	.	B	.	.	.	-0.08	-0.26	.	*	F	0.45	0.30
Thr	253	A	A	.	B	.	.	.	-0.08	-0.26	*	*	.	0.30	0.52

残基位置

表 II の続き

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV
Val	254	A	.	B	.	.	.	-0.89	-0.19	*	.	.	0.30	0.30
Ile	255	.	A	B	.	.	.	-0.54	0.50	.	.	.	-0.60	0.25
Glu	256	.	A	B	.	.	.	-1.13	0.40	.	.	.	-0.30	0.30
Ala	257	.	A	B	.	.	.	-0.76	0.41	*	.	.	-0.60	0.41
Leu	258	.	A	B	.	.	.	-0.66	0.20	*	.	.	-0.30	0.89
Gln	259	.	A	.	.	.	C	0.20	-0.06	*	*	.	0.78	0.80
Ala	260	.	A	.	.	.	C	0.23	-0.06	*	*	F	1.36	1.32
Pro	261	.	.	.	.	T	C	-0.08	0.09	*	*	F	1.44	1.19
Pro	262	.	.	.	T	T	.	0.20	-0.11	*	*	F	2.37	0.99
Asp	263	.	.	.	T	T	.	0.16	-0.03	*	*	F	2.80	1.42
Val	264	.	.	.	.	T	.	-0.43	0.11	*	*	F	1.37	0.68
Thr	265	.	.	B	.	.	.	-0.70	0.19	*	.	F	0.69	0.44
Thr	266	.	.	B	B	.	.	-0.49	0.40	.	.	.	0.26	0.20
Val	267	.	.	B	B	.	.	-0.28	0.40	.	.	.	-0.02	0.46
Ala	268	.	.	B	B	.	.	-0.59	-0.24	.	*	.	0.30	0.55
Val	269	.	.	B	B	.	.	-0.62	-0.24	.	.	.	0.30	0.55
Glu	270	.	.	B	B	.	.	-0.52	-0.04	.	.	F	0.45	0.52
Glu	271	.	.	B	B	.	.	-0.51	-0.26	*	.	F	0.45	0.80
Thr	272	.	.	B	B	.	.	-0.36	-0.37	*	.	F	0.60	1.44
Ile	273	.	.	B	B	.	.	-0.08	-0.23	*	.	F	0.45	0.72
Pro	274	.	.	B	B	.	.	0.43	0.26	*	*	F	-0.15	0.60
Ser	275	.	.	B	T	.	.	0.54	0.69	*	*	F	-0.05	0.41
Phe	276	.	.	B	T	.	.	0.24	0.20	*	*	F	0.40	1.15
Thr	277	.	.	B	T	.	.	0.34	-0.10	*	*	F	0.85	1.00
Gly	278	.	.	.	T	.	.	1.23	-0.10	*	*	F	1.45	1.15
Arg	279	.	.	.	.	.	C	1.41	-0.09	*	*	F	1.50	2.14
Ser	280	.	.	.	.	T	C	1.32	-0.37	*	*	F	1.95	2.01
Pro	281	.	.	.	.	T	C	1.63	-0.43	*	*	.	2.05	2.60
Asn	282	.	.	.	T	T	.	1.56	-0.43	*	.	.	2.50	1.70
His	283	.	.	.	.	T	C	1.51	-0.00	*	.	.	2.05	1.62

【0160】

【表3】

表 III

残基	位置	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV
Met	1	.	.	B	.	.	.	.	0.58	-0.24	.	.	.	1.15	1.53
Glu	2	.	.	B	.	.	.	.	0.97	-0.24	.	.	.	1.40	1.19
Pro	3	.	.	.	.	.	T	C	1.07	-0.67	.	.	.	2.35	1.55
Pro	4	.	.	.	.	T	T	.	1.11	-0.19	.	.	.	2.50	1.65
Gly	5	.	.	.	.	T	T	.	1.29	-0.37	.	.	F	2.25	0.94
Asp	6	.	.	.	.	T	T	.	1.68	0.06	.	.	F	1.40	0.94
Trp	7	.	.	.	.	T	.	.	1.47	0.06	.	.	F	0.95	0.94
Gly	8	.	.	.	.	.	.	C	1.39	0.06	.	.	F	0.65	0.94
Pro	9	.	.	.	.	.	T	C	1.71	0.54	.	.	F	0.15	1.47
Pro	10	.	.	.	.	.	T	C	1.76	0.54	.	.	F	0.30	0.93
Pro	11	.	.	.	.	T	T	.	1.44	0.01	.	.	F	0.80	1.73
Trp	12	.	.	.	.	T	T	.	1.52	0.07	.	.	F	0.80	2.34
Arg	13	.	.	.	.	T	T	.	1.98	0.07	.	*	F	0.80	2.18
Ser	14	.	.	.	.	T	.	.	1.88	0.36	.	*	F	0.94	2.18
Thr	15	.	.	.	.	.	.	C	2.09	-0.30	.	*	F	1.68	2.77
Pro	16	.	.	.	.	.	T	C	1.44	-1.21	.	*	F	2.22	3.80
Arg	17	.	.	.	.	T	T	.	0.92	-0.57	.	*	F	2.86	3.24
Thr	18	.	.	B	.	.	T	.	0.92	-0.27	.	*	F	3.40	1.79
Asp	19	.	.	B	B	.	.	.	0.41	-0.76	.	*	F	2.36	1.02
Val	20	.	.	B	B	.	.	.	-0.13	-0.50	.	.	F	1.92	1.30
Leu	21	.	.	B	B	.	.	.	-0.73	0.14	.	.	.	1.28	0.55
Arg	22	.	.	B	B	.	.	.	-1.09	0.34	.	*	.	0.04	0.28
Leu	23	.	.	B	B	.	.	.	-1.59	1.10	.	*	.	-0.30	0.14
Val	24	.	.	B	B	.	.	.	-1.90	1.14	.	*	.	-0.60	0.29
Leu	25	.	.	B	B	.	.	.	-1.74	0.94	.	*	.	-0.60	0.29
Tyr	26	.	.	B	B	.	.	.	-1.74	1.73	.	*	.	-0.60	0.22
Leu	27	.	.	B	B	.	.	.	-2.20	1.73	.	*	.	-0.60	0.23
Thr	28	.	.	B	B	.	.	.	-1.98	1.51	.	*	.	-0.60	0.25
Phe	29	.	.	B	B	.	.	.	-1.33	1.33	.	.	.	-0.60	0.30
											.	.	.		0.19

残基	位置	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV
Leu	30	.	.	B	B	.	.	.	-1.19	1.00	.	.	.	-0.60	0.37
Gly	31	.	.	B	B	.	.	.	-1.19	0.89	.	.	.	-0.60	0.14
Ala	32	.	.	B	.	.	T	.	-0.97	1.16	.	.	.	-0.20	0.25
Pro	33	.	.	.	.	T	T	.	-0.87	0.87	.	.	.	0.20	0.30
Cys	34	.	.	.	.	T	T	.	-0.76	0.61	.	.	.	0.20	0.47
Tyr	35	.	.	B	.	.	T	.	-0.76	0.69	.	.	.	-0.20	0.47
Ala	36	.	.	B	.	.	.	.	-0.62	0.87	.	.	.	-0.40	0.25
Pro	37	.	.	B	.	.	.	.	-0.33	0.87	.	.	.	-0.40	0.72
Ala	38	.	.	B	.	.	.	.	-0.79	0.69	.	.	.	-0.14	0.62
Leu	39	.	.	B	.	.	T	.	-0.08	0.50	.	.	.	0.32	0.33
Pro	40	.	.	B	.	.	T	.	0.17	0.00	.	.	.	1.03	0.42
Ser	41	.	.	.	.	T	T	.	0.76	-0.43	.	.	F	2.29	0.73
Cys	42	.	.	B	.	T	T	.	0.97	-0.93	.	.	F	2.60	1.47
Lys	43	.	A	B	.	.	.	.	1.31	-1.61	.	.	F	1.94	1.65
Glu	44	.	A	B	.	.	.	.	1.91	-1.29	.	.	F	1.68	1.93
Asp	45	.	A	.	.	T	.	.	1.27	-1.24	.	.	F	1.82	5.56
Glu	46	.	A	B	.	.	.	.	1.22	-1.17	.	.	F	1.16	2.06
Tyr	47	.	A	B	.	.	.	.	1.59	-0.74	.	.	.	0.75	1.18
Pro	48	.	.	.	.	T	.	.	1.54	-0.36	.	.	.	0.90	0.95
Val	49	.	.	.	.	T	.	.	0.88	-0.36	.	.	F	1.05	0.95
Gly	50	.	.	.	.	T	T	.	0.21	0.21	.	.	F	0.65	0.32
Ser	51	.	.	.	.	T	T	.	0.00	0.03	.	.	F	0.65	0.11
Glu	52	.	.	.	.	T	T	.	0.29	0.03	*	.	F	0.90	0.23
Cys	53	.	.	B	.	.	T	.	-0.17	-0.61	.	.	.	1.50	0.47
Cys	54	.	.	B	.	.	T	.	0.39	-0.47	.	.	.	1.45	0.19
Pro	55	.	.	.	.	T	T	.	0.52	-0.47	*	.	.	2.10	0.15
Lys	56	.	.	.	.	T	T	.	0.48	-0.04	*	.	F	2.50	0.42
Cys	57	.	.	.	.	T	T	.	0.23	-0.19	*	*	F	2.25	0.78
Ser	58	.	.	.	.	.	T	C	1.01	0.00	*	*	F	1.20	0.79
Pro	59	.	.	.	.	T	T	.	0.82	-0.43	.	*	F	1.75	0.77
Gly	60	.	.	.	.	T	T	.	1.08	0.21	.	*	F	1.05	1.07
Tyr	61	.	.	B	.	.	T	.	1.03	-0.36	.	*	.	0.85	1.60

残基	位置	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV
Arg	62	.	A	B	.	.	.	.	1.11	-0.74	*	*	.	0.75	1.79
Val	63	.	A	B	.	.	.	.	0.74	-0.67	*	*	.	0.75	1.83
Lys	64	.	A	B	.	.	.	.	0.61	-0.53	*	.	.	0.60	0.63
Glu	65	.	A	B	.	.	.	.	0.96	-0.86	*	*	.	0.60	0.32
Ala	66	.	A	B	.	.	.	.	0.39	-0.86	*	*	.	0.60	0.74
Cys	67	.	A	B	.	.	.	.	-0.03	-0.81	*	*	.	0.60	0.30
Gly	68	.	A	.	.	T	.	.	0.48	-0.33	*	.	.	0.70	0.25
Glu	69	.	A	.	T	T	.	.	0.12	0.10	*	*	F	0.25	0.25
Leu	70	.	.	.	T	T	.	.	-0.73	0.09	*	*	F	0.25	0.67
Thr	71	.	.	.	B	T	.	.	-0.81	0.16	*	.	F	0.25	0.50
Gly	72	.	.	.	B	T	.	.	-0.14	0.30	*	.	F	0.25	0.16
Thr	73	.	.	.	B	T	.	.	-0.01	0.30	*	.	F	0.25	0.33
Val	74	.	.	B	B	.	.	.	-0.68	0.04	*	.	.	-0.30	0.35
Cys	75	.	.	B	B	.	.	.	-0.08	0.13	*	.	.	-0.30	0.19
Glu	76	.	.	B	B	.	.	.	0.02	0.13	.	.	.	-0.23	0.20
Pro	77	.	.	B	B	T	.	.	0.02	0.07	.	.	F	0.59	0.42
Cys	78	.	.	.	.	.	.	C	0.02	-0.14	.	.	F	1.06	0.78
Pro	79	.	.	.	.	.	.	C	0.63	-0.23	*	.	F	1.33	0.65
Pro	80	.	.	.	.	T	T	.	0.41	0.53	.	.	F	0.70	0.66
Gly	81	.	.	.	.	T	T	.	-0.18	0.79	*	.	F	0.63	0.86
Thr	82	.	.	B	.	T	T	.	0.00	0.71	*	.	F	0.16	0.56
Tyr	83	.	.	B	.	.	.	.	-0.14	0.79	.	.	.	-0.26	0.49
Ile	84	.	.	B	.	.	.	.	0.07	1.04	.	.	.	-0.33	0.41
Ala	85	.	.	B	.	.	.	.	-0.07	1.01	.	.	.	-0.40	0.46
His	86	.	.	B	.	.	T	.	-0.53	0.96	.	.	.	-0.20	0.29
Leu	87	.	.	B	.	.	T	.	-0.52	0.89	*	.	.	-0.20	0.34
Asn	88	.	.	.	.	T	T	.	-0.23	0.59	*	.	.	0.20	0.45
Gly	89	.	.	.	.	T	T	.	-0.01	0.09	*	.	F	0.65	0.66
Leu	90	.	.	.	.	T	.	.	-0.23	0.16	*	.	F	0.45	0.43
Ser	91	.	.	.	.	T	T	.	-0.20	0.16	*	.	F	0.65	0.22
Lys	92	.	.	.	.	T	T	.	-0.06	0.16	*	.	.	0.50	0.39
Cys	93	.	.	B	.	.	T	.	-0.06	0.30	*	.	.	0.10	0.25

表 III の続き

残基	位置	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV
Leu	94	.	.	B	.	.	T	.	-0.31	0.01	*	.	.	0.10	0.33
Gln	95	.	A	B	.	.	.	.	-0.17	0.24	*	.	.	-0.30	0.16
Cys	96	.	A	B	.	.	.	.	0.13	0.81	*	.	.	-0.60	0.16
Gln	97	.	A	B	.	.	.	.	-0.12	0.24	*	.	.	-0.30	0.33
Met	98	.	A	B	.	.	.	.	0.54	-0.01	.	.	.	0.61	0.29
Cys	99	.	A	B	.	.	.	.	0.47	-0.41	.	.	.	0.92	0.91
Asp	100	.	.	B	.	.	T	.	0.12	-0.30	.	.	.	1.63	0.37
Pro	101	.	.	.	.	T	T	.	0.49	-0.27	.	.	F	2.49	0.37
Asp	102	.	.	.	.	T	T	.	0.28	-0.50	.	.	F	3.10	0.92
Ile	103	.	.	.	.	T	T	.	0.21	-0.64	.	.	F	2.79	0.85
Gly	104	.	.	.	.	T	.	.	0.88	-0.07	.	*	F	1.98	0.29
Ser	105	.	.	B	.	.	T	.	0.07	-0.50	.	*	F	1.77	0.29
Pro	106	.	.	B	.	.	T	.	0.39	0.19	.	*	F	0.56	0.35
Cys	107	.	.	B	.	.	T	.	0.04	-0.50	*	*	F	1.46	0.69
Asp	108	.	.	B	.	.	T	.	1.04	-0.50	.	*	F	1.77	0.51
Leu	109	.	.	B	.	.	.	.	1.04	-0.89	.	*	F	1.88	0.64
Arg	110	.	.	B	.	.	.	.	1.31	-0.89	.	*	F	2.34	1.19
Gly	111	.	.	.	.	T	T	.	0.71	-0.96	.	*	F	3.10	0.97
Arg	112	.	.	.	.	T	T	.	1.38	-0.27	.	*	F	2.49	0.97
Gly	113	.	.	.	.	.	T	C	0.79	-0.96	.	*	F	2.28	0.85
His	114	.	.	.	.	.	T	C	1.26	-0.46	.	*	.	1.52	0.87
Leu	115	.	A	B	.	.	.	.	0.56	-0.46	*	*	.	0.61	0.44
Glu	116	.	A	B	.	.	.	.	0.87	0.04	*	*	.	-0.30	0.45
Ala	117	.	A	B	.	.	.	.	-0.06	0.11	*	*	.	-0.30	0.45
Gly	118	.	A	B	.	.	.	.	-0.01	0.30	.	*	.	-0.30	0.45
Ala	119	.	A	.	.	T	.	C	-0.19	-0.00	.	*	.	0.70	0.35
His	120	.	A	.	.	.	.	C	0.28	0.43	.	*	.	-0.06	0.53
Leu	121	.	A	.	.	.	.	C	0.39	0.36	.	.	.	0.58	0.53
Ser	122	.	.	.	.	.	T	C	0.98	-0.07	.	.	F	2.22	1.03
Pro	123	.	.	.	.	.	T	C	1.37	-0.17	.	.	F	2.56	1.32
Gly	124	.	.	.	.	T	T	.	1.61	-0.67	.	*	F	3.40	3.19
Arg	125	.	.	.	.	T	T	.	1.64	-0.93	.	*	F	3.06	2.35

残基	位置	表 III の続き													
		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV
Gln	126	.	.	.	.	T	.	.	2.24	-1.31	.	*	F	2.82	2.64
Lys	127	.	.	.	.	T	.	.	2.54	-1.31	.	*	F	2.78	4.12
Gly	128	.	.	.	.	.	.	C	2.54	-1.74	.	*	F	2.54	3.51
Glu	129	.	.	.	.	.	T	C	2.89	-1.31	*	*	F	2.70	3.14
Pro	130	.	.	.	.	.	T	C	1.92	-1.71	*	*	F	3.00	2.72
Asp	131	.	.	.	.	.	T	C	1.33	-1.07	.	*	F	2.70	2.04
Pro	132	.	.	.	.	.	T	C	0.59	-1.00	.	*	F	2.40	1.19
Glu	133	.	A	B	.	.	.	.	0.93	-0.21	.	*	.	0.90	0.67
Val	134	.	A	B	.	.	.	.	0.63	-0.64	.	*	.	0.90	0.69
Ala	135	A	A	.	.	.	.	.	0.03	-0.26	*	.	.	0.30	0.60
Phe	136	A	A	.	.	.	.	.	-0.27	0.00	.	.	.	-0.30	0.28
Glu	137	A	A	.	.	.	.	.	-0.64	0.39	.	.	.	-0.30	0.51
Ser	138	A	A	.	.	.	.	.	-0.64	0.24	.	.	.	-0.30	0.51
Leu	139	.	A	.	.	.	.	C	0.00	-0.26	.	.	.	0.65	1.03
Ser	140	.	A	.	.	.	.	C	-0.27	-0.61	*	.	F	0.95	0.92
Ala	141	.	A	.	.	.	.	C	0.40	0.03	*	.	F	0.05	0.51
Glu	142	.	A	B	.	.	.	.	-0.19	0.14	.	.	F	-0.15	0.84
Pro	143	A	A	.	.	.	.	.	-0.48	-0.04	.	.	.	0.30	0.63
Val	144	.	A	B	.	.	.	.	0.33	0.07	.	.	.	-0.30	0.63
His	145	.	A	B	.	.	.	.	0.29	-0.03	.	.	.	0.30	0.59
Ala	146	.	.	B	.	.	T	.	0.58	0.40	*	.	.	-0.20	0.38
Ala	147	.	.	.	.	T	T	C	-0.28	0.36	*	.	.	0.50	0.68
Asn	148	.	.	.	.	T	T	.	-0.28	0.36	.	.	F	0.65	0.37
Gly	149	.	.	.	.	T	T	.	-0.23	0.29	.	*	F	0.65	0.57
Ser	150	.	.	.	.	.	.	C	-0.20	0.47	.	*	F	-0.05	0.46
Val	151	.	.	.	.	.	.	C	0.18	-0.03	.	*	F	0.85	0.50
Pro	152	.	.	B	.	.	.	.	0.73	0.00	.	*	.	-0.10	0.78
Leu	153	.	A	B	.	.	.	.	0.14	0.07	*	*	.	-0.30	0.79
Glu	154	.	A	B	.	.	.	.	0.60	0.19	*	*	.	-0.15	1.08
Pro	155	.	A	B	.	.	.	.	0.09	-0.46	*	*	.	0.45	1.36
His	156	.	A	B	.	.	.	.	0.64	-0.20	*	*	.	0.45	1.36
Ala	157	A	A	.	.	.	.	.	0.26	-0.50	*	*	.	0.45	1.05

残基	位置	表 III の続き													
		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV
Arg	158	.	A	B	.	.	.	.	0.48	0.11	*	*	.	-0.30	0.68
Leu	159	.	A	B	.	.	.	.	0.18	0.19	.	*	.	-0.30	0.50
Ser	160	.	A	B	.	.	.	.	-0.20	0.07	.	*	.	-0.30	0.66
Met	161	.	A	B	.	.	.	.	-0.38	0.07	.	*	.	-0.30	0.34
Ala	162	.	A	B	.	T	.	.	-0.46	0.50	*	*	.	-0.20	0.64
Ser	163	.	.	B	.	.	.	.	-0.91	0.39	*	.	.	-0.10	0.26
Ala	164	.	.	.	.	.	C	.	-0.10	0.43	.	.	.	0.00	0.26
Pro	165	.	.	.	T	T	.	.	-0.39	0.21	.	.	.	0.50	0.44
Cys	166	.	.	.	T	T	.	.	-0.13	0.21	.	.	.	0.50	0.33
Gly	167	.	.	.	T	T	.	.	-0.36	0.26	.	.	F	0.65	0.33
Gln	168	.	A	B	.	.	.	.	-0.09	0.44	.	.	F	-0.45	0.17
Ala	169	.	A	B	.	.	.	.	-0.31	0.51	.	*	.	-0.60	0.44
Gly	170	.	A	B	.	.	.	.	0.01	0.63	*	*	.	-0.60	0.37
Leu	171	.	A	B	.	.	.	.	0.68	0.20	*	*	.	-0.30	0.42
His	172	.	A	B	.	.	.	.	1.13	-0.20	*	*	.	0.30	0.69
Leu	173	.	A	B	.	.	.	.	0.54	-0.70	*	*	.	1.09	1.36
Arg	174	.	A	B	.	.	.	.	1.13	-0.63	.	*	.	1.43	1.66
Asp	175	.	A	B	.	.	.	.	1.13	-1.31	.	*	F	1.92	2.04
Arg	176	.	.	B	.	.	T	.	1.63	-1.39	.	*	F	2.66	2.45
Ala	177	.	.	.	.	T	T	.	1.46	-1.59	.	*	F	3.40	1.81
Asp	178	.	.	.	T	T	T	.	1.92	-1.16	.	*	F	3.06	1.67
Gly	179	.	.	.	T	T	T	C	1.47	-0.73	*	*	F	2.55	0.85
Thr	180	.	.	.	T	.	T	C	1.58	-0.30	*	*	F	2.09	0.83
Pro	181	.	.	.	T	.	T	C	0.88	-0.80	*	*	F	2.23	0.97
Gly	182	.	.	.	T	.	T	.	1.08	-0.30	*	*	F	1.97	0.99
Gly	183	.	.	.	T	.	T	C	0.69	-0.30	*	*	.	1.80	0.88
Arg	184	.	.	B	.	.	.	.	0.64	-0.36	*	.	.	1.22	0.73
Ala	185	.	.	B	.	.	.	.	0.57	-0.36	*	.	.	1.04	0.94

【0161】

【表4】

表 IV

残基	位置	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV
Met	1	.	.	B	.	.	.	.	-0.42	0.50	.	.	.	-0.40	0.44
Leu	2	.	.	B	.	.	.	.	-0.38	0.46	.	.	.	-0.40	0.46
Gly	3	.	.	B	.	.	.	.	-0.02	0.46	.	.	.	-0.20	0.35
Thr	4	.	.	.	.	.	T	C	-0.44	0.53	.	.	.	0.00	0.49
Ser	5	.	.	.	.	.	T	C	-0.91	0.60	.	.	.	0.15	0.49
Gly	6	.	.	B	.	.	T	.	-0.60	0.56	.	.	F	-0.05	0.37
His	7	.	.	B	B	.	.	.	-0.60	1.04	.	.	F	-0.60	0.27
Leu	8	.	.	B	B	.	.	.	-0.56	1.24	.	.	.	-0.60	0.16
Val	9	.	.	B	B	.	.	.	-0.24	1.24	.	.	.	-0.60	0.22
Trp	10	.	.	B	B	.	.	.	-0.29	1.21	.	.	.	-0.60	0.28
Leu	11	.	.	B	B	.	.	.	-0.64	1.14	.	.	.	-0.60	0.34
Ser	12	.	.	B	.	.	T	.	-0.91	1.24	.	.	F	-0.05	0.40
Gln	13	.	.	B	.	.	T	.	-0.91	0.99	.	.	F	-0.05	0.50
Gly	14	.	.	B	.	.	T	.	-0.64	0.76	.	.	F	0.35	0.50
Phe	15	.	.	B	.	.	T	.	-0.70	0.57	.	.	.	-0.20	0.38
Ser	16	.	.	B	.	.	T	.	0.22	0.61	*	*	.	-0.40	0.22
Leu	17	.	.	B	.	.	.	.	0.31	0.21	*	*	.	-0.10	0.43
Ala	18	.	.	B	.	.	.	.	-0.03	0.21	*	*	.	0.24	0.77
Gly	19	.	.	.	.	.	.	C	0.01	-0.14	*	*	F	1.53	0.57
Arg	20	.	.	.	.	.	T	C	0.41	-0.14	*	*	F	2.07	0.92
Pro	21	.	.	.	.	T	T	.	0.50	-0.44	*	*	F	2.76	1.22
Gly	22	.	.	.	.	T	T	.	1.02	-0.51	*	*	F	3.40	1.91
Ser	23	.	.	.	.	T	T	C	1.40	-0.03	*	*	F	2.56	1.02
Ser	24	.	.	.	.	T	T	C	0.89	0.40	.	*	F	1.32	1.02
Pro	25	.	.	.	.	.	T	C	0.78	0.61	.	*	F	0.83	0.77
Trp	26	.	.	B	.	.	T	.	0.40	0.19	.	*	F	0.59	0.96
Pro	27	.	.	B	.	.	T	.	-0.11	0.30	.	*	.	0.10	0.72
Val	28	.	.	B	B	.	.	.	-0.62	0.56	.	*	.	-0.60	0.35

表 IV の続き

残基	位置	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV
Asp	29	.	.	B	B	.	.	.	-0.91	0.81	.	*	.	-0.60	0.27
Ala	30	.	.	B	B	.	.	.	-1.37	0.40	.	*	.	-0.60	0.18
Val	31	.	.	B	B	.	.	.	-1.42	0.54	.	*	.	-0.60	0.13
Leu	32	.	.	B	B	.	.	.	-1.50	0.33	.	.	.	-0.30	0.08
Ala	33	.	.	B	.	.	T	.	-1.31	1.24	.	.	.	-0.20	0.08
Cys	34	.	.	.	.	T	T	.	-1.52	1.31	.	.	.	0.20	0.06
Gly	35	.	.	.	.	T	T	.	-1.28	1.10	.	.	.	0.20	0.11
Trp	36	.	.	.	.	T	T	.	-1.23	0.84	.	.	.	0.20	0.10
Cys	37	.	.	B	.	.	T	.	-0.46	1.03	.	*	.	-0.20	0.16
Pro	38	.	.	.	.	T	T	.	-0.72	0.96	.	.	.	0.20	0.22
Gly	39	.	.	.	.	T	T	.	-0.27	1.17	.	*	.	0.20	0.16
Leu	40	.	.	B	.	.	T	.	-0.13	0.69	.	.	.	-0.20	0.45
His	41	.	.	B	.	.	.	.	-0.66	0.54	.	.	.	-0.40	0.45
Val	42	.	.	B	.	.	.	.	-0.29	0.80	.	.	.	-0.40	0.38
Pro	43	.	.	B	.	.	.	.	-0.29	0.76	.	.	.	-0.25	0.61
Pro	44	.	.	.	.	T	.	.	-0.24	0.50	.	.	F	0.15	0.70
Leu	45	.	.	.	.	T	.	.	0.27	0.39	.	.	F	0.60	1.26
Ser	46	.	.	.	.	.	T	C	0.01	0.13	.	.	F	0.60	1.09
Pro	47	.	.	.	.	.	T	C	0.56	0.61	.	.	F	0.15	0.74
Ser	48	.	.	.	.	.	T	.	0.56	0.67	.	.	F	0.50	1.29
Ser	49	.	.	.	.	T	T	.	0.18	0.41	.	.	F	0.50	1.49
Trp	50	.	.	B	.	.	.	.	0.39	0.53	.	.	F	-0.25	0.98
Thr	51	.	.	B	.	.	.	.	0.34	0.71	.	.	F	-0.25	0.72
Pro	52	.	.	B	.	.	.	.	-0.26	0.76	.	.	F	-0.40	0.53
Ala	53	.	A	B	.	.	.	.	0.16	1.06	.	*	.	-0.60	0.42
Met	54	.	A	B	.	.	.	.	-0.13	0.14	.	*	.	-0.30	0.57
Gly	55	.	A	B	.	.	.	.	-0.14	0.16	*	*	.	-0.30	0.37
Leu	56	.	A	B	.	.	.	.	0.28	0.11	*	*	.	-0.30	0.49
Arg	57	.	A	B	.	.	.	.	0.49	-0.39	*	*	.	0.64	0.97
Ala	58	.	A	B	.	.	.	.	0.41	-0.60	*	*	.	1.43	1.58
Ser	59	.	.	.	.	T	T	.	0.71	-0.46	*	*	F	2.42	1.03
Arg	60	.	.	.	.	T	T	.	1.17	-0.76	*	*	F	2.91	0.70

残基	位置	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV
Asn	61	.	.	.	.	T	T	.	1.67	-0.76	*	*	F	3.40	1.36
Cys	62	.	.	.	.	T	T	.	1.56	-0.77	*	*	F	3.06	1.47
Ser	63	.	.	.	.	T	.	.	2.14	-1.16	*	*	F	2.52	1.30
Arg	64	.	A	.	.	T	.	.	1.86	-0.76	*	*	F	1.98	1.30
Thr	65	.	A	.	.	T	.	.	0.89	-0.66	*	*	F	1.64	2.44
Glu	66	.	A	.	.	T	.	.	0.22	-0.59	*	*	F	1.30	1.35
Asn	67	.	A	B	.	.	.	.	0.54	-0.40	*	*	F	0.45	0.37
Ala	68	.	A	B	.	.	.	.	0.18	0.03	.	*	.	-0.30	0.25
Val	69	.	A	.	.	T	.	.	-0.23	0.11	.	*	.	0.10	0.08
Cys	70	.	.	.	.	T	.	.	-0.13	0.50	.	.	.	0.00	0.07
Gly	71	.	.	.	.	T	.	.	-0.48	0.53	.	.	.	0.00	0.10
Cys	72	.	.	.	.	T	.	.	-0.51	0.46	.	.	.	0.00	0.13
Ser	73	.	.	.	.	T	T	C	-0.62	0.31	.	.	.	0.30	0.34
Pro	74	.	.	.	.	T	T	.	-0.43	0.53	.	*	F	0.35	0.30
Gly	75	.	.	.	.	T	T	.	-0.66	0.67	.	.	.	0.20	0.30
His	76	.	.	B	.	.	T	.	-1.17	0.79	.	.	.	-0.20	0.16
Phe	77	.	.	B	B	.	.	.	-0.50	1.04	.	.	.	-0.60	0.07
Cys	78	.	.	B	B	.	.	.	-0.20	1.01	.	.	.	-0.32	0.13
Ile	79	.	.	B	B	.	.	.	-0.33	0.59	.	*	.	-0.04	0.16
Val	80	.	.	B	.	.	T	.	0.01	0.51	.	*	.	0.64	0.18
Gln	81	.	.	.	.	T	T	.	0.01	-0.27	.	.	F	2.37	0.57
Asp	82	.	.	.	.	T	T	.	0.04	-0.34	*	.	F	2.80	1.11
Gly	83	.	.	.	.	T	T	.	0.12	-0.46	*	.	F	2.37	0.80
Asp	84	.	A	.	.	T	.	.	0.42	-0.60	*	.	F	1.99	0.47
His	85	.	A	.	.	T	.	.	0.61	-0.50	.	*	.	1.56	0.28
Cys	86	.	A	B	.	.	.	.	0.72	0.07	.	*	.	-0.02	0.15
Ala	87	.	A	B	.	.	.	.	0.13	-0.36	.	*	.	0.30	0.18
Ala	88	.	A	B	.	.	.	.	0.23	0.14	.	*	.	-0.30	0.13
Cys	89	.	A	B	.	.	.	.	-0.36	0.40	.	*	.	-0.30	0.39
Arg	90	.	A	B	.	.	.	.	-0.63	0.33	.	*	.	-0.30	0.39
Ala	91	.	A	B	.	.	.	.	-0.27	0.31	.	*	.	-0.30	0.56
Tyr	92	.	.	B	.	.	.	.	0.02	0.20	.	*	.	0.05	1.39

表 IV の続き

残基	位置	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV
Ala	93	.	.	B	.	.	.	.	0.40	0.01	.	*	.	-0.10	0.95
Thr	94	.	.	.	.	T	.	.	0.72	0.44	.	*	F	0.30	1.45
Ser	95	.	.	.	.	.	.	C	0.61	0.37	*	*	F	0.25	0.92
Ser	96	.	.	.	.	.	T	C	1.31	0.01	*	*	F	0.60	1.57
Pro	97	.	.	.	.	.	T	C	0.70	-0.49	*	*	F	1.20	2.14
Gly	98	.	.	.	.	T	T	.	1.29	-0.33	*	*	F	1.40	1.18
Gln	99	.	.	B	.	.	T	.	1.64	-0.31	*	.	F	1.00	1.53
Arg	100	.	.	B	.	.	.	.	1.60	-0.70	*	.	F	1.40	1.98
Val	101	.	.	B	.	.	.	.	1.56	-0.70	*	.	F	1.70	1.98
Gln	102	.	.	B	.	.	T	.	1.46	-0.70	*	.	F	2.20	1.13
Lys	103	.	.	B	.	.	T	.	1.80	-0.61	*	.	F	2.35	0.83
Gly	104	.	.	.	.	.	T	C	1.50	-0.61	*	*	F	3.00	1.94
Gly	105	.	.	.	.	.	T	C	1.39	-0.87	*	*	F	2.70	1.50
Thr	106	.	.	.	.	.	.	C	2.24	-0.87	*	.	F	2.45	1.30
Glu	107	.	.	.	.	.	.	C	1.93	-0.87	*	.	F	2.40	2.20
Ser	108	.	.	B	.	T	T	.	1.08	-0.81	*	*	F	2.75	3.20
Gln	109	.	.	.	.	T	T	.	0.76	-0.56	*	.	F	2.70	1.83
Asp	110	.	.	.	.	T	T	.	1.10	-0.47	.	.	F	2.50	0.57
Thr	111	.	.	B	.	.	T	.	1.41	-0.07	.	.	F	1.85	0.73
Leu	112	.	.	.	.	T	.	.	0.74	-0.06	.	.	.	1.65	0.68
Cys	113	.	.	.	.	T	.	.	0.83	0.11	*	.	.	1.05	0.22
Gln	114	.	.	B	.	.	.	.	0.94	0.54	*	*	.	0.35	0.23
Asn	115	.	.	B	.	.	.	.	0.60	0.06	*	*	.	0.65	0.56
Cys	116	.	.	B	.	.	T	.	0.70	-0.20	*	*	F	2.00	1.03
Pro	117	.	.	.	.	T	T	.	1.21	-0.34	*	.	F	2.50	0.92
Arg	118	.	.	.	.	T	T	.	1.07	-0.36	*	.	F	2.25	0.76
Gly	119	.	.	.	.	.	T	C	0.86	-0.07	*	.	F	1.95	1.17
Pro	120	.	.	.	.	.	.	.	0.26	-0.21	.	.	F	1.70	1.17
Ser	121	.	.	.	.	.	.	C	0.58	-0.03	.	.	F	1.10	0.59
Leu	122	.	.	B	.	.	.	.	0.58	0.40	.	.	.	-0.10	0.59
Pro	123	.	.	B	.	.	.	.	0.18	0.40	*	*	.	-0.10	0.59
Met	124	.	.	B	.	.	.	.	0.63	0.89	*	.	.	-0.40	0.47

残基	位置	表 IV の続き													
		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV
Gly	125	.	.	B	.	.	T	.	0.84	0.50	*	.	.	-0.05	1.11
Pro	126	.	.	.	.	.	T	.	0.29	0.21	*	.	F	0.80	1.15
Trp	127	.	.	.	.	.	T	.	0.80	0.43	*	.	F	0.35	0.86
Arg	128	.	.	B	.	.	T	.	0.70	0.20	*	*	F	0.40	1.17
Asn	129	.	.	B	.	.	.	.	1.41	0.26	*	*	F	0.20	1.09
Val	130	.	.	B	.	.	.	.	1.54	-0.17	*	*	F	1.11	2.03
Ser	131	.	.	B	.	.	.	.	1.46	-0.66	*	.	F	1.72	1.60
Thr	132	.	.	.	.	.	.	C	1.79	-0.27	*	.	F	1.93	1.34
Arg	133	.	.	.	.	.	T	C	1.29	-0.67	*	.	F	2.74	3.60
Pro	134	.	.	.	.	.	T	.	0.90	-0.89	*	*	.	3.10	3.43
Ser	135	.	.	.	.	.	T	.	1.37	-0.84	*	*	.	2.79	3.04
Lys	136	.	.	.	.	.	T	.	1.28	-0.90	*	.	.	2.48	1.98

この点において、非常に好ましいフラグメントのうちにあるのは、いくつかの構造的特徴（例えば、上記に陳列された特徴のうちのいくつか）を組み合わせる TR2 レセプターの領域を、含むかまたはそのような領域からなる、フラグメントである。これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドもまた、本発明

により包含される。

【0162】

当業者が理解するように、本発明のTR2ポリペプチドおよびそのエピトープ保有フラグメントは、異種ポリペプチド配列と組み合わせられ得る。例えば、本発明のポリペプチドは、免疫グロブリン（IgA、IgE、IgG、IgM）の定常ドメインまたはその部分（CH1、CH2、CH3、およびそれらの任意の組み合わせ（ドメイン全体およびその部分の両方を含む））と融合され得、その結果、キメラポリペプチドを生じ得る。これらの融合タンパク質は、精製を容易にし、そして半減期の増加を示す。

【0163】

本発明はさらに、TR2、TR2-SV1、およびTR2-SV2のフラグメントを含むか、またはそれらからなる、単離されたポリペプチドに関する。特に、本発明は、配列番号2のアミノ酸-36~24、-26~34、-16~44、-6~54、1~60、11~70、21~80、31~90、41~100、51~110、61~120、71~130、81~140、91~150、101~160、111~170、121~180、131~190、141~200、151~210、161~220、171~230、181~240、および191~247からなる群より選択されるメンバーのアミノ酸配列を含むか、またはそれらからなる、単離されたポリペプチド、ならびにこれらのポリペプチドをコードする、単離されたポリヌクレオチドを提供する。本発明はさらに、配列番号5のアミノ酸-36~24、-26~34、-16~44、-6~54、1~60、11~70、21~80、31~90、41~100、51~110、61~120、71~130、81~140、および91~149からなる群より選択されるメンバーのアミノ酸配列を含むか、またはそれらからなる、単離されたポリペプチド、ならびにこれらのポリペプチドをコードする、単離されたポリヌクレオチドを提供する。本発明はまた、配列番号8のアミノ酸1~60、11~70、21~80、31~90、41~100、51~110、61~120、71~130および81~136からなる群より選択されるメンバーのアミノ酸配列を含むか、またはそれらからなる、単離されたポリペプチド、な

らびにこれらのポリペプチドをコードする、単離されたポリヌクレオチドを提供する。

【0164】

本発明はまた、TR2、TR2-SV1、およびTR2-SV2のドメインを含むか、またはそれらからなる、単離されたポリペプチドに関する。特に、本発明は、表II、IIIおよびIVに示される、TR2、TR2-SV1、およびTR2-SV2のβシート領域を含むか、またはそれらからなる、ポリペプチドを提供する。これらのポリペプチドは、配列番号2の約-19～約5のアミノ酸残基、約-18～約-6のアミノ酸残基、約-2～約4のアミノ酸残基、約25～約31のアミノ酸残基、約46～約51のアミノ酸残基、約57～約71のアミノ酸残基、約99～約104のアミノ酸残基、約151～約156のアミノ酸残基、約175～約191のアミノ酸残基、約174～約190のアミノ酸残基、約197～約206のアミノ酸残基、約197～約208のアミノ酸残基、約215～約220のアミノ酸残基、約228～約238のアミノ酸残基、および約229～約241のアミノ酸残基；配列番号5の約-19～約5のアミノ酸残基、約-18～約6のアミノ酸残基、約-2～約3のアミノ酸残基、約26～約31のアミノ酸残基、約34～約40のアミノ酸残基、約46～約50のアミノ酸残基、約57～約64のアミノ酸残基、約69～約74のアミノ酸残基、約122～約128のアミノ酸残基、および約132～約140のアミノ酸残基；ならびに配列番号8の約6～約13のアミノ酸残基、約26～約33のアミノ酸残基、約50～約58のアミノ酸残基、および約86～約93のアミノ酸残基からなる群より選択されるメンバーのアミノ酸配列を含むか、またはそれらからなる、ポリペプチドを含む。本発明はさらに、表II、IIIおよびIVに示される、βシート領域をコードする核酸分子を含むか、またはそれらからなる、単離されたポリヌクレオチド、ならびにTR2、TR2-SV1、およびTR2-SV2タンパク質のβシート領域をコードする核酸分子に、少なくとも80%同一、およびより好ましくは少なくとも85%、90%、92%、95%、96%、97%、98%または99%同一であるアミノ酸配列を含むか、またはそれらからなる、単離されたポリペプチドに関する。

【0165】

本発明のTR2レセプタータンパク質は、単量体または多量体（すなわち、二量体、三量体、四量体、およびより高次の多量体）であり得る。従って、本発明は、本発明のTR2レセプタータンパク質の単量体および多量体、それらの調製、ならびにそれらを含む組成物（好ましくは薬学的組成物）に関する。特定の実施形態において、本発明のポリペプチドは、単量体、二量体、三量体、または四量体である。さらなる実施形態において、本発明の多量体は、少なくとも二量体、少なくとも三量体、または少なくとも四量体である。

【0166】

本発明によって包含される多量体は、ホモマーまたはヘテロマーであり得る。本明細書中で使用される場合、用語ホモマーは、本発明のTR2レセプタータンパク質のみを含む多量体をいう（本明細書中で記載されるような、TR2レセプターのフラグメント、改変体、および融合タンパク質を含む）。これらのホモマーは、同一または異なるポリペプチド配列を有するTR2レセプタータンパク質を含み得る。特定の実施形態において、本発明のホモマーは、同一のポリペプチド配列を有するTR2レセプタータンパク質のみを含む多量体である。別の特定の実施形態において、本発明のホモマーは、異なるポリペプチド配列を有するTR2レセプタータンパク質を含む多量体である。特定の実施形態において、本発明の多量体は、ホモ二量体（例えば、同一または異なるポリペプチド配列を有するTR2レセプタータンパク質を含む）であるか、またはホモ三量体（例えば、同一または異なるポリペプチド配列を有するTR2レセプタータンパク質を含む）である。さらなる実施形態において、本発明のホモ多量体は、少なくともホモ二量体、少なくともホモ三量体、または少なくともホモ四量体である。

【0167】

本明細書中で使用される場合、用語ヘテロマーは、本発明のTR2レセプタータンパク質に加えて、異種タンパク質（すなわち、TR2レセプター遺伝子によりコードされるポリペプチド配列に対応しないポリペプチド配列のみを含むタンパク質）を含む多量体をいう。特定の実施形態において、本発明の多量体は、ヘテロ二量体、ヘテロ三量体、またはヘテロ四量体である。さらなる実施形態にお

いて、本発明のヘテロ多量体は、少なくともヘテロ二量体、少なくともヘテロ三量体、または少なくともヘテロ四量体である。

【0168】

本発明の多量体は、疎水結合、親水結合、イオン結合、および／または共有結合の結果であり得、そして／または例えば、リポソーム形成によって間接的に連結され得る。従って、1つの実施形態において、例えば、ホモ二量体またはホモ三量体のような本発明の多量体は、本発明のタンパク質が溶液中において互いに接触した場合に形成される。別の実施形態において、例えば、ヘテロ三量体またはヘテロ四量体のような本発明のヘテロ多量体は、本発明のタンパク質が溶液中において本発明のポリペプチドに対する抗体（本発明の融合タンパク質における異種ポリペプチド配列に対する抗体を含む）に接触した場合に形成される。他の実施形態において、本発明の多量体は、本発明のTR2レセプタータンパク質との共有結合、および／またはそれらの間の共有結合によって形成される。このような共有結合は、TR2レセプタータンパク質のポリペプチド配列（例えば、配列番号2、配列番号5、配列番号8もしくは配列番号26に列挙されるポリペプチド配列、またはATCC受託番号97059、97058、もしくは97057に含まれるcDNAによってコードされるポリペプチド）に含まれる、1以上のアミノ酸残基を含み得る。1つの例では、共有結合は、ネイティブな（すなわち、天然に存在する）ポリペプチドにおいて相互作用するタンパク質のポリペプチド配列内に位置するシステイン残基間の架橋である。別の例では、共有結合は、化学的操作または組換え操作の結果である。あるいは、このような共有結合は、TR2レセプター融合タンパク質における異種ポリペプチド配列に含まれる、1以上のアミノ酸残基を含み得る。1つの例では、共有結合は、本発明の融合タンパク質に含まれる異種配列の間である（例えば、米国特許第5,478,925号を参照のこと）。特定の例では、共有結合は、（本明細書中に記載されるように）本発明のTR2レセプター-Fc融合タンパク質に含まれる異種配列の間である。別の特定の例では、本発明の融合タンパク質の共有結合は、例えば、オステオプロテゲリン（osteoprotegerin）のような共有結合した多量体を形成し得る別のTNFファミリーリガンド／レセプターメンバー由来の

異種ポリペプチド配列の間である（例えば、国際公開番号WO98/49305（この内容は、その全体において本明細書中に参考として援用される）を参照のこと）。別の実施形態では、本発明の2以上のTR2ポリペプチドは、合成リンカー（例えば、ペプチドリinker、糖質リンカーまたは可溶性ポリマーリンカー）を通じて連結される。例としては、米国特許第5,073,627号（本明細書によって参考として援用される）に記載されるペプチドリinkerが挙げられるがこれに限定されない。ペプチドリinkerによって分離された複数のTR2ポリペプチドを含むタンパク質は、従来の組換えDNA技術を使用して産生され得る。

【0169】

本発明の多量体TR2ポリペプチドを調製するための別の方法は、ロイシンジッパーポリペプチド配列に融合されたTR2ポリペプチドの使用を含む。ロイシンジッパードメインは、それらが見出されるタンパク質の多量体化を促進するポリペプチドである。ロイシンジッパーは、いくつかのDNA結合タンパク質でもともと同定された（Landschulzら、Science 240:1759, (1988)）。そしてそれ以来、種々の異なるタンパク質に見出されている。既知のロイシンジッパーのなかには、二量体化または三量体化する、天然に存在するペプチドおよびその誘導体がある。可溶性多量体TR2タンパク質を産生するための適切なロイシンジッパードメインの例は、PCT出願WO94/10308（本明細書によって参考として援用される）に記載されるロイシンジッパードメインである。溶液中で二量体化または三量体化するペプチドに融合した可溶性TR2ポリペプチドを含む組換え融合タンパク質が、適切な宿主細胞において発現され、そして得られた可溶性多量体TR2は、当該分野で公知の技術を使用して、培養上清から回収される。

【0170】

タンパク質のTNFファミリーの特定のメンバーは、三量体形態で存在すると考えられている（BeutlerおよびHuffel, Science 264:667, 1994; Bannerら, Cell 73:431, 1993）。従って、三量体TR2は、生物学的活性の増強という利点を提供し得る。好まし

いロイシンジッパー部分は、三量体を優先的に形成する部分である。1つの例は、Hoppeら (FEBS Letters 344:191, (1994)) および米国特許出願第08/446,922号 (本明細書によって参考として援用される) に記載されるような、肺表面活性タンパク質D (lung surfactant protein D) (SPD) 由来のロイシンジッパーである。天然に存在する三量体タンパク質由来の他のペプチドが、三量体TR2の調製に用いられ得る。

【0171】

別の例において、本発明のタンパク質は、本発明のFlag (登録商標) -TR2タンパク質またはFlag (登録商標) -TR2融合タンパク質に含まれるFlag (登録商標) ポリペプチド配列間の相互作用によって結合される。さらなる実施形態において、本発明の結合タンパク質は、本発明のFlag (登録商標) -TR2タンパク質またはFlag (登録商標) -TR2融合タンパク質に含まれる異種ポリペプチド配列と抗Flag (登録商標) 抗体との間の相互作用によって結合される。

【0172】

本発明の多量体は、当該分野で公知の化学技術を使用して生成され得る。例えば、本発明の多量体に含まれることが所望されるタンパク質は、当該分野で公知のリンカー分子およびリンカー分子長最適化技術 (例えば、米国特許第5,478,925号 (これは、その全体において本明細書中に参考として援用される)) を参照のこと) を使用して化学的に架橋され得る。さらに、本発明の多量体は、多量体に含まれることが所望されるタンパク質のポリペプチド配列内に位置するシステイン残基間で1以上の分子間架橋を形成するために、当該分野で公知の技術を使用して生成され得る (例えば、米国特許第5,478,925号 (これは、その全体において本明細書中に参考として援用される)) を参照のこと)。さらに、本発明のタンパク質は、タンパク質のポリペプチド配列のC末端またはN末端へのシステインまたはビオチンの付加により慣用的に改変され得、そして当該分野で公知の任意の技術が、1以上のこれらの改変タンパク質を含む多量体を生成するために適用され得る (例えば、米国特許第5,478,925号 (これは

、その全体において本明細書中で参考として援用される)を参照のこと)。さらに、当該分野で公知の技術が、本発明の多量体に含まれることが所望されるタンパク質成分を含むリポソームを生成するために適用され得る(例えば、米国特許第5,478,925号(これは、その全体において本明細書中で参考として援用される)を参照のこと)。

【0173】

あるいは、本発明の多量体は、当該分野で公知の遺伝子工学技術を使用して生成され得る。1つの実施形態では、本発明の多量体に含まれるタンパク質は、本明細書中に記載される融合タンパク質技術または当該分野で公知のそれ以外の技術を使用して、組換え産生される(例えば、米国特許第5,478,925号(これは、その全体において本明細書中で参考として援用される)を参照のこと)。特定の実施形態において、本発明のホモ二量体をコードするポリヌクレオチドは、本発明のポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列を、リンカーポリペプチドをコードする配列に連結して、次いでさらに、本来のC末端からN末端の逆方向におけるポリペプチドの翻訳産物(リーダー配列を欠損する)をコードする合成ポリヌクレオチドに連結することによって生成される(例えば、米国特許第5,478,925号(これは、その全体において本明細書中で参考として援用される)を参照のこと)。別の実施形態において、本明細書中に記載される組換え技術または当該分野で公知のそれ以外の技術が、膜貫通ドメインを含み、かつ膜再構成技術によってリポソーム中に取り込まれ得る、本発明の組換えポリペプチドを生成するために適用される(例えば、米国特許第5,478,925号(これは、その全体において本明細書中で参考として援用される)を参照のこと)。

【0174】

本発明は、配列番号2、配列番号5、配列番号8もしくは配列番号26のアミノ酸配列を有するポリペプチドのエピトープ、またはATCC受託番号97059、97058もしくは97057として同定される寄託されたcDNAに含まれるポリヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチド配列のエピトープ、あるいは本明細書中に規定されるような、ストリンジェントなハイブリダイゼ

ーション条件、またはより低いストリンジェンシーのハイブリダイゼーション条件の下で、配列番号1、配列番号4、配列番号7もしくは配列番号25のポリヌクレオチド配列、またはATCC受託番号97059、97058もしくは97057として同定される寄託されたcDNAに含まれるポリヌクレオチド配列の相補体にハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド配列のエピトープを含むか、あるいはそれらからなる、ポリペプチドを含む。本発明はさらに、本発明のポリペプチド配列のエピトープをコードするポリヌクレオチド配列（例えば、配列番号2、配列番号5、配列番号8、もしくは配列番号26に開示される配列など）、本発明のエピトープをコードするポリヌクレオチド配列の相補鎖のポリヌクレオチド配列、および本明細書中に規定される、ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件またはより低いストリンジェンシーのハイブリダイゼーション条件の下で、相補鎖にハイブリダイズするポリヌクレオチド配列を含む。

【0175】

本明細書中で使用される場合、用語「エピトープ」とは、動物、好ましくは哺乳動物、そして最も好ましくはヒトにおいて抗原性活性または免疫原性活性を有するポリペプチドの部分进行いう。好ましい実施形態において、本発明は、エピトープを含むポリペプチドならびにこのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む。本明細書で使用される場合、「免疫原性エピトープ」は、当該分野で公知の任意の方法によって（例えば、以下に記載された抗体作製の方法によって）測定されるように、動物における抗体応答を誘発するタンパク質の一部として定義される（例えば、Geysenら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:3998~4002（1983）を参照のこと）。本明細書中で使用される場合、用語「抗原性エピトープ」とは、当該分野で周知の任意の方法によって（例えば、本明細書中に記載されたイムノアッセイによって）測定されるように、抗体がその抗原を免疫特異的に結合し得るタンパク質の一部として定義される。免疫特異的な結合は、非特異的な結合を排除するが、必ずしも他の抗原との交差反応性を排除する必要はない。抗原性エピトープは、必ずしも免疫原性である必要はない。

【0176】

抗原性エピトープを保有する（すなわち、抗体が結合し得るタンパク質分子の領域を含む）ペプチドまたはポリペプチドの選択に関して、タンパク質配列の一部を模倣する比較的短い合成ペプチドが、部分的に模倣したタンパク質と反応する抗血清を慣用的に誘発し得るは、当該分野において周知である。例えば、Sutcliffe, J. G., Shinnick, T. M., Green, N. およびLearner, R. A. (1983) Antibodies that react with predetermined sites on proteins. Science 219:660~666を参照のこと。タンパク質反応性血清を誘発し得るペプチドは、タンパク質の1次配列でしばしば示され、一連の単純な化学規則により特徴付けられ得、そしてインタクトなタンパク質の免疫優勢（immunodominant）領域（すなわち、免疫原性エピトープ）にも、アミノ末端もしくはカルボキシル末端のいずれにも限局されない。

【0177】

従って、本発明の抗原性エピトープ保有ペプチドおよびポリペプチドは、本発明のポリペプチドに特異的に結合する抗体（モノクローナル抗体を含む）を惹起するために有用である。例えば、Wilsonら、Cell 37:767~778 (1984) (777) を参照のこと。

【0178】

本発明の抗原性エピトープは、好ましくは、少なくとも4個、少なくとも5個、少なくとも6個、少なくとも7個、より好ましくは少なくとも8個、少なくとも9個、少なくとも10個、少なくとも15個、少なくとも20個、少なくとも25個、そして最も好ましくは約15~約30個の間のアミノ酸の配列を含む。この状況において、「約」は、特に示される値、およびいくつかの（5、4、3、2、もしくは1）アミノ酸よりも大きいまたは小さい値を含む。免疫原性エピトープまたは抗原性エピトープを含む好ましいポリペプチドは、少なくとも10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、または100アミノ酸残基長である。抗原性

エピトープは、例えば、このエピトープを特異的に結合する抗体（モノクローナル抗体を含む）を惹起するために有用である。抗原性エピトープは、イムノアッセイにおける標的分子として使用され得る（例えば、Wilsonら、Cell 37:767~778（1984）；Sutcliffeら、Science 219:660~666（1983）を参照のこと）。

【0179】

TR2レセプター特異的抗体を生成するために使用され得る抗原性ポリペプチドまたはペプチドの非限定的な例としては、以下が挙げられる：図1の約39~約70のアミノ酸残基（配列番号2のアミノ酸残基3~34）を含むか、またはこれからなる、ポリペプチド；図1A~1Bの約106~約120のアミノ酸残基（配列番号2のアミノ酸残基70~84）を含むか、またはこれからなる、ポリペプチド；図1A~1Bの約142~約189のアミノ酸残基（配列番号2のアミノ酸残基106~153）を含むか、またはこれからなる、ポリペプチド；図1の約276~約283のアミノ酸残基（配列番号2のアミノ酸残基240~247）を含むか、またはこれからなる、ポリペプチド；図4A~4Cの約39~約70のアミノ酸残基（配列番号5のアミノ酸残基3~34）を含むか、またはこれからなる、ポリペプチド；図4A~4Cの約99~約136のアミノ酸残基（配列番号5のアミノ酸残基63~100）を含むか、またはこれからなる、ポリペプチド；図4A~4Cの約171~約185のアミノ酸残基（配列番号5のアミノ酸残基135~149）を含むか、またはこれからなる、ポリペプチド；図7A~7C（配列番号8）の約56~約68のアミノ酸残基を含むか、またはこれからなる、ポリペプチド；および図7A~7C（配列番号8）の約93~約136のアミノ酸残基を含むか、またはこれからなる、ポリペプチド。この状況において、「約」は、特に示される値、およびいくつかの（5、4、3、2、1）アミノ酸よりも大きいまたは小さい値を含む。示されるように、本発明者らは、上記のポリペプチドフラグメントがTR2レセプタータンパク質の抗原性領域であると決定した。

【0180】

本発明のエピトープ保有ペプチドおよびポリペプチドは、任意の従来手段（

Houghten, R. A. (1985) General method for the rapid solid-phase synthesis of large numbers of peptides: specificity of antigen-antibody interaction at the level of individual amino acids, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:5131~5135) によって産生され得る。この「同時複数ペプチド合成 (Simultaneous Multiple Peptide Synthesis (SMPS))」処理は、Houghtenら (1986) に対する米国特許第4,631,211号にさらに記載されている。

【0181】

同様に、免疫原性エピトープが、例えば、当該分野で周知の方法に従って抗体を誘導するために使用され得る (例えば、Sutcliffeら、前出; Wilsonら、前出; Chowら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:910~914; および Bittleら、J. Gen. Virol. 66:2347~2354 (1985) を参照のこと)。好ましい免疫原性エピトープとしては、分泌タンパク質が挙げられる。1以上の免疫原性エピトープを含むポリペプチドが、動物系 (例えば、ウサギまたはマウスなど) に対して、キャリアタンパク質 (例えば、アルブミン) とともに抗体応答を誘発するために提示され得るか、あるいはこのポリペプチドが十分に長い (少なくとも約25アミノ酸) 場合には、このポリペプチドは、キャリアなしで提示され得る。しかし、わずか8~10程度のアミノ酸を含む免疫原性エピトープは、(例えば、ウェスタンブロッティングにおいて) 少なくとも、変性したポリペプチドにおける線状エピトープに結合し得る抗体を惹起するに十分であることが示されている。

【0182】

本発明のエピトープ保有ポリペプチドは、当該分野で周知の方法に従って、抗体を誘導するために使用され得る。この方法としては、インビボ免疫、インビトロ免疫、およびファージディスプレイ法が挙げられるがこれらに限定されない。例えば、Sutcliffeら、前出; Wilsonら、前出および Bittle

eら、J. Gen. Virol., 66:2347~2354 (1985)を参照のこと。インビボ免疫が使用される場合、動物は、遊離ペプチドで免疫され得る；しかし、抗ペプチド抗体力価は、ペプチドを高分子キャリア（例えば、キーホルリンペットヘモシアニン（KLH）または破傷風毒素）に結合することによってブーストされ得る。例えば、システイン残基を含むペプチドは、マレイミドベンゾイル-N-ヒドロキシスクシンイミドエステル（MBS）のようなリンカーを使用してキャリアに結合され得、一方、他のペプチドは、より一般的な連結剤（例えば、グルタルアルデヒド）を使用してキャリアに結合され得る。動物（例えば、ウサギ、ラット、およびマウスなど）が、例えば、約100 μ gのペプチドまたはキャリアタンパク質およびフロイントアジュバントまたは免疫応答を刺激するための公知の任意の他のアジュバントを含む乳剤の腹腔内注射および／または皮内注射によって、遊離ペプチドまたはキャリア結合ペプチドのいずれかで免疫される。数回のブースター注射が、例えば、個体表面に吸着された遊離ペプチドを使用するELISAアッセイによって検出され得る抗ペプチド抗体の有用な力価を提供するために、例えば、約2週間の間隔で必要とされ得る。免疫された動物由来の血清中の抗ペプチド抗体の力価は、抗ペプチド抗体の選択によって（例えば、個体表面へのペプチドの吸着、および当該分野で周知の方法に従って選択された抗体の溶出によって）増大され得る。

【0183】

当業者に理解されるように、そして上記で考察されるように、免疫原性エピトープまたは抗原性エピトープを含む本発明のポリペプチドは、他のポリペプチド配列に融合され得る。例えば、本発明のポリペプチドは、免疫グロブリン（IgA、IgE、IgG、IgM）の定常ドメインまたはそれらの部分（CH1、CH2、CH3、またはそれらの任意の組み合わせおよびそれらの部分）と融合され得、キメラポリペプチドを生じる。このような融合タンパク質は、精製を容易にし得、そしてインビボでの半減期を増大させ得る。これは、ヒトCD4-ポリペプチドの最初の2つのドメインおよび哺乳動物の免疫グロブリンの重鎖または軽鎖の定常領域の種々のドメインからなるキメラタンパク質について示されている。例えば、EP 394,827; Trauneckerら、Nature,

331:84~86 (1988) を参照のこと。IgG部分のジスルフィド結合に起因するジスルフィド結合二量体構造を有するIgG融合タンパク質はまた、単量体ポリペプチドまたはそれらのフラグメント単独よりも、他の分子の結合および中和においてより効果的であることが見出された。例えば、Fountoulakisら、J. Biochem., 270:3958-3964 (1995) を参照のこと。上記のエピトープをコードする核酸はまた、エピトープタグ（例えば、赤血球凝集素（「HA」）タグまたはフラッグ（flag）タグ）として目的の遺伝子と組換えられ、発現されたポリペプチドの検出および精製を補助し得る。例えば、Janknechtらによって記載される系は、ヒト細胞株中で発現される非変性融合タンパク質の容易な精製を可能にする（Janknechtら、1991、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:8972-8977）。この系において、目的の遺伝子はワクシニア組換えプラスミドへサブクローン化され、その結果、この遺伝子のオープンリーディングフレームが、6つのヒスチジン残基からなるアミノ末端タグへ翻訳時に融合される。このタグは、融合タンパク質についての基質結合ドメインとしての機能を果たす。組換えワクシニアウイルスを用いて感染された細胞からの抽出物は、Ni²⁺ニトリロ酢酸-アガロースカラム上へロードされ、そしてヒスチジンタグ化タンパク質は、イミダゾール含有緩衝液を用いて選択的に溶出され得る。

【0184】

本発明のさらなる融合タンパク質は、遺伝子シャッフリング、モチーフシャッフリング、エキソンシャッフリング、および／またはコドンシャッフリング（総称して「DNAシャッフリング」といわれる）の技術を通じて生成され得る。DNAシャッフリングを利用して、本発明のポリペプチドの活性を調節し得、この方法を使用することにより、改変された活性を有するポリペプチド、ならびにこれらのポリペプチドのアゴニストおよびアンタゴニストを生成し得る。一般には、米国特許第5,605,793号；同第5,811,238号；同第5,830,721号；同第5,834,252号；および同第5,837,458号、ならびにPattenら、Curr. Opinion Biotechnol. 8:724-33 (1997)；Harayama, Trends Biote

chnol. 16 (2) : 76-82 (1998) ; Hanssonら、J. Mol. Biol. 287 : 265-76 (1999) ; ならびに Lorenzo および Blasco, BioTechniques 24 (2) : 308-13 (1998) (これらの特許および刊行物の各々が本明細書によってその全体において参考として援用される) を参照のこと。1つの実施形態において、配列番号1に対応するポリヌクレオチドおよびこれらのポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドの改変は、DNAシャッフリングにより達成され得る。DNAシャッフリングは、相同組換えまたは部位特異的組換えにより、ポリヌクレオチド配列において変化を生じるように2つ以上のDNAセグメントをアセンブルすることを含む。別の実施形態において、本発明のポリヌクレオチドまたはそのコードされるポリペプチドは、組換え前に、誤りがちの (error-prone) PCR、ランダムヌクレオチド挿入または他の方法による、ランダム変異誘発に供されることによって改変され得る。別の実施形態において、本発明のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドの1つ以上の成分、モチーフ、セクション、部分、ドメイン、フラグメントなどは、1つ以上の異種分子の、1つ以上の成分、モチーフ、セクション、部分、ドメイン、フラグメントなどと組換えられ得る。

【0185】

本発明のタンパク質は、当該分野で公知の技術を用いて化学合成され得る (例えば、Creighton, 1983, Proteins: Structure and Molecular Principles, W. H. Freeman & Co., N. Y. および Hunkapillerら, Nature, 310 : 105-111 (1984) を参照のこと)。例えば、本発明のTR2レセプターポリペプチドのフラグメントに対応するペプチドは、ペプチド合成機の使用により合成され得る。さらに、所望の場合、非古典的アミノ酸または化学的アミノ酸アナログが、置換または付加としてTR2レセプターポリペプチド配列に導入され得る。非古典的アミノ酸としては、以下が挙げられるがこれらに限定されない: 通常のアミノ酸のD異性体、2, 4-ジアミノ酪酸、 α -アミノイソ酪酸、4-アミノ酪酸、Abu、2-アミノ酪酸、 γ -Abu、 ϵ -Ahx、

6-アミノヘキサン酸、Aib、2-アミノイソ酪酸、3-アミノプロピオン酸、オルニチン、ノルロイシン、ノルバリン、ヒドロキシプロリン、サルコシン、シトルリン、ホモシトルリン、システイン酸、 ϵ -ブチルグリシン、 ϵ -ブチルアラニン、フェニルグリシン、シクロヘキシルアラニン、 β -アラニン、フルオロアミノ酸、デザイナー (designer) アミノ酸 (例えば、 β -メチルアミノ酸)、C-メチルアミノ酸、N-メチルアミノ酸、および一般のアミノ酸アナログ。さらに、アミノ酸はD (右旋性) またはL (左旋性) であり得る。

【0186】

天然に存在しない改変体は、当該分野で公知の変異誘発技術を使用して產生され得る。この技術としては、オリゴヌクレオチド媒介変異誘発、アラニンスキャニング、PCR変異誘発、部位指向性変異誘発 (例えば、Carterら、Nucl. Acids Res. 13:4331 (1986) ; およびZollerら、Nucl. Acids Res. 10:6487 (1982) を参照のこと)、カセット変異誘発 (例えば、Wellsら、Gene 34:315 (1985) を参照のこと)、制限選択変異誘発 (例えば、Wellsら、Philos. Trans. R. Soc. London SerA 317:415 (1986) を参照のこと) が挙げられるがこれらに限定されない。

【0187】

本発明はさらに、翻訳の間またはその後示差的に改変される (例えば、グリコシル化、アセチル化、リン酸化、アミド化、既知の保護基/ブロック基による誘導体化、タンパク質分解切断、抗体分子への連結、または他の細胞性リガンドなどによる) TR2レセプターポリペプチドを包含する。任意の多数の化学的な改変が、公知の技術によって行われ得る。この技術としては、臭化シアン、トリプシン、キモトリプシン、パパイン、V8プロテアーゼ、 NaBH_4 による特異的な化学切断; アセチル化、ホルミル化、酸化、還元; ツニカマイシン (tunicamycin) の存在下での代謝合成などが挙げられるがこれらに限定されない。

【0188】

本発明によって含まれるさらなる翻訳後改変としては、例えば、以下などが挙

げられる：N結合型もしくはO結合型の糖質鎖（N末端またはC末端のプロセッシング）、アミノ酸骨格への化学部分の結合、N結合型もしくはO結合型の糖質鎖の化学改変、および原核生物宿主細胞発現の結果としてのN末端メチオニン残基の付加もしくは欠失。このポリペプチドはまた、検出可能な標識（例えば、酵素標識、蛍光標識、同位体標識または親和性標識）を用いて改変され、このタンパク質の検出および単離が可能にされ得る。

【0189】

本発明によってまた、さらなる利点（例えば、このポリペプチドの溶解度、安定性および循環時間の増加、または免疫原性の減少）を提供し得る、TR2、TR2-SV1およびTR2-SV2レセプターポリペプチドの化学改変誘導体が提供される（米国特許第4,179,337号を参照のこと）。誘導体化のための化学部分は、水溶性ポリマー（例えば、ポリエチレングリコール、エチレングリコール／プロピレングリコールコポリマー、カルボキシメチルセルロース、デキストラン、ポリビニルアルコールなど）から選択され得る。このポリペプチドは、この分子内のランダムな位置で、またはこの分子内の所定の位置で改変され得、そして1、2、3以上の結合した化学部分を含み得る。

【0190】

このポリマーは、任意の分子量のポリマーであり得、そして分枝状であっても非分枝状であってもよい。ポリエチレングリコールに関しては、好ましい分子量は、取り扱いおよび製造の容易さのために、約1kDaと約100kDaとの間（用語「約」は、ポリエチレングリコールの調製において、いくつかの分子は示した分子量よりも重く、いくつかは示した分子量よりも軽いことを示す）である。所望の治療的プロファイル（例えば、所望される持続放出の持続時間、ある場合には生物学的活性に対する効果、取り扱いの容易さ、抗原性の程度または抗原性がないこと、および治療タンパク質またはアナログに対するポリエチレングリコールの他の公知の効果）に依存して、他のサイズが用いられ得る。例えば、ポリエチレングリコールは、約200、500、1000、1500、2000、2500、3000、3500、4000、4500、5000、5500、6000、6500、7000、7500、8000、8500、9000、95

00、10、000、10、500、11、000、11、500、12、000、12、500、13、000、13、500、14、000、14、500、15、000、15、500、16、000、16、500、17、000、175、00、18、000、18、500、19、000、20、000、25、000、30、000、35、000、40、000、50、000、55、000、60、000、65、000、70、000、75、000、80、000、90、000、95、000、または100、000 kDaの平均分子量を有し得る。

【0191】

上記のように、ポリエチレングリコールは、分枝状構造を有し得る。分枝状ポリエチレングリコールは、例えば、米国特許第5、643、575号；Morpurgora、Appl. Biochem. Biotechnol. 56：59～72（1996）；Vorobjevら、Nucleosides Nucleotides 18：2745～2750（1999）；およびCalicetiら、Bioconj. Chem. 10：638～646（1999）（これらの各々の開示は、本明細書中に参考として援用される）に記載される。

【0192】

ポリエチレングリコール分子（または他の化学的部分）は、このタンパク質の機能的ドメインまたは抗原性ドメインに対する効果を考慮してタンパク質に結合されるべきである。当業者に利用可能な多数の結合方法が存在する（例えば、本明細書中に参考として援用される、EP 0 401 384（G-CSFにPEGを結合する）、Malikら、Exp. Hematol. 20：1028～1035（1992）（塩化トレシルを用いたGM-CSFのペグ化（pegylation）を報告する）もまた参照のこと）。例えば、ポリエチレングリコールは、反応性基（例えば、遊離のアミノ基またはカルボキシル基）によってアミノ酸残基を介して共有結合され得る。反応性基は、活性化ポリエチレングリコール分子が結合され得る基である。遊離のアミノ基を有するアミノ酸残基としては、リジン残基およびN末端アミノ酸残基が挙げられ得る；遊離のカルボキシル基を有するアミノ酸残基としては、アスパラギン酸残基、グルタミン酸残基およ

びC末端アミノ酸残基が挙げられ得る。スルフヒドリル残基もまた、ポリエチレングリコール分子を結合するための反応性基として用いられ得る。治療目的のために好ましいのは、アミノ基での結合、例えば、N末端またはリジン基での結合である。

【0193】

上記で示唆されるように、ポリエチレングリコールは、任意の数のアミノ酸残基への結合を介して、タンパク質に結合され得る。例えば、ポリエチレングリコールは、リジン、ヒスチジン、アスパラギン酸、グルタミン酸、またはシステイン残基に対する共有結合を介してタンパク質に結合され得る。1以上の反応化学が、このタンパク質の特定のアミノ酸残基（例えば、リジン、ヒスチジン、アルパラギン酸、グルタミン酸、またはシステイン）に、あるいはこのタンパク質の1よりも多い型のアミノ酸残基（例えば、リジン、ヒスチジン、アルパラギン酸、グルタミン酸、システインおよびそれらの組合せ）にポリエチレングリコールを結合させるために使用され得る。

【0194】

特に、N末端で化学的に改変されたタンパク質を所望し得る。本組成物の例示としてポリエチレングリコールを用いて、種々のポリエチレングリコール分子（分子量、分岐などによる）、反応混合物中のタンパク質（またはペプチド）分子に対するポリエチレングリコール分子の割合、実行されるべきペグ化反応の型、および選択されたN末端ペグ化タンパク質を得る方法から選択し得る。N末端ペグ化調製物を得る（すなわち、必要な場合、この部分を他のモノペグ化部分から分離する）方法は、ペグ化タンパク質分子の集団からのN末端ペグ化物質の精製により得る。N末端改変で化学的に改変された選択的タンパク質は、還元的アルキル化によって達成され得、この還元的アルキル化は、特定のタンパク質における誘導体化に利用可能な第1級アミノ基（リジン対N末端）の異なる型の異なる反応性を利用する。適切な反応条件下で、カルボニル基含有ポリマーを用いた、N末端でのタンパク質の実質的な選択的誘導体化が、達成される。

【0195】

上記のように、本発明のタンパク質のペグ化は、かなり多数の手段により達成

され得る。例えば、ポリエチレングリコールは、直接的か、または介入リンカーによってかのいずれかで、タンパク質に連結され得る。タンパク質へポリエチレングリコールを結合させるためのリンカーのない系は、De l g a d o ら、C r i t . R e v . T h e r a . D r u g C a r r i e r S y s . 9 : 2 4 9 - 3 0 4 (1 9 9 2) ; F r a n c i s ら、I n t e r n . J . o f H e m a t o l . 6 8 : 1 - 1 8 (1 9 9 8) ; 米国特許第4, 0 0 2, 5 3 1号; 米国特許第5, 3 4 9, 0 5 2号; WO95/06058; およびWO98/32466 (これらの各々の開示は、本明細書中に参考として援用される) に記載される。

【0196】

介入リンカーなしでタンパク質のアミノ酸残基に直接ポリエチレングリコールを結合させるための1つの系は、トレシル化MPEGを使用し、このトレシル化MPEGは、塩化トレシル ($\text{ClSO}_2\text{CH}_2\text{CF}_3$) を用いるモノメトキシ (m o n m e t h o x y) ポリエチレングリコール (MPEG) の改変により生成される。トレシル化MPEGとのタンパク質の反応の際に、ポリエチレングリコールは、そのタンパク質のアミン基に直接結合される。従って、本発明は、本発明のタンパク質と、2, 2, 2-トリフルオロエタン (t r i f l u o r e o t h a n e) スルホニル基を有するポリエチレングリコール分子との反応により生成される、タンパク質-ポリエチレングリコール結合体を含む。

【0197】

ポリエチレングリコールはまた、多数の異なる介入リンカーを用いてタンパク質に結合され得る。例えば、米国特許第5, 612, 460号 (この全体の開示は本明細書中に参考として援用される) は、ポリエチレングリコールをタンパク質に結合させるためのウレタンリンカーを開示する。ポリエチレングリコールがタンパク質にリンカーによって結合されている、タンパク質-ポリエチレングリコール結合体はまた、タンパク質と以下のような化合物との反応により生成され得る: MPEG-スクシンイミジルスクシネート、1, 1'-カルボニルジイミダゾールで活性化されたMPEG、MPEG-2, 4, 5-トリクロロフェニルカーボネート (t r i c h l o r o p e n y l c a r b o n a t e) 、MPEG

ーp-ニトロフェノールカーボネート、および種々のMPEG-スクシネート誘導体。多数のさらなるポリエチレングリコール誘導体、およびポリエチレングリコールをタンパク質に結合させるための反応化学は、WO98/32466（その開示全体が本明細書中に参考として援用される）に記載される。本明細書中に述べられる反応化学を使用して生成されるペグ化タンパク質生成物は、本発明の範囲内に包含される。

【0198】

本発明の各タンパク質に結合されるポリエチレングリコール部分の数（すなわち、置換の程度）はまた、変化し得る。例えば、本発明のペグ化タンパク質は、平均で、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、12、15、17、20個、またはそれより多くのポリエチレングリコール分子に連結され得る。同様に、置換の平均の程度は、タンパク質分子1つ当たり、例えば1～3、2～4、3～5、4～6、5～7、6～8、7～9、8～10、9～11、10～12、11～13、12～14、13～15、14～16、15～17、16～18、17～19、または18～20個のポリエチレングリコール部分の範囲内である。置換の程度を決定するための方法は、例えば、Delgadoら、Crit. Rev. Thera. Drug Carrier Sys. 9:249-304（1992）において考察される。

【0199】

（抗体）

本発明はさらに、本発明のポリペプチドに特異的に結合する抗体およびT細胞抗原レセプター（TCR）に関する。本発明の抗体は、IgG（IgG1、IgG2、IgG3およびIgG4を含む）、IgA（IgA1およびIgA2を含む）、IgD、IgEまたはIgMおよびIgYを含む。本明細書中で使用される場合、用語「抗体」（Ab）は、単鎖の全抗体およびその抗原結合フラグメントを含む全抗体を含むことを意味する。最も好ましくは、この抗体は、本発明のヒト抗原結合抗体フラグメントであり、これには、Fab、Fab'およびF(ab')₂、Fd、単鎖Fvs（scFv）、単鎖抗体、ジスルフィド結合Fvs（sdFv）およびV_LまたはV_Hドメインのいずれかを含むフラグメントが挙

げられるがこれらに限定されない。この抗体は、鳥類および哺乳動物を含む任意の動物起源であり得る。好ましくは、この抗体は、ヒト、マウス、ウサギ、ヤギ、モルモット、ラクダ、ウマ、またはニワトリである。本明細書中で使用される場合、「ヒト」抗体は、ヒト免疫グロブリンのアミノ酸配列を有する抗体を含み、そしてヒト免疫グロブリンライブラリーから、または1つ以上のヒト免疫グロブリンに対するトランスジェニック動物でかつ内因性免疫グロブリンを発現しない動物（以下におよび、例えば、Kucherlapatiらによる米国特許第5,939,598号に記載されるように）から単離された抗体を含む。

【0200】

単鎖抗体を含む抗原結合抗体フラグメントは、可変領域を単独で、または以下の全体もしくは部分と組み合わせて含み得る：ヒンジ領域、CH1、CH2およびCH3ドメイン。本発明には、可変領域ならびにヒンジ領域、CH1、CH2およびCH3ドメインの任意の組み合わせもまた含まれる。本発明はさらに、本発明のポリペプチドに特異的に結合するモノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、ならびにヒトモノクローナル抗体およびヒトポリクローナル抗体を含む。本発明はさらに、本発明の抗体に対して抗イディオタイプである抗体を含む。

【0201】

本発明の抗体は、単一抗原特異的、二抗原特異的、三抗原特異的であり得るか、またはより多い複数特異性の抗体であり得る。複数特異的な抗体は、本発明のポリペプチドの異なるエピトープについて特異的であり得るか、または本発明のポリペプチドおよび異種の組成物（例えば、異種ポリペプチドもしくは固体支持体物質）の両方に特異的であり得る。例えば、WO 93/17715；WO 92/08802；WO 91/00360；WO 92/05793；Tutt, A.ら、J. Immunol. 147:60~69 (1991)；米国特許第5,573,920号、同第4,474,893号、同第5,601,819号、同第4,714,681号、同第4,925,648号；Kostelny, S. A. ら、J. Immunol. 148:1547~1553 (1992)を参照のこと。

【0202】

本発明の抗体は、抗体により認識されるかまたは特異的に結合される本発明のポリペプチドのエピトープまたは部分に関して、記載されるかまたは特定され得る。このエピトープまたはポリペプチド部分は、本明細書において記載されるように、例えば、N末端位置およびC末端位置によって、近接するアミノ酸残基のサイズによって特定され得るか、または表および図に列挙され得る。本発明の任意のエピトープまたはポリペプチドに特異的に結合する抗体はまた、除外され得る。従って、本発明は、本発明のポリペプチドに特異的に結合する抗体を含み、そしてこの抗体の除外を許容する。

【0203】

本発明の抗体はまた、その交差反応性について記載されるか、または特定され得る。本発明のポリペプチドのいかなる他のアナログ、オルトログ (ortholog) またはホモログにも結合しない抗体が含まれる。本発明には、本発明のポリペプチドに対して95%未満、90%未満、85%未満、80%未満、75%未満、70%未満、65%未満、60%未満、55%未満、および50%未満の同一性（当該分野で公知の方法および本明細書において記載された方法を用いて計算される）を有するポリペプチドを結合しない抗体もまた含まれる。本発明には、ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下（本明細書において記載される）で本発明のポリヌクレオチドにハイブリダイズするポリヌクレオチドによりコードされるポリペプチドにのみ結合する抗体がさらに含まれる。本発明の抗体はまた、その結合親和性について記載または特定され得る。好ましい結合親和性としては、 $5 \times 10^{-6} \text{M}$ 、 10^{-6}M 、 $5 \times 10^{-7} \text{M}$ 、 10^{-7}M 、 $5 \times 10^{-8} \text{M}$ 、 10^{-8}M 、 $5 \times 10^{-9} \text{M}$ 、 10^{-9}M 、 $5 \times 10^{-10} \text{M}$ 、 10^{-10}M 、 $5 \times 10^{-11} \text{M}$ 、 10^{-11}M 、 $5 \times 10^{-12} \text{M}$ 、 10^{-12}M 、 $5 \times 10^{-13} \text{M}$ 、 10^{-13}M 、 $5 \times 10^{-14} \text{M}$ 、 10^{-14}M 、 $5 \times 10^{-15} \text{M}$ 、および 10^{-15}M 未満の解離定数（すなわちKd）を有する親和性が挙げられる。

【0204】

本発明はまた、競合的な結合を決定するための当該分野で公知の任意の方法（例えば、本明細書中に記載されるイムノアッセイ）によって決定される際の、本

発明のエピトープに対する抗体の結合を競合的に阻害する抗体を提供する。好ましい実施形態において、抗体は、少なくとも90%、少なくとも80%、少なくとも70%、少なくとも60%、または少なくとも50%、エピトープに対する結合を競合的に阻害する。

【0205】

本発明の抗体は、本発明のポリペプチドのアゴニストまたはアンタゴニストとして作用し得る。例えば、本発明は、レセプター／リガンドと本発明のポリペプチドとの部分的かまたは全体的かのいずれかの相互作用を途絶させる抗体を含む。本発明は、レセプター特異的抗体およびリガンド特異的抗体の両方を特徴とする。本発明はまた、リガンド結合を妨げないがレセプターの活性化を妨げるレセプター特異的抗体の特徴を有する。レセプターの活性化（すなわち、シグナル伝達）は、本明細書中に記載される技術、またはさもなくば当該分野で公知の技術によって決定され得る。例えば、レセプターの活性化は、レセプターのリン酸化（例えば、チロシンまたはセリン／スレオニン）あるいは（例えば、上記に記載されたような）免疫沈降、続いてウエスタンブロット分析によるその基質を検出することによって決定され得る。特定の実施形態において、抗体は、抗体が非存在下の活性の少なくとも90%、少なくとも80%、少なくとも70%、少なくとも60%、または少なくとも50%阻害されたリガンド活性またはレセプター活性を与える。

【0206】

本発明はまた、リガンド結合およびレセプター活性化の両方を妨げるレセプター特異的抗体、ならびにレセプター－リガンド複合体を認識し、そして、好ましくは、結合していないレセプターまたは結合していないリガンドを特異的に認識しない抗体を特徴とする。同様に、本発明には、リガンドに結合し、そしてリガンドのレセプターへの結合を妨げる中和抗体、ならびにリガンドに結合し、それによってレセプター活性化を妨げるが、リガンドがレセプターに結合することは妨げない抗体が含まれる。さらに本発明に含まれるのは、レセプターを活性化する抗体である。これらの抗体は、レセプターアゴニストのように作用し得、すなわち、リガンド媒介のレセプター活性化の生物学的活性の全体またはサブセット

(subset) のいずれかを増強または活性化する。この抗体は、本明細書中に開示される本発明のペプチドの特異的な生物学的活性を含む生物学的活性に対するアゴニスト、アンタゴニストまたはインバース (inverse) アゴニストとして特定化され得る。上記の抗体アゴニストは、当該分野で公知の方法を用いて作製され得る。例えば、PCT公開WO96/40281；米国特許第5,811,097号；Dengら、Blood 92(6)：1981-1988 (1998)；Chenら、Cancer Res. 58(16)：3668-3678 (1998)；Harropら、J. Immunol. 161(4)：1786-1794 (1998)；Zhuら、Cancer Res：58(15)：3209-3214 (1998)；Yoonら、J. Immunol. 160(7)：3170-3179 (1998)；Pratら、J. Cell. Sci. 111(Pt 2)：237-247 (1998)；Pitardら、J. Immunol. Methods 205(2)：177-190 (1997)；Liautardら、Cytokine 9(4)：233-241 (1997)；Carlsonら、J. Biol. Chem. 272(17)：11295-11301 (1997)；Tarymanら、Neuron 14(4)：755-762 (1995)；Mullerら、Structure 6(9)：1153-1167 (1998)；Bartunekら、Cytokine 8(1)：14-20 (1996)（上記の文献は全て、本明細書中でその全体が参考として援用される）を参照のこと。

【0207】

本発明の抗体は、インビトロおよびインビボの両方における診断方法ならびに治療方法を含む、本発明のポリペプチドを精製、検出および標的化する、当該分野において公知の方法が挙げられるが、これに限定されない用途を有する。例えば、この抗体は、生物学的サンプルにおいて本発明のポリペプチドのレベルを定性的および定量的に測定するためのイムノアッセイにおいて用途を有する。例えば、Harlowら、ANTIBODIES：A LABORATORY MANUAL, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 第2版, 1988)（その全体が参考として本明細書中に援用され

る)を参照のこと。

【0208】

本発明の抗体は、単独で、または他の組成物との組み合わせのいずれかで用いられ得る。この抗体は、さらに、N末端もしくはC末端で異種ポリペプチドに組換え的に融合され得るか、またはポリペプチドもしくは他の組成物に化学的に結合(共有結合および非共有結合を含む)され得る。例えば、本発明の抗体は、検出アッセイにおける標識として有用な分子およびエフェクター分子(例えば、異種ポリペプチド、薬物、または毒素)に組換え的に融合または結合され得る。例えば、PCT公開WO92/08495; WO91/14438; WO89/12624; 米国特許第5,314,995号; および欧州特許第0396387号を参照のこと。

【0209】

本発明の抗体は、改変された(すなわち、共有結合性付着(covalent attachment)が、抗体が抗イディオタイプ応答を産生するのを妨がないような抗体に対する任意の型の分子の共有結合性付着による)誘導体を含む。例えば、制限されないが、抗体誘導体には、例えば、グリコシル化、アセチル化、ペグ化(pegylation)、リン酸化、アミド化、公知の保護基/ブロック基(blocking group)による誘導体化、タンパク質分解性切断、細胞性リガンドまたは他のタンパク質への連結などによって改変された抗体が挙げられる。多数の任意の化学的改変が、特異的化学切断、アセチル化、ホルミル化、ツニカマイシンの代謝的合成などを含むが、これらに制限されない公知の技術によって実行され得る。さらに、誘導体は、1つ以上の非古典的アミノ酸を含み得る。

【0210】

本発明の抗体は、当該分野で公知の任意の適切な方法によって産生され得る。目的の抗原に対するポリクローナル抗体は、当該分野で周知の種々の手順によって産生され得る。例えば、本発明のポリペプチドが種々の宿主動物(ウサギ、マウス、ラットなどを含むがこれらに限定されない)に投与され得、抗原に対して特異的なポリクローナル抗体を含む血清の産生を誘導する。種々のアジュバント

が、宿主種に依存して、免疫学的応答を増加させるために使用され得、そしてフロイント（完全および不完全）、水酸化アルミニウムのようなミネラルゲル（*mineral gel*）、リゾレシチンのような表面活性物質、プルロニック（*pluronic*）ポリオール、ポリアニオン、ペプチド、油乳濁液、キーホルリンペットヘモシアニン、ジニトロフェノール、ならびにBCG（カルメットーゲラン杆菌）および*Corynebacterium parvum*のような潜在的に有用なヒトアジュバントを含むが、これらに限定されない。このようなアジュバントはまた、当該分野で周知である。

【0211】

モノクローナル抗体は、ハイブリドーマ、組換え、およびファージディスプレイ技術、またはそれらの組み合わせの使用を含む、当該分野で公知の広範な種々の技術を用いて調製され得る。例えば、モノクローナル抗体は、当該分野で公知の以下に挙げられるハイブリドーマ技術を使用して産生され得、例えば、Harlowら、*Antibodies: A Laboratory Manual*, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 第2版、1988) ; Hammerlingら、*Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas* 563-681 (Elsevier, N. Y. 1981)（上記の参考文献は、その全体が参考として援用される）に教示される。用語「モノクローナル抗体」とは、ハイブリドーマ技術を通して生成された抗体に限定されない。用語「モノクローナル抗体」とは、任意の真核生物、原核生物、またはファージクローンを含む単一のクローンに由来する抗体をいい、そしてモノクローナル抗体が生成される方法ではない。モノクローナル抗体は、ハイブリドーマ、組換え、およびファージディスプレイ技術を含む、当該分野で公知の広範な種々の技術を用いて調製され得る。

【0212】

ハイブリドーマ技術としては、当該分野で公知の方法、ならびにHarlowら、*ANTIBODIES: A LABORATORY MANUAL* (Cold Spring Harbor Laboratory Press、第2版

、1988) ; およびHammerlingら、MONOCLONAL ANTIBODIES AND T-CELL HYBRIDOMAS 563~681 (Elsevier, N. Y. , 1981) (これらの参考文献は、その全体が参考として援用される) に教示される技術が挙げられる。

【0213】

FabおよびF(ab')₂フラグメントは、パパイン(Fabフラグメント作製のため)またはペプシン(F(ab')₂フラグメント作製のため)のような酵素を用いて、タンパク質分解切断により作製され得る。

【0214】

あるいは、本発明の抗体は、当該分野で公知の方法を用いる組換えDNA技術およびファージディスプレイ技術の適用、または合成化学により作製され得る。例えば、本発明の抗体は、当該分野で公知の種々のファージディスプレイ方法を用いて調製され得る。ファージディスプレイ方法において、機能的抗体ドメインは、それらをコードするポリヌクレオチド配列を保有するファージ粒子の表面に提示される。所望の結合特性を有するファージは、抗原(代表的には、固体表面またはビーズに結合または捕捉された抗原)を用いて直接的に選択することにより、レパートリー抗体ライブラリーまたはコンビナトリアル抗体ライブラリー(例えば、ヒトまたはマウス)から選択される。これらの方法において用いられるファージは、代表的には、ファージ遺伝子IIIタンパク質またはファージ遺伝子VIIタンパク質のいずれかに組換え的に融合されたFab、Fvまたはジスルフィド安定化Fvの抗体ドメインを有するfdおよびM13を含む糸状ファージである。本発明の抗体を作製するために用いられ得るファージディスプレイ方法の例としては、以下に開示される方法が挙げられる: Brinkman U. ら、J. Immunol. Methods 182:41~50 (1995) ; Ames, R. S. ら、J. Immunol. Methods 184:177~186 (1995) ; Kettleborough, C. A. ら、Eur. J. Immunol. 24:952~958 (1994) ; Persic, L. ら、Gene 187:9~18 (1997) ; Burton, D. R. ら、Advances in Immunology 57:191~280 (199

4) ; PCT/GB91/01134 ; WO 90/02809 ; WO 91/10737 ; WO 92/01047 ; WO 92/18619 ; WO 93/11236 ; WO 95/15982 ; WO 95/20401 ; ならびに米国特許第5, 698, 426号、同第5, 223, 409号、同第5, 403, 484号、同第5, 580, 717号、同第5, 427, 908号、同第5, 750, 753号、同第5, 821, 047号、同第5, 571, 698号、同第5, 427, 908号、同第5, 516, 637号、同第5, 780, 225号、同第5, 658, 727号および同第5, 733, 743号（これらの参考文献は、その全体が参考として援用される）。

【0215】

上記参考文献に記載されているように、ファージ選択後、ファージ由来の領域をコードする抗体は、ヒト抗体を含む全抗体または任意の他の所望の抗原結合フラグメントを作製するために単離および使用され得、そして哺乳動物細胞、昆虫細胞、植物細胞、酵母および細菌を含む任意の所望の宿主において発現され得る。例えば、Fab、Fab' およびF(ab')₂フラグメントを組換え的に作製するための技術はまた、以下に開示される方法のような当該分野で公知の方法を利用して用いられ得る：WO 92/22324 ; Mullinax, R. L. ら、BioTechniques 12:864~869 (1992) ; およびSawai, H. ら、AJRI 34:26~34 (1995) ; およびBetter, M. ら、Science 240:1041~1043 (1998) （これらの参考文献は、その全体が参考として援用される）。

【0216】

単鎖のFvおよび抗体を作製するために用いられ得る技術の例としては、米国特許第4, 946, 778号および同第5, 258, 498号 ; Hustonら、Methods in Enzymology 203:46~88 (1991) ; Shu, L. ら、PNAS 90:7995~7999 (1993) ; およびSkerra, A. ら、Science 240:1038~1040 (1988) に記載される技術が挙げられる。ヒトにおける抗体のインビボ使用およびインビトロ検出アッセイを含むいくつかの用途のために、キメラ抗体、ヒト化

抗体またはヒト抗体の使用が好適であり得る。キメラ抗体を作製するための方法は、当該分野において公知である。例えば、Morrison, Science 229:1202 (1985); Oiら、BioTechniques 4:214 (1986); Gillies, S. D. ら、J. Immunol. Methods 125:191~202 (1989); および米国特許第5, 807, 715号を参照のこと。抗体は、以下に挙げられる種々の技術を用いてヒト化され得る：CDR-移植術（欧州特許第0 239 400号；WO 91/09967；米国特許第5, 530, 101号および同第5, 585, 089号）、ベニヤリング（veneer ing）またはリサーフェイシング（resurfacing）（欧州特許第0 592 106号；欧州特許第0 519 596号；Padlan E. A.、Molecular Immunology 28 (4/5):489~498 (1991); Studnicka G. M. ら、Protein Engineering 7:805~814 (1994); Roguska M. A. ら、PNAS 91:969~973) (1994)、およびチェーンシャッフリング（chain shuffling）（米国特許第5, 565, 332号）。ヒト抗体は、上記のファージディスプレイ方法を含む当該分野で公知の種々の方法により作製され得る。米国特許第4, 444, 887号、同第4, 716, 111号、同第5, 545, 806号および同第5, 814, 318号；ならびにWO 98/46645、WO 98/50433、WO 98/24893、WO 98/16654、WO 96/34096、WO 96/33735、およびWO 91/10741（これらの参考文献はその全体が参考として援用される）もまた参照のこと。

【0217】

さらに、本発明には、本発明のポリペプチドに組換え的に融合または化学結合（共有結合および非共有結合の両方を含む）した抗体が含まれる。この抗体は、本発明のポリペプチド以外の抗原に特異的であり得る。例えば、抗体は、本発明のポリペプチドを特定の細胞表面レセプターに特異的な抗体に融合または結合することにより、インビトロまたはインビボのいずれかで本発明のポリペプチドを特定の細胞型へ標的化するために用いられ得る。本発明のポリペプチドに対して

融合または結合された抗体はまた、当該分野で公知の方法を用いてインビトロイムノアッセイおよび精製方法において用いられ得る。例えば、Harborら、前出、およびWO 93/21232；欧州特許第0 439 095号；Naramura, M. ら、Immunol. Lett. 39:91~99 (1994)；米国特許第5, 474, 981号；Gillies, S. O. ら、PNAS 89:1428~1432 (1992)；Fell, H. P. ら、J. Immunol. 146:2446~2452 (1991)（これらの参考文献は、その全体が参考として援用される）を参照のこと。

【0218】

本発明は、可変領域以外の抗体ドメインと融合されたか、または結合体化された本発明のポリペプチドを含む組成物をさらに含む。例えば、本発明のポリペプチドは、抗体のFc領域またはその部分と融合され得るか、またはそれに結合され得る。本発明のポリペプチドに融合した抗体部分は、ヒンジ領域、CH1ドメイン、CH2ドメイン、およびCH3ドメインまたは完全なドメインまたはその部分の任意の組み合わせを含み得る。本発明のポリペプチドは、当該分野で公知の方法を用いて、ポリペプチドのインビボでの半減期を増大するか、またはイムノアッセイにおける使用のために上記の抗体部分に融合または結合体化され得る。このポリペプチドはまた、上記の抗体部分に融合されるか、または結合されて、マルチマーを形成し得る。例えば、本発明のポリペプチドに融合されたFc部分は、Fc部分の間のジスルフィド結合によってダイマーを形成し得る。より高度なマルチマー形態は、IgAおよびIgMの部分にポリペプチドを融合することにより作製され得る。本発明のポリペプチドを抗体部分に融合または結合するための方法は、当該分野で公知である。例えば、米国特許第5, 336, 603号、同第5, 622, 929号、同第5, 359, 046号、同第5, 349, 053号、同第5, 447, 851号、同第5, 112, 946号；EP 0 307 434号、EP 0 367 166号；WO96/04388号、WO91/06570号；Ashkenazi, A. ら、(1991) PNAS 88:10535-10539；Zheng, X. X. ら、(1995) J. Immunol. 154:5590-5600；ならびにVil, H. ら、(19

92) PNAS 89:11337-11341 (上記の参考文献は、その全体が参考として援用される)を参照のこと。

【0219】

本発明はさらに、本発明のポリペプチドのアゴニストまたはアンタゴニストとして作用する抗体に関する。本発明のポリペプチドのアゴニストまたはアンタゴニストとして作用する抗体としては、例えば、本発明のポリペプチドとの、部分的にかまたは全体的にのいずれかでのレセプター／リガンド相互作用を破壊する抗体が挙げられる。例えば、本発明は、本発明のタンパク質がマルチマー化する能力を破壊する抗体を含む。別の例において、本発明は、本発明のタンパク質がマルチマー化することを可能にするが、本発明のタンパク質が1つ以上のTR2レセプターまたはリガンド（例えば、AIM-11（国際出願公開番号WO97/34911）、リンホトキシン- α 、およびヘルペスウイルスタンパク質HSV1 gD）を結合する能力を破壊する抗体を含む。なお別の例において、本発明は、本発明のタンパク質がマルチマー化すること、およびTR2レセプターまたはリガンド（例えば、AIM-11（国際出願公開番号WO97/34911）、リンホトキシン- α 、およびヘルペスウイルスタンパク質HSV1 gD）を結合することを可能にするが、TR2レセプター／リガンド複合体に関連する生物学的活性をブロックする抗体を含む。

【0220】

本発明のポリペプチドのアゴニストまたはアンタゴニストとして作用する抗体はまた、レセプター特異的抗体およびリガンド特異的抗体の両方を含む。リガンド結合を妨げないがレセプターの活性化を妨げるレセプター特異的抗体がまた含まれる。レセプターの活性化（すなわち、シグナル伝達）は、本明細書中に記載される技術、またはさもなくば当該分野で公知の技術によって決定され得る。リガンド結合およびレセプター活性化の両方を妨げるレセプター特異的抗体もまた含まれる。同様に、リガンドに結合し、そしてリガンドのレセプターへの結合を妨げる中和抗体、ならびにリガンドに結合し、それによってレセプター活性化を妨げるが、リガンドがレセプターに結合することは妨げない抗体が含まれる。さらに含まれるのは、レセプターを活性化する抗体である。これらの抗体は、リガ

ンド媒介のレセプター活性化により影響を受ける生物学的活性の全体または一部のいずれかに対するアゴニストのように作用し得る。この抗体は、本明細書中に開示される特異的な活性を含む生物学的活性に対するアゴニストまたはアンタゴニストとして特定化され得る。上記の抗体アゴニストは、当該分野で公知の方法を用いて作製され得る。例えば、WO96/40281；米国特許第5,811,097号；Deng, B. ら、Blood 92:1981-1988 (1998)；Chen, Z. ら、Cancer Res. 58:3668-3678 (1998)；Harrop, J. A. ら、J. Immunol. 161:1786-1794 (1998)；Zhu, Z. ら、Cancer Res:58:3209-3214 (1998)；Yoon, D. Y. ら、J. Immunol. 160:3170-3179 (1998)；Prat, M. ら、J. Cell. Sci. 111 (Pt 2):237-247 (1998)；Pitard, V. ら、J. Immunol. Methods 205:177-190 (1997)；Liautard, J. ら、Cytokine 9 (4):233-241 (1997)；Carlson, N. G. ら、J. Biol. Chem. 272:11295-11301 (1997)；Taryman, R. E. ら、Neuron 14:755-762 (1995)；Muller, Y. A. ら、Structure 6:1153-1167 (1998)；Bartunek, P. ら、Cytokine 8:14-20 (1996)（上記の文献は、その全体が参考として援用される）を参照のこと。

【0221】

ハイブリドーマ技術を用いて特定の抗体を産生およびスクリーニングする方法は、慣用的であり、そして当該分野に周知であり、そして実施例17に詳細に議論される。簡単には、マウスは、本発明のポリペプチドまたはそのようなペプチドを発現する細胞を用いて免疫され得る。一旦免疫応答が検出される（例えば、抗原に特異的な抗体がマウスの血清中に検出される）と、マウスの脾臓を収集しそして脾細胞を単離する。次に、脾細胞を周知の技術によって任意の適切なメラノーマ細胞（例えば、ATCCから入手可能な細胞株SP20由来の細胞）に融合させる。ハイブリドーマを限定希釈によって選択およびクローン化する。次に

、ハイブリドーマクローンを、本発明のポリペプチドに結合し得る抗体を分泌する細胞について当該分野で公知の方法によってアッセイする。一般的に高いレベルの抗体を含む腹水 (ascites fluid) が、陽性ハイブリドーマクローンをを用いてマウスを免疫させることによって、産生され得る。

【0222】

従って、本発明は、モノクローナル抗体および本発明の抗体を分泌するハイブリドーマ細胞を培養する工程を包含する方法によって産生される抗体を、産生する方法を提供し、ここで、好ましくは、このハイブリドーマは、骨髓腫細胞を用いた本発明の抗原と免疫させたマウスから単離された脾細胞とを融合させることによって、次いで本発明のポリペプチドと結合し得る抗体を分泌するハイブリドーマクローンについての融合物から生じるハイブリドーマをスクリーニングすることによって産生される。

【0223】

特定のエピトープを認識する抗体フラグメントは、公知の技術によって産生され得る。例えば、本発明の Fab および F(ab)'₂ フラグメントは、(Fab フラグメントを産生するための) パパインまたは (F(ab')₂ フラグメントを産生するための) ペプシンのような酵素を使用して、免疫グロブリン分子のタンパク質分解切断によって産生され得る。F(ab')₂ フラグメントは、可変領域、軽鎖定常領域および重鎖の CH1 ドメインを含む。

【0224】

例えば、本発明の抗体はまた、当該分野で公知の種々のファージディスプレイ方法を用いて産生され得る。ファージディスプレイ法において、機能的抗体ドメインは、それらをコードするポリヌクレオチド配列を保有するファージ粒子の表面に提示される。特に、そのようなファージは、レパートリーまたはコンビナトリアル抗体ライブラリー (例えば、ヒトまたはマウス) から発現される抗原結合ドメインを提示するために利用され得る。目的の抗原に結合する抗原結合ドメインを発現するファージは、抗原を用いて選択または同定され得る (例えば、標識した抗体あるいは固体表面またはビーズに結合または補足された抗原を使用する)。これらの方法において用いられるファージは、代表的には、ファージ遺伝子

I I I タンパク質またはファージ遺伝子V I I I タンパク質のいずれかに組換え的に融合されたF a b、F vまたはジスルフィド安定化されたF vの抗体ドメインを有するファージから発現されたf dおよびM13結合ドメインを含む糸状ファージ(f i l a m e n t o u s p h a g e)である。本発明の抗体を作製するために用いられ得るファージディスプレイ方法の例としては、以下に開示される方法が挙げられる: B r i n k m a n ら、J. I m m u n o l. M e t h o d s 182:41-50(1995); A m e s ら、J. I m m u n o l. M e t h o d s 184:177-186(1995); K e t t l e b o r o u g h ら、E u r. J. I m m u n o l. 24:952-958(1994); P e r s i c ら、G e n e 187 9-18(1997); B u r t o n ら、A d v a n c e s i n I m m u n o l o g y 57:191-280(1994); P C T 出願番号P C T / G B 91 / 01134; P C T 公開W O 90 / 02809; W O 91 / 10737; W O 92 / 01047; W O 92 / 18619; W O 93 / 11236; W O 95 / 15982; W O 95 / 20401; ならびに米国特許第5, 698, 426号; 同第5, 223, 409号; 同第5, 403, 484号; 同第5, 580, 717号; 同第5, 427, 908号; 同第5, 750, 753号; 同第5, 821, 047号; 同第5, 571, 698号; 同第5, 427, 908号; 同第5, 516, 637号; 同第5, 780, 225号; 同第5, 658, 727号; 同第5, 733, 743号および同第5, 969, 108号(上記の参考文献の各々は、本明細書中でその全体が参考として援用される)。

【0225】

上記参考文献に記載されるように、ファージ選択後、ファージ由来の抗体をコードする領域は、ヒト抗体を含む抗体の全体または任意の他の所望の抗原結合フラグメントを作製するために単離されそして用いられ得、そして(例えば、以下に詳細が記載されるように)哺乳動物細胞、昆虫細胞、植物細胞、酵母および細菌を含む任意の所望の宿主において発現され得る。例えば、F a b、F a b ' およびF (a b ') 2フラグメントを組換え的に作製するための技術はまた、当該分野で公知の方法を用いて使用され得る。このような方法は、例えば、以下に開

示される：PCT公開WO 92/22324；Mullinaxら、*BioTechniques* 12(6)：864-869(1992)；およびSawaiら、*AJRI* 34：26-34(1995)；およびBetterら、*Science* 240：1041-1043(1998)（これらの参考文献は、その全体が参考として援用される）。

【0226】

単鎖のFvsおよび抗体を作製するために用いられ得る技術の例としては、米国特許第4,946,778号および同第5,258,498号；Hustonら、*Methods in Enzymology* 203：46-88(1991)；Shuら、*PNAS* 90：7995-7999(1993)；およびSkerraら、*Science* 240：1038-1040(1988)に記載される技術が挙げられる。ヒトにおける抗体のインビボにおける使用およびインビトロ検出アッセイを含むいくつかの用途のために、キメラ抗体、ヒト化抗体またはヒト抗体の使用が好ましくあり得る。キメラ抗体とは、抗体の異なる部分が、異なる動物種に由来する分子（例えば、マウスモノクローナル抗体由来の可変領域およびヒト免疫グロブリン定常領域を有する抗体）である。キメラ抗体を作製するための方法は、当該分野において公知である。例えば、Morrisson, *Science* 229：1202(1985)；Oiら、*BioTechniques* 4：214(1986)；Gilliesら、(1989) *J. Immunol. Methods* 125：191-202；米国特許第5,807,715号；同第4,816,567号；および同第4,816,397号を参照のこと（これらはそれらの全体が、参考として本明細書中に援用される）。ヒト化抗体は、非ヒト種由来の1つ以上の相補性決定領域(CDR)およびヒト免疫グロブリン分子由来のフレームワーク領域を有する所望された抗原に結合する非ヒト種抗体由来の抗体分子である。しばしば、ヒトフレームワーク領域内のフレームワーク残基(framework residue)は、抗原結合を変化させるため（好ましくは改善させるために）CDRドナー抗体由来の対応残基と置換される。これらフレームワークの置換は、当該分野で周知の方法によって同定され、例えば、抗原結合に重要なフレームワーク残基を同定するための

CDRおよびフレームワーク残基の相互作用のモデリング、ならびに特定の位置における異常なフレームワーク残基を同定するための配列比較による。（例えば、Queenら、米国特許第5,585,089号；Riechmann. ら、Nature 332:323（1988）を参照のこと。これらはそれらの全体が参考として本明細書中に援用される）。抗体は、以下を含む当該分野で公知の種々の技術を用いてヒト化され得る：例えば、CDR-移植（欧州特許第239,400号；PCT公開WO 91/09967；米国特許第5,225,539号；同第5,530,101号および同第5,585,089号）、ベニヤリング（veneering）またはリサーフェイシング（resurfacing）（欧州特許第592,106号；同第519,596号；Padlan、Molecular Immunology 28（4/5）:489-498（1991）；Studnickaら、Protein Engineering 7（6）:805-814（1994）；Roguskaら、PNAS 91:969-973（1994））、およびチェーンシャッフリング（chain shuffling）（米国特許第5,565,332号）。

【0227】

完全なヒト抗体は、ヒト患者の治療的処置に対して特に所望される。ヒト抗体は、ヒト免疫グロブリン配列に由来する抗体ライブラリーを用いた上記のファージディスプレイ法を含む当該分野で公知の種々の方法により作製され得る。米国特許第4,444,887号および同第4,716,111号；ならびにPCT公開WO 98/46645、WO 98/50433、WO 98/24893、WO 98/16654、WO 96/34096、WO 96/33735、およびWO 91/10741；（これらの各々はその全体が参考として本明細書中に援用される）もまた参照のこと。

【0228】

ヒト抗体はまた、機能的内因性免疫グロブリンの発現は出来ないが、ヒト免疫グロブリン遺伝子を発現し得るトランスジェニックマウスを用いて産生され得る。例えば、ヒト重鎖免疫グロブリン遺伝子およびヒト軽鎖免疫グロブリン遺伝子の複合体は、無作為にまたは相同組換えによってマウス胚性幹細胞に導入され得

る。あるいは、ヒト可変領域、定常領域および多様性領域 (diversity region) は、ヒト重鎖遺伝子およびヒト軽鎖遺伝子に加えて、マウスの胚性幹細胞に導入され得る。マウス重鎖免疫グロブリン遺伝子およびマウス軽鎖免疫グロブリン遺伝子は、相同組換えによるヒト免疫グロブリン座の導入と別々にまたは同時に非機能的にされ得る。特に、JH領域のホモ接合性の欠失は、内因性抗体の産生を妨げる。改変された胚性幹細胞を拡張させ、そしてキメラマウスを産生するために胚盤胞中に微量注入する。次いで、キメラマウスを、ヒト抗体を発現するホモ接合性の子孫を産生するために繁殖させる。トランスジェニックマウスを、選択された抗原 (例えば、本発明のポリペプチドの全体または部分) を用いて通常の様式で免疫する。抗原に対するモノクローナル抗体は、従来のハイブリドーマ技術を用いた免疫したトランスジェニックマウスから得られ得る。トランスジェニックマウスに保持されたヒト免疫グロブリン導入遺伝子は、B細胞分化の間に再編成し、そしてその後、クラススイッチングおよび体細胞変異を受ける。従って、そのような技術の使用によって、治療的に有用なIgG抗体、IgA抗体、IgM抗体およびIgE抗体の産生が可能である。ヒト抗体を産生するためのこの技術の概要については、LonbergおよびHuszar (1995、Int. Rev. Immunol. 13:65-93) を参照のこと。ヒト抗体およびヒトモノクローナル抗体を産生するためのこの技術のならびにそのような抗体を産生するためのプロトコルの詳細な議論については、例えば、PCT公開WO98/24893; WO96/34096; WO96/33735; 米国特許第5,413,923号; 同第5,625,126号; 同第5,633,425号; 同第5,569,825号; 同第5,661,016号; 同第5,545,806号; 同第5,814,318号; および同第5,939,598号を参照のこと (これらはその全体が本明細書中に参考として援用される)。さらに、Abgenix, Inc. (Freemont, CA) およびGenpharm (San Jose, CA) のような企業は、上記の技術に類似した技術を用いて選択された抗原に対するヒト抗体を提供することに従事し得る。

【0229】

選択されたエピトープを完全に認識するヒト抗体を、「ガイドされた (gui

ded) 選択」といわれる技術を用いて産生し得る。このアプローチにおいて、選択された非ヒトモノクローナル抗体（例えば、マウス抗体）は、同じエピトープを完全に認識するヒト抗体の選択を導くために使用される。（Jespersら、Bio/technology 12:899-903 (1988)）。

【0230】

上で議論したように、本発明のTR2レセプタータンパク質に対する抗体は、当業者に周知の技術を用いてTR2レセプターを「模倣する」抗イディオタイプ抗体を産生するために順々に利用され得る。（例えば、GreenspanおよびBona、FASEB J. 7(5):437-444; (1989) およびNissinoff, J. Immunol. 147(8):2429-2438 (1991)を参照のこと。）例えば、結合し、そしてTR2レセプターの多量体化(multimerization) および／またはリガンドに対する結合を競合的に阻害する抗体が、TR2レセプターの多量体化ドメインおよび／または結合ドメインを「模倣する」抗イディオタイプを産生するために使用され得、そして結果としてTR2レセプターおよび／またはそのリガンドに結合し、そして中和する。このような抗イディオタイプまたはそのような抗イディオタイプのFabフラグメントの中和は、TR2レセプターリガンドを中和するための治療的レジメンに使用され得る。例えば、そのような抗イディオタイプ抗体は、TR2レセプターに結合するためあるいはTR2レセプターまたはリガンドに結合するために使用され得、そしてそれによってTR2レセプターによって媒介されるアポトーシスの阻害がブロックされる。

【0231】

(A. 抗体をコードするポリヌクレオチド)

本発明はさらに、本発明の抗体およびそのフラグメントをコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドを提供する。本発明はまた、ストリンジェントな、またはより低いストリジェンシーなハイブリダイゼーション条件下で（例えば、本明細書中に定義されるような）抗体（好ましくは、本発明のポリペプチドと特異的に結合する、好ましくは、配列番号2；配列番号5配列番号8または配列番号26のアミノ酸配列を有するポリペプチドに結合する抗体）をコードする

ポリヌクレオチドにハイブリダイズするポリヌクレオチドを含む。

【0232】

ポリヌクレオチドが、当該分野で公知の任意の方法によって得られ得、そしてそのポリヌクレオチドのヌクレオチド配列が決定される。例えば、抗体のヌクレオチド配列が知られている場合、この抗体をコードするポリヌクレオチドは、化学的に合成されたオリゴヌクレオチドから構築され得（例えば、Kutmeierら、BioTechniques 17:242 (1994) に記載されるような）、これは、簡単にいうと、以下の工程を包含する：この抗体をコードする配列の部分を含むオーバーラップするオリゴヌクレオチドの合成、これらのオリゴヌクレオチドのアニーリングおよび連結、次いでPCRによる連結されたオリゴヌクレオチドの増幅。

【0233】

あるいは、抗体をコードするポリヌクレオチドは、適切な供給源からの核酸から生成され得る。特定の抗体をコードする核酸を含むクローンは入手不可能だが、その抗体分子の配列が既知である場合、その免疫グロブリンをコードする核酸は、適切な供給源（例えば、抗体cDNAライブラリー、または抗体を発現する任意の組織もしくは細胞（例えば、本発明の抗体の発現のために選択されたハイブリドーマ細胞）から生成されたcDNAライブラリー、またはそれから単離された核酸（好ましくはポリA+RNA））から、例えば、その抗体をコードするcDNAライブラリーからのcDNAクローンを同定するために、配列の3'末端および5'末端にハイブリダイズ可能な合成プライマーを使用するPCR増幅によって、または特定の遺伝子配列に特異的なオリゴヌクレオチドプローブを使用するクローニングによって得られ得る。PCRによって生成された増幅された核酸は、次いで、当該分野で周知の任意の方法を用いて、複製可能なクローニングベクターにクローニングされ得る。

【0234】

一旦、抗体のヌクレオチド配列および対応するアミノ酸配列が決定されると、抗体のヌクレオチド配列は、ヌクレオチド配列の操作について当該分野で周知の方法（例えば、組換えDNA技術、部位特異的変異誘発、PCRなど（例えば、

Sambrookら、1990, Molecular Cloning, A Laboratory Manual, 第2版、Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY およびAusubelら編、1998, Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, NYに記載の技術を参照のこと。これらは両方がその全体において本明細書に参考として援用される。))を用いて操作され、例えば、アミノ酸の置換、欠失、および／または挿入を作製するように異なるアミノ酸配列を有する抗体を生成し得る。

【0235】

特定の実施形態において、重鎖および／または軽鎖の可変ドメインのアミノ酸配列は、相補性決定領域(CDR)の配列の同定のために、当該分野において周知の方法によって(例えば、配列超可変性の領域を決定するために、他の重鎖、および軽鎖の可変領域を既知のアミノ酸配列と比較することによって)調べられ得る。慣用的な組換えDNA技術を用いて、1つ以上のCDRが、前述のようにフレームワーク領域内に(例えば、非ヒト抗体をヒト化するために、ヒトフレームワーク領域中に)挿入され得る。このフレームワーク領域は天然に存在し得るか、またはコンセンサスフレームワーク領域であり得、そして好ましくはヒトフレームワーク領域であり得る(例えば、列挙したヒトフレームワーク領域については、Chothiaら、J. Mol. Biol. 278:457-479(1998)を参照のこと)。好ましくは、フレームワーク領域およびCDRの組み合わせによって生成されたポリヌクレオチドは、本発明のポリペプチドに特異的に結合する抗体をコードする。好ましくは、上記に議論されるように、1つ以上のアミノ酸置換は、フレームワーク領域内で作製され得、そして好ましくは、そのアミノ酸置換は、抗体のその抗原への結合を改善する。さらに、このような方法は、1つ以上の鎖内ジスルフィド結合が欠如した抗体分子を生成するように、鎖内ジスルフィド結合に関与する1つ以上の可変領域のシステイン残基のアミノ酸置換または欠失を作製するために使用され得る。ポリヌクレオチドへの他の変更は、本発明によって、および当該分野の技術において包含される。

【0236】

さらに、適切な抗原特異性のマウス抗体分子由来の遺伝子を、適切な生物学的活性のヒト抗体分子由来の遺伝子と共にスプライシングさせることによって、「キメラ抗体」を産生するために開発された技術（Morrisonら、1984、Proc. Natl. Acad. Sci. 81:851-855; Neubergerら、1984、Nature 312:604-608; Takedaら、1985、Nature 314:452-454）が使用され得る。上記のように、キメラ抗体は、異なる部分が異なる動物種に由来する分子であり、このような分子は、マウスmAbおよびヒト免疫グロブリンの定常領域由来の変領域を有する（例えば、ヒト化抗体）。

【0237】

あるいは、単鎖抗体の産生に関する記載された技術（米国特許第4,694,778号; Bird、1988、Science 242:423-42; Hustonら、1988、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883; およびWardら、1989、Nature 334:544-54）が、単鎖抗体の産生に適応され得る。単鎖抗体は、Fv領域の重鎖フラグメントおよび軽鎖フラグメントがアミノ酸架橋を介して連結されることによって形成され、単鎖ポリペプチドを生じる。E. coliにおける機能性Fvフラグメントのアセンブリのための技術もまた、使用され得る（Skerraら、1988、Science 242:1038-1041）。

【0238】

（B. 抗体を産生する方法）

本発明の抗体は、抗体を合成するための当該分野で公知の任意の方法によって、特に、化学合成によって、または、好ましくは、組換え発現技術によって産生され得る。

【0239】

本発明の抗体、またはそのフラグメント、誘導体もしくはアナログ（例えば、本発明の抗体の重鎖もしくは軽鎖）の組換え発現は、その抗体をコードするポリヌクレオチドを含有する発現ベクターの構築を必要とする。一旦、本発明の抗体

分子または抗体の重鎖もしくは軽鎖、あるいはそれらの部分（好ましくは、重鎖または軽鎖の可変ドメインを含有する）をコードするポリヌクレオチドが得られると、抗体分子の産生のためのベクターは、当該分野で周知の技術を用いる組換えDNA技術によって生成され得る。従って、抗体をコードするヌクレオチド配列を含有するポリヌクレオチドの発現によってタンパク質を調製するための方法は、本明細書に記載される。当業者に周知の方法は、抗体をコードする配列ならびに適切な転写制御シグナルおよび翻訳制御シグナルを含有する発現ベクターの構築のために使用され得る。これらの方法には、例えば、インビトロの組換えDNA技術、合成技術、およびインビボの遺伝子組換えが挙げられる。従って、本発明は、プロモーターに作動可能に連結された、本発明の抗体分子、あるいはその重鎖もしくは軽鎖、または重鎖もしくは軽鎖の可変ドメインをコードするヌクレオチド配列を含む、複製可能なベクターを提供する。このようなベクターは、抗体分子の定常領域（例えば、PCT公開 WO86/05807；PCT公開 WO89/01036；および米国特許第5,122,464号を参照のこと）をコードするヌクレオチド配列を含み得、そしてこの抗体の可変ドメインは、重鎖または軽鎖の全体の発現のためにこのようなベクターにクローニングされ得る。

【0240】

この発現ベクターは、従来技術によって宿主細胞へと移入され、そしてこのトランスフェクトされた細胞は、次いで、本発明の抗体を産生するために、従来技術によって培養される。従って、本発明は、異種プロモーターに作動可能に連結された、本発明の抗体、あるいはその重鎖または軽鎖をコードするポリヌクレオチドを含む宿主細胞を含む。二重鎖抗体の発現についての好ましい実施形態において、重鎖および軽鎖の両方をコードするベクターは、以下に詳述されるように、免疫グロブリン分子全体の発現のために宿主細胞中に同時発現され得る。

【0241】

種々の宿主発現ベクター系は、本発明の抗体分子を発現させるために利用され得る。このような宿主発現系は、目的のコード配列が産生され、かつ続いて精製され得るビヒクルを表わすが、また、適切なヌクレオチドをコードする配列で形

質転換またはトランスフェクトされる場合に、インサイチュで本発明の抗体分子を発現し得る細胞を表わす。これらには、以下が挙げられるが、これらに限定されない：抗体をコードする配列を含む組換えバクテリオファージDNA、プラスミドDNAまたはコスミドDNA発現ベクターを用いて形質転換された細菌（例えば、*E. coli*、*B. subtilis*）のような微生物；抗体をコードする配列を含む組換え酵母発現ベクターで形質転換された酵母（例えば、*Saccharomyces*、*Pichia*）；抗体をコードする配列を含む組換えウイルス発現ベクター（例えば、バキュロウイルス）に感染した昆虫細胞系；組換えウイルス発現ベクター（例えば、カリフラワーモザイクウイルス、CaMV；タバコモザイクウイルス、TMV）に感染した植物細胞系または抗体をコードする配列を含む組換えプラスミド発現ベクター（例えば、Tiプラスミド）で形質転換された植物細胞系；あるいは哺乳動物細胞のゲノムに由来するプロモーター（例えば、メタロチオネインプロモーター）または哺乳動物のウイルスに由来するプロモーター（例えば、アデノウイルス後期プロモーター；ワクシニアウイルス7.5Kプロモーター）を含む組換え発現構築物を保有する哺乳動物細胞系（例えば、COS、CHO、BHK、293、3T3細胞）。好ましくは、*Escherichia coli*のような細菌細胞、そしてより好ましくは、特に、組換え抗体分子全体の発現のために真核生物細胞が、組換え抗体分子の発現のために使用される。例えば、ヒトサイトメガロウイルス由来の主要最初期遺伝子プロモーターエレメントのようなベクターと組み合わされた、チャイニーズハムスターの卵巣細胞（CHO）のような哺乳動物細胞が、抗体のための効果的な発現系である（Foelkingら、1986、Gene 45:101；Cockettら、1990、Bio/Technology 8:2）。

【0242】

細菌系において、多くの発現ベクターが、抗体分子の発現を意図する使用に依存して有利に選択され得る。例えば、多量のこのようなタンパク質が産生されるべき場合、抗体分子の薬学的組成物の生成のために、容易に精製される融合タンパク質産物の高レベルの発現を指向するベクターが所望され得る。このようなベクターには、以下が挙げられるが、これらに限定されない：抗体をコードする配

列がlacZをコードする領域と共にベクターにインフレーム (in frame) で個別に連結され得、その結果、融合タンパク質が産生されるE. coli 発現ベクターpUR278 (Rutherfordら、1983、EMBO J. 2:1791) ; pINベクター (Inouye&Inouye、1985、Nucleic Acids Res. 13:3101-3109; Van Heeke & Schuster、1989、J. Biol. Chem. 24:5503-5509) など。pGEXベクターもまた、グルタチオンS-トランスフェラーゼ (GST) との融合タンパク質として、外来性ポリペプチドを発現させるために使用され得る。一般に、このような融合タンパク質は可溶性であり、そして溶解した細胞から、マトリックスグルタチオン-アガロースビーズへの吸着および結合、それに続く遊離グルタチオン存在化での溶出によって容易に精製され得る。このpGEXベクターは、トロンビンまたはXa因子プロテアーゼ切断部位を含むように設計され、その結果、このクローニングされた標的遺伝子産物は、GST部分から放出され得る。

【0243】

昆虫系においては、Autographa californica核多角体病ウィルス (AcNPV) は、異種遺伝子を発現するためのベクターとして使用される。このウィルスは、Spodoptera frugiperda細胞において増殖する。抗体をコードする配列は、このウィルスの非必須の領域 (例えばポリヘドリン遺伝子) に個々にクローニングされ得、そしてAcNPVプロモーター (例えばポリヘドリンプロモーター) の制御下に配置され得る。

【0244】

哺乳動物宿主細胞においては、多数のウィルスに基づく発現系が利用され得る。アデノウィルスが発現ベクターとして使用される場合においては、目的の抗体をコードする配列は、アデノウィルスの転写/翻訳制御複合体、例えば後期プロモーターおよび3つの部分に分かれるリーダー配列、に連結され得る。次いで、このキメラ遺伝子は、インビトロまたはインビボでの組換えによって、アデノウィルスゲノムに挿入され得る。ウィルスのゲノムの非必須領域 (例えば、E1またはE3領域) における挿入は、生存可能で、感染した宿主において抗体分子を

発現する能力のある組換えウィルスを生じる（例えば、Logan & Shenk、1984、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:355-359を参照のこと）。特異的開始シグナルはまた、挿入された抗体をコードする配列の効率的な翻訳のために必要とされ得る。これらのシグナルは、ATG開始コドンおよび隣接する配列を含む。さらに、この開始コドンは、挿入部分全体の翻訳を確実にするために、所望されるコード配列のリーディングフレーム（reading frame）と相が同じでなければならない。これらの外因性翻訳制御シグナルおよび開始コドンは、種々の起源、天然および合成の両方であり得る。発現の効率は、適切な転写エンハンサーエレメント、転写ターミネーター、などの含有によって高められ得る（Bittnerら、1987、Methods in Enzymol. 153:51-544を参照のこと）。

【0245】

さらに、挿入された配列の発現を調節するか、または遺伝子産物を所望の特定の様式に改変およびプロセスする宿主細胞株が、選択され得る。タンパク質産物のこのような改変（例えばグリコシル化）およびプロセッシング（例えば切断）は、タンパク質の機能のために重要であり得る。異なる宿主細胞は、タンパク質および遺伝子産物の、翻訳後プロセッシングおよび改変のための、特徴的で特異的な機構を有する。適切な細胞株または宿主系は、発現された異種タンパク質の正確な改変およびプロセッシングを確実にするように選択され得る。この目的のために、遺伝子産物の、第一の転写、グリコシル化、およびリン酸化の正確なプロセッシングのための細胞機構を有する、真核生物宿主細胞が、使用され得る。このような哺乳動物宿主細胞は、CHO、VERY、BHK、Hela、COS、MDCK、293、3T3、WI38、そして特に、例えば、BT483、Hs578T、HTB2、BT20およびT47Dのような乳癌細胞株、ならびに、例えば、CRL7030およびHs578Bstのような正常な乳腺細胞株、を含むがこれらに限定されない。

【0246】

組換えタンパク質の長期の高収率の産生のために、安定した発現が好ましい。例えば、抗体分子を安定して発現する細胞株が操作され得る。ウィルスの複製起

点を含む発現ベクターの使用よりも、むしろ宿主細胞は、適切な発現制御エレメント（例えば、プロモーター、エンハンサー、配列、転写ターミネーター、ポリアデニル化部位など）によって制御されるDNA、および選択可能なマーカーで形質転換され得る。外来性DNAの導入に続いて、操作された細胞は、濃縮された培地中で1～2日間増殖され得、次いで選択培地に切り換えられる。組換えプラスミド中の選択マーカーは、選択への耐性を与え、そして細胞がプラスミドをそれらの染色体に安定に組み込み、そして増殖し、次いで細胞株にクローニングおよび増殖され得る、増殖巣（foci）を形成することを可能にする。この方法は、抗体分子を発現する細胞株を操作するために有利に使用され得る。このような操作された細胞株は、抗体分子と直接的または間接的に相互作用する化合物のスクリーニングおよび評価において特に有用であり得る。

【0247】

多くの選択系が使用され得、それらには、それぞれtk⁻、hgprt⁻、またはaprt⁻細胞において使用され得る、単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ（Wiglerら、Cell 11:223（1977））、ヒポキサンチン・グアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ（SzybalskaおよびSzybalski、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 48:202（1992））、およびアデニンホスホリボシルトランスフェラーゼ（Lowyら、Cell 22:817（1980））遺伝子が挙げられるが、これらに限定されない。また、代謝拮抗物質耐性は、以下の遺伝子に関する選択の基礎として使用され得る：メトトレキサートへの耐性を与えるdhfr（Wiglerら、Natl. Acad. Sci. USA 77:357（1980））；O'Hareら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78:1527（1981）；ミコフェノール酸への耐性を与えるgpt（MulliganおよびBerg、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78:2072（1981））；アミノグリコシドG-418への耐性を与えるneo（Clinical Pharmacy 12:488-505；WuおよびWu、Biotherapy 3:87-95（1991）；Tolstoshev、Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 32:573-596

(1993) ; Mulligan、Science 260 : 926-932 (1993) ; ならびにMorganおよびAnderson、Ann. Rev. Biochem. 62 : 191-217 (1993) ; 1993年5月, TIB TECH 11 (5) : 155-215) ; ならびにハイグロマイシンへの耐性を与えるhygro (Santerreら、Gene 30 : 147 (1984))。使用され得る当該分野で一般に公知である組換えDNA技術の方法は、Ausubelら (編)、Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, NY (1993) ; Kriegler、Gene Transfer and Expression, A Laboratory Manual, Stockton Press, NY (1990) ; ならびにDracopolisら (編)、Current Protocols in Human Genetics, John Wiley & Sons, NY (1994) の12および13章 ; Colbere-Garapinら、J. Mol. Biol. 150 : 1 (1981) に記載され、これらはその全体が本明細書において参考として援用される。

【0248】

抗体分子の発現レベルは、ベクター増幅によって増加され得る (総説については、BebbingtonおよびHentschel、The use of vectors based on gene amplification for the expression of cloned genes in mammalian cells in DNA cloning, 第3巻 (Academic Press, New York, 1987) を参照のこと)。抗体を発現するベクター系においてマーカが増幅できる場合、宿主細胞の培養液に存在するインヒビターのレベルの増加は、マーカ遺伝子のコピーの数を増加する。この増幅された領域が抗体遺伝子と結合しているために、この抗体の産生もまた、増加する (Crouseら、Mol. Cell. Biol. 3 : 257 (1983))。

【0249】

その宿主細胞は、本発明の2つの発現ベクター (重鎖に由来するポリペプチド

をコードする第1のベクターおよび軽鎖に由来するポリペプチドをコードする第2のベクター)で同時トランスフェクトされ得る。この2つのベクターは、重鎖および軽鎖のポリペプチドの等しい発現を可能とする同一の選択マーカールを含み得る。あるいは、重鎖および軽鎖のポリペプチドの両方をコードする単一のベクターが使用され得る。このような状況において、この軽鎖は、過剰の有毒な遊離重鎖を避けるために、重鎖の前に配置されるべきである(Proudford、Nature 322:52(1986); Kohler、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:2197(1980))。重鎖および軽鎖のコード配列は、cDNAまたはゲノムDNAを含み得る。

【0250】

一旦、本発明の抗体分子が、組換え的に発現されると、この抗体分子は、免疫グロブリン分子の精製に関する当該分野で公知の任意の方法によって(例えば、クロマトグラフィー(例えば、イオン交換クロマトグラフィー、アフィニティー(特に、Protein Aの後の特異的抗原へのアフィニティーによる)クロマトグラフィー、およびサイジング(sizing)カラムクロマトグラフィー)、遠心分離、差示的溶解度によって、またはタンパク質の精製に関する他の任意の標準的な技術によって)精製され得る。

【0251】

(C. 抗体結合体)

本発明は、融合タンパク質を生成するために、本発明のポリペプチド(またはそれらの一部、好ましくは、ポリペプチドの少なくとも10、20または50アミノ酸)に組換え的に融合されたか、あるいは化学的に結合(共有結合および非共有結合の両方を含む)された抗体を含む。この融合は、必ずしも直接的である必要はないが、リンカー配列を通して起こり得る。この抗体は、本発明のポリペプチド(またはそれらの一部、好ましくは、ポリペプチドの少なくとも10、20または50アミノ酸)以外の抗原に特異的であり得る。例えば、本発明のポリペプチドを、特定の細胞表面レセプターに特異的な抗体に融合させるかまたは結合させることによって、抗体は、インビトロまたはインビボのいずれかで本発明のポリペプチドを特定の細胞型に標的化するために使用され得る。本発明のポリ

ペプチドに融合されたかまたは結合された抗体はまた、当該分野で公知の方法を使用してインビトロイムノアッセイおよび精製方法にて使用され得る。例えば、Harborら、前出およびPCT公開WO 93/21232；EP 439, 095；Naramuraら、Immunol. Lett. 39:91-99 (1994)；米国特許第5, 474, 981号；Gilliesら、PNAS 89:1428-1432 (1992)；Fellら、J. Immunol. 146:2446-2452 (1991)（これらは、それらの全体において参考として援用される）を参照のこと。

【0252】

本発明はさらに、可変領域以外の抗体のドメインに融合されたかまたは結合された本発明のポリペプチドから構成される組成物を含む。例えば、本発明のポリペプチドを、抗体のFc領域、あるいはその一部に融合または結合され得る。本発明のポリペプチドに融合された抗体部分は、定常領域、ヒンジ領域、CH1ドメイン、CH2ドメイン、およびCH3ドメイン、あるいはそれらのドメイン全体または部分の任意の組合せを含み得る。このポリペプチドはまた、上記の抗体部分に融合または結合され、多量体を形成し得る。例えば、本発明のポリペプチドに融合されたFc部分は、Fc部分間のジスルフィド結合を介して二量体を形成し得る。より高次の多量体形態は、このポリペプチドをIgAおよびIgMの部分に融合することにより作製され得る。本発明のポリペプチドを抗体部分に融合または結合するための方法は、当該分野において公知である。例えば、米国特許第5, 336, 603号；同第5, 622, 929号；同第5, 359, 046号；同第5, 349, 053号；同第5, 447, 851号；同第5, 112, 946号；EP 307, 434；EP 367, 166；PCT公開WO 96/04388；WO 91/06570；Ashkenaziら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:10535-10539 (1991)；Zhengら、J. Immunol. 154:5590-5600 (1995)；およびVilら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:11337-11341 (1992)（上記の参考文献は、それらの全体が参考として援用される）を参照のこと。

【0253】

上記で議論されたように、本発明のポリペプチドは、上記の抗体部分に融合または結合され得、このポリペプチドのインビボの半減期を増加するか、または当該分野で公知の方法を使用するイムノアッセイにおいて使用される。さらに、本発明のポリペプチドは、精製を容易にするために、上記の抗体部分に融合または結合され得る。1つの報告された実施例は、ヒトCD4ポリペプチドの第1の2つのドメインおよび哺乳動物免疫グロブリンの重鎖もしくは軽鎖の定常領域の種々のドメインからなるキメラタンパク質を記載する。(EP 394, 827; Trauneckerら、Nature 331:84-86 (1988))。ジスルフィド連結した二量体構造(IgGに起因する)を有する抗体に融合または結合された本発明のポリペプチドはまた、単量体分泌タンパク質またはタンパク質フラグメント単独よりも、他の分子との結合および中和においてより効率的であり得る。(Fountoulakisら、J. Biochem. 270:3958-3964 (1995))。多くの場合において、融合タンパク質のFc部分は、治療および診断において有利であり、従って、例えば、改良された薬物動態学的な特性を生じ得る。(EP A 232, 262)。あるいは、融合タンパク質が発現、検出、および精製された後のFc部分の欠損は、好ましい。例えば、この融合タンパク質が免疫化のための抗原として使用される場合、このFc部分は、治療および診断を妨げ得る。薬物の発見において、例えば、ヒトタンパク質(例えばhIL-5)は、hIL-5のアンタゴニストを同定するための高スループットスクリーニングアッセイの目的のために、Fc部分と融合された。(Bennettら、J. Molecular Recognition 8:52-58 (1995); Johansonら、J. Biol. Chem. 270:9459-9471 (1995)を参照のこと。)

さらに、本発明の抗体またはそれらのフラグメントは、精製を容易にするペプチドのような、マーカー配列と融合され得る。好ましい実施形態において、このマーカーアミノ酸配列は、とりわけ、pQEベクター(QIAGEN、Inc., 9259 Eton Avenue, Chatsworth, CA, 91311)において提供されるタグのようなヘキサ-ヒスチジンペプチドであり、それ

らの多くは市販されている。例えば、Gentzら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:821-824 (1989)に記載されるように、ヘキサヒスチジンは、融合タンパク質の簡便な精製を提供する。精製に有用な他のペプチドタグには、インフルエンザ赤血球凝集素タンパク質由来のエピトープに対応する「HA」タグ(Wilsonら、Cell 37:767 (1984))および「flag」タグが挙げられるが、これらに限定されない。

【0254】

本発明はさらに、診断剤または治療剤に結合される抗体またはそのフラグメントを含む。この抗体は、例えば、臨床試験の手順の一部(例えば、所定の治療レジメンの有効性を決定するための)として、腫瘍の発生または進行をモニターするために診断的に使用され得る。検出は、抗体を検出可能な物質にカップリングすることによって容易にされ得る。検出可能な物質の例には、種々の酵素、補欠分子群、蛍光物質、発光物質、生物発光物質、放射性物質、種々の陽子射出断層撮影法を使用する陽電子放射金属、および非放射性常磁性金属イオンが挙げられる。本発明に従う診断剤として使用するための抗体に結合され得る金属イオンについては、例えば、米国特許第4,741,900号を参照のこと。適切な酵素の例には、西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、 β -ガラクトシダーゼ、またはアセチルコリンエステラーゼが挙げられ；適切な補欠分子群複合体の例には、ストレプトアビジン/ビオチンおよびアビジン/ビオチンが挙げられ；適切な蛍光物質の例には、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フルオレセイン、ダンシルクロライドまたはフィコエリトリンが挙げられ；発光物質の例には、ルミノールが挙げられ；生物発光物質の例には、ルシフェラーゼ、ルシフェリン、およびエクオリンが挙げられ；そして適切な放射性物質の例には、 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{111}In または ^{99}Tc が挙げられる。

【0255】

さらに、抗体またはそのフラグメントは、治療用部分(例えば細胞毒(例えば細胞増殖抑制性もしくは細胞殺傷性の薬剤))、治療剤または放射性金属イオンに結合され得る。細胞毒または細胞毒性薬剤は、細胞に対して有害な任意の薬剤

を含む。例としては、パクリタキセル (paclitaxol)、サイトカラシンB、グラミシジンD、臭化エチジウム、エメチン、マイトマイシン、エトポシド、テニポシド (tenoposide)、ビンクリスチン、ビンブラスチン、コルヒチン、ドキソルビシン、ダウノルビシン、ジヒドロキシアントラシンジオン (dihydroxy anthracin dione)、ミトキサントロン、ミトラマイシン、アクチノマイシンD、1-デヒドロテストステロン、グルココルチコイド、プロカイン、テトラカイン、リドカイン、プロプラノロール、およびピューロマイシン、ならびにそのアナログまたはホモログ、が挙げられる。治療剤は、代謝拮抗物質（例えば、メトトレキサート、6-メルカプトプリン、6-チオグアニン、シタラビン、5-フルオロウラシルデカルバジン）、アルキル化剤（例えば、クロルメチン (mechlorethamine)、チオテパ (thioepa) クロラムブシル、メルファラン、カルムスチン (BSNU) およびロムスチン (CCNU)、シクロホスファミド (cyclophosphamide)、ブスルファン、ジブロモマンニトール、ストレプトゾトシン、マイトマイシンC、ならびにcis-ジクロロジアミン白金 (II) (DDP) シスプラチン)、アントラサイクリン（例えば、ダウノルビシン（以前はダウノマイシン）およびドキソルビシン）、抗生物質（例えば、ダクチノマイシン（以前はアクチノマイシン）、ブレオマイシン、ミトラマイシン、およびアントラマイシン (anthramycin) (AMC)）、ならびに有糸分裂阻害剤（例えばビンクリスチンおよびビンブラスチン）、を含むが、それらに限定されない。

【0256】

本発明の結合体は、所与の生物学的応答を改変するために使用され得、治療剤または薬物部分は、慣用の化学的治療剤に限定されると解釈されない。例えば、薬物部分は、所望の生物学的活性を有するタンパク質またはポリペプチドであり得る。このようなタンパク質としては、例えば、毒素（例えばアブリン、リシンA、シュードモナス外毒素、またはジフテリアトキシン）；タンパク質（例えば、腫瘍壊死因子、 α -インターフェロン、 β -インターフェロン、神経発育因子、血小板由来増殖因子、組織プラスミノゲン賦活剤、血栓症薬もしくは抗脈管形

成薬（例えば、アンジオスタチンもしくはエンドスタチン）；または生物学的応答改変剤（例えばリンホカイン、インターロイキン-1（「IL-1」）、インターロイキン-2（「IL-2」）、インターロイキン-6（「IL-6」）、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子（「GM-CSF」）、顆粒球コロニー刺激因子（「G-CSF」）、または他の増殖因子）、が挙げられ得る。

【0257】

抗体はまた、固体支持体に付着させられ得、この固体支持体は、標的抗原のイムノアッセイまたは精製に特に有用である。このような固体支持体としては、ガラス、セルロース、ポリアクリルアミド、ナイロン、ポリスチレン、ポリ塩化ビニルまたはポリプロピレン、が挙げられるがそれらに限定されない。

【0258】

このような治療部分を抗体に結合する技術は、周知である、例えば、Arnonら、「Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy」、Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy、Reisfeldら（編）、pp. 243-56 (Alan R. Liss, Inc. 1985)；Hellstromら、「Antibodies For Drug Delivery」、Controlled Drug Delivery（第二版）、Robinsonら（編）、pp. 623-53 (Marcel Dekker, Inc. 1987)；Thorpe、「Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review」、Monoclonal Antibodies '84: Biological And Clinical Applications、Pincheraら（編）、pp. 475-506 (1985)；「Analysis, Results, And Future Prospective Of The Therapeutic Use Of Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy」、Monoclonal Antibodies For Cancer Detection And Therapy、Bal

dwinら（編）、pp. 303-16 (Academic Press 1985)、およびThorpeら、「The Preparation And Cytotoxic Properties Of Antibody-Toxin Conjugates」、Immunol. Rev. 62:119-58 (1982)を参照のこと。

【0259】

あるいは、抗体は、Segalにより米国特許第4,676,980号（その全体が参考として本明細書中で援用される）に記載されるように、第二の抗体に結合され得、抗体ヘテロ結合体を形成する。

【0260】

単独または細胞傷害性因子および／もしくはサイトカインと共に投与される抗体（それに結合した治療的部分を有するかまたは有しない）は、治療薬として使用され得る。

【0261】

(D. 抗体結合についてのアッセイ)

本発明の抗体は、当該分野において公知の任意の方法により、免疫特異的結合のためにアッセイされ得る。用いられ得る免疫アッセイとしては、（いくつかのものについてだけ名称を挙げると、ウエスタンブロット、ラジオイムノアッセイ、ELISA（酵素結合免疫吸着アッセイ）、「サンドイッチ」免疫アッセイ、免疫沈降アッセイ、沈降反応、ゲル拡散沈降反応、免疫拡散アッセイ、凝集アッセイ、補体結合アッセイ、免疫放射定量アッセイ、蛍光免疫アッセイ、プロテインA免疫アッセイのような技術を用いる競合アッセイ系および非競合アッセイ系が挙げられるが、これらに限定されない。このようなアッセイは慣用的であり、そして当該分野において周知である（例えば、その全体が本明細書中に参考として援用される、Ausubelら編、1994, Current Protocols in Molecular Biology, 第1巻、John Wiley & Sons, Inc., New Yorkを参照のこと）。例示的な免疫アッセイが、以下に簡潔に記載される（が、これらは限定を目的とすることが意図されない）。

【0262】

免疫沈降プロトコルは一般に、タンパク質ホスファターゼおよび／またはプロテアーゼインヒビター（例えば、EDTA、PMSF、アプロチニン、バナジン酸ナトリウム）を補充したRIPA緩衝液（1% NP-40またはTriton X-100、1% デオキシコール酸ナトリウム、0.1% SDS、0.15M NaCl、pH7.2での0.01M リン酸ナトリウム、1% Trasyol）のような溶解緩衝液中で細胞の集団を溶解する工程、目的の抗体を細胞溶解物に添加する工程、一定時間（例えば、1～4時間）4℃でインキュベートする工程、プロテインAおよび／またはプロテインGセファロースビーズを細胞溶解物に添加する工程、約1時間以上4℃でインキュベートする工程、溶解緩衝液中でビーズを洗浄する工程、およびSDS／サンプル緩衝液中でビーズを再懸濁する工程を含む。目的の抗体の、特定の抗原を免疫沈降する能力は、例えば、ウエスタンブロット分析により、アッセイされ得る。当業者は、抗体の抗原への結合を増加するように、そしてバックグラウンドを減少させるように改変され得るパラメータ（例えば、セファロースビーズを用いて細胞溶解物を事前にきれいにする工程）に関して、よく知っている。免疫沈降プロトコルに関するさらなる考察については、例えば、Ausubelら編、1994、Current Protocols in Molecular Biology, 第1巻、John Wiley & Sons, Inc., New York, 10.16.1を参照のこと。

【0263】

ウエスタンブロット分析は、一般に、タンパク質サンプルを調製する工程、タンパク質サンプルのポリアクリルアミドゲル（例えば、抗原の分子量に応じた8%～20% SDS-PAGE）中での電気泳動の工程、タンパク質サンプルをそのポリアクリルアミドゲルからニトロセルロース、PVDFまたはナイロンのような膜に移す工程、ブロッキング溶液（例えば、3% BSAまたは脱脂粉乳を有するPBS）中でその膜をブロックする工程、その膜を洗浄緩衝液（例えば、PBS-Tween 20）中で洗浄する工程、ブロッキング緩衝液中で希釈された一次抗体（目的の抗体）を有するその膜をブロックする工程、その膜を洗浄

緩衝液中で洗浄する工程、ブロッキング緩衝液中で希釈された酵素基質（例えば、西洋ワサビペルオキシダーゼまたはアルカリホスファターゼ）あるいは放射性分子（例えば、 ^{32}P または ^{125}I ）に結合した二次抗体（一次抗体を認識する、例えば、抗ヒト抗体）を用いてその膜をブロックする工程、洗浄緩衝液中でその膜を洗浄する工程、ならびにその抗原の存在を検出する工程を含む。当業者は、検出されるシグナルを増加させるように、そしてバックグラウンドノイズを減少させるように改変され得るパラメータに関して、よく知っている。ウエスタンブロットプロトコルに関するさらなる考察については、例えば、Ausubelら編，1994，Current Protocols in Molecular Biology，第1巻、John Wiley & Sons, Inc.，New York，10. 8. 1を参照のこと。

【0264】

ELISAは、抗原を調製する工程、96ウェルマイクロタイタープレートのウェルをその抗原でコーティングする工程、酵素基質（例えば、西洋ワサビペルオキシダーゼまたはアルカリホスファターゼ）のような検出可能な化合物に結合した目的の抗体をそのウェルに添加し、そして一定時間インキュベートする工程、および抗原の存在を検出する工程を含む。ELISAにおいて、目的の抗体は、検出可能な化合物に結合している必要はない；その代わり、検出可能な化合物に結合した第二の抗体（目的の抗体を認識する）がウェルに添加され得る。さらに、ウェルを抗原でコーティングする代わりに、抗体がウェルにコーティングされ得る。この場合、検出可能な化合物に結合した第二の抗体が、コーティングされたウェルへの目的の抗原の添加に続いて、添加され得る。当業者は、検出されるシグナルを増加させるように改変され得るパラメータ、および当該分野において公知のELISAの他のバリエーションに関して、よく知っている。ELISAに関するさらなる考察については、例えば、Ausubelら編，1994，Current Protocols in Molecular Biology，第1巻、John Wiley & Sons, Inc.，New York，11. 2. 1を参照のこと。

【0265】

抗体の抗原に対する結合親和性および抗体－抗原相互作用のオフレート（*o f f - r a t e*）が、競合結合アッセイにより決定され得る。競合結合アッセイの一つの例は、ラジオイムノアッセイであり、ラジオイムノアッセイは、標識した抗原（例えば、 ^3H または ^{125}I ）と、漸増量の非標識抗原の存在下での目的の抗体とのインキュベーション、および標識した抗原に結合した抗体の検出を含む。目的の抗体の、特定の抗原に対する親和性、および結合オフレートは、スキャッチャードプロット分析によるデータから決定され得る。第二の抗体との競合はまた、ラジオイムノアッセイを用いて決定され得る。この場合、抗原は、漸増量の非標識第二抗体の存在下で、標識した化合物（例えば、 ^3H または ^{125}I ）に結合した目的の抗体とともにインキュベートされる。

【0266】

（E．治療用途）

本発明はさらに、抗体を基礎とした治療に関し、この治療は、本発明の抗体を、1つ以上の開示された疾患、傷害または状態を処置するために、動物、好ましくは哺乳動物、そして最も好ましくはヒトの患者に投与する工程を含む。本発明の治療化合物としては、本発明の抗体（本明細書中に記載するような、それらのフラグメント、アナログおよび誘導体を含む）ならびに本発明の抗体をコードする核酸（本明細書中に記載するような、それらのフラグメント、アナログおよび誘導体ならびに抗イディオタイプ抗体を含む）が挙げられるがこれらに限定されない。本発明の抗体は、本発明のポリペプチドの異常な発現および／または活性に関連した疾患、障害または状態を、処置、阻害または予防するために使用され得、そのような疾患、障害または状態としては、以下を含む（しかし、それらに限定されない）このような疾患または障害に関連する自己免疫疾患、障害または状態が挙げられるが、これらに限定されない：自己免疫溶血性貧血、自己免疫新生児血小板減少症、特発性血小板減少性紫斑病、自己免疫血球減少症、溶血性貧血、抗リン脂質症候群、皮膚炎、アレルギー性脳脊髄炎、心筋炎、再発性多発性軟骨炎、潰瘍性大腸炎、デンスデポジット病、リウマチ性心疾患、糸球体腎炎（例えば、IgA腎炎）、尋常性天疱瘡、円板状狼瘡、多発性硬化症、神経炎、ブドウ膜眼炎、多発性内分泌腺症、紫斑病（例えば、ヘーノホーシェンライン紫

斑病)、ライター病、スティッフマン症候群、自己免疫肺炎、ギャンーバレー症候群、インシュリン依存性真性糖尿病、および自己免疫炎症性眼、自己免疫甲状腺炎、甲状腺機能低下症(すなわち、橋本甲状腺炎)、全身性エリテマトーデス、グッドパスチャー症候群、天疱瘡、レセプター自己免疫(例えば、(a) グレーヴズ病、(b) 重症筋無力症、および(c) インシュリン抵抗性)、自己免疫溶血性貧血、自己免疫血小板減少性紫斑病、慢性関節リウマチ、抗コラーゲン抗体を伴う強皮症(scleroderma)、混合結合組織病、多発性筋炎/皮膚筋炎、悪性貧血、特発性アディソン病、不妊症、糸球体腎炎(例えば、一次糸球体腎炎およびIgA腎症)、水疱性類天疱瘡、シェーグレン症候群、真性糖尿病、およびアドレナリン作動性薬剤耐性(喘息または嚢胞性線維症を伴うアドレナリン作動性薬剤耐性を含む)、活動性慢性肝炎(chronic active hepatitis)、原発性胆汁性肝硬変、他の内分泌腺不全、白斑、脈管炎、MI後、心臓切開症候群、じんま疹、アトピー性皮膚炎、喘息、炎症性筋障害、対宿主性移植片病(GVHD)ならびに他の炎症性障害、肉芽種性障害、および萎縮性障害。

【0267】

特定の実施形態においては、本発明の抗体は、慢性関節リウマチを処置、阻害、予後の判定、診断または予防するために使用される。

【0268】

別の特定の実施形態においては、本発明の抗体は、全身性エリテマトーデスを処置、阻害、予後の判定、診断または予防するために使用される。

【0269】

さらに、本発明の抗体は、免疫欠損に関連する疾患、障害または状態を、処置、阻害または予防するために使用され得、これらの疾患、障害または状態としては、重症複合免疫不全(SCID)-X結合、SCID-常染色体、アデノシンデアミナーゼ欠損(ADA欠損)、X-結合無ガンマグロブリン血症(XLA)、Bruton病、先天性無ガンマグロブリン血症、X結合乳児無ガンマグロブリン血症、後天性無ガンマグロブリン血症、成人発症無ガンマグロブリン血症、後期発症無ガンマグロブリン血症、低ガンマグロブリン血症、高ガンマグロブリン血症、

ン血症、乳児の過渡性高ガンマグロブリン血症、不特定の高ガンマグロブリン血症、無ガンマグロブリン血症、分類不能型免疫不全（CVID）（後天性）、ヴィスコット-オールドリッチ症候群（WAS）、過剰IgMを伴うX結合免疫不全、過剰IgMを伴う非X結合免疫不全、選択的IgA欠損、IgGサブクラス欠損（IgA欠損を伴うか、または伴わない）、正常または上昇したIgSを伴う抗体不全、胸腺腫を伴う免疫欠損、Ig重鎖欠損、カッパ鎖欠損、B細胞リンパ増殖性障害（BLPD）、選択性IgM免疫欠損、劣性無ガンマグロブリン血症（スイス型）、網様発育不全、新生児好中球減少症、重症の先天性白血球減少症、免疫欠損を有するリンパ形成不全-発育不全症または形成異常症、運動失調-毛細血管拡張症、短肢小人症、X-結合リンパ増殖性症候群（XLP）、IgSを伴うネゼロフ症候群-混合免疫欠損、プリンヌクレオシドホスホリラーゼ欠損（PNP）、MHCクラスII欠損（不全リンパ球症候群）および重症複合型免疫不全が挙げられるが、これらに限定はされない。

【0270】

本発明の抗体は、移植片拒絶および炎症を予防するため、ならびに関節炎の処置のために使用される。

【0271】

本発明のポリペプチドの異常な発現および／または活性に関連する疾患および障害の処置および／または予防としては、これらの疾患および障害に関連する症状の緩和が挙げられるが、これに限定されない。本発明の抗体は、当該分野で公知であるか、または本明細書中に記載されるような薬学的に受容可能な組成物で提供され得る。

【0272】

本発明の抗体が治療的に使用され得る方法の1つの要約は、身体内で局所的にまたは全身的に、あるいは（例えば、補体（CDC）により、またはエフェクター細胞（ADCC）により媒介されるような）抗体の直接的細胞傷害性により、本発明のポリヌクレオチドまたはポリペプチドを結合させることを含む。これらのアプローチのいくつかは、より詳細に以下に記載される。本明細書中で提供される教示を与えられれば、当業者は、過度の実験なしに、診断上の目的、モニタ

リングの目的あるいは治療上の目的のために、本発明の抗体を使用する方法がわかる。

【0273】

本発明の抗体は、例えば、抗体と相互作用するエフェクター細胞の数または活性を増加させるために役立つ、他のモノクローナル抗体またはキメラ抗体、あるいはリンホカインまたは造血増殖因子（例えば、IL-2、IL-3およびIL-7など）と組み合わせて有利に利用され得る。

【0274】

本発明の抗体は、単独で、または他の型の処置（例えば、放射線療法、化学療法、ホルモン治療、免疫治療および抗腫瘍剤）との組み合わせで投与され得る。一般的に、（抗体の場合には）患者の種と同じ種である種起源または種反応性の生成物の投与が好ましい。従って、好ましい実施形態においては、ヒトの抗体、フラグメント誘導体、アナログ、または核酸が、治療または予防のために、ヒトの患者に投与される。

【0275】

本発明のポリヌクレオチドまたはポリペプチド（そのフラグメントを含む）に関するイムノアッセイ、およびそれらに関連した障害の治療の両方のために、本発明のポリペプチドまたはポリヌクレオチドに対する、高親和性および／または強力な、インビボでの阻害抗体および／または中和抗体、そのフラグメント、またはその領域を使用することが好ましい。このような抗体、フラグメント、または領域は、好ましくは、本発明のポリヌクレオチドまたはポリペプチド（そのフラグメントを含む）に対して親和性を有する。好ましい結合親和性としては、 $5 \times 10^{-6} \text{M}$ 、 10^{-6}M 、 $5 \times 10^{-7} \text{M}$ 、 10^{-7}M 、 $5 \times 10^{-8} \text{M}$ 、 10^{-8}M 、 $5 \times 10^{-9} \text{M}$ 、 10^{-9}M 、 $5 \times 10^{-10} \text{M}$ 、 10^{-10}M 、 $5 \times 10^{-11} \text{M}$ 、 10^{-11}M 、 $5 \times 10^{-12} \text{M}$ 、 10^{-12}M 、 $5 \times 10^{-13} \text{M}$ 、 10^{-13}M 、 $5 \times 10^{-14} \text{M}$ 、 10^{-14}M 、 $5 \times 10^{-15} \text{M}$ 、および 10^{-15}M より小さい解離定数すなわちKdを有する結合親和性が挙げられる。

【0276】

（トランスジェニック非ヒト動物）

本発明のタンパク質はまた、トランスジェニック動物において発現され得る。マウス、ラット、ウサギ、ハムスター、モルモット、ブタ、ミニブタ (micro-pig)、ヤギ、ヒツジ、ウシおよびヒト以外の霊長類 (例えば、ヒヒ、サルおよびチンパンジー) を含むがこれらに限定されない任意の種の動物は、トランスジェニック動物を作製するために用いられ得る。特定の実施形態において、本明細書に記載されるか、またはさもないければ当該分野で公知の技術が、遺伝子治療プロトコルの一部として、ヒトにおける本発明のポリペプチドの発現のために用いられる。

【0277】

当該分野で公知の任意の技術を、導入遺伝子 (すなわち、本発明の核酸) の動物への導入に用いて、トランスジェニック動物の創始系統 (founder line) を生成し得る。このような技術は、前核マイクロインジェクション (Patersonら、Appl. Microbiol. Biotechnol. 40:691-698 (1994); Carverら、Biotechnology (NY) 11:1263-1270 (1993); Wrightら、Biotechnology (NY) 9:830-834 (1991); およびHoppeら、米国特許第4,873,191号 (1989)); 生殖細胞系へのレトロウイルス媒介遺伝子移入 (Van der Puttenら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:6148-6152 (1985)); 胚盤胞または胚; 胚性幹細胞における遺伝子標的化 (Thompsonら、Cell 56:313-321 (1989)); 細胞または胚のエレクトロポレーション (Lo、Mol Cell Biol. 3:1803-1814 (1983)); 遺伝子銃を用いた本発明のポリヌクレオチドの導入 (例えば、Ulmerら、Science 259:1745 (1993) を参照のこと); 胚性多能性 (pluripotent) 幹細胞への核酸構築物の導入および胚盤胞へのこの幹細胞の再移入; ならびに精子媒介遺伝子移入 (Lavitranoら、Cell 57:717-723 (1989)); などを含むがこれらに限定されない。このような技術の総説については、本明細書中にその全体が参考として援用される、Gordon、「Transgenic Animals」、Int

1. Rev. Cytol. 115:171-229 (1989) を参照のこと。
米国特許第5, 464, 764号 (Capecchiら、Positive-Negative Selection Methods and Vectors) ; 米国特許第5, 631, 153号 (Capecchiら、Cell and Non-Human Organisms Containing Predetermined Genomic Modifications and Positive-Negative Selection Methods and Vectors for Making Same) ; 米国特許第4, 736, 866号 (Lederら、Transgenic Non-Human Animals) ; および米国特許第4, 873, 191号 (Wagnerら、Genetic Transformation of Zygotes) もまた、参照のこと ; これらの各々は、本明細書中でその全体が参考として援用される。この段落に列挙されるそれぞれの書類の内容が、本明細書中でその全体が参考として援用される。

【0278】

当該分野で公知の任意の技術を用いて、本発明のポリヌクレオチドを含むトランスジェニッククローンを生成し得る (例えば、培養された、静止状態に誘導された胚細胞、胎児細胞または成体の細胞由来の除核した卵母細胞の核への核移入 (Campbellら、Nature 380:64-66 (1996) ; Wilmutら、Nature 385:810-813 (1997) 、これらのそれぞれが、本明細書中でその全体が参考として援用される)) 。

【0279】

本発明は、その全ての細胞に導入遺伝子を有するトランスジェニック動物、ならびにいくつかの細胞 (しかしその全ての細胞ではない) に導入遺伝子を有する動物 (すなわち、モザイク動物またはキメラ動物) を提供する。導入遺伝子は、1つの導入遺伝子としてまたはコンカテマー (例えば、頭-頭タンデム型または頭-尾タンデム型) のような複数のコピーとして組み込まれ得る。この導入遺伝子はまた、例えば、Laskoらの教示 (Laskoら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:6232-6236 (1992)) に従って

特定の細胞型に選択的に導入され得、そして活性化され得る。このような細胞型特異的活性化に必要とされる調節配列は、目的の特定の細胞型に依存し、そしてそれらは当業者に明らかである。ポリヌクレオチド導入遺伝子が、内在性遺伝子の染色体部位に組み込まれることが所望される場合、遺伝子の標的化が好ましい。手短に言えば、このような技術が利用される場合、内在性遺伝子に対して相同ないくつかのヌクレオチド配列を含むベクターが、染色体配列との相同な組換えを介して内在性遺伝子のヌクレオチド配列に組み込まれ、そのヌクレオチド配列の機能を破壊することを目的として設計される。導入遺伝子はまた、特定の細胞型に選択的に導入され得、従って、例えば、Guら (Guら、Science 265:103-106 (1994)) の教示に従って、導入された細胞型においてのみ内在性遺伝子が不活化される。そのような細胞型特異的不活化に必要とされる調節配列は、目的の特定の細胞型に依存し、そしてそれらは当業者に明らかである。この段落に列挙されるそれぞれの書類の内容が、本明細書中で、参考として援用される。

【0280】

一旦トランスジェニック動物が作製されると、その組換え遺伝子の発現は、標準的な技術を利用してアッセイされ得る。最初のスクリーニングは、サザンブロット分析またはPCR技術によって達成されて、導入遺伝子の組み込みが起きたことを動物組織の分析により確認し得る。トランスジェニック動物の組織における導入遺伝子のmRNA発現レベルはまた、動物から得た組織サンプルのノーザンブロット分析、インサイチュハイブリダイゼーション分析および逆転写酵素PCR (rt-PCR) を含むがこれらに限定されない技術を用いて評価され得る。トランスジェニック遺伝子発現組織のサンプルはまた、導入遺伝子産物に特異的な抗体を用いて免疫細胞化学的または免疫組織化学的に評価され得る。

【0281】

一旦、創始動物が生成されると、それらは、交配され、同系交配され、異系交配されるかまたは交雑されて、特定の動物のコロニーを生成し得る。そのような交配戦略の例は、以下を含むがこれらに限定されない：別の系統を樹立するための1つより多くの組み込み部位を有する創始動物の異系交配；各導入遺伝子の相

加的発現効果によって、より高いレベルで導入遺伝子を発現する複合トランスジェニックを生成するための別々の系統の同系交配；発現の増強およびDNA分析による動物のスクリーニングの必要性の排除の両方のための、所定の組み込み部位に対してホモ接合性の動物を生成するヘテロ接合性トランスジェニック動物の交雑；複合ヘテロ接合性またはホモ接合性系統を生成するための別々のホモ接合系統の交雑；ならびに目的の実験モデルに適切な異なるバックグラウンド上に導入遺伝子を配置するための交配。

【0282】

本発明のトランスジェニック動物および「ノックアウト」動物は、TR2レセプターポリペプチドの生物学的機能の生成において有用である動物モデル系、異常なTR2レセプター発現に関係する状態および／または障害の研究、ならびにそのような状態および／あるいは障害の改善において有効な化合物のスクリーニングを含むが、これらに限定されない用途を有する。

【0283】

本発明のさらなる実施形態において、本発明のタンパク質を発現するために遺伝子操作される細胞、あるいは本発明のタンパク質を発現しないように遺伝子操作された細胞（例えば、ノックアウト）を、インビボで患者に投与する。このような細胞は、患者（すなわち、ヒトを含む動物）またはMHC適合性ドナーから入手され得、そして線維芽細胞、骨髄細胞、血球（例えば、リンパ球）、脂肪細胞、筋細胞、内皮細胞などを含み得るが、それらに限定されない。この細胞を、例えば、形質導入（ウイルスベクターおよび好ましくは細胞ゲノム中に導入遺伝子を組み込むベクターを使用する）、またはトランスフェクション手順（プラスミド、コスミド、YAC、裸のDNA、エレクトロポレーション、リポソームなどの使用を含むが、これらに限定されない）によって、細胞中に本発明のポリペプチドのコード配列を導入するために、あるいはこのコード配列および／または本発明のポリペプチドに結合している内因性の調節配列を破壊するために、組換えDNA技術を使用してインビトロで遺伝子操作する。本発明のポリペプチドのコード配列を強力な構成的プロモーターもしくは誘導性プロモーターまたはプロモーター／エンハンサーの制御下に配置し、本発明のポリペプチドの発現および

好ましくは分泌を達成し得る。本発明のポリペプチドを発現および好ましくは分泌する操作した細胞を、例えば、循環中において、または腹腔内で患者中へ全身的に導入し得る。あるいは、この細胞をマトリックスに組み込み得、そして身体に移植し得る（例えば、遺伝子操作した線維芽細胞を皮膚移植片の一部として移植し得る；遺伝子操作した内皮細胞をリンパ移植片または脈管移植片の一部として移植し得る）（例えば、Andersonら、米国特許第5,399,349号ならびにMulliganおよびWilson、米国特許第5,460,959号を参照のこと。これらの各々は、本明細書中でその全体が参考として援用される）。

【0284】

投与される細胞が非自己または非MHC適合性細胞である場合、それらを、この導入細胞に対する宿主免疫応答の発生を妨害する周知の技術を使用して投与し得る。例えば、この細胞を被包性の形態で導入し得、構成成分と即時の細胞外環境との交換が可能である間は、導入細胞が宿主免疫系によって認識され得ない。

【0285】

（疾患状態の検出）

TNFファミリーリガンドは、TNFファミリーレセプター（本発明のTR2レセプターを含む）への結合によって種々の細胞応答を誘導する。TNF- β （TNFレセプタータンパク質の潜在的なリガンド）は、多くの生物学的プロセス（リンパ球の発生、腫瘍壊死、抗ウイルス状態の誘導、多形核白血球の活性化、内皮細胞へのクラスI主要組織適合性複合体の誘導、内皮への接着分子の誘導および成長ホルモン刺激を含む）に関与することが知られている（RuddleおよびHomer、Prog. Allergy, 40:162-182（1988））。TNF- α （これもTNFレセプタータンパク質のリガンド）は、腫瘍の迅速な壊死、免疫刺激、自己免疫疾患、移植片拒絶、抗ウイルス応答の発生、敗血症性ショック、大脳マラリア、細胞傷害性、化学療法の過程の間に生じる電離放射線の有害な効果（例えば、酵素の変性、脂質過酸化およびDNA損傷）に対する保護（Nataら、J. Immunol. 136（7）:2483（1987）；Porter、Tibtech 9:158-162（1991））、成

長調節、脈管内皮の効果および代謝性の効果における役割を有していることが報告されている。TNF- α もまた、内皮細胞が種々の因子（PAI-1、IL-1、GM-CSFおよびIL-6を含む）を分泌する誘因となり、細胞増殖を促進する。さらに、TNF- α は、種々の細胞接着分子（例えば、E-セクチン、ICAM-1およびVCAM-1）を上方制御する。TNF- α およびFasリガンドはまた、プログラムされた細胞死を誘導することが示されてきた。

【0286】

TR2ポリペプチドを発現し、TR2レセプターリガンドに対する強力な細胞応答を有すると考えられている細胞としては、Bリンパ球（CD19⁺）、CD4⁺Tリンパ球およびCD8⁺Tリンパ球の両方、単球、内皮細胞ならびに表VおよびVIに示される他の細胞型が挙げられる。「TNFファミリーリガンドに対する細胞性応答」は、TNFファミリーリガンドによって誘導される、細胞、細胞株、組織、組織培養物または患者に対する任意の遺伝子型変化、表現型変化および／または形態学的変化を意図する。示されるように、このような細胞性応答としては、TNFファミリーリガンドに対する正常な生理学的応答だけではなく、増大した細胞増殖または増大した細胞増殖の阻害（例えば、アポトーシスの阻害による）に関連する疾患もまた挙げられる。アポトーシスによってプログラムされた細胞死は、免疫系の末梢Tリンパ球の欠失に關与する生理学的機構であり、そしてその制御不全（disregulation）は、多くの異なる病原性プロセスを導き得る（Ameisen, J. C., AIDS 8:1197-1213 (1994); Krammer, P. H. ら、Curr. Opin. Immunol. 6:279-289 (1994)）。

【0287】

異常な細胞生存に関連する特定の疾患状態を有する哺乳動物において特定組織が、対応する「標準」哺乳動物（すなわち、この疾患状態を有さない同種の哺乳動物）と比較した場合、有意に変化したレベルのTR2レセプタータンパク質、およびTR2レセプタータンパク質をコードするmRNAを発現すると考えられる。さらに、いくつかの形態のこのタンパク質が分泌されるので、増大したレベルのTR2レセプタータンパク質は、この疾患状態を有さない同種の哺乳動物由

来の血清と比較した場合、この疾患状態を有する哺乳動物由来の特定の体液（例えば、血清、血漿、尿、および髄液）中で検出され得ると考えられる。従って、本発明は、疾患状態の診断の間に有用である診断方法を提供する。この診断は、哺乳動物細胞または体液における、TR2レセプタータンパク質をコードする遺伝子の発現レベルを測定し、そして標準的なTR2レセプター遺伝子発現レベルと測定された遺伝子発現レベルとを比較し、それによって標準と比較された遺伝子発現レベルにおける増加または低下が異常な細胞生存に関連する特定の疾患状態を示すことを含む。

【0288】

本発明のTR2レセプターに関与する疾患状態の診断が、従来の方法に従って既になされている場合、本発明は、予後の指標として有用であり、それによって異常なTR2レセプター遺伝子発現を顕著に示す患者は、より低いレベルでこの遺伝子を発現する患者に比べ、より悪い臨床結果を被る。

【0289】

「TR2レセプタータンパク質をコードする遺伝子の発現レベルをアッセイする」とは、第一の生物学的サンプル中のTR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2レセプタータンパク質のレベルあるいはTR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2レセプタータンパク質をコードするmRNAのレベルを、直接的に（例えば、絶対的なタンパク質レベルまたはmRNAレベルを決定または概算することにより）または相対的に（例えば、第二の生物学的サンプル中のTR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2レセプタータンパク質レベルまたはmRNAレベルに対して比較することにより）、定性的または定量的に測定または概算することを意図する。

【0290】

好ましくは、第一の生物学的サンプル中のTR2レセプタータンパク質レベルまたはmRNAレベルが測定または概算され、標準的なTR2レセプタータンパク質レベルまたはmRNAレベルに対して比較される。この標準は、疾患状態を有しない個体から得られた第二の生物学的サンプルから採取される。当該分野で理解されるように、標準的TR2レセプタータンパク質レベルまたはmRNAレ

ベルが一旦分かれば、それは、比較のための標準として繰り返し用いられ得る。

【0291】

「生物学的サンプル」とは、個体から得られる任意の生物学的サンプル、細胞株、組織培養物、またはTR2レセプタータンパク質もしくはmRNAを含む他の供給源が意図される。生物学的サンプルは、分泌された成熟TR2レセプタータンパク質を含む哺乳動物の体液（例えば、血清、血漿、尿、滑液、および髄液）、ならびに胸腺、前立腺、心臓、胎盤、筋、肝臓、脾臓、肺、腎臓および他の組織を包含する。哺乳動物から組織生検および体液を得るための方法は、当該分野で周知である。生物学的サンプルがmRNAを含むことが意図される場合、組織生検が好ましい供給源である。

【0292】

増加した細胞生存、またはアポトーシスの阻害に関連する疾患としては、癌（例えば、濾胞性リンパ腫、p53変異を伴う癌、およびホルモン依存性腫瘍（大腸癌、心臓腫瘍、膵臓癌、黒色腫、網膜芽細胞腫、グリア芽細胞腫、肺癌、腸癌、精巣癌、胃癌、神経芽細胞腫、粘液種、筋腫、リンパ腫、内皮種、骨芽細胞腫、骨巨細胞腫、骨肉腫、軟骨肉腫、腺種、乳癌、前立腺癌、カポージ肉腫および卵巣癌が挙げられるが、これらに限定されない））；自己免疫疾患（例えば、全身性エリテマトーデスおよび免疫関連糸球体腎炎慢性関節リウマチ）およびウイルス感染（例えば、ヘルペスウイルス、ポックスウイルスおよびアデノウイルス）、情報対宿主性移植片病、急性移植片拒絶および慢性移植片拒絶が挙げられる。減少した細胞生存、または増加したアポトーシスに関連する疾患としては、AIDS；神経変性障害（例えば、アルツハイマー病、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症、色素性網膜炎、小脳変性）；脊髓形成異常症候群（例えば、再生不良性貧血）、虚血性傷害（例えば、心筋梗塞、発作および再灌流障害によって引き起こされる虚血性傷害）、毒素誘導性肝臓疾患（例えば、アルコールにより引き起こされる肝臓疾患）、敗血症性ショック、悪液質ならびに食欲不振が挙げられる。

【0293】

好ましい実施形態においては、本発明のTR2、TR2-SV1および／また

はTR2-SV2ポリペプチドまたはポリヌクレオチドは、自己免疫疾患を処置もしくは予防するため、ならびに／または癌（例えば、本明細書中で開示される癌（例えば、リンパ性白血病（例えば、MLLおよび慢性リンパ性白血病（CLL）が挙げられる））および濾胞性リンパ腫が挙げられるが、これらに限定されない）の増殖、進行、および／もしくは転移を阻害するために使用される。別の実施形態においては、本発明のTR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2ポリヌクレオチドまたはポリペプチドは、癌性細胞または組織（例えば、B細胞系関連癌（例えば、CLLおよびMLL）、リンパ性白血病、またはリンパ腫）の活性化、分化または増殖させるために使用され、それによって、細胞を癌治療（例えば、化学療法または放射線療法）に対してより脆弱にする。

【0294】

可溶性レセプターのレベルを検出するために利用可能なアッセイは、当業者に周知であり、例えば、ラジオイムノアッセイ、結合競合アッセイ、ウエスタンブロット分析、好ましくはELISAアッセイが使用され得る。

【0295】

TR2レセプタータンパク質特異的抗体は、インタクトなTR2レセプタータンパク質またはその抗原性ポリペプチド部分（これらは、アルブミンのようなキャリアタンパク質を、動物の系（例えば、ウサギまたはマウス）に対して一緒に提示し得るか、または十分に長い（少なくとも約25アミノ酸）場合、キャリアなしで提示し得る）に対して惹起され得る。

【0296】

本明細書中で使用する場合、用語「抗体」（Ab）または「モノクローナル抗体」（mAb）は、インタクトな分子ならびにTR2レセプタータンパク質に特異的に結合し得る抗体部分（例えば、FabおよびF(ab')₂フラグメント）を含むことを意味する。FabおよびF(ab')₂フラグメントは、インタクトな抗体のFcフラグメントを欠き、循環からより迅速にクリアランスされ、そしてインタクトな抗体のあまり非特異的でない組織結合を有し得る（Wahlら, J. Nucl. Med. 24:316-325 (1983)）。従って、これらの部分が好ましい。

【0297】

本発明の抗体は、任意の種々の方法によって調製され得る。例えば、TR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2レセプタータンパク質またはその抗原性フラグメントを発現する細胞は、ポリクローナル抗体を含有する血清の産生を誘導するために動物に投与され得る。好ましい方法では、TR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2レセプタータンパク質の調製物が、この調製物が天然の夾雑物を実質的に含まないように調製され、そして精製される。次いで、このような調製物は、より大きな比活性のポリクローナル抗血清を産生するために動物に導入される。

【0298】

最も好ましい方法において、本発明の抗体はモノクローナル抗体（またはそのTR2レセプタータンパク質結合フラグメント）である。このようなモノクローナル抗体は、ハイブリドーマ技術（Kohlerら、Nature 256:495（1975）；Kohlerら、Eur. J. Immunol. 6:511（1976）；Kohlerら、Eur. J. Immunol. 6:292（1976）；Hammerlingら：Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas, Elsevier, N. Y., （1981）563-681頁）を使用して調製され得る。一般的には、このような手順は、TR2レセプタータンパク質抗原またはより好ましくはTR2レセプタータンパク質発現細胞で動物（好ましくはマウス）を免疫することに関する。適切な細胞は、抗TR2レセプタータンパク質抗体を結合する能力のある抗原により認識され得る。このような細胞は、任意の適切な組織培養培地において培養され得る；しかし、10%ウシ胎仔血清（約56℃で非動化した）を補充し、そして約10g/lの非必須アミノ酸、約1,000U/mlのペニシリン、および約100μg/mlのストレプトマイシンを補充したEarle改変イーグル培地において培養されることが好ましい。このようなマウスの脾細胞は抽出され、そして適切な骨髓腫細胞株と融合される。任意の適切な骨髓腫細胞株は、本発明に従って使用され得る；しかし、アメリカン タイプ カルチャー コレクション（Rockville, Maryland）から入手可能な親骨髓

腫細胞株（SP₂O）を使用することが好ましい。融合後、得られるハイブリドーマ細胞を、HAT培地において選択的に維持し、次いでWandsら（Gastroenterology 80:225-232（1981））により記載されるように限界希釈によってクローニングする。次いで、このような選択によって得られるハイブリドーマ細胞は、TR2レセプタータンパク質抗原を結合し得る抗体を分泌するクローンを同定するためにアッセイされる。

【0299】

（TR2レセプター機能のアゴニストおよびアンタゴニスト）

1つの局面において、本発明は、TNFファミリーリガンドによって誘導されるTR2活性を阻害するための方法に関する（例えば、細胞増殖、造血の発生）。この方法は、TR2ポリペプチドを発現する細胞にTR2レセプター媒介シグナル伝達を減少し得る有効量のTR2レセプターリガンド、アナログまたはアンタゴニストを投与する工程を包含する。好ましくは、TR2レセプター媒介シグナル伝達を増加させ、疾患を処置する。ここで、増加した細胞増殖が示される。アンタゴニストは、TR2レセプターの可溶化形態およびTR2レセプター媒介シグナル伝達をブロックするTR2ポリペプチドに対する抗体を含み得る。好ましくは、TR2レセプター媒介シグナル伝達を減少させ、疾患を処置する。

【0300】

さらなる局面において、本発明は、TNFファミリーリガンドによって誘導される細胞増殖を増加させるための方法に関する。この方法は、TR2ポリペプチドを発現する細胞にTR2レセプター媒介シグナル伝達を上昇し得る有効量のアゴニストを投与する工程を包含する。好ましくは、TR2レセプター媒介シグナル伝達を、増加させ、疾患を処置する。ここで、減少した細胞増殖が示される。本発明のアゴニストとしては、TR2レセプター媒介シグナル伝達を刺激するTR2ポリペプチドに対するモノクローナル抗体が挙げられる。好ましくは、TR2レセプター媒介シグナル伝達を増加させ、疾患を処置する。

【0301】

「アゴニスト」によって、TR2ポリペプチドによって媒介される細胞増殖および分化を促進し得る天然に存在する化合物および合成化合物が意図される。こ

のようなアゴニストとしては、T R 2 レセプターの発現を増加させるか、または発現されたレセプターの感受性を増加させる因子が挙げられる。「アンタゴニスト」によって、T R 2 媒介細胞増殖および分化を阻害し得る天然に存在する化合物および合成化合物が意図される。このようなアンタゴニストとしては、T R 2 レセプターの発現を減少させるか、または発現されたレセプターの感受性を減少させる因子が挙げられる。本発明のいくつかの候補「アゴニスト」または「アンタゴニスト」が、細胞増殖および分化を促進または阻害し得るか否かを、当該分野で公知のT N F ファミリーリガンド／レセプター細胞応答アッセイを使用して決定し得る（より詳細な記載は、以下に挙げる）。

【0302】

1つのこのようなスクリーニング技術には、レセプター活性化によって引き起こされる細胞外pH変化を測定する系においてレセプターを発現する細胞（例えば、トランスフェクトしたCHO細胞）の使用が含まれる（例えば、S c i e n c e 246:181-296（1989年10月）に記載されるように）。例えば、化合物は、本発明のレセプターポリペプチドを発現する細胞と接触され得、そしてセカンドメッセンジャー応答（例えば、シグナル伝達またはpH変化）が測定され得、潜在的な化合物がレセプターを活性化するかまたは阻害するかを決定し得る。

【0303】

別のこのようなスクリーニング技術は、そのレセプターをコードするRNAをXenopus卵母細胞に導入して、そのレセプターを一過性に発現する工程を包含する。次いで、そのレセプター卵母細胞は、レセプターリガンドと接触され得、そして化合物がスクリーニングされ得、続いてレセプターの活性化を阻害すると考えられている化合物についてのスクリーニングの場合、カルシウムシグナルの阻害または活性化の検出が行われ得る。

【0304】

別の方法は、その表面上にレセプターを有する細胞に対する標識されたりリガンドの結合の阻害を決定することによって、本発明のアンタゴニストのレセプターポリペプチドの活性化を阻害する化合物をスクリーニングする工程を包含する。

このような方法は、レセプターをコードするDNAで真核生物細胞をトランスフェクトして、その結果その細胞がその表面でそのレセプターを発現する工程、および標識した形態の既知のリガンドの存在下で細胞を化合物と接触させる工程を包含する。そのリガンドは、例えば、放射能によって標識され得る。レセプターに結合した標識されたりガンドの量は、例えば、レセプターの放射能を測定することによって測定される。その化合物が、レセプターに結合する標識されたりガンドの減少によって決定されるようにレセプターに結合する場合、そのレセプターに対する標識されたりガンドの結合は阻害される。

【0305】

本発明のポリペプチドの可溶化形態は、上記のリガンド結合アッセイにおいて利用され得る。TR2レセプターのこれらの形態は、このレセプターの分泌後に、細胞外培地においてリガンドと接触される。次いで、分泌タンパク質がTR2レセプターリガンドに結合するか否かに関して、決定がなされる。

【0306】

本発明のアゴニストおよびアンタゴニストについてのさらなるスクリーニングアッセイは、Tartaglia, L. A. およびGoeddel, D. V.、J. Biol. Chem. 267 (7) : 4304-4307 (1992) に記載される。

【0307】

従って、さらなる局面において、候補アゴニストまたはアンタゴニストがTNFファミリーリガンドに対する細胞応答を増強し得るかまたは阻害し得るかを決定するためのスクリーニング方法が提供される。この方法は、TR2ポリペプチドを発現する細胞を候補化合物およびTNFファミリーリガンドと接触させる工程、細胞応答をアッセイする工程、ならびにその細胞応答を標準的な細胞応答と比較する工程を包含し、その標準は、候補化合物の非存在下でリガンドとの接触がなされた場合にアッセイされ、それによって、標準を上回る細胞応答の増加は、その候補化合物がリガンド／レセプターシグナル伝達経路のアゴニストであることを示し、そして標準と比較して減少した細胞応答は、その候補化合物がリガンド／レセプターシグナル伝達経路のアンタゴニストであることを示す。「細胞

応答をアッセイする」によって、候補化合物および／またはTNFファミリーリガンドに対する細胞応答を定性的または定量的に測定すること（例えば、T細胞増殖のまたはトリチウム化チミジン標識の増加または減少を決定または見積もること）が意図される。本発明によって、TR2ポリペプチドを発現する細胞は、内因性または外因性のいずれかで投与されたTNFファミリーリガンドと接触され得る。

【0308】

さらなる局面において、胸腺細胞増殖アッセイを使用し、リガンドおよび可能性のある薬物候補の両方が同定され得る。例えば、胸腺細胞は、組織から分離し、そして培地において増殖される。DNA前駆対の取り込み（例えば、³H-チミジンまたは5-ブromo-2'-デオキシウリジン（BrdU））は、DNA合成および細胞増殖のパラメーターとしてモニタリングされる。DNAに取り込まれたBrdUを有する細胞は、BrdUに対するモノクローナル抗体を使用して検出され得、そして、酵素または蛍光色素を結合体化した二次抗体によって測定され得る。この反応を、蛍光光度法（fluorimetry）によってか、または分光測光法によって定量化する。2つのコントロールウェルおよび実験ウェルは、上記のように準備され、そしてTNF-βまたは同族リガンドが全てのウェルに添加され、一方で本発明の可溶化レセプターポリペプチドが、スクリーニングされる化合物を含む実験ウェルとともに第2コントロールウェルに個別に添加される。次いで、スクリーニングされる化合物の上記相互作用を刺激または阻害する能力が定量化され得る。

【0309】

本発明に従うアゴニストとしては、化合物（例えば、TNFファミリーリガンドペプチドフラグメント、トランスホーミング増殖因子β、および神経伝達物質（例えば、グルタメート、ドパミン、N-メチル-D-アスパルテート）が挙げられる。好ましいアゴニストとしては、TR2ポリペプチドまたはそのフラグメントに対して惹起されるポリクローナル抗体およびモノクローナル抗体が挙げられる。TNFファミリーレセプターに対して惹起されたこのようなアゴニスト抗体は、Tartaglia, L. A. ら、Proc. Natl. Acad. Sc

i. USA 88:9292-9296 (1991); ならびに Tartaglia, L. A. および Goeddel, D. V., J. Biol. Chem. 267 (7): 4304-4307 (1992) に開示される。PCT出願公開番号 WO 94/09137 もまた参照のこと。さらに好ましいアゴニストとしては、化学療法剤（例えば、シスプラチン、ドキソルビシン、ブレオマイシン、シトシンアラビノシド、ナイトロジェンマスタード、メトトレキサート、およびビンクリスチン）が挙げられる。他のアゴニストとしては、エタノールおよび β -アミロイドペプチドが挙げられる (Science 267: 1457-1458 (1995))。

【0310】

本発明に従うアンタゴニストとしては、TR2レセプターの可溶性形態（例えば、全長レセプターの細胞外領域由来のリガンド結合ドメインを含む図1A～1Bにおいて示されたTR2レセプターのフラグメント）が挙げられる。天然に存在するか、または合成的であり得るレセプターのこのような可溶性形態は、TNFファミリーリガンドに結合するためにレセプターの細胞表面結合形態で競合することによってTR2、TR2-SV1またはTR2-SV2媒介シグナル伝達をアンタゴナイズする。本発明のアンタゴニストとしてはまた、TNFファミリーリガンドおよび実施例5および実施例6において以下に記載されたようなTR2-Fc融合タンパク質に特異的な抗体が挙げられる。

【0311】

「TNFファミリーリガンド」によって、TNFレセプターファミリーのメンバーに結合し得、そしてそのリガンド／レセプターシグナル伝達経路を誘導し得る、天然に存在するリガンド、組換えリガンド、および合成リガンドが意図される。TNFリガンドファミリーのメンバーとしては、以下が挙げられるがこれらに限定されない：TNF- α 、リンフォトキシン- α (LT- α 、TNF- β としてもまた公知)、LT- β （複合体ヘテロマーLT- α 2- β として見出された）、FasL、CD40L、CD27L、CD30L、4-1BBL、OX40L、および神経成長因子(NGF)。

【0312】

実施例6に示された実験は、本発明のTR2レセプターが、リンパ球の増殖を誘導し得ることを実証する。さらに、このような増殖は、Fc抗体フラグメントに融合したTR2タンパク質フラグメントによって阻害され得る。従って、TR2レセプター／Fc融合タンパク質、およびこのようなタンパク質をコードする核酸分子は、本発明の範囲内に特に含まれる。これらの融合タンパク質としては、本発明のTR2タンパク質の細胞外ドメインのアミノ酸配列を有する融合タンパク質が挙げられる。TR2レセプター／Fc融合タンパク質の調製において有用であるTR2細胞外ドメインの一部の例としては、配列番号2におけるアミノ酸1～192、37～192、50～192および100～192が挙げられる。

【0313】

TNF α は、1型Herpes simplexウイルス(HSV-1)での感染からマウスを保護することを示した。Rossol-Voth, R. ら、J. Gen. Virol. 72:143-147 (1991)。TNF α の予防効果の機構は未知であるが、インターフェロンもNK細胞による殺害も関与しないようである。TNFRファミリーの1つのメンバーは、HSV-1の細胞への侵入を媒介することを示した。Montgomery, R. ら、Eur. Cytokine Newt. 7:159 (1996)。さらに、このTNFRの細胞外ドメインに特異的な抗体は、HSV-1の細胞への侵入をブロックする。従って、本発明のTR2レセプターとしては、TNFRが媒介するウイルスの細胞への侵入を予防し得るTR2アミノ酸配列および抗体の両方が挙げられる。このような配列および抗体は、ウイルスへの結合のために細胞表面に位置するTNFRと競合するか、またはウイルスの細胞表面レセプターへの結合を直接ブロックするか、のいずれかによって機能し得る。

【0314】

同様に、本発明のTR2レセプターの細胞外ドメインに特異的な抗体、ならびに他のTR2アンタゴニストはまた、HSV-1の細胞への侵入をブロックし得る。従って、これらのアンタゴニストはHerpes simplex感染の処置および予防において有効である。

【0315】

本発明に従う抗体は、本発明のTR2レセプター免疫原を使用する種々の方法のいずれかによって調製され得る。このようなTR2レセプター免疫原としては、TR2レセプターのリガンド結合ドメイン、細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン、細胞内ドメインまたはこれらの任意の組み合わせを含むか、あるいはこれらからなる配列番号26、図1A～1B（配列番号2）において示されるTR2レセプタータンパク質ならびにTR2-SV1（図4A～4C（配列番号5））ポリペプチドおよびTR2-SV2（図7A～7C（配列番号8））ポリペプチド（これらのいずれかは、リーダー配列を含んでもよいし、含まなくてもよい）ならびにレセプターのポリペプチドフラグメントが挙げられる。

【0316】

本発明に従うポリクロナール抗体アゴニストまたはアンタゴニストおよびモノクロナール抗体アゴニストまたはアンタゴニストは、TartagliaおよびGoeddel, J. Biol. Chem. 267(7):4304-4307(1992); Tartagliaら、Cell 73:213-216(1993)およびPCT出願公開番号 WO94/09137において公開された方法に従って惹起され得る。本明細書中で使用される場合、用語「抗体」(Ab)または「モノクロナール抗体」(mAb)は、抗原を結合し得るインタクトな分子ならびにそのフラグメント（例えば、FabフラグメントおよびF(ab')₂フラグメントのような）を含むことを意味する。FabフラグメントおよびF(ab')₂フラグメントは、インタクトな抗体のFcフラグメントを欠失し、循環からより迅速に消失し、そしてインタクトな抗体のより少ない組織非特異的結合を有し得る(Wahlら、J. Nucl. Med. 24:316-325(1983))。

【0317】

好ましい方法において、本発明に従う抗体は、mAbである。このようなmAbは、ハイブリドーマ技術を使用して調製され得る(KohlerおよびMilstein, Nature 256:495-497(1975)および米国特許第4,376,110号; Harlowら、Antibodies; A L

laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1988; Monoclonal Antibodies and Hybridomas: A New Dimension in Biological Analyses, Plenum Press, New York, NY, 1980; Campbell, 「Monoclonal Antibody Technology」, Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology, 第13巻 (Burdonら、編), Elsevier, Amsterdam (1984))。

【0318】

TR2レセプタードメインを結合するタンパク質および他の化合物はまた、本発明に従う候補アゴニストおよびアンタゴニストである。このような結合化合物は、酵母ツーハイブリッド系を使用して「捕獲」され得る (FieldsおよびSong, Nature 340:245-246 (1989))。酵母ツーハイブリッド系の改変されたバージョンは、Roger Brentおよび彼の共同研究者 (Gyuris, J. ら、Cell 75:791-803 (1993)) ; Zervos, A. S. ら、Cell 72:223-232 (1993)) によって記載されている。好ましくは、この酵母ツーハイブリッド系を本発明に従って使用し、TR2レセプターのリガンド結合ドメイン、細胞外ドメイン、細胞内ドメイン、および膜貫通ドメインに結合する化合物を捕獲する。このような化合物は、本発明の良好な候補アゴニストおよびアンタゴニストである。

【0319】

上記のツーハイブリッドアッセイを使用して、TR2レセプターの細胞内ドメインまたはその一部を使用し、インビボでレセプターと相互作用する細胞タンパク質を同定し得る。このようなアッセイをまた使用し、TR2レセプター機能の潜在的なアゴニスト活性またはアンタゴニスト活性を有するリガンドを同定し得る。このスクリーニングアッセイは以前に使用され、マウスTNF-R IIの細胞質ドメインと相互作用するタンパク質が同定され、そして2つのレセプター結

合タンパク質の同定をもたらした。R o t h e, M. ら、C e l l 78:681 (1994)。T R 2 レセプターの細胞質ドメインに結合するこのようなタンパク質およびアミノ酸配列は、本発明の良好な候補アゴニストおよびアンタゴニストである。

【0320】

他のスクリーニング技術としては、レセプターの活性化によって引き起こされる細胞外のpH変化を測定する系において本発明のポリペプチドを発現する細胞（例えば、トランスフェクトしたCHO細胞）の使用が挙げられる（例えば、S c i e n c e 246:181-296 (1989) に記載されるように）。別の例において、潜在的なアゴニストまたはアンタゴニストは、本発明のポリペプチドを発現する細胞と接触され得、そしてセカンドメッセンジャー応答（例えば、シグナル伝達）が測定され、潜在的なアンタゴニストまたはアゴニストが効果的であるか否かが決定され得る。

【0321】

T R 2 レセプターアゴニストが使用され、リガンド活性化を刺激し得る（例えば、腫瘍成長の阻害および特定の移植可能な腫瘍の壊死）。アゴニストがまた、使用され、細胞の分化（例えば、T-細胞、線維芽細胞および造血細胞の分化）を刺激され得る。T R 2 レセプターに対するアゴニストはまた、微生物に対する宿主の防御ならびに関連疾患（L i s t e r i a m o n o c y t o g e n e s からの疾患のような感染）およびC h l a m i d i a e の予防におけるT R 2 の役割を増強し得る。このアゴニストがまた、使用され、放射線治療の経過の間に産生されるイオン化放射の有害な影響（酵素の変性、脂質の過酸化、およびD N A 損傷）を保護し得る。

【0322】

本発明のレセプターポリペプチドに対するアゴニストは、微生物に対する宿主の防御におけるT N F の役割を増強するため、および関連疾患を予防するために使用され得る。このアゴニストがまた使用され、放射線治療の経過の間に産生されるイオン化放射の有害な影響（例えば、酵素の変性、脂質の過酸化、およびD N A 損傷）を保護し得る。

【0323】

このアゴニストをまた使用し、抗ウイルス応答を媒介、増殖を調節、免疫応答を媒介、そしてリンパ球の増殖および分化の速度を上昇することによって疾患（例えば、HIV）に関連する免疫不全を処置し得る。

【0324】

本発明のポリペプチドに対するアンタゴニストを使用し、リガンド活性化を阻害し得る（例えば、腫瘍の増殖の刺激および特定の移植可能な腫瘍の壊死）。このアンタゴニストがまた使用され、細胞の分化（例えば、T細胞、線維芽細胞および造血細胞の分化）を阻害し得る。アンタゴニストがまた使用され、自己免疫疾患（例えば、対宿主性移植片反応および同種移植拒絶）、およびT細胞媒介自己免疫疾患（例えば、AIDS）を処置し得る。T細胞の増殖は、2型TNFレセプターを介して刺激されることが示されてきた。従って、レセプターをアンタゴナイズすることは、T細胞の増殖を阻止し、そしてT細胞媒介自己免疫疾患を処置し得る。

【0325】

AIDSを定義する免疫不全の状態は、CD4⁺Tリンパ球の数および機能の減少のに対して二次的なものである。最近の報告は、毎日のCD4⁺T細胞の損失を 3.5×10^7 細胞と 2×10^9 細胞との間と見積もっている（Wei X. ら、Nature 373:117-122（1995））。HIV感染の背景にあるCD4⁺T細胞球枯渇の1つの原因は、HIV誘導アポトーシスであると考えられる。実際には、HIV誘導アポトーシス細胞死は、インビトロだけでなく、感染した個体においてもまた、より重大であることが実証されている（Am Eisen, J. C., AIDS 8:1197-1213（1994）；Finkel, T. H. およびBanda, N. K., Curr. Opin. Immunol. 6:605-615（1995）；Muro-Cacho, C. A. ら、J. Immunol. 154:5555-5566（1995））。さらに、アポトーシスおよびCD4⁺Tリンパ球枯渇は、AIDSの異なる動物モデル（Brunner, T. ら、Nature 373:441-444（1995）；Gougeon, M. L. ら、AIDS Res. Hum. Retrovi

ruses 9:553-563 (1993)) において密接に相関し、そしてアポトーシスは、ウイルスの複製がAIDSを生じない、それらの動物モデルにおいて観察されない (Gougeon, M. L. ら、AIDS Res. Hum. Retroviruses 9:553-563 (1993))。さらなるデータは、HIV感染した個体由来の、未感染であるがプライムしたかまたは活性化したTリンパ球が、TNFファミリーリガンドFasLと出会った後、アポトーシスを受けることを示す。HIV感染の後に死を生じる単球細胞株を使用して、HIVでのU937細胞の感染が、FasLのデノボ発現およびFasL媒介HIV誘導アポトーシスを生じることが実証された (Badley, A. D. ら、J. Virol. 70:199-206 (1996))。さらに、TNFファミリーリガンドは、未感染のマクロファージにおいて検出され、そしてHIV感染の後、その発現が、アップレギュレートされ、未感染のCD4⁺Tリンパ球の選択的な殺滅を生じる (Badley, A. D. ら、J. Virol. 70:199-206 (1996))。

【0326】

実施例6に示されるように、図1A~1Bにおいて示されるTR2レセプターは、CD4⁺Tリンパ球において発現され、そしてリンパ球の増殖を誘導し得る。従って、本発明によって、HIV⁺個体を処置するための方法が提供され、これは、本発明のアゴニストを投与し、CD4⁺Tリンパ球の増殖および分化の速度を上昇する工程を包含する。このようなアゴニストとしては、TR2レセプターの発現を誘導し得る因子 (例えば、TNF α 、PMAおよびDMSO) またはリンパ球の増殖および分化を誘導する、このようなレセプターのシグナルを促進し得る因子が挙げられる。投与および投薬の様式は、以下に詳細に議論される。

【0327】

同種移植片の拒絶において、レシピエント動物の免疫系は、応答のために先にプライムされない。なぜなら、ほとんどの部分の免疫系は、周囲の抗原によってのみプライムされるからである。同種の他のメンバー由来の組織は、例えば、ウイルスおよび細菌が存在しているという同じ状態で存在していない。同種移植片拒絶の場合において、免疫抑制性レジメンが作製され、効果段階に達することか

ら免疫系を予防する。しかし、異種移植片拒絶の免疫プロフィールは、同種移植片拒絶よりも疾患回帰に類似し得る。疾患回帰の場合において、免疫系は、ネイティブな島細胞の破壊によって証明されるようにすでに活性化されている。従って、疾患回帰において、免疫系は、すでにエフェクター段階である。本発明のアンタゴニストは、TR2媒介リンパ球増殖および分化の速度を減少することによって同種移植片および異種移植片の両方に対する免疫応答を抑制し得る。このようなアンタゴニストとしては、実施例5および6に記載のTR2-Fc融合タンパク質が挙げられる。従って、本発明は、免疫応答の抑制のための方法をさらに提供する。

【0328】

さらに、TNF- α は、この苦痛が自己免疫に起因する傾向がある動物の種における糖尿病を予防することを示す。Porter, A., Tibtech 9:158-162 (1991)を参照のこと。従って、本発明のアゴニストおよびアンタゴニストは、1型糖尿病のような自己免疫疾患の処置において有用であり得る。

【0329】

さらに、細胞増殖および分化におけるTR2レセプターによって果たされる役割は、本発明のアゴニストまたはアンタゴニストを使用して、これらのレセプターの異常な細胞発現に関与する疾患状態を処置し得ることを示す。いくつかの状況においてTR2レセプターは、炎症応答を誘導し得、そしてアンタゴニストは、この応答をブロックするための薬剤として有用であり得る。従って、TR2レセプターアンタゴニスト（例えば、TR2レセプターの可溶化形態；中和抗体）は、炎症性疾患（例えば、慢性関節リウマチ、変形性関節症、乾癬、敗血症、および炎症性腸疾患）を処置するために有用であり得る。

【0330】

TR2レセプターに対するアンタゴニストをまた使用して、重症の臨床状態のままである、敗血症性ショックを処置および／または予防し得る。敗血症性ショックは、直接的に病原体に起因するのではなく、タンパク質因子（例えば、TNFおよびIL-1）によって媒介される悪化された宿主応答に起因する。例えば、

リポ多糖類は、その血清濃度の強くそして一過性の上昇をもたらすTNFの放出を誘発することを示す。TNFは、過剰量で投与される場合、ショックおよび組織傷害を引き起こす。従って、TR2レセプターに対するアンタゴニストは、TNFの作用をブロックし、そして敗血症性ショックを処置または予防すると考えられる。これらのアンタゴニストをまた使用して、高血清レベルのTNFと相関がある小児における髄膜炎菌血症を処置し得る。

【0331】

TR2レセプターに対するアンタゴニストによって処置され得る障害の中でも、TNFレセプターリガンド、ならびに細菌感染性悪液質および大脳マラリアによって媒介される炎症が挙げられる。TR2レセプターアンタゴニストをまた使用して、TNFのようなレセプターに対するリガンドによって媒介される炎症を処置し得る。

【0332】

特定の実施形態において、本発明に従うアンタゴニストは、配列番号25、図1A～1B（配列番号1）、図4A～4C（配列番号4）または図7A～7C（配列番号7）において含まれる配列またはその相補鎖に対応する核酸、および／あるいはATCC寄託番号97059、97058または97057の寄託されたヌクレオチド配列に対応する核酸である。1つの実施形態において、アンチセンス配列は、生物によって内部で生成され、別の実施形態において、アンチセンス配列は、別々に投与される（例えば、O'Connor, J. Neurochem. 56:560 (1991)）、およびOligodeoxynucleotides as Antisense Inhibitors of Gene Expression, CRC Press, Boca Raton, FL (1988)を参照のこと）。アンチセンス技術を使用して、アンチセンスDNAまたはRNAを介してか、あるいは三重らせん形成を介して遺伝子発現を制御し得る。アンチセンス技術は、例えば、Okano, J. Neurochem. 56:560 (1991) ; Oligodeoxynucleotides as Antisense Inhibitors of Gene Expression, CRC Press, Boca Raton, FL (1988)に

において議論される。三重らせん形成は、例えば、Leeら、*Nucleic Acids Research* 6:3073 (1979) ; Cooneyら、*Science* 241:456 (1988) ; Darvanら、*Science* 251:1300 (1991) において議論される。この方法は、相補的なDNAまたはRNAへのポリヌクレオチドの結合に基づく。

【0333】

例えば、本発明の成熟ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドの5'コード部分を使用して、約10～40塩基対の長さのアンチセンスRNAオリゴヌクレオチドを設計し得る。DNAオリゴヌクレオチドは、転写に關与する遺伝子の領域に相補的であるように設計され、それによってこのレセプターの転写および産生を妨げる。このアンチセンスRNAオリゴヌクレオチドは、mRNAにインビボでハイブリダイズし、そしてmRNA分子のレセプターポリペプチドへの翻訳をブロックする。

【0334】

1つの実施形態において、本発明のTR2レセプターアンチセンス核酸は、外因性配列からの転写によって細胞内に産生される。例えば、ベクターまたはその一部は、転写され、本発明のアンチセンス核酸(RNA)を産生する。このようなベクターは、TR2レセプターアンチセンス核酸をコードする配列を含む。このようなベクターは、所望のアンチセンスRNAを産生するために転写される限りは、エピソームのままであり得るか、または染色体に組み込まれ得る。このようなベクターは、当該分野において標準的な組換えDNA技術方法によって構築され得る。ベクターは、プラスミド、ウイルスまたは当該分野において公知のその他のものであり得、これは、脊椎動物細胞における複製および発現のために使用される。TR2レセプターをコードする配列、またはそのフラグメントの発現は、脊椎動物、好ましくはヒト細胞において作用するように当該分野において公知の任意のプロモーターによってなされ得る。このようなプロモーターは、誘導性または構成的であり得る。このようなプロモーターとしては、SV40初期プロモーター領域(Bernoi stおよびChambon, *Nature* 29:304-310 (1981))、ラウス肉腫ウイルスの3'長い末端反復にお

いて含まれるプロモーター（Yamamotoら、Cell 22:787-797（1980））、ヘルペスチミジンプロモーター（Wagnerら、Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 78:1441-1445（1981））、メタロチオネイン遺伝子の調節配列（Brinsterら、Nature 296:39-42（1982））などが挙げられるが、これらに限定されない。

【0335】

本発明のアンチセンス核酸は、TR2レセプター遺伝子のRNA転写物の少なくとも一部に相補的な配列を含む。しかし、好ましくは、完全な相補性であるが、その必要性はない。本明細書中でいう「RNAの少なくとも一部に相補的な」配列とは、RNAとハイブリダイズし、安定な二重鎖を形成し得る十分な相補性を有する配列を意味し、二本鎖TR2レセプターアンチセンス核酸の場合、二重鎖DNAの一本鎖は、このように試験され得るか、または三重鎖形成がアッセイされ得る。ハイブリダイズする能力は、相補性の程度およびアンチセンス核酸の長さの両方に依存する。一般的には、ハイブリダイズする核酸が長ければ長いほど、より多くの塩基がTR2レセプターRNAと不一致であり、そしてこれは、安定な二重鎖（三重鎖の場合もあり得る）を含み得そしてなおそれを形成する。当業者は、標準的な手順を使用して、ハイブリダイズした複合体の融点を決定することによって不一致の耐え得る程度を確かめ得る。

【0336】

メッセンジャーの5'末端（例えば、5'非翻訳配列までであり、かつAUG開始コドンを含む）に相補的であるオリゴヌクレオチドは、翻訳を阻害することに最も効率的に働くはずである。しかし、mRNAの3'非翻訳配列に相補的な配列も同様に、mRNAの翻訳を阻害することに効果的であることが示されている。概して、Wagner, R., Nature 372:333-335（1994）を参照のこと。従って、配列番号25、図1A～1B（配列番号1）、図4A～4C（配列番号4）または図7A～7C（配列番号7）において示されるTR2レセプターの5'非翻訳領域（非コード領域）または3'非翻訳領域（非コード領域）のいずれかに相補的なオリゴヌクレオチドを、アンチセンス法に

において使用し、内因性TR2レセプターmRNAの翻訳を阻害し得る。mRNAの5'非翻訳領域に相補的なオリゴヌクレオチドは、AUG開始コドンの相補鎖を含むべきである。mRNAコード領域に相補的なアンチセンスオリゴヌクレオチドは、翻訳のあまり効果的でないインヒビターであるが、本発明に従い使用され得る。TR2レセプターmRNAの5'領域、3'領域またはコード領域にハイブリダイズするように設計されたか否かは、アンチセンス核酸が、少なくとも6ヌクレオチドの長さであり、そしてより好ましくは6～約50ヌクレオチドの長さの範囲であるべきである。特定の局面において、オリゴヌクレオチドは、少なくとも10ヌクレオチド、少なくとも17ヌクレオチド、少なくとも25ヌクレオチドまたは少なくとも50ヌクレオチドである。

【0337】

本発明のポリヌクレオチドは、DNAもしくはRNAまたはそのキメラ混合物あるいはその誘導体またはその改変バージョン、一本鎖もしくは二本鎖であり得る。このオリゴヌクレオチドは、塩基部分、糖部分、またはホスフェート骨格で改変され、例えば、分子の安定性、ハイブリダイゼーションなどを改善し得る。このオリゴヌクレオチドは、他の付加した群（例えば、ペプチド（例えば、インビボでの宿主細胞レセプターを標的化するため）、または細胞膜（例えば、Letsingerら、Proc. Natl. Acad. Sci. 86:6553-6556 (1989)；Lamaitreら、Proc. Natl. Acad. Sci. 84:648-652 (1987)；1988年12月15日に公開されたPCT公開番号 WO88/09810を参照のこと）もしくは血液脳関門（例えば、1988年4月25日に公開されたPCT公開番号 WO89/10134を参照のこと）を横切る輸送を容易にする因子、ハイブリダイゼーション誘発分裂因子 (hybridization-triggered cleavage agent)（例えば、Krolら、BioTechniques 6:958-976 (1988)を参照のこと）またはインターカレート剤（例えば、Zon, Pharm. Res. 5:539-549 (1988)を参照のこと））を含み得る。この目的のために、このオリゴヌクレオチドの末端は、別の分子（例えば、ペプチド、ハイブリダイゼーション誘発架橋剤、輸送因子、ハイ

ブリダイゼーション誘発分裂因子など)が結合体化され得る。

【0338】

アンチセンスオリゴヌクレオチドは、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-ガラクトシルキューオシン、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-マンノシルキューオシン、5'-メトキシカルボキシメチルウラシル、5-メトキシウラシル、2-メチルチオ-N6-イソペンテニルアデニン、ウラシル-5-オキシ酢酸(v)、ワイブトキシン(wybutoxosine)、プソイドウラシル、キューオシン、2-チオシトシン、5-メチル-2-チオウラシル、2-チオウラシル、4-チオウラシル、5-メチルウラシル、ウラシル-5-オキシ酢酸メチルエステル、ウラシル-5-オキシ酢酸(v)、5-メチル-2-チオウラシル、3-(3-アミノ-3-N-2-カルボキシプロピル)ウラシル、(acp3)w、および2,6-ジアミノプリンを含むが、これらに限定されない群より選択される、少なくとも1つの改変した塩基部分を含み得る。

【0339】

このアンチセンスオリゴヌクレオチドはまた、アラビノース、2-フルオロアラビノース、キシロース、およびヘキソースを含むが、これらに限定されない群より選択される、少なくとも1つの改変した糖部分を含む。

【0340】

なお別の実施形態において、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、ホスホロチオエート、ホスホロジチオエート、ホスホルアミドチオエート、ホスホルアミ데이트、ホスホルジアミデート、メチルホスホネート、アルキルホスホトリエステ

ル、およびホルムアセタール (formacetal) またはそのアナログを含むが、これらに限定されない群より選択される、少なくとも1つの改変したホスフェート骨格を含む。

【0341】

なお別の実施形態において、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、 α -アノマーオリゴヌクレオチドである。 α -アノマーオリゴヌクレオチドは、通常の β 単位とは反対に、鎖がお互いに平行である、相補的なRNAと特異的な二重鎖ハイブリッドを形成する (Gautierら、Nucleic Acids Res. 15:6625-6641 (1987))。このオリゴヌクレオチドは、2'-O-メチルリボヌクレオチド (Inoueら、Nucleic Acids Res. 15:6131-6148 (1987))、またはキメラRNA-DNAアナログ (Inoueら、FEBS Lett. 215:327-330 (1987)) である。

【0342】

本発明のポリヌクレオチドは当該分野で公知の標準的な方法 (例えば、自動DNA合成機 (例えば、装置はBiosearch, Applied Biosystemsなどから市販されている) の使用により) により合成され得る。例えば、ホスホロチオエートオリゴヌクレオチドは、Steinらの方法 (Nucleic Acids Res. 16:3209 (1988)) により合成され得、メチルホスホネートオリゴヌクレオチドは、制御された細孔ガラス (controlled pore glass) ポリマー支持体 (Sarinら、Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.、85:7448-7451 (1988)) などの使用により調製され得る。

【0343】

TR2レセプターのコード領域配列に相補的なアンチセンスヌクレオチドが使用され得るが、転写された非翻訳領域に相補的なアンチセンスヌクレオチドが最も好ましい。

【0344】

本発明に従う潜在的なアンタゴニストはまた、触媒RNA、すなわちリボザイ

ムを含む（例えば、PCT国際公開WO90/11364（1990年10月4日公開）；Sarverら、Science、247:1222-1225（1990）を参照のこと）。部位特異的認識配列でmRNAを切断するリボザイムを使用して、TR2レセプターのmRNAを破壊し得るが、ハンマーヘッド型リボザイムの使用が好ましい。ハンマーヘッド型リボザイムは、標的mRNAと相補的な塩基対を形成する隣接領域により決定される位置で、mRNAを切断する。たった1つの必要条件は、標的mRNAが以下の2つの塩基配列を有することである：5'-UG-3'。ハンマーヘッド型リボザイムの構築および生成は当該分野で周知であり、そしてHaseloffおよびGerlach、Nature、334:585-591（1988）においてより十分に記載される。TR2レセプター配列（配列番号25、図1A～図1B（配列番号1）図4A～図4C（配列番号4）および図7A～図7C（配列番号7））内に多くの潜在的なハンマーヘッド型リボザイム切断部位が存在する。好ましくは、このリボザイムは、切断認識部位が目的のTR2レセプターmRNAの5'末端付近に位置するように；すなわち、効率を増大し、そして非機能的mRNA転写物の細胞内蓄積を最小化するように、操作される。

【0345】

アンチセンスアプローチの場合、本発明のリボザイムは、改変されたオリゴヌクレオチド（例えば、安定性、標的化などについて改良された）から構成され得、そしてインビボにおいてTR2レセプターを発現する細胞に送達されるべきである。リボザイムをコードするDNA構築物は、DNAをコードするアンチセンスの導入のための上記と同じ様式で細胞中に導入され得る。送達の好ましい方法は、強力な構成性プロモーター（例えば、p_{ol III}またはp_{l III}プロモーターのような）の制御下で、リボザイムを「コードする」DNA構築物を使用することを含み、その結果トランスフェクトした細胞が内因性TR2メッセージを破壊し、そして翻訳を阻害するに十分な量のリボザイムを生成する。リボザイムはアンチセンス分子と異なり触媒性であるので、より低い細胞内濃度が効率のために必要とされる。

【0346】

本発明の化合物および薬学的組成物は、好ましくは、人における使用の前に、所望の治療活性および予防活性についてインビトロで試験され、次いでインビボで試験される。例えば、化合物または薬学的組成物の治療的有用性または予防的有用性を実証するためのインビトロアッセイは、細胞株または患者の組織サンプルに対する化合物の効果を含む。細胞株および／または組織サンプルに対する化合物または組成物の効果は、当業者に公知の技術（増殖の阻害または刺激が挙げられるがこれらに限定されない）を使用して決定され得る。本発明に従って、特定の化合物の投与が望ましいか否かを決定するために使用され得るインビトロアッセイとしては、インビトロ細胞培養アッセイが挙げられ、ここでは、患者の組織サンプルは、培養物中で増殖され、そして化合物に曝されるか、またはそうでなければ化合物を投与され、そしてこのような化合物の組織サンプルに対する効果が観察される。

【0347】

内因性遺伝子発現もまた、標的化された相同組換えを使用してTR2レセプター遺伝子および／またはそのプロモーターを不活性化あるいは「ノックアウトする」ことによって減少し得る（例えば、Smithiesら、Nature 317:230-234 (1985)；ThomasおよびCapecchi、Cell 51:503-512 (1987)；Thompsonら、Cell 5:313-321 (1989)を参照のこと；これらの各々は、本明細書中でその全体が参考として援用される）。例えば、内因性ポリヌクレオチド配列（この遺伝子のコード領域または調節領域のいずれか）と相同性のDNAに隣接される、本発明の変異体、非機能的なポリヌクレオチド（または完全に関連のないDNA配列）を、選択マーカーおよび／またはネガティブ選択マーカーを用いてまたは用いずに使用し、インビボで本発明のポリペプチドを発現する細胞をトランスフェクトし得る。別の実施形態において、当該分野で公知の技術を使用して、目的の遺伝子を含むが、発現しない細胞中でノックアウトを作製する。標的化された相同性組換えを介した、このDNA構築物の挿入は、標的化された遺伝子の不活性化を生じる。このようなアプローチは、胚性幹細胞への改変が不活性な標的遺伝子を有する動物の子孫を作製するために使用され得る研究および農業分野

において特に研究される（例えば、ThomasおよびCapecci 1987ならびにThompson 1989、前出を参照のこと）。しかし、このアプローチは、当業者に明白な、適切なウイルスベクターを使用して、組換えDNA構築物がインビボで要求された部位に直接投与されるか、または標的化される場合、ヒトにおける使用に慣用的に適合され得る。この段落で引用された各々の文書の内容は、その全体が参考として本明細書中で援用される。

【0348】

他の実施形態では、本発明に従うアンタゴニストとしては、TR2レセプターの可溶性形態（例えば、配列番号26、図1A～図1B（配列番号2）、図4A～図4C（配列番号5）または図7A～図7C（配列番号8）に示される、TR2レセプターのフラグメント）が挙げられ、これは、全長レセプターの細胞外領域由来のリガンド結合ドメインを含む。このようなTR2レセプターの可溶性形態（天然に存在するか、または合成の）は、TNFファミリーリガンドへの結合について、レセプターの細胞表面結合形態と競合することによりTR2レセプターが媒介するシグナル伝達をアンタゴナイズする。本発明のアンタゴニストはまた、TNFファミリーリガンドおよびTR2レセプター-Fc融合タンパク質に特異的な抗体が挙げられる。

【0349】

「TNFファミリーリガンド」により、TNFレセプターファミリーのメンバーと結合し得る天然に存在するリガンド、組換えリガンドおよび合成リガンドが意図され、そしてリガンド／レセプターシグナル伝達経路を誘導および／またはブロッキングする。TNFリガンドファミリーのメンバーとしては、TNF- α 、リンホトキシン- α （LT- α 、TNF- β としても知られる）、LT- β （のヘテロトリマー複合体LT- α 2- β において見出される）、FasL、VEGI（国際公開第WO 96/14328号）、AIM-I（国際公開第WO 97/33899号）、AIM-II（国際公開第WO 97/34911号）、APRIL（J. Exp. Med. 188（6）：1185-1190）、エンドカイン（endokine）- α （国際公開第WO 98/07880号）、ニュートロカイン（neutrokine）- α （国際公開第WO 98/

18921号)、CD40L、CD27L、CD30L、4-1BBL、OX40Lおよび神経成長因子(NGF)が挙げられるが、これに限定されない。

【0350】

TNF- α は、単純ヘルペス1型(HSV-1)での感染からマウスを保護することが示された。Rossol-Vothら、J. Gen. Virol. 72:143-147(1991)。TNF- α の予防効果の機構は知られていないが、インターフェロンまたはNK細胞死滅のいずれにも関与しないようである。このファミリーの1つのメンバーは、細胞へのHSV-1侵入を媒介することが示された。Montgomeryら、Eur. Cytokine Newt. 7:159(1996)。さらに、TNF- α の細胞外ドメインに特異的な抗体は、細胞へのHSV-1の侵入をブロックする。従って、本発明のTR2レセプターアンタゴニストは、TR2レセプターアミノ酸配列、および媒介される細胞へのウイルスの侵入を予防し得る抗体の両方を含む。このような配列および抗体は、ウイルスへの結合について局在化された細胞表面と競合することによるか、または細胞表面レセプターへのウイルスの結合を直接ブロックすることにより機能し得る。

【0351】

本発明に従う抗体は、本発明のTR2レセプター免疫原性を使用する種々の標準の方法のいずれかにより調製され得る。このようなTR2レセプター免疫原としては、配列番号26、図1A~図1B(配列番号2)、図4A~図4C(配列番号5)および図7A~図7C(配列番号8)(これらは、リーダー配列を含んでもよいし含まなくてもよい)に示されるTR2レセプタータンパク質、ならびにTR2レセプターのリガンド結合ドメイン、細胞外(例えば、1つ以上のシステイン反復領域)ドメイン、膜貫通ドメイン、細胞内ドメイン、またはこれらの組み合わせを含むレセプターのポリペプチドフラグメントが挙げられる。

【0352】

本発明に従うポリクローナルまたはモノクローナル抗体アゴニストまたはアンタゴニストは、本明細書中で開示される方法および/または当該分野で公知の方法(例えば、TartaglinaおよびGoeddel, J. Biol. Ch

em. 267:4304-4307 (1992); Tartagliaら、Cell 73:213-216 (1993)、ならびにPCT出願WO 94/09137 (これらの3つの各々の内容は、それらの全体が参考として本明細書中に援用される)に記載される方法)に従って、誘起され得、そしてこれらは、好ましくは、配列番号2、配列番号5、配列番号8または配列番号26のアミノ酸配列を有する本発明のポリペプチドに特異的である。

【0353】

遺伝子シャッフリング、モチーフシャッフリング、エクソンシャッフリング、および/またはコドンシャッフリング(総称して「DNAシャッフリング」といわれる)の技術は、TR2の活性を改変し、これにより、TR2のアゴニストおよびアンタゴニストを効率的に生成するために使用され得る。一般には、米国特許第5,605,793号、同第5,811,238号、同第5,830,721号、同第5,834,252号および同第5,837,458号、ならびにPatton, P. A. ら、Curr. Opinion Biotechnol. 8:724-33 (1997); Harayama, S.、Trends Biotechnol. 16(2):76-82 (1998); Hansson, L. O. ら、J. Mol. Biol. 287:265-76 (1999); ならびにLorenzo, M. M. およびBlasco, R. , Biotechniques 24(2):308-13 (1998) (これらの特許および刊行物の各々が本明細書により参考として援用される)を参照のこと。1つの実施形態において、TR2ポリヌクレオチドおよび対応するポリペプチドの変化は、DNAシャッフリングにより達成され得る。DNAシャッフリングは、相同組換えまたは部位特異的組換えにより、2つ以上のDNAセグメントを、所望のTR2分子へ構築することを含む。別の実施形態において、TR2ポリヌクレオチドおよび対応するポリペプチドは、組換え前に誤りがちの(error-prone) PCR、ランダムヌクレオチド挿入または他の方法により、ランダムな変異誘発に供されることによって変化され得る。別の実施形態において、TR2の1つ以上の成分、モチーフ、区切り(section)、部分、ドメイン、フラグメントなどは、1つ以上の異種分子の1つ以上の成分、モチーフ、区切り(secti

on)、部分、ドメイン、フラグメントなどと組み換えられ得る。好ましい実施形態では、異種分子としては、例えば、TNF- α リンホトキシン- α (LT- α 、TNF- β としても公知である)、LT- β (複合ヘテロトリマーLT- α 2- β 中に見出される)、OPGL、FasL、CD27L、CD30L、CD40L、4-1BBL、DcR3、OX40L、TNF- γ (国際公開番号第WO96/14328号)、AIM-I (国際公開番号第WO97/33899号)、AIM-II (国際公開番号第WO97/34911号)、APRIL (J. Exp. Med. 188 (6) : 1185-1190)、エンドカイン (endokine)- α (国際公開第WO 98/07880号)、ニュートロカイン (neutrokine)- α (国際公開第WO 98/18921号)、OPG、およびOX40Lおよびニュートロカイン (neutrokine)- α (国際公開第WO 98/18921号)、神経成長因子 (NGF)、ならびに、Fas、CD30、CD27、CD40、および4-1BBの可溶性形態、DR3 (国際公開番号第WO97/33904号)、DR4 (国際公開番号第WO98/32856号)、TR5 (国際公開番号第WO98/30693号)、TR6 (国際公開番号第WO98/30694号)、TR7 (国際公開番号第WO98/41629号)、TRANK、TR9 (国際公開番号第WO98/56892号)、TR10 (国際公開番号第WO98/54202号)、312C2 (国際公開番号第WO98/06842号)、TR12、ならびにTNF-R1、TRAMP/DR3/APO-3/WSL/LARD、TRAIL-R1/DR4/APO-2、TRAIL-R2/DR5、DcR1/TRAIL-R3/TRAOD/LIT、DcR2/TRAIL-R4、CAD、TRAIL、TRAMP、v-FLIPが挙げられる。

【0354】

さらに好ましい実施形態では、異種分子は、TNFファミリーの任意のメンバーである。

【0355】

(治療的使用および他の使用)

腫瘍壊死因子 (TNF) ファミリーリガンドは、なかでも最も多面的なサイト

カインであることが公知である。これは、細胞傷害性、抗ウイルス活性、免疫調節活性、およびいくつかの遺伝子の転写調節を含む多数の細胞性応答を誘導する (Goeddel D. V. ら、「Tumor Necrosis Factor: Gene Structure and Biological Activities」Symp. Quant. Biol. 51:597~609、Cold Spring Harbor (1986); Beatler, B. および Cerami, A.、Annu. Rev. Biochem. 57:505~518 (1988); Old, L. J., Sci. Am. 258:59~75 (1988); Fiers, W., FEBS Lett. 285:199~224 (1991))。TNFファミリーリガンドは、TNFファミリーレセプターに結合することによりこのような種々の細胞性応答を誘導する。

【0356】

TR2ポリヌクレオチドもしくはTR2ポリペプチド、またはTR2のアゴニストは、感染因子の処置に用いられ得る。例えば、免疫応答を増加させることによって、特にB細胞の増殖および分化を増加させることによって、感染性疾患が処置され得る。免疫応答は、既存の免疫応答を増強させるか、または新たな免疫応答を開始させるかのいずれかにより増加され得る。あるいは、TR2ポリヌクレオチドもしくはTR2ポリペプチド、またはTR2のアゴニストもしくはアンタゴニストはまた、必ずしも免疫応答を誘発することなく、感染因子を直接阻害し得る。

【0357】

上記のように、TR2ポリヌクレオチドおよびTR2ポリペプチド、ならびに抗TR2抗体は、TR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2の異常に高いかもしくは低い発現、ならびに／またはTR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2活性に関連する状態の診断に有用である。TR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2が発現され、そしてTR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2により活性が改変される細胞および組織を考慮すると、標準もしくは「正常」なレベルと比較して、個体におけるTR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2の発現の実質的に変化さ

れた（増加されたかまたは減少された）レベルが、身体系（TR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2が発現され、そして／または活性化される）に関連する病理学的状態を生じることが容易に明らかである。

【0358】

各々のタンパク質の細胞外ドメインが、タンパク質分解性切断により、TR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2を発現する細胞から各々のタンパク質の細胞外ドメインが可溶性形態で放出され、これにより、TR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2ポリペプチド（特に各々の細胞外ドメインの可溶性形態）が、外因性供給源から個体の細胞、組織または身体へ添加され得る場合、このポリペプチドは、その個体のその標的細胞のいずれかに対する活性を調節することはまた、当業者により理解される。なぜなら、本発明のTR2ポリペプチドは、TNFファミリーのメンバーだからである。また、このII型膜貫通タンパク質を発現する細胞は、個体の細胞、組織または身体へ添加され得、これにより、添加された細胞は、TR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2に関するレセプターを発現する細胞に結合し、これにより、TR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2を発現する細胞は、レセプター保有標的細胞に対して作用（例えば、幻想した増殖または細胞障害性を）を引き起こし得る。

【0359】

1つの実施形態では、本発明は、標的細胞（例えば、TR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2レセプターを発現するB細胞、またはTR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2の細胞表面結合形態を発現する単球）へ、本発明のポリペプチドを含む組成物（例えば、異種ポリペプチド、異種核酸、毒素またはプロドラッグに関連する、TR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2ポリペプチド、または抗TR2抗体、抗TR2-SV1抗体および／もしくは抗TR2-SV2抗体を含む組成物）を送達する方法を提供する。本発明のTR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2ポリペプチド、または抗TR2抗体、抗TR2-SV1抗体および／もしくは抗TR2-SV2抗体は、疎水的相互作用、親水的相互作用、イオン結合および／また

は共有結合を介して、異種ポリペプチド、異種核酸、毒素またはプロドラッグに関連し得る。

【0360】

1つの実施形態では、本発明は、異種ポリペプチドまたは核酸に関連する本発明のポリペプチド（例えば、TR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2、または抗TR2抗体、抗TR2-SV1抗体および／もしくは抗TR2-SV2抗体）を投与することによる、本発明の組成物の細胞への特異的な送達のための方法を提供する。1つの実施例において、本発明は、治療タンパク質を標的化細胞中へ送達するための方法を提供する。別の実施例において、本発明は、一本鎖核酸（例えば、アンチセンスまたはリボザイム）または二本鎖核酸（例えば、細胞のゲノムに組み込み得るか、またはエピソームにて複製し得、そして転写され得るDNA）を、標的化細胞に送達するための方法を提供する。

【0361】

別の実施形態では、本発明は、毒素または細胞傷害性プロドラッグに関連する本発明のポリペプチド（例えば、TR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2、または抗TR2抗体、抗TR2-SV1抗体および／もしくは抗TR2-SV2抗体）を投与することによる細胞の特異的な破壊（例えば、腫瘍細胞の破壊）のための方法を提供する。

【0362】

特定の実施形態では、本発明は、毒素または細胞障害性プロドラッグに関連する、TR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2または抗TR2抗体を投与することによるB細胞系列の細胞（例えば、B細胞関連白血病またはリンパ腫）の特異的破壊のための方法を提供する。

【0363】

「毒素」とは、内因性の細胞傷害性エフェクタ系、放射性同位体、ホロ毒素（holotoxin）、改変型毒素、毒素の触媒サブユニット、細胞毒（細胞障害性薬剤）、または規定の条件下で細胞死を引き起こす細胞中もしくは細胞表面には通常存在しない任意の分子もしくは酵素を結合および活性化する化合物を意味する。本発明の方法に従って使用され得る毒素としては、以下が挙げられるが

、これらに限定されない：当該分野で公知の放射性同位体、固有のまたは誘導された内因性の細胞傷害性エフェクタ系に結合する化合物（例えば、抗体（またはその補体固定含有部分）、チミジンキナーゼ、エンドヌクレアーゼ、RNAse、 α 毒素、リシン、アブリン、Pseudomonas外毒素A、ジフテリア毒素、サポリン、モモルジン（momordin）、ゲロニン（gelonin）、ヤマゴボウ抗ウイルスタンパク質、 α サルシン（sarcin）およびコレラ毒素。「毒素」はまた、細胞分裂停止剤もしくは細胞破壊剤、治療薬または放射性金属イオン（例えば、 α -放射体（例えば、 ^{213}Bi ））もしくは他の放射性同位体（例えば、 ^{103}Pd 、 ^{133}Xe 、 ^{131}I 、 ^{68}Ge 、 ^{57}Co 、 ^{65}Zn 、 ^{85}Sr 、 ^{32}P 、 ^{35}S 、 ^{90}Y 、 ^{153}Sm 、 ^{153}Gd 、 ^{169}Yb 、 ^{51}Cr 、 ^{54}Mn 、 ^{75}Se 、 ^{113}Sn 、 90 イットリウム、 $^{117}\text{スズ}$ 、 $^{186}\text{レニウム}$ 、 $^{166}\text{ホルミウム}$ 、および $^{18}\text{レニウム}$ ）；発光標識（例えば、ルミノール）；および蛍光標識（例えば、フルオレセインおよびローダミン）、ならびにビオチンを含む。

【0364】

当該分野において公知の技術は、本発明の抗体を標識するために適用され得る。このような技術としては、二官能性結合剤の使用（例えば、米国特許第5,756,065号；同第5,714,631号；同第5,696,239号；同第5,652,361号；同第5,505,931号；同第5,489,425号；同第5,435,990号；同第5,428,139号；同第5,342,604号；同第5,274,119号；同第4,994,560号；および5,808,003号を参照のこと；これら各々の内容は、本明細書中に参考としてその全体を援用される）が挙げられるが、これに限定されない。細胞毒素または細胞障害性薬剤としては、細胞に対して有害である任意の薬剤が挙げられる。例としては、パクリタキセル（paclitaxol）、サイトカラシンB、グラミジシンD、臭化エチジウム、エメチン、マイトマイシン、エトポシド、テニポシド（tenoposide）、ビンクリスチン、ビンブラスチン、コルヒチン、ドキソルビシン、ダウノルビシン、ジヒドロキシアントラシンジオン（dihydroxy anthracin dione）、ミトキサントロン、ミトラマイシン、アクチノマイシンD、1-デヒドロテストステロン、グルココルチコイ

ド、プロカイン、テトラカイン、リドカイン、プロプラノロール、およびピューロマイシン、ならびにそれらのアナログまたはホモログ、が挙げられる。治療剤は、代謝拮抗物質（例えば、メトトレキサート、6-メルカプトプリン、6-チオグアニン、シタラビン、5-フルオロウラシルデカルバジン）、アルキル化剤（例えば、クロルメチン (mechlorethamine)、チオエパ (thioepa) クロラムブシル、メルファラン、カルムスチン (BSNU) およびロムスチン (CCNU)、シクロホスファミド (cyclophosphamide)、ブスルファン、ジブロモマンニトール、ストレプトゾトシン、マイトマイシンC、ならびにcis-ジクロロジアミン白金 (II) (DDP)、シスプラチン、アントラサイクリン（例えば、ダウノルビシン（以前はダウノマイシン）およびドキソルビシン）、抗生物質（例えば、ダクチノマイシン（以前はアクチノマイシン）、ブレオマイシン、ミトラマイシン、およびアントラマイシン (anthracycline) (AMC)）、ならびに有糸分裂阻害剤（例えばビンクリスチンおよびビンブラスチン）を含むが、それらに限定されない。

【0365】

「細胞傷害性プロドラッグ」とは、通常細胞内に存在する酵素によって、細胞傷害性化合物へと変換される非毒性の化合物を意味する。本発明の方法に従って使用され得る細胞傷害性プロドラッグとしては、安息香酸マスタードアルキル化剤のグルタミル誘導体、エトポシドまたはマイトマイシンCのリン酸誘導体、シトシンアラビノシド、ダウノルビシン、およびドキソルビシンのフェノキシアセトアミド誘導体が挙げられるが、これらに限定されない。

【0366】

標準または正常なレベルの個体におけるTR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2活性のにおける減少により引き起こされる状態（特に免疫系の障害）が、TR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2ポリペプチド（可溶性細胞外ドメインまたは細胞が発現する完全タンパク質の形態での）またはアゴニストの投与により処置され得ることは、理解される。従って、本発明はまた、増加したTR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2活性のレベルを必要としている個体の処置の方法（この方法は、そのような個体において

TR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2活性レベルを増加するのに有効な量の、単離したTR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2ポリペプチドまたはそれらのアゴニストを含む薬学的組成物を、そのような個体に投与する工程を包含する）を提供する。

【0367】

標準または正常なレベルの個体におけるTR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2活性のにおける減少により引き起こされる状態（特に免疫系の障害）が、TR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2ポリペプチド（可溶性細胞外ドメインまたは細胞が発現する完全タンパク質の形態での）またはアゴニスト（例えば、抗TR2抗体）の投与により処置され得ることはまた、理解される。従って、本発明はまた、減少したTR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2活性のレベルを必要としている個体の処置の方法（この方法は、そのような個体においてTR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2活性レベルを減少するのに有効な量の、単離したTR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2ポリペプチドまたはそれらのアンタゴニストを含む薬学的組成物を、そのような個体に投与する工程を包含する）を提供する。

【0368】

本発明のTR2ポリヌクレオチドもしくはポリペプチド、および／またはTR2のアゴニストもしくはアンタゴニストは、感染因子を処置するために用いられ得る。例えば、免疫応答を増加させることによって、特にB細胞および／またはT細胞の増殖および分化を増加させることによって、感染性疾患が処置され得る。免疫応答は、既存の免疫応答を増強させるか、または新たな免疫応答を開始させるかのいずれかにより増加され得る。あるいは、TR2のポリヌクレオチド、ポリペプチドまたはTR2のアゴニストはまた、必ずしも免疫応答を誘発することなく、感染因子を直接阻害し得る。

【0369】

ウイルスは、TR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2のポリヌクレオチドもしくはポリペプチド、またはTR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2のアゴニストもしくはアンタゴニストにより処置され得る

疾患または症状を引き起こし得る感染因子の一例である。ウイルスの例としては、以下のDNAおよびRNAのウイルスおよびウイルス科が挙げられるがこれらに限定されない：アルボウイルス、アデノウイルス科、アレナウイルス科、アルテリウイルス、ビルナウイルス科、ブンヤウイルス科、カルシウイルス科、サルコウイルス科（Circoviridae）、コロナウイルス科、デング熱、EBV、HIV、フラビウイルス科、ヘパドナウイルス科（肝炎）、ヘルペスウイルス科（例えば、サイトメガロウイルス、単純ヘルペス、ヘルペス帯状疱疹）、モノネガウイルス（Mononegavirus）（例えば、パラミクソウイルス科、麻疹ウイルス、ラブドウイルス科）、オルソミクソウイルス科（例えば、インフルエンザA、インフルエンザB、およびパラインフルエンザ）、パピローマウイルス、パポバウイルス科、パルボウイルス科、ピコルナウイルス科、ポックスウイルス科（例えば、痘瘡またはワクシニア）、レオウイルス科（例えば、ロタウイルス）、レトロウイルス科（HTLV-I、HTLV-II、レンチウイルス）、およびトガウイルス科（例えば、ルビウイルス属）。これらの科内に入るウイルスは、以下を含むがこれらに限定されない種々の疾患または症状を引き起こし得る：関節炎、細気管支炎（bronchiolitis）、呼吸性シンシチウムウイルス、脳炎、眼性感染症（例えば、結膜炎、角膜炎）、慢性疲労症候群、肝炎（A型、B型、C型、E型、慢性活動性、デルタ）、日本脳炎B型、アルゼンチン出血熱、チングニア、リフトバレー熱、黄熱病、髄膜炎、日和見感染症（例えば、AIDS）、肺炎、バーキットリンパ腫、水痘、出血熱、麻疹、流行性耳下腺炎、パラインフルエンザ、狂犬病、感冒、ポリオ、白血病、風疹、性感染症、皮膚病（例えば、カポジ、いぼ）、およびウイルス血症。TR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2のポリペプチドもしくはポリヌクレオチド、またはTR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2のアゴニストもしくはアンタゴニストを用いて、これらの症状または疾患のいずれかが処置、予防、診断および／または検出され得る。特定の実施形態において、TR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2のポリヌクレオチド、ポリペプチド、またはアゴニストは、以下の処置、予防および／または診断に使用される：髄膜炎、デング熱、EBV、および／または肝炎（例えば、B型

肝炎)。さらなる特定の実施形態において、TR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2のポリヌクレオチド、ポリペプチド、またはアゴニストは、1以上の他の市販の肝炎ワクチンに非応答性の患者を処置するために使用される。さらに特定の実施形態において、TR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2のポリヌクレオチド、ポリペプチド、またはアゴニストは、AIDSを処置、予防および／または診断するために使用される。さらなる特定の実施形態では、TR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2レセプターのポリヌクレオチド、ポリペプチド、アゴニストおよび／またはアンタゴニストは、クリプトスポリジウム症を有する患者を処置、予防および／または診断するために使用される。

【0370】

同様に、疾患または症状を引き起こし得、かつTR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2のポリヌクレオチドもしくはポリペプチド、および／またはTR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2のアゴニストもしくはアンタゴニストによって処置または検出され得る細菌性因子あるいは真菌性因子は、以下のグラム陰性およびグラム陽性細菌および細菌科ならびに真菌を含むがこれらに限定されない：Actinomycetales（例えば、Corynebacterium、Mycobacterium、Norcardia）、Cryptococcus neoformans、Aspergilliosis、Bacillaceae（例えば、Anthrax、Clostridium）、Bacteroidaceae、Blastomycosis、Bordetella、Borrelia（例えば、Borrelia burgdorferi）、Brucellosis、Candidiasis、Campylobacter、Coccidioidomycosis、Cryptococcosis、Dermatocycoses、E. coli（例えば、Enterotoxigenic E. coliおよびEnterohemorrhagic E. coli）、Enterobacteriaceae（Klebsiella、Salmonella（例えば、Salmonella typhi、およびSalmonella paratyphi）、Serratia

a、Yersinia)、Erysipelothrix、Helicobacter、Legionellosis、Leptospirosis、Listeria、(例えば、Listeria monocytogenes)、Mycoplasmatales、Mycobacterium leprae、Vibrio cholerae、Neisseriaceae (例えば、Acinetobacter、Gonorrhea、Menigococcal)、Meisseria meningitidis、Pasteurellaceaの感染症(例えば、Actinobacillus、Heamophilus (例えば、HeamophilusインフルエンザB型)、Pasteurella)、Pseudomonas、Rickettsiaceae、Chlamydiaceae、Syphilis、Shigella spp.、Staphylococcal、Meningiococcal、PneumococcalならびにStreptococcal (例えば、Streptococcus pneumoniaeおよびB群Streptococcus)。これらの細菌または真菌の科は、以下を含むがこれらに限定されない疾患または症状を引き起こし得る：菌血症、心内膜炎、眼感染症(結膜炎、結核、ブドウ膜炎)、歯肉炎、日和見感染症(例えば、AIDSに関連した感染症)、爪周囲炎、プロテアーゼ関連感染症、ライター病、気道感染症(例えば、百日咳または蓄膿症)、敗血症、ライム病、ネコ引っ掻き病、赤痢、パラチフス熱、食中毒、腸チフス、肺炎、淋病、髄膜炎(例えば、髄膜炎A型およびB型)、クラミジア、梅毒、ジフテリア、ライ病、パラ結核、結核、狼瘡、ボツリヌス中毒、壊疽、破傷風、膿瘍疹、リウマチ熱、猩紅熱、性感染症、皮膚病(例えば、蜂巣炎、皮膚真菌症(dermatocycoses))、毒血症、尿路感染症、創傷感染症。TR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2のポリペプチドもしくはポリヌクレオチド、またはTR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2のアゴニストもしくはアンタゴニストを用いて、これらの症状もしくは疾患のいずれかを処置、予防、診断および／または検出し得る。特定の実施形態において、TR2のポリヌクレオチド、ポリペプチド、またはそれらのアゴニストは、以下を処置するために使用される：破傷風、ジフテリア、ボツリヌス、および／または

B型髄膜炎。

【0371】

さらに、TR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2のポリヌクレオチドもしくはポリペプチド、またはTR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2のアゴニストにより処置または検出され得る、寄生生物性因子が引き起こす疾患または症状としては以下のファミリーまたはクラスが挙げられるがこれらに限定されない：アメーバ症、バベシア症、コクシジウム症、クリプトスポリジウム症、二核アメーバ症（*Dientamoebiasis*）、交疫、外部寄生生物性、ジアルジア鞭毛虫症、蠕虫症、リーシュマニア症、タイレリア症、トキソプラズマ症、トリパノソーマ症、およびトリコモナス（*Trichomonas*）症、ならびに孢子虫症（*Sporozoan*）（例えば、*Plasmodium virax*、*Plasmodium falciparum*、*Plasmodium malariae*および*Plasmodium ovale*）。これらの寄生生物は、以下を含むがこれらに限定されない種々の疾患または症状を引き起こし得る：疥癬、ツツガムシ病、眼性感染症、腸疾患（例えば、赤痢、ジアルジア鞭毛虫症）、肝臓疾患、肺疾患、日和見感染症（例えば、AIDS関連）、マラリア、妊娠合併症、およびトキソプラズマ症。TR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2のポリヌクレオチドもしくはポリペプチド、またはTR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2のアゴニストもしくはアンタゴニストを用いて、これらの症状または疾患のいずれかを処置、予防、診断および／または検出するために使用され得る。特定の実施形態において、TR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2のポリヌクレオチド、ポリペプチド、またはそれらのアゴニストは、マラリアを処置、予防および／または診断するために使用される。

【0372】

本発明のTR2レセプターポリヌクレオチド、ポリペプチド、アゴニストまたはアンタゴニストは、欠損したかまたは不十分な量のTR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2レセプターポリペプチド、アゴニストまたはアンタゴニストにより（直接的または間接的に）媒介される任意の障害の処置を開発す

る際に使用され得、これは、そのような障害に罹患している患者（例えば、哺乳動物、好ましくはヒト）に投与され得る。あるいは、遺伝子治療アプローチは、そのような障害を処置するために適用され得る。本明細書中のTR2レセプターヌクレオチド配列の開示は、欠損TR2レセプター遺伝子の検出および正常なTR2レセプターをコードする遺伝子でのそれらの置換を可能にする。欠損遺伝子は、インビトロ診断アッセイにおいて、およびこの遺伝子における欠損を有する恐れのある患者由来のTR2レセプター遺伝子のヌクレオチド配列と本明細書中に開示されるTRレセプターヌクレオチド配列と比較により検出され得る。

【0373】

別の実施形態では、本発明のポリペプチドは、異なる細胞型に対するAIM I I/TR2レセプターおよび/またはリンホトキシン- α /TR2レセプター相互作用を阻害することから生じる生物学的効果を研究するためのリサーチツールとして使用される。TR2レセプターポリペプチドはまた、AIM I I、リンホトキシン- α もしくはTR2レセプター、またはそれらの相互作用を検出するためのインビトロアッセイにおいて使用され得る。

【0374】

別の実施形態では、精製したTR2レセプターポリペプチドまたはアンタゴニストは内因性細胞表面AIM-I Iおよび/またはリンホトキシン- α レセプターへのAIM-I Iまたはリンホトキシン- α の結合を阻害するために使用される。TNFファミリー（AIM-I Iおよびリンホトキシン- α は、このメンバーである）の特定のリガンドは、1を超える異なる細胞表面レセプタータンパク質と結合することが報告されている。同様に、AIM-I Iおよびリンホトキシン- α は、複数の細胞表面タンパク質と結合すると考えられる。AIM-I Iおよび/またはリンホトキシン- α を結合することにより、本発明の可溶性TR2レセプターポリペプチドは、細胞表面TR2レセプターのみではなく、TR2レセプターとは異なるAIM-I Iおよび/またはリンホトキシン- α レセプタータンパク質へのAIM-I Iおよび/またはリンホトキシン- α の結合を阻害するために使用され得る。従って、別の実施形態では、TR2レセプターポリヌクレオチド、ポリペプチド、アゴニストまたはアンタゴニストは、インビトロまた

はインビボ手順においてA I M I I および／またはリンホトキシニン- α の生物学的活性を阻害するために使用される。細胞表面レセプターへのA I M I I およびリンホトキシニン- α の結合を阻害することにより、T R 2 レセプターポリヌクレオチド、ポリペプチド、アゴニストまたはアンタゴニストはまた、内因性レセプターへのA I M I I および／またはリンホトキシニン- α の結合から生じる生物学的活性を阻害する。T R 2 レセプターの種々の形態は、使用され得、例えば、上記のT R 2 レセプターフラグメント、誘導体、およびA I M I I および／またはリンホトキシニン- α に結合し得る変異体を含む。1つの好ましい実施形態では、可溶性のT R 2 レセプターポリペプチドは、A I M I I の生物学的活性を阻害するため（例えば、そのようなアポトーシスに対して感受性の細胞のA I M I I 媒介アポトーシスを阻害するため）に使用される。別の好ましい実施形態では、可溶性T R 2 レセプターポリペプチドは、リンホトキシニン- α の生物学的活性を阻害する（例えば、炎症および免疫応答の誘発、リンパ組織の維持、B細胞増殖の誘発）ために使用される。

【0375】

さらなる実施形態では、T R 2 レセプターポリヌクレオチド、ポリペプチド、アゴニストまたはアンタゴニストは、A I M I I 媒介障害および／またはリンホトキシニン- α 媒介障害を試験するために哺乳動物（例えば、ヒト）に投与される。このようなA I M I I 媒介障害および／またはリンホトキシニン- α 媒介障害としては、A I M I I および／またはリンホトキシニン- α により（直接的または間接的に）引き起こされるか、または悪化される状態が挙げられる。

【0376】

細胞生存の増大あるいはアポトーシスの阻害に関連する疾患には、癌（例えば、濾胞性リンパ腫、p 5 3 変異を有する癌腫、およびホルモン依存性腫瘍、これらは以下：結腸癌、心臓腫瘍、膵臓癌、黒色腫、網膜芽細胞腫、神経膠芽細胞腫、肺癌、腸の癌、精巣癌、胃癌、神経芽細胞腫、粘液腫、筋腫、リンパ腫、内皮腫、骨芽細胞腫、骨巨細胞腫、骨肉腫、軟骨肉腫、腺腫、乳癌、前立腺癌、カポージー肉腫および卵巣癌を含むが、これらに限定されない）；自己免疫障害（例えば、多発性硬化症、シェーグレン症候群、グレーブス病、橋本甲状腺炎、自己免

疫性糖尿病、胆汁性肝硬変、ベーチェット病（Behcet's disease）、クローン病、多発性筋炎、全身性エリテマトーデスおよび免疫関連糸球体腎炎、自己免疫性胃炎、自己免疫性血小板減少性紫斑病ならびに慢性関節リウマチ）およびウイルス感染（例えば、ヘルペスウイルス、ポックスウイルスおよびアデノウイルス）、炎症、対宿主性移植片病（急性および／または慢性）、急性移植片拒絶、ならびに慢性移植片拒絶、が挙げられる。好ましい実施形態において、本発明のTR2レセプターポリヌクレオチド、ポリペプチド、またはアンタゴニストは、特に上記または以下の段落に列挙される、癌の増殖、進行、および／または転移（metastasis）を阻害するために使用される。

【0377】

細胞生存の増大に関連するさらなる疾患または状態には、悪性疾患ならびに以下のような関連する障害の進行および／または転移が挙げられるが、これらに限定されない：白血病（急性白血病（例えば、急性リンパ性白血病、急性骨髄性白血病（骨髄芽球性、前骨髄球性、骨髄単球性、単球性および赤白血病を含む）を含む）ならびに慢性白血病（例えば、慢性骨髄性（顆粒球性）白血病および慢性リンパ球性白血病））、真性赤血球増加症、リンパ腫（例えば、ホジキン病および非ホジキン病）、多発性骨髄腫、ヴァルデンストレームマクログロブリン血症、H鎖病、ならびに固形腫瘍（肉腫および癌腫（例えば、線維肉腫、粘液肉腫、脂肪肉腫、軟骨肉腫、骨原性肉腫、脊索腫、血管肉腫、内皮肉腫（endotheliosarcoma）、リンパ管肉腫、リンパ管内皮腫、骨膜腫、中皮腫、ユーイング腫瘍、平滑筋肉腫、横紋筋肉腫、結腸癌腫、膵臓癌、乳癌、卵巣癌、前立腺癌、扁平上皮癌、基底細胞癌、腺癌、汗腺癌、皮脂腺癌、乳頭状癌、乳頭状腺癌、嚢胞腺癌、髄様癌、気管支原生癌、腎細胞癌、肝細胞癌腫、胆管癌、絨毛癌、セミノーマ、胎生期癌、ウィルムス腫瘍、頸部癌、精巣腫瘍、肺癌、小細胞肺癌、膀胱癌、上皮癌、神経膠腫、神経膠星状細胞腫、髄芽細胞腫、頭蓋咽頭腫、脳室上衣細胞腫、松果体腫、血管芽細胞腫、聴神経腫、乏突起神経膠腫、髄膜腫（meningioma）、黒色腫、神経芽細胞腫、および網膜芽細胞腫）を含むが、これらに限定されない）。

【0378】

アポトーシスの増大に関連する疾患には、以下が挙げられるが、これらに限定されない：A I D S；神経変性障害（例えば、アルツハイマー病、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症、色素性網膜炎、小脳変性および脳腫瘍または以前に関連した疾患）；自己免疫障害（例えば、多発性硬化症、シェーグレン症候群、グレーブス病、橋本甲状腺炎、自己免疫糖尿病、胆汁性肝硬変、ベーチェット病（Behcet's disease）、クローン病、多発性筋炎、全身性エリテマトーデスおよび免疫関連糸球体腎炎、自己免疫胃炎、特発性血小板減少性紫斑病ならびに慢性関節リウマチ）、脊髓形成異常症候群（例えば、再生不良性貧血）、対宿主性移植片病（急性および／または慢性）、虚血性傷害（心筋梗塞、発作および再灌流傷害によって生じるようなもの）、肝臓傷害または疾患（例えば、肝炎関連肝臓傷害、肝硬変、虚血／再灌流傷害、胆汁うっ滞（cholestosis）（胆管傷害）および肝臓癌）；毒物誘導性肝臓疾患（アルコール引き起こされるようなもの）、敗血症性ショック、潰瘍性大腸（結腸）炎、悪液質ならびに食欲不振。好ましい実施形態において、TR2レセプターポリヌクレオチド、ポリペプチド、アゴニストおよび／またはアンタゴニストは、上記の疾患および障害を処置するために使用される。

【0379】

H I Vに関連する多くの病理は、アポトーシスによって媒介され、これらには、H I V誘導性腎症およびH I V脳炎が挙げられる。従って、さらに好ましい実施形態において、本発明のTR2レセプターポリヌクレオチド、ポリペプチド、アゴニストまたはアンタゴニストは、A I D SおよびA I D Sに関連する病理を処置するために使用される。

【0380】

本発明の別の実施形態は、H I V感染患者におけるT細胞のA I M I I媒介性の死を減少するための、TR2レセプターポリヌクレオチド、ポリペプチドまたはアンタゴニストの使用に関する。A I D Sの発症におけるT細胞アポトーシスの役割は、多くの研究の主題であった（例えば、Meynardら、Science 257：217-219（1992）；Grouxら、J. Exp. Med., 175：331（1992）；およびCell Activation

and Apoptosis in HIV infection, AndrieuおよびLu編、Plenum Press, New York、101-114頁(1995)における、Oyaizuら、を参照のこと)。Fas媒介性アポトーシスは、HIV個体におけるT細胞の損失に関連していた(Katsikisら、J. Exp. Med. 181:2029-2036(1995))。また、T細胞アポトーシスは、複数の機構を介して生じるようである。例えば、HIV患者に見出されているT細胞死の少なくともいくつかは、AIM IIによって媒介されるようである。

【0381】

活性化されたヒトT細胞は、CD3/T細胞レセプター複合体を介する誘発に際して、プログラムされた細胞死(アポトーシス)(活性化誘導された細胞死(AICD)と呼ばれるプロセス)を受けるよう誘導される。HIV感染した無症候個体から単離されたCD4⁺T細胞のAICDが、報告されている(Grouxら、前出)。従って、AICDは、CD4⁺T細胞の枯渇およびHIV感染個体におけるAIDSの進行において、役割を果たし得る。従って、本発明は、HIV患者におけるAIM II媒介T細胞死を阻害する方法を提供し、この方法は、この患者に、本発明のTR2レセプターポリヌクレオチド、ポリペプチドまたはアンタゴニスト(好ましくは、可溶性TR2レセプターポリペプチド)を投与する工程を包含する。1つの実施形態において、TR2レセプターポリヌクレオチド、ポリペプチドまたはアンタゴニストでの処置が開始されるとき、患者は、無症候である。所望の場合、処置前に、末梢血T細胞が、HIV患者から抽出され得、そして当該分野で公知の手段によって、AIM II媒介細胞死に対する感受性について試験する。1つの実施形態において、患者の血液または血漿に、本発明のTR2レセプターポリペプチドを、エキソビボで接触させる。このTR2レセプターポリペプチドは、当該分野で公知の手段によって、適切なクロマトグラフィーマトリクスに結合され得る。この患者の血液または血漿は、このマトリクスに結合されたTR2レセプターポリペプチドを含むクロマトグラフィーカラムを通して流れ、その後、患者に戻される。固定化されたTR2レセプターポリペプチドは、AIM IIを結合し、従って、患者の血液からAIM II

タンパク質を除去する。

【0382】

さらなる実施形態において、本発明のTR2レセプターポリヌクレオチド、ポリペプチド、またはアンタゴニストは、T細胞アポトーシスの他のインヒビターと組み合わせて投与される。例えば、上記のように、Fas媒介アポトーシスはまた、HIV個体におけるT細胞の損失に関連していた(Katsikisら、J. Exp. Med. 181:2029-2036 (1995))。従って、Fasリガンド媒介T細胞死およびAIM-2媒介T細胞死の両方に感受性の患者は、AIM-2/AIM-2レセプター相互作用をブロックする薬剤、およびFasリガンド/Fas相互作用をブロックする薬剤の両方で処置され得る。FasリガンドのFasへの結合をブロックするための適切な薬剤としては、可溶性Fasポリペプチド；可溶性Fasポリペプチドのマルチマー形態（例えば、sFas/Fcのダイマー）；アポトーシスを生じる生物学的シグナルの伝達を伴わずにFasを結合する、抗Fas抗体；FasリガンドのFasへの結合をブロックする、抗Fasリガンド抗体；およびFasを結合するが、アポトーシスを生じる生物学的シグナルを伝達しない、Fasリガンドのムテインが挙げられるが、これらに限定されない。好ましくは、この方法に従って使用される抗体は、モノクローナル抗体である。Fasリガンド/Fas相互作用をブロック（抗Fasモノクローナル抗体のブロックを含む）するための適切な薬剤の例は、WO95/10540（本明細書によって、参考として援用される）に記載される。

【0383】

別の例において、TRAILのTRAILレセプターへの結合をブロックする薬剤が、本発明のTR2レセプターポリヌクレオチド、ポリペプチド、またはアンタゴニストと共に投与される。このような薬剤としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：可溶性TRAILレセプターポリペプチド（例えば、OPGの可溶化形態、DR4（WO98/32856）；TR5（WO98/30693）；DR5（WO98/41629）；およびTR10（WO98/54202））；可溶性TRAILレセプターポリペプチドのマルチマー形態；な

らびにアポトーシスを生じる生物学的シグナルの伝達を伴わずにTRA I Lレセプターを結合する、TRA I Lレセプター抗体、1以上のTRA I LレセプターへのTRA I Lの結合をブロックする、抗TRA I L抗体、およびTRA I Lレセプターを結合するが、アポトーシスを生じる生物学的シグナルを伝達しない、TRA I Lのムテイン。好ましくは、この方法に使用される抗体は、モノクローナル抗体である。

【0384】

本発明の別の実施形態は、B細胞の増殖および分化の調節因子としてのTR 2の使用に配向する。本明細書中に記載されるアッセイおよび実験は、B細胞の増殖および分化の調節因子としてのTR 2の使用の科学合理的さを明確に提供する。可溶性または膜結合TR 2、それらネイティブなリガンドおよび種々のリガンドアンタゴニストの可能な使用は多様であり、そして感染、抗新形成治療および／または遺伝した障害から生じる自己免疫障害および免疫不全の処置を含む。さらに多くの前新形成モノクローナル高ガンマグロブリン血症および新形成B細胞障害（例えば、多発性骨髄腫）は、誘導因子または進行因子のいずれかとしてTR 2またはそのリガンドを使用し得る。

【0385】

従って、TR 2または誘導された機能的アゴニスト（抗TR 2抗体、TR 2およびTR 2リガンドの細胞外ドメインに含まれるアミノ酸配列（例えば、TR 2-F c）を有する可溶性形態を含む）は、以下のような適用を見出し得る：

TH 1細胞応答に対するようなホルモン応答の発達に対する個々の免疫系に配向する薬剤（すなわち、TH 2）として。

【0386】

TR 2媒介性応答を阻害または増強する抗体の産生のための抗原として。

【0387】

T細胞を活性化する方法として。

【0388】

TR 2によって誘発される分泌されたサイトカインを調節する方法として。

【0389】

TR2のアンタゴニスト（結合抗体および／または抑制抗体を含む）、アンチセンス核酸、リボザイム、可溶性形態のTR2（例えば、TR2-fc）およびTRリガンドとして。これらは、上記のレセプターの多くの活性を取り消し得ると予想され、かつ以下のような臨床的または実用的な適用を見出し得ると予想される：

TR2活性のアンタゴニストはまた、ヘルペスウイルスの感染を処置または予防するために使用され得る。このようなアンタゴニストとしては、本発明の全長TR2ポリペプチドおよび成熟TR2ポリペプチド、TR2フラグメント（例えば、可溶性フラグメント）、およびTR2ポリペプチドに対する特異性を有する抗体が挙げられる。特定のメカニズムに限定することを望まないが、TR2アンタゴニストは、ヘルペスウイルスの細胞への侵入をブロックすることによってヘルペスウイルスの感染の処置または予防において機能すると考えられる。

【0390】

TR2ポリヌクレオチドまたはポリペプチド、TR2のアゴニストによって処置され得るさらなる状態、疾患、症状は、骨髄炎である。

【0391】

好ましくは、TR2ポリヌクレオチドまたはポリペプチド、あるいはTR2のアゴニストを使用する処置は、患者への有効量のTR2ポリペプチドの投与によるか、または患者からの細胞の除去するかのいずれかであり得、細胞にTR2ポリヌクレオチドを供給し、そして操作された細胞を患者に戻し得る（エキソビボ治療）。さらに、本明細書中にさらに記載されるように、TR2ポリペプチドまたはポリヌクレオチドは、感染疾患に対する免疫応答を惹起するためのワクチンにおけるアジュバントとして使用され得る。

【0392】

別の実施形態において、TR2、TR2-SV1および／または本発明のTR2-SV2ポリヌクレオチドまたはポリペプチドおよび／またはそれらアゴニストおよび／またはアゴニストは、以下の処置、予防、および／または診断に使用される：内耳感染（例えば、耳炎媒体）、ならびに他の感染（Streptococcus pneumoniaeおよび他の病原性生物での感染によって特徴

付けられた)。

【0393】

特定の実施形態において、TR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2ポリヌクレオチドまたはポリペプチド、またはそれらアゴニストまたはアンタゴニスト（例えば、抗TR2、抗TR2-SV1および／または抗TR2-SV2抗体）は、障害（欠乏性の血清免疫グロブリンの産生、感染の反復、および／または免疫系の機能不全によって特徴付けられる）の処置または予防に使用される。さらに、TR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2ポリヌクレオチドまたはポリペプチド、あるいはそれらアゴニストまたはアンタゴニスト（例えば、抗TR2、抗TR2-SV1、および／または抗TR2-SV2抗体）は、関節、骨、皮膚の感染、および／または耳下腺、血液-骨感染（例えば、敗血症、髄膜炎、敗血症関節炎、および／または骨髓炎）、自己免疫疾患（例えば、本発明中に記載される疾患）、炎症性障害、および悪性疾患、および／またはこれらの感染、疾患、障害、および／または悪性疾患（CVID、他の原発性免疫欠損、HIV疾患、CLL、反復性気管支炎、静脈洞炎、耳炎媒体、結膜炎、肺炎、肝炎、髄膜炎、带状疱疹（例えば、重症な带状疱疹）および／またはニューモシスティスを含むがこれらに限定されない）に関連する任意の疾患または状態の処置または予防に使用され得る。

【0394】

本発明のTR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2ポリヌクレオチドまたはポリペプチド、それらのアゴニストまたはアンタゴニストは、以下の1以上の疾患、障害、またはそれらに関連する状態の診断、予知、処置、または予防に使用され得る：原発性免疫不全、免疫媒介性血小板減少症、川崎病、骨髓移植（例えば、成人または小児における最近の骨髓移植）、慢性B細胞リンパ性白血病、HIV感染（例えば、成人または小児HIV感染）、慢性炎症性脱髄性多発ニューロパシー、およびトランスフェクション後の紫斑。

【0395】

さらに、本発明のTR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2ポリヌクレオチドまたはポリペプチド、またはそれらのアゴニストまたはアンタゴニ

ストは、以下の1以上の疾患、障害、またはそれに関連する状態の診断、予知、処置、または予防に使用され得る：ギヤンバレー症候群、貧血（例えば、パルボウイルスB19に関連した貧血）、感染の危険の高い安定な多発性骨髄腫を有する患者の疾患（例えば、再発性感染）、自己免疫性溶血性貧血（例えば、温暖型自己免疫性溶血性貧血）、血小板減少症（例えば、新生児血小板減少症）、および免疫媒介性好中球減少症、移植術（例えば、CMV－陽性器官のサイトメガロウイルス（CMV）－陰性受容者）、hypogammaglobulinemia（例えば、低ガンマグロブリン（例えば、感染または病的状態の危険因子を有するhypogammaglobulinemic）新生児）、てんかん、（例えば、難治性てんかん）、全身管脈症（systemic vasculitic syndromes）、重症筋無力症（例えば、重症筋無力症における代償不全）、皮膚筋炎および多発性筋炎。

【0396】

本発明のさらに好ましい実施形態としては、以下の適用におけるTR2、TR2－SV1、および／またはTR2－SV2ポリペプチド、TR2、TR2－SV1および／またはTR2－SV2ポリヌクレオチド、およびその機能的アゴニストの使用が挙げられるが、これらに限定されない：

以下の投与。動物（例えば、マウス、ラット、ハムスター、モルモット、ブタ、ミクロブタ（micro-pig）、ニワトリ、ラクダ、ヤギ、ウマ、ウシ、ヒツジ、イヌ、ネコ、非ヒト霊長類、およびヒト、最も好ましくはヒト）への、免疫系をブーストするため投与。1以上の抗体（例えば、IgG、IgA、IgM、およびIgE）の増加された量を産生ため、より高い親和性の抗体産生（例えば、IgG、IgA、IgM、およびIgE）を誘導するため、そして／または免疫応答を増加するため。特定の非排他的な実施形態において、本発明のTR2、TR2－SV1および／またはTR2－SV2ポリペプチド、および／またはそれらのアゴニストは、IgGの増加された量を産生するための免疫系をブーストするために投与され得る。別の特定の非排他的な実施形態において、本発明のTR2、TR2－SV1、および／またはTR2－SV2ポリペプチド、および／またはそれらのアゴニストは、増加された量のIgAを産生するための免疫

系をブーストするために投与され得る。別の特定の非排他的な実施形態において、本発明のTR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2ポリペプチド、および／またはそれらのアゴニストは、増加された量のIgMを産生するための免疫系をブーストするために投与され得る。

【0397】

機能的内因性抗体分子の産生ができない動物（上記の列挙された動物が挙げられるが、これらに限定されず、そしてまたトランスジェニック動物を含む）、または他の易感染性内因性免疫系を有さない動物への投与。しかしこれらの動物は、別の動物からの再構成された免疫系、または部分的に再構成された免疫系の手段によって、ヒト免疫グロブリン分子を産生可能である（例えば、公開PCT申請番号WO98/24893、WO/9634096、WO/9633735、およびWO/9110741を参照のこと）。

【0398】

特定の抗原に対する免疫応答を増強するワクチンアジュバント。特定の実施形態において、ワクチンアジュバントは、本明細書中に記載されるTR2、TR2-SV1、および／またはTR2-SV2ポリペプチドである。別の特定の実施形態において、ワクチンアジュバントは、本明細書中に記載されるTR2、TR2-SV1、および／またはTR2-SV2ポリヌクレオチド（すなわち、TR2、TR2-SV1、および／またはTR2-SV2ポリヌクレオチドは、遺伝的ワクチンアジュバント）である。本明細書中に記載されるように、TR2、TR2-SV1、および／またはTR2-SV2ポリヌクレオチドは、公知技術を使用して投与され得る（リポソーム送達、組換えベクター送達、裸のDNAの注入、および遺伝子銃送達を含むが、これらに限定されない）。

【0399】

腫瘍特異的免疫応答を増強するためのアジュバント。

【0400】

抗ウイルス免疫応答を増強するためのアジュバント。アジュバントとして本発明の組成物を使用して増強され得る抗ウイルス免疫応答としては、本明細書中に記載されるか、当該分野で他の公知のウイルスおよびウイルス関連疾患、または

症状が挙げられるが、これらに限定されない。特定の実施形態において、本発明の組成物は、アジュバントとして使用され、ウイルス、障害、または以下から成る群より選択される症状に対する免疫応答を増強する：AIDS、髄膜炎、デング熱、EBV、および肝炎（例えば、B型肝炎）。別の特定の実施形態において、本発明の組成物は、以下：HIV/AIDS、RSウイルス、デング熱、ロタウイルス、日本脳炎、インフルエンザAおよびB、パラインフルエンザ、麻疹、サイトメガロウイルス、狂犬病、フニン、チクングニヤ、リフトバレー熱、単純ヘルペス、および黄熱病からなる群より選択されるウイルス、疾患、または症状に対する免疫応答を増強するためのアジュバントとして使用される。別の特定の実施形態において、本発明の組成物は、HIV gp120抗原に対する免疫応答を増強するためのアジュバントとして使用される。

【0401】

抗細菌または抗真菌免疫応答を増強するためのアジュバント。本発明の組成物をアジュバントとして使用して増強され得る抗細菌または抗真菌免疫応答としては、細菌または真菌および本明細書中で記載されるか、または当該分野で公知の他の疾患または症状に関連する細菌または真菌が挙げられる。特定の実施形態において、本発明の組成物は、以下：破傷風、ジフテリア、ボツリスム、および髄膜炎B型からなる群より選択される細菌または真菌、疾患、または症状に対する免疫応答を増強するためのアジュバントとして使用される。別の特定の実施形態において、本発明の組成物は、以下：コレラ菌、らい菌、チフス菌、パラチフス菌、Meisseriamentingitis、肺炎連鎖球菌、B群連鎖球菌属、赤痢菌属、腸毒性大腸菌、腸出血性大腸菌、Borrelia burgdorferi、およびプラスモディウム属（マラリア）からなる群より選択される細菌または真菌、疾患または症状に対する免疫応答を増強するためのアジュバントとして使用される。

【0402】

抗寄生生物免疫応答を増強するためのアジュバント。アジュバントとして本発明の組成物を使用する増強され得る抗寄生生物免疫応答は、寄生生物および本明細書中に記載されるか、または当該分野において公知の寄生生物に関連した疾患

または症状を含む。特定の実施形態において、本発明の組成物は、寄生生物に対する免疫応答を増強するアジュバントとして使用される。別の特定の実施形態において、本発明の組成物は、プラスモディウム属（マラリア）に対する免疫応答を増強するアジュバントとして使用される。

【0403】

病原体に対するB細胞の反応性としての刺激物質として。

【0404】

免疫抑制療法を受ける前に、個々の免疫状態を上昇させる薬剤としえて。

【0405】

高度な親和性抗体を誘導するための薬剤として

血清免疫グロブリン濃度を増加するための薬剤として

免疫無防備状態の個体の回復を促進するための薬剤として

老いた集団の中で免疫応答性をブーストするための薬剤として

骨髄移植および／または他の移植（例えば、同種異系または異種の器官移植）前、または最中、または後の免疫系のエンハンサーとして。移植に関して、本発明の組成物は、移植の前、同時および／または後に投与され得る。特定の実施形態において、本発明の組成物は、T細胞集団の回復の開始の前に、移植後に投与される。別の特定の実施形態において、本発明の組成物は、T細胞集団の回復の開始後の移植の後、初めに投与されが、B細胞の集団の完全な回復の前である。

【0406】

本発明の組成物は、B細胞免疫不全個体（例えば、部分的または完全な脾摘出を受けた個体）間の免疫応答性をブーストするための薬剤として。TR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2ポリペプチドまたは本発明のポリヌクレオチド、あるいはそのアゴニストの投与によって回復され得るか、または処置され得るB細胞免疫不全としては、X連鎖重症複合免疫不全（SCID）、SCID-常染色体、アデノシンデアミナーゼ欠損（ADA欠損）、X連鎖無ガンマグロブリン血症（XLA）、Bruton病、先天性無ガンマグロブリン血症、X連鎖乳児無ガンマグロブリン血症、後天性無ガンマグロブリン血症、成人発症無ガンマグロブリン血症、後期発症無ガンマグロブリン血症、低ガンマグロブ

リン血症、高ガンマグロブリン血症、乳児の過渡性高ガンマグロブリン血症、不特定の高ガンマグロブリン血症、無ガンマグロブリン血症、分類不能型免疫不全（CVID）（後天性）、ヴィスコット-オールドリッチ症候群（WAS）、過剰IgMを伴うX連鎖免疫不全、過剰IgMを伴う非X連鎖免疫不全、選択的IgA欠損、IgGサブクラス欠損（IgA欠損を伴うか、または伴わない）、正常または上昇したIgSを伴う抗体不全、胸腺腫を伴う免疫欠損、Ig重鎖欠損、カッパ鎖欠損、B細胞リンパ増殖性障害（BLPD）、選択性IgM免疫欠損、劣性無ガンマグロブリン血症（スイス型）、網様発育不全、新生児好中球減少症、重症の先天性白血球減少症、免疫欠損を有するリンパ形成不全-発育不全症または形成異常症、運動失調-毛細血管拡張症、短肢小人症、X-連鎖リンパ増殖性症候群（XLP）、IgSを伴うネゼロフ症候群-混合免疫欠損、プリンヌクレオシドホスホリラーゼ欠損（PNP）、MHCクラスII欠損（不全リンパ球症候群）および重症複合型免疫不全が挙げられるが、これらに限定はされない。

【0407】

B細胞機能の後天性の欠損を有する個体間の免疫応答性をブーストするための薬剤として。TR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2ポリペプチドまたは本発明のポリヌクレオチド、またはそのアゴニスト投与によって回復され得るか、または処置され得る後天性のB細胞機能の損失を生じる状態としては、HIV感染、AIDS、骨髄移植、およびB細胞慢性リンパ性白血病（CLL）が挙げられるが、これらに限定されない。

【0408】

一時的な免疫欠損を有する個々の間の免疫反応性をブーストするための薬剤として。TR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2ポリペプチドまたは本発明のポリヌクレオチド、あるいはそのアゴニストの投与によって回復され得るか、または処置され得る一時的な免疫欠損を生じる状態としては、ウイルス感染（例えば、インフルエンザ）からの回復、栄養不良に関連した状態、感染性単核細胞症からの回復、またはストレスに関連した状態、麻疹からの回復、血液輸血からの回復、手術からの回復が挙げられるが、これらに限定されない。

【0409】

単球、樹状細胞、および／またはB細胞による抗原提示の調節因子として。1つの実施形態において、TR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2ポリペプチド（可溶性、膜結合または膜貫通形態）またはポリヌクレオチドは、抗原提示を増強するか、またはインビトロまたはインビボでの抗原提示をアンタゴナイズする。さらに、関連する実施形態において、この抗原提示の増強またはアンタゴナイゼーション（antagonization）は、抗腫瘍処置において使用され得るか、または免疫応答を調節し得る。

【0410】

粘膜の免疫応答のメディエータとして。単球によるTR2の発現、およびこの因子に対するB細胞の応答性は、以下のことを示す。B細胞と単球との間のシグナルの交換に関与し得るか、またはそれらの分化された子孫に関与し得る。この活性は、B細胞とT細胞との間のCD40-CD154シグナル伝達に対して多くの方法で類似性である。従って、TR2は、環境の病原体に対するT細胞の独立した免疫応答の重要な調節因子であり得る。特に、通常でないB細胞集団（CD5+）（粘膜部位に関連し、そしてヒトにおける生まれつきの免疫のほとんどの原因である）は、TR2に応答し、それによって個々の防御免疫状態を増強する。

【0411】

腫瘍増殖を誘導するための手段として、ついでその手段を抗新形成薬剤により感受性にするため。例えば、多発性骨髄腫は、ゆっくりと分裂する疾患であり、従って実質的に全ての抗新形成療法に対して抵抗性である。これらの細胞がより急に増殖せられる場合、それらの感受性プロファイルは変化しそうである。

【0412】

細胞増殖の特異的活性化因子または阻害因子が付着され得るB細胞特異的結合タンパク質として。この結果は、正常な、疾患の、または新形成B細胞集団にするこのような活性化因子、または阻害因子の活性に焦点を当てる。

【0413】

特異性の利点によるB系統細胞の検出手段として。この適用は、検出手段を与

えるためにビオチンまたは他の薬剤（本明細書中に記載される）でタンパク質を標識することを必要とし得る。

【0414】

病理（例えば、AIDS、慢性リンパ球障害および／またはCommon Variable Immunodeficiency）におけるB細胞の産生の刺激物質として。

【0415】

B細胞選択装置の一部として。その機能は、細胞型の異種起源の混合物からB細胞を単離することである。T2は、固体支持体に結合し得、次いでB細胞がそれに特異的に結合する。非結合細胞は洗浄され、そして結合した細胞は引き続いて溶出される。この選択の非限定的な使用は、移植の前に腫瘍細胞の消去（例えば、骨髄または末梢血から）を可能にする。

【0416】

手術、外傷、遺伝的欠損の後のリンパ組織の産生および／または再生についての治療として。

【0417】

免疫不全を生じる遺伝的に遺伝した障害（例えば、SCID患者において観察される）についての遺伝子に基づいた治療として。

【0418】

TR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2媒介性応答を阻害または増強するための抗体を産生するための抗原として。

【0419】

単球に影響する寄生生物疾患（例えば、Leishmania）を防御するための単球／マクロファージを活性化する方法として。

【0420】

移植の前の骨髄サンプルの前処置として。このような処置は、B細胞の提示を増強し、次いで回復を促進する。

【0421】

TR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2によって誘発された分

泌されたサイトカインを調節する手段として。

【0422】

本発明のTR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2ポリペプチドまたはポリヌクレオチド、またはアゴニストは、インビトロまたはインビボでIgE濃度を調製するたに使用され得る。

【0423】

従って、本発明のTR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2ポリペプチドまたはポリヌクレオチド、またはそれらのアゴニストは、IgE媒介性アレルギー反応の処置、予防および／または診断に使用され得る。このようなアレルギー反応としては、ぜん息、鼻炎および湿疹が挙げられるが、これらに限定されない。

【0424】

特定の実施形態において、本発明のTR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2ポリペプチドまたはポリヌクレオチド、またはそれらのアゴニストは、選択的IgA欠損の処置、予防、診断および／または改善のために投与される。

【0425】

別の局面の実施形態において、本発明のTR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2ポリペプチドまたはポリヌクレオチド、またはそれらのアゴニストは、毛細血管拡張性運動失調を処置、予防、診断および／または改善するために投与される。

【0426】

別の特定の局面において、本発明のTR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2ポリペプチドまたはポリヌクレオチド、またはそれらのアゴニストは、分類不能型免疫不全を処置、予防、診断および／または改善するために投与される。

【0427】

別の特定の局面において、本発明のTR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2ポリペプチドまたはポリヌクレオチド、またはそれらのアゴニスト

は、X連鎖無ガンマグロブリン血症を処置、予防、診断および／または改善するために投与される。

【0428】

別の特定の局面において、本発明のTR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2ポリペプチドまたはポリヌクレオチド、またはそれらのアゴニストは、重症複合免疫不全（SCID）を処置、予防、診断および／または改善するために投与される。

【0429】

別の特定の局面において、本発明のTR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2ポリペプチドまたはポリヌクレオチド、またはそれらのアゴニストは、ヴィスコット-オールドリッチ症候群を処置、予防、診断および／または改善するために投与される。

【0430】

別の特定の局面において、本発明のTR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2ポリペプチドまたはポリヌクレオチド、またはそれらのアゴニストは、過剰IgMを伴うX連鎖免疫不全を処置、予防、診断および／または改善するために投与される。

【0431】

別の特定の実施形態において、本発明のTR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2ポリペプチドまたはポリヌクレオチド、またはそれらのアゴニストまたはアンタゴニスト（例えば、抗TR2抗体）は、慢性骨髄性白血病、急性骨髄性白血病、白血病、組織球性白血病、単球性白血病（例えば、急性単球性白血病）、白血病性細網症、Shilling型単球性白血病、ならびに／あるいは単球および／または単球細胞および／または組織から誘導される他の白血病を処置、予防、診断、および／または改善するために投与される。

【0432】

別の特定の実施形態においては、本発明のTR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2ポリペプチドもしくはポリヌクレオチドあるいはそれらのアゴニストは、例えば、結核と共に見られるような単球性類白血病反応を処置、予

防、診断、および／または改善するために投与される。

【0433】

別の特定の実施形態においては、本発明のTR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2ポリペプチドもしくはポリヌクレオチド、あるいはそれらのアゴニストは、単球性白血球増加症、単球性白血球減少症、単球減少症、および／または単球増加症を処置、予防、診断、および／または改善するために投与される。

【0434】

別の特定の実施形態においては、本発明のTR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2ポリヌクレオチドまたはポリペプチド、ならびに／あるいは抗TR2抗体、および／またはそれらのアゴニストもしくはアンタゴニストを使用して、原発性Bリンパ球障害および／もしくは疾患、ならびに／またはそれに付随する状態を処置、予防、検出および／または診断する。1つの実施形態においては、このような原発性Bリンパ球障害、疾患および／または状態は、体液性免疫の完全な欠失または部分的な欠失によって特徴付けられる。体液性免疫の完全な欠失または部分的な欠失によって特徴付けられ、そして本発明の組成物を用いて予防、処置、検出および／または診断され得る、原発性Bリンパ球障害、疾患、および／またはそれに付随する状態としては、X連鎖無ガンマグロブリン血症（XLA）、重症複合型免疫不全（SCID）、および選択的IgA欠損が挙げられるが、これらに限定されない。

【0435】

好ましい実施形態においては、TR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2ポリヌクレオチド、ポリペプチド、ならびに／あるいはそれらのアゴニストを使用して、身体の任意の1以上の種々の粘膜に影響する疾患もしくは障害または身体の任意の1以上の種々の粘膜に関連する状態を処置、予防、および／または診断する。このような疾患または障害としては、例えば、以下が挙げられるが、これらに限定されない：粘膜炎（mucositis）、粘膜破壊、粘膜性結腸炎、粘膜性リーシュマニア症（例えば、アメリカリーシュマニア症、皮膚フランベシア、鼻咽頭リーシュマニア症、および新世界リーシュマニア症）、粘

膜皮膚リンパ節症候群（例えば、川崎病）、小腸粘膜炎、粘膜性類表皮癌、粘膜性類上皮腫、粘膜上皮形成異常、ムコイド腺癌、ムコイド変性、ミクソイド変性；粘膜腫変性；粘膜腫症、ムコイド中膜変性（例えば、嚢胞性中膜壊死）、ムコリピードシス（例えば、ムコリピードシスⅠ、ムコリピードシスⅠⅠ、ムコリピードシスⅠⅠⅠ、ムコリピードシスⅠⅤを含む）、粘液溶解障害、粘液性膜性腸炎、小腸粘膜炎、ムコ多糖体沈着症（例えば、Ⅰ型ムコ多糖体沈着症（すなわち、ハーラー症候群）、ⅠⅤ型ムコ多糖体沈着症（すなわち、シャイエ症候群またはⅤ型ムコ多糖体沈着症）、ⅠⅠ型ムコ多糖体沈着症（すなわち、ハンター症候群）、ⅠⅠⅠ型ムコ多糖体沈着症（すなわち、サンフィリポ症候群）、ⅠⅤ型ムコ多糖体沈着症（すなわち、モルキオ症候群）、ⅤⅠ型ムコ多糖体沈着症（すなわち、マロトローラミー症候群）、ⅤⅠⅠ型ムコ多糖体沈着症（すなわち、βグルクロニダーゼ欠損に起因するムコ多糖体沈着症）、およびムコスルファチドシス）、ムコ多糖尿、粘液膿性結膜炎、膿様粘液、ムコール症（すなわち、接合真菌症、粘膜病（すなわち、ウシウイルス性下痢）、粘液性大腸炎（例えば、粘液性結腸炎および粘膜性大腸炎）、ならびにムコビシドシス（例えば、嚢胞性線維症、腭嚢胞性線維症、クラークーハッドフィールド症候群、腭臓の線維嚢胞病、ムコビシドシス、および粘液過剰症）。非常に好ましい実施形態においては、TR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2ポリヌクレオチド、ポリペプチド、ならびに／あるいはそれらのアゴニストおよび／またはアンタゴニストを使用して、粘膜炎（特に化学療法に関連するような）を処置、予防、および／または診断する。

【0436】

好ましい実施形態において、TR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2のポリヌクレオチド、TR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2のポリペプチド、ならびに／あるいはそれらのアゴニストおよび／またはアンタゴニストは、静脈洞炎に影響を与える疾患または障害あるいは静脈洞炎と関連する状態を、処置、予防および／または診断するために使用される。

【0437】

TR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2のポリヌクレオチド、

TR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2のポリペプチド、あるいはTR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2のアゴニストによって、処置、予防および／または診断され得るさらなる状態、疾患あるいは症状は、骨髄炎である。

【0438】

TR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2のポリヌクレオチド、TR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2のポリペプチド、あるいはTR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2のアゴニストによって、処置、予防および／または診断され得るさらなる状態、疾患あるいは症状は、心内膜炎である。

【0439】

TR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2のアンタゴニストとしては、結合および／または阻害抗体、アンチセンス核酸、リボザイム、ならびに本発明のTR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2のポリペプチドが挙げられる。これらは、上記のリガンドの多くの活性を逆転すること、ならびに以下のような臨床適用または実用適用を見出すことが期待される：

外来因子または自己に対する免疫応答の種々の局面をブロックする方法。例としては、狼瘡および関節炎のような自己免疫疾患、ならびに皮膚アレルギー、炎症、腸疾患、創傷および病原体に対する免疫応答性が挙げられる。本発明者らの近年のデータは、B細胞および単球関連の病理学におけるTR2の潜在的な役割を直接言及してきたが、他の細胞型がTR2に対する発現または応答性を獲得し得ることは可能なままである。従って、CD40およびそのリガンドのようにTR2は、免疫系および細胞が位置する微小環境の状態によって調節される。

【0440】

特発性血小板減少性紫斑病、全身性エリテマトーデスおよびMSのような自己免疫疾患と関連する、B細胞増殖および免疫グロブリン分泌を予防するための治療。

【0441】

対宿主性移植片病または移植拒絶のインヒビター。

【0442】

B細胞悪性疾患（例えば、ALL、ホジキン病、非ホジキンリンパ腫、慢性リンパ球白血病、形質細胞腫、多発性骨髄腫、バーキットリンパ腫、およびEBV-形質転換疾患（transformed disease））の治療。

【0443】

意義不明の単一クローン性高ガンマグロブリン血症（monoclonal gammopathy of undetermined significance）（MGUS）、ヴァルデンストレーム疾患、関連の特発性単一クローン性高ガンマグロブリン血症、および形質細胞腫のような疾患における慢性高ガンマグロブリン血症事象の治療。

【0444】

大B細胞リンパ腫の細胞増殖を減少するための治療。

【0445】

慢性骨髄性白血病に関連したB細胞および免疫グロブリンの関与を低下させる手段。

【0446】

免疫抑制剤。

【0447】

本発明のTR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2のポリペプチドまたはTR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2のポリヌクレオチド、あるいはアンタゴニストは、インビトロまたはインビボにおけるIgE濃度を調節するために使用され得る。

【0448】

別の実施形態において、本発明のTR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2のポリペプチドまたはTR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2のポリヌクレオチド、あるいはそれらのアンタゴニストは、IgE媒介アレルギー反応（喘息、鼻炎および湿疹を含むがこれらに限定されない）の処置、予防および／または診断に使用され得る。

【0449】

TR2誘導B細胞活性化に関連しているERK1、COX2およびCyclinD2の関与するシグナル伝達経路のインヒビター。

【0450】

上記に引用される出願は、種々の宿主における使用を有する。そのような宿主としては、ヒト、マウス (murine)、ウサギ、ヤギ、モルモット、ラクダ、ウマ、マウス (mouse)、ラット、ハムスター、ブタ、ミニブタ (micro-pig)、ニワトリ、ヤギ、ウシ、ヒツジ、イヌ、ネコ、ヒト以外の霊長類、およびヒトを含むがこれらに限定されない。特定の実施形態において、宿主は、マウス、ウサギ、ヤギ、モルモット、ニワトリ、ラット、ハムスター、ブタ、ヒツジ、イヌまたはネコである。好ましい実施形態において、宿主は哺乳動物である。最も好ましい実施形態において、宿主はヒトである。

【0451】

アゴニストおよびアンタゴニストは、例えば、本明細書中に記載されるように、薬学的に受容可能なキャリアを有する組成物において使用され得る。

【0452】

アンタゴニストは、例えば、特定の自己免疫疾患および慢性炎症性疾患および感染性疾患において、TR2媒介、TR2-SV1媒介および／またはTR2-SV2媒介の走化性そしてマクロファージおよびそれらの前駆体の活性化、ならびに好中球、好塩基球、Bリンパ球およびいくつかのT細胞サブセット（例えば、活性化されたT細胞およびCD8細胞傷害性T細胞）ならびにナチュラルキラー細胞の活性化を阻害するために使用され得る。自己免疫疾患の例としては、多発性硬化症およびインシュリン依存性糖尿病が挙げられる。アンタゴニストはまた、単核食細胞の補充および活性化を予防することによって、感染性疾患（珪肺症、類肉腫症、特発性肺線維症を含む）を処置、予防および／または診断するために使用され得る。これらはまた、好酸球の産生および移動を予防することによって、特発性好酸球増加症候群を処置、予防、および／または診断するために使用され得る。エンドトキシンショックはまた、マクロファージの移動および本発明のTR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2のポリペプチドのその産生を阻止することによって、アンタゴニストにより処置され得る。アンタゴ

ニストはまた、動脈壁における単球の浸潤を予防することによって、アテローム性動脈硬化症を処置するために使用され得る。アンタゴニストはまた、ケモカイン誘導肥満細胞および好塩基球脱顆粒ならびにヒスタミンの放出を阻害することによって、ヒスタミン媒介アレルギー反応および免疫学的障害（晩期アレルギー反応、慢性じんま疹、およびアトピー性皮膚炎を含む）を処置、予防、および／または診断するために使用され得る。I g E媒介アレルギー反応（例えば、アレルギー性喘息、鼻炎、および湿疹）もまた処置され得る。アンタゴニストはまた、創傷領域への単球の誘引を予防することによって、慢性および急性の炎症を処置、予防および／または診断するために使用され得る。慢性および急性の炎症性肺疾患は、肺における単核食細胞の壊死巣分離（*sequestration*）に関連しているので、アンタゴニストはまた、正常な肺のマクロファージ集団を調節するために使用され得る。アンタゴニストはまた、患者の関節における滑液中に単球を誘引すること予防することによって、慢性関節リウマチを処置、予防および／または診断するために使用され得る。単球の流入および活性化は、変性関節症および炎症性関節症の両方の病因において重要な役割を果たす。アンタゴニストは、主にIL-1およびTNFに帰する有害なカスケードを妨害するために使用され得、これは他の炎症性サイトカインの生合成を阻害する。このようにして、アンタゴニストは、炎症を阻害するために使用され得る。アンタゴニストはまた、TR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2によって誘導されるプロスタグランジン非依存性発熱（*prostaglandin-independent fever*）を阻害するために使用され得る。アンタゴニストはまた、骨髓欠陥の症例（例えば、再生不良性貧血および骨髓形成異常症候群）を処置、予防および／または診断するために使用され得る。アンタゴニストはまた、肺における好酸球の蓄積を阻止することによって喘息およびアレルギーを処置、予防および／または診断するために使用され得る。アンタゴニストはまた、喘息の肺の顕著な特徴である上皮基底膜線維症を処置、予防および／または診断するために使用され得る。アンタゴニストはまた、リンパ腫（例えば、本明細書中に提供される1つ以上のリンパ腫の広い列挙（これに限定されない））を処置、予防および／または診断するために使用され得る。

【0453】

本発明のTR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2のポリヌクレオチドまたはTR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2のポリペプチド、ならびに／あるいはそれらのアゴニストおよび／またはアンタゴニストは、哺乳動物（好ましくはヒト）において、これらの障害と関連する種々の免疫系関連障害および／または状態を、処置、予防および／または診断するために使用され得る。多くの自己免疫障害は、免疫細胞により自己を外来物質として不適切に認識することから生じる。この不適切な認識は、宿主組織の破壊を導く免疫応答を生じる。従って、免疫応答（特にB細胞増殖および／または免疫グロブリンの産生）を阻害し得る本発明のTR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2のポリヌクレオチドまたはTR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2のポリペプチド、ならびに／あるいはそれらのアゴニストおよび／またはアンタゴニストの投与は、自己免疫障害の処置および／または予防における治療に効果的であり得る。従って、好ましい実施形態において、本発明のTR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2のアンタゴニスト（例えば、TR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2のポリペプチドフラグメントならびに抗TR2抗体）は、自己免疫障害の処置、予防および／または診断に使用される。

【0454】

本発明のTR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2のポリヌクレオチド、TR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2のポリペプチド、ならびに／あるいはTR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2のアンタゴニスト（例えば、抗TR2抗体）を用いて処置、予防および／または診断され得るこれらの障害と関連した、自己免疫障害および状態としては、以下が挙げられるがこれらに限定されない：自己免疫溶血性貧血、自己免疫性新生児血小板減少、特発性血小板減少症紫斑病（*idopathic thrombocytopenia purpura*）、自己免疫性血球減少症、溶血性貧血、抗リン脂質症候群、皮膚炎、アレルギー性脳脊髄炎、心筋炎、再発性多発性軟骨炎、リウマチ性心疾患、糸球体腎炎（例えば、IgAネフロパシー）、多発性

硬化症、神経炎、ブドウ膜結膜炎、多発性内分泌腺症、紫斑病（例えば、Henloch-Schoenlein紫斑病）、ライター病、スティッフマン症候群、自己免疫性肺炎、ギヤンバレー症候群、インスリン依存性糖尿病、および自己免疫炎症性眼疾患。

【0455】

本発明の組成物を用いて処置、予防および／または診断され得る（高度にありそうである）さらなる自己免疫障害としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：自己免疫性甲状腺炎、甲状腺機能不全症（すなわち、橋本甲状腺炎）、（しばしば、例えば、細胞媒介および体液性甲状腺細胞傷害性によって特徴付けられる）、全身性エリテマトーデス（しばしば、例えば、循環している免疫複合体および局所産生された免疫複合体によって特徴付けられる）、グッドパスチャー症候群（しばしば、例えば、抗基底膜抗体によって特徴付けられる）、天疱瘡（しばしば、例えば、表皮の棘融解抗体によって特徴付けられる）、例えば、（a）グレーヴズ病（しばしば、例えば、TSHレセプター抗体によって特徴付けられる）、（b）重症筋無力症（しばしば、例えば、アセチルコリンレセプター抗体によって特徴付けられる）、および（c）インスリン抵抗性（しばしば、例えば、インシュリンレセプター抗体によって特徴付けられる）のようなレセプター自己免疫、自己免疫性溶血性貧血（しばしば、例えば、抗体感作されたRBCの貪食作用によって特徴付けられる）、自己免疫性血小板減少性紫斑病（しばしば、例えば、抗体感作された血小板の貪食細胞によって特徴付けられる）。

【0456】

本発明の組成物を用いて処置、予防および／または診断され得る（高度にありそうである）さらなる自己免疫障害としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：慢性関節リウマチ（しばしば、例えば、関節における免疫複合体によって特徴付けられる）、抗コラーゲン抗体を有する強皮症（scleroderma）（しばしば、例えば、核小体および他の核抗体によって特徴付けられる）、混合結合組織病（しばしば、例えば、抽出可能な核抗原に対する抗体（例えば、リボ核タンパク質）によって特徴付けられる）、多発性筋炎／皮膚筋炎（しばしば、例えば、非ヒストンANAによって特徴付けられる）、悪性貧血（し

しばしば、例えば、抗壁細胞、ミクロソームおよび内性因子抗体によって特徴付けられる)、特発性アディソン病(しばしば、例えば、体液性および細胞媒介の副腎細胞傷害性によって特徴付けられる)、不妊症(しばしば、例えば、抗精子抗体によって特徴付けられる)、原発性糸球体腎炎およびIgAネフロパシーのような糸球体腎炎(しばしば、例えば、糸球体基底膜抗体または免疫複合体によって特徴付けられる)、水疱性類天疱瘡(しばしば、例えば、基底膜中のIgGおよび補体によって特徴付けられる)、シェーグレン症候群(しばしば、例えば、多発性組織抗体、および／または特異的非ヒストンANA(SS-B)によって特徴付けられる)、真性糖尿病(diabetes mellitus)(しばしば、細胞媒介および体液性の島細胞抗体によって特徴付けられる)、および喘息または嚢胞性線維症を伴うアドレナリン作用性薬物耐性を含むアドレナリン作用性薬物耐性(しばしば、 β -アドレナリン作用性レセプター抗体によって特徴付けられる)。

【0457】

本発明の組成物を用いて処置、予防および／または診断され得る(可能性のある)さらなる自己免疫障害としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない:慢性活動性肝疾患(しばしば、例えば、平滑筋抗体によって特徴付けられる)、原発性胆汁性肝硬変(しばしば、例えば、ミトコンドリア抗体によって特徴付けられる)、他の内分泌腺不全(しばしば、例えば、いくつかの場合において特定の組織抗体によって特徴付けられる)、白斑(しばしば、例えば、メラノサイト抗体によって特徴付けられる)、脈管炎(しばしば、例えば、脈管壁におけるIgおよび補体ならびに／または低血清補体によって特徴付けられる)、post-MI(しばしば、例えば、心筋層抗体によって特徴付けられる)、心臓切開症候群(しばしば、例えば、心筋層抗体によって特徴付けられる)、じんま疹(しばしば、例えば、IgEに対するIgGおよびIgM抗体によって特徴付けられる)、アトピー性皮膚炎(しばしば、例えば、IgEに対するIgGおよびIgM抗体によって特徴付けられる)、喘息(しばしば、例えば、IgEに対するIgGおよびIgMによって特徴付けられる)、炎症性筋障害、および多くの他の炎症性、肉芽腫性(granulomatous)、変性、および萎縮性の

障害。

【0458】

好ましい実施形態において、自己免疫疾患ならびに上記の疾患および障害に関連する障害および／または状態は、抗TR2抗体、抗TR2-SV1抗体および／または抗TR2-SV2抗体を用いて、処置、予防および／または診断される。

【0459】

特定の好ましい実施形態において、慢性関節リウマチは、本発明の抗TR2抗体、抗TR2-SV1抗体および／または抗TR2-SV2抗体ならびに／あるいは他のアンタゴニストを用いて、処置、予防およびまたは診断される。

【0460】

特定の好ましい実施形態において、狼瘡は、本発明の抗TR2抗体、抗TR2-SV1抗体および／または抗TR2-SV2抗体ならびに／あるいは他のアンタゴニストを用いて、処置、予防およびまたは診断される。

【0461】

特定の好ましい実施形態において、狼瘡と関連する腎炎は、本発明の抗TR2抗体、抗TR2-SV1抗体および／または抗TR2-SV2抗体ならびに／あるいは他のアンタゴニストを用いて、処置、予防および／または診断される。

【0462】

特定の実施形態において、TR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2のポリヌクレオチドまたはTR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2のポリペプチド、あるいはそれらのアンタゴニスト（例えば、抗TR2抗体、抗TR2-SV1抗体および／または抗TR2-SV2抗体）は、全身性エリテマトーデスを処置または予防するためおよび／あるいはそれと関連する疾患、障害もしくは状態を処理または予防するために使用される。本発明のTR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2のポリヌクレオチドまたはTR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2のポリペプチド、あるいはそれらのアンタゴニストを用いて処置または予防され得る、狼瘡関連の疾患、障害、または状態としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：血

液学的障害（例えば、溶血性貧血、白血球減少症、リンパ球減少症、および血小板減少症）、免疫学的障害（例えば、抗DNA抗体および抗Sm抗体）発疹、羞明、口の潰瘍、関節炎、熱、疲労、体重減少、漿膜炎（例えば、胸膜炎（胸膜炎（pleuricy））、腎障害（例えば、腎炎）、神経性障害（例えば、発作、末梢神経障害、CNS関連障害）、胃腸障害、レーノー現象、および心膜炎）。好ましい実施形態において、TR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2のポリヌクレオチドまたはTR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2のポリペプチド、あるいはそれらのアンタゴニスト（例えば、抗TR2抗体、抗TR2-SV1抗体および／または抗TR2-SV2抗体）は、全身性エリテマトーデス関連の腎障害を処置または予防するために使用され得る。最も好ましい実施形態において、TR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2のポリヌクレオチドまたはTR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2のポリペプチド、あるいはそれらのアンタゴニスト（例えば、抗TR2抗体、抗TR2-SV1抗体および／または抗TR2-SV2抗体）は、全身性エリテマトーデス関連の腎炎を処置または予防するために使用される。

【0463】

同様に、ぜん息（特にアレルギー性ぜん息）または他の呼吸の問題のような、アレルギー反応およびアレルギー状態もまた、本発明のTR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2のポリヌクレオチドまたはTR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2のポリペプチド、ならびに／あるいはそれらのアゴニストおよび／またはアンタゴニストにより処置され得る。さらに、これらの分子を使用し、抗原性分子に対するアナフィラキシー、過敏症または血液型不適合性を処置、予防および／または診断し得る。

【0464】

本発明のTR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2のポリヌクレオチドまたはTR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2のポリペプチド、ならびに／あるいはそれらのアゴニストおよび／またはアンタゴニストをまた使用し、器官拒絶または対宿主性移植片病（GVHD）および／またはそれと関連する状態を、処置、予防および／または診断し得る。器官拒絶は、免

疫応答を介して移植組織の宿主免疫細胞破壊によって起こる。同様に、免疫応答はまた、GVHDに関与しているが、この場合、外来性の移植免疫細胞が宿主組織を破壊する。免疫応答（特に、T細胞の増殖、分化または走化性）を阻害する、本発明のTR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2のポリヌクレオチドまたはTR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2のポリペプチド、ならびに／あるいはそれらのアゴニストおよび／またはアンタゴニストの投与は、器官拒絶またはGVHDの予防において効果的な治療であり得る。

【0465】

同様に、本発明のTR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2のポリヌクレオチドまたはTR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2のポリペプチド、ならびに／あるいはそれらのアゴニストまたはアンタゴニストをまた使用して、炎症を調節し得る。例えば、本発明のTR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2のポリヌクレオチドまたはTR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2のポリペプチド、ならびに／あるいはそれらのアゴニストまたはアンタゴニストは、炎症応答に関与する細胞の増殖および分化を阻害し得る。これらの分子を使用して、慢性前立腺炎、肉芽腫性前立腺炎、マラコプラキア、感染に関連する炎症（例えば、敗血症性ショック、敗血症、または全身炎症応答症候群（SIRS））、虚血再灌流傷害に関連する炎症、内毒素致死に関連する炎症、関節炎に関連する炎症、補体媒介性超急性拒絶に関連する炎症、腎炎に関連する炎症、サイトカインまたはケモカインが誘導する肺傷害に関連する炎症、炎症性腸疾患に関連する炎症、クローン病に関連する炎症またはサイトカイン（例えば、TNFまたはIL-1）の過剰生成から生じる炎症を含む、慢性および急性の両方の状態の炎症状態を処置、予防および／または診断し得る。

【0466】

特定の実施形態において、本発明の抗TR2抗体、抗TR2-SV1抗体および／または抗TR2-SV2抗体は、炎症を処置、予防、調節、検出および／または診断するために使用される。

【0467】

特定の実施形態において、本発明の抗TR2抗体、抗TR2-SV1抗体および／または抗TR2-SV2抗体は、炎症性障害を処置、予防、調節、検出および／または診断するために使用される。

【0468】

別の特定の実施形態において、本発明の抗TR2抗体、抗TR2-SV1抗体および／または抗TR2-SV2抗体は、アレルギーおよび過敏症を処置、予防、調節、検出および／または診断するために使用される。

【0469】

TR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2に対する抗体は、ARDSを処置、予防および／または診断するために、障害の後に好中球の肺への浸潤を阻害することによって、TR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2の活性に結合し、そしてTR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2を阻害するために使用され得る。本発明のアゴニストおよびアンタゴニストは、例えば、本明細書中以後に記載されるように薬学的に受容可能なキャリアと共に組成物中に使用され得る。

【0470】

本発明のTR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2および／もしくはTR2レセプターのポリヌクレオチドまたはTR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2および／もしくはTR2レセプターのポリペプチド、ならびに／あるいはそれらのアゴニストまたはアンタゴニストは、肺性システムの疾患および障害（例えば、洞肺感染および気管支感染のような気管支）ならびにそのような疾患および障害と関連する状態、ならびに他の気管支疾患および障害を、処置、予防および／または診断するために使用される。特定の実施形態において、そのような疾患および障害としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：気管支腺腫、気管支ぜん息（例えば、気管支肺炎（*bronchial pneumonia*、*bronchopneumonia*）および結核性気管支肺炎など）、慢性閉塞性肺疾患（COPD）、気管支ポリープ、気管支拡張症（例えば、乾性気管支拡張症、円柱状気管支拡張症および嚢胞状気管支拡張症など）、細気管支腺癌、細気管支癌、細気管支炎（例えば、滲出性細気管支

炎、閉塞性線維性細気管支炎および増殖性細気管支炎など）、細気管支肺胞癌腫（*bronchiolo-alveolar carcinoma*）、気管支炎性ぜん息、気管支炎（例えば、ぜん息性気管支炎、カステラーニ気管支炎、慢性気管支炎、クループ性気管支炎、線維素性気管支炎、出血性気管支炎、鳥類の伝染性気管支炎、閉塞性気管支炎、形成性気管支炎、偽膜性気管支炎、腐敗性気管支炎および寄生虫性気管支炎など）、気管支中心性肉芽腫症、気管支浮腫、気管食道瘻、気管支原生癌、気管支性嚢胞、気管支結石症、気管支軟化症、気管支真菌症（例えば、気管支肺アスペルギルス症など）、気管支肺スピロヘータ症、出血性気管支炎、気管支漏、気管支痙攣、気管支滴状出血、気管支狭窄、ビオー呼吸、気管支呼吸、クスマウル呼吸、クスマウルーキーン（*Kien*）呼吸、呼吸性アシドーシス、呼吸性アルカローシス、新生児呼吸窮迫症候群、呼吸機能不全、上気道硬化症、RSウイルスなど。

【0471】

特定の実施形態において、本発明のTR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2のポリヌクレオチドまたはTR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2のポリペプチド、ならびに／あるいはそれらのアゴニストおよび／またはアンタゴニストは、慢性閉塞性肺疾患（COPD）を処置、予防および／または診断するために使用される。

【0472】

別の実施形態において、本発明のTR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2のポリヌクレオチドまたはTR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2のポリペプチド、ならびに／あるいはそれらのアゴニストおよび／またはアンタゴニストは、例えば、嚢胞性線維症（例えば、腭臓の嚢胞性線維症、クラークーハッドフィールド症候群、腭臓の線維性嚢胞疾患、ムコビシドーシスおよび粘液過剰症のような線維症（*fibroses*）を含む）、心内膜心筋線維症、特発性腹膜後線維症、軟膜線維症、縦隔線維症、結節性表皮下線維組織増殖症、中心静脈周囲線維化、筋周囲線維化、パイプ軸線維症、置換性線維形成、外膜下線維症およびシンマーズ陶製パイプ柄状線維症のような線維症（*fibroses*）（しかし、これらに限定されない）と関連する線維症および状

態を、処置、予防および／または診断するために使用される。

【0473】

TNFファミリーリガンドは、最も多面発現性のサイトカインであることが公知であり、多数の細胞応答（細胞傷害性、抗ウイルス活性、免疫調節活性、およびいくつかの遺伝子の転写調節を含む）を誘導する（D. V. Goeddelら、「Tumor Necrosis Factors: Gene Structure and Biological Activities」、Symp. Quant. Biol. 51:597-609 (1986)、Cold Spring Harbor; B. Beutler, およびA. Cerami、Ann. Rev. Biochem. 57:505-518 (1988); L. J. Old、Sci. Am. 258:59-75 (1988); W. Fiers、FEBS Lett. 285:199-224 (1991)）。本発明のTR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2のポリペプチドを含むTNFファミリーリガンドは、TNFファミリーレセプターに結合することによって、このような種々の細胞応答を誘導する。TR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2のポリペプチドは、細胞、細胞株、組織、組織培養または患者に対する、任意の遺伝子型変化、表現型変化および／または形態学的変化を含む強力な細胞応答を誘発すると考えられている。示したように、そのような細胞応答は、TNFファミリーリガンドに対する正常な生理学的応答のみでなく、増加したアポトーシスおよびアポトーシスの阻害に関連する疾患を含む。アポトーシス（プログラムされた細胞死）は、免疫系の末梢Bリンパ球および／またはTリンパ球の欠失に関与する生理学的機構であり、そしてアポトーシスを調節できないこと、多くの異なる病原性プロセスを導き得る（J. C. Ameisen、AIDS 8:1197-1213 (1994); P. H. Krammerら、Curr. Opin. Immunol. 6:279-289 (1994)）。

【0474】

本発明のTR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2のポリヌクレオチドまたはTR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2のポリペプチド、ならびにそれらのアゴニストおよびアンタゴニストを用いて、診断、

処置または予防され得る、増加した細胞生存またはアポトーシスの阻害と関連する疾患としては、癌（例えば、濾胞性リンパ腫、p53変異を伴う癌腫およびホルモン依存性腫瘍（結腸癌、心腫瘍、膵臓癌、黒色腫、網膜芽細胞腫、神経膠芽細胞腫、肺癌、腸癌、精巣癌、胃癌、神経芽細胞腫、粘液腫、筋腫、リンパ腫、内皮腫、骨芽細胞腫、骨巨細胞腫、骨肉腫、軟骨肉腫、腺腫、乳癌、前立腺癌、カポジ肉腫および卵巣癌を含むが、これらに限定されない））；自己免疫障害（例えば、全身性エリテマトーデスおよび免疫関連糸球体腎炎慢性関節リウマチ）；ウイルス感染（例えば、ヘルペスウイルス、ポックスウイルスおよびアデノウイルス）；炎症；対宿主性移植片病；急性移植片拒絶および慢性移植片拒絶が挙げられる。従って、好ましい実施形態において、本発明のTR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2のポリヌクレオチドまたはTR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2のポリペプチド、ならびに／あるいはそれらのアゴニストまたはアンタゴニストは、自己免疫疾患を処置、予防および／または診断するため、そして／あるいは、本明細書中に開示のこれらの癌（例えば、リンパ球白血病（例えば、MLLおよび慢性リンパ球性白血病（CLL））および濾胞性リンパ腫）を含むがこれらに限定されない癌の増殖、進行および／転移を阻害するために使用される。別の実施形態において、本発明のTR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2のポリヌクレオチドまたはTR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2のポリペプチドは、癌性細胞または組織（例えば、B細胞系列関連癌（例えば、CLLおよびMLL）、リンパ球性白血病またはリンパ腫）を活性化、分化または増殖するために使用され、それによって、それらの細胞を癌治療（例えば、化学療法または放射線療法）に対してより脆弱にする。

【0475】

さらに、他の実施形態において、本発明のTR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2のポリヌクレオチドまたはTR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2のポリペプチド、ならびに／あるいはそれらのアゴニストまたはアンタゴニストは、悪性疾患の増殖、進行および／または転移を阻害するために使用され、そして、白血病（急性白血病（例えば、急性リンパ球性白

血病、急性骨髄性白血病（骨髄芽球性白血病、前骨髄球性白血病、骨髄単球性白血病、単球性白血病および赤白血病を含む）および慢性白血病（例えば、慢性骨髄性（顆粒球性）白血病および慢性リンパ急性白血病））、真性赤血球増加症、リンパ腫（例えば、ホジキン病および非ホジキン病）、多発性骨髄腫、ヴァルデンストレームマクログロブリン血症、重鎖疾患および固体腫瘍（線維肉腫、粘液肉腫、脂肪肉腫、軟骨肉腫、骨原性肉腫、脊索腫、血管肉腫、内皮肉腫、リンパ管肉腫、リンパ管内皮腫、骨膜腫、中皮腫、ユーイング腫瘍、平滑筋肉腫、横紋筋肉腫、結腸癌腫、膵臓癌、乳癌、卵巣癌、前立腺癌、扁平上皮癌、基底細胞癌、腺癌、汗腺癌、皮脂腺癌、乳頭状癌、乳頭状腺癌、嚢胞腺癌、髄様癌、気管支原生癌、腎細胞癌、肝細胞癌、胆管癌、絨毛癌、精上皮腫、胎生期癌、ウィルムス腫瘍、子宮頸管、精巣癌、肺癌、小細胞肺癌、膀胱癌、上皮癌、神経膠腫、神経膠星状細胞腫、髄芽細胞腫、頭蓋咽頭腫、脳室上衣細胞腫、松果体腫、血管芽細胞腫、聴神経腫、乏突起神経膠腫、髄膜腫（menangioma）、黒色腫、神経芽細胞腫および網膜芽細胞腫のような肉腫および癌腫を含むが、これらに限定されない）のような関連する障害を阻害するために使用される。

【0476】

本発明のTR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2のポリヌクレオチドまたはTR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2のポリペプチド、ならびに／あるいはそれらのアゴニストまたはアンタゴニストを用いて診断、処置または予防され得る増加したアポトーシスと関連する疾患としては、AIDS；神経変性疾患（例えば、アルツハイマー病、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症、色素性網膜炎、小脳性変性）；脊髄形成異常症候群（例えば、再生不良性貧血）、虚血性創傷（心筋梗塞、発作および再灌流障害によって生じるような創傷）、毒素誘導肝疾患（例えば、アルコールによって生じるような疾患）、敗血症性ショック、悪液質、食欲不振が挙げられる。従って、本発明のTR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2のポリヌクレオチドまたはTR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2のポリペプチド、ならびに／あるいはそれらのアゴニストまたはアンタゴニストは、上記の疾患および障害を処置、予防および／または診断するために使用される。

【0477】

好ましい実施形態において、本発明のTR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2のポリペプチド、ならびに／あるいはそれらのアゴニストまたはアンタゴニスト（例えば、抗TR2抗体）は、ヒト細網肉腫U937細胞の増殖を用量依存的様式で阻害する。さらなる好ましい実施形態において、本発明のTR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2のポリペプチド、ならびに／あるいはそれらのアゴニストまたはアンタゴニスト（例えば、TR2抗体）は、PC-3細胞、HT-29細胞、HeLa細胞、MCF-7細胞およびA293細胞の増殖を阻害する。高度に好ましい実施形態において、本発明のTR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2のポリヌクレオチドまたはTR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2のポリペプチド、ならびに／あるいはそれらのアゴニストまたはアンタゴニスト（例えば、TR2抗体）は、前立腺癌、結腸癌、頸部癌腫および乳癌の増殖、進行および／または転移を阻害する。

【0478】

従って、さらなる好ましい実施形態において、本発明は、TNFファミリーリガンドによって誘導されるアポトーシスを増強するための方法に関し、この方法は、TR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2のレセプターを発現する細胞にTR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2媒介シグナル伝達を増加または減少し得る有効量のTR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2もしくはそれらのアゴニストまたはアンタゴニストを投与する工程を包含する。好ましくは、TR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2媒介シグナル伝達は、疾患を処置、予防および／または診断するために増加あるいは減少され、ここで、減少したアポトーシスまたは減少したサイトカインおよび付着分子の発現が示される。アゴニストまたはアンタゴニストは、TR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2の可溶性形態ならびにTR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2のポリペプチドに対するモノクローナル抗体を含み得る。

【0479】

さらなる局面において、本発明は、TNFファミリーリガンドによって誘導されるアポトーシスを阻害するための方法に関し、この方法は、TR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2のレセプターを発現する細胞にTR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2媒介シグナル伝達を増加または減少し得る有効量のアゴニストまたはアンタゴニストを投与する工程を包含する。好ましくは、TR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2媒介シグナル伝達は、疾患を処置、予防および／または診断するために増加または減少され、ここで、増加したアポトーシスまたはNF-κB発現が示される。アゴニストまたはアンタゴニストは、TR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2の可溶性形態ならびにTR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2のポリペプチドに対するモノクローナル抗体を含み得る。

【0480】

TR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2がTNFスーパーファミリーに属するので、このポリペプチドはまた、新脈管形成を調節し得る。さらに、TR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2は免疫細胞機能を阻害するので、このポリペプチドは、広範な抗炎症性活性を有する。TR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2は、宿主防御細胞（例えば、細胞障害性T細胞およびマクロファージ）の浸潤および活性化を刺激することによって、そして腫瘍の新脈管形成を阻害することによって、固体腫瘍を処置、予防および／または診断するために抗新生血管形成剤として使用され得る。当業者は、血管増殖が所望されない他の非癌適用を認識する。これらはまた、耐性慢性感染および急性感染（例えば、殺菌性白血球の誘因および活性を介したマイコバクテリア感染）に対する宿主防御を増強するために使用され得る。TR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2はまた、T細胞媒介自己免疫疾患およびリンパ球性白血病（例えば、慢性リンパ球性白血病（CLL）を含む）の処置のために、IL-2生合成の阻害によってT細胞増殖を阻害するために使用され得る。TR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2はまた、細片除去および結合組織促進炎症細胞の両方の漸増を介して、創傷治癒を刺激するために使用され得る。これと同様の様式において、TR2、TR2-SV1および／またはTR

2-SV2はまた、他の線維症性障害（肝硬変、変形性関節症および肺線維症を含む）を処置、予防および／または診断するために使用され得る。TR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2はまた、組織に侵入する寄生虫の幼虫（例えば、住血吸虫症、旋毛虫症および回虫症）を殺傷する特有の機能を有する好酸球の存在を増加させる。これはまた、種々の造血前駆細胞の活性化および分化を制御すること（例えば、化学療法に続いて成熟白血球を骨髓から放出する（すなわち、幹細胞の可動化））によって、造血を調節するために使用され得る。TR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2はまた、敗血症を処置、予防および／または診断するために使用され得る。

【0481】

本発明のポリヌクレオチドおよび／またはポリペプチド、ならびに／あるいはそれらのアゴニストまたはアンタゴニストは、新脈管形成、創傷治癒（例えば、創傷、やけど、および骨折）の促進および造血の調節において有用である。本発明のポリヌクレオチドおよび／またはポリペプチド、ならびに／あるいはそれらのアゴニストおよび／またはアンタゴニストはまた、特定の抗原、抗ウイルス免疫応答に対する免疫応答性を増強するためのアジュバントとして有用である。

【0482】

より一般的には、本発明のポリヌクレオチドおよび／もしくはそのポリペプチドならびに／あるいはそのアゴニストおよび／もしくはアンタゴニストは、免疫応答を調節する（すなわち、上昇または減少させる）際に有用である。例えば、本発明のポリヌクレオチドおよび／またはポリペプチドは、手術、外傷、放射線治療、化学療法、および移植からの準備または回復において有用であり得るか、あるいは、高齢および免疫無防備状態の個体において免疫応答および／または回復をブーストするために使用され有る。あるいは、本発明のポリヌクレオチドおよび／もしくはポリペプチドならびに／またはそのアゴニストおよび／もしくはアンタゴニストは、例えば、自己免疫障害の処置または予防における免疫抑制剤として有用である。特定の実施形態において、本発明のポリヌクレオチドおよび／またはポリペプチドは、慢性的炎症、アレルギーまたは自己免疫状態（例えば、本明細書中に記載されるか、またはさもなくば当該分野で公知の状態）を処置

または予防するために使用される。

【0483】

好ましくは、TR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2のポリヌクレオチドまたはポリペプチド、ならびに／またはTR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2のアゴニストもしくはアンタゴニスト（例えば、抗TR2抗体）を用いた処置は、有効量の本発明のTR2、TR2-SV1および／もしくはTR2-SV2のポリペプチド、またはそのアゴニストもしくはアンタゴニストの患者への投与によるか、あるいは患者から細胞を取り出し、TR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2のポリヌクレオチドをこの細胞に供給し、そしてこの患者へこの操作された細胞を戻すこと（エキソビボ治療）によるかのいずれかであり得る。さらに、本明細書中でさらに議論されるように、TR2、TR2-SV1および／またはTR2-SV2のポリペプチドまたはポリヌクレオチドは、感染性疾患に対する免疫応答を惹起するために、ワクチンにおけるアジュバントとして使用され得る。

【0484】

このアゴニストおよびアンタゴニストは、（例えば、本明細書中に記載されるような）薬学的に受容可能なキャリアを有する組成物において用いられ得る。

【0485】

上記の全ての適用は、獣医学的医療ならびにヒト処置レジメンにおいて使用され得る。

【0486】

上記に列挙した適用は、種々の広範な宿主において用途がある。このような宿主としては、以下が挙げられるがこれらに限定されない：ヒト、マウス、ウサギ、ヤギ、モルモット、ラクダ、ウマ、マウス、ラット、ハムスター、ブタ、ミニブタ（micro-pig）、ニワトリ、ヤギ、ウシ、ヒツジ、イヌ、ネコ、非ヒト霊長類およびヒト。特定の実施形態において、宿主はマウス、ウサギ、ヤギ、モルモット、ニワトリ、ラット、ハムスター、ブタ、ヒツジ、イヌまたはネコである。好ましい実施形態において、宿主は哺乳動物である。最も好ましい実施形態において、宿主はヒトである。

【0487】

(心臓血管傷害)

本発明のTR2ポリヌクレオチド、ポリペプチド、アゴニストまたはアンタゴニストは、心臓血管障害（肢虚血のような末梢動脈疾患を含む）を処置するために使用され得る。

【0488】

心臓血管障害としては、動動脈瘻（arterio-arterial fistula）、動静脈瘻、大脳動静脈先天異常、先天性心欠陥（congenital heart defects）、肺動脈弁閉鎖症、およびシミター症候群のような心臓血管異常が挙げられる。先天性心欠陥としては、大動脈縮窄、三房心、冠状脈管奇形（coronary vessel anomalies）、交差心、右胸心、開存性動脈管（patent ductus arteriosus）、エブスタイン奇形、アイゼンメンガー複合体、左心室発育不全症候群、左胸心、ファロー四徴症、大血管転位症、両大血管右室起始症、三尖弁閉鎖症、動脈管遺残、および心中隔欠損症（heart septal defects）（例えば、大動脈肺動脈中隔欠損症（aortopulmonary septal defect）、心内膜床欠損症、リュタンバッシュ症候群、ファロー三徴症、心室心中隔欠損症（ventricular heart septal defects））が挙げられる。

【0489】

心臓血管障害としてはまた、不整脈、カルチノイド心臓病、高心拍出量（high cardiac output）、低心拍出量（low cardiac output）、心タンポナーデ、心内膜炎（細菌性を含む）、心臓動脈瘤、心停止、うっ血性心不全、うっ血性心筋症、発作性呼吸困難、心臓水腫、心肥大、うっ血性心筋症、左心室肥大、右心室肥大、梗塞後心破裂（post-infarction heart rupture）、心室中隔破裂、心臓弁疾患、心筋疾患、心筋虚血、心内膜液浸出、心外膜炎（梗塞性および結核性を含む）、気心膜症、心膜切開後症候群、右心疾患、リウマチ性心疾患、心室機能不全、充血、心臓血管妊娠合併症（cardiovascular pregnancy

complications)、シミター症候群、心血管梅毒、および心血管結核(cardiovascular tuberculosis)のような心臓病が挙げられる。

【0490】

不整脈としては、洞性不整脈、心房性細動、心房粗動、徐脈、期外収縮、アダムズ・ストークス症候群、脚ブロック、洞房ブロック、長QT症候群(long QT syndrome)、副収縮、ローネーギャノングレーヴァイン症候群、マヘーム型早期興奮症候群(Mahaim-type pre-excitation syndrome)、ウルフーパーキンソン・ホワイト症候群、洞不全症候群、頻拍、および心室性細動が挙げられる。頻拍としては、発作性頻拍、上室性頻拍、心室固有調律促進、房室結節性再入頻拍(atrioventricular nodal reentry tachycardia)、異所心房性頻拍、異所接合部頻拍、洞房結節性再入頻拍(sinoatrial nodal reentry tachycardia)、洞性頻拍、トルサード・ド・ポワント、および心室性頻拍が挙げられる。

【0491】

心臓弁疾患としては、大動脈弁機能不全症、大動脈弁狭窄症、心雑音(heart murmurs)、大動脈弁逸脱症、僧帽弁逸脱症、三尖弁逸脱症、僧帽弁機能不全、僧帽弁狭窄症、肺動脈弁閉鎖症、肺動脈弁機能不全、肺動脈弁狭窄症、三尖閉鎖症、三尖弁機能不全、および三尖弁狭窄症が挙げられる。

【0492】

心筋疾患としては、アルコール性心筋症、うっ血性心筋症、肥大型心筋症、弁下部性大動脈狭撃症、弁下部性肺動脈狭撃症、拘束型心筋症、シャーガス心筋症、心内膜線維弾性症、心内膜心筋線維症、キーンズ症候群、心筋再灌流障害、および心筋炎が挙げられる。

【0493】

心筋性虚血としては、狭心症、冠動脈瘤、冠動脈硬化、冠動脈血栓症、冠動脈血管痙攣、心筋梗塞、および心筋気絶(myocardial stunning)のような冠動脈疾患が挙げられる。

【0494】

心臓血管疾患としてはまた、動脈瘤、血管形成異常、血管腫症、細菌性血管腫症状、ヒッペルーリンダラ疾患（Hippel-Lindau Disease）、クリペルトルノネーウェーバー症候群、スタージーウェーバー症候群、血管運動神経性水腫、大動脈疾患、高安動脈炎、大動脈炎、ルリーシュ症候群、動脈閉塞疾患、動脈炎、動脈内膜炎（*enarteritis*）、結節性多発性動脈炎、脳血管障害、糖尿病性血管障害、糖尿病性網膜症、塞栓症、血栓症、先端紅痛症、痔、肝静脈閉塞障害、高血圧、低血圧、虚血、末梢血管障害、静脈炎、肺静脈閉塞疾患、レーノー病、CREST症候群、網膜静脈閉塞、シミター症候群、上大静脈症候群、毛細血管拡張症、毛細血管拡張性運動失調（*ataxia telangiectasia*）、遺伝性出血性毛細管拡張症、精索静脈瘤、拡張蛇行静脈、静脈瘤性潰瘍、脈管炎、および静脈機能不全のような血管疾患が挙げられる。

【0495】

動脈瘤としては、解離性動脈瘤、偽動脈瘤、感染した動脈瘤、破裂した動脈瘤、大動脈性動脈瘤、大脳性動脈瘤、冠動脈瘤、心動脈瘤、および腸骨性動脈瘤が挙げられる。

【0496】

動脈閉塞疾患としては、動脈硬化症、間欠性跛行、頸動脈狭窄症、線維筋性形成異常、腸間膜性血管閉塞、モヤモヤ病、腎動脈閉塞、網膜動脈閉塞、および閉塞性血栓性血管炎が挙げられる。

【0497】

脳血管障害としては、頸動脈疾患、脳のアミロイド血管症、大脳動脈瘤、大脳無酸素症、大脳動脈硬化、大脳動静脈先天異常、大脳動脈疾患、大脳の閉塞症および血栓症、頸動脈血栓症、洞血栓症、ヴァレンベルク症候群、大脳出血、硬膜上血腫、硬膜下血腫、クモ膜下出血（*subarachnoid hemorrhage*）、大脳梗塞、大脳虚血（一過性を含む）、鎖骨下動脈盗血症候群、室周白軟化症（*periventricular leukomalacia*）、血管性頭痛、群発性頭痛、片頭痛、および椎骨基部（*vertebrobasilar*）

lar) 機能不全が挙げられる。

【0498】

塞栓症としては、空気塞栓症、羊水塞栓症、コレステロール塞栓症、爪先チアノーゼ症候群、脂肪塞栓症、肺動脈塞栓症、および血栓塞栓症が挙げられる。血栓症としては、冠状動脈血栓症、肝静脈血栓症、網膜静脈閉塞、頸動脈血栓症、洞血栓症、ヴァレンベルク症候群、および血栓性静脈炎が挙げられる。

【0499】

虚血としては、大脳虚血、虚血性大腸炎、区画症候群、前区画症候群、心筋虚血、再灌流傷害、および末梢四肢虚血が挙げられる。脈管炎としては、大動脈炎、動脈炎、ベーチェット (Behcet) 症候群、チャーグストラウス症候群、皮膚粘膜リンパ節症候群、閉塞性血栓性血管炎、過敏性血管炎、シェーンライン紫斑病 (Schoenlein-Henoch purpura)、アレルギー性皮膚血管炎およびヴェーゲナー肉芽腫症が挙げられる。

【0500】

一つの実施形態において、本発明のTR2レセプターポリヌクレオチド、ポリペプチド、アゴニストまたはアンタゴニストは、血栓性微小血管症の処置のために使用される。このような障害の一つは、血栓性血小板減少性紫斑病 (TTP) である (Kwaan, H. C.、Semin. Hematol. 24:71 (1987); Thompsonら、Blood 80:1890 (1992))。漸増TTP関連死亡率が、U. S. Centers for Disease Controlによって報告されている (Torokら、Am. J. Hematol. 50:84 (1995))。TTPで冒された患者 (HIV+およびHIV-患者を含む) 由来の血漿は、皮膚の微小血管起源のヒト内皮細胞のアポトーシスを誘導するが、大血管起源のヒト内皮細胞のアポトーシスは誘導しない (Laurenceら、Blood 87:3245 (1996))。従って、TTP患者の血漿は、直接的または間接的にアポトーシスを誘導する1つ以上の因子を含むと考えられる。別の血栓微小血管症は、溶血性尿毒症症候群 (HUS) である (Moake, J. L.、Lancet、343:393、(1994); Melnykら、Arch. Intern. Med.、155:2077、(1

995) ; Thompsonら、前出)。従って、一つの実施形態において、本発明は、しばしば、「成人HUS」（子供も同様に襲われ得るが）といわれる状態を処置するためのTR2レセプターの使用に関する。小児期／下痢に関連するHUSとして公知の障害は、成人HUSとは病因において異なる。別の実施形態において、小血管の凝固によって特徴付けられる状態は、TR2レセプターを使用して処置され得る。このような状態としては、本明細書中に記載される状態が挙げられるが、これらに限定されない。例えば、約5～10%の小児AIDS患者において見られる心臓の問題は、小血管の凝固が関与すると考えられる。心臓における微小血管の崩壊が、多発性硬化症患者において報告されている。さらなる例としては、全身性紅斑性狼瘡（SLE）の処置が意図される。一つの実施形態において、患者の血液または血漿は、エキソビボで、本発明のTR2レセプターポリペプチドと接触される。本発明のTR2レセプターポリペプチドは、当該分野で公知の技術を使用して、適切なクロマトグラフィーマトリックスに結合され得る。この実施形態に従って、患者の血液または血漿は、患者に戻される前に、マトリックスに結合した本発明のTR2レセプターポリヌクレオチドおよび／またはポリペプチドを含むクロマトグラフィーカラムを通して流れる。固定されたTR2レセプターは、AIM IIに結合し、従って、患者の血液からAIM IIタンパク質を取り除く。あるいは、本発明のTR2レセプターポリヌクレオチド、ポリペプチド、アゴニストまたはアンタゴニストは、血栓性微小血管症に冒された患者にインビボで投与され得る。一つの実施形態において、本発明のTR2レセプターポリペプチドの可溶性形態が、患者に投与される。従って、本発明は、有効量のTR2ポリペプチドレセプターポリヌクレオチド、ポリペプチド、アゴニストまたはアンタゴニストの使用を含む、血栓性微小血管症を処置するための方法を提供する。TR2レセプターポリペプチドは、インビボ手順またはエキソビボ手順で使用され、（例えば、アポトーシスの）微小血管内皮細胞に対するAIM-II媒介性損傷を阻害し得る。

【0501】

理論に束縛されることを意図しないが、TR2を発現する細胞は、AIM IIを発現する細胞と相互作用すると考えられる。

【0502】

本発明のTR2レセプターポリヌクレオチド、ポリペプチド、アゴニストまたはアンタゴニストは、特定の障害を処置する際に有用な他の薬剤と組合わせて使用され得る。例えば、Laurenceら、Blood 87:3245 (1996) によって報告されたインビトロ研究において、微小血管内皮細胞のTTP血漿媒介アポトーシスのいくぶんかの減少が、抗Fasブロッキング抗体、オーリントリカルボン酸、または寒冷沈降物を枯渇した正常血漿を使用することによって達成された。従って、患者は、内皮細胞のFasリガンド媒介アポトーシスを阻害する薬剤（例えば、上記に記載した薬剤）と組み合わせて、本発明のポリヌクレオチドおよび／またはポリペプチドで処置され得る。1つの実施形態において、TR2レセプターポリヌクレオチド、ポリペプチド、アゴニストまたはアンタゴニストおよび抗FASブロッキング抗体の両方は、TTPまたはHUSのような血栓性細小血管症によって特徴付けられる障害に罹患した患者に投与される。Fas抗原（CD95）を指向するブロッキングモノクローナル抗体の例は、本明細書中に参考として援用される、WO95/10540において記載される。

【0503】

内因性刺激因子と新脈管形成のインヒビターとの間の天然に存在するバランスは、阻害的な影響が優勢であるものである。Rastinejadら、Cell 56:345-355 (1989)。新生血管形成が通常の生理学的条件下（例えば、創傷治癒、組織再生、胚発生、および女性の生殖プロセス）で起こるまれな例において、新脈管形成は、厳密に調節され、そして空間的かつ時間的に限定される。固形腫瘍増殖を特徴付けるような病理学的な新脈管形成の条件下で、これらの調節制御は失敗する。

【0504】

調節されない新脈管形成は、病理学的になり、そして多くの腫瘍性疾患および非腫瘍性疾患の進行を持続する。多くの重篤な疾患は、異常な新生血管形成（固形腫瘍増殖および転移、関節炎、いくつかの型の眼の障害、および乾癬を含む）によって支配される。例えば、Mosesら、Biotech. 9:630-6

34 (1991) による概説; Folkmanら、N. Engl. J. Med. 333:1757-1763 (1995); Auerbachら、J. Microvasc. Res. 29:401-411 (1985); Folkman、Advances in Cancer Research、KleinおよびWeinhouse編、Academic Press、New York、175-203頁 (1985); Patz、Am. J. Ophthalmol. 94:715-743 (1982); およびFolkmanら、Science 221:719-725 (1983) を参照のこと。多くの病理学的な状態において、新脈管形成のプロセスは、疾患状態に寄与する。例えば、固形腫瘍の増殖が新脈管形成に依存していることを示唆する有意なデータが蓄積されている。FolkmanおよびKlagsbrun、Science 235:442-447 (1987)。

【0505】

本発明は、本発明のTR2レセプターポリヌクレオチドおよび／またはポリペプチド (TR2レセプターアゴニストおよび／またはアンタゴニストを含む) の投与による新生血管形成に関連する疾患または障害の処置を提供する。本発明のポリヌクレオチドおよびポリペプチドを用いて処置され得る悪性および転移性の状態には、本明細書中に記載され、そしてさもなくば当該分野で公知の悪性疾患、固形腫瘍、および癌が含まれるがこれらに限定されない (このような障害の概説としては、Fishmanら、Medicine、第2版、J. B. Lippincott Co.、Philadelphia (1985) を参照のこと)。

【0506】

さらに、本発明のTR2レセプターポリヌクレオチドおよびポリペプチド (TR2レセプターアゴニストおよびTR2レセプターアンタゴニストを含む) で処置され得る、新生血管形成と関連した眼の障害としては、血管新生緑内障、糖尿病性網膜症、網膜芽細胞腫、水晶体後線維増殖症、ブドウ膜炎、未熟児黄斑変性の網膜症、角膜移植新生血管形成、ならびに他の眼の炎症性疾患、眼の腫瘍、および脈絡膜または虹彩の新生血管形成に関連する疾患が挙げられるがこれらに限

定されない。例えば、Wal tmanら、Am. J. Ophthal. 85:704-710 (1978) による概説、およびGartnerら、Surv. Ophthal. 22:291-312 (1978) を参照のこと。

【0507】

さらに、本発明のTR2レセプターポリヌクレオチドおよびポリペプチド（TR2レセプターアゴニストおよびTR2レセプターアンタゴニストを含む）を用いて処置され得る障害としては、血管腫、関節炎、乾癬、血管線維腫、アテローム硬化性斑、創傷治癒の遅延、顆粒化、血友病性関節、過形成性癭痕、偽関節破壊、オースラー-ウェーバー症候群、化膿性肉芽腫、強皮症、トラコーマ、および脈管接着が挙げられるがこれらに限定されない。

【0508】

本発明のポリヌクレオチドおよび／またはポリペプチド、ならびに／あるいはそのアゴニストおよび／またはアンタゴニストは、広範な疾患および／または状態の診断および処置または予防において有用である。このような疾患および状態には、癌（例えば、免疫細胞関連癌、乳癌、前立腺癌、卵巣癌、濾胞性リンパ腫、p53の変異または変化に関連した癌、脳腫瘍、膀胱癌、子宮頸部癌、大腸癌、結腸直腸癌、肺の非小細胞癌、肺の小細胞癌、胃癌など）、リンパ増殖性障害（例えば、リンパ節症）、微生物（例えば、ウイルス、細菌など）感染（例えば、HIV-1感染、HIV-2感染、ヘルペスウイルス感染（HSV-1、HSV-2、CMV、VZV、HHV-6、HHV-7、EBVを含むがこれらに限定されない）、アデノウイルス感染、ポックスウイルス感染、ヒトパピローマウイルス感染、肝炎感染（例えば、HAV、HBV、HCVなど）、Helicobacter pylori感染、侵襲性Staphylococciなど）、寄生生物感染、腎炎、骨疾患（例えば、骨粗しょう症）および骨形成（例えば、破骨細胞分化の調節）、アテローム性動脈硬化症、疼痛、心臓血管障害（例えば、新生血管形成、低血管形成または循環の減少（例えば、虚血性疾患（例えば、心筋梗塞、発作など）））、AIDS、アレルギー、炎症、神経変性性疾患（例えば、アルツハイマー病、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症、色素性網膜症、小脳変性など）、移植拒絶（急性および慢性）、対宿主性移植片病、骨髄形

成異常症に起因する疾患（例えば、再生不良性貧血など）、リウマチにおける関節組織破壊、肝臓疾患（例えば、急性および慢性肝炎、肝臓損傷、および肝硬変）、自己免疫疾患（例えば、多発性硬化症、慢性関節リウマチ、全身性エリテマトーデス、免疫複合体性糸球体腎炎、重症筋無力症、自己免疫性糖尿病、自己免疫性血小板減少性紫斑病、グレーヴズ病、橋本甲状腺炎など）、心筋症（例えば、拡張型心筋症）、糖尿病、糖尿病性合併症（例えば、糖尿病性腎症、糖尿病性ニューロパシー、糖尿病性網膜症）、インフルエンザ、ぜん息、乾癬、糸球体腎炎、敗血症性ショック、および潰瘍性大腸炎が挙げられるがこれらに限定されない。

【0509】

本発明のポリヌクレオチドおよび／もしくはポリペプチドならびに／またはそのアゴニストおよび／もしくはアンタゴニストはまた、特定の抗原に対する免疫応答性および／または抗ウイルス免疫応答を増強するためのアジュバントとして有用である。

【0510】

より一般的には、本発明のポリヌクレオチドおよび／もしくはポリペプチドならびに／あるいはそのアゴニストおよび／もしくはアンタゴニストは、免疫応答を調節する（すなわち、上昇または減少させる）際に有用である。例えば、本発明のポリヌクレオチドおよび／またはポリペプチドは、手術、外傷、放射線治療、化学療法、および移植からの準備または回復において有用であり得るか、あるいは高齢のおよび免疫無防備状態の個体において免疫応答および／または回復をブーストするために使用され得る。あるいは、本発明のポリヌクレオチドおよび／もしくはポリペプチドならびに／またはそのアゴニストおよび／もしくはアンタゴニストは、例えば、自己免疫障害の処置または予防における免疫抑制剤として有用である。特定の実施形態において、本発明のポリヌクレオチドおよび／またはポリペプチドは、慢性的炎症、アレルギーまたは自己免疫状態（例えば、本明細書中に記載されるか、またはさもなくば当該分野で公知の状態）を処置または予防するために使用される。

【0511】

上記の全ての適用は、獣医学的医療、ならびにヒト処置レジメンにおいて使用され得る。

【0512】

(遺伝子治療)

特定の実施形態において、抗体またはその機能的誘導体をコードする配列を含む核酸は、本発明のポリペプチドの異常な発現および／または活性に関連した疾患または障害を処置、阻害または予防するために、遺伝子治療の目的で投与される。遺伝子治療とは、発現したか、または発現可能な核酸の、被験体への投与により行われる治療をいう。本発明のこの実施形態において、核酸は、それらのコードされたタンパク質を産生し、そのタンパク質は治療効果を媒介する。

【0513】

当該分野で利用可能な遺伝子治療のための任意の方法は、本発明に従って使用され得る。例示的な方法が以下に記載される。

【0514】

遺伝子治療の方法の一般的な概説については、Goldspielら、1993、*Clinical Pharmacy* 12:488-505; WuおよびWu、1991、*Biotherapy* 3:87-95; Tolstoshev、1993、*Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 32:573-596; Mulligan、1993、*Science* 260:926-932; ならびにMorganおよびAnderson、1993、*Ann. Rev. Biochem.* 62:191-217; May、1993、*TIB TECH* 11(5):155-215を参照のこと。使用され得る、組換えDNA技術分野において一般的に公知である方法は、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に記載される。

【0515】

好ましい局面において、化合物は抗体をコードする核酸配列を含有し、上記核酸配列は、適切な宿主において、抗体、またはそのフラグメントもしくはキメラタンパク質、あるいはその重鎖もしくは軽鎖を発現する発現ベクターの一部である。特に、このような核酸配列は、抗体コード領域に作動可能に連結したプロモーターを有し、上記プロモーターは誘導性であるかまたは構成性であり、そして必要に応じて組織特異的である。別の特定の実施形態においては、抗体をコードする配列および任意の他の所望の配列がゲノム中の所望の部位での相同組換えを促進する領域に隣接した核酸分子が使用され、従って抗体核酸の染色体内の発現を提供する（K o l l e r および S m i t h i e s、1989、P r o c. N a t l. A c a d. S c i. U S A 86:8932-8935; Z i j l s t r a ら、1989、N a t u r e 342:435-438）。特定の実施形態において、発現した抗体分子は単鎖抗体であるか；あるいはこの核酸配列は、この抗体の重鎖および軽鎖の両方をコードする配列またはそのフラグメントを含む。

【0516】

核酸の患者への送達は、直接的（この場合、患者は核酸または核酸保有ベクターに直接的に曝される）か、または間接的（この場合、細胞は最初にインビトロで核酸で形質転換され、次いで患者に移植される）のいずれかであり得る。これらの2つのアプローチは、インビボ遺伝子治療として、またはエキソビボ遺伝子治療としてそれぞれ公知である。

【0517】

特定の実施形態において、核酸配列はインビボで直接的に投与され、そこで核酸配列は発現されて、コードされた生成物を産生する。これは、当該分野で公知の任意の多数の方法（例えば、それらを適切な核酸発現ベクターの一部として構築し、そしてそれを細胞内になるように投与することにより（例えば、欠損性または弱毒化したレトロウイルスまたは他のウイルスベクター（米国特許第4,980,286号を参照のこと）を用いた感染により）、あるいは、裸のDNAの直接注射により、あるいは、微粒子ボンバードメント（例えば、遺伝子銃；B i o l i s t i c、D u p o n t）の使用により、あるいは脂質または細胞表面のレセプターでコーティングするか、もしくは薬剤をトランスフェクトすること

により、あるいは、リポソーム、微粒子、またはマイクロカプセル中へのカプセル化により、あるいは、それらを核に入ることが公知であるペプチドと結合させて投与することにより、レセプター媒介のエンドサイトーシスを受けるリガンドと結合させて投与することにより（例えば、WuおよびWu、1987、J. Biol. Chem. 262:4429-4432を参照のこと）（レセプターを特異的に発現する細胞の型を標的にするために用いられ得る）などにより達成され得る。別の実施形態において、核酸-リガンド複合体が形成され得、ここで、リガンドはエンドソームを破壊するフソジェニック（fusogenic）ウイルス性ペプチドを含み、核酸がリソソーム分解を回避するようにする。さらに別の実施形態において、核酸は、特異的なレセプターを標的とすることにより、細胞特異的な取り込みおよび発現についてインビボで標的とされ得る（例えば、PCT公開第WO92/06180号（1992年4月16日（Wuら））；同第WO92/22635号（1992年12月23日（Wilsonら））；同第WO92/20316号（1992年11月26日（Findeisら））；同第WO93/14188号（1993年7月22日（Clarkeら））、同第WO93/20221号（1993年10月14日（Young））を参照のこと）。あるいは、核酸は、細胞内部に導入され得、そして相同組換えにより、発現のために宿主細胞DNA中に組み込まれ得る（KollerおよびSmithies、1989、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:8932-8935；Zijlstraら、1989、Nature 342:435-438）。

【0518】

具体的な実施形態において、本発明の抗体をコードする核酸配列を含むウイルスベクターが使用される。例えば、レトロウイルスベクターが用いられ得る（Millerら、1993、Meth. Enzymol. 217:581-599を参照のこと）。これらのレトロウイルスベクターは、ウイルス性ゲノムのパッケージングおよび宿主細胞DNAへの組込みのために必要ではないレトロウイルス配列を欠失する。遺伝子治療において使用される抗体をコードする核酸配列は、一つ以上のベクター中にクローン化され、これは、患者内への遺伝子の送達を

容易にする。レトロウイルスベクターに関するさらなる詳細は、Boesenら、1994、*Biotherapy* 6:291-302（これは、幹細胞を化学療法に対してより耐性にするために、mdr I 遺伝子を造血性幹細胞に送達するための、レトロウイルスベクターの使用を記載する）に見出され得る。遺伝子治療におけるレトロウイルスベクターの使用を説明する他の参考文献は、以下である。: Clowesら、1994、*J. Clin. Invest.* 93:644-651; Kiemら、1994、*Blood* 83:1467-1473; SalmonsおよびGunzberg、1993、*Human Gene Therapy* 4:129-141; ならびにGrossmanおよびWilson、1993、*Curr. Opin. in Genetics and Devel.* 3:110-114。

【0519】

アデノウイルスは、遺伝子治療において使用され得る他のウイルスベクターである。アデノウイルスは、特に、気道上皮へ遺伝子を送達するための魅力的なビヒクルである。アデノウイルスは、自然に気道上皮に感染し、そこで軽い疾患を起こす。アデノウイルスベースの送達システムの他の標的は、肝臓、中枢神経系、内皮細胞、および筋肉である。アデノウイルスは、非分裂細胞を感染することができるという利点を有する。KozarskyおよびWilson、1993、*Current Opinion in Genetics and Development* 3:499-503は、アデノウイルスベースの遺伝子治療の概説を示す。Boutら、1994、*Human Gene Therapy* 5:3-10は、アカゲザルの気道上皮に遺伝子に移すためのアデノウイルスベクターの使用を示した。遺伝子治療におけるアデノウイルスの使用の他の例は、Rosenfeldら、1991、*Science* 252:431-434; Rosenfeldら、1992、*Cell* 68:143-155; Mastangeliら、1993、*J. Clin. Invest.* 91:225-234; PCT公開第WO94/12649号; およびWangら、1995、*Gene Therapy* 2:775-783に見出され得る。好ましい実施形態において、アデノウイルスベクターが使用される。

【0520】

アデノ随伴ウイルス（AAV）はまた、遺伝子治療における使用が提案されてきた（Walshら、1993、Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 204:289-300；米国特許第5,436,146号）。

【0521】

遺伝子治療への別のアプローチは、エレクトロポレーション、リポフェクション、リン酸カルシウム媒介トランスフェクション、またはウイルス感染のような方法により、組織培養中の細胞へ遺伝子を移入する工程を包含する。通常、移入の方法は、選択可能なマーカーの細胞への移入を含む。次いで、細胞は、移入された遺伝子を取り込みそして発現する細胞を単離するために選択下に置かれる。次いで、それらの細胞は患者に送達される。

【0522】

この実施形態においては、得られた組換え細胞のインビボ投与の前に、核酸が細胞に導入される。このような導入は、当該分野において公知の任意の方法により実施され得、それら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：トランスフェクション、エレクトロポレーション、マイクロインジェクション、核酸配列を含むウイルスベクターまたはバクテリオファージベクターでの感染、細胞融合、染色体媒介の遺伝子移入、マイクロセル媒介の遺伝子移入、スフェロプラスト融合など。外来遺伝子の細胞への導入については、当該分野において多数の技術が公知であり（例えば、LoefflerおよびBehr、1993、Meth. Enzymol. 217:599-618；Cohenら、1993、Meth. Enzymol. 217:618-644；Cline、1985、Pharmac. Ther. 29:69-92を参照のこと）、そしてレシピエント細胞の必要な発生的および生理学的機能が破壊されないならば、本発明に従って使用され得る。この技術は、細胞への核酸の安定した移入を提供すべきであり、その結果、この核酸は、細胞により発現可能であり、好ましくは、その細胞の子孫により遺伝性でかつ発現可能である。

【0523】

得られた組換え細胞は、当該分野において公知の様々な方法により、患者へ送

達され得る。組換え血球（例えば、造血幹細胞または造血前駆細胞）は、好ましくは、静脈内に投与される。使用が考えられる細胞の量は、所望の効果、患者の状態などに依存し、当業者により決定され得る。

【0524】

遺伝子治療の目的のために核酸が導入され得る細胞は、任意の所望の入手可能な細胞型を包含し、以下を含むがそれらに限定されない：上皮細胞、内皮細胞、ケラチノサイト、線維芽細胞、筋肉細胞、肝細胞；Tリンパ球、Bリンパ球、単球、マクロファージ、好中球、好酸球、巨核球、顆粒球のような血球；様々な幹細胞または前駆細胞、特に、造血幹細胞または造血前駆細胞（例えば、骨髓、臍帯血、末梢血、胎児の肝臓などから得られるような細胞）。

【0525】

好ましい実施形態において、遺伝子治療に使用される細胞は、患者に対して自己である。

【0526】

遺伝子治療において組換え細胞が使用される実施形態において、抗体をコードする核酸配列は、細胞またはそれらの子孫により核酸配列が発現可能であるように細胞に導入され、そして次いで組み換え細胞は、治療的效果のためにインビボで投与される。具体的な実施形態において、幹細胞または前駆細胞が用いられる。インビトロで単離され得、そしてインビトロで維持され得る任意の幹細胞および／または前駆細胞は、本発明のこの実施形態に従って潜在的に使用され得る（例えば、PCT公開第WO94/08598号（1994年4月28日）：StempleおよびAnderson、1992、Cell 71：973-985；Rheinwald、1980、Meth. Cell Bio. 21A：229；ならびにPittelkowおよびScott、1986、Mayo Clinic Proc. 61：771を参照のこと）。

【0527】

具体的な実施形態において、遺伝子治療の目的で導入されるべき核酸は、コード領域に作動可能に連結された誘導性プロモーターを含有し、その結果、核酸の発現は、適切な転写誘導因子の存在または不在を制御することにより制御可能で

ある。

【0528】

(投与形態)

本明細書中に記載されるアゴニストまたはアンタゴニストは、本発明のレセプターを発現する細胞に、インビトロ、エキソビボ、またはインビボで投与され得る。「有効量」のアゴニストまたはアンタゴニストの投与によって、TNFファミリーのリガンドへの細胞応答を増強または阻害するのに十分であり、そしてポリペプチドを含む化合物の量を意図する。特に、「有効量」のアゴニストまたはアンタゴニストの投与によって、TR2レセプター媒介活性を増強または阻害するのに効果的な量を意図する。当然のことながら、細胞の増殖および／または分化が増強される場合、本発明に従うアゴニストは、TNFファミリーのリガンドと共に同時投与され得る。当業者は、アゴニストまたはアンタゴニストの有効量が経験的に決定され得、そして純粋な形態でまたは薬学的に受容可能な塩、エステルまたはプロドラッグの形態で使用され得ることを理解する。このアゴニストまたはアンタゴニストは、組成物において、1つ以上の薬学的に受容可能な賦形剤と組合せて投与され得る。

【0529】

本発明の組成物は、単独でまたは他のアジュバントと組合わせて投与され得る。本発明の組成物と共に投与され得るアジュバントとしては、以下が挙げられるがこれらに限定されない：ミョウバン、ミョウバンおよびデオキシコレート (ImmunoAg)、MTP-PE (Biocine Corp.)、QS21 (Genentech, Inc.)、BCG、およびMPL。特定の実施形態において、本発明の組成物は、ミョウバンと組み合わせて投与される。別の特定の実施形態において、本発明の組成物はQS-21と組み合わせて投与される。本発明の組成物と共に投与され得るさらなるアジュバントとしては、以下が挙げられるがこれらに限定されない：モノホスホリル脂質免疫調節物質、AdjuVax 100a、QS-21、QS-18、CRL1005、アルミニウム塩、MF-59、およびビロソームアジュバント技術。本発明の組成物と共に投与され得るワクチンとしては、以下が挙げられるがこれらに限定されない：MMR (麻疹

、流行性耳下腺炎、風疹)、ポリオ、水痘、破傷風／ジフテリア、A型肝炎、B型肝炎、*Haemophilus influenzae* B、百日咳、肺炎、インフルエンザ、ライム病、ロタウイルス、コレラ、黄熱病、日本脳炎、ポリオ、狂犬病、腸チフス、および百日咳に対する保護に指向されたワクチン、ならびにPNEUMOVAX-23™。同時(例えば、混合剤として)、別個であるが一斉にまたは同時に;あるいは順次のいずれかで、組合わせが投与され得る。これは、この組合わせた薬剤が、治療的混合物として一緒に投与されるという提示を含み、そしてまたこの組合わせた薬剤が、別個であるが一斉に(例えば、別々の静脈ラインを通して同じ個体に)投与される手順を含む。「組合わせ」での投与は、最初に所定の化合物または薬剤のうちの1つが、続いて2番目が、別々に投与されることをさらに含む。

【0530】

別の特定の実施形態において、本発明の化合物は、感染および／または任意の疾患、障害、および／またはそれに関する状態を処置、予防および／または診断するために、PNEUMOVAX-23™と組み合わせて使用される。1つの実施形態において、本発明の組成物は、任意のグラム陽性の細菌感染および／または任意の疾患、障害、および／またはそれに関する状態を処置、予防および／または診断するために、PNEUMOVAX-23™と組み合わせて使用される。別の実施形態において、本発明の化合物は、感染および／または任意の疾患、障害、および／または*Enterococcus*および／または*Streptococcus*属の1以上のメンバーに関する状態を処置、予防および／または診断するために、PNEUMOVAX-23™と組み合わせて使用される。別の実施形態において、本発明の化合物は、感染および／または任意の疾患、障害、および／またはグループB連鎖球菌属の1以上のメンバーに関する状態を処置、予防および／または診断するために、PNEUMOVAX-23™と組み合わせて使用される。別の実施形態において、本発明の化合物は、感染および／または任意の疾患、障害、および／または*Streptococcus pneumoniae*に関する状態を処置、予防および／または診断するために、PNEUMOVAX-23™と組み合わせて使用される。

【0531】

本発明の組成物は、単独で、または他の治療剤と組み合わせて投与され得る。これらの治療剤としては、TNF、TNFブロック剤（例えば、TNF（例えば、TNF- α 、TNF- β またはTNF- γ ）に特異的に結合する抗体）、化学療法剤、抗日和見感染薬剤、抗ウイルス剤、抗生物質、ステロイド系および非ステロイド系抗炎症剤、免疫抑制剤、従来の免疫治療剤およびサイトカインが挙げられるが、これらに限定されない。組み合わせは、付随して（例えば、混合物として）、別々に（しかし、同時にまたは即時に）；または逐次的にかのいずれかで投与され得る。これは、組み合わせられた薬剤が治療的混合物として一緒に投与される提示、およびまた組み合わせられた薬剤が別々にしかし同時に（例えば、同じ被験体の別々の静脈ラインを通じて）投与される手順を包含する。「組み合わせた」投与は、第1の投与、次いで第2の投与を与える、化合物または薬剤のうちの1つの別々の投与をさらに包含する。

【0532】

1つの実施形態において、本発明の組成物は、TNFファミリーの他のメンバーと組み合わせて投与される。本発明の組成物とともに投与され得るTNF、TNF関連分子またはTNF様分子としては、以下が挙げられるが、それらに限定されない：TNF- α の可溶性形態、リンホトキシン- α （LT- α 、TNF- β としてもまた公知）、LT- β （複合体ヘテロトリマーLT- α 2- β において見出される）、OPGL、CD27L、CD30L、CD40L、4-1BBL、DcR3、OX40L、TNF- γ （国際出願公開番号WO96/14328）、AIM-I（国際出願公開番号WO97/33899）、AIM-II（国際出願公開番号WO97/34911）、APRIL（J. Exp. Med. 188（6）：1185-1190）、エンドカイン（国際出願公開番号WO98/07880）、TR6（国際出願公開番号WO98/30694）、OPG（国際出願公開番号WO98/18921）、およびニュートロカイン- α （国際出願公開番号WO98/18921）、TWEAK、OX40、および神経増殖因子（NGF）および可溶性形態のFas、CD30、CD27、CD40および4-1BB、TR2（国際出願公開番号WO96/34095）、DR3（

国際出願公開番号WO97/33904)、DR4 (国際出願公開番号WO98/32856)、TR5 (国際出願公開番号WO98/30693)、TR7 (国際出願公開番号WO98/41629)、TRANK、TR9 (国際出願公開番号WO98/56892)、TR10 (国際出願公開番号WO98/54202)、312C2 (国際出願公開番号WO98/06842)、TR12および可溶性形態のCD154、CD70およびCD153。

【0533】

別の実施形態において、本発明の組成物は、1以上のTNFブロック剤と組み合わせて投与される。TNFブロック剤は、関節炎（リウマチ様関節炎）の処置の際に有用であると考えられる。

【0534】

好ましい実施形態において、本発明の組成物は、CD40リガンド（CD40L）、CD40Lの可溶形態（例えば、AVREND™）、CD40Lの生物学的に活性なフラグメント、改変体、または誘導体、抗CD40L抗体（例えば、アゴニスト抗体またはアンタゴニスト抗体）、および／または抗CD40抗体（例えば、アゴニスト抗体またはアンタゴニスト抗体）と組み合わせて投与される。

【0535】

特定の実施形態において、本発明の組成物は、抗レトロウイルス薬剤、ヌクレオシド逆転写酵素インヒビター、非ヌクレオシド逆転写酵素インヒビター、および／またはプロテアーゼインヒビターと組み合わせて投与される。本発明の組成物と組み合わせて投与され得るヌクレオシド逆転写酵素インヒビターとしては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：RETROVIR™（ジドブジン／AZT）、VIDEX™（ジダノシン／ddI）、HIVID™（ザルシタビン／ddC）、ZERIT™（スタブジン／d4T）、EPIVIR™（ラミブジン／3TC）、およびCOMBIVIR™（ジドブジン／ラミブジン）。本発明の組成物と組み合わせて投与され得る非ヌクレオシド逆転写酵素インヒビターとしては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：VIRAMUNE™（ネビラピン）、RESCRIPTOR™（デラビルジン）、およびSUSTIV

ATM（エファビレンツ）。本発明の組成物と組み合わせて投与され得るプロテアーゼインヒビターとしては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：CRIXIVANTM（インディナビル）、NORVIRTM（リトナビル）、INVIRASETM（サキナビル）、およびVIRACEPTTM（ネルフィナビル）。特定の実施形態において、抗レトロウイルス薬剤、ヌクレオシド逆転写酵素インヒビター、非ヌクレオシド逆転写酵素インヒビター、および／またはプロテアーゼインヒビターを本発明の組成物と任意の組み合わせで用いて、AIDSを処置および／またはHIV感染を予防または処置し得る。

【0536】

他の実施形態において、本発明の組成物は、抗日和見感染症薬剤と組み合わせて投与され得る。本発明の組成物と組み合わせて投与され得る抗日和見感染症薬剤としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：TRIMETHOPRIM-SULFAMETHOXAZOLETM、DAPSONETM、PENTAMIDINETM、ATOVAQUONETM、ISONIAZIDTM、RIFABUTINTM、PYRAZINAMIDETM、ETHAMBUTOLTM、RIFABUTINTM、CLARITHROMYCINTM、AZITHROMYCINTM、GANCICLOVIRTM、FOSCARNETTM、CIDOFOVIRTM、FLUCONAZOLETM、ITRACONAZOLETM、KETONAZOLETM、ACYCLOVIRTM、FAMCICLOVIRTM、PYRIMETHAMINETM、LEUCOVORINTM、NEUPOGENTM（フィルグラスチム／G-CSF）およびLEUKINETM（サーグラモスチム（sargramostim）／GM-CSF）。特定の実施形態において、本発明の組成物を、TRIMETHOPRIM-SULFAMETHOXAZOLETM、DAPSONETM、PENTAMIDINETM、および／またはATOVAQUONETMとの任意の組み合わせにおいて使用して、日和見Pneumocystis carinii肺炎感染を予防的に処置または予防し得る。別の特定の実施形態において、本発明の組成物をISONIAZIDTM、RIFAMPINTM、PYRAZINAMIDETM、および／またはETHAMBUTOLTMとの任意の組み合わせにおいて用いて、日和見Mycobacterium avium複合感

染を予防的に処置または予防し得る。別の特定の実施形態において、本発明の組成物は、RIFABUTINTM、CLARITHROMYCINTM、および／またはAZITHROMYCINTMとの任意の組み合わせにおいて用いて、日和見Mycobacterium tuberculosis感染を予防的に処置または予防し得る。別の特定の実施形態において、本発明の組成物は、GANCICLOVIRTM、FOSCARNETTM、CIDOFOVIRTMとの任意の組み合わせにおいて用いて、日和見サイトメガロウイルス感染を予防的に処置または予防し得る。別の特定の実施形態において、本発明の組成物をFLUCONAZOLETM、ITRACONAZOLETM、および／またはKETCONAZOLETMとの任意の組み合わせにおいて用いて、日和見真菌感染を予防的に処置または予防し得る。別の特定の実施形態において、本発明の組成物をACYCLOVIRTMおよび／またはFAMCICOLVIRTMとの任意の組み合わせにおいて用いて、日和見単純ヘルペスウイルスI型および／またはII型の感染を予防的に処置または予防し得る。別の特定の実施形態において、本発明の組成物をPYRIMETHAMINETMおよび／またはLEUCOVORINTMとの任意の組み合わせにおいて用いて、日和見Toxoplasma gondii感染を予防的に処置または予防し得る。別の特定の実施形態において、本発明の組成物をLEUCOVORINTM、および／またはNEUPOGENTMとの任意の組み合わせにおいて用いて、日和見細菌感染を予防的に処置または予防し得る。

【0537】

さらなる実施形態において、本発明の組成物を抗ウイルス剤と組み合わせて投与する。本発明の組成物とともに投与され得る抗ウイルス剤としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：アシクロビル、リバビリン、アマンタジン、およびリマンタジン (remantidine)。

【0538】

さらなる実施形態において、本発明の組成物は、抗生物質薬剤と組み合わせて投与され得る。本発明の組成物とともに投与され得る抗生物質としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：アモキシリン、アミノグリコシド、β-ラクタム（糖ペプチド）、β-ラクタマーゼ、クリンダマイシン、クロラムフェ

ニコール、セファロスポリン、シプロフロキサシン、シプロフロキサシン、エリスロマイシン、フルオロキノロン、マクロライド、メトロニダゾール、ペニシリン、キノロン、リファンピン、ストレプトマイシン、スルホナミド、テトラサイクリン、トリメトプリム、トリメトプリムスルファントキサゾール (trimethoprim-sulfamethoxazole)、およびバンコマイシン。

【0539】

本発明の組成物と組み合わせて投与され得る従来の非特異的免疫抑制剤としては、以下が挙げられるが、それらに限定されない：ステロイド、シクロスポリン、シクロスポリンアナログ、シクロホスファミド、メチルプレドニゾン、プレドニゾン、アザチオプリン、FK-506、15-デオキシスペルグアリン、および応答するT細胞の機能を抑制することにより作用する他の免疫抑制剤。

【0540】

特定の実施形態において、本発明の組成物は、免疫抑制剤と組み合わせて投与される。本発明の組成物とともに投与され得る免疫抑制剤調製物としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：ORTHOCLONE™ (OKT3)、SANDIMMUNE™/NEORAL™/SANGDYA™ (シクロスポリン)、PROGRAM™ (タクロリムス)、CELLCEPT™ (ミコフェノレート (mycophenolate))、アザチオプリン、グルココルチコステロイド (glucocorticosteroids)、およびRAPAMUNE™ (シロリムス (sirolimus))。特定の実施形態において、免疫抑制剤を使用して、器官移植または骨髄移植の拒絶を予防し得る。

【0541】

好ましい実施形態において、本発明の組成物は、ステロイド治療と組み合わせて投与される。本発明の組成物と組み合わせて投与され得るステロイドは、経口コルチコステロイド、プレドニゾン、およびメチルプレズニゾン（例えば、IVメチルプレズニドン）を含むが、これらに限定されない。特定の実施形態において、本発明の組成物は、プレドニゾンと組み合わせて投与される。さらに特定の実施形態において、本発明の組成物は、プレズニドンおよび免疫抑制剤と組

み合わせて投与される。本発明の組成物およびプレドニゾンと組み合わせて投与され得る免疫抑制剤は、アザチオプリン、シクロホスファミド、およびシクロホスファミド I Vを含むが、これらに限定されない。別の特定の実施形態において、本発明の組成物は、メチルプレゾニドンと組み合わせて投与される。さらに特定の実施形態において、本発明の組成物は、メチルプレゾニドンおよび免疫抑制剤と組み合わせて投与される。本発明の組成物およびメチルプレゾニドンと組み合わせて投与され得る免疫抑制剤は、本明細書中に記載される免疫抑制剤であり、アザチオプリン、シクロホスファミド、およびシクロホスファミド I Vを含むが、これらに限定されない。

【0542】

好ましい実施形態において、本発明の組成物は、抗マラリア薬と組み合わせて投与される。本発明の組成物と組み合わせて投与され得る抗マラリア薬は、ヒドロキシクロロキン、クロロキン、および／またはキナクリンを含むが、これらに限定されない。

【0543】

好ましい実施形態において、本発明の組成物は、NSAIDと組み合わせて投与される。

【0544】

非排他的な実施形態において、本発明の組成物は、1、2、3、4、5、10以上の以下の薬物と組み合わせて投与される：

【0545】

【数6】

NRD-101 (Hoechst Marion Roussel), ジメチド (Dimethaid),
 オキサプロジンカリウム (Monsanto), メカセルミン (Chiron), T-614 (Toyama),
 (oxaprozin) (mecasermin)
 プレメトリクスニトリウム (Eli Lilly), アトレント (Abbott), バルデコキシブ (Monsanto),
 (pemetrexed) (atreleuton) (valdecoxib)
 エルテナック (Byk Gulden), キンパス (AGM-1470 (Takeda), CDP-571 (Celltech
 (eltenac) (cumpath)
 Chiroscience), CM-101 (CarboMed), ML-3000 (Merckle), CB-2431 (KS
 Biomedix), CBF-BS2 (KS Biomedix), IL-1Ra 遺伝子誘導剤 (Valentis), JTE-522
 (Japan Tobacco), パクリタキセル (Angiotech), DW-166HC (Dong Wha), ダルバフェロン
 (paclitaxel) (darbafelone)
 メシレート (Warner-Lambert), 可溶性 TNF レセプター-1 (synergen; Amgen),
 mesylate)
 IPR-6001 (Institute for Pharmaceutical Research), トロカド (Hoffman-La Roche),
 (trocade)
 EF-5 (Scotia Pharmaceuticals), BIIL-284 (Boehringer Ingelheim), BIIF-1149
 (Boehringer Ingelheim), LeukoVax (Inflammatics), MK-663 (Merck), ST-1482
 (Sigma-Tau), アブタキソコル (Warner-Lambert).
 (butaxocort)

。

【0546】

好ましい実施形態において、本発明の組成物は、1、2、3、4、5以上の以下の薬物と組み合わせて投与される：メトトレキサート、スルファサラジン、金チオリンゴ酸ナトリウム、オーラノフィン、シクロスポリン、ペニシラミン、アザチオプリン、抗マラリア薬（例えば、本明細書中に記載されるような）、シクロホスファミド、クロラムブシル、金、ENBRELTTM (E t a n e r c e p t)、抗TNF抗体、およびプレゾニドロン。

【0547】

より好ましい実施形態において、本発明の組成物は、抗マラリア薬、メトトレキサート、抗TNF抗体、ENBRELTTM、および／またはスフラサラジン (s u f f l a s a l a z i n e) と組み合わせて投与される。1つの実施形態において、本発明の組成物は、メトトレキサートと組み合わせて投与される。別の実施形態において、本発明の組成物は、抗TNFファミリーと組み合わせて投与される。別の実施形態において、本発明の組成物は、メトトレキサートおよび抗T

NF抗体と組み合わせて投与される。別の実施形態において、本発明の組成物は、サフラサラジンと組み合わせて投与される。別の実施形態において、本発明の組成物は、メトトレキセート、抗TNF抗体、およびサフラサラジンと組み合わせて投与される。別の実施形態において、本発明の組成物は、ENBRELTTMと組み合わせて投与される。別の実施形態において、本発明の組成物は、ENBRELTTMおよびメトトレキセートと組み合わせて投与される。別の実施形態において、本発明の組成物は、ENBRELTTM、メトトレキセート、およびサフラサラジンと組み合わせて投与される。別の実施形態において、本発明の組成物は、ENBRELTTM、メトトレキセート、およびサフラサラジンと組み合わせて投与される。他の実施形態において、1以上の抗マラリア薬は、上記で列挙された組み合わせの1つと組み合わされる。特定の実施形態において、本発明の組成物は、抗マラリア薬（例えば、ヒドロキシクロロキン）、ENBRELTTM、メトトレキセート、およびサフラサラジンと組み合わせて投与される。別の特定の実施形態において、本発明の組成物は、抗マラリア薬（例えば、ヒドロキシクロロキン）、サフラサラジン、抗TNF抗体、およびメトトレキセートと組み合わせて投与される。

【0548】

さらなる実施形態において、本発明の組成物は、1以上の静脈内の免疫グロブリン調製物単独またはこれと組み合わせて投与される。本発明の組成物と組み合わせて投与され得る静脈内免疫グロブリン調製物は、GAMMARTM、IVEEGAMTM、SANDOGLOBULINTM、GAMMAGARD S/DTM、およびGAMIMUNETMを含むが、これらに限定されない。特定の実施形態において、本発明の組成物は、移植治療（例えば、骨髄移植）における静脈内の免疫グロブリン調製物と組み合わせて投与される。

【0549】

さらなる実施形態において、本発明の組成物は、抗炎症性剤単独またはこれと組み合わせて投与される。本発明の組成物と組み合わせて投与され得る抗炎症性剤は、以下を含むが、これらに限定されない：グルココルチコイドおよび非ステロイド性抗炎症性剤、アミノアリアルカルボン酸誘導体、アリアル酢酸誘導体、

アリール酪酸誘導体、アリールカルボン酸誘導体、アリール酢酸誘導体、アリール酪酸誘導体、アリールカルボン酸、アリールプロピオン酸誘導体、ピラゾール、ピラズロン、サリチル酸誘導体、チアジンカルボキサミド、 ϵ -アセトアミドカプロン酸、S-アデノシルメチオニン、3-アミノ-4-ヒドロキシ酪酸、アミキセトリン (amixetrine)、ベンザダック、ベンジドアミン、ブクローム、ジフェンピラミド、ジタゾール、エモルファゾン、グアイアズレン、ナブメトン、ニメスリド (nimesulide)、オルゴテイン、オキサセプロール、パラニリン、ペリソキサール、ピフォキシム、プロクアゾン (proquazone)、プロキサゾール、およびテニダップ (tenidap)。

【0550】

別の実施形態において、本発明の組成物は、化学療法剤と組み合わせて投与される。本発明の組成物と組み合わせて投与され得る化学療法剤は、抗菌性誘導体（例えば、ドキソルビシン、ブレオマイシン、ダウノルビシン、およびダクチノマイシン）；抗エストロゲン（例えば、タモキシフェン）；アンチメタボライト（例えば、フルオロフラシル、5-FU、メトトレキサート、フロクスウリジン、インターフェロン α -2b、グルタミン酸、プリカマイシン (plicamycin)、メルカプトプリン、および6-チオグアニン）；細胞毒性剤（例えば、カルムスチン、BCNU、ロムスチン、CCNU、シトシンアラビノシド、シクロホスファミド、エストラムスチン、ヒドロキシウレア、プロカルバジン、マイトマイシンC、ブスルファン、シスープラチン、および硫酸ビンクリスチン）；ホルモン（例えば、メドロキシプロゲステロン、エストラムスチンリン酸ナトリウム、エチニルエストラジオール、エストラジオール、酢酸メゲストロール、メチルテストステロン、ジメチルスチルベストロール二リン酸、クロロトリアニセン、およびテストラクトン）；ナイトロジェンマスタード誘導体（例えば、メファレン、コラムブシル (chorambucil)、メクロレタミン (ナイトロジェンマスタード) およびチオテパ）；ステロイドおよび組み合わせ（例えば、ベタメタゾン (bethamethasone) リン酸ナトリウム）；ならびにその他（例えば、ジカルバジン、アスパラギナーゼ、ミトーテン、硫酸ビンクリスチン、硫酸ビンブラスチン、およびエトポシド）を含むが、これらに限定さ

れない。

【0551】

特定の実施形態において、本発明の組成物は、CHOP（シクロホスファミド、ドキシソルビシン、ビンクリシン、およびプレゾニドン）またはCHOPの組成物の任意の組み合わせと組み合わせて投与される。別の実施形態において、本発明の組成物は、Rituximabと組み合されて投与される。さらなる実施形態において、本発明の組成物は、RituxmabおよびCHOP、またはRituxmabおよびCHOPの組成物の任意の組み合わせと共に投与される。

【0552】

さらなる実施形態において、本発明の組成物は、サイトカインと組み合わせて投与され得る。本発明の組成物とともに投与され得るサイトカインとしては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：GM-CSF、G-CSF、IL2、IL3、IL4、IL5、IL6、IL7、IL10、IL12、IL13、IL15、抗CD40、CD40L、IFN- α 、IFN- β 、IFN- γ 、TNF- α 、およびTNF- β 。別の実施形態において、本発明の組成物は、任意のインターロイキンとともに投与され得る。これらのインターロイキンとしては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：IL-1 α 、IL-1 β 、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IL-10、IL-11、IL-12、IL13、IL-14、IL-15、IL-16、IL-17、IL-18、IL-19、IL-20、IL-21およびIL-22。好ましい実施形態において、本発明の組成物は、IL-4およびIL-10と組み合わせて投与される。IL-4およびIL-10の両方は、TR2媒介B細胞増殖を増強することを本発明者らによって観測されてきた。

【0553】

さらなる実施形態において、本発明の組成物は、ケモカインと共に投与される。別の実施形態において、本発明の組成物は、ケモカイン β -8、ケモカイン β -1、および／またはマクロファージ炎症プロテイン-4と共に投与される。好ましい実施形態において、本発明の組成物は、ケモカイン β -8と共に投与される。

【0554】

さらなる実施形態において、本発明の組成物は、I L-4アンタゴニストと組み合わせて投与される。本発明の組成物と共に投与され得るI L-4アンタゴニストとしては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：可溶性I L-4レセプターポリペプチド、可溶性I L-4レセプターポリペプチドのマルチマー形態；I L-4に誘発される生物学的シグナルを形質転換しないでI L-4レセプターに結合する抗I L-4レセプター抗体、I L-4、I L-4の1以上のI L-4レセプターへの結合をブロックする抗I L-4抗体およびI L-4レセプターに結合するがI L-4によって誘発される生物学的シグナルを形質転換しないI L-4の変異体。好ましくは、本方法に従って使用される抗体は、モノクローナル抗体（抗体フラグメント（例えば、本明細書中で記載されるようなフラグメント）を含む）である。

【0555】

さらなる実施形態において、本発明の組成物は、造血性増殖因子と組み合わせて投与される。本発明の組成物と共に投与され得る造血性増殖因子は、L E U K I N ETM（S A R G R A M O S T I MTM）およびN E U P O G E NTM（F I L G R A S T I MTM）を含むが、これらに限定されない。

【0556】

さらなる実施形態において、本発明の組成物は、抗原性タンパク質と組み合わせて投与される。本発明の組成物とともに投与され得る抗原性タンパク質としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：神経膠腫由来増殖因子（G D G F）（欧州特許番号E P-399816に開示される）；血小板由来蔵相因子A（P D G F-A）（欧州特許番号E P-682110に開示される）；血小板由来増殖因子B（P D G F-B）（欧州特許番号E P-282317に開示される）；胎盤増殖因子（P l G F）（国際出願公開番号W O 92/06194に開示される）；胎盤増殖因子-2（P l G F-2）（H a u s e r ら, G o r w t h F a c t o r s, 4:259-268（1993）に開示される）；血管内皮増殖因子（V E G F）（国際出願公開番号W O 90/13649に開示される）；血管内皮増殖因子-A（V E G F-A）（欧州特許番号E P-506477

に開示される)；血管内皮増殖因子-2 (VEGF-2) (国際出願公開番号WO96/39515に開示される)；血管内皮増殖因子-B186 (VEGF-B186) (国際出願公開番号WO96/26736に開示される)；血管内皮増殖因子-D (VEGF-D) (国際出願公開番号WO98/02543に開示される)；血管内皮増殖因子-D (VEGF-D) (国際出願公開番号WO98/07832に開示される)；および血管内皮増殖因子-E (VEGF-E) (ドイツ国特許番号DE19639601に開示される)。上記の参考文献は、本明細書中に参考として援用される。

【0557】

さらなる実施形態において、本発明の組成物は、線維芽細胞増殖因子と組み合わせて投与される。本発明の組成物とともに投与され得る線維芽細胞増殖因子としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：FGF-1、FGF-2、FGF-3、FGF-4、FGF-5、FGF-6、FGF-7、FGF-8、FGF-9、FGF-10、FGF-11、FGF-12、FGF-13、FGF-14、およびFGF-15。

【0558】

さらなる実施形態において、本発明の組成物は、例えば、放射線療法のような他の治療レジメンまたは予防レジメンと組み合わせて投与される。このような治療は、結果的におよび／または付随して投与され得る。

【0559】

ヒト患者に投与される場合、本発明の化合物および組成物のすべての日々の用法は、音医学的判断の範囲内で主治医によって決定される。任意の特定の患者に対する特定の治療有効用量レベルは、医学分野で周知の要因に依存する。

【0560】

一般的提案として、用量あたりの非経口的に投与されるTNFRポリペプチドの全体の薬学的有効量は、患者の体重あたり約1 μ g/kg/日～10mg/kg/日の範囲にあるが、上記のように、これは、治療的な裁量に従う。より好ましくは、この用量は、少なくとも約0.01mg/kg/日、そして最も好ましくは、ヒトについて約0.01mg/kg/日と1mg/kg/日の間（ホルモ

ンについて)である。連続して投与された場合、TNFRポリペプチドは、代表的には、約 $1\mu\text{g}/\text{kg}/\text{時間}$ ～約 $50\mu\text{g}/\text{kg}/\text{時間}$ の割合の用量で、1日あたり1～4回の注射によるか、または例えば、ミニポンプを使用する連続的な皮下注入によってのいずれかで投与される。静脈内バッグ溶液もまた、使用され得る。

【0561】

本発明は、被験体への有効量の本発明の化合物または薬学的組成物、好ましくは本発明の抗体の投与による処置、阻害および予防の方法を提供する。好ましい局面において、化合物は実質的に精製される(例えば、その効果を制限するかまたは望ましくない副作用を生じる物質は実質的にない)。被験体は好ましくは、ウシ、ブタ、ウマ、ニワトリ、ネコ、イヌなどの動物が挙げられるがそれらに限定されない動物であり、そして好ましくは哺乳動物であり、そして最も好ましくはヒトである。

【0562】

化合物が核酸または免疫グロブリンを含む場合に使用され得る処方および投与方法は、上記に記載され；さらなる適切な処方および投与経路は、本明細書中で以下に記載されたものの中から選択され得る。

【0563】

本発明のTR2レセプターポリペプチドを含む薬学的組成物は、経口的、直腸的、非経口的、槽内、腔内、腹腔内、局所的(散剤、軟膏、ドロップ、または経皮パッチによる場合)、頬的、または経口もしくは鼻スプレーとして投与され得る。「薬学的に受容可能なキャリア」によって、非毒性の固体、半固体、または液体充填剤、希釈剤、カプセル化物質または任意の型の処方補助剤を意味する。用語「非経口の」は、本明細書中で使用される場合、静脈内、筋肉内、腹腔内、胸骨内、皮下、および関節内の注射および注入を含む投与の様式をいう。

【0564】

その組成物はまた、所望の場合、少量の湿潤剤もしくは乳化剤、またはpH緩衝剤もまた含み得る。これらの組成物は、溶液、懸濁液、エマルジョン、錠剤、丸剤、カプセル剤、散剤、徐放性処方物などの形態を取り得る。

【0565】

本発明のTR2組成物はまた、徐放系によって適切に投与される。徐放組成物の適切な例は、適切なポリマー物質（例えば、造形品の形態である半浸透性ポリマーマトリックス（例えば、フィルムまたはマイクロカプセル））、適切な疎水性物質（例えば、受容可能な油中のエマルジョンとして）、またはイオン交換樹脂、および乏しい可溶性誘導体（例えば、乏しい可溶性塩）を含む。

【0566】

様々な送達システムが公知であり、そして本発明の化合物を投与するために用いられ得る（例えば、リポソーム、微粒子、マイクロカプセル、この化合物の発現が可能な組換え細胞中でのカプセル化、レセプター媒介エンドサイトーシス（例えば、WuおよびWu, J. Biol. Chem. 262:4429-4432 (1987) を参照のこと）、レトロウイルスまたは他のベクターの一部としての核酸の構築など）。導入方法としては、皮内、筋内、腹腔内、静脈内、皮下、鼻腔内、硬膜外、および経口経路が挙げられるがそれらに限定されない。化合物または組成物は、任意の好都合な経路により（例えば、注入またはボーラス注射により、上皮または粘膜内層（例えば、口腔粘膜、直腸粘膜および腸粘膜など）を通しての吸収により）投与され得、そして他の生物学的に活性な薬剤と一緒に投与され得る。投与は、全身的または局所的であり得る。さらに、本発明の薬学的化合物または組成物を、任意の適切な経路（脳室内注射および髄腔内注射を包含し；脳室内注射は、例えば、Ommaya リザーバのようなりザーバに取り付けられた脳室内カテーテルにより容易にされ得る）により中枢神経系に導入することが望まれ得る。例えば、吸入器または噴霧器の使用、およびエアゾール化剤を用いた処方により、肺投与もまた使用され得る。

【0567】

特定の実施形態において、本発明の薬学的化合物または組成物を、処置の必要な領域に局所的に投与することが望まれ得る；これは、制限する目的ではないが、例えば、手術中の局部注入、局所適用（例えば、手術後の創傷包帯との組み合わせ）により、注射により、カテーテルにより、坐剤により、またはインプラント（このインプラントは、シアラスティック（sialastic）膜のよう

な膜または繊維を含む、多孔性、非多孔性、または膠様材料である）により達成され得る。好ましくは、抗体を含む本発明のタンパク質を投与する際、タンパク質が吸収されない材料を使用するために注意が払われなければならない。

【0568】

別の実施形態において、化合物または組成物は、小胞、特に、リポソーム中へ送達され得る（Langer, Science 249:1527-1533 (1990); Treatら, Liposomes in the Therapy of Infectious Disease and Cancer, Lopez-BeresteinおよびFidler (編), Liss, New York, 353~365頁 (1989); Lopez-Berestein, 同書317~327頁を参照のこと; 広く同書を参照のこと)。

【0569】

さらに別の実施形態において、化合物または組成物は制御された放出システム中で送達され得る。1つの実施形態において、ポンプが用いられ得る（Langer, (前出); Sefton, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:201 (1987); Buchwaldら, Surgery 88:507 (1980); Saudekら, N. Engl. J. Med. 321:574 (1989)を参照のこと)。別の実施形態において、高分子材料が用いられ得る（Medical Applications of Controlled Release, LangerおよびWise (編), CRC Press., Boca Raton, Florida (1974); Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design and Performance, SmolenおよびBall (編), Wiley, New York (1984); RangerおよびPeppas, J. Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem. 23:61 (1983)を参照のこと; Levyら, Science 228:190 (1985); Duringら, Ann. Neurol. 25:351 (1989); Howardら, J. Neurosurg. 71:105 (1989)もまた参照のこと)。さらに別の実施形態において、制御された放出

システムは、治療標的、即ち、脳の近くに置かれ得、従って、全身用量の一部のみを必要とする（例えば、Goodson, Medical Applications of Controlled Release, (前出), 第2巻, 115～138頁(1984)を参照のこと）。

【0570】

徐放性マトリックスは、ポリアクチド（米国特許番号第3, 773, 919号、EP 58, 481号）、L-グルタミン酸と γ -エチルー-L-グルタミン酸のコポリマー（Sidman, U. ら、Biopolymers 22:547-556 (1983)）、ポリ（2-ヒドロキシエチル メタクリレート）（R. Langer ら、J. Biomed. Mater. Res. 15:167-277 (1981)、およびR. Langer、Chem. Tech. 12:98-105 (1982)）、エチレンビニルアセテート（R. Langer ら、同書）、またはポリ-D-（-）-3-ヒドロキシ酪酸（EP 133, 988）を含む。

【0571】

徐放性組成物はまた、リポソームに捕捉された本発明の組成物を含む（一般には、Langer, Science 249:1527-1533 (1990) ; Treat ら、Liposomes in the Therapy of Infectious Disease and Cancer, Lopez-Berestein および Fidler (編), Liss, New York, 317-327 頁および 353-365 頁 (1989)）。TNFR ポリペプチド含有リポソームは、それ自体既知の方法によって調製される：DE 3, 218, 121 ; Epstein ら、Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 82:3688-3692 (1985) ; Hwang ら、Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 77:4030-4034 (1980) ; EP 52, 322 ; EP 36, 676 ; EP 88, 046 : EP 143, 949 ; EP 142, 641 ; 日本特許出願 83-118008 ; 米国特許第 4, 485, 045 号および第 4, 544, 545 号 ; および、EP 102, 324。一般的に、リポソームは、脂質含有量が約 30 モル% コレステロールよ

り多い、小さな（約200～800オングストローム）単ラメラ型であり、選択される割合は、最適なTNFRポリペプチド治療について調整される。

【0572】

なおさらなる実施形態において、本発明の組成物は、ポンプによって送達される（Langer, 前出; Sefton, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:201 (1987); Buchwaldら, Surgery 88:507 (1980); Saudekら, N. Engl. J. Med. 321:574 (1989) を参照のこと）。

【0573】

他の制御放出（controlled release）系は、Langer（Science 249:1527-1533 (1990)）による総説において議論される。

【0574】

本発明の化合物がタンパク質をコードする核酸である、特定の実施形態において、その核酸は、それを適切な核酸発現ベクターの一部として構成し、そしてそれが細胞内になるように投与することにより（例えば、レトロウイルスベクターの使用により（米国特許第4,980,286号を参照のこと）、または直接注射により、または微粒子ボンバードメント（例えば、遺伝子銃; Biolistic, Dupont）の使用により、または脂質もしくは細胞表面レセプターもしくはトランスフェクト剤でコーティングすることにより、または核に入ることが公知であるホメオボックス様ペプチドと結合させて投与すること（例えば、Joliotら, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:1864-1868 (1991) を参照のこと）などにより、そのコードされたタンパク質の発現を促進するようにインビボで投与され得る。あるいは、核酸は、細胞内に導入され得、そして、発現のために相同組換えにより宿主細胞DNA内に組み込まれ得る。

【0575】

本発明はまた、薬学的組成物を提供する。このような組成物は、治療有効量の化合物、および薬学的に受容可能なキャリアを含む。具体的な実施形態において

、用語「薬学的に受容可能な」とは、動物における、そしてさらに特にヒトにおける使用のために、連邦規制当局もしくは米国政府により認められたか、または米国薬局方もしくは他の一般に認められた薬局方に列挙されたことを意味する。用語「キャリア」とは、治療剤とともに投与される、希釈剤、アジュバンド、賦形剤、またはビヒクルをいう。このような薬学的なキャリアは、水および油（石油起源、動物起源、植物起源、または合成起源の油（例えば、ピーナッツ油、大豆油、鉱油、ゴマ油など）を含む）のような滅菌した液体であり得る。水は、薬学的組成物が静脈内に投与される場合に、好ましいキャリアである。生理食塩水溶液、ならびにデキストロースおよびグリセロールの水溶液はまた、特に注射可能な溶液のために、液体キャリアとして使用され得る。適切な薬学的賦形剤としては、デンプン、グルコース、ラクトース、スクロース、ゼラチン、麦芽、イネ、フラワー、チョーク、シリカゲル、ステアリン酸ナトリウム、モノステアリン酸グリセロール、滑石、塩化ナトリウム、脱脂粉乳、グリセロール、プロピレングリコール、水、エタノールなどが挙げられる。組成物はまた、所望されるならば、少量の湿潤剤もしくは乳化剤、またはpH緩衝剤を含み得る。これらの組成物は、液剤、懸濁剤、乳剤、錠剤、丸剤、カプセル剤、散剤、徐放性処方物などの形態を取り得る。この組成物は、従来の結合剤およびトリグリセリドのようなキャリアとともに、坐剤として処方され得る。経口処方物は、薬学的等級のマニトール、ラクトース、デンプン、ステアリン酸マグネシウム、サッカリンナトリウム、セルロース、炭酸マグネシウムなどのような標準キャリアを含み得る。適切な薬学的キャリアの例は、E. W. Martinによる「Remington's Pharmaceutical Sciences」に記載される。このような組成物は、患者への適切な投与のための形態を提供するように、治療有効量の化合物を、好ましくは精製された形態で、適切な量のキャリアとともに含む。処方物は、投与形態に適するべきである。

【0576】

好ましい実施形態において、組成物は、慣用手順に従って、ヒトへの静脈内投与のために適合された薬学的組成物として、処方される。代表的には、静脈内投与のための組成物は、滅菌等張水性緩衝液の溶液である。必要な場合、組成物は

また、可溶化剤および注射の部位での痛みを緩和するリグノカインのような局部麻酔を含み得る。一般的には、成分は、別々にかまたは単一投薬形態と一緒に混合してのどちらかで、例えば、一定量の活性薬剤を示すアンプルまたはサシェ (s a c h e t t e) のような密封された容器中の凍結乾燥粉末または水を含まない濃縮物として供給される。組成物が注入により投与されるべき場合には、組成物は、滅菌した薬学的等級の水または生理食塩水を含む注入ボトルに分配され得る。組成物が注射により投与される場合、成分が投与の前に混合され得るように、注射用滅菌水または生理食塩水のアンプルが提供され得る。

【0577】

本発明の化合物は、中性のまたは塩の形態として処方され得る。薬学的に受容可能な塩としては、塩酸、リン酸、酢酸、シュウ酸、酒石酸などに由来するアニオンのようなアニオンとともに形成される塩、およびナトリウム、カリウム、アンモニウム、カルシウム、水酸化第2鉄、イソプロピルアミン、トリエチルアミン、2-エチルアミノエタノール、ヒスチジン、プロカインなどに由来するカチオンのようなカチオンとともに形成される塩が挙げられる。

【0578】

本発明のポリペプチドの異常な発現および／または活性と関連する疾患または障害の、処置、抑制および予防において効果的である本発明の化合物の量は、標準的な臨床技術により決定され得る。さらに、インビトロアッセイは、必要に応じて、最適な投薬量の範囲の同定を補助するために使用され得る。処方において使用されるべき正確な用量はまた、投与の経路、および疾患または障害の重篤さに依存し、そして開業医の判断および各患者の状況に従って決定されるべきである。有効用量は、インビトロまたは動物モデル試験系から得られた用量応答曲線に基づいて推定され得る。

【0579】

抗体に関して、患者に投与される投薬量は、代表的に、患者の体重1kgあたり0.1mg~100mgである。好ましくは、患者に投与される投薬量は、患者の体重1kgあたり0.1mgと20mgとの間であり、より好ましくは、患者の体重1kgあたり1mg~10mgである。一般に、ヒト抗体は、外来ポリ

ペプチドへの免疫応答に起因して、他種由来の抗体よりもヒト体内で長い半減期を有する。従って、ヒト抗体の低い投薬量および低い頻度の投与は、しばしば可能である。さらに、本発明の抗体の投与の用量および頻度は、改変（例えば、脂溶化（lipidation）のような）による抗体の取り込みおよび組織浸透（例えば、脳への）を増強することにより減少され得る。

【0580】

本発明はまた、本発明の薬学的組成物の一つ以上の成分を充填される一つ以上の容器を備える薬学的パックまたはキットを提供する。薬学的製品または生物学的製品の製造、使用または販売を規制している政府機関により規定される形式における通告は、このような容器に、必要に応じて添付され得る。この通告は、ヒトの投与のための製造、使用または販売のこの機関による認可を表す。

【0581】

（診断および画像化）

目的のポリペプチドに特異的に結合する標識化抗体、ならびにその誘導体およびそのアナログは、診断目的のために使用されて、本発明のポリペプチドの異常な発現および／または活性に関連する疾患および／または障害を検出、診断またはモニターし得る。本発明は、目的のポリペプチドの異常な発現の検出を提供し、これは、（a）目的のポリペプチドに特異的な1つ以上の抗体を使用して、個体の細胞または体液中の目的のポリペプチドの発現をアッセイする工程、および（b）この遺伝子発現レベルを標準的な遺伝子発現のレベルと比較する工程、を包含し、これによって、その標準的な発現レベルと比較されるアッセイされたポリペプチド遺伝子発現レベルの増加または減少が、異常な発現を示す。

【0582】

本発明は、障害を診断するための診断アッセイを提供し、このアッセイは、（a）目的のポリペプチドに特異的な1つ以上の抗体を使用して、個体の細胞または体液中の目的のポリペプチドの発現をアッセイする工程、および（b）この遺伝子発現レベルを標準的な遺伝子発現のレベルと比較する工程、を包含し、これによって、その標準的な発現レベルと比較されるアッセイされたポリペプチド遺伝子発現レベルの増加または減少が、特定の障害を示す。癌に関して、個体由来

の生検組織における比較的高い量の転写物の存在は、疾患の発症についての疾病素質を示し得るか、または実際の臨床症状の出現前に疾患を検出するための手段を提供し得る。この型のより決定的な診断は、保健専門家に予防手段を使用させること、または早期の積極的な処置を可能にし得、これにより、癌の発生またはさらなる進行を予防する。

【0583】

本発明の抗体を使用して、当業者に公知の古典的な免疫組織学的方法を使用して生物学的サンプル中のタンパク質レベルをアッセイし得る（例えば、Jalkanen, M. ら、J. Cell. Biol. 101:976-985 (1985) ; Jalkanen, M. ら、J. Cell. Biol. 105:3087-3096 (1987) を参照のこと）。タンパク質遺伝子発現を検出するために有用な、抗体に基づく他の方法としては、イムノアッセイ（例えば、酵素結合免疫吸着アッセイ検定法（ELISA）およびラジオイムノアッセイ（RIA））が挙げられる。適切な抗体アッセイ標識は、当該分野において公知であり、そして酵素標識（例えば、グルコースオキシダーゼ）；および放射性同位体（例えば、ヨウ素（ ^{125}I 、 ^{121}I ）、炭素（ ^{14}C ）、硫黄（ ^{35}S ）、トリチウム（ ^3H ）、インジウム（ ^{112}In ）、およびテクネチウム（ ^{99}Tc ）；発光標識（例えば、ルミノール）；ならびに蛍光標識（例えば、フルオレセインおよびローダミン）、ならびにビオチンが挙げられる。

【0584】

本発明の1つの局面は、動物、好ましくは哺乳動物、そして最も好ましくはヒトにおける、目的のポリペプチドの異常な発現と関連する疾患または障害の検出および診断である。1つの実施形態において、診断は、（a）目的のポリペプチドに特異的に結合する有効量の標識化分子を被験体に（例えば、非経口的に、皮下に、または腹腔内に）投与する工程；（b）このポリペプチドが発現する被験体内の部位でこの標識化分子が優先的に濃縮することを可能にするために（および結合していない標識化分子がバックグラウンドレベルまで除去されるために）投与後、時間間隔を待つ工程；（c）バックグラウンドレベルを決定する工程；および（d）この被験体中の標識化分子を検出する工程、を包含し、その結果、

このバックグラウンドレベルを越える標識化分子の検出は、この被験体が目的のポリペプチドの異常な発現と関連する特定の疾患または障害を有することを示す。バックグラウンドレベルは、特定の系について以前に決定された標準的な値と、検出された標識化分子の量を比較する工程を包含する種々の方法により決定され得る。

【0585】

被験体の大きさおよび使用される画像化システムが、診断の画像を作製するために必要である画像化部分の量を決定するということは、当該分野において理解される。放射性同位体部分の場合、ヒト被験体について、注入される放射能の量は、通常、約5～20mキュリーの範囲の ^{99}Tc である。次いで、標識化抗体または標識化抗体フラグメントは、特定のタンパク質を含む細胞の位置で優先的に蓄積する。インビボでの腫瘍の画像化は、S. W. Burchielら、「Immunopharmacokinetics of Radiolabeled Antibodies and Their Fragments」(Tumor Imaging、第13章:The Radiochemical Detection of Cancer, S. W. BurchielおよびB. A. Rhodes編、Masson Publishing Inc. (1982)において、記載される。

【0586】

使用する標識の型および投与の様式を含む、いくつかの変数に依存して、標識化分子が被験体中の部位に優先的に濃縮することを可能にするため、および結合していない標識化分子がバックグラウンドレベルまで除去されるための投与後の時間間隔は、6～48時間もしくは6～24時間または6～12時間である。別の実施形態において、投与後の時間間隔は、5～20日間または5～10日間である。

【0587】

1つの実施形態において、疾患および障害をモニターすることは、疾患または障害(disease)を診断するための方法を繰り返すことによって実施される(例えば、最初の診断から1ヶ月後、最初の診断から6ヶ月後、最初の診断か

ら1年後、など）。

【0588】

標識化分子の存在は、インビボスキャンニングについての当該分野で公知の方法を使用して患者中で検出され得る。これらの方法は、使用される標識の型に依存する。当業者は、特定の標識を決定するための適切な方法を決定することができる。本発明の診断方法において使用され得る方法およびデバイスは、コンピュータ連動断層撮影法（C T）、体全体のスキャン（例えば、陽子（p o s i t i o n）放射断層撮影法（P E T））、磁気共鳴画像法（M R I）、および超音波診断法を含むが、これらに限定されない。

【0589】

特定の実施形態において、分子を放射性同位体で標識し、そして放射応答外科的機器（r a d i a t i o n r e s p o n s i v e s u r g i c a l i n s t r u m e n t）（Thurstonら、米国特許第5, 441, 050号）を使用して患者中で検出する。別の実施形態において、分子を蛍光化合物で標識し、そして蛍光応答スキャンニング機器を使用して患者中で検出する。別の実施形態において、分子を陽電子放射金属で標識し、そして陽電子放射断層撮影法を使用して患者中で検出する。さらに別の実施形態において、分子を常磁性標識で標識し、そして磁気共鳴画像法（M R I）を使用して患者中で検出する。

（キット）

本発明は、上記の方法において使用され得るキットを提供する。1つの実施形態において、キットは、1つ以上の容器に、本発明の抗体、好ましくは精製した抗体を備える。特定の実施形態において、本発明のキットは、エピトープを含む実質的に単離されたポリペプチドを備える。このエピトープは、キット中に含まれる抗体と特異的に免疫反応する。好ましくは、本発明のキットは、目的のポリペプチドと反応しないコントロール抗体をさらに備える。別の特定の実施形態において、本発明のキットは、目的のポリペプチドへの抗体の結合を検出するための手段を備える（例えば、この抗体は、検出可能な基質（例えば、蛍光化合物、酵素基質、放射性化合物もしくは発光化合物）に結合体化され得るか、または一次抗体を認識する二次抗体が、検出可能な基質と結合体化され得る）。

【0590】

本発明の別の特定の実施形態において、キットは、増殖性および／または癌性のポリヌクレオチドおよびポリペプチドに対して特異的な抗体を含む血清のスクリーニングに使用するための診断キットである。このようなキットは、目的のポリペプチドと反応しないコントロール抗体を備え得る。このようなキットは、エピトープを含む実質的に単離されたポリペプチド抗原を備え得る。このエピトープは、少なくとも1つの抗ポリペプチド抗原抗体と特異的に免疫反応する。さらに、このようなキットは、抗原に対する上記の抗体の結合を検出するための手段を備える（例えば、抗体は、蛍光化合物（例えば、フローサイトメトリーにより検出され得るフルオレセインまたはローダミン）と結合体化され得る）。特定の実施形態において、キットは、組換え的に産生されたポリペプチド抗原または化学的に合成されたポリペプチド抗原を備え得る。キットのポリペプチド抗原はまた、固体支持体に付着され得る。

【0591】

より特定の実施形態において、上記のキットの検出手段は、上記のポリペプチド抗原が付着する固体支持体を備える。このようなキットはまた、非付着レポーター標識化抗ヒト抗体を備え得る。この実施形態において、ポリペプチド抗原への抗体の結合は、上記のレポーター標識化抗体の結合によって検出され得る。

【0592】

さらなる実施形態において、本発明は、本発明のポリペプチドの抗原を含む血清のスクリーニングにおいて使用するための、診断キットを含む。この診断キットは、ポリペプチド抗原またはポリヌクレオチド抗原と特異的に免疫反応する実質的に単離された抗体、およびこの抗体へのこのポリヌクレオチド抗原またはポリペプチド抗原の結合を検出するための手段を備える。1つの実施形態において、抗体は、固体支持体に付着される。特定の実施形態において、抗体は、モノクローナル抗体であり得る。キットのこの検出手段は、二次標識化モノクローナル抗体を含み得る。あるいは、またはさらに、この検出手段は、標識化競合抗原を含み得る。

【0593】

1つの診断構成において、試験血清を、本発明の方法により得られる表面結合抗原を有する固相試薬と反応させる。特定の抗原抗体とこの試薬との結合、および洗浄することによる結合していない血清成分の除去の後、この試薬をレポーター標識化抗ヒト抗体と反応させて、固体支持体上の結合した抗抗原抗体の量に比例して、この試薬にレポーターを結合させる。この試薬を再び洗浄して、結合していない標識化抗体を除去し、そしてこの試薬と結合するレポーターの量を決定する。代表的に、レポーターは、酵素であり、この酵素は、適切な蛍光分析用基質、発光性基質または比色用基質（Sigma, St. Louis, MO）の存在下で固相をインキュベートすることにより検出される。

【0594】

上記アッセイにおける固体表面試薬は、固体支持体物質（例えば、ポリマービーズ、ディップスティック、96ウェルプレートまたは濾過材料）へタンパク質物質を付着する公知の技術によって調製される。これらの付着法としては、一般に、支持体へのタンパク質の非特異的吸着またはタンパク質の（代表的には、遊離のアミン基による）固体支持体上の化学的反応基（例えば、活性化カルボキシル基、ヒドロキシル基、もしくはアルデヒド基）に対する共有結合性の付着が挙げられる。あるいは、ストレプトアビジンコートプレートが、ビオチン化抗原と組み合わせて使用され得る。

【0595】

従って、本発明は、この診断方法を実施するためのアッセイ系またはキットを提供する。このキットは、一般に、表面に結合した組換え抗原を有する支持体、および表面に結合した抗抗原抗体を検出するためのレポーター標識化抗ヒト抗体を含む。

【0596】

本発明に一般的に記載されるように、以下の実施例を参照することにより、本発明は、より容易に理解されるが、以下の実施例は、例示の目的で提供され、限定として意図されない。

【0597】

（実施例1：E. coliにおけるTR2の発現および精製）

細菌性発現ベクターpQE60を、本実施例の細菌性発現のために使用する（QIAGEN, Inc., 9259 Eton Avenue, Chatsworth, CA, 91311）。pQE60はアンピシリン抗生物質耐性（「Amp^r」）をコードし、そして細菌の複製起点（「ori」）、IPTG誘導性プロモーター、リボソーム結合部位（「RBS」）、QIAGEN Inc.（前出）から販売されているニッケル-ニトリロ-三酢酸（「Ni-NTA」）アフィニティー樹脂を用いてアフィニティー精製を可能にする、ヒスチジン残基をコードする6つのコドン、および適切な単一の制限酵素切断部位を含む。これらのエレメントは、ポリペプチドをコードするDNAフラグメントが、このペプチドのカルボキシル末端に共有結合した6つのHis残基（すなわち、「6×Hisタグ」）を有するポリペプチドを産生するような様式で挿入され得るように、配置される。しかし、この実施例において、ポリペプチドをコードする配列は、6Hisコドンの翻訳が妨げられ、それゆえ、ポリペプチドは6×Hisタグを伴わずに産生されるように挿入される。

【0598】

疎水性リーダー配列を欠く、TR2タンパク質の所望の部分をコードするDNA配列は、TR2タンパク質の所望の部分のアミノ末端配列にアニーリングし、そしてcDNAコード配列の3'側の寄託された構築物中の配列にアニーリングするPCRオリゴヌクレオチドプライマーを用いて、寄託されたcDNAから増幅される。pQE60ベクターにおけるクローニングを容易にする制限部位を含むさらなるヌクレオチドは、それぞれ、5'および3'配列に加えられる。

【0599】

成熟タンパク質をクローニングするために、5'プライマーは、下線を付したNcoI制限部位およびそれに続く図1A～1Bの成熟TR2配列のアミノ末端コード配列に相補的な18ヌクレオチドを含む、配列：

5'CGCCCATGGCCCCAGCTCTGCCGTCCT3'（配列番号14）を有する。当然のように、5'プライマーが開始するタンパク質コード配列の位置は、成熟形態より短いかまたは長い完全なタンパク質の所望の部分を増幅するために変動され得ることを、当業者は理解する。3'プライマーは、下線

を付したHindIII制限部位、およびTR2レセプターの細胞外ドメインをコードする、図1A～1Bに示されるヌクレオチド配列の3'末端に相補的な18ヌクレオチドを含む、配列：

5'CGCAAGCTTATTGTGGGAGCTGCTGGTCCC3'（配列番号15）を有する。

【0600】

増幅されたTR2のDNAフラグメントならびにpQE60ベクターは、NcoIおよびHindIIIで消化され、次いで消化されたDNAは、ともに連結される。制限されたpQE60ベクターへTR2のDNAを挿入することによって、IPTG誘導性プロモーターおよび開始AUGを有するインフレームから下流の、その関連終止コドンを含むTR2タンパク質コード領域を配置する。この関連終止コドンは、挿入位置の下流の6ヒスチジンコドンの翻訳を妨げる。

【0601】

連結混合物を、Sambrookら、Molecular Cloning: a Laboratory Manual、第2版；Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N. Y. (1989)に記載されるような標準的な手順を用いて、コンピテントなE. coli細胞に形質転換する。複数のコピーのプラスミドpREP4（これは、lacリプレッサーを発現し、そしてカナマイシン耐性（「Kan^r」）を付与する）を含有するE. coli株M15/rep4を本明細書中に記載の例示的实施例を実施する際に使用する。この株（これは、TR2のタンパク質を発現するために適切である多くの株の内の唯一の株である）は、QIAGEN Inc., (前出)から市販される。形質転換体を、アンピシリンおよびカナマイシンの存在下でLBプレート上で増殖するそれらの能力により同定する。プラスミドDNAを耐性コロニーから単離し、そしてクローニングされたDNAの同定を、制限分析、PCRおよびDNA配列決定により確認する。

【0602】

所望の構築物を含むクローンを、アンピシリン（100 μg/ml）とカナマイシン（25 μg/ml）の両方を補充したLB培地における液体培養で一晩（

「O/N」) 増殖させる。O/N培養物を用いて約1:25~1:250の希釈で大規模培地に接種する。細胞を、0.4と0.6との間の、600nmでの光学密度(「OD600」)にまで増殖させる。次いで、イソプロピルーb-D-チオガラクトピラノシド(「IPTG」)を1mMの最終濃度で加えて、lacリプレッサーを不活化することにより、lacリプレッサー感受性プロモーターからの転写を誘導する。細胞をさらに3~4時間引き続きインキュベートする。次いで、細胞を遠心分離により採集する。

【0603】

次いで、TR2タンパク質を精製するために、細胞を、6M グアニジーン-HCl、pH 8中で4℃で3~4時間攪拌する。細胞片を、遠心分離により除去し、そしてTR2を含む上清を、200mM NaClを補充した50mM 酢酸Na緩衝液(pH 6)に対して透析する。あるいは、このタンパク質を、プロテアーゼインヒビターを含む500mM NaCl、20%グリセロール、25mM Tris/HCl pH7.4に対して透析することにより、タンパク質を首尾良く再び折り畳みさせ得る。復元の後、タンパク質をイオン交換クロマトグラフィー、疎水性相互作用クロマトグラフィー、およびサイズ排除クロマトグラフィーによって精製し得る。あるいは、抗体カラムのようなアフィニティークロマトグラフィー工程を用いて、純粋なTR2タンパク質を得ることができる。精製されたタンパク質を、4℃で保存するかまたは-80℃で凍結する。

【0604】

(実施例2)

(実施例2(a): バキュロウイルス発現系におけるTR2タンパク質の可溶性フラグメントのクローニングおよび発現)

この実施例において、プラスミドシャトルベクターpA2 GPを用いて、その天然に付随する分泌シグナル(リーダー)配列を欠失した、図1A~1Bに示されるTR2レセプタータンパク質の成熟細胞外ドメインをコードするクローニングされたDNAを、バキュロウイルスに挿入する。このタンパク質を、バキュロウイルスリーダー、およびSummersら、A Manual of Methods for Baculovirus Vectors and In

sect Cell Culture Procedures, Texas Agricultural Experimental Station Bulletin 第1555号(1987)に記載のような標準的な方法を用いて発現させた。この発現ベクターは、Autographa californica核多角体病ウイルス(AcMNPV)の強力なポリヘドリンプロモーターおよびそれに続くバキュロウイルスgp67タンパク質の分泌シグナルペプチド(リーダー)を含み、BamHI、XbaI、およびAsp718のような簡便な制限部位を含む。シミアンウイルス40(「SV40」)のポリアデニル化部位を、効率的なポリアデニル化のために用いる。組換えウイルスの平易な選択のために、プラスミドは、同じ配向で、弱Drosophilaプロモーターの制御下で、E. coli由来のβガラクトシダーゼ遺伝子を含み、続いて、ポリヘドリン遺伝子のポリアデニル化シグナルを含む。挿入遺伝子は、野生型ウイルスのDNAとの細胞媒介性相同組換えのためにウイルス配列の両側に隣接し、クローニングされたポリヌクレオチドを発現する生存ウイルスを産生する。

【0605】

当業者に容易に理解されるように、必要ならば、構築物がシグナルペプチドおよびインフレームAUGを含む、転写、翻訳、分泌などのための適切に配置されたシグナルを提供する限り、多くの他のバキュロウイルスベクターを、上記のベクター(例えば、pAc373、pVL941、およびpAcIM1)の代わりに用い得る。例えば、このようなベクターは、Luckowら、Virology 170:31~39に記載される。

【0606】

寄託されたプラスミド(ATCC寄託番号97059)中のTR2レセプタータンパク質の成熟細胞外ドメイン(図1A~1Bに示されるアミノ酸37~200)を本質的にコードするcDNA配列を、遺伝子の関連する5'配列および3'配列に対応するPCRオリゴヌクレオチドプライマーを用いて増幅した。上記の各々の5'プライマーは、配列:

5'CGCGGATCCCGGAGCCCCCTGCTAC3'(配列番号16)を有し、この配列は、下線を付したBamHI制限酵素部位、Kozak, M

., J. Mol. Biol. 196:947~950 (1987)に記載のような、真核生物細胞の翻訳を開始するための効率的なシグナル、続いて図1A~1Bに示されるTR2タンパク質のコード配列の15塩基（ヌクレオチド354で始まる）を含む。3'プライマーは、配列：

5'CGCGGTACCATTGTGGGAGCTGCTGGTCCC3'（配列番号17）を有し、この配列は、下線を付したAsp718制限部位、続いて図1A~1B中のコード配列に相補的な17ヌクレオチドを含む。

【0607】

増幅されたフラグメントを、市販のキット（「Geneclean」BIO 101 Inc., La Jolla, Ca）を用いて1%アガロースゲルから単離した。次いで、このフラグメントを、BamHIおよびAsp718で消化し、そして1%アガロースゲル上で精製した。このフラグメントは、本明細書中で「F1」と表す。

【0608】

プラスミドを、制限酵素BamHIおよびAsp718で消化し、仔ウシ腸ホスファターゼを用いて脱リン酸化した。次いで、このDNAを市販のキット（「Geneclean」BIO 101 Inc., La Jolla, Ca）を用いて1%アガロースゲルから単離した。このベクターDNAを、本明細書中で「V1」と表す。

【0609】

このフラグメントF1および脱リン酸化プラスミドV1を、T4 DNAリガーゼで連結する。E. coli HB101細胞を、連結混合物で形質転換し、そして培養プレートに播種した。XL-1 Blue (Stratagene Cloning Systems, La Jolla, CA)のような他の適切なE. coli 宿主もまた使用され得る。PCR法を使用して、ヒトTR2レセプター遺伝子を有するプラスミドを含む細菌を同定した。PCR法において、遺伝子を増幅させるために使用されるプライマーの1つおよびベクターの充分中にある第2のプライマーにより、TR2遺伝子フラグメントを含む細菌コロニーのみが、DNAの増幅を示す。クローニングされたフラグメントの配列を、DNA

配列決定によって確認した。このプラスミドを、本明細書中で、pBacTR2-Tと称した。

【0610】

5 μ gのプラスミドpBacTR2-Tを、Felgnerら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84:7413-7417 (1987)によって記載されるリポフェクション法を用いて、1.0 μ gの市販の線状化バキュロウイルスDNA (「BaculoGold™ baculovirus DNA」, Pharmingen, San Diego, CA.)とともに同時トランスフェクトした。1 μ gのBaculoGold™ウイルスDNAおよび5 μ gのプラスミドpBacTR2-Tを、50 μ lの無血清グレース培地 (Life Technologies Inc., Gaithersburg, MD)を含むマイクロタイタープレートの無菌ウェル中で混合した。その後、10 μ lのリポフェクチンおよび90 μ lのグレース培地を添加し、混合し、そして室温にて15分間インキュベートした。次いで、このトランスフェクション混合物を、無血清グレース培地1mlを有する35mm組織培養プレート内に播種されたSf9昆虫細胞 (ATCC CRL 1711)に滴下した。このプレートを前後に揺らし、新しく添加された溶液を混合させた。次いでプレートを、27℃で5時間インキュベートする。5時間後、トランスフェクション溶液をプレートから除去し、そして10%ウシ胎児血清を補充した1mlのグレース昆虫培地を添加した。このプレートをインキュベーター内に戻し、27℃で4日間培養を続ける。

【0611】

4日後、上清を回収し、そしてSummersおよびSmith (前出)に記載されるようにプラークアッセイを行った。青く染色されたプラークを産生するgal発現クローンの容易な同定および単離を可能にするために、「Blue Gal」 (Life Technologies Inc., Gaithersburg)を有するアガロースゲルを用いた。(このタイプの「プラークアッセイ」の詳細な説明はまた、Life Technologies Inc., Gaithersburg、で配布される昆虫細胞培養およびバキュロウイルス学

の使用者ガイド（9～10頁）においても見い出され得る）。適切なインキュベーションの後、青く染色されたプラークをマイクロピペッターの（例えば、エッペンドルフ）チップで拾った。次いで、組換えウイルスを含む寒天を、200 μ lのグレース培地を含む微小遠心管中に再懸濁した。そして、組換えバキュロウイルスを含む懸濁液を用いて、35mmディッシュに播種された昆虫Sf9細胞に感染させた。4日後、これらの培養ディッシュの上清を回収し、次いでそれらを4℃で保存する。この組換えウイルスをVTR2-Tと称する。

【0612】

使用された遺伝子の発現を確認するために、Sf9細胞を、10%熱非働化FBSを補充したグレース培地中で増殖させる。細胞を、約2の感染多重度（「MOI」）で組換えバキュロウイルスVTR2-Tを感染させた。6時間後、その培地を除去し、そしてメチオニンおよびシステインを除いたSF900 II培地（Life Technologies Inc., Rockville, MDから入手可能）に置き換える。42時間後、5 μ Ciの³⁵S-メチオニンおよび5 μ Ciの³⁵S-システイン（Amershamから入手可能）を放射標識タンパク質に添加する。細胞をさらに16時間インキュベートし、次いで細胞を遠心分離により収集する。上清中のタンパク質および細胞内タンパク質をSDS-PAGE、続いてオートラジオグラフィーにより分析した。精製タンパク質のアミノ末端のアミノ酸配列の微小配列決定を用いて、成熟タンパク質のアミノ末端配列および分泌シグナルペプチドの切断点および長さを決定した。

（実施例2（b）：バキュロウイルス発現系におけるTR2タンパク質のクローニングおよび発現）

実施例2（a）に記載されるTR2レセプターの短縮化バージョンのクローニングおよび発現と同様に、組換えバキュロウイルスを作製した。これは、図1A～1B（配列番号2）に示される全長TR2レセプタータンパク質を発現する。

【0613】

本実施例において、プラスミドシャトルベクターpA2を用いて、その天然に付随する分泌シグナル（リーダー）配列を含む、完全なタンパク質をコードするクローニングされたDNAを、バキュロウイルスに挿入して、成熟TR2タンパ

ク質を発現させる。pA2ベクターの他の特性は、実施例2(a)で使用されたpA2 GPベクターに記載される特性と同様である。

【0614】

寄託されたプラスミドにおいて、全長のTR2タンパク質をコードするcDNA配列(図1A~1B(配列番号2))に示される、AUG開始コドン、および天然に付随するリーダー配列を含む)を、遺伝子の5'配列および3'配列に対応するPCRオリゴヌクレオチドプライマーを用いて増幅する。5'プライマーは、配列:

5' GCGCGGATCCACCATGGAGCCTCCTGGAGACTGG
3' (配列番号18)を有し、この配列は、下線を付したBamHI制限酵素部位、Kozak, M., J. Mol. Biol. 196:947~950(1987)に記載のような、真核生物細胞において翻訳を開始するための効率的なシグナル、続いて図1A~1Bに示される完全TR2タンパク質の配列の21ヌクレオチド(AUG開始コドンで始まる)を含む。3'プライマーは、配列:

5' GCGCGGTACCTCTACCCCAGCAGGGGGCGCCA3' (配列番号19)を有し、この配列は、下線を付したAsp718制限部位、それに続く図1A~1Bの3'非コード配列に相補的な21ヌクレオチドを含む。

【0615】

増幅されたフラグメントを単離し、そして実施例2(a)に記載されるような制限酵素で消化して、プラスミドpBacTR2を生成した。

【0616】

5μgのpBacTR2を、全容量200μlの無血清培地で、1μgのBaculoGold™(Pharmingen)ウイルスDNAおよび10μlのLipofectin™(Life Technologies, Inc)とともに同時トランスフェクトした。1次ウイルスを、感染後(pi)4~5日目に採集し、そしてプラークアッセイで使用した。プラーク精製ウイルスを、実施例2(a)に記載されるように、続けて増幅および凍結した。

【0617】

発現されたタンパク質の放射標識化のために、Sf9細胞を、 0.5×10^6

細胞／mlを含む2.0mlの細胞懸濁液を有する12ウェルディッシュに播種し、そして4時間付着させた。組換えバキュロウイルスを使用して、細胞を1～2のMOIで感染させた。4時間後、この培地を、メチオニンおよびシステインを枯渇させた無血清培地（－Met／－Cys）1.0mlと置き換えた。p i 3日目に、この培養培地を、各々2 μ Ciの $[^{35}\text{S}]$ －Metおよび $[^{35}\text{S}]$ －Cysを含む0.5mlの－Met／－Cysと置き換えた。細胞を16時間標識化し、その後、培養培地を除去して、そして遠心分離により清澄化した（上清（Supernatant））。これらの細胞を、0.2mlの溶解緩衝液（20mM HEPES、pH 7.9；130mM NaCl；0.2mM EDTA；0.5mM DTTおよび0.5%（容量／容量）NP-40）の添加によりこのディッシュで溶解し、次いでdH₂Oで1.0mlまで希釈した（細胞抽出物（Cell Extract））。30 μ lの各上清および細胞抽出物を、15% SDS-PAGEによって分離した。タンパク質ゲルを染色し、脱染色し、増幅し、乾燥し、そしてオートラジオグラフィーした。組換えタンパク質に対応する標識化バンドは、16から72時間の露光の後に認識できた。

【0618】

（実施例3：哺乳動物細胞におけるTR2のクローニングおよび発現）

代表的な哺乳動物発現ベクターは、プロモーターエレメント（mRNAの転写の開始を媒介する）、タンパク質コード配列、ならびに転写の終結および転写物のポリアデニル化に必要なシグナルを含む。さらなるエレメントとしては、エンハンサー、Kozak配列、ならびにRNAスプライシングのためのドナー部位およびアクセプター部位に隣接する介在配列が挙げられる。非常に効率的な転写を、SV40由来の初期および後期プロモーター、レトロウイルス由来の長末端反復（LTR）（例えば、RSV、HTLV I、HIV I）ならびにサイトメガロウイルス（CMV）の初期プロモーターを用いて達成し得る。しかし、細胞性エレメントもまた使用され得る（例えば、ヒトアクチンプロモーター）。本発明の実施における使用に適切な発現ベクターとしては、例えば、PSVLおよびPMSG（Pharmacia, Uppsala, Sweden）、pRSVcat（ATCC 37152）、pSV2dhfr（ATCC 37146）、な

らびにpBC12MI (ATCC 67109) のようなベクターが挙げられる。使用され得る哺乳動物宿主細胞としては、ヒトHeLa293細胞、H9細胞およびJurkat細胞、マウスNIH3T3細胞およびC127細胞、Cos1細胞、Cos7細胞およびCV1細胞、ウズラQC1-3細胞、マウスL細胞、ならびにチャイニーズハムスター卵巣(CHO) 一細胞が挙げられる。

【0619】

あるいは、遺伝子は、染色体に組み込まれるその遺伝子を含む安定な細胞株において発現され得る。選択マーカー(例えば、dhfr、gpt、ネオマイシン、またはハイグロマイシン)との同時トランスフェクションは、トランスフェクトされた細胞の同定および単離を可能にする。

【0620】

トランスフェクトされた遺伝子はまた、増幅されて大量のコードされたタンパク質を発現し得る。DHFR(ジヒドロ葉酸レダクターゼ) マーカーは、目的の遺伝子の数百または数千ものコピーを有する細胞株を開発するのに有用である。別の有用な選択マーカーは、酵素グルタミンシンターゼ(GS) である(Murphyら、Biochem J. 227:277-279 (1991); Bebbingtonら、Bio/Technology 10:169-175 (1992))。これらのマーカーを使用して、哺乳動物細胞を選択培地において増殖させ、そして最も高い耐性を有する細胞を選択する。これらの細胞株は染色体に組み込まれた増幅された遺伝子を含む。チャイニーズハムスター卵巣(CHO) 細胞およびNSO細胞は、タンパク質の産生にしばしば使用される。

【0621】

発現ベクターpC1およびpC4は、ラウス肉腫ウイルスの強力なプロモーター(LTR) (Cullenら、Molecular and Cellular Biology, 438-447 (1985年3月)) およびCMV-エンハンサーのフラグメント(Boshartら、Cell 41:521-530 (1985)) を含む。複数のクローニング部位(例えば、制限酵素切断部位BamHI、XbaI、およびAsp718を有する) は、目的の遺伝子のクローニングを容易にする。ベクターはさらに、ラットプレプロインシュリン遺伝子の

3'イントロン、ポリアデニル化、および終結シグナルを含む。

【0622】

(実施例3(a)：COS細胞におけるクローニングおよび発現)

発現プラスミドpTR2HAを、TR2をコードするcDNAを発現ベクターpcDNA1/AmpまたはpcDNA1.1 (これは、Invitrogen, Inc. から入手し得る)へクローニングすることによって作製する。

【0623】

発現ベクターpcDNA1/ampは以下を含む：(1) E. coli および他の原核生物細胞における増殖に有効なE. coli 複製起点；(2) プラスミド含有原核生物細胞の選択のためのアンピシリン耐性遺伝子；(3) 真核生物細胞における増殖のためのSV40複製起点；(4) CMVプロモーター、ポリリンカー、SV40イントロン；(5) cDNAが都合良くCMVプロモーターの発現制御下におかれ、そしてポリリンカーにおける制限部位によってSV40イントロンおよびポリアデニル化シグナルに作動可能に連結され得るように配置された、赤血球凝集素フラグメント（すなわち、精製を容易にするための「HA」タグ）をコードするいくつかのコドン、続いて終止コドン、およびポリアデニル化シグナル。HAタグは、Wilsonら、Cell 37:767 (1984) によって記載されたインフルエンザ赤血球凝集素タンパク質に由来するエピトープに対応する。標的タンパク質へのHAタグの融合は、HAエピトープを認識する抗体を用いる、組換えタンパク質の容易な検出および回収を可能にする。pcDNA1.1はさらに、ネオマイシン選択マーカを含む。

【0624】

TR2をコードするDNAフラグメントを、組換えタンパク質発現がCMVプロモーターによって導かれるように、ベクターのポリリンカー領域にクローン化する。プラスミド構築ストラテジーは以下の通りである。寄託されたプラスミドのTR2 cDNAを、E. coli におけるTR2の発現のためのベクターの構築について先に記載されるのとほとんど同じように、都合の良い制限部位を含むプライマーを用いて増幅する。この実施例において使用される適切なプライマーとしては、以下が挙げられる。下線を付したBamHI部位、コザック配列、A

UG開始コドン、および完全なTR2の5'コード領域の6つのさらなるコドンを含む5'プライマーは、以下の配列を有する：

5' GCGC GGATCC ACCATGGAGCCTCCTGGAGACTGG
3' (配列番号20)。

下線を付したXbaI部位、停止コドン、HAタグ、および3'コード配列の19個の塩基対を含む3'プライマーは、(3'末端で)以下の配列を有する：

5' GCGC TCTAGA TCAAGCGTAGTCTGGGACGTCGTAT
TGGGTAGTGGTTTGGGCTCCTCCC3' (配列番号21)。

【0625】

PCR増幅DNAフラグメントおよびベクターpcDNA1/Ampを、BamHIおよびXbaIで消化し、次いで連結する。連結混合物を、E. coli株SURE (Stratagene Cloning Systems, 11099 North Torrey Pines Road, La Jolla, CA 92037より入手可能)へ形質転換し、そして形質転換培養物を、次いでインキュベートしてアンピシリン耐性コロニーの増殖を可能にするアンピシリン培地プレートへプレーティングする。プラスミドDNAを耐性コロニーから分離し、そしてTR-2をコードするフラグメントの存在について制限分析または他の手段によって試験する。

【0626】

組換えTR2の発現のために、COS細胞を、例えば、Sambrookら、Molecular Cloning: a Laboratory Manual, Cold Spring Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York (1989)に記載のようにDEAE-DEXTRANを用いて、上記のように発現ベクターでトランスフェクトする。細胞を、ベクターによるTR2の発現のための条件下でインキュベートする。

【0627】

TR2-HA融合タンパク質の発現を、例えば、Harlowら、Antibodies: A Laboratory Manual, 第2版; Cold S

pring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York (1988)に記載の方法を用いて放射標識化および免疫沈降法によって検出する。この目的のため、トランスフェクションの2日後に、細胞を、 ^{35}S -システインを含む培地中で8時間インキュベートすることによって標識する。細胞および培地を採取し、そして細胞を洗浄し、そしてWilsonら(上記に引用される)に記載されるように界面活性剤含有RIPA緩衝液: 150mM NaCl、1% NP-40、0.1% SDS、1% NP-40、0.5% DOC、50mM TRIS、pH 7.5で溶解する。タンパク質を、HA特異的モノクローナル抗体を用いて細胞溶解物および培養培地から沈降する。次いで、沈降されたタンパク質を、SDS-PAGEおよびオートラジオグラフィーによって分析する。期待されるサイズの発現産物は、細胞溶解物において観察され、これはネガティブコントロールにおいては見られない。

【0628】

(実施例3(b): CHO細胞におけるクローニングおよび発現)

ベクターpC4を、TR2タンパク質の発現のために使用する。プラスミドpC4は、プラスミドpSV2-dhfr(ATCC寄託番号37146)の誘導体である。このプラスミドは、SV40初期プロモーターの制御下で、マウスDHFR遺伝子を含む。これらのプラスミドでトランスフェクトされるジヒドロ葉酸活性を欠如するチャイニーズハムスター卵巣細胞または他の細胞は、化学治療剤メトトレキサートを補充した選択培地(α マイナスMEM、Life Technologies)中で細胞を増殖させることによって選択され得る。メトトレキサート(MTX)に耐性である細胞におけるDHFR遺伝子の増幅は、よく考証されている(例えば、Alt, F. W., Kellems, R. M., Bertino, J. R. およびSchimke, R. T., 1978, J. Biol. Chem. 253:1357-1370、Hamlin, J. L. およびMa, C. 1990, Biochem. et Biophys. Acta, 1097:107-143、Page, M. J. およびSydenham, M. A. 1991, Biotechnology 9:64-68を参照のこと)。漸増濃

度のMTXにおける細胞増殖は、DHFR遺伝子の増幅の結果として、標的酵素DHFRを過剰産生することによって薬物への耐性を生じる。第2の遺伝子がDHFR遺伝子に連結される場合、通常、同時増幅され、そして過剰発現される。増幅した遺伝子の1,000を超えるコピーを有する細胞株を開発するためにこのアプローチを使用し得ることは、当該分野において公知である。続いて、メトトレキサートが取り除かれる場合、宿主細胞の1つ以上の染色体に組み込まれた増幅遺伝子を含む細胞株が得られる。

【0629】

プラスミドpC4は、目的の遺伝子の発現のために、ラウス肉腫ウイルス（Cullenら、Molecular and Cellular Biology, 1985年3月：438-447）の長末端反復（LTR）の強力なプロモーター、およびヒトサイトメガロウイルス（CMV）（Boshartら、Cell 41：521-530（1985））の前初期遺伝子のエンハンサーから単離されたフラグメントを含む。プロモーターの下流には、遺伝子の組み込みを可能にする以下の単一の制限酵素切断部位が存在する：BamHI、XbaIおよびAsp718。プラスミドは、これらのクローニング部位の後ろに、ラットプレプロインスリン遺伝子の3'イントロンおよびポリアデニル化部位を含む。他の高効率プロモーターもまた、発現のために使用され得る（例えば、ヒトβアクチンプロモーター、SV40初期もしくは後期プロモーター、または他のレトロウイルス（例えば、HIVおよびHTLV-I）由来の長末端反復）。ClontechのTet-OffおよびTet-On遺伝子発現系および同様の系は、哺乳動物細胞において調節された方法でTR2タンパク質を発現するために使用され得る（Gossen, M., およびBujard, H. 1992, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:5547-5551）。mRNAのポリアデニル化のために、他のシグナル（例えば、ヒト成長ホルモンまたはグロビン遺伝子由来）は、同様に使用され得る。染色体に組み込まれた目的の遺伝子を含む安定な細胞株もまた、選択マーカー（例えば、gpt、G418、またはハイグロマイシン）との同時トランスフェクションに際して選択され得る。最初は、1つより多い選択マーカー（例えば、G418およびメトトレキサート

）を使用することは、有利である。

【0630】

プラスミドpC4を、制限酵素BamHIおよびAsp718で消化し、次いでウシ腸ホスファターゼを用いて、当該分野で公知の手順によって脱リン酸化する。次いで、ベクターを、1%アガロースゲルから単離する。

【0631】

リーダー配列を含むTR2タンパク質をコードするDNA配列を、遺伝子の5'および3'配列に対応するPCRオリゴヌクレオチドプライマーを用いて増幅する。下線を付したBamHI制限酵素部位、それに続くKozak, M., J. Mol. Biol. 196:947-950 (1987)によって記載されるような真核生物における翻訳の開始のための有効なシグナル、および図1A~1B (配列番号1) に示されるTR2タンパク質のコード配列の21個の塩基を含む5'プライマーは、以下の配列を有する：

5' GCGCGGATCCACCATGGAGCCTCCTGGAGACTGG
3' (配列番号22)。

下線を付したAsp718制限部位、それに続く21個のヌクレオチド (図1A~1B (配列番号1) に示されるTR2遺伝子の非翻訳領域に相補的である) を含む3'プライマーは、以下の配列を有する：

5' GCGCGGTACCTCTACCCCAGCAGGGGGCGCCA3' (配列番号19)。

【0632】

増幅させたフラグメントを、エンドヌクレアーゼBamHIおよびAsp718で消化し、次いで1%アガロースゲルで再度精製する。次いで、単離したフラグメントおよび脱リン酸化ベクターをT4 DNAリガーゼで連結する。次いで、E. coli HB101またはXL-1 Blue細胞を形質転換し、そして例えば制限酵素分析を用いてプラスミドpC4に挿入されたフラグメントを含む細菌を同定する。

【0633】

活性なDHFR遺伝子を欠如するチャイニーズハムスター卵巣細胞を、トラン

スフェクションのために使用する。5 μ gの発現プラスミドpC4を、リポフェクチン（Felgnerら、前出）を用いて、0.5 μ gのプラスミドpSVneoとともに同時トランスフェクトする。プラスミドpSV2-neoは、優性選択マーカー（G418を含む一群の抗生物質に対する耐性を与える酵素をコードするTn5由来のneo遺伝子）を含む。細胞を、1mg/mlのG418を補充した α マイナスMEMに播種する。2日後、細胞をトリプシン処理し、そして10、25、または50ng/mlのメトトレキサートおよび1mg/ml G418を補充した α マイナスMEM中のハイブリドーマクローニングプレート（Greiner, Germany）に播種する。約10～14日後、単一のクローンをトリプシン処理し、次いで異なる濃度のメトトレキサート（50nM、100nM、200nM、400nM、800nM）を用いて、6ウェルペトリ皿または10mlフラスコに播種する。次いで、最高濃度のメトトレキサートで増殖するクローンを、さらに高濃度のメトトレキサート（1 μ M、2 μ M、5 μ M、10mM、20mM）を含む新たな6ウェルプレートに移す。同じ手順を、100～200 μ Mの濃度で増殖するクローンが得られるまで繰り返す。所望の遺伝子産物の発現を、例えば、SDS-PAGEおよびウェスタンブロットによって、または逆相HPLC分析によって分析する。

【0634】

（実施例4：TR2 mRNA発現の組織分布）

ノーザンブロット分析を行って、とりわけSambrookら（上記に引用される）によって記載される方法を用いて、ヒト組織におけるTR2遺伝子の発現を調べる。TR2タンパク質の全ヌクレオチド配列（配列番号1）を含むcDNAプローブを、rediprimeTM DNA標識系（Amersham Life Science）を製造者の説明書に従って用いて³²Pで標識する。標識後、プローブを、CHROMA SPIN-100TMカラム（Clontech Laboratories, Inc.）を製造者のプロトコル番号PT1200-1に従って用いて精製する。次いで、精製した標識プローブを用いて、種々のヒト組織をTR2 mRNAについて調べる。

【0635】

種々のヒト組織 (H) またはヒト免疫系組織 (IM) を含む Multiple Tissue Northern (MTN) ブロットを、Clontech から入手し、そして ExpressHyb™ ハイブリダイゼーション溶液 (Clontech) を製造者のプロトコル番号 PT1190-1 に従って使用して、標識プローブを用いて調べる。ハイブリダイゼーションおよび洗浄後、ブロットをマウントし、そして -70℃ にて一晩フィルムに曝し、そしてフィルムを標準的な手順に従って現像する。

【0636】

(実施例 5)

(実施例 5 (a)) : TR2-Fc (TR2-Ig 融合タンパク質) および分割 TR2 の発現および精製)

翻訳された TR2 レセプターの推定膜貫通ドメインを、非極性透過二重層らせんを同定するために、Goldman ら (Ann. Rev. of Biophys. Chem. 15 : 321-353 (1986)) の方法を使用して疎水性によって決定した。推定リーダーペプチドおよび細胞外ドメインをコードする、この膜貫通ドメインの上流領域を、Fc 融合タンパク質の産生のために選択した。3' 末端に、Bg1II 部位 (単一下線)、第 Xa 因子プロテアーゼ部位、および Asp718I 部位 (二重下線) を付与した、HTXBS40 由来の対応するコード領域を PCR するように、プライマーを設計した。TR2 をコードする配列の 18 個のヌクレオチドを含む、このプライマー対 (正方向 35 マー :

【0637】

【化 1】

5' CAGGAATTCGCAGCCATGGAGCCTCCTGGAGACTG 3'

(配列番号 23) および逆方向プライマー 53 マー :

【0638】

【化 2】

5' CCATACCCAGGTACCCCTTCCTCGATAGATCT
TGCCTTCGTCACCAGCCAGC 3'

(配列番号24)を用いたPCRは、予期された大きさの1つのバンドを生じた。これをCOSFc linkにクローン化して、TR2-Fc linkプラスミドを得た。PCR産物をEcoRIおよびAsp718Iで消化し、そしてCOSFc linkプラスミドに連結して(Johansenら、J. Biol. Chem. 270:9459-9471 (1995)) TR2-Fc linkを産生した。

【0639】

COS細胞を、TR2-Fc linkで一時的にトランスフェクトして、得られた上清をプロテインAアガロースで免疫沈降させた。ヤギ抗ヒトFc抗体を用いた免疫沈降物のウェスタンブロット分析は、グリコシル化TR2-Fcについて予期された大きさ(47.5kDより大きい)に一致する強いバンドを示した。15Lの一時的なCOSTランスフェクションを行い、そして得られた上清を精製した(以下を参照のこと)。mAbの産生のためのDNA注入に続いて、精製されたタンパク質を使用して、マウスを免疫化した。

【0640】

CHO細胞をTR2-Fc linkでトランスフェクトして、安定な細胞株を産生した。5つの株を、増殖のためにドットブロット分析によって選択し、そして攪拌用フラスコに適合させた。TR2-Fcタンパク質発現レベルが最も高い株を、ウェスタンブロット分析によって同定した。この株の上清から精製したTR2-Fcタンパク質を、フローサイトメトリーによる細胞結合研究のために、完全なタンパク質としてかまたは第Xa因子切断およびビオチン化の後のいずれかで、使用した(以下を参照のこと)。

【0641】

クローンHTXBS40は、図1A~1B(配列番号1)に見られる配列とは以下の点において異なるTR2の対立遺伝子改変体である:HTXBS40が、

ヌクレオチド314においてグアニン、ヌクレオチド386においてチミン、ヌクレオチド627においてシトシンを含む。

【0642】

TR2の細胞外ドメインの発現に適切なプラスミドを、以下のように構築して、抗TR2mAbの産生のためにマウスを免疫化した。Fcフラグメントを、BglII/XbaI消化によってTR2-Fc linkから除去し、Klenowを使用してオーバーハングを充填し、そしてプラスミドの平滑末端を再連結した。得られたフレームシフトは、もともとBglLL部位の付加によってTR2-Fc linkに導入されたアミノ酸の直後に停止コドンを導入した。従って、TR2の細胞外ドメインのC末端には、この構築された (TR2 ex link) 中のたった2つのアミノ酸 (RS) が続く。

【0643】

(実施例5 (b) : CHO E1A馴化培地由来のTR2-Fcの精製、その後のTR2の切断およびビオチン化)

(アッセイ)

精製を終えた産生物の純度を、還元性条件下および非還元性条件下で電気泳動される15%Laemmli SDS-PAGEゲル上でモニターした。吸光係数をレセプターについては0.7、そしてキメラについては1.28 (両方とも配列から計算した) と仮定して、タンパク質濃度を A_{280} によってモニターした。吸光係数をAAAによって確認した。

【0644】

(TR2-Fc融合タンパク質のプロテインGクロマトグラフィー)

以下に記載される全ての工程を4℃で行った。15LのCHO馴化培地 (CM) (細胞培養での収集後に0.2 μで濾過した) を、線形流速199 cm/hで、プロテインGの5×10 cmカラムに適用した。このカラムは、100 mM グリシン (pH 2.5) で洗浄し、そして20 mM リン酸ナトリウム、150 mM 塩化ナトリウム (サンプル適用前はpH 7) で平衡化していた。CMを装填した後、カラムを、カラム容積の5倍の20 mM リン酸ナトリウム、150 mM 塩化ナトリウム (pH 7) で洗浄し、そして100 mM グリシン (pH

2. 5) で溶出した。435mlの溶出物を、速やかに3M Tris (pH 8. 5) で中和し、0. 2 μで濾過した。A₂₈₀、吸光係数1. 28に基づいて、65mgのタンパク質を0. 15mg/mlで回収した。

【0645】

(濃縮／透析)

385mlのプロテインG溶出物を、30K膜に適合されたAmicon攪拌セル中で、最終濃度1. 7で34mlになるまで濃縮した。この濃縮物を緩衝液に対して透析した。

【0646】

(遊離レセプターを産生するための第Xa因子切断および精製)

6ml (10. 2mg) のTR2-Fcを50 μgの第Xa因子に添加して、1:200のe:s比を生じた。この混合物を4℃で一晩インキュベートした。

【0647】

(遊離TR2レセプターのプロテインGクロマトグラフィー)

1mlカラムのプロテインGを、重力流れを利用して、使い捨てカラム中の20mM リン酸ナトリウム、150mM 塩化ナトリウム (pH6. 5) において平衡化した。切断されたレセプターをカラムに3回通して、その後このカラムを、A₂₈₀吸光度が見られなくなるまで、20mM リン酸ナトリウム、150mM塩化ナトリウム (pH6. 5) で洗浄した。このカラムを2. 5mlの100mMグリシン (pH2. 5) で溶出し、83 μlの3M Tris (pH8. 5) で中和した。TR2を非結合画分中で溶出した。

【0648】

(濃縮)

プロテインGカラム由来の非結合画分 (約12ml) を、A₂₈₀、吸光係数0. 7によって推定して最終濃度3. 5mg/mlで約1mlになるまで、Centricon 10Kセル (Amicon) 中で濃縮した。

【0649】

(Mono Sクロマトグラフィー)

濃縮したサンプルを、20mM リン酸ナトリウム (pH6) で5mlに希釈

し、そして20mM リン酸ナトリウム (pH6) 中で平衡化した0.5×5cmのMono Sカラムに、300cm/hの線形流速で適用した。このカラムを、20mM リン酸ナトリウム (pH6) で洗浄し、そして20mM リン酸ナトリウム (pH6) から20mM リン酸ナトリウム、1M 塩化ナトリウム (pH6) の20のカラム容積線形勾配で溶出した。TR2タンパク質は、非結合画分に溶出した。

【0650】

(濃縮／透析)

Mono Sカラム由来の3mlの非結合画分を、Centricon 10Kセルを使用して上記のように1mlまで濃縮し、そして20mM リン酸ナトリウム、150mM 塩化ナトリウム (pH7) に対して透析した。透析後の濃度は2.1mg/mlであった。

【0651】

(ビオチン化)

2.1mg/mlでの0.5mgのTR2を、100mM ホウ酸塩 (pH8.5) に対して透析した。20倍モル過剰のNHS-LC Biotinを添加し、そしてこの混合物を4℃で一晩、回転板上に放置した。ビオチン化されたTR2を、20mM リン酸ナトリウム、150mM 塩化ナトリウム (pH7) に対して透析し、滅菌濾過し、そして-70℃で保存した。ビオチン化を、ストレプトアビジン (streptavidin) HRPで走査されたウェスタンブロット上で実施し、続いてECL試薬で展開した。

【0652】

(実施例6)

(TR2レセプターの膜結合形成は、リンパ球の増殖および分化を誘導するTNFRである)

腫瘍壊死因子 (TNFR) ／神経増殖因子レセプター (NGFR) スーパーファミリーのメンバーは、分子の細胞外部分に、約30～40個のアミノ酸からなるシステイン富化モチーフの3～6回の繰り返しが存在することを特徴とする (Mallett, S. およびBarclay, A. N., Immunol. To

day 12:220 (1991))。TNFR-Iの結晶構造は、システイン富化モチーフ(TNFRドメイン)が、ジスルフィド結合のねじれたはしごによって一緒に保持された残基の3つの伸張鎖からなることを示した(Banner, D. W. ら, Cell 73:431 (1993))。これらのレセプターは、膜貫通ドメインに直接隣接したちょうつがい様領域を含み、この領域は、システイン残基の欠如、およびOで連結された糖を用いてグリコシル化される傾向にあるセリン、スレオニン、およびプロリンの高い比率を特徴とする。これらの分子の細胞質部分は、限られた配列類似性を示し、これは種々の細胞シグナリングのための基礎であり得る発見である。現在、ヒト細胞から同定されたメンバーとしては、以下が挙げられる: CD40 (Stamenkovic, I. ら, EMBO J. 8:1403 (1989))、4-1BB (Kwon, B. S. およびWeissman, S. M., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:1963 (1989))、OX-40 (Mallett, S. ら, EMBO J. 9:1063 (1990))、TNFR-I (Loetscher, H. ら, Cell 61:351 (1990); Schall, T. J. ら, Cell 61:361 (1990))、TNFR-II (Smith, C. A. ら, Science 248:1019 (1990))、CD27 (Van Lier, R. A. ら, J. Immunol. 139:1589 (1987))、Fas (Itoh, N. ら, Cell 66:233 (1991))、NGFR (Johnson, D. ら, Cell 47:545 (1986))、CD30 (Durkop, H. ら, Cell 68:421 (1992)) およびLTBR (Beans, M. ら, Genomics 16:214 (1993))。以下のような、溶解性TNFRをコードするウイルス性オープンリーディングフレームもまた同定されている: SFV-T2 (Smith, C. A. ら, Science 248:1019 (1990))、Va53 (Howard, S. T. ら, Virology 180:633 (1991))、G4RG (Hu, F. -Q. ら, Virology 204:343 (1994)) およびcrmB (Smith, G. L., J. Gen. Virol. 74:1725 (1993))。

【0653】

最近の徹底的な研究は、これらの分子が以下のような種々の生物学的活性に関与することを示した：細胞増殖（Banchereau, J. ら、*Science* 251:70 (1991) ; Pollok, K. E. ら、*J. Immunol.* 150:771 (1993) ; Baum, P. R. ら、*EMBO J.* 13:3992 (1994) ）、細胞生存（Grass, H. -J ら、*Blood* 83:2045 (1994) ; Torcia, M. ら、*Cell* 85:345-356 (1996) ）、および細胞死（Tartaglia, L. A. ら、*Cell* 74:845 (1993) ; Gillette-Ferguson, I. および Sidman, C. L. , *Eur. J. Immunol.* 24:1181 (1994) ; Krammer, P. H. ら、*Curr. Opin. Immunol.* 6:279 (1994)) を調節することによる、免疫調節（Armitage, R. J. , *Curr. Opin. Immunol.* 6:407 (1994) ; Smith, C. A. ら、*Cell* 75:959 (1994)) 。

【0654】

これらの生物学的意味およびこのスーパーファミリーの多様なメンバーシップによって、本発明者らは、このスーパーファミリーのさらなるメンバーが存在することを予言した。ESTデータベースを検索することによって、本発明者らは、TNFRファミリーの新しいメンバーを同定した。本発明者らは、本明細書中に、TR2と呼ばれる分子の最初の特徴付けを報告する。

【0655】

(材料および方法)

(TNFRスーパーファミリーの新しいメンバーの同定およびクローニング)

500を超える異なるcDNAライブラリー（Adams, M. D. ら、*Science* 252:1651 (1991) ; Adams, M. D. ら、*Nature* 355:632 (1992)) から得られた、発現された配列タグ（EST）cDNAデータベースを、blastnアルゴリズムおよびtblastnアルゴリズム（Altschul, S, F. ら、*J. Mol. Biol.* 215:403 (1990)) を使用して、TNFRスーパーファミリーのシステイ

ン富化モチーフとの配列類似性についてスクリーンした。アミノ酸レベルでのTNFR-I Iに対する有意な同一性を示す、1つのEST (HT1SB52と記される) を、ヒトT細胞株ライブラリーから同定した。この配列を用い、ヒト白血球 (Clontech, PT1155-1. Cat. #7301-1) の5'-RACE用のcDNAを使用して、RACE (cDNA末端の高速増幅) により欠失5'末端をクローン化した。この配列は、4つのさらなるEST (HTOBH42、HTOAU65、HLHA49およびHTXBS40) と一致した。これらのおよび他のcDNAの完全な配列決定は、それらがTNFRスーパーファミリーに相同な同一のオープンリーディングフレームを含み、そしてTR2と呼ばれることを示した。いくつかの他のESTおよびcDNAの分析は、上記で同定されたオープンリーディングフレームに挿入されたさらなる配列を有し、そして種々の部分的にスプライスされたmRNAを示し得る、cDNAもあることを示した。

【0656】

(細胞)

研究された骨髓性株およびB細胞株は、異なる段階の分化経路での細胞型を示す。KG1aおよびPLB 985 (Koeffler, H. ら, Blood 56:265 (1980); Tucker, K. ら, Blood 70:372 (1987)) をPhillip Koeffler (UCLA School of Medicine) から入手し、BJA-BをZ. Jonak (SmithKline Beecham) から入手し、そしてTF 274 (骨芽細胞の特徴を示す間質細胞株) が、健常な成人男性ドナー (Tan&Jonak、未刊行) の骨髓から生じた。他の全ての細胞株を、American Type Culture Collection (Rockville, MD) から入手した。単球を、末梢血単核細胞 (PBMC) の分画遠心および組織培養皿への接着によって調製した。CD19⁺、CD4⁺およびCD8⁺を、免疫磁気ビーズ (Dynal, Lake Success, NY) によってPBMCから単離した。ヒト冠状動脈由来の内皮細胞を、clonetics (Clonetics, CA) から購入した。

【0657】

(RNAおよびDNAのブロットハイブリダイゼーション)

成人組織の全RNAは、Clontech (Palo Alto, CA) から購入するか、またはTriReagent (Molecular Research Center, Inc., Cincinnati, OH) を用いて初期の細胞および細胞株から抽出した。5～7.5 μ gの全RNAを、記載されるように、ホルムアルデヒドを含有する1%アガロースゲル中で画分化し (Sambrookら、Molecular Cloning, Cold Springs Harbor (1989))、そして真空ブロッティングによって、Zeta-プローブナイロン膜 (Biorad, Hercules, CA) に定量的に移した。このブロットを、プレハイブリダイズし、TR2またはOX-40プローブの³²P標識したXho I/EcoRIフラグメントとハイブリダイズし、ストリジェントな条件下で洗浄し、そしてX線フィルムに曝露した。

【0658】

高分子量のヒトDNAを、種々の制限酵素で消化し、そして0.8%アガロースゲル中で画分化した。DNAを、変性し、中和してナイロン膜に移し、そして³²P標識したTR-2またはその改変体cDNAにハイブリダイズさせた。

【0659】

(インサイチュハイブリダイゼーションおよびFISH検出)

インサイチュハイブリダイゼーションおよびヒト染色体中のTR2位置のFISH検出を、以前に記載されたように行った (Heng, H. H. Q. ら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:9509 (1992); Heng, H. H. Q. ら、Human Molecular Genetics 3:61 (1994))。FISHシグナルおよびDAPIバンド形成パターンを、写真を撮ることによって別々に記録し、そして染色体バンドを有するFISHマッピングデータの割り当てを、FISHシグナルをDAPIバンド形成された染色体と重ね合わせることによって達成した (Heng, H. H. Q. およびTsui, L.-C., Chromosoma. 102:325 (1993))。

【0660】

(組換えTR2-Fc融合タンパク質の産生)

細胞外ドメインの全体の推定オープンリーディングフレームを含むTR2の5'位置は、ポリメラーゼ連鎖反応によって増幅された(Saiki, R. K. ら、Science 239:487(1988))。正確に方向付けられたクローニングについて、正方向プライマーの5'末端のHindIII部位および逆方向プライマーの5'末端のBglII部位が生成された。ヒトIgG₁のFc部分は、ARH-77(ATCC)細胞RNAからPCR増幅され、pGem7ベクター(Promega)のSmaI部位においてクローニングされた。ヒンジ、CH₂、およびCH₃ドメイン配列を含むFcフラグメントは、その5'末端にBglII部位およびその3'末端にXhoI部位を含んだ。TR2 cDNAのHindIII-BglIIフラグメントは、ヒトIgG₁Fcの上流に挿入され、そしてインフレーム融合が、配列決定によって確認された。TR2-Fcフラグメントは、HindIII-XhoIを用いてプラスミドを消化することによって放出され、そしてpcDNA3発現プラスミドにクローニングされた。

【0661】

PvuIで線状化されたTR2-Fcプラスミドは、リン酸カルシウム共沈澱法によって、NIH3T3に移入された。400 µg/mlのG418における選択の後、ネオマイシン耐性コロニーを選択し、そして拡張した。抗ヒトIgG₁を用いるELISAおよび³²P標識TR2プローブを用いるノーザン分析を使用して、上清中に高レベルのTR2-Fcを産生するクローンを選択した。いくつかの実験において、処理されたチャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞中に生成したわずかに異なる操作されたTR2-Fcを使用した。TR2-Fcを、プロテインGクロマトグラフィーによって精製し、そしてTR2-Fc融合タンパク質のN末端のアミノ酸配列を、自動ペプチド配列決定機(ABI)によって決定された。TR2-Fcを使用して、ポリクローナルウサギ抗TR2抗体を作製した。

【0662】

(MLR媒介PBMC増幅のブロッキング)

PBMCを、 $400\times g$ で40分間でのFicoll勾配遠心分離によって3体の健康な成人のボランティアから単離した。PBMCを回収し、10%FBS、 $300\mu g/ml$ のL-グルタミン、および $50\mu g/ml$ のゲネトマイシン (genetomycin) を補充したRPMI 1640 (GIBCO-BRL) 中で洗浄し、そして2体のドナーに対し 1×10^6 細胞/mlおよび3番目のドナーに対し 2×10^5 細胞/mlに調整した。

【0663】

$50\mu l$ の各細胞懸濁物を、96ウェル(丸底)プレート (Falcon, Franklin Lakes, NS) に、 $50\mu l$ のTR2-Fc、IL-5R-Fc、抗CD4mAbまたはコントロールmAbとともに添加した。プレートを、5%CO₂中、37℃で96時間インキュベートした。次いで、 $1\mu Ci$ の [³H] -メチルチミジン (ICN Biomedicals, Costa Mesa, CA) を、さらなる16時間にわたって添加した。細胞を回収し、そして放射能をカウントした。

【0664】

(結果と考察)

(TR2は、TNFRスーパーファミリーの新規なメンバーである)

図1A～1B (配列番号2) は、単離されたcDNA (HLHAB49) の1つの最も長いオープンリーディングフレームから推定されるTR2のアミノ酸配列を示す。データベース中の他の配列決定されたcDNAおよびESTとの比較は、図1A～1B (配列番号2におけるアミノ酸残基20および5) に示されるタンパク質配列の位置17 (ArgまたはLysのいずれか) および41 (SerまたはPheのいずれか) におけるアミノ酸変化を生じる潜在的な対立遺伝子改変体を示した。

【0665】

オープンリーディングフレームは、30, 417の計算分子量を有する283個のアミノ酸をコードする。TR2部分は、レセプターであることが期待された。従って、潜在的なシグナル配列および膜貫通ドメインが探究された。C末端に

向かう23個のアミノ酸の疎水性ストレッチ（アミノ酸201～225）（図1A～1B）が、膜貫通ドメインとして割り当てられた。なぜなら、潜在的に一本鎖ヘリックススパンを作るが、シグナル配列は、あまり明らかではないからである。潜在的な外部ドメインTR2は、Fc融合タンパク質としてNIH3T3またはCHO細胞において発現され、そして組換えTR2-Fcタンパク質のN末端アミノ酸配列が両方の場合において決定された。プロセッシングされた成熟TR2のN末端配列は、アミノ酸37から始まり、最初の36アミノ酸が、シグナル配列を構成することを示した（図1A～1B）。

【0666】

TR2に対して惹起されたポリクローナルウサギ抗体を使用して、天然のTR2の分子サイズが、ウエスタン分析によって38kDであることが決定された。プロセッシングされたTR2のタンパク質骨格は、26,000のMrを有する247個のアミノ酸からなるので、タンパク質は、翻訳後に改変されなくてはならない。2つの潜在的なアスパラギン様グリコシル化部位は、アミノ酸位置110および173に位置する（図1A～1B）。TNFRファミリーの他のメンバーとともに、TR2は、X線結晶学（Bannerら、Cell 73:431（1993））によって示される特徴的なシステイン富化モチーフを含み、繰返し構造単位を表す（Banner, D. Wら、Cell 73:431（1993））。図16は、TR2（配列番号2）、THFR-1（配列番号10）、TNFR-II（配列番号11）、CD40（配列番号12）、および4-1BB（配列番号13）中に整列した潜在的なTNFRドメインを示した。TR2は、2つの完全なTNFRドメインおよび2つの不完全なTNFRドメインを含んだ。

【0667】

TR2細胞質テール（TR2 cy）は、CD40 cyおよび4-1BB cyのそれにより密接に関連しているようであり、そしてFasおよびTNFR-1細胞内ドメインに見られる死のドメインを含まない。相同性は中程度であるが、TR2のThr²⁶⁶は、4-1BBのThr²³³およびCD40のThr²⁵⁴と整列している。このことは重要であり得る。なぜなら、Inuiら（Inui, S

ら、Eur J. Immunol. 20:1747 (1990)) は、Thr²⁵
⁴は、CD40シグナル伝達に必須であることを見出し、そしてCD40のThr
254が変異される場合、CD40bdは、CD40cyに結合しなかった (Hu, H. M. ら、J. Biol. Chem. 269:30069 (1994))。
4-1BBおよびCD40を介するシグナルは、T細胞およびB細胞のそれぞれに対して同時刺激であることが示されている (Banchereau, j. およびRousset, F.、Nature 353:678 (1991); Hurlalto, J. ら、J. Immunol. 155:3360 (1995))。

【0668】

【表5】

表 V

組織 および細胞における TR2 および OX40 の遺伝子発現

供給源	遺伝子	
	TR2	OX-40
組織 (成人)		
脳	+/+	-
心臓	+	-
肝臓	+	-
胸腺	++	-
脾臓	+++	-
肝臓	+	-
腎臓	+	-
小腸	+++	-
前立腺	++	-
骨格筋	+/+	-
卵巣	+	-
膵臓	+	-
副腎	+	-
骨髄	+	-
全血	+	-
骨髄	+++	-
一次系細胞		
PBL, CD19+	++	-
PBL, CD8+	++	-
PBL, CD8+ (幼稚)	++	++
PBL	+++	++
PBL, CD4+ (幼稚)	++	++
骨髄	+	-
赤血球	++	-
内皮	+	-
造血細胞株		
赤血球		
K562	-	
HEL	+	
骨髄		
KG1a (前骨髄赤血球)	+	+
KG1 (骨髄赤血球)	±	±
PLB985 (骨髄赤血球)	-	-
HL60 (前骨髄赤血球)	±	-
U937 (前赤血球)	±	-
THP-1 (赤血球)	+	-
B-リンパ球		
REH (前-preB)	±	-
BJA-B (幼稚 B, IgM)	+	-
7-2 (成熟 B, IgM)	+	-
IM-9 (成熟 B, IgG)	-	-
T-リンパ球		
Sup-T1 (CD4+)	-	-
Molt-3 (CD4+)	±	-
H9 (CD4+)	+	-
シマカキ (CD4+)	+	+
未記入 = 試験せず、± = 検出せず、 +、++、+++ = 検出された RNA の量の増加		

(TR2 RNA発現)

ヒト組織RNAブロットを使用して、TR2 RNA発現の組織分布を決定した。TR2 RNAは、肺、脾臓および胸腺において、いくつかの組織中で比較的高レベルで検出された(表V)が、脳、肝臓または骨格筋においては、この方

法によって検出されなかった(表V)。TR2はまた、単球、CD19⁺B細胞、ならびに静止またはPMAおよびPHA処理CD4⁺またはCD8⁺T細胞において発現された。それは、骨髄および内皮細胞において弱く発現されたのみである(表VおよびVI)が、発現は、造血細胞株KG1aにおいて観測された(表V)。比較のために、OX-40(TNFRスーパーファミリーの別のメンバー)の組織分布を試験した(表V)。TR2とは異なり、OX-40は、試験されたいずれの組織においても検出されず、そして活性化されたT細胞およびKG1aにおいて検出されたのみである。いくつかの細胞株は、TR2発現に対してネガティブであり、その細胞株には、TF274(骨髄間質)、MG63およびTE85(骨肉腫)、RL95-2(子宮内膜肉腫)、MCF-7およびT-47D(乳癌細胞)、BE, HT 29(結腸癌細胞)、HTB-11およびIMR-32(神経芽腫)が挙げられるが、TR2は、横紋筋肉腫HTB-82に見出された(データは示さない)。

【0669】

いくつかの細胞株を誘導性TR2発現のために試験した。HL60、U937およびTHP1(これらは、骨髄単球性連結に属する)はすべて、分化薬剤PMAまたはDMSOに応答してTR2発現を増加した。これらの薬剤に対する応答における発現の増加は、KG1aおよびジャーカット細胞において観測された。対照的に、PMAは、MG63におけるTR2発現を誘導しなかったが、予想外に、THF- α は発現した。

【0670】

ほとんど全ての場合において、主なmRNAは、そのサイズが約1.7kbであるが、いくつかのより高い分子量種がいくつかの組織において検出され得る。配列決定された多くのcDNAおよびESTは、部分的なスプライシングを示すコード領域中に挿入物を含むが、本発明者らは、ウェスタンブロットによって1つの主要なタンパク質を検出したのみであり、このことは、これらが代替タンパク質をコードするならば、それらは、本発明者が試験した細胞において明確ではないことを示唆した。多数のより高いMWmRNAは、TR2が、部分的に、mRNA成熟のレベルで調節され得る可能性を生じる。

【0671】

【表6】

表 VI

TR2 の組織 あるいは細胞型 における TR2 RNA
の 相対 アブundance (RA)

組織 又は 細胞型	RA	組織 又は 細胞型	RA
急性性マブ-ジ (LPS)	22	胎児心臓	1
胸部リンパ節	5	胎児肺	2
B細胞リンパ腫	5	カリヤ并細胞腫	1
急性性単球	2	視床下部・精神分裂病	1
急性性T細胞	3	胎児脳	2
急性性好中球	2	肺	2
膵臓	5	骨肉腫	1
胸腺	3	脾臓腫瘍	1
T細胞-T細胞	1	胎盤	2
シ-カットT細胞	3	小腸	1
ラ-細胞(シロヘキント処理後)	3	平滑筋	1
萎縮性子宮内膜	1	胃	2
骨髄	1	T-細胞リンパ腫	1
脳	1	T-細胞	1
胸部	1	精巣	3
CD34 減損 バス-コート (臍帯血)	1	精巣腫瘍	2
小腸	1	舌	1
脳梁 (corpus callosum)	1	臍静脈内皮細胞	2
カコ-2細胞(腺癌、結腸)	1	脂肪組織	3
胎児硬膜	1		

(1P36. 2-P36. 3でのTR2マップ)

FISHマッピング手順を適用して、TR2遺伝子を特定のヒト染色体領域に
局在化させた。ハイブリダイゼーションシグナルの第1の染色体の短腕に対する

割り当ては、DAPIバンディングの助けをかりて得られた。TR2遺伝子が第1の染色体領域p36.2-p36.3に配置することを示す合計10のメタテイク (metatic) 図を写真に撮った。TR2位置は、CD30 (Smith, C. A. ら、Cell 73:1349-1360 (1993))、4-1BB (Kwon, B. S. ら、J. Immunol. 152:2256-2262 (1994); Goodwin, R. G. ら、Eur. J. Immunol. 23:2631-2641 (1993))、OX-40 (Birkeland, M. L. ら、Eur. J. Immunol. 25:956-930 (1995))、およびTNFR-II (Baker, E. ら、Cytogenet. & Cell Genet. 57:117-118 (1991)) に近接しており、このことは、それが局在化した遺伝子重複現象を介して進化することを示唆する。興味深いことに、全てのこれらのレセプターは、アポトーシスを刺激するFasおよびTNFR-Iとは対照的に、同族リガンド結合に応答して、T細胞中に刺激表現型を有する。このことは、TR2が、リンパ球刺激において関連するか否か試験することを、本発明者らに促す。

【0672】

(TR2-Fcは、PBMCのMLR媒介増殖と調和する)

リンパ球増殖における、細胞表面TR2とそのリガンドとの可能な関与を決定するために、本発明者らは、同種異系MLR増殖性応答を試験した。TR2-Fcを培養に添加した場合、最大応答の有意な減少を観測した ($p < 0.05$)。100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ でのTR2-Fcの添加は、53%まで増殖を阻害した。コントロールIL-5R-Fcでは、増殖の有意な阻害は観測されなかった。驚きべきことに、高濃度 (10~100 $\mu\text{g}/\text{ml}$) において、IL-5R-Fcは、増殖を増強することを示した。同時にアッセイされた抗CD4mAbは、60%までMLR媒介増殖を阻害したが、コントロールである抗IL-5mAbは、増殖を阻害することができなかった。MLR増殖性応答の主要な成分は、T細胞依存性であることは、周知である；従って、TR2とそのリガンドとの相互作用を阻害することは、最適なTリンパ球活性化および増殖を防ぐようである。1~100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度でのTR2-FcによるMLR増殖の阻害は、CD40-

Fcのような他のTNFR-Fcスーパーファミリーのメンバーで見られる生物学的効果に、好ましいは、匹敵する（未公開の結果、Jeremy Harrop）。

【0673】

従って、本発明者らは、TNFレセプタースーパーファミリーのさらなるメンバーを同定した。そのメンバーは、T細胞刺激において直接的な役割を果たすか、またはTR2を含み得る1つ以上のレセプターを介してT細胞増殖を刺激し得るリガンドに結合するかのいずれかである。TR2についての直接的な役割と一貫しているのは、細胞質ドメインとCD40および4-1BBとの類似性である。本発明者らは、現在、その役割を明確にするために、どのTR2がこのリガンドに結合するのかを同定することを試みている。

【0674】

（実施例7）

（内因性TR2レセプター遺伝子を使用する遺伝子治療）

本発明に従う遺伝子治療の別の方法は、例えば、1997年6月24日に発行された米国特許第5,641,670号；1996年9月26日に公開された国際出願公開第WO96/29411号，1994年8月4日に公開された国際出願公開第WO94/12650号；Kollerら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA86:8932-8935（1989）；およびZijlstraら、Nature342:435-438（1989）に記載されるように、内在性TR2レセプター配列を、相同組換えによってプロモーターに作動可能に連結する工程を含む。この方法は、標的細胞内に存在するが、その細胞において発現されないか、または所望されるレベルよりも低いレベルで発現される遺伝子の活性化を含む。ポリヌクレオチド構築物を作製し、このポリヌクレオチド構築物は、プロモーターおよび標的配列を含み、この標的配列は、内在性TR2レセプターの5'非コード配列と相同であり、プロモーターに隣接する。標的配列は、TR2レセプター遺伝子の5'末端の十分近くに存在しているので、プロモーターは、相同組換えの際に内在性配列と作動可能に連結される。このプロモーターおよび標的配列を、PCRを使用して増幅し得る。好ましくは、増幅さ

れたプロモーターは、5'末端および3'末端に異なる制限酵素部位を含む。好ましくは、第1の標的配列の3'末端は、増幅されたプロモーターの5'末端と同じ制限酵素部位を含み、そして、第2標的配列の5'末端は、増幅されたプロモーターの3'末端と同じ制限酵素部位を含む。

【0675】

増幅されたプロモーターおよび増幅された標的配列を、適切な制限酵素を用いて消化し、引き続いて仔ウシ腸ホスファターゼを用いて処理する。消化したプロモーター配列および消化した標的配列を、T4DNAリガーゼの存在下に一緒に添加する。得られた混合物を、2つのフラグメントの連結のために適切な条件下に維持する。この構築物をアガロースゲル上でサイズ分別し、次いでフェノール抽出およびエタノール沈殿によって、精製する。

【0676】

この実施例において、このポリヌクレオチド構築物を、エレクトロポレーションによって裸のポリヌクレオチドとして投与する。しかしまた、このポリヌクレオチド構築物をトランスフェクション促進剤（例えば、リポソーム、ウイルス配列、ウイルス粒子、沈殿化剤など）と共に投与する。そのような送達方法は、当該分野において公知である。

【0677】

一旦、細胞がトランスフェクトされると、内在性TR2レセプター遺伝子配列と作動可能に連結されるプロモーターを生じる相同組換えが生じる。これは、細胞内にTR2レセプターの発現を生じる。発現は、免疫学的染色または当該分野において公知の任意の他の方法によって検出され得る。

【0678】

線維芽細胞を、皮膚生検により被験体から得る。得られた組織をDMEMおよび10%ウシ胎児血清中に置く。対数増殖期または静止期初期の線維芽細胞をトリプシン処理し、そして、栄養培地を用いてプラスチック表面からすすぎ落とす。細胞懸濁物のアリコートをし、計数するために取り出して、残りの細胞を遠心分離に供する。上清を吸い出し、ペレットを5mlのエレクトロポレーション緩衝液（20mM HEPES pH7.3、137mM NaCl、5mM KC

1、0.7mM Na_2HPO_4 、6mM デキストロース)中に再懸濁する。細胞を再遠心分離し、上清を吸い出し、そして細胞を、1mg/ml アセチル化ウシ血清アルブミンを含むエレクトロポレーション緩衝液中に再懸濁する。最終的な細胞懸濁物は、およそ 3×10^6 細胞/ml を含む。エレクトロポレーションを、再懸濁後すぐに実施すべきである。

【0679】

プラスミドDNAを、標準的技術に従って調製する。例えば、TR2レセプター遺伝子座をターゲティングするためのプラスミドを構築するために、プラスミドpUC18 (MBI Fermentas, Amherst, NY) をHindIIIで消化する。CMVプロモーターを、5'末端のXbaI部位および3'末端のBamHI部位を用いてPCRによって増幅する。2つのTR2レセプター遺伝子非コード配列をPCRによって増幅する：1つのTR2非コード配列 (TR2遺伝子フラグメント1) を5'末端のHindIII部位および3'末端のXbaI部位を用いて増幅する；もう一方のTR2レセプター遺伝子非コード配列 (TR2遺伝子フラグメント2) を5'末端のBamHI部位および3'末端のHindIII部位を用いて増幅する。CMVプロモーターおよびTR2遺伝子フラグメントを、適切な酵素 (CMVプロモーター-XbaIおよびBamHI；TR2遺伝子フラグメント1-XbaI；TR2遺伝子フラグメント2-BamHI) で消化し、そして共に連結させる。生じた連結産物を、HindIIIで消化し、そしてHindIIIで消化したpUC18プラスミドと連結させる。

【0680】

プラスミドDNAを、0.4cm電極ギャップ (Bio-Rad) を備える滅菌キュベットに添加する。最終DNA濃度は、一般的に少なくとも $120 \mu\text{g}/\text{ml}$ である。次いで、0.5mlの細胞懸濁物 (およそ 1.5×10^6 個の細胞を含む) をキュベットに添加し、そして細胞懸濁物およびDNA溶液を穏やかに混合する。エレクトロポレーションを、Gene-Pulser装置 (Bio-Rad) を用いて実施する。電気容量および電圧をそれぞれ、 $960 \mu\text{F}$ および $250-300\text{V}$ に設定する。電圧が増加するにつれて、生存細胞は減少するが

、そのゲノムに導入DNAを安定に組み込む生存細胞の割合は、劇的に増加する。これらのパラメーターを想定すると、およそ14～20m秒のパルス時間が観察されるはずである。

【0681】

エレクトロポレーションされた細胞を、およそ5分間室温で維持し、次いでキュベットの内容物を、滅菌転移ピペットを用いて穏やかに取り出す。細胞を、10cm皿内の10mlの予め暖められた栄養培地（15%ウシ血清を有するDMEM）に直接添加して、そして37℃でインキュベートする。次の日、培地を吸い出して、そして10mlの新鮮な培地と交換し、さらに16～24時間インキュベートする。

【0682】

次いで、操作された線維芽細胞を、単独でか、またはサイトデックス（cytode x）3マイクロキャリアビーズ上でコンフルエントになるまで増殖させた後かのいずれかで、宿主に注入する。ここで、この線維芽細胞は、タンパク質産物を産生する。次いで、線維芽細胞は、上記のように患者に導入され得る。

【0683】

（実施例8）

（B細胞増殖および分化の刺激または阻害を検出するためのアッセイ）

（背景：）

機能性体液性免疫応答の生成は、溶解性およびB直系細胞とそれらのマイクロ環境との間の同族のシグナル伝達の両方を必要とする。シグナルは、B直系細胞を、そのプログラムされた発達を継続することを可能にするポジティブ刺激、またはその現在の発達経路を阻止するように細胞に指示するネガティブ刺激を付与し得る。現在までに、多数の刺激シグナルおよび阻害シグナル（IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-10、IL-13、IL-14およびIL-15）は、B細胞応答性に影響することが見出されている。興味深いことに、これらのシグナルは、それ自体によって、弱いエフェクターであるが、種々の共刺激タンパク質と組み合わせて、B細胞集団で、活性化、増殖、分化、ホーミング、耐性、および死を誘起する。B細胞共刺激タンパク質の最もよく研究さ

れたクラスの1つは、TNFスーパーファミリーである。このファミリーにおいて、CD40、CD27およびCD30は、それらの各々のリガンドCD154、CD70およびCD153とともに、種々の免疫応答を調節することが見出されている。B細胞集団およびそれらの前駆体の増殖および分化の検出および／または観測を可能にするアッセイは、増殖および分化の観点からこれらのB細胞集団に対する、種々のタンパク質が有し得る効果を決定する際に役立つ道具である。以下に列挙されるのは、B細胞集団およびそれらの前駆体の分化、増殖、または阻害の検出を可能にするように設計された2つのアッセイである。

【0684】

(実験手順：)

インビトロアッセイ—精製したTR2レセプタータンパク質、またはその短縮形態は、B細胞集団およびそれらの前駆体における活性化、増殖、分化、あるいは阻害および／または死を誘導する（または阻害する）、それらの能力についてアッセイされる。0.1～10,000 ng/mlの用量範囲にわたって定性的に測定された、TR2レセプタータンパク質の、精製されたヒト扁桃B細胞に対する活性を、標準的なBリンパ球共刺激アッセイにおいてアッセイし、このアッセイにおいて、精製された扁桃B細胞は、ホルマリン固定Staphylococcus aureus Cowan I (SAC) またはプライミング薬剤として固定化された抗ヒトIgM抗体のいずれかの存在下で培養される。IL-2およびIL-15のような第2のシグナルは、トリチウム化チミジン組込みによって測定されるように、B細胞増殖を誘発するために架橋されたSACおよびIgMと共働(synergize)する。新規な共働薬剤は、このアッセイを使用して容易に同定され得る。このアッセイは、CD3ポジティブ細胞の磁気ビーズ(MACS)除去によってヒト扁桃B細胞を単離する工程を包含する。得られた細胞集団は、CD45R(B220)の発現によって評価される、95%より多いB細胞である。各サンプルの種々の希釈物を、96ウェルプレートの個々のウェルに配置し、そのウェルに、培養培地(10% FBS、 5×10^{-5} M 2ME、100 U/mlのペニシリン、10 μ g/mlのストレプトマイシン、および 10^{-5} 希釈のSACを含むRPMI 1640)に懸濁された 10^5 個のB細胞

を全量150 μ lで添加する。増殖または阻害を、因子添加後72時間で開始する³H-チミジン(6.7 Ci/mM)を用いる20時間パルス(1 μ Ci/ウェル)によって定量化する。ポジティブおよびネガティブコントロールは、それぞれIL-2および培地である。

【0685】

ヒトIgG1免疫グロブリン分子のFc部分に連結した、TR2の細胞外ドメインからなるTR2の溶解形態が調製された。このタンパク質のヒトB細胞の増殖性応答を変更する能力を、標準的な共刺激アッセイにおいて評価した。簡潔には、ヒト扁桃B細胞を、CD3ポジティブ細胞の磁気ビーズ(MACS)除去によって精製した。得られた細胞集団は、CD19およびCD20染色の発現によって評価されるように、慣用的に95%より多いB細胞であった。種々の希釈のrHuNeutrokine- α (WO 98/18921)またはコントロールタンパク質rHuIL-2を96ウェルプレートの個々のウェルに配置し、このウェルに、培養培地(10% FBS、 5×10^{-5} M 2ME、100 U/mlのペニシリン、10 μ g/mlのストレプトマイシン、および 10^{-5} 希釈のホルマリン固定Staphylococcus aureus Cowan I (SAC) (Pansorbina (Pan)としても知られる)を含むRPMI 1640)に懸濁された 10^5 個のB細胞を全量150 μ lで添加した。次いで、TR2-Fcを種々の濃度で添加した。次いで、プレートをインキュベータ(37°C 5% CO₂、95%湿度)に3日間置いた。増殖を、因子添加後72時間で開始する³H-チミジン(6.7 Ci/mM)を用いる20時間パルス(1 μ Ci/ウェル)によって定量化した。ポジティブおよびネガティブコントロールは、それぞれIL-2および培地である。

【0686】

3つのこのような実験の結果は、TR2-Fcが、プライミング薬剤としてStaphylococcus aureus Cowan I (SAC)および第2のシグナルとしてNeutrokine- α を使用する共刺激アッセイにおけるB細胞増殖の用量依存性阻害を引き起こすことを確認した。両方の実験において観測された阻害は、TR2-Fcの20 ng/mLほどに低い濃度で50%

よりも大きかった。他の腫瘍壊死因子レセプター (THFR) 融合タンパク質 (例えば、DR4-Fc (WO 98/32856)、TR6-Fc (WO 98/31799)、およびTR9-Fc (WO 98/56892)) は、増殖を阻害しなかったことを注意することは重要である。

【0687】

TR2-Fcの阻害活性は、Neutrokine- α およびSAC刺激細胞に対して特異的であるかどうか、またはそれがB細胞増殖のより一般的なネガティブレギュレータであるかどうかを決定するために、扁桃B細胞がIL-2およびSACで刺激される同様の実験を行った。その結果は、TR2-Fcはまた、IL-2駆動B細胞増殖の用量依存性阻害を誘起したことを示す (図17を参照のこと)。先の実験と一貫して、50%阻害が、約20 ng/mLのTR2-Fcを用いて達成された。従って、TR2-Fcは、Neutrokine- α を用いるB細胞の刺激とは関係なく、B細胞増殖をネガティブに調節するようである。

【0688】

インビボアッセイ-BALB/cマウスを、緩衝液のみ、または2 mg/KgのTR2レセプタータンパク質、またはその短縮形態で1日に2回注射する (腹腔内)。マウスは、4日間連続してこの処置を受け、それらが、死亡させられたときに、種々の組織および血清を分析のために回収する。正常およびTR2レセプタータンパク質処置脾臓からのH&E部分の比較は、TR2レセプタータンパク質の脾臓細胞に対する活性 (例えば、動脈周囲のリンパ鞘の拡散、および/または赤脾髄領域の有核細胞性の有意な増加) の結果と一致する。このことは、B細胞集団の分化および増殖の活性化を示し得る。B細胞マーカーである抗CD45R (B220) を使用する免疫組織化学的研究を使用して、脾臓細胞に対する任意の生理学的な変化 (例えば、脾臓組織崩壊) は、確立されたT細胞領域に浸透する大まかに規定されたB細胞ゾーン内でのB細胞提示の増加に起因するか否かを決定する。

【0689】

TR2レセプタータンパク質処置マウスからの脾臓のフローサイトメトリー分

析を使用して、TR2レセプタータンパク質は、コントロールマウスにおいて観測される、ThB+、CD45R (B220) d u l l B細胞の割合を特異的に増加させるか否かを示す。

【0690】

同様に、インビボでの成熟B細胞提示増加の予測された結果は、血清Ig力価の相対的な増加である。従って、血清IgMおよびIgAレベルは、緩衝液とTR2レセプタータンパク質処置マウスとの間で比較される。

【0691】

(実施例9)

(s c F v sのライブラリからの本発明のポリペプチドに対して指向された抗体フラグメントの単離)

ヒトPBLから単離した天然に存在するV遺伝子を、本発明のポリペプチド（ドナーは、これらに対して曝露されていても曝露されていなくともよい）に対する反応性を含む抗体フラグメントのライブラリーに構築する（例えば、米国特許第5,885,793号（その全体が参考として本明細書に援用される）を参照のこと）。

【0692】

(実験手順：)

(ライブラリーのレスキュー (r e s c u e)) WO 92/01047に記載のように、ヒトPBLのRNAからs c F vのライブラリーを構築する。抗体フラグメントを提示するファージをレスキューするため、ファージミドを保有する約 10^9 個のE. coliを用いて、50mlの2×TY（1%グルコースおよび $100\mu\text{g/ml}$ のアンピシリンを含有する）（2×TY-AMP-GLU）を接種し、そして振盪しながら0.8のO. D. まで増殖させる。この培養物の5mlを用いて50mlの2×TY-AMP-GLUに接種し、 2×10^8 TUの Δ 遺伝子3ヘルパー（M13 Δ 遺伝子III、PCT公開WO92/01047を参照のこと）を添加し、そして培養物を振盪なしで37℃で45分間インキュベートし、次いで振盪しながら37℃で45分間インキュベートする。この培養物を10分間4000 r. p. m. で遠心分離し、そしてペレットを2リ

ットルの2×TY (100 μg/ml アンピシリンおよび50 μg/ml カナマイシンを含有する) 中に再懸濁し、そして一晩増殖させる。ファージをWO92/01047に記載のように調製する。

【0693】

M13Δ遺伝子IIIを以下のように調製する：M13Δ遺伝子IIIヘルパーファージは、遺伝子IIIタンパク質をコードしない。それゆえ、抗体フラグメントを提示するファージ（ファージミド）は、抗原に対するより大きい結合アビディティを有する。ファージ形態形成の間、野生型遺伝子IIIタンパク質を供給するpUC19誘導体を保有する細胞においてヘルパーファージを増殖させることにより、感染性M13Δ遺伝子III粒子を作製する。培養物を振盪なしで37℃で1時間インキュベートし、次いで振盪しながら37℃でさらに1時間インキュベートする。細胞を遠心沈殿（IEC-Centra 8, 400 r.p.m. で10分間）し、100 μg/mlのアンピシリンおよび25 μg/mlのカナマイシンを含有する2×TYブロス（2×TY-AMP-KAN）300ml中で再懸濁し、そして37℃で振盪しながら一晩増殖させた。ファージ粒子を、2回のPEG沈殿（Sambrookら、1990）により培養培地から精製および濃縮し、2ml PBSに再懸濁し、そして0.45 μmのフィルター（Minisart NML; Sartorius）を通過させ、約10¹³ 形質導入単位/ml（アンピシリン耐性クローン）の最終濃度を得る。

【0694】

（ライブラリーのパニング） Immunotubes（Nunc）を、本発明のポリペプチドの100mg/mlまたは10mg/mlのいずれかの4mlを用いてPBS中で一晩コーティングする。チューブを2%Marvel-PBSを用いて37℃で2時間ブロックし、次いでPBS中で3回洗浄する。約10¹³ TUのファージをチューブに適用し、そして、回転盤上で上下にタンブリングしながら室温で30分間インキュベートし、次いでさらに1.5時間静置しておく。チューブをPBS 0.1%Tween-20で10回、そしてPBSで10回洗浄する。1mlの100mMトリエチルアミンを添加し、そして回転盤上で15分間上下に回転させることによりファージを溶出し、その後この溶液を0

． 5ml の 1. 0M Tris-HCl, pH 7. 4 で直ちに中和する。次いで、溶出したファージを細菌とともに 37℃ で 30 分間インキュベートすることにより、ファージを用いて、10ml の対数増殖中期の E. coli TG1 に感染させる。次いで、E. coli を 1% グルコースおよび 100 μg/ml アンピシリンを含有する TYE プレート上にプレーティングする。次いで、得られる細菌ライブラリーを、上記のように Δ 遺伝子 3 ヘルパーファージでレスキューし、次の回の選択のためのファージを調製する。次いで、このプロセスを、アフィニティー精製の全 4 回について反復し、3 回目および 4 回目にはチューブ洗浄を PBS、0. 1% Tween-20 で 20 回、そして PBS で 20 回に増加する。

【0695】

(バインダーの特徴付け) 第 3 回目および 4 回目の選択から溶出したファージを用いて、E. coli HB 2151 を感染させ、そして可溶性 scFv をアッセイのために単一コロニーから生成する (Marks ら、J. Mol. Biol. 222: 581-597 (1991))。50mM 炭酸水素塩、pH 9. 6 中の本発明のポリペプチドの 10 pg/ml のいずれかでコーティングしたマイクロタイタープレートを用いて ELISA を実施する。ELISA における陽性クローンを PCR フィンガープリンティング (例えば、WO 92/01047 を参照のこと)、次に配列決定することによりさらに特徴付ける。

【0696】

(実施例 10: TR2 レセプター遺伝子における変化の決定方法)

目的の表現型 (例えば、疾患) を提示する家族全員または個々の患者から RNA を単離する。次に、cDNA をこれらの RNA サンプルから当該分野で公知のプロトコルを使用して生成する (Sambrook を参照のこと)。次に、この cDNA を、配列番号 1 における目的の領域を取り囲むプライマーを用いる、PCR のテンプレートとして使用する。示唆される PCR 条件は、Sidransky, D. ら、Science 252: 706 (1991) に記載の緩衝溶液を使用し、95℃ で 30 秒間; 52~58℃ で 60~120 秒間; および 70℃ で 60~120 秒間の 35 サイクルからなる。

【0697】

次に、PCR産物を、SequiTherm Polymerase (Epicentre Technologies) を用い、その5'末端にT4ポリヌクレオチドキナーゼを用いて標識したプライマーを使用して配列決定する。TR2レセプターの選択したエキソンのイントロン-エキソン境界もまた決定し、ゲノムPCR産物を分析してその結果を確認する。次に、TR2レセプターにおける疑わしい変異を有するPCR産物のクローン化および配列決定を行い、直接配列決定 (direct sequencing) の結果を確認する。

【0698】

TR2レセプターのPCR産物を、Holton, T. A. およびGraham M. W., Nucl. Acids Res., 19:1156 (1991) に記載のようにTテールベクターにクローン化し、T7ポリメラーゼ (United States Biochemical) を用いて配列決定する。罹患個体を、非罹患個体には存在しないTR2レセプターにおける変異により同定する。

【0699】

ゲノム再配列もまた、TR2レセプター遺伝子における変化を決定する方法として観察される。当該分野において公知の技術を用いて単離したゲノムクローンを、ジゴキシゲニンデオキシウリジン5'-三リン酸 (Boehringer Mannheim) を用いてニックトランスレーションし、そしてJohnson, Cら、Meth. Cell Biol. 35: 73-99 (1991) に記載のようにFISHを行う。TR2レセプターのゲノム遺伝子座への特異的ハイブリダイゼーションのために、大過剰のヒトcot-1 DNAを用いて標識プローブとのハイブリダイゼーションを行う。

【0700】

染色体を、4, 6-ジアミノ-2-フェニリドールおよびヨウ化プロピジウムで対比染色し、CバンドおよびRバンドの組み合わせを生成する。正確なマッピングのための整列画像を、三重バンドフィルターセット (Chroma Technology, Brattleboro, VT) と冷却電荷結合素子カメラ (

Photometrics, Tucson, AZ) および可変励起波長フィルター (Johnson, Cら、Genet. Anal. Tech. Appl. 8: 75 (1991)) とを組み合わせて用いて得る。I See Graphical Program System (Inovision Corporation, Durham, NC) を使用して、画像収集、分析および染色体画分 (fragmental) 長測定を行う。(プローブがハイブリダイズした) TR 2 レセプターのゲノム領域の染色体変化を、挿入、欠失および転座として同定する。これらのTR 2 レセプター変化を関連疾患の診断マーカーとして使用する。

【0701】

(実施例11：生物学的サンプル中のTR 2 レセプターの異常レベルを検出する方法)

TR 2 のポリペプチドは生物学的サンプル中で検出され得、そしてTR 2 の上昇または低下が検出される場合には、このポリペプチドは、特定表現型のマーカーである。検出方法は数多くあり、従って、当業者は以下のアッセイをそれらの特定の必要性に適合するように改変し得ることが理解される。

【0702】

例えば、抗体サンドイッチELISAを使用し、サンプル中（好ましくは、生物学的サンプル中）のTR 2 レセプターを検出する。マイクロタイタープレートのウェルを、最終濃度0.2～10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ のTR 2 に特異的な抗体でコーティングする。この抗体は、モノクローナルまたはポリクローナルのいずれかであって、当該分野において公知の技術により産生される。ウェルへのTR 2 レセプターの非特異的結合が減少するように、このウェルをブロックする。

【0703】

次に、コーティングしたウェルを、TR 2 レセプターを含有するサンプルと共に室温で2時間より長くインキュベートする。好ましくは、サンプルの系列希釈を使用して結果を確認すべきである。次に、このプレートを脱イオン水または蒸留水で三回洗浄し、未結合のTR 2 レセプターを除去する。

【0704】

次に、特異的抗体-アルカリホスファターゼ結合体50 μl を25～400 n

gの濃度で加え、室温で2時間インキュベートする。このプレートを再び脱イオン水または蒸留水で三回洗浄し、未結合の結合体を除去する。

【0705】

次いで、4-メチルウンベリフェリリン酸 (MUP) またはp-ニトロフェニルリン酸 (NPP) 基質溶液75 μ lを各ウェルに添加し、そして室温で1時間インキュベートして基質と蛍光の切断を可能にする。この蛍光をマイクロタイタープレートリーダーにより測定する。コントロールサンプルの系列希釈からの実験結果を使用してX軸（対数目盛）にサンプル濃度を、そしてY軸（一様目盛）に蛍光または吸光度をプロットして、検量線を作成する。標準曲線を用いてサンプル中のポリペプチド濃度を補間する。次いで、サンプル中のTR2レセプターポリペプチドの濃度を、このサンプルに関して測定された蛍光に基づく検量線を使用して補間する。

【0706】

（実施例12：TR2レセプターのレベル低下を処置する方法）

本発明は、身体内におけるTR2レセプター生物学的活性のレベルを減少させる必要のある個体を処置するための方法に関する。この方法は、治療有効量のTR2レセプターアンタゴニストを含む組成物をそのような個体に投与する工程を包含する。本発明における使用に好ましいアンタゴニストは、TR2レセプター特異的抗体である。

【0707】

さらに、個体におけるTR2レセプターの標準または正常な発現レベルの低下により引き起こされる状態は、TR2レセプターを、好ましくは可溶性形態および／または分泌形態で投与することにより処置され得ることが理解される。従って、本発明はまた、TR2レセプターポリペプチドのレベルの増加が必要な個体の処置方法を提供する。この方法は、このような個体におけるTR2レセプターの生物学的活性レベルを増加させる量のTR2レセプターを含む薬学的組成物をこのような個体に投与する工程を包含する。

【0708】

例えば、減少したレベルのTR2レセプターポリペプチドを有する患者は、6

日間連続して1日用量0.1～100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ のポリペプチドを受ける。好ましくは、このポリペプチドは、可溶性形態および／または分泌形態である。

【0709】

(実施例13：TR2レセプターのレベル上昇を処置する方法)

本発明はまた、身体内におけるTR2レセプター生物学的活性のレベルの増加の必要のある個体を処置するための方法に関し、その方法は、治療有効量のTR2レセプターまたはそのアゴニストを含む組成物をそのような個体に投与する工程を包含する。

【0710】

アンチセンス技術を使用してTR2レセプターの産生を阻害する。この技術は、癌のような様々な病因に起因するTR2レセプターポリペプチド（好ましくは可溶性形態および／または分泌形態）のレベルを低下させる方法の1つの例である。

【0711】

例えば、TR2レセプターのレベルが異常に上昇したと診断された患者に、アンチセンスポリヌクレオチドを、0.5、1.0、1.5、2.0および3.0 $\text{mg}/\text{kg}/\text{日}$ で静脈内に21日間投与する。この処置に対して十分な耐性と決定された場合に、7日間の休薬期間後に、この処置を繰り返す。アンチセンスポリヌクレオチドの処方は、実施例10に提供されている。

【0712】

(実施例14：遺伝子治療を使用する処置方法—エキソビボ)

遺伝子治療の1つの方法は、可溶性型および／または成熟型TR2レセプターポリペプチドを発現し得る線維芽細胞を患者に移植する。一般に、線維芽細胞は、皮膚生検により被験体から得られる。得られた組織を組織培養培地中に配置し、小片に分割する。組織の小塊を組織培養フラスコの湿潤表面に置き、約10片を各フラスコ中に置く。このフラスコを倒置し、しっかりと閉め、そして室温で一晩放置する。室温で24時間後、フラスコを反転させ、組織塊をフラスコの底に固定させたままにし、そして新鮮培地（例えば、10% FBS、ペニシリンおよびストレプトマイシンを含有するHam's F12培地）を添加する。次に

、フラスコを37℃で約1週間インキュベートする。

【0713】

この時点で、新鮮培地を添加し、次いで数日ごとに取り換える。さらに二週間培養した後に単層の線維芽細胞が出現する。単層をトリプシン処理し、さらに大きなフラスコにスケールアップする。

【0714】

モロニー Maus 肉腫ウイルスの長末端反復が隣接する pMV-7 (Kirschmeier, P. T. ら、DNA, 7:219-25 (1988)) を EcoRI および HindIII で消化した後、仔ウシ腸ホスファターゼで処理する。線状ベクターをアガロースゲルで分画し、そしてガラスビーズを使用して精製する。

【0715】

TR2 レセプターをコードする cDNA を、5' および 3' 末端コード配列にそれぞれ対応する PCR プライマーを使用して増幅し得る。好ましくは、5' プライマーは EcoRI 部位を含み、そして 3' プライマーは HindIII 部位を含む。等量の、モロニー Maus 肉腫ウイルス線状骨格および増幅した EcoRI および HindIII フラグメントを、T4 DNA リガーゼの存在下で一緒に添加する。得られた混合物を二つのフラグメントを連結するに適切な条件下で維持する。次に、連結混合物を使用し、E. coli HB101 を形質転換する。次に、それを、カナマイシンを含む寒天上にプレーティングし、ベクターが、適切に挿入された TR2 レセプターを含むことを確認する。

【0716】

アンホトロピック pA317 または GP+am12 パッケージング細胞を、10% 仔ウシ血清 (CS)、ペニシリンおよびストレプトマイシンを含む Dulbecco 改変 Eagle 培地 (DMEM) 中、組織培養でコンフルエントな密度まで増殖させる。次に、TR2 レセプター遺伝子を含む MSV ベクターを培地に加え、そしてパッケージング細胞にベクターを形質導入する。このとき、パッケージング細胞は TR2 レセプター遺伝子を含む感染性ウイルス粒子を産生する (ここで、パッケージング細胞をプロデューサー細胞という)。

【0717】

形質導入されたプロデューサー細胞に新鮮培地を添加し、次いで培地をコンフルエントなプロデューサー細胞の10cmプレートから採取する。感染性ウイルス粒子を含む使用済み培地を、ミリポアー (millipore) フィルターを通して濾過し、はがれたプロデューサー細胞を除去し、次いで、この培地を使用して、線維芽細胞を感染させる。線維芽細胞のサブコンフルエントなプレートから培地を除去し、そしてプロデューサー細胞からの培地と速やかに置き換える。この培地を除去し、そして新鮮培地と置き換える。ウイルスの力価が高ければ、実質的にすべての線維芽細胞が感染され、選択は必要ではない。力価が非常に低い場合、neoまたはhisのような選択マーカーを有するレトロウイルスベクターを使用することが必要である。一旦、線維芽細胞が効率的に感染すると、線維芽細胞を分析し、TR2レセプタータンパク質が産生されているか否かを決定する。

【0718】

次に、操作された線維芽細胞を、単独で、またはサイトデックス3 (cyto dex 3) マイクロキャリアビーズ上でコンフルエントに増殖させた後のいずれかで宿主に移植する。

【0719】

(実施例15：遺伝子治療を使用する処置方法ーインビボ)

本発明の別の局面は、障害、疾患、および状態を処置するためにインビボ遺伝子治療方法を使用することである。この遺伝子治療法は、TR2レセプターポリペプチドの発現を増大または減少させるための、動物への裸の核酸 (DNA、RNA、およびアンチセンスDNAまたはRNA) TR2レセプター配列の導入に関する。TR2レセプターポリヌクレオチドは、プロモーター、または標的組織によるTR2レセプターポリペプチドの発現に必要な任意の他の遺伝的エレメントに、作動可能に連結され得る。このような遺伝子治療および送達の技術および方法は、当該分野で公知であり、例えば、国際出願公開番号WO90/11092、国際出願公開番号WO98/11779；米国特許第5,693,622号、同第5,705,151号、同第5,580,859号；Tabata H.

ら、Cardiovasc. Res. 35:470-479 (1997); Chao J. ら、Pharmacol. Res. 35:517-522 (1997); Wolff J. A.、Neuromuscul. Disord. 7:314-318 (1997)、Schwartz B. ら、Gene Ther. 3:405-411 (1996); Tsurumi Y. ら、Circulation 94:3281-3290 (1996) (本明細書中に参考として援用される)を参照のこと。

【0720】

TR2レセプターポリヌクレオチド構築物は、注射可能な物質を動物の細胞に送達する任意の方法(例えば、組織(心臓、筋肉、皮膚、肺、肝臓、腸など)の間隙空間への注射)によって送達され得る。TR2レセプターポリヌクレオチド構築物は、薬学的に受容可能な液体または水性キャリア中で送達され得る。

【0721】

用語「裸の」ポリヌクレオチド、DNAまたはRNAは、細胞への進入を補助、促進、または容易にするように作用するいかなる送達ビヒクル(ウイルス配列、ウイルス粒子、リポソーム処方物、リポフェクチン、または沈澱剤などを含む)も含まない配列をいう。しかし、TR2レセプターポリヌクレオチドはまた、当業者に周知の方法によって調製され得るリポソーム処方物(例えば、Felgner P. L. ら(1995) Ann. NY Acad. Sci. 772:126-139およびAbdallah B. ら(1995) Biol. Cell 85:1-7で教示されたもの)中で送達され得る。

【0722】

この遺伝子治療方法において使用されるTR2レセプターポリヌクレオチドベクター構築物は、好ましくは、宿主ゲノムに組み込まれず、複製を可能にする配列も含まない構築物である。当業者に公知の任意の強力なプロモーターが、DNAの発現を駆動するために用いられ得る。他の遺伝子治療技術とは異なり、裸の核酸配列を標的細胞に導入する1つの主要な利点は、その細胞におけるポリヌクレオチド合成の一過性の性質である。研究によって、非複製DNA配列が細胞に導入されて、6ヶ月までの間の期間、所望のポリペプチドの産生を提供し得るこ

とが示されている。

【0723】

TR2レセプターポリヌクレオチド構築物は、動物内の組織（筋肉、皮膚、脳、肺、肝臓、脾臓、骨髄、胸腺、心臓、リンパ、血液、骨、軟骨、膵臓、腎臓、胆嚢、胃、腸、精巣、卵巣、子宮、直腸、神経系、眼、腺、および結合組織を包含する）の間隙空間に送達され得る。この組織の間隙空間は、細胞間液、ムコ多糖基質（器官組織の細網線維、血管または室（chamber）の壁における弾性線維、線維性組織におけるコラーゲン線維の間にある）、あるいは筋肉細胞を覆う結合組織内または骨の裂孔中の同じ基質を包含する。これは、同様に、循環の血漿およびリンパチャンネルのリンパ液により占められた空間である。筋肉組織の間隙空間への送達は、以下に考察する理由のために好ましい。それらは、これらの細胞を含む組織への注射によって、好都合に送達され得る。それらは、好ましくは、分化した持続性の非分裂細胞に送達され、そしてその細胞において発現されるが、送達および発現は、非分化細胞または完全には分化していない細胞（例えば、血液の幹細胞または皮膚線維芽細胞）において達成され得る。インビボで、筋肉細胞は、ポリヌクレオチドを取り込みそして発現する能力において、特に適格である。

【0724】

裸のTR2レセプターポリヌクレオチド注射のために、DNAまたはRNAの有効投薬量は、約0.05g/kg体重から約50mg/kg体重の範囲である。好ましくは、この投薬量は、約0.005mg/kgから約20mg/kgであり、そしてより好ましくは、約0.05mg/kgから約5mg/kgである。もちろん、当業者が認識するように、この投薬量は、注射の組織部位に従って変化する。核酸配列の適切かつ有効な投薬量は、当業者によって容易に決定され得、そして処置される状態および投与経路に依存し得る。好ましい投与経路は、組織の間隙空間への非経口注射経路によってである。しかし、他の非経口経路もまた用いられ得、これには、例えば、特に肺または気管支組織、咽喉、または鼻の粘膜への送達のためのエアロゾル処方物の吸入が挙げられる。さらに、裸のTR2レセプターポリヌクレオチド構築物が、血管形成術の間にこの手順において

用いられるカテーテルによって動脈に送達され得る。

【0725】

インビボでの筋肉における注射されたTR2レセプターポリヌクレオチドの用量応答効果を、以下のようにして決定する。TR2レセプターポリペプチドをコードするmRNAの生成のための適切なTR2レセプター鋳型DNAを、標準的な組換えDNA方法論に従って調製する。鋳型DNA（これは環状または線状のいずれかであり得る）は裸のDNAとして使用されるか、またはリボソームと複合体化されるかのいずれかである。次いで、マウスの四頭筋に、種々の量の鋳型DNAを注射する。

【0726】

5～6週齢の雌性および雄性のBalb/Cマウスに、0.3mlの2.5% Avertinを腹腔内注射することにより麻酔する。1.5cmの切開を大腿前部で行い、そして四頭筋を直接可視化する。TR2レセプター鋳型DNAを、0.1mlのキャリアに入れて、1cc注射器で27ゲージ針を通して1分間にわたって、筋肉の遠位挿入部位から約0.5cmのところ膝に、約0.2cmの深さで注射する。縫合を、将来の位置決定のために注射部位の上で行い、そしてその皮膚をステンレス鋼クリップで閉じる。

【0727】

適切なインキュベーション時間（例えば、7日間）後、筋肉抽出物を、四頭筋全体を切り出すことによって調製する。個々の四頭筋の5枚目毎の15μm切片を、TR2レセプタータンパク質発現について組織化学的に染色する。TR2レセプタータンパク質発現についての時間経過は、異なるマウスからの四頭筋を異なる時間で採取すること以外は、同様な様式で行い得る。注射後の筋肉中のTR2レセプターのDNAの持続性を、注射したマウスおよびコントロールマウスからの全細胞性DNAおよびHIRT上清を調製した後、サザンブロット分析によって決定し得る。マウスにおける上記実験の結果は、TR2レセプターの裸のDNAを用いて、ヒトおよび他の動物において適切な投薬量および他の処置パラメーターを外挿し得る。

【0728】

(実施例16：内在性TR2レセプター遺伝子を使用する遺伝子治療)

本発明に従う遺伝子治療の別の方法は、例えば、1997年6月24日に発行された米国特許第5,641,670号；1996年9月26日に公開された国際出願公開第WO96/29411号，1994年8月4日に公開された国際出願公開第WO94/12650号；Kollerら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA86:8932-8935(1989)；およびZijlstraら、Nature342:435-438(1989)に記載されるように、内在性TR2レセプター配列を、相同組換えによってプロモーターに作動可能に連結する工程を含む。この方法は、標的細胞内に存在するが、その細胞において発現されないか、または所望されるレベルよりも低いレベルで発現される遺伝子の活性化を含む。プロモーター配列およびプロモーター配列に隣接しており、内在性TR2レセプターの5'非コード配列と相同である標的配列を含むポリヌクレオチド構築物を作製する。標的配列は、TR2レセプターの5'末端の十分近くに存在しているので、プロモーターは、相同組換えの際に内在性配列と作動可能に連結される。このプロモーター配列および標的配列を、PCRを使用して増幅し得る。好ましくは、増幅されたプロモーターは、5'末端および3'末端に異なる制限酵素部位を含む。好ましくは、第1の標的配列の3'末端は、増幅されたプロモーターの5'末端と同じ制限酵素部位を含み、そして、第2標的配列の5'末端は、増幅されたプロモーターの3'末端と同じ制限酵素部位を含む。

【0729】

増幅されたプロモーターおよび増幅された標的配列を、適切な制限酵素を用いて消化し、引き続いて仔ウシ腸ホスファターゼを用いて処理する。消化したプロモーター配列および消化した標的配列を、T4DNAリガーゼの存在下に一緒に添加する。得られた混合物を、2つのフラグメントの連結のために適切な条件下に維持する。この構築物をアガロースゲル上でサイズ分別し、次いでフェノール抽出およびエタノール沈殿によって、精製する。

【0730】

この実施例において、このポリヌクレオチド構築物を、エレクトロポレーショ

ンによって裸のポリヌクレオチドとして投与する。しかしまた、このポリヌクレオチド構築物をトランスフェクション促進剤（例えば、リポソーム、ウイルス配列、ウイルス粒子、沈殿化剤など）と共に投与する。そのような送達方法は、当該分野において公知である。

【0731】

一旦、細胞がトランスフェクトされると、内在性TR2レセプター配列と作動可能に連結されるプロモーターを生じる相同組換えが生じる。これは、細胞内にTR2レセプターの発現を生じる。発現は、免疫学的染色または当該分野において公知の任意の他の方法によって検出され得る。

【0732】

線維芽細胞を、皮膚生検により被験体から得る。生じた組織をDMEMおよび10%ウシ胎児血清中に置く。対数増殖期または静止期初期の線維芽細胞をトリプシン処理し、そして、栄養培地を用いてプラスチック表面からすすぎ落とす。細胞懸濁物のアリコートをし、計数するために取り出して、残りの細胞を遠心分離に供する。上清を吸い出し、ペレットを5mlのエレクトロポレーション緩衝液（20mM HEPES pH7.3、137mM NaCl、5mM KCl、0.7mM Na₂HPO₄、6mM デキストロース）中に再懸濁する。細胞を再遠心分離し、上清を吸い出し、そして細胞を、1mg/ml アセチル化ウシ血清アルブミンを含むエレクトロポレーション緩衝液中に再懸濁する。最終的な細胞懸濁物は、およそ 3×10^6 細胞/mlを含む。エレクトロポレーションを、再懸濁後すぐに実施すべきである。

【0733】

プラスミドDNAを、標準的技術に従って調製する。例えば、TR2レセプター遺伝子座をターゲティングするためのプラスミドを構築するために、プラスミドpUC18（MBI Fermentas、Amherst、NY）をHindIIIで消化する。CMVプロモーターを、5'末端のXbaI部位および3'末端のBamHI部位を含むようにPCRによって増幅する。2つのTR2レセプター非コード配列をPCRによって増幅する：1つのTR2レセプター非コード配列（TR2レセプターフラグメント1）を5'末端のHindIII部位

および3'末端のXba部位を含むように増幅する；もう一方のTR2レセプター非コード配列（TR2レセプターフラグメント2）を5'末端のBamHI部位および3'末端のHindIII部位を含むように増幅する。CMVプロモーターおよびTR2レセプターフラグメントを、適切な酵素（CMVプロモーター-XbaIおよびBamHI；TR2レセプターフラグメント1-XbaI；TR2レセプターフラグメント2-BamHI）で消化し、そして共に連結させる。生じた連結産物を、HindIIIで消化し、そしてHindIIIで消化したpUC18プラスミドと連結させる。

【0734】

プラスミドDNAを、0.4cm電極ギャップ（Bio-Rad）を備える滅菌キュベットに添加する。最終DNA濃度は、一般的に少なくとも120μg/mlである。次いで、0.5mlの細胞懸濁物（およそ 1.5×10^6 個の細胞を含む）をキュベットに添加し、そして細胞懸濁物およびDNA溶液を穏やかに混合する。エレクトロポレーションを、Gene-Pulser装置（Bio-Rad）を用いて実施する。電気容量および電圧をそれぞれ、960μFおよび250-300Vに設定する。電圧が増加するにつれて、生存細胞は減少するが、そのゲノムに導入DNAを安定に組み込む生存細胞の割合は、劇的に増加する。これらのパラメーターを想定すると、およそ14~20m秒のパルス時間が観察されるはずである。

【0735】

エレクトロポレーションされた細胞を、およそ5分間室温で維持し、次いでキュベットの内容物を、滅菌転移ピペットを用いて穏やかに取り出す。細胞を、10cm皿内の10mlの予め暖められた栄養培地（15%ウシ血清を有するDMEM）に直接添加して、そして37℃でインキュベートする。次の日、培地を吸い出して、そして10mlの新鮮な培地と交換し、さらに16~24時間インキュベートする。

【0736】

次いで、操作された線維芽細胞を、単独でか、またはサイトデックス（cytode x）3マイクロキャリアビーズ上でコンフルエントになるまで増殖させた

後かのいずれかで、宿主に注入する。ここで、この線維芽細胞は、タンパク質産物を産生する。次いで、この線維芽細胞を、上記の患者に導入し得る。

【0737】

(実施例17：ハイブリドーマ技術を使用する抗体の産生)

本発明の抗体は、種々の方法によって調製され得る。(Ausubelら編、1998、Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, NY, 第2章を参照のこと)。このような方法の1つの例として、TR2を発現する細胞は、ポリクローナル抗体を含む血清の産生を誘導するために動物に投与される。好ましい方法において、TR2タンパク質の調製物が調製され、そして精製されて、天然の夾雑物を実質的に含まないようにされる。次いで、より大きな比活性のポリクローナル抗血清を生成するために、このような調製物は、動物に導入される。

【0738】

TR2ポリペプチドに対して特異的なモノクローナル抗体は、ハイブリドーマ技術を使用して調製される(Kohlerら、Nature 256:495 (1975); Kohlerら、Eur. J. Immunol. 6:511 (1976); Kohlerら、Eur. J. Immunol. 6:292 (1976); Hammerlingら: Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas, Elsevier, N. Y.、563-681頁(1981))。一般に、動物(好ましくはマウス)は、TR2ポリペプチドで、またはより好ましくは分泌TR2ポリペプチド発現細胞で免疫される。このようなポリペプチド発現細胞は、任意の適切な組織培養培地において、好ましくは10%ウシ胎仔血清(約56°Cで非働化した)を補充し、そして約10g/lの非必須アミノ酸、約1,000U/mlのペニシリン、および約100μg/mlのストレプトマイシンを補充したEarle改変イーグル培地において培養される。

【0739】

このようなマウスの脾細胞は抽出され、そして適切な骨髓腫細胞株と融合される。任意の適切な骨髓腫細胞株は、本発明に従って用いられ得る;しかし、AT

CCから入手可能な親骨髓腫細胞株（SP2O）を用いることが好ましい。融合後、得られるハイブリドーマ細胞を、HAT培地において選択的に維持し、次いでWandsら（Gastroenterology 80:225-232（1981））により記載されるように限界希釈によってクローニングする。次いで、このような選択によって得られるハイブリドーマ細胞は、TR2ポリペプチドを結合し得る抗体を分泌するクローンを同定するためにアッセイされる。

【0740】

あるいは、TR2ポリペプチドに結合し得るさらなる抗体を、抗イディオタイプ抗体を使用して2段階工程の手順において生成し得る。このような方法は、抗体それ自体が抗原であり、それゆえ第二の抗体に結合する抗体を得ることが可能であるという事実を利用する。この方法に従って、タンパク質特異的抗体を使用して、動物（好ましくは、マウス）を免疫する。次いで、このような動物の脾細胞を使用して、ハイブリドーマ細胞を産生する。そして、このハイブリドーマ細胞は、TR2タンパク質特異的抗体に結合する能力がTR2ポリペプチドによってブロックされ得る抗体を産生するクローンを同定するためにスクリーニングされる。このような抗体は、TR2タンパク質特異的抗体に対する抗イディオタイプ抗体を含み、そして動物を免疫してさらなるTR2タンパク質特異的抗体の形成を誘導するために使用される。

【0741】

ヒトにおける抗体のインビボ使用のために、抗体は、「ヒト化」される。このような抗体は、上記のモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマ細胞に由来する遺伝的構築物を使用することによって産生され得る。キメラ抗体およびヒト化抗体を産生するための方法は当該分野で公知であり、そして下記に議論される（総説については、Morrison, Science 229:1202（1985）；Oiら、BioTechniques 4:214（1986）；Cabilllyら、米国特許第4,816,567号；Taniguchiら、EP 171496；Morrisonら、EP 173494；Neubergerら、WO 8601533；Robinsonら、WO 8702671；Boulianneら、Nature 312:643（1984）；Neub

ergerら、Nature 314:268 (1985)を参照のこと)。

【0742】

(実施例18:ヒト組織中のTNFレセプター発現の発現パターン)

ノーザンブロット分析を行って、ヒト組織中のTNFレセプターの発現のレベルを調べる。全ての細胞RNAサンプルを、RNAzol™Bシステム(Biotecx Laboratories, Inc., Houston, Tex.)を用いて単離する。特定の各ヒト組織から単離される、約10μgの総RNAを、1%のアガロースゲルで分離し、そしてナイロンフィルター上にブロットする(Sambrook, Fritsch, およびManiatis, Molecular Cloning, Cold Spring Harbor Press, (1989))。標識化反応を、50ngのDNA画分を用いて、Stratagene Prime-Itキットに従って実施する。標識化DNAを、Select-G-50カラム(5 Prime-3 Prime, Inc. Boulder, CO)を用いて精製する。次いで、このフィルターを、0.5M NaPO₄ (pH 7.4) および7% SDS中の放射能標識化全長TNFレセプター遺伝子(1,000,000cpm/ml)を用いて、65℃で一晩かけてハイブリダイズした。0.5×SSC、0.1% SDSを用いて、室温で2回洗浄、そして60℃で2回洗浄後、次いで-70℃で一晩かけて、このフィルターを増感紙に曝露する。

【0743】

本発明が、前述の説明および実施例に詳細に記載される以外の方法で実施され得ることは明白である。

【0744】

本発明の多くの改変および変更は、上記の教示を考慮すれば可能であり、従って添付の請求の範囲の範囲内である。

【0745】

本明細書において引用されたすべての刊行物(特許、特許出願、文献記事、実験マニュアル、書物、または他の書類)全体としての開示は、本明細書によって参考として援用される。

【0746】

【表7】

出願人または代理人の参照番号

1488.077PCOA

国際出願番号

寄託された微生物に関する表示
(PCT規則13規則の2)

A. 表示は明細書中下記の箇所で言及された微生物に関してなされた。

4 頁、

21 行

B. 寄託物の表示

その他の寄託物が追加の用紙に記載されている。 ☐

寄託機関の名称

アメリカン タイプ カルチャー コレクション

寄託機関の住所（郵便番号および国を含む）

アメリカ合衆国

バージニア 20110-2209、マナサス

ユニバーシティ プールバード 10801

寄託日

1995年2月13日

受託番号

97057

C. 追加の表示（なければ空白のまま）

この情報は追付の用紙に続く ☐

DNAプラスミド 244,087

D. 表示がなされた指定締結国（全ての指定締結国に対する表示ではない場合）

E. 別に添付する表示物（なければ空白のまま）

下記の表示物は、追って国際事務局に提出する（表示物の一般的性質、例えば「寄託物の受託番号」の特定）

受理官庁記入欄

国際事務局記入欄

☐ この用紙は国際出願とともに受理された☐ この用紙は以下の日付で国際事務局により受理された

認定官

認定官

PCT/RO/134様式（1998年7月）

【0747】

【表8】

出願人または代理人の参照番号
1488.077PCOA

国際出願番号

寄託された微生物に関する表示
(PCT規則13規則の2)

A. 表示は明細書中下記の箇所で言及された微生物に関してなされた。

4 頁、 21 行

B. 寄託物の表示

その他の寄託物が追加の用紙に記載されている。 ☐

寄託機関の名称

アメリカン タイプ カルチャー コレクション

寄託機関の住所（郵便番号および国を含む）

アメリカ合衆国

バージニア 20110-2209、マナサス

ユニバーシティ ブールバード 10801

寄託日

1995年2月13日

受託番号

97058

C. 追加の表示（なければ空白のまま）

この情報は追付の用紙に添く ☐

DNAプラスミド 245, 598

D. 表示がなされた指定締結国（全ての指定締結国に対する表示ではない場合）

E. 別に添付する表示物（なければ空白のまま）

下記の表示物は、追って国際事務局に提出する（表示物の一般的性質、例えば「寄託物の受託番号」の特定）

受理官庁記入欄

国際事務局記入欄

☐ この用紙は国際出願とともに受理された

☐ この用紙は以下の日付で国際事務局により受理された

認定官

認定官

PCT/RO/134様式（1998年7月）

【0748】

【表9】

出願人または代理人の参照番号
1488.077PCOA

国際出願番号

寄託された微生物に関する表示
(PCT規則13規則の2)

A. 表示は明細書中下記の箇所で言及された微生物に関してなされた。

4 頁、 21 行

B. 寄託物の表示

その他の寄託物が追加の用紙に記載されている。 ☐

寄託機関の名称

アメリカン タイプ カルチャー コレクション

寄託機関の住所（郵便番号および国を含む）

アメリカ合衆国

バージニア 20110-2209、マナサス

ユニバーシティ ブールバード 10801

寄託日

1995年2月13日

受託番号

97059

C. 追加の表示（なければ空白のまま）

この情報は追付の用紙に続く ☐

DNAプラスミド 60041

D. 表示がなされた指定締結国（全ての指定締結国に対する表示ではない場合）

E. 別に添付する表示物（なければ空白のまま）

下記の表示物は、追って国際事務局に提出する（表示物の一般的性質、例えば「寄託物の受託番号」の特定）

受理官庁記入欄

国際事務局記入欄

☐ この用紙は国際出願とともに受理された

☐ この用紙は以下の日付で国際事務局により受理された

認定官

認定官

PCT/RO/134様式（1998年7月）

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> Ni, Jian
Rosen, Craig A.
Gentz, Reiner L.

<120> Human Tumor Necrosis Factor Receptor-Like 2

<130> 1488.077PCOA

<140>

<141>

<150> US 60/147,383

<151> 1999-08-06

<150> US 60/135,169

<151> 1999-05-20

<150> US 60/126,522

<151> 1999-03-26

<150> US 60/125,683

<151> 1999-03-22

<160> 26

<170> PatentIn Ver. 2.0

<210> 1

<211> 1704

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (265)..(1113)

<220>

<221> sig_peptide

<222> (265)..(372)

<220>

<221> mat_peptide

<222> (373)..(1113)

<400> 1

gcacgagctg cctccgcag gcgccacctg tgtccccag cgcgcgtcca cccagcaggc 60

ctgagccct ctctgtgcc agacacccc tgtgcccac tctctgtctg ctgggttct 120

gaggcacagc ttgtcacacc gaggggatt ctctttctct ttcttttct cttctggcc 180

acagccgcag caatggcgct gatttcctct gctggagttc atctgtctag ctgggttccc 240

gagctgccgg tctgagcctg aggc atg gag cct cct gga gac tgg ggg cct	291
Met Glu Pro Pro Gly Asp Trp Gly Pro	
-35 -30	
cct ccc tgg aga tcc acc ccc aaa acc gac gtc ttg agg ctg gtg ctg	339
Pro Pro Trp Arg Ser Thr Pro Lys Thr Asp Val Leu Arg Leu Val Leu	
-25 -20 -15	
tat ctc acc ttc ctg gga gcc ccc tgc tac gcc cca gct ctg ceg tcc	387
Tyr Leu Thr Phe Leu Gly Ala Pro Cys Tyr Ala Pro Ala Leu Pro Ser	
-10 -5 -1 1 5	
tgc aag gag gac gag tac cca gtg ggc tcc gag tgc tgc ccc aag tgc	435
Cys Lys Glu Asp Glu Tyr Pro Val Gly Ser Glu Cys Cys Pro Lys Cys	
10 15 20	
agt cca ggt tat cgt gtg aag gag gcc tgc ggg gag ctg acg ggc aca	483
Ser Pro Gly Tyr Arg Val Lys Glu Ala Cys Gly Glu Leu Thr Gly Thr	
25 30 35	
gtg tgt gaa ccc tgc cct cca ggc acc tac att gcc cac ctc aat ggc	531
Val Cys Glu Pro Cys Pro Pro Gly Thr Tyr Ile Ala His Leu Asn Gly	
40 45 50	
cta agc aag tgt ctg cag tgc caa atg tgt gac cca gcc atg ggc ctg	579
Leu Ser Lys Cys Leu Gln Cys Gln Met Cys Asp Pro Ala Met Gly Leu	
55 60 65	
cgc gcg agc cgg aac tgc tcc agg aca gag aac gcc gtg tgt ggc tgc	627
Arg Ala Ser Arg Asn Cys Ser Arg Thr Glu Asn Ala Val Cys Gly Cys	
70 75 80 85	
agc cca ggc cac ttc tgc atc gtc cag gac ggg gac cac tgc gcc gcg	675
Ser Pro Gly His Phe Cys Ile Val Gln Asp Gly Asp His Cys Ala Ala	
90 95 100	
tgc cgc gct tac gcc acc tcc agc ccg ggc cag agg gtg cag aag gga	723
Cys Arg Ala Tyr Ala Thr Ser Ser Pro Gly Gln Arg Val Gln Lys Gly	
105 110 115	
ggc acc gag agt cag gac acc ctg tgt cag aac tgc ccc ccg ggg acc	771
Gly Thr Glu Ser Gln Asp Thr Leu Cys Gln Asn Cys Pro Pro Gly Thr	
120 125 130	
ttc tct ccc aat ggg acc ctg gag gaa tgt cag cac cag acc aag tgc	819
Phe Ser Pro Asn Gly Thr Leu Glu Glu Cys Gln His Gln Thr Lys Cys	
135 140 145	
agc tgg ctg gtg acg aag gcc gga gct ggg acc agc agc tcc cac tgg	867
Ser Trp Leu Val Thr Lys Ala Gly Ala Gly Thr Ser Ser Ser His Trp	
150 155 160 165	

gta tgg tgg ttt ctc tca ggg agc ctc gtc atc gtc att gtt tgc tcc 915
 Val Trp Trp Phe Leu Ser Gly Ser Leu Val Ile Val Ile Val Cys Ser
 170 175 180

aca gtt ggc cta atc ata tgt gtg aaa aga aga aag cca agg ggt gat 963
 Thr Val Gly Leu Ile Ile Cys Val Lys Arg Arg Lys Pro Arg Gly Asp
 185 190 195

gta gtc aag gtg atc gtc tcc gtc cag cgg aaa aga cag gag gca gaa 1011
 Val Val Lys Val Ile Val Ser Val Gln Arg Lys Arg Gln Glu Ala Glu
 200 205 210

ggt gag gcc aca gtc att gag gcc ctg cag gcc cct ccg gac gtc acc 1059
 Gly Glu Ala Thr Val Ile Glu Ala Leu Gln Ala Pro Pro Asp Val Thr
 215 220 225

acg gtg gcc gtg gag gag aca ata ccc tca ttc acg ggg agg agc cca 1107
 Thr Val Ala Val Glu Glu Thr Ile Pro Ser Phe Thr Gly Arg Ser Pro
 230 235 240 245

aac cac tgaccacag actctgcacc ccgacgccag agatacctgg agcgacggct 1163
 Asn His

gaatgaaaga ggctgtccac ctggcggaac caccggagcc cggaggcttg ggggctccac 1223

cctggactgg ctccgtctc ctccagtga gggagaggtg gcgcccctgc tggggtagag 1283

ctggggacgc cactgocat tcccatgggc cagtgagggc ctggggcctc tgttctgctg 1343

tggcctgagc tcccagagt cctgaggagg agcgccagtt gccctcgtc cacagaccac 1403

acaccagcc ctctggggc aaccagagg gccttcagac ccagctgtg tgccgctctg 1463

actcttggtg cctcagcagg acaggccccc ggcaactgcct cacagccaag gctggactgg 1523

gttggctgca gtgtggtgt tagtggatac cacatcggaa gtgattttct aaattggatt 1583

tgaattcggc tcctgttttc tattgtcat gaaacagtgt atttggggag atgctgtggg 1643

aggatgtaaa tatcttgttt ctctcaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1703

a 1704

<210> 2

<211> 283

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Met Glu Pro Pro Gly Asp Trp Gly Pro Pro Pro Trp Arg Ser Thr Pro
 -35 -30 -25

Lys Thr Asp Val Leu Arg Leu Val Leu Tyr Leu Thr Phe Leu Gly Ala
 -20 -15 -10 -5
 Pro Cys Tyr Ala Pro Ala Leu Pro Ser Cys Lys Glu Asp Glu Tyr Pro
 -1 1 5 10
 Val Gly Ser Glu Cys Cys Pro Lys Cys Ser Pro Gly Tyr Arg Val Lys
 15 20 25
 Glu Ala Cys Gly Glu Leu Thr Gly Thr Val Cys Glu Pro Cys Pro Pro
 30 35 40
 Gly Thr Tyr Ile Ala His Leu Asn Gly Leu Ser Lys Cys Leu Gln Cys
 45 50 55 60
 Gln Met Cys Asp Pro Ala Met Gly Leu Arg Ala Ser Arg Asn Cys Ser
 65 70 75
 Arg Thr Glu Asn Ala Val Cys Gly Cys Ser Pro Gly His Phe Cys Ile
 80 85 90
 Val Gln Asp Gly Asp His Cys Ala Ala Cys Arg Ala Tyr Ala Thr Ser
 95 100 105
 Ser Pro Gly Gln Arg Val Gln Lys Gly Gly Thr Glu Ser Gln Asp Thr
 110 115 120
 Leu Cys Gln Asn Cys Pro Pro Gly Thr Phe Ser Pro Asn Gly Thr Leu
 125 130 135 140
 Glu Glu Cys Gln His Gln Thr Lys Cys Ser Trp Leu Val Thr Lys Ala
 145 150 155
 Gly Ala Gly Thr Ser Ser Ser His Trp Val Trp Trp Phe Leu Ser Gly
 160 165 170
 Ser Leu Val Ile Val Ile Val Cys Ser Thr Val Gly Leu Ile Ile Cys
 175 180 185
 Val Lys Arg Arg Lys Pro Arg Gly Asp Val Val Lys Val Ile Val Ser
 190 195 200
 Val Gln Arg Lys Arg Gln Glu Ala Glu Gly Glu Ala Thr Val Ile Glu
 205 210 215 220
 Ala Leu Gln Ala Pro Pro Asp Val Thr Thr Val Ala Val Glu Glu Thr
 225 230 235
 Ile Pro Ser Phe Thr Gly Arg Ser Pro Asn His
 240 245

<210> 3
 <211> 281
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 3
 Met Val Ser Leu Pro Arg Leu Cys Ala Leu Trp Gly Cys Leu Leu Thr
 1 5 10 15
 Ala Val His Leu Gly Gln Cys Val Thr Cys Ser Asp Lys Gln Tyr Leu
 20 25 30
 His Asp Gly Gln Cys Cys Asp Leu Cys Gln Pro Gly Ser Arg Leu Thr
 35 40 45
 Ser His Cys Thr Ala Leu Glu Lys Thr Gln Cys His Pro Cys Asp Ser
 50 55 60
 Gly Glu Phe Ser Ala Gln Trp Asn Arg Glu Ile Arg Cys His Gln His
 65 70 75 80
 Arg His Cys Glu Pro Asn Gln Gly Leu Arg Val Lys Lys Glu Gly Thr
 85 90 95
 Ala Glu Ser Asp Thr Val Cys Thr Cys Lys Glu Gly Gln His Cys Thr
 100 105 110
 Ser Lys Asp Cys Glu Ala Cys Ala Gln His Thr Pro Cys Ile Pro Gly
 115 120 125
 Phe Gly Val Met Glu Met Ala Thr Glu Thr Thr Asp Thr Val Cys His
 130 135 140
 Pro Cys Pro Val Gly Phe Phe Ser Asn Gln Ser Ser Leu Phe Glu Lys
 145 150 155 160
 Cys Tyr Pro Trp Thr Ser Cys Glu Asp Lys Asn Leu Glu Val Leu Gln
 165 170 175
 Lys Gly Thr Ser Gln Thr Asn Val Ile Cys Gly Leu Lys Ser Arg Met
 180 185 190
 Arg Ala Leu Leu Val Ile Pro Val Val Met Gly Ile Leu Ile Thr Ile
 195 200 205
 Phe Gly Val Phe Leu Tyr Ile Lys Lys Val Val Lys Lys Pro Lys Asp
 210 215 220
 Asn Glu Met Leu Pro Pro Ala Ala Arg Arg Gln Asp Pro Gln Glu Met
 225 230 235 240

ctg gga gcc ccc tgc tac gcc cca gct ctg cag tcc tgc aag gag gac 507
Leu Gly Ala Pro Cys Tyr Ala Pro Ala Leu Pro Ser Cys Lys Glu Asp
-5 -1 1 5

gag tac cca gtg ggc tcc gag tgc tgc ccc aag tgc agt cca ggt tat 555
 Glu Tyr Pro Val Gly Ser Glu Cys Cys Pro Lys Cys Ser Pro Gly Tyr
 10 15 20 25

cgt gtg aag gag gcc tgc ggg gag ctg acg ggc aca gtg tgt gaa ccc 603
 Arg Val Lys Glu Ala Cys Gly Glu Leu Thr Gly Thr Val Cys Glu Pro
 30 35 40

tgc cct cca ggc acc tac att gcc cac ctc aat ggc cta agc aag tgt 651
 Cys Pro Pro Gly Thr Tyr Ile Ala His Leu Asn Gly Leu Ser Lys Cys
 45 50 55

ctg cag tgc caa atg tgt gac cca gat att ggt tcc ccc tgt gac ctc 699
 Leu Gln Cys Gln Met Cys Asp Pro Asp Ile Gly Ser Pro Cys Asp Leu
 60 65 70

agg gga aga ggt cac ctg gag gct ggt gcc cac ctg agt cca ggc aga 747
 Arg Gly Arg Gly His Leu Glu Ala Gly Ala His Leu Ser Pro Gly Arg
 75 80 85

cag aaa ggg gaa cca gac cca gag gtg gcc ttt gag tca ctg agc gca 795
 Gln Lys Gly Glu Pro Asp Pro Glu Val Ala Phe Glu Ser Leu Ser Ala
 90 95 100 105

gag cct gtc cat gcg gcc aac ggc tct gtc ccc ttg gag cct cat gcc 843
 Glu Pro Val His Ala Ala Asn Gly Ser Val Pro Leu Glu Pro His Ala
 110 115 120

agg ctc agc atg gcc agt gct ccc tgc ggc cag gca gga ctg cac ctg 891
 Arg Leu Ser Met Ala Ser Ala Pro Cys Gly Gln Ala Gly Leu His Leu
 125 130 135

cgg gac agg gct gac ggc aca cct ggg ggc agg gcc tgagcctaca 937
 Arg Asp Arg Ala Asp Gly Thr Pro Gly Gly Arg Ala
 140 145

gggaggcaca gggcaggtgg gctagccatg aacagaagag gaagctggag tgctttgggg 997

gttcatgcat gtaggctggg atttggggct cacacctcaa cctgcatgcc cagttccatg 1057

cccctccoct cttgtgaaag cacctgtcta cttgggctga ggatgtgggg gcacaggtgg 1117

caggtgaggg tgccctcagg agggggccag gccagcttg taccacacct ccaccagtac 1177

ctgaagaagt ggggctctca cctacactgc ctctgccatt ggaatggcct ggtttgcaca 1237

gatgggaaac ccgtttgagg ggtgggtgtc tgggtgggca cgtggggcga ggacctgcct 1297

gagggaccct gccctggaac tgacagtga agctcggcgt cctgcccata tgggcagaag 1357

gctggtttct cccatcaacg aagccctccc aggaccttcc tgcaagccct cgtccacac 1417

gcagctctgc cgtcccttgg tgtccctccc ggccctcaggt cctccatgct gggtaacctct 1477
 gggcacctcg tttggtgag ccaggggttc agcctggcag ggcgccctgg cagcagtcct 1537
 tggcctgtgg atgtgtcct ggccgttgga tgggtgcccg ccctccacgt acccctctca 1597
 cccctctctc ttggactcca gccatgggco tgcgcgcgag ccggaactgc tccaggacag 1657
 agaacgccgt gtgtggctgc agcccaggcc acttctgcat cgtccaggac ggggaccact 1717
 gcgcgcgctg ccgcgcttac gccacctcca gcccgggcca gaggggtgcag aaggaggcca 1777
 ccgagagtca ggacacctg tgtcagaact gccccccggg gaccttctct cccaatggga 1837
 ccctggagga atgtcagcac cagaccaatt ggcctaataca tatgtgtgaa aagaagaaag 1897
 ccaaggggtg agcacacggt ggccccatca gggttcatgt cccagccgt cacctcttgg 1957
 agctctgtca cccaagcct gggaggtggc ccagagctt ttccaggatc cgcggtcct 2017
 ccagggcag ccactgcagg ctggggcagg tgtatgtagt caaggtgatc gtctccgtcc 2077
 agcggtaaaa gacaggaggc agaaggtgag gccacagtc ttagccctg caggccccctc 2137
 cggacgtcac cacggtggcc gtggaggaga caataccctc attcacgggg aggagcccaa 2197
 accactgacc cacagactct gcaccccgac gccagagata cctggagaga cggctgctga 2257
 tagaggctgt ccacctggcg aaaccaccgg agcccgagg ctgggggct ccgccctggg 2317
 ctggtttccg tctcctccag tggagggaga ggtggtgccc ctgctggtgg tagagctggg 2377
 gacgccacgt gccattccca tggttcagtg aggggctggt ggccctctgt ctgctgtggc 2437
 ctgagctccc cagagtcctg aggaggagcc ccagttgccc ctgctcaca gaccacacac 2497
 ccagccctcc tgggccaacc cagaggcccc ttcagacccc agctgtctgc gcgtctgact 2557
 cttgtggcct cagcaggaca ggccccgggc actgcctcac agccaaggct ggaatgggtt 2617
 ggctgcagtg tgggtgttag tggataccac atcggaagtg attttctaaa aattggattt 2677
 gaattcggaa aaaaa 2692

<210> 5

<211> 185

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 5

Met Glu Pro Pro Gly Asp Trp Gly Pro Pro Pro Trp Arg Ser Thr Pro

-35 -30 -25
 Arg Thr Asp Val Leu Arg Leu Val Leu Tyr Leu Thr Phe Leu Gly Ala
 -20 -15 -10 -5
 Pro Cys Tyr Ala Pro Ala Leu Pro Ser Cys Lys Glu Asp Glu Tyr Pro
 -1 1 5 10
 Val Gly Ser Glu Cys Cys Pro Lys Cys Ser Pro Gly Tyr Arg Val Lys
 15 20 25
 Glu Ala Cys Gly Glu Leu Thr Gly Thr Val Cys Glu Pro Cys Pro Pro
 30 35 40
 Gly Thr Tyr Ile Ala His Leu Asn Gly Leu Ser Lys Cys Leu Gln Cys
 45 50 55 60
 Gln Met Cys Asp Pro Asp Ile Gly Ser Pro Cys Asp Leu Arg Gly Arg
 65 70 75
 Gly His Leu Glu Ala Gly Ala His Leu Ser Pro Gly Arg Gln Lys Gly
 80 85 90
 Glu Pro Asp Pro Glu Val Ala Phe Glu Ser Leu Ser Ala Glu Pro Val
 95 100 105
 His Ala Ala Asn Gly Ser Val Pro Leu Glu Pro His Ala Arg Leu Ser
 110 115 120
 Met Ala Ser Ala Pro Cys Gly Gln Ala Gly Leu His Leu Arg Asp Arg
 125 130 135 140
 Ala Asp Gly Thr Pro Gly Gly Arg Ala
 145

 <210> 6
 <211> 248
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

 <400> 6
 Met Ala Pro Val Ala Val Trp Ala Ala Leu Ala Val Gly Leu Glu Leu
 1 5 10 15
 Trp Ala Ala Ala His Ala Leu Pro Ala Gln Val Ala Phe Thr Pro Tyr
 20 25 30
 Ala Pro Glu Pro Gly Ser Thr Cys Arg Leu Arg Glu Tyr Tyr Asp Gln
 35 40 45
 Thr Ala Gln Met Cys Cys Ser Lys Cys Ser Pro Gly Gln His Ala Lys

50 55 60
 Val Phe Cys Thr Lys Thr Ser Asp Thr Val Cys Asp Ser Cys Glu Asp
 65 70 75 80
 Ser Thr Tyr Thr Gln Leu Trp Asn Trp Val Pro Glu Cys Leu Ser Cys
 85 90 95
 Gly Ser Arg Cys Ser Ser Asp Gln Val Glu Thr Gln Ala Cys Thr Arg
 100 105 110
 Glu Gln Asn Arg Ile Cys Thr Cys Arg Pro Gly Trp Tyr Cys Ala Leu
 115 120 125
 Ser Lys Gln Glu Gly Cys Arg Leu Cys Ala Pro Leu Arg Lys Cys Arg
 130 135 140
 Pro Gly Phe Gly Val Ala Arg Pro Gly Thr Glu Thr Ser Asp Val Val
 145 150 155 160
 Cys Lys Pro Cys Ala Pro Gly Thr Phe Ser Asn Thr Thr Ser Ser Thr
 165 170 175
 Asp Ile Cys Arg Pro His Gln Ile Cys Asn Val Val Ala Ile Pro Gly
 180 185 190
 Asn Ala Ser Met Asp Ala Val Cys Thr Ser Thr Ser Pro Thr Arg Ser
 195 200 205
 Met Ala Pro Gly Ala Val His Leu Pro Gln Pro Val Ser Thr Arg Ser
 210 215 220
 Gln His Thr Gln Pro Thr Pro Glu Pro Ser Thr Ala Pro Ser Thr Ser
 225 230 235 240
 Phe Leu Leu Pro Met Gly Pro Ser
 245

<210> 7

<211> 2637

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (247)..(654)

<400> 7

aaagctcggg ctccaccggg gacgaccgct cctagaaact gagggtatc ccccgggcct 60
 gcaggaattc caacctgcct gaagggaccc tgccctggaa ctgacagtgc aagctcggcg 120

tccctgccat ctgggaagaa ggctggtttc tcccatcaac gaagccctcc caggaccttc 180
 ctgcaagccc tcgtcccaca cgcagctctg ccgtcccttg gtgtccctcc cggcctcagg 240
 tccctcc atg ctg ggt acc tct ggg cac ctg gtt tgg ctg agc cag ggg 288
 Met Leu Gly Thr Ser Gly His Leu Val Trp Leu Ser Gln Gly
 1 5 10
 ttc agc ctg gca ggg cgc cct ggc agc agt cct tgg cct gtg gat gct 336
 Phe Ser Leu Ala Gly Arg Pro Gly Ser Ser Pro Trp Pro Val Asp Ala
 15 20 25 30
 gtc ctg gcc tgt gga tgg tgt ccc ggc ctg cac gta ccc cct ctg agc 384
 Val Leu Ala Cys Gly Trp Cys Pro Gly Leu His Val Pro Pro Leu Ser
 35 40 45
 ccc tcc tct tgg act cca gcc atg ggc ctg cgc gcg agc cgg aac tgc 432
 Pro Ser Ser Trp Thr Pro Ala Met Gly Leu Arg Ala Ser Arg Asn Cys
 50 55 60
 tcc agg aca gag aac gcc gtg tgt ggc tgc agc cca ggc cac ttc tgc 480
 Ser Arg Thr Glu Asn Ala Val Cys Gly Cys Ser Pro Gly His Phe Cys
 65 70 75
 atc gtc cag gac ggg gac cac tgc gcc gcg tgc cgc gct tac gcc acc 528
 Ile Val Gln Asp Gly Asp His Cys Ala Ala Cys Arg Ala Tyr Ala Thr
 80 85 90
 tcc agc ccg ggc cag agg gtg cag aag gga ggc acc gag agt cag gac 576
 Ser Ser Pro Gly Gln Arg Val Gln Lys Gly Gly Thr Glu Ser Gln Asp
 95 100 105 110
 acc ctg tgt cag aac tgc ccc cgg gga cct tct ctg cca atg gga ccc 624
 Thr Leu Cys Gln Asn Cys Pro Arg Gly Pro Ser Leu Pro Met Gly Pro
 115 120 125
 tgg agg aat gtc agc acc aga cca agt aag tgaacccggg ggaggccagc 674
 Trp Arg Asn Val Ser Thr Arg Pro Ser Lys
 130 135
 tctgtgccct ggggaggggg ctccacgttg cttccctggg agatgaccgt cttctccagc 734
 agaaagggtg aagggtccac cctgagcggc accctgggtca catgcctgcg tccaggagag 794
 ctgcagggtg aagccttgtt gccccagata accccttcca tgggcccaga caaagcctca 854
 tcagatctga gcttcttgga ggcctcaggat gggccttccc agaagcaggc ccagagggag 914
 gctgcctoca gatccctgt ccctggggc tgtgggtgtc cctgaatgtc agggccatgg 974
 gagggccctt gggcttcagg ggttggggaa agtgaacact ctgctctttg tccaccttcg 1034

ggaggacaac cttcaaatgc tgaccctggg cccctaactg acctgagact tcagagcttc 1094
ttgggaggag ctgggggtccc ccagcggagc ctgggatgga gcagggatgg ctgccccagg 1154
gagggggcgg tggggccttc catcctgctc tgccctcctc gtcctctggc ccagctcag 1214
tcctgtccat ctccagctct aaccatttgt ggcccgacac tggctctccc totacctct 1274
gtccttgtct gacactggtc tcccgctgctc tggggtctct gcactgatgg ctgcctcccg 1334
cttctctccc ctctccctct gccgtcctgt ctctgtggc cagtctctcc ttgtttctct 1394
tctctcctt ccttctctcc acctcccat agccgagctt ggaaaagtca gacagacctc 1454
tgaggtctca tcctggagct gccaccagcc cagcctccct gggacctgtc ttcactgcct 1514
ggggccctgg gagccaggga ggctccctga ggctgagtga aactggggc ctgcacctgc 1574
ctctcccagc tcctcggccc cactcccgca ggtgcagctg gctggtgacg aagcccgag 1634
ctgggaccag cagctccac tgggtatggg gggttctctc agggagcctc gtcactgtca 1694
ttgtttgctc cacagttggc ctaatcatat gtgtgaaaag aagaaagcca aggggtgatg 1754
tagtcaaggt gatcgtctcc gtccaggtat tgatcctcct cccctctcc ctccccctc 1814
caccttccc cctccctct ccccgctggg gctggtgttt ctggtgtaca tgggtggggc 1874
tcccagttct ctgagggctc tgagtcttcc aagtacagcc acggtagctc aggaaagaac 1934
ccacccccctc aaactgaaag cagtaaaatg aacccgagaa cctggagtcc cagggggggc 1994
tgagcaggca gggctctccac gattcgtgtg ctacacagcg gaaaagacag gaggcagaag 2054
gtgaggccac agtcattgag gccctgcagg cccctccgga cgtcaccacg gtggccgtgg 2114
aggagacaat accctcatc acgggggagg agcccaaacc actgaccac agactctgca 2174
ccccgacgcc agagatacct ggagcgacgg ctgctgaaag aggctgtcca cctggcgaaa 2234
ccaccggagc ccggagggtt gggggctccg ccctgggctg gtttccgtct cctccagtgg 2294
agggagaggt ggggcccctg ctggggtaga gctggggacg ccacgtgcca ttcccatggg 2354
ccagtgaggg cctggggcct ctgttctgct gtggcctgag ctcccagag tcctgaggag 2414
gagcgccagt tgcccctgc tcacagacca cacaccagc cctcctgggt ccagcccaga 2474
gggcccctca gacccagct gtctgcgct ctgactctg tggcctcagc aggacaggcc 2534
ccgggcactg ccttcaagcc aaggtggac tgggttggt gcagtgtgt gtttagtgga 2594

taccacatcg gaagtgattt tctaaattgg atttgaaaaa aaa

2637

<210> 8
<211> 136
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 8
Met Leu Gly Thr Ser Gly His Leu Val Trp Leu Ser Gln Gly Phe Ser
1 5 10 15
Leu Ala Gly Arg Pro Gly Ser Ser Pro Trp Pro Val Asp Ala Val Leu
20 25 30
Ala Cys Gly Trp Cys Pro Gly Leu His Val Pro Pro Leu Ser Pro Ser
35 40 45
Ser Trp Thr Pro Ala Met Gly Leu Arg Ala Ser Arg Asn Cys Ser Arg
50 55 60
Thr Glu Asn Ala Val Cys Gly Cys Ser Pro Gly His Phe Cys Ile Val
65 70 75 80
Gln Asp Gly Asp His Cys Ala Ala Cys Arg Ala Tyr Ala Thr Ser Ser
85 90 95
Pro Gly Gln Arg Val Gln Lys Gly Gly Thr Glu Ser Gln Asp Thr Leu
100 105 110
Cys Gln Asn Cys Pro Arg Gly Pro Ser Leu Pro Met Gly Pro Trp Arg
115 120 125
Asn Val Ser Thr Arg Pro Ser Lys
130 135

<210> 9
<211> 198
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 9
Met Ala Pro Val Ala Val Trp Ala Ala Leu Ala Val Gly Leu Glu Leu
1 5 10 15
Trp Ala Ala Ala His Ala Leu Pro Ala Gln Val Ala Phe Thr Pro Tyr
20 25 30
Ala Pro Glu Pro Gly Ser Thr Cys Arg Leu Arg Glu Tyr Tyr Asp Gln
35 40 45

Thr Ala Gln Met Cys Cys Ser Lys Cys Ser Pro Gly Gln His Ala Lys
 50 55 60
 Val Phe Cys Thr Lys Thr Ser Asp Thr Val Cys Asp Ser Cys Glu Asp
 65 70 75 80
 Ser Thr Tyr Thr Gln Leu Trp Asn Trp Val Pro Glu Cys Leu Ser Cys
 85 90 95
 Gly Ser Arg Cys Ser Ser Asp Gln Val Glu Thr Gln Ala Cys Thr Arg
 100 105 110
 Glu Gln Asn Arg Ile Cys Thr Cys Arg Pro Gly Trp Tyr Cys Ala Leu
 115 120 125
 Ser Lys Gln Glu Gly Cys Arg Leu Cys Ala Pro Leu Arg Lys Cys Arg
 130 135 140
 Pro Gly Phe Gly Val Ala Arg Pro Gly Thr Glu Thr Ser Asp Val Val
 145 150 155 160
 Cys Lys Pro Cys Ala Pro Gly Thr Phe Ser Asn Thr Thr Ser Ser Thr
 165 170 175
 Asp Ile Cys Arg Pro His Gln Ile Cys Asn Val Val Ala Ile Pro Gly
 180 185 190
 Asn Ala Ser Met Asp Ala
 195

<210> 10
 <211> 154
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 10
 Val Cys Pro Gln Gly Lys Tyr Ile His Pro Gln Asn Asn Ser Ile Cys
 1 5 10 15
 Cys Thr Lys Cys His Lys Gly Thr Tyr Leu Tyr Asn Asp Cys Pro Gly
 20 25 30
 Pro Gly Gln Asp Thr Asp Cys Arg Glu Cys Glu Ser Gly Ser Phe Thr
 35 40 45
 Ala Ser Glu Asn His Leu Arg His Cys Leu Ser Cys Ser Lys Cys Arg
 50 55 60
 Lys Glu Met Gly Gln Val Glu Ile Ser Ser Cys Thr Val Asp Arg Asp
 65 70 75 80

Thr Val Cys Gly Cys Arg Lys Asn Gln Tyr Arg His Tyr Trp Ser Glu
 85 90 95
 Asn Leu Phe Gln Cys Phe Asn Cys Ser Leu Cys Leu Asn Gly Thr Val
 100 105 110
 His Leu Ser Cys Gln Glu Lys Gln Asn Thr Val Cys Thr Cys His Ala
 115 120 125
 Gly Phe Phe Leu Arg Glu Asn Glu Cys Val Ser Cys Ser Asn Cys Lys
 130 135 140
 Lys Ser Leu Glu Cys Thr Lys Leu Cys Leu
 145 150

 <210> 11
 <211> 163
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

 <400> 11
 Thr Cys Arg Leu Arg Glu Tyr Tyr Asp Gln Thr Ala Gln Met Cys Cys
 1 5 10 15
 Ser Lys Cys Ser Pro Gly Gln His Ala Lys Val Phe Cys Thr Lys Thr
 20 25 30
 Ser Asp Thr Val Cys Asp Ser Cys Glu Asp Ser Thr Tyr Thr Gln Leu
 35 40 45
 Trp Asn Trp Val Pro Glu Cys Leu Ser Cys Gly Ser Arg Cys Ser Ser
 50 55 60
 Asp Gln Val Glu Thr Gln Ala Cys Thr Arg Glu Gln Asn Arg Ile Cys
 65 70 75 80
 Thr Cys Arg Pro Gly Trp Tyr Cys Ala Leu Ser Lys Gln Glu Gly Cys
 85 90 95
 Arg Leu Cys Ala Pro Leu Arg Lys Cys Arg Pro Gly Phe Gly Val Ala
 100 105 110
 Arg Pro Gly Thr Glu Thr Ser Asp Val Val Cys Lys Pro Cys Ala Pro
 115 120 125
 Gly Thr Phe Ser Asn Thr Thr Ser Ser Thr Asp Ile Cys Arg Pro His
 130 135 140
 Gln Ile Cys Asn Val Val Ala Ile Pro Gly Asn Ala Ser Met Asp Ala
 145 150 155 160

Val Cys Thr

<210> 12
 <211> 163
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 12
 Ala Cys Arg Glu Lys Gln Tyr Leu Ile Asn Ser Gln Cys Cys Ser Leu
 1 5 10 15
 Cys Gln Pro Gly Gln Lys Leu Val Ser Asp Cys Thr Glu Pro Thr Glu
 20 25 30
 Thr Glu Cys Leu Pro Cys Gly Glu Ser Glu Phe Leu Asp Thr Trp Asn
 35 40 45
 Arg Glu Thr His Cys His Gln His Lys Tyr Cys Asp Pro Asn Leu Gly
 50 55 60
 Leu Arg Val Gln Gln Lys Gly Thr Ser Glu Thr Asp Thr Ile Cys Thr
 65 70 75 80
 Cys Glu Glu Gly Trp His Cys Thr Ser Glu Ala Cys Glu Ser Cys Val
 85 90 95
 Leu His Arg Ser Cys Ser Pro Gly Phe Gly Val Lys Gln Ile Ala Thr
 100 105 110
 Gly Val Ser Asp Thr Ile Cys Glu Pro Cys Pro Val Gly Phe Phe Ser
 115 120 125
 Asn Val Ser Ser Ala Phe Glu Lys Cys His Pro Trp Thr Ser Cys Glu
 130 135 140
 Thr Lys Asp Leu Val Val Gln Gln Ala Gly Thr Asn Lys Thr Asp Val
 145 150 155 160
 Val Cys Gly

<210> 13
 <211> 132
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 13
 Cys Ser Asn Cys Pro Ala Gly Thr Phe Cys Asp Asn Asn Arg Asn Gln

1	5	10	15
Ile Cys Ser Pro Cys Pro Pro Asn Ser Phe Ser Ser Ala Gly Gly Gln	20	25	30
Arg Thr Cys Asp Ile Cys Arg Gln Cys Lys Gly Val Phe Arg Thr Arg	35	40	45
Lys Glu Cys Ser Ser Thr Ser Asn Ala Glu Cys Asp Cys Thr Pro Gly	50	55	60
Phe His Cys Leu Gly Ala Gly Cys Ser Met Cys Glu Gln Asp Cys Lys	65	70	75
Gln Gly Gln Glu Leu Thr Lys Lys Gly Cys Lys Asp Cys Cys Phe Gly	85	90	95
Thr Phe Asn Lys Gln Lys Arg Gly Ile Cys Arg Pro Trp Thr Asn Cys	100	105	110
Ser Leu Asp Gly Lys Ser Val Leu Val Asn Gly Thr Lys Glu Arg Asp	115	120	125
Val Val Cys Gly	130		

<210> 14
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 14
 cgcccatggc ccagctctg ccgtcct

27

<210> 15
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 15
 cgcaagctta ttgtgggagc tgctgggtccc

30

<210> 16
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 16
 cgcggtatccc ggagccccct gctac

25

<210> 17
<211> 30
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 17
cgcggtacca ttgtgggagc tgctgggtccc 30

<210> 18
<211> 34
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 18
gcgcgggatcc accatggagc ctctctggaga ctgg 34

<210> 19
<211> 31
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 19
gcgcgggtacc tctaccccag caggggcgcc a 31

<210> 20
<211> 34
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 20
gcgcgggatcc accatggagc ctctctggaga ctgg 34

<210> 21
<211> 58
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 21
gcgctctaga tcaagcgtag tctgggacgt cgtatgggta gtggtttggg ctctctccc 58

<210> 22
<211> 34
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 22
 gcgcggatcc accatggagc ctccctggaga ctgg 34

<210> 23
 <211> 35
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 23
 caggaattcg cagccatgga gcctcctgga gactg 35

<210> 24
 <211> 53
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 24
 ccataccag gtaccccttc cctcgataga tcttgcccttc gtcaccagcc agc 53

<210> 25
 <211> 881
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> CDS
 <222> (9)..(857)

<220>
 <221> sig_peptide
 <222> (9)..(122)

<220>
 <221> mat_peptide
 <222> (123)..(857)

<400> 25
 cctgaggc atg gag cct cct gga gac tgg ggg cct cct ccc tgg aga tcc 50
 Met Glu Pro Pro Gly Asp Trp Gly Pro Pro Pro Trp Arg Ser
 -35 -30 -25

acc ccc aga acc gac gtc ttg agg ctg gtg ctg tat ctc acc ttc ctg 98
 Thr Pro Arg Thr Asp Val Leu Arg Leu Val Leu Tyr Leu Thr Phe Leu
 -20 -15 -10

gga gcc ccc tgc tac gcc cca gct ctg ccg tcc tgc aag gag gac gag 146
 Gly Ala Pro Cys Tyr Ala Pro Ala Leu Pro Ser Cys Lys Glu Asp Glu
 -5 -1 1 5

tac cca gtg ggc tcc gag tgc tgc ccc aag tgc agt cca ggt tat cgt 194
 Tyr Pro Val Gly Ser Glu Cys Cys Pro Lys Cys Ser Pro Gly Tyr Arg
 10 15 20

gtg aag gag gcc tgc ggg gag ctg acg ggc aca gtg tgt gaa ccc tgc 242
 Val Lys Glu Ala Cys Gly Glu Leu Thr Gly Thr Val Cys Glu Pro Cys

25	30										35					40					
cct cca ggc acc tac att gcc cac ctc aat ggc cta agc aag tgt ctg	Pro Pro Gly Thr Tyr 45	Ile Ala His Leu Asn 50	Gly Leu Ser Lys Cys 55	Leu	290																
cag tgc caa atg tgt gac cca gcc atg ggc ctg cgc gcg agc cgg aac	Gln Cys Gln Met Cys Asp 60	Pro Ala Met 65	Gly Leu Arg Ala Ser 70	Arg Asn	338																
tgc tcc agg aca gag aac gcc gtg tgt ggt tgc agc cca ggc cac ttc	Cys Ser Arg Thr Glu Asn Ala Val Cys Gly Cys Ser 85	Pro Gly His Phe		386																	
tgc atc gtc cag gac ggg gac cac tgc gcc gcg tgc cgc gct tac gcc	Cys Ile Val Gln Asp Gly Asp 95	His Cys Ala Ala Cys Arg Ala Tyr Ala		434																	
acc tcc agc ccg ggc cag agg gtg cag aag gga ggc acc gag agt cag	Thr Ser Ser Pro Gly Gln Arg Val Gln Lys Gly Gly Thr Glu Ser Gln 105			482																	
gac acc ctg tgt cag aac tgc ccc ccg ggg acc ttc tct ccc aat ggg	Asp Thr Leu Cys Gln Asn Cys Pro Pro Gly Thr Phe Ser Pro Asn Gly 125			530																	
acc ctg gag gaa tgt cag cac cag acc aag tgc agc tgg ctg gtg acg	Thr Leu Glu Glu Cys Gln His Gln Thr Lys Cys Ser Trp Leu Val Thr 140			578																	
aag gcc gga gct ggg acc agc agc tcc cac tgg gta tgg tgg ttt ctc	Lys Ala Gly Ala Gly Thr Ser Ser Ser His Trp Val Trp Trp Phe Leu 155			626																	
tca ggg agc ctc gtc atc gtc att gtt tgc tcc aca gtt ggc cta atc	Ser Gly Ser Leu Val Ile Val Ile Val Cys Ser Thr Val Gly Leu Ile 170			674																	
ata tgt gtg aaa aga aga aag cca agg ggt gat gta gtc aag gtg atc	Ile Cys Val Lys Arg Arg Lys Pro Arg Gly Asp Val Val Lys Val Ile 185			722																	
gtc tcc gtc cag ccg aaa aga cag gag gca gaa ggt gag gcc aca gtc	Val Ser Val Gln Arg Lys Arg Gln Glu Ala Glu Gly Glu Ala Thr Val 205			770																	
att gag gcc ctg cag gcc cct ccg gac gtc acc acg gtg gcc gtg gag	Ile Glu Ala Leu Gln Ala Pro Pro Asp Val Thr Thr Val Ala Val Glu 220			818																	
gag aca ata ccc tca ttc acg ggg agg agc cca aac cac tgacccacag	Glu Thr Ile Pro Ser Phe Thr Gly Arg Ser Pro Asn His 235			867																	
actctgcacc ccga				881																	

<210> 26
 <211> 283
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

```

<400> 26
Met Glu Pro Pro Gly Asp Trp Gly Pro Pro Pro Trp Arg Ser Thr Pro
      -35                      -30                      -25

Arg Thr Asp Val Leu Arg Leu Val Leu Tyr Leu Thr Phe Leu Gly Ala
      -20                      -15                      -10

Pro Cys Tyr Ala Pro Ala Leu Pro Ser Cys Lys Glu Asp Glu Tyr Pro
      -5                      -1    1                      5                      10

Val Gly Ser Glu Cys Cys Pro Lys Cys Ser Pro Gly Tyr Arg Val Lys
                      15                      20                      25

Glu Ala Cys Gly Glu Leu Thr Gly Thr Val Cys Glu Pro Cys Pro Pro
                      30                      35                      40

Gly Thr Tyr Ile Ala His Leu Asn Gly Leu Ser Lys Cys Leu Gln Cys
      45                      50                      55

Gln Met Cys Asp Pro Ala Met Gly Leu Arg Ala Ser Arg Asn Cys Ser
      60                      65                      70

Arg Thr Glu Asn Ala Val Cys Gly Cys Ser Pro Gly His Phe Cys Ile
      75                      80                      85                      90

Val Gln Asp Gly Asp His Cys Ala Ala Cys Arg Ala Tyr Ala Thr Ser
                      95                      100                      105

Ser Pro Gly Gln Arg Val Gln Lys Gly Gly Thr Glu Ser Gln Asp Thr
      110                      115                      120

Leu Cys Gln Asn Cys Pro Pro Gly Thr Phe Ser Pro Asn Gly Thr Leu
      125                      130                      135

Glu Glu Cys Gln His Gln Thr Lys Cys Ser Trp Leu Val Thr Lys Ala
      140                      145                      150

Gly Ala Gly Thr Ser Ser Ser His Trp Val Trp Trp Phe Leu Ser Gly
      155                      160                      165                      170

Ser Leu Val Ile Val Ile Val Cys Ser Thr Val Gly Leu Ile Ile Cys
      175                      180                      185

Val Lys Arg Arg Lys Pro Arg Gly Asp Val Val Lys Val Ile Val Ser
      190                      195                      200

Val Gln Arg Lys Arg Gln Glu Ala Glu Gly Glu Ala Thr Val Ile Gln
      205                      210                      215

Ala Leu Gln Ala Pro Pro Asp Val Thr Thr Val Ala Val Glu Glu Thr
      220                      225                      230

Ile Pro Ser Phe Thr Gly Arg Ser Pro Asn His
      235                      240                      245

```

【図面の簡単な説明】

【図1A】

図1A～図1Bは、TR2レセプターのヌクレオチド配列（配列番号1）および推定アミノ酸配列（配列番号2）を示す。このタンパク質は、約36アミノ酸残基の推定リーダー配列（下線部）（配列番号2のアミノ酸残基－36～－1）および約30,417kDaの推定分子量を有する。アミノ酸残基約37～約200（配列番号2のアミノ酸残基1～164）は、細胞外ドメインを構成し；約

201～約225（配列番号2のアミノ酸残基165～189）は膜貫通ドメイン（下線部）を構成し；そして約226～約283（配列番号2のアミノ酸残基190～247）は細胞内ドメインを構成する。2つの潜在的なアスパラギン結合グリコシル化部位は、アミノ酸110位と173位（配列番号2のアミノ酸74位～137位）に位置する。

【図1B】

図1A～図1Bは、TR2レセプターのヌクレオチド配列（配列番号1）および推定アミノ酸配列（配列番号2）を示す。このタンパク質は、約36アミノ酸残基の推定リーダー配列（下線部）（配列番号2の－35～－1）および約30,417の推定分子量を有する。アミノ酸残基約37～約200（配列番号2のアミノ酸残基1～164）は、細胞外ドメインを構成し；約201～約225（配列番号2のアミノ酸残基165～189）は膜貫通ドメイン（下線部）を構成し；そして約226～約283（配列番号2のアミノ酸残基190～247）は細胞内ドメインを構成する。2つの潜在的なアスパラギン結合グリコシル化部位は、アミノ酸110位と173位（配列番号2のアミノ酸74位～137位）に位置する。

【図2】

図2は、図1A～図1BのTR2レセプタータンパク質のアミノ酸配列およびマウスCD40タンパク質（配列番号3）のアミノ酸配列の間の類似性の領域を示す。

【図3】

図3は、図1A～図1BのTR2レセプターのアミノ酸配列の分析を示す。α領域、β領域、ターン領域、およびコイル領域；親水性および疎水性；両親媒性領域；可撓性領域；抗原性指標および表面確率を示す。「抗原性指標－Jameson-Wolf」グラフにおいて、図1A～図1Bのアミノ酸残基39～70、106～120、142～189、および276～283（配列番号2のアミノ酸残基3～34、70～84、106～153、および240～247）は、TR2レセプタータンパク質の示される高抗原性領域に一致する。

【図4A】

図4A～図4Cは、TR2-SV1レセプターのヌクレオチド配列（配列番号4）および推定アミノ酸配列（配列番号5）を示す。このタンパク質は、約36アミノ酸残基の推定リーダー配列（下線部）（配列番号5のアミノ酸残基-36～-1）および約19.5kDaの推定分子量を有する。

【図4B】

図4A～図4Cは、TR2-SV1レセプターのヌクレオチド配列（配列番号4）および推定アミノ酸配列（配列番号5）を示す。このタンパク質は、約36アミノ酸残基の推定リーダー配列（下線部）（配列番号5のアミノ酸残基-36～-1）および約19.5kDaの推定分子量を有する。

【図4C】

図4A～図4Cは、TR2-SV1レセプターのヌクレオチド配列（配列番号4）および推定アミノ酸配列（配列番号5）を示す。このタンパク質は、約36アミノ酸残基の推定リーダー配列（下線部）（配列番号5のアミノ酸残基-36～-1）および約19.5kDaの推定分子量を有する。

【図5】

図5は、全長TR2-SV1レセプタータンパク質のアミノ酸配列とヒト2型TNFレセプターのアミノ酸配列（配列番号6）との間の類似性領域を示す。

【図6】

図6は、TR2-SV1レセプターのアミノ酸配列の分析を示す。α領域、β領域、ターン領域、およびコイル領域；親水性および疎水性；両親媒性領域；可撓性領域；抗原性指標および表面確率を示す。「抗原性指標-Jameson-Wolf」グラフにおいて、図4A～図4Cのアミノ酸残基39～70、99～136、および171～185（配列番号5のアミノ酸残基3～34、63～100、および135～149）は、TR2-SV1レセプタータンパク質の示される高抗原性領域に一致する。

【図7A】

図7A～図7Cは、TR2-SV2レセプターのヌクレオチド配列（配列番号7）および推定アミノ酸配列（配列番号8）を示す。このタンパク質は、推定リーダー配列を欠き、そして約14kDaの推定分子量を有する。

【図7B】

図7A～図7Cは、TR2-SV2レセプターのヌクレオチド配列（配列番号7）および推定アミノ酸配列（配列番号8）を示す。このタンパク質は、推定リーダー配列を欠き、そして約14kDaの推定分子量を有する。

【図7C】

図7A～図7Cは、TR2-SV2レセプターのヌクレオチド配列（配列番号7）および推定アミノ酸配列（配列番号8）を示す。このタンパク質は、推定リーダー配列を欠き、そして約14kDaの推定分子量を有する。

【図8】

図8は、TR2-SV2レセプタータンパク質のアミノ酸配列とヒト2型TNFレセプターのアミノ酸配列（配列番号9）との間の類似性領域を示す。

【図9】

図9は、TR2-SV2レセプターのアミノ酸配列の分析を示す。α領域、β領域、ターン領域、およびコイル領域；親水性および疎水性；両親媒性領域；可撓性領域；抗原性指標および表面確率を示す。「抗原性指標-Jameson-Wolf」グラフにおいて、図7A～図7C（配列番号8）のアミノ酸残基56～68および93～136は、TR2-SV2レセプタータンパク質の示される高抗原性領域に一致する。

【図10】

図10は、図1A～図1BのTR2レセプタータンパク質のアミノ酸配列と図4A～図4CのTR2-SV1レセプタータンパク質のアミノ酸配列との間の類似性領域を示す。

【図11】

図11は、図1A～図1BのTR2レセプタータンパク質のアミノ酸配列と図7A～図7CのTR2-SV2レセプタータンパク質のアミノ酸配列との間の類似性領域を示す。

【図12】

図12は、TR2-SV1レセプタータンパク質のアミノ酸配列とTR2-SV2レセプタータンパク質のアミノ酸配列との間の類似性領域を示す。

【図13A】

図13A～図13Dは、図1A～図1BのTR2レセプタータンパク質をコードするヌクレオチド配列と図4A～図4CのTR2-SV1レセプタータンパク質をコードするヌクレオチド配列との間の類似性領域を示す。

【図13B】

図13A～図13Dは、図1A～図1BのTR2レセプタータンパク質をコードするヌクレオチド配列と図4A～図4CのTR2-SV1レセプタータンパク質をコードするヌクレオチド配列との間の類似性領域を示す。

【図13C】

図13A～図13Dは、図1A～図1BのTR2レセプタータンパク質をコードするヌクレオチド配列と図4A～図4CのTR2-SV1レセプタータンパク質をコードするヌクレオチド配列との間の類似性領域を示す。

【図13D】

図13A～図13Dは、図1A～図1BのTR2レセプタータンパク質をコードするヌクレオチド配列と図4A～図4CのTR2-SV1レセプタータンパク質をコードするヌクレオチド配列との間の類似性領域を示す。

【図14A】

図14A～図14Dは、図1A～図1BのTR2レセプタータンパク質をコードするヌクレオチド配列と図7A～図7CのTR2-SV2レセプタータンパク質をコードするヌクレオチド配列との間の類似性領域を示す。

【図14B】

図14A～図14Dは、図1A～図1BのTR2レセプタータンパク質をコードするヌクレオチド配列と図7A～図7CのTR2-SV2レセプタータンパク質をコードするヌクレオチド配列との間の類似性領域を示す。

【図14C】

図14A～図14Dは、図1A～図1BのTR2レセプタータンパク質をコードするヌクレオチド配列と図7A～図7CのTR2-SV2レセプタータンパク質をコードするヌクレオチド配列との間の類似性領域を示す。

【図14D】

図14A～図14Dは、図1A～図1BのTR2レセプタータンパク質をコードするヌクレオチド配列と図7A～図7CのTR2-SV2レセプタータンパク質をコードするヌクレオチド配列との間の類似性領域を示す。

【図15A】

図15A～図15Fは、TR2-SV1レセプタータンパク質をコードするヌクレオチド配列とTR2-SV2レセプタータンパク質をコードするヌクレオチド配列との間の類似性領域を示す。

【図15B】

図15A～図15Fは、TR2-SV1レセプタータンパク質をコードするヌクレオチド配列とTR2-SV2レセプタータンパク質をコードするヌクレオチド配列との間の類似性領域を示す。

【図15C】

図15A～図15Fは、TR2-SV1レセプタータンパク質をコードするヌクレオチド配列とTR2-SV2レセプタータンパク質をコードするヌクレオチド配列との間の類似性領域を示す。

【図15D】

図15A～図15Fは、TR2-SV1レセプタータンパク質をコードするヌクレオチド配列とTR2-SV2レセプタータンパク質をコードするヌクレオチド配列との間の類似性領域を示す。

【図15E】

図15A～図15Fは、TR2-SV1レセプタータンパク質をコードするヌクレオチド配列とTR2-SV2レセプタータンパク質をコードするヌクレオチド配列との間の類似性領域を示す。

【図15F】

図15A～図15Fは、TR2-SV1レセプタータンパク質をコードするヌクレオチド配列とTR2-SV2レセプタータンパク質をコードするヌクレオチド配列との間の類似性領域を示す。

【図16】

図16は、図1A～図1B（配列番号2）のTR2レセプターのアミノ酸配列

の、他のTNFRファミリーメンバーとのアラインメントを示す。TR2のアミノ酸配列は、TNFR-I（配列番号10）、TNFR-II（配列番号11）、CD40（配列番号12）、および4-1BB（配列番号13）のアミノ酸配列と、配列相同性および保存性システイン残基に基づいて整列された。システイン反復領域は、配列番号2のアミノ酸残基5～40、41～84、85～127、および128～166によって規定され、それぞれシステイン反復領域A～Dと呼ばれる。

【図17】

図17は、TR2のB細胞インビトロ増殖に対する効果を示す。Bリンパ球を、免疫磁気選択によってヒト扁桃から精製した。細胞を72時間培養し、続いて、10%FBS、4mM β -グルタミン、 5×10^{-5} M 2ME、100U/ml ペニシリン、100 μ g/ml ストレプトマイシン、および示された因子を添加したRPMI 1640培地中で24時間、 3 Hチミジンパルスした。

【図1A】

10 30 50
 GCACGAGCTGCCTCCCGCAGGCGCCACCTGTGTCCCCAGCGCGCTCCACCCAGCAGGC
 70 90 110
 CTGAGCCCCCTCTCTGCTGCCAGACACCCCTGCTGCCCACTCTCCTGCTGCTCGGGTTCT
 130 150 170
 GAGGCACAGCTTGTACACCGAGGCGGATTCTCTTTCTCTTTCTCTTTCTCTTGCCCC
 190 210 230
 ACAGCCGCAGCAATGGCGCTGAGTTCCTCTGCTGGAGTTCATCCTGCTAGCTGGGTTCCC
 250 270 290
 GAGCTGCCGGTCTGAGCCTGAGGCATGGAGCCTCCTGGAGACTGGGGGCCTCCTCCCTGG
 M E P P G D W G P P P W
 310 330 350
 AGATCCACCCCCAAAACCGACGTCTTGAGGCTGGTGTGTATCTCACCTTCCTGGGAGCC
 R S T P K T D V L R L V L Y L T F L G A
 370 390 410
 CCCTGCTACGCCCCAGCTCTGCCGTCTGCAAGGAGGACGAGTACCCAGTGGGCTCCGAG
 P C Y A P A L P S C K E D E Y P V G S E
 430 450 470
 TGCTGCCCCAAGTGCAGTCCAGGTTATCGTGTGAAGGAGGCCTGCGGGGAGCTGACGGGC
 C C P K C S P G Y R V K E A C G E L T G
 490 510 530
 ACAGTGTGTGAACCCTGCCCTCCAGGCACCTACATTGCCACCTCAATGGCCTAAGCAAG
 T V C E P C P P G T Y I A H L N G L S K
 550 570 590
 TGTCTGCAGTGCCAAATGTGTGACCCAGCCATGGGCCTGCGCGGAGCCGGAAGTCTCC
 C L Q C Q M C D P A M G L R A S R N C S
 610 630 650
 AGGACAGAGAACGCCGTGTGTGGTTGCAGCCCAGGCCACTTCTGCATCGTCCAGGACGGG
 R T E N A V C G C S P G H F C I V Q D G
 670 690 710
 GACCACTGCGCCGCGTGGCGGCTTACGCCACCTCCAGCCCGGGCCAGAGGGTGCAGAAG
 D H C A A C R A Y A T S S P G Q R V Q K
 730 750 770
 GGAGGCACCGAGAGTCAGGACACCCTGTGTGAGAACTGCCCCCGGGGACCTTCTCTCCC
 G G T E S Q D T L C Q N C P P G T F S P
 790 810 830
 AATGGGACCCTGGAGGAATGTCAGCACCAGACCAAGTGCAGCTGGCTGGTGACGAAGGCC
 N G T L E E C Q H Q T K C S W L V T K A
 850 870 890
 GGAGCTGGGACCAGCAGCTCCCACTGGGTATGGTGGTTTCTCTCAGGGAGCCTCGTCATC
 G A G T S S S H W V W W F L S G S L V I

FIG.1A

【図1B】

```

          910          930          950
GTCATTGTTTGCTCCACAGTTGGCCTAATCATATGTGTGAAAAGAAGAAAGCCAAGGGGT
V I V C S T V G L I I C V K R R K P R G
          970          990          1010
GATGTAGTCAAGGTGATCGTCTCCGTCCAGCGGAAAAGACAGGAGGCAGAAGGTGAGGCC
D V V K V I V S V Q R K R Q E A E G E A
          1030          1050          1070
ACAGTCATTGAGGCCCTGCAGGCCCTCCGGACGTCACACGGTGGCCGTGGAGGAGACA
T V I E A L Q A P P D V T T V A V E E T
          1090          1110          1130
ATACCCTCATTACGGGGAGGAGCCCAAACCACTGACCCACAGACTCTGCACCCCGACGC
I P S F T G R S P N H *
          1150          1170          1190
CAGAGATACCTGGAGCGACGGCTGAATGAAAGAGGCTGTCCACCTGGCGGAACACCGGA
          1210          1230          1250
GCCCCGAGGCTTGGGGGCTCCACCCTGGACTGGCTTCCGTCTCCTCCAGTGGAGGGAGAG
          1270          1290          1310
GTGGCGCCCTGCTGGGGTAGAGCTGGGGACGCCACGTGCCATTCCCATGGGCCAGTGAG
          1330          1350          1370
GGCCTGGGGCCTCTGTTCTGCTGTGGCCTGAGCTCCCCAGAGTCTGAGGAGGAGCGCCA
          1390          1410          1430
GTTGCCCCTCGCTCACAGACCACACCCAGCCCTCCTGGGCCAACCCAGAGGGCCTTCA
          1450          1470          1490
GACCCAGCTGTGTGCGGTCTGACTCTTGTGGCCTCAGCAGGACAGGCCCCGGGCACTG
          1510          1530          1550
CCTCACAGCCAAGGCTGGACTGGGTTGGCTGCAGTGTGGTGTGTTAGTGGATACCACATCG
          1570          1590          1610
GAAGTGATTTTCTAAATTGGATTTGAATTCGGCTCCTGTTTTCTATTTGTCATGAAACAG
          1630          1650          1670
TGTATTTGGGGAGATGCTGTGGGAGGATGTAAATATCTTGTCTCTCTCAAAAAAAAAA
          1690
AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

```

FIG.1B

【図2】

類似性パーセント 46.591 同一性パーセント : 28.788

```

1  MEPPGDWGPWPWRSTPKTDVLRVLVLYLTFLGAPCYAPALPSCKEDEYPVG  50
      ...: ||. ... | .... .. ..|.:.:| :
1  .....MVSLPRLCALWGCLLTAVHLGQCVTCS DKQYLHD  34

51  SECCPKCSPGYRVKEACGELTGTVCEPCPPGT YIAHLNGLSKCLQCQMCD  100
      ::||. | || |:. |..| | |. ||..|.: |.:| :| | . |:
35  GQCCDLCQPGSRLTSHCTALEKTQCHPCDSGEFSAQWNREIRCHQHRHCE  84

101 PAMGLRASRNC SRTE NAVCGCSPGHFCIVQGDHCAACRAYATSSPGQRV  150
      |. |||. :.:.. ...: ||. |..|: |. .| |. || ...: || |
85  PNQGLRVKKEGTAESDTVCTCKEGQHCTSKD...CEACAQHTPCIPGFGV  131

151 QKGGTESQDTLCQNCPPGTFSPNGTL.EECQHQT KC.SWLVT KAGAGTSS  198
      . :||. ||:|: ||. | || .:| |. | . |. | .. :. . |||
132 MEMATETTDTVCHPCPCGFFSNQSSLF EKCYPNTSCEDKNLEVLQKGTSQ  181

199 SH.....WWWFLSGSLVIVIVCSTVGLIICVKR..RKPRGDVVKVIV  239
      .: ..... :| :.:|:|:....|:|:|:|: :||:|:|: :. .
182 TNVICGLKSRMRALLVIPVVMGILITIFGVFLYIKKVVKKPKDNEMLPPA  231

240 SVQQRKQEAEG.....EATVIEALQAPPDVTTVAVEETIPSFTGRSPNH  283
      . ....|| |: .|. |. |:....|| ...|. |. :| ...
232 ARRQDPQEMEDYPGHNTAAPVQETLHGCQPVTQEDGKESRISVQERQVTD  281

```

FIG.2

【図4A】

```

      10              30              50
CCCCCTTCTACAGGAAACCGGAGTGGACTGGAACGGTGCAGGGGGAGAACTCGCCCTC
      70              90              110
CCATCGGGCGCCTCCTTCATACCGGCCCTTCCCCTCGGCTTTGCCTGGACAGCTCCTGCC
      130             150             170
TCAGGCAGCGCCACCTGTGTGCGCCAGCGCGCTCCACCCAGCAGGCCTGAGCCCTCTC
      190             210             230
TGCTGCCAGACACCCCTGCTGCCCCTACTCCTGCTGCTCGGTTCTGAGGCACAGCTT
      250             270             290
GTCACACCGAGGCGGATTCTCTTTCTTTCTTTCTTTCTTTCTGGCCACAGCCGAGCA
      310             330             350
ATGGCGCTGAGTTCTCTGCTGGAGTTCATCCTGCTAGCTGGGTTCCCGAGCTGCCGGTC
      370             390             410
TGAGCCTGAGTCATGGAGCCTCCTGGAGACTGGGGGCCTCCTCCCTGGAGATCCACCCCC
      430             450             470
AGAACCGACGTCTTGAGGCTGGTGTGTATCTCACCTTCTGGGAGCCCCCTGCTACGCC
      490             510             530
CCAGCTCTGCCGTCTGCAAGGAGGACGAGTACCCAGTGGGCTCCGAGTGTGCCCCAAG
      550             570             590
TGCAGTCCAGGTTATCGTGTGAAGGAGGCCTGCGGGGAGCTGACGGGCACAGTGTGTGAA
      610             630             650
CCCTGCCCTCCAGGCACCTACATTGCCACCTCAATGGCCTAAGCAAGTGTCTGCAGTGC
      670             690             710
CAAATGTGTGACCCAGATATTGGTTCCCCCTGTGACCTCAGGGGAAGAGGTACCTGGAG
      730             750             770
GCTGGTGCCACCTGAGTCCAGGCAGACAGAAAGGGGAACCAGACCCAGAGGTGGCCTTT
      790             810             830
GAGTCACTGAGCGCAGAGCCTGTCCATGCGGCCAACGGCTCTGTCCCCTTGAGCCTCAT
      850             870             890
GCCAGGCTCAGCATGGCCAGTGTCCCTGCGGCCAGGCAGGACTGCACCTGCGGGACAGG
      910             930             950
GCTGACGGCACACCTGGGGGCAGGGCCTGAGCCTACAGGGAGGCACAGGGCAGGTGGGCT
A D G T P G G R A *

```

FIG.4A

【図4B】

970	990	1010
AGCCATGAACAGAAGAGGAAGCTGGAGTGC	TTGGGGGTT	CATGCATGTAGGCTGGGATT
1030	1050	1070
TGGGGCTCACACCTCAACCTGCATGCCAGT	TCCATGCCCTCCCCTCTTGTGAAAGCAC	
1090	1110	1130
CTGTCTACTTGGGCTGAGGATGTGGGGGCACAGGTGGCAGGTGAGGCTGCCCTCAGGAGG		
1150	1170	1190
GGCCCAGGCCCAGCTTGTACCCACCTCCACCAGTACCTGAAGAAGTGGGGCTCTCACCC		
1210	1230	1250
TACCTGCCTCTGCCATTGGAATGGCCTGGTTTGACAGATGGGAAACCCGTTTGAGGGGT		
1270	1290	1310
GGGTGTCTGGGTGGGCACGTGGGGCGAGGACCTGCCTGAGGGACCTGCCCTGGAAGTGA		
1330	1350	1370
CAGTGCAAGCTCGGCGTCTGCCATCTGGGCAGAAGGCTGGTTTCTCCCATCAACGAAG		
1390	1410	1430
CCCTCCAGGACCTTCTGCAAGCCCTCGTCCCACACGCAGCTCTGCCGTCCCTTGGTGT		
1450	1470	1490
CCCTCCCGGCTCAGGTCTCCATGCTGGGTACCTCTGGGCACCTCGTTTGGCTGAGCCA		
1510	1530	1550
GGGGTTCAGCCTGGCAGGGCGCCCTGGCAGCAGTCCTTGGCCTGTGGATGCTGTCTGGC		
1570	1590	1610
CTGTGGATGGTGTCCCGCCCTCCACGTACCCCTCTACCCCTCCTCTTGGACTCCAGCC		
1630	1650	1670
ATGGGCCTGCGCGGAGCCGGAAGTCTCCAGGACAGAGAACGCCGTGTGTGGCTGCAGC		
1690	1710	1730
CCAGGCCACTTCTGCATCGTCCAGGACGGGGACCACTGCGCCGCGTGCCGCGCTTACGCC		
1750	1770	1790
ACCTCCAGCCCGGGCCAGAGGGTGCAGAAGGGAGGCACCGAGAGTCAGGACACCCTGTGT		
1810	1830	1850
CAGAACTGCCCCCGGGGACCTTCTCTCCAATGGGACCCTGGAGGAATGTCAGCACCAG		
1870	1890	1910
ACCAATTGGCCTAATCATATGTGTGAAAAGAAGAAAGCCAAGGGGTGAGCACACGGTGGC		
1930	1950	1970
CCCATCAGGGTTCATGTCCCCAGCGTCACCTCTTGGAGCTCTGTACCCCCAAGCCTGGG		
1990	2010	2030
AGGTGGCCCCAGAGCTTTTCCAGGATCCGCGGCTCCTCCAGGGCAGCCACTGCAGGCTG		
2050	2070	2090
GGGCAGGTGTATGTAGTCAAGGTGATCGTCCGTCCAGCGGTAAAAGACAGGAGGCAGA		
2110	2130	2150
AGGTGAGGCCACAGTCATTGAGCCCTGCAGGCCCTCCGGACGTACCCACGGTGGCCGTG		
2170	2190	2210
GAGGAGACAATACCCTCATTACGGGGAGGAGCCCAAACCACTGACCCACAGACTCTGCA		

【図4C】

2230	2250	2270
CCCCGACGCCAGAGATACCTGGAGAGACGGCTGCTGATAGAGGCTGTCCACCTGGCGAAA		
2290	2310	2330
CCACCGGAGCCCGGAGGCTTGGGGGCTCCGCCCTGGGCTGGTTTCCGTCTCCTCCAGTGG		
2350	2370	2390
AGGGAGAGGTGGTGCCCTGCTGGTGGTAGAGCTGGGGACGCCACGTGCCATTCCCATGG		
2410	2430	2450
TTCAGTGAGGGGCTGGTGGCCTCTGTTCTGCTGTGGCCTGAGCTCCCCAGAGTCCTGAGG		
2470	2490	2510
AGGAGCCCCAGTTGCCCTCGCTCACAGACCACACCCCAGCCCTCCTGGGCCAACCCAG		
2530	2550	2570
AGGCCCTTCAGACCCAGCTGTCTGCGCGTCTGACTCTTGTGGCCTCAGCAGGACAGGC		
2590	2610	2630
CCCGGGCACTGCCTCACAGCCAAGGCTGGAATGGGTTGGCTGCAGTGTGGTGTGTTAGTGG		
2650	2670	2690
ATACCACATCGGAAGTGATTTTCTAAAAATTGGATTTGAATTCGGAAAAAAA		

FIG.4C

【図5】

類似性パーセント : 47.541 同一性パーセント : 24.590

```

1  MEPPGDWGPPPWRSTPRTDVLRLVLYLTFLGAPCYAPALPSCKEDEY..P  48
   |.|.:|::: .:.. |. :.| .|: ::. :.|: || .
1  MAPVAVWAALAVGLELWAAHALPAQVAF..TPYAPEPGSTCRLREYYDQ  48

49  VGSECCPKCSPGYRVKEACGELTGTVCEPCPPGTYYIAHLNGLSKCLQCOM  98
   .: ||.||||| :.| |.. :|||:|. |:| ||.. :| :..|| |.
49  TAQMCCSKCSPGQHAKVFCTKTSDTVCDSCEDSTYTQLWNWVPECLSCGS  98

99  ..CDPDIGSPCDLRGRGHL.....EAGAHLSPGRQKGEPDPE  133
   :..... |:.. :.|:|:.. .|. |: :
99  RCSSDQVETQACTREQNRICTRPGWYCALSKQEGCRLCAPLRKCRPGFG  148

134  VA.....FESLSAEPVHAANGS  150
   || :.: | |.:|. :.
149  VARPGTETSDVVCKPCAPGTFSNTTSSTDICRPHQICNVVAIPGNASMDA  198

151  VPLEPHARLSMASAPC..GQAGLHLRDRADGTPGGRA.....  185
   |. .: |||:.. .|:. :.:..| |:..
199  VCTSTSPTRSMAPGAVHLPQPVSTRSQHTQPTPEPSTAPSTSFLLPMGPS  248

```

FIG.5

【図6】

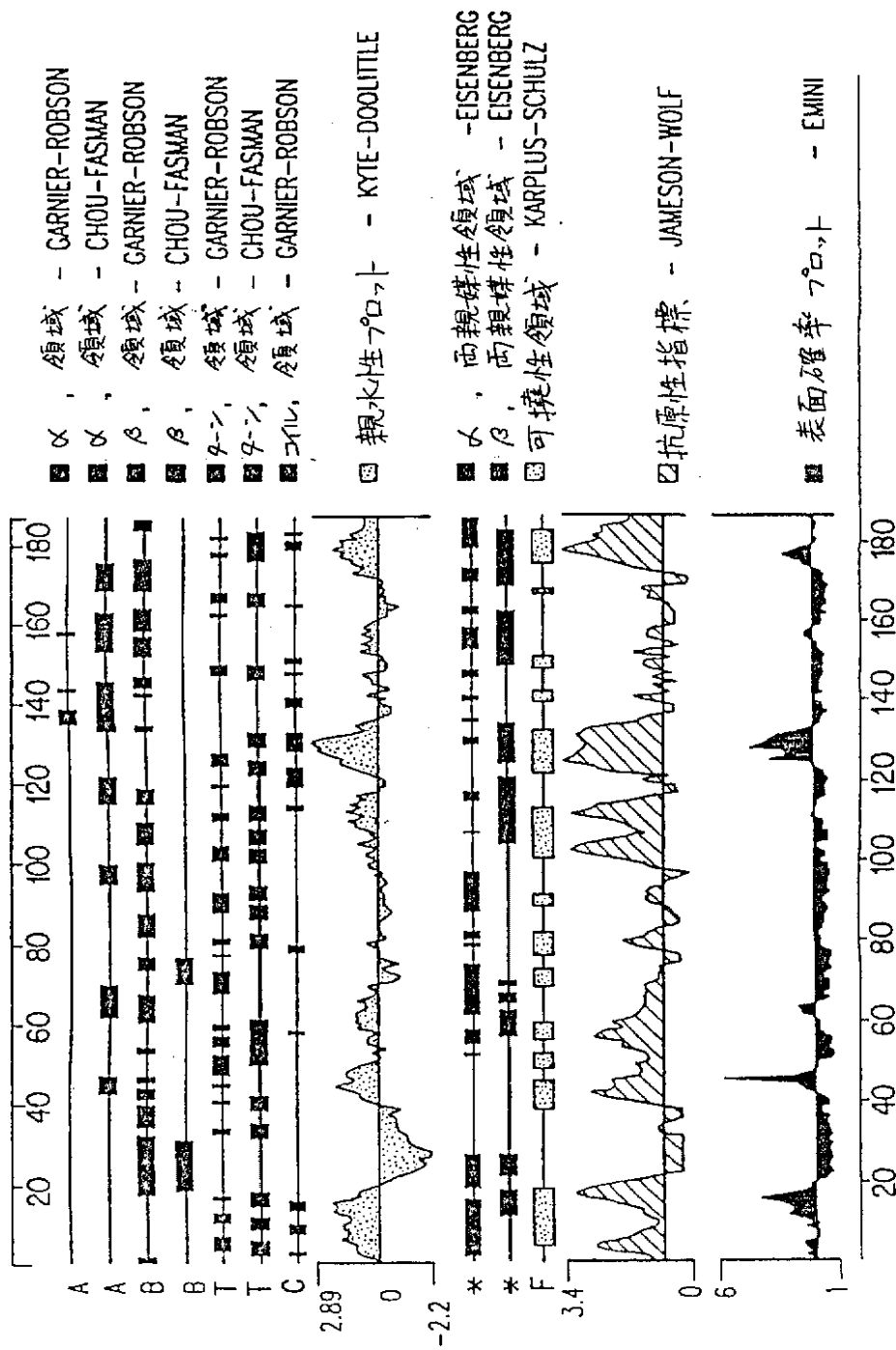


FIG. 6

【図7A】

```

      10              30              50
AAAGCTCGGGCTCCACCGGGGACGACCGCTCCTAGAACTGAGTGGTATCCCCCGGGCCT
      70              90              110
GCAGGAATTCCAACCTGCCTGAAGGGACCCCTGCCCTGGAAGTACAGTGCAAGCTCGGCG
      130             150             170
TCCTGCCCATCTGGGAAGAAGGCTGGTTTCTCCCATCAACGAAGCCCTCCAGGACCTTC
      190             210             230
CTGCAAGCCCTCGTCCACACGCAGCTCTGCCGTCCCTTGGTGTCCCTCCCGGCCTCAGG
      250             270             290
TCCTCCATGCTGGGTACCTCTGGGCACCTCGTTTGGCTGAGCCAGGGGTTGAGCCTGGCA
      M L G T S G H L V W L S Q G F S L A
      310             330             350
GGGCGCCCTGGCAGCAGTCCTTGGCCTGTGGATGCTGTCTGGCCTGTGGATGGTGTCCC
      G R P G S S P W P V D A V L A C G W C P
      370             390             410
GGCCTCCACGTACCCCTCTCAGCCCTCCTCTTGGACTCCAGCCATGGGCCTGCGCGCG
      G L H V P P L S P S S W T P A M G L R A
      430             450             470
AGCCGGAAGTGTCTCAGGACAGAGAACGCGTGTGTGGCTGCAGCCAGGCCACTTCTGC
      S R N C S R T E N A V C G C S P G H F C
      490             510             530
ATCGTCCAGGACGGGGACCACTGCGCCGCGTGGCGCGCTTACGCCACCTCCAGCCCGGGC
      I V Q D G D H C A A C R A Y A T S S P G
      550             570             590
CAGAGGGTGCAGAAGGGAGGCACCGAGAGTCAGGACACCCTGTGTGAGAACTGCCCCCGG
      Q R V Q K G G T E S Q D T L C Q N C P R
      610             630             650
GGACCTTCTCTCCCAATGGGACCCCTGGAGGAATGTCAGCACCAGACCAAGTAAGTGAACC
      G P S L P M G P W R N V S T R P S K *
      670             690             710
CGGGGGAGGCCAGCTCTGTGCCCTGGGGAGGGGGCTCCACGTTGCTTCCCTGGGAGATGA
      730             750             770
CCGTCTTCTCCAGCAGAAAGGTTGAAGGTCCCACCCTGAGCGGCACCCTGGTCACATGCC
      790             810             830
TGCGTCCAGGAGAGCTGCAGGGTGAAGCCTGTGTGCCCCAGATAACCCCTTCCATGGGCC
      850             870             890
CAGACAAAGCCTCATCAGATCTGAGCTTCTGGAGGCTCAGGATGGGCCTTCCAGAAAGC
      910             930             950
AGGCCCAGAGGGAGGCTGCCTCCAGATCCCTGTCCCCTGGGGCTGTGGGTGTCCCTGAA
      970             990             1010
TGTCAGGGCCATGGGAGGGCCCTGGGCTTCAGGGGTGGGGAAAGTGAACACTCTGCTC

```

FIG.7A

【図7B】

1030	1050	1070
TTTGTCCACCTTCGGGAGGACAACCTTCAAATGCTGACCCTGGGCCCCCTAACTGACCTGA		
1090	1110	1130
GACTTCAGAGCTTCTTGGGAGGAGCTGGGGTCCCCCAGCGGAGCCTGGGATGGAGCAGGG		
1150	1170	1190
ATGGCTGCCCCAGGGAGGGGGCGGTGGGGCCTTCCATCCTGCTCTGCCCTCCTCGTCCTC		
1210	1230	1250
TGGCCCCAGCTCAGTCCTGTCCATCTCCAGCTCTAACCATTTGTGGCCCGACACTGGCTC		
1270	1290	1310
TCCCTCTACCTTCTGTCTTGTCTGACACTGGTCTCCCGTCTCTGGGGTCTCTGCACTG		
1330	1350	1370
ATGGCTGCCTCCCGCTTCTCTCCCTCTCCCTCTGCCGTCTGTCTCCTGTGGCCAGTCT		
1390	1410	1430
CTCCTTGTTTCTCTTCTCCTCCTTCTCTCCACCTCCCCATAGCCGAGCTTGGAAAA		
1450	1470	1490
GTCAGACAGACCTCTGAGGTCTCATCCTGGAGCTGCCACCAGCCCAGCCTCCCTGGGACC		
1510	1530	1550
TGTCTTCACTGCCTGGGGCCCTGGGAGCCAGGGAGGCTCCCTGAGGCTGAGTGAACACTG		
1570	1590	1610
GGCGCTGCACCTGCCTCTCCACGTCTCGGCCCACTCCCGCAGGTGCAGCTGGCTGGT		
1630	1650	1670
GACGAAGCCCGGAGCTGGGACCAGCAGCTCCCACTGGGTATGGTGGTTTCTCTCAGGGAG		
1690	1710	1730
CCTCGTCATCGTCATTGTTTGCTCCACAGTTGGCCTAATCATATGTGTGAAAAGAAGAAA		
1750	1770	1790
GCCAAGGGGTGATGTAGTCAAGGTGATCGTCTCCGTCCAGGTATTGATCCTCCTCCCCCT		
1810	1830	1850
CTCCCTCCCCCTCCACCTTCCACCTCCCTCTCCCCGCTGGGGCTGGTGTCTTCTGGTG		
1870	1890	1910
TACATGGTGGGGCTCCAGTTCTCTGAGGGTCTGAGTCTTCAAGTACAGCCACGGTA		
1930	1950	1970
GCTCAGGAAAGAACCCACCCCTCAAACCTGAAAGCAGTAAATGAACCCGAGAACCTGGA		
1990	2010	2030
GTCCCAGGGGGGCTGAGCAGGCAGGGTCTCCACGATTCGTGTGCTCACAGCGGGAAAAG		
2050	2070	2090
ACAGGAGGCAGAAGGTGAGGCCACAGTCATTGAGGCCCTGCAGGCCCTCCGGACGTCAC		
2110	2130	2150
CACGGTGGCCGTGGAGGAGACAATACCCTCATTACGGGGGAGGAGCCCAAACCACTGAC		
2170	2190	2210
CCACAGACTCTGCACCCCGACGCCAGAGATACCTGGAGCGACGGCTGCTGAAAGAGGCTG		
2230	2250	2270
TCCACCTGGCGAAACCACCGGAGCCCGAGGTTTGGGGCTCCGCCCTGGGCTGGTTTCC		

FIG.7B

【図7C】

```

      2290      2310      2330
GTCTCCTCCAGTGGAGGGAGAGGTGGGGCCCTGCTGGGGTAGAGCTGGGGACGCCACGT
      2350      2370      2390
GCCATTCCCATGGGCCAGTGAGGGCCTGGGGCCTCTGTTCTGCTGTGGCCTGAGCTCCCC
      2410      2430      2450
AGAGTCCTGAGGAGGAGCGCCAGTTGCCCTCGCTCACAGACCACACACCCAGCCCTCCT
      2470      2490      2510
GGGTCCAGCCCAGAGGGCCCTTCAGACCCAGCTGTCTGCGCGTCTGACTCTTGTGGCCT
      2530      2550      2570
CAGCAGGACAGGCCCCGGGCACTGCCTTCAAGCCAAGGCTGGACTGGGTTGGCTGCAGTG
      2590      2610      2630
TGGTGTTTAGTGGATACCACATCGGAAGTGATTTTCTAAATTGGATTTGAAAAAAA

```

FIG.7C

【図8】

類似性パーセント : 45.522 同一性パーセント : 26.866

```

1  MLGTSGHLVWLSQGFSL.....AGRPGSSPWPVD..... 29
   :: : : . | : | . | . ||| : : :
1  .MAPVAVWAALAVGLELWAAHALPAQVAFTPYAPEPGSTCRLREYYDQT 49

30 AVLACGWC.PGLHV.....PPLSPSSW 50
   | : | : | || | . . || : : | :
50 AQMCCSKCSPGQHAKVFCTKTSDTVCDSCEDSTYTQLWNWVPECLSCGSR 99

51 TPAMGLRASRNCRTENAVCGCSPGHFCIVQGDHCAACRAYATSSPGQR 100
   . . : . . . | . | : | : | . | | : | : . : | | : . : | |
100 CSSDQV.ETQACTREQNRICTCRPGWYCALSKQEGCRLCAPLRKCRPGFG 148

101 VQKGGTESQDTLCQNCPRGPSLPMGPWRNVSTRPSK..... 136
   | : . ||| . | : | . | : | . . . : : . .
149 VARPGTETSDVVCKPCAPGTFSNTTSSDTCRPHQICNVVAIPGNASMDA 198

```

FIG.8

【図9】

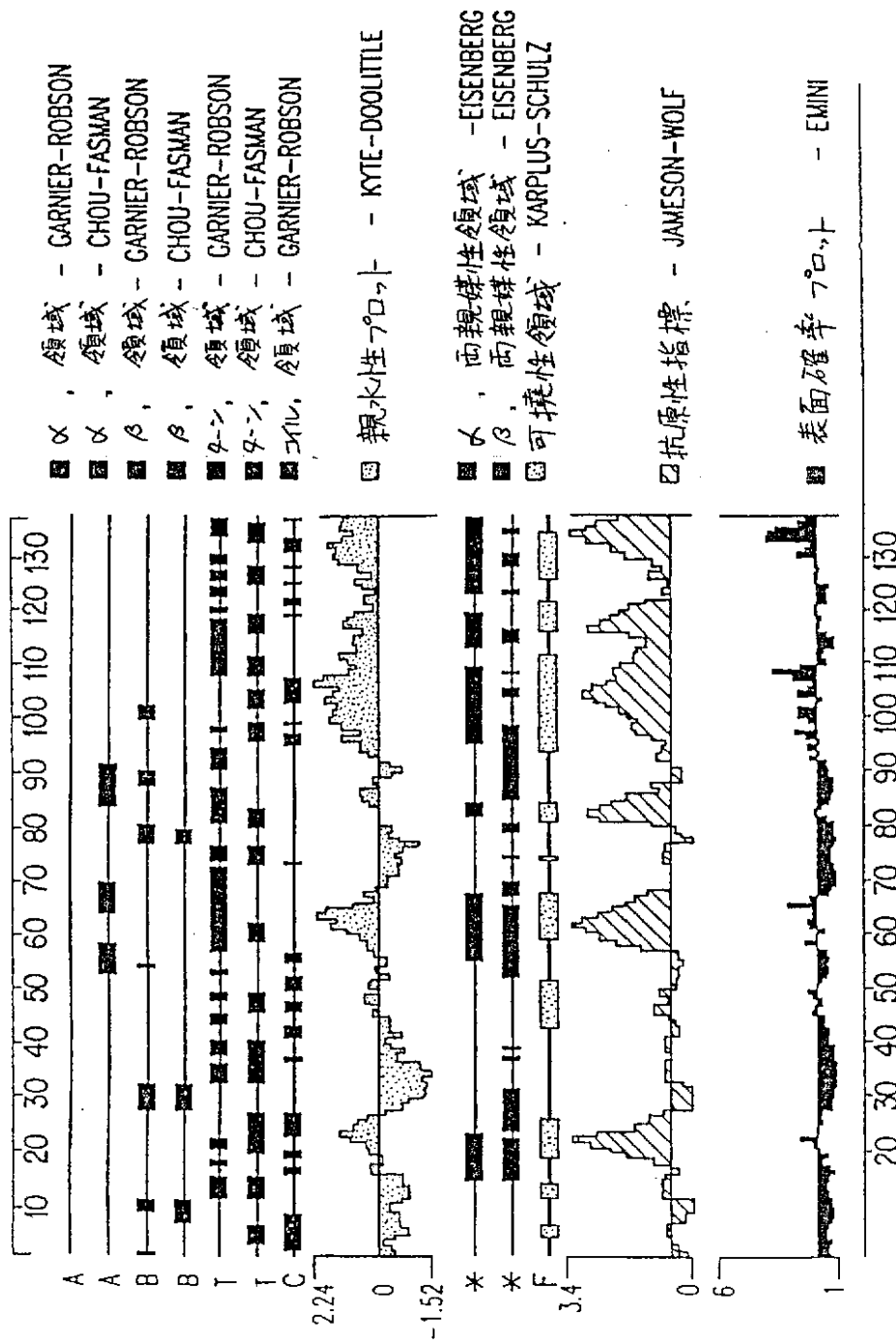


FIG.9

【図10】

類似性パーセント : 73.370 同一性パーセント : 59.783

```

1  MEPPGDWGPPPWRSTPKTDVLRLLVLYLTFLGAPCYAPALPSCKEDEYPVG  50
   |||||:|||||
1  MEPPGDWGPPPWRSTPRTDVLRLLVLYLTFLGAPCYAPALPSCKEDEYPVG  50

51  SECCPKCSPGYRVKEACGELTGTVCEPCPPGTYYIAHLNGLSKCLQCQMCD  100

101 PAMGLRAS.RNCSRTENAVCGCSPGHFCIVQGDHCAACRAYATSSPGQR  149
   |.:| ... |. :. |.: :|.: :.: :.: :.: |.: |.:
101 PDIGSPCDLRGRGHLEAG.....AHLSPGRQKGEPDPEVAFESLSAEPV  144

150 VQKGGTESQDTLCQNCPPGTFSPNGTLEECQHQTCSWLVTKAGAGTSSS  199
   .|. . . . : . : . : . |. . . : . : . : .
145 HAANGSVPLEPHARLSMASAPCGQAGLH.....LRDRADGTPGGR  184

200 HWVWFSLSGSLVIVIVCSTVGLIICVKRRKPRGDVVKVIVSVQRKRQEA  249

```

FIG.10

類似性パーセント : 70.588 同一性パーセント : 60.294

1	MEPPGDWGWPPWRSTPKTDVLRLLVLYLTFLGAPCYAPALPSCKEDEYPVG	50
1	MLGTSGHLVWLSQGFSLAGRPGSSP.....WPVD	29
51	SECCPKCSPGYRVKEACGELTGTVCEPCPPGTYYIAHLNGLSKCLQCQMCD	100
30	AVLACGWCPGLHV.....PPLSPSSW.....T	51
101	PAMGLRASRNCSRTENAVCGCSPGHFCIVQGDHCAACRAYATSSPGQRV	150
52	PAMGLRASRNCSRTENAVCGCSPGHFCIVQGDHCAACRAYATSSPGQRV	101
151	QKGGTESQDTLCQNCPPGTFSPNGTLEECQHQTCSWLVTKAGAGTSSSH	200
102	QKGGTESQDTLCQNCPRGPSLPMGPWRNV..STRPSK.....	136

FIG. 11

【図12】

類似性パーセント : 37.984		同一性パーセント : 20.155	
1	MEPPGDWGPPPWRSTPRTDVLRLVLYLTFLGAPCYAP.....ALPSCK	43	
	 : : : : : : 		
1	MLGTSGHLVWLSQGFSLAGRPGSSPWPVDAVLACGWCP	38	
44	EDEYPVGSECCPKCSPGYRVKEACGELTGTVCEPCPPGTYIAHLNGLSKC	93	
	: . . : : : . . : : . : : : . .		
39	GLHVPPLSPSSWTPAMGLRASRNCSTRNAVCGCSPGHFCI..VQGDHC	86	
94	LQCCMCDPDIGSPCDLRGRGHLEAGAHLSRGRQKGEPDPEVAFESLSAEP	143	
	. . : . . : : : . : . . : . . : : . . : : : . : .		
87	AACRAYAT..SSPGQRVQKGGTESQDTLCQNCPRGPSLPMGPWRNVSTRP	134	
144	VHAANGSVPLEPHARLSMASAPCGQAGLHLRDRADGTPGGRA.	185	
			
135	SK.....	136	

FIG.12

【図13A】

類似性パーセント : 92.168 同一性パーセント : 92.168

```

1      .....GCACGAGCTGCCTCCCGCAGGCGCCACCTGTGTCCCCCAGCG 42
      ||      ||||| ||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
101    TTGCCTGGACAGCTCCTGCCTCAGGCA.GCGCCACCTGTGTGCGCCAGCG 149
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
43     CCGCTCCACCCAGCAGGCTGAGCCCTCTCTGCTGCCAGACACCCCTG 92
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
150    CCGCTCCACCCAGCAGGCTGAGCCCTCTCTGCTGCCAGACACCCCTG 199
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
93     CTGCCCCTCTCCTGCTGCTCGGGTTCTGAGGCACAGCTTGTACACCG 141
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
200    CTGCCCCTACTCCTGCTGCTCGGGTTCTGAGGCACAGCTTGTACACCG 249
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
142    AGGCGGATTCTCTTTCTCTTTCTCTTTCTTTCTTTCTGGCCACAGCCGCAGC 191
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
250    AGGCGGATTCTCTTTCTCTTTCTCTTTCTTTCTTTCTGGCCACAGCCGCAGC 299
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
192    AATGGCGCTGAGTTCCTCTGCTGGAGTTCATCCTGCTAGCTGGGTTCCCG 241
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
300    AATGGCGCTGAGTTCCTCTGCTGGAGTTCATCCTGCTAGCTGGGTTCCCG 349
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
242    AGCTGCCGGTCTGAGCCTGAGGCATGGAGCCTCCTGGAGACTGGGGGCCT 291
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
350    AGCTGCCGGTCTGAGCCTGAGTCATGGAGCCTCCTGGAGACTGGGGGCCT 399
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
292    CCTCCCTGGAGATCCACCCCAAAACCGACGTCTTGAGGCTGGTGCTGTA 341
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
400    CCTCCCTGGAGATCCACCCCAAGACCGACGTCTTGAGGCTGGTGCTGTA 449
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
342    TCTCACCTTCCTGGGAGCCCCCTGCTACGCCCCAGCTCTGCCGTCCTGCA 391
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
450    TCTCACCTTCCTGGGAGCCCCCTGCTACGCCCCAGCTCTGCCGTCCTGCA 499
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
392    AGGAGGACGAGTACCCAGTGGGCTCCGAGTGCTGCCCCAAGTGCAGTCCA 441
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
500    AGGAGGACGAGTACCCAGTGGGCTCCGAGTGCTGCCCCAAGTGCAGTCCA 549
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
442    GGTATCGTGTGAAGGAGGCTGCGGGGAGCTGACGGGCACAGTGTGTGA 491
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
550    GGTATCGTGTGAAGGAGGCTGCGGGGAGCTGACGGGCACAGTGTGTGA 599

```

FIG. 13A

【図13B】

```

492 ACCCTGCCCTCCAGGCACCTACATTGCCACCTCAATGGCCTAAGCAAGT 541
      ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
600 ACCCTGCCCTCCAGGCACCTACATTGCCACCTCAATGGCCTAAGCAAGT 649

542 GTCTGCAGTGCCAAATGTGTGAC..... 564
      ||||||||||||||||||
650 GTCTGCAGTGCCAAATGTGTGACCCAGATATTGGTTCCCCCTGTGACCTC 699

565 .....CCAGCCATGGGCCTGCGCGCGAGCCGGAAGTGTCTC 599
      ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
1600 CCCTCCTCTTGACTCCAGCCATGGGCCTGCGCGCGAGCCGGAAGTGTCTC 1649

600 CAGGACAGAGAACGCCGTGTGTGGTTGCAGCCAGGCCACTTCTGCATCG 649
      ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
1650 CAGGACAGAGAACGCCGTGTGTGGTGCAGCCAGGCCACTTCTGCATCG 1699

650 TCCAGGACGGGGACCACTGCGCCGCGTGCCGCGCTTACGCCACCTCCAGC 699
      ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
1700 TCCAGGACGGGGACCACTGCGCCGCGTGCCGCGCTTACGCCACCTCCAGC 1749

700 CCGGGCCAGAGGGTGCAGAAGGGAGGCACCGAGAGTCAGGACACCCTGTG 749
      ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
1750 CCGGGCCAGAGGGTGCAGAAGGGAGGCACCGAGAGTCAGGACACCCTGTG 1799

750 TCAGAACTGCCCCCGGGGACCTTCTCTCCAATGGGACCCTGGAGGAAT 799
      ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
1800 TCAGAACTGCCCCCGGGGACCTTCTCTCCAATGGGACCCTGGAGGAAT 1849

800 GTCAGCACCAGACCAAGTG..... 818
      ||||||||||||||||
1850 GTCAGCACCAGACCAATTGGCCTAATCATATGTGTGAAAAGAAGAAAGCC 1899

819 CAGCTGGCTGGTGACGAAGGCCGAGCTGGG.....ACCAGCAGCTC 860
      || | | ||| ||| ||| ||| ||| |||
1900 AAGGGGTGAGCACACGGTGGCCCATCAGGGTTCATGTCCCAGCCGTCA 1949

861 CCACTGGGTATGGTGGTTTCTCTCAGGGAGCCTCGTCATCGTCATTGTTT 910
      || || || || | | | | | | | |
1950 CCTCTTGGAGCTCTGTCAACCCCAAGCCTGGGAGGTGGCCCCAGAGCTTTT 1999

```

FIG.13B

【図13C】

```

911 GCTCCACAGTTGGCCTAATCATATGTGTGAAAAGAAGAAAGCCAAGGGGT 960
    |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
2000 CCAGGATCCGCGGCTCCTCCCAGGGCAGCCACTGCAGGCTGGGGCAGGTG 2049

961 GATGTAGTCAAGGTGATCGTCTCCGTCCAGCGG.AAAAGACAGGAGGCAG 1009
    |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||
2050 TATGTAGTCAAGGTGATCGTCTCCGTCCAGCGGTAAAAGACAGGAGGCAG 2099

1010 AAGGTGAGGCCACAGTCATTGAGGCCCTGCAGGCCCTCCGGACGTCACC 1059
    |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||
2100 AAGGTGAGGCCACAGTCATTGA.GCCCTGCAGGCCCTCCGGACGTCACC 2148

1060 ACGGTGGCCGTGGAGGAGACAATACCCTCATTCACGGGGAGGAGCCCAAA 1109
    |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||
2149 ACGGTGGCCGTGGAGGAGACAATACCCTCATTCACGGGGAGGAGCCCAAA 2198

1110 CCACTGACCCACAGACTCTGCACCCGACGCCAGAGATACCTGGAGCGAC 1159
    |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||
2199 CCACTGACCCACAGACTCTGCACCCGACGCCAGAGATACCTGGAGAGAC 2248

1160 GGCTGAATGAAAGAGGCTGTCCACCTGGCGGAACCACCGGAGCCCGGAGG 1209
    |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||
2249 GGCTG.CTGATAGAGGCTGTCCACCTGGCGAAACCACCGGAGCCCGGAGG 2297

1210 CTTGGGGGCTCCACCCTGGACTGGCTTCCGTCTCCTCCAGTGGAGGGAGA 1259
    |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||
2298 CTTGGGGGCTCCGCCCTGGGCTGGTTTCCGTCTCCTCCAGTGGAGGGAGA 2347

1260 GGTGGCGCCCCTGCTGG.GGTAGAGCTGGGGACGCCACGTGCCATTCCCA 1308
    |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||
2348 GGTGGTGCCCCTGCTGGTGGTAGAGCTGGGGACGCCACGTGCCATTCCCA 2397

1309 TGGGCCAGTGAGGGCCTGG.GGCCTCTGTTCTGCTGTGGCCTGAGCTCCC 1357
    |||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||
2398 TGGTTCAGTGAGGGGCTGGTGGCCTCTGTTCTGCTGTGGCCTGAGCTCCC 2447

1358 CAGAGTCCTGAGGAGGAGCGCCAGTTGCCCTCGCTCACAGACCACACAC 1407
    |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||
2448 CAGAGTCCTGAGGAGGAGCCCCAGTTGCCCTCGCTCACAGACCACACAC 2497

```

FIG.13C

【図13D】

1408	CCAGCCCTCCTGGGCCAACCCAGAGG.GCCTTCAGACCCCAGCTGTGTGC	1456
2498	CCAGCCCTCCTGGGCCAACCCAGAGGCCCTTCAGACCCCAGCTGTCTGC	2547
1457	GCGTCTGACTCTTGTGGCCTCAGCAGGACAGGCCCGGGCACTGCCTCAC	1506
2548	GCGTCTGACTCTTGTGGCCTCAGCAGGACAGGCCCGGGCACTGCCTCAC	2597
1507	AGCCAAGGCTGGACTGGGTTGGCTGCAGTGTGGTGTGTTAGTGGATACCAC	1556
2598	AGCCAAGGCTGGAATGGGTTGGCTGCAGTGTGGTGTGTTAGTGGATACCAC	2647
1557	ATCGGAAGTGATTTTCT..AAATTGGATTTGAATTCGGCTCCTGTTTTCT	1604
2648	ATCGGAAGTGATTTTCTAAAAATTGGATTTGAATTCGGAAAAAA.....	2692

FIG.13D

【図14A】

```

1 .....GCACGAGCTGCCTCCCGCAGGCGC 24
      | | | | |
701 GTTGCTTCCCTGGGAGATGACCGTCTTCTCCAGCAGAAAGGTTGAAGGTC 750
      | | | | |
25  CACCTGTGTCCCCAGCGCCGCTCCACCCAGCAGGCCTGAGCCCCCTCTCT 74
      | | | | |
751 CCACCCTGAGCGGCACCCTGGTCACATGCCCTGCGTCCAGGAGAGCTGCAG 800
      | | | | |
75  GCTGCCAGACACCCCTGCTGCCCACTCTCTGCTGCTCGGGTTCTGAGG 124
      | | | | |
801 GGTGAAGCCTGTGTGCCCCAGATAACCCCTTCCATGGGCCAGACAAAGC 850
      | | | | |
125 CACAGCTTGTACACCGAGGCGGATTCTCTTTCTCTTTCTCTTTCTCTTC 174
      | | | | |
851 CTCATCAGATCTGAGCTTCTGGAGGCTCAGGATGGGCCTTCCCAGAAGC 900
      | | | | |
175 TGGCCCA...GCCGCAGCAATGGCGCTGAGTTCCTCTGCTGGAGTT 219
      | | | | |
901 AGGCCCAGAGGGAGGCTGCCTCCAGATCCCCTGTCCCCTGGGGCTGTGGG 950
      | | | | |
220 CATCCTGCTAGCTGGGTTCCGAGCTGCCGGTCTGAGCCTGAGGCATGGA 269
      | | | | |
951 TGTCCCTGAATGTCAGGGCCATGGGAGGGCCCTGGGCTTCAGGGGTGG 1000
      | | | | |
270 GCCTCCTGGAGACTGGGGGCTCCTCC...CTGGAGATCCACCCCAA 314
      | | | | |
1001 GGAAAGTGAACACTCTGCTCTTTGTCCACCTTCGGGAGGACAACCTTCAA 1050
      | | | | |
315 A.....ACCGACGTCTTGAGGCTGGTGTGTATCTACCTTCCTGGGA 357
      | | | | |
1051 ATGCTGACCCTGGGCCCCTAACTGACCTGAGACTTCAGAGCTTCTTGGGA 1100
      | | | | |
358 GCCCCCTGCTACGCCCCAGCTCTGCCGTCTGCAAGGAGGACGAGTACCC 407
      | | | | |
1101 GGAGCTGGGGTCCCCAGCGGAGCCTGGGATGGAGCAGGGATGGCTGCC 1150
      | | | | |
408 AGTGGGCTCCGAGTGCTGCCCAAGTGCAGTCCAGGTTATCGTGTGAAG 457
      | | | | |
1151 CAGGGAGGGGGCGGTGGGGCCTTCCATCCTGCTCTGCCCTCCTCGTCCTC 1200

```

FIG.14A

【図14B】

```

458  AGG..CCTGCGGGGAGCTGACGGGCACAGTGTGTGAACCCTGCCCTCCAG 505
      || ||| || | ||| | | | | | | | | | |
1201 TGGCCCCAGCTCAGTCCTGTCCATCTCCAGCTCTAACCATTGTGGCCCG 1250

506  GCACCTACATTGCCACCTCAATGGCCTAAGCAAGTGTCTGCAGTGCC.. 553
      ||| | | || | | | | | | | | | | |
1251 ACACTGGCTCTCCCTCTACCTTCTGTCTTGTCTGACACTGGTCTCCCGT 1300

554  .AAATGTGTGACCCAGCCATGGGCCTGCGCGGAGCCGGAAGTGTCTCCAG 602
      || | | | | | | | | | | | | | |
1301 GCTCTGGGGTCTCTGCACTGATGGCTGCCTCCCGCTTCTCTCCCTCTCC 1350

603  GACAGAGAAACGCGGTGTGTGGTTGCAGCCCAGGCCACTTCTGCATCGTCC 652
      || | | | | | | | | | | | | | |
1351 CTCTGCCGTCTGTCTCCTGTGGCCAGTCTCTCCTTGTCTTCTCTCTCT 1400

653  AGGACGGGGACCACTGCGCCGCGTGCCGCGCTTACGCCACCTCCAGCCCG 702
      | | | | | | | | | | | | | |
1401 CCTTCCTTCTCTCCACCTCCCATAGCCGAGCTTGGAAAAGTCAGACAGA 1450

703  GGCCAGAGGGTGCAGAAGGGAGGCACCGAGAGTCAGGACACCCTGTGTCA 752
      | ||| | | ||| | | | | | | | | |
1451 CCTCTGAGGTCTCATCCTGGAGCTGCCACCAGCCAGCCTCCCTGGGACC 1500

753  GAACTGCCC..CCCGGGACCTTCTCTCCCAATGGGACCCTGGAGG.... 796
      || | | || ||| || | | | | | | | |
1501 TGTCTTCACTGCCTGGGGCCCTGGGAGCCAGGGAGGCTCCCTGAGGCTGA 1550

797  .....AATGTCAGCACCAG 810
      | | |||
1551 GTGAACACTGGGCGCTGCACCTGCCTCTCCACGTCCTCGGCCCACTCC 1600

811  ACCAAGTGCAGCTGGCTGGTGACGAAGGCCGGAGCTGGGACCAGCAGCTC 860
      || ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
1601 CGCAGGTGCAGCTGGCTGGTGACGAAGCCCGGAGCTGGGACCAGCAGCTC 1650

861  CCACTGGGTATGGTGGTTTCTCTCAGGGAGCCTCGTCATCGTCATTGTTT 910
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
1651 CCACTGGGTATGGTGGTTTCTCTCAGGGAGCCTCGTCATCGTCATTGTTT 1700

```

FIG.14B

【図14C】

```

911 GCTCCACAGTTGGCCTAATCATATGTGTGAAAAGAAGAAAGCCAAGGGGT 960
    |||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
1701 GCTCCACAGTTGGCCTAATCATATGTGTGAAAAGAAGAAAGCCAAGGGGT 1750

961 GATGTAGTCAAGGTGATCGTCTCCGTCCAG..... 990
    |||||||||||||||||||||||||||
1751 GATGTAGTCAAGGTGATCGTCTCCGTCCAGGTATTGATCCTCCTCCCCCT 1800

991 .....CGGAAAAGACAGGAGGCA 1008
    |||||||||||||||||||
2001 GGCAGGGTCTCCACGATTCTGTGTCTCACAGCGGGAAAAGACAGGAGGCA 2050

1009 GAAGGTGAGGCCACAGTCATTGAGGCCCTGCAGGCCCTCCGGACGTCAC 1058
    |||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
2051 GAAGGTGAGGCCACAGTCATTGAGGCCCTGCAGGCCCTCCGGACGTCAC 2100

1059 CACGGTGGCCGTGGAGGAGACAATACCCTCATTAC.GGGGAGGAGCCCA 1107
    |||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
2101 CACGGTGGCCGTGGAGGAGACAATACCCTCATTACGGGGGAGGAGCCCA 2150

1108 AACCCTGACCCACAGACTCTGCACCCCGACGCCAGAGATACCTGGAGCG 1157
    |||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
2151 AACCCTGACCCACAGACTCTGCACCCCGACGCCAGAGATACCTGGAGCG 2200

1158 ACGGCTGAATGAAAGAGGCTGTCCACCTGGCGGAACCAACGGAGCCCGGA 1207
    ||||| ||||||||||||||||||| |||||||||||||||
2201 ACGGCTG.CTGAAAGAGGCTGTCCACCTGGCGAAACCAACGGAGCCCGGA 2249

1208 GGCTTGGGGGCTCCACCCTGGACTGGCTTCCGTCTCCTCCAGTGGAGGGA 1257
    || ||||||||||| ||||| ||| |||||||||||||||
2250 GGTTTGGGGGCTCCGCCCTGGGCTGGTTTCCGTCTCCTCCAGTGGAGGGA 2299

1258 GAGGTGGCGCCCTGCTGGGGTAGAGCTGGGGACGCCACGTGCCATTCCC 1307
    ||||| ||||||||||||||||||| |||||||||||||||
2300 GAGGTGGGGCCCTGCTGGGGTAGAGCTGGGGACGCCACGTGCCATTCCC 2349

1308 ATGGGCCAGTGAGGGCCTGGGGCCTCTGTTCTGCTGTGGCCTGAGCTCCC 1357
    |||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
2350 ATGGGCCAGTGAGGGCCTGGGGCCTCTGTTCTGCTGTGGCCTGAGCTCCC 2399

```

FIG.14C

【図14D】

1358	CAGAGTCCTGAGGAGGAGCGCCAGTTGCCCTCGCTCACAGACCACACAC	1407
2400	CAGAGTCCTGAGGAGGAGCGCCAGTTGCCCTCGCTCACAGACCACACAC	2449
1408	CCAGCCCTCCTGGG.CCAACCCAGAGGG.CCTTCAGACCCAGCTGTGTG	1455
2450	CCAGCCCTCCTGGGTCCAGCCAGAGGGCCCTTCAGACCCAGCTGTCTG	2499
1456	CGCGTCTGACTCTTGTGGCCTCAGCAGGACAGGCCCGGGCACTGCCTCA	1505
2500	CGCGTCTGACTCTTGTGGCCTCAGCAGGACAGGCCCGGGCACTGCCTTC	2549
1506	CAGCCAAGGCTGGACTGGGTTGGCTGCAGTGTGGTGTGTTAGTGGATACCA	1555
2550	AAGCCAAGGCTGGACTGGGTTGGCTGCAGTGTGGTGTGTTAGTGGATACCA	2599
1556	CATCGGAAGTGATTTTCTAAATTGGATTTGAATTCGGCTCCTGTTTTCTA	1605
2600	CATCGGAAGTGATTTTCTAAATTGGATTTGAAAAAAAAA.....	2637

FIG.14D

【図15A】

類似性パーセント : 53.479 同一性パーセント : 53.479

```

1  CCCCCTTCTACAGGAAACCCGGAGTGGACTGGAACGGTGCAGGGGGAGAA 50
      ||  |  ||| |  ||| |  |  ||| |
1  ...AAAGCTCGGGCTCCACCGGGGACGACCGCTCCTAGAAACTGAGTGGT 47
51  CTCGCCCCCTCCCATCGGGCGCCTCCTTCATACCGGCCCTTCCCCTCGGCT 100
      || |||  ||  |||  |||  ||| |  ||| |  ||| |
48  ATCCCCCGGGCCTGCAGG.AATTCCAACCTGCCTGAAGGGACCCTGCCCT 96
101 TTGCCTGGACAGCTCCTGCCTCAGGCAGCGCCACCTGTGTGCGCCAGCGC 150
      |||  |  ||| |  |  ||| |  ||| |
97  GGAAGTGAAGCTCGGGCTCCTGCCATCTGGGAAGAAGGCT 144
151 CGCTCCACCCAGCAGGCCTGAGCCCTCTCTGCTGCCAGACACCCCTGC 200
      |  ||| |||  ||  |||  ||| |  ||| |  ||| |
145 GGTTTCTCCCATCAACGAAGCCCTCCAGGACCTTCTGCAAGCCCTCGT 194
201 TGCCCACTACTCCTGCTGCTCGGGTTCTGAGGCACAGCTTGTACACCGA 250
      |  |||  |  |||  |||  |||  |||  ||| |
195 CCCACAGCAGCTCTGCCGTCCCTTGGTGTCCCTCCCGGCCTCA...GGT 241
251 GGCGGATTCTCTTTCTCTTTCTTTCTTTCTTTCTGGCCCA.CAGCCGCAGC 299
      || ||  |  |||  |||  ||| |  ||| |  ||| |
242 CCTCCATGCTGGGTACCTCTGGGCACCTCGTTTGGCTGAGCCAGGGGTT 291
300 AATGGCGCTGAGTTCCTCTGCTGGAGTTTCCTGCTAGCTGGGTTCCTCG 349
      |  |||  |||  |||  |||  |||  |||  ||| |
292 AGCCTGGCAGGGCGCCCTGGCAGCAGTCTTGGCCTGTGGATGCTGTCCT 341
350 AGCTGCCGGTCTGAGCCTGAGTCATGGAGCTCCTGGAGACTGGGGGCCT 399
      ||  ||  |||  |||  |||  |||  |||  ||| |
342 GGCCTGTGGATGGTGTC....CCGGCCTCCACGTACCCCTCTCAGCCC 386
400 CCTCCCTGGAGATCCACCCCAAGAACGACGTCTTGAGGCTGGTGTGTA 449
      |  |||  |||  |||  |||  |||  |||  ||| |
387 CTCCTCTTGGAATCCAGCCATGGGCCTGCGCGGAGCCGGAAGTGTCCA 436
450 TCTCACCTTCCTGGGAGCCCTGCTACGCCCAGCTCTGCCG.TCCTGC 498
      ||  |  ||  ||  ||  ||  ||  ||  ||  ||
437 GGACAGAGAACGCCGTGTGTGGCTGCAGCCAGGCCACTTCTGCATCGTC 486

```

FIG.15A

【図15B】

499 AAGGAGGACGAGTACCCAGTGGGCTCCGAGTGCTGCCCCAAGTGCAGTCC 548
 |||| | || | | | | | | | | | | |
 487 CAGGACGGGGACCACTGCGCCGCGTGCCGCGCTTACGCCACCTCCAGCCC 536
 549 AGGTTATCGTGTGAAGGAGGCCTGCGGGGAGCTGACGGGCACAGTGTGTG 598
 || | | ||| || || | | || | | ||||
 537 GGGCCAGAGGGTGCAGAAGGAGGCACCGAGAGTCAGGACACCCTGTGTC 586
 599 AACCCTGCCCTCCAGGCACCTACATTGCCACCTCAATGGCCTAAGCAAG 648
 | ||||| | || | | | |||| | | | |
 587 AGAACTGCCCCCGGGGACCTT..CTCTCCAATGGGACCCTGGAGGAATG 634
 649 TGTCTGCAGTGCCAAATGTGTGACCCAGATATTGGTTCCCCCTGTGACCT 698
 | | | |||| | |||| || | | | |||| ||
 635 TCAGCACCAGACCAAGTAAGTGAACCCGGGGGAGGCCAGCTCTGTGCCCT 684
 699 CAGGGGAAGAGGTACCTGGAGGCTGGTGCCACCTGAGTCCAGGCAGAC 748
 || | | |||| | | | | | || | | |
 685 GGGGAGGGGGCTCCACGTTGCTTCCCTGGGAGATGACCGTCTTCTCCAGC 734
 749 AGAAAGG.....GGAACCAGACCCAGAGGTGGCCTTTGAGTCACTGAGCG 793
 ||||| | || || | || || || || || ||
 735 AGAAAGGTTGAAGGTCCCACCCTGAGCGGCACCCTGGTCACATGCCTGCG 784
 794 CAGAGCCTGTCCATGCGGCCAACGGCTCTGTCCCCTTGAGCCTCATGCC 843
 || | | || || | || | || | || | | |
 785 TCCAGGAGAGCTGCAGGGTGAAGCCTGTGTGCCCCAGATAACCCCTTCCA 834
 844 AGGCTCAGCATGGCCAGTGCTCCCTGCGGCCAGGCAGGACTGCACCTGCG 893
 || | | | || | | | | | | | | | |
 835 TGGGCCCAGACAAAGCCTCATCAGATCTGAGCTTCCCTGGAGGCTCAGGAT 884
 894 GGACAGGGCTGACGGCACACCTGGGGGCAGGGCCTGAGCCTACAGGGAGG 943
 || | | | || || | || || | | | | |
 885 GGGCCTTCCCAGAAGCAGGCCAGAGGGAGGCTGCCTCCAGATCCCCTGT 934
 944 CACAGGGCAGGTGGGCTAGCCATGAACAGAAGAGGAAGCTGGAGTGCTTT 993
 | | || | || || || || | | | | | |
 935 CCCCTGGGGCTGTGGGTGTCCCTGAATGTGAGGGCCATGGGAGGGCCCT 984

FIG.15B

【図15C】

```

994 GGGGGTTCATGCATGTAGGCTGGGATTTGGGGCTCACACCTCAACCTGCA 1043
    ||| | | | | | | | | | | | | | | |
985 GGGCTTCAGGGGTTGGGAAAGTGAACACTCTGCTCTTTGTCCACCTTCG 1034

1044 TGCCCAGTTCCATGCCCTCCCCTCTTGTGAAAGCACCTGTCTACTTGGG 1093
    | | | | | | | | | | | | | | | |
1035 GGAGGACAACCTTCAAATGCTGACCCTGGGCCCTAACT.....GA 1075

1094 CTGAGGATGTGGGGGCACAGGTGGCAGGTGAGGCTGCCCTCAGGAGGGGC 1143
    | | | | | | | | | | | | | | | |
1076 CCTGAGACTTCAGAGCTTCTTGGGAGGAGCTGGGGTCCCCAGCGGAGCC 1125

1144 CCAGGCCCAGCTTGTACCCACCTCCACCAGTACCTGAAGAAGTGGGGCT 1193
    | | | | | | | | | | | | | | | |
1126 TGGGATGGAGCAGGGATGGCTGCCCCA.....GGGAGGGGGCGGTGG 1167

1194 CTCACCCTACCTGCCTCTGCCATTGGAATGGCCTGGTTTGCACAGATGGG 1243
    | | | | | | | | | | | | | | | |
1168 GGCCTTCCATCCTGCTCTGCCCTCCTCGTCCTCTGGCCCCAGCTCAGTCC 1217

1244 AAACCCGTTTGAGGGGTGGGTGTCTGGGTGGGCACGTGGGGCGAGGACCT 1293
    || | | | | | | | | | | | | | |
1218 TGTCCATCTCCAGCTCTAACCATTGTGGCCGACACTGGCTCTCCCTCT 1267

1294 GCCTGAGGGACCCTGCCCTGGAAGTACAGTGCAAGCTCGGCGTCTGCG 1343
    ||| | | | | | | | | | | | | |
1268 ACCTTCTGTCTTGTCTGACACTGGTCTCCCGTGTCTCTGGGGTCTCTGCA 1317

1344 CATCTGGGCAGAAGGCTGGTTTCTCCCATCAACGAAGCCCTCCCAGGACC 1393
    | ||| | | | | | | | | | | | |
1318 CTGATGGCTGCCTCCCGCTTCTCTCCCTCTCCCTCTGCCGTCTGTCTC 1367

1394 TTCCTGCAAGCCCTCGTCCACACGCAGCTCTGCCGTCCCTTGGTGTCCC 1443
    | ||| | | | | | | | | | | | |
1368 CTGTGGCCAGTCTCTCCTTGTCTCTCTCTCCTTCTCTCTCCACC 1417

1444 TCCCGGCCTCAGGTCCTCCA....TGCTGGGTACCTCTGGGCACCTCGTT 1489
    |||| | | | | | | | | | | | |
1418 TCCCATAGCCGAGCTTGAAAAGTCAGACAGACCTCTGAGGTCTCATCC 1467

```

FIG.15C

【図15D】

1490 TGGCTGAGCCAGGGGTTTACGCTGGCAGGGCGCCCTGGCAGCAGTCCTTG 1539
 ||| ||| | ||||| | ||| | ||| |
 1468 TGGAGCTGCCACCAGCCCAGCCTCCCTGGGACCTGTCTTCACTGCCTGGG 1517
 1540 GCCTGTGGATGCTGTCCTGGCCTGTG.GATGGTGTCCCGCCCTCCACGTA 1588
 ||| ||| | | | ||| | ||| |
 1518 GCCCTGGGAGCCAGGGAGGCTCCCTGAGGCTGAGTGAACACTGGGCGCTG 1567
 1589 CCCCTCTACCCCTCCTCTTGGACTCCAGCCATGGGCCTGCGCGCGAGC 1638
 | ||| | ||| | ||| | ||| | ||| |
 1568 CACCTGCCTCTCCACGTCTCGGCCCA.....CTCCCGC 1603
 1639 CGGAAGTGTCCAGGACAGAGAAGCGCGTGTGTGGCTGCAGCCAGGCCA 1688
 || | ||| | ||| ||| ||| ||| |||
 1604 AGGTGCAGCTGGCTGGTGACGAAGCCCGGAGCTGGGACCAGCAGCTCCCA 1653
 1689 CTTCTGCATCGTCCAGGACGGGGACCACTGCGCCGCGTGCCGCGCTTACG 1738
 || | | | ||| | ||| | ||| |
 1654 CTGGGTATGGTGGTTTCTCTCAGGGAGCCTCGTCATCGTCATTGTTGCT 1703
 1739 CCACCTCCAGCCCGGGCCAGAGGTGCAGAAGGGAGGCACCGAGAGTCAG 1788
 |||| ||| | ||| | ||| | ||| |
 1704 CCACAGTTGGCCTAATCATATGTGTGAAAAGAAGAAAGCCAAGGGGTGAT 1753
 1789 GACACCCTGTGTCAGAACTGCCCCCGG...GGACCTTCTCTCCCAATGG 1835
 | | | ||| ||| ||| ||| ||| |||
 1754 GTAGTCAAGGTGATCGTCTCCGTCCAGGTATTGATCCTCCTCCCCCTCTC 1803
 1836 GACCCTGGAGGAATGTCAGCACCAGACCAATTGGCCTAATCATATGTGTG 1885
 || | ||| ||| | ||| ||| |||
 1804 CCTCCCCCTCCACCTTCCACCTCCCTCTCCCGCTGGGGCTGGTGTG 1853
 1886 AAAAGAAGAAAGCCAAGGGG...TGAGCACAGGTGGCCCATCAGGGTT 1932
 | | | ||| ||| ||| ||| ||| |||
 1854 TCTGGTGTACATGGTGGGGCTCCAGTTCTCTGAGGGTCCTGAGTCTTT 1903
 1933 CATGTCCCCAGCCGTACCTCTTGGAGCTCTGTACCCCAAGCCTGGGAG 1982
 || || | || | ||| | | ||| ||| |
 1904 CAAGTACAGCCACGGTAGCTCAGGAA.....AGAACCACCCCTCAAA 1947

FIG.15D

【図15E】

1983 GTGGCCCCAGAGCTTTTCCAGGATCCGCGGCTCCTCCCAGGGCAGCCACT 2032
 || ||| | | ||||||| |||
 1948 CTGAAAGCAGTAAAATGAACCCGAGAACCTGGAGTCCCAGGGGGGCCTGA 1997

 2033 GCAGGCTGGGGCAGGTGTATGTAGTCAAGGTGATCGTCTCCGTCCAGCGG 2082
 ||||| ||| | || ||||| | |||||
 1998 GCAGGCAGGGTCTCCACGAT.....TCGTGTGCTCACAGCGG 2034

 2083 TAAAAGACAGGAGGCAGAAGGTGAGGCCACAGTCATTGA.GCCCTGCAGG 2131
 |||
 2035 GAAAAGACAGGAGGCAGAAGGTGAGGCCACAGTCATTGAGGCCCTGCAGG 2084

 2132 CCCCTCCGGACGTCAACCACGGTGGCCGTGGAGGAGACAATACCCTCATTC 2181
 |||
 2085 CCCCTCCGGACGTCAACCACGGTGGCCGTGGAGGAGACAATACCCTCATTC 2134

 2182 AC.GGGGAGGAGCCCAAACCACTGACCCACAGACTCTGCACCCCGACGCC 2230
 || |||
 2135 ACGGGGAGGAGCCCAAACCACTGACCCACAGACTCTGCACCCCGACGCC 2184

 2231 AGAGATACCTGGAGAGACGGCTGCTGATAGAGGCTGTCCACCTGGCGAAA 2280
 ||||||||||||| ||||||||| |||||||||
 2185 AGAGATACCTGGAGCGACGGCTGCTGAAAGAGGCTGTCCACCTGGCGAAA 2234

 2281 CCACCGGAGCCCGAGGCTTGGGGGCTCCGCCCTGGGCTGGTTTCCGTCT 2330
 ||||||||| ||||||||| |||||||||
 2235 CCACCGGAGCCCGAGGTTTGGGGGCTCCGCCCTGGGCTGGTTTCCGTCT 2284

 2331 CCTCCAGTGGAGGGAGAGGTGGTGCCCTGCTGGTGGTAGAGCTGGGGAC 2380
 ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
 2285 CCTCCAGTGGAGGGAGAGGTGGGGCCCTGCTGG.GGTAGAGCTGGGGAC 2333

 2381 GCCACGTGCCATTCCCATGGTTCAAGTGAGGGGCTGGTGGCCTCTGTTCTG 2430
 ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
 2334 GCCACGTGCCATTCCCATGGGCCAGTGAGGGCCTGG.GGCCTCTGTTCTG 2382

 2431 CTGTGGCCTGAGCTCCCCAGAGTCCTGAGGAGGAGCCCCAGTTGCCCTC 2480
 ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
 2383 CTGTGGCCTGAGCTCCCCAGAGTCCTGAGGAGGAGCGCCAGTTGCCCTC 2432

FIG.15E

【図15F】

2481 GCTCACAGACCACACACCCAGCCCTCCTGGG.CCAACCCAGAGGCCCTT 2529
 |||||
 2433 GCTCACAGACCACACACCCAGCCCTCCTGGGTCCAGCCCAGAGGGCCCTT 2482
 2530 CAGACCCAGCTGTCTGCGCGTCTGACTCTTGTGGCCTCAGCAGGACAGG 2579
 |||||
 2483 CAGACCCAGCTGTCTGCGCGTCTGACTCTTGTGGCCTCAGCAGGACAGG 2532
 2580 CCCCAGGCACTGCCTCACAGCCAAGGCTGGAATGGGTTGGCTGCAGTGTG 2629
 |||||
 2533 CCCCAGGCACTGCCTTCAAGCCAAGGCTGGACTGGGTTGGCTGCAGTGTG 2582
 2630 GTGTTTAGTGGATACCACATCGGAAGTGATTTTCTAAAAATTGGATTTGA 2679
 |||||
 2583 GTGTTTAGTGGATACCACATCGGAAGTGATTTTCTAAA.....TTGG 2624
 2680 ATTCGGAACAAAAA 2692
 |||||
 2625 ATTTGAAAAACAAAA 2637

FIG.15F

【図17】

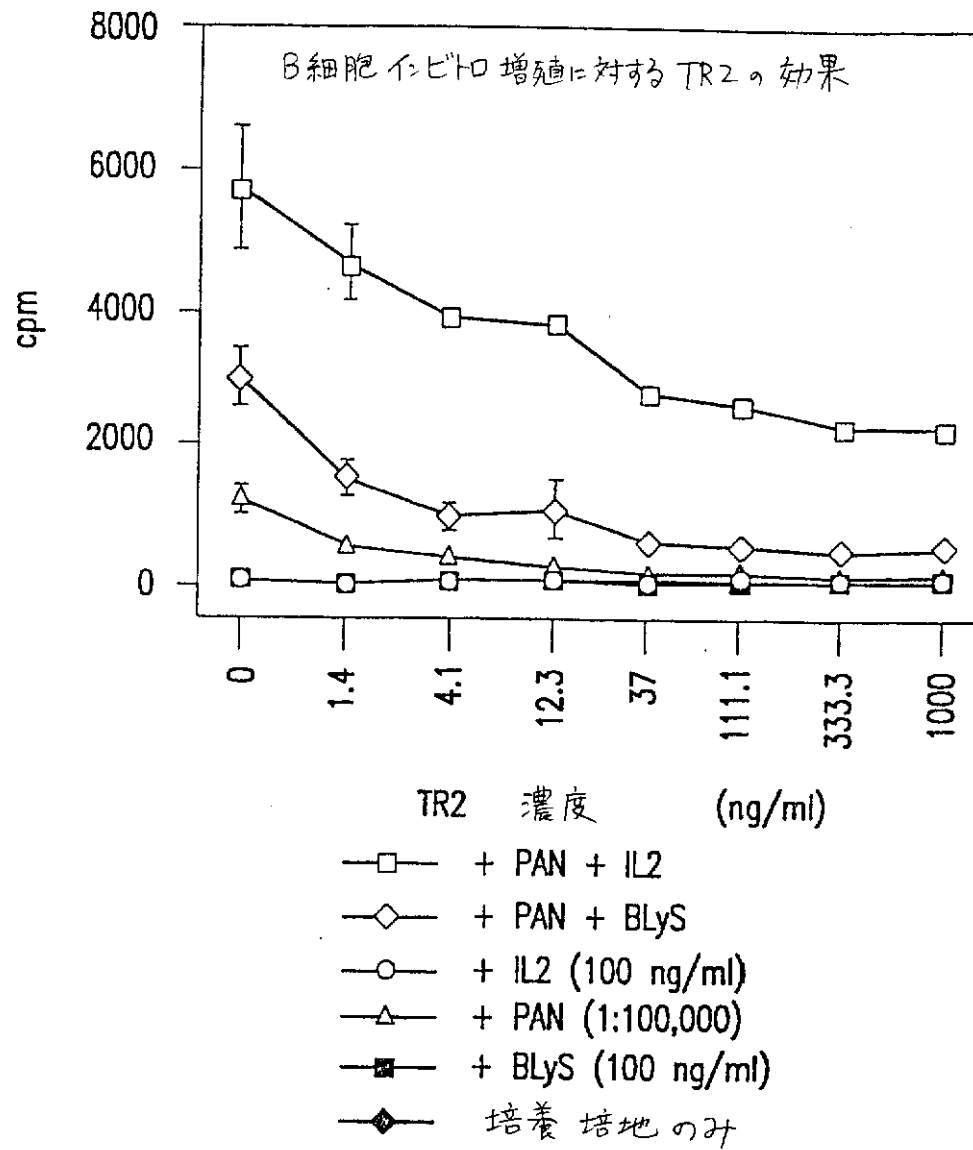


FIG.17

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 A61P37/00 A61P35/00 A61K39/395 A61K38/17 A61K45/06 //A61K48/00, (A61K39/395, 38:17), (A61K39/395, 38:13), (A61K39/395, 38:14), (A61K39/395, 38:04), (A61K39/395, 31:00) According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		Int. Application No. PCT/US 00/07521
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 A61K A61P C07K Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, PAJ, STRAND, BIOSIS, MEDLINE		
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 51346 A (SMITHKLINE BEECHAM CORPORATION) 19 November 1998 (1998-11-19) claims 1-6 page 1, line 21 - line 28 ---	1-40
A	WO 97 06251 A (LEK TOVARNA FARMACEVTSKIH) 20 February 1997 (1997-02-20) claims 1-33 page 26, line 10 - line 15 ---	1-40
A	WALLACE C A ET AL: "Predicting remission in juvenile rheumatoid arthritis with methotrexate treatment." JOURNAL OF RHEUMATOLOGY, (1993 JAN) 20 (1) 118-22. XP000946736 the whole document --- -/--	1-18
☒ Further documents are listed in the continuation of box C. ☒ Patent family members are listed in annex.		
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "8" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 5 October 2000		Date of mailing of the international search report 20/10/2000
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Le Flao, K

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int'l. Application No.
PCT/US 00/07521

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 91 02078 A (PEPTIDE TECHNOLOGY LTD) 21 February 1991 (1991-02-21) claims 23-26 ---	19-34
A	KWON BYOUNG S ET AL: "A newly identified member of the tumor necrosis factor receptor superfamily with a wide tissue distribution and involvement in lymphocyte activation." JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, vol. 272, no. 22, 1997, pages 14271-14276, XP002149343 ISSN: 0021-9258 page 14273, left-hand column, line 23 - line 45 page 14275; figure 4 ---	30-34
T	FORRE O ET AL: "New treatment possibilities in rheumatoid arthritis." SCANDINAVIAN JOURNAL OF RHEUMATOLOGY, (2000) 29 (2) 73-84. REF: 113 , XP000946746 the whole document ---	1-18
T	KEYSTONE E C: "The role of tumor necrosis factor antagonism in clinical practice." JOURNAL OF RHEUMATOLOGY, (1999 MAY) 26 SUPPL 57 22-8. REF: 20 , XP000946828 the whole document -----	1-40

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

 International Application No
 PCT/US 00/07521

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9851346 A	19-11-1998	EP 1009431 A	21-06-2000
WO 9706251 A	20-02-1997	SI 9500249 A	30-06-1997
		SI 9600206 A	31-12-1997
		AU 703091 B	18-03-1999
		AU 6634596 A	05-03-1997
		EP 0846169 A	10-06-1998
WO 9102078 A	21-02-1991	AU 640400 B	26-08-1993
		AU 6145490 A	11-03-1991
		EP 0486526 A	27-05-1992
		CA 2064915 A	08-02-1991
		DE 69027121 D	27-06-1996
		DE 69027121 T	14-11-1996
		DK 486526 T	24-06-1996
		US 5644034 A	01-07-1997

フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テーマコード [*] (参考)
A 6 1 K 38/00		A 6 1 K 45/00	4 C 0 8 6
45/00		48/00	4 C 0 8 7
48/00		A 6 1 P 19/02	4 H 0 4 5
A 6 1 P 19/02		29/00	
29/00		35/00	
35/00		37/04	
37/04		G 0 1 N 33/15	Z
G 0 1 N 33/15		33/50	Z
33/50		33/53	D
33/53		33/566	
33/566		33/577	B
33/577		C 0 7 K 14/715	
// C 0 7 K 14/715		16/18	
16/18		C 1 2 P 21/08	
C 1 2 N 15/09	ZNA	A 6 1 K 37/02	
C 1 2 P 21/08		C 1 2 N 15/00	ZNAA
(31)優先権主張番号	6 0 / 1 3 5, 1 6 9		
(32)優先日	平成11年5月20日(1999. 5. 20)		
(33)優先権主張国	米国 (US)		
(31)優先権主張番号	6 0 / 1 4 7, 3 8 3		
(32)優先日	平成11年8月6日(1999. 8. 6)		
(33)優先権主張国	米国 (US)		
(81)指定国	EP(AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AP(GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW		
(72)発明者	ニ, ジアン		
	アメリカ合衆国 メリーランド 20853,		
	ロックビル, マナーフィールド ロー		
	ド 5502		

(72)発明者 ローゼン, クレイグ エイ.
アメリカ合衆国 メリーランド 20882,
レイトンズビル, ローリング ヒル
ロード 22400

(72)発明者 ジェンツ, レイナー エル.
アメリカ合衆国 メリーランド 20850,
ロックビル, マウント プロスペクト
ドライブ 13608

F ターム(参考) 2G045 AA40 CB01 DA12 DA13 DA36
DA77 DA78 FB02 FB03
4B024 AA01 AA11 BA63 CA04 DA02
DA06 EA04 EA06 GA11 GA18
GA19 HA12 HA15
4B064 AG27 CA10 DA05 DA08 DA14
4C084 AA01 AA02 AA13 AA16 BA01
BA02 BA08 BA22 BA41 CA18
CA53 CA59 DA53 MA02 MA22
MA28 MA32 MA35 MA37 MA43
MA52 MA55 MA56 MA59 MA60
MA63 MA66 NA14 ZA962
ZB092 ZB112 ZB262
4C085 AA13 AA14 AA16 BA99 BB42
CC22 CC23 GG01 GG08
4C086 AA01 AA02 EA16 MA02 MA22
MA23 MA28 MA32 MA35 MA37
MA41 MA43 MA52 MA55 MA59
MA60 MA63 MA66 NA14 ZA96
ZB09 ZB11 ZB26
4C087 AA01 AA02 BB48 CA04 MA02
MA17 MA22 MA23 MA28 MA32
MA52 MA55 MA59 MA60 MA63
MA66 NA14 ZA96 ZB09 ZB11
ZB26
4H045 AA10 AA11 AA30 CA41 DA50
DA76 DA86 EA22 EA28 FA74

专利名称(译)	人肿瘤坏死因子受体样2		
公开(公告)号	JP2002540083A	公开(公告)日	2002-11-26
申请号	JP2000606303	申请日	2000-03-22
[标]申请(专利权)人(译)	人类基因科学公司		
申请(专利权)人(译)	人类Jinomu科学公司		
[标]发明人	ニジアン ローゼンクレイグエイ ジェンツレイナーエル		
发明人	ニ, ジアン ローゼン, クレイグ エイ. ジェンツ, レイナー エル.		
IPC分类号	G01N33/50 A61K31/713 A61K35/36 A61K38/00 A61K39/00 A61K39/395 A61K45/00 A61K45/06 A61K48/00 A61P19/02 A61P29/00 A61P35/00 A61P37/00 A61P37/04 C07K14/705 C07K14/715 C07K16/18 C07K16/28 C12N15/09 C12P21/08 G01N33/15 G01N33/53 G01N33/566 G01N33/577		
CPC分类号	A61K39/395 A61K39/39533 A61K45/06 A61K48/00 A61K2039/505 A61P19/02 A61P29/00 C07K14 /70578 C07K16/2878 C07K2317/622 C07K2319/00 C12N2799/026 A61K38/177 A61K38/13 A61K31 /00 A61K38/14 A61K38/04 A61K2300/00		
FI分类号	A61K39/395.U A61K39/395.D A61K39/395.Y A61K31/713 A61K35/36 A61K45/00 A61K48/00 A61P19 /02 A61P29/00 A61P35/00 A61P37/04 G01N33/15.Z G01N33/50.Z G01N33/53.D G01N33/566 G01N33 /577.B C07K14/715 C07K16/18 C12P21/08 A61K37/02 C12N15/00.ZNA.A		
F-TERM分类号	2G045/AA40 2G045/CB01 2G045/DA12 2G045/DA13 2G045/DA36 2G045/DA77 2G045/DA78 2G045 /FB02 2G045/FB03 4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/BA63 4B024/CA04 4B024/DA02 4B024/DA06 4B024/EA04 4B024/EA06 4B024/GA11 4B024/GA18 4B024/GA19 4B024/HA12 4B024/HA15 4B064 /AG27 4B064/CA10 4B064/DA05 4B064/DA08 4B064/DA14 4C084/AA01 4C084/AA02 4C084/AA13 4C084/AA16 4C084/BA01 4C084/BA02 4C084/BA08 4C084/BA22 4C084/BA41 4C084/CA18 4C084 /CA53 4C084/CA59 4C084/DA53 4C084/MA02 4C084/MA22 4C084/MA28 4C084/MA32 4C084/MA35 4C084/MA37 4C084/MA43 4C084/MA52 4C084/MA55 4C084/MA56 4C084/MA59 4C084/MA60 4C084 /MA63 4C084/MA66 4C084/NA14 4C084/ZA962 4C084/ZB092 4C084/ZB112 4C084/ZB262 4C085 /AA13 4C085/AA14 4C085/AA16 4C085/BA99 4C085/BB42 4C085/CC22 4C085/CC23 4C085/GG01 4C085/GG08 4C086/AA01 4C086/AA02 4C086/EA16 4C086/MA02 4C086/MA22 4C086/MA23 4C086 /MA28 4C086/MA32 4C086/MA35 4C086/MA37 4C086/MA41 4C086/MA43 4C086/MA52 4C086/MA55 4C086/MA59 4C086/MA60 4C086/MA63 4C086/MA66 4C086/NA14 4C086/ZA96 4C086/ZB09 4C086 /ZB11 4C086/ZB26 4C087/AA01 4C087/AA02 4C087/BB48 4C087/CA04 4C087/MA02 4C087/MA17 4C087/MA22 4C087/MA23 4C087/MA28 4C087/MA32 4C087/MA52 4C087/MA55 4C087/MA59 4C087 /MA60 4C087/MA63 4C087/MA66 4C087/NA14 4C087/ZA96 4C087/ZB09 4C087/ZB11 4C087/ZB26 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA30 4H045/CA41 4H045/DA50 4H045/DA76 4H045/DA86 4H045 /EA22 4H045/EA28 4H045/FA74		
优先权	60/125683 1999-03-22 US 60/126522 1999-03-26 US 60/135169 1999-05-20 US 60/147383 1999-08-06 US		
外部链接	Espacenet		
摘要(译)			

本发明涉及受体的肿瘤坏死因子家族的新成员。本发明提供了编码人 TR2受体及其两个剪接变体的分离的核酸分子。还提供了TR2多肽，以及载体，宿主细胞和产生它们的重组方法。本发明进一步涉及用于鉴定 TR2受体活性的激动剂和拮抗剂的筛选方法。还提供了用于检测与TR2受体的异常表达有关的疾病状态的诊断方法。还提供了用于治疗与表达 TR2受体的细胞的异常增殖和分化有关的疾病状态的治疗方法。