

(19)日本国特許庁 ( J P )

(12) **公表特許公報** ( A ) (11)特許出願公表番号

**特表2003 - 520604**

(P2003 - 520604A)

(43)公表日 平成15年7月8日(2003.7.8)

(51) Int.Cl <sup>7</sup>	識別記号	F I	テ-マコード* (参考)
C 1 2 N 15/09	ZNA	A 6 1 K 39/00	H 2 G 0 4 5
A 6 1 K 39/00			Z 4 B 0 2 4
		39/39	4 B 0 6 3
39/39		48/00	4 B 0 6 4
48/00		A 6 1 P 35/00	4 B 0 6 5
審査請求 未請求 予備審査請求 (全 36数) 最終頁に続く			

(21)出願番号 特願2001 - 554418(P2001 - 554418)

(86)(22)出願日 平成13年1月3日(2001.1.3)

(85)翻訳文提出日 平成14年7月12日(2002.7.12)

(86)国際出願番号 PCT/US01/00153

(87)国際公開番号 W001/055389

(87)国際公開日 平成13年8月2日(2001.8.2)

(31)優先権主張番号 09/493,914

(32)優先日 平成12年1月28日(2000.1.28)

(33)優先権主張国 米国(US)

(71)出願人 ラドウィック インスティテュート フォ  
ア キャンサー リサーチ

アメリカ合衆国 ニューヨーク州 10158、  
ニューヨーク、サード アベニュー 605

(71)出願人 コーネル リサーチ ファウンデーション

アメリカ合衆国 ニューヨーク州 11850

イザカ、ソーンウッド ドライブ 20

(71)出願人 メモリアル スローン - ケッタリング キ

ャンサー センター

アメリカ合衆国 ニューヨーク 10021、

ニューヨーク、ヨーク アベニュー 127

5

(74)代理人 弁理士 鈴木 崇生 (外3名)

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 癌関連抗原をコードする単離された核酸分子、癌関連抗原そのものおよびそれらの使用

(57)【要約】

本発明は、単離された、癌関連抗原、核酸分子、およびそれらの種々の使用に関する。

**【特許請求の範囲】**

【請求項1】 C末端アミノ酸配列がCSGCAKSである癌関連抗原をコードし、かつ相補配列がストリンジェントな条件で配列番号1にハイブリダイズする単離された核酸分子。

【請求項2】 配列番号1のヌクレオチド配列を含む請求項1の単離された核酸分子。

【請求項3】 配列番号1のヌクレオチド48～683によって規定されるヌクレオチド配列を含む請求項1の単離された核酸分子。

【請求項4】 配列番号3に記載のアミノ酸配列を持つタンパク質をコードするヌクレオチド配列を含む請求項1の単離された核酸分子。

【請求項5】 癌関連抗原をコードし、かつ相補配列が配列番号2にハイブリダイズする単離された核酸分子。

【請求項6】 配列番号2のヌクレオチド配列を含む請求項5の単離された核酸分子。

【請求項7】 配列番号2のヌクレオチド69～3116を含む請求項5の単離された核酸分子。

【請求項8】 配列番号2のヌクレオチド69～3116によってコードされるタンパク質をコードするヌクレオチド配列を含む請求項5の単離された核酸分子。

【請求項9】 プロモーターに作動可能に連結された請求項1の単離された核酸分子を含む発現ベクター。

【請求項10】 プロモーターに作動可能に連結された請求項5の単離された核酸分子を含む発現ベクター。

【請求項11】 請求項9または10の発現ベクターで形質転換またはトランスフェクトされた真核細胞系または原核細胞株。

【請求項12】 配列番号1または2によってコードされるアミノ酸配列の全部または一部を含む単離された癌関連抗原。

【請求項13】 配列番号3のアミノ酸配列を含む請求項12の単離された癌関連抗原。

【請求項14】 請求項1または5の単離された核酸分子で形質転換またはトランスフェクトされた真核細胞系または原核細胞株。

【請求項15】 サイトカインをコードする核酸分子でもトランスフェクトされる請求項14の真核細胞系または原核細胞株。

【請求項16】 MHC分子をコードする核酸分子によってさらにトランスフェクトされる請求項15の真核細胞系または原核細胞株。

【請求項17】 前記サイトカインがインターロイキンである請求項15の真核細胞系または原核細胞株。

【請求項18】 前記インターロイキンがIL-2、IL-4またはIL-12である請求項17の真核細胞系または原核細胞株。

【請求項19】 非増殖性にされている請求項14の真核細胞系または原核細胞株。

【請求項20】 線維芽細胞系である請求項14の真核細胞系。

【請求項21】 突然変異ウイルスまたは弱毒化ウイルスと請求項1または5の単離された核酸分子とを含む発現ベクター。

【請求項22】 前記ウイルスがアデノウイルスまたはワクシニアウイルスである請求項21の発現ベクター。

【請求項23】 前記ウイルスがワクシニアウイルスである請求項22の発現ベクター。

【請求項24】 前記ウイルスがアデノウイルスである請求項22の発現ベクター。

【請求項25】 (i) 請求項12の単離された癌関連抗原をコードする核酸分子を含む第1ベクターと、(ii)(a) 前記癌関連抗原に由来する抗原を提示するMHCまたはHLA分子をコードする核酸分子を含むベクターおよび(b) インターロイキンをコードする核酸分子を含むベクターからなる群より選択される第2ベクターとを含む、細胞のトランスフェクションに有用な発現系。

【請求項26】 請求項12の単離された癌抗原と医薬的に許容できるアジュバントとを含む免疫原組成物。

【請求項27】 前記アジュバントがサイトカイン、サポニンまたはGM-

C S Fである請求項26の免疫原組成物。

【請求項28】 請求項12の単離された癌関連抗原中で互いにつながっている8～12アミノ酸のアミノ酸配列からなる少なくとも1つのペプチドと、医薬的に許容できるアジュバントとを含む免疫原組成物。

【請求項29】 前記アジュバントがサポニン、サイトカインまたはGM - C S Fである請求項28の免疫原組成物。

【請求項30】 特定のM H C分子と複合体を形成する複数のペプチドを含む請求項27の免疫原組成物。

【請求項31】 配列番号1または2によってコードされるアミノ酸配列に由来するペプチドをコードする少なくとも1つの発現ベクターを含む免疫原組成物。

【請求項32】 前記少なくとも1つの発現ベクターが複数のペプチドをコードする請求項31の免疫原組成物。

【請求項33】 請求項14の単離された真核細胞系と薬学的に許容できるアジュバントとを含む、癌状態に苦しむ処置対象の処置に有用なワクチン。

【請求項34】 前記真核細胞系が非増殖性にされている請求項33のワクチン。

【請求項35】 前記真核細胞系がヒト細胞系である請求項34のワクチン。

。

【請求項36】 配列番号1または2によってコードされるアミノ酸配列に由来するペプチドを表面に発現させている非増殖性細胞系を含む、癌状態の処置に有用な組成物。

【請求項37】 前記細胞系がヒト細胞系である請求項36の組成物。

【請求項38】 ( i ) 配列番号1または2によってコードされるアミノ酸配列に由来するペプチド、( i i ) M H CまたはH L A分子、および( i i i ) 医薬的に許容できる担体を含む、癌状態の処置に有用な組成物。

【請求項39】 請求項12の癌抗原に特異的な単離された抗体。

【請求項40】 モノクローナル抗体である請求項39の単離された抗体。

【請求項41】 試料中の癌に関するスクリーニング方法であって、前記試

料を配列番号1または2によってコードされる分子の全部または一部にハイブリダイズする核酸分子と接触させ、前記試料中の癌細胞の指標としてハイブリダイゼーションを決定することを含む方法。

【請求項42】 試料中の癌に関するスクリーニング方法であって、前記試料を請求項39の単離された抗体と接触させ、癌の指標として、ターゲットに対する前記抗体の結合を決定することを含む方法。

【請求項43】 診断対象の癌状態を診断する方法であって、前記診断対象の免疫活性細胞含有試料を、請求項1または5の単離された核酸分子でトランスフェクトされた細胞系と接触させ、前記トランスフェクト細胞系と前記免疫活性細胞との相互作用を決定することを含み、前記相互作用が前記癌状態の指標である方法。

【請求項44】 癌状態の後退、進行または発症を決定する方法であって、前記癌状態を持つ患者から採取した試料を、(i)配列番号1または2によってコードされるタンパク質、(ii)前記タンパク質に由来するペプチド、(iii)前記ペプチドおよびそれと非共有結合的に複合体を形成するMHC分子に特異的な細胞溶解性T細胞、ならびに(iv)前記タンパク質に特異的な抗体からなる群より選択されるパラメーターに関してモニターすることを含み、前記パラメーターの量が前記癌状態の進行または後退または発症の指標である方法。

【請求項45】 前記試料が体液または浸出物である請求項44の方法。

【請求項46】 前記試料が組織である請求項44の方法。

【請求項47】 前記試料を前記タンパク質またはペプチドと特異的に結合する抗体と接触させることを含む請求項44の方法。

【請求項48】 前記抗体が放射性ラベルまたは酵素で標識される請求項47の方法。

【請求項49】 前記抗体がモノクローナル抗体である請求項47の方法。

【請求項50】 前記タンパク質をコードするRNAを増幅することを含む請求項44の方法。

【請求項51】 前記増幅がポリメラーゼ連鎖反応を行うことを含む請求項50の方法。

【請求項52】 前記試料を、前記タンパク質をコードするかまたは発現させる核酸分子に特異的にハイブリダイズする核酸分子と接触させることを含む請求項44の方法。

【請求項53】 前記核酸分子が配列番号4または5を含む請求項52の方法。

【請求項54】 脱落したタンパク質に関して前記試料をアッセイすることを含む請求項44の方法。

【請求項55】 前記試料をタンパク質と接触させることによって、前記タンパク質に特異的な抗体に関して、前記試料をアッセイすることを含む請求項44の方法。

【請求項56】 癌状態を診断する方法であって、配列番号1または2によってコードされるタンパク質に由来するペプチドがMHC分子と複合体を形成したものに特異的な免疫活性細胞に関して、診断対象から採取した試料をアッセイすることを含み、前記免疫活性細胞の存在が前記癌状態の指標である方法。

【請求項57】 請求項12の単離された癌関連抗原中で互いにつながっている8～25アミノ酸のアミノ酸配列からなる少なくとも1つのペプチドと、医薬的に許容できるアジュバントとを含む組成物。

【請求項58】 前記アジュバントがサポニン、サイトカインまたはGM-CSFである請求項57の組成物。

【請求項59】 複数のMHC結合ペプチドを含む請求項57の組成物。

【請求項60】 請求項12の単離された癌関連抗原中で互いにつながっている8～25アミノ酸のアミノ酸配列からなる少なくとも1つのペプチドをコードする発現ベクターと、医薬的に許容できるアジュバントとを含む組成物。

【請求項61】 前記発現ベクターが複数のペプチドをコードする請求項60の組成物。

【請求項62】 病理学的状態が存在する可能性に関するスクリーニング方法であって、配列番号1または2によってコードされる癌関連抗原の少なくとも1つに特異的な抗体に関して、病理学的状態を持つと考えられる患者から採取した試料をアッセイすることを含み、前記抗体の存在が、前記病理学的状態が存在

する可能性の指標である方法。

【請求項63】 前記病理学的状態が癌である請求項62の方法。

【請求項64】 前記癌がメラノーマである請求項62の方法。

【請求項65】 前記試料を配列番号1または2によってコードされる精製された癌関連抗原と接触させることをさらに含む請求項64の方法。

【請求項66】 検査対象に病理学的状態が存在する可能性に関するスクリーニング方法であって、配列番号1または2を含むヌクレオチド配列を持つ核酸分子の発現に関して、前記検査対象から採取した試料をアッセイすることを含み、前記核酸分子の発現が、前記病理学的状態が存在する可能性の指標である方法。

【請求項67】 前記病理学的状態が癌である請求項66の方法。

【請求項68】 ポリメラーゼ連鎖反応によって発現を決定することを含む請求項66の方法。

【請求項69】 前記試料を配列番号4または5の少なくとも1つと接触させることによって発現を決定することを含む請求項66の方法。

【請求項70】 癌状態の後退、進行または発症を決定する方法であって、前記癌状態を持つ患者から採取した試料を、(i)配列番号1または2によってコードされる癌関連抗原、(ii)前記癌関連抗原に由来するペプチド、(iii)前記ペプチドおよびそれと非共有結合的に複合体を形成するMHC分子に特異的な細胞溶解性T細胞、ならびに(iv)前記癌関連抗原に特異的な抗体からなる群より選択されるパラメーターに関してモニターすることを含み、前記パラメーターの量が前記癌状態の進行または後退または発症の指標である方法。

【請求項71】 前記試料が体液または浸出物である請求項70の方法。

【請求項72】 前記試料が組織である請求項70の方法。

【請求項73】 前記試料を前記タンパク質またはペプチドと特異的に結合する抗体と接触させることを含む請求項70の方法。

【請求項74】 前記抗体が放射性ラベルまたは酵素で標識される請求項73の方法。

【請求項75】 前記抗体がモノクローナル抗体である請求項73の方法。

【請求項76】 前記タンパク質をコードするRNAを増幅することを含む請求項70の方法。

【請求項77】 前記増幅がポリメラーゼ連鎖反応を行うことを含む請求項76の方法。

【請求項78】 前記試料を、前記タンパク質をコードするかまたは発現させる核酸分子に特異的にハイブリダイズする核酸分子と接触させることを含む請求項70の方法。

【請求項79】 脱落した癌関連抗原に関して前記試料をアッセイすることを含む請求項70の方法。

【請求項80】 前記試料を前記癌関連抗原と接触させることによって、前記癌関連抗原に特異的な抗体に関して、前記試料をアッセイすることを含む請求項70の方法。

【請求項81】 癌状態に関するスクリーニング方法であって、配列番号1または2によってコードされる癌関連抗原に由来するペプチドがMHC分子と複合体を形成したものに特異的な免疫活性細胞に関して、検査対象から採取した試料をアッセイすることを含み、前記免疫活性細胞の存在が前記癌状態の指標である方法。

**【発明の詳細な説明】****【0001】****(発明の分野)**

本発明は癌に関連する抗原、それらをコードする核酸分子ならびにそれらの使用に関する。

**【0002】****(発明の背景と先行技術)**

例えば感染症、癌、自己免疫障害などといった多くの病理学的状態が、一定の分子の不適切な発現を特徴とすることは、かなり確立された事実である。したがって、これらの分子は特定の病理学的状態または異常状態の「マーカー」として役立つ。これらの分子は、診断上の「ターゲット」（すなわち、これらの異常状態を診断するために同定すべき物質）として使用される他、診断薬および/または治療薬を創出するために使用できる試薬としても役立つ。癌マーカーを使って特定のマーカーに特異的な抗体を産生させることはその一例であるが、決してこれに限るわけではない。また、MHC分子と複合体を形成するペプチドを使って、異常細胞に対する細胞溶解性T細胞を生成させることも、これに限るわけではない他の一例である。

**【0003】**

このような物質の製造は、もちろん、それらの生成に使用される試薬類の供給源を前提としている。細胞からの精製は面倒で確実というには程遠い一方法である。もう一つの好ましい方法は、特定のマーカーをコードする核酸分子を単離した後、単離されたコード分子を使って所望の分子を発現させることである。

**【0004】**

このような（例えばヒト腫瘍中の）抗原の検出には、2つの基本的戦略が使用されてきた。以下、これらの戦略を、遺伝学的アプローチおよび生化学的アプローチと呼ぶことにする。遺伝学的アプローチは、例えば参考文献として本明細書の一部を構成するde Plaenら, Proc. Natl. Sci. USA 85: 2275 (1988)などに、その例を見ることができる。このアプローチでは、腫瘍から得たcDNAライブラリーのプラスミド数百プールをCOS細胞

などの受容細胞または腫瘍細胞系の抗原陰性変異株にトランスフェクトし、それらの細胞を特定の抗原の発現について調べる。生物学的アプローチは、例えば参考文献として本明細書の一部を構成するO. Mandelboimら, *Nature* 369:69(1994)などにその例を見ることができるが、このアプローチは、腫瘍細胞のMHCクラスI分子に結合しているペプチドを酸溶出した後、逆相高速液体クロマトグラフィー(HPLC)を行うことに基づいている。抗原ペプチドは、抗原処理能力が欠損した突然変異細胞系の空のMHCクラスI分子にそれらの抗原ペプチドが結合し、細胞傷害性Tリンパ球との特異的応答を誘導することによって同定される。これらの特異的応答には、MTTアッセイや<sup>51</sup>Cr放出アッセイで測定することができる、CTL増殖の誘導、TNF放出およびターゲット細胞の溶解がある。

#### 【0005】

抗原の分子的定義を目的とする上記2つのアプローチには以下の欠点がある。すなわち、第1に、これらの方法は著しく煩雑であり、時間と費用を要する。第2に、これらの方法は、所定の特異性を持つ細胞傷害性T細胞系(CTL)の樹立に依存している。

#### 【0006】

抗原の同定および分子的定義を目的とする上記2つの既知のアプローチが本質的に抱えている上記の課題は、どちらの方法でもヒト腫瘍中の新規抗原を今までにごく少数しか定義づけることに成功していないという事実が如実に物語っている。例えばvan der Bruggenら, *Science* 254:1643-1647(1991)、Brichardら, *J. Exp. Med.* 178:489-495(1993)、Coullieら, *J. Exp. Med.* 180:35-42(1994)、Kawakamiら, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91:3515-3519(1994)などを参照されたい。

#### 【0007】

さらにまた上記の方法論は、問題にしている癌タイプの樹立永久細胞系が入手できることに依拠している。癌タイプによっては細胞系を樹立することが極めて

困難であることは、例えばOettgenら, Immunol. Allerg. Clin. North. Am. 10:607-637(1990)などに示されているとおりである。また、一部の上皮細胞タイプの癌はインビトロでCTLに対する感受性に乏しいため、常法による分析は不可能であることも知られている。これらの課題に促されて、当技術分野では、癌関連抗原の新たな同定方法の開発が行われてきた。

#### 【0008】

重要な方法論の一つは、参考文献として本明細書の一部を構成するSahinら, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92:11810-11913(1995)に記載されている。米国特許第5,698,396号(1995年6月7日出願)および米国特許出願第08/479,328号(1996年1月3日出願)もそれぞれ参照されたい。これら3つ全ての参考文献はいずれも本明細書の一部を構成する。要約すると、この方法ではcDNAライブラリーを原核宿主中で発現させる。(ライブラリーは腫瘍試料から獲得する)。次に、高力価の体液性応答を誘発する抗原を検出するために、発現させたライブラリーを希釈吸収血清によるイムノスクリーニングにかける。この方法論はSEREX法(「Serological identification of antigens by Recombinant Expression Cloning(組換え発現クローニングによる抗原の血清学的同定)」)と呼ばれている。この方法論は、新しい腫瘍関連抗原の検出に使用されていると共に、先に同定された腫瘍関連抗原の発現を確認するためにも使用されている。上記特許出願およびSahinらの文献(前掲)ならびにCrewら, EMBO J 144:2333-2340(1995)を参照されたい。

#### 【0009】

この方法論は、Sahinら(前掲)およびPfreundschuh(前掲)の文献に記載されている腫瘍タイプならびに食道癌(Chenら, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94:1914-1918(1997))、肺癌(Guereら, Cancer Res. 58:1034-1041(1998))、大腸癌(特許出願第08/948,705号(1997年10

月10日出願)) (これらは参考文献として本明細書の一部を構成する) を含む、一連の腫瘍タイプに応用されている。SEREX法によって同定された抗原には、SSX2分子 (Sahinら, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92:11810-11813 (1995)、Tureciら, Cancer Res. 56:4766-4772 (1996))、NY-ESO-1 (Chenら, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94:1914-1918 (1997)) およびSCP1 (特許出願第08/892,705号 (1997年7月15日出願)) がある (これらは参考文献として本明細書の一部を構成する)。SEREXによって同定された抗原の解析により、SEREXによって規定される抗原とCTLによって規定される抗原との重複が明らかになっている。MAGE-1、チロシナーゼおよびNY-ESO-1はいずれも、CTLだけでなく患者の抗体によっても認識されることが示されているので、体液性応答と細胞性応答は協調して作用することがわかる。

#### 【0010】

SEREXによる関連抗原の同定が望ましい目標であることは、この要約から明らかである。参考文献として本明細書の一部を構成する米国特許出願第09/451,739号 (1999年11月30日出願) では様々な抗原が同定され、それらをコードする核酸分子が単離されている。本発明者らは、上記の方法論を応用し、以下に詳述するように、いくつかの新しい癌関連抗原を同定した。

#### 【0011】

(好ましい態様の詳細な説明)

##### 実施例1

この実施例ではMz19細胞系を使用した。この細胞系はあるメラノーマ患者に由来し、後述する自己血清もこの患者から採取した。一般的なCsClグアニジンイソチオシアネート勾配法によって細胞試料から全RNAを抽出した。cDNAライブラリーを標準的方法に従ってZAP中に作製した。その結果得られた一次クローン $7 \times 10^5$ 個のライブラリーを、例えばSahinら, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92:11810-11813 (1995)、Chenら, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94:

1914 - 1918 (1997) および P f r e u n d s c h u h の米国特許第 5, 698, 396 号の S E R E X 方法論を使って分析した。これらの参考文献は全てそのまま本明細書の一部を構成する。詳しく述べると、自己血清試料を 1 : 10 に希釈し、Z A P をトランスフェクトしておいた大腸菌の溶菌液で前吸収し、さらに 1 ; 200 に希釈した後、130 mm プレート 1 枚あたり約 4 ~ 5000 p f u の密度のファージブランクを含むニトロセルロース膜と共に、室温で一晩インキュベートした。

#### 【0012】

そのフィルターを洗浄した後、アルカリホスファターゼ結合ヤギ抗ヒト F c 二次抗体と共にインキュベートした。反応性ファージブランクは、5 - プロモ - 4 - クロロ - 3 - インドリルホスフェートおよびニトロブルーテトラゾリウムと共にインキュベートすることによって可視化した。

#### 【0013】

合計 64 個の免疫活性クローンが同定された。これらをサブクローニングし、精製し、インビボで p B K - C M V プラスミドに切り出した。プラスミドを増幅し、DNA インサートを E c o R I - X b a I 制限酵素マッピングによって検査した。このマッピングによって異なる c D N A 分子に相当すると判断されたクローンを、標準的方法で配列決定した。

#### 【0014】

分析の結果、これらの陽性クローンは 43 個の異なる遺伝子に相当することがわかった。これらのうち 29 個は G E N B A N K 中のエントリーと同一であるか、または高度に相同だった。残りの 14 個は G E N B A N K 配列とは同源性を示さなかったが、様々な組織に見いだされた E S T と同じ配列のセグメントを持っていた。

#### 【0015】

以下の表 1 および表 2 にこれらの結果を要約する。

#### 【0016】

#### 【表 1】

## Mz19 cDNAライブラリーの自己SEREXスクリーニングによって同定された既知遺伝子

名称	クローン数	GenBank番号	遺伝子
NY-MEL-1	1	[M94043]	rab関連GTP結合タンパク質ホモログ
NY-MEL-2	1	[AF109718]	3番染色体サブテロメア領域
NY-MEL-3	1	[AF111423]	XCAP-Gホモログ
NY-MEL-4	1	[D26156]	転写活性化因子hSNF2b
NY-MEL-5	3	[NM002415]	マクロファージ遊走阻害因子
NY-MEL-6	1	[AF047826]	カドヘリン7
NY-MEL-7	1	[AF091083]	クローン628、X染色体
NY-MEL-8	2	[NM000362]	メタロプロテイナーゼ-3の組織阻害因子
NY-MEL-9	1	[NM004039]	リポコルチンII
NY-MEL-10	1	[AB002374]	KIAA0376
NY-MEL-11	1	[NM002574]	増殖関連遺伝子
NY-MEL-12	2	[NM006141]	ダイニン軽中間鎖2
NY-MEL-13	1	[NM001019]	リボソームタンパク質S15a
NY-MEL-14	1	[Z21852]	HERV-K LTR
NY-MEL-15	1	[X15183]	HSP90
NY-MEL-16	1	[D80012]	KIAA0190
NY-MEL-17	1	[X07270]	HSP86
NY-MEL-18	1	[L07872]	JK組換えシグナル結合タンパク質
NY-MEL-19	1	[NM006227]	リン脂質輸送タンパク質
NY-MEL-20	4	[NM004401]	DNA断片化因子、45kDa、 $\alpha$ -サブユニット
NY-MEL-21	1	[L22154]	リボソームタンパク質L37a
NY-MEL-22	1	[NM006395]	ユビキチン活性化酵素E1様タンパク質
NY-MEL-23	1	[NM001064]	トランスケトララーゼ
NY-MEL-24	9	[U11687]	30Sリボソームタンパク質S1ホモログ
NY-MEL-25	1	[NM000994]	リボソームタンパク質L32
NY-MEL-26	1	[Z71183]	コスミドN28H9染色体22q11.2
NY-MEL-27	1	[AF054183]	GTP結合タンパク質mRNA
NY-MEL-28	1	[NM000358]	TGF- $\beta$ が誘導する遺伝子産物
NY-MEL-29	1	[AF090384]	SUMO-1

【表2】

## Mz19 cDNAライブラリーの自己SEREXスクリーニング

によって同定された未知遺伝子

名称	クローン数	ESTの由来／RT-PCRの結果
NY-MEL-30	4	EST：全胎児、メラノサイト；RT-PCR：遍在性
NY-MEL-31	1	EST：脳、乳腺、副甲状腺腫瘍、結腸、MS；RT-PCR：遍在性
NY-MEL-32	1	EST：脳、妊娠子宮；RT-PCR：遍在性
NY-MEL-33	1	EST：扁桃腺（B細胞が豊富な胚中心）、メラノサイト；RT-PCR：遍在性
NY-MEL-34	1	EST：妊娠子宮、幼児脳、胎児心臓、CLL、眼、大動脈、胸部
NY-MEL-35	1	EST：メラノサイト、ウィルムス腫瘍、扁桃腺、副腎、胎児脾臓
NY-MEL-36	1	EST：前立腺、胎児肝臓、結腸腫瘍
NY-MEL-37	1	EST：小脳、マウス皮膚、マウス乳腺
NY-MEL-38	1	EST：HeLa細胞、マウス肝臓
NY-MEL-39	1	EST：結腸、卵巣癌、精巣、線維芽細胞
NY-MEL-40	1	EST：脳、網膜、胎盤、前立腺癌、妊娠子宮
NY-MEL-41	1	EST：脾臓、ニューロン、肝臓、ウィルムス腫瘍
NY-MEL-42	1	EST：腎臓、メラノサイト、胸部、精巣
NY-MEL-43	1	EST：妊娠子宮、膠芽腫、膵島

## 実施例2

上記表1でNY-MEL-8ないしNY-MEL-29と記した遺伝子は、広範囲にわたるヒト組織で発現することが知られている。14個の未知遺伝子のうち10個は、いくつかの正常組織から単離されたESTを表すことから、成体組織における遍在的mRNA発現が示唆される。残り7つの既知遺伝子（MEL1～7）と4つの未知遺伝子（MEL30～33）をさらに調べた。そのために、配列情報に基づいて、遺伝子特異的オリゴヌクレオチドプライマーを設計した。また、プライマーは、約65～70のプライマー融解温度を持ち、長さ300～600塩基対のセグメントが増幅されるように設計した。次に、60のアニリング温度、30回の増幅サイクルで、RT-PCRを行った。生成物を1.

5%ゲル電気泳動と臭化エチジウムによる可視化によって分析した。単離されたクローンを陽性対照として、5つの代表的正常組織（脳、結腸、腎臓、精巣、肝臓）を分析した。

#### 【0017】

その結果、上記4つの未知遺伝子は同じようなレベルで普遍的に発現されることがわかった。上記7つの既知遺伝子のうち、5つ（MEL-2およびMEL4~7）は同じようなレベルの普遍的発現を示した。上記既知遺伝子のうちの2つ、すなわちMEL-1およびMEL-3と記した遺伝子は、差次的な組織発現を示した。具体的に述べると、MEL-1（以下、配列番号1）はメラノーマ細胞系Mz19では強いRT-PCRシグナルを与え、精巣と癌では弱いシグナルを与え、脳、結腸および肝臓では陰性だった。MEL-3で示される遺伝子（以下、配列番号2）は精巣でのみ強いRT-PCRシグナルを与え、脳、結腸、肝臓および腎臓でのシグナルは陽性ではあるもの、弱かった。

#### 【0018】

##### 実施例3

配列番号1のmRNA発現パターンから、さらに多数の正常組織からなるパネルで評価を行うことにした。これはノーザンブロット解析によって行った。市販のポリA（2 $\mu$ g/レーン）マルチプルヒト組織ノーザンブロットティングキットを使用した。ブロットティングは、上記PCR産物に基づくランダムプライム<sup>32</sup>P標識プローブを使って行った。ハイブリダイゼーションは68 $^{\circ}$ Cで60分間行った後、高ストリンジェンシー洗浄（室温の2 $\times$ SSC/0.05%SDSで40分の後、50 $^{\circ}$ Cの0.1 $\times$ SSC/0.1%SDSで40分）を行い、次いでオートラジオグラフィーを行った。また、様々なメラノーマ細胞系についても、10 $\mu$ g/レーンの全RNAを用いて、ノーザンブロットティングを行った。

#### 【0019】

試験した17の正常組織試料のいずれにも目に見えるシグナルは見つからなかった。メラノサイト系統の細胞における発現を調べたところ、培養メラノサイト中の約1.6キロ塩基のmRNA種に強いシグナルが認められ、また、試験した7つのメラノーマ細胞系のうちの5つに、様々な弱いシグナルが認められた。こ

の優勢な発現から、配列番号1はメラノサイト分化抗原をコードすることが示唆された。

#### 【0020】

##### 実施例4

上に詳述した結果から、腫瘍試料を配列番号1の発現に関して型別するには、より簡単な方法でよいことが示唆された。そこで上記のプロトコルを使って、8つのメラノーマ細胞系について、RT-PCRアッセイを行った。上記の基準によれば、これらの細胞系のうちの7つは、配列番号1の発現に関して陽性だった。これらの結果をノーザンブロット解析と比較した。上記細胞系のうちの2つはノーザンブロット法でもRT-PCRでも陽性だった。2つの培養メラノサイトもRT-PCRで強く陽性だった。6つの乳癌細胞系はRT-PCRでは陰性だった。

#### 【0021】

これらの結果から、RT-PCRは、配列番号1の発現の決定に関して、ノーザンブロット法よりも高感度であることが示唆された。このことは、正常組織RNAをRT-PCRで調べることによって裏付けられた。精巣、腎臓、子宮、前立腺および膵臓組織を含むいくつかのノーザンブロット陰性組織は、弱～中等度のシグナルを与えた。ノーザンブロット法による試験に含めなかった副腎は、培養メラノサイトのシグナルに匹敵する陽性RT-PCRシグナルを与えた。

#### 【0022】

この研究に続いて、腫瘍組織のパネルを、やはり上述のようにして、RT-PCRで調べたところ、分析した19個のメラノーマ腫瘍標本のうち17個が陽性だった。12個の標本が中～強度のシグナルを与えた。肺癌試料の1つは陽性だったが、他の4つの肺癌、4つの結腸癌、4つの乳癌および4つの扁平上皮細胞癌は陰性だった。

#### 【0023】

配列番号1を解析すると、これは1407塩基対の分子であることがわかる。最初の47個の5'塩基対は翻訳されない。最後の724塩基対も同様に翻訳されず、その後ろには4ヌクレオチド長のポリA配列が続いている。これは、予想

分子量23,714キロダルトンの211アミノ酸からなる推定ポリペプチドをコードする636塩基対のオープンリーディングフレームを与える。

#### 【0024】

タンパク質モチーフの解析を行うと、rasスーパーファミリーのメンバー(ras、rab、rho、ran、arf)に特有な高度に保存された5つのGTP結合ドメインが明らかになる。GENBANKデータベースとの比較により、ラット、rab関連GTP結合タンパク質との相同性が確認され、その一致度はヌクレオチドレベルで81.5%、アミノ酸レベルで97%である。

#### 【0025】

ヒト分子の場合、配列番号1はrab32(GENBANK NM006834)に対する一致度が最も高く、アミノ酸一致度は75%で、標準的な保存的变化を施すと88%の相同性を示す。

#### 【0026】

配列番号1によってコードされるタンパク質(配列番号3にそのアミノ酸配列を記載する)は、そのカルボキシ末端が独特である。一般にrabタンパク質は、翻訳後脂質修飾(多くの場合、システイン残基のゲラニルゲラニルプレニル化)を可能にする「CC」、「CXC」または「CCXX」モチーフで終わっている。この疎水性修飾は、脂質膜との相互作用にとって機能上極めて重要である。しかし、配列番号3のアミノ酸配列は、rabタンパク質よりもrasタンパク質に近いCSGCAKSで終わっていた。このことから、異なる脂質修飾パターン、おそらくはカルボキシ末端システインでのファルネシルプレニル化と、上流システインでのパルミトイル化が示唆される。例えばDer, Meth. Enzymol 255:46-60(1995)を参照されたい。

#### 【0027】

##### 実施例5

上述した配列番号2も差次的発現を示した。この分子を解析すると、これは3198塩基対のcDNAであって、そのうち、5'末端にある68塩基と3'末端にある82塩基対とは、翻訳されないことがわかる。非翻訳3'末端の後ろには44ヌクレオチドのポリA配列が続いている。ORFは3048塩基対にわた

り、推定分子量114.3kDaの1015アミノ酸からなるポリペプチドをコードする。

#### 【0028】

相同性検索により、配列番号2は、アフリカツメガエル (*X. laevis*) 染色体関連ポリペプチド・グループG (GenBankアクセッション番号AF111423) のヒト対応物であることがわかった。この分子は、有糸分裂の初期段階に形成される13Sコンデンシン複合体の一部をなす染色体凝集タンパク質である。配列番号2はAF111423と28%のヌクレオチド一致度および59%のアミノ酸一致度を示す。

#### 【0029】

配列番号2の発現を上述のようにRT-PCRとノーザンブロット法で評価したところ、最も強いノーザンブロット法シグナルは精巣に見いだされ、胸腺には弱いシグナルが見いだされた。正常組織中に、他のシグナルは見いだされなかった。メラノーマ細胞系は、弱～中等度の強度を持つ様々なシグナルを示した。

#### 【0030】

RT-PCRの結果を調べたところ、試験したノーザンブロット陽性試料の全てRNAは陽性であり、精巣での発現が最も高かった。

#### 【0031】

上記の実施例では癌関連抗原をコードする核酸分子の単離を説明した。問題の分子がいくつかのタイプの癌によって発現されることは明らかであるが、ここではスクリーニングしなかった他の癌もこの抗原を発現させるかもしれないので、本明細書では「関連」という用語を使用する。

#### 【0032】

上述のように、本発明は、例えば配列番号1および2によってコードされる抗原をコードする核酸分子、ならびに核酸分子によってコードされる抗原、例えば配列番号3のアミノ酸配列を持つタンパク質および配列番号2の読み枠によってコードされるタンパク質に関する。本明細書に記載の抗原をコードする配列は全て本発明の一部であると理解すべきである。

#### 【0033】

また、配列番号2にストリンジェントな条件でハイブリダイズする単離された分子、または配列番号1にストリンジェントな条件でハイブリダイズし、かつそのC末端にアミノ酸配列CSGCAKSを有するタンパク質をコードする単離された分子も、本発明の一部である。本明細書で使用する「ストリンジェントな条件」とは、例えば参考文献として本明細書の一部を構成する米国特許第5,342,774号の実施例29に記載の条件と少なくとも同程度にストリンジェントな条件を指す。

#### 【0034】

また、プロモーターに対して作動可能な結合状態にある（すなわちプロモーターに「作動可能に連結された」）本発明の核酸分子を組み込んだ発現ベクターも、本発明の一部である。このようなベクター、例えばウイルス（例：アデノウイルスまたはワクシニアウイルス）ベクターまたは弱毒化ウイルスベクターの構築は、当分野の技術で十分に可能である。また、細胞の形質転換またはトランスフェクションによって、興味ある分子をコードする真核細胞系または原核細胞株を作製することも、同様に可能である。このような形で使用することができる宿主細胞の典型例はCOS細胞、CHO細胞、酵母細胞、昆虫細胞（例えばヨトウガ（*Spodoptera frugiperda*））、NIH3T3細胞などである。大腸菌および他の細菌などの原核細胞も使用することができる。これらの細胞はいずれも、さらなる核酸分子、例えばIL-2、4、6または12などのインターロイキンのようなサイトカイン、HLA分子またはMHC分子などをコードする核酸分子で形質転換またはトランスフェクトすることもできる。

#### 【0035】

また、本明細書に記載する抗原は、その原型もいかなる翻訳後修飾型も、本発明の一部である。翻訳後修飾を受けていない状態では、本分子は抗原性を示すのに十分な大きさを持つ。したがって本分子は、アジュバントと組み合わせると（またはアジュバントなしで）、前駆体型でも翻訳後修飾型でも、免疫原として有用である。これらの抗原を使って産生させた抗体はポリクローナル抗体でもモノクローナル抗体でも本発明の一部であり、また、これらの抗原に対するモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマも同様に本発明の一部である。本タンパク

質の全部または一部は、後述するように治療的に使用することができる。ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、反応性断片、例えばFab、F(ab)<sub>2</sub>、および他の断片ならびにキメラ抗体、ヒト化抗体、組換え生産抗体などのこの抗原に対する抗体も本発明の一部である。

#### 【0036】

本明細書から明らかなように、本発明のタンパク質および核酸分子は診断的に使用することができる。上述したSEREX法は病理関連抗原に対する免疫応答を前提としている。したがって、例えば被験者の血清などの体液試料を、抗原そのものとの反応性について調べることなどにより、関連する病変に関して検査することができる。反応性はその病変が存在する可能性を示すと見なされるだろう。また、当技術分野ではよく知られていてここに詳述する必要のない標準的核酸ハイブリダイゼーションアッセイにより、抗原の発現に関するアッセイを行うこともできるだろう。また、対象分子に対する抗体に関するアッセイも標準的な免疫アッセイ法によって行うことができるだろう。

#### 【0037】

配列番号1および2を解析すると、5'および3'非コード領域の存在が明らかになるだろう。本発明は、少なくともコードセグメントを含み、かつ非コード5'および3'部分の任意の部分または全てを含んでもよい単離された核酸分子に関する。

#### 【0038】

また、例えばオリゴヌクレオチドプライマーおよび/またはプローブなどとして使用することができる関連核酸分子の一部、例えば

```
c g a a g a g c a g   c a t a g g a a a g   a g t t a g
g a c a c t g t g t   t t c a c g t t g g   t c
```

(配列番号4および5)の1または複数も、本発明の一部である。上記の配列は、上記RT-PCR実験で配列番号1を増幅するために使用したオリゴヌクレオチドである。

#### 【0039】

上述したように、「CT」ファミリーの他のメンバーの研究により、これらは

細胞溶解性T細胞による溶解を誘発するペプチドにもプロセッシングされることがわかる。様々なMHCまたはHLA分子のモチーフについては多数の研究が行われており、それらは本発明に応用することができる。したがって本発明のさらなる一側面は、患者の腫瘍細胞の表面にあるHLA分子に結合する、本発明の抗原に由来する1または複数のペプチドを、前記ペプチドが前記MHC/HLA分子に結合してT細胞による溶解を誘発するのに十分な量で、患者に投与する治療方法である。ペプチドは任意に組合わせて使用することができる。単独でまたは組み合わせて使用することができるこれらのペプチド、ならびにタンパク質全体またはその免疫活性部分は、それを必要とする対象に、標準的な投与方法、例えば静脈内、皮内、皮下、経口、直腸および経皮投与などを用いて投与することができる。標準的な医薬担体、アジュバント、例えばサポニン、GM-CSFおよびインターロイキンなどを使用することもできる。さらに、これらのペプチドおよびタンパク質を本明細書に記載の物質、例えば適当なMHC/ペプチド複合体を提示する樹状細胞もしくは他の細胞などと共に処方して、ワクチンとすることもできる。

#### 【0040】

同様に本発明では、本発明のタンパク質をコードする核酸分子、それらのタンパク質に由来する1または複数のペプチドを、ワクシニアまたはアデノウイルス系ベクターなどのベクターに組み込んで、ヒト細胞などの真核細胞にトランスフェクトすることができるようにする治療法も考えられる。同様に、1または複数のペプチドをコードする核酸分子をこれらのベクターに組み込んで、それを核酸に基づく治療の主成分とすることもできる。

#### 【0041】

また、これらのアッセイはいずれも、進行/後退試験に使用することができる。上述した方法のいずれかまたは全てを使って本タンパク質、その発現、本タンパク質に対する抗体などのレベルをモニターするだけで、これらの抗原の発現が関与する異常の経過をモニターすることができる。

#### 【0042】

これらの方法論を治療計画の有効性を追跡する目的にも使用できることは、明

らかだろう。基本的には、上述したアッセイのいずれかを用いて興味あるタンパク質のベースライン値を測定し、所定の治療薬を投与した後、本タンパク質のレベルをモニターして、治療計画の有効性の証拠として、抗原レベルの変化を観察することができる。

#### 【0043】

上記のように本発明は、とりわけ、本発明の分子に対する「総合的」免疫応答の認識に関する。そこから派生する一つの効果は、癌治療の経過をモニターできることである。本発明の一部であるこの方法では、治療を必要とする対象に本明細書に記載するタイプのワクチン接種を施す。そのようなワクチン接種は、例えばその細胞上にHLA/ペプチド複合体を提示する細胞に対するT細胞応答を引き起す。応答には抗体応答も含まれるが、これはおそらくT細胞が細胞を溶解することによって抗体誘発タンパク質が放出される結果だろう。したがって、抗体応答をモニターすることにより、ワクチンの効果をモニターすることができる。上記のように、抗体価の増加はワクチンによる進歩の証拠と解釈することができ、逆もまた同様である。したがって、本発明のさらなる一側面は、ワクチンそのものに特異的な抗体またはワクチンをその一部とする大分子に特異的な抗体の被験者内でのレベルを決定することによって、ワクチン投与後のワクチンの有効性をモニターする方法である。

#### 【0044】

対象となるタンパク質は癌などの病理学的状態に関係することが確認されたことから、上述の治療的アプローチの他にも、多くの治療的アプローチが示唆される。上記の実験は、本タンパク質の発現に反応して抗体が産生されることを立証している。したがって本発明のさらなる一態様は、ヒト化抗体、抗体断片などの抗体の投与による、1または複数のタンパク質の異常または異常レベルを特徴とする状態の処置である。これらの抗体は、適当な細胞分裂抑制剤または細胞傷害剤を付加するか、それらで標識することができる。

#### 【0045】

T細胞を投与してもよい。例えば樹状細胞、リンパ球などの免疫応答細胞または他の任意の免疫応答細胞を使って、インビトロでT細胞を誘導した後、それを

処置対象に再灌流してもよいことに注目すべきである。

【0046】

T細胞および/または抗体の生成は、適切なT細胞またはB細胞エピトープ（例えば上述のエピトープ）を提示して応答を引き起こす細胞（好ましくは非増殖性になるように処理された細胞）を投与することによって達成することもできることに注目されたい。

【0047】

治療的アプローチには、アンチセンス分子（好ましくは10～100ヌクレオチド長のもの）を「ニート」で、または細胞への取り込みを容易にするためにリポソームなどの担体に入れて対象に投与し、よってタンパク質の発現を阻害するアンチセンス療法を含めることもできる。そのようなアンチセンス配列は適当なワクチンに、例えばウイルスベクター（例：ワクシニア）、細菌コンストラクト（例：既知のBCGワクチンの変異株）などに組み入れることもできる。

【0048】

本発明の他の特徴および応用例は当業者には明白であり、ここに説明する必要はないだろう。本明細書で使用した用語および表現は、説明を目的として使用したものであって、限定を目的とするものではなく、これらの用語および表現の使用に、上に示し説明した特徴またはその一部と等価なものを排除しようとする意図はなく、本発明の範囲内で様々な変更態様が可能であると考えられる。

【配列表】

<110> Jäger, Dirk  
 Stockert, Elizabeth  
 Jäger, Elke  
 Gure, Ali  
 Scanlan, Matthew J.  
 Knuth, Alexander  
 Old, Lloyd J.  
 Chen, Yao-Tseng

<120> Cancer Associated Antigen Encoding Nucleic Acid Molecules  
 and Uses Thereof

<130> LOD-5638

<140>

<141>

<160> 5

<210> 1

<211> 1407

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> Unsure

<222> 1165 .. 1390

<400> 1

```

ggctgcgctt cectggctcag gcacggcagc tetggccggc cgccaggatg caggccccgc 60
acaaggagca cctgtacaag ttgctggtga ttggcgacct gggcgtgggg aagaccagta 120
tcatcaagcg ctactgtcac cagaacttct cctcgcacta ccgggccaca atcggcgtgg 180
acttcgcgct caaggtgctc cactgggacc cggagactgt ggtgcgcctg cagctctggg 240
ataticcagg tcaagaaaga ttggaaaca tgacgagggt ctattaccga gaagctatgg 300
gtgcatttat tgtcttcgat gtcaccaggc cagccacatt tgaagcagtg gcaaagtgga 360
aaaatgattt ggactccaag ttaagtctcc ctaatggcaa accggtttca gtggttttgt 420
tggccaacaa atgtgaccag ggaaggatg tgctcatgaa caatggcctc aagatggacc 480
agttctgcaa ggagcacggt ttcgtaggat ggtttgaaac atcagcaaag gaaaatataa 540
acattgatga agcctccaga tgcttgggta aacacatact tgcaaagtga tgtgacctaa 600
tggagtctat tgagccggac gtcgtgaagc cccatctcac atcaaccaag gttgccagct 660
gctctggctg tgccaaatcc tagtaggcac ctttgetggt gtctggtagg aatgacctca 720
ttgttcaca aattgtgctt ctatttttac cttttgggt aaacgtcagg atagatatac 780
cacatgtggc aagccaaaga tctatgcctc tgttttttca atgagagaga aatagcaaat 840
gttctttcta tgccttcctc accatcatca cagtgtttac aaacttttga aatatttag 900
tcigttaaaa acttctgtca tgtagctgac caaaatcctg cagggccaca gtcggcactg 960
ttatttgctt cttttaatca gcaaaggcct caagtcttaa aataaaaggg gagaagaaca 1020

```

aactagctgt caagtcaagg actggctttc accttgccct ggtgtctttt tccagatttc 1080  
aatatattct ctgatggcct gacaggccta ttaagtagat gtgatatttt cttccaagat 1140  
gacctccatt ctggcgagac ctaanaagtt gcctctgagt tagctctttg gaatcgngaa 1200  
cacaggtgtg ctatattgnc cttgtotaac tgncacttgn catggcctga atgttggett 1260  
aactgaatat tnnatgaaaa gacatgcctt catatgtgcc tttttggtaa ctttctttga 1320  
ctnaacctng gggctccttt ttcattgcttt acatgtaaaa tatatatttt ttttttgag 1380  
gggaccattn aacctttaag gataaaa 1407

<210> 2  
<211> 3242  
<212> DNA  
<213> Homo sapiens  
<220>  
<221> Unsure  
<222> 3037 .. 3198  
<400> 2

ctgggttggc gggctggcag gctgtagcag agcgcgggca ggactcgtcc cggcagggtt 60  
ccagagccat gggagcggaa aggaggctgc tgtcgattaa ggaggccttt cggtcgggc 120  
agcagccgca ccagaaccag gcgaagctgg tgggtggcgt gagccgcacc taccgcacga 180  
tggatgataa gacagttttt catgaggagt tcattcatta ccttaaataat gttatgggtg 240  
tctataaacg tgaaccagct gtggagaggg taatagaatt tgcagcaaag tttgttacct 300  
catttcacca atcagatatg gaagatgatg aggaagagga agatggtggc cttttaaatt 360  
atltgtttac ttttctetta aagtctcatg aagcaaacag caatgcagtg agatttagag 420  
tgtgcctgct cataaacaag cttttgggaa gtatgccaga aaatgctcag attgatgatg 480  
atgtgtttga taaaattaat aaagccatgc ttattagatt gaaagataag attccaaatg 540  
tgagaataca ggcagttctg gcgctttcac gacttcagga tccaaggat gatgaatgcc 600  
cagtggttaa tgcattatgt accttgattg aaaatgattc aaatccagaa gttagacggg 660  
cagtgttatc atgtattgca ccatcagcaa agactttgcc aaaaattgta gggcgcacca 720  
aggatgtgaa agaggctgtc agaaagctgg cttatcaggt tttagctgaa aaggttcata 780  
tgagagctat gtccattgct cagagagtaa tgctccttca acaaggctctt aatgacagat 840  
cagatgctgt gaaacaagct atgcagaagc atcttcttca aggctggtta cgggtctctg 900  
aaggaaatat cttagagttg ctccatcggg tggatgtaga aaattcttct gaagtggcag 960  
tctctgttct caatgccttg ttttcaataa ctctctcag tgaactggtg ggactctgta 1020  
aaaacaatga tggcaggaaa ttgattccag tggaaacatt aactcctgaa atgctttgt 1080  
attggtgtgc cttttgtgaa tttttgaaat caaaaggaga tgaagggtgaa gaatttttag 1140  
agcagatttt gccagagcct gtagtatatg cagactatth attgagttac atccagagca 1200

ttccagttgt taatgaagaa cacagaggtg atttttccta tattggaaat ttgatgacaa 1260  
 aagaattcat aggtcaacaa ttgattctaa ttattaagtc tttggatacc agtgaagaag 1320  
 gaggaagaaa aaaactgctg gctgttttac aggagattct tattttaccc acaatcccaa 1380  
 tatccctggt ttcttttctt gttgaaagac tactccacat cattatagat gataataaga 1440  
 gaacacaaat tgttacagaa attatctcag agattcgggc gcccatgtt actgttggtg 1500  
 ttaataacga tccagctgat gtaagaaaga aagaactcaa gatggctgaa ataaaagtta 1560  
 agcttatcga agccaaagaa gctttgaaa attgcattac cttacaggat tttaatcggg 1620  
 catcagaatt aaaagaagaa ataaaagcat tagaagatgc cagaataaac cttttgaaag 1680  
 agacagagca acttgaaatt aaagaagtcc acatagagaa gaatgatgct gaaacattgc 1740  
 agaaaagtct tattttatgc tatgaactgt tgaagcagat gtccatttca acaggcttaa 1800  
 gtgcaaacat caatggaatc atcgaatctt tgattcttcc tgggaataata agtattcatc 1860  
 ctggttgaag aaacctggct gttttatgct tgggatgctg tggactacag aatcaggatt 1920  
 ttgcaaggaa acacttcgta ttactattgc aggttttgca aattgatgat gtcacaataa 1980  
 aaataagtgc tttaaaggca atctttgacc aactgatgac gttcgggatt gaaccattta 2040  
 aaactaaaaa aatcaaaaaca cttcattgtg aaggtagaca aataaacagt gatgatgagc 2100  
 aagaatcaaa agaagttgaa gagactgcta cagctaagaa tgttctgaaa ctctttctg 2160  
 atttcttaga tagtgaggta tctgaaactta ggactggagc tgcagaagga ctagccaagc 2220  
 tgatgttctc tgggcttttg gtcagcagca ggattcttcc tegtcttatt ttggtatggt 2280  
 acaatcctgt gactgaagag gatgttcaac ttcgacattg cctagggctg ttcttccccg 2340  
 tgtttgotta tgcaagcagg actaatcagg aatgctttga agaagctttt ctccaaccc 2400  
 tgcaaacact ggccaatgcc cctgcactct ctcctttagc tgaaattgat atcacaaatg 2460  
 ttgctgagtt acttgtagat ttgacaagac caagtggatt aaatcctcag gccaaagact 2520  
 cccaagatta tcaggcctta acagtacatg acaatttggc tatgaaaatt tgcaatgaga 2580  
 tcttaacaag tccgtgctcg ccagaaatc gagctctatac aaaagccttg agttctttag 2640  
 aactcagtag ccatcttgca aaagatctc tggttctatt gaatgagatt ctggagcaag 2700  
 taaaagatag gacatgtctg agagcttttg agaaaatcaa gattcagtta gaaaaaggaa 2760  
 ataaagaatt tggtgaccaa gctgaagcag cacaggatgc caccttgact acaactactt 2820  
 tccaaaatga agatgaaaag aataaagaag tatatatgac tccactcagg ggtgtaaaaag 2880  
 caaccacaag atcaaagtct actcagctaa agactaacag aggacagaga aaagtgacag 2940  
 tttcagctag gacgaacagg aggtgtcaga ctgctgaagc cgactctgaa agtgatcatg 3000  
 aagttccaga accagaatca gaaatgaaga tgagactncc aagacgagcc aaaaccgcag 3060  
 cncntanaaaa aagtaaaactt anccttgccc aatttttcaa tgaagattta agttaggaaa 3120

nacgatggag gnggaatcct ttaagattat gtccagttat ttgctttaat aaanaanaag 3180  
 ttacccttgt caaaatcnaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3240  
 aa 3242

<210> 3  
 <211> 211  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 <220>  
 <400> 3

Met Gln Ala Pro His Lys Glu His Leu Tyr Lys Leu Leu Val Ile Gly  
 1 5 10 15  
 Asp Leu Gly Val Gly Lys Thr Ser Ile Ile Lys Arg Tyr Val His Gln  
 20 25 30  
 Asn Phe Ser Ser His Tyr Arg Ala Thr Ile Gly Val Asp Phe Ala Leu  
 35 40 45  
 Lys Val Leu His Trp Asp Pro Glu Thr Val Val Arg Leu Gln Leu Trp  
 50 55 60  
 Asp Ile Ala Gly Gln Glu Arg Phe Gly Asn Met Thr Arg Val Tyr Tyr  
 65 70 75 80  
 Arg Glu Ala Met Gly Ala Phe Ile Val Phe Asp Val Thr Arg Pro Ala  
 85 90 95  
 Thr Phe Glu Ala Val Ala Lys Trp Lys Asn Asp Leu Asp Ser Lys Leu  
 100 105 110  
 Ser Leu Pro Asn Gly Lys Pro Val Ser Val Val Leu Leu Ala Asn Lys  
 115 120 125  
 Cys Asp Gln Gly Lys Asp Val Leu Met Asn Asn Gly Leu Lys Met Asp  
 130 135 140  
 Gln Phe Cys Lys Glu His Gly Phe Val Gly Trp Phe Glu Thr Ser Ala  
 145 150 155 160  
 Lys Glu Asn Ile Asn Ile Asp Glu Ala Ser Arg Cys Leu Val Lys His  
 165 170 175  
 Ile Leu Ala Asn Glu Cys Asp Leu Met Glu Ser Ile Glu Pro Asp Val  
 180 185 190  
 Val Lys Pro His Leu Thr Ser Thr Lys Val Ala Ser Cys Ser Gly Cys  
 195 200 205  
 Ala Lys Ser  
 210

<210> 4  
 <211> 26  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
 <220>  
 <400> 4

cgaagagcag cataggaaag agttag

26

<210> 5

<211> 22

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<400> 5

gacactgtgt ttcacgttgg tc

22

## 【國際調查報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International Application No PCT/US 01/00153
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> IPC 7 C12N15/12 C12N15/63 C07K14/47 C12N1/21 C12N5/10 A61K38/17 C07K16/18 C12P21/08 C12Q1/68		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 C12N C07K A61K C12P C12Q		
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) BIOSIS, EMBASE, CHEM ABS Data, STRAND, EMBL		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P,X	WO 00 58464 A (ALLEN MAXINE ; RUTTER MARC (US); VEGA RAQUEL (US); ABEL KEN (US); A) 5 October 2000 (2000-10-05) the whole document	1-4,9, 11-81
P,X	WO 00 31263 A (INCYTE PHARMA INC ; AZIMZAI YALDA (US); YUE HENRY (US); BANDMAN OLG) 2 June 2000 (2000-06-02) the whole document	1-4,9, 11-81
X	WO 98 18942 A (INCYTE PHARMA INC ; AU YOUNG JANICE (US); BANDMAN OLGA (US)) 7 May 1998 (1998-05-07) the whole document	1-4,9, 11-81
	-/--	
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C.		
<input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.		
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. "Z" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
30 April 2001		11.06.01
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.O. 5918 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel: (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Hillenbrand, G

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No PCT/US 01/00153
---

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DATABASE EMBL [Online] Q63483, 15 October 1992 (1992-10-15) SHIMUZU, H. ET AL.: "RAB-related GTP-binding protein" XP002166238 *Rattus norvegicus* abstract -----	1-4,9, 11-81

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 International application No.  
 PCT/US 01/00153
**Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 1 of first sheet)**

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1.  Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
  
2.  Claims Nos.:  
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:
  
3.  Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

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

see additional sheet

1.  As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.
  
2.  As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
  
3.  As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
  
4.  No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:  
 1-4, 9, 11-12 (part), 13, 14-81 (part)

**Remark on Protest**

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

## FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

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

1. Claims: 1-4, 9, 11-12 (partially), 13, 14-81 (partially)

This group of claims is directed to an isolated nucleic acid molecule which encodes a cancer associated antigen (SEQ ID NO:3), the C terminal amino acid sequence of which is CSGCAKS, the complementary sequence of which hybridizes to SEQ ID NO: 1 under stringent conditions and various uses thereof.

2. Claims: 5-8, 10, 11-12 (partially), 14-81 (partially)

This group of claims is directed to an isolated nucleic acid molecule which encodes a cancer associated antigen, the complementary sequence of which hybridizes to SEQ ID NO: 2 under stringent conditions and various uses thereof.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No  
PCT/US 01/00153

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 0058464 A	05-10-2000	AU 3524500 A	16-10-2000
WO 0031263 A	02-06-2000	AU 1744900 A	13-06-2000
WO 9818942 A	07-05-1998	US 6124116 A	26-09-2000
		AU 4903397 A	22-05-1998

## フロントページの続き

(51) Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	テ-マコ-ト' (参考)	
A 6 1 P	35/00	C 0 7 K	14/82	4 C 0 8 4
C 0 7 K	14/82		16/32	4 C 0 8 5
	16/32	C 1 2 N	1/15	4 H 0 4 5
C 1 2 N	1/15		1/19	
	1/19		1/21	
	1/21	C 1 2 Q	1/02	
	5/10		1/68	A
C 1 2 Q	1/02	G 0 1 N	33/15	Z
	1/68		33/50	Z
G 0 1 N	33/15		33/53	D
	33/50			M
	33/53		33/566	
			33/574	A
	33/566	C 1 2 P	21/08	
	33/574	C 1 2 N	15/00	Z N A A
// C 1 2 P	21/08		5/00	A
(72)発明者	ジェイガー、ダーク アメリカ合衆国 ニューヨーク州 10021、 ニューヨーク、ヨーク アベニュー 1275			
(72)発明者	ストックアート、エリザベス アメリカ合衆国 ニューヨーク州 10021、 ニューヨーク、ヨーク アベニュー 1275			
(72)発明者	スキャンラン、マシユ アメリカ合衆国 ニューヨーク州 10021、 ニューヨーク、ヨーク アベニュー 1275			
(72)発明者	グレ、アリ アメリカ合衆国 ニューヨーク州 10021、 ニューヨーク、ヨーク アベニュー 1275			
(72)発明者	ジェイガー、エルケ ドイツ国 フランクフルト アム メイン 60488 シュタインバッハー ホール 2 - 28			
(72)発明者	クヌス、アレクサンダー ドイツ国 フランクフルト アム メイン 60488 シュタインバッハー ホール 2 - 28			
(72)発明者	ロイド、オールド、ジェイ . アメリカ合衆国 ニューヨーク州 10158、 ニューヨーク、サード アベニュー 605			
(72)発明者	チェン、ヤオ - ツェン アメリカ合衆国 ニューヨーク州 10021、 ニューヨーク、イースト 第68 ストリー ト 525			

Fターム(参考) 2G045 AA26 AA40 BA11 BB50 DA12  
DA13 DA14 DA36 FB02 FB03  
4B024 AA01 AA12 BA36 BA41 CA04  
DA02 EA02 FA02 GA11 HA01  
HA14  
4B063 QA19 QQ08 QR32 QR55 QR62  
QS25 QS34  
4B064 AG27 CA10 CA20 CC24 DA14  
4B065 AA90X AA99Y AB01 AC20  
BA02 CA24 CA44 CA46  
4C084 AA13 NA10 ZB262  
4C085 AA03 BB01 CC21 DD86 EE01  
EE06 FF13 FF18 GG02 GG05  
GG08  
4H045 AA11 AA30 BA10 CA41 DA75  
DA86 EA28 EA51 FA74

专利名称(译)	分离的核酸分子，其编码癌症相关抗原，癌症相关抗原本身及其用途		
公开(公告)号	<a href="#">JP2003520604A</a>	公开(公告)日	2003-07-08
申请号	JP2001554418	申请日	2001-01-03
[标]申请(专利权)人(译)	拉德威克富勒研究院癌症研究 康奈尔大学研究的创始人移交逃犯		
申请(专利权)人(译)	路德维希·富勒研究院癌症研究 康奈尔大学研究的创始人移交逃犯 纪念斯隆 - 凯特琳癌症中心		
[标]发明人	ジェイガーダーク ストッカートエリザベス スキャンランマシュー グレアリ ジェイガーエルケ クヌスアレクサンダー ロイドオールドジェイ チェンヤオツェン		
发明人	ジェイガー、ダーク ストッカート、エリザベス スキャンラン、マシュー グレ、アリ ジェイガー、エルケ クヌス、アレクサンダー ロイド、オールド、ジェイ、 チェン、ヤオツェン		
IPC分类号	G01N33/50 A61K39/00 A61K39/39 A61K48/00 A61P35/00 C07K14/47 C07K14/82 C07K16/32 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C12N15/09 C12N15/12 C12P21/08 C12Q1/02 C12Q1/68 G01N33/15 G01N33/53 G01N33/566 G01N33/574		
CPC分类号	A61K39/00 A61P35/00 C07K14/4748 C12N2799/022 C12N2799/023 C12Q1/6886 C12Q2600/158		
FI分类号	A61K39/00.H A61K39/00.Z A61K39/39 A61K48/00 A61P35/00 C07K14/82 C07K16/32 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12Q1/02 C12Q1/68.A G01N33/15.Z G01N33/50.Z G01N33/53.D G01N33/53.M G01N33/566 G01N33/574.A C12P21/08 C12N15/00.ZNA.A C12N5/00.A		
F-TERM分类号	2G045/AA26 2G045/AA40 2G045/BA11 2G045/BB50 2G045/DA12 2G045/DA13 2G045/DA14 2G045/DA36 2G045/FB02 2G045/FB03 4B024/AA01 4B024/AA12 4B024/BA36 4B024/BA41 4B024/CA04 4B024/DA02 4B024/EA02 4B024/FA02 4B024/GA11 4B024/HA01 4B024/HA14 4B063/QA19 4B063/QQ08 4B063/QR32 4B063/QR55 4B063/QR62 4B063/QS25 4B063/QS34 4B064/AG27 4B064/CA10 4B064/CA20 4B064/CC24 4B064/DA14 4B065/AA90X 4B065/AA99Y 4B065/AB01 4B065/AC20 4B065/BA02 4B065/CA24 4B065/CA44 4B065/CA46 4C084/AA13 4C084/NA10 4C084/ZB262 4C085/AA03 4C085/BB01 4C085/CC21 4C085/DD86 4C085/EE01 4C085/EE06 4C085/FF13 4C085/FF18 4C085/GG02 4C085/GG05 4C085/GG08 4H045/AA11 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/CA41 4H045/DA75 4H045/DA86 4H045/EA28 4H045/EA51 4H045/FA74		
优先权	09/493914 2000-01-28 US		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		

#### 摘要(译)

本发明涉及分离的癌症相关抗原，核酸分子及其各种用途。

名称	クロー ン数	GenBank番号	遺伝子
NY-MEL-1	1	[M94043]	rab関連GTP結合タンパク質ホモログ
NY-MEL-2	1	[AF109718]	3番染色体サブテロメア領域
NY-MEL-3	1	[AF111423]	XCAP-Gホモログ
NY-MEL-4	1	[D26156]	転写活性化因子hSNF2b
NY-MEL-5	3	[NM002415]	マクロファージ遊走因子
NY-MEL-6	1	[AF047826]	カドヘリン7
NY-MEL-7	1	[AF091083]	クローム628、X染色体
NY-MEL-8	2	[NM000362]	メタロプロテイナーゼ-3の組織阻害因子
NY-MEL-9	1	[NM004039]	リボリンチンII
NY-MEL-10	1	[AB002374]	KIAA0376
NY-MEL-11	1	[NM002574]	増殖関連遺伝子
NY-MEL-12	2	[NM006141]	ダイニン結合タンパク質2
NY-MEL-13	1	[NM001019]	リボソームタンパク質S15a
NY-MEL-14	1	[Z21852]	HERV-K LTR
NY-MEL-15	1	[X15183]	HSP90
NY-MEL-16	1	[D80012]	KIAA0190
NY-MEL-17	1	[X07270]	HSP86
NY-MEL-18	1	[L07872]	JK組換えシグナル結合タンパク質
NY-MEL-19	1	[NM006227]	リン脂質輸送タンパク質
NY-MEL-20	4	[NM004401]	DNA断片化因子、45 kDa、 $\alpha$ -サブユニット
NY-MEL-21	1	[L22154]	リボソームタンパク質L37a
NY-MEL-22	1	[NM006395]	ユビキチン活性化酵素E1様タンパク質
NY-MEL-23	1	[NM001064]	トランスクリプターゼ
NY-MEL-24	9	[U11687]	30Sリボソームタンパク質S1ホモログ
NY-MEL-25	1	[NM000994]	リボソームタンパク質L32
NY-MEL-26	1	[Z71183]	ヒトN28H9染色体22q11.2
NY-MEL-27	1	[AF054183]	GTP結合タンパク質mRNA
NY-MEL-28	1	[NM000358]	TGF- $\beta$ が誘導する遺伝子産物
NY-MEL-29	1	[AF090384]	SUMO-1