

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第3749709号
(P3749709)

(45) 発行日 平成18年3月1日(2006.3.1)

(24) 登録日 平成17年12月9日(2005.12.9)

(51) Int. Cl.	F I	
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	C 1 2 N 15/00	Z N A A
A O 1 K 67/027 (2006.01)	A O 1 K 67/027	
C O 7 K 14/82 (2006.01)	C O 7 K 14/82	
C O 7 K 16/32 (2006.01)	C O 7 K 16/32	
C O 7 K 19/00 (2006.01)	C O 7 K 19/00	

請求項の数 22 (全 83 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2002-556742 (P2002-556742)	(73) 特許権者	503355498
(86) (22) 出願日	平成13年11月30日(2001.11.30)		株式会社 G B S 研究所
(86) 国際出願番号	PCT/JP2001/010505		東京都新宿区大京町10番地10 ヴィラ
(87) 国際公開番号	W02002/055695		コテト202
(87) 国際公開日	平成14年7月18日(2002.7.18)	(74) 代理人	100107984
審査請求日	平成14年9月5日(2002.9.5)		弁理士 廣田 雅紀
(31) 優先権主張番号	特願2001-1965 (P2001-1965)	(72) 発明者	戸田 正博
(32) 優先日	平成13年1月9日(2001.1.9)		日本国神奈川県横浜市青葉区藤が丘二丁目
(33) 優先権主張国	日本国(JP)		14番12号
早期審査対象出願		(72) 発明者	河上 裕
			日本国神奈川県横浜市神奈川区片倉町75
			7番120号
		(72) 発明者	河瀬 斌
			日本国千葉県市川市南大野一丁目37番6
			号

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ヒトグリオーマ抗原及びその調製方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

以下の工程(1)~(5)を含むグリオーマ抗原の調製方法により得られるグリオーマ抗原である、配列番号2に示されるアミノ酸配列からなるKU-GB-1、配列番号4、6、8又は10に示されるアミノ酸配列からなるKU-GB-2、配列番号12に示されるアミノ酸配列からなるKU-GB-5、KIAA1014 protein、Mitotic centromere associated protein、human S5A、hMLH1及び/又はかかるグリオーマ抗原に特異的に結合する抗体を含有することを特徴とするグリオーマ検出用診断薬。

(1) グリオーマ細胞株から全RNAを抽出・精製し、精製後のmRNAを用いてcDNAを合成し、このcDNAをファージベクターに導入して大腸菌に感染させることによってファージcDNAライブラリーを構築する工程；

(2) グリオーマ患者の血清を希釈し、大腸菌の抽出物と反応させ、反応物を除去することにより反応血清を作製する工程；

(3) 前記ファージcDNAライブラリーと反応血清を反応させ、標識抗IgG抗体を用いて血清中の抗体が反応した陽性クローンを検出する工程；

(4) 検出された陽性クローンに対して、さらに数回のスクリーニングを繰り返し、抗体反応性を確認する工程；

(5) 陽性クローンから抗原を単離し、単離された抗原と少なくともグリオーマ患者血清、健常人血清とを用いて血清スクリーニングする工程；

【請求項2】

10

20

以下の工程(1)~(5)を含むグリオーマ抗原遺伝子の調製方法により得られるグリオーマ抗原である配列番号2に示されるアミノ酸配列からなるKU-GB-1、配列番号4、6、8又は10に示されるアミノ酸配列からなるKU-GB-2、配列番号12に示されるアミノ酸配列からなるKU-GB-5、KIAA1014 protein、Mitotic centromere associated protein、human S5A、hMLH1をコードするDNA若しくはRNAのアンチセンス鎖、又は前記DNA若しくはRNAの塩基配列において1若しくは数個の塩基が欠失、置換若しくは付加された塩基配列のアンチセンス鎖を含有することを特徴とするグリオーマ検出・診断用プローブ。

(1)グリオーマ細胞株から全RNAを抽出・精製し、精製後のmRNAを用いてcDNAを合成し、このcDNAをファージベクターに導入して大腸菌に感染させることによりファージcDNAライブラリーを構築する工程；

10

(2)グリオーマ患者の血清を希釈し、大腸菌の抽出物と反応させ、反応物を除去することにより反应用血清を作製する工程；

(3)前記ファージcDNAライブラリーと反应用血清を反応させ、標識抗IgG抗体を用いて血清中の抗体が反応した陽性クローンを検出する工程；

(4)検出された陽性クローンに対して、さらに数回のスクリーニングを繰り返し、抗体反応性を確認する工程；

(5)陽性クローンから抗原を単離し、単離された抗原と少なくともグリオーマ患者血清、健常人血清とを用いて血清スクリーニングする工程；

【請求項3】

20

以下の(a)又は(b)のタンパク質をコードするDNA。

(a)配列番号2に示されるアミノ酸配列からなるタンパク質

(b)配列番号2に示されるアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ免疫誘導活性を有するタンパク質

【請求項4】

配列番号1に示される塩基配列又はその相補的配列並びにこれらの配列において1若しくは数個の塩基が欠失、置換若しくは付加された塩基配列からなるDNA。

【請求項5】

請求項4記載のDNAとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ免疫誘導活性を有するタンパク質をコードするDNA。

30

【請求項6】

以下の(a)又は(b)のタンパク質をコードするDNA。

(a)配列番号4、6、8又は10に示されるアミノ酸配列からなるタンパク質

(b)配列番号4、6、8又は10に示されるアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ免疫誘導活性を有するタンパク質

【請求項7】

配列番号3、5、7又は9に示される塩基配列又はその相補的配列並びにこれらの配列において1若しくは数個の塩基が欠失、置換若しくは付加された塩基配列(但し、国際DNAデータバンクにアクセッションナンバーAA131330として登録されている塩基配列を除く)からなるDNA。

40

【請求項8】

請求項7記載のDNAとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ免疫誘導活性を有するタンパク質をコードするDNA。

【請求項9】

以下の(a)又は(b)のタンパク質をコードするDNA。

(a)配列番号12に示されるアミノ酸配列からなるタンパク質

(b)配列番号12に示されるアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ免疫誘導活性を有するタンパク質

【請求項10】

50

配列番号 1 1 に示される塩基配列又はその相補的配列並びにこれらの配列において 1 若しくは数個の塩基が欠失、置換若しくは付加された塩基配列（但し、国際 DNA データバンクにアクセッションナンバー A I 5 4 9 3 8 0 として登録されている塩基配列を除く）からなる DNA。

【請求項 1 1】

請求項 1 0 記載の DNA とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ免疫誘導活性を有するタンパク質をコードする DNA。

【請求項 1 2】

配列番号 2 に示されるアミノ酸配列からなるタンパク質。

【請求項 1 3】

配列番号 2 に示されるアミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ免疫誘導活性を有するタンパク質。

【請求項 1 4】

配列番号 4、6、8 又は 1 0 に示されるアミノ酸配列からなるタンパク質。

【請求項 1 5】

配列番号 4、6、8 又は 1 0 に示されるアミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ免疫誘導活性を有するタンパク質。

【請求項 1 6】

配列番号 1 2 に示されるアミノ酸配列からなるタンパク質。

【請求項 1 7】

配列番号 1 2 に示されるアミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ免疫誘導活性を有するタンパク質。

【請求項 1 8】

請求項 1 2 ~ 1 7 のいずれか記載のタンパク質と、マーカータンパク質及び/又はペプチドタグとを結合させた融合タンパク質。

【請求項 1 9】

請求項 1 2 ~ 1 7 のいずれか記載のタンパク質に対する抗体。

【請求項 2 0】

請求項 1 2 ~ 1 7 のいずれか記載のタンパク質を発現することができる発現系を含んでなる宿主細胞。

【請求項 2 1】

請求項 1 2 ~ 1 7 のいずれか記載のタンパク質をコードする遺伝子機能が染色体上で欠損した、あるいは請求項 1 2 ~ 1 7 のいずれか記載のタンパク質を過剰発現する非ヒト動物。

【請求項 2 2】

請求項 9 ~ 1 4 のいずれか記載のタンパク質と被検物質と T 細胞を用い、T 細胞における免疫誘導活性を測定・評価することを特徴とする免疫誘導活性促進又は抑制物質のスクリーニング方法。

【発明の詳細な説明】

【0 0 0 1】

【発明の属する技術分野】

本発明は、ヒトの悪性脳腫瘍であるグリオーマに発現し、免疫反応を示すグリオーマ抗原やその遺伝子、それらグリオーマ抗原やその遺伝子の調製方法、グリオーマ検出用診断薬や、検出・診断用プローブ、グリオーマ抗原やその遺伝子に対する抗体、グリオーマ抗原を用いた免疫誘導活性促進又は抑制物質のスクリーニング方法等に関する。

【0 0 0 2】

【従来の技術】

免疫療法は古くから期待され、様々な試みがなされてきたが、未だ十分な抗腫瘍効果を示すには至っていない。従来、癌の免疫療法は非特異的免疫療法を中心として行われてきた

10

20

30

40

50

が、近年、T細胞が生体内での腫瘍拒絶に重要な役割を果たすことがヒトメラノーマにおいて明らかになり、さらにMAGE-1抗原(例えば、非特許文献1参照。)が1991年にベルギーのグループより報告されて以来、細胞傷害性T細胞(CTL: cytotoxic T lymphocyte)を誘導しうるT細胞認識腫瘍抗原の単離とMHCクラスI拘束性エピトープの決定に努力がそそがれている。本発明者らはメラノーマの腫瘍反応性T細胞を用いたcDNA発現クローニング法によりCD8+T細胞認識抗原を単離し(例えば、非特許文献2~6参照。)、この抗原を用いた特異的免疫療法により、一部のメラノーマに対して抗腫瘍効果が認められることを報告している(例えば、非特許文献7~9参照。)。またT細胞が認識する抗原は、MHC分子に結合したペプチドであり、しかもペプチドの起源は細胞表面蛋白である必要がなく、核内蛋白や細胞質蛋白でも抗原として認識されることが明らかになっている(例えば、非特許文献10参照。)

10

【0003】

1995年にドイツのPfreundschuhや米国のOldらのグループにより、腫瘍及びCTLを必ずしも必要とせず、細胞株の樹立が困難である癌腫において適用できる、癌患者血清中のIgG抗体が認識する癌抗原タンパクを検出するSEREX法(例えば、非特許文献11参照。)が報告されている。この方法によって多くの腫瘍抗原が単離されているが、本方法を用いて単離された抗原の中にはCTLを誘導するMAGE-1やチロシナーゼなどの抗原がみられることから、細胞性免疫が認識する抗原を検出する方法としても有用であることが指摘されている。また、上記方法を用いて、メラノーマ、腎癌、食道癌、大腸癌、肺癌等において、患者IgG抗体が認識する癌抗原を単離した報告もなされている(例えば、非特許文献12~17参照。)。これらの抗原にはCT(cancer-testis)抗原(SSX2/HOM-MEL-40、NY-ESO-1、SCP-1、CT7など)、分化抗原(galactin-4/NY-CO-27)、変異抗原(p53など)等の重要な抗原がある。これらの抗原の中で特にNY-ESO-1はHLA-A2拘束性のエピトープが決定されている。また、SEREX法を用いて単離された抗原の中には、e1F-4やHER2/neuのように癌に高発現する分子もあり、これら分子は癌化に関連している可能性がある。このような癌に高発現する分子は、治療に応用しうるだけでなく診断のマーカーや再発、予後を推定しうるマーカーとなる可能性がある。

20

【0004】

他方、中枢神経系は免疫学的寛容の場として知られていたが、近年、活性化されたリンパ球が、血液脳関門を通過して脳内に侵入し、脳内抗原と反応することが示されている(例えば、非特許文献18、19参照)。また本発明者らにより、脳内の腫瘍抗原に対する特異的な免疫誘導は新しい有効な治療法となる可能性が示唆されている(例えば、非特許文献20参照。)。現在、悪性脳腫瘍であるグリオーマの診断法として、MRI等による画像解析と手術検体を用いた病理組織解析が中心に行われているが、近年の分子細胞生物学の進歩により、グリオーマの発生に参与する遺伝子も明らかになりつつあり、それらを解析する遺伝子診断の可能性も示唆されている(例えば、非特許文献21参照。)

30

【0005】

【非特許文献1】

Science 254, 1643-7, 1991

40

【非特許文献2】

Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91, 3515-3519, 1994

【非特許文献3】

Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91, 6458-6462, 1994

【非特許文献4】

J. Exp. Med. 180, 347-352, 1994

【非特許文献5】

J. Immunol. 154, 3961-3968, 1995

【非特許文献6】

Immunologic Res. 16, 313-340, 1997

50

【非特許文献 7】

Microbiology Immunology 42, 803-813, 1998

【非特許文献 8】

Kawakami, Y., P.F. Robbins, R.F. Wang. et al. Identification of Melanoma antigens by T lymphocytes and their use in the immunotherapy of cancer. In Principle and Practice of Oncology. Update. V. DeVita, S. Hellman, S.A.Rosenberg eds. J.B.Lippincott Co. Philadelphia, p1-20, 1996

【非特許文献 9】

Nature Med. 4, 321, 1998

【非特許文献 10】

Immunity 10, 281-7, 1999

【非特許文献 11】

serological identification of recombinant cDNA expression cloning; Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92, 11810-11813, 1995

【非特許文献 12】

Int. J. Cancer 72, 965-971, 1997

【非特許文献 13】

Cancer Res. 58, 1034-1041, 1998

【非特許文献 14】

Int. J. Cancer 29, 652-658, 1998

【非特許文献 15】

Int. J. Oncol. 14, 703-708, 1999

【非特許文献 16】

Cancer Res. 56, 4766-4772, 1996

【非特許文献 17】

Hum. Mol. Genet 6, 33-39, 1997

【非特許文献 18】

J. Immunol. 158, 2318-26, 1997

【非特許文献 19】

J. Neurosci. 18, 5804-16, 1998

【非特許文献 20】

Neuro-Oncology 1, S105, 1999

【非特許文献 21】

Glia. 15, 308-27, 1995

【0006】

【発明が解決しようとする課題】

現在、死亡原因の第一位となっている癌においては、その発生機序、診断法、治療法が進歩したにもかかわらず、未だに多くの進行癌を治療できないのが現状である。特に悪性脳腫瘍は極めて治療が困難な疾患で、近年の脳外科手術、放射線治療の進歩にもかかわらず、現在まで有効な治療法がなかった。これを改善するためには、新しい早期診断法と治療法の開発が必要とされている。本発明の課題は、グリオーマの診断・治療に応用することができるヒトグリオーマ抗原やそれをコードする遺伝子及びその調製方法等を提供することにある。

【0007】

【課題を解決するための手段】

本発明者らは、上記課題を解決するために鋭意研究し、グリオーマ細胞株から得られた mRNA を用いて cDNA を作製し、この cDNA を ファージベクターに導入して大腸菌に感染させることによって作製したグリオーマ細胞株由来の cDNA ライブラリー (6.0 × 10⁵個の ファージ cDNA クローン) を用いて、グリオーマ患者一人ひとりの血清に対して逐一スクリーニングし、グリオーマ患者血清のみに反応し、健常人血清とは反

10

20

30

40

50

応せず、グリオーマ細胞株を含む癌細胞に選択的に発現するグリオーマ抗原が存在し、免疫系がグリオーマの発現するタンパク質を認識することを見い出し、本発明を完成するに至った。

【0008】

すなわち本発明は、以下の工程(1)~(5)を含むグリオーマ抗原の調製方法により得られるグリオーマ抗原である、配列番号2に示されるアミノ酸配列からなるKU-GB-1、配列番号4、6、8又は10に示されるアミノ酸配列からなるKU-GB-2、配列番号12に示されるアミノ酸配列からなるKU-GB-5、KIAA1014 protein、Mitotic centromere associated protein、human S5A、hMLH1及び/又はかかるグリオーマ抗原に特異的に結合する抗体を含有することを特徴とするグリオーマ検出用診断薬

10

(1)グリオーマ細胞株から全RNAを抽出・精製し、精製後のmRNAを用いてcDNAを合成し、このcDNAをファージベクターに導入して大腸菌に感染させることによってファージcDNAライブラリーを構築する工程；

(2)グリオーマ患者の血清を希釈し、大腸菌の抽出物と反応させ、反応物を除去することにより反应用血清を作製する工程；

(3)前記ファージcDNAライブラリーと反应用血清を反応させ、標識抗IgG抗体を用いて血清中の抗体が反応した陽性クローンを検出する工程；

(4)検出された陽性クローンに対して、さらに数回のスクリーニングを繰り返し、抗体反応性を確認する工程；

(5)陽性クローンから抗原を単離し、単離された抗原と少なくともグリオーマ患者血清、健常人血清とを用いて血清スクリーニングする工程；(請求項1)や、

20

以下の工程(1)~(5)を含むグリオーマ抗原遺伝子の調製方法により得られるグリオーマ抗原である配列番号2に示されるアミノ酸配列からなるKU-GB-1、配列番号4、6、8又は10に示されるアミノ酸配列からなるKU-GB-2、配列番号12に示されるアミノ酸配列からなるKU-GB-5、KIAA1014 protein、Mitotic centromere associated protein、human S5A、hMLH1をコードするDNA若しくはRNAのアンチセンス鎖、又は前記DNA若しくはRNAの塩基配列において1若しくは数個の塩基が欠失、置換若しくは付加された塩基配列のアンチセンス鎖を含有することを特徴とするグリオーマ検出・診断用プローブ

(1)グリオーマ細胞株から全RNAを抽出・精製し、精製後のmRNAを用いてcDNAを合成し、このcDNAをファージベクターに導入して大腸菌に感染させることによってファージcDNAライブラリーを構築する工程；

30

(2)グリオーマ患者の血清を希釈し、大腸菌の抽出物と反応させ、反応物を除去することにより反应用血清を作製する工程；

(3)前記ファージcDNAライブラリーと反应用血清を反応させ、標識抗IgG抗体を用いて血清中の抗体が反応した陽性クローンを検出する工程；

(4)検出された陽性クローンに対して、さらに数回のスクリーニングを繰り返し、抗体反応性を確認する工程；

(5)陽性クローンから抗原を単離し、単離された抗原と少なくともグリオーマ患者血清、健常人血清とを用いて血清スクリーニングする工程；(請求項2)に関する。

40

【0009】

また本発明は、以下の(a)又は(b)のタンパク質をコードするDNA

(a)配列番号2に示されるアミノ酸配列からなるタンパク質

(b)配列番号2に示されるアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ免疫誘導活性を有するタンパク質(請求項3)や、配列番号1に示される塩基配列又はその相補的配列並びにこれらの配列において1若しくは数個の塩基が欠失、置換若しくは付加された塩基配列からなるDNA(請求項4)や、請求項4記載のDNAとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ免疫誘導活性を有するタンパク質をコードするDNA(請求項5)や、以下の(a)又は(b)のタンパク質をコードするDNA

50

(a)配列番号4、6、8又は10に示されるアミノ酸配列からなるタンパク質

(b)配列番号4、6、8又は10に示されるアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ免疫誘導活性を有するタンパク質(請求項6)や、配列番号3、5、7又は9に示される塩基配列又はその相補的配列並びにこれらの配列において1若しくは数個の塩基が欠失、置換若しくは付加された塩基配列(但し、国際DNAデータバンクにアクセションナンバーAA131330として登録されている塩基配列を除く)からなるDNA(請求項7)や、請求項7記載のDNAとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ免疫誘導活性を有するタンパク質をコードするDNA(請求項8)や、以下の(a)又は(b)のタンパク質をコードするDNA

10

(a)配列番号12に示されるアミノ酸配列からなるタンパク質

(b)配列番号12に示されるアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ免疫誘導活性を有するタンパク質(請求項9)や、配列番号11に示される塩基配列又はその相補的配列並びにこれらの配列において1若しくは数個の塩基が欠失、置換若しくは付加された塩基配列(但し、国際DNAデータバンクにアクセションナンバーAI549380として登録されている塩基配列を除く)からなるDNA(請求項10)や、請求項10記載のDNAとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ免疫誘導活性を有するタンパク質をコードするDNA(請求項11)に関する。

【0010】

20

配列番号2に示されるアミノ酸配列からなるタンパク質(請求項12)や、配列番号2に示されるアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ免疫誘導活性を有するタンパク質(請求項13)や、配列番号4、6、8又は10に示されるアミノ酸配列からなるタンパク質(請求項14)や、配列番号4、6、8又は10に示されるアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ免疫誘導活性を有するタンパク質(請求項15)や、配列番号12に示されるアミノ酸配列からなるタンパク質(請求項16)や、配列番号12に示されるアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ免疫誘導活性を有するタンパク質(請求項17)や、請求項12~17のいずれか記載のタンパク質と、マーカータンパク質及び/又はペプチドタグとを結合させた融合タンパク質(請求項18)に関する。

30

【0011】

さらに本発明は、請求項12~17のいずれか記載のタンパク質に対する抗体(請求項19)や、請求項12~17のいずれか記載のタンパク質を発現することができる発現系を含んでなる宿主細胞(請求項20)や、請求項12~17のいずれか記載のタンパク質をコードする遺伝子機能が染色体上で欠損した、あるいは請求項12~17のいずれか記載のタンパク質を過剰発現する非ヒト動物(請求項21)や、請求項9~14のいずれか記載のタンパク質と被検物質とT細胞を用い、T細胞における免疫誘導活性を測定・評価することを特徴とする免疫誘導活性促進又は抑制物質のスクリーニング方法(請求項22)

40

【0012】

【発明の実施の形態】

本発明のグリオーマ抗原及び/又はグリオーマ抗原遺伝子の調製方法としては、(1)グリオーマ細胞株から全RNAを抽出・精製し、精製後のmRNAを用いてcDNAを合成し、このcDNAをファージベクターに導入して大腸菌に感染させることによってファージcDNAライブラリーを構築する工程；(2)グリオーマ患者の血清を希釈し、大腸菌の抽出物と反応させ、反応物を除去することにより反应用血清を作製する工程；(3)前記ファージcDNAライブラリーと反应用血清を反応させ、標識抗IgG抗体を用いて血清中の抗体が反応した陽性クローンを検出する工程；(4)検出された陽性クロー

50

ンに対して、さらに数回のスクリーニングを繰り返し、抗体反応性を確認する工程；(5)陽性クローンから抗原を単離し、単離された抗原と少なくともグリオーマ患者血清、健常人血清とを用いて血清スクリーニングする工程；を含む調製方法を好適に例示することができるが、工程(4)で得られた陽性クローンのcDNAインサートをPCRにより増幅し、配列を決定して、既存の遺伝子データベース等を利用して相同性検索をすることが好ましい。また、工程(5)においては、グリオーマ患者血清、健常人血清の他、他の脳疾患患者や他の癌患者等の血清を用いて血清スクリーニングをすることが好ましい。

【0013】

上記調製方法により、グリオーマ患者血清とのみ反応するグリオーマ特異抗原(グリオーマ特異抗原遺伝子)群と、グリオーマ患者血清とグリオーマ以外の他の癌患者血清とも反応するグリオーマ非特異抗原(グリオーマ非特異抗原遺伝子)群を得ることができる。グリオーマ特異抗原(グリオーマ特異抗原遺伝子)群としては、例えば、新規なKU-GB-2、KU-GB-5、L13の他、Cytochrome-C、DEK oncogene、Nuclear Antigen SP100、Sarcolemmal associated protein、KIAA1014 protein、MutL (E. coli)homolog1 (hMLH1) (GenBankアクセス番号NM_000249)等を挙げることができ、また、グリオーマ非特異抗原(グリオーマ非特異抗原遺伝子)群としては、KU-GB-1、Mitotic centromere associated protein、human S5A (GenBankアクセス番号NM_002810, U24704, U51007)やhuman S5Aのアイソフォームであるhuman pUb-R5 (GenBankアクセス番号AB033605)、Minichromosome maintenance deficient-3等を挙げることができる。なお、これらグリオーマ抗原を強力な抗原提示細胞である樹状細胞にインビボあるいはインビトロで発現させて、その抗原発現樹状細胞投与により免疫誘導を行うことができる。

【0014】

本発明のグリオーマ検出用診断薬としては、上記のグリオーマ抗原の調製方法により得られるKU-GB-1、KU-GB-2、KU-GB-5、KIAA1014 protein、Mitotic centromere associated protein、human S5A、hMLH等のグリオーマ抗原を含有する試薬を用いることができ、また、2種以上の抗原を組み合わせる場合には、前記グリオーマ特異抗原群又はグリオーマ非特異抗原群の中から選択することが好ましい。また、本発明のグリオーマ検出用診断薬としては、前記グリオーマ抗原KU-GB-1、KU-GB-2、KU-GB-5、KIAA1014 protein、Mitotic centromere associated protein、human S5A、hMLH等に特異的に結合するモノクローナル抗体等の抗体を含有する試薬も使用することができ、かかる抗体についても2種以上の抗体を組み合わせる場合には、前記グリオーマ特異抗原群に対する抗体又はグリオーマ非特異抗原群に対する抗体の中から選択することが好ましい。本発明のグリオーマ検出用診断薬を用いたグリオーマの診断方法としては、標識化グリオーマ抗原を用いて検体から得られた血清中のIgG抗体と反応させ、抗体反応が認められるかどうかを調べる方法を例示することができる。

【0015】

本発明のグリオーマ検出・診断用プローブとしては、上記のグリオーマ抗原遺伝子の調製方法により得られる1種若しくは2種以上のグリオーマ抗原をコードするDNA又はRNAのアンチセンス鎖、又は前記DNA若しくはRNAの塩基配列において1若しくは数個の塩基が欠失、置換若しくは付加された塩基配列のアンチセンス鎖を含有する試薬であれば特に制限されるものではないが、20bp以上からなるDNA又はRNAが好ましく、また、2種以上のプローブを組み合わせる場合には、前記グリオーマ特異抗原群又はグリオーマ非特異抗原群をコードするDNA又はRNAのアンチセンス鎖の中から選択することが好ましい。本発明のグリオーマ検出・診断用プローブを用いたグリオーマの検出・診断方法としては、標識化アンチセンス鎖を用いて検体から得られた本件グリオーマ抗原のmRNAを検出する方法等が挙げられる。かかる検出・診断方法に用いられる検体としては、被験者の細胞、例えば血液、尿、唾液、組織等の生検から得ることができるゲノムDNAや、RNA又はcDNAを具体的に挙げることができるがこれらに限定されるものではない。

【0016】

10

20

30

40

50

本発明の抗腫瘍剤としては、上記のグリオーマ抗原の調製方法により得られる K U - G B - 1、K U - G B - 2、K U - G B - 5、K I A A 1 0 1 4 protein、Mitotic centromere associated protein、human S5A、hMLH等のグリオーマ抗原を有効成分として含有する製剤をい
 ることができ、また、2種以上の抗原を組み合わせて用いる場合には、前記グリオーマ特
 異抗原群又はグリオーマ非特異抗原群の中から選択することが好ましい。また、本発明の
 抗腫瘍剤としては、前記グリオーマ抗原 K U - G B - 1、K U - G B - 2、K U - G B -
 5、K I A A 1 0 1 4 protein、Mitotic centromere associated protein、human S5A、hMLH等に
 特異的に結合するモノクローナル抗体等の抗体を有効成分として含有する製剤も使用する
 ことができ、かかる抗体についても2種以上の抗体を組み合わせて用いる場合には、前記
 グリオーマ特異抗原群に対する抗体又はグリオーマ非特異抗原群に対する抗体の中から選
 択することが好ましい。本発明の抗腫瘍剤を経口、静脈、皮内、皮下注射等により投与す
 ると、インビボにおけるT細胞誘導活性が増大することによる抗腫瘍効果が期待できる。
 また、本発明の抗腫瘍剤を用いてT細胞をインビトロで刺激することにより活性化T細胞
 に誘導することができ、例えば、末梢血リンパ球や腫瘍浸潤リンパ球にIL-2とともに
 本発明の抗腫瘍剤で刺激すると腫瘍反応性活性化T細胞が誘導され、この活性化されたT
 細胞は養子免疫療法に有効に用いることができる。さらに、本発明のモノクローナル抗体
 等の抗体を用いて、選択的にグリオーマに遺伝子を導入させる遺伝子治療や、選択的にグ
 リオーマに抗腫瘍剤を作用させるミサイル療法等を行うこともできる。

【0017】

本発明の対象となるタンパク質としては、上記のグリオーマ抗原の調製方法により得られ
 るグリオーマ抗原のうち新規な抗原タンパク質やそのアイソフォームを挙げることができ
 、例えば、配列表の配列番号2に示されるアミノ酸配列からなるグリオーマ K U - G B -
 1や、グリオーマ K U - G B - 2の4つのアイソフォーム、すなわち配列表の配列番号4
 に示されるアミノ酸配列からなるグリオーマ K U - G B - 2 aや、配列表の配列番号6に
 示されるアミノ酸配列からなるグリオーマ K U - G B - 2 bや、配列表の配列番号8に示
 されるアミノ酸配列からなるグリオーマ K U - G B - 2 cや、配列表の配列番号10に示
 されるアミノ酸配列からなるグリオーマ K U - G B - 2 dや、配列表の配列番号12に示
 されるアミノ酸配列からなるグリオーマ K U - G B - 5や、配列番号2、4、6、8、1
 0又は12に示されるアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若
 しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ免疫誘導活性を有するタンパク質を例示
 ことができ、ここで免疫誘導活性とは、抗体産生、細胞性免疫、免疫寛容等の免疫反応
 を誘導する活性をいい、かかる免疫誘導活性の中でも、末梢血の細胞傷害性T細胞（C
 T L）前駆細胞の頻度を上昇させるT細胞誘導活性を有するものが特に好ましい。また、本
 発明のペプチドとしては、上記タンパク質の一部からなり、かつ免疫誘導活性を有するペ
 プチドを例示することができ、かかるペプチドは特に制限されるものではないが、抗体の
 認識部位や、C D 4 + T細胞及び/又はC D 8 + T細胞の認識部位を構成するペプチドを
 好適に例示することができる。上記本発明の対象となるタンパク質及びペプチドに加えて
 、これらタンパク質及びペプチドに特異的に結合する抗体に対して特異的に結合する組換
 えタンパク質及びペプチドも本発明に含まれ、これらを総称して、以下「本件グリオーマ
 抗原」ということがある。なお、本件グリオーマ抗原の由来はヒトに限定されるものでは
 なく、また本件グリオーマ抗原は、腫瘍検出用診断薬や、後述するように免疫誘導活性促
 進又は抑制物質のスクリーニング方法に有用である。

【0018】

本発明の対象となるDNAとしては、上記のグリオーマ抗原の調製方法により得られるグ
 リオーマ抗原のうち新規な抗原タンパク質をコードするDNAを挙げることができ、例え
 ば、配列番号2に示されるアミノ酸配列からなるタンパク質 K U - G B - 1をコードする
 DNA、配列番号4に示されるアミノ酸配列からなるタンパク質 K U - G B - 2 aをコー
 ドするDNA、配列番号6に示されるアミノ酸配列からなるタンパク質 K U - G B - 2 b
 をコードするDNA、配列番号8に示されるアミノ酸配列からなるタンパク質 K U - G B
 - 2 cをコードするDNA、配列番号10に示されるアミノ酸配列からなるタンパク質 K

10

20

30

40

50

U - G B - 2 d をコードする DNA、配列番号 1 2 に示されるアミノ酸配列からなるタンパク質 KU - G B - 5 をコードする DNA、配列番号 2、4、6、8、10 又は 1 2 に示されるアミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ免疫誘導活性を有するタンパク質をコードする DNA、配列番号 1、3、5、7、9 又は 1 1 に示される塩基配列又はその相補的配列並びにこれらの配列において 1 若しくは数個の塩基が欠失、置換若しくは付加された塩基配列からなる DNA を例示することができる。

【 0 0 1 9 】

また、配列番号 1、3、5、7、9 又は 1 1 に示される塩基配列又はその相補的配列並びにこれらの配列において 1 若しくは数個の塩基が欠失、置換若しくは付加された塩基配列をプローブとして、各種グリオーマ細胞由来の DNA ライブラリーに対してストリンジェントな条件下でハイブリダイゼーションを行ない、該プローブにハイブリダイズする DNA を単離することにより、KU - G B - 1、KU - G B - 2 a、KU - G B - 2 b、KU - G B - 2 c、KU - G B - 2 d、KU - G B - 5 等のグリオーマ抗原と同効な目的とする免疫誘導活性を有するタンパク質をコードする DNA を得ることもできる。こうして得られる DNA も本発明の範囲内である。かかる本発明の DNA を取得するためのハイブリダイゼーションの条件としては、例えば、42 でのハイブリダイゼーション、及び 1 × S S C、0.1% の S D S を含む洗浄バッファーによる 42 での洗浄処理を挙げることができ、65 でのハイブリダイゼーション、及び 0.1 × S S C、0.1% の S D S を含む洗浄バッファーによる 65 での洗浄処理をより好ましく挙げることができる。なお、ハイブリダイゼーションのストリンジェンシーに影響を与える要素としては、上記温度条件以外に種々の要素があり、当業者であれば、種々の要素を適宜組み合わせ、上記例示したハイブリダイゼーションのストリンジェンシーと同等のストリンジェンシーを実現することが可能である。

【 0 0 2 0 】

また、上記本件グリオーマ抗原をコードする遺伝子若しくは DNA、本件グリオーマ抗原等は、以下に具体的に説明するように、本件グリオーマ抗原とマーカートンパク質及び / 又はペプチドタグとを結合させた融合ペプチド又は融合タンパク質や、本件グリオーマ抗原に対する抗体、本件グリオーマ抗原を発現することができる発現系を含んでなる宿主細胞や、本件グリオーマ抗原をコードする遺伝子機能が染色体上で欠損した非ヒト動物や、本件グリオーマ抗原を過剰発現する非ヒト動物を作製する際に使用することができる。

【 0 0 2 1 】

本発明の融合タンパク質や融合ペプチドとしては、本件グリオーマ抗原とマーカートンパク質及び / 又はペプチドタグとが結合しているものであればどのようなものでもよい。マーカートンパク質としては、例えば、アルカリフォスファターゼ、抗体の F c 領域、H R P、G F P などの従来知られているマーカートンパク質を具体的に挙げることができ、またペプチドタグとしては、H i s タグ、F L A G タグ、S タグなどの従来知られているペプチドタグを具体的に例示することができるがこれらに限定されるものではない。かかる融合タンパク質は、常法により作製することができ、N i - N T A と H i s タグの親和性を利用したグリオーマ抗原 KU - G B - 1、KU - G B - 2 a、KU - G B - 2 b、KU - G B - 2 c、KU - G B - 2 d、KU - G B - 5 等の精製や、T 細胞誘導活性を有するタンパク質の検出や、グリオーマ抗原 KU - G B - 1、KU - G B - 2 a、KU - G B - 2 b、KU - G B - 2 c、KU - G B - 2 d、KU - G B - 5 等に対する抗体の定量、グリオーマ等の癌の診断用マーカーなどとして、また当該分野の研究用試薬としても有用である。

【 0 0 2 2 】

本発明の本件グリオーマ抗原に対する抗体としては、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、キメラ抗体、一本鎖抗体、ヒト化抗体等の免疫特異的な抗体を具体的に挙げることができ、これらは上記本件グリオーマ抗原を用いて常法により作製することができるが、その中でもモノクローナル抗体がその特異性の点で好ましく、特に KU - G B - 1、K

10

20

30

40

50

U - G B - 2 a、K U - G B - 2 b、K U - G B - 2 c、K U - G B - 2 d、K U - G B - 5 等のエピトープあるいは該エピトープとH L Aとの複合体を特異的に認識するモノクローナル抗体がより好ましい。かかるモノクローナル抗体等の抗体は、例えば、グリオーマ等の癌の診断、ミサイル療法等の治療ばかりでなく、グリオーマ等の悪性腫瘍の発症機構を明らかにする上で有用である。

【 0 0 2 3 】

また本発明の抗体は、慣用のプロトコルを用いて、動物（好ましくはヒト以外）に本件グリオーマ抗原若しくはエピトープを含むその断片、又は該本件グリオーマ抗原、特にエピトープとH L Aとの複合体を膜表面に発現した細胞を投与することにより産生され、例えばモノクローナル抗体の調製には、連続細胞系の培養物により産生される抗体をもたらす、ハイブリドーマ法（Nature 256, 495-497, 1975）、トリオーマ法、ヒトB細胞ハイブリドーマ法（Immunology Today 4, 72, 1983）及びE B V - ハイブリドーマ法（MONOCLONAL ANTIBODIES AND CANCER THERAPY, pp.77-96, Alan R.Liss, Inc., 1985）など任意の方法を用いることができる。

10

【 0 0 2 4 】

上記本件グリオーマ抗原に対する一本鎖抗体をつくるために、一本鎖抗体の調製法（米国特許第4,946,778号）を適用することができる。また、ヒト化抗体を発現させるために、トランスジェニックマウス又は他の哺乳動物等を利用したり、上記抗体を用いて、その本件グリオーマ抗原を発現するクローンを単離・同定したり、アフィニティークロマトグラフィーでそのポリペプチドを精製することもできる。本件グリオーマ抗原やその抗原エピトープを含むペプチドに対する抗体は、グリオーマ等の診断や治療に使用できる可能性がある。そして、これら抗体が特異的に結合する組換えタンパク質又はペプチドも、前記のように本発明の本件グリオーマ抗原に包含される。

20

【 0 0 2 5 】

また、本発明の本件グリオーマ抗原を発現することができる発現系を含んでなる宿主細胞は、宿主細胞に本件グリオーマ抗原をコードする遺伝子を導入することにより作製することができる。かかる本件グリオーマ抗原をコードする遺伝子の宿主細胞への導入方法としては、Davisら（BASIC METHODS IN MOLECULAR BIOLOGY, 1986）及びSambrookら（MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL, 2nd Ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1989）などの多くの標準的な実験室マニュアルに記載される方法、例えば、リン酸カルシウムトランスフェクション、D E A E - デキストラン媒介トランスフェクション、トランスベクション(transvection)、マイクロインジェクション、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、スクレーピング (scrape loading)、弾丸導入(ballistic introduction)、感染等による方法を具体的に挙げるることができる。

30

【 0 0 2 6 】

そして、上記宿主細胞としては、大腸菌、ストレプトミセス、枯草菌、ストレプトコッカス、スタフィロコッカス等の細菌原核細胞や、酵母、アスペルギルス等の真菌細胞や、ドロソフィラス2、スポドプテラS f 9等の昆虫細胞や、L細胞、CHO細胞、COS細胞、HeLa細胞、C127細胞、BALB/c3T3細胞（ジヒドロ葉酸レダクターゼやチミジンキナーゼなどを欠損した変異株を含む）、BHK21細胞、HEK293細胞等の動物細胞や、植物細胞等を挙げるることができる。また、H L A発現能を有する宿主細胞や、元来H L A発現能を有さない宿主細胞にH L A c D N Aをトランスフェクションした宿主細胞に本件グリオーマ抗原をコードする遺伝子上記の方法で導入することにより、本件グリオーマ抗原を発現することができる発現系を含んでなるH L A発現能を有する宿主細胞を作製することができる。

40

【 0 0 2 7 】

また、発現系としては、上記本件グリオーマ抗原を宿主細胞内で発現させることができる発現系であればどのようなものでもよく、染色体、エピソーム及びウイルスに由来する発現系、例えば、細菌プラスミド由来、酵母プラスミド由来、S V 4 0のようなパポバウイ

50

ルス、ワクシニアウイルス、アデノウイルス、アデノアソシエーテッドウイルス、鶏痘ウイルス、仮性狂犬病ウイルス、レトロウイルス由来のベクター、バクテリオファージ由来、トランスポゾン由来及びこれらの組合せに由来するベクター、例えば、コスミドやファージミドのようなプラスミドとバクテリオファージの遺伝的要素に由来するものを挙げる事ができる。この発現系は発現を起こさせるだけでなく発現を調節する制御配列を含んでいてもよい。

【0028】

上記発現系を含んでなる宿主細胞やかかる細胞の細胞膜、またかかる細胞を培養して得られる本件グリオーマ抗原は、後述するように本発明のスクリーニング方法に用いることができる。例えば、細胞膜を得る方法としては、F. Pietri-Rouxel (Eur. J. Biochem., 247, 1174-1179, 1997)らの方法などを用いることができ、また、かかる本件グリオーマ抗原を細胞培養物から回収し精製するには、硫酸アンモニウム又はエタノール沈殿、酸抽出、アニオン又はカチ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、ハイドロキシ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めた公知の方法、好ましくは、高速液体クロマトグラフィーが用いられる。特に、アフィニティークロマトグラフィーに用いるカラムとしては、例えば、本件グリオーマ抗原に対する抗体を結合させたカラムや、上記本件グリオーマ抗原に通常のペプチドタグを付加した場合は、このペプチドタグに親和性のある物質を結合したカラムを用いることにより、本件グリオーマ抗原を得ることができる。

【0029】

本発明の本件グリオーマ抗原をコードする遺伝子機能が染色体上で欠損した非ヒト動物とは、染色体上の本件グリオーマ抗原をコードする遺伝子の一部若しくは全部が破壊・欠損・置換等の遺伝子変異により不活性化され、本件グリオーマ抗原を発現する機能を失った非ヒト動物をいい、また、本件グリオーマ抗原を過剰発現する非ヒト動物とは、野生型非ヒト動物に比べてかかる本件グリオーマ抗原を大量に産生する非ヒト動物をいう。そして、上記非ヒト動物としては、マウス、ラット等の齧歯目動物などの非ヒト動物を具体的に挙げる事ができるが、これらに限定されるものではない。

【0030】

ところで、メンデルの法則に従い出生してくるホモ接合体非ヒト動物には、本件グリオーマ抗原欠損型又は過剰発現型とその同腹の野生型とが含まれ、これらホモ接合体非ヒト動物における欠損型又は過剰発現型とその同腹の野生型を同時に用いることによって個体レベルで正確な比較実験をすることができることから、野生型の非ヒト動物、すなわち本件グリオーマ抗原をコードする遺伝子機能が染色体上で欠損又は過剰発現する非ヒト動物と同種の動物、さらには同腹の動物を、例えば下記に記載する本発明のスクリーニングに際して併用することが好ましい。かかる本件グリオーマ抗原をコードする遺伝子機能が染色体上で欠損又は過剰発現する非ヒト動物の作製方法を、本件グリオーマ抗原のノックアウトマウスやトランスジェニックマウスを例にとって以下説明する。

【0031】

例えば、本件グリオーマ抗原をコードする遺伝子機能が染色体上で欠損したマウス、すなわち本件グリオーマ抗原ノックアウトマウスは、マウス遺伝子ライブラリーからPCR等の方法により得られた遺伝子断片を用いて、本件グリオーマ抗原をコードする遺伝子をスクリーニングし、スクリーニングされた本件グリオーマ抗原をコードする遺伝子をウイルスベクター等を用いてサブクローンし、DNAシーケンシングにより特定する。このクローンの本件グリオーマ抗原をコードする遺伝子の全部又は一部をpMC1ネオ遺伝子カセット等に置換し、3'末端側にジフテリアトキシンAフラグメント(DT-A)遺伝子や単純ヘルペスウイルスのチミジンキナーゼ(HSV-tk)遺伝子等の遺伝子を導入することによって、ターゲティングベクターを作製する。

【0032】

この作製されたターゲティングベクターを線状化し、エレクトロポレーション(電気穿孔

10

20

30

40

50

）法等によってES細胞に導入し、相同的組換えを行い、その相同的組換え体の中から、G418やガンシクロピア（GANC）等の抗生物質により相同的組換えを起こしたES細胞を選択する。また、この選択されたES細胞が目的とする組換え体かどうかをサザンブロット法等により確認することが好ましい。その確認されたES細胞のクローンをマウスの胚盤胞中にマイクロインジェクションし、かかる胚盤胞を仮親のマウスに戻し、キメラマウスを作製する。このキメラマウスを野生型のマウスとインタークロスさせると、ヘテロ接合体マウスを得ることができ、また、このヘテロ接合体マウスをインタークロスさせることによって、本件グリオーマ抗原ノックアウトマウスを作製することができる。また、本件グリオーマ抗原ノックアウトマウスが生起しているかどうかを確認する方法としては、例えば、上記の方法により得られたマウスからRNAを単離してノーザンブロット法等により調べたり、またこのマウスの発現をウエスタンブロット法等により調べる方法がある。

10

【0033】

また、本発明のグリオーマ抗原のトランスジェニックマウスは、本件グリオーマ抗原をコードするcDNAにチキン - アクチン、マウスニューロフィラメント、SV40等のプロモーター、及びラビット - グロビン、SV40等のポリA又はイントロンを融合させて導入遺伝子を構築し、該導入遺伝子をマウス受精卵の前核にマイクロインジェクションし、得られた卵細胞を培養した後、仮親のマウスの輸卵管に移植し、その後被移植動物を飼育し、産まれた仔マウスから前記cDNAを有する仔マウスを選択することによりかかるトランスジェニックマウスを創製することができる。また、cDNAを有する仔マウス

20

【0034】

本発明の免疫誘導活性促進又は抑制物質のスクリーニング方法としては、本件グリオーマ抗原と被検物質とT細胞を用い、T細胞における免疫誘導活性を測定・評価する方法であれば特に制限されるものではなく、例えば、被検物質と本件グリオーマ抗原とT細胞とを用い、該T細胞における免疫誘導活性を測定・評価する方法や、被検物質と本件グリオーマ抗原を発現している細胞膜又は細胞とT細胞とを用い、該T細胞における免疫誘導活性を測定・評価する方法や、HLAを発現するベクターと被検ポリペプチドを発現するベクターを共にトランスフェクトした本件グリオーマ抗原発現宿主細胞とT細胞とを用い、該T細胞における免疫誘導活性を測定・評価する方法や、被検ポリペプチドを発現するベクターをトランスフェクトしたHLA発現能を有する本件グリオーマ抗原発現宿主細胞とT細胞とを用い、該T細胞における免疫誘導活性を測定・評価する方法や、前記ノックアウトマウスやトランスジェニックマウス等の非ヒト動物に被検物質を投与し、該非ヒト動物のT細胞における免疫誘導活性を測定・評価する方法等を挙げることができる。上記細胞膜又は細胞としては、前記本件グリオーマ抗原をコードする遺伝子が過剰発現する非ヒト動物又は野生型非ヒト動物などから得られる初代培養した細胞などの細胞や、前記本件グリオーマ抗原を発現することができる発現系を含んでなる宿主細胞や、これら細胞の細胞膜などを具体的に例示することができ、かかる細胞膜又は細胞と被検物質との接触方法としては、被検物質の存在下に本件グリオーマ抗原を発現している細胞膜又は細胞をインビトロで培養し、次いでT細胞と接触させる方法等を挙げることができる。T細胞における免疫誘導活性を測定・評価する方法としては、T細胞から培地中に放出されたIFN量を指標として評価する方法を具体的に例示することができる。また上記スクリーニング方法により得られる免疫誘導活性促進物質は、免疫誘導活性の促進を必要としている患者の治療等に用いることができ、また、免疫誘導活性抑制物質は、免疫誘導活性の抑制を必要としている患者の治療等に用いることができる。

30

40

【0035】

【実施例】

以下、実施例により本発明をより具体的に説明するが、本発明の技術的範囲はこれらの例

50

示に限定されるものではない。

【細胞株と組織】

ヒトグリオーマ細胞株 (G I - 1、T 9 8 G、U 8 7 M G、U 2 5 1)、ヒト悪性黒色腫細胞株 (S K m e l 2 3、1 3 6 2 m e l、8 8 8 m e l)、肺癌細胞株 (L U 9 9、R E R F - L C - M A、E B C 1)、食道癌細胞株 (T E 1 0)、乳癌細胞株 (M D A 2 3 1)、膵癌細胞株 (P K 1)、腎細胞癌細胞株 (R C C 6)、膀胱癌細胞株 (B C 4 7)、前立腺癌細胞株 (P C 3)、白血病細胞株 (H L 6 0、M o l t 4)を、それぞれペニシリン (1 0 0 I U / m l) とストレプトマイシン (1 0 0 μ g / m l) を添加した 1 0 % のウシ胎児血清を含む R P M I で培養した。膵癌細胞株 (K U 7) を、ペニシリン / ストレプトマイシン (1 %)、L - グルタミン (1 %)、H E P E S (1 0 m M)、E G F (6 μ g / l)、インシュリン (1 5 0 U / l)、ヒドロコルチゾン (0 . 5 m g / l)、トランスフェリン (1 0 m g / l) を添加した 1 0 % のウシ胎児血清を含む R P M I 1 6 4 0 で培養した。ヒトグリオーマ組織 (G B 1 3、G B 1 6、G B 1 7、G B 4) は、手術時に摘出された病変の一部を用いた。正常組織 (脳、心臓、肺、胃、大腸、肝臓、脾臓、小腸、腎臓、精巣、胎盤、筋肉、胎児脳) の R N A は全てクローンテック社製より購入した。

10

【0036】

【cDNAライブラリーの作製】

上記グリオーマ細胞株 U 8 7 - M G 及び T 9 8 G から塩化セシウム超遠心法により全 R N A を単離し、それぞれ 1 m g ずつ混合した後、オリゴテックス (d T) 3 0 (TAKARA社製) を用いたポリ (A) セレクションを行い m R N A を精製した。5 μ g の精製 m R N A から ZAP - cDNA Synthesis Kit (Stratagene社製) を用いて逆転写により c D N A を合成し、この c D N A を Z A P 発現ファージミドベクターに組み込み、ファージ c D N A ライブラリーを構築した。

20

【0037】

【血清による c D N A ライブラリーのスクリーニング】

上記構築した c D N A ライブラリーを 1 5 0 m m N Z Y アガロースプレートに 1 \times 1 0 4 クローンで播き、4 2 で 4 時間培養した後、3 7 で 4 時間培養して大腸菌 (X L 1 - B l u e) 上で 1 0 m M の I P T G により発現誘導されたリコンビナント蛋白を、ニトロセルロースフィルター (Hybond-c, Amersham, Buckinghamshire, England) に転写し、0 . 0 5 % の T W I N 2 0 を含む T B S (1 0 m M の T r i s - H C l、1 5 0 m M の N a C l ; p H 7 . 5) でフィルターを洗浄することにより吸着したバクテリア、ファージを除去した後、5 % のスキムミルクを含む T B S にて非特異反応を抑制した。このフィルターを 1 0 0 倍又は 4 0 0 倍に希釈した患者血清と 3 7 で 4 時間反応させた。なお、患者血清としては、表 1 に示す 1 2 人のグリオーマ患者から採取したものや、表 2 に示す 8 人のグリオーマ患者からそれぞれ採取し、グリオーマ患者血清 4 人分を混合したもの [(G 2 0 , G 2 1 , G 2 2 , G 2 7 患者血清を混合)、(G 1 8 , G 2 3 , G 2 4 , G 2 8 患者血清を混合)] を用いた。これらの血清は - 8 0 で保存し、使用直前に 5 % のスキムミルクを含む T B S 溶液で 5 倍に希釈して、さらにバクテリアに反応する抗体をあらかじめ除去するため、溶菌した大腸菌のライセートと 1 : 2 の割合で混合して 4 で 8 時間反応させた後、その上清を最終的に 1 0 0 倍 (表 1 に示す患者血清を用いた場合) 又は 4 0 0 倍 (表 2 に示す 4 人分の患者血清を用いた場合) に希釈したものをを用いた。

30

40

【0038】

【表 1】

患者血清	年齢	性別	診断	陽性クローン数	異なったインサート数
G	48	M	膠芽腫	5	4
H	77	F	退形成性稀突起星細胞腫	4	4
I	53	F	膠芽腫	3	2
K	26	F	膠芽腫	18	8
L	61	M	退形成性稀突起星細胞腫	15	5
N	32	F	退形成性星細胞腫	9	7
O	62	F	膠芽腫	1	1
P	30	M	退形成性星細胞腫	6	3
R	53	F	膠芽腫	18	12
S	49	F	星状細胞腫	8	2
U	61	F	膠芽腫	1	1
V	68	F	膠芽腫	4	3
合計				92	52

10

【0039】

【表2】

患者血清	年齢	性	診断	陽性クローン数	単離遺伝子の種類
G20	17	F	退形成星細胞腫	4	3
G21	32	M	星細胞腫		
G22	18	M	退形成星細胞腫		
G27	25	M	星細胞腫		
G18	21	F	膠芽腫	17	5 (新規1種を含む)
G23	3	F	星細胞腫		
G24	7	F	稀突起星細胞腫		
G28	41	M	退形成突起星細胞腫		
合計				21	8

20

【0040】

かかる処理血清とニトロセルロースフィルターにプロットしたリコンビナント蛋白とを37で4時間反応させ、血清中の抗体が反応したリコンビナント蛋白を、アルカリフォスファターゼ標識抗ヒトIgG抗体(ICN Pharmaceuticals社製)を用いて検出した。次いで、発色反応陽性部位に一致する陽性クローンを前記150mmNZYアガロースプレート上から採取し、SM緩衝液(100mMのNaCl、10mMのMgSO₄、50mMのTris-HCl、0.01%のgelatin; pH7.5)に溶解させた。さらにこのスクリーニングを数回繰り返し行い、陽性クローンの抗体反応性を確認した。患者血清1人あたり5×10⁵個のファージクローンからスクリーニングして、表1に示された患者血清から合計92個の陽性クローンを、表2に示された患者血清から合計21個の陽性クローンを単離した。患者別の単離陽性クローン数を表1及び表2に示す。表1に示された患者血清から得られた92個の陽性クローンのうち、18個は膠芽腫(Glioblastoma)患者Kから、18個は膠芽腫(Glioblastoma)患者Rから、15個は退形成性稀突起星細胞腫(Anaplastic oligoastrocytoma)患者Lのものであり、特定の患者血清に陽性クローンが集中する傾向が認められたが、この傾向は年齢や悪性度とは明らかな関係がないことがわかった。

30

【0041】

[単離抗原遺伝子の相同性検索]

上記得られた表1に示された患者血清を用いることにより得られた92個のファージ、及び表2に示された患者血清を用いることにより得られた21個のファージに組み込まれたcDNAインサートをPCR法により増幅し、各塩基配列を決定した。反応酵素にはExTaq(TAKARA社製)を用い、センスプライマーにT3(5'-AATTAACCCCTCACTAAAGGG-3';配列番号13)、アンチセンスプライマーにT7(5'-GTAATACGACTCACTATAGGGC-3';配列番号14)を用いた。なお、反応条件は、サーマルサイクラー(Perkin-Elmer)を用いて最初のみ94で5分間変性させ、その後94で1分間熱変性させ、55で1分間アニーリングし、72で2分間伸張反応させるというサイクルを35回繰り返し行い、最後に72で7分間伸張させた。得られたPCR産物を、Big Dye DNA Sequencing Kit(ABI)とABI310オートシーケンサーとを用いてDNAシーケンスを行い、5側の塩基配列を300~500bp程決定した。この決定したDNAを、米国国立生体工学情報センターの遺伝子デ

40

50

ーターベース又はESTデータベースにおいて登録されている遺伝子情報との間で比較し、既知の遺伝子との相同性を検索した。この結果、上記表1に示された患者血清を用いることにより得られた92個の陽性クローンは、38種類の既知タンパク質をコードするcDNAと14種類の新規タンパク質をコードするcDNAの52種類の抗原cDNAであることがわかった。患者別の52種類の抗原cDNA数を表1に示す。また、上記表2に示された患者血清を用いることにより得られた21個の陽性クローンは、7種類の既知タンパク質をコードするcDNAと1種類の新規タンパク質をコードするcDNAの8種類の抗原cDNAであることがわかった。患者別の8種類の抗原cDNA数を表2に示す。

【0042】

[血清スクリーニング]

表1の患者血清を用いることにより単離された52種類の抗原を発現する各クローンを用いて、グリオーマの血清診断への応用を検討するために、グリオーマ患者17人(膠芽腫9人、退形成性星細胞腫5人、退形成性稀突起星細胞腫2人、びまん性星細胞腫1人)、一部の抗原に関しては、グリオーマ患者29人(膠芽腫12人、退形成性星細胞腫7人、退形成性稀突起星細胞腫4人、星細胞腫4人、稀突起星細胞腫2人)、他の脳疾患患者8人(悪性リンパ腫2人、脳膿瘍1人、髄膜腫3人、転移性グリオーマ1人、くも膜下出血1人)、他の癌患者16人(悪性黒色腫4人、膵癌4人、腎細胞癌4人、食道癌4人)、及び健常人16人(一部の抗原については26人あるいは54人)の100倍に希釈した各血清を用いてスクリーニングを行い、これら血清中に各単離グリオーマ抗原に対するIgG抗体が検出するかどうかについて調べた。この結果、グリオーマ患者血清とのみ反応する7種のグリオーマ特異抗原(グリオーマ特異抗原遺伝子)と、グリオーマ患者血清とグリオーマ以外の他の癌患者血清とも反応するが、その他の健常人血清等とは反応しない4種のグリオーマ非特異抗原(グリオーマ非特異抗原遺伝子)を得ることができた。7種のグリオーマ特異抗原(グリオーマ特異抗原遺伝子)は、表3に示されるように、新規なKU-GB-2、L13の他、Cytochrome-C、DEK oncogene、Nuclear Antigen SP100、Sarcolemmal associated protein、KIAA1014 proteinであった。また4種のグリオーマ非特異抗原(グリオーマ非特異抗原遺伝子)は、表4に示されるように、新規なKU-GB-1の他、Mitotic centromere associated protein、human S5A、Minichromosome maintenance deficient-3であり、これらグリオーマ非特異抗原が反応するグリオーマ以外の他の癌患者血清は、KU-GB-1ではメラノーマと腎細胞癌、Mitotic centromere associated proteinでは膵癌、human S5aでは食道癌、Minichromosome maintenance deficient-3ではメラノーマの癌患者血清であった。

【0043】

[表3]

抗原(抗原遺伝子)	グリオーマ患者	健常人	他の脳疾患患者	他の癌患者
KU-GB-2	5/29	0/54	0/8	0/16
L13	2/17	0/16	0/8	0/16
Cytochrome-C	1/17	0/16	0/8	0/16
DEK oncogene	1/17	0/16	0/8	0/16
Nuclear Antigen SP100	1/17	0/16	0/8	0/16
Sarcolemmal associated protein	1/17	0/16	0/8	0/16
KIAA1014 protein	1/17	0/16	0/8	0/16

【0044】

[表4]

抗原(抗原遺伝子)	グリオーマ患者	健常人	他の脳疾患患者	他の癌患者
KU-GB-1	1/29	0/54	0/8	2/16
Mitotic centromere associated protein	2/17	0/16	0/8	1/16
human S5a	3/17	0/26	0/8	1/16
Minichromosome maintenance deficient-3	1/17	0/16	0/4	1/16

10

20

30

40

50

【 0 0 4 5 】

上記の7種のグリオーマ特異抗原と4種のグリオーマ非特異抗原は、他の脳疾患患者や健康人の血清と抗体反応を示さないことから、グリオーマあるいはグリオーマを含む癌の血清診断薬や治療薬として有用であると考えられる。例えば上記 I g G 抗体の検出結果から、human S5aに対する抗体反応がグリオーマ患者及び食道癌患者血清において認められ、他の脳疾患患者及び健康人血清に対する反応が見られないため、human S5aはグリオーマを含む癌の血清診断薬や治療薬として有用であると考えられる。なお、このhuman S5aは G e n B a n k に3種類の名前 [Human proteasome 26S subunit, non-ATPase 4 (PSMD4) : アクセッション番号 [NM_002810](#)、Antisecretory factory 1 : アクセッション番号 U24704、26S protease subunit S5a : アクセッション番号 U51007] で登録されている。この human S5a には神経特異的な発現を示すアイソフォームが1種類存在することが報告 (EMBO J. 19, 4144-4153, 2000) されており、このアイソフォーム human pUb-R5 (アクセッション番号 AB033605) は、human S5a と同様にグリオーマ抗原である可能性が高い。

10

【 0 0 4 6 】

表2の患者血清を用いることにより単離された8種類の抗原を発現する各クローンを用いて、グリオーマの血清診断への応用を検討するために、グリオーマ患者29人 (膠芽腫12人、退形成星細胞腫7人、退形成稀突起星細胞腫4人、星細胞腫4人、稀突起星細胞腫2人)、他の脳疾患患者14人 (悪性リンパ腫2人、脳膿瘍1人、くも膜下出血1人、パーキンソン病2人、髄膜腫4人、神経細胞腫1人、頭蓋咽頭腫1人、転移性脳腫瘍2人)、及び健康人37人の100倍に希釈した各血清を用いてスクリーニングを行い、上記と同様にこれら血清中に各単離グリオーマ抗原に対する I g G 抗体が検出しているかどうかについて調べた。この結果、グリオーマ患者血清とのみ反応を示すか、又は多くのグリオーマ患者血清と反応を示し健康人の血清とはほとんど抗体反応を示さない2種のグリオーマ特異抗原 (グリオーマ特異抗原遺伝子) を得ることができた。2種のグリオーマ特異抗原 (グリオーマ特異抗原遺伝子) は、表5に示されるように、新規な K U - G B - 5 及び MutL (E. coli) homolog1 (hMLH1) (GenBank アクセッション番号 [NM_000249](#)) であることがわかった。上記2種のグリオーマ特異抗原は、グリオーマ患者血清と特異的に、あるいは多くのグリオーマ患者血清と反応することから、グリオーマの血清診断薬や治療薬として有用であると考えられる。

20

【 0 0 4 7 】

【 表 5 】

遺伝子	GeneBank アクセッション 番号	血清スクリーニング		
		グリオーマ患者	健康人	他の脳疾患患者
KU-GB-5	なし	1/29	0/37	0/14
MutL(E.coli) homolog1 (hMLH1)	NM000249	5/29	1/37	0/14

30

【 0 0 4 8 】

[抗原の塩基配列とアミノ酸配列の決定]

単離されたクローンの塩基配列を、自動DNAシーケンサー (ALF Express ; ファーマシアバイオテック社製) を用いて調べた結果、K U - G B - 1 は 1 1 2 0 個のアミノ酸配列 (配列番号 2) をコードする遺伝子を含む全長 3 7 0 9 b p の塩基配列 (配列番号 1) から構成されていることがわかった。これに対して K U - G B - 2 には4種類のアイソフォーム (isoform) が存在することがわかった。すなわち、1 1 5 4 個のアミノ酸配列 (配列番号 4) をコードする遺伝子を含む全長 3 5 3 3 b p の塩基配列 (配列番号 3) から構成されている K U - G B - 2 a の他、K U - G B - 2 b、K U - G B - 2 c、及び K U - G B - 2 d の3種類のアイソフォームが見つかった。K U - G B - 2 b の塩基配列及びアミノ酸配列をそれぞれ配列番号 5 と 6 に、K U - G B - 2 c の塩基配列及びアミノ酸配列をそれぞれ配列番号 7 と 8 に、K U - G B - 2 d の塩基配列及びアミノ酸配列をそれぞれ配列番号 9 と 1 0 にそれぞれ示す。さらに、K U - G B - 5 は 8 9 1 個のアミノ酸配列 (

40

50

配列番号12)をコードする遺伝子を含む全長3847bpの塩基配列(配列番号11)から構成されていることがわかった。

【0049】

[グリオーマ抗原のmRNA発現を検出するためのノーザンブロット法]

正常組織(脳、心臓、腎臓、脾臓、肝臓、小腸、肺、精巣、胎盤、胃)由来のRNA、ヒトグリオーマ細胞株(GI-1、U87-MG、T98G)及びヒトグリオーマ組織(GB13、GB17)由来のRNA、並びに、ヒト悪性黒色腫細胞株(1362mel、888mel)、肺癌細胞株(LU99、RERF-LC-MA)、食道癌細胞株(TE10)、乳癌細胞株(MDA231)、膵癌細胞株(PK1)、腎細胞癌細胞株(RCC6)、膀胱癌細胞株(BC47)、前立腺癌細胞株(PC3)及び白血病細胞株(HL60、Molt4)の各細胞株由来のRNAを用いて、KU-GB-1に対するノーザンブロットを行った。RNA(各11µg)を、ホルムアミド及びホルムアルデヒドを含むアガロースゲルで電気泳動し、ナイロンメンブランフィルター(Hybond XL, Amersham)に移した。

10

【0050】

次に長さ3709bpのKU-GB-1全長を含む遺伝子断片を、High Prime DNA Labeling Kit(Boehringer)を用いて³²Pでラベリングしたプローブとし、Quik Hyb(Stratagene)をハイブリダイゼーションバッファーとして用いてナイロンメンブランフィルターを浸し、68℃で30分間プレハイブリダイゼーションを行った。その後、上記プローブを加えたQuik Hyb中で68℃で2時間ハイブリダイゼーションした。次いで、このハイブリダイゼーションしたナイロンメンブランフィルターを洗浄液I(2×SSC、0.1%のSDS)で室温で15分間2回洗浄し、洗浄液II(0.1×SSC、0.1%のSDS)で68℃で15分間2回洗浄した。洗浄したナイロンメンブランフィルターを、Molecular Imager(BIORAD)を用いて放射性シグナルの検出を行った。結果を図1に示す。

20

【0051】

図1に示されているように、KU-GB-1の正常組織における遺伝子発現は精巣以外に認められず、グリオーマを含む癌細胞株においてのみ高い発現が認められた。これらのことから、KU-GB-1遺伝子はグリオーマを含む癌の遺伝子診断薬として有用であると考えられる。また前記のように、KU-GB-1抗原に対する抗体反応がグリオーマ及び他の癌(悪性黒色腫、腎癌)の患者血清において認められ、他の脳疾患患者や健康人血清に対する抗体反応が認められなかったことから、KU-GB-1抗原はグリオーマを含む癌の診断薬や治療薬として有用であると考えられる。なお、精巣における発現については、免疫系から隔離された組織であることから、KU-GB-1抗原を実際に免疫療法等に用いる際に精巣の障害が問題となる可能性は殆どないと考えられる。

30

【0052】

[グリオーマ抗原の発現を検出するためのRT-PCR法]

次にグリオーマ抗原KU-GB-2遺伝子又はKU-GB-5遺伝子の各正常組織、グリオーマ細胞株及び組織並びに他の腫瘍細胞株における発現特異性をRT-PCR法により調べてみた。脳、心臓、肺、胃、肝臓、脾臓、小腸、腎臓、胎盤、精巣、大腸、筋肉、胎児脳各正常組織由来のRNA(全てクローンテック社製より購入)、4種のグリオーマ細胞株(GI-1、U251、U87MG、T98G)及び4種のグリオーマ組織(GB13、GB16、GB17、GB4)由来のRNA、並びに、悪性黒色腫細胞株(SKmel23)、肺癌細胞株(LU99、EBC1)、食道癌細胞株(TE10)、膵癌細胞株(KU7)、乳癌細胞株(MDA231)及び白血病細胞株(Molt4)の各細胞株由来のRNAを、各5µgずつ使用し、トリ骨髄芽球ウイルス逆転写酵素(TAKARA社製)と、プライマーとしてオリゴ(dT)を用いて、全反応量200µl、42℃でRT-PCRの鋳型となるcDNAのパネルを作製した。

40

【0053】

KU-GB-2検出用には、センスプライマーとして(5'-AGAGCGACCTTGAGACCAGAAA-3';配列番号15)を、アンチセンスプライマーとして(5-

50

- A C A C A A G G C A G G A G A T G G A A G T - 3 ; 配列番号 16) を、 K U - G B - 5 検出用には、センスプライマーとして (5 - A A A A C T C G C C T T T C T G A A C C - 3 ; 配列番号 17) を、アンチセンスプライマーとして (5 - A G C A A G T A A C T G G A G A A G C A - 3 ; 配列番号 18) を、コントロールとしての アクチン検出用 (5 5 1 b p) には、センスプライマーとして (5 - G T C G A C A A C G G C T C C G G C A T G T G C A - 3 ; 配列番号 19) とアンチセンスプライマー (5 - G G A T C T T C A T G A G G T A G T C A G T C A G - 3 ; 配列番号 20) を用いた。これらの P C R プライマーを用い、反応酵素に E X T a q (TAKARA 社製) を使用して、サーマルサイクラー (Perkin-Elmer) を用いて、94 で 1 分間熱変性させ、アニーリングの後に 72 で 1 分間 (K U - G B - 5 は 30 秒間) 伸張反応させるというサイクルで、30 サイクル繰り返し行った。アニーリング温度はプライマーの T m 値 [K U - G B - 2 は 62 、 K U - G B - 5 は 60 、コントロールとしての アクチンは 68] に設定し 1 分間 (K U - G B - 5 は 30 秒間) 行なった。得られた P C R 産物をアガロースゲル電気泳動 (2 . 0 %) にかき、エチジウムブロマイド (E t B r) で染色し、紫外線照射によりバンドを検出した。K U - G B - 2 の R T - P C R の結果を図 2 に、K U - G B - 5 の R T - P C R の結果を図 3 にそれぞれ示す。図 2 に示すように、K U - G B - 2 は、U 8 7 - M G、G I - 1 (ヒトグリオーマ細胞株)、G B 1 3、G B 1 7 (グリオーマ組織)、S k m e 1 2 3 (悪性黒色腫細胞株) 及び精巣において強い発現が認められ、U 2 5 1 (ヒトグリオーマ細胞株)、L U 9 9 (肺癌細胞株)、脳、小腸及び胃においては弱い発現が認められた。また、図 2 においては 2 本のバンドが認められるが、前記のように K U - G B - 2 には 4 種類のアイソフォームが存在し、大きいサイズのバンド (レーン上 ; 6 2 8 b p) が K U - G B - 2 b 及び K U - G B - 2 d の発現を示し、小さいサイズのバンド (レーン下 ; 4 4 7 b p) が K U - G B - 2 a 及び K U - G B - 2 c の発現を示している。また、図 3 から、K U - G B - 5 は、G I - 1、U 2 5 1 (ヒトグリオーマ細胞株)、G B 1 3、G B 1 7 (グリオーマ組織)、精巣において強い発現が見られ、U 8 7 M G (ヒトグリオーマ細胞株)、G B 1 6 (グリオーマ組織)、脳、肺、脾臓、胎児脳においては弱い発現が認められた。

【 0 0 5 4 】

図 2 及び図 3 に示されているように、K U - G B - 2 及び K U - G B - 5 は、K U - G B - 1 の場合と同様に、精巣以外の正常組織における高い遺伝子発現は認められず、グリオーマや S k m e 1 2 3 (悪性黒色腫細胞株) においてのみ高い遺伝子発現が認められた。また上記のように K U - G B - 2 には 4 種類のアイソフォームが存在するが、これら 4 種類のアイソフォームについても個別に R T - P C R 分析を行ったところ、特に K U - G B - 2 a 及び K U - G B - 2 b は神経系に特異的な発現パターンを示すことがわかった。これらのことから、K U - G B - 2 に属する個々の遺伝子もグリオーマを含む癌の遺伝子診断薬として有用であると考えられる。さらに前記のように、K U - G B - 2 抗原に対する抗体反応がグリオーマ患者血清において特異的に認められ、他の癌、他の脳疾患患者及び健常人血清に対する抗体反応が認められなかったことから、K U - G B - 2 抗原はグリオーマの診断薬や治療薬として有用であると考えられる。また、K U - G B - 5 抗原は、グリオーマ患者血清と特異的に反応することから、グリオーマの血清診断薬や治療薬として有用であると考えられる。なお、精巣における発現については、免疫系から隔離された組織であることから、K U - G B - 2 抗原や K U - G B - 5 抗原を実際に免疫療法等に用いる際に精巣の障害が問題となる可能性は殆どないと考えられる。

【 0 0 5 5 】

【 発明の効果 】

本発明のグリオーマ抗原及び / 又はグリオーマ抗原遺伝子の調製方法により得られるグリオーマ抗原やグリオーマ抗原遺伝子 D N A は、グリオーマ等の癌に対する治療や診断に有用であり、またグリオーマ発症に関する基礎的知見を得る上でも有用である。

【 図面の簡単な説明 】

【 図 1 】 本発明のノーザンブロット法によるグリオーマ抗原 K U - G B - 1 の発現解析の

結果を示す図である。

【図2】本発明のRT-PCRによるグリオーマ抗原KU-GB-2の発現解析の結果を示す図である。

【図3】本発明のRT-PCRによるグリオーマ抗原KU-GB-5の発現解析の結果を示す図である。

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> KEIO UNIVERSITY

<120> Human Brain Tumor Antigens and method for preparation

10

<130> P00000114

<140>

<141>

<150> JP 2001-001965

<151> 2001-01-09

<160> 20

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

20

<211> 3709

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (170)..(3532)

<400> 1

ggcaccagatc taltcatca alaaccatc actggglicl tggtttaagg ggttigagaa 60

gcltgcacc tcccagcgtt taltatfati ttttclltt gccccgacct ttgacctcig 120

ggccatitgi aatacatatt taatttttag tcacaggaaa taagtaac atg gig ctc 178

Met Val Leu

1

aac agi ttg gat aag atg aat caa ctc cag aaa aac aci gcc aac atc 226

Asn Ser Leu Asp Lys Met Ile Gln Leu Gln Lys Asn Thr Ala Asn Ile

5

10

15

agg aal all igt gtt ttg gct cal gtt gac cat gga aaa aci aci ctg 274

Arg Asn Ile Cys Val Leu Ala His Val Asp His Gly Lys Thr Thr Leu

20

25

30

35

gcl gac tgt cti ata tct agc aat gga atc atc tcc agc cgc cta gca 322

Ala Asp Cys Leu Ile Ser Ser Asn Gly Ile Ile Ser Ser Arg Leu Ala

40

45

50

30

40

ggc aag ita agg tac atg gac agc aga gaa gai gaa cag atc cga ggg	370	
Gly Lys Leu Arg Tyr Met Asp Ser Arg Glu Asp Glu Gln Ile Arg Gly		
55 60 65		
atc aci atg aaa tcc agi gcc att tcc cia cai iat gca aca ggt aat	418	
Ile Thr Met Lys Ser Ser Ala Ile Ser Leu His Tyr Ala Thr Gly Asn		
70 75 80		
gag gag tac ctg atc aal ctg ata gac tct cca gga cac gtg gac ttt	466	
Glu Glu Tyr Leu Ile Asn Leu Ile Asp Ser Pro Gly His Val Asp Phe		
85 90 95		
tcc tca gaa gta tca acc gct gtt cgc att tgt gat gga tgc atc att	514	10
Ser Ser Glu Val Ser Thr Ala Val Arg Ile Cys Asp Gly Cys Ile Ile		
100 105 110 115		
gtg gta gat gct gtg gaa gga gtc tgt cca cag aca cag gca gtt ctg	562	
Val Val Asp Ala Val Glu Gly Val Cys Pro Gln Thr Gln Ala Val Leu		
120 125 130		
cga caa gct igg ctt gaa aac atc cgt ccg gtt tta glg att aat aag	610	
Arg Gln Ala Trp Leu Glu Asn Ile Arg Pro Val Leu Val Ile Asn Lys		
135 140 145		
att gat cgc ttg ata glg gaa ctg aaa ttc acc cca caa gag gcc tat	658	20
Ile Asp Arg Leu Ile Val Glu Lys Phe Thr Pro Gln Glu Ala Tyr		
150 155 160		
tct cac ctg aag aat att tta gaa cag att aat gcg ctg aca ggg act	706	
Ser His Leu Lys Asn Ile Leu Glu Gln Ile Asn Ala Leu Thr Gly Thr		
165 170 175		
ctt ttt aci tct aaa gtc cta gaa gaa aga gca gag agg gag act gaa	754	
Leu Phe Thr Ser Lys Val Leu Glu Glu Arg Ala Glu Arg Glu Thr Glu		
180 185 190 195		
tcc caa gtg aat cca aat tct gaa caa gga gag caa gta iat gac tgg	802	
Ser Gln Val Asn Pro Asn Ser Glu Gln Gly Glu Gln Val Tyr Asp Trp		
200 205 210		
agc act ggc ttg gag gac aca gat gat tct cac ctg tac ttc tct cca	850	30
Ser Thr Gly Leu Glu Asp Thr Asp Asp Ser His Leu Tyr Phe Ser Pro		
215 220 225		
gaa cag gga aat gig gtg ttt acc agt gca aia gat ggg tgg ggc ttt	898	
Glu Gln Gly Asn Val Val Phe Thr Ser Ala Ile Asp Gly Trp Gly Phe		

230	235	240	
gga att gag cac ile gcc aga atc tac agt caa aaa att ggc atc aaa			946
Gly Ile Glu His Phe Ala Arg Ile Tyr Ser Gln Lys Ile Gly Ile Lys			
245	250	255	
aag gaa gtt ctt atg aaa acc ttg igg gga gal tac tat ata aat atg			994
Lys Glu Val Leu Met Lys Thr Leu Trp Gly Asp Tyr Tyr Ile Asn Met			
260	265	270	275
aag gct aaa nag atc atg aag ggt gat cag gcc aaa gga aag aaa cct			1042
Lys Ala Lys Lys Ile Met Lys Gly Asp Gln Ala Lys Gly Lys Lys Pro			
280	285	290	
tta ttg gta cag ttg atc cig gaa aat ata tgg agt ttg tat gat gct			1090
Leu Phe Val Gln Leu Ile Leu Glu Asn Ile Trp Ser Leu Tyr Asp Ala			
295	300	305	
gtt ttg aaa aag gac aaa gac aaa att gal aaa ata gtg act tct tta			1138
Val Leu Lys Lys Asp Lys Asp Lys Ile Asp Lys Ile Val Thr Ser Leu			
310	315	320	
gga tta aaa att gga gcc cgg gag gca cga cat tca gac cct aaa gtt			1186
Gly Leu Lys Ile Gly Ala Arg Glu Ala Arg His Ser Asp Pro Lys Val			
325	330	335	
cag atc aac gcc att tgc agt cag igg cia ccc ata tcc cat gct gtt			1234
Gln Ile Asn Ala Ile Cys Ser Gln Trp Leu Pro Ile Ser His Ala Val			
340	345	350	355
ctt gct atg gig tgt cag aaa ctt cct agt ccc ctt gat att aca gct			1282
Leu Ala Met Val Cys Gln Lys Leu Pro Ser Pro Leu Asp Ile Thr Ala			
360	365	370	
gag aga gig gag aga ctg atg tgc aca gga tca caa act ttt gac tct			1330
Glu Arg Val Glu Arg Leu Met Cys Thr Gly Ser Gln Thr Phe Asp Ser			
375	380	385	
ttt cca cca gaa act caa gca ctg aaa gca gct ttt atg aaa tgt gga			1378
Phe Pro Pro Glu Thr Gln Ala Leu Lys Ala Ala Phe Met Lys Cys Gly			
390	395	400	
agt gag gac act gct cca gtt att ata ttt gtt tcc aaa atg ttt gca			1426
Ser Glu Asp Thr Ala Pro Val Ile Ile Phe Val Ser Lys Met Phe Ala			
405	410	415	
glt gat gct aag gcc ttg cct cag aat aag cca agg cct ctg act caa			1474

10

20

30

Val Asp Ala Lys Ala Leu Pro Gln Asn Lys Pro Arg Pro Leu Thr Gln		
420	425	430 435
gaa gaa att gci cag aga cgl gag cgl gca aga caa agg cat gca gag		1522
Glu Glu Ile Ala Gln Arg Arg Glu Arg Ala Arg Gln Arg His Ala Glu	440	445 450
aag ctt gca gca gca cag gga cag gca ccc ttg gag ccc acc caa gat		1570
Lys Leu Ala Ala Ala Gln Gly Gln Ala Pro Leu Glu Pro Thr Gln Asp	455	460 465
ggg agt gcc att gaa aca tgt cca aaa gga gac gag cca aga ggt gac		1618
Gly Ser Ala Ile Glu Thr Cys Pro Lys Gly Asp Glu Pro Arg Gly Asp	470	475 480
gag caa cag gtg gaa agt aig acc cct aaa cct gtg ctg cag gaa gaa		1666
Glu Gln Gln Val Glu Ser Met Thr Pro Lys Pro Val Leu Gln Glu Glu	485	490 495
aac aac caa gag tct ttt att gca ttt gct cgg gtg ttc agt ggt gtg		1714
Asn Asn Gln Glu Ser Phe Ile Ala Phe Ala Arg Val Phe Ser Gly Val	500	505 510 515
gct cga aga gga aag aaa att ttt gtc ttg ggg ccc aaa tac agt cct		1762
Ala Arg Arg Gly Lys Lys Ile Phe Val Leu Gly Pro Lys Tyr Ser Pro	520	525 530
ctt gag ttt tta cga agg gta cca tta ggc ttc tca gct cca cca gat		1810
Leu Glu Phe Leu Arg Arg Val Pro Leu Gly Phe Ser Ala Pro Pro Asp	535	540 545
ggc ctg ccc caa gtc ccc cac atg gca tac tgt gct ctg gaa aac ctg		1858
Gly Leu Pro Gln Val Pro His Met Ala Tyr Cys Ala Leu Glu Asn Leu	550	555 560
tat ctt ctg aig gga agg gaa ctg gaa tat cta gag gag gta cct cca		1906
Tyr Leu Leu Met Gly Arg Glu Leu Glu Tyr Leu Glu Glu Val Pro Pro	565	570 575
gga aat gtg cta gga ata gga ggc ctt caa gat ttt gtg ctg aaa tct		1954
Gly Asn Val Leu Gly Ile Gly Gly Leu Gln Asp Phe Val Leu Lys Ser	580	585 590 595
gca aca ctg tgt agc ctg cca tcc tgc cca cca ttt ata cca ctg aac		2002
Ala Thr Leu Cys Ser Leu Pro Ser Cys Pro Pro Phe Ile Pro Leu Asn	600	605 610

10

20

30

tic gaa gcc aci cci att gic aga gii gci gii gaa cca aaa cai cca	2050	
Phe Glu Ala Thr Pro Ile Val Arg Val Ala Val Glu Pro Lys His Pro		
615 620 625		
agt gaa aig cci cag ctc gla aaa gga atg aaa cig tta aac cag gci	2098	
Ser Glu Met Pro Gln Leu Val Lys Gly Met Lys Leu Leu Asn Gln Ala		
630 635 640		
gat ccc tgi gtc cag att tta att cag gaa acg gga gag cac gtt tta	2146	
Asp Pro Cys Val Gln Ile Leu Ile Gln Glu Thr Gly Glu His Val Leu		
645 650 655		
gtc aca gea gga gaa gtc cac ctt cag cga tgc cig gal gac tta aaa	2194	10
Val Thr Ala Gly Glu Val His Leu Gln Arg Cys Leu Asp Asp Leu Lys		
660 665 670 675		
gaa agg ttt gca aag att cat aic agt gla tct gaa cci att att cca	2242	
Glu Arg Phe Ala Lys Ile His Ile Ser Val Ser Glu Pro Ile Ile Pro		
680 685 690		
tic aga gaa aca aic aca aaa ccc cca aaa gti gac aig gtc aat gaa	2290	
Phe Arg Glu Thr Ile Thr Lys Pro Pro Lys Val Asp Met Val Asn Glu		
695 700 705		
gaa aia ggc aaa cag caa aaa gti gca gtc aia cac caa atg aaa gaa	2338	20
Glu Ile Gly Lys Gln Gln Lys Val Ala Val Ile His Gln Met Lys Glu		
710 715 720		
gat caa agc aaa atc cct gaa gga aic caa gti gac tct gac ggg cta	2386	
Asp Gln Ser Lys Ile Pro Glu Gly Ile Gln Val Asp Ser Asp Gly Leu		
725 730 735		
aic acc aia aca aci ccc aat aaa cti gcc acg ctc agt gti cga gcc	2434	
Ile Thr Ile Thr Thr Pro Asn Lys Leu Ala Thr Leu Ser Val Arg Ala		
740 745 750 755		
atg ccc ctt cca gaa gaa gtc acc cag att cig gaa gaa aat agt gat	2482	
Met Pro Leu Pro Glu Glu Val Thr Gln Ile Leu Glu Glu Asn Ser Asp		
760 765 770		
tig att cgt tct aig gag cag tlg aca tcc tct tlg aat gag ggt gaa	2530	30
Leu Ile Arg Ser Met Glu Gln Leu Thr Ser Ser Leu Asn Glu Gly Glu		
775 780 785		
aat aci cac aig att cai cag aag acc caa gag aaa att tgg gaa ttc	2578	
Asn Thr His Met Ile His Gln Lys Thr Gln Glu Lys Ile Trp Glu Phe		
790 795 800		

aaa gga aaa cig gag caa cac cia aca ggg aga aga igg agg aac atl	2626	
Lys Gly Lys Leu Glu Gln His Leu Thr Gly Arg Arg Trp Arg Asn Ile		
805 810 815		
gll gac caa atc igg ica ill ggc cca aga aaa tgl ggg ccc aac ata	2674	
Val Asp Gln Ile Trp Ser Phe Gly Pro Arg Lys Cys Gly Pro Asn Ile		
820 825 830 835		
cia gic aat aaa agt gaa gal ill cag aac ica gla igg aca ggi cca	2722	
Leu Val Asn Lys Ser Glu Asp Phe Gln Asn Ser Val Trp Thr Gly Pro		
840 845 850		
gct gac aaa gct tca aaa gaa gcc agt aga tac cga gat tlg ggc aat	2770	10
Ala Asp Lys Ala Ser Lys Glu Ala Ser Arg Tyr Arg Asp Leu Gly Asn		
855 860 865		
agc all glg agt ggc ilc caa cia gca acc ctc lcl ggc ccc aig tgl	2818	
Ser Ile Val Ser Gly Phe Gln Leu Ala Thr Leu Ser Gly Pro Met Cys		
870 875 880		
gag gag cct ctc alg ggt glc tgl ill gll ctg gaa aaa igg gac cia	2866	
Glu Glu Pro Leu Met Gly Val Cys Phe Val Leu Glu Lys Trp Asp Leu		
885 890 895		
agl aaa ill gag gaa caa gga gca agt gat cig gca aaa gag gga cag	2914	
Ser Lys Phe Glu Glu Gln Gly Ala Ser Asp Leu Ala Lys Glu Gly Gln		
900 905 910 915		20
gag gaa aat gaa acc tgl tcl ggt gga aat gaa aac caa gag cia caa	2962	
Glu Glu Asn Glu Thr Cys Ser Gly Gly Asn Glu Asn Gln Glu Leu Gln		
920 925 930		
gat ggc tgc tct gag gcc ill gag aag agg aca tca cag aaa gga gaa	3010	
Asp Gly Cys Ser Glu Ala Phe Glu Lys Arg Thr Ser Gln Lys Gly Glu		
935 940 945		
tcl cca ctc act gac tgc lat gga cct ilc tca gga cag cia atl gcc	3058	
Ser Pro Leu Thr Asp Cys Tyr Gly Pro Phe Ser Gly Gln Leu Ile Ala		
950 955 960		
acc aig aaa gaa gca tgl cgc lat gca cig caa gtg aaa cct cag cgc	3106	30
Thr Met Lys Glu Ala Cys Arg Tyr Ala Leu Gln Val Lys Pro Gln Arg		
965 970 975		
cig aig gca gct atg tac aca tgl gac aic atg gcc act ggt gat gll	3154	
Leu Met Ala Ala Met Tyr Thr Cys Asp Ile Met Ala Thr Gly Asp Val		

980 985 990 995

cic ggi cga gic tat gct gic tlg ica aag aga gaa ggi cgg gta cii 3202
 Leu Gly Arg Val Tyr Ala Val Leu Ser Lys Arg Glu Gly Arg Val Leu
 1000 1005 1010

caa gaa gaa atg aaa gaa ggg aca gac atg ttc atc atc aag gci gtg 3250
 Gln Glu Glu Met Lys Glu Gly Thr Asp Met Phe Ile Ile Lys Ala Val
 1015 1020 1025

cig cci gii gci gaa agc tii ggi tii gci gai gaa atc agg aag agg 3298
 Leu Pro Val Ala Glu Ser Phe Gly Phe Ala Asp Glu Ile Arg Lys Arg
 1030 1035 1040

aca agt ggc cig gcc agc cca caa cia gia ttc agc cat igg gag atc 3346
 Thr Ser Gly Leu Ala Ser Pro Gln Leu Val Phe Ser His Trp Glu Ile
 1045 1050 1055

ali ccc agi gac ccc ttc tgg gig cca aci aci gag gag gaa iac tlg 3394
 Ile Pro Ser Asp Pro Phe Trp Val Pro Thr Thr Glu Glu Glu Tyr Leu
 1060 1065 1070 1075

cac tii ggg gag aag gci gac tci gag aac caa gcc cgg aag iac atg 3442
 His Phe Gly Glu Lys Ala Asp Ser Glu Asn Gln Ala Arg Lys Tyr Met
 1080 1085 1090

aac gca gia cga aag cgg aag ggg cii tai gig gaa gaa aag ati gig 3490
 Asn Ala Val Arg Lys Arg Lys Gly Leu Tyr Val Glu Glu Lys Ile Val
 1095 1100 1105

gag cat gca gaa aag cag agg aca ctc agc aaa aai aag tag 3532
 Glu His Ala Glu Lys Gln Arg Thr Leu Ser Lys Asn Lys
 1110 1115 1120

ciacciacia ctggiggatt ctiiicctia tagigantii aaaagtaica tcaagggtii 3592

aataliggga aaatticiti ttgccacatt atctcigtii alicacitlc aataaagitg 3652

atccatataa atattitaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaa . 3709

10

20

30

- <210> 2
- <211> 1120
- <212> PRT
- <213> Homo sapiens
- <400> 2

Met Val Leu Asn Ser Leu Asp Lys Met Ile Gln Leu Gln Lys Asn Thr
 1 5 10 15
 Ala Asn Ile Arg Asn Ile Cys Val Leu Ala His Val Asp His Gly Lys
 20 25 30
 Thr Thr Leu Ala Asp Cys Leu Ile Ser Ser Asn Gly Ile Ile Ser Ser
 35 40 45
 Arg Leu Ala Gly Lys Leu Arg Tyr Met Asp Ser Arg Glu Asp Glu Gln
 50 55 60
 Ile Arg Gly Ile Thr Met Lys Ser Ser Ala Ile Ser Leu His Tyr Ala
 65 70 75 80
 Thr Gly Asn Glu Glu Tyr Leu Ile Asn Leu Ile Asp Ser Pro Gly His
 85 90 95
 Val Asp Phe Ser Ser Glu Val Ser Thr Ala Val Arg Ile Cys Asp Gly
 100 105 110
 Cys Ile Ile Val Val Asp Ala Val Glu Gly Val Cys Pro Gln Thr Gln
 115 120 125
 Ala Val Leu Arg Gln Ala Trp Leu Glu Asn Ile Arg Pro Val Leu Val
 130 135 140
 Ile Asn Lys Ile Asp Arg Leu Ile Val Glu Leu Lys Phe Thr Pro Gln
 145 150 155 160
 Glu Ala Tyr Ser His Leu Lys Asn Ile Leu Glu Gln Ile Asn Ala Leu
 165 170 175
 Thr Gly Thr Leu Phe Thr Ser Lys Val Leu Glu Glu Arg Ala Glu Arg
 180 185 190
 Glu Thr Glu Ser Gln Val Asn Pro Asn Ser Glu Gln Gly Glu Gln Val
 195 200 205
 Tyr Asp Trp Ser Thr Gly Leu Glu Asp Thr Asp Asp Ser His Leu Tyr
 210 215 220
 Phe Ser Pro Glu Gln Gly Asn Val Val Phe Thr Ser Ala Ile Asp Gly
 225 230 235 240
 Trp Gly Phe Gly Ile Glu His Phe Ala Arg Ile Tyr Ser Gln Lys Ile
 245 250 255
 Gly Ile Lys Lys Glu Val Leu Met Lys Thr Leu Trp Gly Asp Tyr Tyr
 260 265 270
 Ile Asn Met Lys Ala Lys Lys Ile Met Lys Gly Asp Gln Ala Lys Gly
 275 280 285
 Lys Lys Pro Leu Phe Val Gln Leu Ile Leu Glu Asn Ile Trp Ser Leu
 290 295 300
 Tyr Asp Ala Val Leu Lys Lys Asp Lys Asp Lys Ile Asp Lys Ile Val
 305 310 315 320
 Thr Ser Leu Gly Leu Lys Ile Gly Ala Arg Glu Ala Arg His Ser Asp
 325 330 335
 Pro Lys Val Gln Ile Asn Ala Ile Cys Ser Gln Trp Leu Pro Ile Ser
 340 345 350
 His Ala Val Leu Ala Met Val Cys Gln Lys Leu Pro Ser Pro Leu Asp
 355 360 365
 Ile Thr Ala Glu Arg Val Glu Arg Leu Met Cys Thr Gly Ser Gln Thr

10

20

30

Val Arg Ala Met Pro Leu Pro Glu Glu Val Thr Gln Ile Leu Glu Glu
 755 760 765
 Asn Ser Asp Leu Ile Arg Ser Met Glu Gln Leu Thr Ser Ser Leu Asn
 770 775 780
 Glu Gly Glu Asn Thr His Met Ile His Gln Lys Thr Gln Glu Lys Ile
 785 790 795 800
 Trp Glu Phe Lys Gly Lys Leu Glu Gln His Leu Thr Gly Arg Arg Trp
 805 810 815
 Arg Asn Ile Val Asp Gln Ile Trp Ser Phe Gly Pro Arg Lys Cys Gly
 820 825 830
 Pro Asn Ile Leu Val Asn Lys Ser Glu Asp Phe Gln Asn Ser Val Trp
 835 840 845
 Thr Gly Pro Ala Asp Lys Ala Ser Lys Glu Ala Ser Arg Tyr Arg Asp
 850 855 860
 Leu Gly Asn Ser Ile Val Ser Gly Phe Gln Leu Ala Thr Leu Ser Gly
 865 870 875 880
 Pro Met Cys Glu Glu Pro Leu Met Gly Val Cys Phe Val Leu Glu Lys
 885 890 895
 Trp Asp Leu Ser Lys Phe Glu Glu Gln Gly Ala Ser Asp Leu Ala Lys
 900 905 910
 Glu Gly Gln Glu Glu Asn Glu Thr Cys Ser Gly Gly Asn Glu Asn Glu
 915 920 925
 Glu Leu Gln Asp Gly Cys Ser Glu Ala Phe Glu Lys Arg Thr Ser Glu
 930 935 940
 Lys Gly Glu Ser Pro Leu Thr Asp Cys Tyr Gly Pro Phe Ser Gly Gln
 945 950 955 960
 Leu Ile Ala Thr Met Lys Glu Ala Cys Arg Tyr Ala Leu Gln Val Lys
 965 970 975
 Pro Gln Arg Leu Met Ala Ala Met Tyr Thr Cys Asp Ile Met Ala Thr
 980 985 990
 Gly Asp Val Leu Gly Arg Val Tyr Ala Val Leu Ser Lys Arg Glu Gly
 995 1000 1005
 Arg Val Leu Gln Glu Glu Met Lys Glu Gly Thr Asp Met Phe Ile Ile
 1010 1015 1020
 Lys Ala Val Leu Pro Val Ala Glu Ser Phe Gly Phe Ala Asp Glu Ile
 1025 1030 1035 1040
 Arg Lys Arg Thr Ser Gly Leu Ala Ser Pro Gln Leu Val Phe Ser His
 1045 1050 1055
 Trp Glu Ile Ile Pro Ser Asp Pro Phe Trp Val Pro Thr Thr Glu Glu
 1060 1065 1070
 Glu Tyr Leu His Phe Gly Glu Lys Ala Asp Ser Glu Asn Gln Ala Arg
 1075 1080 1085
 Lys Tyr Met Asn Ala Val Arg Lys Arg Lys Gly Leu Tyr Val Glu Glu
 1090 1095 1100
 Lys Ile Val Glu His Ala Glu Lys Gln Arg Thr Leu Ser Lys Asn Lys
 1105 1110 1115 1120

10

20

30

<210> 3
 <211> 3533
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> CDS
 <222> (14).. (3478)

<400> 3

ggcaccgagcg gtc atg gag gcg ggc gcc gga gcc ggc gcg gga gcc gcg	49	
Met Glu Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Ala		
1 5 10		10
ggc igg agc igc cag ggc cca gga ccc aca gtg acc aci cia ggc tcc	97	
Gly Trp Ser Cys Pro Gly Pro Thr Val Thr Thr Leu Gly Ser		
15 20 25		
tat gag gct tcc gag ggc igl gag agg aag aag ggc caa cgc igg ggg	145	
Tyr Glu Ala Ser Glu Gly Cys Glu Arg Lys Lys Gly Gln Arg Trp Gly		
30 35 40		
tcc ctc gaa cga cgg ggg atg caa gct atg gag ggg gag glg tta ctc	193	
Ser Leu Glu Arg Arg Gly Met Gln Ala Met Glu Gly Glu Val Leu Leu		
45 50 55 60		
cca gct ctc tat gag gag gaa gag gaa gag gaa gag gaa gaa gag	241	20
Pro Ala Leu Tyr Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu		
65 70 75		
gig gaa gaa gaa gaa gaa caa gig cag aaa ggt ggc agi glt ggc tct	289	
Val Glu Glu Glu Glu Gln Val Gln Lys Gly Gly Ser Val Gly Ser		
80 85 90		
ctg tca gtc aac aag cac cgg gga ctg agc ctc acg gag aca gag ctg	337	
Leu Ser Val Asn Lys His Arg Gly Leu Ser Leu Thr Glu Thr Glu Leu		
95 100 105		
gag gag ctg cgg gct cag gtg ctg cag ctg gig gca gaa ctg gag gag	385	
Glu Glu Leu Arg Ala Gln Val Leu Gln Leu Val Ala Glu Leu Glu Glu		
110 115 120		30
acc cgg gaa ctg gca ggg cag cat gag gat gac tcc tgg gag cia cag	433	
Thr Arg Glu Leu Ala Gly Gln His Glu Asp Asp Ser Leu Glu Leu Gln		
125 130 135 140		

ggg ctc ctg gag gat gaa cgg cta gcc agc gcc cag cag gca gag gig	481	
Gly Leu Leu Glu Asp Glu Arg Leu Ala Ser Ala Gln Gln Ala Glu Val		
145 150 155		
ttc acc aag cag atc cag cag ctc caa ggt gag ctg cgt tct cta cgg	529	
Phe Thr Lys Gln Ile Gln Gln Leu Gln Gly Glu Leu Arg Ser Leu Arg		
160 165 170		
gag gag att tcc ctg tta gag cat gag aaa gaa agc gaa ctt aag gaa	577	
Glu Glu Ile Ser Leu Leu Glu His Glu Lys Glu Ser Glu Leu Lys Glu		
175 180 185		
ala gaa cag gaa ttg cat ttg gcc cag gct gag atc cag agt ctg cgg	625	10
Ile Glu Gln Glu Leu His Leu Ala Gln Ala Glu Ile Gln Ser Leu Arg		
190 195 200		
caa gca gca gag gat tcc gca acf gaa cat gag agf gac ata gca tcc	673	
Gln Ala Ala Glu Asp Ser Ala Thr Glu His Glu Ser Asp Ile Ala Ser		
205 210 215 220		
ctg cag gag gat ctc tgc cgg atg cag aat gaa ctt gaa gac atg gaa	721	
Leu Gln Glu Asp Leu Cys Arg Met Gln Asn Glu Leu Glu Asp Met Glu		
225 230 235		
cgc att cgg gga gat tat gag atg gag atc gcc tcc ctc cgt gca gaa	769	20
Arg Ile Arg Gly Asp Tyr Glu Met Glu Ile Ala Ser Leu Arg Ala Glu		
240 245 250		
atg gaa atg aag agc tct gaa cca tcc ggt agt tta ggt ctc tca gat	817	
Met Glu Met Lys Ser Ser Glu Pro Ser Gly Ser Leu Gly Leu Ser Asp		
255 260 265		
tac tct ggg tta caa gaa gaa ctg cag gag ctg cgg gaa cgc tac cat	865	
Tyr Ser Gly Leu Gln Glu Glu Leu Gln Glu Leu Arg Glu Arg Tyr His		
270 275 280		
ttc ctg aat gag gaa tac cgg gcc ctg cag gag agc aac agc agc ctc	913	
Phe Leu Asn Glu Glu Tyr Arg Ala Leu Gln Glu Ser Asn Ser Ser Leu		
285 290 295 300		
acg ggg cag ctt gca gat ctg gag agt gag agg aca cag aga gca aca	961	30
Thr Gly Gln Leu Ala Asp Leu Glu Ser Glu Arg Thr Gln Arg Ala Thr		
305 310 315		
gag aga igg ctg cag tcc caa aca ctg agt atg acg tca gca gag tct	1009	
Glu Arg Trp Leu Gln Ser Gln Thr Leu Ser Met Thr Ser Ala Glu Ser		

320	325	330	
cag acI tca gaa atg gat ttc ita gag ccl gal ccl gaa atg cag ttg			1057
Gln Thr Ser Glu Met Asp Phe Leu Glu Pro Asp Pro Glu Met Gln Leu			
335	340	345	
lia cgg cag cag cia cgg gal gcl gaa gag cag atg cat ggc atg nag			1105
Leu Arg Gln Gln Leu Arg Asp Ala Glu Glu Gln Met His Gly Met Lys			
350	355	360	
aac aag igt cag gaa ttg igt igt gag ttg gaa gag cia cag cat cat			1153
Asn Lys Cys Gln Glu Leu Cys Cys Glu Leu Glu Glu Leu Gln His His			
365	370	375	380
cgc cag gtc agt gag gag gag cag agg cgg ctg cag agg gag ctc aag			1201
Arg Gln Val Ser Glu Glu Glu Gln Arg Arg Leu Gln Arg Glu Leu Lys			
385	390	395	
tgt gct cag aat gag gtg ctt cgg iit cag acc tcc cac agt gtc acc			1249
Cys Ala Gln Asn Glu Val Leu Arg Phe Gln Thr Ser His Ser Val Thr			
400	405	410	
cag gag tia ctg tgc cgg ctg cag aag ctg cac ctc cag cac cag aac			1297
Gln Glu Leu Leu Cys Arg Leu Gln Lys Leu His Leu Gln His Gln Asn			
415	420	425	
gic aca igt gag aag gaa aag ctg ctg gaa cgg cag cag cag ctg cag			1345
Val Thr Cys Glu Lys Glu Lys Leu Leu Glu Arg Gln Gln Gln Leu Gln			
430	435	440	
gag gag ctg cag tgc cat gag gca gag ctg cag cac ctc agg gat acg			1393
Glu Glu Leu Gln Cys His Glu Ala Glu Leu Gln His Leu Arg Asp Thr			
445	450	455	460
gtg gcc tcc ttc aaa gag agc aat gag aag gac aca gag acg cac gct			1441
Val Ala Ser Phe Lys Glu Ser Asn Glu Lys Asp Thr Glu Thr His Ala			
465	470	475	
cag ctt cag gag atg aag cag ctg tac cag gcc agc aag gac gag ctg			1489
Gln Leu Gln Glu Met Lys Gln Leu Tyr Gln Ala Ser Lys Asp Glu Leu			
480	485	490	
gag cgg cag aag cac atg tai gac cag ctg gag cag gac ctc ctg ctc			1537
Glu Arg Gln Lys His Met Tyr Asp Gln Leu Glu Gln Asp Leu Leu Leu			
495	500	505	
tgc cag ctg gag ctg aaa gag ctc aag gcc tcc cac ccc att ccg gag			1585

10

20

30

Cys Gln Leu Glu Leu Lys Glu Leu Lys Ala Ser His Pro Ile Pro Glu		
510	515	520
gac aaa gga aag tgt gct aat aag tgt gac aca ctg ctg tcc aga ctg	1633	
Asp Lys Gly Lys Cys Ala Asn Lys Cys Asp Thr Leu Leu Ser Arg Leu		
525	530	535 540
aca gaa ttg cag gaa aag tac aag gcc agc cag aag gag atg ggg cag	1681	
Thr Glu Leu Gln Glu Lys Tyr Lys Ala Ser Gln Lys Glu Met Gly Gln		
	545	550 555
ctg cag atg gag cag tgt gag ctg ctg gag gat cag agg agg atg cag	1729	
Leu Gln Met Glu Gln Cys Glu Leu Leu Glu Asp Gln Arg Arg Met Gln		
	560	565 570
gag gag cag gcc cag ctg cag gaa gag ctg cac agg ctg aca ctg cca	1777	
Glu Glu Gln Gly Gln Leu Gln Glu Glu Leu His Arg Leu Thr Leu Pro		
	575	580 585
ctg cca aag agt ggc ctg tta ctg aag agt cag gag cta ctg acc aag	1825	
Leu Pro Lys Ser Gly Leu Leu Leu Lys Ser Gln Glu Leu Leu Thr Lys		
	590	595 600
tta gaa gac ctg tgt gag ctg cag ctg ctg tac caa gcc atg cag gag	1873	
Leu Glu Asp Leu Cys Glu Leu Gln Leu Leu Tyr Gln Gly Met Gln Glu		
	605	610 615 620
gaa cag aag aag ctg ala cag aac caa gac tgt gla tta aaa gaa caa	1921	
Glu Gln Lys Lys Leu Ile Gln Asn Gln Asp Cys Val Leu Lys Glu Gln		
	625	630 635
tta gag aic cac gaa gag ctg cga cgt ttc aaa gag tct cat ttc cag	1969	
Leu Glu Ile His Glu Glu Leu Arg Arg Phe Lys Glu Ser His Phe Gln		
	640	645 650
gaa gtg ttg gag aal tcc gat gat tcc aaa ttg gct aag tcc tcc aaa	2017	
Glu Val Leu Glu Asn Pro Asp Asp Ser Lys Leu Ala Lys Ser Ser Lys		
	655	660 665
tgt aat cga aac aag caa tcc aag ctg ctg atg gag cag atg cag gcc	2065	
Cys Asn Arg Asn Lys Gln Ser Lys Leu Leu Met Glu Gln Met Gln Ala		
	670	675 680
ctg cag gtg atg tat gac gcc ggt cag gcg aag cag gag ctg ttg cag	2113	
Leu Gln Val Met Tyr Asp Ala Gly Gln Ala Lys Gln Glu Leu Leu Gln		
	685	690 695 700

10

20

30

caa gag caa ggg agg ctc cta gag gag cgg oag agg ctg cag gca gac	2161	
Gln Glu Gln Gly Arg Leu Leu Glu Glu Arg Lys Arg Leu Gln Ala Asp		
705 710 715		
tig cag ctc igc ctg gaa gaa aig cag ctg cti caa gic cag tcc cct	2209	
Leu Gln Leu Cys Leu Glu Glu Met Gln Leu Leu Gln Val Gln Ser Pro		
720 725 730		
ict ata aaa aig agc ctt gag tcc iac ggg aag agc tat ggt agc aig	2257	
Ser Ile Lys Met Ser Leu Glu Ser Tyr Gly Lys Ser Tyr Gly Ser Met		
735 740 745		
gtc ccc agc aat gag aac igt cgc aag act tai gat acc act gtg gat	2305	10
Val Pro Ser Asn Glu Asn Cys Arg Lys Thr Tyr Asp Thr Thr Val Asp		
750 755 760		
gac aat gag agc tal iac aag agt iac acc agc acc tag acc agc agc	2353	
Asp Asn Glu Ser Tyr Tyr Lys Ser Tyr Thr Ser Thr Gln Thr Ser Ser		
765 770 775 780		
aag agc ttt ctc aag agc tai gac agc agc acc agt gcc agt gag gcc	2401	
Lys Ser Phe Leu Lys Ser Tyr Asp Ser Ser Thr Ser Ala Ser Glu Ala		
785 790 795		
tai ggg aag agt tac tgc act acc agc aac agc agc aii acc tai aag	2449	
Tyr Gly Lys Ser Tyr Cys Thr Thr Ser Asn Ser Ser Ile Thr Tyr Lys		20
800 805 810		
aag agt tac ggc agc acc agt agc tct gac acc tgc cag aag agt ttt	2497	
Lys Ser Tyr Gly Ser Thr Ser Ser Ser Asp Thr Cys Gln Lys Ser Phe		
815 820 825		
gtc agc agc tgc act gac gag gaa cct gci gag cct gaa gac atg gag	2545	
Val Ser Ser Cys Thr Asp Glu Glu Pro Ala Glu Pro Glu Asp Met Glu		
830 835 840		
cgc ttt gag gaa aig gtt gtg aaa gtg ctg aic aag ctg cag gcg gtg	2593	
Arg Phe Glu Glu Met Val Val Lys Val Leu Ile Lys Leu Gln Ala Val		
845 850 855 860		
cag gcc atg iac cag ala agc cag gag gaa cac agc cag ctg caa gag	2641	30
Gln Ala Met Tyr Gln Ile Ser Gln Glu Glu His Ser Gln Leu Gln Glu		
865 870 875		
cag atg gaa aag tta ctg gcc aag cag aaa gac ctg aag gaa gag ctg	2689	
Gln Met Glu Lys Leu Leu Ala Lys Gln Lys Asp Leu Lys Glu Glu Leu		
880 885 890		

gaa gcc igt gaa agg gag ttc aag gag igc atg gaa igc ctt gaa aag	2737	
Asp Ala Cys Glu Arg Glu Phe Lys Glu Cys Met Glu Cys Leu Glu Lys		
895 900 905		
ccc atg gcc ccc cag aac gac aag aat gag atc aaa gaa ctc cag acc	2785	
Pro Met Ala Pro Gln Asn Asp Lys Asn Glu Ile Lys Glu Leu Gln Thr		
910 915 920		
aag ctc cgg gag ctc cag ctc caa tac cag gct agc atg gat gag cag	2833	
Lys Leu Arg Glu Leu Gln Leu Gln Tyr Gln Ala Ser Met Asp Glu Gln		
925 930 935 940		
ggg cag ctt ctc gta gtc cag gag cag ctc gag ggg cag ctc cag igc	2881	10
Gly Gln Leu Leu Val Val Gln Glu Gln Leu Glu Gly Gln Leu Gln Cys		
945 950 955		
igc cag gag gag ctc cgc cag ctc agg gag aag agg cct tct gtt gtc	2929	
Cys Gln Glu Glu Leu Arg Gln Leu Arg Glu Lys Arg Pro Ser Val Val		
960 965 970		
aaa gaa gcc cgg ggg aag aat gct aat aag aac atg aac aag aat gcc	2977	
Lys Glu Ala Arg Gly Lys Asn Ala Asn Lys Asn Met Asn Lys Asn Ala		
975 980 985		
aat ggg gtt aaa atg aaa aag gtc acc aag cca tgc tgc gat act tct	3025	20
Asn Gly Val Lys Met Lys Lys Val Thr Lys Pro Cys Ser Asp Thr Ser		
990 995 1000		
gag agc gac ctt gag acc aga aag aag atc agg agg aaa atg aag agg	3073	
Glu Ser Asp Leu Glu Thr Arg Lys Lys Ile Arg Arg Lys Met Lys Arg		
1005 1010 1015 1020		
aca aag agg aag agg aga agg aag aag aca gtc aag agg agg aag atg	3121	
Thr Lys Arg Lys Arg Arg Arg Lys Lys Thr Val Lys Arg Arg Lys Met		
1025 1030 1035		
acg ccg act ctt ccc ttg aaa gtc ccg aag aaa ala acc ccc tca gac	3169	
Thr Pro Thr Leu Pro Leu Lys Val Pro Lys Lys Ile Thr Pro Ser Asp		
1040 1045 1050		
itt ccg aga gca aaa aga aca igt ttg ggt igt gga agc cta tgg taf	3217	30
Phe Pro Arg Ala Lys Arg Thr Cys Leu Gly Cys Gly Ser Leu Trp Tyr		
1055 1060 1065		
tct tgg cta ttg cag ctc tgg ctc tct atg tct tac cca aca tgc gac	3265	
Ser Trp Leu Leu Gln Leu Trp Leu Cys Met Cys Tyr Pro Thr Cys Asp		

1070 1075 1080

agc agg agi cag agi tci gcc tca igg agt gai ggc aga cct tgg cca 3313
 Ser Arg Ser Gln Ser Ser Ala Ser Trp Ser Asp Gly Arg Pro Trp Pro
 1085 1090 1095 1100

gcg cga ggg cag aic ccc agi ggc cac cac cct cag ctt tgg gca gga 3361
 Ala Arg Gly Gln Ile Pro Ser Gly His His Pro Gln Leu Trp Ala Gly
 1105 1110 1115

cac acf gfg cca gaa ccc tcc cca iai git cca tgt glc ccc aic tcc 3409
 His Thr Val Pro Glu Pro Ser Pro Tyr Val Pro Cys Val Pro Ile Ser
 1120 1125 1130

ica gcc ica glc acc cag gct gaa aag gct tgi ggg gag cgg ctg aci 3457
 Ser Ala Ser Val Thr Gln Ala Glu Lys Ala Cys Gly Glu Arg Leu Thr
 1135 1140 1145

tcc aic tcc tgc ctt gig taa gaacctgagt tccitglaai iaaatatcaa 3508
 Ser Ile Ser Cys Leu Val
 1150 1155

ctgaatiana aaaaaaaaaa aaaaa 3533

10

<210> 4
 <211> 1154
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

20

<400> 4
 Met Glu Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Ala Ala Gly Trp Ser Cys
 1 5 10 15
 Pro Gly Pro Gly Pro Thr Val Thr Thr Leu Gly Ser Tyr Glu Ala Ser
 20 25 30
 Glu Gly Cys Glu Arg Lys Lys Gly Gln Arg Trp Gly Ser Leu Glu Arg
 35 40 45
 Arg Gly Met Gln Ala Met Glu Gly Glu Val Leu Leu Pro Ala Leu Tyr
 50 55 60
 Glu Glu Glu Gln Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Val Glu Glu Glu
 65 70 75 80
 Glu Glu Gln Val Gln Lys Gly Gly Ser Val Gly Ser Leu Ser Val Asn
 85 90 95
 Lys His Arg Gly Leu Ser Leu Thr Glu Thr Glu Leu Glu Glu Leu Arg
 100 105 110
 Ala Gln Val Leu Gln Leu Val Ala Glu Leu Glu Glu Thr Arg Glu Leu
 115 120 125

30

Ala Gly Gln His Glu Asp Asp Ser Leu Glu Leu Gln Gly Leu Leu Glu
 130 135 140
 Asp Glu Arg Leu Ala Ser Ala Gln Gln Ala Glu Val Phe Thr Lys Gln
 145 150 155 160
 Ile Gln Gln Leu Gln Gly Glu Leu Arg Ser Leu Arg Glu Glu Ile Ser
 165 170 175
 Leu Leu Glu His Glu Lys Glu Ser Glu Leu Lys Glu Ile Glu Gln Glu
 180 185 190
 Leu His Leu Ala Gln Ala Glu Ile Gln Ser Leu Arg Gln Ala Ala Glu
 195 200 205
 Asp Ser Ala Thr Glu His Glu Ser Asp Ile Ala Ser Leu Gln Glu Asp
 210 215 220
 Leu Cys Arg Met Gln Asn Glu Leu Glu Asp Met Glu Arg Ile Arg Gly
 225 230 235 240
 Asp Tyr Glu Met Glu Ile Ala Ser Leu Arg Ala Glu Met Glu Met Lys
 245 250 255
 Ser Ser Glu Pro Ser Gly Ser Leu Gly Leu Ser Asp Tyr Ser Gly Leu
 260 265 270
 Gln Glu Glu Leu Gln Glu Leu Arg Glu Arg Tyr His Phe Leu Asn Glu
 275 280 285
 Glu Tyr Arg Ala Leu Gln Glu Ser Asn Ser Ser Leu Thr Gly Gln Leu
 290 295 300
 Ala Asp Leu Glu Ser Glu Arg Thr Gln Arg Ala Thr Glu Arg Trp Leu
 305 310 315 320
 Gln Ser Gln Thr Leu Ser Met Thr Ser Ala Glu Ser Gln Thr Ser Glu
 325 330 335
 Met Asp Phe Leu Glu Pro Asp Pro Glu Met Gln Leu Leu Arg Gln Gln
 340 345 350
 Leu Arg Asp Ala Glu Glu Gln Met His Gly Met Lys Asn Lys Cys Gln
 355 360 365
 Glu Leu Cys Cys Glu Leu Glu Glu Leu Gln His His Arg Gln Val Ser
 370 375 380
 Glu Glu Glu Gln Arg Arg Leu Gln Arg Glu Leu Lys Cys Ala Gln Asn
 385 390 395 400
 Glu Val Leu Arg Phe Gln Thr Ser His Ser Val Thr Gln Glu Leu Leu
 405 410 415
 Cys Arg Leu Gln Lys Leu His Leu Gln His Gln Asn Val Thr Cys Glu
 420 425 430
 Lys Glu Lys Leu Leu Glu Arg Gln Gln Gln Leu Gln Glu Glu Leu Gln
 435 440 445
 Cys His Glu Ala Glu Leu Gln His Leu Arg Asp Thr Val Ala Ser Phe
 450 455 460
 Lys Glu Ser Asn Glu Lys Asp Thr Glu Thr His Ala Gln Leu Gln Glu
 465 470 475 480
 Met Lys Gln Leu Tyr Gln Ala Ser Lys Asp Glu Leu Glu Arg Gln Lys
 485 490 495
 His Met Tyr Asp Gln Leu Glu Gln Asp Leu Leu Leu Cys Gln Leu Glu

10

20

30

<400> 5
 ggcacgagcgc gtc atg gag gcg ggc gcc gga gcc ggc gcg gga gcc gcg 49
 Met Glu Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Ala
 1 5 10

ggc tgg agc igc ccg ggc cca gga ccc aca gtg acc act cia ggc tcc 97
 Gly Trp Ser Cys Pro Gly Pro Gly Pro Thr Val Thr Thr Leu Gly Ser
 15 20 25

tai gag gct tcc gag ggc tgl gag agg aag aag ggc caa cgc tgg ggg 145
 Tyr Glu Ala Ser Glu Gly Cys Glu Arg Lys Lys Gly Gln Arg Trp Gly
 30 35 40

tcc ctg gaa cga cgg ggg atg caa gct atg gag ggg gag gtg tta ctc 193
 Ser Leu Glu Arg Arg Gly Met Gln Ala Met Glu Gly Glu Val Leu Leu
 45 50 55 60

cca gct ctc tai gag gag gaa gag gaa gag gaa gag gag gaa gaa gag 241
 Pro Ala Leu Tyr Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu
 65 70 75

gig gaa gaa gaa gaa gaa caa gtg cag aaa ggi ggc agt git ggc tct 289
 Val Glu Glu Glu Glu Glu Gln Val Gln Lys Gly Gly Ser Val Gly Ser
 80 85 90

ctg tca gtc aac aag cac cgg gga ctg agc ctc acg gag aca gag ctg 337
 Leu Ser Val Asn Lys His Arg Gly Leu Ser Leu Thr Glu Thr Glu Leu
 95 100 105

gag gag ctg cgg gct cag gig ctg cag ctg gtg gca gaa ctg gag gag 385
 Glu Glu Leu Arg Ala Gln Val Leu Gln Leu Val Ala Glu Leu Glu Glu
 110 115 120

acc cgg gaa ctg gca ggg cag cai gag gai gac tcc tlg gag cia cag 433
 Thr Arg Glu Leu Ala Gly Gln His Glu Asp Asp Ser Leu Glu Leu Gln
 125 130 135 140

ggg ctg ctg gag gai gaa cgg cia gcc agc gcc cag cag gca gag gtg 481
 Gly Leu Leu Glu Asp Glu Arg Leu Ala Ser Ala Gln Gln Ala Glu Val
 145 150 155

ttc acc aag cag atc cag cag ctg caa ggi gag ctg cgt tct cia cgg 529
 Phe Thr Lys Gln Ile Gln Gln Leu Gln Gly Glu Leu Arg Ser Leu Arg
 160 165 170

gag gag atg tcc ctg tta gag cat gag aaa gaa agc gaa ctg aag gaa 577
 Glu Glu Ile Ser Leu Leu Glu His Glu Lys Glu Ser Gln Leu Lys Glu

175	180	185	
ala gaa cag gaa tlg cai tlg gcc cag gci gag aic cag agi cig cgg	625		
Ile Glu Gln Glu Leu His Leu Ala Gln Ala Glu Ile Gln Ser Leu Arg			
190	195	200	
caa gca gca gag gai tcc gca act gaa cai gag agt gac ata gca tcc	673		
Gln Ala Ala Glu Asp Ser Ala Thr Glu His Glu Ser Asp Ile Ala Ser			
205	210	215	220
cig cag gag gat ctc tgc cgg atg cag aai gaa cii gaa gac atg gaa	721		
Leu Gln Glu Asp Leu Cys Arg Met Gln Asn Glu Leu Glu Asp Met Glu			
225	230	235	
cgc att cgg gga gai tat gag atg gag aic gcc tcc ctc cgt gca gaa	769		
Arg Ile Arg Gly Asp Tyr Glu Met Glu Ile Ala Ser Leu Arg Ala Glu			
240	245	250	
atg gaa aig aag agc tct gaa cca tcc ggt agt tta ggt ctc tca gat	817		
Met Glu Met Lys Ser Ser Glu Pro Ser Gly Ser Leu Gly Leu Ser Asp			
255	260	265	
tac tct ggg tta caa gaa gaa cig cag gag cig cgg gaa cgc tac cai	865		
Tyr Ser Gly Leu Gln Glu Glu Leu Gln Glu Leu Arg Glu Arg Tyr His			
270	275	280	
ttc ctg aat gag gaa tac cgg gcc cig cag gag agc aac agc agc ctc	913		20
Phe Leu Asn Glu Glu Tyr Arg Ala Leu Gln Glu Ser Asn Ser Ser Leu			
285	290	295	300
acg ggg cag ctt gca gat ctg gag agt gag agg aca cag aga gca aca	961		
Thr Gly Gln Leu Ala Asp Leu Glu Ser Glu Arg Thr Gln Arg Ala Thr			
305	310	315	
gag aga tgg cig cag tcc caa aca cig agt aig acg ica gca gag tct	1009		
Glu Arg Trp Leu Gln Ser Gln Thr Leu Ser Met Thr Ser Ala Glu Ser			
320	325	330	
cag act ica gaa aig gat ttc tta gag cct gat cct gaa atg cag ttg	1057		
Gln Thr Ser Glu Met Asp Phe Leu Glu Pro Asp Pro Glu Met Gln Leu			
335	340	345	30
tta cgg cag cag cta cgg gat gct gaa gag cag aig cai ggc aig aag	1105		
Leu Arg Gln Gln Leu Arg Asp Ala Glu Glu Gln Met His Gly Met Lys			
350	355	360	
aac aag tgt cag gaa tlg tgt tgt gag ttg gaa gag cta cag cai cai	1153		

Asn Lys Cys Gln Glu Leu Cys Cys Glu Leu Glu Glu Leu Gln His His		
365	370	380
cgc cag gtc agt gag gag gag cag agg cgg ctg cag agg gag ctc aag		1201
Arg Gln Val Ser Glu Glu Glu Gln Arg Arg Leu Gln Arg Glu Leu Lys	385	395
390		
tgt gct cag aat gag gtc ctt cgg ttt cag acc tcc cac agt gtc acc		1249
Cys Ala Gln Asn Glu Val Leu Arg Phe Gln Thr Ser His Ser Val Thr	400	410
405		
cag gag tta ctg tgc cgg ctg cag aag ctg cac ctc cag cac gag aac		1297
Gln Glu Leu Leu Cys Arg Leu Gln Lys Leu His Leu Gln His Gln Asn	415	425
420		
gtc aca tgt gag aag gaa aag ctg ctg gaa cgg cag cag cag ctg cag		1345
Val Thr Cys Glu Lys Glu Lys Leu Leu Glu Arg Gln Gln Gln Leu Gln	430	440
435		
gag gag ctg cag tgc cat gag gca gag ctg cag cac ctc agg gat acg		1393
Glu Glu Leu Gln Cys His Glu Ala Glu Leu Gln His Leu Arg Asp Thr	445	460
450		
gig gcc tcc ttc aaa gag agc aat gag aag gac aca gag acg cac gct		1441
Val Ala Ser Phe Lys Glu Ser Asn Glu Lys Asp Thr Glu Thr His Ala	465	475
470		
cag ctt cag gag atg aag cag ctg tac cag gcc agc aag gac gag ctg		1489
Gln Leu Gln Glu Met Lys Gln Leu Tyr Gln Ala Ser Lys Asp Glu Leu	480	490
485		
gag cgg cag aag cac atg tat gac cag ctg gag cag gac ctc ctg ctc		1537
Glu Arg Gln Lys His Met Tyr Asp Gln Leu Glu Gln Asp Leu Leu Leu	495	505
500		
tgc cag ctg gag ctg aaa gag ctc aag gcc tcc cac ccc att ccg gag		1585
Cys Gln Leu Glu Leu Lys Glu Leu Lys Ala Ser His Pro Ile Pro Glu	510	520
515		
gac aaa gga aag tgt gct aat aag tgt gac aca ctg ctg tcc aga ctg		1633
Asp Lys Gly Lys Cys Ala Asn Lys Cys Asp Thr Leu Leu Ser Arg Leu	525	540
530		
aca gaa ttg cag gaa aag tac aag gcc agc cag aag gag atg ggg cag		1681
Thr Glu Leu Gln Glu Lys Tyr Lys Ala Ser Gln Lys Glu Met Gly Gln	545	555
550		

10

20

30

cig cag atg gag cag igt gag ctc cig gag gat cag agg agg atg cag	1729	
Leu Gln Met Glu Gln Cys Glu Leu Leu Glu Asp Gln Arg Arg Met Gln		
560 565 570		
gag gag cag ggc cag cig cag gaa gag cig cac agg ctc aca cig cca	1777	
Glu Glu Gln Gly Gln Leu Gln Glu Glu Leu His Arg Leu Thr Leu Pro		
575 580 585		
cig cca aag agt ggc ctc tta ctc aag agt cag gag cta ctc acc aag	1825	
Leu Pro Lys Ser Gly Leu Leu Leu Lys Ser Gln Glu Leu Leu Thr Lys		
590 595 600		
tta gaa gac cig igt gag cig cag cig ctc tac caa ggc atg cag gag	1873	10
Leu Glu Asp Leu Cys Glu Leu Gln Leu Leu Tyr Gln Gly Met Gln Glu		
605 610 615 620		
gaa cag aag aag cig ata cag aac caa gac igt gla tta aaa gaa caa	1921	
Glu Gln Lys Lys Leu Ile Gln Asn Gln Asp Cys Val Leu Lys Glu Gln		
625 630 635		
tta gag atc cac gaa gag cig cga tgt ttc aaa gag tct cat ttc cag	1969	
Leu Glu Ile His Glu Glu Leu Arg Arg Phe Lys Glu Ser His Phe Gln		
640 645 650		
gaa gtg ttg gag aat ccc gat gat tcc aaa ttg gct aag tcc tcc aaa	2017	20
Glu Val Leu Glu Asn Pro Asp Asp Ser Lys Leu Ala Lys Ser Ser Lys		
655 660 665		
igt aal cga aac aag caa tcc aag cig ctc atg gag cag atg cag gcc	2065	
Cys Asn Arg Asn Lys Gln Ser Lys Leu Leu Met Glu Gln Met Gln Ala		
670 675 680		
cig cag gtg atg tat gac gcc ggt cag gcg aag cag gag ctc ttg cag	2113	
Leu Gln Val Met Tyr Asp Ala Gly Gln Ala Lys Gln Glu Leu Leu Gln		
685 690 695 700		
caa gag caa ggg agg ctc cta gag gag cgg aag agg cig cag gca gac	2161	
Gln Glu Gln Gly Arg Leu Leu Glu Glu Arg Lys Arg Leu Gln Ala Asp		
705 710 715		
ttg cag ctc tgc cig gaa gaa atg cag cig ctt caa glc cag tcc cct	2209	30
Leu Gln Leu Cys Leu Glu Gln Met Gln Leu Leu Gln Val Gln Ser Pro		
720 725 730		
tct ala aaa atg agc ctt gag tcc tac ggg aag agc tat ggt agc atg	2257	
Ser Ile Lys Met Ser Leu Glu Ser Tyr Gly Lys Ser Tyr Gly Ser Met		
735 740 745		

gic ecc agc aal gag aac tgl cgc aag acf tai gai acc act gig gal	2305	
Val Pro Ser Asn Glu Asn Cys Arg Lys Thr Tyr Asp Thr Thr Val Asp		
750 755 760		
gac aai gag agc tai tac aag agt iac acc agc acc cag acc agc agc	2353	
Asp Asn Glu Ser Tyr Tyr Lys Ser Tyr Thr Ser Thr Gln Thr Ser Ser		
765 770 775 780		
aag agc ttt ctc aag agc tai gac agc agc acc agi gcc agl gag gcc	2401	
Lys Ser Phe Leu Lys Ser Tyr Asp Ser Ser Thr Ser Ala Ser Glu Ala		
785 790 795		
tai ggg aag agl iac tgc act acc agc aac agc agc att acc tai aag	2449	10
Tyr Gly Lys Ser Tyr Cys Thr Thr Ser Asn Ser Ser Ile Thr Tyr Lys		
800 805 810		
aag agl iac gcc agc acc agt agc tct gac acc tgc cag aag agt ttt	2497	
Lys Ser Tyr Gly Ser Thr Ser Ser Ser Asp Thr Cys Gln Lys Ser Phe		
815 820 825		
gic agc agc tgc act gac gag gaa cct gct gag cct gaa gac atg gag	2545	
Val Ser Ser Cys Thr Asp Glu Glu Pro Ala Glu Pro Glu Asp Met Glu		
830 835 840		
cgc ttt gag gaa atg gti gig aaa gig ctg atc aag ctg cag gcc gtg	2593	20
Arg Phe Glu Glu Met Val Val Lys Val Leu Ile Lys Leu Gln Ala Val		
845 850 855 860		
cag gcc atg iac cag ala agc cag gag gaa cac agc cag ctg caa gag	2641	
Gln Ala Met Tyr Gln Ile Ser Gln Glu Glu His Ser Gln Leu Gln Glu		
865 870 875		
cag atg gaa aag tta ctg gcc aag cag aaa gac ctg aag gaa gag ctg	2689	
Gln Met Glu Lys Leu Leu Ala Lys Gln Lys Asp Leu Lys Glu Glu Leu		
880 885 890		
gai gcc tgl gaa agg gag ttc aag gag tgc atg gaa tgc ctt gaa aag	2737	
Asp Ala Cys Glu Arg Glu Phe Lys Glu Cys Met Glu Cys Leu Glu Lys		
895 900 905		
ccc atg gcc ccc cag aac gac aag aat gag atc aaa gaa ctg cag acc	2785	30
Pro Met Ala Pro Gln Asn Asp Lys Asn Glu Ile Lys Glu Leu Gln Thr		
910 915 920		
aag ctg cgg gag ctg cag ctg caa tac cag gct agc atg gai gag cag	2833	
Lys Leu Arg Glu Leu Glu Leu Gln Tyr Gln Ala Ser Met Asp Glu Gln		

925	930	935	940	
ggg cag ctt cig gta ggc gag gag cag cig gag ggg cag cig cag igc				2881
Gly Gln Leu Leu Val Val Gln Glu Gln Leu Glu Gly Gln Leu Gln Cys	945	950	955	
tcg cag gag gag ctc cgc cag ctc agg gag aag agg cct tct gtt gtc				2929
Cys Gln Glu Glu Leu Arg Gln Leu Arg Glu Lys Arg Pro Ser Val Val	960	965	970	
aaa gaa gcc cgg ggg aag aat gcl aat aag aac atg aac aag aat gcc				2977
Lys Glu Ala Arg Gly Lys Asn Ala Asn Lys Asn Met Asn Lys Asn Ala	975	980	985	
aat ggg gtt aaa atg aaa aag ggc acc aag cca tgc tgc gat act tct				3025
Asn Gly Val Lys Met Lys Lys Val Thr Lys Pro Cys Ser Asp Thr Ser	990	995	1000	
gag agc gac ctt gag acc aga aag agt cig gag gta glg cgg tac tac				3073
Glu Ser Asp Leu Glu Thr Arg Lys Ser Leu Glu Val Val Leu Tyr Tyr	1005	1010	1015	1020
aag gcc agc cag agg aaa tta gat gga cta gca aaa gag gag gaa aag				3121
Lys Ala Ser Gln Arg Lys Leu Asp Gly Leu Ala Lys Glu Glu Glu Lys	1025	1030	1035	
aaa gag gag atg gag gag gaa aaa aag gaa ggc aaa gag gaa gca aag				3169
Lys Glu Glu Met Glu Glu Glu Lys Lys Glu Val Lys Glu Glu Ala Lys	1040	1045	1050	20
gag cag igt ggg gat gag cta gtt gcl gag cca gca gat cct gag gaa				3217
Glu Gln Cys Gly Asp Glu Leu Val Ala Glu Pro Ala Asp Pro Glu Glu	1055	1060	1065	
gct aaa gcc aca gaa gat cag gag gaa aat gaa gag gac aaa gag gaa				3265
Ala Lys Ser Thr Glu Asp Gln Glu Glu Asn Glu Glu Asp Lys Glu Glu	1070	1075	1080	
gag gag aag gaa gaa gac agt gaa gag gag gaa gat gac gcc gac tct				3313
Glu Glu Lys Glu Glu Asp Ser Glu Glu Glu Glu Asp Asp Ala Asp Ser	1085	1090	1095	1100
icc ctt gaa agt ccc gaa gaa aat aac ccc ctc agn ctt icc gag agc				3361
Ser Leu Glu Ser Pro Glu Glu Asn Asn Pro Leu Arg Leu Ser Glu Ser	1105	1110	1115	
aaa aag aac atg ttt ggg ttg tgg aag cct atg gta tic ttg gct aat				3409

10

20

30

Lys Lys Asn Met Phe Gly Leu Trp Lys Pro Met Val Phe Leu Ala Ile
 1120 1125 1130

gca gcl gig gcl cig ial gig lia ccc aac atg cga cag eag gag tca 3457
 Ala Ala Val Ala Leu Tyr Val Leu Pro Asn Met Arg Gln Gln Glu Ser
 1135 1140 1145

gag tic tgc ctc atg gag tga tggcagacct tggccagcgc gagggcagat 3508
 Glu Phe Cys Leu Met Glu
 1150 1155

ccccagtggc caccaccctc agcttgggc aggacacac tggccagaac cctcccata 3568

tgltccalgi gtccecalci cctcagcctc agtaccacag gcigaaaagg ctigtgggga 3628

ggggctgact tccatctcci gccitigtia agaaccigag ttcctigtia ttaaaataca 3688

acigaattaa aaaaaaaaaa aaaaaa 3714

10

<210> 6
 <211> 1154
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 6
 Met Glu Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Ala Gly Trp Ser Cys
 1 5 10 15
 Pro Gly Pro Gly Pro Thr Val Thr Thr Leu Gly Ser Tyr Glu Ala Ser
 20 25 30
 Glu Gly Cys Glu Arg Lys Lys Gly Gln Arg Trp Gly Ser Leu Glu Arg
 35 40 45
 Arg Gly Met Gln Ala Met Glu Gly Glu Val Leu Leu Pro Ala Leu Tyr
 50 55 60
 Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Val Glu Glu Glu
 65 70 75 80
 Glu Glu Gln Val Gln Lys Gly Gly Ser Val Gly Ser Leu Ser Val Asn
 85 90 95
 Lys His Arg Gly Leu Ser Leu Thr Glu Thr Glu Leu Glu Glu Leu Arg
 100 105 110
 Ala Gln Val Leu Gln Leu Val Ala Glu Leu Glu Glu Thr Arg Glu Leu
 115 120 125
 Ala Gly Gln His Gln Asp Asp Ser Leu Glu Leu Gln Gly Leu Leu Glu
 130 135 140
 Asp Glu Arg Leu Ala Ser Ala Gln Gln Ala Glu Val Phe Thr Lys Gln
 145 150 155 160
 Ile Gln Gln Leu Gln Gly Glu Leu Arg Ser Leu Arg Glu Glu Ile Ser

20

30

165 170 175
 Leu Leu Glu His Glu Lys Glu Ser Glu Leu Lys Glu Ile Glu Gln Glu
 180 185 190
 Leu His Leu Ala Gln Ala Glu Ile Gln Ser Leu Arg Gln Ala Ala Glu
 195 200 205
 Asp Ser Ala Thr Glu His Glu Ser Asp Ile Ala Ser Leu Gln Glu Asp
 210 215 220
 Leu Cys Arg Met Gln Asn Glu Leu Glu Asp Met Glu Arg Ile Arg Gly
 225 230 235 240
 Asp Tyr Glu Met Glu Ile Ala Ser Leu Arg Ala Glu Met Glu Met Lys
 245 250 255
 Ser Ser Glu Pro Ser Gly Ser Leu Gly Leu Ser Asp Tyr Ser Gly Leu
 260 265 270
 Gln Glu Glu Leu Gln Glu Leu Arg Glu Arg Tyr His Phe Leu Asn Glu
 275 280 285
 Glu Tyr Arg Ala Leu Gln Glu Ser Asn Ser Ser Leu Thr Gly Gln Leu
 290 295 300
 Ala Asp Leu Glu Ser Glu Arg Thr Gln Arg Ala Thr Glu Arg Trp Leu
 305 310 315 320
 Gln Ser Gln Thr Leu Ser Met Thr Ser Ala Glu Ser Gln Thr Ser Glu
 325 330 335
 Met Asp Phe Leu Glu Pro Asp Pro Glu Met Gln Leu Leu Arg Gln Gln
 340 345 350
 Leu Arg Asp Ala Glu Glu Gln Met His Gly Met Lys Asn Lys Cys Gln
 355 360 365
 Glu Leu Cys Cys Glu Leu Glu Glu Leu Gln His His Arg Gln Val Ser
 370 375 380
 Glu Glu Glu Gln Arg Arg Leu Gln Arg Glu Leu Lys Cys Ala Gln Asn
 385 390 395 400
 Glu Val Leu Arg Phe Gln Thr Ser His Ser Val Thr Gln Glu Leu Leu
 405 410 415
 Cys Arg Leu Gln Lys Leu His Leu Gln His Gln Asn Val Thr Cys Glu
 420 425 430
 Lys Glu Lys Leu Leu Glu Arg Gln Gln Gln Leu Gln Glu Glu Leu Gln
 435 440 445
 Cys His Glu Ala Glu Leu Gln His Leu Arg Asp Thr Val Ala Ser Phe
 450 455 460
 Lys Gln Ser Asn Glu Lys Asp Thr Glu Thr His Ala Gln Leu Gln Glu
 465 470 475 480
 Met Lys Gln Leu Tyr Gln Ala Ser Lys Asp Glu Leu Glu Arg Gln Lys
 485 490 495
 His Met Tyr Asp Gln Leu Glu Gln Asp Leu Leu Leu Cys Gln Leu Glu
 500 505 510
 Leu Lys Glu Leu Lys Ala Ser His Pro Ile Pro Glu Asp Lys Gly Lys
 515 520 525
 Cys Ala Asn Lys Cys Asp Thr Leu Leu Ser Arg Leu Thr Glu Leu Gln
 530 535 540

10

20

30

Glu Lys Tyr Lys Ala Ser Gln Lys Glu Met Gly Gln Leu Gln Met Glu
 545 550 555 560
 Gln Cys Glu Leu Leu Glu Asp Gln Arg Arg Met Gln Glu Glu Gln Gly
 565 570 575
 Gln Leu Gln Gln Glu Leu His Arg Leu Thr Leu Pro Leu Pro Lys Ser
 580 585 590
 Gly Leu Leu Leu Lys Ser Gln Glu Leu Leu Thr Lys Leu Glu Asp Leu
 595 600 605
 Cys Glu Leu Gln Leu Leu Tyr Gln Gly Met Gln Glu Glu Gln Lys Lys
 610 615 620
 Leu Ile Gln Asn Gln Asp Cys Val Leu Lys Glu Gln Leu Glu Ile His
 625 630 635 640
 Glu Glu Leu Arg Arg Phe Lys Glu Ser His Phe Gln Glu Val Leu Glu
 645 650 655
 Asn Pro Asp Asp Ser Lys Leu Ala Lys Ser Ser Lys Cys Asn Arg Asn
 660 665 670
 Lys Gln Ser Lys Leu Leu Met Glu Gln Met Gln Ala Leu Gln Val Met
 675 680 685
 Tyr Asp Ala Gly Gln Ala Lys Gln Glu Leu Leu Gln Gln Glu Gln Gly
 690 695 700
 Arg Leu Leu Glu Glu Arg Lys Arg Leu Gln Ala Asp Leu Gln Leu Cys
 705 710 715 720
 Leu Glu Glu Met Gln Leu Leu Gln Val Gln Ser Pro Ser Ile Lys Met
 725 730 735
 Ser Leu Glu Ser Tyr Gly Lys Ser Tyr Gly Ser Met Val Pro Ser Asn
 740 745 750
 Glu Asn Cys Arg Lys Thr Tyr Asp Thr Thr Val Asp Asp Asn Gln Ser
 755 760 765
 Tyr Tyr Lys Ser Tyr Thr Ser Thr Gln Thr Ser Ser Lys Ser Phe Leu
 770 775 780
 Lys Ser Tyr Asp Ser Ser Thr Ser Ala Ser Glu Ala Tyr Gly Lys Ser
 785 790 795 800
 Tyr Cys Thr Thr Ser Asn Ser Ser Ile Thr Tyr Lys Lys Ser Tyr Gly
 805 810 815
 Ser Thr Ser Ser Ser Asp Thr Cys Gln Lys Ser Phe Val Ser Ser Cys
 820 825 830
 Thr Asp Glu Glu Pro Ala Glu Pro Glu Asp Met Gln Arg Phe Glu Glu
 835 840 845
 Met Val Val Lys Val Leu Ile Lys Leu Gln Ala Val Gln Ala Met Tyr
 850 855 860
 Gln Ile Ser Gln Gln Glu His Ser Gln Leu Gln Glu Gln Met Glu Lys
 865 870 875 880
 Leu Leu Ala Lys Gln Lys Asp Leu Lys Glu Glu Leu Asp Ala Cys Glu
 885 890 895
 Arg Glu Phe Lys Glu Cys Met Glu Cys Leu Glu Lys Pro Met Ala Pro
 900 905 910
 Gln Asn Asp Lys Asn Glu Ile Lys Glu Leu Gln Thr Lys Leu Arg Glu

10

20

30

ggc tgg agc igc ccg ggc cca gga ccc aca gig acc act cia ggc tcc	97	
Gly Trp Ser Cys Pro Gly Pro Gly Pro Thr Val Thr Thr Leu Gly Ser		
15 20 25		
iat gag gci tcc gag ggc tgi gag agg aag aag ggc caa cgc tgg ggg	145	
Tyr Glu Ala Ser Glu Gly Cys Glu Arg Lys Lys Gly Gln Arg Trp Gly		
30 35 40		
tcc ctg gaa cga cgg ggg atg caa gct atg gag ggg gag gtg tta ctc	193	
Ser Leu Glu Arg Arg Gly Met Gln Ala Met Glu Gly Glu Val Leu Leu		
45 50 55 60		
cca gct ctc tai gag gag gaa gag gaa gag gaa gag gag gaa gaa gag	241	10
Pro Ala Leu Tyr Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu		
65 70 75		
gig gaa gaa gaa gaa gaa caa gig cag aaa ggt ggc agt gtt ggc tct	289	
Val Glu Glu Glu Glu Glu Gln Val Gln Lys Gly Gly Ser Val Gly Ser		
80 85 90		
ctg tca gtc aac aag cac cgg gga ctg agt ctc acg gag aca gag ctg	337	
Leu Ser Val Asn Lys His Arg Gly Leu Ser Leu Thr Glu Thr Glu Leu		
95 100 105		
gag gag ctg cgg gct cag gig ctg cag ctg gig gca gaa ctg gag gag	385	20
Glu Glu Leu Arg Ala Gln Val Leu Gln Leu Val Ala Glu Leu Glu Glu		
110 115 120		
acc cgg gaa ctg gca ggg cag cai gag gat gac tcc tgg gag cta cag	433	
Thr Arg Glu Leu Ala Gly Gln His Glu Asp Asp Ser Leu Glu Leu Gln		
125 130 135 140		
ggg ctc ctg gag gat gaa cgg cta gcc agc gcc cag cag gca gag gtg	481	
Gly Leu Leu Glu Asp Glu Arg Leu Ala Ser Ala Gln Gln Ala Glu Val		
145 150 155		
ttc acc aag cag aic cag cag ctc caa ggt gag ctg cgt tct cia cgg	529	
Phe Thr Lys Gln Ile Gln Gln Leu Gln Gly Glu Leu Arg Ser Leu Arg		
160 165 170		
gag gag att tcc ctg tta gag cai gag aaa gaa agc gaa ctt aag gaa	577	30
Glu Glu Ile Ser Leu Leu Glu His Glu Lys Glu Ser Glu Leu Lys Glu		
175 180 185		
ata gaa cag gaa ttg cai ttg gcc cag gct gag aic cag agt ctg cgg	625	
Ile Glu Gln Glu Leu His Leu Ala Gln Ala Glu Ile Gln Ser Leu Arg		
190 195 200		

385	390	395	
tgt gct cag aat gag gtg ctt cgg ill cag acc tcc cac agt gic acc			1249
Cys Ala Gln Asn Glu Val Leu Arg Phe Gln Thr Ser His Ser Val Thr			
400	405	410	
cag aat gag gag ctg aag tcc aga ctc tgt acc ctg cag aaa aaa tat			1297
Gln Asn Glu Glu Leu Lys Ser Arg Leu Cys Thr Leu Gln Lys Lys Tyr			
415	420	425	
gat act agc cag gat gag cag aac gag ctc ttg aag atg cag ctg caa			1345
Asp Thr Ser Gln Asp Glu Gln Asn Glu Leu Leu Lys Met Gln Leu Gln			
430	435	440	
ctt cag act gag ctc cgg cag ctc aaa gic atg aaa tcc aca ctt gta			1393
Leu Gln Thr Glu Leu Arg Gln Leu Lys Val Met Lys Ser Thr Leu Val			
445	450	455	460
gaa aac cag agt gag aag gag tia cig tgc cgg ctg cag aag ctg cac			1441
Glu Asn Gln Ser Glu Lys Glu Leu Leu Cys Arg Leu Gln Lys Leu His			
465	470	475	
ctc cag cac cag aac gtc aca tgt gag aag gaa aag ctg ctg gaa cgg			1489
Leu Gln His Gln Asn Val Thr Cys Glu Lys Glu Lys Leu Leu Glu Arg			
480	485	490	
cag cag cag ctg cag gag gag ctg cag tgc cal gag gca gag ctg cag			1537
Gln Gln Gln Leu Gln Glu Glu Leu Gln Cys His Glu Ala Glu Leu Gln			
495	500	505	20
cac ctc agg gat acg gtg gcc tcc itc aaa gag agc aat gag aag gac			1585
His Leu Arg Asp Thr Val Ala Ser Phe Lys Glu Ser Asn Glu Lys Asp			
510	515	520	
aca gag acg cac gct cag ctt cag gag atg aag cag ctg tac cag gcc			1633
Thr Glu Thr His Ala Gln Leu Gln Glu Met Lys Gln Leu Tyr Gln Ala			
525	530	535	540
agc aag gac gag ctg gag cgg cag aag cac atg tat gac cag ctg gag			1681
Ser Lys Asp Gln Leu Glu Arg Gln Lys His Met Tyr Asp Gln Leu Glu			
545	550	555	30
cag gac ctc ctg ctc tgc cag ctg gag ctg aaa gag ctc aag gcc tcc			1729
Gln Asp Leu Leu Leu Cys Gln Leu Glu Leu Lys Glu Leu Lys Ala Ser			
560	565	570	
cac ccc att cgg gag gac aaa gga aag tgt gct aat aag tgt gac aca			1777

His Pro Ile Pro Glu Asp Lys Gly Lys Cys Ala Asn Lys Cys Asp Thr	
575	580 585
cig cig tcc aga cig aca gaa lig cag gaa aag tac aag gcc agc cag	1835
Leu Leu Ser Arg Leu Thr Glu Leu Gln Glu Lys Tyr Lys Ala Ser Gln	
590	595 600
aag gag atg ggg cag cig cag atg gag cag igt gag ctc cig gag gat	1873
Lys Glu Met Gly Gln Leu Gln Met Glu Gln Cys Glu Leu Leu Glu Asp	
605	610 615 620
cag agg agg atg cag gag gag cag ggc cag cig cag gaa gag cig cac	1921
Gln Arg Arg Met Gln Glu Glu Gln Gly Gln Leu Gln Glu Glu Leu His	
625	630 635
agg ctc aca cig cca cig cca aag agi ggc ctc tta ctc aag agi cag	1969
Arg Leu Thr Leu Pro Leu Pro Lys Ser Gly Leu Leu Leu Lys Ser Gln	
640	645 650
gag cta ctc acc aag tta gaa gac cig igt gag cig cag cig ctc tac	2017
Glu Leu Leu Thr Lys Leu Glu Asp Leu Cys Glu Leu Gln Leu Leu Tyr	
655	660 665
caa ggc atg cag gag gaa cag aag aag cig ata cag aac caa gac igt	2065
Glu Gly Met Gln Glu Glu Gln Lys Lys Leu Ile Gln Asn Gln Asp Cys	
670	675 680
gia tta aaa gaa caa tta gag atc cac gaa gag cig cga cgt ttc aaa	2113
Val Leu Lys Glu Gln Leu Glu Ile His Glu Glu Leu Arg Arg Phe Lys	
685	690 695 700
gag tct cat tic cag gaa gtg lig gag aat ccc gal gal tcc aaa ttg	2161
Glu Ser His Phe Gln Glu Val Leu Glu Asn Pro Asp Asp Ser Lys Leu	
705	710 715
gci aag tcc tcc aaa tgi aai cga aac aag caa tcc aag cig ctc atg	2209
Ala Lys Ser Ser Lys Cys Asn Arg Asn Lys Gln Ser Lys Leu Leu Met	
720	725 730
gag cag atg cag gcc cig cag gtg atg taf gac gcc ggi cag gcg aag	2257
Glu Gln Met Gln Ala Leu Gln Val Met Tyr Asp Ala Gly Gln Ala Lys	
735	740 745
cag gag ctc lig cag caa gag caa ggg agg ctc cta gag gag cgg aag	2305
Gln Glu Leu Leu Gln Gln Glu Gln Gly Arg Leu Leu Glu Glu Arg Lys	
750	755 760

10

20

30

gaa igc ctt gaa aag ccc atg gcc ccc cag aac gac aag aal gag aic	2929	
Glu Cys Leu Glu Lys Pro Met Ala Pro Gln Asn Asp Lys Asn Glu Ile		
960 965 970		
aaa gaa ctg cag acc aag ctg cgg gag ctg cag ctg caa tac cag gct	2977	
Lys Glu Leu Gln Thr Lys Leu Arg Glu Leu Gln Leu Gln Tyr Gln Ala		
975 980 985		
agc atg gat gag cag ggg cag ctt ctg gta gtg cag gag cag ctg gag	3025	
Ser Met Asp Glu Gln Gly Gln Leu Leu Val Val Gln Glu Gln Leu Glu		
990 995 1000		
ggg cag ctg cag tgc tgc cag gag gag ctg cgc cag ctg agg gag aag	3073	10
Gly Gln Leu Gln Cys Cys Gln Glu Glu Leu Arg Gln Leu Arg Glu Lys		
1005 1010 1015 1020		
agg cct tct gtt gtc aaa gaa gcc cgg ggg aag aat gct aat aag aac	3121	
Arg Pro Ser Val Val Lys Glu Ala Arg Gly Lys Asn Ala Asn Lys Asn		
1025 1030 1035		
atg aac aag aat gcc aat ggg gtt aaa atg ana aag gtg acc aag cca	3169	
Met Asn Lys Asn Ala Asn Gly Val Lys Met Lys Lys Val Thr Lys Pro		
1040 1045 1050		
igc tcg gat act tct gag agc gac ctt gag acc aga aag aag aic agg	3217	
Cys Ser Asp Thr Ser Glu Ser Asp Leu Glu Thr Arg Lys Lys Ile Arg		20
1055 1060 1065		
agg aaa atg aag agg aca aag agg aag agg aga agg aag aag aca gtg	3265	
Arg Lys Met Lys Arg Thr Lys Arg Lys Arg Arg Arg Lys Lys Thr Val		
1070 1075 1080		
aag agg agg aag atg acg ccg act ctt ccc ttg aaa gtc ccg aag aaa	3313	
Lys Arg Arg Lys Met Thr Pro Thr Leu Pro Leu Lys Val Pro Lys Lys		
1085 1090 1095 1100		
ata acc ccc tca gac ttt ccg aga gca aaa aga aca tgt ttg ggt tgt	3361	
Ile Thr Pro Ser Asp Phe Pro Arg Ala Lys Arg Thr Cys Leu Gly Cys		
1105 1110 1115		
gga agc cta igg tat tct tgg cta ttg cag ctg tgg ctg tgt atg tgt	3409	30
Gly Ser Leu Trp Tyr Ser Trp Leu Leu Gln Leu Trp Leu Cys Met Cys		
1120 1125 1130		
tac cca aca tgc gac age agg agt cag agt tct gcc tca igg agt gat	3457	
Tyr Pro Thr Cys Asp Ser Arg Ser Gln Ser Ser Ala Ser Trp Ser Asp		

1135 1140 1145

ggc aga cct tgg cca ggc cga ggg cag aic ccc agt ggc cac cac cct 3505
 Gly Arg Pro Trp Pro Ala Arg Gly Gln Ile Pro Ser Gly His His Pro
 1150 1155 1160

cag ctt tgg gca gga cac act gfg cca gaa ccc tcc cca tai gti cca 3553
 Gln Leu Trp Ala Gly His Thr Val Pro Glu Pro Ser Pro Tyr Val Pro
 1165 1170 1175 1180

lgt gtc ccc aic tcc tca gcc tca gtc acc cag gct gaa aag gct lgt 3601
 Cys Val Pro Ile Ser Ser Ala Ser Val Thr Gln Ala Glu Lys Ala Cys
 1185 1190 1195

ggg gag cgg cag act tcc atc tcc tgc ctt gfg taa gaaccigagt 3647
 Gly Glu Arg Leu Thr Ser Ile Ser Cys Leu Val
 1200 1205

tccttgaat taanalcaaa cigaattaaa aaaaaaaaaa aaaaa 3692

10

<210> 8
 <211> 1207
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 8

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

20

30

Ile Gln Gln Leu Gln Gly Gln Leu Arg Ser Leu Arg Glu Glu Ile Ser
 165 170 175
 Leu Leu Glu His Glu Lys Gln Ser Glu Leu Lys Glu Ile Glu Glu Glu
 180 185 190
 Leu His Leu Ala Gln Ala Glu Ile Gln Ser Leu Arg Gln Ala Ala Glu
 195 200 205
 Asp Ser Ala Thr Glu His Glu Ser Asp Ile Ala Ser Leu Gln Glu Asp
 210 215 220
 Leu Cys Arg Met Gln Asn Glu Leu Glu Asp Met Glu Arg Ile Arg Gly
 225 230 235 240
 Asp Tyr Glu Met Glu Ile Ala Ser Leu Arg Ala Glu Met Glu Met Lys
 245 250 255
 Ser Ser Glu Pro Ser Gly Ser Leu Gly Leu Ser Asp Tyr Ser Gly Leu
 260 265 270
 Gln Glu Glu Leu Gln Glu Leu Arg Glu Arg Tyr His Phe Leu Asn Glu
 275 280 285
 Glu Tyr Arg Ala Leu Gln Glu Ser Asn Ser Ser Leu Thr Gly Gln Leu
 290 295 300
 Ala Asp Leu Glu Ser Glu Arg Thr Gln Arg Ala Thr Glu Arg Trp Leu
 305 310 315 320
 Gln Ser Gln Thr Leu Ser Met Thr Ser Ala Glu Ser Gln Thr Ser Glu
 325 330 335
 Met Asp Phe Leu Glu Pro Asp Pro Glu Met Gln Leu Leu Arg Gln Glu
 340 345 350
 Leu Arg Asp Ala Glu Glu Gln Met His Gly Met Lys Asn Lys Cys Gln
 355 360 365
 Glu Leu Cys Cys Glu Leu Glu Glu Leu Gln His His Arg Gln Val Ser
 370 375 380
 Glu Glu Glu Gln Arg Arg Leu Gln Arg Glu Leu Lys Cys Ala Gln Asn
 385 390 395 400
 Glu Val Leu Arg Phe Gln Thr Ser His Ser Val Thr Gln Asn Glu Glu
 405 410 415
 Leu Lys Ser Arg Leu Cys Thr Leu Gln Lys Lys Tyr Asp Thr Ser Glu
 420 425 430
 Asp Glu Gln Asn Glu Leu Leu Lys Met Gln Leu Gln Leu Gln Thr Glu
 435 440 445
 Leu Arg Gln Leu Lys Val Met Lys Ser Thr Leu Val Glu Asn Gln Ser
 450 455 460
 Glu Lys Glu Leu Leu Cys Arg Leu Gln Lys Leu His Leu Gln His Gln
 465 470 475 480
 Asn Val Thr Cys Glu Lys Glu Lys Leu Leu Glu Arg Gln Gln Gln Leu
 485 490 495
 Gln Glu Glu Leu Gln Cys His Glu Ala Glu Leu Gln His Leu Arg Asp
 500 505 510
 Thr Val Ala Ser Phe Lys Glu Ser Asn Glu Lys Asp Thr Glu Thr His
 515 520 525
 Ala Gln Leu Gln Glu Met Lys Gln Leu Tyr Gln Ala Ser Lys Asp Glu

10

20

30

Val Gln Ala Met Tyr Gln Ile Ser Gln Glu Glu His Ser Gln Leu Gln
 915 920 925
 Glu Gln Met Glu Lys Leu Leu Ala Lys Gln Lys Asp Leu Lys Glu Glu
 930 935 940
 Leu Asp Ala Cys Glu Arg Glu Phe Lys Glu Cys Met Glu Cys Leu Glu
 945 950 955 960
 Lys Pro Met Ala Pro Gln Asn Asp Lys Asn Glu Ile Lys Glu Leu Gln
 965 970 975
 Thr Lys Leu Arg Glu Leu Gln Leu Gln Tyr Gln Ala Ser Met Asp Glu
 980 985 990
 Gln Gly Gln Leu Leu Val Val Gln Glu Gln Leu Glu Gly Gln Leu Gln
 995 1000 1005
 Cys Cys Gln Glu Glu Leu Arg Glu Leu Arg Glu Lys Arg Pro Ser Val
 1010 1015 1020
 Val Lys Glu Ala Arg Gly Lys Asn Ala Asn Lys Asn Met Asn Lys Asn
 1025 1030 1035 1040
 Ala Asn Gly Val Lys Met Lys Lys Val Thr Lys Pro Cys Ser Asp Thr
 1045 1050 1055
 Ser Glu Ser Asp Leu Glu Thr Arg Lys Lys Ile Arg Arg Lys Met Lys
 1060 1065 1070
 Arg Thr Lys Arg Lys Arg Arg Arg Lys Lys Thr Val Lys Arg Arg Lys
 1075 1080 1085
 Met Thr Pro Thr Leu Pro Leu Lys Val Pro Lys Lys Ile Thr Pro Ser
 1090 1096 1100
 Asp Phe Pro Arg Ala Lys Arg Thr Cys Leu Gly Cys Gly Ser Leu Trp
 1105 1110 1115 1120
 Tyr Ser Trp Leu Leu Gln Leu Trp Leu Cys Met Cys Tyr Pro Thr Cys
 1125 1130 1135
 Asp Ser Arg Ser Gln Ser Ser Ala Ser Trp Ser Asp Gly Arg Pro Trp
 1140 1145 1150
 Pro Ala Arg Gly Gln Ile Pro Ser Gly His His Pro Gln Leu Trp Ala
 1155 1160 1165
 Gly His Thr Val Pro Glu Pro Ser Pro Tyr Val Pro Cys Val Pro Ile
 1170 1175 1180
 Ser Ser Ala Ser Val Thr Gln Ala Glu Lys Ala Cys Gly Glu Arg Leu
 1185 1190 1195 1200
 Thr Ser Ile Ser Cys Leu Val
 1205

10

20

30

<210> 9
 <211> 3873
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (14)..(3637)

<400> 9

ggc acg agc gtc atg gag gcg ggc gcc gga gcc ggc gcg gga gcc gcg 49
 Met Glu Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Ala
 1 5 10

ggc tgg agc tgc ccg ggc cca gga ccc aca gig acc acf cta ggc tcc 97
 Gly Trp Ser Cys Pro Gly Pro Gly Pro Thr Val Thr Thr Leu Gly Ser
 15 20 25

taa gag gct tcc gag ggc tgt gag agg aag aag ggc caa cgc tgg ggg 145
 Tyr Glu Ala Ser Glu Gly Cys Glu Arg Lys Lys Gly Gln Arg Trp Gly
 30 35 40

10

tcc ctg gaa cga cgg ggg atg caa gct atg gag ggg gag gtg ita ctc 193
 Ser Leu Glu Arg Arg Gly Met Gln Ala Met Glu Gly Glu Val Leu Leu
 45 50 55 60

cca gct ctc taa gag gag gaa gag gaa gag gag gaa gaa gag 241
 Pro Ala Leu Tyr Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu
 65 70 75

gig gaa gaa gaa gaa gaa caa gig cag aaa ggt ggc agt gtt ggc tct 289
 Val Glu Glu Glu Glu Glu Gln Val Gln Lys Gly Gly Ser Val Gly Ser
 80 85 90

20

ctg tca gtc aac aag cac cgg gga ctg agc ctc acg gag aca gag ctg 337
 Leu Ser Val Asn Lys His Arg Gly Leu Ser Leu Thr Glu Thr Glu Leu
 95 100 105

gag gag ctg cgg gct cag gig ctg cag ctg gig gca gaa ctg gag gag 385
 Glu Glu Leu Arg Ala Gln Val Leu Glu Leu Val Ala Gln Leu Glu Glu
 110 115 120

acc cgg gaa ctg gca ggg cag cat gag gat gac tcc ttg gag cta cag 433
 Thr Arg Glu Leu Ala Gly Gln His Glu Asp Asp Ser Leu Glu Leu Gln
 125 130 135 140

ggg ctc ctg gag gat gaa cgg cta gcc agc gcc cag cag gca gag gtg 481
 Gly Leu Leu Glu Asp Glu Arg Leu Ala Ser Ala Gln Gln Ala Glu Val
 145 150 155

30

ttc acc aag cag atc cag cag ctc caa ggt gag ctg cgt tct cta cgg 529
 Phe Thr Lys Gln Ile Gln Gln Leu Gln Gly Glu Leu Arg Ser Leu Arg
 160 165 170

gag gag att tcc ctg tta gag cat gag aaa gaa agc gaa ctt aag gaa	577	
Glu Glu Ile Ser Leu Leu Glu His Glu Lys Glu Ser Glu Leu Lys Glu		
175 180 185		
ata gaa cag gaa ttg cat ttg gcc cag gct gag atc cag agt ctg cgg	625	
Ile Glu Gln Glu Leu His Leu Ala Gln Ala Glu Ile Gln Ser Leu Arg		
190 195 200		
caa gca gca gag gai tcc gca act gaa cat gag agt gac ata gca tcc	673	
Gln Ala Ala Glu Asp Ser Ala Thr Glu His Glu Ser Asp Ile Ala Ser		
205 210 215 220		
ctg cag gag gai ctc tgc cgg atg cag aat gaa ctt gaa gac atg gaa	721	10
Leu Gln Glu Asp Leu Cys Arg Met Gln Asn Glu Leu Glu Asp Met Glu		
225 230 235		
cgc att cgg gga gai tat gag atg gag atc gcc tcc ctc cgt gca gaa	769	
Arg Ile Arg Gly Asp Tyr Glu Met Glu Ile Ala Ser Leu Arg Ala Glu		
240 245 250		
aig gaa atg aag agc tct gaa cca tcc ggt agt tta ggt ctc ica gai	817	
Met Glu Met Lys Ser Ser Glu Pro Ser Gly Ser Leu Gly Leu Ser Asp		
255 260 265		
tac tct ggg tta caa gaa gaa ctg cag gag ctg cgg gaa cgc tac cat	865	20
Tyr Ser Gly Leu Gln Glu Leu Gln Glu Leu Arg Glu Arg Tyr His		
270 275 280		
ttc ctg aat gag gaa tac cgg gcc ctg cag gag agc aac agc agc ctc	913	
Phe Leu Asn Glu Glu Tyr Arg Ala Leu Gln Glu Ser Asn Ser Ser Leu		
285 290 295 300		
acg ggg cag ctt gca gat ctg gag agt gag agg aca cag aga gca aca	961	
Thr Gly Gln Leu Ala Asp Leu Glu Ser Glu Arg Thr Gln Arg Ala Thr		
305 310 315		
gag aga tgg ctg cag tcc caa aca ctg agl' atg acg tca gca gag tct	1009	
Glu Arg Trp Leu Gln Ser Gln Thr Leu Ser Met Thr Ser Ala Glu Ser		
320 325 330		
cag act ica gaa atg gai ttc tta gag cct gat cct gaa atg cag ttg	1057	30
Gln Thr Ser Glu Met Asp Phe Leu Glu Pro Asp Pro Glu Met Gln Leu		
335 340 345		
tta cgg cag cag cia cgg gai gct gaa gag cag atg cat ggc atg aag	1105	
Leu Arg Gln Gln Leu Arg Asp Ala Glu Glu Gln Met His Gly Met Lys		

350	355	360	
aac aag tgt cag gaa ttt tgt tgt gag ttg gaa gag cta cag cat cat			1153
Asn Lys Cys Gln Glu Leu Cys Cys Glu Leu Glu Glu Leu Gln His His			
365	370	375	380
cgc cag gtc agt gag gag gag cag agg cgg ctg cag agg gag ctc aag			1201
Arg Gln Val Ser Glu Glu Glu Gln Arg Arg Leu Gln Arg Glu Leu Lys			
385	390	395	
tgt gct cag aat gag gtt ctt cgg ttt cag acc tcc cac agt gtc acc			1249
Cys Ala Gln Asn Glu Val Leu Arg Phe Gln Thr Ser His Ser Val Thr			
400	405	410	
cag aat gag gag ctg aag tcc aga ctc tgt acc ctg cag aaa aaa tat			1297
Gln Asn Glu Glu Leu Lys Ser Arg Leu Cys Thr Leu Gln Lys Lys Tyr			
415	420	425	
gat act agc cag gat gag cag aac gag ctc ttg aag atg cag ctg caa			1345
Asp Thr Ser Gln Asp Glu Gln Asn Glu Leu Leu Lys Met Gln Leu Gln			
430	435	440	
ctt cag act gag ctc cgg cag ctc aaa gtc atg aaa tcc aca ctt gta			1393
Leu Gln Thr Glu Leu Arg Gln Leu Lys Val Met Lys Ser Thr Leu Val			
445	450	455	460
gaa aac cag agt gag aag gag tta ctg tgc cgg ctg cag aag ctg cac			1441
Glu Asn Gln Ser Glu Lys Glu Leu Leu Cys Arg Leu Gln Lys Leu His			
465	470	475	
ctc cag cac cag aac gtc aca tgt gag aag gaa aag ctg ctg gaa cgg			1489
Leu Gln His Gln Asn Val Thr Cys Glu Lys Glu Lys Leu Leu Glu Arg			
480	485	490	
cag cag cag ctg cag gag gag ctg cag tgc cat gag gca gag ctg cag			1537
Gln Gln Gln Leu Gln Glu Glu Leu Gln Cys His Glu Ala Glu Leu Gln			
495	500	505	
cac ctc agg gat acg gtt gcc tcc ttc aaa gag agc aat gag aag gac			1585
His Leu Arg Asp Thr Val Ala Ser Phe Lys Glu Ser Asn Gln Lys Asp			
510	515	520	
aca gag acg cac gct cag ctt cag gag atg aag cag ctg tac cag gcc			1633
Thr Glu Thr His Ala Gln Leu Gln Glu Met Lys Gln Leu Tyr Gln Ala			
525	530	535	540
agc aag gac gag ctg gag cgg cag aag cac atg tat gac cag ctg gag			1681

10

20

30

Ser Lys Asp Glu Leu Glu Arg Gln Lys His Met Tyr Asp Gln Leu Glu		
545	550	555
cag gac ctc ctc tgc cag ctc gag ctc aaa gag ctc aag gcc tcc	1729	
Gln Asp Leu Leu Leu Cys Gln Leu Glu Leu Lys Gln Leu Lys Ala Ser		
560	565	570
cac ccc aii ccg gag gac aaa gga aag tgi gcl aat aag tgi gac aca	1777	
His Pro Ile Pro Glu Asp Lys Gly Lys Cys Ala Asn Lys Cys Asp Thr		
575	580	585
cig ctc tcc aga ctc aca gaa ttc cag gaa aag tac aag gcc agc cag	1825	
Leu Leu Ser Arg Leu Thr Glu Leu Gln Glu Lys Tyr Lys Ala Ser Gln		10
590	595	600
aag gag atg ggg cag ctc cag atg gag cag tgi gag ctc ctc gag gai	1873	
Lys Glu Met Gly Gln Leu Gln Met Glu Gln Cys Glu Leu Leu Glu Asp		
605	610	615
620		
cag agg agg atg cag gag gag cag ggc cag ctc cag gaa gag ctc cac	1921	
Gln Arg Arg Met Gln Glu Glu Gln Gly Gln Leu Gln Glu Glu Leu His		
625	630	635
agg ctc aca ctc cca ctc cca aag agi ggc ctc iia ctc aag agi cag	1969	
Arg Leu Thr Leu Pro Leu Pro Lys Ser Gly Leu Leu Leu Lys Ser Gln		
640	645	650
gag cia ctc acc aag iia gaa gac ctc tgi gag ctc cag ctc ctc tac	2017	
Glu Leu Leu Thr Lys Leu Glu Asp Leu Cys Glu Leu Gln Leu Leu Tyr		20
655	660	665
caa ggc atg cag gag gaa cag aag aag ctc ata cag aac caa gac tgi	2065	
Gln Gly Met Gln Glu Glu Gln Lys Lys Leu Ile Gln Asn Gln Asp Cys		
670	675	680
gfa iia aaa gaa caa iia gag aic cac gaa gag ctc cga cgt tic aaa	2113	
Val Leu Lys Glu Gln Leu Glu Ile His Glu Glu Leu Arg Arg Phe Lys		
685	690	695
700		
gag tct cai tic cag gaa gtc ttc gag aat ccc gat gal tcc aaz ttc	2161	
Glu Ser His Phe Gln Gln Val Leu Glu Asn Pro Asp Asp Ser Lys Leu		30
705	710	715
gcl aag tcc tcc aaa tgi aai cga aac aag caa tcc aag ctc ctc atg	2209	
Ala Lys Ser Ser Lys Cys Asn Arg Asn Lys Gln Ser Lys Leu Leu Met		
720	725	730

gag cag aig cag gcc cig cag gig aig tai gac gcc ggi cag gcg aag Glu Gln Met Gln Ala Leu Gln Val Met Tyr Asp Ala Gly Gln Ala Lys 735 740 745	2257	
cag gag ctc tlg cag caa gag caa ggg agg ctc cia gag gag cgg aag Gln Glu Leu Leu Gln Gln Glu Gln Gly Arg Leu Leu Glu Glu Arg Lys 750 755 760	2305	
agg cig cag gca gac tlg cag ctc tgc cig gaa gaa atg cag cig ctt Arg Leu Gln Ala Asp Leu Gln Leu Cys Leu Glu Glu Met Gln Leu Leu 765 770 775 780	2353	
caa gtc cag tcc cct tct ata aaa atg agc ctt gag tcc iac ggg aag Gln Val Gln Ser Pro Ser Ile Lys Met Ser Leu Glu Ser Tyr Gly Lys 785 790 795	2401	10
agc tai ggt agc atg gtc cct agc aat gag aac tgi cgc aag act tai Ser Tyr Gly Ser Met Val Pro Ser Asn Glu Asn Cys Arg Lys Thr Tyr 800 805 810	2449	
gat acc act gtg gat gac aat gag agc tai tac aag agt tac acc agc Asp Thr Thr Val Asp Asp Asn Glu Ser Tyr Tyr Lys Ser Tyr Thr Ser 815 820 825	2497	
acc cag acc agc agc aag agc ttt ctc aag agc tai gac agc agc acc Thr Gln Thr Ser Ser Lys Ser Phe Leu Lys Ser Tyr Asp Ser Ser Thr 830 835 840	2545	20
agt gcc agt gag gcc tai ggg aag agt tac tgc act acc agc aac agc Ser Ala Ser Glu Ala Tyr Gly Lys Ser Tyr Cys Thr Thr Ser Asn Ser 845 850 855 860	2593	
agc aii acc tai aag aag agt tac ggc agc acc agt agc tct gac acc Ser Ile Thr Tyr Lys Lys Ser Tyr Gly Ser Thr Ser Ser Ser Asp Thr 865 870 875	2641	
igc cag aag agt lil gtc agc agc igc act gac gag gaa cct gci gag Cys Gln Lys Ser Phe Val Ser Ser Cys Thr Asp Glu Glu Pro Ala Glu 880 885 890	2689	
cct gaa gac aig gag cgc tti gag gaa atg gtl gtg aaa gtg cig atc Pro Glu Asp Met Glu Arg Phe Glu Glu Met Val Val Lys Val Leu Ile 895 900 905	2737	30
aag cig cag gcg gig cag gcc aig tac cag ata agc cag gag gaa cac Lys Leu Gln Ala Val Gln Ala Met Tyr Gln Ile Ser Gln Glu Glu His 910 915 920	2785	

1105	1110	1115		
gca gai ccl gag gaa gct aaa lcc aca gaa gat cag gag gaa aal gaa			3409	
Ala Asp Pro Glu Glu Ala Lys Ser Thr Glu Asp Glu Glu Glu Asn Glu				
1120	1125	1130		
gag gac aaa gag gaa gag gag aag gaa gaa gac agi gaa gag gag gaa			3457	
Glu Asp Lys Glu Glu Glu Glu Lys Glu Glu Asp Ser Glu Glu Glu Glu				
1135	1140	1145		
gat gac gcc gac lcl lcc cll gaa agt ccc gaa gaa aal aac ccc ctc			3505	
Asp Asp Ala Asp Ser Ser Leu Glu Ser Pro Glu Glu Asn Asn Pro Leu				
1150	1155	1160		10
aga cll lcc gag agc aaa aag aac alq lll ggg tlg igg aag cct atg			3553	
Arg Leu Ser Glu Ser Lys Lys Asn Met Phe Gly Leu Trp Lys Pro Met				
1165	1170	1175	1180	
gla tic itg gcl all gca gct glg gcl clg ial gig lla ccc aac atg			3601	
Val Phe Leu Ala Ile Ala Ala Val Ala Leu Tyr Val Leu Pro Asn Met				
1185	1190	1195		
cga cag cag gag lca gag tic lgc ctc alg gag iga iggcagacct			3647	
Arg Glu Glu Glu Ser Glu Phe Cys Leu Met Glu				
1200	1205			
igggcagcgc gaggcagat cccagiggc caccaccic agcillgggc aggcacacaci			3707	20
glgccagaac cctcccata igilccalgi glcccacai cctcagccic agtcaccag			3767	
gcigaaaagg cllgiggga gggcigaci lccatclcll gccllgtglia agaacctgag			3827	
tlcclgliaa llaaalatca acigsaftaa aaaaaaaaa aaaaaa			3873	
<p><210> 10 <211> 1207 <212> PRT <213> Homo sapiens</p>				
<p><400> 10</p>				
Met Glu Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Ala Ala Gly Trp Ser Cys				30
1	5	10	15	
Pro Gly Pro Gly Pro Thr Val Thr Thr Leu Gly Ser Tyr Glu Ala Ser				
20	25	30		
Glu Gly Cys Glu Arg Lys Lys Gly Gln Arg Trp Gly Ser Leu Glu Arg				
35	40	45		

Arg Gly Met Gln Ala Met Glu Gly Glu Val Leu Leu Pro Ala Leu Tyr
 50 55 60
 Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Val Glu Glu Glu
 65 70 75 80
 Glu Glu Gln Val Gln Lys Gly Gly Ser Val Gly Ser Leu Ser Val Asn
 85 90 95
 Lys His Arg Gly Leu Ser Leu Thr Glu Thr Glu Leu Glu Glu Leu Arg
 100 105 110
 Ala Gln Val Leu Gln Leu Val Ala Glu Leu Glu Glu Thr Arg Glu Leu
 115 120 125
 Ala Gly Gln His Glu Asp Asp Ser Leu Glu Leu Gln Gly Leu Leu Glu
 130 135 140
 Asp Glu Arg Leu Ala Ser Ala Gln Gln Ala Glu Val Phe Thr Lys Gln
 145 150 155 160
 Ile Gln Gln Leu Gln Gly Glu Leu Arg Ser Leu Arg Glu Glu Ile Ser
 165 170 175
 Leu Leu Glu His Glu Lys Glu Ser Glu Leu Lys Glu Ile Glu Gln Glu
 180 185 190
 Leu His Leu Ala Gln Ala Glu Ile Gln Ser Leu Arg Gln Ala Ala Glu
 195 200 205
 Asp Ser Ala Thr Glu His Glu Ser Asp Ile Ala Ser Leu Gln Glu Asp
 210 215 220
 Leu Cys Arg Met Gln Asn Glu Leu Glu Asp Met Glu Arg Ile Arg Gly
 225 230 235 240
 Asp Tyr Glu Met Glu Ile Ala Ser Leu Arg Ala Glu Met Glu Met Lys
 245 250 255
 Ser Ser Glu Pro Ser Gly Ser Leu Gly Leu Ser Asp Tyr Ser Gly Leu
 260 265 270
 Gln Glu Glu Leu Gln Glu Leu Arg Glu Arg Tyr His Phe Leu Asn Glu
 275 280 285
 Glu Tyr Arg Ala Leu Gln Glu Ser Asn Ser Ser Leu Thr Gly Gln Leu
 290 295 300
 Ala Asp Leu Glu Ser Glu Arg Thr Gln Arg Ala Thr Glu Arg Trp Leu
 305 310 315 320
 Gln Ser Gln Thr Leu Ser Met Thr Ser Ala Glu Ser Gln Thr Ser Glu
 325 330 335
 Met Asp Phe Leu Glu Pro Asp Pro Glu Met Gln Leu Leu Arg Gln Gln
 340 345 350
 Leu Arg Asp Ala Glu Glu Gln Met His Gly Met Lys Asn Lys Cys Gln
 355 360 365
 Gln Leu Cys Cys Glu Leu Glu Glu Leu Gln His His Arg Gln Val Ser
 370 375 380
 Glu Glu Glu Gln Arg Arg Leu Gln Arg Glu Leu Lys Cys Ala Gln Asn
 385 390 395 400
 Glu Val Leu Arg Phe Glu Thr Ser His Ser Val Thr Gln Asn Glu Glu
 405 410 415
 Leu Lys Ser Arg Leu Cys Thr Leu Gln Lys Lys Tyr Asp Thr Ser Gln

10

20

30

agc agt agl gtt tgg gaa gaa aaa cag agg agt tct att aag acg gtt	522	
Ser Ser Ser Val Trp Glu Glu Lys Gln Arg Ser Ser Ile Lys Thr Val		
90 95 100		
gaa tta ata aaa gga aat tta caa agi gtt gga ctt aca ctt cgt ctt	579	
Glu Leu Ile Lys Gly Asn Leu Gln Ser Val Gly Leu Thr Leu Arg Leu		
105 110 115 120		
gtc cag ica act gat ggg tat gct ggg cac gtc atc att gaa act gtc	618	
Val Gln Ser Thr Asp Gly Tyr Ala Gly His Val Ile Ile Glu Thr Val		
125 130 135		
gct cca aac tcc cct gct gca att gca gat ctt cag cgg gga gat cga	666	10
Ala Pro Asn Ser Pro Ala Ala Ile Ala Asp Leu Gln Arg Gly Asp Arg		
140 145 150		
ctt aic gcc att gga ggt gtc aaa atc aca tca aca ctg caa gtc ttg	714	
Leu Ile Ala Ile Gly Gly Val Lys Ile Thr Ser Thr Leu Gln Val Leu		
155 160 165		
aag ctt atc aag cag gct ggt gac cga gtc ctg gtc tac tat gaa agg	762	
Lys Leu Ile Lys Gln Ala Gly Asp Arg Val Leu Val Tyr Tyr Glu Arg		
170 175 180		
cct gtt gcc cag agt aat caa ggt gca gtc ctg caa gat aac ttt gcc	810	20
Pro Val Gly Gln Ser Asn Gln Gly Ala Val Leu Gln Asp Asn Phe Gly		
185 190 195 200		
cag ttg gaa gaa aac ttt ttg tca agc tca tgc caa tcc ggt tat gaa	858	
Gln Leu Glu Glu Asn Phe Leu Ser Ser Ser Cys Gln Ser Gly Tyr Glu		
205 210 215		
gag gaa gct gcc ggg ttg aca gla gat act gaa agt aga gag ctg gat	906	
Glu Glu Ala Ala Gly Leu Thr Val Asp Thr Glu Ser Arg Glu Leu Asp		
220 225 230		
tct gaa ttt gaa gac ttg gca agt gat gtc aga gca caa aat gag ttc	954	
Ser Glu Phe Glu Asp Leu Ala Ser Asp Val Arg Ala Gln Asn Glu Phe		
235 240 245		
aaa gat gag gca caa tca tta agt cat agt ccc aaa cgt gtt cca aca	1002	30
Lys Asp Glu Ala Gln Ser Leu Ser His Ser Pro Lys Arg Val Pro Thr		
250 255 260		
aca ctt tct att aaa ccc ctt gga gct ata tca cca gtt tta aac cgt	1050	
Thr Leu Ser Ile Lys Pro Leu Gly Ala Ile Ser Pro Val Leu Asn Arg		

265	270	275	280	
aaa ita gci gia gga agi cac cca cia cca ccg aaa att cag icc aaa				1088
Lys Leu Ala Val Gly Ser His Pro Leu Pro Pro Lys Ile Gln Ser Lys	285	290	295	
gai gga aal aaa cci cca ccc cia aaa aci tci gag ala aca gac cca				1146
Asp Gly Asn Lys Pro Pro Pro Leu Lys Thr Ser Glu Ile Thr Asp Pro	300	305	310	
gca caa gtg ica aaa cca acc caa gga tci gci ttc aaa cca cci gtg				1194
Ala Gln Val Ser Lys Pro Thr Gln Gly Ser Ala Phe Lys Pro Pro Val	315	320	325	
cca cca cga cca caa gcg aaa git cci itg cci tcc gcc gai gci cca				1242
Pro Pro Arg Pro Gln Ala Lys Val Pro Leu Pro Ser Ala Asp Ala Pro	330	335	340	
aat cag gca gaa cca gat gii ctc gti gaa aag cca gag aag gtg gtg				1290
Asn Gln Ala Glu Pro Asp Val Leu Val Glu Lys Pro Gln Lys Val Val	345	350	355	360
cca cci cci ctt gta gat aaa tci gci gaa aag caa gca aaa aat gig				1338
Pro Pro Pro Leu Val Asp Lys Ser Ala Glu Lys Gln Ala Lys Asn Val	365	370	375	
gat gcc ata gac gai gca gci gca cci aag caa tii tia gca aag caa				1386
Asp Ala Ile Asp Asp Ala Ala Ala Pro Lys Gln Phe Leu Ala Lys Gln	380	385	390	
gaa gtg gcc aaa gai gtc act tca gaa aci ttc igc cct act aag gac				1434
Glu Val Ala Lys Asp Val Thr Ser Glu Thr Phe Cys Pro Thr Lys Asp	395	400	405	
agi tcz gac gac cgt caa aca tgg gaa tca ica gaa ait ctt lai cgi				1482
Ser Ser Asp Asp Arg Gln Thr Trp Glu Ser Ser Glu Ile Leu Tyr Arg	410	415	420	
aat aag cia gga aaa tgg aca aga acc aga gca tcc tgi itg tii gac				1530
Asn Lys Leu Gly Lys Trp Thr Arg Thr Arg Ala Ser Cys Leu Phe Asp	425	430	435	440
ala gaa gcc tgi cac agg tac ita aac att gca itg tgg tgc agg gai				1578
Ile Glu Ala Cys His Arg Tyr Leu Asn Ile Ala Leu Trp Cys Arg Asp	445	450	455	
cct ttc aag itg gga ggt ctc atc tgi itg ggg cat git agt tia aaa				1626

10

20

30

Pro Phe Lys Leu Gly Gly Leu Ile Cys Leu Gly His Val Ser Leu Lys		
460	465	470
ctt gaa gal gtg gct tta gga tgc cia gct aca ica aac acg gaa tac	1674	
Leu Glu Asp Val Ala Leu Gly Cys Leu Ala Thr Ser Asn Thr Glu Tyr		
475	480	485
ctt tcc aaa ttg aga ctg gaa gcc ccc tca cct aag gct ata gtc act	1722	
Leu Ser Lys Leu Arg Leu Glu Ala Pro Ser Pro Lys Ala Ile Val Thr		
490	495	500
aga acc gca cia cgc aat ctg agt aig caa aag gga ttc aat gac aaa	1770	
Arg Thr Ala Leu Arg Asn Leu Ser Met Gln Lys Gly Phe Asn Asp Lys		10
505	510	515
520		
ttt tgc tat ggt gac att act att cac ttc aaa tat ttg aaa gaa gga	1818	
Phe Cys Tyr Gly Asp Ile Thr Ile His Phe Lys Tyr Leu Lys Glu Gly		
525	530	535
gaa tca gac cac cat gla gtl act aac gta gaa aaa gaa aaa gaa ccc	1866	
Glu Ser Asp His His Val Val Thr Asn Val Glu Lys Glu Lys Glu Pro		
540	545	550
cat ttg gti gaa gaa gti tcl gti ctc cct aaa gag gag caa tti gtt	1914	
His Leu Val Glu Glu Val Ser Val Leu Pro Lys Glu Glu Gln Phe Val		
555	560	565
gga cag aig ggt tta aca gaa aac aaa cac agt ttt cag gat act cag	1962	
Gly Gln Met Gly Leu Thr Glu Asn Lys His Ser Phe Gln Asp Thr Gln		20
570	575	580
ttc cag aac cca aca tgg tgi gac tac tgi aag aaa aaa gtl tgg act	2010	
Phe Gln Asn Pro Thr Trp Cys Asp Tyr Cys Lys Lys Lys Val Trp Thr		
585	590	595
600		
aaa gca gct tcc cag tgt atg ttt tgt gct tat gtl tgc cat aaa aaa	2058	
Lys Ala Ala Ser Gln Cys Met Phe Cys Ala Tyr Val Cys His Lys Lys		
605	610	615
tgt caa gaa aag tgt cta gct gag act tct gtl tgt gga gca act gat	2106	
Cys Gln Gln Lys Cys Leu Ala Glu Thr Ser Val Cys Gly Ala Thr Asp		30
620	625	630
agg cga ala gac agg aca ctg aaa aac ctt agg ctg gaa gga cag gaa	2154	
Arg Arg Ile Asp Arg Thr Leu Lys Asn Leu Arg Leu Glu Gly Gln Glu		
635	640	645

acc ctc tta ggc ctc cct cct cgt gtt gai gct gaa gct agc aag tca	2202	
Thr Leu Leu Gly Leu Pro Pro Arg Val Asp Ala Glu Ala Ser Lys Ser		
650 655 660		
gic aat aaa aca aca ggt ttg aca agg cai att atc aat act agt tct	2260	
Val Asn Lys Thr Thr Gly Leu Thr Arg His Ile Ile Asn Thr Ser Ser		
665 670 675 680		
cgt tta tta aat ttg cgt caa gtc tct aaa act cgc ctt tct gaa cca	2298	
Arg Leu Leu Asn Leu Arg Gln Val Ser Lys Thr Arg Leu Ser Glu Pro		
685 690 695		
gga acc gal ctc gta gaa cct tca cca aaa cac aca ccc aac acg tca	2346	10
Gly Thr Asp Leu Val Glu Pro Ser Pro Lys His Thr Pro Asn Thr Ser		
700 705 710		
gac aac gaa ggc agt gat acg gag gtc tgl ggt cca aac agt cct tct	2394	
Asp Asn Glu Gly Ser Asp Thr Glu Val Cys Gly Pro Asn Ser Pro Ser		
715 720 725		
aaa cgg gga aac agc aca gga ala aag ita gtg aga aaa gag ggt ggt	2442	
Lys Arg Gly Asn Ser Thr Gly Ile Lys Leu Val Arg Lys Glu Gly Gly		
730 735 740		
cig gat gac agt gtt ttc att gca gtt aaa gaa att ggt cgt gat cig	2490	20
Leu Asp Asp Ser Val Phe Ile Ala Val Lys Glu Ile Gly Arg Asp Leu		
745 750 755 760		
tac agg ggc ttg cct aca gag gaa agg aic cag aaa cia gag ttc atg	2538	
Tyr Arg Gly Leu Pro Thr Glu Glu Arg Ile Gln Lys Leu Glu Phe Met		
765 770 775		
ttg gat aag cia cag aat gaa att gat cag gag ttg gaa cac aat aat	2586	
Leu Asp Lys Leu Gln Asn Glu Ile Asp Gln Glu Leu Glu His Asn Asn		
780 785 790		
icc ctt gtt aga gaa gaa aaa gag aca act gal aca agg aaa aaa tca	2634	
Ser Leu Val Arg Glu Glu Lys Glu Thr Thr Asp Thr Arg Lys Lys Ser		
795 800 805		
ctt ctt tct gct gcc tta gct aaa tca ggt gaa agg cia caa gct cia	2682	30
Leu Leu Ser Ala Ala Leu Ala Lys Ser Gly Glu Arg Leu Gln Ala Leu		
810 815 820		
aca ctt ctt atg att cac tac aga gca ggc att gaa gat ata gaa act	2730	
Thr Leu Leu Met Ile His Tyr Arg Ala Gly Ile Glu Asp Ile Glu Thr		
825 830 835 840		

ita gaa agl cig ici iia gac cag cac tcc aaa aaa ata agc aag tac 2778
 Leu Glu Ser Leu Ser Leu Asp Gln His Ser Lys Lys Ile Ser Lys Tyr
 845 850 855

aca gat gat aca gaa gaa gac ctt gat aat gaa ala agc caa cia ata 2826
 Thr Asp Asp Thr Glu Glu Asp Leu Asp Asn Glu Ile Ser Gln Leu Ile
 860 865 870

gac ict cag cca iic agc agc aia ica gat gac iia iit ggc cca tcc 2874
 Asp Ser Gln Pro Phe Ser Ser Ile Ser Asp Asp Leu Phe Gly Pro Ser
 875 880 885

gag ict gtg tagcagacag gtcialllaa acitlcaaa gaacagggta 2923
 Glu Ser Val
 890

10

aagllgcatc laaagtacca cagatacaac calgfllaaa tccctgtaig cacictggcc 2988

lgctctccca gttacttget igtgaagaa caaaaatgag aaaggtigt tccagtaaa 3043

aacaigacca gcttactaat iggtigtit ggallgcail latagclalg ctititigg 3103

lltatacigg gaattalitt itaciaaait aillaactit lctaattalg laattalgta 3163

agclagctit tcaigtitai gtaigtalg igtccccttg tgitattit cticctctlg 3223

gtititgaat tagigttaaa tagaactcgt tctagattct taaaalatt tcatlccat 3283

20

catggitata acaaaatige igcatgccca aacigacaac agcanticact ggggaacag 3343

giltigaate itctititgt gllatgaagt itatcgtctc tacttgcttg agatititgt 3403

latitigggg gtitgggggt gctititgit tigtititgc caaaigtaac algaagcag 3463

algcgcagc illagtctgt latctgait tagtaaaaa aaillitita cataaligc 3523

ligctticga tgcctcigig aaatititit claaagctit lgicagctg latgglaaaa 3583

ataiggtgat laaitigaag agcttacatt gaaagacaai glaalaggaa ataaatgtag 3643

atgcagltg glcaagaait itgiagagag gataacaaga cttaattact gaaaaacagi 3703

30

aacatagcat litgaatala aatctitlaa aalaitgal ctitctitit aaatggaaat 3763

llaaatitta laallaaaag litaacait talgalaait ticcicatca gttctccat 3823

aggaaataaa gcaigtgaaa egggt

3847

<210> 12

<211> 891

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 12

Met Pro Gln Leu Thr Ser Ile Ile Val Asn Gln Leu Lys Lys Ile Ile
 1 5 10 15

Lys Arg Lys His Thr Leu Pro Asn Tyr Lys Ile Arg Phe Lys Pro Phe
 20 25 30

10

Phe Pro Tyr Gln Thr Leu Gln Gly Phe Glu Glu Asp Glu Glu His Ile
 35 40 45

His Ile Gln Gln Trp Ala Leu Thr Glu Gly Arg Leu Lys Val Thr Leu
 50 55 60

Leu Glu Cys Ser Arg Leu Leu Ile Phe Gly Ser Tyr Asp Arg Glu Ala
 65 70 75 80

Asn Val His Cys Thr Leu Glu Leu Ser Ser Ser Val Trp Glu Glu Lys
 85 90 95

20

Gln Arg Ser Ser Ile Lys Thr Val Glu Leu Ile Lys Gly Asn Leu Gln
 100 105 110

Ser Val Gly Leu Thr Leu Arg Leu Val Gln Ser Thr Asp Gly Tyr Ala
 115 120 125

Gly His Val Ile Ile Glu Thr Val Ala Pro Asn Ser Pro Ala Ala Ile
 130 135 140

Ala Asp Leu Gln Arg Gly Asp Arg Leu Ile Ala Ile Gly Gly Val Lys
 145 150 155 160

Ile Thr Ser Thr Leu Gln Val Leu Lys Leu Ile Lys Gln Ala Gly Asp
 165 170 175

30

Arg Val Leu Val Tyr Tyr Glu Arg Pro Val Gly Gln Ser Asn Gln Gly
 180 185 190

Ala Val Leu Gln Asp Asn Phe Gly Gln Leu Glu Glu Asn Phe Leu Ser
 195 200 205

Ser Ser Cys Gln Ser Gly Tyr Glu Glu Glu Ala Ala Gly Leu Thr Val
210 215 220

Asp Thr Glu Ser Arg Glu Leu Asp Ser Glu Phe Glu Asp Leu Ala Ser
225 230 235 240

Asp Val Arg Ala Gln Asn Glu Phe Lys Asp Glu Ala Gln Ser Leu Ser
245 250 255

His Ser Pro Lys Arg Val Pro Thr Thr Leu Ser Ile Lys Pro Leu Gly
260 265 270

Ala Ile Ser Pro Val Leu Asn Arg Lys Leu Ala Val Gly Ser His Pro
275 280 285

Leu Pro Pro Lys Ile Gln Ser Lys Asp Gly Asn Lys Pro Pro Pro Leu
290 295 300

Lys Thr Ser Glu Ile Thr Asp Pro Ala Gln Val Ser Lys Pro Thr Gln
305 310 315 320

Gly Ser Ala Phe Lys Pro Pro Val Pro Pro Arg Pro Gln Ala Lys Val
325 330 335

Pro Leu Pro Ser Ala Asp Ala Pro Asn Gln Ala Glu Pro Asp Val Leu
340 345 350

Val Glu Lys Pro Glu Lys Val Val Pro Pro Pro Leu Val Asp Lys Ser
355 360 365

Ala Glu Lys Gln Ala Lys Asn Val Asp Ala Ile Asp Asp Ala Ala Ala
370 375 380

Pro Lys Gln Phe Leu Ala Lys Gln Glu Val Ala Lys Asp Val Thr Ser
385 390 395 400

Glu Thr Phe Cys Pro Thr Lys Asp Ser Ser Asp Asp Arg Gln Thr Trp
405 410 415

Glu Ser Ser Glu Ile Leu Tyr Arg Asn Lys Leu Gly Lys Trp Thr Arg
420 425 430

Thr Arg Ala Ser Cys Leu Phe Asp Ile Glu Ala Cys His Arg Tyr Leu
435 440 445

Asn Ile Ala Leu Trp Cys Arg Asp Pro Phe Lys Leu Gly Gly Leu Ile

10

20

30

450 455 460
 Cys Leu Gly His Val Ser Leu Lys Leu Glu Asp Val Ala Leu Gly Cys
 465 470 475 480
 Leu Ala Thr Ser Asn Thr Glu Tyr Leu Ser Lys Leu Arg Leu Glu Ala
 485 490 495
 Pro Ser Pro Lys Ala Ile Val Thr Arg Thr Ala Leu Arg Asn Leu Ser
 500 505 510
 Met Glu Lys Gly Phe Asn Asp Lys Phe Cys Tyr Gly Asp Ile Thr Ile
 515 520 525
 His Phe Lys Tyr Leu Lys Glu Gly Glu Ser Asp His His Val Val Thr
 530 535 540
 Asn Val Glu Lys Glu Lys Glu Pro His Leu Val Glu Glu Val Ser Val
 545 550 555 560
 Leu Pro Lys Glu Glu Gln Phe Val Gly Gln Met Gly Leu Thr Glu Asn
 565 570 575
 Lys His Ser Phe Gln Asp Thr Gln Phe Gln Asn Pro Thr Trp Cys Asp
 580 585 590
 Tyr Cys Lys Lys Lys Val Trp Thr Lys Ala Ala Ser Gln Cys Met Phe
 595 600 605
 Cys Ala Tyr Val Cys His Lys Lys Cys Gln Glu Lys Cys Leu Ala Glu
 610 615 620
 Thr Ser Val Cys Gly Ala Thr Asp Arg Arg Ile Asp Arg Thr Leu Lys
 625 630 635 640
 Asn Leu Arg Leu Glu Gly Gln Glu Thr Leu Leu Gly Leu Pro Pro Arg
 645 650 655
 Val Asp Ala Glu Ala Ser Lys Ser Val Asn Lys Thr Thr Gly Leu Thr
 660 665 670
 Arg His Ile Ile Asn Thr Ser Ser Arg Leu Leu Asn Leu Arg Gln Val
 675 680 685
 Ser Lys Thr Arg Leu Ser Glu Pro Gly Thr Asp Leu Val Glu Pro Ser
 690 695 700

10

20

30

Pro Lys His Thr Pro Asn Thr Ser Asp Asn Glu Gly Ser Asp Thr Glu
705 710 715 720

Val Cys Gly Pro Asn Ser Pro Ser Lys Arg Gly Asn Ser Thr Gly Ile
725 730 735

Lys Leu Val Arg Lys Glu Gly Gly Leu Asp Asp Ser Val Phe Ile Ala
740 745 750

Val Lys Glu Ile Gly Arg Asp Leu Tyr Arg Gly Leu Pro Thr Glu Glu
755 760 765

Arg Ile Gln Lys Leu Glu Phe Met Leu Asp Lys Leu Gln Asn Glu Ile
770 775 780

Asp Gln Glu Leu Glu His Asn Asn Ser Leu Val Arg Glu Glu Lys Glu
785 790 795 800

Thr Thr Asp Thr Arg Lys Lys Ser Leu Leu Ser Ala Ala Leu Ala Lys
805 810 815

Ser Gly Glu Arg Leu Gln Ala Leu Thr Leu Leu Met Ile His Tyr Arg
820 825 830

Ala Gly Ile Glu Asp Ile Glu Thr Leu Glu Ser Leu Ser Leu Asp Gln
835 840 845

His Ser Lys Lys Ile Ser Lys Tyr Thr Asp Asp Thr Glu Glu Asp Leu
850 855 860

Asp Asn Glu Ile Ser Gln Leu Ile Asp Ser Gln Pro Phe Ser Ser Ile
865 870 875 880

Ser Asp Asp Leu Phe Gly Pro Ser Glu Ser Val
885 890

<210> 13

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:T3

<400> 13

10

20

30

aallaacccl cactaaaggg 20

<210> 14
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence:T7

<400> 14
 gaaatagcgc tcaclatagg gc 22 10

<210> 15
 <211> 32
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence:KU-GB-2 Sense
 Primer

<400> 15
 agagcgacct tgagaccaga aa 22 20

<210> 16
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence:KU-GB-2
 Antisense Primer

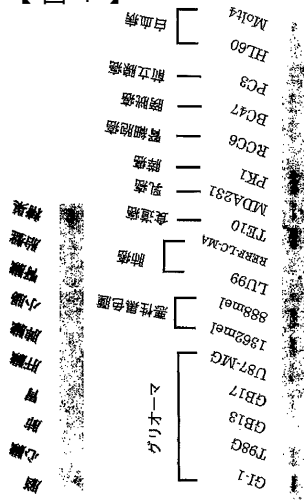
<400> 16
 acacaaggca ggagalgaa gl 22 30

<210> 17
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

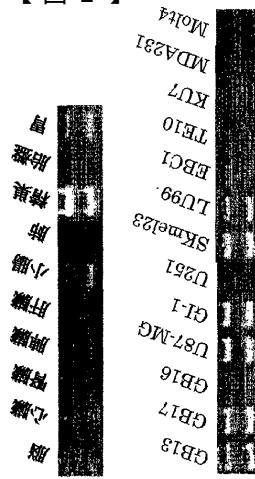
<220>

<223> Description of Artificial Sequence:KU-GB-5 Sense Primer		
<400> 17 aaaactcgcc ttctgaacc	20	
<210> 18 <211> 20 <212> DNA <213> Artificial Sequence		
<220>		10
<223> Description of Artificial Sequence:KU-GB-5 Antisense Primer		
<400> 18 agcaagtaac tggagaagca	20	
<210> 19 <211> 25 <212> DNA <213> Artificial Sequence		
<220>		20
<223> Description of Artificial Sequence:Beta-actin Sense Primer		
<400> 19 gtcgacaacg gctccggcat gtgca	25	
<210> 20 <211> 25 <212> DNA <213> Artificial Sequence		
<220>		30
<223> Description of Artificial Sequence:Beta-actin Antisense Primer		
<400> 20 ggatcttcat gaggtagtca gtcag	25	

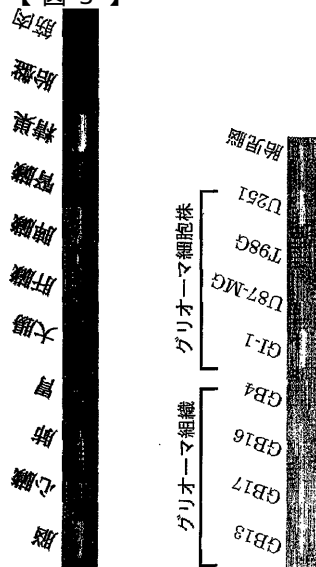
【 図 1 】



【 図 2 】



【 図 3 】



フロントページの続き

(51) Int.Cl.		F I	
C 1 2 Q 1/02 (2006.01)		C 1 2 Q 1/02	
C 1 2 Q 1/68 (2006.01)		C 1 2 Q 1/68	A
G 0 1 N 33/15 (2006.01)		G 0 1 N 33/15	Z
G 0 1 N 33/50 (2006.01)		G 0 1 N 33/50	Z
G 0 1 N 33/53 (2006.01)		G 0 1 N 33/53	D
G 0 1 N 33/566 (2006.01)		G 0 1 N 33/566	M
C 1 2 N 5/10 (2006.01)		G 0 1 N 33/566	
		C 1 2 N 5/00	A

(72)発明者 飯塚 幸彦
 日本国東京都杉並区高円寺北三丁目6番10号304号室

審査官 内田 俊生

(56)参考文献 神経免疫研究, 2000年12月20日, 第13巻, p.44-46
 Proceedings of AACR Annual Meeting, Vol.41(2000), p.880
 Proc.Natl.Acad.Sci.USA., Vol.97, No.7(2000), p.3491-3496
 Genome Res., Vol.6, No.9(1996), p.807-828
 Genome Res., Vol.10(1996), p.1617-1630

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C12N 15/00 - 15/90
 C07K 14/00 - 14/825
 JICSTファイル(JOIS)
 WPI/BIOSIS(DIALOG)
 PubMed
 GenBank/EMBL/DDBJ/GeneSeq
 SwissProt/PIR/GeneSeq

专利名称(译)	人神经胶质瘤抗原及其制备方法		
公开(公告)号	JP3749709B2	公开(公告)日	2006-03-01
申请号	JP2002556742	申请日	2001-11-30
[标]申请(专利权)人(译)	株式会社GBS研究所		
申请(专利权)人(译)	株式会社GBS研究所		
当前申请(专利权)人(译)	株式会社GBS研究所		
[标]发明人	戸田正博 河上裕 河瀬斌 飯塚幸彦		
发明人	戸田 正博 河上 裕 河瀬 斌 飯塚 幸彦		
IPC分类号	C12N15/09 A01K67/027 C07K14/82 C07K16/32 C07K19/00 C12Q1/02 C12Q1/68 G01N33/15 G01N33/50 G01N33/53 G01N33/566 C12N5/10 A61K39/00 A61P35/00 C07K14/47 C12N1/21 C12N15/12 G01N33/574		
CPC分类号	G01N33/57407 A61K39/00 C07K14/4748 C12Q1/6883 C12Q2600/158		
FI分类号	C12N15/00.ZNAA A01K67/027 C07K14/82 C07K16/32 C07K19/00 C12Q1/02 C12Q1/68.A G01N33/15.Z G01N33/50.Z G01N33/53.D G01N33/53.M G01N33/566 C12N5/00.A		
优先权	2001001965 2001-01-09 JP		
其他公开文献	JPWO2002055695A1		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明提供可用于神经胶质瘤的诊断和治疗的人神经胶质瘤抗原，编码其的基因，其制备方法等。通过从神经胶质瘤细胞系中提取总RNA，合成cDNA，并将该cDNA导入λ噬菌体载体以用神经胶质瘤患者的血清感染大肠杆菌而构建的λ噬菌体cDNA文库与标记的抗体反应。使用IgG抗体检测血清中的抗体与之反应的阳性克隆，并在检测到的阳性克隆上重复筛选数次，并从确认了抗体反应性的阳性克隆中分离并分离抗原。使用由此制备的抗原，神经胶质瘤患者血清，健康人血清等进行血清筛选，以制备神经胶质瘤抗原和神经胶质瘤抗原基因。

患者血清	年齢	性別	診断	陽性クローン数	異なったインサート数
G	48	M	膠芽腫	5	4
H	77	F	退形成性稀突起星細胞腫	4	4
I	53	F	膠芽腫	3	2
K	26	F	膠芽腫	18	8
L	61	M	退形成性稀突起星細胞腫	15	5
N	32	F	退形成性星細胞腫	9	7
O	62	F	膠芽腫	1	1
P	30	M	退形成性星細胞腫	6	3
R	53	F	膠芽腫	18	12
S	49	F	星状細胞腫	8	2
U	61	F	膠芽腫	1	1
V	68	F	膠芽腫	4	3
合計				92	52