

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2005-521382

(P2005-521382A)

(43) 公表日 平成17年7月21日(2005.7.21)

(51) Int. Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 15/09	C 1 2 N 15/00	Z N A A
A 6 1 K 38/00	A 6 1 K 45/00	2 G O 4 5
A 6 1 K 45/00	A 6 1 P 1/04	4 B O 2 4
A 6 1 P 1/04	A 6 1 P 1/16	4 B O 2 9
A 6 1 P 1/16	A 6 1 P 1/18	4 B O 6 3
		4 B O 6 4
	審査請求 未請求 予備審査請求 未請求	(全 220 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2003-530835 (P2003-530835)	(71) 出願人	301005050
(86) (22) 出願日	平成14年9月26日 (2002. 9. 26)		インサイト・ゲノミックス・インコーポレイテッド
(85) 翻訳文提出日	平成16年5月13日 (2004. 5. 13)		アメリカ合衆国カリフォルニア州94304・パロアルト・ポータードライブ 3160
(86) 国際出願番号	PCT/US2002/031095	(74) 代理人	100089266
(87) 国際公開番号	W02003/027263		弁理士 大島 陽一
(87) 国際公開日	平成15年4月3日 (2003. 4. 3)	(72) 発明者	アジムサイ、ヤルダ
(31) 優先権主張番号	60/326, 389		アメリカ合衆国カリフォルニア州94552・カストロバレー・ボールダーキャニオンドライブ 5518
(32) 優先日	平成13年9月28日 (2001. 9. 28)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		
(31) 優先権主張番号	60/328, 186		
(32) 優先日	平成13年10月5日 (2001. 10. 5)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		
(31) 優先権主張番号	60/327, 380		
(32) 優先日	平成13年10月5日 (2001. 10. 5)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 細胞成長、分化および細胞死関連タンパク質

(57) 【要約】

本発明の種々の実施例は、細胞増殖、分化および細胞死関連ヒトタンパク質(CGDD)および、CGDDを同定しコードするポリヌクレオチドを提供する。本発明の実施例はまた、発現ベクター、宿主細胞、抗体、アゴニストおよびアンタゴニストをも提供する。他の実施例はCGDDの異常発現に関連する疾患を診断、治療または予防する方法をも提供する。

【特許請求の範囲】

【請求項1】

以下の(a)乃至(n)からなる群から選択した単離されたポリペプチド。

(a) SEQ ID NO:1-33、SEQ ID NO:35-43、SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:48-51、SEQ ID NO:53-57からなる群から選択したアミノ酸配列を含むポリペプチド、

(b) SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:46-47、SEQ ID NO:52からなる群から選択したアミノ酸配列から本質的に構成されるポリペプチド、

(c) SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:10-11、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:26-27、SEQ ID NO:32-33、SEQ ID NO:35-36、SEQ ID NO:39-41、SEQ ID NO:43、SEQ ID NO:48-51、SEQ ID NO:53-54、SEQ ID NO:57を有する群から選択したアミノ酸配列と少なくとも90%が同一であるような天然のアミノ酸配列を含むポリペプチド、

10

(d) SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:9およびSEQ ID NO:38からなる群から選択した或るアミノ酸配列と少なくとも92%が同一であるような天然アミノ酸配列を含むポリペプチド

(e) SEQ ID NO:19のアミノ酸配列に対して少なくとも93%が同一であるような天然アミノ酸配列を含むポリペプチド

(f) (b) SEQ ID NO:24のアミノ酸配列と少なくとも94%が同一であるような天然のアミノ酸配列を有するポリペプチド

(g) SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:6およびSEQ ID NO:42からなる群から選択したアミノ酸配列と少なくとも95%が同一であるような天然アミノ酸配列を含むポリペプチド、

20

(h) SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:45からなる群から選択した或るアミノ酸配列に対して少なくとも96%が同一であるような天然アミノ酸配列を含むポリペプチド、

(i) SEQ ID NO:15のアミノ酸配列に対して少なくとも97%が同一であるような天然アミノ酸配列を含むポリペプチド

(j) (b) SEQ ID NO:30のアミノ酸配列に対して少なくとも98%が同一であるような天然アミノ酸配列を持つポリペプチド

(k) SEQ ID NO:8のアミノ酸配列に対して少なくとも99%が同一であるような天然アミノ酸配列を含むポリペプチド

(l) SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:47、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:56を有する群から選択したアミノ酸配列と少なくとも90%が同一であるような天然のアミノ酸配列から本質的に構成されるポリペプチド、

30

(m) SEQ ID NO:1-57からなる群から選択したアミノ酸配列を有するポリペプチドの生物学的活性断片、および

(n) SEQ ID NO:1-57からなる群から選択したアミノ酸配列を有するポリペプチドの免疫原性断片

【請求項2】

下記の群から選択した単離された請求項1に記載のポリペプチド。

(a) SEQ ID NO:1-33、SEQ ID NO:35-43、SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:48-51、SEQ ID NO:53-57からなる群から選択したアミノ酸配列を含むポリペプチド、

40

(b) SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:46-47、SEQ ID NO:52からなる群から選択したアミノ酸配列から本質的に成るポリペプチド、

【請求項3】

請求項1に記載のポリペプチドをコードする単離されたポリヌクレオチド。

【請求項4】

請求項2に記載のポリペプチドをコードする単離されたポリヌクレオチド。

【請求項5】

SEQ ID NO:58-114からなる群から選択したポリヌクレオチド配列を含む、請求項4に記載の単離されたポリヌクレオチド。

【請求項6】

50

請求項 3 に記載のポリヌクレオチドに機能的に連結したプロモーター配列を含む組換えポリヌクレオチド。

【請求項 7】

請求項 6 に記載の組換えポリヌクレオチドを用いて形質転換した細胞。

【請求項 8】

請求項 6 に記載の組換えポリヌクレオチドを含む遺伝形質転換体。

【請求項 9】

請求項 1 のポリペプチドを生産する方法であって、

(a) 前記ポリペプチドの発現に好適な条件下で、請求項 1 のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドに機能的に連結したプロモーター配列を含む組換えポリヌクレオチドで形質転換される細胞を培養する過程と、

10

(b) そのように発現した前記ポリペプチドを回収する過程とからなる方法。

【請求項 10】

前記ポリペプチドが、SEQ ID NO:1-57からなる群から選択した或るアミノ酸配列を含むことを特徴とする、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】

請求項 1 に記載のポリペプチドと特異的に結合する単離された抗体。

【請求項 12】

以下の (a) 乃至 (k) からなる群から選択した単離されたポリヌクレオチド。

(a) SEQ ID NO:58-114からなる群から選択したポリヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド

20

(b) SEQ ID NO:58-77、SEQ ID NO:79-85、SEQ ID NO:87、SEQ ID NO:89-94、SEQ ID NO:96-114からなる群から選択した或るポリヌクレオチド配列に対して少なくとも90%が同一であるような天然ポリヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド、

(c) SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:88からなる群から選択した或るポリヌクレオチド配列に対して少なくとも92%が同一であるような天然ポリヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド

(d) SEQ ID NO:95のポリヌクレオチド配列に対して少なくとも94%が同一であるような天然ポリヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド

(e) SEQ ID NO:86のポリヌクレオチド配列に対して少なくとも99%が同一であるような天然ポリヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド

30

(f) (a) のポリヌクレオチドに相補的なポリヌクレオチド

(g) (b) のポリヌクレオチドに相補的なポリヌクレオチド

(h) (c) のポリヌクレオチドに相補的なポリヌクレオチド

(i) (d) のポリヌクレオチドに相補的なポリヌクレオチド

(j) (e) のポリヌクレオチドに相補的なポリヌクレオチド

(k) (a) ~ (j) のRNA等価物

【請求項 13】

請求項12に記載のポリヌクレオチドの少なくとも60の連続したヌクレオチドを含む単離されたポリヌクレオチド。

40

【請求項 14】

請求項12に記載のポリヌクレオチドの配列を有する標的ポリヌクレオチドをサンプル中から検出する方法であって、

(a) 前記サンプル中の前記標的ポリヌクレオチドに相補的な配列を持つ少なくとも20の連続したヌクレオチドを持つプローブを用いて前記サンプルをハイブリダイズする過程と、

(b) 前記ハイブリダイゼーション複合体の有無を検出し、該複合体が存在する場合にはオプションでその量を検出する過程とを含む方法。

【請求項 15】

前記プローブが少なくとも60の連続したヌクレオチドを含むことを特徴とする請求項14

50

に記載の方法。

【請求項16】

請求項12に記載のポリヌクレオチドの配列を有する標的ポリヌクレオチドをサンプル中から検出する方法であって、

(a) ポリメラーゼ連鎖反応増幅を用いて前記標的ポリヌクレオチドまたはその断片を増幅する過程と、

(b) 前記の増幅した標的ポリヌクレオチドまたはその断片の有無を検出し、該標的ポリヌクレオチドまたはその断片が存在する場合にはオプションでその量を検出する過程を含むことを特徴とする方法。

【請求項17】

請求項1に記載のポリペプチドと、薬剤として許容できる賦形剤とを含む組成物。

【請求項18】

前記ポリペプチドが、以下からなる群から選択した請求項17に記載の組成物、

(a) SEQ ID NO:1-33、SEQ ID NO:35-43、SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:48-51、SEQ ID NO:53-57からなる群から選択したアミノ酸配列を含むポリペプチド、

(b) SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:46-47、SEQ ID NO:52からなる群から選択したアミノ酸配列から本質的に成るポリペプチド、

【請求項19】

機能的CGDDの発現低下に関連する疾患又は病状を治療する方法であって、そのような治療を必要とする患者に対して請求項17に記載の組成物を投与する過程を含むことを特徴とする方法。

【請求項20】

請求項1に記載のポリペプチドのアゴニストとしての有効性を確認するために化合物をスクリーニングする方法であって、

(a) 請求項1に記載のポリペプチドを含むサンプルを化合物に曝すステップと、

(b) 前記サンプルにおいてアゴニスト活性を検出する過程を含むことを特徴とする方法。

【請求項21】

請求項20に記載の方法によって同定したアゴニスト化合物と、薬剤として許容できる賦形剤とを含むことを特徴とする組成物。

【請求項22】

機能的CGDDの発現低下に関連する疾患又は病状を治療する方法であって、そのような治療を必要とする患者に対して請求項21に記載の組成物を投与する過程を含むことを特徴とする方法。

【請求項23】

請求項1に記載のポリペプチドのアンタゴニストとして有効性を確認するために化合物をスクリーニングする方法であって、

(a) 請求項1に記載のポリペプチドを含むサンプルを化合物に曝すステップと、

(b) 前記サンプルにおいてアンタゴニスト活性を検出する過程とを含むことを特徴とする方法。

【請求項24】

請求項23に記載の方法によって同定したアンタゴニスト化合物と、薬剤として許容できる賦形剤とを含む組成物。

【請求項25】

機能的CGDDの過剰な発現に関連する疾患や病態の治療方法であって、そのような治療を要する患者への請求項24に記載の組成物の投与を含む治療方法。

【請求項26】

請求項1に記載のポリペプチドに特異結合する化合物をスクリーニングする方法であって、

(a) 請求項1に記載のポリペプチドを適切な条件下で少なくとも1つの試験化合物と

10

20

30

40

50

混合する過程と、

(b) 請求項1に記載のポリペプチドの試験化合物との結合を検出し、それによって請求項1のポリペプチドに特異結合する化合物を同定する過程を含む方法。

【請求項27】

請求項1に記載のポリペプチドの活性を調節する化合物をスクリーニングする方法であって、

(a) 請求項1に記載のポリペプチドの活性が許容される条件下で、請求項1のポリペプチドを少なくとも1つの試験化合物と混合する過程と、

(b) 請求項1に記載のポリペプチドの活性を試験化合物の存在下で算定する過程と、

(c) 試験化合物の存在下での請求項1に記載のポリペプチドの活性を、試験化合物の不存在下での請求項1に記載のポリペプチドの活性と比較する過程を含み、試験化合物の存在下での請求項1に記載のポリペプチドの活性の変化が、請求項1に記載のポリペプチドの活性を調節する化合物を標示することを特徴とする方法。

10

【請求項28】

請求項5に記載の配列を持つ標的ポリヌクレオチドの発現を改変するのに効果的な化合物をスクリーニングする方法であって、

(a) 前記標的ポリヌクレオチドの発現に好適な条件下で、該標的ポリヌクレオチドを含むサンプルを化合物に曝露する過程と、

(b) 前記標的ポリヌクレオチドの発現改変を検出する過程と、

(c) 可変量の前記化合物の存在下と前記化合物の不存在下で、前記標的ポリヌクレオチドの発現を比較する過程とを含むことを特徴とする方法。

20

【請求項29】

試験化合物の毒性を算定する方法であって、

(a) 核酸を含む生物学的サンプルを前記試験化合物で処理する過程と、

(b) 処理した前記生物学的サンプルの核酸と、請求項12のポリヌクレオチドの少なくとも20の連続するヌクレオチドを持つプローブをハイブリダイズさせる過程であって、このハイブリダイゼーションゼーションが、前記プローブと前記生物学的サンプル中の標的ポリヌクレオチドとの間で特異的なハイブリダイゼーション複合体が形成される条件下で行われ、前記標的ポリヌクレオチドが、請求項12のポリヌクレオチドまたはその断片のポリヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドである、前記過程と、

30

(c) ハイブリダイゼーション複合体の収量を定量する過程と、

(d) 前記処理された生物学的サンプル中のハイブリタイゼーション複合体の量を、処理されていない生物学的サンプル中のハイブリタイゼーション複合体の量と比較する過程とを含み、前記処理された生物学的サンプル中のハイブリタイゼーション複合体の量の差が、前記試験化合物の毒性を標示するような方法。

【請求項30】

生物学的サンプル中のCGDDの発現に関連する症状または疾患に対する診断試験の方法であって、

(a) 前記生物学的サンプルと請求項11の抗体との混合を、前記抗体が前記ポリペプチドに結合し、抗体とポリペプチドとの複合体を形成するのに適した条件下で行う過程と、

40

(b) 前記複合体を検出する過程とを含み、前記複合体の存在が、前記生物学的サンプル中の前記ポリペプチドの存在と相関することを特徴とする方法。

【請求項31】

請求項11に記載の抗体であって、

(a) キメラ抗体

(b) 単鎖抗体

(c) Fab断片

(d) $F(ab')_2$ 断片

(e) ヒト化抗体のいずれかである抗体。

【請求項32】

50

請求項11に記載の抗体と、許容できる賦形剤とを含む組成物。

【請求項33】

CGDDの被検者での発現に関連する症状又は疾患の診断方法であって、請求項32に記載の組成物の有効量を前記被検者に投与する過程を含むことを特徴とする方法。

【請求項34】

前記抗体が標識されることを特徴とする請求項32に記載の組成物。

【請求項35】

CGDDの被検者での発現に関連する症状又は疾患の診断方法であって、請求項34に記載の組成物の有効量を前記被検者に投与する過程を含むことを特徴とする方法。

【請求項36】

請求項11に記載の抗体の特異性を有するポリクローナル抗体を調製する方法であって、

(a) 抗体反応を誘発する条件下で、SEQ ID NO:1-57からなる群から選択したアミノ酸配列またはその免疫原性断片を含むポリペプチドを用いて動物を免疫化する過程と、

(b) 前記動物から抗体を単離する過程と、

(c) 前記単離された抗体を前記ポリペプチドでスクリーニングし、それによって、SEQ ID NO:1-57からなる群から選択したアミノ酸配列を含むポリペプチドに特異結合するポリクローナル抗体を同定する過程とを含むような方法。

【請求項37】

請求項36に記載の方法で産生したポリクローナル抗体。

【請求項38】

請求項37に記載のポリクローナル抗体と好適なキャリアとを有する組成物。

【請求項39】

請求項11に記載の抗体の特異性を有するモノクローナル抗体を作製する方法であって、

(a) 抗体反応を誘発する条件下で、SEQ ID NO:1-57からなる群から選択したアミノ酸配列またはその免疫原性断片を含むポリペプチドを用いて動物を免疫化する過程と、

(b) 前記動物から抗体産出細胞を単離する過程と、

(c) 前記抗体産出細胞と不死化した細胞とを融合して、モノクローナル抗体を産出するハイブリドーマ細胞を形成する過程と、

(d) 前記ハイブリドーマ細胞を培養する過程と、

(e) SEQ ID NO:1-57からなる群から選択したアミノ酸配列を含むポリペプチドに特異結合するようなモノクローナル抗体を前記培養物から単離する過程とを含むことを特徴とする方法。

【請求項40】

請求項39に記載の方法で産出したモノクローナル抗体。

【請求項41】

請求項40に記載のモノクローナル抗体と適切なキャリアとを含む組成物。

【請求項42】

Fab発現ライブラリをスクリーニングすることにより産出されることを特徴とする請求項11に記載の抗体。

【請求項43】

組換え免疫グロブリンライブラリのスクリーニングにより前記抗体を産出することを特徴とする請求項11に記載の抗体。

【請求項44】

SEQ ID NO:157から成る群から選択したアミノ酸配列を含むポリペプチドをサンプル中で検出する方法であって、

(a) 請求項11に記載の抗体と前記ポリペプチドとの特異結合を許容する条件下で、前記抗体と1サンプルとをインキュベートする過程と、

(b) 特異結合を検出する過程とを含み、該特異結合が、SEQ ID NO:157からなる群から選択したアミノ酸配列を含むポリペプチドがサンプル中に存在することを標示することを特徴とする方法。

10

20

30

40

50

【請求項 4 5】

SEQ ID NO:1-57 からなる群から選択したアミノ酸配列を有するポリペプチドを精製する方法であって、

(a) 請求項 1 1 に記載の抗体と前記ポリペプチドとの特異結合を許容する条件下で、前記抗体と 1 サンプルとをインキュベートする過程と、

(b) 前記サンプルから前記抗体を分離し、SEQ ID NO:1-57 からなる群から選択したアミノ酸配列を含む精製ポリペプチドを得る過程とを含むことを特徴とする方法。

【請求項 4 6】

マイクロアレイの少なくとも 1 つのエLEMENT が請求項 1 3 に記載のポリヌクレオチドであることを特徴とするマイクロアレイ。

【請求項 4 7】

ポリヌクレオチドを含むサンプルの発現プロファイルを作製する方法であって、

(a) サンプル中のポリヌクレオチドを標識化する過程

(b) ハイブリダイゼーション複合体が形成されるのに適した条件下で請求項 46 のマイクロアレイのエLEMENT とサンプル中の標識化ポリヌクレオチドとを接触させる過程と、

(c) サンプル中のポリヌクレオチドの発現を定量する過程を含む方法

【請求項 4 8】

或る固体基板上の固有の物理的位置に付着された種々のヌクレオチド分子を有するアレイであって、少なくとも 1 つの前記ヌクレオチド分子が、或る標的ポリヌクレオチドの少なくとも 30 の連続したヌクレオチド群と特異的にハイブリダイズ可能な最初のオリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチド配列を有し、前記の標的ポリヌクレオチドが請求項 1 2 に記載のポリヌクレオチドであることを特徴とするアレイ。

【請求項 4 9】

請求項 4 8 に記載のアレイで、前記の最初のオリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチドの配列が前記の標的ポリヌクレオチドの少なくとも 30 の連続したヌクレオチドに完全に相補的であることを特徴とするアレイ。

【請求項 5 0】

請求項 4 8 に記載のアレイで、前記の最初のオリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチドの配列が前記の標的ポリヌクレオチドの少なくとも 60 の連続したヌクレオチドに完全に相補的であることを特徴とするアレイ。

【請求項 5 1】

請求項 4 8 に記載のアレイで、前記のオリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチドの最初の配列が前記の標的ポリヌクレオチドに完全に相補的であることを特徴とするアレイ。

【請求項 5 2】

請求項 48 に記載のアレイで、マイクロアレイであることを特徴とするアレイ。

【請求項 5 3】

請求項 4 8 に記載のアレイで、前記のオリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチドの最初の配列を有する或るヌクレオチド分子にハイブリダイズした前記の標的ポリヌクレオチドを更に有することを特徴とするアレイ。

【請求項 5 4】

請求項 4 8 に記載のアレイで、或るリンカーが前記のヌクレオチド分子の少なくとも 1 つと前記の固体基板とを連結していることを特徴とするアレイ。

【請求項 5 5】

請求項 4 8 に記載のアレイで、該基板上的固有の物理的位置の各々が複数のヌクレオチド分子を含み、任意の単一の固有の物理的位置でのその複数のヌクレオチド分子は同一の配列を有し、該基板上的固有の物理的位置の各々は、該基板上的別の固有の物理的位置でのヌクレオチド分子群の配列とは異なる或る配列を有するヌクレオチド分子群を含むことを特徴とするアレイ。

【請求項 5 6】

SEQ ID NO:1 のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。

10

20

30

40

50

- 【請求項 5 7】
SEQ ID NO:2のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。
- 【請求項 5 8】
SEQ ID NO:3のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。
- 【請求項 5 9】
SEQ ID NO:4のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。
- 【請求項 6 0】
SEQ ID NO:5のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。
- 【請求項 6 1】
SEQ ID NO:6のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。 10
- 【請求項 6 2】
SEQ ID NO:7のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。
- 【請求項 6 3】
SEQ ID NO:8のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。
- 【請求項 6 4】
SEQ ID NO:9のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。
- 【請求項 6 5】
SEQ ID NO:10のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。
- 【請求項 6 6】
SEQ ID NO:11のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。 20
- 【請求項 6 7】
SEQ ID NO:12のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。
- 【請求項 6 8】
SEQ ID NO:13のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。
- 【請求項 6 9】
SEQ ID NO:14のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。
- 【請求項 7 0】
SEQ ID NO:15のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。
- 【請求項 7 1】
SEQ ID NO:16のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。 30
- 【請求項 7 2】
SEQ ID NO:17のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。
- 【請求項 7 3】
SEQ ID NO:18のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。
- 【請求項 7 4】
SEQ ID NO:19のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。
- 【請求項 7 5】
SEQ ID NO:20のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。
- 【請求項 7 6】
SEQ ID NO:21のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。 40
- 【請求項 7 7】
SEQ ID NO:22のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。
- 【請求項 7 8】
SEQ ID NO:23のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。
- 【請求項 7 9】
SEQ ID NO:24のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。
- 【請求項 8 0】
SEQ ID NO:25のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。
- 【請求項 8 1】
SEQ ID NO:26のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。 50

【請求項 8 2】

SEQ ID NO:27のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。

【請求項 8 3】

SEQ ID NO:28のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。

【請求項 8 4】

SEQ ID NO:29のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。

【請求項 8 5】

SEQ ID NO:30のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。

【請求項 8 6】

SEQ ID NO:31のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。

10

【請求項 8 7】

SEQ ID NO:32のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。

【請求項 8 8】

SEQ ID NO:33のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。

【請求項 8 9】

SEQ ID NO:34のアミノ酸配列から本質的に構成される請求項 1 に記載のポリペプチド。

【請求項 9 0】

SEQ ID NO:35のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。

【請求項 9 1】

SEQ ID NO:36のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。

20

【請求項 9 2】

SEQ ID NO:37のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。

【請求項 9 3】

SEQ ID NO:38のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。

【請求項 9 4】

SEQ ID NO:39のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。

【請求項 9 5】

SEQ ID NO:40のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。

【請求項 9 6】

SEQ ID NO:41のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。

30

【請求項 9 7】

SEQ ID NO:42のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。

【請求項 9 8】

SEQ ID NO:43のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。

【請求項 9 9】

SEQ ID NO:44のアミノ酸配列から本質的に構成される請求項 1 に記載のポリペプチド。

【請求項 1 0 0】

SEQ ID NO:45のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。

【請求項 1 0 1】

SEQ ID NO:46のアミノ酸配列から本質的に構成される請求項 1 に記載のポリペプチド。

40

【請求項 1 0 2】

SEQ ID NO:47のアミノ酸配列から本質的に構成される請求項 1 に記載のポリペプチド。

【請求項 1 0 3】

SEQ ID NO:48のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。

【請求項 1 0 4】

SEQ ID NO:49のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。

【請求項 1 0 5】

SEQ ID NO:50のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。

【請求項 1 0 6】

SEQ ID NO:51のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。

50

【請求項 1 0 7】

SEQ ID NO:52のアミノ酸配列から本質的に構成される請求項1に記載のポリペプチド。

【請求項 1 0 8】

SEQ ID NO:53のアミノ酸配列を含む請求項1に記載のポリペプチド。

【請求項 1 0 9】

SEQ ID NO:54のアミノ酸配列を含む請求項1に記載のポリペプチド。

【請求項 1 1 0】

SEQ ID NO:55のアミノ酸配列を含む請求項1に記載のポリペプチド。

【請求項 1 1 1】

SEQ ID NO:56のアミノ酸配列を含む請求項1に記載のポリペプチド。

10

【請求項 1 1 2】

SEQ ID NO:57のアミノ酸配列を含む請求項1に記載のポリペプチド。

【請求項 1 1 3】

SEQ ID NO:58のポリヌクレオチド配列を含む請求項12に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 1 1 4】

SEQ ID NO:59のポリヌクレオチド配列を含む請求項12に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 1 1 5】

SEQ ID NO:60のポリヌクレオチド配列を含む請求項12に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 1 1 6】

SEQ ID NO:61のポリヌクレオチド配列を含む請求項12に記載のポリヌクレオチド。

20

【請求項 1 1 7】

SEQ ID NO:62のポリヌクレオチド配列を含む請求項12に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 1 1 8】

SEQ ID NO:63のポリヌクレオチド配列を含む請求項12に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 1 1 9】

SEQ ID NO:64のポリヌクレオチド配列を含む請求項12に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 1 2 0】

SEQ ID NO:65のポリヌクレオチド配列を含む請求項12に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 1 2 1】

SEQ ID NO:66のポリヌクレオチド配列を含む請求項12に記載のポリヌクレオチド。

30

【請求項 1 2 2】

SEQ ID NO:67のポリヌクレオチド配列を含む請求項12に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 1 2 3】

SEQ ID NO:68のポリヌクレオチド配列を含む請求項12に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 1 2 4】

SEQ ID NO:69のポリヌクレオチド配列を含む請求項12に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 1 2 5】

SEQ ID NO:70のポリヌクレオチド配列を含む請求項12に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 1 2 6】

SEQ ID NO:71のポリヌクレオチド配列を含む請求項12に記載のポリヌクレオチド。

40

【請求項 1 2 7】

SEQ ID NO:72のポリヌクレオチド配列を含む請求項12に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 1 2 8】

SEQ ID NO:73のポリヌクレオチド配列を含む請求項12に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 1 2 9】

SEQ ID NO:74のポリヌクレオチド配列を含む請求項12に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 1 3 0】

SEQ ID NO:75のポリヌクレオチド配列を含む請求項12に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 1 3 1】

SEQ ID NO:76のポリヌクレオチド配列を含む請求項12に記載のポリヌクレオチド。

50

【請求項 1 5 7】

SEQ ID NO:102のポリヌクレオチド配列を含む請求項12に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 1 5 8】

SEQ ID NO:103のポリヌクレオチド配列を含む請求項12に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 1 5 9】

SEQ ID NO:104のポリヌクレオチド配列を含む請求項12に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 1 6 0】

SEQ ID NO:105のポリヌクレオチド配列を含む請求項12に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 1 6 1】

SEQ ID NO:106のポリヌクレオチド配列を含む請求項12に記載のポリヌクレオチド。

10

【請求項 1 6 2】

SEQ ID NO:107のポリヌクレオチド配列を含む請求項12に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 1 6 3】

SEQ ID NO:108のポリヌクレオチド配列を含む請求項12に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 1 6 4】

SEQ ID NO:109のポリヌクレオチド配列を含む請求項12に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 1 6 5】

SEQ ID NO:110のポリヌクレオチド配列を含む請求項12に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 1 6 6】

SEQ ID NO:111のポリヌクレオチド配列を含む請求項12に記載のポリヌクレオチド。

20

【請求項 1 6 7】

SEQ ID NO:112のポリヌクレオチド配列を含む請求項12に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 1 6 8】

SEQ ID NO:113のポリヌクレオチド配列を含む請求項12に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 1 6 9】

SEQ ID NO:114のポリヌクレオチド配列を含む請求項12に記載のポリヌクレオチド。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、新規の核酸、これらの核酸によってコードされる細胞成長、分化および細胞死関連タンパク質群に関し、また、癌などの細胞増殖異常、発達障害、神経疾患、自己免疫/炎症疾患、生殖障害、および胎盤障害の診断、治療並びに予防におけるこれらの核酸およびタンパク質の利用に関する。本発明はまた、核酸および細胞増殖、分化および死に関連するタンパク質の発現に対する外因性化合物の作用の評価に関する。

30

【背景技術】

【0002】

ヒトの成長と発達には、細胞分化、細胞増殖、およびアポトーシスの、空間的および時間的な調節を要する。これらのプロセスが、生殖、老化、胚形成、形態形成、器官形成、並びに組織の修復および維持を、協調的に制御する。細胞レベルでは、成長と発達との支配は、細胞が細胞分裂周期から出たり入ったりする決定に、また、細胞の、最終分化状態へのコミットメントによって成される。これらの決定は、細胞によって、細胞外シグナルと他の細胞が受け取る環境からの合図に応じて成される。以下の考察の焦点は、細胞分裂、胚形成、細胞分化および細胞増殖、並びにアポトーシスの分子機序に置かれ、また、これら機序の破壊に起因しうる癌などの病態に置かれている。

40

【0003】

細胞周期

細胞分裂は、全ての生物がこれによって成長し生殖する、基本的プロセスである。酵母菌や細菌などの単細胞生物では、各細胞分裂で生物の数が2倍となる。多細胞の種では、消耗あるいはプログラム細胞死により消失した細胞を置換するために、また新たな組織や器官を作製する細胞分化のために、多数回の細胞分裂が必要とされる。細胞周期の進行は

50

、タンパク質複合体群の複雑な相互作用によって支配される。この調節は、成長因子や他の有糸分裂促進因子(マイトジェン)などの細胞外信号と、DNA損傷または栄養飢餓などの細胞内合図とに応じて細胞周期の進行を制御するタンパク質の、適切な発現に依存する。細胞周期の進行を直接/間接的に調節する分子は、サイクリン、サイクリン依存性プロテインキナーゼ、成長因子とその受容体、セカンドメッセンジャー、シグナル伝達タンパク質、発癌遺伝子産物、腫瘍抑制タンパク質等の複数のカテゴリーに分類される。

【0004】

細胞分裂周期の詳細は異なりうるが、基本的なプロセスは3つの主要な現象からなる。最初の現象である間期には、細胞分裂の準備、DNAの複製、必須タンパク質の作製が含まれる。2番目の現象である有糸分裂では、核物質が分裂して細胞の両側に分離する。最終の現象である細胞質分裂は、細胞質の分配と分裂である。細胞周期移行の順序およびタイミングは、種々のチェックポイント(検問点)で正または負の調節回路によりプロセスを制御する細胞周期調節システムの制御下にある。

10

【0005】

有糸分裂は間期の終了を特徴付け、また細胞質分裂の開始で終了する。有糸分裂には4つの段階があり、次の順番で発生する。前期、中期、後期、終期。前期には二極性紡錘体の形成が含まれ、これは微小管と、ダイニンなどの関連タンパク質から構成されており、形成は極性分裂中心から始まる。中期の間、核物質は凝縮する。また、核物質の、紡錘体への物理的な付着を助ける動原体線維を発達させる。続いて核物質は紡錘体に沿って反対の極へ移動するが、それは後期に起こる。終期には、核物質からの紡錘体と動原体線維の消滅が含まれる。有糸分裂は、多数のタンパク質の相互作用に依存する。例えば、CENP-A、B、C等のセントロメア結合タンパク質は、動原体の形成およびアセンブリにおいて構造的役割を果たしている(Saffery, R. 他(2000) *Human Mol. Gen.* 9: 175-185)。

20

【0006】

真核細胞周期のM期に構造的再編成が起こり、娘細胞間の細胞成分の適切な分配を確保する。間期構造の、より小さなサブユニットへの分解は一般的である。核エンベロープは小胞へ分解し、核ラミンは解離する。次にこれらラミンのリン酸化が起こり、リン酸化は終期まで維持される。終期には、核ラミナ構造が再構成される。M期リン酸化(MPP)をコードするcDNA群はU3核小体低分子リボ核タンパク質(snoRNP)の成分であり、これらcDNAは、有糸分裂が完了すると、核小体に再局在する(Westendorf, J.M. 他(1998) *J. Biol. Chem.* 9:437-449)。U3 snoRNP類は、RNAプロセッシング諸イベントの必須メディエータである。

30

【0007】

細胞プロセス(例えば有糸分裂)の調節に関わるタンパク質としては、Ser/Thrプロテインホスファターゼ1型(PP-1)を含む。PP-1類の作用は、中期-後期移行に関わる、鍵となるタンパク質群の脱リン酸化によって成される。遺伝子PP1R7は調節ポリペプチドsds22をコードし、PP1R7は少なくとも6種のスプライス変異体を持つ(Ceulemans, H. 他(1999) *Eur. J. Biochem.* 262:36-42)。sds22はPP-1類の触媒サブユニットの活性を調節し、有糸分裂基質類の、PP-1依存性脱リン酸化を増進する。

【0008】

細胞周期調節タンパク質類は、細胞増殖と癌とに重要な役割を果たす。例えば、細胞周期イベントの妥当な実行とタイミングとが不全であると、染色体分配欠損をもたらすことがあり、この結果、異数性または倍数性が生じる。このゲノム不安定性は、形質転換した細胞の特徴である(Luca, F.C.及びM. Winey(1998) *Mol. Biol. Cell.* 9:29-46)。最近同定されたタンパク質であるmMOB1は酵母MOB1の哺乳類相合体であり、MOB1は、有糸分裂の完遂と倍数関係の維持とに必要な必須の酵母遺伝子である。哺乳類mMOB1はプロテインホスファターゼ2A(PP2A)を含むタンパク質複合体類のメンバーであり、mMOB1のリン酸化は、PP2Aによって調節されるようである(Moreno, C.S. 他(2001) *J. Biol. Chem.* 276:24253-24260)。PP2Aは、ヒト癌の発症に関わるとされ、これには肺癌、結腸癌、および白血病を含む。

40

【0009】

50

細胞周期の調節には、連続して相互作用する、多数のタンパク質が関わる。真核生物の細胞周期は幾つかの、高度に制御されたイベントからなり、それらイベントの正確な秩序が、DNA複製と細胞分裂との成功を保証する。細胞は、これらイベントの秩序の維持を、後期イベントを早期イベントの成功裏の完了に依存させることによって行う。この依存性は、チェックポイントと呼ばれる細胞機序によって補強される。更なる細胞周期調節タンパク質の例には、ヒストンデアセチラーゼ(HDAC)類を含む。HDAC類は細胞周期の調節に関与する。また、クロマチン構造を調整する。ヒトHDAC1は *in vitro* でヒトHus1遺伝子産物と相互作用することが知られている。この産物の分裂酵母 (*Schizosaccharomyces pombe*) 相同体は、G₂/Mチェックポイント制御に関わると示唆されている(Cai, R.L. 他(2000) J. Biol. Chem. 275:27909-27916)。

10

【0010】

DNA損傷(G₂)とDNA複製(S期)とのチェックポイントは、真核細胞をG₂/M移行期に停止させる。この停止は、有糸分裂に入る前に、DNA修復またはDNA複製が起こるための時間を提供する。したがって、G₂/Mチェックポイントは、DNA複製が完了し、染色体損傷が無いときにのみ、有糸分裂が起こることを保証する。分裂酵母 (*Schizosaccharomyces pombe*) のHus1遺伝子は細胞周期チェックポイント遺伝子であり、radファミリーの遺伝子(例えばrad1およびrad9)も同様である(Volkmer, E. および Karnitz, L.M. (1999) J. Biol. Chem. 274:567-570; Kostrub C.F. 他(1998) EMBO J. 17:2055-2066)。これら遺伝子は有糸分裂チェックポイントに関わる。また、DNA損傷または複製の遮断のいずれかによってこれらの遺伝子が誘導される。DNA損傷または複製遮断の誘発は、Hus1遺伝子の機能の喪失と、続いての細胞死とをもたらす。大多数のrad遺伝子のヒト相同体群が同定されており、これにはATMとATRとを含み、これらはrad3pのヒト相同体である。ATM遺伝子での突然変異群は、重度の先天性疾患である血管拡張性失調症と相関する(Savitsky, K. 他(1995) Science 268:1749-1753)。ヒトHus1タンパク質はrad9と相互作用するrad1タンパク質との複合体の形で作用することが示されており、このことは、これらを、ヒト細胞の、或るDNA損傷応答性タンパク質複合体の中心成分にしている(Volkmerおよび Karnitz、前出)。

20

【0011】

細胞は、サイクリンと呼ばれる活性化タンパク質ファミリーの合成および分解による調節により、有糸分裂に入ったか有糸分裂から出たりする。サイクリンは一群のサイクリン依存性プロテインキナーゼ(Cdk)へ結合し活性化させて作用する。Cdkは次に、有糸分裂プロセスに関与する選択されたタンパク質をリン酸化し活性化する。サイクリンは長さが約180アミノ酸であり、また「サイクリンボックス」と呼ばれる共有相同性の広い領域により特徴付けられる(Chapman, D.L.及びD.J. Wolgemuth (1993) Development 118:229-240)。さらにサイクリンは、「destruction box」と呼ばれる分子のN末端領域で保存された9アミノ酸配列を含む。この配列は、ユビキチンが仲介するサイクリンB分解を誘発する認識コードと思われる(Hunt, T. (1991) Nature 349:100-101)。数タイプのサイクリンが存在する(Ciechanover, A. (1994) Cell 79:13-21)。G₁期とS期との過程は、G₁サイクリン類とその触媒サブユニット群(例えばCdk2-サイクリンA、Cdk2-サイクリンE、Cdk4-サイクリンDおよびCdk6-サイクリンDを含む)によって進行される。G₂/Mの移行は、Cdc2サイクリンA、Cdc2サイクリンB1、Cdc2サイクリンB2複合体等の、有糸分裂CDKサイクリン複合体の活性化によって進行される(Yang, J.及びS. Kornbluth. (1999) Trends in Cell Biology 9:207-210に概説)。

30

40

【0012】

サイクリンは、真核細胞と数種の細菌では、細胞タンパク質の分解の主な経路である、ユビキチン抱合系(ubiquitin conjugation system:UCS)によって分解される。UCSは異常なタンパク質の除去を仲介する。また遺伝子の転写と細胞周期の進行等の細胞過程を制御する重要な調節タンパク質の半減期を調節する。UCSは、有糸分裂サイクリンキナーゼ、オンコプロテイン(腫瘍性タンパク)、腫瘍抑制遺伝子(p53等)、ウイルスタンパク質、シグナル伝達に関係する細胞表面受容体、転写調節因子、および変異タンパク質または損傷タンパク質の分解に関与する(Ciechanover, 前出)。

50

【0013】

ユビキチン抱合とタンパク質分解のプロセスは5つの主要なステップの形で起こる (Jentsch, S. (1992) *Annu. Rev. Genet.* 26:179-207)。第1番目にATP依存性反応で、小さな耐熱性タンパク質であるユビキチン(Ub)がユビキチン活性化酵素(E1)により活性化する。この反応はUbのC末端をE1内部システイン残基のチオール基に結合する。2番目に、活性化したUbがUb抱合酵素(E2)のうちの1つに移る。異なるユビキチン依存性タンパク質分解経路は構造的に類似するが異なるユビキチン抱合酵素を利用し、これら酵素は特定の分解シグナルを運ぶタンパク質に酵素を誘導する認識サブユニット群と会合する。3番目にE2は、C末端グリシンによりユビキチン-タンパク質リガーゼファミリー、E3のメンバーにUb分子を移す。4番目に、E3はUb分子を標的タンパク質に移す。付加的Ub分子が標的タンパク質に追加され多重Ub鎖構造を形成することがある。5番目に、ユビキチン結合したタンパク質が次に、大きな多サブユニットタンパク質分解酵素複合体であるプロテアソームによって認識され分解される。そして再利用のためにUbが放出される。

10

【0014】

活性化の前に、Ubは通常、融合タンパク質(N末端のユビキチンと、C末端延長タンパク質(CEP)で構成)として発現されるか、または、ポリユビキチンタンパク質(Ub単量体群が同じ方向を向いて一列(head to tail)に結合)として発現される。CEP類は種々の調節タンパク質の特徴を持つ。即ち大抵は高度に塩基性であり、最大30%のリジン残基とアルギニン残基とを含み、また、核酸結合ドメインを持つ(Monia, B.P. 他(1989) *J. Biol. Chem.* 264:4093-4103)。この融合タンパク質は重要な中間体であり、細胞の翻訳活性とタンパク質分解活性との同時制御と、非活性酵素の、特異的細胞部位への局在とを仲介するようである。送達されると、C末端加水分解酵素がこの融合タンパク質を切断し、機能的Ubを放出する(Monia他、前出)。

20

【0015】

Ub抱合酵素(E2)は、種々のUCS経路における基質特異性のために重要である。全てのE2は、UBCドメインと呼ばれるおよそ16kDaの保存されたドメインを有する。UBCドメインは全てのE2において少なくとも35%の同一性があり、ユビキチン-酵素チオールエステル形成に必要な、中心に位置するシステイン残基を含む(Jentsch、前出)。良く保存されたプロリンリッチエレメントが、N末端から活性システイン残基に位置する。この保存されたドメイン以外の構造的変異を用いて、E2酵素を分類する。クラスIのE2は、ほぼ例外なく、保存UBCドメインから成る。クラスIIのE2には、基質特異性および細胞局在に寄与する、多様な関連のないC末端延長がある。クラスIIIのE2には、酵素調節または基質特異性に関与すると思われる特有のN末端延長がある。

30

【0016】

有糸分裂サイクリン特異的E2(E2-C)は、保存されたUBCドメイン、他のE2では見出されない30アミノ酸のN末端延長、この延長に隣接する7アミノ酸特異配列により特徴付けられる。サイクリンへのE2-Cの高親和性と共にこれらの特性はE2-Cを、E2の新しいクラスとして同定する(Aristarkhov, A.他(1996) *Proc. Natl. Acad. Sci.* 93:4294-99)。

【0017】

ユビキチン-タンパク質リガーゼ(E3)は、ユビキチン抱合プロセスの最終ステップである基質とのユビキチンの共有結合を触媒する。E3は該プロセスの特異性の決定に重要な役割を果たす。現在のところ同定されているE3はわずかである。E3リガーゼの1つのタイプは、HECT(E6-APのC末端に相同的)ドメインタンパク質ファミリーである。HECTファミリーの1つのメンバーであるE6-AP(E6関連タンパク質)は、ヒト乳頭腫ウイルス(HPV)E6腫瘍性タンパク質と同様に、p53のユビキチン結合と分解のために必要である(Scheffner 他(1993) *Cell* 75:495-505)。HECTタンパク質のC末端ドメインは、高度に保存されたユビキチン結合システイン残基を含む。様々なHECTタンパク質のN末端領域は多様であり、特異的な基質認識に関与すると思われる(Huibregtse, J.M他(1997) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94:3656-3661)。SCF(Skp1-Cdc53/Cullin-Fボックス受容体)ファミリーのタンパク質は、別のグループのユビキチンリガーゼを構成する(Deshaies, R. (1999) *Annu. Rev. Dev. B*

40

50

iol. 15:435-467)。複数のタンパク質がSCF複体内へ動員される。このタンパク質としては、Skp1、cullin(カリン)、および、或るFボックスドメイン含有タンパク質を含む。このFボックス蛋白質はユビキチン結合反応のために基質に結合する。また、基質特異性を決定し、基質を反応のためにその方向を位置付ける役割を果たす可能性がある。Skp1はFボックス蛋白質とカリンとの双方と相互作用する。また、E2酵素からタンパク質基質へのユビキチンの転移のために、Fボックス蛋白質とカリンとを複体内で位置づける過程に関わる可能性がある。SCFリガーゼ類の基質としては、CDK活性の調節、転写の活性化、シグナル伝達、動原体のアセンブリ、およびDNA複製に関わるタンパク質類を含む。

【0018】

Sgt1は、酵母での、Skp1における突然変異に起因する、動原体機能の欠損を抑制する遺伝子のスクリーニングにおいて同定された(Kitagawa, K. 他(1999) Mol. Cell 4:21-33)。Sgt1は、Skp1と相互作用する。また、SCFユビキチンリガーゼと会合する。Sgt1における欠損は、細胞周期のG1期またはG2期の何れかで細胞の停止を引き起こす。或る酵母Sgt1ヌル変異体は、ヒトSgt1によってレスキューされ得る。これは、多くの種にわたってSgt1機能が保存されていることを示す。Sgt1は、酵母での動原体複体のアセンブリに必要である。

【0019】

UCSの異常な活性は、多数の疾患と障害とに関連付けられている。これらには例えば悪液質(Llovera, M. 他(1995) Int. J. Cancer 61: 138-141)、腫瘍抑制タンパク質p53の分解(Ciechanover, 前出)、および、アルツハイマー病に見られるような神経変性(Gregori, L. 他(1994) Biochem. Biophys. Res. Commun. 203: 1731-1738)を含む。ユビキチン抱合は抗原提示の律速段階なので、ユビキチン分解経路はまた、免疫応答において決定的な役割を持つ可能性がある(Grant E.P. 他(1995) J. Immunol. 155: 3750-3758)。数種の細胞増殖障害は、細胞周期中の進行を通常は制御するタンパク質複体の変化により同定され得る。或る初期治療ストラテジーには、細胞周期調節に関与するタンパク質群の操作により、細胞周期進行への制御を再確立することが関係している(Nigg, E.A. (1995) Bio Essays 17:471-480)。

【0020】

胚形成

哺乳類の胚形成プロセスには、受胎後の最初の数週間の発達を含む。この期間に、胚形成は、単一の受精卵から、3種の胚組織の形成へ、次に胚へと進む。この胚は、その殆どの内部器官と、その全ての外的特徴とを持つ。

【0021】

正常なコースの哺乳類胚形成は、多数の遺伝子と組織との、妥当な時間的および空間的な調節に依存する。これらの調節プロセスは、マウスで集中的に研究されている。依然として理解の乏しい或る必須プロセスは、受精後の胚ゲノムの活性化である。マウス卵母細胞が成長するにつれ、卵母細胞は転写物を蓄積する。転写物は、直接にタンパク質へ翻訳されるか、または調節されたポリアデニル化による後の活性化のために貯蔵されるかの何れかである。その後の減数分裂型成熟と排卵との間、母性ゲノムは転写的に不活性であり、殆どの母性転写物は、2細胞期における接合体遺伝子群の活性化に先立ち、またはそれらの活性化と同時に、脱アデニル化および/または分解される(Stutz, A. 他(1998) Gene s Dev. 12:2535-2548)。母性から胚性への移行には、卵母細胞転写物の分解を伴うが接合体転写物の分解は伴わず、また、胚ゲノムの活性化と、早期発達に順応するための細胞周期進行の誘導とを伴う。

【0022】

MATER (Maternal Antigen That Embryos Require: 胚が必要とする母性抗原)は初め、卵巣免疫を持つマウスに由来する抗体群の標的として同定された(Tong, Z-B., および Nelson, L.M. (1999) Endocrinology 140:3720-3726)。MATERをコードする遺伝子の発現は卵母細胞に限られ、この遺伝子を、限られた数の、哺乳類での既知の母性効果遺伝子の1つにしている(Tong, Z-B. 他(2000) Mamm. Genome 11:281-287)。MATERタンパク質は2細胞

から先の胚の発達に必要である。これは、この遺伝子が非活性化されたマウスでの予備結果に基づく。1111アミノ酸のMATERタンパク質内には、或る親水性リピート領域(アミノ末端内)と、或る、14ロイシンリッチリピート群を持つ領域(カルボキシル末端内)とを含む。これらリピートは、タンパク質間相互作用に決定的である、ブタのリボヌクレアーゼ阻害剤に見られる配列に似ている。

【0023】

減数分裂型成熟と排卵との際の母性転写物の分解は、排卵直前のリボヌクレアーゼの活性化に関わる可能性がある。したがって、MATERの機能は、母性リボヌクレアーゼに結合し、接合体転写物の分解を防ぐことである可能性がある(Tong 他、前出)。卵母細胞発達と胚形成における役割に加え、MATERはまた、卵巣免疫の発生機序に関わる可能性がある。理由は、MATERが、自己免疫性卵巣炎を持つマウスにおいて自己抗体の標的であるからである(Tong およびNelson、前出)。

10

【0024】

母性mRNA D7は、アフリカツメガエルでは中程度に豊富な転写物である。その発現は、卵形成と早期胚形成とで最高であり、おそらくこれらの時期に限られる。D7タンパク質は卵母細胞には存在せず、卵母細胞成熟時に初めて蓄積し始める。

【0025】

D7タンパク質レベルは胚の発生の初日に最高であり、その後は減少する。D7タンパク質の喪失はそれ自体、成熟過程に影響を与え、卵割胞崩壊の時間経過を大きく遅らせる。このように、D7は卵母細胞成熟に関わる、新規に記載されたタンパク質である(Smith R.C., 他(1988) Genes Dev. 2(10):1296306)。

20

【0026】

多くの他の遺伝子が、以後の胚形成の諸ステージに関わる。受精後、卵母細胞の誘導が各卵管の遠位端の卵管采によって成され、卵母細胞は卵管に入り、通過し、そして子宮へ誘導される。子宮内膜で諸変化が起こり、受精卵の着床と胚の発達とを支持する準備ができる。幾つかの段階での分割が起きた後、今や約100細胞を持つ胚盤胞となった分割卵が、子宮に入る。子宮に到達すると、発達中の胚盤胞は通常、子宮腔に更に2~4日とどまった後、子宮内膜(子宮の内層)内に着床する。着床は、栄養膜細胞の作用による。栄養膜細胞は、胚盤胞の表面を覆って発達する。栄養膜細胞は、タンパク分解酵素群を分泌し、これら酵素が、内膜の細胞を消化し液化する。侵入プロセスの概説は、Fisher, S.J. およびC.H. Damsky (1993; Semin Cell Biol 4:183-188)並びにGraham, C.H. およびP.K. La la (1992; Biochem Cell Biol 70:867-874)にある。着床が起きると、栄養膜細胞および他の下層細胞は迅速に増殖し、胎盤および、妊娠の種々の膜を形成する(Guyton, A.C. (1991) Textbook of Medical Physiology, 第8版. W.B. Saunders Company, Philadelphia 915-919ページを参照)。

30

【0027】

胎盤は、発達する胎児を保護し養う、必須の役割を持つ。大抵の種では、合胞体栄養細胞層が、胎盤の外側の、胎児-母体インターフェースに在る。これは連続構造で、1細胞の深さを持ち、構成物である栄養膜細胞の融合によって形成される。合胞体栄養細胞は、母体-胎児間交換に、胎児発生時の組織リモデリングに、また、発生時の胎児の、母性免疫応答からの保護において重要な役割を果たす(Stoye, J.P. および Coffin, J.M. (2000) Nature 403:715-717)。

40

【0028】

syncytin(シンシチン)と呼ばれる遺伝子は、ヒトの内因性の欠損性プロウイルスのエンペロープ遺伝子である。syncytinは、高レベルで胎盤に発現し、精巣ではより弱く発現するが、いかなる他の組織にも検出されない(Mi, S. 他(2000) Nature 403:785-789)。胎盤内のsyncytin発現は、合胞体栄養細胞に限定される。レトロウイルスenvタンパク質類はしばしば細胞融合イベント群の促進に関わるので、syncytinは、栄養膜細胞の、合胞体栄養細胞層への融合の調節に関わりうると考えられた。諸実験が示したところでは、syncytinは、細胞融合を *in vitro* で仲介しうる。また、抗syncytin抗体類は、胎盤の細胞性栄養

50

細胞の融合を阻害しうる(Mi 他, 前出)。また、或る保存された免疫抑制ドメインが、レトロウイルスのエンベロープタンパク質群に存在し、syncytinのアミノ酸残基373-397に見られるが、このドメインは、発達する胚に対する母性免疫応答の防止に関わる可能性がある。

【0029】

syncytinはまた、栄養膜侵入性の調節に、栄養膜の融合と最終分化とを誘発することによって関わる可能性がある(Mi、他、前出)。子宮壁の不十分な栄養膜浸潤は、胎盤障害(例えば子癩前症)または妊娠誘発高血圧を伴う。一方、無制御な栄養膜侵入は、絨毛癌およびその他の妊娠性の栄養膜疾患で観察される。このように、syncytin機能は、これら疾患に関わる可能性がある。

10

【0030】

細胞分化

多細胞生物は、各細胞は互いに、その遺伝的資性において類似しているにもかかわらず、構造及び機能が著しく異なる多様な細胞型から構成される。細胞分化のプロセスによって、細胞群は、その構造と生理機能とが異なるようになる。多細胞生物の細胞は全て、単細胞接合体の有糸分裂に起因する。接合体は全能性である。即ち、成体の如何なるタイプの細胞をも生じる能力を持つ。発生中に、接合体の細胞子孫はその全能性を失い、決定されて行く。細胞の予定運命が樹立すると、細胞は分化したと言われる。この細胞の全ての子孫は、同じタイプとなる。

【0031】

ヒトの成長と発達には、細胞増殖、および調節された細胞死と共に、細胞分化の空間的および時間的な調節を要する。これらのプロセスは協調し、生殖、老化、胚形成、形態形成、器官形成、ならびに組織の修復および維持を制御する。細胞分化に関わる諸プロセスはまた、病態(癌など)にも関与する。この場合、正常な細胞分化を調節する因子類が変容しており、癌細胞を未分化または低分化状態で増殖させる。

20

【0032】

分化の機序には転写と翻訳との細胞特異的な調節を伴うので、異なる遺伝子群が、異なる時期に異なる細胞で選択的に発現する。遺伝実験にショウジョウバエ(*Drosophila melanogaster*)を用いて、発生および分化時のパターン形成を制御する転写因子の、調節されたカスケードが同定されている。これらカスケードには、ホメオティック遺伝子群を含む。これら遺伝子は、ホメオボックスモチーフを持つ転写因子群をコードする。ホメオティック遺伝子の産物は、如何にしてこの昆虫の成虫原基が未分化細胞の塊から複雑な器官を持つ特異的な体節へ発達するかを決定する。ショウジョウバエの細胞分化と発達とに関わることが見出された多くの遺伝子は、相同体を哺乳類に有する。数種のヒト遺伝子は、そのショウジョウバエ相同体と等価の発達の役割を持つ。ショウジョウバエeyes absent遺伝子(eya)のヒト相同体はbranchio-oto-renal(鰓弓耳腎)症候群の根底にある。この発達障害は、耳と腎臓とを冒す(Abdelhak, S. 他(1997) Nat. Genet. 15:157-164)。ショウジョウバエslit遺伝子は、分泌性のロイシンリッチリピート含有タンパク質をコードする。このタンパク質は、正中線膠細胞によって発現される。また、正常な神経発生に必要な。

30

40

【0033】

細胞レベルでは、成長と発達との支配は、細胞が細胞周期に入ったり出たりする決定に、また、細胞の、最終分化状態へのコミットメントによって成される。細胞内の分化遺伝子発現は、細胞外シグナルとその他の環境合図へ応答して誘発される。このようなシグナルとしては、成長因子および他の分裂促進因子(例えばレチノイン酸)、細胞間接触および細胞-マトリクス接触、並びに、環境因子(例えば栄養シグナル、毒性物質、および熱ショック)を含む。分化の役割を果たしうる候補遺伝子群の同定は、*in vitro*での細胞分化の誘発時の、変容した発現パターンによって成されうる。

【0034】

細胞分化の最終ステップの結果、特化が生じる。特化の特徴は、特定タンパク質の産生

50

(例えば筋細胞での収縮タンパク、肝細胞での血清タンパク、および、赤血球前駆体でのグロビン)である。これら特化タンパクの発現は、少なくとも部分的に、細胞特異的転写因子群に依存する。例えばホメオボックス含有転写因子PAX-6は、脊椎動物の早期の眼の決定、眼組織の特異化、および、正常な眼の発達に必須である。表皮分化の場合、分化特異的遺伝子群の誘発は、成長停止と共にまたはその後の何れかに起こる。また、不可逆的な成長停止を制御する分子イベント群に関連すると思われる。不可逆的な成長停止という早期イベントは、細胞が、皮膚の基底層から、最深部のsuprabasal layer(基底上層)へ移行し、扁平上皮特異的遺伝子群を発現し始めるときに起きる。これら遺伝子としては、架橋したエンベロープの形成に関わる遺伝子(例えばトランスグルタミナーゼIおよびIII、involucrin(インボルクリン)、loricin(ロリクリン)、および、スモールプロリンリッチリピート(SPRR)タンパク等)を含む。SPRRタンパク類は8~10 kDaの分子量を持ち、プロリン、グルタミン、およびシステインが豊富である。また、類似した反復配列エレメントを持つ。SPRRタンパクは、強い二次構造を持つ構造タンパクであるか、または、金属結合タンパク(メタロチオネインなど)でありうる(Jetten, A.M及びB.L. Harvat (1997) J. Dermatol. 24:711-725、PRINTS Entry PR00021 PRORICH Small proline-rich protein signature)。Wnt遺伝子ファミリーの分泌シグナル分子は、真核細胞全体で高度に保存されている。Wntファミリーのメンバーは、軟骨テンプレート(cartilage template)内の軟骨細胞分化の調節に関わる。Wnt-5a、Wnt-5b、およびWnt-4遺伝子の発現は、ニワトリ四肢の軟骨形成領域で成される。Wnt-5aの発現は、軟骨膜(早期軟骨テンプレートのすぐ周辺の間葉細胞)で成される。Wnt-5a誤発現は、ニワトリ四肢で、軟骨細胞の成熟と、bone collar形成の開始を遅らせる(Hartmann, C. および Tabin, C.J. (2000) Development 127:3141-3159)。

10

20

【0035】

グリピカン(glypicans)は細胞表面へパラン硫酸プロテオグリカンの1ファミリーであり、これらは、細胞成長制御と分化とで重要な役割を果たす。cerebroglycanはヘパラン硫酸プロテオグリカンであって神経系に発現される。これは、発達するニューロンの運動性の挙動に関わる(Stipp, C.S. 他(1994) J. Cell. Biol. 124:149-160)。

【0036】

Notchは膠細胞の分化で活性な役割を果たす。また、神経突起の長さや構成とに影響する(概説は、Frisen, J. および Lendahl, U. (2001) Bioessays 23:3-7を参照)。Notch受容体シグナル経路は、多細胞種での多くの器官および組織の、形態形成と発達とに重要である。ショウジョウバエfringeタンパク質は、翅の成虫原基の背腹境界でのNotchシグナル伝達経路の活性化を調整する。哺乳類fringe関連ファミリーメンバーは、分節時の境界決定に関与する(Johnston, S.H. 他(1997) Development 124:2245-2254)。

30

【0037】

最近、数種のタンパク質に、或る保存されたシステインリッチドメインがあることがわかり、これは約60アミノ酸残基からなり、LIMドメインと呼ばれる(Lin-11、Isl-1、Mec-3に由来)(Freyd G. 他(1990) Nature 344:876-879; Baltz R. 他(1992) Plant Cell 4:1465-1466)。LIMドメインには、7つの保存されたシステイン残基と、1つのヒスチジンとがある。LIMドメインは、2個の亜鉛イオンと結合する(Michelsen J.W. 他(1993) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 90:4404-4408)。LIMはDNAとは結合せず、むしろ、タンパク間相互作用のインターフェースとして作用するようである。

40

【0038】

アポトーシス

アポトーシスは遺伝的に制御されたプロセスであり、これにより、不要なまたは欠陥のある細胞が、プログラム細胞死を迎える。細胞の選択的除去は、形態形成と組織リモデリングにとって、細胞増殖および分化と同じく重要である。アポトーシス不足の結果、過形成その他の、増加した細胞増殖に伴う障害を生じうる。アポトーシスはまた、免疫応答の決定的要素である。免疫細胞(例えば細胞障害性T細胞およびナチュラルキラー細胞)は、腫瘍細胞やウイルス感染細胞にアポトーシスを誘発して、疾患が広がるのを防ぐ。また、

50

自己分子と外来分子とを区別しない免疫細胞は、アポトーシスで除去され自己免疫応答を避ける必要がある。

【0039】

アポトーシス細胞は、明確な形態変化を経る。アポトーシスの特質としては、細胞収縮、核と細胞質との凝縮、および、形質膜トポロジーの変容を含む。生化学的には、アポトーシス細胞の特徴は、増加した細胞内カルシウム濃度、染色体DNAの断片化、および、新規な細胞表面成分の発現である。

【0040】

アポトーシスの分子機序は高度に保存されており、アポトーシスの鍵となる多くのタンパク調節因子およびエフェクターが同定されている。アポトーシスは一般に、細胞内伝達され結果として変容したパターンの遺伝子発現とタンパク活性とを生じるシグナルに応じて進行する。シグナル分子(例えばホルモンやサイトカイン)は、アポトーシスの刺激と阻害との双方を、細胞表面受容体との相互作用を介して行うことが知られる。転写因子もまた、アポトーシスの開始において重要な役割を果たす。多数の下流エフェクター分子(特にプロテアーゼ)が、細胞成分の分解と、他のアポトーシスエフェクター群のタンパク分解活性化とに関連付けられている。

【0041】

Bcl-2ファミリーのタンパク質は、他の細胞質タンパクと同様、アポトーシスの鍵となる調節因子である。少なくとも15種のBcl-2ファミリーメンバーが、3種のサブファミリーに存在する。Bcl-2タンパクは、哺乳類細胞とウイルスとで同定されている。また、各々が、4種のBcl-2相同性ドメイン(BH1~BH4)の少なくとも1つを持つ。これらドメインは高度に保存される。Bcl-2ファミリー蛋白にはBH1およびBH2ドメインが含まれ、これらはプロサバイバル(生存促進)サブファミリーのメンバーに見られるが、Bcl-2に最も似たタンパク類は4種すべての保存ドメインを持ち、種々の細胞障害性の挑戦に遭遇した際のアポトーシスの阻害を可能にしている。プロサバイバルサブファミリーのメンバーとしては、Bcl-2、Bcl-x_L、Bcl-w、Mcl-1、およびA1(哺乳類); NF-13(ニワトリ)、CED-9(線虫 *Caenorhabditis elegans*)、並びにウイルスタンパク質であるBHRF1、LMW5-HL、ORF16、KS-Bcl-2、およびE1B-19Kを含む。BH3ドメインは、プロアポトーシスサブファミリータンパク質の機能に必須である。2種のプロアポトーシスサブファミリーである、BaxとBH3とは各々、Bax、Bak、およびBok(別名Mtd)と、Bik、Blk、Hrk、BNIP3、Bim_L、Bad、Bid、およびEg1-1(*C. elegans*)とを含む。BaxサブファミリーのメンバーはBH1、BH2、およびBH3ドメインを持ち、Bcl-2にかなり良く似ている。一方、BH3サブファミリーのメンバーは9~16残基のBH3ドメインのみを持つ以外は如何なる既知タンパクとも無関係であり、BikとBlkとのみが配列類似性を共有する。2種のプロアポトーシスサブファミリーのタンパク質は、プロサバイバルサブファミリー蛋白のアンタゴニストの可能性もある。この例証は線虫(*C. elegans*)にあり、ここではEg1-1(アポトーシスに必要)が、CED-9に結合し、これを介して作用する(概説はAdams, J.M.およびS. Cory(1998) Science 281:1322-1326を参照)。

【0042】

プロアポトーシスサブファミリー蛋白および抗アポトーシスサブファミリー蛋白の間のヘテロ二量体化は、これらタンパク質サブファミリーの機能ヘタイトレーション的效果を持つようであり、これが示唆するところでは、各サブファミリーのメンバーの相対濃度が作用してアポトーシスを調節する。ヘテロ二量体化はプロサバイバル蛋白には不要だが、BH3サブファミリーには必須であり、Baxサブファミリーにはさほどでない。

【0043】

Bcl-2タンパクは2種のアイソフォーム、 と を持ち、これらは選択的スプライシングによって形成される。Bcl-2はホモ二量体を形成し、また、BaxおよびBakタンパク、並びにBcl-XアイソフォームであるBcl-xとのヘテロ二量体を形成する。Baxとのヘテロ二量体化には無傷のBH1およびBH2ドメインを要する。またこれは、プロサバイバル活性に必要である。BH4ドメインも、プロサバイバル活性に関わるようである。Bcl-2はミトコンドリアの内膜と外膜に局在し、また核エンベロープと小胞体内にも局在し、発現は種々の組織

10

20

30

40

50

で成される。Bcl-2のろ胞性リンパ腫(タイプII慢性リンパ性白血病)での関与が、染色体転座T(14;18)(q32;q21)に見られ、Bcl-2の関与は免疫グロブリン遺伝子領域に関わる。

【0044】

Bcl-xタンパク質は、アポトーシス細胞死の主要な調節因子である。選択的スプライシングの結果、3種のアイソフォームである、Bcl-xB、長いアイソフォーム、および短いアイソフォームを生じる。長いアイソフォームは細胞死抑制作用を示し、短いアイソフォームはアポトーシスを促進する。Bcl-xLはBaxおよびBakとのヘテロ二量体を形成するが、Baxとのヘテロ二量体化は、プロサバイバル(抗アポトーシス)活性に必要ではないらしい。Bcl-xSはBcl-2とのヘテロ二量体を形成する。Bcl-xは、ミトコンドリア膜と、核周囲エンペローブとに見られる。Bcl-xSの高レベルでの発現は、発生中のリンパ球その他の、高速の代謝回転を受けている細胞に見られる。Bcl-xLは、成人の脳に、また、他の組織の、寿命の長い有糸分裂後細胞に見られる。Bcl-2と同様、BH1、BH2およびBH4ドメインは、プロサバイバル活性に関わる。

10

【0045】

Bcl-wタンパクは、殆ど全ての骨髄性細胞系の細胞質に、また多数の組織に見られる。最高の発現レベルは、脳、結腸、および唾液腺に見られる。Bcl-wタンパクは、低レベルでは精巣、肝臓、心臓、胃、骨格筋、および胎盤、並びに少数のリンパ性細胞系において発現される。Bcl-wは、BH1、BH2、およびBH4ドメインを持ち、この全ては、その細胞生存促進活性に必要である。Bcl-w遺伝子機能が相同組換えで破壊されたマウスは生存可能で、健康で、外見が正常であり、成体雌は正常な生殖機能を有したが、成体雄は不妊性であった。これら雄では、精子形成の最初の前思春期段階の大部分は無影響で、精巣は正常に発達した。しかし精細管が無秩序で、多数のアポトーシス細胞を有し、成熟精子を作れなかった。このマウスモデルは、数種のヒト男性不妊に適用できる可能性があり、この示唆するところでは、精巣のプログラム細胞死の改変は、生殖力の調整に有用であり得る(Pri nt, C.G. 他(1998) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95:12424-12431)。

20

【0046】

ラット虚血脳の研究では、Bcl-wが、非虚血脳で正常なレベル(恒常的に低い)で発現されているのに比して、虚血脳で過剰発現されていた。更に、*in vitro*試験でBcl-wの作用機序を実験したところ、単離したラット脳ミトコンドリアは、Bcl-wも存在すると、組換えBaxまたは高濃度のカルシウムの添加に応答不能であった。正常な応答であれば、チトクロムcがミトコンドリアから放出されたであろう。また、組換えBcl-wタンパクは、カルシウム誘発によるミトコンドリア膜電位の喪失を阻害することが見られた。これは、透過性の変化を示す。これらの所見が共に示唆するところでは、Bcl-wは、虚血性神経細胞死に対する神経保護作用を示し、この保護を、ミトコンドリア死亡調節経路を介して達成する(Yan, C. 他(2000) J. Cereb. Blood Flow Metab. 20:620-630)。

30

【0047】

bfl-1遺伝子は、Bcl-2ファミリーの更なるメンバーであり、これもアポトーシスの抑制因子である。Bfl-1タンパクは175アミノ酸を持ち、また、BH1、BH2、およびBH3保存ドメインを持つ。これらドメインはBcl-2ファミリーメンバーに見られる。Bfl-1はまた、GlnリッチなNH2末端領域を持ち、NHドメイン1を欠く。これは他のBcl-2ファミリーメンバーと異なる。マウスA1タンパクは、Bfl-1と高い配列相同性を共有し、Bfl-1に見られる3種の保存ドメインを持つ。p53腫瘍抑制タンパクに誘発されるアポトーシスは、Bfl-1によって抑制される。これは、Bcl-2、Bcl-xL、およびEBV-BHRF1の作用に似る(D'Sa-Eipper, C. 他(1996) Cancer Res. 56:3879-3882)。Bfl-1は細胞内に見られる。最高発現は、造血区画(即ち血液、脾臓、および骨髄)に見られ、中等度の発現は肺、小腸、および精巣で、また最少発現は他の組織に見られる。Bfl-1はまた、血管平滑筋細胞および造血器悪性腫瘍(hematopoietic malignancies)に見られる。bfl-1の発現レベルと、胃癌の発症との間の相関が記述されており、その示唆するところでは、Bfl-1タンパクは、癌細胞生存の促進、または癌で胃癌の発症に関わる。(Choi, S.S. 他(1995) Oncogene 11: 1693-1698)。

40

【0048】

50

癌の特徴は、継続的で無制御な細胞増殖である。数種の癌には、正常なアポトーシス細胞死の抑制を伴う。治療のストラテジーには、細胞周期進行への制御を再確立することや、癌細胞のアポトーシスを選択的に刺激することを含みうる(Nigg, E.A. (1995) *BioEssays* 17:471-480)。癌の免疫防御としては、突然変異細胞での、腫瘍抑制因子によるアポトーシスの誘発と、腫瘍抗原の、Tリンパ球による認識とを含む。分裂促進ストレスへの応答は、しばしば転写のレベルで制御される。また、種々の転写因子によって調整される。例えばRel/NF- κ Bファミリーの脊椎動物転写因子は、放射線への炎症応答および免疫応答で中心的な役割を果たす。NF- κ Bファミリーとしては、p50、p52、RelA、RelB、cRel他のDNA結合タンパクを含む。p52タンパクはアポトーシスを誘発し、転写因子c-Junを上方制御し、c-Jun N末端キナーゼ1 (JNK1)を活性化する(Sun, L. 他(1998) *Gene* 208:157-166) 10

。大抵のNF- κ Bタンパクは、DNA結合ホモ二量体またはヘテロ二量体を形成する。多くの転写因子の二量体化はbZIPドメインとして知られている保存された配列によって媒介される。このbZIPドメインは塩基領域とその後のロイシンジッパーによって特徴付けられる。

【0049】

Fas/Apo-1受容体(FAS)は腫瘍壊死因子(TNF)受容体ファミリーのメンバーである。そのリガンド(Fasリガンド)と結合すると、膜貫通型のFASは、アポトーシスの誘発を、数種の細胞質タンパクを動員して行う。これらタンパクが死のシグナルを伝達する。FAS関連タンパク因子1 (FAF1)と呼ばれる、このようなタンパク質の1つが、マウスから単離された。また、L細胞でのFAF1の発現が、FAS誘発アポトーシスを増強することが示された(Chu, K. 他(1995) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92:11894-11898)。続いて、FAS関連因子群の単離が、多数の他の種(例えばショウジョウバエやウズラ)で成されている(Frohlich, T. 他(1998) *J. Cell Sci.* 111:2353-2363)。Fasからの死のシグナルの伝達で機能する別の細胞質タンパクがFas会合デスドメイン蛋白、略称FADDである。FADDは、死のシグナルを、FAS媒介およびTNFレセプター媒介アポトーシス経路の双方で、カスパーゼ8を活性化して伝達する(Bang, S. 他(2000) *J. Biol. Chem.* 275:36217-36222)。 20

【0050】

染色体DNAの断片化は、アポトーシスの特質の1つである。DNA断片化因子(DFF)タンパクは、2種のサブユニットからなる。40-kDaのカスパーゼ活性化ヌクレアーゼであるDFF40/CADと、その45-kDaの阻害因子であるDFF45/ICADである。DFF45/ICADの2種のマウス相同体であるCIDE-AおよびCIDE-Bが最近、報告されている(Inohara, N. 他(1998) *EMBO J.* 17:2526-2533)。哺乳類細胞でのCIDE-AとCIDE-Bとの発現はアポトーシスを活性化し、CIDE-A単独の発現は、DNA断片化を誘発した。また、FAS媒介アポトーシスは、CIDE-AとCIDE-Bとによって増進された。これは、これらタンパク質を、アポトーシスを媒介するエフェクターとして更に関連付ける。 30

【0051】

転写因子は、アポトーシスの開始において重要な役割を果たす。多数の下流エフェクター分子、特にプロテアーゼ(例えばカスパーゼと呼ばれるシステインプロテアーゼ)が、アポトーシスの開始段階と実行段階に関与している。カスパーゼの活性化は、プロサバイバルおよびプロアポトーシス型Bcl-2関連タンパクの競合作用による(Print, C.G. 他(1998) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95:12424-12431)。プロアポトーシス性シグナルは、タンパク質分解カスパーゼカスケードを引き起こすイニシエーターカスパーゼを活性化でき、標的タンパク質の加水分解と典型的なアポトーシス細胞死に導く。2つの活性部位残基、システインとヒスチジンは、触媒機序に関与すると考えられている。カスパーゼは最も特異的なエンドペプチダーゼの1つで、アスパラギン酸残基の後で切断する。 40

【0052】

カスパーゼは不活性酵素前駆体として合成され、この前駆体は、小さなスペーサー領域によって分離される1つの大きな(p20)サブユニットと1つの小さな(p10)サブユニット、および、可変N末端プロドメインからなる。このプロドメインは、アポトーシスに正または負に影響しうる補助因子と相互作用する。活性化シグナルが、特異的アスパラギン酸 50

残基（カスパーゼ1の番号付け規則ではD297）の自己タンパク質分解切断およびスパーサーとプロドメインの除去を引き起こし、p10/p20ヘテロダイマーを残す。これらのヘテロダイマーの2つが、その小サブユニットを介して相互作用し、触媒的に活性な四量体を形成する。カスパーゼファミリーのいくつかのメンバーの長いプロドメインが、プロカスパーゼの二量体化と自己プロセッシングを促進していることが示されている。幾つかのカスパーゼはそのプロドメインに「デスエフェクタードメイン」を含み、そのプロドメインによって、それらのカスパーゼが、他のカスパーゼおよび、FADDタンパク質会合細胞死受容体（death receptor）との自己活性化複合体に、あるいはTNF受容体複合体に、補充される。さらに、カスパーゼファミリーの異なるメンバーからの2つの二量体が会合して、結果として得る四量体の基質特異性を変えることができる。

10

【0053】

腫瘍壊死因子（TNF）と関連サイトカイン類とは、リンパ系細胞においてアポトーシスを誘発する（概説はNagata, S. (1997) *Cell* 88:355-365）。TNFの、その受容体への結合は、或るシグナル伝達経路の引き金となり、その結果、タンパク質分解のカスパーゼカスケードの活性化が生じる。このようなカスパーゼの1種であるICE（インターロイキン1変換酵素）はシステインプロテアーゼであり、ICEは、ICE自己切断によって産生される、2種の大サブユニットと2種の小サブユニットとからなる（Dinarello, C. A. (1994) *FASEB J.* 8:1314-1325）。ICEは、主に単球に発現する。ICEはサイトカイン前駆体であるインターロイキン1を活性型へ加工し、活性型が、急性炎症および慢性炎症、骨吸収、骨髄性白血病、および他の病理プロセスにおいて中心的役割を果たす。ICEと関連カスパーゼ類とは、形質移入した細胞株内で過剰発現すると、アポトーシスを起こす。

20

【0054】

カスパーゼ補充ドメイン（CARD）は、数種のアピカルカスパーゼ（apical caspases）のプロドメインに見られ、数種のアポトーシス調節分子、例えばApaf-2、RAIDD、および、アポトーシス蛋白の細胞性阻害物質（IAP）で保存されている（Hofmann, K. 他（1997）*Trends Biochem. Sci.* 22:155-157）。アポトーシスでのCARDの調節的役割は、Apaf-1等のタンパク質をカスパーゼ9と会合させることでありうる（Li, P. 他（1997）*Cell* 91:479-489）。骨格筋と心筋との双方で発現する、CARD含有アポトーシス抑制因子（ARC）をコードする或るヒトcDNAが、同定され特徴付けられている。ARCはアポトーシスの阻害因子として機能し、また、カスパーゼと選択的に相互作用する（Koseki, T. 他（1998）*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95:5156-5160）。これら全ての相互作用は、アポトーシスの調整に明らかに影響する（Chan S.L.およびM.P. Mattson（1999）*J. Neurosci. Res.* 58:167-190、Salveson, G.S. および V.M. Dixit（1999）*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96:10964-10967に概説）。

30

【0055】

ES18は、アポトーシスの潜在的調節因子として、マウスT細胞で同定された（Park, E.J. 他（1999）*Nuc. Acid. Res.* 27:1524-1530）。ES18は428アミノ酸の長さであり、N末端プロリンリッチ領域、1つの酸性グルタミン酸リッチドメイン、および、1つの推定LXXLL核レセプター結合モチーフを持つ。ES18タンパクは、リンパ節と胸腺とで優先的に発現する。ES18発現のレベルは、T細胞胸腺腫S49.1では、デキサメタゾン、スタウロスポリン、またはC2セラミド（これらは、アポトーシスを誘発する）での治療に応じて増加する。ES18は、T細胞でのアポトーシス細胞死の刺激で役割を果たす可能性がある。

40

【0056】

ラット腹葉前立腺（RVP）は、ホルモン調節型アポトーシスの研究の或るモデル系である。RVP上皮細胞は、アンドロゲン剥奪に反応してアポトーシスを受ける。アポトーシスRVP内で上方制御されるメッセンジャーRNA（mRNA）転写物群が同定されている（Briehl, M. M. および Miesfeld, R. L. (1991) *Mol. Endocrinol.* 5:1381-1388）。このような転写物の1つはRVP.1をコードする。アポトーシスでのこの正確な役割は決定されていない。RVP.1のヒト相同体であるhRVP1は、このラットタンパク質に89%同一である（Katahira, J. 他（1997）*J. Biol. Chem.* 272:26652-26658）。hRVP1は220アミノ酸の長さであり、4つの

50

膜貫通ドメインを持つ。hRVP1は、肺、腸、および肝臓で高発現される。興味深いことに、hRVP1は、ウェルシュ菌 (*Clostridium perfringens*) のエンテロトキシン(ヒト等の動物での下痢の原因物質)の低親和性レセプターとして機能する。

【0057】

サイトカイン媒介アポトーシスは、造血と免疫応答とにおいて重要な役割を果たす。骨髄性細胞は、マクロファージ、好中球、赤血球など血球の幹細胞前駆体であり、これは、特異的サイトカイン、例えば顆粒球/マクロファージ-コロニー刺激因子(GM-CSF)およびインターロイキン3(IL-3)などに応答して増殖する。GM-CSFまたはIL-3を剥奪すると、骨髄性細胞はアポトーシスを受ける。ネズミ *requiem* (*req*) 遺伝子は、骨髄性細胞株FDCP-1での、このアポトーシス応答に必要な推定転写因子をコードする(Gabig, T. G. 他(1994) *J. Biol. Chem.* 269:29515-29519)。Reqタンパクは371アミノ酸の長さであり、1つの核局在シグナル、1つの単一KruppelタイプZnフィンガー(a single Kruppel-type zinc finger)、1つの酸性ドメイン、および、一群の、4種の独特なZnフィンガーモチーフ(金属結合に関わるシステインおよびヒスチジン残基が豊富)を持つ。*req*の発現は骨髄性特異的でもアポトーシス特異的でもなく、これが示唆するところでは、付加的因子群が、骨髄性細胞アポトーシスでのReq活性を調節する。

【0058】

アポトーシスの調節不全は最近、多くのヒト疾患の発生機序における有意な因子として認識されている。例えば、アポトーシス低下によって生じた過剰な細胞生存は、細胞増殖と免疫応答とに関する諸障害に寄与しうる。これらの障害としては、癌、自己免疫疾患、ウイルス感染、および炎症を含む。一方、アポトーシス増加によって生じた過剰な細胞死は、変性障害および免疫不全症(例えばAIDS、神経変性疾患、および骨髄異形成症候群)をもたらす(Thompson, C.B. (1995) *Science* 267:1456-1462)。

【0059】

アポトーシスの欠陥的調節はまた、アルツハイマー病でのニューロンの喪失に関わる。アルツハイマー病は進行性神経変性障害であり、特徴は、アミロイドペプチドを含有する、老人斑と神経原線維変化との形成である。これらの斑は脳の辺縁皮質と連合皮質とに見られる。これには海馬、側頭皮質、帯状皮質、扁桃、基底核、および青斑核を含む。Bアミロイドペプチドは、アポトーシスを誘発しニューロンの死をもたらすシグナル経路に関わる(Kajkowski, C. 他(2001) *J. Biol. Chem.* 276:18748-18756)。アルツハイマーの病理の早期には、生理変化が帯状皮質で見られる(Minoshima, S. 他(1997) *Annals of Neurology* 42:85-94)。進行したアルツハイマー病の患者では、蓄積する斑が、辺縁領域の神経構造を損傷し、最終的に、記憶プロセスを不自由にする。

【0060】

シグナル伝達は、それによって細胞が細胞外シグナルに応答する、一般的プロセスである。形質膜を越えてのシグナル伝達は、ホルモン、神経伝達物質または成長因子など、シグナル分子が、細胞膜受容体に結合することから開始する。そのようにして活性化された受容体は細胞内の生化学的カスケードを誘発し、このカスケードは、転写因子など細胞内標的分子の活性化で終了する。シグナル伝達のこのプロセスは、細胞増殖、分化及び遺伝子転写を含む、全てのタイプの細胞機能を制御する。

【0061】

癌

癌の特徴は、継続的で無制御な細胞増殖である。数種の癌には、正常なアポトーシス細胞死の抑制を伴う。新形成プロセスの理解は、予後のおよび診断的重要性を持つ分子マーカー群の同定によって補助されうる。癌は、正常な細胞を悪性細胞へ転換しうる腫瘍性タンパク類を伴う。数種の腫瘍性タンパク質は正常タンパク質の突然変異アイソフォームであり、他の腫瘍性タンパク質は、発現の部位または量に関して異常に発現する。正常な細胞増殖は、成長因子が細胞膜上のその受容体へ結合することによって始まる。この結果、シグナル系が活性化し、これが核調節因子を誘導し活性化してDNA転写を開始させ、次に細胞分裂を生じる。細胞周期制御に影響する腫瘍性タンパクのクラスとしては、成長因子

、成長因子受容体、細胞内シグナル伝達因子、核内転写因子、および、細胞周期制御タンパク質を含む。数種の癌特異的遺伝マーカー(例えば腫瘍抗原および腫瘍抑制因子)も同定されている。

【0062】

発癌遺伝子

腫瘍性タンパク質をコードする遺伝子は発癌遺伝子と呼ばれ、これらは、細胞成長および発達を通常は制御する遺伝子に由来する。多くの発癌遺伝子が同定され特徴付けられている。発癌遺伝子としては、成長因子(sis等)、erbA、erbB、neu、ros等の受容体、src、yes、fps、abl、met等の細胞内レセプター、mos、raf等のタンパク質セリン/トレオニンキナーゼ、jun、fos、myc、N-myc、myb、ski、relなどの核転写因子、RB、p53等の細胞周期制御タンパク質、mdm2、Cip1、p16、サイクリンD、ras、set、can、sec、gag R10等の突然変異腫瘍抑制遺伝子がある。

10

【0063】

ウイルス発癌遺伝子は、ヒト細胞が数種のウイルスに感染するとヒトゲノムに組込まれる。ウイルス発癌遺伝子の例としては、v-src、v-abl、およびv-fpsを含む。正常遺伝子の、発癌遺伝子への転換はまた、染色体転座によっても起こりうる。フィラデルフィア染色体は、慢性骨髄性白血病と、或るサブセットの急性リンパ芽球性白血病との特徴であり、これは、9番染色体と22番染色体との間の相互転座の結果である。この転座は、プロトオンコジーンc-ablの或る切り詰められた部分を、22番染色体のブレイクポイント(切断点)クラスター領域(bcr)へ移動させる。ハイブリッドc-abl-bcr遺伝子がコードするキメラタンパク質は、チロシンキナーゼ活性を持つ。慢性骨髄性白血病では、このキメラ蛋白が持つ分子量は210 kdであり、急性白血病では、より活性な180 kdのチロシンキナーゼが形成される(Robbins, S.L. 他(1994) Pathologic Basis of Disease, W.B. Saunders Co., Philadelphia PA)。

20

【0064】

Rasスーパーファミリーの低分子量GTPアーゼは、広範な細胞シグナル経路の調節に関わる。Rasファミリー蛋白は膜結合タンパクであり、分子スイッチとして作用し、GTPとGDPとに結合し、GTPをGDPへ加水分解する。活性なGTP結合状態では、Rasファミリー蛋白は種々の細胞標的と相互作用し、下流シグナル経路を活性化する。例えばRasサブファミリーのメンバーは、受容体チロシンキナーゼ(RTK)から、一連のセリン/トレオニンキナーゼへのシグナル伝達に必須である。セリン/トレオニンキナーゼは細胞成長および分化を制御する。活性化したRas遺伝子は初めにヒトの癌で見出され、続いての研究は、細胞が成長を続けるか、最終分化に至るかの決定にRas機能が重要であることを確認した(Barbacid, M. (1987) *Annu. Rev. Biochem.* 56:779-827, Treisman, R. (1994) *Curr. Opin. Genet. Dev.* 4:96-98)。突然変異Rasタンパク(GTPに結合するが加水分解しないRas)は恒久的に活性化されており、継続的細胞増殖または癌を起こす。

30

【0065】

Rasファミリータンパクの活性化の触媒はグアニンヌクレオチド交換因子(GEF)が行い、GEFは、結合したGDPの解離と、その後のGTPの結合とを触媒する。最近発見されたRalGEF様タンパクであるRGL3は、Rasと近縁タンパクRitの双方と相互作用する。構成的に活性なRitは、Ras同様、癌原性転換を誘発しうるが、Ritは大抵の既知Rasエフェクター蛋白と相互作用しないので、新規な細胞標的が、Rit転換活性に関わる可能性がある。RGL3はRasとRitの双方と相互作用するので、これらタンパク質の下流エフェクターとして作用する可能性がある(Shao, H.およびD.A. Andres(2000) *J. Biol. Chem.* 275:26914-26924)。

40

【0066】

腫瘍抗原

腫瘍抗原は細胞表面分子であり、腫瘍細胞では非腫瘍組織と異なる発現をする。腫瘍抗原は、腫瘍細胞を免疫的に正常細胞と異なるものとし、ヒトの癌での潜在的診断材料である。数種のモノクローナル抗体が、癌細胞と特異的に反応することが同定された(例えばT細胞急性リンパ芽球白血病および神経芽腫)(Minegishi, M. 他(1989) *Leukemia Res.*13:

50

43-51; Takagi 他(1995) *Int. J. Cancer* 61:706-715)。また、HER2遺伝子の、乳腺腫瘍での高レベル発現の発見は、治療処置の開発につながった(Liu, E. 他(1992) *Oncogene* 7: 1027-1032、Kern, J.A. (1993) *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 9:448-454)。腫瘍抗原は細胞表面に見られ、特徴は、膜タンパクまたは糖タンパクであることである。例えばMAGE遺伝子は、自家細胞溶解性Tリンパ球によってメラノーマ細胞表面で認識される、腫瘍抗原ファミリーをコードする。単離された12種のヒトMAGE遺伝子の内、半分は、種々の組織学タイプの腫瘍で差次的に発現される(De Plaen, E. 他(1994) *Immunogenetics* 40:360-369)。しかし、12種のMAGE遺伝子のいずれもが、健常組織では精巣と胎盤と以外では発現されない。

【0067】

腫瘍抑制因子

腫瘍抑制遺伝子の一般的定義は、遺伝エレメントであってその喪失または不活化が、細胞増殖の調節解除と、癌の発生機序と進行とに寄与する要素である。腫瘍抑制遺伝子の正常な機能は、ストレスに応じて細胞成長を制御または阻害し、細胞の増殖寿命を限定することである。数種の腫瘍抑制遺伝子が同定されており、これには網膜芽腫(Rb)タンパク、p53、並びに乳癌1および2タンパク(BRCA1およびBRCA2)をコードする遺伝子を含む。これら遺伝子の突然変異は、数種の癌の発症への、後天性および先天性の遺伝素因と関連する。

10

【0068】

p53の、癌の発生機序における役割は、広範に研究されている(概説はAggarwal, M. L. 他(1998) *J. Biol. Chem.* 273:1-4、Levine, A. (1997) *Cell* 88:323-331)。全てのヒト癌の約50%は、p53遺伝子の突然変異を含む。これら突然変異の結果、機能的p53の不在や、より多くは、過剰発現される欠損型のp53を生じる。p53は転写因子であり、DNA結合に必要な中心コアドメインを持つ。p53での大抵の癌関連突然変異は、このドメインに局在する。正常な増殖細胞では、p53は発現が低レベルであり、迅速に分解される。p53の発現と活性との誘発は、DNA損傷、頓座有糸分裂、その他のストレス性の刺激に応じて起こる。これらの場合、p53はアポトーシスを誘発させ又は、ストレスが除去されるまで細胞成長を停止させる。p53活性の下流エフェクターは、アポトーシス特異的タンパクおよび細胞周期調節タンパク質(例えばRb)、発癌遺伝子産物、サイクリン、および細胞周期依存キナーゼなどを含む。

20

30

【0069】

転移抑制遺伝子であるKAI1(CD82)は、腫瘍抑制遺伝子p53に近縁であるとの報告がある。KAI1は、その発現の低下時に、ヒト前立腺癌の進行、また、おそらく肺癌と乳癌との進行に関わる。KAI1は、構造的に特有な、白血球表面糖タンパク質のファミリーのメンバーをコードする。このファミリーは、膜4回貫通型タンパク質ファミリーまたは膜貫通4スーパーファミリー(TM4SF)として知られる。理由は、このファミリーのメンバーが、形質膜を4回貫通するからである。このファミリーは、内在性膜タンパクからなる。これらはN末端膜アンカードメインを持ち、この機能は、膜アンカーとして、また、タンパク生合成時の移行シグナルとしてのものである。N末端膜アンカードメインは、生合成時に切断されない。TM4SFタンパクは、3つの更なる膜貫通領域群、7個以上の保存システイン残基を持ち、同様のサイズであり(218~284残基)、全てが、大きな細胞外親水性ドメイン(3つの潜在的Nグリコシル化部位を持つ)を有する。プロモーター領域には種々の転写因子の、多くの推定結合モチーフを持ち、5つのAP2部位と、9つのSp1部位を含む。KAI1と7種の他のTM4SFメンバーとの遺伝子構造比較が示すところでは、予測されたタンパクの種々の構造ドメインに関連したスプライス部位が保存されている。これが示唆するところでは、これら遺伝子は進化的に近縁で、遺伝子重複および分岐進化で生じた(Levy, S. 他(1991) *J. Biol. Chem.* 266:14597-14602、Dong, J.T. 他(1995) *Science* 268:884-886、Dong, J.T. 他(1997) *Genomics* 41:25-32)。

40

【0070】

ロイシンリッチ遺伝子グリオーマ不活化(LGI1)タンパクは、受容体および接着タンパク

50

として機能する多数の膜貫通および細胞外タンパクとの相同性を共有する。LGI1は或るLR R(ロイシンリッチリピート含有)遺伝子によってコードされ、10q24にマップする。LGI1は4つのLRR(システインリッチ領域に隣接)と、1つの膜貫通ドメインを持つ(Somerville, R.P. 他(2000) *Mamm.Genome* 11:622-627)。LGI1発現は、主に神経組織、特に脳で見られる。腫瘍抑制作用の喪失は、LGI1タンパクの不活化で見られ、これは、悪性グリオーマの、低から高グレードの腫瘍の移行時に起こる。LGI1発現の、低グレード脳腫瘍での低下と、悪性グリオーマでの発現の顕著な低下または不在とが示唆するところでは、LGI1は、グリア腫瘍進行の診断に用い得る(Chernova, O.B., 他(1998) *Oncogene* 17: 2873-2881)。

【0071】

ST13腫瘍抑制因子の同定は、正常な粘膜組織のcDNAと、結腸直腸癌組織のmRNAとの間のサブトラクションハイブリダイゼーションで、結腸直腸癌に関する因子のスクリーニングで成された(Cao, J. 他(1997) *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 123:447-451)。ST13は、ヒト結腸直腸癌で下方制御される。

10

【0072】

von Hippel-Lindau (フォン・ヒッペル・リンドウ、VHL)腫瘍抑制遺伝子の突然変異は、網膜および中枢神経系の血管芽腫、明細胞腎癌、および褐色細胞腫に関わる(Hoffman, M. 他(2001) *Hum. Mol. Genet.* 10:1019-1027、Kamada, M. (2001) *Cancer Res.* 61:4184-4189)。腫瘍進行は、VHL遺伝子の欠損または不活化に関連付けられる。VHLは、トランスフォーミング成長因子、GLUT-1グルコース輸送体、および血管内皮成長因子の発現を調節する。VHLタンパクは、elongin B、elongin C、Cul2およびRbx1と会合して複合体を形成し、転写アクチベーターである低酸素誘導因子(HIF)を調節する。HIFは血管新生に関わる遺伝子(例えば血管内皮成長因子と血小板由来成長因子B)を誘導する。HIFの制御の喪失はVHLの欠損に起因し、その結果、血管新生ペプチドの過剰な産生を生じる。VHLは、血管新生の阻害、細胞周期制御、フィブロネクチンマトリックスアセンブリ、細胞接着、並びにタンパク分解において役割を果たしうる。

20

【0073】

腫瘍抑制遺伝子の突然変異は多くの癌の一般的特徴であり、しばしば、腫瘍の発生機序と進行との決定的ステップに影響するようである。従ってChang, F. 他(1995; *J. Clin. Oncol.* 13:1009-1022)が示唆するところでは、この遺伝子または、発現するタンパクの抗体を用いて、1)癌のリスクの高い患者のスクリーニング、2)従来の方法で成される診断の補助、および3)個々の癌患者の予後の評価が可能である。また、Hamada, K 他(1996; *Cancer Res.* 56:3047-3054)は、アデノウイルスベクターを介しての、子宮頸癌細胞へのp53の導入を、子宮頸癌の実験的治療として試験中である。

30

【0074】

PRドメイン遺伝子は最近、ヒト腫瘍化で役割を果たすことが認識された。PRドメイン遺伝子は通常、2つのタンパク質産物、つまり、PRドメインを持つPRプラス産物とPRドメインを持たないPRマイナス産物を産生する。癌細胞では、PRプラスは破壊または過剰発現され、PRマイナスは存在または過剰発現する。これら2種のタンパク質の量の不均衡は、悪性腫瘍の重要な一因の様である(Jiang, G.L.および S. Huang(2000) *Histol. Histopathol.* 15:109-117)。

40

【0075】

ヒトにおける多くの腫瘍疾患は、不適切な遺伝子転写によって起こり得る。悪性の細胞成長は、腫瘍促進遺伝子の過剰な発現又は、腫瘍抑制遺伝子の不十分な発現によって起こり得る(Cleary, M. L. (1992) *Cancer Surv.* 15:89-104)。染色体転座によっても、或る遺伝子のコード配列を別の無関係遺伝子の調節領域と融合させる、キメラ座(chimeric loci)が生成され得る。或る重要なクラスの転写調節因子が、Znフィンガー蛋白である。Znフィンガーモチーフは亜鉛イオンに結合する。このモチーフは一般に、周期的に配置されたシステイン残基とヒスチジン残基からなる約30アミノ酸のタンデムリピート群を持つ。この配列パターンの例としては、C2H2タイプ、C4タイプおよびC3HC4タイプ(「RING」フィンガー)のZnフィンガー群、並びにPHDドメインが挙げられる(Lewin, B. (1990) *Ge*

50

nes IV, Oxford University Press, New York, NY, and Cell Press, Cambridge, MA, 55 4-570ページ、Aasland, R., 他.(1995) Trends Biochem. Sci. 20:56-59)。臨床的に関連するZnフィンガータンパク質の一つがWT1であるが、これはウィルムス腫瘍を持つ子供において不活性化されている腫瘍抑制タンパク質である。大細胞リンパ腫で重要な役割を果たすオンコジーンbcl-6もZnフィンガー蛋白質である(Papavassiliou, A.G. (1995) N. Engl. J. Med. 332:45-47)。

【0076】

腫瘍応答タンパク質

癌(別称は新形成)の特徴は、継続的で無制御な細胞増殖である。癌は三つのカテゴリー、つまり、癌、肉腫および白血病に分けられる。癌腫は柔らかい上皮細胞の悪性成長であり、周辺組織を浸潤し、転移性腫瘍を生じうる。肉腫は、上皮起源のものや、結合組織に起因するものがある。白血病は造血組織の進行性悪性疾患であり、特徴は、白血球とその前駆体との増殖であり、骨髄性(顆粒球または単球に由来)或いはリンパ球性(リンパ球に由来)に分類されうる。腫瘍化とは、腫瘍の発端からの成長の進行を指す。悪性細胞は、起源の組織内の正常な細胞に極めて類似のものや、未分化(低分化)なものがある。腫瘍細胞は、核が無いか、1個の大きな多形核を持ちうる。未分化細胞は、無秩序な塊に成長しうる。塊は血管化が乏しく、その結果、大きな領域が虚血壊死となっている。分化した新生物性細胞は、起源の組織と同じタンパク質を分泌しうる。癌は成長し、周辺組織に浸潤し、侵襲し、破壊する。これは、体腔または体表への直接播種によって、リンパ性転移によって、または血行性転移によって成される。癌は、主要な公衆保健の関心事であり続け

10

20

【0077】

癌治療の現行の形態としては、免疫抑制剤の使用を含む(Morisaki, T. 他(2000) Anticancer Res.3363-3373、Georger, B. 他(2001) Cancer Res.61:1527-1532)。細胞シグナリングに関わるタンパク質の同定は、また特に、免疫抑制剤の受容体として作用するタンパク質の同定は、抗腫瘍剤の開発を促進しうる。例えばイムノフィリンは、原核生物と真核生物との双方に見られる保存されたタンパク質の1ファミリーであり、免疫抑制剤に、異なる程度の特異性で結合する。このようなimmunophilicタンパク質の1グループが、ペプチジル-プロリルシス-トランス異性化酵素(EC 5.2.1.8)ファミリー(PPIアーゼ、rotamase)である。初めにブタ腎臓皮質から単離されたこれら酵素は、タンパク折り畳みの加速を、オリゴペプチド内のプロリンイミドペプチド結合のシス-トランス異性化を触媒することによって行う(Fischer, G. および Schmid, F.X. (1990) Biochemistry 29: 2205-2212)。イムノフィリンファミリーには、シクロフィリン(例えばペプチジル-プロリル異性化酵素A、即ちPPIA)とFK結合タンパク(即ちFKBP)とのサブファミリーを含む。シクロフィリンは多機能レセプター蛋白であり、これは、シグナル伝達活性(例えばシクロスポリンが媒介する伝達)に関わる。各ファミリーのPPIアーゼドメインは、種の間で高度に保存される。構造的には異なるが、これら多機能レセプター蛋白は、多数のシグナル伝達系路に関わる。また、折り畳みイベントと輸送イベントとに関連付けられている。

30

40

【0078】

イムノフィリンタンパク質であるシクロフィリンは、免疫抑制剤であるシクロスポリンAと結合する。FKBPは別のイムノフィリンであり、FK506(またはラパマイシン)と結合する。ラパマイシンは免疫抑制剤であり、細胞を成長のG₁期で停止させ、アポトーシスを誘発する。シクロフィリン同様、このマクロライド抗生物質(放線菌(*Streptomyces tsukubaensis*)によって産生される)の作用は、遍在性で主にサイトゾル性のイムノフィリン受容体に結合して成される。これらイムノフィリン/免疫抑制剤複合体(例えばシクロフィリンA/シクロスポリンA(CypA/CsA)、およびFKBP12/FK506)は、その治療成績の達成を、ホスファターゼであるカルシニューリン(カルシウム/カルモジュリン依存性タンパク質キナーゼであり、T細胞活性化に関与)を阻害して行う(Hamilton, G.S. および Steiner, J.P. (

50

1998) *J. Med. Chem.* 41: 5119-5143)。ネズミ fkbp51 遺伝子の豊富な発現は、免疫組織 (例えば胸腺および Tリンパ球) に見られる (Baughman, G. 他 (1995) *Molec. Cell. Biol.* 15: 4395-4402)。FKBP12/ラパマイシン指示型免疫抑制は、TOR(酵母)または FRAP(FKBP12-ラパマイシン会合タンパク、哺乳類細胞内)に結合して起きる。これらはラパマイシンのキナーゼ標的であり、正常な細胞成長パターンの維持に必須である。機能障害性のある TOR シグナル伝達は、種々のヒト疾患 (癌など) に関連付けられている (Metcalfe, S.M. 他 (1997) *Oncogene* 15:1635-1642; Emami, S. 他 (2001) *FASEB J.* 15:351-361)。また、自己免疫にも関連付けられている (Damoiseaux, J.G. 他 (1996) *Transplantation* 62:994-1001)。

【 0 0 7 9 】

数種のシクロフィリンイソ酵素が同定されている。例えばシクロフィリン B、シクロフィリン C、ミトコンドリアのマトリクスシクロフィリン、細菌のサイトゾルおよびペリプラズム PPIアーゼ、並びに、ナチュラルキラー細胞シクロフィリン関連タンパク (シクロフィリン型 PPIアーゼドメインを持ち、推定上の腫瘍認識複合体であり、ナチュラルキラー (NK) 細胞の機能に関与) を含む。これら細胞は、ウイルス感染細胞や癌化細胞を溶解することにより、生得的な細胞免疫応答に関与する。NK 細胞の特異的標的細胞は、主要組織適合複合体 (MHC) クラス I 遺伝子の発現を喪失 (腫瘍化時に一般的に発生) した細胞であり、この標的化によって、細胞に腫瘍成長減弱の可能性を与える。150-kDa の分子の同定が、ヒト NK 細胞の表面で成されている。この分子が持つ或るドメインは、シクロフィリン/ペプチジル-プロリルシス-トランス異性化酵素に高度に相同である。このシクロフィリン型タンパクは、推定上の腫瘍認識複合体である NK 腫瘍認識配列 (NK-TR: NK tumor recognition sequence) の成分でありうる (Anderson, S.K. 他 (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:542-546)。NKTR 腫瘍認識配列は、腫瘍細胞と、大顆粒リンパ球 (LGL) との間の認識を媒介する。LGL は白血球の亜集団であり、活性化した細胞障害性 T 細胞とナチュラルキラー細胞とからなり、腫瘍標的を破壊できる。NKTR 遺伝子のタンパク産物は LGL の表面に見られ、腫瘍標的への結合を促進する。最近、マウス *Nktr* 遺伝子とプロモーター領域とが、9 番染色体に位置づけられた。この遺伝子は、NK 細胞特異的 150-kDa タンパク質 (NK-TR) をコードする。これは、シクロフィリン他の腫瘍応答タンパク質に相同である (Simons-Evelyn, M. 他 (1997) *Genomics* 40:94-100)。

【 0 0 8 0 】

腫瘍化組織と相互作用する他のタンパクとしては、サイトカイン、例えば腫瘍壊死因子 (TNF) を含む。TNF ファミリーのサイトカインの産生はリンパ球とマクロファージとが行い、TNF は、癌化した (腫瘍) 内皮細胞の溶解を生じうる。内皮タンパク 1 (Edp1) が、TNF によって内皮細胞で転写的に活性化されるヒト遺伝子として同定されている。また、TNF 誘導可能 Edp1 遺伝子が、マウスで同定されている (Swift, S. 他 (1998) *Biochim. Biophys. Acta* 1442: 394-398)。

【 0 0 8 1 】

発現プロファイル作成

マイクロアレイは、生体分析で用いられる分析ツールである。マイクロアレイは複数の分子を有し、それらは或る固体支持体の表面で空間的に分布し、その表面と安定して結合している。ポリペプチド、ポリヌクレオチド、そして/あるいは抗体のマイクロアレイが開発されており、その種々の用途には遺伝子シーケンシング、遺伝子発現のモニタリング、遺伝子マッピング、細菌同定、薬剤発見、コンビナトリアルケミストリがある。

【 0 0 8 2 】

特にマイクロアレイの使用として見出された 1 つの分野は、遺伝子発現分析である。アレイ技術は、単一の多型遺伝子の発現や、多数の関連遺伝子または無関係の遺伝子の発現プロファイルを探求する、簡単な方法を提供し得る。単一遺伝子の発現を試験するときには、アレイを用いて、或る特定遺伝子又はその変異体の発現を検出する。発現プロファイルを試験するときには、アレイは次のような遺伝子を同定するプラットフォームを提供する。即ちどの遺伝子が組織特異的か、毒性アッセイにおいてテストされる物質に影響されるか

10

20

30

40

50

、シグナル伝達カスケードの一部であるか、ハウスキーピング機能を実行するか、又は、特定の遺伝的素因や、条件、疾患、又は障害に、特異的に関連する遺伝子であるかの同定である。

【0083】

乳癌

180,000例を超える新規発症の乳癌が毎年診断されており、乳癌による死亡率は45~54歳の女性の全死亡の10%に近い(Gish, K. (1999) AWIS Magazine 28:7-10)。ただし、限局性乳癌の早期診断に基づく生存率は極めて高い(97%)。これに対して、病期が進行し腫瘍が乳房外に進展した場合は22%である。現在の臨床乳癌検診の手法は感度と特異性とを欠いており、乳癌の包括的な遺伝子発現プロファイルを開発する努力がなされている。このプロファイルを従来のスクリーニング法とともに用いれば、乳癌の診断と予後診断とを向上し得る(Perou, C.M. 他(2000) Nature 406:747-752)。BT20は74歳の女性から単離された腫瘍塊の薄切片から遊出した細胞から *in vitro* で得られた乳癌細胞株である。BT474は、60才の女性の乳房の充実性の浸潤性管癌から単離した乳房管癌細胞株である。BT-474は、デスモソーム、微絨毛、ギャップ結合、密着結合(tight junction)等の典型的な上皮細胞構造を示す。この細胞株には、識別し得る微小管、張原繊維、リソソーム、オスミン酸親性分泌顆粒もある。BT483は、家族歴に乳癌がある、正常に生理中の23才の経産の女性の乳頭状浸潤性管腫瘍から単離した乳房管癌細胞株である。BT-483は、デスモソーム、微絨毛、密着結合(tight junction)、ギャップ結合等の特徴的な上皮細胞構造を示す。HS578Tは、乳癌の74才の女性から単離した乳房管癌細胞株である。これらの細胞はいかなる検出し得るエストロゲン受容体を発現しない。また半固形培地でコロニーを形成しない。MCF7は、69才の女性の胸水から単離した非悪性乳腺癌細胞株である。MCF7は、細胞質エストロゲン受容体を介してエストラジオールを処理する能力や培養でドームを形成する能力等の乳腺上皮の特徴を保持している。

10

20

【0084】

HMECは或る正常な提供者から単離した初代乳腺上皮細胞株である。MCF-10Aは乳腺(管腔の特徴:luminal ductal characteristics)細胞株であり、或る36才の乳腺症疾患(fibrocystic breast disease)の女性から単離された。MCF-10Aは、細胞質ケラチン、上皮シアロムチン、乳脂肪小球抗原を発現する。この細胞株はコラーゲンで3次元成長を示し、コンフルエントな培養でドームを形成する。MDA-MB-468は、乳房が転移性腺癌である51才の女性の胸水から単離された乳腺癌細胞株である。MCF7は、69才の女性の胸水から単離した非悪性乳腺癌細胞株である。MCF7は、細胞質エストロゲン受容体を介してエストラジオールを処理する能力や培養でドームを形成する能力等の乳腺上皮の特徴を保持している。T-47Dは54才の浸潤性乳管癌の女性から得た胸水から単離した乳癌細胞株である。Sk-BR-3は、43才の女性の悪性胸水から単離された乳腺癌細胞株である。これはヌードマウスに注入した場合、不十分に分化された腺癌を形成する。BT20は74歳の女性から単離された腫瘍塊の薄切片から遊出した細胞から *in vitro* で得られた乳癌細胞株である。MDA-mb-231は、51才の女性の胸水から単離された乳癌細胞株である。これはヌードマウスおよびALS処理BLA B/cマウスにおいて低分化腺癌を形成する。またWnt3癌遺伝子、EGFおよびTGF-をも発現する。MDA-mb-435Sは、乳房の転移性乳管腺癌の31才女性の胸水からR. Cailleauによって1976年に単離された親株細胞(435)から進化した紡錘状株である。

30

40

【0085】

2種の遺伝子、BRCA1とBRCA2との突然変異が女性乳癌の大きな素因となることが知られており、この変異は親から子へ受け渡されるようである(前出Gish)。しかし、このタイプの遺伝性乳癌はわずかに乳癌の約5%~9%であり、大多数の乳癌の原因は非遺伝性突然変異であり、乳腺上皮細胞での変異である。

【0086】

上皮成長因子(EGF)とその受容体であるEGFRとの発現と、ヒト乳癌との関係は、特に良く研究されている(Khazaie, K. 他(1993) Cancer and Metastasis Rev. 12:255-274とその中の参照文献に、この分野が概説されている)。EGFRの過剰発現、特にエストロゲン受

50

容体の下方制御と結びついた発現は、乳癌患者の不良な予後のマーカーである。また、乳腺腫瘍転移におけるEGFR発現は、しばしば原発腫瘍に比して上昇するので、EGFRが腫瘍の進行と転移とに関わることを示唆している。これを支持する証拠が蓄積されている。それはEGFが、転移の潜在能に関する細胞機能に対する効果を持つという証拠である。この機能とは例えば、細胞運動性、走化性、分泌、および分化である。erbB受容体ファミリー（EGFRはその1つである）の他のメンバーの発現の変化も、乳癌に関わるとされている。erbB受容体（例えばHER-2/neu, HER-3およびHER-4）およびそれらのリガンドの乳癌における豊富さは乳癌の発生機序におけるそれらの機能的な重要性を示しており、したがって乳癌治療の標的を提供しうる(Bacus, S. S. 他(1994) *Am. J. Clin. Pathol.* 102:S13-S24)。別の既知の乳癌マーカーとしては、或るヒトの分泌型frizzledタンパク質の mRNA（乳腺腫瘍では下方調節される）、マトリクスG1aタンパク質（ヒト乳癌細胞で過剰発現）、Drg1すなわちRTP（この遺伝子の発現は結腸腫瘍、乳腺腫瘍、前立腺腫瘍で低下）、maspin（この腫瘍抑制遺伝子は浸潤性乳癌で下方調節）、およびCaN19（S100蛋白ファミリーのメンバーであり、このファミリーは全て、乳癌細胞では正常乳腺上皮細胞に比して下方調節される）を含む(Zhou, Z. 他(1998) *Int. J. Cancer* 78:95-99; Chen, L. 他(1990) *Oncogene* 5:1391-1395; Ulrix, W. 他(1999) *FEBS Lett* 455:23-26; Sager, R. 他(1996) *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 213:51-64; およびLee, S. W. 他(1992) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:2504-2508)。

10

【0087】

種々の病期のヒト乳癌の乳腺上皮細胞に由来する細胞株は、悪性転換と腫瘍進行とのプロセスを研究するのに有用なモデルを提供する。その理由は、これらの細胞株が、その親腫瘍の多くの特性を、長い培養期間にわたり保持することが示されているからである(Wistuba, I. I. 他(1998) *Clin. Cancer Res.* 4:2931-2938)。こうしたモデルが特に有用なのは、ヒト乳腺上皮細胞の表現型と分子との特徴を、悪性転換の種々の病期で比較する場合である。

20

【0088】

大腸癌

結腸直腸癌は米国の癌死亡で二番目に高い。結腸癌は、全症例の90%が55才以上に発症しているため老化に関連している。広く受け入れられている仮説は、いくつかの起因する遺伝子突然変異が長年にわたる罹患により蓄積されることである。結腸直腸癌における遺伝子的変化の本質を理解するために、遺伝性疾患を重視した多くの研究がなされている。最初に知られた遺伝性疾患である、家族性大腸ポリポーシス(FAP)は腺腫性ポリープ症C_{oli}遺伝子(APC)における突然変異によって生じ、そのタンパク質の切断形態または不活性化形態を生じる。この癌抑制遺伝子は染色体の5qにマップされている。二番目によく知られている遺伝性疾患は遺伝性非ポリープ症結腸直腸癌(HNPCC)で、これはミスマッチの修復遺伝子における突然変異によって生じる。

30

【0089】

遺伝性大腸癌の発症率は低く、大部分の結腸直腸癌は散発的であるが、遺伝性疾患の研究から理解されることが一般に適用され得る。例えば、APCにおける体細胞の突然変異は無差別の結腸腫瘍の少なくとも80%に発生する。APCの変異は、疾患における開始事象であると見なされる。続いて他の変異が発生する。約50%の結腸直腸癌はras癌遺伝子における活性化突然変異を有するが、85%はp53における不活性化突然変異を有する。これらの遺伝子における変更は、結腸癌における遺伝子発現の変化につながる。これらの突然変異の下流の標的と、これらが癌の発症と進行において果たす役割についてはあまり理解されていない。

40

【0090】

肺癌

肺癌は、米国男性の癌死の主因であり、女性の癌死の第2の原因である。肺癌症例の大部分は喫煙に起因すると考えられており、第三世界におけるタバコ消費の増加から肺癌の蔓延が予想されている。気管支上皮をタバコの煙に曝露すると組織形態が変化するよう

50

あり、それが癌の前兆であると考えられている。肺癌は、4つの組織病理的に異なる群に分けられる。3群（扁平上皮癌、腺癌、大細胞癌）は、非小細胞肺癌(NSCLC)に分類される。第4群の癌は、小細胞肺癌(SCLC)という。NSCLCを合わせると全症例の約70%になり、SCLCは約18%である。肺癌の発生と進行に関する分子生物学および細胞生物学的理解は不完全である。

【0091】

3番染色体での欠失は肺癌に一般的であり、この領域に腫瘍抑制遺伝子の存在を示すと思われる。K-rasの活性化突然変異は肺癌で一般的に見られ、この疾患の1つのマウスモデルの基礎である。

【0092】

卵巣癌

卵巣癌は、婦人科癌死の主因である。卵巣癌の主なものは上皮細胞から由来しており、上皮卵巣癌の患者の70%は疾患の後期段階にある。結果として、この疾患の長期生存率はとても低い。卵巣癌の早期マーカーを同定できれば、生存率を大きく増加できるであろう。卵巣癌につながる分子的現象は十分理解されていない。わかっている異常のいくつかにはp53の突然変異とミクロサテライトの不安定性がある正常卵巣を卵巣腫瘍と比較すると遺伝子発現パターンが異なっていると考えられるため、これらの組織における遺伝子発現の試験によって卵巣癌のマーカーの可能性のあるものを同定することは、この疾患の特に診断、予後、および治療の向上に関連する。

【0093】

肉腫

最も一般的なタイプの骨癌は骨肉腫であり、これは成長する骨の新しい組織で発達する。軟骨肉腫は、軟骨組織で発生する。別の形態の骨癌であるユーイング肉腫は、骨髄中の未成熟な神経組織で始まる。骨肉腫とユーイング肉腫は子供や青年でより頻繁に発生する傾向があり、軟骨肉腫は成人でより多く発生する。現在、軟部組織肉腫と診断される新たな患者の50%以上がそれにより死亡する。通常、手術が主要な治療である(CancerNet <http://imsdd.meb.unibonn.de/cancernet/600626.html>)。骨肉腫は最も一般的な子供の悪性の骨腫瘍である。現在利用可能な治療法では、約30~40%の非転移性疾患の患者が治療後再発する。現在、再発の危険性が高い患者を予知するために初診時に使用される予後因子が存在しない。非転移性骨肉腫の患者の結果を予知する唯一の有意義な予後因子は、最終的な手術時に切除された原発腫瘍の組織病理学的反応である。

【0094】

C3A細胞

C3A細胞株は、成長での、強力な接触阻害に関して選択された、肝腫瘍の15才男子から単離したHepG2肝臓癌細胞株のクローン誘导体である。クローン集団の使用は、細胞の再現性を強化する。C3A細胞は、インシュリン受容体とインシュリン様成長因子II受容体を発現する。

【0095】

タンジール病

タンジール病(TD)は、扁桃腺、リンパ節、肝臓、脾臓、胸腺、腸等多くの組織での循環HDLのほぼ欠落とコレステロール・エステルの蓄積によって特徴付けられる遺伝病である。低レベルのHDLは早期の冠動脈疾患の明確な予測因子を示し、ホモ接合性TDは対照と比較して4~6倍の心疾患での増加と相関する。HDLの心臓を保護する活性の主要な部分は、コレステロールの逆輸送、組織マクロファージ等の周辺の細胞から血漿リポ蛋白を介する肝臓へのコレステロールの流れにおけるその役割に起因する。HDLタンパク質であるアポリポタンパク質A-Iは、余分なコレステロールとリン脂質を除去するよう細胞表面と相互作用して、この過程において主要な役割を果たす。この経路はTDにおいて重大な障害があり、ATP結合カセット輸送体のファミリー - の1メンバ - であるABC1輸送体とその欠陥はあるが、このABC1輸送体は膜を横切って多様な基質を輸送するためにATP加水分解を利用する。

10

20

30

40

50

【0096】

ジャーカット細胞

ジャーカットは、外的刺激なしに活性的に成長する急性T細胞白血病細胞株である。ジャーカットは、ヒトのT細胞でのシグナル伝達を研究するために広く使用されている。ホルボールミリスチン酸アセテート (PMA) は、プロテインキナーゼC依存性経路の広範な活性化因子である。イオノマイシンはカルシウムが細胞に入れるようにするカルシウムイオノフォアであり、従って細胞質ゾルのカルシウム濃度を増加する。PMAとイオノマイシンの併用によって、環境と相互作用する哺乳類細胞によって使用される主要シグナル伝達経路のうち2つが活性化される。T細胞では、PMAとイオノマイシンの併用が、最適なB細胞活性化中に誘発される二次的シグナル伝達イベントを模倣する。

10

【0097】

ステロイド

ステロイドは、コレステロール、胆汁酸、ビタミンD、ホルモン等の脂質可溶性分子の1クラスであり、シクロペンタヒドロフェナントレン (cyclopentanoperhydrophenanthrene) に基づく共通な4リング構造を共有し、広範囲な機能を実施する。例えば、コレステロールは膜流動性を制御する細胞膜の1成分である。それは脂質を可溶化して、消化中に小腸で吸収を促進する胆汁酸の前駆体でもある。ビタミンDは小腸におけるカルシウムの吸収を調節し、血漿におけるカルシウムの濃度を制御する。副腎皮質、卵巣、精巣によって生成されるステロイドホルモンには、グルココルチコイド、電解質コルチコイド、アンドロゲン、エストロゲンが含まれる。それらは核内の特定の遺伝子の転写を調節する細胞内受容体に結合することにより、多様な生体プロセスを制御する。例えばグルココルチコイドは、肝臓における糖新生の調節により血糖濃度、脂肪組織のリポリシスの促進により脂肪酸の血中濃度を上昇させ、中枢神経内のカテコールアミンへの感度を調節し、炎症を減少する。グルココルチコイドは、薬理量で投与すると炎症および免疫応答を防止または抑制する。コルチコステロイドの抗炎症作用は、リポコルチンと総称されるホスホリパーゼA2抑制タンパク質に関係すると考えられる。逆にリポコルチンは、前駆体分子アラキドン酸の放出を阻害することによりプロスタグランジン、ロイコトリエン等炎症の強力な媒介物の生合成を制御する。ステロイドホルモンは、避妊法、また怪我や関節炎、喘息、自己免疫障害等の疾患での抗炎症治療において広範囲に利用されている。

20

【0098】

デキサメタゾン (DEX) は、抗炎症剤または免疫抑制剤として使用される合成グルココルチコイドである。中枢神経系に到達する強い能力のために、DEXは脳浮腫を制御するために通常選択される療法である。6_β-メチル-17-ヒドロキシプロゲステロンとしても知られるメドロキシプロゲステロン (MAH) は、プロゲステロンよりも約15倍も大きな薬理学的作用を有する合成プロゲステンである。MAHは通常、腎臓癌と子宮内膜癌、無月経、異常子宮出血および、ホルモン失調と関連する子宮内膜症の治療のために使用される。ベクロメタゾンは、ステロイド性喘息の治療、アレルギー性または非アレルギー性(血管運動)鼻炎に伴う症状の軽減、外科切除後の再発鼻ポリープの予防に使われる合成グルココルチコイドである。

30

【0099】

脂肪細胞の成熟化

脂肪組織の主要な機能は、脂肪を摂食時に貯蔵し空腹時に放出する能力である。白色脂肪組織は空腹の際の主なエネルギー貯蔵であり、その貯蔵エネルギーはエネルギー欠乏時に動員される。脂肪組織はインスリンの主要な標的組織の一つであり、脂肪生成とインスリン耐性は、インスリン非依存型真性糖尿病 (NIDDM) であるII型糖尿病に関連する。細胞学的に前脂肪細胞からの成熟脂肪細胞への変換は核の周りへの脂肪小滴の堆積を特徴とする。*in vivo*での転換プロセスは、インシュリン感度を改善し、血清グルコースと血圧を減少するチアゾリジンジオン (thiazolidinediones) と他のPPAR_γ アゴニストにより誘発され得る (Adams 他. (1997) J. Clin. Invest. 100:3149-3153)。

40

【0100】

50

NIDDMは、過敏性の急性期免疫応答を有する個人が正常細胞のシグナル伝達や修復を行うことが出来なくなった結果生じ得ることをPickupとCrook (1998; Diabetologia 41:12-41-8) が示唆している。このプロセスにおける段階は、長期的な生活様式、環境と高度な相関があり、1) インシュリンとサイトカイン産生の高いグルコース刺激、2) 脂肪細胞分化中の組織再構築時の様々なサイトカインの影響およびシグナル伝達経路への作用、3) サイトカインが継続して生成され、細胞外マトリックス成分 (ECM) がリサイクルされず、ホメオスタシスが適時に回復されない時の組織損傷の発生、が含まれる。多くのサイトカインおよびそれらが相互作用する受容体がこの過程に関連していると考えられている。これらのサイトカインには腫瘍壊死因子、結合組織成長因子、トランスフォーミング成長因子、インターロイキン (IL)-13およびその受容体が含まれる。腫瘍壊死因子は、そのインスリン受容体のインスリン刺激性チロシンリン酸化を阻害することによってインスリン耐性に寄与する。これは次に、インスリン受容体が正常なシグナル伝達過程に關与するのを妨げる (Skolnik および Marcusohn (1996) Cytokine Growth Factor Rev 7:161-173; Hotamisligil (1999) J Intern med 245:621-625)。結合組織成長因子は、mesengialマトリックスの集積を仲介する (Murphy 他. (2000) J Biol Chem 274:5830-5834)。トランスフォーミング成長因子は腎臓のmesengial基質の構築を媒介し、重要な細胞内カルシウムチャネルであるイノシトール三リン酸受容体と相互作用して血管機能に作用する (S harma および McGowan (2000) Cytokine Growth Factor Rev 11:115-123)。

10

【 0 1 0 1 】

IL-13およびIL-4は多くの重複する生物学的性質を共有する免疫調節サイトカインである。両者はB細胞の成長を促進し (McKenzie 他 (1993) Proc Natl Acad Sci 90:3735-3739)、生殖細胞系C 転写物の発現を誘発し、そして未刺激のB細胞をIgEおよびIgG4の合成へ転換させる (Punnomen 他. (1993) Proc Natl Acad Sci 90:3730-3734)。同様に、異なるアイソフォームのIL-13およびIL-4受容体は相互作用して、4タイプのIL-13受容体複合物を形成する。或る場合には、IL-13はIL-4受容体-鎖 (R) とIL-13R から成る受容体複合物を利用する。IL-13のシグナル伝達における各々の鎖の特定の役割りは不明であるが、IL-13R 1で形質移入されたBa/F3細胞はIL-13に対して分裂促進的応答を示すが、マウスのIL-13R 2で形質移入された細胞は分裂促進的応答を示さない。さらに、可溶性IL-13R 2/Fc融合タンパク質はIL-13への分裂促進応答を阻害する (Donaldson 他. (1998) J Immunol 161:2317-2324)。これは、IL-13R 2がIL-13のドミナントネガティブ阻害因子として、あるいは、デコイ受容体として働き得ることを示唆する。しかし、結腸癌細胞系では、受容体複合体はインスリン受容体基質-1のチロシンリン酸化と関連する増殖抑制を示した。1)受容体複合体のどのアイソフォームが細胞増殖を促進し、どのアイソフォームが細胞増殖を阻害するか、また2)これが細胞タイプや、組織タイプによって変化するかどうかを確立するために、さらに研究を進める必要があることは明らかである。

20

30

【 0 1 0 2 】

ほとんどの脂肪細胞の研究はマウス細胞株を用いて行われている。しかし、最近では、マウスの前脂肪細胞分化を刺激する培養条件はヒト前脂肪細胞を誘発する条件と異なることが示されている。既に知られているこれらの種属間の遺伝的相違に加えて、2倍体のヒト初代細胞は異数体のマウス細胞とは異なった応答をする。

40

【 0 1 0 3 】

前立腺癌

前立腺癌は多段階の進行を通じて発達し、最終的に攻撃的な腫瘍表現型を生じる。腫瘍進行の初期段階には、正常な管腔細胞および/または基底上皮細胞の過剰増殖が関係する。アンドロゲン応答性細胞は過形成し、初期段階の腫瘍に発展する。初期段階の腫瘍はしばしばアンドロゲンに対して感受性がありアンドロゲン除去療法に反応するが、アンドロゲン非依存性細胞の集団が過形成集団から発展する。これらの細胞は、浸襲性となり、また骨、脳、または肺に転移する可能性がある前立腺腫瘍のより進んだ形態を表す。

【 0 1 0 4 】

子宮内膜癌

50

子宮内膜癌は最も一般的な婦人科癌である。子宮内膜癌の約90%は起源が上皮であり、これらの癌の90%が子宮内膜腺癌に分類される。エストロゲンは、子宮内膜組織において腫瘍プロモータとして作用すると思われる。証拠はp53とKi-rasが子宮内膜癌で突然変異していることを示唆する。しかしながら、これらの突然変異は症例の少ない割合で発生し、疾患の開始事象であるようには思われない。さらに、ほとんどの染色体は子宮内膜癌において対立遺伝子欠損の領域を含み、多くの遺伝子がこの疾患で影響を受け得ることを示唆する。

【0105】

マイクロアレイ分析の生物薬理学的ツール

ヒト臍静脈内皮細胞 (HUVEC) はヒト臍静脈の内皮から由来する初代細胞株である。HUVEC はヒト内皮細胞の *in vitro* で機能的生物学を研究するために使われている。血管緊張制御、凝固および血栓症、アテローム性動脈硬化症および炎症などの生理学的、病態生理学的過程において血管内皮の活性化が観察される。

【0106】

腫瘍壊死因子 (TNF-) は、多面作用をもつサイトカインであり、複数のシグナル伝達経路の活性化により炎症応答の仲介において中心的な役割を果たす。TNF- は、活性化したリンパ球、マクロファージ、および他の白血球細胞により生成され、内皮細胞を活性化する。

【0107】

PMAはプロテインキナーゼC (PKC) のアゴニストである。PKCは、カルシウム活性化のリン脂質依存性セリンおよびトレオニン特異的キナーゼであり、活性化されると広範囲な二次標的をリン酸化する。TNF- は、サイトソルから膜へのPKCの移動を引き起こし、膜でPKCは多様な標的をリン酸化する。

【0108】

インターロイキン1 (IL-1) は急性炎症反応と関連するサイトカインであり、発熱誘導、代謝調節、骨リモデリング等のプロセスにおいて役割を果たす。免疫系の細胞 (単球、樹状細胞、NK細胞、血小板、好中球) および体細胞 (骨芽細胞、ニューロン、シュワン細胞、希突起膠細胞、副腎皮質細胞) の両者が、IL-1 を生成することができる。IL-1 は、単球での自らの産生、内皮細胞において接着分子とケモカインの産生を、またIL-12と共にNK細胞によってインターフェロン (IFN-) の生成を誘発することができる。IL-1は単鎖の前駆体分子として産生され、その機能を獲得するために特殊なプロテアーゼであるIL-1変換酵素 (ICE) によって切断される必要がある。インターロイキン10 (IL-10) はCD4+ T細胞クローンといくつかのCD8+ T細胞クローンによって産生される。ヒトB細胞、EBV形質転換リンパ芽球腫細胞系および単球もまた活性化されるとIL-10を産生し得る。IL-10は種々の細胞タイプに免疫刺激的作用か、または免疫抑制的作用のどちらかの作用を及ぼす多面的サイトカインである。IL-10は、マクロファージ機能の強力な免疫抑制薬である。*in vitro* で、IL-10は、数ある他の効果の中でクラスII MHC発現を下方制御することにより、単球のアクセサリー機能と抗原提示能力を阻害することができる。よって、IL-10は、ヒトTh0-、Th1-、Th2-様T細胞の他にも、単球/マクロファージ依存性の、マウスTh1クローンの抗原特異的増殖を阻害する。IL-10はまた、ヒトPBMNC およびNKによる単球/マクロファージ依存性、抗原刺激性サイトカイン合成 (特にIFN-g) をも阻害することができる。さらに、IL-10 は、単球またはマクロファージの活性およびその結果生じる細胞毒性作用の強力なインヒビターである。これはTNF-、IL-1、IL-6およびIL-10などの多くのサイトカインの産生を抑制し、また活性化単球/マクロファージによるスーパーオキシドアニオン、活性酸素反応中間体および活性窒素反応中間体の合成を抑制することができる。IL-10は免疫刺激性サイトカインとしてB細胞に作用して、B細胞の生存度、細胞増殖、Ig分泌およびクラスII MHCの発現を亢進し得る。Bリンパ球の他に、IL-10はまた、細胞毒性T細胞発生のエンハンサーであるとともに、胸腺細胞および肥満細胞の増殖共刺激物質でもある。

【0109】

チアゾリジンジオンまたはペルオキシソーム増殖因子活性化受容体 (PPAR) アゴニストは、II型糖尿病を患う患者のインシュリン感度を改善し、血清グルコースと血圧を減少する抗糖尿病薬の新規のクラスである。これらの薬剤はオーファン核受容体に結合し、活性化し、これらの中のいくつかはヒト脂肪細胞分化を誘発し得る。

【0110】

癌などの細胞増殖異常、発生または発達障害、神経疾患、自己免疫/炎症性疾患、生殖器官疾患、および胎盤の障害の診断・治療・予防のために核酸およびタンパク質を含めた新規の組成物が必要である。

【発明の開示】

【発明の効果】

【0111】

本発明の様々な実施形態は、総称して「CGDD」、個別にはそれぞれ「CGDD-1」「CGDD-2」「CGDD-3」「CGDD-4」「CGDD-5」「CGDD-6」「CGDD-7」「CGDD-8」「CGDD-9」「CGDD-10」「CGDD-11」「CGDD-12」「CGDD-13」「CGDD-14」「CGDD-15」「CGDD-16」「CGDD-17」「CGDD-18」「CGDD-19」「CGDD-20」「CGDD-21」「CGDD-22」「CGDD-23」「CGDD-24」「CGDD-25」「CGDD-26」「CGDD-27」「CGDD-28」「CGDD-29」「CGDD-30」「CGDD-31」「CGDD-32」「CGDD-33」「CGDD-34」「CGDD-35」「CGDD-36」「CGDD-37」「CGDD-38」「CGDD-39」「CGDD-40」「CGDD-41」「CGDD-42」「CGDD-43」「CGDD-44」「CGDD-45」「CGDD-46」「CGDD-47」「CGDD-48」「CGDD-49」「CGDD-50」「CGDD-51」「CGDD-52」「CGDD-53」「CGDD-54」「CGDD-55」「CGDD-56」「CGDD-57」と呼ぶ細胞の成長、分化、細胞死と関連するタンパク質である精製されたポリペプチドを提供するとともに、疾患と医学的状況の検出、診断、治療のためのこれらのタンパク質を利用する、及びポリヌクレオチドをコードする方法を提供する。実施例はまた、効力、用量、毒性および薬理の決定などの薬物開発過程に利用するために、細胞成長、分化および細胞死に関連する精製されたタンパク質および/またはそれらのコードするポリヌクレオチドを利用する方法をも提供する。関連する実施例によって、疾患および病態の調査および病原性を調べるために精製された、細胞成長、分化および細胞死関連タンパク質またはそれらのコードするポリヌクレオチドを利用する方法を提供する。

【0112】

或る実施形態は、(a)SEQ ID NO:1-57からなる群から選択されたアミノ酸配列を含むポリペプチドと、(b)SEQ ID NO:1-57からなる群から選択されたアミノ酸配列と90%以上同一であるあるいは少なくとも約90%同一である天然のアミノ酸配列を含むポリペプチドと、(c)SEQ ID NO:1-57からなる群から選択されたアミノ酸配列を有するポリペプチドの生物学的活性断片と、(d)SEQ ID NO:1-57とからなる群から選択されたアミノ酸配列を有するポリペプチドの免疫原性断片とで構成される群から選択された単離したポリペプチドを提供する。別の実施形態は、SEQ ID NO:1-57のアミノ酸配列を含む単離したポリペプチドを提供する。

【0113】

また別の実施形態は(a)SEQ ID NO:1-57からなる群から選択した或るアミノ酸配列を持つポリペプチド、(b)SEQ ID NO:1-57からなる群から選択した或るアミノ酸配列との少なくとも90%の同一性を持つ或る天然アミノ酸配列を有するポリペプチド、(c)SEQ ID NO:1-57からなる群から選択した或るアミノ酸配列を持つポリペプチドの生物学的活性断片、または(d)SEQ ID NO:1-57からなる群から選択した或るアミノ酸配列を持つポリヌクレオチドの免疫原性断片、からなる群から選択した或るポリペプチドをコードする、単離されたポリヌクレオチドを提供する。一実施形態では、該ポリヌクレオチドは、SEQ ID NO:1-57からなる群から選択した或るポリペプチドをコードする。別の実施形態では、ポリヌクレオチドはSEQ ID NO:58-114からなる群から選択される。

【0114】

更に別の実施形態は、(a)SEQ ID NO:1-57からなる群から選択したアミノ酸配列を含む

10

20

30

40

50

ポリペプチド、(b)SEQ ID NO:1-57からなる群から選択したアミノ酸配列と少なくとも90%同一であるあるいは少なくとも約90%同一である天然のアミノ酸配列を含むポリペプチド、(c)SEQ ID NO:1-57からなる群から選択したアミノ酸配列を有するポリペプチドの生物学的活性断片、または(d)SEQ ID NO:1-57からなる群から選択したアミノ酸配列を有するポリペプチドの免疫原性断片、からなる群から選択されたポリペプチドをコードするポリヌクレオチドと機能的に連結したプロモーター配列を含む組換えポリヌクレオチドを提供する。別の実施態様では、本発明は組換えポリヌクレオチドを用いて形質転換した細胞を提供する。しかし別の実施態様は、組換えポリヌクレオチドを含む遺伝形質転換生物体を提供する。

【0115】

別の実施態様は、(a)SEQ ID NO:1-57からなる群から選択したアミノ酸配列を含むポリペプチド、(b)SEQ ID NO:1-57からなる群から選択したアミノ酸配列と少なくとも90%同一であるあるいは少なくとも約90%同一である天然のアミノ酸配列を含むポリペプチド、(c)SEQ ID NO:1-57からなる群から選択したアミノ酸配列を有するポリペプチドの生物学的活性断片、または(d)SEQ ID NO:1-57からなる群から選択したアミノ酸配列を有するポリペプチドの免疫原性断片、からなる群から選択したポリペプチドを製造する方法を提供する。製造方法は、(a)組換えポリヌクレオチドを用いて形質転換した細胞をポリペプチドの発現に適した条件下で培養する過程と、(b)そのように発現したポリペプチドを受容する過程とを有し、組換えポリヌクレオチドはポリペプチドをコードするポリヌクレオチドに機能的に結合したプロモーター配列を有する。

【0116】

更に別の実施態様は、(a)SEQ ID NO:1-57からなる群から選択したアミノ酸配列を含むポリペプチド、(b)SEQ ID NO:1-57からなる群から選択したアミノ酸配列と少なくとも90%同一であるあるいは少なくとも約90%同一である天然のアミノ酸配列を含むポリペプチド、(c)SEQ ID NO:1-57からなる群から選択したアミノ酸配列を有するポリペプチドの生物学的活性断片、または(d)SEQ ID NO:1-57からなる群から選択したアミノ酸配列を有するポリペプチドの免疫原性断片、から構成される群から選択されたポリペプチドに特異結合するような単離された抗体を提供する。

【0117】

また更に別の実施態様は、(a)SEQ ID NO:58-114からなる群から選択したポリヌクレオチド配列を持つポリヌクレオチド、(b)SEQ ID NO:58-114からなる群から選択した或るポリヌクレオチド配列との少なくとも90%の同一性を有する或る天然ポリヌクレオチド配列を持つポリヌクレオチド、(c)(a)に相補的なポリヌクレオチド、(d)(b)に相補的なポリヌクレオチド、および(e)(a)~(d)のRNA等価物、からなる群から選択した、単離されたポリヌクレオチドを提供する。別の実施態様では、ポリヌクレオチドは少なくとも20、30、40、60、80、あるいは100の連続したヌクレオチドを含むことができる。

【0118】

また別の実施態様は、サンプル中の標的ポリヌクレオチドを検出する方法を提供する。ここで標的ポリヌクレオチドは、(a)SEQ ID NO:58-114からなる群から選択したポリヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド、(b)SEQ ID NO:58-114からなる群から選択したポリヌクレオチド配列と少なくとも90%同一であるあるいは少なくとも約90%同一である天然のポリヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド、(c)(a)のポリヌクレオチドに相補的なポリヌクレオチド、(d)(b)のポリヌクレオチドに相補的なポリヌクレオチド、および(e)(a)~(d)のRNA等価物、からなる群から選択される。検出方法は、(a)サンプル中の上記標的ポリヌクレオチドに相補的な或る配列からなる少なくとも20の連続したヌクレオチド群からなる或るプローブを用いて該サンプルをハイブリダイズする過程と、(b)該ハイブリダイゼーション複合体の有無を検出する過程を含む。該プローブと該標的ポリヌクレオチドあるいはその断片との間でハイブリダイゼーション複合体が形成されるような条件下で、プローブは、該標的ポリヌクレオチドに対し特異的にハイブリダイズする。関連する或る実施態様では、方法にはハイブリダイゼーション複合体の量を検出する

10

20

30

40

50

ことが含まれ得る。別の実施様態では、プローブは少なくとも約20、30、40、60、80、あるいは100の連続したヌクレオチドを含むことができる。

【0119】

更にまた別の実施様態は、サンプル中の標的ポリヌクレオチドを検出する方法を提供する。ここで標的ポリヌクレオチドは、(a)SEQ ID NO: 58-114からなる群から選択したポリヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド、(b)SEQ ID NO: 58-114からなる群から選択したポリヌクレオチド配列と少なくとも90%同一であるあるいは少なくとも約90%同一である天然のポリヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド、(c)(a)のポリヌクレオチドに相補的なポリヌクレオチド、(d)(b)のポリヌクレオチドに相補的なポリヌクレオチド、および(e)(a)~(d)のRNA等価物、からなる群から選択される。検出方法は、(a)ポリメラーゼ連鎖反応増幅を用いて標的ポリヌクレオチドまたはその断片を増幅する過程と、(b)増幅した標的ポリヌクレオチドまたはその断片の存在・不存在を検出する過程を含む。関連する或る実施様態では、検出方法には増幅した標的ポリヌクレオチドまたはその断片の量を検出することが含まれ得る。

10

【0120】

別の実施様態は、有効量のポリペプチドと薬剤として許容できる賦形剤とを含む成分を提供する。有効量のポリペプチドは、(a)SEQ ID NO:1-57からなる群から選択したアミノ酸配列を含むポリペプチド、(b)SEQ ID NO:1-57からなる群から選択したアミノ酸配列と少なくとも90%同一であるあるいは少なくとも約90%同一である天然のアミノ酸配列を含むポリペプチド、(c)SEQ ID NO:1-57からなる群から選択したアミノ酸配列を有するポリペプチドの生物学的活性断片、または(d)SEQ ID NO:1-57からなる群から選択したアミノ酸配列を有するポリペプチドの免疫原性断片、からなる群れから選択される。一実施様態では、この組成物はSEQ ID NO:1-57からなる一群から選択されたアミノ酸配列を有し得る。別の実施様態は、機能的CGDDの発現の低下や異常に関連した疾患や症状の治療方法や、そのような治療を必要とする患者にこの組成物を投与することを含む方法を提供する。

20

【0121】

また別の実施様態は、(a)SEQ ID NO:1-57からなる群から選択したアミノ酸配列を含むポリペプチド、(b)SEQ ID NO:1-57からなる群から選択したアミノ酸配列と少なくとも90%同一であるあるいは少なくとも約90%同一である天然のアミノ酸配列を含むポリペプチド、(c)SEQ ID NO:1-57からなる群から選択したアミノ酸配列を有するポリペプチドの生物学的活性断片、または(d)SEQ ID NO:1-57からなる群から選択したアミノ酸配列を有するポリペプチドの免疫原性断片、からなる群から選択したポリペプチドのアゴニストとしての有効性を確認するために、或る化合物をスクリーニングする方法を提供する。スクリーニング方法は、(a)該ポリペプチドを含むサンプルを或る化合物に曝す過程と、(b)サンプル中のアゴニスト活性を検出する過程からなる。別の実施様態は、この方法で同定したアゴニスト化合物と許容される医薬用賦形剤を含む、或る組成物を提供する。更なる別の実施様態では、本発明は、機能的CGDDの発現の低下を伴う疾患や症状の治療をする方法やそのような治療を必と要する患者へのこの組成物の投与方法を提供する。

30

【0122】

さらにまた別の実施様態は、(a)SEQ ID NO:1-57からなる群から選択したアミノ酸配列を含むポリペプチド、(b)SEQ ID NO:1-57からなる群から選択したアミノ酸配列と少なくとも90%同一であるあるいは少なくとも約90%同一である天然のアミノ酸配列を含むポリペプチド、(c)SEQ ID NO:1-57からなる群から選択したアミノ酸配列を有するポリペプチドの生物学的活性断片、または(d)SEQ ID NO:1-57からなる群から選択したアミノ酸配列を有するポリペプチドの免疫原性断片、からなる群から選択したポリペプチドのアンタゴニストとしての有効性を確認するために、或る化合物をスクリーニングする方法を提供する。スクリーニング方法は、(a)該ポリペプチドを含むサンプルを或る化合物に曝す過程と、(b)サンプル中のアンタゴニスト活性を検出する過程からなる。別の実施様態は、この方法で同定したアンタゴニスト化合物と許容される医薬用賦形剤を含む、或る組成物を提供する。更に他の実施例は、機能的CGDDの過剰発現に関連した疾患や症状の治療方法

40

50

を提供し、また、そのような治療を必要とする患者にこの組成物を投与することが含まれる。

【0123】

別の実施様態は、(a)SEQ ID NO:1-57からなる群から選択したアミノ酸配列を含むポリペプチド、(b)SEQ ID NO:1-57からなる群から選択したアミノ酸配列と少なくとも90%の同一性あるいは少なくとも約90%の同一性を有する天然のアミノ酸配列を含むポリペプチド、(c)SEQ ID NO:1-57からなる群から選択したアミノ酸配列を有するポリペプチドの生物学的活性断片、または(d)SEQ ID NO:1-57からなる群から選択したアミノ酸配列を有するポリペプチドの免疫原性断片を含む群から選択されたポリペプチドに特異結合する化合物をスクリーニングする方法を提供する。スクリーニング方法は、(a)ポリペプチドを適切な条件下で少なくとも1つの試験化合物と混合させる過程と、(b)試験化合物とのポリペプチドの結合を検出し、それによってポリペプチドに特異結合する化合物を同定する過程とを含む。

10

【0124】

また別の実施様態は、(a)SEQ ID NO:1-57からなる群から選択した或るアミノ酸配列を含むポリペプチド、(b)SEQ ID NO:1-57からなる群から選択したアミノ酸配列との少なくとも90%または少なくとも約90%の同一性を有する或る天然アミノ酸配列を含むポリペプチド、(c)SEQ ID NO:1-57からなる群から選択した或るアミノ酸配列を有するポリペプチドの生物学的活性断片、および(d)SEQ ID NO:1-57からなる群から選択した或るアミノ酸配列を有するポリペプチドの免疫原性断片、からなる群から選択した或るポリペプチドの活性をモジュレートする或る化合物をスクリーニングする方法を提供する。スクリーニング方法は、(a)該ポリペプチドの活性を許容し得る条件下で、該ポリペプチドを少なくとも1つの試験化合物と混合する過程と、(b)該ポリペプチドの活性をこの試験化合物の存在下で算定する過程と、(c)この試験化合物の存在下での該ポリペプチドの活性をこの試験化合物の不存在下での該ポリペプチドの活性と比較する過程からなり、この試験化合物の存在下での該ポリペプチドの活性の変化は、該ポリペプチドの活性をモジュレートする化合物を標示する。

20

【0125】

更に別の実施様態は、SEQ ID NO:58-114からなる群から選択した或るポリヌクレオチド配列を含む標的ポリヌクレオチドの発現を改変する効果につき、或る化合物をスクリーニングする一方法を提供する。この方法は、(a)この標的ポリヌクレオチドを含むサンプルを或る化合物に曝露する過程と、(b)この標的ポリヌクレオチドの発現の改変を検出する過程と、(c)可変量のこの化合物の存在下でのこの標的ポリヌクレオチドの発現と、この化合物の不在下での発現とを比較する過程とからなる。

30

【0126】

別の実施様態は、試験化合物の毒性の算定方法を提供する。この方法には、以下の過程がある。(a)核酸を有する生体サンプルを試験化合物で処理する過程、(b)処理済み生体サンプルの核酸をハイブリダイズする過程。この過程には、次のようなプローブを用いる。(i)SEQ ID NO:58-114からなる群から選択した或るポリヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド、(ii)SEQ ID NO:58-114からなる群から選択した或るポリヌクレオチド配列との少なくとも90%の同一性であるあるいは少なくとも約90%同一である天然ポリヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド、(iii)(i)に相補的な配列を有するポリヌクレオチド、(iv)(ii)のポリヌクレオチドに相補的なポリヌクレオチド、(v)(i)~(iv)のRNA等価物、からなる群から選択した或るポリヌクレオチドの少なくとも20の連続したヌクレオチド群からなるプローブである。ハイブリダイゼーションは、上記プローブと生体サンプル中の標的ポリヌクレオチドとの間に特異的ハイブリダイゼーション複合体が形成されるような条件下で生じる。上記標的ポリヌクレオチドは、(i)SEQ ID NO:58-114からなる群から選択した或るポリヌクレオチド配列を持つポリヌクレオチド、(ii)SEQ ID NO:58-114からなる群から選択した或るポリヌクレオチド配列との少なくとも90%または少なくとも約90%の同一性を有する天然ポリヌクレオチド配列を持つポリヌクレオチド、(iii)(i)のポリヌ

40

50

クレオチドに相補的なポリヌクレオチド、(iv)(ii)のポリヌクレオチドに相補的なポリヌクレオチド、(v)(i)~(iv)のRNA等価物、からなる群から選択する。あるいは標的ポリヌクレオチドは、上記(i)~(v)からなる群から選択したポリヌクレオチド配列の断片を持つ場合がある。毒性の算定方法には更に、以下の過程がある。(c)ハイブリダイゼーション複合体の量を定量する過程と、(d)処理済み生体サンプル中のハイブリダイゼーション複合体の量を、非処理の生体サンプル中のハイブリダイゼーション複合体の量と比較する過程である。処理済み生体サンプル中のハイブリダイゼーション複合体の量の差異が、試験化合物の毒性を示す。

【発明を実施するための最良の形態】

【0127】

(本発明の記載について)

タンパク質、核酸および方法について説明するが、その前に、説明した特定の装置、機器、材料および方法に本発明の実施様態が限定されるものではなく、変更され得ることを理解されたい。また、ここで使用する専門用語は特定の実施様態を説明する目的で用いたものであり、本発明の範囲を限定することを意図したものではないことも併せて理解されたい。

【0128】

補足請求および明細書中で用いている単数形の「或る」および「その(この)」の表記は、文脈から明らかにそうでないとされる場合を除いて複数のもを指す場合もあることに注意されたい。したがって、例えば「或る宿主細胞」と記されている場合にはそのような宿主細胞が複数あることもあり、「或る抗体」と記されている場合には1個以上の抗体、および、当業者に公知の抗体の等価物などについても言及している。

【0129】

本明細書中で用いる全ての技術用語および科学用語は、特に定義されている場合を除き、当業者に一般に理解されている意味と同じ意味を有する。本明細書で説明するものと類似あるいは同等の任意の装置、材料および方法を用いて本発明の実施または試験を行うことができるが、ここでは好適な装置、材料、方法について説明する。本発明で言及する全ての刊行物は、刊行物中で報告されていて且つ本発明の実施様態に関係して用い得る、細胞株、プロトコル、試薬およびベクターについて説明および開示する目的で引用しているものである。本明細書のいかなる開示内容も、本発明が先行技術の効力によってこのよう

【0130】

(定義)

用語「CGDD」は、天然、合成、半合成或いは組換え体など全ての種(特にウシ、ヒツジ、ブタ、マウス、ウマ及びヒトを含む哺乳動物)から得られる実質的に精製されたCGDDのアミノ酸配列を指す。

【0131】

用語「アゴニスト」は、CGDDの生物学的活性を強化、或いは模倣する分子を指す。アゴニストの例として、タンパク質、核酸、糖質、小分子その他の任意の化合物や組成物を挙げることができるが、これらはCGDDと直接相互作用することによって、或いはCGDDが関与する生物学的経路の構成成分に作用することによって、CGDDの活性を調節する。

【0132】

「対立遺伝子変異体」は、CGDDをコードする遺伝子の、別の形態である。対立遺伝子変異体は、核酸配列における少なくとも1つの突然変異から作製し得る。また、変容したmRNAまたはポリペプチドを作製し得る。その構造または機能は、変容することもしないこともある。或る遺伝子は、その天然型の対立遺伝子変異体を全く持たない場合もあり、1個以上持つこともある。対立遺伝子変異体を生じさせる通常の突然変異性変化は一般に、ヌクレオチドの自然な欠失、付加または置換に帰するものである。これら各変化は、単独或いは他の変化と共に、所定の配列内で1回若しくは数回生じ得る。

【0133】

10

20

30

40

50

CGDDをコードする「変容した/改変された」核酸配列としては、様々なヌクレオチドの欠失、挿入、あるいは置換がありながら、CGDDと同じポリペプチド、あるいはCGDDの機能特性の少なくとも1つを備えるポリペプチドをもたらす配列もある。この定義には、CGDDをコードするポリヌクレオチドにとり正常な染色体の遺伝子座ではない位置での、対立遺伝子変異体群への不適當或いは予期しないハイブリダイゼーションを含み、また、CGDDをコードするポリヌクレオチドの或る特定オリゴヌクレオチドプローブを用いて容易に検出可能な或いは検出困難な多型性を含む。コードされるタンパク質も「変容する/改変される」ことがあり、また、サイレント変化を生じた結果、機能的に等価なCGDDとなるような、アミノ酸残基の欠失、挿入または置換を持ち得る。意図的なアミノ酸置換は、生物学的或いは免疫学的にCGDDの活性が保持される範囲で、残基の、極性、電荷、溶解度、疎水性、親水性、及び/または両親媒性、についての1つ以上の類似性に基づいて成され得る。例えば、負に帯電したアミノ酸にはアスパラギン酸およびグルタミン酸があり、正に帯電したアミノ酸にはリジンおよびアルギニンがある。親水性値が近似した非荷電極性側鎖を持つアミノ酸としては、アスパラギンとグルタミン、およびセリンとトレオニンを含みうる。親水性値が近似した非荷電側鎖を持つアミノ酸としては、ロイシンとイソロイシンとバリン、グリシンとアラニン、およびフェニルアラニンとチロシンを含みうる。

10

【0134】

用語「アミノ酸」および「アミノ酸配列」は、オリゴペプチド、ペプチド、ポリペプチド、タンパク質配列、あるいはそれらのいずれかの断片を指し、天然分子または合成分子を指し得る。ここで「アミノ酸配列」は天然のタンパク質分子のアミノ酸配列を指すものであり、「アミノ酸配列」及び類似の語は、アミノ酸配列を、列挙したタンパク質分子に関連する完全な本来のアミノ酸配列に限定しようとするものではない。

20

【0135】

「増幅」は、或る核酸配列の付加的複製物を作製する行為に関する。増幅は、ポリメラーゼ連鎖反応法(PCR)技術または当分野でよく知られている他の核酸増幅技術を用いて実行される。

【0136】

用語「アンタゴニスト」は、CGDDの生物学的活性を阻害あるいは減弱する分子を指す。アンタゴニストとしては、CGDDと直接相互作用すること、あるいはCGDDが関与する生物学的経路の各成分に作用することによってCGDDの活性をモジュレートする、抗体などのタンパク質、anticalin、核酸、糖質、小分子、または任意の他の化合物や組成物があり得る。

30

【0137】

「抗体」の語は、抗原決定基と結合することができる、無傷の免疫グロブリン分子やその断片、例えばFab₁、F(ab')₂及びFv断片を指す。CGDDポリペプチド群と結合する抗体類の作製には、免疫抗原として、無傷ポリペプチド群を用いることができ、または、当該の小ペプチド群を有する断片群を用い得る。動物(マウス、ラット、ウサギ等)を免疫化するために用いるポリペプチドまたはオリゴペプチドは、RNAの翻訳、または化学合成によって得られるポリペプチドまたはオリゴペプチドに由来し得るもので、所望によりキャリアタンパク質に抱合することも可能である。通常用いられるキャリアであってペプチドと化学結合するものは、ウシ血清アルブミン、サイログロブリン及びスカシガイのヘモシアニン(KLH)等がある。結合その結合ペプチドは、動物を免疫化するために用いる。

40

【0138】

「抗原決定基」の語は、特定の抗体と接触する、分子の領域(即ちエピトープ)を指す。タンパク質またはタンパク質断片を用いて宿主動物を免疫化する場合、タンパク質の多数の領域が、抗原決定基(タンパク質の特定の領域または3次元構造)に特異結合する抗体の産生を誘発し得る。抗原決定基は、抗体への結合において無損傷抗原(即ち免疫応答を誘発するために用いられる免疫原)と競合し得る。

【0139】

用語「アダプター」は、特定の分子標的に結合する核酸またはオリゴヌクレオチドを指

50

す。アプタマーは *in vitro*での進化プロセスに由来する(例えば、SELEX(Systematic Evolution of Ligands by EXponential Enrichmentの略、試験管内選択法)、米国特許第5,270,163号に記述)。これは、大規模な組合せライブラリ群から標的的特異的アプタマー配列を選択するプロセスである。アプタマーの構成は二本鎖または一本鎖であり、デオキシリボヌクレオチド、リボヌクレオチド、ヌクレオチド誘導体または他のヌクレオチド様分子を含み得る。アプタマーのヌクレオチド構成要素は修飾された糖基(例えば、リボヌクレオチドの2'-OH基が2'-Fまたは2'-NH₂で置換されている)を有することが可能で、これらの糖基は、例えば、ヌクレアーゼに対する耐性あるいは血中でのより長い寿命など、望む性質を改善しうる。循環系からアプタマーが除去される速度を遅くするために、アプタマーを高分子量キャリア等の分子に抱合させることができる。アプタマーは、たとえば架橋剤の光活性化によって各々のリガンドと特異的に架橋させることができる(Brody, E.N. および L. Gold (2000) J. Biotechnol. 74:5-13)。

10

【0140】

「intramer」の用語は *in vivo*で発現されるアプタマーを意味する例えば、ワクシニアウイルスに基づく或るRNA発現系を用いて、白血球の細胞質内で特定のRNAアプタマー類が高レベルに発現されている(Blind, M.他(1999) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 96:3606-3610)。

【0141】

「スピーゲルマー(spiegelmer)」の語はL-DNA、L-RNAその他の左旋性ヌクレオチド誘導体またはヌクレオチド様分子を含むアプタマーを指す。左旋性ヌクレオチドを含むアプタマーは、右旋性のヌクレオチドを含む基質に通常作用する天然の酵素による分解に耐性がある。

20

【0142】

用語「アンチセンス」は、或る特定の核酸配列を有するポリヌクレオチドの「センス」(コーディング)鎖との塩基対を形成し得る任意の組成物を指す。アンチセンス組成物としては、DNAや、RNAや、ペプチド核酸(PNA)や、修飾されたバックボーン連結たとえばホスホロチオ酸、メチルホスホン酸またはベンジルホスホン酸などを有するオリゴヌクレオチドや、修飾された糖基たとえば2'-メトキシエチル糖または2'-メトキシエトキシ糖などを有するオリゴヌクレオチドや、あるいは修飾された塩基たとえば5-メチルシトシン、2-デオキシウラシルまたは7-デアザ-2'-デオキシグアノシンなどを有するオリゴヌクレオチドがあり得る。アンチセンス分子は、化学合成または転写など、任意の方法で製造することができる。相補的アンチセンス分子は、細胞に導入されると、細胞が産生した天然核酸配列との塩基対を形成し、二重鎖を形成して転写または翻訳を妨害する。「負」または「マイナス」という表現は、ある参考DNA分子のアンチセンス鎖を意味し、「正」または「プラス」という表現は、ある参考DNA分子のセンス鎖を意味しうる。

30

【0143】

「生物学的に活性」の語は、天然分子の構造的機能、調節機能または生化学的機能を有するタンパク質を指す。同様に、用語「免疫学的に活性」または「免疫原性」は、天然、組換え、または合成CGDD、またはそれらの任意のオリゴペプチドが、適当な動物或いは細胞内の特定の免疫応答を誘発して特定の抗体と結合する能力を指す。

40

【0144】

「相補(的)」または「相補性」の語は、塩基対形成によってアニーリングする2つの一本鎖核酸の間の関係を指す。例えば、配列「5'A-G-T3'」は、相補配列「3'T-C-A5'」と対を形成する。

【0145】

「~のポリヌクレオチドを含む(持つ)組成物」または「~のポリペプチドを含む(持つ)組成物」は、所定のポリヌクレオチド配列若しくはポリペプチドを持つ、任意の組成物を指す。この組成物には、乾燥製剤または水溶液が含まれ得る。CGDDをコード、若しくはCGDDの断片をコードするポリヌクレオチドを含む組成物は、ハイブリダイゼーションプローブとして使用され得る。これらプローブは、凍結乾燥形態で貯蔵でき、また、糖質な

50

どの安定化剤と結合させ得る。ハイブリダイゼーションにおいては、塩（例えばNaCl）、界面活性剤（例えばドデシル硫酸ナトリウム；SDS）及びその他の構成要素（例えばデンハート液、粉乳、サケの精子のDNA等）を含む水溶液中にプローブを分散させることができる。

【0146】

「コンセンサス配列」は、不要な塩基を分離するためにDNA配列の解析を繰り返し行い、XL-PCRキット（Applied Biosystems, Foster City CA）を用いて5'及び/または3'の方向に伸長され、再度シーケンシングされた核酸配列、またはGELVIEW断片アセンブリシステム（Accelrys, Burlington MA）、あるいはPhrap（University of Washington, Seattle WA）等の断片アセンブリ用のコンピュータプログラムを用いて1つ或いはそれ以上の重複するcDNAやEST、またはゲノムDNA断片からアセンブリされた核酸配列を指す。伸長及びアセンブリの両方を行ってコンセンサス配列を作製する配列もある。

10

【0147】

「保存的なアミノ酸置換」は、置換がなされた時に元のタンパク質の特性を殆ど損なわないと予測されるような置換、即ちタンパク質の構造と特に機能が保存され、そのような置換による大きな変化がない置換を指す。下表は、タンパク質中で元のアミノ酸と置換可能で、保存アミノ酸置換と認められるアミノ酸を示している。

元の残基	保存的な置換
Ala	Gly, Ser
Arg	His, Lys
Asn	Asp, Gln, His
Asp	Asn, Glu
Cys	Ala, Ser
Gln	Asn, Glu, His
Glu	Asp, Gln, His
Gly	Ala
His	Asn, Arg, Gln, Glu
Ile	Leu, Val
Leu	Ile, Val
Lys	Arg, Gln, Glu
Met	Leu, Ile
Phe	His, Met, Leu, Trp, Tyr
Ser	Cys, Thr
Thr	Ser, Val
Trp	Phe, Tyr
Tyr	His, Phe, Trp
Val	Ile, Leu, Thr

20

30

40

【0148】

保存アミノ酸置換では通常、(a)置換領域におけるポリペプチドのバックボーン構造、例えばシートや螺旋構造、(b)置換部位における分子の電荷または疎水性、及び/または(c)側鎖の大部分を保持する。

【0149】

「欠失」は、結果的に1個若しくは数個のアミノ酸残基またはヌクレオチドが失われてなくなるようなアミノ酸またはヌクレオチド配列における変化を指す。

【0150】

「誘導体」の語は、ポリペプチドまたはポリヌクレオチドの化学修飾を指す。例えば、アルキル基、アシル基、ヒドロキシル基またはアミノ基による水素の置換は、ポリヌクレ

50

オチドの化学修飾に含まれ得る。ポリヌクレオチド誘導体は、天然分子の生物学的または免疫学的機能を少なくとも1つは保持しているポリペプチドをコードする。ポリペプチド誘導体は、グリコシル化、ポリエチレングリコール化(pegylation)、或いは任意の同様なプロセスであって誘導起源のポリペプチドの、少なくとも1つの生物学的若しくは免疫学的機能を保持するプロセスによって修飾されたポリペプチドである。

【0151】

「検出可能な標識」は、測定可能なシグナルを生成することができ、ポリヌクレオチドまたはポリペプチドに共有結合または非共有結合するようなレポーター分子または酵素を指す。

【0152】

「差次的発現」は少なくとも2つの異なったサンプルを比較することによって決められる、増加(上方調節)、あるいは減少(下方調節)、または遺伝子発現またはタンパク発現の欠損を指す。このような比較は例えば、処理済サンプルと不処理サンプル、または病態サンプルと健常サンプルとの間で行われ得る。

【0153】

「エキソンシャフリング」は、異なるコード領域(エキソン)の組換えを意味する。1つのエキソンはコードされるタンパク質の1つの構造的または機能的ドメインを代表し得るため、安定したサブストラクチャー群の新たな組み合わせによって、新しいタンパク質がアセンブリされることが可能であり、新しいタンパク質機能の進化を促進できる。

【0154】

「断片」は、CGDDの又はCGDDをコードする或るポリヌクレオチドの固有の部分であって、その親配列(parent sequence)と配列は同一でありうるが親配列より長さが短いものを指す。或る断片は、定義された配列の全長から1ヌクレオチド/アミノ酸残基を差し引いた長さよりも短い長さを有し得る。例えば或る断片は、約5~約1000の連続したヌクレオチドまたはアミノ酸残基を有し得る。プローブ、プライマー、抗原、治療用分子として、或いはその他の目的のために用いられる断片は、少なくとも5、10、15、16、20、25、30、40、50、60、75、100、150、250若しくは500の連続したヌクレオチド或いはアミノ酸残基長さであり得る。断片は、或る分子の特定領域から優先的に選択し得る。例えば、或るポリペプチド断片は、定義された或る配列内に見られるような或るポリペプチドの最初の250または500アミノ酸(または最初の25%または50%)から選択した、或る長さの連続したアミノ酸を持ち得る。これらの長さは明らかに例として挙げているものであり、本発明の実施態様では、配列表、表および図面を含む本明細書が支持する任意の長さであり得る。

【0155】

SEQ ID NO:58-114の断片は、例えば、この断片を得たゲノム内の他の配列とは異なる、SEQ ID NO:58-114を特異的に同定する固有のポリヌクレオチド配列の領域を持ちうる。SEQ ID NO:58-114のある断片は、本発明の例えば、ハイブリダイゼーションや増幅技術の1つ以上の実施様態、またはSEQ ID NO:58-114を関連ポリヌクレオチドから区別する類似の方法に有用である。SEQ ID NO:58-114の断片の正確な長さ及び断片に対応するSEQ ID NO:58-114の領域は、断片に対する意図した目的に基づき当業者が慣例的に決定することが可能である。

【0156】

SEQ ID NO:1-57の断片はSEQ ID NO:58-114の断片によってコードされている。SEQ ID NO:1-57の断片はSEQ ID NO:1-57を特異的に同定する固有のアミノ酸配列の領域を含む。例えば、SEQ ID NO:1-57の断片は、SEQ ID NO:1-57を特異認識する抗体を産出するための免疫原性ペプチドとして有用である。SEQ ID NO:1-57の断片および断片に対応するSEQ ID NO:1-57の領域の正確な長さは、断片に対する意図した目的に基づき、本明細書に記載されている、あるいは当分野で知られている1つ以上の分析方法を用いて当業者が慣例的に決定することが可能である。

【0157】

10

20

30

40

50

「完全長」ポリヌクレオチドとは、少なくとも1つの翻訳開始コドン（例えばメチオニン）と、それに続く1オープンリーディングフレームおよび翻訳終止コドンを有する配列である。或る「完全長」ポリヌクレオチド配列は、或る「完全長」ポリペプチド配列をコードする。

【0158】

「相同性」の語は、2つ以上のポリヌクレオチド配列または2つ以上のポリペプチド配列の配列類似性、二者択一性、または配列同一性を意味する。

【0159】

ポリヌクレオチド配列に適用される「一致率」または「～%同一」の語は、標準化されたアルゴリズムを用いてアラインメントされた少なくとも2つ以上のポリヌクレオチド配列間で一致する同一残基の割合を意味する。標準化アルゴリズムは、2配列間のアラインメントを最適化するため、標準化された再現性のある方法で比較対象の2配列内にギャップ群を挿入し得るので、2つの配列をより有意に比較できる。

10

【0160】

ポリヌクレオチド配列間の一致率は、当分野で知られているあるいは本明細書に記載されている1つ以上のコンピュータアルゴリズムまたはプログラムを用いて決定し得る。例えば、一致率は、MEGALIGN version 3.12e配列アラインメントプログラムに組込まれているようなCLUSTAL Vアルゴリズムのデフォルトのパラメータを用いて決定できる。このプログラムは、LASERGENE ソフトウェアパッケージ（一組の分子生物学的分析プログラム）(DNASTAR, Madison WI)の一部である。CLUSTAL Vは、Higgins, D.G.およびP.M. Sharp (1989; CABIOS 5:151-153)、並びにHiggins, D.G. 他(1992; CABIOS 8:189-191)に記載がある。ポリヌクレオチド配列を2つ1組でアラインメントする際のデフォルトパラメータは、Ktuple=2、gap penalty=5、window=4、「diagonals saved」=4と設定する。デフォルトとして「重みづけされた」残基の重みづけ表を選択する。

20

【0161】

あるいは、米国国立バイオテクノロジー情報センター(NCBI)のBasic Local Alignment Search Tool(BLAST)が、一般的に用いられ、且つ、無料で利用可能な用い得る配列比較アルゴリズム一式を提供している(Altschul, S.F. 他(1990) J. Mol. Biol. 215:403-410)。BLASTアルゴリズムは、幾つかの情報源から入手可能であり、メリーランド州ベセスダにあるNCBIおよびインターネット(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>)からも入手可能である。BLASTソフトウェア一式には様々な配列分析プログラムが含まれており、既知のポリヌクレオチド配列を種々のデータベースから得た別のポリヌクレオチド配列とアラインメントする「blastn」もその1つである。その他にも、2つのヌクレオチド配列をペアワイズで直接比較するために用いる「BLAST 2 Sequences」と称されるツールも利用可能である。「BLAST 2 Sequences」は、<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gorf/bl2.html>にアクセスして、対話形式で利用ができる。「BLAST 2 Sequences」ツールは、blastn 及び blastp(以下に記載)の両方に用いることができる。BLASTプログラムは、一般的には、ギャップ及び他のパラメータをデフォルト設定に設定して用いる。例えば、2つのヌクレオチド配列を比較するには、デフォルトパラメータに設定した「BLAST 2 Sequences」ツールVersion 2.0.12(2000年4月21日)を用いてblastnを実行し得る。デフォルトパラメータの設定例を以下に示す。

30

40

【0162】

Matrix: BLOSUM62
 Reward for match: 1
 Penalty for mismatch: -2
 Open Gap: 5 and Extension Gap: 2 penalties
 Gap x drop-off: 50
 Expect: 10
 Word Size: 11
 Filter: on

50

【0163】

一致率は、ある定義された配列の全長（例えば特定のSEQ IDナンバーで定義された配列）について測定し得る。或いは、より短い長さ、例えば、定義された、より大きな配列から得られた断片（例えば少なくとも20、30、40、50、70、100または200の連続したヌクレオチドの断片）の長さについて一致率を測定してもよい。ここに挙げた長さは単なる例示的なものに過ぎず、表、図および配列リストを含めた本明細書に記載された配列が支持する任意の断片長を用いて、一致率を測定し得る或る長さを説明し得ることを理解されたい。

【0164】

高度の同一性を示さない核酸配列が、それにもかかわらず遺伝子コードの縮重が原因で、類似のアミノ酸配列をコードする場合がある。この縮重を利用して核酸配列内で変化を生じさせて、全ての核酸配列が実質上同一のタンパク質をコードするような多数の核酸配列を生成し得ることを理解されたい。

【0165】

ポリペプチド配列に用いられる用語「一致率」または「～%同一」とは、標準化されたアルゴリズムを用いてアラインメントされる2つ以上のポリペプチド配列間の一致する同一残基の百分率のことである。ポリペプチド配列アラインメントの方法は公知である。保存的アミノ酸置換を考慮するアラインメント方法もある。既に詳述したこのような保存的置換は通常、置換部位の電荷および疎水性を保存するので、ポリペプチドの構造を（したがって機能も）保存する。ポリペプチド配列に用いられる用語「類似率」または「～%類似」とは、一致する同一残基と保存的置換を含む標準化されたアルゴリズムを用いてアラインメントされる2つ以上のポリペプチド配列間の一致する残基の百分率のことである。一方、保存的置換は、ポリペプチド配列間の一致率の計算には含まれない。

【0166】

ポリペプチド配列間の一致率は、MEGALIGN version 3.12e配列アラインメントプログラムに組み込まれているようなCLUSTAL Vアルゴリズムのデフォルトのパラメータを用いて決定できる（既に説明したのでそれを参照されたい）。CLUSTAL Vを用いて、ポリペプチド配列をペアワイズアラインメントする際のデフォルトパラメータは、Ktuple=1、gap penalty=3、window=5、「diagonals saved」=5と設定される。PAM250マトリクスが、デフォルトの残基重み付け表として選択される。

【0167】

或いは、NCBI BLASTソフトウェア一式を用いてもよい。例えば、2つのポリペプチド配列をペアワイズで比較する場合、「BLAST 2 Sequences」ツールVersion 2.0.12（2000年4月21日）のblastpをデフォルトパラメータに設定して用い得る。デフォルトパラメータの設定例を以下に示す。

【0168】

Matrix: BLOSUM62
 Open Gap: 11 and Extension Gap: 1 penalties
 Gap x drop-off: 50
 Expect: 10
 Word Size: 3
 Filter: on

【0169】

一致率は、ある定義されたポリペプチド配列の全長（例えば特定のSEQ IDナンバーで定義された配列）について測定し得る。或いは、より短い長さ、例えば、定義された、より大きなポリペプチド配列から得られた断片（例えば少なくとも15、20、30、40、50、70、または150の連続した残基の断片）の長さについて一致率を測定してもよい。ここに挙げた長さは単なる例示的なものに過ぎず、表、図および配列リストを含めた本明細書に記載された配列が支持する任意の断片長を用いて、一致率を測定し得る或る長さを説明し得ることを理解されたい。

10

20

30

40

50

【0170】

「ヒト人工染色体 (HAC)」は、約 6 kb (キロベース) ~ 10 Mb のサイズの DNA 配列を含み得る、染色体の複製、分離及び維持に必要な全ての要素を含む直鎖状の微小染色体である。

【0171】

用語「ヒト化抗体」は、もとの結合能力を保持しつつよりヒトの抗体に似せるために、非抗原結合領域のアミノ酸配列が変えられた抗体分子を指す。

【0172】

「ハイブリダイゼーション」とは、所定のハイブリダイゼーション条件下で、ある一本鎖ポリヌクレオチドがある相補的な一本鎖と塩基対を形成するアニーリングのプロセスである。特異的ハイブリダイゼーションは、2つの核酸配列が高い相補性を共有することの指標である。特異的ハイブリダイゼーション複合体は許容されるアニーリング条件下で形成され、1回以上の「洗浄」ステップ後もハイブリダイズされたままである。洗浄ステップは、ハイブリダイゼーションプロセスのストリンジェンシーを決定する際に特に重要であり、よりストリンジェントな条件では、非特異結合 (すなわち完全には一致しない核酸鎖対間の結合) が減少する。核酸配列のアニーリングに対する許容条件は、当業者が慣例的に決定できる。許容条件は、どのハイブリダイゼーション実験でも一定でありうるが、洗浄条件は所望のストリンジェンシーを得るように、従ってハイブリダイゼーション特異性も得るように実験によって変更することができる。アニーリングが許容される条件は、例えば、温度が 68 °C で、約 6 × SSC、約 1% (w/v) の SDS、並びに約 100 µg/ml のせん断して変性したサケ精子 DNA が含まれる。

【0173】

一般に、ハイブリダイゼーションのストリンジェンシーは或る程度、洗浄ステップを実行する温度を基準にして表すことができる。このような洗浄温度は通常、所定のイオン強度及び pH における特定の配列の融点 (T_m) より約 5 ~ 20 °C 低くなるように選択する。この T_m は、所定のイオン強度及び pH の下で、完全に一致するプローブに標的配列の 50% がハイブリダイズする温度である。 T_m を計算する式および核酸のハイブリダイゼーション条件はよく知られており、Sambrook, J. および D.W. Russell (2001; Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 第3版, 1-3巻, Cold Spring Harbor NY に記載されており、特に9章を参照されたい。

【0174】

本発明のポリヌクレオチド間の高いストリンジェンシーのハイブリダイゼーションでは、約 0.2 × SSC 及び約 0.1% の SDS の存在の下、約 68 °C で1時間の洗浄過程を含む。別法では、約 65 °C、60 °C、55 °C、または 42 °C の温度で行う。SSC 濃度は、約 0.1% の SDS 存在下で、約 0.1 ~ 2 × SSC の範囲で変化し得る。通常は、ブロッキング剤を用いて非特異ハイブリダイゼーションを阻止する。このようなブロッキング剤には、例えば、約 100 ~ 200 µg/ml の、せん断して変性したサケ精子 DNA がある。特定条件下で、例えば RNA と DNA のハイブリダイゼーションでは、有機溶剤、例えば約 35 ~ 50% v/v の濃度のホルムアミドを用いることもできる。洗浄条件の有用なバリエーションは、当業者には自明であろう。ハイブリダイゼーションは、特に高ストリンジェント条件下では、ヌクレオチド間の進化的な類似性を示唆し得る。進化的類似性は、ヌクレオチド群、およびヌクレオチドがコードするポリペプチド群について、或る同様の役割を強く示唆する。

【0175】

用語「ハイブリダイゼーション複合体」は、相補的な塩基間の水素結合の形成によって形成された、2つの核酸配列の複合体を指す。ハイブリダイゼーション複合体は、溶解状態で形成し得る (C_0t または R_0t 解析など)。あるいは、一方の核酸が溶解状態で存在し、もう一方の核酸が固体支持体 (例えば紙、膜、フィルタ、チップ、ピンまたはガラススライド、あるいは他の適切な基板であって細胞若しくはその核酸が固定される基板) に固定されているような2つの核酸間に形成され得る。

【0176】

10

20

30

40

50

用語「挿入」或いは「付加」は、1個以上のアミノ酸残基或いはヌクレオチドがそれぞれ追加されるアミノ酸配列或いはポリヌクレオチド配列の変化を指す。

【0177】

「免疫応答」は、炎症、外傷、免疫異常症、伝染性疾患または遺伝性疾患に関連する症状を指し得る。これらの症状は、細胞及び全身の防御系に作用し得る種々の因子、例えばサイトカイン、ケモカイン、その他のシグナル伝達分子の発現によって特徴づけることができる。

【0178】

用語「免疫原性断片」は、生物（例えば哺乳類）に導入すると免疫応答を引き起こし得る、CGDDのポリペプチド断片またはオリゴペプチド断片を指す。用語「免疫原性断片」はまた、本明細書で開示するまたは当分野で周知のあらゆる抗体生産方法に有用な、CGDDの任意のポリペプチド断片またはオリゴペプチド断片をも指す。

【0179】

用語「マイクロアレイ」は、基板上の複数のポリヌクレオチド、ポリペプチド、抗体またはその他の化合物の構成を指す。

【0180】

用語「エレメント」または「アレイエレメント」は、マイクロアレイ上に固有の指定された位置を有する、ポリヌクレオチド、ポリペプチド、抗体またはその他の化合物を指す。

【0181】

用語「モジュレート」または「活性を調節」は、CGDDの活性を変化させることを指す。例えば、モジュレートによって、CGDDのタンパク質活性の増減が、あるいは、結合特性またはその他の、生物学的特性、機能的特性あるいは免疫学的特性の変化が生じ得る。

【0182】

「核酸」および「核酸配列」の語は、ヌクレオチド、オリゴヌクレオチド、ポリヌクレオチドまたはこれらの断片を指す。「核酸」および「核酸配列」の語はまた、ゲノム起源または合成起源のDNAまたはRNAであって一本鎖または二本鎖であるかあるいはセンス鎖またはアンチセンス鎖を表し得るようなDNAまたはRNAや、ペプチド核酸(PNA)や、任意のDNA様またはRNA様物質を指すこともある。

【0183】

「機能的に連結した」は、第1の核酸配列と第2の核酸配列が機能的な関係にある状態を指す。例えば、或るプロモーターが或るコード配列の転写または発現に影響を及ぼす場合には、そのプロモーターはそのコード配列に機能的に連結している。機能的に連結したDNA配列群は非常に近接するか連続的に隣接することがあり、また、2つのタンパク質コード領域を結合するために必要な場合は同一リーディングフレーム内にあり得る。

【0184】

「ペプチド核酸(PNA)」は、末端がリジンで終わるアミノ酸残基のペプチドのバックボーンに結合した、少なくとも約5ヌクレオチドの長さのオリゴヌクレオチドを含む、アンチセンス分子または抗遺伝子剤を指す。末端のリジンは、この組成に溶解性を与える。PNAは、相補的一本鎖DNAまたはRNAに優先的に結合して転写の伸長を停止するものであり、ポリエチレングリコール化して細胞におけるPNAの寿命を延長し得る。

【0185】

CGDDの「翻訳後修飾」には、脂質化、グリコシル化、リン酸化、アセチル化、ラセミ化、タンパク質分解性切断及びその他の当分野で既知の修飾を含まれ得る。これらのプロセスは、合成或いは生化学的に生じ得る。生化学的修飾は、CGDDの酵素環境に依存し、細胞の種類によって異なることとなる。

【0186】

「プローブ」とは、同一核酸、対立遺伝子核酸、または関連核酸の検出に用いる、CGDDやそれらの相補配列、またはそれらの断片をコードする核酸を指す。プローブは、単離されたオリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチドであって、検出可能な標識またはレポー

10

20

30

40

50

ター分子に接着した配列である。典型的な標識には、放射性アイソトープ、リガンド、化学発光試薬および酵素がある。「プライマー」は、短い核酸、通常はDNAオリゴヌクレオチドであり、相補的塩基対を形成することで標的ポリヌクレオチドにアニーリングされる。プライマーは次に、DNAポリメラーゼ酵素によって標的DNA鎖に沿って伸長し得る。プライマー対は、例えばポリメラーゼ連鎖反応(PCR)による、核酸の増幅(および同定)に用い得る。

【0187】

本発明に用いるようなプローブ及びプライマーは通常、既知の配列の、少なくとも15の連続したヌクレオチドを含んでいる。特異性を高めるため、長めのプローブおよびプライマー、例えば開示した核酸配列の少なくとも20、25、30、40、50、60、70、80、90、100または少なくとも150の連続したヌクレオチドからなるようなプローブおよびプライマーも用い得る。これよりもかなり長いプローブおよびプライマーもある。表、図面および配列リストを含む本明細書が支持する、任意の長さのヌクレオチドを用い得るものと理解されたい。

【0188】

プローブ及びプライマーの調製及び使用方法については、Sambrook, J.およびD.W. Russell (2001; Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 第3版, 1-3巻, Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor NY)、Ausubel, F.M. 他(1999; Short Protocols in Molecular Biology, 第4版, John Wiley & Sons, New York NY)、及び Innis, M. 他(1990; PCR Protocols, A Guide to Methods and Applications, Academic Press, San Diego CA)などの参照文献に記載がある。PCRプライマー対は、その目的のためのコンピュータプログラム、例えばPrimer (Version 0.5, 1991, Whitehead Institute for Biomedical Research, Cambridge MA)を用いるなどして既知の配列から得ることができる。

【0189】

プライマーとして用いるオリゴヌクレオチドの選択は、そのような目的のために本技術分野でよく知られているソフトウェアを用いて行う。例えばOLIGO 4.06ソフトウェアは、各100ヌクレオチドまでのPCRプライマー対の選択に有用であり、オリゴヌクレオチドおよび、最大5,000までの大きめのポリヌクレオチドであって32キロボースまでのインプットポリヌクレオチド配列から得た配列を分析するのにも有用である。類似のプライマー選択プログラムには、拡張能力のための追加機能が組込まれている。例えば、PrimOUプライマー選択プログラム(テキサス州ダラスにあるテキサス大学南西部医療センターのゲノムセンターから一般向けに入手可能)は、メガベース配列から特定のプライマーを選択することが可能であり、したがってゲノム全体の範囲でプライマーを設計するのに有用である。Primer3プライマー選択プログラム(Whitehead Institute/MIT Center for Genome Research(マサチューセッツ州ケンブリッジ)より入手可能)によって、ユーザーは、プライマー結合部位として避けたい配列を指定できる「非プライミングライブラリ(mispriming library)」を入力できる。Primer3は特に、マイクロアレイのためのオリゴヌクレオチドの選択に有用である(後二者のプライマー選択プログラムのソースコードは、それぞれの情報源から得てユーザー固有のニーズを満たすように修正し得る)。PrimerGenプログラム(英国ケンブリッジ市の英国ヒトゲノムマッピングプロジェクト-リソースセンターから一般向けに入手可能)は、多数の配列アラインメントに基づいてプライマーを設計し、それによって、アラインメントされた核酸配列の最大保存領域または最小保存領域のいずれかとハイブリダイズするようなプライマーの選択を可能にする。従って、このプログラムは、固有であって保存されたオリゴヌクレオチド及びポリヌクレオチドの断片の同定に有用である。上記選択方法のいずれかによって同定したオリゴヌクレオチドおよびポリヌクレオチド断片は、ハイブリダイゼーション技術において、例えばPCRまたはシーケンシングプライマーとして、マイクロアレイエレメントとして、あるいは核酸のサンプルにおいて完全または部分的相補的ポリヌクレオチドを同定する特異プローブとして有用である。オリゴヌクレオチドの選択方法は、上記の方法に限定されるものではない。

10

20

30

40

50

【0190】

本明細書における「組換え核酸」は天然の配列ではなく、2つ以上の配列の離れたセグメントを人工的に組み合わせた核酸である。この人為的組合せはしばしば化学合成によって達成するが、より一般的には核酸の単離セグメントの人為的操作によって、例えば Sambrook および Russell の文献 (前出) に記載されているような遺伝子工学的的手法によって達成する。組換え核酸の語は、単に核酸の一部が付加、置換または欠失により改変された核酸も含む。しばしば組換え核酸には、プロモーター配列に機能的に連結した核酸配列が含まれる。このような組換え核酸は、例えばある細胞を形質転換するために使用されるベクターの一部と成し得る。

【0191】

あるいはこのような組換え核酸は、ウイルスベクターの一部と成すことができ、ベクターは例えばワクシニアウイルスに基づくものであり得る。そのようなベクターは哺乳類に接種され、その組換え核酸が発現されて、その哺乳類内で防御免疫応答を誘導するように使用することができる。

【0192】

「調節因子」は、通常は遺伝子の非翻訳領域に由来する核酸配列であり、エンハンサー、プロモーター、イントロン及び 5' 及び 3' の非翻訳領域 (UTR) を含む。調節エレメントは、転写、翻訳または RNA 安定性を制御する宿主タンパク質またはウイルスタンパク質と相互作用する。

【0193】

「レポーター分子」は、核酸、アミノ酸または抗体の標識に用いられる化学的または生化学的部分である。レポーター分子には、放射性核種、酵素、蛍光剤、化学発光剤、発色剤、基質、補助因子、阻害因子、磁気粒子およびその他の当分野で既知の成分がある。

【0194】

DNA 分子に対する「RNA 等価物」は、基準となる DNA 分子と同じ直鎖の核酸配列から構成されるが、全ての窒素性塩基のチミンがウラシルで置換され、糖鎖のバックボーンがデオキシリボースではなくリボースからなる。

【0195】

用語「サンプル」は、その最も広い意味で用いられている。CGDD、CGDD をコードする核酸群、またはその断片群を含むと推定されるサンプルとしては、体液と、細胞や細胞から単離した染色体や細胞内小器官 (オルガネラ) や膜からの抽出物と、細胞と、溶液中に存在するまたは基板に固定されたゲノム DNA、RNA、cDNA と、組織と、組織プリントなどがあり得る。

【0196】

用語「特異的結合」及び「特異的に結合する」は、タンパク質若しくはペプチドと、アゴニスト、抗体、アンタゴニスト、小分子、若しくは任意の天然若しくは合成の結合組成物との間の相互作用を指す。この相互作用は、タンパク質の特定の構造 (例えば抗原決定基即ちエピトープ) であって結合分子が認識するものが存在するか否かに依存している。例えば、抗体がエピトープ「A」に対して特異的である場合、遊離した標識 A 及びその抗体を含む反応において、エピトープ A (つまり遊離した、標識されていない A) を含むポリペプチドの存在が、抗体に結合する標識された A の量を低減させる。

【0197】

用語「実質的に精製された」は、自然の環境から取り除かれてから、単離或いは分離された核酸配列或いはアミノ酸配列であって、自然に結合している組成物が少なくとも約 60% 除去されたものであり、好ましくは約 75% 以上の除去、最も好ましくは約 90% 以上除去されたものを指す。

【0198】

「置換」とは、一つ以上のアミノ酸またはヌクレオチドをそれぞれ別のアミノ酸またはヌクレオチドに置き換えることである。

【0199】

10

20

30

40

50

用語「基板」は、任意の好適な固体或いは半固体の支持物を指し、膜及びフィルター、チップ、スライド、ウェハ、ファイバー、磁気または非磁気ビーズ、ゲル、チューブ、プレート、ポリマー、微小粒子、毛細管が含まれる。基板は、ウェル、溝、ピン、チャンネル、孔など、様々な表面形態を有することができ、基板表面にはポリヌクレオチドやポリペプチドが結合する。

【0200】

「転写イメージ(transcript image)」または「発現プロファイル(プロフィール)」は、所定条件下での所定時間における特定の細胞の種類または組織による集合的遺伝子発現のパターンを指す。

【0201】

「形質転換(transformation)」とは、外来DNAが受容細胞に導入されるプロセスのことである。形質転換は、本技術分野で知られている種々の方法に従って自然条件または人工条件下で生じ得るものであり、外来性の核酸配列を原核宿主細胞または真核宿主細胞に挿入する、任意の既知の方法を基にし得る。形質転換の方法は、形質転換する宿主細胞の種類によって選択する。限定するものではないが形質転換方法には、バクテリオファージあるいはウイルス感染、電気穿孔法(エレクトロポレーション)、熱ショック、リポフェクションおよび微粒子銃を用いる方法がある。「形質転換された細胞」には、導入されたDNAが自律的に複製するプラスミドとして或いは宿主染色体の一部として複製可能である安定的に形質転換された細胞が含まれる。さらに、限られた時間に一過的に導入DNA若しくは導入RNAを発現する細胞も含まれる。

【0202】

ここで用いる「遺伝形質転換生物体(transgenic organism)」とは任意の生物体であり、限定するものではないが動植物を含み、生物体の1個以上の細胞が、ヒトの関与によって、例えば本技術分野でよく知られているトランスジェニック(transgenic)技術によって導入された異種核酸を有する。核酸の細胞への導入は、直接または間接的に、細胞の前駆物質に導入することによって、計画的な遺伝子操作によって、例えば微量注射法によって或いは組換えウイルスでの感染によって行う。別の実施態様で核酸の導入は、組換えウイルスベクター、例えばレンチウイルスベクターを感染させて成し得る(Lois, C. 他(2002) Science 295:868-872)。遺伝子操作の語は、古典的な交雑育種あるいはin vitro受精を指すものではなく、組換えDNA分子の導入を指す。本発明に基づいて予期される遺伝形質転換生物体には、バクテリア、シアノバクテリア、真菌および動植物がある。本発明の単離されたDNAは、本技術分野で知られている方法、例えば感染、形質移入、形質転換またはトランス接合によって宿主に導入することができる。本発明のDNAをこのような生物体に移入する技術はよく知られており、前出のSambrookおよびRussellなどの文献で提供されている。

【0203】

特定の核酸配列の「変異体」は、核酸配列1本全部の長さに対して特定の核酸配列と少なくとも40%の相同性を有する核酸配列であると定義する。その際、デフォルトパラメータに設定した「BLAST 2 Sequences」ツールVersion 2.0.9(1999年5月7日)を用いてblastnを実行する。このような核酸対は、所定の長さに対して、例えば少なくとも50%、60%、70%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上の相同性を示し得る。或る変異体は、例えば「対立遺伝子」変異体(前述)、「スプライス」変異体、「種」変異体または「多型性」変異体として記載し得る。スプライス変異体は参照分子とかなりの相同性を有し得るが、mRNAプロセッシング中のエキソンの選択的スプライシングによって通常、より多くまたはより少数のヌクレオチドを有することになる。対応するポリペプチドは、追加機能ドメイン群を有するか、あるいは参照分子には存在するドメイン群が欠落していることがある。種変異体は、種によって異なるポリヌクレオチドである。結果的に生じるポリペプチドは通常、相互にかなりのアミノ酸相同性を有する。多型性変異体は、所与の種の個体間で特定の遺伝子のポリヌクレオチド配列が異なる。多型変異配列はまた、ポリヌクレオチ

10

20

30

40

50

ド配列の1つのヌクレオチドが異なる「1塩基多型性」(SNP)も含み得る。SNPの存在は、例えば特定の集団、病状または病状性向を示し得る。

【0204】

特定のポリペプチド配列の「変異体」は、ポリペプチド配列の1本の長さ全体で特定のポリペプチド配列に対して少なくとも40%の配列相同性または配列類似性を有するポリペプチド配列として定義される。定義づけには、デフォルトパラメータに設定した「BLAST 2 Sequences」ツールVersion 2.0.9(1999年5月7日)を用いてblastpを実行する。このようなポリペプチド対は、そのポリペプチドの一方の所定の長さに対して、例えば少なくとも50%、60%、70%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上の配列同一性または配列類似性を示し得る。

10

【0205】

(発明)

本発明の様々な実施様態は、新規のヒトの細胞増殖、分化および細胞死関連タンパク質(CGDD)群と、CGDDをコードするポリヌクレオチド群および、これらの組成を、癌など細胞増殖異常、発達障害、神経疾患、自己免疫/炎症疾患、生殖障害、および胎盤障害の診断、治療並びに予防に利用する方法に基づく。

【0206】

表1は、本発明の完全長ポリヌクレオチドおよびポリペプチド実施様態の命名の概略である。各ポリヌクレオチドおよびその対応するポリペプチドは、1つのIncyteプロジェクト識別番号(IncyteプロジェクトID)に相関する。各ポリペプチド配列は、ポリペプチド配列識別番号(ポリペプチドSEQ ID NO:)とIncyteポリペプチド配列番号(IncyteポリペプチドID)によって表示した。各ポリヌクレオチド配列は、ポリヌクレオチド配列識別番号(ポリヌクレオチドSEQ ID NO:)とIncyteポリヌクレオチドコンセンサス配列番号(IncyteポリヌクレオチドID)によって表示した。列6は本発明のポリペプチドおよびポリヌクレオチド配列に相当する物理的な完全長クローンのIncyte ID 番号を示す。完全長のクローンは列3に示すポリペプチド配列に少なくとも95%の配列同一性を有するポリペプチドをコードする。

20

【0207】

表2は、GenBankタンパク質(genpept)データベースとPROTEOMEデータベースとに対するBLAST分析で同定した、本発明のポリペプチド群に相同な配列群を示す。列1および列2はそれぞれ、本発明の各ポリペプチドに対するポリペプチド配列識別番号(ポリペプチドSEQ ID NO:)と、それに対応するIncyteポリペプチド配列番号(IncyteポリペプチドID)を示す。列3は、GenBankの最も近い相同体のGenBank識別番号(Genbank ID NO:)と最も近いPROTEOMEデータベース相同体のPROTEOMEデータベース識別番号(PROTEOME ID NO:)を示す。列4は、各ポリペプチドとその相同体1つ以上との間の一致に関する確率スコアを示す。列5は、GenBankとPROTEOMEデータベースの相同体の注釈を示し、更に該当箇所には関連する引用文献も示す。これらを引用することを以って本明細書の一部とする。

30

【0208】

表3は、本発明のポリペプチドの多様な構造的特徴を示す。列1および列2はそれぞれ、本発明の各ポリペプチドに対するポリペプチド配列識別番号(SEQ ID NO:)と、それに対応するIncyteポリペプチド配列番号(IncyteポリペプチドID)を示す。列3は、各ポリペプチドのアミノ酸残基数を示す。列4および列5はそれぞれ、GCG配列分析ソフトウェアパッケージのMOTIFSプログラム(Accelrys, Burlington MA)によって決定された、リン酸化およびグリコシル化の可能性のある部位を示す。列6は、シグネチャ配列、ドメイン、およびモチーフを含むアミノ酸残基を示す。列7は、タンパク質の構造/機能の分析のための分析方法を示し、該当箇所には更に、分析方法に利用した検索可能なデータベースを示す。

40

【0209】

表2および3は共に、本発明の各々のポリペプチドの特性を要約しており、それら特性

50

が、請求の範囲に記載されたポリペプチドが細胞成長、分化および細胞死関連タンパク質であることを確立している。例えば、SEQ ID NO:3はヒトのB悪性リンパ腫の短かいアイソフォーム(Genbank ID g12751141)とI428残基からI184残基まで36%の同一性を有することがBasic Local Alignment Search Tool (BLAST)によって示された(表2参照)。BLAST確率スコアは $8e-39$ であり、これは観測されたポリペプチド配列アラインメントが偶然に得られる確率を示している。SEQ ID NO:3はまた、1つのAppr- "1"-pプロセシング酵素ファミリー - ドメインと1つのWWEドメインを有するが、これは、隠れマルコフモデル(HMM)を基にした保存されたタンパク質ファミリードメインのPFAMデータベースにおいて、統計的に有意な一致を検索して決定された(表3参照)。MOTIFS解析および追加のBLAST解析よりのデータは、SEQ ID NO:3がB悪性リンパ腫(B aggressive lymphoma)の短かいアイソフォームであることを更に確証する証拠を提供する。 10

【0210】

別の例でSEQ ID NO:6は、M1残基からK199残基まで、ヒトのBCL7A(GenBank ID g929615)との95%の同一性を有することがBasic Local Alignment Search Tool (BLAST)によって示された(表2参照)。BLAST確率スコアは $1.2e-96$ であり、これは観測されたポリペプチド配列アラインメントが偶然に得られる確率を示している。MOTIFS解析および他のBLAST解析よりのデータは、SEQ ID NO:6がカルデスモンに対して相同的な1つの遺伝子であるBCL7Aであることを更に確証する証拠を提供する(表3参照)。

【0211】

また他の例として、SEQ ID NO:9はヒトの前立腺癌腫瘍抗原(GenBank ID g1932712)とL8残基からW158残基まで95%同一であることがBasic Local Alignment Search Tool (BLAST)によって示された(表2参照)。BLAST確率スコアは $1.5e-73$ であり、これは観測されたポリペプチド配列アラインメントが偶然に得られる確率を示している。SEQ ID NO:9は細胞小器官または細胞内領域に局在しており、ガラクトシド結合機能を有する。またガレクチン遺伝子ファミリー - の1メンバ - であることが、PROTEOMEデータベースを使ったBLAST解析によって示された。SEQ ID NO:9はまた1つのガラクトシド結合レクチンドメインを有するが、これは、隠れマルコフモデル(HMM)を基にした保存されたタンパク質ファミリードメインのPFAMデータベースにおいて、統計的に有意な一致を検索して決定された(表3参照)。BLIMPS、MOTIFS、及びPROFILESCAN解析よりのデータは、SEQ ID NO:9がガラクトシド結合レクチンである、さらに確証的な証拠を提供する。 20 30

【0212】

別の例でSEQ ID NO:17は、E19残基からK139残基までが、ヒトナチュラルキラー細胞転写物4(GenBank ID g14424787)との100%の同一性を有することがBasic Local Alignment Search Tool(BLAST)によって示された(表2参照)。BLAST確率スコアは $1.2e-72$ であり、これは観測されたポリペプチド配列アラインメントが偶然に得られる確率を示している。SEQ ID NO:17は細胞外領域に局在化し、細胞接着機能を有し、また1つのRGDモチーフであることが、PROTEOMEデータベースを使ったBLAST解析によって示された。BLAST-PRODOMおよびMOTIFS解析よりのデータは、SEQ ID NO:17がナチュラルキラー細胞タンパク質である、さらに実証的な証拠を提供する。

【0213】

別の例において、SEQ ID NO:23はヒトRTN2-A(GenBank ID g3435086)に対してM1残基からT281残基まで97%、V272残基からE472残基まで100%、の同一性を有することがBasic Local Alignment Search Tool (BLAST)によって決定された(表2参照)。BLAST確率スコアは $3e-248$ であり、これは観測されたポリペプチド配列アラインメントが偶然に得られる確率を示している。PROTEOMEデータベースを使ったBLAST解析によって示されたように、SEQ ID NO:23は小胞体と関連のあるタンパク質のreticulonファミリー - の1メンバ - であるReticulon 2(PROTEOME ID 342756|RTN2)に対して相同的であり、SEQ ID NO:23はまた神経内分泌分泌事象に関与し得るラットの神経内分泌特異的タンパク質(PROTEOME ID 331592|Rn.11075)に対しても相同的である。SEQ ID NO:23はまた、1つのReticulonドメインを有するが、これは隠れマルコフモデル(HMM)を基にした保存されたタンパク質ファミリードメ 40 50

イン群のPFAMデータベースにおいて、統計的に有意な一致を検索して決定された(表3参照)。MOTIFS、および付加的BLAST解析から得られたデータによって、SEQ ID NO:23がタンパク質のreticulonファミリーの1メンバーであるさらに実証的な証拠を提供する。

【0214】

また他の例として、SEQ ID NO:30はヒトの乳癌抗原NY-BR-1(GenBank ID g13469729)とR55残基からA273残基まで51%同一であることがBasic Local Alignment Search Tool (BLAST)によって示された(表2参照)。BLAST確率スコアは $1.4e-62$ であり、これは観察されたポリペプチド配列アラインメントが偶然に得られる確率を示している。SEQ ID NO:30は、アンキリン(Ank)リピートを含む或るタンパク質であり、タンパク間相互作用を媒介し得る。これは、BLAST解析にPROTEOMEデータベースを用いて判定された。SEQ ID NO:30はまた、1つのAnkリピートドメインを有するが、これは、隠れマルコフモデル(HMM)を基にした保存されたタンパク質ファミリードメインのPFAMデータベースにおいて、統計的に有意な一致を検索して決定された(表3参照)。BLIMPS解析よりのデータは、SEQ ID NO:30がAnkリピートを含むヒトの乳癌抗原NY-BR-1である、更なる実証的な証拠を提供する。

10

【0215】

別の例でSEQ ID NO:32は、マウスのclusterin(GenBank ID g192597)に対して、M2残基からF206残基まで76%、S194残基からR413残基まで76%の同一性を有することがBasic Local Alignment Search Tool (BLAST)によって示された(表2参照)。BLAST確率スコアは $2.3e-173$ であり、これは観察されたポリペプチド配列アラインメントが偶然に得られる確率を示している。SEQ ID NO:32はさらにclusterinであるタンパク質と相同性を有することがPROTEOMEデータベースを使ったBLAST解析によって示された。SEQ ID NO:32はまた、1つのclusterinドメインを有するが、これは隠れマルコフモデル(HMM)を基にした保存されたタンパク質ファミリードメイン群のPFAMデータベースにおいて、統計的に有意な一致を検索して決定された(表3参照)。BLIMPS、MOTIFS、及びPROFILESCAN解析よりのデータは、SEQ ID NO:32が糖タンパク質clusterinの構造的特徴を共有する、さらに実証的な証拠を提供する。

20

【0216】

別の例において、SEQ ID NO:44はヒトTRPM-2遺伝子産物(GenBank ID g292843)に対してSEQ ID NO:44のM1残基からV226残基(g292843の残基M1-V226)まで100%、SEQ ID NO:44のH227残基からE413残基(g292843の残基H263-E449)まで100%、の同一性を有することがBasic Local Alignment Search Tool (BLAST)によって決定された(表2参照)。BLAST確率スコアは $1.5e-222$ であり、これは観察されたポリペプチド配列アラインメントが偶然に得られる確率を示している。SEQ ID NO:44はさらにclusterinと相同性を有することがPROTEOMEデータベースを使ったBLAST解析によって示された。SEQ ID NO:44はまた、1つのclusterinドメインを有するが、これは隠れマルコフモデル(HMM)を基にした保存されたタンパク質ファミリードメイン群のPFAMデータベースにおいて、統計的に有意な一致を検索して決定された(表3参照)。BLIMPS、MOTIFS、BLAST及びPROFILESCAN解析よりのデータは、SEQ ID NO:44がclusterinである、さらに実証的な証拠を提供する。

30

【0217】

別の例でSEQ ID NO:55は、M1残基からM20残基およびV19残基からK168残基までが、ヒトのナチュラルキラー転写物4(GenBank ID g14424787、それぞれ残基M1-M20と残基V85-K234)との100%の同一性を有することがBasic Local Alignment Search Tool(BLAST)によって示された(表2参照)。BLAST確率スコアは $5.6e-89$ であり、これは観察されたポリペプチド配列アラインメントが偶然に得られる確率を示している。SEQ ID NO:55は細胞外およびナチュラルキラー細胞転写物であることが、PROTEOMEデータベースを使ったBLAST解析によって示された。追加的BLASTおよびMOTIFS解析よりのデータは、SEQ ID NO:55がナチュラルキラー細胞転写物4である、さらに実証的な証拠を提供する。

40

【0218】

SEQ ID NO:1-2、SEQ ID NO:4-5、SEQ ID NO:7-8、SEQ ID NO:10-16、SEQ ID NO:18-22、SEQ ID NO:24-29、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:33-43、SEQ ID NO:45-54、SEQ ID NO:56-

50

57は、同じ方法で解析され注釈された。SEQ ID NO:1-57の解析のためのアルゴリズム及びパラメータが表7で記述されている。

【0219】

表4に示すように、完全長ポリヌクレオチドの具体例は、cDNA配列またはゲノムDNA由来のコード（エキソン）配列を用いて、あるいはこれら2種類の配列を任意に組み合わせてアセンブリした。列1は本発明の各ポリヌクレオチドに対するポリヌクレオチド配列識別番号（ポリヌクレオチドSEQ ID NO）および対応するIncyteポリヌクレオチドコンセンサス配列番号（Incyte ID）、および塩基対の各ポリヌクレオチド配列の長さを示している。列2は、完全長ポリヌクレオチド実施態様のアセンブリに用いたcDNA配列および/またはゲノム配列の開始ヌクレオチド（5'）位置および終了ヌクレオチド（3'）位置、また、例えばSEQ ID NO:58-114を同定するため、或いはSEQ ID NO:58-114と、関連するポリヌクレオチド群とを区別するためのハイブリダイゼーション技術または増幅技術に有用なポリヌクレオチドの断片の開始ヌクレオチド（5'）位置および終了ヌクレオチド（3'）位置を示す。

10

【0220】

表4の列2で記述されたポリヌクレオチド断片は、具体的にはたとえば組織特異的なcDNAライブラリまたはプールされたcDNAライブラリに由来するIncyte cDNAを指す場合がある。或いは列2に記載したポリヌクレオチド断片は、完全長ポリヌクレオチドのアセンブリに寄与したGenBank cDNAまたはESTを指す場合もある。さらに、列2のポリヌクレオチド断片は、ENSEMBL（The Sanger Centre、英国ケンブリッジ）データベースから由来した配列（即ち「ENST」命名を含む配列）を同定し得る。或いは、列2で記述されたポリヌクレオチド断片は、NCBI RefSeq Nucleotide Sequence Records データベースから由来する場合もあり（即ち「NM」または「NT」の命名を含む配列）、またNCBI RefSeq Protein Sequence Recordsから由来する場合もある（即ち「NP」の命名を含む配列）。または列2のポリヌクレオチド断片は、「エキソンスティッチング（exon-stitching）」アルゴリズムにより結び合わせたcDNA及びGenscan予想エキソンの両方のアセンブリ体を意味する場合がある。例えば、FL_XXXXXX_N₁_N₂_YYYYY_N₃_N₄ と同定されるポリヌクレオチドは、アルゴリズムが適用される配列のクラスターの識別番号がXXXXXXであり、アルゴリズムにより生成される予測の番号がYYYYYであり、（もし存在すれば）N_{1,2,3...} が解析中に手動で編集された可能性のある特定のエキソンであるような「縫合された(stitched)」配列である（実施例5参照）。または、列2のポリヌクレオチド断片は「エキソンストレッチング（exon-stretching）」アルゴリズムにより結び合わせたエキソンのアセンブリ体を指す場合もある。例えば、FLXXXXXX_gAAAAA_gBBBBB_1_Nとして同定されるポリヌクレオチド配列は、「ストレッチされた」配列である。XXXXXXはIncyteプロジェクト識別番号、gAAAAAは「エキソンストレッチング」アルゴリズムを適用したヒトゲノム配列のGenBank識別番号、gBBBBBは一番近いGenBankタンパク質相同体のGenBank識別番号またはNCBI RefSeq 識別番号であり、Nは特定のエキソンを指す（実施例5を参照）。あるRefSeq配列が「エキソンストレッチング」アルゴリズムのためのタンパク質相同体として使用された場合には、RefSeq識別子（「NM」、「NP」、または「NT」によって表される）が、GenBank識別子（即ち、gBBBBB）の代わりに使用される場合もある。

20

30

40

【0221】

あるいは、接頭コードは手作業で編集されたか、ゲノムDNA配列から予測されたか、または配列解析方法の組み合わせから由来している構成配列を同定する。次の表は構成配列の接頭コードと、接頭コードに対応する同じ配列の分析方法の例を列記する（実施例4と5を参照）。

接頭コード	解析タイプやプログラムの例
GNN、GFG、ENST	例えば、GENSCAN (Stanford University, CA, USA) または FGENES (Computer Genomics Group, The Sanger Centre, Cambridge, UK)を用いた、ゲノム配列群からのエキソン予測
GBI	手動で編集された、ゲノム配列群の解析
FL	スティッチまたはストレッチゲノム配列(実施例5参照)
INCY	EST配列群の、ゲノムへのマッピングからの、完全長転写物とエキソンとの予想。エキソン群と生じる転写物とを予測するために、ゲノム位置とEST構成とのデータが組み合わされる。

10

20

【0222】

場合によっては、最終コンセンサスポリヌクレオチド配列を確認するために、表4に示すような配列の適用範囲と重複するIncyte cDNA適用範囲が得られたが、該当するIncyte cDNA識別番号は示さなかった。

【0223】

表5は、Incyte cDNA配列を用いてアセンブリされた完全長ポリヌクレオチドのための代表的なcDNAライブラリを示している。代表的なcDNAライブラリとはIncyte cDNAライブラリであり、これは、最も頻繁にはIncyte cDNA配列群によって代表されるが、これら配列は、上記のポリヌクレオチドをアセンブリおよび確認するために用いられた。cDNAライブラリを作製するために用いた組織およびベクターを表5に示し、表6で説明している。

30

【0224】

本発明にはCGDD変異体も含まれる。CGDDの変異体の様々な実施様態は、CGDDの機能的或いは構造的特徴の少なくとも一つを有することが可能で、かつCGDDアミノ酸配列に対して少なくとも約80%のアミノ酸配列同一性、或いは少なくとも約90%のアミノ酸配列同一性、更には少なくとも約95%のアミノ酸配列同一性を有する。

【0225】

種々の実施態様もまた、CGDDをコードするポリヌクレオチドをも含む。特定の実施態様において、本発明は、CGDDをコードする、SEQ ID NO:58-114からなる一群から選択された1配列を持つポリヌクレオチド配列を提供する。配列表に示したSEQ ID NO:58-114のポリヌクレオチド配列は等価RNA配列を含むが、窒素塩基チミンの出現はウラシルに置換され、糖のバックボーンはデオキシリボースではなくリボースから構成されている。

40

【0226】

本発明はまた、CGDDをコードするポリヌクレオチドの変異体を含む。詳細には、このような変異体ポリヌクレオチド配列は、CGDDをコードするポリヌクレオチド配列との、少なくとも約70%のポリヌクレオチド配列同一性、あるいは少なくとも約85%のポリヌクレオチド配列同一性、更には少なくとも約95%ものポリヌクレオチド配列同一性を持つこととなる。本発明の或る実施態様では、SEQ ID NO:58-114からなる群から選択されたアミノ酸配列と少なくとも約70%、或いは少なくとも約85%、または少なくとも約95%もの一致率を有するようなSEQ ID NO:58-114からなる群から選択された配列を有するポリヌクレオチドの変異配列を含む。上記の任意のポリヌクレオチドの変異体は、CGDDの機能的若

50

しくは構造的特徴を少なくとも1つ有するポリペプチドをコードし得る。

【0227】

更に或いは別法では、本発明の或るポリヌクレオチド変異体は、CGDDをコードするポリヌクレオチドのスプライス変異体である。或るスプライス変異体はCGDDをコードするポリヌクレオチドとの顕著な配列同一性を持つ部分(複数)を有し得るが、mRNAプロセッシング中のエキソン群の選択的スプライシングによって生ずる、配列の数ブロックの付加または欠失により、通常、より多数またはより少数のポリヌクレオチドを有することになる。或るスプライス変異体には、約70%未満、または約60%未満、あるいは約50%未満のポリヌクレオチド配列同一性が、CGDDをコードするポリヌクレオチドとの間で全長に渡って見られるが、このスプライス変異体の幾つかの部分には、CGDDをコードするポリヌクレオチドの各部との、少なくとも約70%、あるいは少なくとも約85%、または少なくとも約95%、なおまたは100%の、ポリヌクレオチド配列同一性を有することとなる。例えば、SEQ ID NO:73の配列を含むポリヌクレオチド、SEQ ID NO:110の配列を含むポリヌクレオチド、SEQ ID NO:111の配列を含むポリヌクレオチドは互いにスプライス変異体であり、SEQ ID NO:74の配列を含むポリヌクレオチド、SEQ ID NO:112の配列を含むポリヌクレオチド、SEQ ID NO:113の配列を含むポリヌクレオチドは互いにスプライス変異体であり、SEQ ID NO:87の配列を含むポリヌクレオチド、SEQ ID NO:99の配列を含むポリヌクレオチド、SEQ ID NO:114の配列を含むポリヌクレオチドは互いにスプライス変異体であり、SEQ ID NO:69の配列を含むポリヌクレオチド、SEQ ID NO:70の配列を含むポリヌクレオチドは互いにスプライス変異体であり、SEQ ID NO:71の配列を含むポリヌクレオチド、SEQ ID NO:72の配列を含むポリヌクレオチドは互いにスプライス変異体であり、SEQ ID NO:90の配列を含むポリヌクレオチド、SEQ ID NO:91の配列を含むポリヌクレオチド、SEQ ID NO:101の配列を含むポリヌクレオチド、SEQ ID NO:102の配列を含むポリヌクレオチドは互いにスプライス変異体であり、SEQ ID NO:94の配列を含むポリヌクレオチド、SEQ ID NO:104の配列を含むポリヌクレオチドは互いにスプライス変異体であり、SEQ ID NO:95の配列を含むポリヌクレオチド、SEQ ID NO:96の配列を含むポリヌクレオチドは互いにスプライス変異体である。上記のスプライス変異体は何れも、CGDDの機能的或いは構造的特徴の少なくとも1つを有する或るポリペプチドをコードし得る。

【0228】

CGDDをコードする種々のポリヌクレオチド配列が遺伝暗号の縮重によって作り出され、中には、既知のいかなる天然遺伝子のポリヌクレオチド配列群とも最小の類似性しか有しない配列もあることは、当業者には理解されよう。したがって本発明には、可能コドン選択に基づく組合せの選択によって産出し得るあらゆる可能なポリヌクレオチド配列のバリエーションを網羅し得る。天然CGDDのポリヌクレオチド配列に適用される標準的なトリプレット遺伝暗号を基に、これらの組合せが成される。このような全ての変異は明確に開示されていると考慮されたい。

【0229】

CGDDとその変異体とをコードするポリヌクレオチドは一般に、好適に選択されたストリンジェンシー条件下で天然CGDDのポリヌクレオチドとハイブリダイズ可能であるが、非天然コドン群を含めるなどの実質的に異なるコドン使用を有するCGDD 或いはその誘導体をコードするポリヌクレオチドを作り出すことは、有益であり得る。宿主が特定コドンを利用する頻度に基づいて、特定の真核宿主または原核宿主に発生するペプチドの発現率を高めるようにコドンを選択し得る。コードされるアミノ酸配列を改変せずに、CGDDおよびその誘導体をコードするヌクレオチド配列を実質的に改変する別の理由には、天然配列から作られる転写物より例えば長い半減期など好ましい特性を備えるRNA転写物を作ることもある。

【0230】

本発明にはまた、CGDDとその誘導体とをコードする、ポリヌクレオチド群またはそれらの断片の、完全に合成化学による作製も含む。作製後、当分野で周知の試薬を用いて、この合成ポリヌクレオチドを任意の様々な入手可能な発現ベクター及び細胞系中に挿入し

得る。更に、合成化学を用いてCGDD またはその任意の断片をコードする或るポリヌクレオチドに突然変異を誘導し得る。

【0231】

本発明の実施態様には、種々のストリンジェンシー条件下で、請求項に記載のポリヌクレオチド、特に、SEQ ID NO:58-114に示す配列を持つポリヌクレオチド、及びそれらの断片群にハイブリダイズ可能なポリヌクレオチド群が含まれる(Wahl, G.MおよびS.L. Berger (1987) *Methods Enzymol.*152:399-407、Kimmel, A.R.(1987)*Methods Enzymol.*152:507-511)。アニーリングおよび洗浄条件を含むハイブリダイゼーションの条件は、「定義」に記載した。

【0232】

DNAシーケンシングの方法は当分野では公知であり、本発明のいずれの実施例もDNAシーケンシング方法を用いて実施可能である。DNAシーケンシング方法には酵素を用い得る。例えばDNAポリメラーゼ1のクレノウ断片、SEQUENASE (US Biochemical, Cleveland OH)、Taqポリメラーゼ (Applied Biosystems)、熱安定性T7ポリメラーゼ (Amersham Biosciences, Piscataway NJ)を用い得る。あるいは、例えばELONGASE増幅システム (Invitrogen, Carlsbad CA)において見られるように、ポリメラーゼと校正エキソヌクレアーゼとを併用し得る。好適には、MICROLAB2200液体転移システム (Hamilton, Reno, NV)、PTC200サーマルサイクラー (MJ Research, Watertown MA) およびABI CATALYST 800サーマルサイクラー (Applied Biosystems)などの装置を用いて配列の準備を自動化する。次に、ABI 373或いは377 DNAシーケンシングシステム (Applied Biosystems)、MEGABACE 1000 DNAシーケンシングシステム (Amersham Biosciences)または当分野でよく知られている他の方法を用いてシーケンシングを行う。結果として得られた配列を当分野でよく知られている種々のアルゴリズムを用いて分析する (Ausubel 他, 前出, 7章, Meyers, R.A. (1995) *Molecular Biology and Biotechnology*, Wiley VCH, New York NY, 856-853ページ)。

【0233】

当分野で周知の、PCR法をベースにした種々の方法と、部分的ヌクレオチド配列とを利用して、CGDDをコードする核酸を伸長し、プロモーターや調節エレメントなど、上流にある配列を検出し得る。例えば、使用し得る方法の1つである制限部位PCR法は、ユニバーサルプライマーおよびネステッドプライマーを用いてクローニングベクター内のゲノムDNAからの未知の配列を増幅する方法である (Sarkar, G. (1993) *PCR Methods Applic.*2:318-322)。別の方法にインバースPCR法があり、これは広範な方向に伸長させたプライマーを用いて環状化した鋳型から未知の配列を増幅する方法である。鋳型は、或る既知のゲノム遺伝子座およびその周辺の配列群からなる制限酵素断片群から得る (Triglia, T. 他 (1988) *Nucleic Acids Res.*16:8186)。第3の方法としてキャプチャPCR法があり、これはヒト及び酵母菌人工染色体DNAの既知の配列に隣接するDNA断片をPCR増幅する方法に参与している (Lagerstrom, M. 他 (1991) *PCR Methods Applic.*1:111119)。この方法では、PCRを行う前に複数の制限酵素の消化及びライゲーション反応を用いて未知の配列領域内に組換え二本鎖配列を挿入することが可能である。未知の配列群を検索するために用い得る他の複数の方法も当分野で既知である (Parker, J.D 他 (1991) *Nucleic Acids Res.*19:30553060)。更に、PCR、ネステッドプライマー及びPromoterFinderライブラリ (Clontech, Palo Alto CA)を用いてゲノムDNAをウォーキングすることができる。この手順は、ライブラリ類をスクリーニングする必要がなく、イントロン/エキソン接合部の発見に有用である。全てのPCRベースの方法では、市販ソフトウェア、例えばOLIGO 4.06プライマー分析ソフトウェア (National Biosciences, Plymouth MN) 或いは別の好適なプログラムを用いて、長さが約22~30ヌクレオチド、GC含有率が約50%以上で、温度約68 ~ 72 で鋳型に対してアニーリングするように、プライマー群を設計し得る。

【0234】

完全長cDNA群をスクリーニングする際は、より大きなcDNA群を含むようにサイズ選択されたライブラリ群を用いるのが好ましい。更に、ランダムプライマーのライブラリは、遺

10

20

30

40

50

伝子群の5'領域を有する配列をしばしば含んでおり、オリゴd(T)ライブラリが完全長cDNAを作製できない状況に対して好適である。ゲノムライブラリ群は、5'非転写調節領域への、配列の伸長に有用であろう。

【0235】

市販のキャピラリー電気泳動システムを用いて、シーケンシングまたはPCR産物のサイズを分析し、またはそのヌクレオチド配列を確認することができる。具体的には、キャピラリーシーケンシングは、電気泳動による分離のための流動性ポリマーと、4つの異なるヌクレオチドに特異的であるような、レーザーで刺激される蛍光色素と、発光された波長の検出に利用するCCDカメラとを有し得る。出力/光の強度は、適切なソフトウェア(Applied Biosystems社のGENOTYPER、SEQUENCE NAVIGATOR等)を用いて電気信号に変換し得る。サンプルのロードからコンピュータ分析及び電子データ表示までの全プロセスがコンピュータ制御可能である。キャピラリー電気泳動法は、特定のサンプルに少量しか存在しないようなDNA小断片のシーケンシングに特に適している。

10

【0236】

本発明の別の実施態様では、CGDDをコードするポリヌクレオチドまたはその断片を、CGDD、その断片または機能的等価物を適切な宿主細胞内に発現させる組換えDNA分子にクローニングし得る。遺伝暗号に固有の縮重により、実質的に同じ或いは機能的に等価のポリヌクレオチドをコードする別のポリヌクレオチドが作られ、これらの配列をCGDDの発現に利用可能である。

【0237】

種々の目的で、CGDDをコードする配列群を改変するために、当分野で一般的に既知の複数の方法を用いて、本発明のポリヌクレオチド群を組換えることができる。この組換えの多様な目的には、遺伝子産物のクローン化の、あるいはプロセッシングおよび/または発現のモディフィケーションが含まれるが、これらに限定されるものではない。遺伝子断片及び合成オリゴヌクレオチドのランダムなフラグメンテーション及びPCR再アセンブリによるDNAシャッフリングを用い、ヌクレオチド配列を組み換えることが可能である。例えば、オリゴヌクレオチドを介した部位特異的変異誘導を利用して、新規な制限部位の作製、グリコシル化パターンの変更、コドン優先の変更、スプライス変異体の生成等を起こす突然変異を導入し得る。

20

【0238】

本発明のヌクレオチドは、MOLECULARBREEDING (Maxygen Inc., Santa Clara CA, 米国特許第5,837,458号、Chang, C.-C.他(1999) Nat. Biotechnol. 17:793-797、Christians, F.C. 他(1999) Nat. Biotechnol. 17:259-264、Cramer, A. 他(1996) Nat. Biotechnol. 14:315-319)などのDNAシャッフリング技術の対象となり得る。これにより、生物活性または酵素活性、あるいは他の分子や化合物と結合する能力など、CGDDの生物学的特性を改変あるいは改良し得る。DNAシャッフリングは、遺伝子断片のPCRを介する組換えを用いて遺伝子変異体のライブラリを作製するプロセスである。ライブラリはその後、所望の特性を持つ遺伝子変異体群を同定する、選択またはスクリーニングの手順を経る。続いて、これら好適な変異体をプールし、更に反復してDNAシャッフリングおよび選択/スクリーニングを行い得る。従って、「人工的な」育種及び急速な分子の進化によって遺伝的多様性が生み出される。例えば、ランダムポイント突然変異を持つ単一の遺伝子の断片を組換えて、スクリーニングし、その後所望の特性が最適化されるまでシャッフリングし得る。或いは、所与の遺伝子を同種または異種のいずれかから得た同一遺伝子ファミリーの相同遺伝子と組み換え、それによって天然に存在する複数の遺伝子の遺伝多様性を、管理され制御可能な方法で、最大化させることができる。

30

40

【0239】

別の実施態様では、CGDDをコードするポリヌクレオチドは、当分野で周知の化学的方法を用いて、全体或いは一部を合成可能である(例えば、Caruthers, M.H.他(1980) Nucleic Acids Symp. Ser. 7:215-223、Horn, T.他(1980) Nucleic Acids Symp. Ser. 7:225-232)。あるいは、CGDD自体またはその断片を当分野で既知の化学的方法を用いて合成し得

50

る。例えば、種々の液相または固相技術を用いてペプチド合成を行うことができる (Creighton, T. (1984) Proteins, Structures and Molecular Properties, WH Freeman, New York NY55-60ページ; Roberge, J.Y.他(1995) Science 269:202-204)。自動合成はABI 431Aペプチドシンセサイザ (Applied Biosystems) を用いて達成し得る。CGDDのアミノ酸配列、または任意のその一部は更に、直接合成の際に改変することにより、及び/または他のタンパク質からの配列群または任意のその一部と組合せることにより、変異体ポリペプチドを作製、または、或る天然ポリペプチドの1配列を有するポリペプチドを作製し得る。

【0240】

ペプチドは、分離用高速液体クロマトグラフィーを用いて実質上精製可能である (Chiez, R.M.及び F.Z. Regnier (1990) Methods Enzymol. 182:392-421)。合成ペプチドの組成は、アミノ酸分析またはシーケンシングによって確認することができる (前出のCreighton, 28-53ページ)。

【0241】

生物学的に活性なCGDDを発現させるために、CGDDをコードするポリヌクレオチドまたはその誘導体を好適な発現ベクターに挿入し得る。好適な発現ベクターとは、好適な宿主に挿入されたコーディング配列の転写および翻訳の制御に必要なエレメント群を持つベクターである。必要なエレメントとしては、ベクター内およびCGDDをコードするポリヌクレオチドにおける調節配列 (例えばエンハンサー、構成型および発現誘導型のプロモーター、5'および3'の非翻訳領域など) が含まれる。必要なエレメント群は、強度および特異性が様々である。特異的な開始シグナル類を用いて、CGDDをコードするポリヌクレオチド群の、より効率的な翻訳を達成することもできる。開始シグナルの例には、ATG開始コドンと、コザック配列など近傍の配列とが含まれる。CGDDをコードするポリヌクレオチド配列、およびその開始コドンや、上流の調節配列が好適な発現ベクターに挿入された場合は、更なる転写制御シグナルや翻訳制御シグナルは必要ないこともある。しかしながら、コード配列あるいはその断片のみが挿入された場合は、インフレームATG開始コドンなど外来性の翻訳制御シグナルが発現ベクターに含まれるようにすべきである。外来性の翻訳エレメント及び開始コドンは、様々な天然物及び合成物を起源とし得る。用いられる特定の宿主細胞系に好適なエンハンサーを含めることで発現の効率を高めることが可能である (Scharf, D.他(1994) Results Probl.Cell Differ. 20:125162)。

【0242】

当業者に周知の方法を用いて、CGDDをコードするポリヌクレオチド配列と、好適な転写および翻訳制御エレメントとを持つ発現ベクターを作製し得る。これらの方法には、in vitro組換えDNA技術、合成技術、及びin vivo遺伝子組換え技術が含まれる (SambrookおよびRussell, 前出, 1-4、8章、Ausubel 他, 前出, 1、3、15章)。

【0243】

種々の発現ベクター/宿主系を利用して、CGDDをコードするポリヌクレオチドの保持及び発現が可能である。限定するものではないがこのような発現ベクター/宿主系には、組換えバクテリオファージ、プラスミドまたはコスミドDNA発現ベクターで形質転換させた細菌や、酵母菌発現ベクターで形質転換させた酵母菌などの微生物や、ウイルス発現ベクター (例えばバキュロウイルス) に感染した昆虫細胞系や、ウイルス発現ベクター (例えばカリフラワーモザイクウイルス: CaMVまたはタバコモザイクウイルス: TMV) または細菌発現ベクター (例えばTiまたはpBR322プラスミド) で形質転換させた植物細胞系、動物細胞系等がある (SambrookおよびRussell, 前出、Ausubel 他、前出、Van Heeke, G. および S.M. Schuster (1989) J. Biol. Chem. 264:55035509、Engelhard, E.K. 他(1994) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91:3224-3227、Sandig, V.他(1996) Hum.Gene Ther. 7:1937-1945、Takamatsu, N. (1987) EMBO J. 6:307-311; 『マグローヒル科学技術年鑑』 (The McGraw Hill Yearbook of Science and Technology) (1992) McGraw Hill, New York NY, 191-196ページ、Logan, J.およびT. Shenk (1984) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:3655-3659、Harrington, J.J. 他(1997) Nat. Genet. 15:157-355)。レトロウイルス、アデノウ

イルス、ヘルペスウイルスまたはワクシニアウイルス由来の発現ベクター、または種々の細菌性プラスミド由来の発現ベクターを用いて、ポリヌクレオチドを標的器官、組織または細胞集団へ送達することができる (Di Nicola, M.他 (1998) *Cancer Gen. Ther.* 5:350-356; Yu, M.他 (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:6340-6344; Buller, R.M.他 (1985) *Nature* 317:813-815; McGregor, D.P.他 (1994) *Mol. Immunol.* 31:219-226; Verma, I.M.およびN. Somia (1997) *Nature* 389:239-242)。本発明は使用する宿主細胞によって限定されない。

【0244】

細菌系では、多数のクローニングベクター及び発現ベクターを、CGDDをコードするポリヌクレオチド群の使用目的に応じて選択できる。例えばCGDDをコードするポリヌクレオチドの慣例的なクローニング、サブクローニング、増殖には、PBLUESCRIPT(Stratagene, La Jolla CA)またはPSPORT1プラスミド(Invitrogen)などの多機能の大腸菌ベクターを用いることができる。CGDDをコードするポリヌクレオチドをこのベクターのマルチクローニング部位にライゲーションするとlacZ遺伝子が破壊され、組換え分子を持つ形質転換された細菌の同定のための比色スクリーニング法が可能となる。更にこれらのベクターは、クローニングされた配列における*in vitro*転写、ジデオキシのシーケンシング、ヘルパーファージによる一本鎖のレスキュー、入れ子状態の欠失の生成にも有用であろう (Van Heeke, G. および S.M. Schuster (1989) *J. Biol. Chem.* 264:5503-5509)。CGDDが多量に、例えば抗体の産生などに必要な場合は、CGDDの発現をハイレベルで誘導するベクターが使用できる。例えば、強力な誘導SP6バクテリオファージプロモーターまたは誘導T7バクテリオファージプロモーターを含むベクターが使用できる。

【0245】

CGDDの産生には酵母の発現系を使用できる。因子、アルコールオキシダーゼ、PGHプロモーター等の構成型或いは誘導型のプロモーターを含む多数のベクターが、出芽酵母菌 (*Saccharomyces cerevisiae*) またはピキア酵母 (*Pichia pastoris*) に使用可能である。更に、このようなベクターは、発現したタンパク質の、分泌か細胞内での保持かのどちらかを指示するものであり、安定した増殖のために宿主ゲノムの中に外来ポリヌクレオチド配列群を組み込むことを可能にする (Ausubel 他、前出; Bitter, G.A. 他、(1987) *Methods Enzymol.* 153:516-544; Scorer, C.A.他 (1994) *Bio/Technology* 12:181-184)。

【0246】

CGDDの発現には植物系も用い得る。CGDDをコードするポリヌクレオチドの転写は、ウイルスプロモーター、例えば単独であるいはTMV由来のオメガリーダー配列と組み合わせるようなCaMV由来の35Sおよび19Sプロモーターによって促進し得る (Takamatsu, N. (1987) *EMBO J* 6:307-311)。あるいは、RUBISCOの小サブユニットなどの植物プロモーター、または熱ショックプロモーターを用い得る (Coruzzi, G. 他 (1984) *EMBO J.* 3:1671-1680; Broglie, R.他 (1984) *Science* 224:838-843; および Winter, J.他 (1991) *Results Probl. Cell Differ.* 17:85105)。これらの構成物は、直接DNA形質転換または病原体を媒介とする形質移入によって、植物細胞内に導入可能である (『マグローヒル科学技術年鑑』 (The McGraw Hill Yearbook of Science and Technology) (1992) McGraw Hill New York NY, 191-196ページ)。

【0247】

哺乳類細胞においては、多数のウイルスベースの発現系を利用し得る。アデノウイルスが発現ベクターとして用いられる場合、後発プロモーター及び3連リーダー配列からなるアデノウイルス転写物/翻訳複合体にCGDDをコードするポリヌクレオチドを連結し得る。ウイルスのゲノムの非必須のE1またはE3領域への挿入により、宿主細胞にCGDDを発現する感染ウイルスを得ることが可能である (Logan, J.及びShenk, T. (1984) *Proc. Natl. Acad. Sci.* 81:3655-3659)。更に、ラウス肉腫ウイルス (RSV) エンハンサー等の転写エンハンサーを用いて、哺乳動物宿主細胞における発現を増大させ得る。SV40またはEBVをベースにしたベクターを用いてタンパク質を高レベルで発現させることもできる。

【0248】

10

20

30

40

50

また、ヒト人工染色体 (HAC) 類を用いて、或るプラスミドに含まれ得る断片やプラスミドから発現し得る断片より大きなDNAの断片群を送達し得る。治療のために約 6 kb ~ 10 MbのHACsが作製され、従来の送達方法 (リポソーム、ポリカチオンアミノポリマー、またはベシクル) で送達されている (Harrington, J.J.他 (1997) Nat. Genet. 15:157-355)。

【0249】

CGDDの、細胞株における安定した発現は、哺乳動物系の組換えタンパク質の長期にわたる産生のために望ましい。例えば、CGDD をコードするポリヌクレオチドを細胞株に形質転換するために、発現ベクター類と、同じベクター上の或いは別のベクター上の選択可能マーカー遺伝子とを用い得る。用いる発現ベクターは、ウイルス起源の複製要素、および/または内因性の発現要素を持ち得る。ベクターの導入後、選択培地に移す前に強化培地で約 1 ~ 2 日間、細胞を増殖させ得る。選択可能マーカーの目的は選択剤への抵抗性を与えることであり、選択可能マーカーの存在により、導入した配列をうまく発現するような細胞の成長および回収が可能となる。安定的に形質転換された細胞の耐性クローンは、その細胞型に適した組織培養技術を用いて増殖できる。

10

【0250】

任意の数の選択系を用いて、形質転換細胞株を回収できる。限定するものではないがこのような選択系には、*tk*⁻細胞のために用いられる単純ヘルペスウイルスのチミジンキナーゼ遺伝子と、*apr*⁻細胞のために用いられる単純ヘルペスウイルスのアデニンホスホリボシルトランスフェラーゼ遺伝子がある (Wigler, M.他 (1977) Cell 11:223-232; Lowy, I.他 (1980) Cell 22:817-823)。また、選択の基礎として代謝拮抗物質、抗生物質あるいは除草剤への耐性を用いることができる。例えば *dhfr* はメトトレキセートに対する耐性を与え、*neo* はアミノグリコシドであるネオマイシンおよび G-418 に対する耐性を与え、*als* はクロルスルフロンに対する耐性を、*pat* はホスフィノトリシンアセチルトランスフェラーゼに対する耐性を各々与える (Wigler, M. 他 (1980) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:3567-3570; Colbere-Garapin, F.他 (1981) J. Mol. Biol. 150:1-14)。その他の選択可能な遺伝子、例えば、代謝のための細胞の必要条件を変える *trpB* 及び *hisD* は、文献に記載されている (Hartman, S.C. 及び R.C. Mulligan (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:8047-8051)。可視マーカー類、例えばアントシアニンや、緑色蛍光タンパク質 (GFP; Clontech)、グルクロニダーゼおよびその基質であるグルクロニド、またはルシフェラーゼおよびその基質であるルシフェリンを用い得る。これらのマーカーを用いて、形質転換体を同定するだけでなく、特定のベクター系に起因しうる一過性あるいは安定したタンパク質発現を定量することも可能である (Rhodes, C.A. (1995) Methods Mol. Biol. 55:121-131)。

20

30

【0251】

マーカー遺伝子発現の有無によって目的の遺伝子の存在が示唆されても、その遺伝子の存在および発現の確認が必要な場合もある。例えば、CGDD をコードする配列が或るマーカー遺伝子配列の中に挿入された場合、CGDD をコードするポリヌクレオチド群を有する形質転換された細胞群は、マーカー遺伝子機能の欠落により特定できる。または、CGDD をコードする 1 配列とタンデムに、或るマーカー遺伝子を、単一プロモーターの制御下で配置することもできる。誘導または選択に応答したマーカー遺伝子の発現は通常、タンデム遺伝子の発現も示す。

40

【0252】

一般に、CGDDをコードするポリヌクレオチドを含み且つCGDDを発現する宿主細胞は、当業者によく知られている種々の方法を用いて同定することが可能である。限定するものではないが当業者によく知られている方法には、DNA-DNA或いはDNA-RNAハイブリダイゼーションと、PCR増幅とがあり、また、核酸配列或いはタンパク質配列の検出、定量、或いはその両方を行うための、膜系、溶液ベース或いはチップベースの技術を含む、タンパク質の生物学的検定法または免疫学的検定法もある。

【0253】

50

CGDDの発現の検出及び計測のための、特異的なポリクローナル抗体またはモノクローナル抗体のどちらかを用いる免疫学的方法は、当分野で既知である。このような技法の例には、酵素に結合した免疫吸着剤検定法 (ELISA)、ラジオイムノアッセイ (RIA)、蛍光活性化細胞選別 (FACS、フローサイトメトリー) などがある。CGDD上の2つの非干渉エピトープに反応するモノクローナル抗体群を用いた、2部位のモノクローナルベースイムノアッセイ (two-site, monoclonal-based immunoassay) が好ましいが、競合結合試験を用いることもできる。これらのアッセイおよび他のアッセイは、当分野で周知である (Hampton, R.他 (1990) Serological Methods, a Laboratory Manual, APS Press, St. Paul MN, Sect.IV、Coligan, J.E.他 (1997) Current Protocols in Immunology, Greene Pub.Associates and Wiley-Interscience, New York NY; Pound, J.D. (1998) Immunochemical Protocols, Humana Press, Totowa NJ)。

10

【0254】

多岐にわたる標識方法及び抱合方法が、当業者に知られており、様々な核酸アッセイおよびアミノ酸アッセイにこれらの方法を用い得る。CGDDをコードするポリヌクレオチドに関連する配列を検出するための、標識されたハイブリダイゼーションプローブ或いはPCRプローブを生成する方法には、オリゴ標識化、ニックトランスレーション、エンドラベリング (末端標識化)、または標識されたヌクレオチドを用いるPCR増幅が含まれる。別法として、CGDDをコードするポリヌクレオチド群、またはその任意の断片群を、mRNAプローブを生成するためのベクターにクローニングできる。このようなベクターは、当分野において知られており、市販もされており、T7、T3またはSP6などの好適なRNAポリメラーゼおよび標識されたヌクレオチドを加えて、in vitroでRNAプローブの合成に用いることができる。これらの方法は、例えばAmersham Biosciences、Promega (Madison WI)、U.S. Biochemicalなどの種々の市販キットを用いて実行できる。検出を容易にするために用い得る好適なレポーター分子あるいは標識には、基質、補助因子、インヒビター、磁気粒子のほか、放射性核種、酵素、蛍光剤、化学発光剤、発色剤などがある。

20

【0255】

CGDDをコードするポリヌクレオチドで形質転換した宿主細胞を、細胞培地での該タンパク質の発現と回収とに好適な条件下で培養しうる。形質転換細胞から製造されたタンパク質が分泌されるか細胞内に留まるかは、使用される配列、ベクター、あるいはその両者に依存する。CGDDをコードするポリヌクレオチドを持つ発現ベクターは、原核細胞膜または真核細胞膜を通してのCGDDの分泌を誘導するシグナル配列群を持つように設計できることは、当業者には理解されよう。

30

【0256】

更に、宿主細胞株の選択は、挿入したポリヌクレオチドの発現をモジュレートする能力、または発現したタンパク質を所望の形に処理する能力によって行い得る。限定するものではないがこのようなポリペプチドの修飾には、アセチル化、カルボキシル化、グリコシル化、リン酸化、脂質化およびアシル化がある。タンパク質の「プレプロ」または「プロ」形を切断する翻訳後のプロセッシングを利用して、タンパク質の標的への誘導、折りたたみ及び/または活性を特定することが可能である。翻訳後の活性のための、特定の細胞装置および特徴的な機序を持つ、種々の宿主細胞 (例えばCHO、HeLa、MDCK、HEK293、WI38など) は、American Type Culture Collection (ATCC, Manassas, VA) から入手可能であり、外来タンパク質の正しい修飾およびプロセッシングを確実にするように選択し得る。

40

【0257】

本発明の別の実施態様では、CGDDをコードする、天然ポリヌクレオチド、修飾ポリヌクレオチド、または組換えポリヌクレオチドを或る異種配列に結合させることにより、上記した任意の宿主系内で、融合タンパク質の翻訳を生じ得る。例えば、市販の抗体によって認識できる異種部分を含むキメラCGDDタンパク質は、CGDDの活性のインヒビターに対するペプチドライブラリのスクリーニングを促進し得る。また、異種タンパク質部分および異種ペプチド部分も、市販されている親和性マトリックスを用いて融合タンパク質の精製を促進し得る。限定されるものではないがこのような部分には、グルタチオンSトランス

50

フェラーゼ (GST)、マルトース結合タンパク質 (MBP)、チオレドキシン (Trx)、カルモジュリン結合ペプチド (CBP)、6-His、FLAG、c-myc、赤血球凝集素 (HA) がある。GSTは固定化グルタチオン上で、MBPはマルトース上で、Trxはフェニルアルシンオキシド上で、CBPはカルモジュリン上で、そして6-Hisは金属キレート樹脂上で、同族の融合タンパク質の精製を可能にする。FLAG、c-mycおよび赤血球凝集素 (HA) は、これらのエピトープ標識を特異的に認識する市販のモノクローナル抗体およびポリクローナル抗体を用いた、融合タンパク質の免疫親和性精製を可能にする。また、CGDDをコードする配列と異種タンパク質配列との間に、タンパク質分解切断部位を融合タンパク質が持つように遺伝子操作すると、CGDDが、精製後に異種部分から切断され得る。融合タンパク質の発現および精製方法は、前出のAusubel他 (前出、10および16章) に記載がある。市販されている種々のキットを用いて融合タンパク質の発現および精製を促進することもできる。

10

【0258】

別の実施態様では、TNTウサギ網状赤血球可溶化液またはコムギ胚芽抽出系 (Promega) を用いて *in vitro* で、放射標識CGDDを合成しうる。これらの系は、T7、T3またはSP6プロモーターと機能的に連結したタンパク質コード配列の転写及び翻訳をカップルさせる。翻訳は、例えば³⁵Sメチオニンのような放射能標識したアミノ酸前駆体の存在下で起こる。

【0259】

本発明のCGDDまたはその断片を用いて、CGDDに特異結合する化合物をスクリーニングすることができる。1つ以上の試験化合物をCGDDへの特異的な結合についてスクリーニングすることができる。種々の実施例において、CGDDに対する特異結合について、1、2、3、4、5、10、20、50、100または200の試験化合物をスクリーンすることができる。試験化合物の例として、抗体、アンティカリン (anticalins)、オリゴヌクレオチド、タンパク質 (例えばリガンドや受容体)、または小分子が挙げられる。

20

【0260】

関連する実施例において、CGDD、CGDDの変異体、あるいはCGDDおよび/または1つ以上のCGDD変異体とのある組み合わせへの試験化合物 (抗体等) の結合/をスクリーニングするために、CGDD変異体を用いることができる。ある実施例においては、SEQ ID NO:1-57の配列の正確な配列を有するCGDDではなく、CGDDの変異体に結合する化合物のスクリーニングにCGDDの変異体を用いることができる。このようなスクリーニングを行うために使うCGDD変異体はCGDDに約50%から約99%の範囲で配列同一性を有し得る。また、種々の実施例で60%、70%、75%、80%、85%、90%および95%の配列同一性を有することができる。

30

【0261】

或る実施態様でCGDDへの特異結合スクリーニングで同定された化合物は、GCRECの天然リガンドに密接に関連する場合があります。例えばリガンドやその断片であり、または天然基質や、構造的または機能的な擬態物質 (mimetic)、あるいは自然結合パートナーである (Coligan, J.E. 他 (1991) *Current Protocols in Immunology* 1(2):5章)。別の実施態様では、こうして同定した化合物は、受容体CGDDの天然リガンドでありうる (Howard, A. D. 他 (2001) *Trends Pharmacol. Sci.* 22:132-140、Wise, A. 他 (2002) *Drug Discovery Today* 7:235-246)。

【0262】

別の実施態様でCGDDへの特異結合スクリーニングで同定した化合物は、CGDDが結合する天然受容体に、或いは少なくとも該受容体の或る断片に、または例えばリガンド結合部位や結合ポケットの全体または一部を含む該受容体の或る断片に、密接に関連し得る。例えば該化合物は、シグナルを伝播可能なCGDD受容体の場合や、シグナルを伝播できないCGDDおとり受容体の場合がある (Ashkenazi, A. および V.M. Divit (1999) *Curr. Opin. Cell Biol.* 11:255-260、Mantovani, A. 他 (2001) *Trends Immunol.* 22:328-336)。該化合物は既知の技術を用いて合理的に設計できる。こうした技術の例としては、化合物エタネルセプト (etanercept) (ENBREL; Amgen Inc., Thousand Oaks CA) 作製に用いた技術を含む。エタネルセプトは、ヒトのリウマチ様関節炎の治療に有効である。エタネルセプトは遺伝子操作されたp75腫瘍壊死因子 (TNF) 受容体ダイマーであり、ヒトIgG₁のFc部分に連結さ

40

50

れている (Taylor, P.C. 他 (2001) *Curr. Opin. Immunol.* 13:611-616)。

【0263】

一実施例においては、類似または異なる特異性を有する2つ以上の抗体のCGDD、CGDDの断片、またはCGDDの変異体への特異的結合についてスクリーニングし得る。こうしてスクリーニングした抗体の結合特異性を選択し、CGDDの特定の断片または変異体を同定できる。1つの実施態様で、CGDDの特定の断片または変異体を優先的に同定できる結合特異性を持つ抗体を選択できる。他の実施態様においては、CGDD産生の増加、減少あるいはその他の異常産生を伴う特定疾患または状態を優先的に診断できるように抗体の結合特異性を選ぶことができる。

【0264】

1つの実施態様で、anticalinを、CGDDまたはその断片あるいは変異体への特異結合につきスクリーニングできる。anticalinはリポカリン足場に基づいて作成されたりガンド結合タンパク質である (Weiss, G.A. 及び H.B. Lowman (2000) *Chem. Biol.* 7:R177-R184、Skerra, A. (2001) *J. Biotechnol.* 74:257-275)。リポカリンのタンパク質構造には、8つの逆平行ベータストランドを持つバレルが含まれ得り、それらのストランドはバレルの開放末端に4つのループを支持する。これらのループはリポカリンの天然リガンド結合部位を形成し、この部位は *in vitro* でアミノ酸置換によって再度人工操作して、新規な結合特異性を与えることができる。このアミノ酸置換は当分野で既知の方法または本明細書に記載の方法を用いて行うことができる。また、保存的置換 (例えば、結合特異性を変えないような置換)、あるいは、結合特異性を少し、中等度、または大きく変えるよう

10

20

【0265】

一実施態様では、CGDD に特異的に結合、刺激、あるいは阻害する化合物のスクリーニングには、分泌タンパク質として、あるいは細胞膜上でCGDDを発現する、好適な細胞群の作製が含まれる。好適な細胞には、哺乳動物、酵母、ショウジョウバエ、または大腸菌からの細胞が含まれ得る。CGDDを発現する細胞、またはCGDDを含有する細胞膜断片を試験化合物と接触させて、結合や、CGDDまたは該化合物の何れかの、刺激または活性の阻害を分析する。

【0266】

あるアッセイは、単に試験化合物をポリペプチドに実験的に結合させ、結合を、蛍光色素、放射性同位体、酵素抱合体またはその他の検出可能な標識により検出することができる。例えば、このアッセイは、少なくとも1つの試験化合物を、溶液中の、あるいは固体支持物に固定されたCGDDと混合するステップと、CGDDとこの化合物との結合を検出するステップを含み得る。別法では、標識された競合物の存在下での試験化合物の結合の検出および測定を行うことができる。更にこのアッセイは、無細胞再構成標本、化学ライブラリ、または、天然産物の混合物を用いて実施でき、試験化合物 (群) は、溶液中で遊離させるか固体支持体に固定する。

30

【0267】

アッセイを用いて、或る化合物が、その天然リガンドに結合する能力、および/または、その天然リガンドの、その天然受容体への結合を阻害する能力を評価しうる。こうしたアッセイの例としては、米国特許第5,914,236号および第6,372,724号に記載されたような放射ラベルアッセイを含む。関連した実施態様では、1つ以上のアミノ酸置換が或るポリペプチド化合物 (受容体など) に導入され、その天然リガンドに結合する能力を向上または改変しうる (Matthews, D.J. および J.A. Wells. (1994) *Chem. Biol.* 1:25-30)。もう一つの関連する実施態様においては、ポリペプチド化合物 (たとえばリガンド) に1つ以上のアミノ酸置換を行うことにより、天然受容体への結合能力を改善または改変することができる (Cunningham, B.C. および J.A. Wells (1991) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:3407-3411; Lowman, H.B. 他 (1991) *J. Biol. Chem.* 266:10982-10988)。

40

【0268】

CGDDまたはその断片、あるいはCGDDの変異体を用いて、CGDDの活性を変調する化合物を

50

スクリーニングすることができる。このような化合物としては、アゴニスト、アンタゴニスト、部分的アゴニストまたは逆アゴニストなどが含まれ得る。一実施態様では、CGDDが少なくとも1つの試験化合物と混合される、CGDD活性が許容される諸条件下で或るアッセイを実施し、試験化合物の存在下でのCGDDの活性を試験化合物不在下でのCGDDの活性と比較する。試験化合物の存在下でのCGDDの活性の変化は、CGDDの活性をモジュレートする化合物の存在を示唆する。別法では、試験化合物を、CGDDの活性に適した条件下で、CGDDを有する *in vitro*系すなわち無細胞系と混合してアッセイを実施する。CGDDの活性を調節する試験化合物は、これらアッセイの何れにおいても間接的に調節する場合があり、その際は試験化合物と直接接触する必要がない。少なくとも1つ、または複数の試験化合物をスクリーニングすることができる。

10

【0269】

別の実施例では、CGDDまたはその哺乳動物相同体をコードするポリヌクレオチドを、胚性幹細胞（ES細胞）における相同組換えを用いて動物モデル系内で「ロックアウト」する。このような技術は当技術分野において周知であり、ヒト疾患動物モデルの作製に有用である（米国特許第5,175,383号及び第5,767,337号等を参照）。例えば129/SvJ細胞系などのマウスES細胞は初期のマウス胚に由来し、培地で増殖させることができる。このES細胞は、ネオマイシンホスホトランスフェラーゼ遺伝子（neo: Capecchi, M.R. (1989) Science 244:1288-1292）などのマーカー遺伝子で破壊した、目的の遺伝子を持つベクターで形質転換される。このベクターは、相同組換えにより、宿主ゲノムの対応する領域に組込まれる。或いは、Cre-loxP系を用いて相同組換えを行い、組織特異的または発生段階特異的に目的遺伝子をロックアウトする（Marth, J.D. (1996) Clin. Invest. 97:1999-2002、Wagner, K.U.他(1997) Nucleic Acids Res.25:4323-4330）。形質転換したES細胞を同定し、例えばC57BL/6マウス株などから採取したマウス細胞胚盤胞に微量注入する。これらの胚盤胞を偽妊娠メスに外科的に導入し、得られるキメラ子孫の遺伝形質を特定し、これらを交配させてヘテロ接合性系またはホモ接合性系を作製する。このようにして作製した遺伝子組換え動物は、潜在的な治療薬や毒性薬物で検査されうる。

20

【0270】

CGDDをコードするポリヌクレオチド類はまた、*in vitro*で、ヒト胚盤胞由来のES細胞において操作し得る。ヒトES細胞は、内胚葉、中胚葉および外胚葉の細胞タイプを含む、少なくとも8つの別々の細胞系統に分化する可能性を有する。これらの細胞系統は、例えば神経細胞、造血系統および心筋細胞に分化する（Thomson, J.A.他(1998) Science 282:1145-1147）。

30

【0271】

CGDDをコードするポリヌクレオチドを用いて、ヒト疾患をモデルとした「ロックイン」ヒト化動物（ブタ）または遺伝子組換え動物（マウスまたはラット）を作製することも可能である。CGDDをコードするポリヌクレオチドの或る領域を、ロックイン技術を用いて動物ES細胞に注入し、注入した配列を動物細胞ゲノムに組込ませる。形質転換細胞を胞胚に注入し、胞胚を上記のように移植する。遺伝子組換え子孫または近交系について試験し、潜在的医薬品を用いて処理し、ヒトの疾患の治療に関する情報を得る。または、CGDDを例えば乳汁内に分泌するなど過剰に発現する哺乳動物近交系は、便利なタンパク質源となり得る（Janne, J. 他 (1998) Biotechnol. Annu. Rev. 4:55-74）。

40

【0272】

(治療)

CGDDの領域群と細胞成長、分化および細胞死関連タンパク質との間には、例えば配列及びモチーフの文脈における、化学的および構造的類似性が存在する。さらに、CGDDを発現する組織の例が、表6および実施例11にも見られる。このように、CGDDは、癌などの細胞増殖異常、発達障害、神経疾患、自己免疫/炎症疾患、生殖障害、および胎盤障害で役割を果たすと考えられる。CGDDの発現若しくは活性の増大に関連する疾患の治療においては、CGDDの発現または活性を低下させることが望ましい。CGDDの発現または活性の低下に関連する疾患の治療においては、CGDDの発現または活性を亢進させることが望ましい。

50

【0273】

従って一実施態様において、CGDDの発現または活性の低下に関連した疾患の治療または予防のために、被験者にCGDDまたはその断片や誘導体を投与し得る。限定するものではないが、このような疾患には細胞増殖異常、発達障害、神経疾患、自己免疫/炎症疾患、生殖障害、胎盤障害が含まれ、細胞増殖異常には日光角化症、動脈硬化、アテローム硬化、滑液包炎、硬変、肝炎、混合性結合組織病(MCTD)、骨髄線維症、発作性夜間ヘモグロビン尿症、真性多血症、乾癬、原発性血小板血症、並びに、腺癌、白血病、リンパ腫、黒色腫、骨髄腫、肉腫、および奇形癌など癌、具体的には、副腎、膀胱、骨、骨髄、脳、乳房、頸部、胆嚢、神経節、消化管、心臓、腎臓、肝臓、肺、筋肉、卵巣、膵臓、副甲状腺、陰茎、前立腺、唾液腺、皮膚、脾臓、精巣、胸腺、甲状腺、および子宮の癌が含まれる。10

発達障害には尿細管性アシドーシス、貧血、クッシング症候群、軟骨形成不全性小人症、デュシェンヌ/ベッカー型筋ジストロフィー、癲癇、性腺形成異常、WAGR症候群(ウィルムス腫瘍、無虹彩症、尿生殖器異常、精神遅滞)、スミス マジェニス症候群(Smith-Magenis syndrome)、骨髄異形成症候群、遺伝性粘膜上皮異形成、遺伝性角皮症や、シャルコーマリーツス病および神経線維腫症などの遺伝性神経病、甲状腺機能低下症、水頭症や、Sydenham舞踏病(Sydenham's chorea)および脳性小児麻痺などの発作障害、二分脊椎、無脳症、頭蓋脊椎披裂、先天性緑内障、白内障、感音難聴が含まれる。神経疾患には、癲癇、虚血性脳血管障害、脳卒中、脳腫瘍、アルツハイマー病、ピック病、ハンチントン病、痴呆、パーキンソン病およびその他の錐体外路障害、筋萎縮性側索硬化およびその他の運動ニューロン障害、進行性神経性筋萎縮症、網膜色素変性症(色素性網膜炎) 20

、遺伝性運動失調、多発性硬化症および他の脱髄疾患、細菌性およびウイルス性髄膜炎、脳膿瘍、硬膜下膿瘍、硬膜外膿瘍、化膿性頭蓋内血栓性静脈炎、脊髄炎および神経根炎、ウイルス性中枢神経系疾患と、プリオン病(クールー、クロイツフェルト ヤコブ病、およびGerstmann-Straussler-Scheinker症候群を含む)、致死性家族性不眠症、神経系性栄養病および代謝病、神経線維腫症、結節硬化症、小脳網膜血管腫症(cerebelloretinal hemangioblastomatosis)、脳3叉神経血管症候群、ダウン症を含む中枢神経系性精神遅滞および他の発達障害、脳性麻痺、神経骨格異常症、自律神経系障害、脳神経疾患、脊髄疾患、筋ジストロフィー他の神経筋障害、末梢神経疾患、皮膚筋炎および多発性筋炎と、遺伝性、代謝性、内分泌性、および中毒性ミオパシーと、重症筋無力症、周期性四肢麻痺、精神障害(気分性、不安性の障害、統合失調症/分裂病)、季節性感情障害(SAD)、静 30

座不能、健忘症、緊張病、糖尿病性ニューロパシー、遅発性ジスキネジア、ジストニー、パラノイド精神病、帯状疱疹後神経痛、トゥレット病、進行性核上麻痺、大脳皮質基底核変性(corticobasal degeneration)、および家族性前頭側頭型痴呆とが含まれる。自己免疫/炎症疾患には、後天性免疫不全症候群(AIDS)、アジソン病(慢性原発性副腎機能不全)、成人呼吸窮迫症候群、アレルギー、強直性脊椎炎、アミロイド症、貧血、喘息、アテローム性動脈硬化、自己免疫性溶血性貧血、自己免疫性甲状腺炎、自己免疫性多腺性内分泌カンジダ症外胚葉ジストロフィー(APECED)、気管支炎、胆嚢炎、接触皮膚炎、クローン病、アトピー性皮膚炎、皮膚筋炎、糖尿病、肺気腫、リンパ球傷害因子性偶発性リンパ球減少症、新生児溶血性疾患(胎児赤芽球症)、結節性紅斑、萎縮性胃炎、糸球体腎炎、グッドパスチャー症候群、痛風、グレーブス病、橋本甲状腺炎、過好酸球増加症、 40

過敏性腸症候群、多発性硬化症、重症筋無力症、心筋または心膜炎、骨関節炎、骨粗しょう症、膵炎、多発性筋炎、乾癬、ライター症候群、リウマチ様関節炎、強皮症、シェーグレン症候群、全身性アナフィラキシー、全身性エリテマトーデス、全身性強皮症、血小板減少性紫斑病、潰瘍性大腸炎、ぶどう膜炎、ウェルナー症候群、癌合併症、血液透析、体外循環、ウイルス感染症、細菌感染症、真菌感染症、寄生虫感染症、原虫感染症、蠕虫感染症、および外傷が含まれる。生殖障害には、プロラクチン産生の障害、不妊(例えば卵管疾患、排卵不良、子宮内膜症、性周期の途絶、月経周期の途絶、多嚢胞性卵巣症候群、卵巣過剰刺激症候群、子宮内膜腫瘍や卵巣腫瘍、子宮筋腫、自己免疫疾患、異所性妊娠、奇形発生、乳癌、乳房線維嚢胞病、乳漏症、精子形成の途絶、異常精子生理、精巣癌、前立腺癌、良性前立腺肥大、前立腺炎、ペーロニー病、インポテンス、男性乳癌、女性化 50

乳房、高ゴナドトロピン性腺機能低下症、低ゴナドトロピン性腺機能低下症、仮性半陰陽、無精子症、早発卵巣不全、アクロシン欠損症、晩発思春期、逆行性射精、無射精、血管芽腫、嚢胞・クロム親和細胞腫 (cystsphaeochromocytomas)、傍神経節腫、精巣上体の嚢胞腺腫、および内リンパ嚢腫瘍)を含む。胎盤障害には、子癩前症、絨毛癌、胎盤早期剥離、前置胎盤、胎盤梗塞やmaternal floor infarction、癒着胎盤、侵入胎盤(increate)および穿通胎盤、絨毛膜外性胎盤(extrachorial placentas)、絨毛血管腫(chorangioma)、絨毛血管分布過多(chorangiosis)、慢性絨毛炎(chronic villitis)、胎盤絨毛浮腫(placental villous edema)、終末絨毛広範性線維症(widespread fibrosis of the terminal villi)、絨毛間腔血栓(intervillous thrombi)、出血性血管炎、新生児溶血性疾患(胎児赤芽球症)、非免疫性胎児水腫を含む。

10

【0274】

別の実施態様では、限定するものではないが上に列記した疾患を含む、CGDDの発現または活性の低下に関連した疾患の治療または予防のために、CGDDまたはその断片や誘導体を発現し得るベクターを被験者に投与し得る。

【0275】

更に別の実施態様では、限定するものではないが上に列記した疾患を含む、CGDDの発現または活性の低下に関連した疾患の治療または予防のために、実質的に精製されたCGDDを有する組成物を好適な医薬用キャリアと共に被験者に投与し得る。

【0276】

更に別の実施態様では、限定するものではないが上に列記した疾患を含む、CGDDの発現または活性の低下に関連した疾患の治療または予防のために、CGDDの活性を調節するアゴニストを被験者に投与し得る。

20

【0277】

更なる実施態様では、CGDDの発現または活性の増大に関連した疾患の治療または予防のために、被験者にCGDDのアンタゴニストを投与し得る。限定するものではないが、このような疾患の例には、上記した癌など細胞増殖異常、発達障害、神経疾患、自己免疫/炎症の疾患、生殖障害、および胎盤障害が含まれる。一実施態様では、CGDDと特異的に結合する抗体が直接アンタゴニストとして、或るいはCGDDを発現する細胞または組織に薬剤を運ぶターゲティング機構或いは送達機構として間接的に用いられ得る。

【0278】

別の実施態様では、CGDDをコードするポリヌクレオチドの相補配列を発現するベクターを被験者に投与して、限定するものではないが上記した疾患を含む、CGDDの発現または活性の増大に関連した疾患の治療または予防も可能である。

30

【0279】

他の実施態様において、タンパク質、アゴニスト、アンタゴニスト、抗体、相補的配列、またはベクターは他の適切な治療剤と併用して投与し得る。併用療法で用いる好適な治療薬は、当業者が従来 of 医薬原理に従って選択し得る。治療薬と組合せることにより、上記した種々の疾患の治療または予防に相乗効果をもたらし得る。この方法により、少量の各薬物で医薬効果をあげることが可能となり、それによって副作用の可能性を低減し得る。

40

【0280】

CGDDのアンタゴニストは、当分野で一般に既知の方法を用いて製造し得る。具体的には、精製CGDDを用いて抗体を作るか、治療薬のライブラリをスクリーニングして、CGDDと特異結合するものを同定し得る。CGDDへの抗体も、当分野で周知の方法を用いて産生され得る。限定するものではないがこのような抗体には、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、キメラ抗体、一本鎖抗体、Fab断片、およびFab発現ライブラリによって作られた断片が含まれ得る。或る実施態様では、中和抗体(すなわち二量体の形成を阻害する抗体)は治療用に用いることが可能である。一本鎖抗体(例えばラクダまたはラマに由来する)は強力な酵素インヒビターであり得る。またペプチド擬態物質の設計及び免疫吸着剤とバイオセンサーの開発に用途を有し得る(Muyldermans, S. (2001) J. Biotechnol. 74:277-

50

302)。

【0281】

CGDD、若しくは免疫原性の特性を備えるその任意の断片またはオリゴペプチドの注入によって、抗体の産生のために、ヤギ、ウサギ、ラット、マウス、ラクダ、ヒトコブラクダ、ラマ、ヒトなどを含む種々の宿主が免疫化され得る。宿主の種に応じて、種々のアジュバントを用いて免疫応答を高めることもできる。限定するものではないがこのようなアジュバントには、フロイントアジュバントと、水酸化アルミニウムなどのミネラルゲルアジュバントと、リゾレシチン、プルロニックポリオール、ポリアニオン、ペプチド、油性乳剤、スカシガイのヘモシアニン(KLH)、ジニトロフェノールなどの界面活性剤とがある。ヒトに用いられるアジュバントの中では、BCG(カルメット ゲラン桿菌)およびコリネバクテリウム パルバム(*Corynebacterium parvum*)が特に好ましい。

10

【0282】

CGDDに対する抗体を誘導するために用いるオリゴペプチド、ペプチドまたは断片は、少なくとも約5個のアミノ酸からなるアミノ酸配列を持つものが好ましく、一般的には約10個以上のアミノ酸からなるものとなる。これらのオリゴペプチド、ペプチドまたは断片はまた、天然のタンパク質のアミノ酸配列の一部と実質的に同一であることが望ましい。CGDDアミノ酸類の短いストレッチ群は、KLHなど他のタンパク質の配列と融合され、このキメラ分子に対する抗体群が産生され得る。

【0283】

CGDDに対するモノクローナル抗体は、培地内の連続した細胞株によって抗体分子群を産生する、任意の技術を用いて作製できる。限定するものではないがこのような技術には、ハイブリドーマ技術、ヒトB細胞ハイブリドーマ技術、およびEBV-ハイブリドーマ技術がある(Kohler, G. 他(1975) Nature 256:495-497, Kozbor, D.他(1985) J. Immunol. Methods 81:31-42, Cote, R.J.他(1983) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 80:2026-2030, Cole, S.P.他(1984) Mol. Cell Biol. 62:109-120)。

20

【0284】

更に、「キメラ抗体」作製のために開発された技術、例えば、ヒト抗体遺伝子にマウス抗体遺伝子をスプライシングするなどの技術が、好適な抗原特異性および生物学的活性を有する分子を得るために用いられる(Morrison, S.L. 他(1984) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:6851-6855, Neuberger, M.S. 他(1984) Nature 312:604-608; Takeda, S.他(1985) Nature 314:452-454)。または、CGDD特異的一本鎖抗体を、当分野で既知の方法を用いて、一本鎖抗体の産生のための記載された技術を適用して生成し得る。関連特異性を有するがイディオタイプ組成が異なるような抗体を、ランダムな組合せの免疫グロブリンライブラリからチェーンシャッフリングによって産生することもできる(Burton D.R. (1991) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:10134-10137)。

30

【0285】

抗体の産生は、リンパ球集団における*in vivo*産生の誘導によって、或いは文献に開示されているように非常に特異的な結合試薬の免疫グロブリンのライブラリまたはパネルのスクリーニングによっても行い得る(Orlandi, R. 他(1989) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:3833-3837, Winter, G.他(1991) Nature 349:293-299)。

40

【0286】

CGDDに対する特異結合部位を持つ抗体断片をも産生し得る。例えば、限定するものではないが、このような断片には、抗体分子のペプシン消化によって作製される $F(ab')_2$ 断片と、 $F(ab')_2$ 断片のジスルフィド架橋を還元することによって作製されるFab断片とがある。あるいは、Fab発現ライブラリを作製することによって、所望の特異性を持つモノクローナルFab断片を迅速且つ容易に同定することが可能となる(Huse, W.D. 他(1989) Science 246:1275-1281)。

【0287】

種々の免疫学的検定(イムノアッセイ)を用いてスクリーニングすることにより、所望の特異性を有する抗体を同定し得る。確立された特異性を有するポリクローナル抗体また

50

はモノクローナル抗体の何れかを用いる免疫放射定量測定法または競合結合試験に対する数々のプロトコルは、本技術分野において公知である。このようなイムノアッセイは通常、CGDDとその特異抗体との間の複合体形成の計測を含む。2つの非干渉性CGDDエピトープに対して反応性を持つモノクローナル抗体群を用いる、2部位モノクローナルベースのイムノアッセイが一般に利用されるが、競合結合試験も利用できる(Pound、前出)。

【0288】

CGDDに対する抗体の親和性を、ラジオイムノアッセイ技術と共にScatchard分析などの様々な方法を用いて算定する。CGDD抗体複合体のモル濃度を平衡状態の下で遊離抗体と遊離抗原のモル濃度で除して得られる結合定数Kaが親和性を表す。CGDDエピトープ多数に対してポリクローナル抗体類は親和性が不均一であり、或るポリクローナル抗体製剤に関して判定したKaは、CGDDに対する抗体群の平均の親和性または結合活性を表す。特定CGDDエピトープに対してモノクローナル抗体は単一特異的であり、モノクローナル抗体の或る製剤について判定したKaは、親和性の真の測定値を表す。CGDD-抗体複合体が激しい操作に耐えなければならないイムノアッセイには、Ka値が $10^9 \sim 10^{12}$ L/molの高親和性抗体製剤を用いるのが好ましい。Ka値が $10^6 \sim 10^7$ L/molの低親和性抗体医薬は、CGDDが抗体から最終的に活性化状態で解離する必要がある免疫精製(immunopurification)及び類似の処理に用いるのが好ましい(Catty, D. (1988) Antibodies, Volume I: A Practical Approach. IRL Press, Washington, DC、Liddell, J. E.およびCryer, A. (1991) A Practical Guide to Monoclonal Antibodies, John Wiley & Sons, New York NY)。

10

【0289】

ポリクローナル抗体製剤の抗体価および結合活性を更に評価して、後に使う或る適用例に対するこのような試薬の品質および適性を決定することができる。例えば、少なくとも $1 \sim 2$ mg/mlの特異的な抗体、好ましくは $5 \sim 10$ mg/mlの特異的な抗体を含むポリクローナル抗体製剤は一般に、CGDD抗体複合体を沈殿させなければならない処理に用いられる。抗体の特異性、抗体価、結合活性、様々な適用例における抗体の品質や使用に対する指針については、一般に入手可能である(Catty、前出、Coligan 他、前出)。

20

【0290】

本発明の別の実施態様では、GCRECをコードするポリヌクレオチド、またはその任意の断片や相補配列を、治療目的で使用できる。ある態様では、CGDDをコードする遺伝子のコーディング領域や調節領域に相補的な配列やアンチセンス分子(DNA、RNA、PNA、または修飾したオリゴヌクレオチド)を設計して遺伝子発現を変更することができる。このような技術は当分野では周知であり、センスまたはアンチセンスオリゴヌクレオチドまたは大きな断片が、CGDDをコードする配列の制御領域、またはコード領域に沿ったさまざまな位置から設計可能である(Agrawal, S., 編集 (1996) Antisense Therapeutics, Humana Press Inc., Totawa NJ 等を参照)。

30

【0291】

治療に用いる場合、アンチセンス配列を適切な標的細胞に導入するのに好適な、任意の遺伝子送達系を用いることができる。アンチセンス配列は、転写時に標的タンパク質をコードする細胞配列の少なくとも一部に相補的な配列を作製する発現プラスミドの形で、細胞内に送達し得る(Slater, J.E.他 (1998) *J. Allergy Clin. Immunol.* 102:469-475、Scanlon, K.J. 他 (1995) 9:1288-1296)。アンチセンス配列はまた、例えばレトロウイルスやアデノ関連ウイルスベクター等のウイルスベクターを用いて細胞内に導入することもできる(Miller, A.D. (1990) *Blood* 76:271、前出のAusubel、Uckert, W. 及び W. Walther (1994) *Pharmacol. Ther.* 63:323-347)。その他の遺伝子送達機構には、リポソーム系、人工的なウイルスエンベロープおよび当分野で公知のその他のシステムが含まれる(Rossi, J.J. (1995) *Br. Med. Bull.* 51:217-225; Boado, R.J.他 (1998) *J. Pharm. Sci.* 87(11):1308-1315、Morris, M.C.他 (1997) *Nucleic Acids Res.* 25:2730-2736)。

40

【0292】

CGDDをコードするポリヌクレオチドを、本発明の別の実施態様では、体細胞若しくは生殖細胞の遺伝子治療に用いることが可能である。遺伝子治療により、(i) 遺伝子欠損症

50

を治療し（例えばX染色体連鎖遺伝（Cavazzana-Calvo, M.他(2000) Science 288:669-672）により特徴付けられる重症複合型免疫不全(SCID)-X1病の場合）、先天性アデノシンデアミナーゼ(ADA)欠損症に関連する重症複合型免疫不全症候群(Blaese, R.M. 他(1995) Science 270:475-480; Bordignon, C.他(1995) Science 270:470-475)、嚢胞性繊維症(Zabner, J.他(1993) Cell 75:207-216; Crystal, R.G.他(1995) Hum.Gene Therapy 6:643-666; Crystal, R.G.他(1995) Hum.Gene Therapy 6:667-703)、サラセミア(thalassaemia)、家族性高コレステロール血症や、第8因子若しくは第9因子欠損に起因する血友病(Crystal, R.G. (1995) Science 270:404-410、Verma, I.M. および N. Somia (1997) Nature 389:239-242)、(ii) 条件的致死性遺伝子産物を発現させ（例えば制御不能な細胞増殖に起因する癌の場合）、(iii) 細胞内の寄生生物、例えばヒト免疫不全ウイルス(HIV) (Baltimore, D. (1988) Nature 335:395-396、Poeschla, E.他(1996) Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 93:11395-11399) などヒトレトロウイルス、B型若しくはC型肝炎ウイルス(HBV、HCV)、Candida albicansおよびParacoccidioides brasiliensis等の寄生真菌、並びに熱帯熱マラリア原虫およびクルーズトリパノソーマ等の寄生原虫に対する防御機能を有するタンパク質を発現できる。CGDDの発現若しくは調節に必要な遺伝子の欠損が疾患を引き起こす場合、導入した細胞の好適な集団からCGDDを発現させて、遺伝子欠損によって起こる症状の発現を緩和することが可能である。

10

【0293】

本発明の更なる実施例では、CGDDの欠損による疾患や障害を、CGDDをコードする哺乳動物発現ベクターを作製して、これらのベクターを機械的手段によってCGDD欠損細胞に導入することによって治療する。in vivoあるいはex vitroの細胞に用いる機械的導入技術には、(i)個々の細胞内への直接的なDNA微量注射法、(ii)遺伝子銃、(iii)リポソームを介した形質移入、(iv)受容体を介した遺伝子導入、および(v)DNAトランスポゾンの使用がある(Morgan, R.A. および W.F. Anderson(1993)Annu. Rev. Biochem. 62:191-217、Ivics, Z.(1997)Cell 91:501-510、Boulay, J-L.およびH. Recipon(1998)Curr. Opin. Biotechnol. 9:445-450)。

20

【0294】

CGDDの発現に有効であり得る発現ベクターの例として、限定するものではないがpcDNA 3.1、EpiTag、pRcCMV2、pREP、pVAX、pCRII-TOPOTAベクター(Invitrogen, Carlsbad CA)、pCMV-Script、pCMV-Tag、PEGSH/PERV(Stratagene, La Jolla CA)およびPTET-OFF、PTET-ON、PTRE2、PTRE2-LUC、PTK-HYG(Clontech, Palo Alto CA)が挙げられる。CGDDを発現させるために、(i)構成的に活性なプロモーター(例えば、サイトメガロウイルス(CMV)、ラウス肉腫ウイルス(RSV)、SV40ウイルス、チミジンキナーゼ(TK)、若しくは - アクチンの遺伝子などからのプロモーター)、(ii)誘導性プロモーター(例えば、テトラサイクリン調節性プロモーター(Gossen, M.およびH. Bujard (1992) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 89:5547-5551、Gossen, M. 他 (1995) Science 268:1766-1769、Rossi, F.M.V.及びH.M. Blau (1998) Curr. Opin. Biotechnol. 9:451-456)、T-REXプラスミド(Invitrogen)中に市販されている)、エクジソン誘導性プロモーター(プラスミドPVGRXRおよびPIND(Invitrogen)中に市販されている)、FK506/ラパマイシン誘導性プロモーター、またはRU486/ミフェプリストーン誘導性プロモーター(Rossi, F.M.V. および H.M. Blau, 前出)、または(iii)正常な個体に由来する、CGDDをコードする内因性遺伝子の天然プロモーター若しくは組織特異的プロモーターを用い得る。

30

40

【0295】

市販のリポソーム形質転換キット(例えばInvitrogen社のPERFECT LIPID TRANSFECTION KIT)を用いれば、当業者は経験にそれほど頼らないでもポリヌクレオチドを培養中の標的細胞に導入することが可能になる。別法では、リン酸カルシウム法(Graham, F.L. および A.J. Eb (1973) Virology 52:456-467)若しくは電気穿孔法(Neumann, E. 他(1982) EMBO J. 1:841-845)。初代培養細胞にDNAを導入するためには、標準化された哺乳類の形質移入プロトコルの修正が必要である。

【0296】

50

本発明の別の実施態様では、CGDDの発現に関連する遺伝子欠損によって起こる疾患や障害は、(i)レトロウイルス末端反復配列(LTR)プロモーター若しくは独立したプロモーターの調節の下でCGDDをコードするポリヌクレオチドと、(ii)好適なRNAパッケージングシグナルと、(iii)追加のレトロウイルス・シス作用性RNA配列及び効率的なベクターの増殖に必要なコード配列を伴うRev応答性エレメント(RRE)と、からなるレトロウイルスベクターを作製して治療することができる。レトロウイルスベクター(例えばPFBおよびPFBNE0)はStratagene社から市販されており、刊行データ(Riviere, I. 他(1995) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92:6733-6737)に基づく。上記データを引用することを以て本明細書の一部とする。このベクターは、好適なベクター産生細胞株(VPCL)において増殖される。VPCLは、各標的細胞上の受容体への親和性を持つエンベロープ遺伝子を、またはVSVgなど汎親和性エンベロープタンパク質を発現する(Armentano, D. 他(1987) J. Virol. 61:1647-1650; Bender, M.A. 他(1987) J. Virol. 61:1639-1646; Adam, M.A. および A.D. Miller (1988) J. Virol. 62:3802-3806; Dull, T. 他(1998) J. Virol. 72:8463-8471; Zufferey, R. 他(1998) J. Virol. 72:9873-9880)。Riggに付与された米国特許第5,910,434号(「Method for obtaining retrovirus packaging cell lines producing high transducing efficiency retroviral supernatant」)において、レトロウイルスパッケージング細胞株を得るための方法が開示されており、引用することをもって本明細書の一部とする。レトロウイルスベクター類の繁殖や、細胞集団(例えばCD4⁺T細胞群)の形質導入、および形質導入した細胞群の患者への戻しは、遺伝子治療分野では当業者に周知の手法であり、多数の文献に記載がある(Ranga, U. 他(1997) J. Virol. 71:7020-7029; Bauer, G. 他(1997) Blood 89:2259-2267; Bonyhadi, M.L. (1997) J. Virol. 71:4707-4716; Ranga, U. 他(1998) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95:1201-1206; Su, L. (1997) Blood 89:2283-2290)。

10

20

30

40

50

【0297】

或る実施態様では、アデノウイルス系遺伝子治療の送達系を用いて、CGDDの発現に関連する1或いは複数の遺伝子異常を有する細胞にCGDDをコードするポリヌクレオチドを送達する。アデノウイルス系ベクター類の作製およびパッケージングについては、当業者に周知である。複製欠損型アデノウイルスベクター類は、種々の免疫調節タンパク質をコードする遺伝子群を、無損傷の臍島内に導入する目的で多様に利用し得ることが証明された(Csete, M.E. 他(1995) Transplantation 27:263-268)。使用できる可能性のあるアデノウイルスベクターは、Armentanoに付与された米国特許第5,707,618号(「Adenovirus vectors for gene therapy」)に記載されており、引用することをもって本明細書の一部とする。アデノウイルスベクター類については、Antinozzi, P.A. 他(1999; Annu. Rev. Nutr. 19:511-544) 並びに、Verma, I.M. および N. Somia (1997; Nature 18:389:239-242)。

【0298】

別法では、ヘルペス系遺伝子治療の送達系を用いて、CGDDの発現に関して1以上の遺伝子異常を持つ標的細胞に、CGDDをコードするポリヌクレオチド類を送達する。CGDDを単純疱疹ウイルス(HSV)が向性を持つ中枢神経細胞に導入するには、HSV系ベクターの利用が特に有用たり得る。ヘルペス系ベクター類の作製およびパッケージングは、当業者に公知である。或る複製適格性単純ヘルペスウイルス(HSV)1型系のベクターが、或るレポーター遺伝子の、霊長類の眼への送達に用いられている(Liu, X. 他(1999) Exp. Eye Res. 169:385395)。HSV-1ウイルスベクターの作製についても、DeLucaに付与された米国特許第5,804,413号(「Herpes simplex virus strains for gene transfer」)に開示されており、該特許の引用をもって本明細書の一部とする。米国特許第5,804,413号には、ヒト遺伝子治療を含む目的のために好適なプロモーターの制御下において細胞に導入される少なくとも1つの外在性遺伝子を有するゲノムを含む組換えHSV d92の使用についての記載がある。上記特許はまた、ICP4、ICP27及びICP22を欠失した組換えHSV系統の作製及び使用について開示している。HSVベクター類については、Goins, W.F. 他(1999; J. Virol. 73:519532)、Xu, H. 他(1994; Dev. Biol. 163:152161)。クローン化ヘルペスウイルス

配列の操作、巨大ヘルペスウイルスのゲノムの異なったセグメント群を含む多数のプラスミドを形質移入した後の組換えウイルスの産生、ヘルペスウイルスの成長及び増殖、並びにヘルペスウイルスの細胞への感染は、当業者に公知の技術である。

【0299】

別法では、ウイルス（正の一本鎖RNAウイルス）ベクターを用いてCGDDをコードするポリヌクレオチドを標的細胞に送達する。プロトタイプのウイルスであるセムリキ森林熱ウイルス（Semliki Forest Virus, SFV）の生物学的研究が広範に行われており、遺伝子導入ベクターはSFVゲノムに基づいている（Garoff, H. 及び K.-J. Li (1998) *Cun. Op in. Biotech.* 9:464-469）。ウイルスRNAの複製中に、通常はウイルスのカプシドタンパク質をコードするサブゲノムRNAが作り出される。このサブゲノムRNAは、完全長のゲノムRNAより高いレベルに複製されるため、酵素活性（例えばプロテアーゼ及びポリメラーゼ）を有するウイルスタンパク質に比べてカプシドタンパク質が過剰産生される。同様に、CGDDをコードする配列をウイルスゲノムのカプシドをコードする領域に導入することによって、ベクター導入細胞において多数のCGDDをコードするRNAが産生され、高レベルでCGDDが合成される。通常、ウイルスの感染は、数日以内の細胞溶解を伴う。一方、シンドビスウイルス（SIN）の或る変異体を有するハムスター正常腎臓細胞（BHK-21）群が持続的な感染を確立する能力は、ウイルス類の溶解複製を、遺伝子治療に応用し得るように好適に改変可能であることを示唆する（Dryga, S.A.他(1997) *Virology* 228:74-83）。CGDDの、様々なタイプの細胞への導入を、ウイルスの広い宿主域が可能にする。或る集団における或るサブセットの細胞群の特異的形質導入は、形質導入前に細胞の選別を必要とし得る。ウイルスの感染性cDNAクローンの処置方法、ウイルスのcDNAおよびRNAの形質移入方法およびウイルスの感染方法は、当業者に公知である。

10

20

【0300】

転写開始部位（transcription initiation site）由来のオリゴヌクレオチドを用いて遺伝子発現を阻害することも可能である。この位置は、例えばスタート部位（start site）から数えて約 - 10 と約 + 10 の間である。同様に、三重らせん塩基対の形成方法を用いて阻害が可能となる。三重らせん塩基対形成は、ポリメラーゼ、転写因子または調節分子と結合できるように十分に開こうとする、二重らせんの能力を阻害するため有用である。三重らせんDNAを用いる最近の治療の進歩については文献に記載がある（Gee, J.E.他(1994) *in Huber, B.E. および B.I. Carr, Molecular and Immunologic Approaches*, Futura Publishing, Mt. Kisco NY, 163-177ページ）。相補配列またはアンチセンス分子もまた、転写物がリボソームに結合するのを阻止することによってmRNAの翻訳を阻止するように設計することができる。

30

【0301】

リボザイムは酵素的RNA分子であり、RNAの特異的切断を触媒するためにリボザイムを用いることもできる。リボザイム作用のメカニズムは、相補的標的RNAへのリボザイム分子の配列特異的ハイブリダイゼーションとその後に起こる内ヌクレオチド鎖切断に参与している。例えば、操作されたハンマーヘッド型リボザイム分子は、CGDDをコードするRNA分子のヌクレオチド鎖切断を、特異的且つ効果的に触媒する可能性がある。

【0302】

任意のRNA標的内の特異的リボザイム切断部位は、GUA、GUU、GUC配列を含めたリボザイム切断部位に対して標的分子をスキャンすることによって先ず同定される。一度同定されると、切断部位を持つ標的遺伝子の領域に対応する15～20リボヌクレオチドの短いRNA配列が、そのオリゴヌクレオチドを機能不全にするような2次構造の特徴をもっていないかを評価することが可能になる。候補標的の適合性の評価も、リボヌクレアーゼ保護アッセイを用いて相補的オリゴヌクレオチド群とのハイブリダイゼーションへのアクセス可能性をテストすることによって行い得る。

40

【0303】

相補リボ核酸分子及びリボザイムは、核酸分子の合成のために当分野で既知の任意の方法を用いて作製し得る。作製方法には、固相ホスホラミダイト化学合成など、オリゴヌク

50

レオチドを化学的に合成する方法がある。或いは、CGDDをコードするDNA分子の *in vitro* および *in vivo* 転写によってRNA分子を作成し得る。このようなDNA配列は、T7やSP6などの好適なRNAポリメラーゼプロモーターを用いて多様なベクター内に取り込むことが可能である。或いは、相補的RNAを構成的或いは誘導的に合成するようなこれらcDNA産物を、細胞株、細胞または組織内に導入することができる。

【0304】

細胞内の安定性を高め、半減期を長くするために、RNA分子を修飾し得る。限定するものではないが可能な修飾としては、分子の5'末端、3'末端、あるいはその両方において隣接配列群を追加することや、分子の主鎖内においてホスホジエステラーゼ結合ではなくホスホロチオエートまたは2' O-メチルを使用することが含まれる。この概念は、本来はPNA群の産出におけるものであるが、これら全ての分子に拡大することができる。そのためには、内因性エンドヌクレアーゼによって容易には認識されない、アデニン、シチジン、グアニン、チミン、およびウリジンにアセチル -、メチル -、チオ - および同様の修飾をしたものや、非従来型塩基、例えばイノシン、クエオシン (queosine)、ワイプトシン (wybutosine) を加える。

10

【0305】

本発明の別の実施形態では、本発明の1つ以上の選択されたポリヌクレオチドの発現は、当分野で知られているRNA干渉(RNAi)または転写後遺伝子抑制(PTGS)方法を用いて変更、阻害、低下、または抑制し得る。RNAiは標的細胞に導入された二本鎖RNA(dsRNA)が相同遺伝子(例えば、dsRNAに相補的な配列を有する遺伝子)の発現を特異的に抑制する、遺伝子抑制の転写後モードである。これは効果的にロックアウトまたは標的細胞の発現を実質的に低下する。PTGSもまたDNAあるいはDNA断片の使用により達成される。RNAiの方法はFire, A. 他.(1998; Nature 391:806-811)およびGura, T. (2000; Nature 404:804-808)によって記述されている。PTGSもまた、本明細書に記載または当分野で既知である遺伝子送達そして/またはウイルスベクター送達方法を用いてDNAの相補的なセグメントを選択された組織に導入することによって開始することができる。

20

【0306】

RNAiは、siRNAとしても知られる低分子干渉RNAの使用により哺乳動物細胞に導入し得る。siRNAはdsRNA(通常は長さが約21から23ヌクレオチドである)の短いセグメントであり、*in vivo*で内在性リボヌクレアーゼの作用により導入されたdsRNAの分解から生じる。siRNAは哺乳動物のRNAi効果のメディエーターのように思われる。最も効果的なsiRNAは、2ヌクレオチド3'オーバーハングの21ヌクレオチドdsRNAであると思われる。哺乳動物細胞へのRNAiの導入のためのsiRNAの利用は、Elbashir, S.M. 他.(2001; Nature 411:494-498)に記述されている。

30

【0307】

siRNAはdsRNAの標的細胞への導入により間接的に生成されるか、あるいは哺乳類の形質移入方法と本明細書で記述されているまたは当分野で既知の医薬品(リポソームを介した形質移入、ウイルスベクター方法、または他のポリヌクレオチド送達/導入方法等)により直接的に生成される。好適なsiRNAを選ぶには、AUG開始コドンから下流のヌクレオチド配列群について標的ポリヌクレオチドの転写物(例えばmRNA)を検討し、各ヌクレオチドと3'側の隣接する19~23ヌクレオチドの出現を潜在的siRNA標的部位として記録して可能であり、21ヌクレオチド長を持つ配列が好ましい。標的siRNA部位として避けるべき領域としては、5'と3'の非翻訳領域(UTR)、および開始コドンに近い領域(75塩基以内)があり、理由は、これらは調節タンパク質結合部位が、より豊富なためである。UTR-結合タンパク質そして/または翻訳開始複合体は、siRNPエンドヌクレアーゼ複合体の結合と干渉し得る。siRNAのために選択した標的部位は次に、適切なゲノムデータベース(例えばヒト等のもの)と比較でき、これにはBLASTまたは他の、当該分野で既知の配列比較アルゴリズムを用いる。標的配列の内、他のコード配列への有意な相同性を持つ配列は、考慮から除外できる。選択されたsiRNAは、当分野で既知の化学的合成方法または市販の方法とSILENCER siRNA作成キット(Ambion, Austin TX)等のキットを用いて*in vitro*転写によって生成され得

40

50

る。

【0308】

別の実施様態では、長期の遺伝子サイレンシングおよび/またはRNAi効果を、選択した組織で誘導でき、これにはsiRNAを持続的に発現する発現ベクターを用いる。これを達成するには、操作してヘアピンRNA (shRNA)を発現するようにした発現ベクターを用い、これには当該分野で既知の方法を用いる(Brummelkamp, T.R. 他. (2002) Science 296:550-553, Paddison, P.J. 他. (2002) Genes Dev. 16:948-958等を参照)。これらのまた関連する実施様態では、shRNAは当該分野で既知の発現ベクターを用いて標的細胞に送達され得る。siRNAの送達のための好適な発現ベクターの一例は、PSILENCER1.0-U6 (circular)プラスミド(Ambion)である。一旦標的組織に送達されると、shRNAは*in vivo* でプロセスされてsiRNA様分子となり、これは遺伝子特異的サイレンシングを行える。

10

【0309】

様々な実施様態で、RNAiまたはPTGS方法により標的にされた遺伝子の発現レベルは、mRNAそして/またはタンパク質分析のためのアッセイにより測定され得る。標的遺伝子のmRNAの発現レベルは、例えばNORTHERNMAX-GLYキット(Ambion)を用いたノーザン分析法、マイクロアレイ法、PCR法、リアルタイムPCR法、そして当該分野で既知または本明細書に記載の他のRNA/ポリヌクレオチドアッセイにより測定され得る。標的遺伝子によってコードされたタンパク質の発現レベルは、当該分野で既知の標準技術を用いるウェスタン分析により測定され得る。

【0310】

CGDDをコードするポリヌクレオチドの発現の改変に有効な化合物をスクリーニングする方法が、本発明の更なる実施態様に含まれる。限定するものではないが特異ポリヌクレオチドの発現の改変に効果的な化合物には、オリゴヌクレオチド、アンチセンスオリゴヌクレオチド、三重らせん形成オリゴヌクレオチド、転写因子その他のポリペプチド転写制御因子、及び特異ポリヌクレオチド配列と相互作用し得る非高分子化学的実体がある。有効な化合物は、ポリヌクレオチド発現のインヒビターまたはエンハンサーのいずれかとして作用することによりポリヌクレオチド発現を改変し得る。従って、CGDDの発現または活性の増加に関連する疾患の治療においてはCGDDをコードするポリヌクレオチドの発現を特異的に阻害する化合物が治療上有用であり、CGDDの発現または活性の低下に関連する疾患の治療においてはCGDDをコードするポリヌクレオチドの発現を特異的に促進する化合物が治療上有用であり得る。

20

30

【0311】

多様な実施様態において、特異ポリヌクレオチドの発現改変における有効性について、少なくとも1つ以上の試験化合物をスクリーニングし得る。試験化合物は、当該分野で通常知られている任意の方法により得られる。このような方法には、ポリヌクレオチドの発現を変異させる場合と、既存の、市販のまたは私的な、天然または非天然の化合物ライブラリから選択する場合と、標的ポリヌクレオチドの化学的及び/または構造的特性に基づく化合物を合理的にデザインする場合と、組合せ的にまたは無作為に生成した化合物のライブラリから選択する場合に有効であることが知られているような化合物の化学修飾がある。CGDDをコードするポリヌクレオチドを持つサンプルを、このようにして得た試験化合物の少なくとも1つに曝露する。サンプルは例えば、無傷細胞、透過化処理した細胞、あるいは*in vitro* 無細胞系すなわち再構成生化学系があり得る。CGDDをコードするポリヌクレオチドの発現の改変は、当該分野で公知の任意の方法でアッセイする。通常、或る特定ヌクレオチドの発現を検出するにはCGDDをコードするポリヌクレオチドの配列に相補的なヌクレオチド配列を持つプローブとのハイブリダイゼーションを用いる。ハイブリダイゼーション量を定量し、それによって1つ以上の試験化合物に曝露される及び曝露されないポリヌクレオチドの発現の比較に対する基礎を形成し得る。試験化合物に曝露されるポリヌクレオチドの発現における変化の検出は、ポリヌクレオチドの発現を改変する際に試験化合物が有効であることを示している。或る特定ポリヌクレオチドの改変発現に有効な化合物のためのスクリーニングを実行でき、例えば分裂酵母 (*Schizosaccharomyces pombe*)

40

50

遺伝子発現系 (Atkins, D. 他(1999) 米国特許第5,932,435号、Arndt, G.M. 他(2000) *Nucleic Acids Res.* 28:E15) またはHeLa細胞等のヒト細胞株 (Clarke, M.L. 他(2000) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 268:8-13)。本発明の或る特定の実施態様は、或る特定ポリヌクレオチド配列に対するアンチセンス活性について、オリゴヌクレオチド (デオキシリボヌクレオチド、リボヌクレオチド、ペプチド核酸、修飾したオリゴヌクレオチド) の組合せライブラリをスクリーニングする過程に関する (Bruice, T.W. 他(1997) 米国特許第5,686,242号、Bruice, T.W. 他(2000) 米国特許第6,022,691号)。

【0312】

ベクターを細胞または組織に導入する多数の方法が利用可能であり、*in vivo*、*in vitro* 及び *ex vivo* の使用に対して同程度に適している。*ex vivo* 治療の場合、ベクターを、患者から採取した幹細胞内に導入し、クローニング増殖して同患者に自家移植で戻すことができる。トランスフェクションによる、またはリボソーム注入やポリカチオンアミノポリマーによる送達は、当分野で周知の方法を用いて実行することができる (Goldman, C.K. 他(1997) *Nat. Biotechnol.* 15:462-466)。

10

【0313】

上記の治療方法はいずれも、例えば、ヒト、イヌ、ネコ、ウシ、ウマ、ウサギ、サルなどの哺乳類を含めて治療が必要な全ての被験体に適用できる。

【0314】

本発明の或る更なる実施態様は、薬物として許容できる或る賦形剤と共に製剤される或る活性成分を一般に有する、或る組成物の投与に関する。賦形剤には例えば、糖、でんぷん、セルロース、ゴムおよびタンパク質がある。様々な剤型が広く知られており、詳細は *Remington's Pharmaceutical Sciences* (Maack Publishing, Easton PA) の最新版に記載されている。CGDD、CGDDの抗体、擬態物質、アゴニスト、アンタゴニスト、またはインヒビターなどが、このような組成物を構成しうる。

20

【0315】

多様な実施様態において、医薬品成分等の本明細書に記載されている組成物は、任意の数の経路によって投与することができ、限定するものではないが経路には、経口、静脈内、筋肉内、動脈内、骨髄内、クモ膜下腔内、心室内、肺、経皮、皮下、腹腔内、鼻腔内、腸内、局所、舌下または直腸がある。

【0316】

肺から投与する組成物は、液状または乾燥粉末状で調製し得る。このような組成物は通常、患者が吸入する直前にエアロゾル化する。小分子 (例えば伝統的な低分子量有機薬) の場合には、速効製剤のエアロゾル送達は当分野で公知である。高分子 (例えばより大きなペプチドおよびタンパク質) の場合には、当該分野において肺の肺泡領域を介しての肺送達を最近向上したことにより、インスリンなどの薬物を実質的に血液循環へ輸送することを可能にした (Patton, J.S. 他, 米国特許第5,997,848号などを参照)。肺送達は、針注射なしに投与することが可能であり、有毒な可能性のある浸透エンハンサーの必要性をなくす。

30

【0317】

本発明での使用に適した組成物には、所定の目的を達成するために必要なだけの量の活性成分を含有する組成物が含まれる。有効投与量の決定は、当業者の能力の範囲内で行う。

40

【0318】

CGDDを有する、またはその断片群を有する高分子群を直接、細胞内に送達すべく、特殊な種々の形状の組成物群が調製され得る。例えば、細胞不透過性高分子を含むリボソーム製剤は、その高分子の細胞融合と細胞内送達とを促進し得る。または、CGDDまたはその断片を、HIV Tat-1タンパク質の陽イオンN末端部に結合することもできる。このようにして生成された融合タンパク質類は、或るマウスモデル系の、脳を含む全ての組織の細胞群に形質導入することがわかっている (Schwarze, S.R. 他(1999) *Science* 285:1569-1572)。

50

【0319】

任意の化合物に対して、細胞培養アッセイ、例えば新生物性細胞の細胞培養アッセイにおいて、或いは、動物モデル、例えばマウス、ウサギ、イヌまたはブタ等において、先ず治療有効投与量を推定することができる。動物モデルはまた、好適な濃度範囲および投与経路を決定するためにも用い得る。このような情報を用いて、次にヒトに対する有益な投与量および投与経路を決定することができる。

【0320】

治療有効量は例えばCGDDやその断片、CGDDの抗体、アゴニストまたはアンタゴニスト、インヒビターなど、症状や容態を回復させる活性処方成分の量を指す。治療有効性及び毒性は、細胞培養または動物実験における標準的な薬剤手法によって、例えばED₅₀（集団の50%の治療有効量）またはLD₅₀（集団の50%の致死量）を測定するなどして決定することができる。毒性効果の治療効果に対する投与量の比が治療指数であり、LD₅₀/ED₅₀比として表すことができる。高い治療指数を示すような組成物が望ましい。細胞培養アッセイと動物実験とから得られたデータは、ヒトに用いる投与量の範囲の策定に用いられる。このような組成物に含まれる投与量は、毒性を殆どあるいは全く持たず、ED₅₀を含むような血中濃度の範囲にあることが好ましい。投与量は、用いられる投与形態、患者の感受性および投与の経路によってこの範囲内で変わる。

10

【0321】

正確な投与量は、治療が必要な被験者に関する要素を考慮して、現場の医者が決定することになる。十分なレベルの活性成分を与え、あるいは所望の効果を維持すべく、用法および用量を調整する。被験者に関する要素としては、疾患の重症度、患者の全身の健康状態、患者の年齢、体重及び性別（ジェンダー）、投与の時間及び頻度、併用薬、反応感受性及び治療に対する応答等を考慮しうる。作用期間が長い組成物は、特定の製剤の半減期及びクリアランス率によって3～4日毎に1度、1週間に1度、或いは2週間に1度の間隔で投与し得る。

20

【0322】

通常の治療量は、投与の経路にもよるが約0.1～100,000 μgであり、合計で約1gまでとする。特定の投与量および送達方法に関するガイダンスは文献に記載されており、現場の医者は通常それを利用することができる。当業者は、ヌクレオチドの処方では、タンパク質またはそれらのインヒビター類とは異なる処方を利用することになる。同様に、ポリヌクレオチドまたはポリペプチドの送達は、特定の細胞、症状、部位などに特異的なものとなる。

30

【0323】

（診断）

別の実施態様では、CGDDに特異的に結合する抗体を、CGDDの発現によって特徴付けられる障害の診断に、または、CGDDやそのアゴニストまたはアンタゴニスト、インヒビターで治療を受けている患者をモニターするためのアッセイに用い得る。診断目的に有用な抗体は、上記の治療の箇所に記載した方法と同じ方法で作成される。CGDDの診断アッセイには、抗体及び標識を用いて、ヒトの体液において、或いは細胞や組織の抽出物において、CGDDを検出する方法が含まれる。この抗体は修飾されたものも、されていないものも可能であり、レポーター分子との共有結合または非共有結合で標識化できる。レポーター分子としては広くさまざまな種類が本分野で知られており、また使用可能であるが、そのうちのいくつかは上記で説明されている。

40

【0324】

CGDDを測定するための様々なプロトコル、例えばELISA、RIA、FACS等が当分野では周知であり、変容した、あるいは異常なレベルのCGDDの発現を診断するための基盤を提供する。正常或いは標準的CGDD発現の値は、複合体の形成に適した条件下で、正常な哺乳動物、例えばヒトなどの被験体から採取した体液または細胞抽出物とCGDDに対する抗体とを混合することによって確定する。標準複合体形成量は、種々の方法、例えば測光法で定量できる。CGDDの、被験体、対照および、生検組織からの疾患サンプルでの発現量を、標準値と

50

比較する。標準値と被験体との偏差が、疾患を診断するパラメータを確定する。

【0325】

本発明の別の実施態様では、CGDD をコードするポリヌクレオチドを、診断目的で用い得る。用いることができるポリヌクレオチドには、オリゴヌクレオチド配列、相補的RNA及びDNA分子、そしてPNAが含まれる。CGDDの発現が疾患と関連し得る生検組織における遺伝子発現を、これらのポリヌクレオチドを用いて検出し定量し得る。CGDDの存在の有無、更には過剰な発現をこの診断アッセイを用いて判定し、治療時のCGDDレベルの調節を監視する。

【0326】

一態様では、CGDD または近縁の分子をコードする、ゲノム配列などポリヌクレオチドを検出可能なPCRプローブ類とのハイブリダイゼーションを、CGDD をコードする核酸配列の同定に用いる。CGDDをコードする天然配列のみをプローブが同定するか、または対立遺伝子変異体や関連配列を同定するかは、プローブが高度に特異的な領域（例えば5'調節領域）から作られているか、またはやや特異性の低い領域（例えば保存されたモチーフ）から作られているかという、そのプローブの特異性と、ハイブリダイゼーションのまたは増幅のストリンジェンシーとによって決まることになる。

【0327】

CGDDをコードする任意の配列との少なくとも50%の配列同一性をもプローブ類は持ち得る他、関連する配列群の検出に利用され得る。本発明のハイブリダイゼーションプローブには、DNAあるいはRNAが可能であり、SEQ ID NO:58-114の配列や、CGDD遺伝子のプロモーター、エンハンサー、イントロンを含むゲノム配列に由来し得る。

【0328】

CGDD をコードするポリヌクレオチドに特異的なハイブリダイゼーションプローブの作製方法としては、CGDD またはCGDD 誘導体をコードするポリヌクレオチド配列を、mRNAプローブ作製用ベクターにクローニングする方法を含む。mRNAプローブ作製のためのベクターは、当業者に知られており、市販されており、好適なRNAポリメラーゼ及び好適な標識されたヌクレオチドを加えることによって、*in vitro*でRNAプローブを合成するために用いられ得る。ハイブリダイゼーションプローブは、種々のレポーター集団によって標識され得る。レポーター集団の例としては、 ^{32}P または ^{35}S 等の放射性核種、或いはアピジン/ピオチン結合系を介してプローブに結合されたアルカリホスファターゼ等の酵素標識などが挙げられる。

【0329】

CGDD をコードするポリヌクレオチドを用いて、CGDD の発現に関連する疾患を診断することが可能である。限定するものではないが、このような疾患には細胞増殖異常、発達障害、神経疾患、自己免疫/炎症疾患、生殖障害、胎盤障害が含まれ、細胞増殖異常には日光角化症、動脈硬化、アテローム硬化、滑液包炎、硬変、肝炎、混合性結合組織病（MCTD）、骨髄線維症、発作性夜間ヘモグロビン尿症、真性多血症、乾癬、原発性血小板血症、並びに、腺癌、白血病、リンパ腫、黒色腫、骨髄腫、肉腫、および奇形癌など癌、具体的には、副腎、膀胱、骨、骨髄、脳、乳房、頸部、胆嚢、神経節、消化管、心臓、腎臓、肝臓、肺、筋肉、卵巣、膵臓、副甲状腺、陰茎、前立腺、唾液腺、皮膚、脾臓、精巣、胸腺、甲状腺、および子宮の癌が含まれる。発達障害には尿細管性アシドーシス、貧血、クッシング症候群、軟骨形成不全性小人症、デュシェンヌ/ベッカー型筋ジストロフィー、癩癩、性腺形成異常、WAGR症候群（ウィルムス腫瘍、無虹彩症、尿生殖器異常、精神遅滞）、スミス マジェニス症候群（Smith-Magenis syndrome）、骨髄異形成症候群、遺伝性粘膜上皮異形成、遺伝性角皮症や、シャルコーマリーツス病および神経線維腫症などの遺伝性神経病、甲状腺機能低下症、水頭症や、Sydenham's chorea）および脳性小児麻痺などの発作障害、二分脊椎、無脳症、頭蓋脊椎披裂、先天性緑内障、白内障、感音難聴が含まれる。神経疾患には、癩癩、虚血性脳血管障害、脳卒中、脳腫瘍、アルツハイマー病、ピック病、ハンチントン病、痴呆、パーキンソン病およびその他の錐体外路障害、筋萎縮性側索硬化およびその他の運動ニューロン障害、進行性神経性筋萎

10

20

30

40

50

縮症、網膜色素変性症（色素性網膜炎）、遺伝性運動失調、多発性硬化症および他の脱髄疾患、細菌性およびウイルス性髄膜炎、脳膿瘍、硬膜下膿瘍、硬膜外膿瘍、化膿性頭蓋内血栓性静脈炎、脊髄炎および神経根炎、ウイルス性中枢神経系疾患と、プリオン病（クールー、クロイツフェルト ヤコブ病、およびGerstmann-Straussler-Scheinker症候群を含む）、致死性家族性不眠症、神経系性栄養病および代謝病、神経線維腫症、結節硬化症、小脳網膜血管腫症（cerebelloretinal hemangioblastomatosis）、脳3叉神経血管症候群、ダウン症を含む中枢神経系性精神遅滞および他の発達障害、脳性麻痺、神経骨格異常症、自律神経系障害、脳神経疾患、脊髄疾患、筋ジストロフィー他の神経筋障害、末梢神経疾患、皮膚筋炎および多発性筋炎と、遺伝性、代謝性、内分泌性、および中毒性ミオパシーと、重症筋無力症、周期性四肢麻痺、精神障害（気分性、不安性の障害、統合失調症 / 分裂病）、季節性感情障害（SAD）、静座不能、健忘症、緊張病、糖尿病性ニューロパシー、遅発性ジスキネジア、ジストニー、パラノイド精神病、帯状疱疹後神経痛、トゥレット病、進行性核上麻痺、大脳皮質基底核変性（corticobasal degeneration）、および家族性前頭側頭型痴呆とが含まれる。自己免疫 / 炎症疾患には、後天性免疫不全症候群（AIDS）、アジソン病（慢性原発性副腎機能不全）、成人呼吸窮迫症候群、アレルギー、強直性脊椎炎、アミロイド症、貧血、喘息、アテローム性動脈硬化、自己免疫性溶血性貧血、自己免疫性甲状腺炎、自己免疫性多腺性内分泌カンジダ症外胚葉ジストロフィー（APECED）、気管支炎、胆嚢炎、接触皮膚炎、クローン病、アトピー性皮膚炎、皮膚筋炎、糖尿病、肺気腫、リンパ球傷害因子性偶発性リンパ球減少症、新生児溶血性疾患（胎児赤芽球症）、結節性紅斑、萎縮性胃炎、糸球体腎炎、グッドパスチャー症候群、痛風、グレーブス病、橋本甲状腺炎、過好酸球増加症、過敏性腸症候群、多発性硬化症、重症筋無力症、心筋または心膜炎、骨関節炎、骨粗しょう症、腓炎、多発性筋炎、乾癬、ライター症候群、リウマチ様関節炎、強皮症、シェーグレン症候群、全身性アナフィラキシー、全身性エリテマトーデス、全身性強皮症、血小板減少性紫斑病、潰瘍性大腸炎、ぶどう膜炎、ウェルナー症候群、癌合併症、血液透析、体外循環、ウイルス感染症、細菌感染症、真菌感染症、寄生虫感染症、原虫感染症、蠕虫感染症、および外傷が含まれる。生殖障害には、プロラクチン産生の障害、不妊（例えば卵管疾患、排卵不良、子宮内膜症、性周期の途絶、月経周期の途絶、多嚢胞性卵巣症候群、卵巣過剰刺激症候群、子宮内膜腫瘍や卵巣腫瘍、子宮筋腫、自己免疫疾患、異所性妊娠、奇形発生、乳癌、乳房線維嚢胞病、乳漏症、精子形成の途絶、異常精子生理、精巣癌、前立腺癌、良性前立腺肥大、前立腺炎、ペーロニー病、インポテンス、男性乳癌、女性化乳房、高ゴナドトロピン性腺機能低下症、低ゴナドトロピン性腺機能低下症、仮性半陰陽、無精子症、早発卵巣不全、アクロシン欠損症、晩発思春期、逆行性射精、無射精、血管芽腫、嚢胞・クロム親和細胞腫（cystsphaeochromocytomas）、傍神経節腫、精巣上体の嚢胞腺腫、および内リンパ嚢腫瘍）を含む。胎盤障害には、子癇前症、絨毛癌、胎盤早期剥離、前置胎盤、胎盤梗塞やmaternal floor infarction、癒着胎盤、侵入胎盤（increate）および穿通胎盤、絨毛膜外性胎盤（extrachorial placentas）、絨毛血管腫（chorangioma）、絨毛血管分布過多（chorangiosis）、慢性絨毛炎（chronic villitis）、胎盤絨毛浮腫（placental villous edema）、終末絨毛広範性線維症（widespread fibrosis of the terminal villi）、絨毛間腔血栓（intervillous thrombi）、出血性血管炎、新生児溶血性疾患（胎児赤芽球症）、非免疫性胎児水腫を含む。CGDD をコードするポリヌクレオチドは、サザーン法やノーザン法、ドットプロット法、或いはその他の膜系の技術、PCR法、ディップスティック（dipstick）、ピン（pin）、およびマルチフォーマットのELISA式アッセイ、および、変容したCGDD 発現を検出するために患者から採取した体液或いは組織を利用するマイクロアレイに使用可能である。このような定性方法または定量方法は、当分野で公知である。

【0330】

或る特定の実施態様では、CGDDをコードするポリヌクレオチドは、関連する疾患、特に前記したこれらを検出するアッセイにおいて有用であり得る。CGDD をコードする配列に相補的なポリヌクレオチドは、標準的な方法で標識化され、ハイブリダイゼーション複合体の形成に好適な条件の下、患者から採取した体液或いは組織のサンプルに加えることが

できる。好適なインキュベーション期間が経過したらサンプルを洗浄し、シグナルを定量して標準値と比較する。患者のサンプルのシグナルの量が対照サンプルと比較して著しく変化している場合は、そのサンプル内のCGDDをコードするポリヌクレオチド群のレベル変化の存在により、関連する疾患の存在が明らかになる。このようなアッセイは、動物実験、臨床試験における特定の治療効果を評価するため、あるいは個々の患者の治療をモニターするために用いることもできる。

【0331】

CGDDの発現に関連する疾患の診断の基準を提供するために、発現の正常すなわち標準的なプロファイルが確立される。これは、ハイブリダイゼーションあるいは増幅に好適な条件下、動物あるいはヒトのいずれかの正常な被験体から抽出された体液あるいは細胞とCGDDをコードする配列あるいはその断片とを混合することにより達成され得る。実質的に精製されたポリヌクレオチドを既知量で用いて行った実験から得た値を正常な被験者から得た値と比較することにより、標準ハイブリダイゼーションを定量することができる。このようにして得た標準値は、疾患の徴候を示す患者から得たサンプルから得た値と比較することができる。標準値からの偏差を用いて疾患の存在を確定する。

10

【0332】

疾患の存在が確定されて治療プロトコルが開始されると、患者の発現レベルが正常な被検者に観察されるレベルに近づき始めたかどうかを測定するため、ハイブリダイゼーションアッセイを定期的に繰り返し得る。連続アッセイから得られた結果を用いて、数日から数ヶ月の期間にわたる治療の効果を示し得る。

20

【0333】

癌に関しては、個体からの生体組織における異常な量の転写物（過少発現または過剰発現）の存在は、疾患の発生素質を示したり、実際に臨床的症状が現れる前に疾患を検出する方法を提供し得る。この種のより明確な診断により、医療の専門家が予防方法または積極的な治療法を早くから利用し、それによって癌の発生または更なる進行を防止することが可能となる。

【0334】

CGDDをコードする配列群から設計したオリゴヌクレオチド群の更なる診断的利用には、PCRの利用を含み得る。これらのオリゴマーは、化学的に合成するか、酵素により生産するか、あるいは*in vitro*で産出し得る。オリゴマーはCGDDをコードするポリヌクレオチドの断片や、CGDDをコードするポリヌクレオチドと相補的なポリヌクレオチドの断片を好適には含み、最適な条件下で、特定の遺伝子や条件を識別するために利用される。また、オリゴマーは、やや緩いストリンジェンシー条件下で、近縁のDNA或いはRNA配列の検出、定量、或いはその両方のため用いることが可能である。

30

【0335】

或る特定態様で、CGDDをコードするポリヌクレオチド群に由来のオリゴヌクレオチドプライマー類を用いて塩基多型(SNP)を検出し得る。SNPは、多くの場合にヒトの先天性または後天性遺伝病の原因となるような置換、挿入及び欠失である。限定するものではないがSNPの検出方法には、SSCP (single-stranded conformation polymorphism) 及び蛍光SSCP (fSSCP) がある。SSCPでは、CGDDをコードするポリヌクレオチド群に由来のオリゴヌクレオチドプライマー類とポリメラーゼ連鎖反応法(PCR)を用いてDNAを増幅する。このDNAは例えば、病変組織または正常組織、生検サンプル、体液などに由来し得る。DNA内のSNPによって、一本鎖形状のPCR生成物の2次及び3次構造に差異が生じる。この差異は非変性ゲル中でのゲル電気泳動法を用いて検出可能である。fSSCPでは、オリゴヌクレオチドプライマーを蛍光性に標識する。それによってDNAシーケンシング機などの高処理機器でアンプリマー(amplimer)の検出が可能になる。更に、インシリコSNP (*in silico* SNP, *is*SNP) と呼ばれる配列データベース分析法は、一般的なコンセンサス配列へアセンブリされるような個々のオーバーラップするDNA断片の配列を比較することにより、多型性を同定し得る。これらのコンピュータベースの方法は、DNAの実験室での調製に、また統計モデル及びDNA配列クロマトグラムの自動分

40

50

析を用いたシーケンシングのエラーに起因する配列の変異をフィルタリングして除去する。別の態様では、例えば高処理MASSARRAYシステム (Sequenom, Inc., San Diego CA) を用いた質量分析によりSNPを検出し、特徴付ける。

【0336】

SNPを利用して、ヒト疾患の遺伝的基礎を研究しうる。例えば、少なくとも16の一般的SNPが非インスリン依存型真性糖尿病と関連がある。SNPはまた、嚢胞性線維症、鎌状赤血球貧血、慢性肉芽腫性疾患等の単一遺伝子病の転帰の違いを研究するために有用である。例えば、マンノース結合レクチンでの変異体 (MBL2) は、嚢胞性線維症の肺での有害な転帰と関連することがわかっている。SNPはまた、生命を脅かす毒性等の薬剤への患者の反応に影響する遺伝変異体の同定という薬理ゲノミクスにおいても有用性がある。例えば、N-アセチルトランスフェラーゼにおける変異は抗結核剤、イソニアジドに反応した末梢神経障害の発生率が高くなるが、ALOX5 遺伝子のコアプロモータの変異は5-リポキシゲナーゼ経路を標的とする抗喘息薬での治療に対する臨床的反応を減少する。異なった集団でのSNPの分布についての分析は遺伝的浮動、突然変異、組み換えおよび選択の研究に有用であると共に、集団の起源と移動の調査にも有用である (Taylor, J.G. 他 (2001) Trends Mol. Med. 7:507-512, Kwok, P.-Y. および Z. Gu (1999) Mol. Med. Today 5:538-543, Nowotny, P. 他 (2001) Curr. Opin. Neurobiol. 11:637-641)。

10

【0337】

CGDDの発現を定量するために用い得る別の方法の例としては、ヌクレオチド群の放射標識またはビオチン標識、対照核酸の共増幅 (coamplification)、および、標準曲線から得た結果の補間もある (Melby, P.C. 他 (1993) J. Immunol. Methods 159:235-244, Duplala, C. 他 (1993) Anal. Biochem. 212:229-236)。目的のオリゴマーが種々の希釈液中に存在し、分光光度法または比色反応によって定量が迅速になるような高処理フォーマットのアッセイを行うことによって、複数のサンプルの定量速度を加速することができる。

20

【0338】

更に別の実施態様では、本明細書に記載した任意のポリヌクレオチドに由来するオリゴヌクレオチドまたはより長い断片を、或るマイクロアレイにおけるエレメント群として用いることができる。大多数の遺伝子の相対発現レベルを同時にモニターする転写イメージング技術にマイクロアレイを用いることが可能である。これについては、以下に記載する。マイクロアレイはまた、遺伝変異体、突然変異および多型性の同定に用いることができる。この情報を用いることで、遺伝子機能を決定し、疾患の遺伝的根拠を理解し、疾患を診断し、遺伝子発現の機能としての疾病の進行/後退をモニターし、疾病治療における薬物の活性を開発およびモニターすることができる。特に、患者にとって最もふさわしく、有効な治療法を選択するために、この情報を用いて患者の薬理ゲノムプロファイルを開発することができる。例えば、患者の薬理ゲノムプロファイルに基づき、患者に対して高度に効果的で副作用の最も少ない治療薬を選択することができる。

30

【0339】

CGDDやその断片群、CGDDに特異的な抗体類を、別の実施態様では、或るマイクロアレイ上のエレメント群として用い得る。マイクロアレイを用いて、上記のようなタンパク質-タンパク質相互作用、薬物-標的相互作用および遺伝子発現プロファイルをモニターまたは測定することが可能である。

40

【0340】

或る実施態様は、或る組織または細胞タイプの転写イメージを作製する、本発明のポリヌクレオチドの使用に関連する。転写イメージは、特定の組織または細胞タイプによる遺伝子発現の包括的パターンを表す。包括的遺伝子発現パターンは、所与の条件下で所与の時間に発現した遺伝子の数および相対存在量を定量することにより分析し得る (Seilhame r 他 米国特許第5,840,484号 「Comparative Gene Transcript Analysis」は特に引用することを以って本明細書の一部となす)。従って、特定の組織または細胞タイプの転写物または逆転写物全体に本発明のポリヌクレオチドまたはその相補体をハイブリダイズすることにより、転写イメージを生成し得る。或る実施例では、本発明のポリヌクレオチドま

50

たはその相補体がマイクロアレイ上のエレメントのサブセットを複数含むような高処理フォーマットでハイブリダイゼーションを発生させる。結果として得られる転写イメージは、遺伝子活性のプロファイルを提供し得る。

【0341】

転写イメージは、組織、細胞株、生検またはその生体サンプルから単離した転写物を用いて作製し得る。転写イメージはしたがって、組織または生検サンプルの場合には *in vivo*、細胞株の場合には *in vitro* での遺伝子発現を反映する。

【0342】

本発明のポリヌクレオチドの発現のプロフィールを作製する転写イメージはまた、工業的または天然の環境化合物の毒性試験のみならず、*in vitro*モデル系及び薬剤の前臨床評価と併せて使用し得る。全ての化合物は、作用および毒性のメカニズムを標示し、しばしば分子フィンガープリントまたは毒性シグネチャ (toxicant signatures) と称される、特徴的な遺伝子発現パターンを惹起する (Nuwaysir, E.F. 他 (1999) *Mol. Carcinog.* 24:153-159; Steiner, S. および N.L. Anderson (2000) *Toxicol. Lett.* 112-113:467-471)。試験化合物が、既知の毒性を有する化合物のシグネチャと同様のシグネチャを有する場合には、毒性特性を共有している可能性がある。フィンガープリントまたはシグネチャは、多数の遺伝子および遺伝子ファミリーからの発現情報を含んでいる場合に、最も有用且つ正確である。理想的には、ゲノム全域にわたる発現の測定が、最高品質のシグネチャを提供する。たとえ、発現が任意の試験された化合物によって変容しない遺伝子があったとしても、それらの発現レベルを残りの発現データをノーマライズするために使用できるため、それらの遺伝子は重要である。ノーマライズ手順は、種々の化合物で処理した後の発現データの比較に有用である。毒性シグネチャの要素への遺伝子機能を割り当てることは毒性機構の解明に役立つが、毒性の予測につながるシグネチャの統計的な一致には遺伝子機能の知識は必要ではない (例えば 2000年2月29日に米国国立環境健康科学研究所 (National Institute of Environmental Health Sciences) より2000年2月29日に発行された Press Release 00-02を参照されたい。これについては <http://www.niehs.nih.gov/oc/news/toxchip.htm> で入手可能である)。したがって、毒性シグネチャを用いる中毒学的スクリーニングの際に、全ての発現した遺伝子配列を含めることは、重要且つ望ましい。

【0343】

或る実施例では、核酸を有する生体サンプルを試験化合物で処理することにより、この試験化合物の毒性を算定する。処理した生物学的サンプル中で発現した核酸は、本発明のポリヌクレオチドに特異的な1つ以上のプローブでハイブリダイズし、それによって本発明のポリヌクレオチドに対応する転写物レベルを定量し得る。処理した生体サンプル中の転写レベルを、未処理生体サンプル中のレベルと比較する。両サンプルの転写物レベルの差は、処理されたサンプル中で試験化合物が引き起こす毒性反応を示す。

【0344】

別の実施態様は、本明細書に開示するポリペプチド配列群を用いて或る組織または細胞タイプのプロテオームを分析することに関する。プロテオームの語は、特定の組織または細胞タイプでのタンパク質発現の包括的パターンを指す。プロテオームの各タンパク質成分は、個々に更なる分析にかけることができる。プロテオーム発現パターンすなわちプロファイルは、所与の条件下で所与の時間に発現したタンパク質の数および相対存在量を定量することにより分析し得る。したがって、或る細胞のプロテオームのプロファイルは、特定の組織または細胞タイプのポリペプチドを分離および分析することにより作成し得る。或る実施例では、1次元等電点電気泳動によりサンプルからタンパク質を分離し、2次元ドデシル硫酸ナトリウムスラブゲル電気泳動により分子量に応じて分離するような2次元ゲル電気泳動により、分離が達成される (前出の Steiner および Anderson)。タンパク質は、通常はクーマシーブルー、あるいは銀染色液または蛍光染色液などの物質を用いてゲルを染色することにより、分散した、独自の位置にある点としてゲル中で可視化される。各タンパク質スポットの光学密度は、通常、サンプル中のタンパク質レベルに比例する。異なるサンプル、例えば試験化合物または治療薬で処理または未処理のいずれかの生

10

20

30

40

50

体サンプルからの、同等に位置したタンパク質スポットの光学密度を比較し、処理に関連するタンパク質スポット密度の変化を同定する。スポット内のタンパク質は、例えば化学的または酵素的切断とそれに続く質量分析を用いる標準的な方法を用いて部分的にシーケンシングする。或るスポット内のタンパク質の同一性は、その部分配列を、好適には少なくとも5個の連続するアミノ酸残基を、目的のポリペプチド配列と比較することにより決定し得る。場合によっては、決定的なタンパク質同定のための更なる配列データが得られる。

【0345】

CGDD特異抗体でCGDD発現レベルを定量することによってもプロテオームのプロファイルを作成し得る。或る実施態様では、マイクロアレイ上のエレメントとしてこれら抗体を用い、マイクロアレイをサンプルに曝して各アレイエレメントへのタンパク質結合レベルを検出することにより、タンパク質発現レベルを定量する (Lueking, A. 他(1999) *Anal. Biochem.* 270:103-111、Mendoza, L.G.他(1999) *Biotechniques* 27:778-788)。検出は当分野で既知の様々な方法で行うことができ、例えば、チオール反応性またはアミノ反応性蛍光化合物とサンプル中のタンパク質を反応させ、各アレイエレメントにおける蛍光結合の量を検出し得る。

【0346】

プロテオームレベルでの毒性シグネチャも中毒学的スクリーニングに有用であり、転写レベルでの毒性シグネチャと並行に分析するべきである。いくつかの組織のいくつかのタンパク質については、転写物の存在量とタンパク質の存在量との相関が乏しいので (Anderson, N.L. および J. Seilhamer (1997) *Electrophoresis* 18:533-537)、転写イメージにはそれ程影響しないがプロテオームのプロファイルを改変するような化合物の分析において、プロテオーム毒性シグネチャは有用たり得る。更に、体液中の転写物の分析はmRNAの急速な分解のために困難なので、プロテオームのプロファイル作成はこのような場合により信頼でき、情報価値があり得る。

【0347】

別の実施態様では、タンパク質を含有する生体サンプルを試験化合物で処理することにより試験化合物の毒性を算定する。処理された生体サンプル中で発現したタンパク質は、各タンパク質の量を定量し得るように分離する。各タンパク質の量を、未処理生物学的サンプル中の対応するタンパク質の量と比較する。両サンプルのタンパク質量の差は、処理サンプル中の試験化合物に対する毒性反応を示す。個々のタンパク質は、個々のタンパク質のアミノ酸残基をシーケンシングし、これら部分配列を本発明のポリペプチドと比較することにより同定する。

【0348】

別の実施態様では、タンパク質を含有する生体サンプルを試験化合物で処理することにより試験化合物の毒性を算定する。生体サンプルから得たタンパク質は、本発明のポリペプチドに特異的な抗体を用いてインキュベートする。抗体により認識されたタンパク質の量を定量する。処理された生物学的サンプル中のタンパク質の量を、未処理生物学的サンプル中のタンパク質の量と比較する。両サンプルのタンパク質量の差は、処理サンプル中の試験化合物に対する毒性反応を示す。

【0349】

マイクロアレイは、本技術分野で既知の方法で調製し、使用し、分析する(例えばBrennan, T.M. 他(1995) 米国特許第5,474,796号、Schena, M. 他(1996) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93:10614-10619、Baldeschweiler 他(1995) PCT出願第W095/251116号、Shaloun, D.他(1995) PCT出願第W095/35505号、Heller, R.A. 他(1997) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94:2150-2155、Heller, M.J. 他(1997) 米国特許第5,605,662号)。様々なタイプのマイクロアレイが公知であり、詳細については、Schena, M 編集 DNA Microarrays: A Practical Approach, Oxford University Press, Londonに記載されている)。

【0350】

CGDDをコードする核酸配列を用いて、本発明の別の実施態様では、天然のゲノム配列を

10

20

30

40

50

マッピングするのに有用なハイブリダイゼーションプローブを作製することが可能である。コード配列または非コード配列のいずれかを用いることができ、或る例では、コード配列より非コード配列の方が好ましい。例えば、多重遺伝子族のメンバー内でのコード配列の保存により、染色体マッピング中に望ましくないクロスハイブリダイゼーションが生じる可能性がある。核酸配列は、特定の染色体、染色体の特定領域または人工形成の染色体、例えば、ヒト人工染色体 (HAC)、酵母人工染色体 (YAC)、細菌人工染色体 (BAC)、細菌 P1 産物、或いは単一染色体 cDNA ライブラリに対してマッピングされる (Harrington, J. J. 他 (1997) *Nat. Genet.* 15:345-355、Price, C.M. (1993) *Blood Rev.* 7:127-134、Trask, B.J. (1991) *Trends Genet.* 7:149-154)。一度マッピングすると、核酸配列を用いて、例えば病状の遺伝と特定の染色体領域やまたは制限酵素断片長多型 (RFLP) の遺伝とが相関するような遺伝子連鎖地図を作成可能である (Lander, E.S. 及び D. Botstein (1986) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 83:7353-7357)。

10

【0351】

蛍光原位ハイブリッド形成法 (FISH) は、他の物理的および遺伝的地図データと相関し得る (Heinz-Ulrich 他 (1995) in Meyers, 前出、965-968 ページ)。遺伝的地図データの例は、種々の科学雑誌あるいは Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) のウェブサイトに見ることができる。CGDD をコードする遺伝子の物理的地図上の位置と、特定の疾患との相関性、あるいは特定の疾患に対する素因との相関性は、この疾患と関連する DNA の領域の決定に役立ち得るため、ポジショナルクローニングの作業を促進し得る。

【0352】

確定した染色体マーカーを用いた連鎖分析等の物理的マッピング技術及び染色体標本原位ハイブリッド形成法を用いて、遺伝的地図を拡張することができる。例えばマウスなど別の哺乳類の染色体上に遺伝子を配置することにより、正確な染色体上の遺伝子座が未知でも、関連するマーカー類をしばしば明らかにし得る。この情報は、ポジショナルクローニング、またはその他の遺伝子発見技術を用いて疾患遺伝子を探す研究者にとって価値がある。疾患または症候群に關与する遺伝子が、血管拡張性失調症の 11q22-23 領域等、特定の遺伝子領域への遺伝的結合によって大まかに位置決めがなされると、該領域にマップされる任意の配列は、更なる調査のための関連遺伝子あるいは調節遺伝子を提示している可能性がある (Gatti, R.A. 他 (1988) *Nature* 336:577-580)。転座、反転などに起因する、健康者、保有者、罹病者の三者間における染色体位置の相違を検出する場合にも、本発明のヌクレオチド配列を用い得る。

20

30

【0353】

CGDD、その触媒作用断片あるいは免疫原性断片またはそのオリゴペプチドを、本発明の別の実施態様では、種々の任意の薬剤スクリーニング技術における、化合物のライブラリ類のスクリーニングに用い得る。薬剤スクリーニングに用いる断片は、溶液中に遊離しているか、固体支持物に固定されるか、細胞表面上に保持されるか、細胞内に位置しうる。CGDD と試験する薬剤との結合による複合体の形成を測定し得る。

【0354】

別の薬物スクリーニング方法は、目的のタンパク質に対して好適な結合親和性を有する化合物を高い処理能力でスクリーニングするために用いられる (Geysen 他 (1984) PCT 出願 W084/03564)。この方法においては、多数の様々な低分子の試験用化合物を固体基板上で合成する。CGDD やその断片と反応してから試験用化合物を洗浄する。結合 CGDD を次に当分野で周知の方法で検出する。精製 CGDD はまた、上記した薬剤スクリーニング技術に用いるプレート上に直接コーティングできる。別法では、非中和抗体を用いてペプチドを捕捉し、ペプチドを固体支持物に固定することもできる。

40

【0355】

CGDD と特異結合可能な中和抗体が CGDD との結合について試験化合物と競合する、競合的薬物スクリーニングアッセイを別の実施態様で用いる。CGDD と 1 つ以上の抗原決定基を共有するどのペプチドの存在をも、この方法で抗体を用いて検出できる。

【0356】

50

CGDDをコードするヌクレオチド配列を、別の実施例では、将来に開発される分子生物学技術であり、現在知られているヌクレオチド配列の特性（限定はされないが、トリプレット遺伝コード、特異的な塩基対相互作用等を含む）に依存する新技术に用い得る。

【0357】

更に詳細説明をしなくとも、当業者であれば以上の説明を以って本発明を最大限に利用できるであろう。したがって、これ以下に記載する実施例は単なる例示目的にすぎず、いかようにも本発明を限定するものではない。

【0358】

本明細書において開示した全ての特許、特許出願及び刊行物、特に米国特許第60/326,389、第60/328,186、第60/329,690、第60/348,165、第60/350,219、第60/344,518、第60/332,375、第60/336,908、第60/327,380、第60/345,384、第60/340,747、第60/345,143は、言及することをもって本明細書の一部となす。

【実施例】

【0359】

1 cDNAライブラリの作製

Incyte cDNA群の由来は、LIFSEQ GOLDデータベース (Incyte Genomics, Palo Alto CA) に記載されたcDNAライブラリ群である。幾つかの組織はホモジナイズしてグアニジニウムイソチオシアネート溶液に溶解し、他の組織はホモジナイズしてフェノールにまたは変性剤群の好適な混合液に溶解した。混合液の1例であるTRIZOL (Invitrogen) は、フェノールとグアニジンイソチオシアネートとの単相溶液である。結果として得た溶解物は、塩化セシウムのクッション液の上に重層して遠心分離するか、クロロフォルムで抽出した。イソプロパノールか、酢酸ナトリウムとエタノールか、いずれか一方、或いは別の方法を用いて、溶解物からRNAを沈殿させた。

【0360】

RNAの純度を高めるため、RNAのフェノールによる抽出及び沈殿を必要な回数繰り返した。場合によっては、DNA分解酵素でRNAを処理した。殆どのライブラリでは、オリゴd(T) 連結常磁性粒子 (Promega)、OLIGOTEXラテックス粒子 (QIAGEN, Chatsworth CA) またはOLIGOTEX mRNA精製キット (QIAGEN) を用いて、ポリ(A)+RNAを単離した。別法では、別のRNA単離キット、例えばPOLY(A) PURE mRNA精製キット (Ambion, Austin TX) を用いて、組織溶解物からRNAを直接単離した。

【0361】

場合によってはStratagene社へのRNA提供を行い、対応するcDNAライブラリをStratagene社が作製することもあった。そうでない場合は、UNIZAPベクターシステム (Stratagene) またはSUPERSCRIPトラスミドシステム (Invitrogen) を用いて本技術分野で公知の推奨される方法または類似の方法でcDNAを合成し、cDNAライブラリを作製した (前出のAusubel、他、5章)。逆転写は、オリゴd(T) またはランダムプライマーを用いて開始した。合成オリゴヌクレオチドアダプターを二本鎖cDNAに連結反応させ、好適な制限酵素または酵素群でcDNAを消化した。殆どのライブラリに対しcDNAのサイズ選択 (300~1000bp) は、SEPHACRYL S1000、SEPHAROSE CL2BまたはSEPHAROSE CL4Bカラムクロマトグラフィ (Amersham Biosciences)、あるいは分取用アガロースゲル電気泳動法を用いて行った。cDNAは好適なプラスミドのポリリンカーの、適合する制限酵素部位にライゲーションされた。好適なプラスミドは、例えばPBLUESCRIPTプラスミド (Stratagene)、PSPORT1プラスミド (Invitrogen, Carlsbad CA)、PCDNA2.1プラスミド (Invitrogen)、PBK-CMVプラスミド (Stratagene)、PCR2-TOPOTAプラスミド (Invitrogen)、PCMV-ICISプラスミド (Stratagene)、pIGEN (Incyte Genomics, Palo Alto CA)、pRARE (Incyte Genomics)、またはpINCY (Incyte Genomics)、またはこれらの誘導体である。組換えプラスミドは、Stratagene社のXL1-Blue、XL1-BlueMRFまたはSOLR、あるいはInvitrogen社のDH5、DH10BまたはElectroMAX DH10Bなど適格な大腸菌細胞に形質転換した。

【0362】

2 cDNAクローンの単離

UNIZAPベクターシステム (Stratagene) を用いた *in vivo* 切除によって、或いは細胞溶解によって、実施例1のようにして得たプラスミドを宿主細胞から回収した。プラスミドを精製する方法は、MagicまたはWIZARD Minipreps DNA精製システム (Promega)、AGTC Miniprep精製キット (Edge Biosystems, Gaithersburg MD)、QIAGEN社のQIAWELL 8 Plasmid、QIAWELL 8 Plus PlasmidおよびQIAWELL 8 Ultra Plasmid 精製システム、R.E.A.L. Prep 96プラスミド精製キットの中から少なくとも1つを用いた。プラスミドは、沈殿させた後、0.1mlの蒸留水に再懸濁して、凍結乾燥して或いは凍結乾燥しないで4 で保管した。

【0363】

別法では、高処理フォーマットにおいて直接結合PCR法を用いて宿主細胞溶解物からプラスミドDNAを増幅した (Rao, V.B. (1994) Anal. Biochem. 216:1-14)。宿主細胞の溶解および熱サイクリング過程は、単一反応混合液中で行った。サンプルを処理し、それを384穴プレート内で保管し、増幅したプラスミドDNAの濃度をPICOGREEN色素 (Molecular Probes, Eugene OR) 及びFLUOROSKAN 2 蛍光スキャナ (Labsystems Oy, Helsinki, Finland) を用いて蛍光分析的に定量した。

【0364】

3 シークエンシング及び分析

実施例2に記載したようにプラスミドから回収した *Incyte* cDNAを、以下に示すようにシークエンシングした。cDNAのシークエンス反応は、標準的方法あるいは高処理装置、例えばABI CATALYST 800 サーマルサイクラー (Applied Biosystems) またはPTC-200 サーマルサイクラー (MJ Research) を、HYDRAマイクロディスペンサー (Robbins Scientific) またはMICROLAB 2200 (Hamilton) 液体転移システムと併用して処理した。cDNAのシークエンス反応は、Amersham Biosciences社が提供する試薬、またはABIシークエンシングキット、例えばABI PRISM BIGDYE Terminator cycle sequencing ready reaction kit (Applied Biosystems) の試薬を用いて準備した。cDNAのシークエンス反応の電気泳動的分離及び標識したポリヌクレオチドの検出には、MEGABACE 1000 DNAシークエンシングシステム (Applied Biosystems) が、標準ABIプロトコル及び塩基呼び出し (base calling) ソフトウェアを用いるABI PRISM 373または377シークエンシングシステム (Applied Biosystems) が、或いはその他の本技術分野で既知の配列解析システムを用いた。cDNA配列内のリーディングフレームは、標準的方法 (前出のAusubel, 7章) を用いて決定した。cDNA配列の幾つかを選択して、実施例8に記載した方法で配列を伸長させた。

【0365】

Incyte の cDNA 配列に由来するポリヌクレオチド配列は、ベクター、リンカー及びポリ(A)配列を除去し、あいまいな塩基をマスクすることによって有効性を確認した。その際、BLAST、動的プログラミング及び隣接ジヌクレオチド頻度分析に基づくアルゴリズム及びプログラムを用いた。次に、*Incyte* cDNA配列またはそれらの翻訳の問い合わせを、以下のデータベース群に対して行った。すなわち、選抜した公共のデータベース群 (例えばGenBankの霊長類、げっ歯類、哺乳類、脊椎動物、真核生物のデータベースと、BLOCKS、PRINTS、DOMO、PRODOM) と、ヒト、ラット、マウス、線虫 (*Caenorhabditis elegans*)、出芽酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*)、分裂酵母 (*Schizosaccharomyces pombe*) および *Candida albicans* からの配列群を持つPROTEOMEデータベース群 (*Incyte Genomics*, Palo Alto CA)、および、隠れマルコフモデル (HMM) ベースのタンパク質ファミリーデータベース群、例えばPFAM、INCY、およびTIGRFAM (Haft, D.H. 他 (2001) Nucleic Acids Res. 29:41-43)、並びにHMMベースのタンパク質ドメインデータベースたとえばSMART (Schultz, J. 他 (1998) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95:5857-5864; Letunic, I. 他 (2002) Nucleic Acid Res. 30:242-244)。(HMMは、遺伝子ファミリーのコンセンサス1次構造を分析する確率的アプローチである。Eddy, S.R. (1996) Cuff. Opin. Struct. Biol. 6:361-365等を参照)。問合せは、BLAST、FASTA、BLIMPS、およびHMMERに基づくプログラムを用いて行った。*Incyte* cDNA配列は、完全長のポリヌクレオチド配列を産出するようにアセンブリ

した。あるいは、GenBank cDNA群、GenBank EST群、ステッチされた配列群、ストレッチされた配列群、またはGenscan予測コード配列群（実施例 4 および 5を参照）を用い、Incyte cDNAのアセンブリ体群を完全長まで伸長させた。PhredとPhrapとConsedとに基づくプログラムを用いてアセンブリし、GenMarkとBLASTとFASTAとに基づくプログラムを用いて、cDNAのアセンブリ体を、オープンリーディングフレームについてスクリーニングした。完全長ポリヌクレオチド配列を翻訳し、対応する完全長ポリペプチド配列を得た。あるいは、或るポリペプチドは、完全長翻訳ポリペプチドの任意のメチオニン残基で開始し得る。完全長ポリペプチド配列群の続いたの分析としての問い合わせを、GenBankタンパク質データベース群（genpept）、SwissProt、PROTEOMEデータベース群、BLOCKS、PRINTS、DOMO、PRODOMおよびProsites等のデータベースや、PFAM、INCY、およびTIGRFAM等の隠れマルコフモデル（HMM）ベースのタンパク質ファミリーデータベース群、並びにSMART等のHMMベースのタンパク質ドメインデータベース群に対し行った。完全長ポリヌクレオチド配列はまた、MACDNASIS PROソフトウェア（MiraiBio., Alameda CA）およびLASERGENEソフトウェア（DNASTAR）を用いて分析する。ポリヌクレオチド及びポリペプチド配列アライメントは、アライメントした配列間の一致率も計算するMEGALIGNマルチシーケンスアライメントプログラム（DNASTAR）に組み込まれているようなCLUSTALアルゴリズムによって指定されるデフォルトパラメータを用いて作製する。

10

【0366】

Incyte cDNA及び完全長配列の分析及びアセンブリに利用したツール、プログラム及びアルゴリズムの概略と、適用可能な説明、参照文献、閾値パラメータを表7に示す。用いたツール、プログラム及びアルゴリズムを表7の列1に、それらの簡単な説明を列2に示す。列3は好適な参照文献であり、全ての文献は全体を引用を以って本明細書の一部分となす。適用可能な場合には、列4は2つの配列が一致する強さを評価するために用いたスコア、確率値その他のパラメータを示す（スコアが高いほど、または確率値が低いほど、2配列間の相同性が高くなる）。

20

【0367】

完全長ポリヌクレオチド配列およびポリペプチド配列のアセンブリ及び分析に用いる上記のプログラムは、SEQ ID NO:58-114のポリヌクレオチド配列断片の同定にも利用できる。ハイブリダイゼーション及び増幅技術に有用である約20～約4000ヌクレオチドの断片を表4の列2に示した。

30

【0368】

4 ゲノムDNAからのコード配列の同定及び編集

推定の細胞成長、分化および細胞死関連タンパク質は、先ず公共のゲノム配列データベース（例えばgbpriやgbhtg）に対しGenscan遺伝子同定プログラムを実行して同定した。Genscanは、様々な生物からのゲノムDNA配列を分析する汎用遺伝子同定プログラムである（Burge, C. 及び S. Karlin (1997) J. Mol. Biol. 268:78-94、Burge, C. 及び S. Karlin (1998) Curr. Opin. Struct. Biol. 8:346-354）。プログラムは予測エキソンを連結し、メチオニンから停止コドンに及ぶアセンブリされたcDNA配列を形成する。Genscanの出力は、ポリヌクレオチドおよびポリペプチド配列のFASTAデータベースである。Genscanが一度に分析する配列の最大範囲は、30 kbに設定した。これらのGenscan予測cDNA配列の内、どの配列が細胞成長、分化および細胞死関連タンパク質をコードするかを判定するために、コードされるポリペプチドを、PFAMモデル群に対し細胞成長、分化および細胞死関連タンパク質について問合せて分析した。潜在的な細胞成長、分化および細胞死関連タンパク質はまた、既に細胞成長、分化および細胞死関連タンパク質としてアノテーションが付けられたIncyte cDNA配列に対する相同性を基に同定された。こうして選択されたGenscan予測配列は、次にBLAST分析により公共データベースgenpept及びgbpriと比較した。必要であれば、genpeptからのトップBLASTヒットと比較することによりGenscan予測配列を編集し、余分なまたは省略されたエキソンなど、Genscanが予測した配列におけるエラーを補正した。BLAST分析はまた、Genscan予測配列の、いかなるIncyte cDNAまたは公共cDNAカバレッジ（coverage）の発見にも用いられ、したがって転写の証拠を提供した。Inc

40

50

yte cDNAカバレッジが利用できた場合には、この情報を用いてGenscan予測配列を補正または確認した。完全長ポリヌクレオチド配列は、実施例 3に記載したアセンブリプロセスを用いて、Incyte cDNA配列および/または公共cDNA配列でGenscan予測コード配列をアセンブリして得た。或いは、完全長ポリヌクレオチド配列は、編集した、または非編集のGenscan予測コード配列に完全に由来する。

【 0 3 6 9 】

5 cDNA配列データを使ったゲノム配列データのアセンブリ ステッチ配列 (Stitched Sequence)

部分cDNA配列は、実施例 4に記載のGenscan遺伝子同定プログラムにより予測されたエキソンを用いて伸長させた。実施例 3に記載されたようにアセンブリされた部分cDNAは、ゲノムDNAにマッピングし、関連するcDNA及び1つ以上のゲノム配列から予測されたGenscanエキソンを含むクラスターに分解した。cDNA及びゲノム情報を統合するべくグラフ理論及び動的プログラミングに基づくアルゴリズムを用いて各クラスターを分析し、引き続いて確認、編集または伸長して完全長配列を産出するような潜在的スプライス変異体を生成した。区間の全長が、2つ以上の配列に在るような配列区間群をクラスター内で同定し、そのように同定された区間群は、推移性により、等しいと考えた。例えば、1つのcDNAと2つのゲノム配列上に或る区間が存在する場合、この3つの区間は全て等しいと考えられた。このプロセスは、無関係であるが連続したゲノム配列をcDNA配列により結び合わせて架橋し得る。このようにして同定された区間を、親配列 (parent sequence) に沿って現われる順にステッチアルゴリズムで縫い合わせ、可能な最も長い配列および変異配列を製作する。1種類の親配列に沿って発生した区間間の連鎖 (cDNA - cDNAまたはゲノム配列 - ゲノム配列) は、親の種類を変える連鎖 (cDNA - ゲノム配列) に優先した。結果として得たステッチ配列群を翻訳し、BLAST分析で公共データベースgenpeptおよびgbpriと比較した。Genscanが予測した不正確なエキソン群は、genpeptからのトップBLASTヒットとの比較により補正した。必要な場合には、追加cDNA配列を用いるかゲノムDNAの検査により配列を更に伸長させた。

【 0 3 7 0 】

ストレッチ配列 (Stretched Sequence)

部分DNA配列は、BLAST分析に基づくアルゴリズムにより完全長まで伸長された。まず、BLASTプログラムを用いて、GenBankの霊長類、げっ歯類、哺乳動物、脊椎動物及び真核生物のデータベースなどの公共データベースに対し、実施例 3に記載したようにアセンブリされた部分cDNAを問い合わせた。次に、最も近いGenBankタンパク質相同体を、BLAST分析により、Incyte cDNA配列または実施例 4に記載のGenScanエキソン予測配列のいずれかと比較した。結果として得られる高スコアリングセグメント対 (HSP) を用いてキメラタンパク質を産出し、翻訳した配列をGenBankタンパク質相同体上にマッピングした。元のGenBankタンパク質相同体に対し、キメラタンパク質内では挿入または欠失が起こり得る。GenBankタンパク質相同体、キメラタンパク質またはその両方をプローブとして用い、公共のヒトゲノムデータベースから相同ゲノム配列を検索した。このようにして、部分的なDNA配列を、相同ゲノム配列の付加によりストレッチすなわち伸長した。結果として得られるストレッチ配列を検査し、完全遺伝子を含んでいるか否かを判定した。

【 0 3 7 1 】

6 CGDD をコードするポリヌクレオチドの染色体マッピング

SEQ ID NO:58-114をアセンブリするために用いた配列を、BLAST及びSmith-Watermanアルゴリズムを用いて、Incyte LIFESEQデータベース及び公共のドメインデータベースの配列と比較した。SEQ ID NO:58-114 と一致するこれらのデータベースの配列を、Phrapなどのアセンブリアルゴリズム (表7) を使用して、連続及びオーバーラップした配列のクラスターにアセンブリした。スタンフォード・ヒトゲノムセンター (SHGC)、ホワイトヘッド・ゲノム研究所 (WIGR)、Genethonなどの公的な情報源から入手可能な放射線ハイブリッドおよび遺伝地図データを用いて、いずれかのクラスター化された配列が既にマッピングされているかを判定した。マッピングされた配列が或るクラスターに含まれている場合

、そのクラスターの全配列が、個々の配列番号と共に、地図上の位置に割り当てられた。

【0372】

地図上の位置は、ヒト染色体の範囲または区間として表される。センチモルガン単位での或る区間の地図上の位置は、染色体の短腕 (p-arm) の末端に対して測定する (センチモルガン (cM) は、染色体マーカー間の組換え頻度に基づく計測単位である。平均して、1 cMは、ヒト中のDNAの1メガベース (Mb) にほぼ等しい。もっとも、この値は、組換えのホットスポット及びコールドスポットによって広範囲に変化する)。cM距離は、各クラスター内に配列が含まれる放射線ハイブリッドマーカー類に対して境界を提供するGenethonによってマッピングされた遺伝マーカー群に基づく。NCBI「GeneMap'99」 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genemap/>) などの一般個人が入手可能なヒト遺伝子マップおよびその他の情報源を用いて、既に同定されている疾患遺伝子群が、上記した区間内若しくは近傍に位置するかを決定できる。

10

【0373】

7 ポリヌクレオチド発現の分析

ノーザン分析は、遺伝子の転写物の存在を検出するために用いられる実験用技術であり、特定の細胞種或いは組織からのRNAが結合されている膜への標識されたヌクレオチド配列のハイブリダイゼーションを伴う (SambrookおよびRussell, 前出, 7章、Ausubel 他、前出, 4章)。

【0374】

BLASTを適用する類似のコンピュータ技術を用いて、GenBankやLifeSeq (Incyte Genomics) 等のデータベースにおいて同一または関連分子を検索した。ノーザン分析は、多数の膜系ハイブリダイゼーションよりも非常に速い。更に、任意の特定の一致を厳密なあるいは相同的なものとして分類するか否かを決定するため、コンピュータ検索の感度を修正することができる。検索の基準は積スコアであり、次式で定義される。

20

【0375】

【数1】

(BLASTスコア×配列一致率)

$5 \times (\text{長さ(配列1)}, \text{長さ(配列2)}) \text{の最小値}$

30

【0376】

積スコアは、2つの配列間の類似度と、配列が一致する長さとの両方を考慮している。積スコアは、0~100のノーマライズされた値であり、次のようにして求める。BLASTスコアにヌクレオチドの配列一致率を乗じ、その積を2つの配列の短い方の長さの5倍で除する。BLASTスコアを計算するには、或る高スコアリングセグメント対 (HSP) 内の一致する各塩基に +5 のスコアを割り当て、各不一致塩基に -4 を割り当てる。2つの配列は、2以上のHSPを共有し得る (ギャップにより隔離される)。2以上のHSPがある場合には、最高BLASTスコアのセグメント対を用いて積スコアを計算する。積スコアは、断片的オーバーラップとBLASTアラインメントの質とのバランスを表す。例えば積スコア100は、比較した2つの配列の短い方の長さ全体にわたって100%一致する場合のみ得られる。積スコア70は、一端が100%一致し、70%オーバーラップしているか、他端が88%一致し、100%オーバーラップしているかのいずれかの場合に得られる。積スコア50は、一端が100%一致し、50%オーバーラップしているか、79%一致し、100%オーバーラップしているかのいずれかの場合に得られる。

40

【0377】

或いは、CGDD をコードするポリヌクレオチドを、それらが由来する組織源について分析する。例えば幾つかの完全長配列は、少なくとも一部は、オーバーラップするIncyte cDNA配列群を用いてアセンブリされる (実施例3を参照)。各cDNA配列は、ヒト組織から作製されたcDNAライブラリに由来する。各ヒト組織は、以下の臓器/組織カテゴリーの1つに分類される。すなわち心血管系、結合組織、消化器系、胎芽構造、内分泌系、外分泌

50

腺、女性生殖器、男性生殖器、生殖細胞、血液および免疫系、肝、筋骨格系、神経系、膵臓、呼吸器系、感覚器、皮膚、顎口腔系、非分類性/混合性または尿路である。各カテゴリのライブラリ数を数えて、全カテゴリの総ライブラリ数で除する。同様に、各ヒト組織は、以下の疾患/条件カテゴリ即ち癌、細胞株、発達、炎症、神経性、外傷、心血管、プール、その他の1つに分類される。各カテゴリのライブラリ数を数えて、全カテゴリの総ライブラリ数で除する。CGDDをコードするcDNAの疾患特異的な発現を、得られるパーセンテージが反映する。cDNA配列群およびcDNAライブラリ/組織の情報は、LIFESEQ GOLDデータベース (Incyte Genomics, Palo Alto CA) から得ることができる。

【0378】

8 CGDD をコードするポリヌクレオチドの伸長

10

完全長のポリヌクレオチドもまた、完全長分子の適切な断片から設計したオリゴヌクレオチドプライマーを用いて該断片を伸長させて生成した。或るプライマーは既知の断片の5'伸長を開始するべく合成し、別のプライマーは既知の断片の3'伸長を開始するべく合成した。開始プライマーは、長さが約22~30ヌクレオチド、GC含有率が約50%以上となり、約68~72の温度で標的配列にアニーリングするように、OLIGO 4.06ソフトウェア (National Biosciences) 或いは別の適切なプログラムを用いて、cDNAから設計した。ヘアピン構造及びプライマー-プライマー二量体を生ずるようなヌクレオチドの伸長は全て回避した。

【0379】

選択したヒトcDNAライブラリ群を用い、配列を伸長した。2段階以上の伸長が必要または望ましい場合には、付加的プライマーあるいはプライマーのネステッドセットを設計した。

20

【0380】

高忠実度の増幅が、当業者によく知られている方法を利用したPCR法によって得られた。PCRは、PTC-200 サーマルサイクラー (MJ Research, Inc.) を用いて96ウェルプレート内で行った。反応混合液は、鋳型DNA及び200nmolの各プライマーを有する。また、 Mg^{2+} と $(NH_4)_2SO_4$ と2-メルカプトエタノールを含む反応バッファー、Taq DNAポリメラーゼ (Amersham Biosciences)、ELONGASE酵素 (Invitrogen)、Pfu DNAポリメラーゼ (Stratagene) を含む。プライマーの組、PCI AとPCI Bに対して以下のパラメータで増幅を行った。ステップ1: 94 で3分間、ステップ2: 94 で15秒間、ステップ3: 60 で1分間、ステップ4: 68 で2分間、ステップ5: ステップ2、3および4を20回繰り返す、ステップ6: 68 で5分間、ステップ7: 4 で保存。別法では、プライマー対であるT7とSK+とに対して以下のパラメータで増幅を行った。ステップ1: 94 で3分間、ステップ2: 94 で15秒間、ステップ3: 57 で1分間、ステップ4: 68 で2分間、ステップ5: ステップ2、3および4を20回繰り返す、ステップ6: 68 で5分間、ステップ7: 4 で保存。

30

【0381】

各ウェルのDNA濃度は、1X TE及び0.5 μ lの希釈していないPCR産物に溶解した100 μ lのPICOGREEN定量試薬 (0.25% (v/v) PICOGREEN; Molecular Probes, Eugene OR) を不透明な蛍光光度計プレート (Corning Costar, Acton MA) の各ウェルに分配してDNAが試薬と結合できるようにして測定する。サンプルの蛍光を計測してDNAの濃度を定量すべく、プレートをFluoroskan II (Labsystems Oy, Helsinki, Finland) でスキャンした。反応混合物のアリコット5~10 μ lを1%アガロースゲル上で電気泳動法によって解析し、どの反応が配列の伸長に成功したかを判定した。

40

【0382】

伸長したヌクレオチドは、脱塩および濃縮して384穴プレートに移し、CviJIコレラウイルスエンドヌクレアーゼ (Molecular Biology Research, Madison WI) を用いて消化し、音波処理またはせん断し、pUC 18ベクター (Amersham Biosciences) への再連結を行った。ショットガン・シーケンシングのために、消化したヌクレオチドを低濃度 (0.6~0.8%) のアガロースゲル上で分離し、断片を切除し、寒天をAgar ACE (Promega) で消化した。伸長したクローンをT4リガーゼ (New England Biolabs, Beverly MA) を用

50

いてpUC 18ベクター (Amersham Biosciences) に再連結し、Pfu DNAポリメラーゼ (Stratagene) で処理して制限部位のオーバーハング部分を満たし、大腸菌細胞に形質移入した。形質移入した細胞を抗生物質含有培地上で選択し、それぞれのコロニーを採取し、LB/2 Xカルベニシリン培養液中の384ウェルプレート群に37 で一晩培養した。

【0383】

細胞を溶解して、Taq DNAポリメラーゼ (Amersham Biosciences) 及びPfu DNAポリメラーゼ (Stratagene) を用いて以下の手順でDNAをPCR増幅した。ステップ1: 94 で3分間、ステップ2: 94 で15秒間、ステップ3: 60 で1分間、ステップ4: 72 で2分間、ステップ5: ステップ2、3および4を29回繰り返す、ステップ6: 72 で5分間、ステップ7: 4 で保存。上記したようにPICOGREEN試薬 (Molecular Probes) でDNAを定量化した。DNAの回収率が低いサンプルは、上記と同一の条件を用いて再増幅した。サンプルは20%ジメチルスルホキシド (1:2, v/v) で希釈し、DYENAMIC エネルギートランスファー シークエンシングプライマー、及びDYENAMIC DIRECT kit (Amersham Biosciences) またはABI PRISM BIG DYE ターミネーターサイクル シークエンシング反応キット (Terminator cycle sequencing ready reaction kit) (Applied Biosystems) を用いてシークエンシングした。

10

【0384】

同様に、上記手順を用いて完全長ポリヌクレオチドを検証した。あるいは、完全長ポリヌクレオチドを用い、上記手順で、そのような伸長のために設計したオリゴヌクレオチド類と、或る適切なゲノムライブラリとを用いて5'調節配列を得た。

【0385】

9 CGDD をコードするポリヌクレオチドにおける1塩基多型性の同定

一塩基多型性 (SNP) として知られる一般的なDNA配列変異体は、LIFESEQデータベース (Incyte Genomics) を用いてSEQ ID NO:58-114において同定された。実施例3に記載されているように、同じ遺伝子からの配列を共にクラスターにしてアセンブリし、これによって遺伝子内のすべての配列変異体の同定ができた。一連のフィルタからなるアルゴリズムを使って、SNPを他の配列変異体から区別した。前段フィルタは、最小限Phredクオリティスコア15を要求することにより大多数のベースコールのエラーを除去し、また、配列アライメントエラーや、ベクター配列、キメラおよびスプライス変異体の不適当なトリミングにより生じるエラーを取り除いた。染色体の高度解析の自動化手順により、推定SNPの近傍におけるオリジナルのクロマトグラムファイルが解析された。クローンエラーフィルタは統計的に生み出されたアルゴリズムを用いて、逆転写酵素、ポリメラーゼ、または体細胞突然変異によって引き起こされるエラーのような、実験処理時に導入されるエラーを識別した。クラスターエラーフィルタは、統計的に生み出されたアルゴリズムを用いて、近縁の相同体または偽遺伝子のクラスター化に起因するエラー、または非ヒト配列によるコンタミネーションにより生じたエラーを同定した。最後のフィルタ群によって、免疫グロブリンまたはT細胞受容体に存在する重複 (duplicates) とSNPが除去された。

20

30

【0386】

異なる4つのヒト集団のSNP部位における対立遺伝子頻度を分析するために、高処理M ASSARRAYシステム (Sequenom, Inc.) を用いる質量分析によって、更なる特徴付けのためにいくつかのSNPが選択された。白人母集団は、ユタ州の83人、フランス人4人、ベネズエラ3人およびアーミッシュ派2人を含む92人 (男性46人、女性46人) で構成された。アフリカ人母集団はすべてアフリカ系アメリカ人である194人 (男性97人、女性97人) からなる。ヒスパニック母集団はすべてメキシコ系ヒスパニックの324人 (男性162人、女性162人) からなる。アジア人母集団は126人 (男性64人、女性62人) からなり、親の内訳は中国人43%、日本人31%、コリアン13%、ベトナム人5%およびその他のアジア人8%と報告されている。対立形質の発生頻度は最初に白人母集団において分析し、いくつかの例において、この母集団で対立形質分散を示さなかったSNPは他の三つの母集団においてさらに検査しなかった。

40

【0387】

10 個々のハイブリダイゼーションプロープの標識化及び使用

50

SEQ ID NO:58-114から導き出されたハイブリダイゼーションプローブを用いて、cDNA、mRNA、またはゲノムDNAをスクリーニングする。約20塩基対からなるオリゴヌクレオチドの標識について特に記載するが、より大きなヌクレオチド断片に対しても本質的に同一の手順が用いられる。オリゴヌクレオチドは、OLIGO 4.06ソフトウェア(National Biosciences)等の最新ソフトウェアを用いて設計し、各オリゴマー50 pmolと、[$^{-32}$ P]アデノシン3リン酸(Amersham Biosciences)250 μ Ciと、T4ポリヌクレオチドキナーゼ(DuPont NEN, Boston MA)とを化合させることにより標識する。標識したオリゴヌクレオチドは、S EPHADEX G-25超細繊維分子サイズ排除デキストラン ピーズカラム(Amersham Biosciences)を用いて実質的に精製する。Ase I、Bgl II、Eco RI、Pst I、Xba1またはPvu II(DuPont NEN)のいずれか1つのエンドヌクレアーゼで消化されたヒトゲノムDNAの典型的な膜ベースのハイブリダイゼーション解析において、毎分 10^7 カウントの標識されたプローブを含むアリコットを用いる。

10

【0388】

各消化物から得たDNAは、0.7%アガロースゲル上で分画してナイロン膜(Nytran Plus, Schleicher & Schuell, Durham NH)に移す。ハイブリダイゼーションは、40°Cで16時間行う。非特異的シグナル群を除去するため、最大で例えば0.1 \times クエン酸ナトリウム食塩水および0.5%ドデシル硫酸ナトリウムの条件下で、プロット群を室温で順次洗浄する。オートラジオグラフィまたはそれに代わるイメージング手段を用いてハイブリダイゼーションパターンを視覚化し、比較する。

【0389】

20

11 マイクロアレイ

マイクロアレイの表面上でアレイエレメントの結合または合成は、フォトリソグラフィ、ピエゾ式印刷(インクジェット印刷、前出のBaldeschweiler他等を参照)、機械的マイクロスポッティング技術及びこれらから派生したものを用いて達成することが可能である。上記各技術において基板は、均一且つ無孔の固体とするべきである(Schena, M., ed. (1999) DNA Microarrays: A Practical Approach, Oxford University Press, Londonに記載されている)。推奨する基板には、シリコン、シリカ、スライドガラス、ガラスチップおよびシリコンウェハがある。あるいは、ドットプロット法またはスロットプロット法に類似した手順を利用し、熱的、紫外線的、化学的または機械的結合手順を用いて基板の表面にエレメントを配置および結合させてもよい。通常のアレイは、利用可能な、当業者に公知の方法と機械とを用いて作製でき、任意の適正数のエレメントを有し得る(Schena, M. 他(1995) *Science* 270:467-470; Shalon, D.他(1996) *Genome Res.* 6:639-645; Marshall, A. および J. Hodgson (1998) *Nat. Biotechnol.* 16:27-31を参照)。

30

【0390】

完全長cDNA、発現配列タグ(EST)、またはその断片またはオリゴマーが、マイクロアレイのエレメントと成り得る。ハイブリダイゼーションに好適な断片またはオリゴマーを、LASERGENEソフトウェア(DNASTAR)など本技術分野で公知のソフトウェアを用いて選択することが可能である。アレイエレメント群を、生体サンプル中のポリヌクレオチド群とハイブリダイズする。生体サンプル中のポリヌクレオチドは、検出を容易にするために蛍光標識などの分子タグに抱合させる。ハイブリダイゼーション後、生体サンプルからのハイブリダイズされていないヌクレオチドを除去し、蛍光スキャナを用いて各アレイエレメントでのハイブリダイゼーションを検出する。あるいは、レーザー脱離および質量スペクトロメトリを用いてもハイブリダイゼーションを検出し得る。マイクロアレイ上の或るエレメントにハイブリダイズする各ポリヌクレオチドの、相補性の度合と相対存在度とを算定し得る。一実施態様におけるマイクロアレイの調製および使用について、以下に詳述する。

40

【0391】

組織または細胞サンプルの調製

全RNAを組織サンプルから単離するためグアニジニウムチオシアネート法を用い、ポリ(A)⁺RNA精製にオリゴ(dT)セルロース法を用いる。各ポリ(A)⁺RNAサンプルを逆転写する

50

ため、MMLV逆転写酵素を用い、また、0.05pg/ μ lのオリゴ(dT)プライマー(21mer)、1 \times 第一鎖バッファ、0.03unit/ μ lのRNアーゼ阻害因子、500 μ MのdATP、500 μ MのdGTP、500 μ MのdTTP、40 μ MのdCTP、40 μ MのdCTP-Cy3(BDS)またはdCTP-Cy5(Amersham Biosciences)を用いる。逆転写反応は、GEMBRIGHTキット(Incyte Genomics)を用い、200ngのポリ(A)⁺RNAを含有する25mlの容量で行う。特異的対照ポリ(A)⁺RNAは、非コード酵母ゲノムDNAからin vitro転写により合成する。37 $^{\circ}$ Cで2時間インキュベートした後、各反応サンプル(1つはCy3、もう1つはCy5標識)は、2.5mlの0.5M水酸化ナトリウムで処理し、85 $^{\circ}$ Cで20分間インキュベートし、反応を停止させてRNAを分解させる。サンプルを精製するため、2つの連続するCHROMA SPIN 30ゲル濾過スピンカラム(CLONTECH, Palo Alto CA)を用いる。混合後、2つの反応サンプルをエタノール沈殿させるため、1mlのグリコーゲン(1mg/ml)、60mlの酢酸ナトリウム、および300mlの100%エタノールを用いる。サンプルは次に、SpeedVAC(Savant Instruments Inc., Holbrook NY)を用いて乾燥して仕上げ、14 μ l 5 \times SSC/0.2% SDS中で再懸濁する。

10

【0392】

マイクロアレイの調製

本発明の配列を用いて、アレイエレメントを作製する。各アレイエレメントは、クローニングcDNAインサートを持つベクター含有細菌細胞から増幅する。PCR増幅は、cDNAインサートに隣接するベクター配列に相補的なプライマーを用いる。30サイクルのPCRで1~2ngの初期量から5 μ gより大きい最終量までアレイエレメントを増幅する。増幅したアレイエレメントは、SEPHACRYL-400(Amersham Biosciences)を用いて精製する。

20

【0393】

精製したアレイエレメントは、ポリマーコートされたスライドガラス上に固定する。顕微鏡スライドガラス(Corning)は、0.1%のSDSおよびアセトン中で超音波洗浄し、処理の間および処理後に十分に蒸留水で洗浄する。スライドガラスは、4%フッ化水素酸(VWR Scientific Products Corporation(VWR), West Chester PA)中でエッチングし、十分に蒸留水中で洗浄し、95%エタノール中で0.05%アミノプロピルシラン(Sigma)を用いてコーティングする。コーティングしたスライドは、110 $^{\circ}$ Cのオーブンで硬化させる。

【0394】

米国特許第5,807,522号に記載されている方法を用いて、コーティングしたガラス基板にアレイエレメントを付加する。この特許に引用することを以って本明細書の一部とする。平均濃度100ng/ μ lのアレイエレメントDNA1 μ lを、高速ロボット装置(robotic apparatus)により、開放型キャピラリープリンティングエレメント(open capillary printing element)に充填する。装置はここで、スライド毎に約5nlのアレイエレメントサンプルを置く。

30

【0395】

マイクロアレイには、STRATALINKER UV架橋剤(Stratagene)を用いてUV架橋する。マイクロアレイは、室温において0.2%SDSで1度洗浄し、蒸留水で3度洗浄する。リン酸緩衝生理食塩水(PBS)(Tropix, Inc., Bedford MA)中の0.2%カゼイン中において60 $^{\circ}$ Cで30分間マイクロアレイをインキュベートした後、前に行ったように0.2%SDS及び蒸留水で洗浄することにより、非特異結合部位をブロックする。

40

【0396】

ハイブリダイゼーション

ハイブリダイゼーション反応に用いる9 μ lのサンプル混合体には、Cy3またはCy5で標識したcDNA合成産物群の各0.2 μ gを、5 \times SSC, 0.2%SDSハイブリダイゼーション緩衝液中に含む。サンプル混合体は、65 $^{\circ}$ Cまで5分間加熱し、マイクロアレイ表面上で等分して1.8cm²のカバーガラスで覆う。アレイは、顕微鏡スライドより僅かに大きい空洞を有する防水チェンバーに移す。チェンバーのコーナーに140 μ lの5 \times SSCを加えることにより、チェンバー内部を湿度100%に保持する。アレイを含むチェンバーは、60 $^{\circ}$ Cで約6.5時間インキュベートする。アレイは、第1洗浄緩衝液中(1 \times SSC, 0.1%SDS)において4

50

5 で10分間洗浄し、第2洗浄緩衝液中(0.1×SSC)において各々45 で10分間、3度洗浄して乾燥させる。

【0397】

検出

レポーター標識したハイブリダイゼーション複合体を検出するには、Cy3の励起のために488nm、Cy5の励起のために632nmでスペクトル線を発生し得るInnova70混合ガス10Wレーザー(Coherent, Inc., Santa Clara CA)を備えた顕微鏡を用いる。励起レーザー光の焦点をアレイ上に置くため、20×顕微鏡対物レンズ(Nikon, Inc., Melville NY)を用いる。アレイを含むスライドを、顕微鏡の、コンピュータ制御のX-Yステージに置き、対物レンズを通してラスタースキャンする。本実施例で用いる1.8cm×1.8cmのアレイは、解像度20μmでスキャンする。

10

【0398】

2回の異なるスキャンで、混合ガスマルチラインレーザーは2つのフルオロフォアを連続的に励起する。発光された光は、波長に基づき分離され、2つのフルオロフォアに対応する2つの光電子増倍管検出器(PMT R1477, Hamamatsu Photonics Systems, Bridgewater NJ)に送られる。好適なフィルタ群をアレイと光電子増倍管との間に設置して、シグナルをフィルタする。用いるフルオロフォアの最大発光の波長は、Cy3では565nm、Cy5では650nmである。装置は両方の蛍光色素からのスペクトルを同時に記録し得るが、レーザー源において好適なフィルターを用いて、蛍光色素1つにつき1度スキャンし、各アレイを通常2度スキャンする。

20

【0399】

スキャンの感度は通常、既知濃度のサンプル混合体に添加されるcDNA対照種により生成されるシグナル強度を用いて較正する。アレイ上の特定の位置には相補的DNA配列が含まれ、その位置におけるシグナルの強度を、ハイブリダイズする種の重量比1:100,000に相関させる。異なる源泉(例えば試験される細胞及び対照細胞など)からの2つのサンプルを、各々異なる蛍光色素で標識し、他と異なって発現した遺伝子を同定するために単一のアレイにハイブリダイズする場合には、その較正を、較正するcDNAのサンプルを2つの蛍光色素で標識し、ハイブリダイゼーション混合体に各々等量を加えることによって行う。

【0400】

光電子増倍管の出力は、IBMコンパチブルPCコンピュータにインストールされた12ビットRTI-835Hアナログ-デジタル(A/D)変換ボード(Analog Devices, Inc., Norwood MA)を用いてデジタル化される。デジタル化したデータは、青色(低シグナル)から赤色(高シグナル)までの擬似カラースケールへのリニア20色変換を用いて、シグナル強度がマッピングされたイメージとして表示される。データは、定量的にも分析される。2つの異なるフルオロフォアを同時に励起および測定する場合には、各フルオロフォアの発光スペクトルを用いて、データは先ずフルオロフォア間の光学的クロストーク(発光スペクトルの重なり起因する)を補正される。

30

【0401】

グリッドが蛍光シグナルイメージ上に重ねられ、それによって各スポットからのシグナルはグリッドの各エレメントに集められる。各エレメント内の蛍光シグナルは統合され、シグナルの平均強度に応じた数値が得られる。シグナル分析に用いるソフトウェアは、GE MT00LS遺伝子発現分析プログラム(Incyte Genomics)である。発現が少なくとも約2倍変化したアレイエレメント、SB比が少なくとも約2.5であるもの、およびエレメントスポットサイズが少なくとも約40%であるものは差次的に発現しているとみなされた。

40

【0402】

発現

例えばSEQ ID NO:64は、非腫瘍組織または細胞株に対して腫瘍組織で差次的発現を示し、これはマイクロアレイ分析で判定した。SEQ ID NO:64の発現は、ヒトの乳腺上皮細胞株との比較の前に24時間、成長因子と栄養物が存在する最適な成長条件で培養される時、あるいは成長因子とホルモンを含まない基礎培地で培養される時、腫瘍進行と悪性転換の

50

異なる段階で提供者から採取した乳房腫瘍細胞株で少なくとも2分の1に減少した。したがって、SEQ ID NO:64 は乳癌の診断アッセイにおいて有用である。

【0403】

正常乳房細胞株を、次のようにして得る。初代乳腺細胞の単離を、線維嚢胞性乳房疾患 (fibrocystic breast disease) のドナーから行う。または、初代乳腺上皮細胞の単離を、正常ドナーから行う。腫瘍性乳房細胞株を、次のようにして得る。乳癌細胞は、或る腫瘍から遊出した細胞から *in vitro* で得られる。或いは、乳房腫瘍細胞は複数の提供者の侵襲性腫瘍から単離された。さらに、非悪性または悪性初代乳腺癌細胞を複数のドナーの胸水から単離した。

【0404】

SEQ ID NO:64の発現はまた、同じ提供者の正常な組織とマッチしたヒトの結腸腺癌組織において少なくとも2分の1に減少した。結腸腺癌組織は、腫瘍周囲のリンパ節へ転移していた、上行結腸からの中高分化 (moderately well-differentiated) 腺癌を患う83才の男性から単離した。正常な結腸組織は、同じ提供者の、肉眼で見る限り腫瘍を伴わない結腸組織 (プールされた正常組織) から単離された。したがって、SEQ ID NO:64 は結腸癌の診断アッセイにおいて有用である。

【0405】

SEQ ID NO:64の発現はまた、同じ提供者の正常な組織とマッチした時、肺腺癌において少なくとも2.8分の1に減少した。腫瘍性肺組織は、中分化腺癌を患う60才 (性別不明) の提供者の右肺から単離した。正常な肺組織は、同じ提供者の右肺の、肉眼で見る限り腫瘍を伴わない組織から単離された。したがって、SEQ ID NO:64は肺腺癌の診断アッセイにおいて有用である。

【0406】

SEQ ID NO:64の発現はまた、同じ提供者の正常な組織とマッチした時、卵巣腺癌において少なくとも2.9分の1に減少した。腫瘍性卵巣組織は79才女性の卵巣腺癌から取得した。正常な卵巣組織は、同じ提供者の卵巣から取得した。したがって、SEQ ID NO:64は卵巣腺癌の診断アッセイにおいて有用である。

【0407】

マッチする正常および発癌性結腸、肺、卵巣組織サンプルがHuntsman Cancer Institute, (Salt Lake City, UT)によって提供された。

【0408】

SEQ ID NO:66の発現は、乳房腫瘍組織では差次的発現を示したが、これは様々な実験プロトコルを用いて行われた。乳房腫瘍の組織学および分子的評価が示すところでは、乳癌の発達の進展が経る多段階プロセスにおいて、前悪性の乳腺上皮細胞は、腫瘍形成につながる比較的確定した一連の事象を経験する。早期の腫瘍発達イベントとして導管過形成がある。急速な新生物成長中の細胞は次第に浸潤性の癌に進行し、肺、骨、そして潜在的には他の臓器へ転移するようになる。腫瘍進行と悪性転換との過程に影響しうる幾つかの因子としては、遺伝因子、環境因子、成長因子、及びホルモンがある。この過程の複雑さにより、悪性転換の過程中的ヒト乳腺上皮細胞集団を研究し、進行の特定段階と、表現型と分子との特徴を関連付けることが重要である。或る1組の実験において、ヒトの乳房腫瘍細胞株の非悪性乳房上皮細胞株 (MCF-10A) に対する評価のために、相互比較研究計画を用いた。遺伝子発現プロファイルが、非悪性MCF-10Aと5つの乳癌株群の比較により試験された。すべての細胞はRNA収集前に無血清H14ディファインド培地で70%~80%のコンフルエンスにまで増殖した。非悪性細胞株と比較すると、発現において試験された5つの乳房腫瘍細胞株のうち4つが少なくとも2分の1の減少を示した。MCF7(乳癌)、T47D(乳房管癌)、SKBr3(乳癌、ヌードマウスで発癌性でもあった)、BT20(乳癌、ヌードマウスで発癌性でもあった)のすべてが発現の減少を示した。

【0409】

BT20乳癌細胞株が関係する別の実験では、Matrigelマトリクスで一つの細胞懸濁 (single cell suspensions) を埋め込むことによって細胞を増殖した。RNAはコロニーが

10

20

30

40

50

適度の大きさになった時に収集した。正常組織のホメオスタシスは上皮細胞とその微小環境との間の動的な相互作用によって維持されている。組織が癌化してくると、癌細胞、支質や内皮のような隣接する正常細胞とそれらの微小環境の間で相反的相互作用が生じる。微小環境は不溶性細胞外マトリックス(ECM)として定義され、線維芽細胞、脂肪細胞、脈管構造、および常在免疫細胞からなる支質、およびサイトカインと成長因子の通常環境である。上皮実質は基底膜によって物理的に支質と別れており、基底膜は、高度に組織化された、特殊なECMであり、その成分は支質ECMとは異なり、上皮細胞が付着する。上皮細胞とその微小環境との間の複雑な相互作用が正常な、均衡の取れたホメオスタシスの維持に重要である。この均衡が破壊されると、悪性かつ転移性動態を促進し得るような異常細胞増殖、接着、機能および遊走が誘発され得る。SEQ ID NO:66の発現は、Matrigelマトリックスに曝露された時少なくとも2倍、有意に過剰発現した。

10

【0410】

肺癌は、4つの組織病理的に異なる群に分けられる。3群(扁平上皮癌、腺癌、大細胞癌)は、非小細胞肺癌(NSCLC)に分類される。第4群の癌は、小細胞肺癌(SCLC)という。NSCLCを全部合わせると全症例中の約70%になり、SCLCは約18%である。肺癌の発生と進行に関する分子生物学および細胞生物学的理解は不完全である。疾患の発生と進行に伴う遺伝子発現パターンの解析はこの疾患の生物学的基盤に対する洞察を生み出すだろう。3組の比較実験において、正常な肺組織が同じ提供者の肺腫瘍組織と比較された。3つの実験すべてにおいて、SEQ ID NO:67の発現は、正常な肺組織に比べると肺腫瘍組織において少なくとも2倍の有意な過剰発現を示した。

20

【0411】

これらの実験は、マイクロアレイ技術を用いてSEQ ID NO:66とSEQ ID NO:67が有意な差次的発現パターンを示すことを示唆する。さらに細胞成長、細胞分化、および細胞死と関連するタンパク質が関係する様々な病状や疾患において有用な診断マーカーとして、または潜在的治療標的としてSEQ ID NO:66とSEQ ID NO:67の有用性を確立する。

【0412】

SEQ ID NO:74は、正常な結腸組織と比較してヒトの腫瘍性結腸組織において差次的に発現された。結腸直腸癌のうち約90%が55才以上の個人に発生する。広範囲に受け入れられている仮説は、個人が疾患を発達させる前に、ある期間にわたって複数の突然変異が累積する必要がある、ということである。家族性大腸腺腫症(FAP)等の遺伝性症候群は、タンパク質の短縮型または不活性化形態につながるような大腸腺腫様ポリポーシス遺伝子(APC)の変異により引き起こされる。この癌抑制遺伝子は染色体5qにマップされている。二番目によく知られている遺伝性疾患は遺伝性非ポリープ症結腸直腸癌(HNPCC)で、これはミスマッチの修復遺伝子における突然変異によって生じる。遺伝性結腸癌症候群は人口のわずかな割合でしか発生しないが、ほとんどの結腸直腸癌は散発的であると見なされる。例えば、APCの体細胞変異は散発性の結腸腫瘍の少なくとも80%で発生する。APCの変異は、疾患における開始事象であると見なされる。続いて他の変異が発生する。約50%の結腸直腸癌はras癌遺伝子における活性化突然変異を有するが、85%はp53における不活性化突然変異を有する。これらすべての遺伝子における変更は、結腸癌における遺伝子発現の変化につながる。これらの突然変異の下流の標的と、これらが癌の発症と進行において果たす役割についてはあまり理解されていない。

30

40

【0413】

SEQ ID NO:74の発現は、24才の提供者由来のポリープ含有結腸組織において正常な結腸組織に比べると、少なくとも2分の1までの有意な発現の減少を示した。別の実験群において、SEQ ID NO:74の発現は、正常な結腸組織に比べると結腸腫瘍組織において少なくとも2分の1までの有意な発現の低下を示した。

【0414】

様々なタイプの肺腫瘍組織(扁平上皮細胞癌)が同じ提供者の腫瘍を伴わない正常な肺組織と比較された幾つかの対比較実験において、SEQ ID NO:74は差次的発現を示した。すべての場合、SEQ ID NO:74の発現は、肺腫瘍組織において少なくとも2分の1までの有意

50

な発現の低下を示した。

【0415】

これらの実験は、マイクロアレイ技術を用いてSEQ ID NO:74が有意な差次的発現パターンを示すことを示唆する。さらに癌を含む細胞成長、細胞分化、および細胞死と関連するタンパク質が関係する様々な病状や疾患において有用な診断マーカーとして、または潜在的治療標的としてSEQ ID NO:74の有用性を確立する。

【0416】

たとえば、SEQ ID NO:75は正常な肺組織に対して肺扁平上皮細胞癌で差次的発現を示すことがマイクロアレイ分析によって実証された。SEQ ID NO:75の発現は、肺扁平上皮細胞癌において、同じ提供者の肉眼的に無併発の正常肺組織と比べて少なくとも2分の1に減少した。したがってSEQ ID NO:75は、肺癌の病期分類用診断マーカーとして、または潜在的治療標的として有用である。

10

【0417】

別の実施例では、SEQ ID NO:75とSEQ ID NO:79は、マイクロアレイ分析が実証するように、初代乳房上皮細胞に比較して或る乳癌細胞株において差次的発現を示した。乳癌細胞株には、69才の女性の胸水から由来された乳房腺癌細胞株であるMCF7；乳房の浸潤性腺管癌にかかった54才の女性の胸水から由来された乳癌細胞株であるT-47D；43才の女性の悪性胸水から単離した乳癌細胞株であるSk-BR-3；転移性乳癌を患う51才の女性の胸水から得られた転移性乳房腫瘍細胞株であるMDA-mb-231；31才の転移性乳管腺癌の女性の胸水から単離した細胞株から進化した紡錘状の細胞株であるMDA-mb-435Sが含まれる。初代乳 20
腺上皮細胞株HMECは、正常なヒト乳癌組織に由来する(Clonetics, San Diego, CA)。全ての培養細胞は供給業者の推奨事項に従ってケミカリー・ディファインド培地で繁殖させ、70~80%コンフルエントまで成長させてからRNA単離を行った。マイクロアレイ実験が示したところでは、SEQ ID NO:75の発現が、初代乳腺上皮細胞に対してT-47DおよびSk-BR-3乳癌株で少なくとも2倍増加していた。またSEQ ID NO:79の発現が、初代乳腺上皮細胞に対してSk-BR-3乳癌株で少なくとも2倍増加していた。したがってSEQ ID NO:75は、乳癌の診断マーカーとして、または潜在的治療標的として有用である。

20

【0418】

例えば、マッチした正常なおよび肺腫瘍組織の遺伝子発現パターンが比較された。SEQ ID NO:83は、研究された6人の提供者のうち6例において少なくとも2分の1に下方制御されたことがわかった。肺癌の発生と進行に伴う遺伝子発現パターンの解析はこの病気の生物学的基盤に対するすばらしい洞察を生み出すだろうし、また診断と治療の改善にもつながるだろう。SEQ ID NO:26をコードするSEQ ID NO:83は、これらの診断と治療に用い得る。

30

【0419】

別の例では、マッチした正常なおよび乳房腫瘍組織の遺伝子発現パターンが比較された。SEQ ID NO:83は、調査された1人の提供者において少なくとも2分の1に下方制御されたことが理解された。乳癌の発生と進行に伴う遺伝子発現パターンの解析はこの病気の生物学的基盤に対するすばらしい洞察を生み出すだろうし、また診断と治療の改善にもつながるだろう。SEQ ID NO:26をコードするSEQ ID NO:83は、これらの診断と治療に用い得る 40

【0420】

SEQ ID NO:88はマイクロアレイ分析が実証するように正常なS状結腸細胞に対してS状結腸腫瘍組織において発現の増加を示した。遺伝子発現プロファイルは、48才の女性からの正常なS状結腸組織と転移性胃肉腫(間質腫瘍)に由来するS状結腸腫瘍を比較することにより得られた(Huntsman Cancer Institute, Salt Lake City, UT)。したがってSEQ ID NO:88は、S状結腸癌と他の細胞増殖異常の治療モニタリングと診断アッセイとで有用である。

【0421】

例えば、SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:91、SEQ ID NO:92はマイクロアレイ分析によって実 50

証されるように、非悪性乳腺上皮細胞に対して乳癌細胞で発現の増加を示した。非悪性乳腺上皮細胞株の遺伝子発現プロファイルが、腫瘍進行の様々な段階で種々の乳癌株群の遺伝子発現プロファイルと比較された。SEQ ID NO:89およびSEQ ID NO:92のために比較された細胞株には、a) 36才の乳腺症疾患 (fibrocystic breast disease) の女性から単離された乳腺細胞株であるMCF-10A、b) 69才の女性の胸水から由来された非悪性乳癌細胞株であるMCF7、c) 乳房の浸潤性腺管癌にかかった54才の女性の胸水から由来された乳癌細胞株であるT-47D、d) 43才の女性の悪性胸水から単離した乳癌細胞株であるSk-BR-3、e) 74才の女性から単離された腫瘍塊から *in vitro* で単離した乳癌細胞株であるBT-20、f) 51才の女性の胸水から単離された乳房腫瘍細胞株であるMDA-mb-231、g) 31才の転移性乳管腺癌の女性の胸水から単離した親株細胞 (435) から進化した紡錘状の細胞株であるMDA-mb-435S、が含まれる。SEQ ID NO:91のために比較された細胞株には、a) 74才の女性から単離した腫瘍塊の薄切片から *in vitro* で遊出した細胞に由来する乳癌細胞株であるBT-20、b) 60才の女性の乳房の充実性の浸潤性管癌から単離した乳房管癌細胞株であるBT-474、c) 家族歴が乳癌である、正常に生理中の23才の経産の女性の乳頭状浸潤性管腫瘍から単離した乳房管癌細胞株であるBT483、d) 乳癌の74才の女性から単離した乳房管癌細胞株であるHs 578T、e) 69才女性の胸水から単離された非悪性乳房腺癌細胞株であるMCF7、f) 36才の乳腺症疾患の女性から単離された乳腺 (管腔の特徴: luminal ductal characteristics) 細胞株であるMCF-10A、g) 乳房が転移性腺癌である51才の女性の胸水から単離された乳癌細胞株であるMDA-MB-468、h) 初代乳房上皮細胞株で正常な提供者から単離したHMEC、が含まれる。したがってSEQ ID NO:89、SEQ ID NO:91、SEQ ID NO:92は、乳癌と他の細胞増殖異常の治療モニタリングと診断アッセイとで有用である。

【0422】

別の例でSEQ ID NO:91は、正常な繊維芽細胞に対してタンジール病で影響された繊維芽細胞で発現の増加を示し、これはマイクロアレイ分析で判定した。正常な繊維芽細胞とタンジール病に由来する繊維芽細胞が比較された。さらに、両タイプの細胞がコレステロールの存在下で培養され、コレステロールの不存在下で培養された同じ細胞タイプと比較された。正常な被験者およびホモ接合型のタンジール病を患う2人の患者の両者から皮膚外植体から、ヒトの繊維芽細胞が得られた。細胞株は、ヒトの乳頭腫ウイルス16遺伝子E6およびE7そしてネオマイシン耐性選択マーカーの形質移入によって不死化された。TD由来細胞は、アポA-Iが仲介するトリチウム化されたコレステロールの流出のアッセイで欠陥 (deficient) である。したがってSEQ ID NO:91は、タンジール病および他の自己免疫と炎症障害の治療モニタリングと診断アッセイとで有用である。

【0423】

SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:91、SEQ ID NO:97は、正常な骨芽細胞に対して骨肉腫で影響された骨芽細胞で発現の増加を示し、これはマイクロアレイ分析で判定した。正常なヒト骨芽細胞 (初代培養、NH0st 5488) 由来のメッセンジャーRNAは、生検標本、骨肉腫組織、または初代培養あるいは転移性組織からのmRNAと比較された。単一細胞懸濁液中 (single cell suspension) の約 2.0×10^6 の細胞が、T75フラスコに2回または3回植付けられた。細胞株は平均6~8日毎に比率1:6~8で継代培養された。したがってSEQ ID NO:89、SEQ ID NO:91、SEQ ID NO:97は、骨肉腫と他の細胞増殖異常の治療モニタリングと診断アッセイとで有用である。

【0424】

例えばSEQ ID NO:94はマイクロアレイ分析の判定で、未処理のジャーカット細胞に対し活性化したジャーカット細胞で発現の低下を示した。ジャーカット細胞は、ヒトのT細胞のシグナル伝達のためにモデルとして使用される。ジャーカット細胞は、PMA (5nM-1 μ M) とイオノマイシン (50ng/ml~10 μ /ml) の段階的な投与の組み合わせで処理された。PMAとイオノマイシンでの処理は、最適なB細胞活性化中の二次シグナル伝達を擬態する。細胞は、1時間の時点で回収された。処理された細胞は、刺激不在下で培養で維持された未処理のジャーカット細胞と比較された。したがってSEQ ID NO:94は、自己免疫および炎症障害の治療モニタリングと診断アッセイとで有用である。

【0425】

SEQ ID NO:96は、ステロイドで処理されたC3A細胞において、未処理のC3A細胞と比べて発現の増加を示したことが、マイクロアレイ分析により決定された。ヒトC3A肝臓細胞株は、成長での、強力な接触阻害に関して選択されたHepG2/C3(肝臓腫瘍を患う15歳の男子から単離した肝臓癌細胞株)のクローン誘導体である。クローン集団の使用は、細胞の再現性を強化する。C3A細胞は、培養中の主要なヒト肝細胞の多くの特徴を有する。すなわち、i)インシュリン受容体とインシュリン様成長因子II受容体の発現、ii)フェトプロテインと比較した血清アルブミンの高率分泌、iii)アンモニアの尿素とグルタミンへの変換、iv)芳香アミノ酸の代謝、v)グルコースとインシュリンの無い培地での増殖、である。C3A細胞株は、成熟したヒト肝臓の*in vitro*モデルとして今や十分に確立されている(Mickelson 他(1995) *Hepatology* 22:866-875; Nagendra 他(1997) *Am. J. Physiol.* 272:G408-G416)。1つの実験では、コンフルエント前期のC3A細胞は、1 μ M、10 μ M、100 μ Mの各濃度で、1、3、6時間の間、デキサメタゾンで処理された。2つ目の実験では、コンフルエント前期のC3A細胞は、1 μ M、10 μ M、100 μ Mの各濃度で、1、3、6時間の間、メドロキシプロゲステロン(MAH)で処理された。3つ目の実験では、コンフルエント前期のC3A細胞は、1 μ M、10 μ M、100 μ Mの各濃度で、1、3、6時間の間、ベクロメタゾンで処理された。処理した細胞を、無処理の、早期コンフルエントな(early confluent) C3A細胞群と比較した。したがってSEQ ID NO:96は、自己免疫および炎症障害の治療モニタリングと診断アッセイとで有用である。

10

【0426】

別の実施例で、SEQ ID NO:101とSEQ ID NO:102は乳癌と関連する差次的発現を示し、これはマイクロアレイ分析で判定した。非悪性乳腺上皮細胞HEMECとMCF10Aの遺伝子発現プロファイルが、腫瘍進行の様々な段階の乳癌株群の遺伝子発現プロファイルと比較された。比較した細胞株は次のとおりである。a)乳房の浸潤性腺管癌にかかった54才の女性の胸水から由来された乳癌細胞株であるT-47D、b)43才の女性の悪性胸水から単離した乳腺癌細胞株であるSk-BR-3、c)転移性乳癌の51歳の女性の胸水に由来した転移性乳房腫瘍細胞株であるMDA-mb-435SとMDA-mb-231、d)74才の女性から単離された腫瘍塊の薄切片から遊出した細胞から*in vitro*で単離した乳腺癌細胞株であるBT-20、e)69才の女性の胸水から由来された非悪性乳癌細胞株であるMCF7、f)36才の乳腺症疾患(fibrocystic breast disease)の女性から単離された乳腺(管腔の特徴: luminal ductal characteristics)細胞株であるMCF-10A、g)家族歴が乳癌である、正常に生理中の23才の経産の女性の乳頭状浸潤性管腫瘍から単離した乳房管癌細胞株であるBT483、h)乳癌の74才の女性から単離した乳房管癌細胞株であるHs578T、j)初代乳房上皮細胞株で正常な提供者から単離したHMECである。SEQ ID NO:101とSEQ ID NO:102の発現は、非癌性のHMECまたはMCF10A細胞株と比較して、乳癌細胞株T-47D、SK-BR3、MCF7、BT483、Hs578Tにおいて少なくとも2倍高かった。

20

30

【0427】

さらに、SEQ ID NO:101、SEQ ID NO:102は肺癌と関連する差次的発現を示した。SEQ ID NO:101、SEQ ID NO:102の発現を肺腺癌を患う患者から得られた正常および癌組織サンプルについて比較した。SEQ ID NO:101とSEQ ID NO:102の発現は、癌性肺組織において同じ提供者のマッチする微視的に正常な組織と比較して少なくとも2分の1の減少を示していることがマイクロアレイ解析で明らかになった。SEQ ID NO:101、SEQ ID NO:102はまた結腸ポリープと関連する差次的発現も示した。SEQ ID NO:101とSEQ ID NO:102の発現は、正常およびポリープ組織で比較された。SEQ ID NO:101とSEQ ID NO:102の発現は、大腸ポリープにおいて同じ提供者のマッチする微視的に正常な組織と比較して少なくとも2分の1の減少を示していることがマイクロアレイ解析で明らかになった。したがって、SEQ ID NO:101とSEQ ID NO:102は、乳癌、肺癌、大腸ポリープを含む細胞増殖性障害の疾病段階決定および診断アッセイに有用である。

40

【0428】

SEQ ID NO:101とSEQ ID NO:102はマイクロアレイ分析の判定で、未処理のヒト臍帯静脈

50

内皮細胞(HUVEC)に対して、腫瘍壊死因子 (TNF-) に曝露したHUVECで発現の低下を示した。HUVECは85%のコンフルエンスまで増殖させた。次いで0.33、0.66、1、4、8、24、48、72時間、TNF- で処理した。これらのTNF- で処理した細胞は、85%のコンフルエンスで回収した未処理のHUVEC(0時間)と比較した。このようにSEQ ID NO:101とSEQ ID NO:102を、自己免疫/炎症性の疾患の治療モニタリングと診断アッセイとに用い得る。

【0429】

別の実施例では、SEQ ID NO:104は、乳癌、前立腺癌、家族性ポリポーシス症候群(FAP)、結腸腺癌等の細胞増殖異常と関連して発現の低下を示した。乳癌細胞株MCF7、T-47D、Sk-BR-3、BT-20、MDA-mb-435SでのSEQ ID NO:104の発現は、HMEC細胞と比較された。SEQ ID NO:104は、すべての試験された癌細胞株においてHMEC細胞株と比較して少なくとも2分の1の発現の低下を示した。SEQ ID NO:104は、非悪性MCF-10A細胞株と比較してMDA-mb-231、MCF7、BT-20、Sk-BR-3、T-47D乳癌細胞株で少なくとも2分の1の発現の低下を示した。さらに、SEQ ID NO:104の発現を乳房小葉癌を患う患者から得られた正常および癌組織サンプルについて比較した。SEQ ID NO:104の発現は、癌性乳房組織において同じ提供者のマッチする微視的に正常な組織と比較して少なくとも2分の1の減少を示していることがマイクロアレイ解析で明らかになった。したがって、SEQ ID NO:104 は乳癌の診断アッセイおよび疾病段階決定において有用である。

10

【0430】

さらに、前立腺癌株CA-HPV-10、LNCaP、PC-3、DU 145、MDAPCa2b中のSEQ ID NO:104の遺伝子発現プロフィールが、非腫瘍形成性の前立腺上皮PrECまたはPZ-HPV-7細胞株と比較された。PZ-HPV-7は、前立腺の周辺領域の正常な組織から培養された上皮細胞に由来する。CA-HPV-10は、Gleason グレード4/4の前立腺癌の63歳男性からの細胞群に由来する。DU-145は広範囲な転移性前立腺癌の69才男性の脳内転移部位から単離した前立腺癌細胞株である。LNCaPは、転移性前立腺癌を有する50才男子のリンパ節生検から単離された前立腺癌細胞株である。PC-3は、グレード4の前立腺癌の62才男性の骨内転位部位から単離された前立腺癌細胞株である。MDAPCa2bは前立腺癌細胞株であり、或る63才の男性の骨中の転移部位から単離された。SEQ ID NO:104は、PrECまたはPZ-HPV-7細胞株と比較してMDAPCa2bとLNCaP細胞株において少なくとも2分の1の発現低下を示した。したがって、SEQ ID NO:104 は前立腺癌の診断アッセイおよび疾病段階決定において有用である。

20

【0431】

さらに、正常な結腸組織におけるSEQ ID NO:104の遺伝子発現が、FAPおよび結腸腺癌と診断された23才の提供者に由来する2つの大腸ポリープに対して比較された(Huntsman Cancer Institute, Salt Lake City, UT)。SEQ ID NO:104の発現は、大腸ポリープ組織において同じ提供者のマッチする微視的に正常な組織と比較して少なくとも2分の1の減少を示していることがマイクロアレイ解析で明らかになった。このようにSEQ ID NO:104を、前立腺癌および大腸ポリープの治療モニタリングと診断アッセイに有用である。

30

【0432】

別の実施例では、SEQ ID NO:104の発現は、未処理の前脂肪細胞に対して分化因子に曝露された前脂肪細胞において減少を示していることがマイクロアレイ解析で明らかになった。ヒトの前脂肪細胞がヒトのインシュリンとPPAR- アゴニストで3日間処理され、次いでインシュリンで更なる処理がなされた。分化した脂肪細胞が誘発剤のっていない培養液中にある未処理の前脂肪細胞と比較された。よって、SEQ ID NO:104は、脂肪細胞分化と関連する疾患(肥満症、II型糖尿病、リポジストロフィ、高インシュリン血症を含む)の治療モニタリングと診断アッセイに有用である。

40

【0433】

別の実施例で、SEQ ID NO:107は乳癌と関連する差次的発現を示し、これはマイクロアレイ分析で判定した。SEQ ID NO:107は、HMEC細胞株と比較してMDA-mb-231、Sk-BR-3、T-47D乳癌細胞株で少なくとも2倍の発現の上昇を示した。したがって、SEQ ID NO:107 は乳癌の診断アッセイおよび疾病段階決定において有用である。

別の実施例で、SEQ ID NO:108は、マイクロアレイ分析による判定で、正常な組織に対

50

して癌によって影響された組織において少なくとも2分の1の発現低下を示す。研究された癌には、肺腺癌、子宮内膜癌、卵巣癌が含まれる。1つの実験において、右肺の中分化腺癌を60才の提供者の肉眼で見る限り腫瘍を伴わない肺組織と比較した(Huntsman Cancer Institute)。2番目の実験において、子宮内膜癌(腺癌)が同じ提供者である72才の女性由来の肉眼で見る限り癌を伴わない子宮内膜組織と比較された(Huntsman Cancer Institute)。同じ提供者からの頸部組織が子宮内膜と比較された。3番目の実験において、79才の女性提供者に由来する正常な卵巣組織が、同一の提供者に由来する卵巣腫瘍と比較された。したがってSEQ ID NO:108は、肺腺癌、子宮内膜癌、卵巣腫瘍、および他の細胞増殖異常の治療モニタリングと診断アッセイにおいて有用である。

【0434】

SEQ ID NO:113の発現は、ヒトの肺腫瘍組織において同じ提供者からの正常な肺組織と比較して、幾つかの対比較実験で差次的発現を示したことがわかった。SEQ ID NO:113は、試験されたすべての対において正常な肺組織と比較して肺腫瘍組織において少なくとも2分の1の発現の低下を示した。SEQ ID NO:113は血管組織において差次的発現を示した。これらの実験は、SEQ ID NO:113が有意な差次的発現パターンを示すことを示唆するが、これはマイクロアレイ技術を用いて行われた。さらに肺癌と血管組織が関係する様々な病状や疾患において有用となり得る診断マーカーとして、または潜在的治療標的としてSEQ ID NO:113の有用性を確立する。

【0435】

1.2 相補的ポリヌクレオチド

CGDDをコードする配列或いはその任意の一部に対して相補的な配列は、天然CGDDの発現を検出、低減または阻害するために用いられる。約15~30塩基対を含むオリゴヌクレオチドの使用について記すが、これより小さなあるいは大きな配列の断片の場合でも、本質的に同じ手順を用いる。CGDDのコーディング配列とOligo4.06ソフトウェア(National Biosciences)とを用いて、適切なオリゴヌクレオチドを設計する。転写を阻害するためには、最も独特な5'配列から相補的オリゴヌクレオチドを設計し、これを用いて、プロモーターがコーディング配列に結合するのを防止する。CGDDをコードする転写物にリボソームが結合するのを阻害するよう相補的なオリゴヌクレオチドを設計すると、翻訳を阻害する。

【0436】

1.3 CGDDの発現

CGDDの発現および精製は、細菌若しくはウイルスを基にした発現系を用いて行うことができる。CGDDを細菌内で発現させるには、抗生物質耐性遺伝子と、cDNAの転写レベルを高める誘導性プロモーターとを持つ、好適なベクターに、cDNAをサブクローニングする。このようなプロモーターとしては、lacオペレーター調節エレメントと併用するT5またはT7バクテリオファージプロモーター、およびtrp-lac(tac)ハイブリッドプロモーターが含まれるが、これらに限定するものではない。組換えベクターを、BL21(DE3)などの好適な細菌宿主に形質転換する。CGDDを抗生物質耐性細菌に発現させるには、イソプロピル-Dチオガラクトピラノシド(IPTG)で誘発する。CGDDの真核細胞での発現は、昆虫細胞株または哺乳動物細胞株に、一般にバキュロウイルスとして知られるAutographica californica核多角体病ウイルス(AcMNPV)の組換え型を感染させて行う。CGDDをコードするcDNAとバキュロウイルスの非必須ポリヘドリン遺伝子を置換するには、相同組換えを行うか、或いは、転移プラスミドの媒介を伴う、細菌の媒介による遺伝子転移を行う。ウイルスの感染力は維持され、強力なポリヘドリンプロモーターによって高レベルのcDNA転写が行われる。組換えバキュロウイルスは、多くの場合はSpodoptera frugiperda(Sf9)昆虫細胞への感染に用いられるが、ヒト肝細胞の感染にも用いられることもある。後者の感染の場合は、バキュロウイルスへの更なる遺伝的修飾が必要になる(Engelhard, E.K 他、(1994) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91:3224-3227、Sandig, V.他 (1996) Hum. Gene Ther. 7:1937-1945)。

【0437】

CGDDは殆どの発現系で、例えばグルタチオンSトランスフェラーゼ(GST)、またはFLAG

10

20

30

40

50

や6-Hisなどのペプチドエピトープ標識で合成された融合タンパク質となるため、未精製の細胞溶解物からの組換え融合タンパク質の親和性ベースの精製を、迅速に1回で行うことができる。GSTは日本住血吸虫からの26kDaの酵素であり、タンパク質の活性および抗原性を維持した状態で、固定化したグルタチオン上での融合タンパク質の精製を可能とする (Amersham Biosciences)。CGDDから、精製後にGST部分を、特異的に操作した諸部位においてタンパク質的に切断できる。FLAGは8アミノ酸のペプチドであり、市販されているモノクローナルおよびポリクローナル抗FLAG抗体 (Eastman Kodak) を用いた免疫親和性精製を可能にする。6ヒスチジン残基が連続して伸長した6-Hisは、金属キレート樹脂上での精製を可能にする (QIAGEN)。タンパク質の発現および精製の方法は、Ausubel他(前出、10および16章)に記載がある。これらの方法で精製したCGDDを直接用いて以下の実施例 17および18のアッセイを行うことができる。

10

【0438】

14 機能的アッセイ

CGDD機能は、CGDDをコードする配列群の、哺乳動物細胞培養系において生理的に高められたレベルでの発現によって算定する。cDNAを、cDNAを高いレベルで発現させる強いプロモーターを持つ哺乳類発現ベクターにサブクローニングする。選択されるベクターとしては、PCMV SPORT (Invitrogen, Carlsbad CA) およびPCR 3.1プラスミド (Invitrogen,) があり、どちらもサイトメガロウイルスプロモーターを持つ。リポソーム製剤あるいは電気穿孔法を用いて、5~10 μ gの組換えベクターをヒト細胞株、例えば内皮由来または造血由来の細胞株に、一過的に形質移入する。更に、標識タンパク質をコードする配列を含む 1~2 μ gのプラスミドを同時に形質移入する。標識タンパク質の発現により、形質移入細胞と非形質移入細胞を区別する手段が与えられる。また、標識タンパク質の発現によって、cDNAの組換えベクターからの発現を正確に予想できる。標識タンパク質は、例えば緑色蛍光タンパク質 (GFP; Clontech)、CD64またはCD64-GFP融合タンパク質から選択できる。自動化された、レーザ光学に基づく技術であるフローサイトメトリー (FCM) を用いて、GFPまたはCD64-GFPを発現する形質移入された細胞を同定し、その細胞のアポトーシス状態や他の細胞特性を評価する。FCMは、細胞死に先行するか或いは同時に発生する現象を診断する蛍光分子の取込を検出して計量する。このような現象として挙げられるのは、ヨウ化プロビジウムによるDNA染色によって計測される核DNA含量の変化、前方散乱光と90°側方散乱光によって計測される細胞サイズと粒度の変化、プロモデオキシウリジンの取込量の低下によって計測されるDNA合成の下方調節、特異抗体との反応性によって計測される細胞表面及び細胞内におけるタンパク質の発現の変容、及びフルオレセイン抱合したアネキシンVタンパク質の細胞表面への結合によって計測される原形質膜組成の変容とがある。フローサイトメトリー法については、Ormerod, M.G. (1994; Flow Cytometry, Oxford, New York NY) に記述がある。

20

30

【0439】

CGDDの遺伝子発現への影響は、CGDDをコードする配列と、CD64またはCD64-GFPのどちらかが形質移入された、高度に精製された細胞集団を用いて評価することができる。CD64またはCD64-GFPは、形質移入された細胞表面で発現し、ヒト免疫グロブリンG (IgG) の保存された複数の領域に結合する。形質移入された細胞と形質移入されない細胞とは、ヒトIgGがCD64に対する抗体のどちらかで被覆された磁気ビーズを用いて効率よく分離できる (DYNAL, Lake Success NY)。mRNAは、これら細胞から、当業者に周知の方法で精製できる。CGDDと目的の他の遺伝子群とをコードするmRNAの発現は、ノーザン分析やマイクロアレイ技術で分析できる。

40

【0440】

15 CGDDに特異的な抗体の作製

CGDDの実質的精製を、ポリアクリルアミドゲル電気泳動法 (PAGE; 例えばHarrington, M.G. (1990) Methods Enzymol. 182:488-495を参照) または他の精製技術で行い、これを用いて標準的なプロトコルで動物 (例えばウサギ、マウスなど) を免疫化して抗体を作り出す。

50

【0441】

或いは、レーザGENEソフトウェア(DNASTAR)を用いてCGDD アミノ酸配列を解析し、免疫原性の高い領域を決定する。そして対応するオリゴペプチドを合成し、このオリゴペプチドを用いて当業者によく知られている方法で抗体を生成する。例えばC末端付近或いは隣接する親水性領域等の、適切なエピトープの選択については、当分野で公知である(前出のAusubel 他、11章)。

【0442】

通常は、長さ約15残基のオリゴペプチドを、FMOC 化学法を用いるABI 431A ペプチドシンセサイザ(Applied Biosystems)を用いて合成し、N-マレイミドベンゾイル-N-ヒドロキシスクシンイミドエステル(MBS)を用いた反応によってKLH(Sigma-Aldrich, St. Louis MO)に結合させて、免疫原性を高める(前出のAusubel 他)。完全フロイントアジュバントにおいて、オリゴペプチド-KLH複合体を用いてウサギを免疫化する。得られた抗血清の抗ペプチド活性および抗CGDD活性を検査するには例えば、ペプチドまたはCGDDを基板に結合し、1%BSAを用いてブロッキング処理し、ウサギ抗血清と反応させて洗浄し、さらに、放射性ヨウ素標識したヤギ抗ウサギIgGと反応させる。

【0443】

16 特異的抗体を用いる天然CGDDの精製

天然CGDDや組換えCGDDをCGDDに特異的な抗体を用いるイムノアフィニティークロマトグラフィーにより実質的に精製する。イムノアフィニティークラムは、CNBr-活性化したSEPHAROSE(Amersham Biosciences)のような活性化クロマトグラフィー用レジンと抗CGDD抗体とを共有結合させることにより形成する。結合後に、製造者の使用説明書に従ってこのレジンをブロックし、洗浄する。

【0444】

CGDDを含む培養液をイムノアフィニティークラムに通し、CGDDを優先的に吸着できる条件で(例えば、界面活性剤の存在下において高イオン強度のバッファーで)そのカラムを洗浄する。そのカラムを、抗体とCGDDとの結合を切るような条件で(例えば、或るpH2~3のバッファー、あるいは高濃度の、例えば尿素またはチオシアン酸イオンなどのカオトロップで)溶出させCGDDを収集する。

【0445】

17 CGDDと相互作用する分子の同定

CGDDまたは生物学的に活性なその断片を、 ^{125}I ボルトンハンター試薬で標識する(Bolton A.E.及びW.M. Hunter (1973) Biochem. J. 133:529)。マルチウェルプレートの各ウェルに予め配列しておいた候補の分子群を、標識CGDDと共にインキュベートし、洗浄して、標識されたCGDD複合体を有する全てのウェルをアッセイする。CGDD濃度を様々に変えて得たデータでCGDDの数量、候補分子との親和性および会合についての値を計算する。

【0446】

別法では、CGDDと相互作用する分子を、Fields, S.及びO. Song(1989, Nature 340:245-246)に記載の酵母2-ハイブリッドシステムやMATCHMAKERシステム(Clontech)などの2-ハイブリッドシステムに基づいた市販のキットを用いて分析する。

【0447】

CGDDはまた、ハイスループット型の酵母2ハイブリッドシステムを使用するPATHCALLINGプロセス(CuraGen Corp., New Haven CT)に用いて、遺伝子の2大ライブラリによってコードされるタンパク質間の全ての相互作用を判定できる(Nandabalan, K. 他(2000) 米国特許第6,057,101号)。

【0448】

18 CGDD 活性の実証

CGDD活性を実証するために、最終分化や細胞周期進行の誘導の測定を、CGDDが哺乳動物細胞培養系において生理的に高まったレベルで発現する際に行う。cDNAを高いレベルで発現させる強いプロモーターを持つ哺乳類発現ベクターにcDNAをサブクローニングする。選択されるベクターとしてはPCMV SPORT(Life Technologies, Gaithersburg, MD)およびP

CR 3.1 (Invitrogen, Carlsbad, CA) があり、どちらもサイトメガロウイルスプロモーターを持つ。リボソーム製剤あるいは電気穿孔法を用いて、5~10 μ gの組換えベクターをヒト細胞株、好適には内皮由来または造血由来の細胞株に、一過的に形質移入する。更に、標識タンパク質をコードする配列を含む1~2 μ gのプラスミドを同時に形質移入する。標識タンパク質の発現により、形質移入細胞と非形質移入細胞を区別する手段が与えられる。また、標識タンパク質の発現によって、cDNAの組換えベクターからの発現を正確に予想できる。標識タンパク質は、例えば緑色蛍光タンパク質(GFP) (Clontech, Palo Alto, CA)、CD64またはCD64-GFP融合タンパク質から選択できる。フローサイトメトリーは、細胞周期進行か最終分化に先行するか或いは同時に発生する現象を診断する蛍光分子の取込を検出して計量する。このような現象として挙げられるのは、ヨウ化プロピジウムによるDNA染色によって計測される核DNA含量の変化、前方散乱光と90°側方散乱光によって計測される細胞サイズと顆粒性の変化、プロモデオキシウリジン取込量の低下によって計測されるDNA合成の上方または下方調節、特異抗体との反応性によって計測される細胞表面および細胞内におけるタンパク質の発現の変容、および、フルオレセイン抱合したアネキシンVタンパク質の細胞表面への結合によって計測される原形質膜組成の変容がある。フローサイトメトリー法については、Ormerod, M.G. (1994) *Flow Cytometry*, Oxford, New York NYに記述がある。

10

【0449】

CGDD 活性の *in vitro* アッセイは或いは、アンチセンスCGDD RNAを過剰発現する正常なヒト線維芽細胞の形質転換を測定する(Garkavtsev, I. および Riabowol, K. (1997) *Mol Cell Biol.* 17:2014-2019)。CGDDをコードするcDNAをpLNCXレトロウイルスベクターにサブクローニングし、アンチセンスCGDD RNAの発現を可能にする。結果として得た構成物を、狭宿主性(ecotropic)BOSC23ウイルスパッケージング細胞株に形質移入する。BOSC23培養上澄みを含むウイルスを用いて、アンホトロピックCAK8ウイルスパッケージング細胞株を感染させる。CAK8培養上澄みを含むウイルスを用いて、正常なヒト線維芽細胞(Hs68)を感染させる。感染細胞を次の形質転換細胞の定量化できる特徴的性質について評価する。すなわち、免疫不全マウスに注入された場合の接触障害の喪失に関連する培養中の高密度増殖、懸濁液中または軟寒天での増殖、コロニーまたは集塊の形成、血清必要条件の低下、および腫瘍誘発能について評価する。CGDDの活性は、Hs68細胞の形質転換の程度に比例する。

20

30

【0450】

CGDDの発現は或いは、哺乳動物細胞株で、CGDDをコードする真核生物発現ベクターで細胞を形質転換させて成し得る。真核生物発現ベクターは市販されており、これらベクターを細胞に導入する技術は当業者に周知である。CGDDの細胞局在をアッセイするには、細胞の分画をJiang H. P. 他 (1992; *Proc. Natl. Acad. Sci.* 89: 7856-7860)の記載のように行う。簡潔には、低速遠心法でペレット化した細胞の再懸濁を、バッファ中(10 mM TRIS-HCl, pH 7.4/ 10 mM NaCl/ 3 mM MgCl₂/ 5 mM EDTAに10 μ g/mlアプロチニン、10 μ g/mlロイペプチン、10 μ g/mlペプスタチンA、0.2 mMフッ化フェニルメチルスルホン含有)で行い、ホモジナイズする。ホモジェネートの遠心分離を600 \times gで5分間おこなう。その上澄みを100,000 \times gで60分間、超遠心して、粒子画分とサイトゾル画分の分離を行う。核画分を得るため、600 \times gペレットの、蔗糖溶液での再懸濁(0.25 M蔗糖/ 10 mM TRIS-HCl, pH 7.4/ 2 mM MgCl₂)を行い、再遠心を600 \times gで行う。各画分からの等量のタンパク質をSDS/10%ポリアクリルアミドゲルにかけ、膜にプロットする。ウェスタンブロット分析を行い、これにはCGDD抗血清を用いる。核画分での対応するバンドの強度を他の画分の強度に比較して、CGDDの局在性を査定する。別法では、細胞画分でのCGDDの存在を、CGDDに特異的な蛍光抗体を用いて、蛍光顕微鏡で検査する。

40

【0451】

さらに、CGDD活性は、*in vitro*結合アッセイで、その関連するRasスーパーファミリータンパク質と相互作用する能力として実証され得る。候補Rasスーパーファミリー蛋白はグルタチオンSトランスフェラーゼ(GST)との融合タンパク質として発現され、グルタチ

50

オン-Sepharose上でのアフィニティークロマトグラフィーによって精製される。100 mM NaCl、2 mM EDTA、5 mM MgCl₂、0.2 mM DTT、100 μM AMP-PNP、および10 μM GDPを含む20 mM Trisバッファー(pH 8.0)、30 で20分間インキュベーションして、GDPでRasスーパーファミリータンパク質を負荷する。CGDDはバキュロウイルス系でFLAG融合タンパク質として発現される。CGDD-FLAG融合タンパク質を含むこれらのバキュロウイルス細胞の抽出物は、GSTビーズでプレクリアし、次にGST-Rasスーパーファミリー融合タンパク質とインキュベーションする。形成された複合体は、グルタチオン-Sepharoseによって沈殿させ、SDSポリアクリルアミドゲル電気泳動で分離する。分離されたタンパク質はニトロセルロース膜にプロットされ、市販の抗FLAG抗体でプローブされる。CGDD活性は、複合体中に検出されるCGDD-FLAG融合タンパク質の量に比例する。

10

【0452】

または、LiおよびCohen (Li, L. および S.N. Cohen (1995) Cell 85:319-329)が実証したように、遺伝子の5'端へのアンチセンス配列を設計し、この配列を転写するベクターでNIH 3T3細胞に形質移入して、CGDDの腫瘍化抑制能の測定を成しうる。内因性遺伝子を抑制すると、形質転換した線維芽細胞は、ヌードマウスに導入すれば転移性腫瘍を形成できる細胞塊を産生しうる。

【0453】

CGDD活性のアッセイは或いは、注入CGDDの、母性転写物の分解への効果を測定する。Swissアルビノマウスからの卵母細胞の収集、注入、培養の手順は、Stutz 他(前出)に記載がある。母性RNAの分解の、対照卵母細胞に比しての低下が、CGDD活性を示す。CGDD活性の測定は或いは、精製CGDDがRNAアーゼに結合する能力として、実施例 17に記載のアッセイで測定するように成される。

20

【0454】

別法では、CGDD活性のアッセイは、CGDD発現プラスミドで形質移入したCOS細胞におけるシンシチウム形成を、2成分融合(two-component fusion)アッセイ(前出Miに記載)で測定する。このアッセイが利用する事実は、ヒトのインターロイキン12 (IL-12)がヘテロダイマーであり、その構成サブユニットの分子量が35 kD (p35) と40 kD (p40)であることである。p35の遺伝子を持つ発現プラスミドで形質移入したCOS細胞を、p40とCGDDとの遺伝子を持つ発現プラスミドを同時移入したCOS細胞と混ぜる。IL-12活性の、結果として得た馴化培地でのレベルが、このアッセイのCGDD活性に相当する。合胞体形成はまた、光顕で測定しうる(Mi 他、前出)。

30

【0455】

CGDD活性の別のアッセイは、スイスマウス3T3細胞における新規開始DNA合成の量として細胞増殖を測定する。CGDDをコードするポリヌクレオチドを含むプラスミドを当分野で公知の方法を用いて、静止状態の3T3培養細胞に移入する。一過性に形質移入された細胞は次に、[³H]チミジンまたは放射性DNA前駆体([³²P]ATP等)の存在下でインキュベートされる。適用可能な場合には、様々な量のCGDDリガンドが、形質移入された細胞に加えられる。酸によって沈殿され得るDNAへの[³H]チミジンの取込は適切な時間間隔で測定され、その取込量は新規に合成されたDNAの量とCGDD活性に正比例する。

【0456】

CGDD活性を、或いはサイクリン-ユビキチンライゲーションアッセイにより測定する(Townsley, F.M. 他(1997) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94:2362-2367)。反応液は10 μlの容量中に、40 mMのTris.HCl (pH 7.6)、5 mMのMg Cl₂、0.5 mMのATP、10 mMのホスホクレアチン、50 μgのクレアチン・ホスホキナーゼ/ml、1 mg還元カルボキシメチル化ウシ血清アルブミン/ml、50 μM ユビキチン、1 μMのユビキチンアルデヒド、1~2 pmol ¹²⁵I-標識化サイクリンB、1 pmol E1、1 μMのオカダ酸、M期分画1Aのタンパク質10 μg (活性E3-Cを含み本質的にE2-Cを含まない)と可変量CGDDを含む。反応液を18 で60分間インキュベートする。次にSDSポリアクリルアミドゲル上で電気泳動法によりサンプルを分離する。形成された¹²⁵I-サイクリン-ユビキチンの量をPHOSPHORIMAGER分析で定量する。サイクリン-ユビキチン形成の量は反応物中のCGDDの活性に比例する。

40

50

【0457】

CGDD活性のアッセイは或いは、放射標識ヌクレオチド、例えば[³²P]ATPを用い、放射ラベルの、DNA合成時のDNAへの取込が、アポトーシスに伴うDNAの断片化を測定する。CGDDをコードするcDNAを持つプラスミドで、当分野で周知の方法を用いて哺乳動物細胞に形質移入する。次に細胞のインキュベートを、放射標識ヌクレオチドと共に、種々の時間長で行う。染色体DNAを収集し、放射能の検出にシンチレーションカウンターを用いる。放射ラベルの、染色体DNAへの取込は、細胞周期の刺激の程度に比例する。CGDDのアポトーシス促進を判定するには、染色体DNAを上記のように収集し、分析にポリアクリルアミドゲル電気泳動を用い、当分野で周知の方法で行う。DNA断片化は定量のため非移入対照細胞と比較し、これがCGDDのアポトーシス活性に比例する。

10

【0458】

或いはCGDDのシクロフィリン活性の測定には、キモトリプシン共役アッセイを用い、シス～トランス相互転換の速度を測定する(Fischer, G. 他.(1984) Biomed. Biochim. Acta 43:1101-1111)。キモトリプシンを用いてXaa-Proペプチド結合でのトランス基質切断活性を推計する。ここでシス～トランス異性化の速度定数を得るには、緩徐相での基質水解の速度定数を測定する。サンプルのインキュベートを免疫抑制剤CsAがFK506の有無の中で行い、反応開始にはキモトリプシンを添加し、蛍光反応を測定する。酵素的速度定数を求める式は $k_{app} = k_{H_2O} + k_{enz}$ であり、ここでは一次速度式が示され、1単位のPPIase活性の定義は $k_{enz} (s^{-1})$ である。

【0459】

あるいは、CGDDのシクロフィリン活性は免疫抑制剤シクロスポリンに対する立体特異的結合の親和性を測定する定量的イムノアッセイによってモニターされる(Quesniaux, V.F. 他(1987) Eur. J. Immunol. 17: 1359-1365)。このアッセイでは、シクロフィリン-シクロスポリン複合体を固相にコートし、結合の検出に、抗シクロフィリンウサギ抗血清を抗グロブリン-酵素抱合体で増強して用いる。

20

【0460】

或いはCGDDの活性は、エレクトロスプレーイオン化質量分析を用いた気相で、FKBPと免疫抑制剤との非共有結合の測定の為に開発された或る結合アッセイによりモニターされる(Trepanier, D.J., 他(1999) Ther. Drug Monit. 21:274-280)。エレクトロスプレーイオン化でイオンを発生するには、強い電場の存在下で、高電荷の液滴の極細スプレーを発生させる。液滴のサイズが小さいほど、表面の電荷密度が高い。イオンは静電的に質量分析器に誘導され、ここで反対電荷のイオンの発生が、空間的に分離したソースで成された後、毛細管注入口へ掃引され、ここでイオン流が合流され、反応が起きる。結合と無結合のCGDD/免疫抑制剤複合体の荷電状態を比較して、相対結合親和性を確立でき、in vitroの結合および免疫抑制作用と相関させうる。

30

【0461】

当業者には、本発明の要旨および精神から逸脱しない範囲での、本発明の記載した組成物、方法およびシステムの種々の修正および変更の手段は自明であろう。本発明が新規であり、有用なタンパク質およびそのコードするポリヌクレオチドを提供することは高く評価されるであろう。また、これらは薬物発見および疾患および症状の検出、診断および治療にこれらの組成物を使用する方法に用いられ得る。本発明について説明するにあたり幾つかの実施例に関連して説明を行ったが、本発明の請求の範囲が、そのような特定の実施例に不当に制限されるべきではないことを理解されたい。また、本発明をこのような実施態様の説明によって、開示した形態だけに網羅されるか、あるいは、制限されるものと見なされるべきでもない。さらに、一実施態様の要素は他の実施態様の一つ以上の要素と容易に組み合わされ得る。このような組み合わせによって本発明の範囲内で多数の実施態様が形成され得る。本発明の範囲は下記の請求項およびそれに相当するものによって定義することを意図するものである。

40

【0462】

(表の簡単な説明)

50

表 1 は、本発明の完全長ポリヌクレオチドおよびポリペプチド実施様態の命名の概略である。

【 0 4 6 3 】

表 2 は、本発明のポリペプチド実施例のGenBank識別番号と、最も近いGenBank相同体の注釈 (annotation) と、PROTEOMEデータベース識別番号と、PROTEOMEデータベース相同体群の注釈とを示す。各ポリペプチドとそのGenBank相同体が一致する確率スコアも併せて示す。

【 0 4 6 4 】

表 3 は、予測されるモチーフ及びドメインを含む本発明のポリペプチド実施様態の構造的特徴を、ポリペプチドの分析に用いるための方法、アルゴリズム及び検索可能なデータベースと共に示す。

10

【 0 4 6 5 】

表 4 は、ポリヌクレオチド実施様態をアセンブリするために用いたcDNAやゲノムDNA断片を、ポリヌクレオチドの選択した断片と共に示す。

【 0 4 6 6 】

表 5 は、ポリヌクレオチド実施様態の代表的なcDNAライブラリを示す。

【 0 4 6 7 】

表 6 は、表 5 に示したcDNAライブラリの作製に用いた組織及びベクターを説明する付表である。

【 0 4 6 8 】

表 7 は、ポリヌクレオチドとポリペプチドの分析に用いたツール、プログラム、アルゴリズムを、適用可能な説明、引用文献及び閾値パラメータと共に示す。

20

【 0 4 6 9 】

【表 1 - 1】

表 1 - 1

Incyte プロジェクト ID	ポリペプチド SEQ ID NO:	Incyte ポリペプチド ID	ポリヌクレオチド SEQ ID NO:	Incyte ポリヌクレオチド ID	Incyte 完全長 ID
1318936	1	1318936CD1	58	1318936CB1	5800088CA2, 8168280CA2, 90133301CA2, 90133317CA2, 90133325CA2, 90133341CA2, 90133401CA2, 90133417CA2, 90133441CA2
033784	2	033784CD1	59	033784CB1	
4160218	3	4160218CD1	60	4160218CB1	
7501989	4	7501989CD1	61	7501989CB1	2722492CA2
7500695	5	7500695CD1	62	7500695CB1	
7502088	6	7502088CD1	63	7502088CB1	
7198825	7	7198825CD1	64	7198825CB1	
71863981	8	71863981CD1	65	71863981CB1	
7500513	9	7500513CD1	66	7500513CB1	90021353CA2, 90021385CA2, 90021453CA2, 90021571CA2
7501080	10	7501080CD1	67	7501080CB1	
3144878	11	3144878CD1	68	3144878CB1	
7502112	12	7502112CD1	69	7502112CB1	
7502788	13	7502788CD1	70	7502788CB1	
7500171	14	7500171CD1	71	7500171CB1	

10

20

30

【表 1 - 2】

表 1 - 2

Incyte プロジェクト ID	ポリペプチド SEQ ID No:	ポリペプチド Incyte ポリペプチド ID	ポリヌクレオチド SEQ ID No:	Incyte ポリヌクレオチド ID	Incyte 完全長
7500172	15	7500172CD1	72	7500172CB1	90066751CA2, 90151039CA2, 90151047CA2
7500899	16	7500899CD1	73	7500899CB1	90156633CA2, 90156733CA2
7500916	17	7500916CD1	74	7500916CB1	2418490CA2
7502479	18	7502479CD1	75	7502479CB1	1901027CA2, 5721658CA2, 8725531CA2, 8725532CA2, 90184011CA2, 90184019CA2, 90184043CA2, 90184103CA2, 90184111CA2, 90184119CA2, 90184127CA2, 90184135CA2, 90184143CA2
3015057	19	3015057CD1	76	3015057CB1	
6303570	20	6303570CD1	77	6303570CB1	
7501579	21	7501579CD1	78	7501579CB1	6179508CA2
7503812	22	7503812CD1	79	7503812CB1	
7503970	23	7503970CD1	80	7503970CB1	1399685CA2
2578986	24	2578986CD1	81	2578986CB1	6825193CA2
7503786	25	7503786CD1	82	7503786CB1	9017472CA2

10

20

30

【 0 4 7 1 】

【表 1 - 3】

表 1 - 3

Incyte プロジエクト ID	ポリペプチド SEQ ID NO:	Incyte ポリペプチド ID	ポリヌクレオチド SEQ ID NO:	Incyte ポリヌクレオチド ID	Incyte 完全長
7505684	26	7505684CD1	83	7505684CB1	4656026CA2, 90177755CA2,
302655	27	302655CD1	84	302655CB1	90178450CA2,
4757551	28	4757551CD1	85	4757551CB1	90178574CA2,
7503157	29	7503157CD1	86	7503157CB1	90178590CA2,
7503702	30	7503702CD1	87	7503702CB1	90178651CA2,
72096217	31	72096217CD1	88	72096217CB1	90178659CA2,
7503620	32	7503620CD1	89	7503620CB1	90178667CA2,
7503621	33	7503621CD1	90	7503621CB1	90178691CA2,
7503624	34	7503624CD1	91	7503624CB1	90178751CA2,
7503625	35	7503625CD1	92	7503625CB1	90178759CA2,
7503627	36	7503627CD1	93	7503627CB1	90178775CA2, 90178783CA2, 90178791CA2 5281285CA2
					90185662CA2

10

20

30

【表 1 - 4】

表 1 - 4

Incyte プロジェクト ID	ポリペプチド SEQ ID NO:	Incyte ポリペプチド ID	ポリスクレオチド SEQ ID NO:	Incyte ポリスクレオチド ID	Incyte 完全長
					90032204CA2, 90032212CA2, 90032220CA2, 90032304CA2, 90032312CA2, 90032344CA2
7505744	37	7505744CD1	94	7505744CB1	
7503712	38	7503712CD1	95	7503712CB1	
7503713	39	7503713CD1	96	7503713CB1	
7502225	40	7502225CD1	97	7502225CB1	
7502778	41	7502778CD1	98	7502778CB1	90170542CA2, 90170642CA2
7503699	42	7503699CD1	99	7503699CB1	90176937CA2
6026715	43	6026715CD1	100	6026715CB1	6026715CA2
7503631	44	7503631CD1	101	7503631CB1	
7503664	45	7503664CD1	102	7503664CB1	
7504812	46	7504812CD1	103	7504812CB1	
7504996	47	7504996CD1	104	7504996CB1	90032451CA2
7377279	48	7377279CD1	105	7377279CB1	
2060984	49	2060984CD1	106	2060984CB1	6637745CA2
4085993	50	4085993CD1	107	4085993CB1	
6756305	51	6756305CD1	108	6756305CB1	
7504842	52	7504842CD1	109	7504842CB1	90069638CA2
7500901	53	7500901CD1	110	7500901CB1	90133480CA2
7500898	54	7500898CD1	111	7500898CB1	6312095CA2, 90146901CA2, 90156709CA2, 90156741CA2

10

20

30

【 0 4 7 3 】

【表 1 - 5】

表 1 - 5

Incyte プロジェクト ID	ポリペプチド SEQ ID NO:	Incyte ポリペプチド ID	ポリヌクレオチド SEQ ID NO:	Incyte ポリヌクレオチド ID	Incyte 完全長
					4005381CA2, 5699251CA2, 5771654CA2, 90147007CA2, 90147031CA2, 90147203CA2, 90179571CA2
7500912	55	7500912CD1	112	7500912CB1	
7505851	56	7505851CD1	113	7505851CB1	2418490CA2
7503696	57	7503696CD1	114	7503696CB1	

10

20

30

【 0 4 7 4 】

表 2-1

ポリペプチド SEQ ID NO:	Incyte ポリペ プチド ID	GenBank ID NO;または PROTEOME ID NO:	確率スコア	注釈
1	1318936CD1	g14595658	2.3E-155	[アフリカツメガエル] (AF387815) LIM タンパク質有棘
2	33784CD1	g3719323	1.3E-26	[アフリカ産黄色スズキ] D7-様タンパク質
3	4160218CD1	g12751141	8.0E-39	[ヒト] B悪性リンパ腫 (B aggressive lymphoma) の短かいアイソフォーム (Aguiar, R.C.T.他 (2000) Blood 96 (13), 4328-4334)。
4	7501989CD1	g7670836	7.2E-280	[ヒト] 肝細胞癌関連抗原 66
5	7500695CD1	g2213934	2.7E-89	[ヒト] 癌関連表面抗原 Nakashima, M. 他. (1999) Inhibition of cell growth and induction of apoptotic cell death by the human tumor- associated antigen RCAS1. Nat. Med. 5: 938-942
6	7502088CD1	g929615	1.2E-96	[ヒト] BCL7A Zani, V. J. 他. (1996) Molecular cloning of complex chromosomal translocation t(8;14)(t2) (q24.1; q32.3; q24.1) in a Burkitt lymphoma cell line defines a new gene (BCL7A) with homology to caldesmon. Blood 87:3124-3134
7	7198825CD1	g10178967	3.8E-100	[マウス] 伸長応答タンパク質 553
8	71863981CD1	g4587965	0.0	[ヒト] JAW1-関連タンパク質 MRV11A 長いアイソフォーム (Shaughnessy, J.D. Jr. (1999) Oncogene 18:2069-2084)
		430036 Mrvi1	0.0	[マウス] 小胞体、細胞質、骨髄性細胞分化して/または成長制御において 機能する可能性のある推定的腫瘍抑制因子、対応する遺伝子は BXH2 白血病で非エコートピックMRVウイルスにより破壊される (Shaughnessy, J. D. Jr 他. 前出。

表 2-2

ポリペプチド SEQ ID NO:	Incyte ポリペ プチド ID	GenBank ID NO: または PROTEOME ID NO:	確率スコア	注釈
		343110 MRVI 1	0.0	[ヒト][小胞体; 細胞質]ヒト MLRP への類似性を有するタンパク質、MLRP はリンパ系細胞の小胞体で発現する膜タンパク質である。遺伝子は白血病患者におけるマウスのレトロウイルス組込みの或る標的であり、腫瘍抑制因子として作用する可能性を示唆する。
		343510 LRMP	2.5E-30	[ヒト][小胞体; 細胞質; 原形質膜]小胞ターゲッティングおよび融合に関与するタンパク質への類似性を有する膜貫通タンパク質、小胞体の細胞質部位に局在する。発現はリンパ球において発生的に調節される。
		319044 Lrmp	4.0E-26	[マウス][小胞体; 細胞質]小胞ターゲッティングおよび融合に関与するタンパク質への類似性を有する膜貫通タンパク質、小胞体に局在する。発現はリンパ球において発生的に調節される。
9	7500513CD1	g1932712	1.5E-73	[ヒト] 前立腺癌腫瘍抗原 (Hadari, Y.R (1995) J. Biol. Chem. 270 :3447-3453)
		346874 LGAL S8	5.9E-74	[ヒト][小分子結合タンパク質][細胞質; 細胞外 (細胞壁を除く)]ガラクチン-8、β ガラクチンDに結合する、そして細胞接着、細胞成長制御、炎症、免疫調節、アポトーシス、転移等の生体プロセスに関与するレクチンのファミリーのメンバー。 (Su, Z. Z. 他. Surface-epitope masking and expression cloning identifies the human prostate carcinoma tumor antigen gene PCTA-1 a member of the galectin gene family. Proc Natl. Acad. Sci. U.S.A. 93, 7252-7 (1996).)

表 2-3

ポリペプチド SEQ ID NO:	Incyte ポリペ プチド ID	GenBank ID NO: または PROTEOME ID NO:	確率スコア	注釈
----------------------	----------------------	---	-------	----

Gopalkrishnan, R. V. 他 Molecular characterization of prostate carcinoma tumor antigen-1, PCTA-1, a human galectin-8 related gene. Oncogene 19, 4405-16。

[マウス][小分子結合タンパク質] ガラクチンガラクトシド結合レクチンファミリーのメンバー、ラット Rn.10089 およびヒト LGALS8 に強い類似性を有する。ガラクチン 8。

[ラット][小分子結合タンパク質][細胞質]ガラクチン-8、β ガラクトシドに結合する、そして細胞接着、細胞成長制御、炎症、免疫調節、アポトーシス、転移等の生体プロセスに関与するレクチンのファミリーのメンバー。

[マウス][小分子結合タンパク質]ガラクチン-4、β ガラクトシドに結合する、そして細胞接着、細胞成長制御、炎症、免疫調節、アポトーシス、転移等の生体プロセスに関与するレクチンのファミリーのメンバー。腸で発現する。

[マウス][小分子結合タンパク質][細胞質]ガラクチン-6、β ガラクトシドに結合する、そして細胞接着、細胞成長制御、炎症、免疫調節、アポトーシス、転移等の生体プロセスに関与するレクチンのファミリーのメンバー。胃腸管全体で発現される。

[ヒト] プログラム細胞死 9 (Carim, L. 他.(1999) Cytogenet. Cell Genet. 87: 85-88
 [ヒト] プログラム細胞死 9、ヒコプロアポトーシス性タンパク質 p52 の相同体。(Carim, L. 他. 前出)

10 7501080CD1 g7637838 4.7E-206

585199|Lgals6 9.3E-28

570834|pDGD 4.2E-207

表 2-4

ポリペプチド SEQ ID NO:	Incyte ポリペ プチド ID	GenBank ID NO: または PROTEOME ID NO:	確率スコア	注釈
		688536 Pcdcd9	1.0E-144	[マウス]未知のタンパク質が、ヒコプロアポトーシス性タンパク質 p52 の相同体であるヒト PCD9 (プログラム細胞死 9) の領域に強い類似性を有する。
11	3144878CD1	g12711386 433068 D9Ertd 192e	2.2E-72 1.6E-80	[ラット] Ajuba タンパク質 [マウス][小分子結合タンパク質]3 つのLIMドメインを含むタンパク質、タンパク質間相互作用を仲介する。遺伝的に発現される。
		434942 LIMD 1	1.3E-78	[ヒト][小分子結合タンパク質]LIMドメインを有するタンパク質、遺伝的に発現される。
		429958 Jub	2.5E-73	[マウス][活性化因子][細胞質] Ajuba、MAP キナーゼ活性を促進するサイトソル内 LIM タンパク質。アフリカツメガエルで人為的に発現される時に減数分裂型成熟を刺激する。
		342606 LPP	1.5E-50	[ヒト][DNA-結合タンパク質]発達の制御、タンパク質間相互作用、そして恐らく核酸への結合に関与するタンパク質の LIM ファミリーのメンバー、ロイシンジッパーモチーフと 3 つのLIMドメインを含む。
		430364 Trip6	2.0E-48	[マウス][リガンド]ヒト TRIP6 (甲状腺受容体相互作用タンパク質 6) に対して非常に強い類似性を有するタンパク質、TRIP6 は甲状腺ホルモン受容体の結合パートナーとして作用するリガンド依存型 LIM タンパク質。
12	7502112CD1	g10641052	6.2E-290	[マウス]神経分化関連タンパク質(Kato,H. 他. (2000) J. Biochem. 128: 923-932)。

表 2-5

ポリペプチド SEQ ID NO:	Incyte ポリペ プチド ID	GenBank ID NO: または PROTEOME ID NO:	確率スコア	注釈
	7502112CD1	710093 Ndrp	5.6E-291	[マウス]神経分化関連タンパク質、6つのWDリピートを有する。発達中および再生中のニューロンで主に発現される(Millward, T. 他. Molecular cloning and characterization of a conserved nuclear serine (threonine) protein kinase. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 92, 5022-6 (1995)).
	7502112CD1	342554 KATIN B1	1.0E-17	[ヒト][調節性サブユニット、ヒトローゼ、ATPase][核、細胞質、細胞骨格、中心体/紡錘極体 (spindle pole body)]カタニンの調節性サブユニット、微細管をチューブリン二量体に切断、分解する 微細管刺激性 ATPase、サブユニットは酵素を中心体に標的化する。
	7502112CD1	377624 pof11	1.4E-17	[分裂酵母 (Schizosaccharomyces pombe)][タンパク質抱合因子]7つのWDドメイン(WD-40リピート)および1つのF-ボックスドメインを含有するタンパク質、ヒトBTRCへの類似性が低い。ヒトBTRCはユビキチン経路によりヒトCD4およびIKB α の小胞体関連分解を仲介する。
	7502112CD1	372635 tup12	2.2E-17	[分裂酵母 (Schizosaccharomyces pombe)][抑制因子またはリプレッサー]Tup1pと重複して機能する転写抑制因子、出芽酵母 (<i>S. cerevisiae</i>) Tup1pの相同体。
13	7502788CD1	g10641052	0.0	[マウス]神経分化関連タンパク質(Kato,H. 他. (2000) J. Biochem. 128: 923-932).
	7502788CD1	710093 Ndrp	0.0	[マウス]神経分化関連タンパク質、6WDリピートを有し、発達中および再生中のニューロンで主に発現される。

表 2-6

ポリペプチド SEQ ID NO:	Incyte ポリペ プチド ID	GenBank ID NO: または PROTEOME ID NO:	確率スコア	注釈
7502788CD1		377624 pof11	2.6E-17	[分裂酵母 (Schizosaccharomyces pombe)] [タンパク質結合因子] 7 つの WD ドメイン (WD-40 レピート) および 1 つの F-ボックスドメインを含有するタンパク質、ヒト BTRC への類似性が低い。ヒト BTRC はユビキチン経路によりヒト CD4 および $1\kappa B \alpha$ の小胞体関連分解を仲介する。
7502788CD1		372635 lup12	3.0E-17	[分裂酵母 (Schizosaccharomyces pombe)] [抑制因子またはリプレッサー] Tup11p と重複して機能する転写抑制因子、出芽酵母 (<i>S. cerevisiae</i>) Tup1p の相同体。
7502788CD1		342554 KATN B1	3.3E-17	[ヒト] [調節性サブユニット、ヒドロラーゼ、ATPase] [核、細胞質、細胞骨格、中心体/紡錘極体 (spindle pole body)] カタニンの調節性サブユニット、微小管をチューブリン二量体に切断、分解する 微小管刺激性 ATPase、サブユニットは酵素を中心体に標的化する。
7500171CD1		g21724162	1.0E-173	[5' incom] [ヒト] (AY039239) 胃癌抗原 Ga55
7500171CD1		343832 TACC 1	1.9E-288	[ヒト] 有糸分裂中心体に局在するタンパク質、過剰発現が細胞形質転換を引き起こす (Still, I. H. 他., 前出)。 Gergely, F. 他. The TACC domain identifies a family of centrosomal proteins that can interact with microtubules Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 97, 14352-7 (2000).
7500171CD1		623588 TACC 2	1.1E-104	[ヒト] 腫瘍抑制因子として作用する中心体に局在するタンパク質 (Still, I. H. 他. Genomics 58, 165-70 (1999)).
7500171CD1		343834 TACC 3	5.9E-57	[ヒト] 微小管数または安定性を増加させ得るために有糸分裂中心体に局在するタンパク質、上昇した発現は癌と関連する。(Gergely, F. 他. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 97, 14352-7 (2000)).

表 2-7

ポリペプチド SEQ ID NO:	Incyte ポリペ プチド ID	GenBank ID NO:または PROTEOME ID NO:	確率スコア	注釈
	7500171CD1	430322 Tacc3	2.8E-46	[マウス]酸性コイルドコイルタンパク質、おそらく成長と分化制御に関与する。
15	7500172CD1 7500172CD1	g21724162 g3435157	0.0 6.5E-176	[5'incom][Homo sapiens] (AY039239) gastric cancer antigen Ga55 [ヒト] TACC1 (Still, I.H., 他.(1999) Oncogene 18:4032-4038)
	7500172CD1	343832 TACC 1	5.8E-177	[ヒト]有糸分裂中心体に局在するタンパク質、過剰発現が細胞形質転換を引き起こす。
	7500172CD1	623588 TACC 2	7.4E-83	[ヒト]腫瘍抑制因子として作用する中心体に局在するタンパク質 (Still, I. H. 他. 前出)。
	7500172CD1	343834 TACC 3	4.8E-51	[ヒト]微小管数または安定性を増加させ得るために有糸分裂中心体に局在するタンパク質、上昇した発現は癌と関連する(Gergely, F. 他. 前出)。
	7500172CD1	430322 Tacc3	6.3E-45	[マウス]酸性コイルドコイルタンパク質、おそらく成長と分化制御に関与する。
16	7500899CD1	g10130019	1.8E-11	[ヒト]PIDD Lin, Y., 他(2000) Nat. Genet. 26:122-127 Pidd, a new death-domain-containing protein, is induced by p53 and promotes apoptosis
	7500899CD1	424294 K1A4A0 231	7.1E-14	[ヒト]タンパク質間相互作用を仲介するロイシンリッチリピートを含むタンパク質、Ras 経路の調節因子に対して類似性が低い。
17	7500916CD1 7500916CD1	g14424787 623570 NK4	1.2E-72 1.8E-73	[ヒト]ナチュラキラー細胞転写 4 [ヒト][細胞外(細胞壁を除く)細胞接着において或る役割を果たし得る RGD モチーフを有するタンパク質、リンパ球によって発現され、またマイトジェン活性化T細胞と IL-2 処理された NK 細胞において上方制御される。

表 2-8

ポリペプチド SEQ ID NO:	Incyte ポリペ プチド ID	GenBank ID NO:または PROTEOME ID NO:	確率スコア	注釈
18	7502479CD1	g14250164	1.6E-64	[ヒト] RIKEN cDNA 2310030G06 遺伝子に類似
19	3015057CD1	g10120319	9.0E-133	[ラット]kelch 関連タンパク質 1 (Spence, H.J. 他. (2000) Krp1, a novel kelch related protein that is involved in pseudopod elongation in transformed cells. <i>Oncogene</i> 19:1266-1276.) [ヒト]サルコミア筋で発現するタンパク質 (Taylor, A. 他.(1988) DNA sequence and muscle-specific expression of human sarcosin transcripts. <i>Mol. Cell. Biochem.</i> 183:105-112).
	3015057CD1	343178 SARC OSIN	5.7E-131	
	3015057CD1	568936 AB026190	1.2E-47	[ヒト][細胞質,細胞骨格]Kelch-様タンパク質、アクチン組織化タンパク質のファミリーの 1 メンバー、タンパク質間相互作用を仲介し得る POZ (BTB)ドメインを1つと神経細胞体や神経突起プロセスにおいて高度に発現される Kelch モチーフを含む。 (Nemes, J. P. 他. (2000) The SCA8 transcript is an antisense RNA to a brain-specific transcript encoding a novel actin-binding protein (KLHL1). <i>Hum. Mol. Genet.</i> 9:1543-1551).
20	6303570CD1	g179331	8.8E-35	[ヒト] B94 タンパク質(Sarma,V. 他. (1992) Cloning of a novel tumor necrosis factor-alpha-inducible primary response gene that is differentially expressed in development and capillary tube-like formation in vitro. <i>J. Immunol.</i> 148:3302-3312).
	6303570CD1	343862 TNFAI2	7.7E-36	[ヒト][細胞外(細胞壁を除く)]発現が腫瘍壊死因子 α (TNF)、インターロイキン 1β 、リポ多糖により誘発される血管内皮により分泌されるタンパク質 (Sarma,V. 他. (1992) 前出)。

10

20

30

表 2-9

ポリペプチド SEQ ID NO:	Incyte ポリペ プチド ID	GenBank ID NO: または PROTEOME ID NO:	確率スコア	注釈
	6303570CD1	321766 Tnfr3p 2	4.1E-29	[マウス]腫瘍壊死因子 α 誘発タンパク質。血管内皮、胎児心臓組織、成 熟精子のアグロソーム、単球性系の細胞で発現される (Wolf, F.W. 他. (1994) B94, a primary response gene inducible by tumor necrosis factor- α , is expressed in developing hematopoietic tissues and the sperm acrosome. J. Biol. Chem. 269:3633-3640; Sarma, V. 他. (1992) 前出)。
21	7501579CD1	g15811123	1.1E-141	[ヒト](AF308609) NDR1 関連発生タンパク質 NDR3
	7501579CD1	742714 NDRG 3	9.9E-143	[ヒト]ヒト NDRG1 への類似性が高いタンパク質。ヒト NDRG1 は、ニッケル、 ホモステイン、2-メルカプトエタノール、ツニガマイシンにより誘発され、また結 腸腺癌細胞株分化中に誘発される。
	7501579CD1	587185 Ndr3 5.1E-139	5.1E-139	[マウス]Ndr ファミリーのメンバー、脊髄と胸腺原基で強度に発現される (Okuda, T., および Kondoh, H. (1999) Identification of new genes ndr2 and ndr3 which are related to Ndr1/RTP/Drg1 but show distinct tissue specificity and response to N-myc. Biochem. Biophys. Res. Commun. 266:208-215)。

表 2-10

ポリペプチド SEQ ID NO:	[Incyte ポリペ プチド ID	GenBank ID NO. または PROTEOME ID NO:	確率スコア	注釈
----------------------	-----------------------	---	-------	----

22 7503812CD1 g951279 2.7E-216 [ヒト] MLN 64 (Tomasetto, C. 他. (1995) Identification of four novel human genes amplified and overexpressed in breast carcinoma and localized to the q11-q21.3 region of chromosome 17. Genomics 28:367-376, Moog-Lutz, C. 他 I. (1997) MLN64 exhibits homology with the steroidogenic acute regulatory protein (STAR) and is over-expressed in human breast carcinomas. Int. J. Cancer 71:183-191)。

7503812CD1 428194|MLN6 2.3E-217 [ヒト][細胞質]悪性組織で過剰発現するタンパク質、1つの推定的膜貫通領域と1つの STAR 相同体ドメイン(SHD)を含む。ステロイド産生に機能し得る、また腫瘍内ステロイド産生の増加により腫瘍進行に寄与する (Watarai, H. 他. (1997) MLN64 contains a domain with homology to the steroidogenic acute regulatory protein (STAR) that stimulates steroidogenesis. Proc. Natl. Acad. Sci. U S A 94:8462-8467, Tomasetto, C. 他 (1995) 前出, Moog-Lutz, C. 他 (1997) 前出)。

7503812CD1 618940|es64 4.3E-205 [マウス][細胞質]ヒト MLN64 への強い類似性を有するタンパク質、ヒト MLN64 はステロイド産生急性調節タンパク質 (STAR) に対して類似性があり、乳癌で過剰発現する (Moog-Lutz, C. 他. (1997) 前出)。

23 7503970CD1 g3435086 3.0E-248 [ヒト] RTN2-A (Roebroek, A.J.M. 他. (1998) cDNA cloning, genomic organization, and expression of the human RTN2 gene, a member of a gene family encoding reticulons. Genomics 51:98-106, Senden, N. 他 I. (1997) Neuroendocrine-specific protein (NSP)-reticulons as independent markers for non-small cell lung cancer with neuroendocrine differentiation. An in vitro histochemical study. Histochem. Cell. Biol. 108:155-165)。

10

20

30

表 2-11

ポリペプチド SEQ ID NO:	Incyte ポリペ プチド ID	GenBank ID NO: または PROTEOME ID NO:	確率スコア	注釈
	7503970CD1	342756 RTN2	2.7E-249	[ヒト]reticulation 2、タンパク質の reticulation ファミリーのメンバー、小胞体と関連する (Roebroek, A.J.M. 他 (1998) 前出)。
	7503970CD1	331592 Rn.110	2.5E-52	[ラット]神経内分泌特異的タンパク質、神経内分泌特異的 reticulation ファミリータンパク質類のメンバー、神経内分泌事象で役割を果たし得る (Baka, I. D. 他. (1996) Intracellular compartmentalization of two differentially spliced s- rex/NSP mRNAs in neurons. Mol. Cell. Neurosci. 7:289-303)。
24	2578986CD1 2578986CD1	g14582295 328424 Rn.350	8.5E-34 2.0E-34	[マウス]補体 C3 (complement 32)への応答遺伝子 [ラット][細胞質]希突起膠細胞で発現するタンパク質、細胞周期活性化と関連する補体活性化により上方制御される。
	2578986CD1	426983 RGCC3	1.2E-25	[ヒト][細胞質]ラット Rn.3504 への強い類似性を有するタンパク質、ラット Rn.3504 は希突起膠細胞で発現し、細胞周期活性化と関連する補体活性化により上方制御される。
25	7503786CD1 7503786CD1	g4099597 341082 PNUT	5.6E-205 4.8E-206	[ヒト]細胞分裂制御関連 2a タンパク質 [ヒト]構造タンパク質、活性化因子、ヒドロラーゼ: GTP 結合タンパク質 /GTPase; 小分子結合タンパク質][核、細胞質、ミトコンドリア]ピーナッツ (シヨウジョウバエ)様 2、セブチンファミリーの 1 メンバー、セブチンファミリーは GTP 結合ドメインを有する線維状タンパク質であり、細胞質分裂中相互作用し得る、また別の形態 ARTS は TGF-β-拮抗性アポトーシスを仲介する。
	7503786CD1	320094 Sept4	1.3E-201	[マウス]セブチン 4、セブチンファミリーの 1 メンバー、セブチンファミリーは GTP 結合ドメインを有する線維状タンパク質であり、細胞質分裂中相互作用し得る。

表 2-12

ポリペプチド SEQ ID NO:	Incyte ポリペ プチド ID	GenBank ID NO: または PROTEOME ID NO:	確率スコア	注釈
7503786CD1		337064 PNUT L1	4.7E-152	[ヒト][構造タンパク質、ヒドロラーゼ、GTP 結合タンパク質/GTPase; 小分子結合タンパク質]ピーナツ様 (Peanut-like)、セブチンファミリーの 1 メンバー、セブチンファミリーは GTP 結合ドメインを有する線維状タンパク質であり、細胞質分裂中相互作用し得る、またある急性骨髄性白血病の例では遺伝子は転座切断点である。
7503786CD1		418690 Sept5	6.1E-150	[マウス][構造タンパク質]ヒト PNUTL1 の推定的オルログ、セブチンファミリーの 1 メンバー、セブチンファミリーは GTP 結合ドメインを有する線維状タンパク質であり、細胞質分裂中相互作用し得る、またある急性骨髄性白血病の例ではヒトの遺伝子は転座切断点である。
7503786CD1		318522 Sept1	5.8E-122	[マウス][核、細胞質]細胞表面タンパク質 gp90MEL-14 の高度な発現を有するリンパ球で上昇した発現を有するタンパク質、gp90MEL-14 は、リンパ器官の高内皮細静脈細胞へのリンパ球接着にどうして重要である。
26	7505684CD1	g6137108	2.6E-25	[ヒト]IRGC32
	7505684CD1	426983 RGCC3 2	2.2E-26	[ヒト][細胞質]ラット Rn.3504 への強い類似性を有するタンパク質、ラット Rn.3504 は希突起膠細胞で発現し、細胞周期活性化と関連する補体活性化により上方制御される。
	7505684CD1	328424 Rn.350 4	2.6E-23	[ラット][細胞質]希突起膠細胞で発現するタンパク質、細胞周期活性化と関連する補体活性化により上方制御される。
27	302655CD1	g13603412	-{-}5.2E-34	[ヒト] B29 (Yanaihara, N. 他 1. (2001) Genomics 72 (2), 169-179)
28	4757551CD1	g3335399	1.5E-240	[ヒト]AIBC1

10

20

30

表 2-13

ポリペプチド SEQ ID NO:	Incyte ポリペ プチド ID	GenBank ID NO: または PROTEOME ID NO:	確率スコア	注釈
4757551CD1	339764 BCAS 1	1.3E-241		[ヒト]乳癌増幅配列 1、対応する遺伝子の増幅と過剰発現は乳癌と関連 があり、発癌の可能性のある役割を示唆する。発現の減少は結腸直腸癌と 関連がある。
4757551CD1	617824 NEFH 3.0E-13			[ヒト][構造タンパク質]、[細胞質、細胞骨格]神経フィラメントの重サブユニ ット、軸索の内径を調節し得る中間径フィラメントタンパク質、対応する遺伝 子の突然変異は筋萎縮性側索硬化症の或る例と関連し得る。
7503157CD1	g12060822	1.8E-250		[ヒト]血清学的に定義された乳癌抗原 NY-BR-16
7503157CD1	692116 FLJ20 288	1.2E-231		[ヒト]タンパク質間の相互作用を媒介し得る 15 アンキリン(Ank)リピートを含 むタンパク質
7503157CD1	610225 KIAA1 223	5.4E-53		[ヒト]タンパク質間の相互作用を媒介し得る 13 アンキリン(Ank)リピートを含 むタンパク質
7503157CD1	321132 Ank3 3.8E-45			[マウス][アンカータンパク質][リソソーム/液胞; 細胞質; 原形質膜; 細胞骨 格; 軸索] アンキリン 3 (アンキリン G)、膜内在性タンパク質を細胞骨格に連 結するタンパク質の 1 アミノ酸のメンバ、スペクトリン-結合ドメインを有し、 上皮細胞で発現する、リソソームと関連する。
7503157CD1	618146 ANK1 1.1E-43			[ヒト][アンカータンパク質; 構造タンパク質][細胞質; 原形質膜; 細胞骨格] アンキリン 1(アンキリンR)、細胞骨格エレメントを原形質膜に付着する膜タン パク質、対応する遺伝子の突然変異は遺伝性球形赤血球症を引き起こ す。

10

20

30

【表 2 - 1 4】

表 2-14

ポリペプチド SEQ ID NO:	Incyte ポリペ プチド ID	GenBank ID NO: または PROTEOME ID NO:	確率スコア	注釈
30	7503702CDI	g13469729	1.4E-62	[ヒト]乳癌抗原 NY-BR-1 (Jager,D. 他.(2001) Cancer Res. 61 (5), 2055-2061) [ヒト]アンキリン(Ank)リピートを含むタンパク質、アンキリン(Ank)リピートはタンパク質間の相互作用を媒介し得る [ヒト]精巣特異的アンキリンモナー含有タンパク質 806、男性生殖腺発達において役割を果たし得る推定的タンパク質結合タンパク質。
	7503702CDI	425084 KIAA1074	4.4E-58	
	7503702CDI	606250 LOC56311	1.2E-22	
	7503702CDI	737411 UACA	2.0E-16	[ヒト]コイルドドメインとアンキリンリピートを持つブドウ膜自己抗原、panuveitis の人々に共通の自己抗原である。
	7503702CDI	439135 unc-44	3.7E-16	[線虫]選択的スライミングによって生成されるアンキリン関連タンパク質群、軸索ガイダンスと正しい軸索の繊維束形成に必要である。
	7503702CDI	697436 RAI14	8.7E-16	[ヒト]、[細胞質、細胞骨格]マウス DXSmh7 ジストロフィンの領域に対して弱い類似性を有する。マウス DXSmh7 ジストロフィンは、デュシェンヌ型/ベックマン型筋ジストロフィーと関連する膜関連細胞骨格タンパク質のスペクトリンファミリーのメンバーである。
31	72096217CDI	g3242004	1.3E-238	[ヒト] bridging-integrator タンパク質-1 アイソフォーム BIN1+12A Wechsler-Reya, R.J.他. (1997) J. Biol. Chem. 272:31453-31458 Structural analysis of the human BIN1 gene. Evidence for tissue-specific transcriptional regulation and alternate RNA splicing.
	72096217CDI	584235 Bin1	6.4E-218	[マウス][小分子結合タンパク質][細胞骨格] Amphiphysin II、ダイナミンおよび α adaptin と関連がある。エンドサイトーシスおよびシグナル伝達経路と連結し得る。1つの SH3 ドメインを有する。推定的ヒトオルソログ AMPHL は腫瘍抑制因子である。

10

20

30

表 2-15

ポリペプチド SEQ ID NO:	Incyte ポリペ プチド ID	GenBank ID NO: または PROTEOME ID NO:	確率スコア	注釈
	72096217CD1	332316[Rn.170 98	1.2E-216	[ラット] [調節性サブユニット、小分子結合タンパク質] [エンドソーム/エンドソーム小胞、原形質膜] Amphiphysin II, シナプス小胞のエンドサイトーシスにおいて役割を果たす予測された細胞骨格調節タンパク質
	72096217CD1	339980[BIN1	7.7E-175	[ヒト] [活性化因子] [細胞質細胞骨格] AmphiphysinII, MYC と相互作用し、またアンキリン 3(ANK3) と共存する腫瘍抑制因子、エンドサイトーシスで役割を果たし得る。
	72096217CD1	334158[AMPH	1.6E-74	[ヒト] [細胞質、原形質膜、細胞骨格、分泌/エンドサイトーシス経路の他の小胞] Amphiphysin, ダイナミン [DNM1] とシナプトジャンクション 1 (SYNJ1) をそのSH3 ドメインを介して結合し、また AP-2 複合物をも結合する。おそらくシナプス小胞のエンドサイトーシスに関与し、自己抗体はステイアマン症候群等の神経の疾患と関連する。
	72096217CD1	476363[BIN2	6.8E-72	[ヒト] Bridging integrator 2, アダプタンパク質の BAR ファミリーの 1 メンバーであり、造血細胞で主に発現され、顆粒球の分化中上方制御される。
32	7503620CD1	g192597	2.3E-173	[マウス] clusterin French, L.L. 他. (1998) J. Cell. Biol. 122:1119-1130 Murine clusterin: molecular cloning and mRNA localization of a gene associated with epithelial differentiation processes during embryogenesis
	7503620CD1	327964[Trpm2	2.9E-173	[ラット] clusterin、免疫調節とアポトーシスの阻害に関与し得る糖タンパク質。
	7503620CD1	586923[Clu	6E-173	[マウス] 免疫調節、細胞接着、ストレス反応とアポトーシスの阻害に関与し得る糖タンパク質である clusterin。

表 2-16

ポリペプチド SEQ ID NO:	Incyte ポリペ プチド ID	GenBank ID NO;または PROTEOME ID NO:	確率スコア	注釈
33	7503620CD1 7503621CD1 7503622CD1 7503624CD1	334716 CLU 424860 CLUL 1 g292843 334716 CLU 327964 Trpm2 586923 Clu 424860 CLUL 1 g292843 334716 CLU 327964 Trpm2	1.4E-118 6.2E-35 9.9E-159 8.6E-160 1.6E-117 3.1E-116 8.3E-32 5.4E-135 4.7E-136 5.4E-131	[ヒト][構造タンパク質]clusterin、免疫調節、脂質輸送、ストレス反応とアポトーシスの阻害に関与し得る糖タンパク質。 [ヒト]複数の clusterin 糖タンパク質に対して弱い類似性を有するタンパク質、1つの clusterin ドメインを含む。 [ヒト] TRPM-2 遺伝子産物 Wong, P.他. (1993) J. Biol. Chem. 268:5021-5031 Genomic organization and expression of the rat TRPM-2 (clusterin) gene, a gene implicated in apoptosis. [ヒト][構造タンパク質]clusterin、免疫調節、脂質輸送、ストレス反応とアポトーシスの阻害に関与し得る糖タンパク質。 [ラット] clusterin、免疫調節とアポトーシスの阻害に関与し得る糖タンパク質。 [マウス]免疫調節、細胞接着、ストレス反応とアポトーシスの阻害に関与し得る糖タンパク質である clusterin。 [ヒト]複数の clusterin 糖タンパク質に対して弱い類似性を有するタンパク質、1つの clusterin ドメインを含む。 [ヒト] TRPM-2 遺伝子産物 Wong, P.他. 前出 [ヒト][構造タンパク質]clusterin、免疫調節、脂質輸送、ストレス反応とアポトーシスの阻害に関与し得る糖タンパク質。 [ラット] clusterin、免疫調節とアポトーシスの阻害に関与し得る糖タンパク質。
34	7503624CD1	327964 Trpm2	5.4E-131	

表 2-17

ポリペプチド SEQ ID NO:	Incyte ポリペ プチド ID	GenBank ID NO. または PROTEOME ID NO:	確率スコア	注釈
	7503624CD1	586923 Clu	2.2E-99	[マウス]clusterin、免疫調節、細胞接着、ストレス反応とアポトーシスの阻害に關与し得る糖タンパク質。
	7503624CD1	424860 CLU1 1	4.2E-22	[ヒト]複数の clusterin 糖タンパク質に対して弱い類似性を有するタンパク質、1つの clusterin ドメインを含む。
35	7503625CD1	g292843	1.2E-235	[ヒト] TRPM-2 遺伝子産物 Wong, P.他. 前出
	7503625CD1	334716 CLU 1E-236		[ヒト][構造タンパク質]clusterin、免疫調節、脂質輸送、ストレス反応とアポトーシスの阻害に關与し得る糖タンパク質。
	7503625CD1	327964 Trpm2	1.4E-182	[ラット] clusterin、免疫調節とアポトーシスの阻害に關与し得る糖タンパク質。
	7503625CD1	586923 Clu	7E-181	[マウス]clusterin、免疫調節、細胞接着、ストレス反応とアポトーシスの阻害に關与し得る糖タンパク質。
	7503625CD1	424860 CLU1 1	6.5E-18	[ヒト]複数の clusterin 糖タンパク質に対して弱い類似性を有するタンパク質、1つの clusterin ドメインを含む。
36	7503627CD1	g292843	4.7E-134	[ヒト] TRPM-2 遺伝子産物 Wong, P.他. 前出
	7503627CD1	334716 CLU 4.1E-135		[ヒト][構造タンパク質]clusterin、免疫調節、脂質輸送、ストレス反応とアポトーシスの阻害に關与し得る糖タンパク質。
	7503627CD1	327964 Trpm2	8.4E-98	[ラット] clusterin、免疫調節とアポトーシスの阻害に關与し得る糖タンパク質。
	7503627CD1	586923 Clu	1.4E-97	[マウス]clusterin、免疫調節、細胞接着、ストレス反応とアポトーシスの阻害に關与し得る糖タンパク質。

表 2-18

ポリペプチド SEQ ID NO:	Incyte ポリペ プチド ID	GenBank ID NO;または PROTEOME ID NO:	確率スコア	注釈
	7503627CD1	424860 CLUL1	3.4E-14	[ヒト]複数の clusterin 糖タンパク質に対して弱い類似性を有するタンパク質、1つの clusterin ドメインを含む。
37	7505744CD1	g3764055	2.3E-69	[ヒト] フォリスタチン関連タンパク質 FLRG Hayette, S. 他. (1998) Oncogene 16:2949-2954 FLRG (follistatin-related gene), a new target of chromosomal rearrangement in malignant blood disorders.
	7505744CD1	342464 FSTL3	2E-70	[ヒト][細胞外(細胞壁を除く)]フォリスタチン様3、フォリスタチンモジュレーター タンパク質ファミリーの分泌性糖タンパク質、対応する遺伝子は悪性血液疾患 に関連する染色体転座に関与する。
	7505744CD1	709935 Fstl3	2E-48	[マウス]フォリスタチン様3、フォリスタチンモジュレータータンパク質ファミリーの分泌 性糖タンパク質、TGF-βファミリーのメンバーに結合して、活性を阻害する; ヒト FSTL3 は悪性血液疾患に関連する染色体転座に関与する。
	7505744CD1	430560 Fst	3.5E-21	[ラット][抑制因子またはリプレッサー]フォリスタチン、アクチビンに結合、中和 する。下垂体 FSH 分泌、胚形成、細胞増殖、卵巣と精巣の機能を調節 する; ヒト FST は多嚢胞卵巣症候群の原因となり得る。 Michel, U. 他.(2000) Eur. J. Endocrinol. 143: 809-816 Follistatin (FS) in human cerebrospinal fluid and regulation of FS expression in a mouse model of meningitis.

表 2-19

ポリペプチド SEQ ID NO:	Incyte ポリペ プチド ID	GenBank ID NO: または PROTEOME ID NO:	確率スコア	注釈
	7505744CD1	322496 Fst	5.7E-21	[マウス]抑制因子またはリプレッサー]フォリスタチン、アクチビンに結合、中和する。下垂体 FSH 分泌、胚形成の機能、細胞増殖、卵巣と精巣の機能を調節する。誕生直後の欠乏は致死的であり、ヒト FST は多嚢胞卵巣症候群の原因となり得る。
	7505744CD1	344208 FST	1.2E-20	[ヒト]抑制因子またはリプレッサー]フォリスタチン、アクチビンに結合、中和する。下垂体 FSH 分泌、胚形成、細胞増殖、卵巣と精巣、そしておそらく卵巣卵胞発達の機能を調節し、多嚢胞卵巣症候群の原因となり得る。
38	7503712CD1	g11494125	4.0E-194	[ヒト]コラーゲン Millet, C. 他. (2001) Mech. Dev. 106:85-96 The human chordin gene encodes several differentially expressed splice variants with distinct BMP opposing activities.
	7503712CD1	584507 Chrd	1.1E-169	[マウス]抑制因子またはリプレッサー]コラーゲン、初期胚の背方化に関与し、また発達の 7 日目の胚で高度に発現される骨形態形成タンパク質抑制因子のファミリーの 1 メンバー。
	7503712CD1	347908 CHRD	2.1E-124	[ヒト]抑制因子またはリプレッサー]コラーゲン、初期胚の背方化に関与し、また胚と成人で広範囲に発現される骨形態形成タンパク質抑制因子のファミリーの 1 メンバー。
39	7503713CD1	g11494125	0.0	[ヒト]コラーゲン Millet, C. 他., 前出
	7503713CD1	347908 CHRD	0.0	[ヒト]抑制因子またはリプレッサー]コラーゲン、初期胚の背方化に関与し、また胚と成人で広範囲に発現される骨形態形成タンパク質抑制因子のファミリーの 1 メンバー。

10

20

30

【表 2 - 20】

表 2-20

ポリペプチド SEQ ID NO:	lncyte ポリペ プチド ID	GenBank ID NO:または PROTEOME ID NO:	確率スコア	注釈
	7503713CD1	584507 Chrd	0.0	[マウス]抑制因子またはプレッサー]コラーゲン、初期胚の骨化に関与し、また発達中の7日目の胚で高度に発現される骨形態形成タンパク質抑制因子のファミリーの1メンバー。
	7503713CD1	70433 Nrln1	0.00000041	[マウス]Neuralin 1、発達中にシグナル伝達に関与する分泌性タンパク質のコーティンファミリーの1メンバー、3つのシステインリッチリピートを含む。
	7503713CD1	476867 Crim1	0.00000025	[マウス][不特定の膜:原形質膜]システインリッチ運動ニューロン1、インシュリン様成長因子結合タンパク質モチーフと複数のコラーゲン様(multiplexchordin like)システインリッチリピートを有する推定的膜貫通タンパク質、後腎発達と中枢神経発達において役割を有し得る。
40	7502225CD1	g5360111	1.0E-94	[ヒト] NY-REN-41 抗原 Scanlan, 他. (1999) Int. J. Cancer 83:456-464 Antigens recognized by autologous antibody in patients with renal-cell carcinoma.
	7502225CD1	8283 YNL091 W	1.3E-17	[出芽酵母菌(Saccharomyces cerevisiae)]Uso1p およびヒトNF2 神経線維腫症タイプ2 遺伝子産物への類似性を有するタンパク質
	7502225CD1	377633 SPAC3 0.14c	1E-15	[出芽酵母菌(Saccharomyces cerevisiae)]トロポニンDメインを含むコイルドコイルタンパク質
	7502225CD1	132 MNN4	5.5E-15	[出芽酵母(Saccharomyces cerevisiae)][不特定の膜]マンノースリン酸(mannosylphosphate) をコアおよびN 結合型オリゴ糖の外側鎖部分への転移に必要なタンパク質
	7502225CD1	239154 C11G6 3	3.4E-14	[線虫] 1つの推定 PHD 型 Znフィンガードメインを含むタンパク質、ヒトタンパク質キナーゼ STK10 に対して弱い類似性を有する。

10

20

30

【0494】

【表 2 - 2 1】

表 2-21

ポリペプチド SEQ ID NO:	Incyte ポリペ プチド ID	GenBank ID NO: または PROTEOME ID NO:	確率スコア	注釈
41	7502778CD1	g5360119	6.2E-96	[ヒト] NY-REN-50 抗原 Scanlan, M.J. 他. 前出
42	7503699CD1	g13469729	4.3E-29	[ヒト] 乳癌抗原 NY-BR-1 Jager, D. 他. (2001) Cancer Res. 61:2055-2061
				Identification of a tissue-specific putative transcription factor in breast tissue by serological screening of a breast cancer library.
	7503699CD1	425084 KIAA1074	7.7E-44	[ヒト] アンキリン(Ank)リピートを含むタンパク質、アンキリン(Ank)リピートはタンパク質間の相互作用を媒介し得る。
	7503699CD1	434390 KIAA0379	1.2E-13	[ヒト] 23 のアンキリン(Ank)リピートを含むタンパク質、アンキリン(Ank)リピートはタンパク質間の相互作用を媒介し得る。
	7503699CD1	685397 MGCS540	3.3E-13	[ヒト] 未知の機能のタンパク質、ヒト PSM10 の或る領域に対して中程度の類似性の領域を有する。ヒト PSM10 は、ヒト RB1 を不安定化することによって肝臓癌発生において役割を有し得る 26S プロテアソーム (prosome, macropain) の非 ATPase サブユニットである。
				Higashitsuji, H. 他. (2000) Nat. Med. 6:96-99 Reduced stability of retinoblastoma protein by gankyrin, an oncogenic ankyrin-repeat protein overexpressed in hepatomas.
	7503699CD1	609058 Ankrd2	1.2E-12	[マウス] 抑制因子またはリッサー; 転写因子]アンキリンリピートドメイン 2、1つの ATP/GTP 結合ドメイン、1つの核局在化シグナル、2つの PEST タンパク質不安定化モチーフ、アンキリンリピートを有するタンパク質であり、骨格筋肥大において役割を有し得る。
	7503699CD1	475935 LOC51239	2.2E-12	[ヒト] 3 つのアンキリン(Ank)リピートを含むタンパク質、アンキリン(Ank)リピートはタンパク質間の相互作用を媒介し得る。

10

20

30

表 2-22

ポリペプチド SEQ ID NO:	Incyte ポリペ プチド ID	GenBank ID NO. または PROTEOME ID NO:	確率スコア	注釈
43	6026715CD1	g6165419	8.5E-105	[マウス]セプチン様タンパク質 Sinti1 Sorensen, A.B. 他. (2000) J. Virol. 74: 2161-2168 Sinti1, a common integration site in SL3-3-induced T-cell lymphomas, harbors a putative proto-oncogene with homology to the septin gene family. [マウス]セプチンファミリーのメンバー、セプチンファミリーは細胞質分裂と細 胞極性の確立に関与する。 [ラット]骨髄性リンパ白血病患者遺伝子セプチン様融合タンパク質、GTP 結合 タンパク質、ヒト MSF は急性骨髄性白血病 (AML) と治療関連 AML にお いて MLL に融合する。また突発性上皮卵巣腫瘍において欠失されることが 共通して見出される。 [ヒト][ヒドロラーゼ; GTP 結合タンパク質/GTPase; 小分子結合タンパク質] [細胞質]骨髄性リンパ白血病患者遺伝子セプチン様融合タンパク質、セプチン ファミリーのメンバー、対応する遺伝子は急性骨髄性白血病 (AML) と治療 関連 AML において MLL に融合する。また突発性上皮卵巣腫瘍において 欠失されることが共通して見出される。
	6026715CD1	477111 Sep19	7.40E-106	
	6026715CD1	711864 LOC833.20E-105 788		
	6026715CD1	432874 MSF	6.70E-105	
	6026715CD1	597863 Sep3	4.70E-104	[ラット][ヒドロラーゼ; GTP 結合タンパク質/GTPase; 小分子結合タンパク 質] G セプチン α 、GTP-結合/GTPase タンパク質のセプチンファミリーのニュー ロンメンバー、哺乳動物セプチンに特徴的な C-末端コイルドコイルドメイ ンが欠如しており、ニューロンの PKG により調節される。
	6026715CD1	594860 SEPT3	3.40E-101	[ヒト]セプチン3、セプチンタンパク質ファミリーの 1 メンバー。

表 2-23

ポリペプチド SEQ ID NO:	Incyte ポリペ プチド ID	GenBank ID NO: または PROTEOME ID NO:	確率スコア	注釈
44	7503631CD1	g292843	1.5E-222	[ヒト] TRPM-2 遺伝子産物 Wong, P.他. (1994) Eur. J. Biochem. 221:917-925 Molecular characterization of human TRPM-2/clusterin, a gene associated with sperm maturation, apoptosis and neurodegeneration.
	7503631CD1	334716[CLU]	1.30E-223	[ヒト]構造タンパク質]clusterin、免疫調節、脂質輸送、ストレス反応とアポトーシスの阻害に關与し得る糖タンパク質。
	7503631CD1	586923[Clu]	8.60E-174	[マウス]clusterin、免疫調節、細胞接着、ストレス反応とアポトーシスの阻害に關与し得る糖タンパク質。
	7503631CD1	327964[Trpm2]	1.40E-173	[ラット] clusterin、免疫調節とアポトーシスの阻害に關与し得る糖タンパク質。
45	7503664CD1	g292843	1.0E-181	[ヒト] TRPM-2 遺伝子産物
	7503664CD1	334716[CLU]	8.70E-183	[ヒト]構造タンパク質]clusterin、免疫調節、脂質輸送、ストレス反応とアポトーシスの阻害に關与し得る糖タンパク質。
	7503664CD1	327964[Trpm2]	3.80E-141	[ラット] clusterin、免疫調節とアポトーシスの阻害に關与し得る糖タンパク質。
	7503664CD1	586923[Clu]	8.20E-139	[マウス]clusterin、免疫調節、細胞接着、ストレス反応とアポトーシスの阻害に關与し得る糖タンパク質。

10

20

30

表 2-24

ポリペプチド SEQ ID NO:	Incyte ブチド ID	GenBank ID NO: または PROTEOME ID NO:	確率スコア	注釈
46	7504812CD1	g307151	1.3E-125	[ヒト] MAC25 Murphy, M. 他. (1993) Cell Growth Differ. 4:715-722 Identification and characterization of genes differentially expressed in meningiomas.
	7504812CD1	335964 IGFBP 7	3.70E-132	[ヒト][抑制因子またはリプレッサー]インスリン様成長因子活性に結合 し、モジュレートする。そして細胞成長インヒビターとして作用し得るイ ンスリン様成長因子結合ファミリータンパク質のメンバー。対応する遺 伝子の発現低下は髄膜腫と関連がある。
	7504812CD1	429392 igfbp7	7.60E-119	[マウス][抑制因子またはリプレッサー]アウチピン結合タンパク質であるフォリス タチンに対して相同性が高いタンパク質、腫瘍抑制因子として機能し、また TGFβファミリーのシグナル伝達をモジュレートし得る。髄膜腫と関連するヒト IGFBP7 に対して強い類似性を有する。
	7504812CD1	608144 IGFBP L	3.30E-32	[マウス][抑制因子またはリプレッサー:プロテアーゼ(プロテアソーム以外)] Fstl2 フォリスタチン様 2 に対して中程度の類似性を有するタンパク質。Fstl2 フォリスタチン様 2 は腫瘍抑制因子として作用し得る、また免疫グロブリン(Ig) ドメインと Kazal-タイプ セリンプロテアーゼ抑制因子ドメインを含有するアウチ ピン結合タンパク質である。
	7504812CD1	608602 Prss11	9.00E-25	[マウス][ヒドロラーゼ、プロテアーゼ(プロテアソーム性でない)][細胞外(細胞 壁を除く)]プロテアーゼ(セリン、11 (GF-結合))、ヒト PRSS11 に対して強い 類似性を有する。ヒト PRSS11 は、α 抗トリプシンと相互作用し、また変 形性関節症患者の軟骨で過剰発現するセリンプロテアーゼである。またトリ プシンドメインと PDZ ドメインを有する。

10

20

30

表 2-25

ポリペプチド SEQ ID NO:	Incyte ポリペ プチド ID	GenBank ID NO: または PROTEOME ID NO:	確率スコア	注釈
	7504812CD1	337258 PRSSI 1	1.50E-24	[ヒト] [ヒドロラーゼ、プロテアーゼ (プロテアソーム性でない)[細胞外(細胞壁を除く)] プロテアーゼ(セリン、11 (GF-結合))、 α トロプシンと相互作用するセリンプロテアーゼのファミリーのメンバー。また変形性関節症患者の軟骨で過剰発現が検出される。
47	7504996CD1	g13543353	1.8E-95	[ヒト] フォリスタチン様 3 (分泌糖タンパク質)
	7504996CD1	342464 FSTL3	1.60E-96	[ヒト][細胞外(細胞壁を除く)] フォリスタチン様3、フォリスタチンモジュレーターファミリーの分泌糖タンパク質、対応する遺伝子は悪性血液疾患と関連する染色体転座に関連する Hayette, S., Cadoux, M., Martel, S., Bertrand, S., Tigaud, I., Magaud, J. P., および Rimokh, R. FLRG (follistatin-related gene), a new target of chromosomal rearrangement in malignant blood disorders. <i>Oncogene</i> 16, 2949-54 (1998).
	7504996CD1	709935 Fstl3	2.20E-81	[マウス] フォリスタチン様3、フォリスタチンモジュレーターファミリーの分泌糖タンパク質、TGF- β ファミリーのメンバーに結合して、活性を阻害する。 ヒト FSTL3 は悪性血液疾患に関連する染色体転座に関連する。
	7504996CD1	430560 Fst	3.80E-47	[ラット][抑制因子またはプレッサー] フォリスタチン。アカチンに結合、中和し、下垂体 FSH 分泌、胚形成、細胞増殖、卵巣と精巣の機能を調節する。ヒト FST は多嚢胞卵巣症候群の原因となり得る。

10

20

30

表 2-26

ポリペプチド SEQ ID NO:	Incyte ポリペ プチド ID	GenBank ID NO.または PROTEOME ID NO.	確率スコア	注釈
	7504996CD1	322496 fst	6.20E-47	[マウス][抑制因子またはリプレッサー]フォリスタチン。アクチビンに結合、中和し、下垂体 FSH 分泌、胚形成の機能、細胞増殖、卵巣と精巣の機能を調節する。欠乏は誕生直後に致死的である。ヒト FST は多嚢胞卵巣症候群の原因となり得る。
	7504996CD1	344208 fst	6.20E-47	[ヒト][抑制因子またはリプレッサー]フォリスタチン。アクチビンに結合、中和し、下垂体 FSH 分泌、胚形成、細胞増殖、卵巣と精巣、そしておそらく卵巣卵胞発達の機能を調節する。多嚢胞卵巣症候群の原因となり得る。
48	7377279CD1 7377279CD1	g16117380 g10241843	0.0E+00 1.70E-200	[f11][ヒト]胃癌関連タンパク質 FKSG9 [マウス] gasdermin Saeki, N. 他. (2000) Mamm. Genome 11: 718-724 Gasdermin (Gsdm) localizing to mouse chromosome 11 is predominantly expressed in upper gastrointestinal tract but significantly suppressed in human gastric cancer cells.
	7377279CD1	618646 Gsdm	1.50E-201	[マウス] Gasdermin、胃腸管上部と皮膚で発現される。ヒト相類似は胃癌細胞で下方制御される。そして胃組織の発癌遮断において役割を有し得る。
	7377279CD1	709931 Mlze	2.40E-38	[マウス]転移性黒色腫において優先的に発現し得るタンパク質
	7377279CD1	600122 PRO25 21	1.10E-31	[ヒト] 未知の機能のタンパク質、DFNA5 の或る領域に対して中程度の類似性の領域を有する。また蝸牛で発現し、非症候群性聴覚障害と関連する。

表 2-27

ポリペプチド SEQ ID NO:	Incyte ポリペ プチド ID	GenBank ID NO: または PROTEOME ID NO:	確率スコア	注釈
49	2060984CD1	g12659142	9.3E-115	[マウス] mage-g1 Saeki, N. 他 (2000) Mamm. Genome 11: 718-724 Gasdermin (Gsdm) localizing to mouse chromosome 11 is predominantly expressed in upper gastrointestinal tract but significantly suppressed in human gastric cancer cells.
	2060984CD1	617934 MAGE D2	1.60E-55	[ヒト]MAGE (メラノーマ抗原コード遺伝子)ファミリーのメンバー、MAGE ファミリーは様々な腫瘍で発現される。necdin (NDN)に対して中程度の類似性を有する領域を有する。necdin はブラダー・ウイリー症候群と関連するニューロンの成長抑制因子である。 Muscatelli, F. 他 (2000) Mol. Genet. 9: 3101-3110 Disruption of the mouse necdin gene results in hypothalamic and behavioral alterations reminiscent of the human prader-willi syndrome Hum.
	2060984CD1	559775 MAGE L2	1.80E-55	[ヒト] MAGE 様 2、対応する遺伝子はインプリンティングを受け、ブラダー・ウイリー症候群と関連する重要な染色体領域にマップされる。
	2060984CD1	344560 MAGE B4	8.00E-54	[ヒト] メラノーマ抗原ファミリー B 4、腫瘍抗原の 1 ファミリーの 1 メンバーである。
	2060984CD1	742738 MAGE D1	4.00E-53	[ヒト] 神経栄養因子 (neurotrophin) 受容体相互作用 MAGE 相同体、黒色腫瘍抗原ファミリー D の新規のメンバー、黒色腫瘍抗原ファミリー D は MAGE ファミリーの他のメンバーと異なり、多くの正常な組織で発現する。
50	4085993CD1	g12060849	1.0E-155	[5'incom][ヒト]血清学的に定義された乳癌抗原 NY-BR-85

10

20

30

表 2-28

ポリペプチド SEQ ID NO:	Incyte ポリペ プチド ID	GenBank ID NO: または PROTEOME ID NO:	確率スコア	注釈
51	6756305CD1	g1297319	0.0	[ヒト] DOC1 Mok, S.C. (1994)Gynecol. Oncol. 52:247-252. Molecular cloning of differentially expressed genes in human epithelial ovarian cancer. [ヒト] 卵巣癌 1 で下方制御される。卵巣癌細胞株では発現されず、正常な卵巣表面上皮細胞によって発現される推定的タンパク質
	6756305CD1	743416 DOC1	0.0	
	6756305CD1	632626 orf6.14 34	2.00E-23	【黴菌】 <i>Candida albicans</i> (S. cerevisiae) Uso1p に対して弱い類似性を有するタンパク質、Uso1p は ER からゴルジへのタンパク質輸送に必要な哺乳類の インテグリンに対して類似性を有するコイルドコイルタンパク質である。
	6756305CD1	335126 EEA1	7.60E-23	[ヒト][小分子結合タンパク質][エンドソーム/エンドソーム小胞、核、細胞質、原形質膜] 初期エンドソームに存在し、エンドソーム融合に必要なタンパク質、エンドソーム低分子 GTPaseRAB5 のエフェクターとして作用する。
	6756305CD1	623900 MYH3	4.00E-22	[ヒト] モータータンパク質、ヒドロラーゼ、ATPase [細胞質、細胞骨格] 骨格筋ミオシン重鎖、筋収縮力を提供するモータータンパク質の 1 アファミリーのメンバー、胚形成中のみ発現される。
52	7504842CD1	g4091819	3.4E-229	[ヒト] ロイシンリッチ神経膠腫不活性化タンパク質前駆体 Chernova, O.B. (1998) Oncogene 17:2873-2881 A novel gene, LGI1, from 10q24 is rearranged and downregulated in malignant brain tumors.

10

20

30

表 2-29

ポリペプチド SEQ ID NO:	Incyte ポリペ プチド ID	GenBank ID NO: または PROTEOME ID NO:	確率スコア	注釈
	7504842CD1	341690 LGI1	2.90E-230	[ヒト]ロイシッチ神経膠腫不活性化 1、4 つのロイシッチリピートを有する LRR-タンパク質スーパーファミリーの 1 メンバー、神経発生において機能し得る。また腫瘍抑制因子であり得る。遺伝子再構成と低発現は悪性神経膠腫と関連する。
53	7504842CD1	607582 Lgi1	3.60E-225	[マウス]ロイシッチ神経膠腫不活性化 1、4 つのロイシッチリピートを有する。推定的グリコ糖抑制因子、ヒト LGI1 遺伝子の遺伝子再構成と低発現は悪性神経膠腫と関連する。
	7500901CD1	g7899272	5.0E-22	[線虫] LET-413 タンパク質 Legouis R, 他. (2000) Nature Cell Biol. 2:415-22 LET-413 is a basolateral protein required for the assembly of adherens junctions in <i>Caenorhabditis elegans</i> .
55	7500912CD1 7500912CD1	g14424787 623570 NK4	5.6E-89 8E-90	[ヒト]ナチュラルキラー細胞転写 4 [ヒト][細胞外(細胞壁を除く)細胞接着において役割を果たし得る RGD モチーフを有するタンパク質、リンパ球によって発現する。またマイトジェン活性化 T 細胞と NK 細胞で処理された IL-2 において上方制御する。
56	7505851CD1	g14424787	1.3E-72	[ヒト]ナチュラルキラー細胞転写 4

10

20

30

【表 2 - 3 0】

表 2-30

ポリペプチド SEQ ID NO:	Incyte ポリペ プチド ID	GenBank ID NO: または PROTEOME ID NO:	確率スコア	注釈
	7505851CD1	623570 NK4	1.80E-73	

[ヒト]細胞外(細胞壁を除く)ナチュラルキラー細胞転写 4、細胞接着におい
て役割を果たし得る RGD モチーフを有するタンパク質、リンパ球によって発
現され、マイトジェン活性化T細胞とIL-2 処理ナチュラルキラー細胞において
上方制御される。
Dahl, C. A. 他. (1992) Identification of a novel gene expressed in
activated natural killer cells and T cells. J. Immunol. 148:697-603.

10

20

30

【 0 5 0 4】

【表 3 - 2】

表 3-2

SEQ ID NO:	Incyte ポリペプチド ID	アミノ酸残基数	潜在的リン酸化部位	潜在的グリコシル化部位	シグネチャ配列、ドメインおよびモチーフ	分析方法及びデータベース
3	4160218CD1	1397	S78 S110 S183 S202 S437 S540 S603 S680 S766 S821 S840 S873 S891 S913 S930 S1079 S1176 S1243 S1318 S1342 T3 T82 T125 T129 T145 T174 T358 T374 T405 T462 T698 T718 T880 T954 T1145 T1154 T1175 T1283 T1301 Y1189	N372 N538 N580 N816 N963 N1039 N1152 N1202 N1259 N1260 N1354	Appr-1 ^p プロセシング酵素ファミリー: V537-V655, V749-1866	HMMER_PFAM

WWE ドメイン: E1240-S1318 HMMER_PFAM

ポリタンパク質 タンパク質 非構造的 含有: タンパク質 NSP1 NSP4 RNA 結合 ヘリカーゼヒストン PD002016: V519-1658

10

20

30

表 3-3

SEQ ID NO.	Incyte ポリペプチド ID	アミノ酸残基数	潜在的リン酸化部位	潜在的グリコシル化部位	シグネチャ配列、ドメインおよびモチーフ	分析方法及びデータベース
3					do 非構造的; ポリタンパク質; ORF2; 風疹; DM04159[39569]1-173; G518-E660	BLAST_DOMO
4	7501989CD1	553	S26 S38 S78 S100 S138 S160 S286 S443 S453 S499 T73 T293 T338 T475 Y42 Y372 Y485		do 非構造的; ポリタンパク質; ORF2; 風疹; DM04159[Q02874]190-362; G730-R905	
5	7500695CD1	175	S29 S90 T63 T67 T113		ATP/GTP 結合部位モチーフ A(P-loop); A711- T718	MOTIFS
6	7502088CD1	210	S2 S5 S42 S98 S156 S165 S195 T37 T76	N80 N95 N109 N163	signal_cleavage: M1-L22 シグナルペプチド: M1-S20 癌関連 表面 抗原 PD11520: K34-S175, M1- BLAST_PRODUM T44 タンパク質 BCL7C BCL7B MRNA 短いアイソフォーム BCL7A 選択的スプライシング PD009381: E32-E151	SPSCAN HMMER

10

20

30

【表 3 - 4】

表 3-4

SEQ ID NO:	Incyte ポリペプチド ID	アミノ酸残基数	潜在的リン酸化部位	潜在的グリコシル化部位	シグネチャ配列、ドメインおよびモチーフ	分析方法及びデータベース
7	7198825CD1 915	S58 S74 S140 S224 S241 S291 S308 S314 S329 S353 S367 S382 S406 S414 S428 S455 S503 S513 S529 S538 S641 S740 S767 S911 T20 T56 T100 T179 T240 T292 T320 T343 T361 T369 T375 T422 T480 T502 T608 T668 T674 T775 T796 T849 Y119 Y360	N426 N633	BCL7A タンパク質 選択的スプライシング PD082200; A137-K199 do BCL7A; BCL7B; DM03990 S58237 B3-136; K33-A137 S58284 B3-135; K33-Q136 do BCL7A; IGH; BCL7B; DM03044 S58237 I-31; M1-E32 S58284 I-31; M1-E32 SPRY ドメイン(SPIa およびアノソンの受容体): C788-D910	BLAST_PRODOM BLAST_DOMO BLAST_DOMO HMMER_PFAM	
					フィブロネクチンタイプ III ドメイン: V550-S641, P650-S734	HMMER_PFAM

10

20

30

【表 3 - 5】

表 3-5

SEQ ID NO:	Incyte 求 リペプチド ID	アミノ酸 残基数	潜在的リン酸化 部位	潜在的グリコシ ル化部位	シグネチャ配列、ドメインおよびモチーフ	分析方法及びデー タベース
8	71863981CD 907 1	S59 S132 S164 S166 S184 S198 S218 S263 S308 S371 S392 S494 S609 S610 S625 S660 S692 S761 S807 S826 S827 S872 T110 T116 T144 T189 T228 T297 T332 T524 T564 T674 T745 T817 Y293 Y779	N306 N501 N541 N558 N659	シグナルペプチド: M24-A49	HMMER	
9	7500513CD1.158	S89 S139	N96	サイトソル内ドメイン: N868-Q907 膜貫通ドメイン: O845-Y867 非サイトソル内ドメイン: M1-C844	TMHMMER	
				リンパ様 限定的 膜 タンパク質 PD043313: E525-K698 ATP/GTP 結合部位モチーフ A(P-loop): A738- T745	BLAST_PRODOM MOTIFS	
				ガラクトシド結合レクチン: P27-S157 脊椎動物ガラクトシド結合レクチンタンパク質 BL00309: P35-L59, G62-N76, F80-P104 脊椎動物ガラクトシド結合レクチンシグネチャ: R31-A122	HMMER_PFAM BLIMPS_BLOCKS PROFILES SCAN	

10

20

30

表 3-6

SEQ ID NO:	Incycle ポリペプチド ID	アミノ酸残基数	潜在的リン酸化部位	潜在的グリコシル化部位	シグネチャ配列、ドメインおよびモチーフ	分析方法及びデータベース
9	7501080CD1380		S75 S288 T27 T32 T263 T322 T345 Y231		レクチンガラブリン(Galaptin) リポタンパク質 β-ガラクトシド結合 結合 アセチル化 乳糖 結合 ガレクチン 多重遺伝子族 PD000676: G46-D149	BLAST_PRODUM
ガレクチン 8 ガラブリン レクチン リポタン 前立腺 癌 腫瘍 抗原 PCTA1 S-型 PD020379: L8-E47						
脊椎動物 ガラクトシド結合 レクチン DM00426 [A55975 181-315: L24-W158 [A55664 188-323: L26-R156 [P47967 11-143: L24-S157 [P38552 190-323: L26-R156						
10	3144878CD1189				Lectin_Galactoside: W90-M110 シグナルペプチド: M1-A28, M1-S33	MOTIFS HMMER
11			S150 T125		P52 プロアポトーシス性(PROAPOTOTIC) タンパク質 PD129433: E128-G285, I282-E372 PD069653: M1-L115 LIM ドメイン: C49-A106, C109-Q175, M1-F42 LIM ドメインシグネチャおよびプロドメイン: Y25-R173	BLAST_PRODUM HMMER_Pfam PROF ILESCAN

10

20

30

表 3-7

SEQ ID No:	Incyle ポリペプチド ID	アミノ酸残基数	潜在的リン酸化部位	潜在的グリコシル化部位	シグネチャ配列、ドメインおよびモチーフ	分析方法及びデータベース
12	7502112CD1.827	S6 S62 S69 S285 S307 S311 S366 S418 S419 S614 S629 S653 S682 S696 S781 S811 S817 S824 T114 T203 T223 T292 T318 T368 T391 T687 T730 T777 T797 Y769	N60 N437 N809 N819	LIM 金属結合ドメイン DM00055 [Q04584]464-533: Y101-H170 [Q04584]405-462: Y39-D100 LIM ドメインシグネチャ: C49-L82 WD ドメイン、G-βドメイン: L89-K124, M178-S214, K360-R396, P262-Q302, L220-C256, L460-D497, N509-G544, E420-N454, F317-F352	BLAST_D0M0 MOTIFS HMMER_PFAM	

Trp-Asp (WD)ドメイン/ドメイン BLOC678: BLIMPS_BLOCKS T203-W213

Trp-Asp (WD)ドメイン/ドメイン V441-S455, MOTIFS M484-I498

10

20

30

【表 3 - 8】

表 3-8

SEQ ID NO:	Incyte ポリペプチド ID	アミノ酸残基数	潜在的リン酸化部位	潜在的グリコシル化部位	シグネチャ配列、ドメインおよびモチーフ	分析方法及びデータベース
13	7502788CD1	1010	S6 S62 S69 S285 S307 S311 S366 S418 S419 S614 S629 S653 S682 S696 S781 S811 S817 S824 S839 S840 S847 S853 S857 S862 S883 S893 S894 S895 T114 T203 T223 T292 T318 T368 T391 T687 T730 T777 T797 T829 T889 T928 T951 Y769 Y1001	N60 N437 N809 N819	WD ドメイン、G-βドメイン: L89-K124, M178-S214, K360-R396, P262-Q302, L220-C256, L460-D497, N509-G544, E420-N454, F317-F352	IMMER_PPFAM

Trp-Asp (WD)ドメイン/タンパク質 BLOO678: BLIMPS_BLOCKS
T203-W213
真核生物 推定上 RNA 結合領域 RNP-1 シグ
ネチャ: K124-L131
Trp-Asp (WD)ドメイン/シグネチャ: V441-S455, MOTIFS
M484-I498

10

20

30

【 0 5 1 2 】

【表 3 - 9】

表 3-9

SEQ ID NO.	Incyte ポリペプチド ID	アミノ酸残基数	潜在的リン酸化部位	潜在的グリコシル化部位	シグネチャ配列、ドメインおよびモチーフ	分析方法及びデータベース
14	7500171CD1 776	S44 S55 S110 S118 S131 S179 S186 S218 S225 S267 S287 S305 S381 S382 S387 S454 S483 S497 S547 S562 S570 S572 S634 S658 T350 T436 T504 T602 Y701	N303	シグナルペプチド: M1-G24	HMMER	
15	7500172CD1 395	S44 S52 S73 S87 S139 S166 S181 S189 S191 S253 S277 T94 T221 Y320	TACCI PD185469: M1-Q647 シグナルペプチド: M1-G24	BLAST_PRODOM HMMER		
16	7500899CD1 298	S52 S55 S234 T196 Y138	TACCI PD185469: P35-Q259 ロイシンリッチリピート: N66-V88, A112-R134, Y42-P65, K89-R111, E135-V158	BLAST_PRODOM HMMER_PFAM		
17	7500916CD1 139	S54 S105 S137	ロイシンジッパー/ターン: L46-L67 ナチュラキラー細胞タンパク質 4 前駆体 シグナル	MOTIFS BLAST_PRODOM		

10

20

30

【表 3 - 1 0】

表 3-10

SEQ ID No.	Incyte ポリペプチド ID	アミノ酸残基数	潜在的リン酸化部位	潜在的グリコシル化部位	シグネチャ配列、ドメインおよびモチーフ	分析方法及びデータベース
18	7502479CD1	123	T23 T27 T30 T105 T112	N99 N119		
19	3015057CD1	621	S100 S173 S223 S236 S400 S439 S459 S472 S525 S531 T219 T267 T287 T309 T498 T506	N307	BTB/POZ ドメイン: T17-L128 Kelch モチーフ: V451-Q497, A499-P544, P401-P449, P348-P399, E546-1600 BTB(BR-C/Tk または ZIN としても知られる) PF00651: C46-F58 Sarcosin PD094973: E249-H460 Sarcosin PD094945: R511-M621 タンパク質 リポート マトリクス RING CANAL KELCH R12E2.1 C47D12.7 KIAA0132 KIAA0469 PD001473: S131-H261 POZ ドメイン DM00509 Q04652 131-335: D21-W201 DM00509 A45773 130-334: D21-W201 DM00509 P34371 194-386: E9-D184 DM00509 P21073 1-198: G30-S204 メチル化 DNA-タンパク質-システインメチルトラン MOTIFS スフェラーゼ活性部位: F44-V50	HMMER_PFAM HMMER_PFAM BLIMPS_PFAM BLAST_PRODOM BLAST_PRODOM BLAST_PRODOM BLAST_DOMO
20	6303570CD1	722	S15 S29 S33 S34 S52 S61 S69 S80 S86 S135 S219 S227 S252 S384 S392 S601 S654 T141 T237 T448 T499 T569 T623 T639 Y338			

10

20

30

【表 3 - 1 1】

表 3-11

SEQ ID NO:	Incyte ポリペプチド ID	アミノ酸残基数	潜在的リン酸化部位	潜在的グリコシル化部位	シグネチャ配列、ドメインおよびモチーフ	分析方法及びデータベース
21	7501579CDI.283		S36 T8 T13 T20 T116 T159 Y216	N155 N189 N258	Ndr ファミリー: I2-S254 タンパク質 ZK1073.1 DRG1 RTP 完全 CDS 細胞質 NDRI NMYC 下流 PD011661: Y16-S242	HMMER_PFAM BLAST_PRODOM
22	7503812CDI.412		S94 S184 S188 S199 S310 S337 T342 T393	N186 N278	signal cleavage: M1-S29 開始 (START) ドメイン: I206-R411 サイトソル内ドメイン: M1-R51, Q117-W122 膜貫通ドメイン: T52-T74, S94-L116, V123-L145 非サイトソルドメイン: N75-T93, S146-A412 ステロイド産生急性調節 シグネチャ PR00978: D299-R319, W371-L390, A391-A412 MLN64 MRNA ES64 タンパク質 コスミド F26F4 PD023778: M1-W183, S184-V216 タンパク質 ステロイド産生急性調節 前駆体 ミトコンドリア ステロイド合成 輸送 ペプチド F52F12.7 PD006339: D217-R411	SPSCAN HMMER_PFAM TMHMMER BLIMPS_PRINTS BLAST_PRODOM BLAST_PRODOM

10

20

30

【 0 5 1 5】

表 3-12

SEQ ID NO.	glycyl 残基数	潜在的リン酸化部位	潜在的グリコシル化部位	シグネチャ配列、ドメインおよびモチーフ	分析方法及びデータベース
23	7503970	S20 S44 S81 S92 S104 S133 S156 S198 S229 S320 S385 T39 T52 T58 T82 T166 T355 T363		reticulon: P268-E472 サイトソルドメイン: Y324-L390 膜貫通ドメイン: F301-V323, L391-I413 非サイトソルドメイン: M1-H300, G414-E472	HMMER_PFAM TWIMMER
24	2578986	S64 S65 S67 S75		RETICULON NSP 様 RTN2A RTN2C PD124817: M1-L271 タンパク質 神経内分泌特異的 RETICULON NSP-様 F27L4.17 T3F17.18 RTN2A RTN2C A B PD006298: D274-E472 do 神経内分泌; トロポミオシン; ニューロン性; DM03029 A6002 1-199: D274-S459 DM03029 A46383 577-776: D274-G453 DM03029 60903 157-356: D274-G453 DM03029 60904 10-208: D274-G453	BLAST_PRODOM BLAST_PRODOM BLAST_PRODOM BLAST_PRODOM
25	7503786	S11 S39 S226 S333 T106 T196 T252 T303 T346 T350	N118	細胞接着配列: R124-D126, R333-D335 signal_cleavage: M1-A25 シグナルペプチド: M1-A25 シグナルペプチド: M1-A24 signal_cleavage: M1-R37 GTP_CDC 細胞分裂タンパク質: K42-K322	MOTIFS SPSCAN HMMER HMMER SPSCAN HMMER_PFAM

10

20

30

表 3-13

SEQ ID NO:	Incyte ポリペプチド ID	アミノ酸残基数	潜在的リン酸化部位	潜在的グリコシル化部位	シグネチャ配列、ドメインおよびモチーフ	分析方法及びデータベース
25	7505684CD1 67		S19 S27 Y14		GTP 結合タンパク質 細胞分裂 セプチン 相同体 制御 周期 脳 H5 PD002565: K42-M316	BLAST_PROD0M
cont			S58 S128 S217	N260 N478	細胞分裂 タンパク質 GTP 結合 脳 H5 ピーナッツ 様 (peanutlike) 推定上 セプチン 制御 PD014145: D336-E377	BLAST_PROD0M
t			S255 S309 S459		do HCDC10; ピーナッツ; DM00875 P2866 I25-322: Y26-C224	BLAST_D0M0
(続)			T71 T152 T262		do HCDC10; ピーナッツ; DM00875 P42208 18-215: Y26-D223	BLAST_D0M0
			T321 T338 T362		do SPAC8A4.07; HCDC10; ピーナッツ; SPR28; DM00647 P2866 I324-461: D225-R363	BLAST_D0M0
			T493		do HCDC10; ピーナッツ; DM00875 P42207 16-212: Y26-D223	BLAST_D0M0
					ATP/GTP 結合部位モチーフ A(P-loop): G52-S59	MOTIFS
26	302655CD1 529		signal_cleavage: M1-A45			SPSCAN

10

20

30

【表 3 - 1 4】

表 3-14

SEQ ID No.	Incyte ポリペプチド ID	アミノ酸残基数	潜在的リン酸化部位	潜在的グリコシル化部位	シグネチャ配列、ドメインおよびモチーフ	分析方法及びデータベース
28	4757551CD1 562	S53 S62 S118 S125 S192 S211 S323 S381 S399 S477 S483 S492 T22 T150 T270 T302 T309 T317 T329 T353 T389 T455 T460	N26 N284 N327	signal_cleavage: M1-T39		SPSCAN
28 cont (続)					AIBC1 PD185226; M1-P524, S125-K562 do 神経フィラメント; トリアレット; DM04498 P12036 434-1019; T61-S530	BLAST_PRODOM BLAST_DOMO
29	7503157CD1 627	S11 S93 S95 S101 S128 S159 S208 S214 S230 T10 T43 T120 T176 T602			Ank レー卜: E237-N269, T504-S536, V204-E236, E470-E502, N337-N369, T567-D599, T304-E336, F371-D403, G271-A303, E404-D436, S437-D469, T537-A566	HMMER_PFAM
30	7503702CD1 445	S8 S147 S191 S268 S311 S333 S367 S377 S393 T338 T356 T390	N388 N391		Ank レー卜: Q66-K98, Y132-K164, E99-I131, D165-R197, L198-M230	HMMER_PFAM
					Ank レー卜 トタンパク質 PF00023: L71-L86, BLIMPS_PFAM G133-Y142	

10

20

30

【表 3 - 1 5】

表 3-15

SEQ ID NO:	Incyte ポリペプチド ID	アミノ酸残基数	潜在的リン酸化部位	潜在的グリコシル化部位	シグネチャ配列、ドメインおよびモチーフ	分析方法及びデータベース
31	72096217CD1 510	1	S71 S79 S152 S238 S300 T23 T39 T162 T220 T392 T394 T449 Y68	N363 N447	BAR ドメイン(amphiphysin およびクラスリン結合タンパク質で発見される): Q19-L203	HMMER_PFAM
31 cont (続)					SH3 ドメイン: F383-V452 Src 相同性3 (SH3) ドメインタンパク質プロファイル BL50002: A387-D405, E438-R451 AMPHIPHYSIN タンパク質 SH3 BOX 依存性 MYC-相互作用ドメイン アイソフォーム II 低下 生存 PD005419: N17-L210; PD003208: K194-T328, S271-K384 ISOFORM I BIN1+12A PD149887: L275-Q317	HMMER_PFAM BLIMPS_BLOCKS BLAST_PRODOR
32	7503620CD1 510		S27 S72 S161 S185 S199 S323 S360 S390 S421 S506 T25 T58 T63 T304 T342 T399 T425	N86 N103 N145 N257 N320 N340	Signal_cleavage: M1-G18	SPSCAN
32 cont (続)					SRC 相同性3 (SH3) ドメイン DM00025 P49418 623-691: F381-T449 DM00025 S62400 623-691: F381-T449 DM00025 P50478 610-678: F381-T449	BLAST_DOMO
					シグナルペプチド: M2-S17, M2-V20, M2-Q22, M1-G22 clusterin: M2-D193, S194-S415	HMMER HMMER_PFAM

10

20

30

【 0 5 1 9】

【表 3 - 1 6】

表 3-16

SEQ ID NO:	Incycle ポリペプチド ID	アミノ酸残基数	潜在的リン酸化部位	潜在的グリコシル化部位	シグネチャ配列、ドメインおよびモチーフ	分析方法及びデータベース
33	750362ICD1425	S27 S72 S161 S209 S333 S370 S400 T25 T58 T63 T314 T352 T409 Y182	N86 N103 N267 N330 N350	clusterin タンパク質 BL00492: M2-G18, V26-N48, G52-L85, N86-M122, V128-M176, S184-D225, C251-A300, D379-S415 clusterin シグネチャ: T93-E141, I241-R291 前駆体 糖タンパク質 CLUSTERIN シグナルタンパク質 血漿 補体 細胞融解 インヒビター CLI PD006891: S194-D414, M2-F213 CLUSTERIN DM07724 P17697 I-438: M2-F213, F191-D414 CLUSTERIN DM07724 P14018 I-450: L5-R242, L195-H412 Clusterin シグネチャ 1: C113-C121 Clusterin シグネチャ 2: C261-C271 Signal_cleavage: M1-G18 シグナルペプチド: M2-S17, M2-V20, M2-G22, M1-G22 Clusterin: M2-G137, L138-E425 clusterin タンパク質 BL00492: M2-G18, V26-N48, G52-L85, N86-M122, V128-P176, F194-D235, C261-A310, D389-E425 clusterin シグネチャ: T93-G137, I251-R301	BLIMPS_BLOCKS PROF ILESCAN BLAST_DOMO BLAST_DOMO MOTIFS MOTIFS SPSCAN HMMER HMMER_PFBM BLIMPS_BLOCKS PROF ILESCAN	

10

20

30

【表 3 - 17】

表 3-17

SEQ ID NO: ID	Incyte ポリペプチド ID	アミノ酸残基数	潜在的リン酸化部位	潜在的グリコシル化部位	シグネチャ配列、ドメインおよびモチーフ	分析方法及びデータベース
					前駆体糖タンパク質 CLUSTERIN シグナルタンパク質 血漿 補体 細胞融解 インヒビター CLI PD006991: Q144-E425, M2-G137	BLAST_PRODOM
					CLUSTERIN DM07724 P17697 I-438: K40-E425, M2-P390 DM07724 P14018 I-450: N29-E425, L5-R252 Clusterin シグネチャ 1: C113-C121 Clusterin シグネチャ 2: C271-C281 Signal_cleavage: M1-G18	BLAST_DOMO MOTIFS MOTIFS SPSCAN
34	7503624CD1	330	S27 S72 S114 S238 S275 S305 T25 T58 T63 T219 T257 T314 Y85 Y87	N172 N235 N255	シグナルペプチド: M2-S17, M2-V20, M2-G22, M1-G22 clusterin: M2-D83, T84-E330 clusterin タンパク質 BL00492: F99-D140, C166-BLIMPS_BLOCKS A215, D294-E330 clusterin シグネチャ: I156-R206 前駆体糖タンパク質 CLUSTERIN シグナルタンパク質 血漿 補体 細胞融解 インヒビター CLI PD006991: E82-E330, M2-D83	HMMER HIMMER_PFAM BLIMPS_BLOCKS PROFILESCAN BLAST_PRODOM BLAST_DOMO

34 cont (続)

10

20

30

表 3-18

SEQ ID No:	アミノ酸残基数	潜在的リン酸化部位	潜在的グリコシル化部位	シグネチャ配列、ドメインおよびモチーフ	分析方法及びデータベース
35	7503625CD1535	S27 S72 S161 S185 S224 S348 S385 S415 S446 S531 T25 T58 T63 T329 T367 T424 T450 Y206	N86 N103 N145 N282 N345 N365	CLUSTERIN DM07724P14018I1-450: F90-E330, L5-D83 Clusterin シグネチャ 2: C176-C186 Signal_cleavage: M1-G18	BLAST_DOMO MOTIFS SPSCAN
35	cont			シグナルペプチド: M2-S17, M2-V20, M2-G22, M1-G22 Clusterin: M2-S440 clusterin タンパク質 BL00492: M2-G18, V26-N48, G52-I85, N86-M122, V128-M176, F209-D250, C276-A325, D404-S440 clusterin シグネチャ: T93-E141, I266-R316 前駆体 糖タンパク質 CLUSTERIN シグナルタンパク質 血漿 補体 細胞融解 インヒビター - CLIPD006991: Q168-D439, M2-F231	HMMER HMMER_PFAM BLIMPS_BLOCKS PROFULESCAN BLAST_PRODOM BLAST_DOMO
35	cont			CLUSTERIN DM07724P17697I1-438: M2-D439	BLAST_DOMO
35	cont			CLUSTERIN DM07724P14018I1-450: L5-H437 Clusterin シグネチャ 1: C113-C121 Clusterin シグネチャ 2: C286-C296	BLAST_DOMO MOTIFS MOTIFS

35 cont (続)

10

20

30

表 3-19

SEQ ID NO:	glycyl peptide ID	amino acid residue number	potential phosphorylation site	potential glycosylation site	signal peptide distribution, motif and motif analysis method	analysis method and database
36	7503627CD1	350	S39 S163 S200 S230 S261 S346 T144 T182 T239 T265	N97 N160 N180	Signal_cleavage: M1-P18	SPSCAN
37	7505744CD1	129	S121 T112	N81	シグナルペプチド: M2-P18, M1-P18, M2-P22 Clusterin: P14-S255, M2-L13 clusterin タンパク質 BL00492: F24-D65, C91-A140, D219-S255 clusterin シグネチャ: I81-R131 前駆体 糖タンパク質 CLUSTERIN シグナルタンパク質 血漿 補体 細胞融解 インヒビター CLI PD006991: P14-D254 CLUSTERIN DM07724 P17697 1-438: P14-D254, M2-L13 CLUSTERIN DM07724 P14018 1-450: F8-H252 Clusterin シグネチャ 2: C101-C111 Signal_cleavage: M1-S26 シグナルペプチド: M1-S26, M1-A20 Kazal-タイプ セリンプロテアーゼ抑制因子ドメイン: C61-C109 オステオネクチン ドメインシグネチャ: Q46-C88 Kazal プロテイナーゼ阻害因子 DM00123 P50291 186-238: S55-C109	HIMMER HIMMER_PFAM BLIMPS_BLOCKS PROFILESKAN BLAST_PRODOM BLAST_DOMO BLAST_DOMO MOTIFS SPSCAN HIMMER HIMMER_PFAM PROFILESKAN BLAST_DOMO

10

20

30

【表 3 - 2 0】

表 3-20

SEQ ID NO:	Incyte ポリペプチド ID	アミノ酸残基数	潜在的リン酸化部位	潜在的グリコシル化部位	シグネチャ配列、ドメインおよびモチーフ	分析方法及びデータベース
37	7503712CD1	391	S38 S98 S130 S132 S151 S153 S195 S201 S245 S306 T304 Y152	N217 N351	オステオネクチン ドメイン DM02833 S60062 883-663: A33-P113 Signal_cleavage: M1-P23	BLAST_DOMO SPSCAN
38	7503713CD1	750	S38 S98 S130 S132 S151 S153 S195 S201 S245 S306 T304 Y152 T592 Y152	N217 N351 N365 N434	シグナルペプチド: M1-G20, P5-G26, M1-G26 フォンウイブルブランド因子タイプ C (ホメオスタシス関連) ドメイン: C51-C125 コドメイン 因子 発達タンパク質 リポート 前駆体 形成体-特異的 分泌 背方化 糖タンパク質 PD018424: F141-P292, G232-V352	HMMER HMMER_PPFAM BLAST_PRODOM MOTIFS SPSCAN
39	7503713CD1	750	S38 S98 S130 S132 S151 S153 S195 S201 S245 S306 S353 S488 S596 T304 T367 T592 Y152	N217 N351 N365 N434	シグナルペプチド: M1-G20, P5-G26, M1-G26 フォンウイブルブランド因子タイプ C ドメイン: C51-C125, C665-C722	BLAST_DOMO MOTIFS SPSCAN HMMER HMMER_PPFAM

10

20

30

表 3-21

SEQ ID NO:	Incyle ポリペプチド ID	アミノ酸残基数	潜在的リン酸化部位	潜在的グリコシル化部位	シグネチャ配列、ドメインおよびモチーフ	分析方法及びデータベース
39					コラーゲン 因子 発達タンパク質 リピート 前駆体 形成体-特異的 分泌 背方化 糖タンパク質 PD018424: O440-L618, G232-Y439, F141-P292, A413-V605	BLAST_PRODOM
					タンパク質 前駆体 リピート 糖タンパク質 シグナル NEL EGF 様ドメイン コラーゲン B0024.14 PD015143: P662-D727	BLAST_PRODOM
					フォンウイルブランド因子タイプ C 反復 DM00551 A55195 22-117: P31-P126	BLAST_DOMO
					フォンウイルブランド因子タイプ C 反復 DM00551 A55195 637-751: R660-C722, TS92-L618	BLAST_DOMO
					ロイシンジッパー-リフィン: L315-L336	MOTIFS
					細胞接着配列: R165-D167	MOTIFS
					VWFC ドメインシグネチャ: C686-C722	MOTIFS
			S62 S109 S309 N61 S336 S340 T121 T143 Y227		タンパク質 コイルドコイル鎖 ミオシン リピート 重 ATP 結合 フライメント 7 連子 PD0000002: E79-E278	BLAST_PRODOM
40	7502225CDI.373				タンパク質 リピート トロポミオシン コイルドコイル 選択的スプライシング シグナル 前駆体 鎖 PD000023: E98-S293, E85-K274	BLAST_PRODOM
					トロポミオシン DM00077 P53935 580-755: E124-E278, N169-R288, D92-K269 DM00077 P22793 389-528: E131-K275	BLAST_DOMO

39 (続)

10

20

30

【表 3 - 2 2】

表 3-22

SEQ ID NO:	Incyte ポリペプチド ID	アミノ酸残基数	潜在的リン酸化部位	潜在的グリコシル化部位	シグネチャ配列、ドメインおよびモチーフ	分析方法及びデータベース
40					カルテスモン DM06224 P12957 I-755: Q73-E278	BLAST_DOMO
(続)					トリコヒアリン(TRICHOHYALIN) DM03839 O07283 91-443: G84-E278, E85-R288, F75-E278	BLAST_DOMO
41	7502778CD1 551		S94 S127 S134 S162 S191 S196 S232 S275 S294 S304 S477 S491 SS31 T11 T121 T239 T318 T379 T538 T540	N502	Zn フィンガ、C2H2 タイプ、ドメインタンパク質 BL00028: C199-H215	BLIMPS_BLOCKS
42	7503699CD1 173		S8 S147		Ark リポート: Q66-K98, Y132-K164, E99-I131	HMMER_PFAM
43	6026715CD1 358		S354 T109 T200 T340 T343	N316	細胞分裂タンパク質: M46-G324	HMMER_PFAM
					GTP 結合タンパク質 細胞分裂 セブチン 相同体 制御 周期 脳 H5 PD002565: G47-N316	BLAST_PRODOM
					HCDC10: ピーナッツ; DM00875 P39827 18-215: BLAST_DOMO V30-P224	BLAST_DOMO
					HCDC10: ピーナッツ; DM00875 JC2352 12-207: V30-Y223	BLAST_DOMO
					HCDC10: ピーナッツ; DM00875 P42208 18-215: BLAST_DOMO V30-Y223	BLAST_DOMO
					HCDC10: ピーナッツ; DM00875 P42207 16-212: BLAST_DOMO V30-P224	BLAST_DOMO

10

20

30

【表 3 - 2 3】

表 3-23

SEQ ID NO:	Incycle ポリペプチド ID	アミノ酸残基数	潜在的リン酸化部位	潜在的グリコシル化部位	シグネチャ配列, ドメインおよびモチーフ	分析方法及びデータベース
44	7503631CD1.413	S27 S72 S161 S185 S321 S358 S388 T25 T58 T63 T302 T340 T397 Y206	N86 N103 N145 N255 N318 N338	ATP/GTP 結合部位モチーフ A(P-loop): G56-S63 Signal_cleavage: M1-G18		MOTIFS SPSCAN
45	7503664CD1.349	S27 S72 S161 S185 S233 T25 T58 T63 Y206	N86 N103 N145 N291	シグナルペプチド: M2-S17, M2-V20, M2-G22, M1-G22 Clusterin: H227-E413, M2-V226 clusterin タンパク質 BL00492: M2-G18, V26-N48, G52-L85, N86-M122, V128-M176, C249-A298, D377-E413 clusterin シグネチャ: T93-E141, I239-R289 前駆体 糖タンパク質 CLUSTERIN シグナルタンパク質 血漿 補体 細胞融解 インヒビター - CLI PD006991: M2-F238, V226-E413 CLUSTERIN DM07724P17697I-438: M2-S228, H233-E413 CLUSTERIN DM07724P14018I-450: L5-R240, A230-E413 Clusterin シグネチャ 1: C113-C121 Clusterin シグネチャ 2: C259-C269 Signal_cleavage: M1-G18		HMMER HMMER_PFAM BLIMPS_BLOCKS PROFLESCAN BLAST_PRODOM BLAST_DOMO BLAST_DOMO MOTIFS MOTIFS SPSCAN

10

20

30

【表 3 - 2 4】

表 3-24

SEQ ID NO:	Encycle ポリペプチド ID	アミノ酸残基数	潜在的リン酸化部位	潜在的グリコシル化部位	シグネチャ配列、ドメインおよびモチーフ	分析方法及びデータベース
45					シグナルペプチド: M2-S17, M2-V20, M2-G22, MI-G22 Clusterin: M2-V333 clusterin タンパク質 BL00492: M2-G18, V26-N48, G52-L85, N86-M122, V128-M176, F218-D259, C285-E334 clusterin シグネチャ: T93-E141, I275-R325 前駆体 タンパク質 CLUSTERIN シグナルタンパク質 血漿 補体 細胞融解 インヒビター CLI PD006991: M2-D279, Q168-D335	HMMER_JFAM BLIMPS_BLOCKS
46	7504812CD1 243		S5 S27 S90 S137 N171 S142 S200 S221 T225		CLUSTERIN DM07724 P17697 I-438: M2-D335 CLUSTERIN DM07724 P14018 I-450: L5-L331 Clusterin シグネチャ 1: C113-C121 Clusterin シグネチャ 2: C295-C305 Signal_cleavage: M1-S28 シグナルペプチド: M1-P22, M1-S26, M1-S28, MI-S25, MI-S29 インスリン類似系成長因子結合タンパク質 BL00222: P34-P44, D55-P70, Y117-Q144 Kazal セリンプロテアーゼ抑制因子ファミリータンパク質 BL00282: V112-R134	BLAST_DOMO BLAST_DOMO MOTIFS MOTIFS SPSCAN HMMER BLIMPS_BLOCKS BLIMPS_BLOCKS

10

20

30

【表 3 - 2 5】

表 3-25

SEQ ID NO:	Incyte ポリペプチド ID	アミノ酸残基数	潜在的リン酸化部位	潜在的リン酸化部位	潜在的グリコシル化部位	シグナチャ配列、ドメインおよびモチーフ	分析方法及びデータベース
46 cont (続)						インスリン様成長因子結合タンパク質シグナチャ: P34-R94 Kazal セリンプロテアーゼ抑制因子ファミリ-シグナチャ: C87-G159 MAC25 フォリスタチン様タンパク質 プロスタサイクリン刺激因子 PD151365: W193-K237, D172-V196 プロテアーゼ セリン MAC25 フォリスタチン様タンパク質 プロスタサイクリン刺激因子 新規 PD015439: S108-N171 成長因子 タンパク質 前駆体 結合 シグナル イン スリン様 IGF 結合 糖タンパク質 結合 (connective)PD001622: C32-C87	PROFILESCAN PROFILESCAN BLAST_PRODOM BLAST_PRODOM
47	7504996CD1 201		S193 T79 T184	N153		タンパク質 フォリスタチン様 MAC25 PD029693: R78-P105 アルデヒドヒドロゲナーゼシステイン活性部位: A64-G75 Signal_cleavage: M1-S26 シグナルペプチド: M1-S26, M1-S20 Kazal-タイプ セリンプロテアーゼ抑制因子ドメイン: C59-C105, C133-C181 Kazal セリンプロテアーゼ抑制因子ファミリ-タンパク質 BL00282: G65-R87 オステオネクチン ドメインシグナチャ: Q118-C160	BLAST_PRODOM MOTIFS SPSCAN HMMER HMMER_PPAM BLIMPS_BLOCKS PROFILESCAN

10

20

30

【表 3 - 2 6】

表 3-26

SEQ ID NO:	Incyte ポリペプチド ID	アミノ酸残基数	潜在的リン酸化部位	潜在的グリコシル化部位	シグネチャ配列, ドメインおよびモチーフ	分析方法及びデータベース
48	7377279CD1445	S26 S45 S69 S111 S368 S391 S407 T2 T22 T46 T59 T87 T98 T127 T159 T259 T398	N6 N110		Kazal セリンプロテアーゼ抑制因子ファミリーシグネチャ: M27-S108	PROF ILESCAN
					Kazal プロテイナーゼ阻害因子 DM00123 P50291 186-238: S127-C181	BLAST_DOMO
49	2060984CD1304	S81 T50 T192 T210 T254 T258 Y136			Kazal プロテイナーゼ阻害因子 DM00123 P50291 112-163: R54-C105	BLAST_DOMO
					細胞接着配列: R18-D20	MOTIFS
49	2060984CD1304	S81 T50 T192 T210 T254 T258 Y136			ロインジツバスターン: L282-L303	MOTIFS
					MAGE ファミリー: M1-Y208	HMMER_PFAM
					抗原 黒色腫関連 多重遺伝子ファミリー タンパク 質 腫瘍関連 多型性 MAGE4 MAGEB1 PD003141: Q101-G206; PD003293: V207-P275	BLAST_PRODUM
					抗原 黒色腫: NECDIN; MAGE-X2; DM0144 P43366 123-314: P105-A293	BLAST_DOMO
					抗原 黒色腫: NECDIN; MAGE-X2; DM0144 P43363 49-340: Q101-A293	BLAST_DOMO
					抗原 黒色腫: NECDIN; MAGE-X2; DM0144 P43364 127-318: I106-E289	BLAST_DOMO

10

20

30

【表 3 - 2 7】

表 3-27

SEQ ID NO:	Incyte ポリペプチド ID	アミノ酸残基数	潜在的リン酸化部位	潜在的グリコシル化部位	シグネチャ配列、ドメインおよびモチーフ	分析方法及びデータベース
50	4085993CD1.561	S10 S14 S38 S120 S129 S190 S194 S207 S256 S275 S303 S307 S330 S356 S367 S374 S394 S396 S440 S459 S461 S519 T268 T385 T429 T479	N49 N312 N354 N362 N446	抗原:黒色腫; NECDIN; MAGE-X2; DM01441 P25233 I17-308; D100-A293 細胞接着配列: R168-DI70 細胞接着配列: R495-D497	BLAST_DOMO MOTIFS MOTIFS	
51	6756305CD1.893	S103 S119 S181 S197 S203 S224 S237 S268 S309 S371 S540 S551 S606 S722 S772 S786 T49 T59 T74 T100 T214 T245 T266 T294 T296 T303 T311 T412 T455 T701 T721 T816 T864 Y318	N101 N195 N526 N711 N810 N850 N861	マメ科レグチン類β鎖シグネチャ: L169-S175 ミオシン重鎖相同体 DOC1 PD184558: L378- T453	MOTIFS BLAST_PRODUM	

10

20

30

表 3-28

SEQ ID NO:	Incyte ポリペプチド ID	アミノ酸残基数	潜在的リン酸化部位	潜在的グリコシル化部位	シグネチャ配列、ドメインおよびモチーフ	分析方法及びデータベース
51	7504842CD1	509	S3 S6 S167 S265 S303 S357 S391 S416 S492 T118 T146 T209 T223 T289 T332 T345 Y186 Y336		タンパク質 コイルドコイル 鎖 ミオシン リポーター ATP 結合 フライメント 7 連子 PD0000002: Q82-K316 ミオシン 重鎖 相同体 DOC1 PD075340: S119-F173 対合複合体 (SYNAPTOMEMAL COMPLEX) BLAST_PROD0M タンパク質 ZIP1 核 減数分裂 コイルドコイル PD074848: Q7-L395 トリヒアリン (TRICHOHYALIN) DM03839 P22793 921-1475: E5-E532	BLAST_PROD0M BLAST_PROD0M BLAST_PROD0M BLAST_PROD0M BLAST_PROD0M BLAST_PROD0M
52	7504842CD1	509	S3 S6 S167 S265 S303 S357 S391 S416 S492 T118 T146 T209 T223 T289 T332 T345 Y186 Y336		トリヒアリン (TRICHOHYALIN) DM03839 P37709 632-1103: Q42-D480 ロイシンジッパー パターン: L83-L104, L90-L111, L218-L239, L225-L246, L232-L253 Signal_cleavage: M1-G34	BLAST_PROD0M MOTIFS SPSCAN
					シグナルペプチド: M9-G34, M1-G34 ロイシンリッチリポーター C 末端ドメイン: N125-I174	HMMER HMMER_PFAAM

51 cont (続)

10

20

30

【表 3 - 2 9】

表 3-29

SEQ ID NO:	アミノ酸残基数	潜在的リン酸化部位	潜在的グリコシル化部位	シグネチャ配列、ドメインおよびモチーフ	分析方法及びデータベース
53	750090ICD1 312	S52 S55 S181 T143 T148 T265 Y207		ロイシンリッチリピート: A112-K134, N66-V88, Y42-P65, S158-P180, K89-R111, E135-L157, S181-R203, E204- V227 ロイシンジッパーパターン: L46-L67	HMMER_PFAM
54	7500898CD1 61	S52			
55	7500912CD1 168	S22 S83 S134 S166		ナチュラルキラー細胞タンパク質 4 前駆体 シグナル	BLAST_PRODOR
56	7505851CD1 139	S54 S105 S137		PD116715: V19-K168, M1-M20 細胞接着配列: R150-D152 ナチュラルキラー細胞タンパク質 4 前駆体 シグナル	MOTIFS MOTIFS
56 cont (純)				PD116715: E19-K139 細胞接着配列: R121-K139	
57	7503696CD1 77	S8			MOTIFS

10

20

30

【表 4 - 1】

表 4-1

ボリヌクレオチド SEQ ID NO/ Incyte ID/配列 長	配列断片
58/1318936CBI/ 2567	1-258, 18-574, 19-382, 21-468, 26-375, 77-475, 101-1894, 156-382, 283-1380, 286-1803, 335-1028, 364-1028, 420-995, 607-1017, 607-1052, 607-1539, 784-1381, 785-1371, 806-1535, 887-1381, 896-1535, 982-1647, 982-1687, 982-1725, 1027-1725, 1047-1725, 1200-1527, 1206-1950, 1774-2243, 1774-2271, 2129-2567
59/033784CBI/ 941	1-659, 9-239, 9-288, 9-375, 10-565, 10-669, 14-92, 14-270, 14-567, 15-248, 15-478, 16-222, 17-512, 36-268, 36-307, 42-299, 48-250, 48-332, 91-350, 191-578, 191-585, 204-470, 230-488, 337-795, 341-793, 346-793, 347-790, 360-795, 367-795, 369-800, 379-800, 380-791, 384-800, 390-795, 393-793, 396-792, 396-793, 423-799, 431-793, 462-792, 463-617, 467-941, 488-794, 494-792, 496-792, 512-792, 553-927, 562-792
60/4160218CBI/ 6795	1-611, 74-890, 151-654, 209-828, 268-858, 370-953, 444-2672, 546-1020, 1330-1643, 1330-2675, 1503-1769, 1551-2145, 1566-6795, 1577-2176, 1623-2265, 1670-2297, 1985-2249, 1985-2257, 1985-2429, 2039-2478, 2147-2668, 2381-2961, 2437-2675, 2438-3084, 2457-2780, 2501-2921, 2588-2787, 2619-2787, 2625-3214, 2658-2913, 2672-2871, 2674-3134, 2712-3231, 2728-3117, 2750-3062, 2750-3290, 2750-3308, 2985-3612, 2995-3167, 2995-3243, 2997-3213, 3074-3687, 3093-3360, 3121-3542, 3212-3544, 3251-3562, 3280-3821, 3293-3438, 3293-3562, 3354-3595, 3354-3653, 3396-3815, 3403-3530, 3403-4234, 3484-3680, 3528-3829, 3541-3842, 3550-3831, 3554-4222, 3593-4137, 3659-3809, 3667-4265, 3680-4270, 3712-4218, 3831-4102, 3835-4288, 3840-4289, 3851-4529, 3855-4274, 3873-4256, 3879-4274, 3905-4405, 3924-4365, 3945-4194, 3992-4290, 4043-4274, 4122-4387, 4166-4478, 4191-4271, 4380-4607, 4511-4714, 4511-4785, 4724-5239, 4800-5232, 4991-5023, 4993-5026, 5062-5324, 5075-5558, 5108-5397, 5126-5429, 5169-5429, 5176-5618, 5178-5618, 5185-5320, 5197-5618, 5454-5509, 5528-5630

【 0 5 3 4 】

10

20

30

表 4-2

ボリヌクレオチド SEQ ID NO/ Incyte ID/配列 長	配列断片
61/7501989CB1/ 2144	1-179, 1-216, 1-236, 1-246, 1-248, 1-272, 1-273, 1-274, 1-287, 1-474, 1-489, 1-490, 1-500, 1-507, 1-512, 1-753, 9-864, 10-567, 30-503, 36-163, 41-593, 49-300, 55-1634, 69-322, 148-425, 148-503, 185-897, 188-882, 223-774, 224-761, 282-615, 282-699, 346-740, 428-1127, 451-718, 464-1050, 482-1128, 492-745, 499-1059, 519-948, 519-1064, 572-965, 581-1326, 601-829, 623-1231, 634-879, 679-1231, 688-1339, 751-1251, 751-1273, 752-1381, 767-1060, 770-1046, 770-1173, 770-1194, 770-1215, 770-1258, 770-1261, 770-1372, 770-1373, 771-1343, 784-1399, 788-1352, 797-1496, 808-1343, 826-1311, 829-1227, 830-1069, 847-1343, 855-1150, 870-1615, 888-1423, 906-1729, 909-1569, 945-1467, 950-1570, 966-1620, 988-1634, 999-1600, 999-1616, 1001-1536, 1016-1576, 1024-1291, 1036-1301, 1046-1342, 1090-1588, 1094-1736, 1104-1618, 1105-1384, 1107-1634, 1126-1634, 1138-1394, 1138-1395, 1147-1366, 1147-1633, 1176-1633, 1207-1634, 1222-1633, 1232-1634, 1234-1634, 1235-1634, 1243-1634, 1245-1544, 1253-1634, 1270-1634, 1320-1634, 1324-2050, 1328-1634, 1349-1634, 1376-1634, 1377-2107, 1384-1634, 1391-1632, 1395-1634, 1416-1634, 1423-1632, 1423-1634, 1470-2064, 1486-1634, 1496-1634, 1501-1634, 1507-2054, 1548-1612, 1552-1634, 1700-2112, 1702-2116, 1705-2113, 1708-2107, 1708-2117, 1709-2109, 1710-2130, 1716-2086, 1720-1967, 1727-2008, 1730-2113, 1735-1978, 1738-1989, 1745-2032, 1768-2144, 1769-2111, 1777-2113, 1778-2111, 1779-2042
62/7500695CB1/ 1345	1-225, 1-1272, 18-227, 20-298, 26-292, 27-261, 27-284, 35-199, 35-359, 42-321, 44-259, 44-359, 46-286, 46-302, 46-624, 47-236, 49-306, 49-307, 52-248, 54-307, 54-360, 62-225, 62-319, 87-236, 476-739, 476-756, 476-918, 504-706, 505-639, 507-1072, 508-1074, 511-789, 523-1069, 533-735, 533-739, 533-871, 533-980, 550-765, 574-794, 574-1144, 579-781, 585-1055, 615-1144, 622-1069, 641-1272, 648-1266, 673-938, 681-1266, 693-939, 695-931, 695-961, 714-1263, 720-1282, 726-1274, 748-871, 754-1012, 759-1023, 760-1206, 771-1210, 774-1235, 775-1232, 782-1285, 783-1007, 785-1017, 788-1013, 791-1282, 803-1206, 818-1280, 847-1102, 849-1212, 864-992, 864-1265, 873-1281, 883-1030, 887-1039, 887-1178, 908-1282, 909-1181, 913-1194, 913-1198, 918-1252, 966-1282, 974-1282, 989-1225, 989-1228, 1001-1281, 1005-1256, 1005-1285, 1010-1245, 1019-1282, 1053-1223, 1053-1281, 1053-1345, 1083-1295, 1088-1283, 1106-1282, 1142-1294, 1201-1296
63/7502088CB1/ 1929	1-515, 72-831, 80-337, 80-398, 88-358, 88-387, 90-775, 100-376, 100-377, 110-832, 112-679, 125-747, 131-468, 139-378, 241-711, 481-994, 487-1050, 610-1209, 837-1203, 978-1929, 1035-1623

【表 4 - 3】

表 4-3

ポリヌクレオチド SEQ ID NO/ Incyte ID/配列 長	配列断片
64/7198825CBI/ 3581	1-657, 241-506, 295-890, 324-603, 324-954, 325-722, 533-749, 533-825, 603-1209, 746-963, 757-1034, 763-1382, 765-1351, 862-1106, 862-1304, 863-1131, 863-1326, 863-1343, 863-1443, 863-1445, 863-1527, 863-1652, 863-1672, 924-1652, 951-1200, 986-1614, 1006-1626, 1013-1508, 1016-1290, 1023-1655, 1029-1339, 1049-1325, 1122-1406, 1122-1648, 1124-1750, 1201-1859, 1227-1419, 1233-1666, 1236-1491, 1263-1864, 1273-1524, 1273-1719, 1274-1864, 1289-1861, 1325-1864, 1328-1546, 1336-1772, 1346-1864, 1353-1864, 1358-1864, 1361-1864, 1367-1874, 1385-1864, 1390-1864, 1397-1435, 1426-1509, 1446-1607, 1450-1845, 1454-2112, 1459-1636, 1460-1864, 1470-2277, 1474-2277, 1484-1767, 1505-1864, 1509-2125, 1509-2142, 1523-1721, 1587-1870, 1587-2140, 1591-1841, 1593-1855, 1609-1868, 1639-1745, 1643-1894, 1651-1895, 1661-2313, 1666-1971, 1670-1948, 1683-2226, 1696-2009, 1701-2327, 1714-2309, 1724-2166, 1757-1874, 1764-2010, 1794-1865, 1797-2405, 1803-2296, 1827-2224, 1837-2100, 1851-2058, 1872-2082, 1898-2157, 1904-2223, 1935-2612, 1955-2537, 1955-2554, 1971-2136, 1984-2215, 2028-2166, 2050-2306, 2052-2243, 2052-2246, 2081-2416, 2084-2301, 2132-2408, 2138-2601, 2147-2361, 2151-2802, 2175-2367, 2179-2351, 2187-2448, 2187-2506, 2193-2484, 2200-2645, 2214-2419, 2214-2424, 2223-2477, 2253-2477, 2254-2543, 2263-2374, 2264-2926, 2306-2939, 2311-2449, 2311-2501, 2311-2769, 2321-2827, 2326-2460, 2326-2533, 2326-2554, 2326-2770, 2331-2643, 2337-2766, 2340-2635, 2355-2659, 2356-2642, 2360-2735, 2380-2657, 2383-2635, 2384-2618, 2390-2671, 2397-2912, 2400-3120, 2400-3156, 2406-2668, 2406-2980, 2411-2662, 2419-2701, 2448-3104, 2451-3064, 2459-2654, 2459-2696, 2460-2506, 2460-2510, 2460-2596, 2489-2740, 2512-2730, 2521-2777, 2522-3121, 2542-2831, 2546-2816, 2547-2710, 2549-2824, 2560-2755, 2566-3041, 2570-2884, 2573-2879, 2575-2867, 2578-2781, 2589-2800, 2601-2850, 2602-2881, 2602-2889, 2603-3177, 2607-2801, 2613-3410, 2626-3410, 2646-2691, 2648-2952, 2666-2860, 2678-2862, 2681-2918, 2690-3195, 2690-3259, 2697-2998, 2710-2997, 2721-3196, 2724-3324, 2724-3442, 2733-2994, 2734-3017, 2737-3043, 2745-3038, 2745-3279, 2746-3129, 2755-3480, 2781-2990, 2787-2957, 2794-3313, 2801-3496, 2820-3471, 2821-3436, 2823-3395, 2852-3138, 2852-3146, 2852-3153, 2852-3272, 2852-3298, 2852-3500, 2852-3567, 2852-3581, 2855-3274, 2859-3500, 2875-3164, 2887-3142

10

20

30

【表 4 - 4】

表 4-4

ポリヌクレオチド SEQ ID NO/ Incyte ID/配列 長	配列断片
65/71863981CBI/ 3338	1-155, 1-2818, 190-679, 211-754, 341-754, 347-733, 347-768, 351-938, 351-1069, 354-495, 1116-1840, 1126-1732, 1142-1674, 1182-2000, 1209-1440, 1210-1840, 1257-1476, 1280-1809, 1309-1659, 1344-1968, 1344-1992, 1370-1859, 1422-1856, 1426-1879, 1436-1651, 1459-1709, 1478-1735, 1478-1803, 1514-2110, 1525-1977, 1552-2000, 1589-2062, 1647-2002, 1647-2063, 1674-2095, 1723-2027, 1730-1985, 1796-1998, 1815-2464, 1815-2601, 1819-2534, 1848-2502, 1855-2473, 1888-2483, 1896-2594, 1906-2474, 1908-2611, 1909-2646, 1937-2528, 1953-2616, 1957-2467, 1960-2533, 1975-2381, 1975-2422, 1981-2434, 1981-2523, 1985-2536, 1995-2495, 2014-2776, 2021-2646, 2058-2690, 2060-2886, 2067-2598, 2086-2505, 2086-2519, 2093-2666, 2100-2442, 2100-2652, 2101-2544, 2103-2731, 2113-2704, 2116-2643, 2124-2709, 2132-2551, 2143-2845, 2144-2731, 2144-2792, 2145-2405, 2145-2716, 2145-2745, 2145-2899, 2146-2701, 2154-2834, 2156-2821, 2170-2718, 2187-2857, 2189-2925, 2211-3026, 2216-2937, 2228-2418, 2228-2832, 2248-2891, 2251-2780, 2259-2789, 2304-2926, 2312-2522, 2320-2915, 2324-2624, 2324-3025, 2330-2801, 2333-2635, 2333-3017, 2344-2974, 2345-2715, 2347-3067, 2405-2900, 2414-3150, 2417-2715, 2417-2951, 2434-2953, 2441-3055, 2455-3082, 2457-3009, 2460-3067, 2473-2895, 2483-2973, 2518-2804, 2522-3049, 2529-3214, 2530-3212, 2549-3337, 2581-3338, 2591-3050, 2609-2907, 2610-2898
66/7500513CBI/ 1004	1-161, 1-1004, 87-929, 89-929, 233-894, 236-704, 236-837, 253-707, 255-511, 258-749, 259-533, 261-759, 262-502, 278-763, 285-911, 298-704, 301-763, 302-553, 309-762, 310-763, 313-552, 316-707, 316-762, 317-710, 319-897, 331-590, 331-623, 333-899, 347-850, 348-586, 348-614, 348-855, 349-735, 365-797, 366-583, 368-763, 375-763, 377-762, 393-704, 411-622, 411-689, 411-929, 432-974, 434-720, 452-773, 484-763, 484-898, 484-924, 489-912, 517-723, 524-853, 542-820, 588-930, 594-927, 597-893, 713-1004
67/7501080CBI 1280	1-511, 1-608, 1-619, 1-630, 1-678, 2-232, 7-683, 9-129, 9-288, 9-399, 9-412, 9-424, 9-437, 9-443, 9-502, 9-527, 9-536, 9-537, 9-538, 9-548, 9-580, 9-614, 9-616, 9-620, 9-654, 9-657, 9-658, 9-661, 9-662, 9-672, 9-688, 9-694, 9-717, 9-718, 9-750, 9-782, 10-558, 10-749, 11-627, 11-723, 13-298, 13-441, 13-516, 13-596, 13-651, 13-730, 15-687, 16-310, 20-300, 21-257, 21-505, 21-550, 21-564, 21-630, 22-186, 23-670, 24-217, 25-641, 27-591, 32-750, 34-278, 34-618, 34-786, 34-802, 41-679, 52-684, 62-772, 68-320, 89-609, 96-685, 119-679, 119-797, 126-730, 127-775, 132-772, 181-707, 219-849, 221-800, 229-846, 244-766, 249-836, 271-757, 272-822, 288-632, 290-821, 290-871, 299-779, 318-514, 355-838, 396-631, 409-849, 410-647, 425-760, 430-700, 431-622, 471-718, 491-736, 492-753, 531-785, 539-1134, 539-1237, 541-1107, 550-762, 550-795, 560-809, 565-847, 570-822, 579-1033, 875-1143, 881-1266, 887-1266, 888-1266, 896-1262, 897-1262, 902-1269, 915-1269, 928-1266, 931-1159, 933-1262, 936-1154, 940-1158, 947-1280, 955-1266, 958-1278, 961-1266, 983-1241, 994-1266, 1022-1268, 1023-1266, 1024-1189, 1058-1253, 1072-1269, 1099-1264, 1151-1280

【表 4 - 5】

表 4-5

ボリヌクレオチド SEQ ID NO/ Incyte ID/配列 長	配列断片
68/3144878CBI/ 1968	1-456, 12-643, 286-792, 287-456, 287-462, 287-475, 295-823, 308-456, 309-564, 312-480, 314-379, 393-519, 411-682, 513-851, 526-768, 540-1019, 586-788, 586-885, 772-909, 774-1040, 844-1089, 848-1008, 848-1095, 851-1093, 894-1127, 911-1445, 950-1203, 979-1634, 995-1259, 996-1031, 996-1217, 1074-1347, 1082-1353, 1133-1811, 1139-1440, 1149-1438, 1151-1420, 1221-1821, 1293-1801, 1323-1527, 1342-1587, 1342-1591, 1360-1858, 1361-1813, 1364-1813, 1377-1627, 1382-1814, 1396-1816, 1399-1813, 1404-1812, 1408-1800, 1412-1810, 1428-1779, 1440-1812, 1441-1695, 1441-1815, 1442-1812, 1446-1687, 1448-1821, 1450-1807, 1451-1812, 1469-1812, 1471-1670, 1471-1814, 1477-1739, 1479-1821, 1486-1812, 1509-1812, 1510-1821, 1512-1747, 1515-1820, 1519-1968, 1521-1811, 1527-1803, 1540-1807, 1547-1812, 1560-1778, 1567-1813, 1588-1813, 1595-1815, 1597-1862, 1598-1812, 1599-1774, 1599-1812, 1599-1814, 1604-1812, 1622-1815, 1683-1704, 1691-1816, 1732-1812, 1-6962, 740-1139, 740-1143, 2020-2630, 2118-2755, 2497-2925, 2582-2920, 3129-3581, 4815-4864, 5712-5761, 5751-6289, 6617-6666
69/7502112CBI/ 6962	1-7127, 1998-2497, 2507-3121, 4728-5068, 4792-5068, 4977-5026, 5874-5923, 5897-6109, 5913-6156, 5913-6671, 5913-6702, 5913-6711, 5913-6740, 5918-6957, 5937-6874, 5980-6770, 6036-6829, 6152-6447, 6312-6620, 6375-6558, 6456-7089, 6783-6832
70/7502788CBI/ 7127	1-221, 1-222, 1-286, 1-303, 1-338, 1-432, 1-2663, 4-86, 4-153, 9-217, 10-385, 27-313, 27-412, 41-510, 59-316, 189-841, 197-808, 231-495, 353-830, 425-934, 463-952, 530-1034, 536-1134, 563-1106, 567-1148, 592-1041, 654-1293, 671-1208, 711-1224, 774-1422, 776-1385, 867-1149, 924-1396, 1117-1521, 1156-1392, 1266-1542, 1466-1908, 1584-2128, 1974-2663, 1978-2315, 1980-2542, 2020-2287, 2024-2577, 2042-2595, 2055-2593, 2067-2595, 2104-2580, 2105-2582, 2138-2584, 2139-2659, 2179-2597, 2194-2573, 2207-2400, 2211-2584, 2216-2584, 2225-2429, 2234-2594, 2285-2544, 2312-2600, 2332-2584, 2345-2529, 2345-2595, 2374-2662, 2457-2656, 2488-2660, 2491-2663
71/7500171CBI/ 2663	1-221, 1-222, 1-286, 1-303, 1-313, 1-1520, 4-86, 4-153, 9-217, 27-313, 59-317, 83-615, 83-767, 83-803, 83-951, 191-799, 349-671, 370-678, 375-774, 376-1079, 384-949, 385-776, 423-797, 473-739, 573-826, 574-1072, 648-1520, 707-1520, 708-1520, 709-1520, 757-1520, 775-1227, 789-1031, 796-1519, 805-1062, 819-1106, 831-1520, 835-1172, 837-1399, 841-1414, 877-1144, 881-1434, 899-1452, 912-1450, 924-1452, 961-1437, 962-1439, 995-1441, 996-1516, 1036-1454, 1037-1452, 1051-1430, 1064-1257, 1068-1441, 1073-1441, 1082-1286, 1091-1451, 1142-1401, 1169-1457, 1189-1441, 1202-1386, 1202-1452, 1231-1519, 1258-1452, 1314-1513, 1345-1517, 1348-1520
72/7500172CBI/ 1520	

【 0 5 3 8 】

10

20

30

【表 4 - 6】

表 4-6

ボリヌクレオチド SEQ ID NO/ Incyte ID/配列 長	配列断片
73/7500899CIB1/ 1212	1-227, 1-267, 1-1212, 7-227, 7-272, 7-284, 7-307, 8-228, 8-276, 11-270, 11-494, 15-268, 42-284, 46-336, 59-346, 286-494, 290-459, 383-939, 493-750, 504-875, 511-737, 514-1068, 540-772, 540-1128, 567-767, 582-740, 596-790, 598-1138, 604-1063, 623-907, 647-1205, 658-924, 684-1206, 684-1208, 719-772, 721-1210, 743-1198, 746-1079, 746-1180, 746-1212, 759-1194, 759-1199, 760-1201, 768-1180, 773-1199, 779-1202, 781-1212, 797-1189, 801-1198, 817-1199, 821-1179, 822-1018, 822-1159, 824-1205, 829-1198, 831-1208, 841-1196, 844-1206, 852-1207, 867-1198, 876-1194, 880-1202, 884-1198, 889-1208, 890-1180, 932-1199, 932-1212, 943-1199, 954-1198, 957-1189, 957-1189, 963-1211, 963-1212, 993-1212, 1016-1192, 1017-1111, 1026-1156, 1073-1193, 1113-1207
74/7500916CIB1/ 702	1-234, 1-323, 1-358, 1-493, 3-641, 10-676, 13-76, 52-366, 97-539, 98-396, 98-596, 98-598, 98-657, 100-491, 100-644, 101-367, 101-486, 104-670, 105-638, 107-389, 109-477, 114-212, 114-217, 117-341, 120-247, 128-310, 128-338, 128-378, 130-642, 131-393, 132-362, 132-438, 138-593, 141-383, 141-546, 143-473, 144-231, 145-638, 150-395, 150-642, 151-638, 153-528, 162-528, 165-386, 165-487, 165-561, 165-677, 171-302, 175-461, 175-587, 175-644, 180-521, 181-391, 183-636, 183-638, 187-644, 189-663, 192-455, 192-638, 192-659, 192-660, 192-686, 195-627, 195-655, 195-658, 196-671, 197-692, 198-644, 202-503, 203-458, 203-485, 204-537, 205-644, 207-689, 210-540, 210-555, 211-410, 211-637, 212-460, 213-663, 217-644, 218-342, 223-476, 223-624, 223-676, 224-641, 225-641, 230-636, 230-641, 232-472, 232-674, 234-442, 234-638, 235-658, 237-672, 238-702, 239-653, 244-459, 247-451, 247-488, 247-638, 249-455, 251-661, 256-635, 262-519, 262-641, 263-492, 264-637, 264-661, 265-650, 266-517, 266-638, 267-468, 267-512, 270-482, 270-483, 270-499, 270-638, 272-400, 272-655, 273-699, 277-474, 277-657, 281-517, 282-641, 282-642, 283-660, 285-454, 285-534, 289-556, 290-549, 293-547, 297-641, 297-643, 301-518, 302-637, 302-639, 303-499, 307-641, 308-574, 308-655, 316-613, 324-589, 330-530, 331-641, 335-569, 341-595, 341-603, 365-638, 366-644, 376-596, 376-637, 376-644, 380-655, 381-602, 391-636, 394-672, 397-658, 399-642, 403-640, 408-664, 409-619, 413-616, 416-634, 416-638, 416-666, 417-525, 429-638, 437-598, 446-668, 448-679, 449-658, 452-644, 455-637, 457-559, 457-658, 457-663, 463-644, 477-630, 479-698, 494-613, 496-612, 497-659, 498-654, 516-699, 522-658, 534-639, 539-632, 539-645, 546-641, 563-655, 566-637

10

20

30

【表 4 - 7】

表 4-7

ポリヌクレオチド SEQ ID NO/ Incyte ID/配列 長	配列断片
75/7502479CBI/ 1565	1-245, 1-254, 1-261, 1-282, 1-472, 1-1050, 2-636, 4-206, 5-262, 5-554, 8-659, 17-813, 17-933, 21-644, 24-646, 28-632, 31-666, 33-322, 35-270, 35-272, 37-655, 39-369, 40-108, 40-282, 40-285, 40-741, 42-312, 44-330, 45-300, 45-308, 45-611, 69-285, 69-514, 111-375, 133-400, 138-543, 209-413, 235-1009, 256-704, 279-1050, 281-487, 305-522, 311-611, 311-629, 311-651, 322-1024, 326-1026, 367-625, 453-587, 455-1050, 481-1049, 491-1049, 594-1050, 605-832, 605-937, 621-646, 623-1050, 628-886, 628-906, 628-922, 628-928, 628-930, 628-940, 628-951, 628-958, 630-940, 632-1050, 650-1050, 689-1049, 711-993, 758-1050, 764-1050, 768-1050, 790-1050, 821-1010, 865-1565, 878-1050, 1008-1050
76/3015057CBI/ 2536	1-611, 2-292, 2-524, 2-646, 3-454, 3-549, 3-586, 3-599, 5-339, 5-429, 28-678, 69-1934, 524-1205, 604-1205, 845-997, 905-1205, 929-1148, 1167-1455, 1182-1281, 1232-1803, 1280-1383, 1364-2051, 1403-1703, 1403-1764, 1403-1829, 1403-1890, 1403-1928, 1403-1949, 1403-2003, 1451-1900, 1471-1750, 1472-2314, 1525-2072, 1562-1744, 1564-2380, 1595-2390, 1597-1949, 1597-2361, 1614-1703, 1666-2338, 1670-2012, 1672-2307, 1686-1976, 1693-2185, 1709-2326, 1733-1950, 1733-2038, 1756-2318, 1795-1897, 1831-2370, 1896-2274, 1905-2292, 1907-2371, 1908-2393, 1910-2206, 1930-2119, 1930-2120, 1939-2366, 1943-2536, 1949-2131, 1957-2381, 1977-2155, 1978-2353, 1990-2327, 2004-2381, 2019-2341, 2023-2233, 2035-2389, 2045-2381, 2091-2381, 2168-2381, 2231-2368
77/6303570CBI/ 2568	1-519, 1-665, 82-2568, 794-1006, 1615-2062, 1615-2098, 1619-2099, 1623-2099, 1624-2226, 1734-1818, 1839-2048

【 0 5 4 0 】

10

20

30

【表 4 - 8】

表 4-8

ポリヌクレオチド SEQ ID NO/ Incyte ID/配列 長	配列断片
78/7501579CBI/ 2150	1-291, 1-499, 1-513, 1-540, 1-604, 1-609, 1-637, 1-661, 1-686, 1-736, 1-762, 1-769, 2-567, 2-688, 2-692, 2-754, 2-812, 5-773, 23-826, 175-811, 200-765, 200-797, 209-801, 210-793, 231-817, 252-879, 259-493, 259-497, 259-499, 272-547, 279-431, 279-446, 279-722, 279-727, 279-750, 279-763, 279-886, 282-545, 282-796, 288-977, 306-596, 309-1041, 310-820, 326-567, 355-894, 367-634, 378-888, 416-1035, 426-715, 437-1063, 442-958, 484-603, 519-1064, 523-784, 526-776, 531-792, 543-1026, 545-1102, 568-1068, 578-791, 587-813, 595-721, 595-1002, 595-1097, 609-826, 640-899, 659-1299, 667-993, 669-1064, 672-1284, 677-1239, 681-1115, 699-1265, 720-1259, 720-1264, 720-1297, 722-978, 723-1108, 728-1110, 730-946, 763-1112, 776-933, 780-1208, 797-1047, 797-1579, 800-1071, 800-1292, 804-1239, 806-1299, 807-1028, 818-1699, 820-1421, 844-1297, 858-1299, 860-1348, 870-1173, 874-1313, 890-1331, 894-1064, 904-1170, 927-1414, 1035-1091, 1063-1298, 1070-1689, 1079-1562, 1082-1876, 1097-1669, 1137-1568, 1147-1789, 1157-1531, 1167-1449, 1167-1669, 1167-1677, 1199-1477, 1204-1443, 1204-1584, 1206-1605, 1214-1669, 1214-1687, 1273-1692, 1273-1804, 1275-1539, 1288-1920, 1314-1613, 1358-1972, 1361-1635, 1399-1667, 1422-1665, 1422-1954, 1422-2068, 1449-2071, 1452-2064, 1465-1741, 1470-1761, 1473-1717, 1487-2041, 1500-1747, 1513-1781, 1514-1853, 1529-1794, 1529-1827, 1532-2081, 1533-1783, 1542-2085, 1546-2112, 1564-1916, 1566-2150, 1588-2015, 1594-1786, 1599-1805, 1616-1980, 1620-1916, 1631-2042, 1636-1914, 1652-2023, 1654-2075, 1670-2072, 1673-2134, 1689-1801, 1689-1964, 1703-2144, 1719-1938, 1750-2083

10

20

30

【表 4 - 1 0】

表 4-10

ボリヌクレオチド SEQ ID No/ Incyte ID/配列 長	配列断片
80/7503970CB1/ 2017	1-234, 1-354, 1-581, 1-611, 1-616, 1-618, 1-1973, 27-220, 29-557, 55-343, 84-609, 84-658, 86-613, 135-833, 317-568, 374-643, 374-649, 397-1116, 404-678, 421-715, 421-779, 434-1003, 462-750, 466-736, 477-651, 493-1128, 517-1165, 543-987, 551-810, 572-997, 594-834, 594-1011, 594-1059, 594-1141, 594-1217, 607-1245, 632-882, 645-747, 658-1000, 661-1056, 690-1434, 694-1180, 697-1057, 717-1318, 756-1238, 833-1441, 885-1421, 892-1366, 896-1412, 903-1444, 935-1149, 935-1580, 953-1160, 953-1181, 953-1185, 953-1197, 953-1200, 953-1234, 953-1267, 953-1450, 953-1486, 956-1195, 963-1591, 965-1233, 975-1550, 978-1483, 983-1212, 1003-1590, 1030-1446, 1030-1483, 1035-1398, 1056-1588, 1057-1340, 1067-1326, 1070-1172, 1070-1369, 1070-1372, 1079-1593, 1139-1595, 1144-1773, 1145-1270, 1149-1420, 1149-1432, 1149-1457, 1158-1419, 1170-1415, 1176-1661, 1181-1423, 1191-1561, 1203-1558, 1229-1826, 1236-1595, 1252-1592, 1263-1919, 1284-1543, 1298-1542, 1298-1587, 1310-1756, 1310-1960, 1312-1595, 1315-1970, 1328-1592, 1330-1592, 1330-1865, 1340-1604, 1349-1595, 1360-1899, 1375-1968, 1383-1621, 1384-1991, 1430-1992, 1448-1678, 1452-1587, 1464-1649, 1487-1998, 1489-1972, 1500-1997, 1514-1992, 1520-1969, 1535-1973, 1535-1987, 1538-1973, 1541-1990, 1552-2017, 1553-1975, 1563-1842, 1589-1712, 1597-1970, 1597-1974, 1603-1969, 1606-1973, 1610-1969, 1617-1975, 1618-1894, 1629-1972, 1634-1973, 1635-1969, 1637-1973, 1639-1992, 1650-1831, 1651-1974, 1664-1881, 1665-1969, 1681-1969, 1709-1876, 1720-1969, 1723-1970, 1725-1982, 1744-1969, 1767-1852, 1785-1967, 1786-1970, 1789-2009, 1795-1973
81/2578986CB1 1341	1-304, 1-1270, 88-264, 118-752, 342-789, 342-911, 359-761, 359-831, 542-1202, 572-1228, 667-1210, 763-1341, 856-1016, 956-1210

10

20

30

【表 4 - 1 1】

表 4-11

ボリヌクレオチド SEQ ID NO/ Incyte ID/配列 長	配列断片
82/7503786CB1/ 1600	1-329, 51-1571, 72-1589, 140-787, 141-386, 141-408, 142-302, 142-415, 142-712, 143-329, 146-285, 161-309, 171-329, 203-458, 319-956, 328-685, 329-556, 330-540, 330-617, 331-643, 334-623, 335-983, 338-612, 347-849, 348-685, 354-683, 357-848, 362-590, 378-645, 387-639, 392-637, 393-1051, 396-650, 398-668, 400-1051, 419-608, 422-661, 430-783, 431-773, 432-647, 434-718, 460-704, 472-1066, 475-994, 482-893, 482-1076, 483-697, 483-1092, 490-748, 514-633, 514-748, 540-816, 546-1067, 551-809, 551-1176, 571-736, 571-1034, 575-746, 575-749, 575-840, 575-1193, 583-1035, 614-871, 614-874, 614-918, 620-883, 620-939, 635-902, 641-925, 641-927, 642-697, 647-918, 657-920, 662-1176, 663-960, 670-1224, 675-1124, 679-1278, 683-946, 685-1161, 689-1287, 693-958, 697-933, 710-1002, 716-1281, 775-1088, 811-1072, 817-1035, 824-1074, 861-1375, 873-1378, 903-1371, 903-1511, 904-1221, 906-1504, 922-1547, 926-1398, 929-1504, 932-1200, 932-1501, 959-1213, 964-1501, 987-1249, 987-1272, 998-1272, 1001-1247, 1008-1242, 1008-1561, 1016-1210, 1016-1299, 1023-1285, 1055-1570, 1063-1287, 1063-1315, 1063-1322, 1063-1325, 1063-1327, 1063-1328, 1063-1331, 1063-1332, 1063-1335, 1063-1336, 1063-1337, 1063-1339, 1063-1341, 1063-1342, 1063-1343, 1063-1344, 1063-1346, 1063-1347, 1063-1348, 1063-1349, 1063-1352, 1063-1353, 1063-1359, 1063-1360, 1063-1362, 1063-1363, 1063-1365, 1063-1366, 1063-1367, 1063-1369, 1063-1371, 1063-1373, 1063-1375, 1063-1589, 1063-1591, 1063-1592, 1067-1350, 1080-1349, 1098-1572, 1117-1571, 1135-1573, 1140-1572, 1141-1345, 1141-1600, 1188-1571, 1205-1543, 1328-1571, 1344-1572
83/7505684CB1/ 740	1-306, 50-281, 50-535, 73-337, 79-483, 135-413, 490-740, 491-708, 496-708, 498-693, 500-709, 515-709, 525-725
84/302655CB1/ 2446	1-229, 1-541, 1-564, 1-593, 1-597, 10-573, 164-362, 223-862, 253-895, 318-851, 319-814, 326-959, 363-508, 383-995, 384-996, 400-911, 421-960, 429-947, 430-914, 492-1069, 572-2402, 646-1321, 653-1225, 693-1283, 715-1198, 743-1319, 852-1406, 902-1504, 911-1521, 912-1128, 1018-1502, 1061-1697, 1065-1381, 1081-1606, 1086-1547, 1098-1691, 1107-1391, 1133-1220, 1136-1760, 1146-1670, 1177-1746, 1241-1760, 1241-1821, 1254-1818, 1303-1853, 1336-1734, 1390-1889, 1394-1927, 1394-2022, 1400-2024, 1415-1624, 1476-1536, 1496-2031, 1516-2393, 1563-2130, 1593-1913, 1619-2263, 1647-2229, 1648-2275, 1717-2262, 1754-2286, 1835-2435, 1882-2446, 1898-2424, 1967-2443, 2057-2401, 2101-2304, 2102-2419, 2267-2417

10

20

30

【表 4 - 1 2】

表 4-12

ボリヌクレオチド SEQ ID NO/ Incyte ID/配列 長	配列断片
85/4757551CBI/ 2020	1-275, 1-581, 1-858, 15-2000, 50-492, 124-462, 238-875, 295-796, 295-805, 318-1165, 380-1027, 382-824, 391-788, 398-953, 401-897, 423-939, 425-997, 426-945, 481-1077, 483-1062, 525-785, 554-1048, 564-818, 564-822, 566-1059, 578-828, 578-852, 611-746, 612-1256, 616-708, 620-1212, 621-883, 623-870, 624-883, 625-873, 627-885, 627-940, 630-791, 630-887, 630-1187, 631-900, 633-827, 634-904, 635-924, 637-873, 639-890, 640-919, 641-771, 641-827, 641-884, 641-889, 641-890, 641-894, 641-903, 641-919, 641-937, 641-960, 651-1127, 686-920, 717-786, 720-995, 786-1032, 796-1120, 815-1059, 824-1032, 825-945, 840-1086, 845-1350, 853-1124, 856-1477, 869-1448, 885-1443, 889-1510, 909-1609, 978-1608, 998-1637, 1004-1603, 1011-1479, 1028-1615, 1058-1574, 1061-1682, 1064-1427, 1183-1599, 1186-1760, 1241-1765, 1241-1958, 1318-1837, 1429-1653, 1441-1701, 1454-1732, 1492-1958, 1495-1774, 1497-1792, 1505-2020, 1506-2010, 1510-1807, 1576-1953, 1603-1951, 1623-2009, 1632-1926, 1658-1958, 1659-1958, 1703-1966, 1749-2003, 1754-2006, 1840-2020
86/7503157CBI/ 2160	1-629, 17-725, 20-784, 21-242, 29-240, 31-689, 34-418, 35-780, 36-423, 36-864, 37-903, 41-625, 42-844, 50-724, 67-814, 74-585, 74-710, 74-714, 80-688, 96-766, 96-851, 123-714, 129-655, 150-780, 215-906, 351-751, 381-821, 383-1075, 406-595, 406-907, 406-972, 406-1084, 416-682, 432-810, 447-1061, 449-708, 449-862, 449-939, 449-968, 449-1021, 470-937, 473-840, 487-1120, 509-1052, 524-875, 524-1218, 540-1077, 559-1365, 636-1265, 639-1113, 640-1305, 644-959, 650-961, 651-961, 655-961, 656-961, 661-961, 663-961, 665-959, 665-961, 665-964, 665-965, 665-969, 672-888, 672-916, 733-1101, 733-1188, 733-1190, 733-1212, 733-1215, 733-1217, 733-1221, 733-1227, 733-1229, 735-1404, 738-1221, 738-1573, 741-1356, 774-1221, 791-1316, 799-1075, 808-1221, 833-1515, 846-1064, 856-1510, 859-1248, 862-1549, 866-1165, 888-1518, 892-1609, 932-1461, 977-1542, 991-1489, 998-1261, 1023-1626, 1027-1347, 1027-1493, 1027-1504, 1039-1435, 1042-1626, 1057-1294, 1084-1638, 1093-1691, 1101-1685, 1120-1523, 1134-1730, 1141-1762, 1155-1784, 1205-1435, 1211-1580, 1222-1988, 1224-1513, 1224-1604, 1226-1487, 1247-1468, 1259-1675, 1272-1817, 1291-1585, 1297-1764, 1297-1807, 1298-1597, 1307-1784, 1332-1583, 1343-1707, 1370-1754, 1381-1973, 1394-1973, 1394-2011, 1414-1611, 1422-1917, 1424-1691, 1434-2090, 1462-1718, 1473-1708, 1489-1973, 1498-2160, 1499-2154, 1516-2101, 1523-1927, 1532-1771, 1558-1973, 1592-2103, 1610-2148, 1615-2154, 1639-1837, 1685-2160, 1690-1973, 1695-1973, 1695-2154, 1718-1968, 1744-1973, 1744-2143, 1744-2151, 1784-1974, 1787-1973, 1823-1973, 1928-2151

10

20

30

【表 4 - 1 3】

表 4-13

ボリヌクレオチド SEQ ID NO/ Incyte ID/配列 長	配列断片
87/7503702CB1/ 3685	1-275, 1-509, 1-3600, 242-525, 242-937, 500-1022, 787-910, 799-1607, 1071-1334, 1071-1590, 1071-1725, 1071-1773, 1119-1458, 1122-1608, 1153-1609, 1320-1456, 1397-2251, 1644-2181, 1644-2354, 1645-2267, 1645-2275, 1645-2293, 1645-2365, 1646-2315, 1719-2540, 1818-2531, 1825-2540, 1858-2531, 1887-2473, 2239-2532, 2872-3130, 2872-3387, 2882-3542, 2885-3296, 2888-3506, 2892-3422, 2909-3530, 2911-3502, 2931-3505, 2939-3576, 2948-3569, 2952-3427, 2969-3459, 2972-3486, 2974-3579, 2989-3566, 2994-3490, 2994-3582, 3008-3551, 3010-3606, 3014-3405, 3044-3631, 3044-3660, 3052-3551, 3054-3629, 3056-3664, 3124-3685, 3128-3586, 3137-3659, 3192-3644, 3199-3590, 3252-3603, 3261-3624, 3310-3569
88/72096217CB1/ 1860	1-490, 1-511, 1-522, 1-525, 1-614, 1-615, 1-623, 1-641, 1-717, 1-718, 1-776, 2-540, 2-613, 5-715, 39-902, 63-745, 130-844, 202-965, 224-897, 471-999, 476-965, 521-1041, 554-1120, 632-1187, 693-1102, 717-838, 791-1463, 797-1099, 809-1254, 828-1442, 874-1403, 878-1436, 885-1387, 914-1457, 919-1108, 922-1342, 923-1342, 956-1099, 967-1159, 967-1365, 967-1374, 967-1511, 967-1516, 967-1757, 971-1510, 988-1380, 1031-1499, 1052-1670, 1055-1281, 1064-1684, 1086-1674, 1091-1298, 1106-1757, 1118-1324, 1118-1356, 1150-1382, 1164-1293, 1172-1851, 1174-1856, 1176-1856, 1188-1851, 1236-1488, 1239-1442, 1241-1487, 1246-1524, 1266-1493, 1287-1852, 1303-1559, 1305-1559, 1305-1574, 1320-1831, 1347-1817, 1368-1612, 1374-1624, 1381-1597, 1400-1446, 1404-1644, 1404-1810, 1419-1697, 1433-1678, 1469-1694, 1474-1700, 1476-1856, 1479-1713, 1491-1719, 1550-1812, 1560-1769, 1620-1829, 1663-1856, 1708-1860

10

20

30

【表 4 - 1 4】

表 4-14

ポリヌクレオチド SEQ ID NO/ Incyte ID/配列 長	配列断片
89/7503620CB1/ 1610	1-1610, 48-284, 49-147, 49-166, 49-185, 49-196, 49-201, 49-215, 49-218, 49-227, 49-228, 49-231, 49-232, 49-234, 49-235, 49-237, 49-239, 49-240, 49-244, 49-247, 49-248, 49-252, 49-253, 49-255, 49-256, 49-258, 49-261, 49-263, 49-265, 49-270, 49-273, 49-277, 49-278, 49-279, 49-280, 49-283, 49-284, 49-286, 49-288, 49-289, 49-291, 49-292, 49-295, 49-296, 49-298, 49-303, 49-305, 49-311, 49-314, 49-333, 49-335, 49-345, 49-379, 49-423, 49-446, 49-449, 49-551, 49-612, 49-616, 49-641, 49-649, 50-246, 56-304, 59-336, 62-344, 64-423, 69-254, 70-412, 71-490, 72-332, 73-349, 80-658, 83-358, 103-361, 103-528, 105-574, 106-380, 107-505, 112-253, 117-566, 119-517, 119-584, 122-603, 124-448, 130-423, 130-549, 133-338, 135-230, 138-511, 148-362, 154-374, 164-623, 171-417, 172-371, 174-435, 177-285, 179-404, 179-441, 179-450, 182-333, 183-385, 183-389, 190-420, 197-490, 200-389, 200-495, 209-440, 209-475, 209-613, 213-493, 214-379, 224-509, 225-469, 230-467, 234-458, 236-438, 242-437, 244-412, 245-476, 251-550, 253-474, 253-479, 255-545, 258-481, 258-484, 258-657, 259-453, 259-569, 262-374, 263-587, 265-499, 270-485, 275-505, 285-515, 288-551, 290-443, 290-514, 290-540, 295-542, 297-514, 299-520, 300-539, 300-576, 308-503, 316-609, 317-549, 317-580, 323-545, 329-543, 330-585, 337-613, 342-597, 342-612, 343-542, 344-484, 344-603, 346-649, 349-615, 354-449, 365-657, 383-641, 390-602, 391-634, 393-615, 397-658, 407-603, 419-652, 421-511, 421-617, 426-625, 429-655, 433-608, 433-658, 547-658, 604-1224, 656-816, 656-820, 656-835, 656-877, 656-879, 656-883, 656-896, 656-903, 656-922, 656-930, 656-995, 660-896, 673-943, 679-910, 682-913, 682-1242, 687-1225, 689-953, 692-932, 692-962, 694-939, 697-955, 699-917, 699-926, 700-924, 700-936, 702-950, 717-925, 717-926, 717-935, 717-967, 717-981, 729-958, 731-1083, 735-1074, 739-1149, 740-974, 748-952, 748-996, 748-1011, 748-1038, 749-992, 749-1011, 749-1023, 750-1188, 754-970, 754-1013, 765-999, 770-1047, 781-1010, 781-1015, 784-1069, 791-1020, 791-1023, 793-992, 801-1074, 802-1056, 808-960, 809-1042, 815-1219, 817-941, 817-971, 817-1000, 818-1086, 819-1090, 827-1042, 829-1031, 830-1031, 832-1072, 832-1090, 837-1250, 840-1096, 842-1105, 844-1212, 852-1099, 869-1182, 880-1148, 881-1078, 882-1117, 882-1139, 883-1152, 887-1108, 892-1172, 894-1186, 899-1137, 902-1227, 902-1264, 902-1300, 906-1191, 906-1199, 911-1311, 912-1161, 916-1143, 920-1158, 921-1267, 941-1123, 942-1262, 948-1206, 971-1221, 995-1182, 1000-1256, 1002-1159, 1005-1195, 1024-1279, 1031-1222, 1032-1155, 1032-1264, 1033-1302, 1033-1302, 1034-1255, 1035-1318, 1036-1235, 1039-1256, 1040-1280, 1052-1301, 1058-1315, 1065-1294, 1070-1198, 1082-1209, 1082-1318, 1084-1303, 1084-1317, 1085-1314, 1087-1318, 1091-1291, 1091-1298, 1103-1318

【 0 5 4 7 】

10

20

30

【表 4 - 1 5】

表 4-15

ポリヌクレオチド SEQ ID NO/ Incyte ID/配列 長	配列断片
90/7503621CBI/ 1369	1-1369, 48-284, 49-147, 49-166, 49-185, 49-196, 49-201, 49-215, 49-218, 49-227, 49-228, 49-231, 49-232, 49-234, 49-235, 49-237, 49-239, 49-240, 49-244, 49-247, 49-248, 49-252, 49-253, 49-255, 49-256, 49-258, 49-261, 49-263, 49-265, 49-270, 49-273, 49-277, 49-278, 49-279, 49-280, 49-283, 49-284, 49-286, 49-288, 49-289, 49-291, 49-292, 49-295, 49-296, 49-298, 49-303, 49-305, 49-311, 49-314, 49-333, 49-335, 49-345, 49-379, 49-423, 49-446, 49-449, 50-246, 56-304, 59-336, 62-344, 64-423, 69-254, 70-412, 71-489, 72-332, 73-349, 83-358, 93-255, 103-361, 106-380, 112-253, 124-448, 130-423, 133-338, 135-230, 148-362, 154-374, 171-417, 172-371, 174-435, 177-285, 179-404, 179-441, 179-450, 182-333, 183-385, 183-389, 190-420, 197-489, 200-389, 200-489, 209-440, 209-475, 213-489, 214-379, 218-515, 225-469, 230-467, 234-458, 236-438, 242-437, 244-412, 245-476, 253-474, 253-479, 258-481, 258-484, 259-453, 262-374, 265-489, 270-485, 275-489, 290-443, 308-489, 318-452, 344-484, 354-449, 488-511, 488-518, 488-605, 488-610, 488-672, 488-682, 488-683, 488-694, 488-700, 488-805, 488-940, 494-744, 497-759, 499-653, 504-700, 511-772, 514-801, 514-811, 514-1046, 521-787, 537-823, 538-740, 547-856, 547-878, 557-994, 566-784, 566-784, 566-787, 567-821, 567-954, 575-830, 579-815, 580-854, 586-767, 586-834, 606-864, 628-1038, 629-830, 632-893, 638-874, 644-877, 650-895, 652-849, 659-850, 659-865, 659-1025, 662-907, 664-960, 667-846, 671-909, 674-913, 675-855, 676-952, 680-933, 681-926, 684-926, 703-973, 709-940, 712-943, 712-1272, 717-1255, 719-983, 722-962, 722-992, 724-967, 727-985, 729-947, 729-956, 730-954, 730-966, 732-980, 747-955, 747-956, 747-965, 747-997, 747-1011, 759-988, 761-1113, 765-1104, 769-1179, 770-1004, 778-982, 778-1026, 778-1041, 778-1068, 779-1022, 779-1041, 779-1053, 780-1218, 784-1000, 784-1043, 795-1029, 800-1073, 811-1040, 811-1045, 814-1099, 821-1050, 821-1053, 823-1022, 831-1104, 832-1086, 838-990, 839-1072, 845-1249, 847-971, 847-1001, 847-1030, 848-1116, 849-1120, 857-1072, 859-1061, 860-1061, 862-1102, 862-1120, 867-1280, 870-1126, 872-1135, 874-1242, 882-1129, 899-1212, 910-1178, 911-1108, 912-1147, 912-1169, 913-1173, 917-1138, 922-1202, 924-1216, 929-1167, 932-1257, 932-1294, 932-1330, 936-1221, 936-1229, 941-1341, 942-1191, 946-1173, 950-1188, 951-1297, 971-1153, 972-1292, 978-1236, 1001-1251, 1025-1212, 1030-1286, 1032-1189, 1035-1225, 1054-1309, 1061-1252, 1062-1185, 1062-1294, 1062-1360, 1063-1332, 1064-1285, 1065-1362, 1066-1265, 1069-1286, 1070-1310, 1082-1331, 1088-1345, 1095-1324, 1100-1228, 1112-1239, 1112-1367, 1114-1333, 1114-1347, 1115-1344, 1117-1365, 1121-1321, 1121-1328, 1133-1367

10

20

30

【表 4 - 1 6】

表 4-16

ポリヌクレオチド SEQ ID NO/ Incyte ID/配列 長	配列断片
91/7503624CB1 1067	1-309, 2-198, 2-211, 2-227, 2-244, 2-267, 2-274, 2-1065, 3-231, 3-236, 3-260, 3-279, 3-294, 4-218, 4-223, 4-266, 5-201, 5-210, 5-214, 5-222, 5-261, 5-267, 5-272, 5-281, 6-149, 6-220, 6-248, 6-256, 6-263, 7-215, 7-217, 7-218, 7-309, 8-241, 8-260, 8-269, 9-227, 9-235, 9-238, 9-246, 9-261, 9-262, 10-238, 11-168, 11-286, 12-236, 12-288, 13-253, 18-220, 18-238, 19-179, 21-220, 21-230, 21-263, 23-184, 23-241, 23-271, 24-241, 24-275, 24-278, 24-281, 24-297, 25-239, 25-261, 25-262, 31-130, 31-279, 31-286, 33-229, 39-287, 42-309, 45-309, 52-237, 55-309, 95-236, 116-309, 118-213, 157-421, 160-268, 165-309, 305-465, 305-513, 305-532, 305-552, 305-562, 326-736, 327-528, 330-591, 336-572, 342-575, 348-593, 350-547, 357-548, 357-563, 357-723, 360-605, 362-658, 365-544, 369-607, 372-611, 373-553, 374-650, 378-631, 379-624, 382-624, 401-671, 407-638, 410-641, 410-970, 415-953, 417-681, 420-660, 420-690, 422-667, 425-683, 427-645, 427-654, 428-652, 428-664, 430-678, 443-653, 445-654, 445-663, 445-695, 445-709, 457-686, 459-811, 463-802, 467-877, 468-702, 476-680, 476-724, 476-739, 476-766, 477-720, 477-739, 477-751, 478-916, 482-698, 482-741, 493-727, 498-775, 509-738, 509-743, 512-797, 519-748, 519-751, 521-720, 529-802, 530-784, 536-688, 537-770, 543-947, 545-669, 545-699, 545-728, 546-814, 547-818, 555-770, 557-759, 558-759, 560-800, 560-818, 565-978, 568-824, 570-833, 572-940, 580-827, 597-910, 608-876, 609-806, 610-845, 610-867, 611-880, 615-836, 620-900, 622-914, 627-865, 630-955, 630-992, 630-1028, 634-919, 634-927, 639-1039, 640-889, 644-871, 648-886, 649-995, 669-851, 670-990, 676-934, 699-949, 723-910, 728-984, 730-887, 733-923, 752-1007, 759-950, 760-883, 760-992, 760-1058, 761-1030, 762-983, 763-1060, 764-963, 767-984, 768-1008, 780-1029, 786-1043, 793-1022, 798-926, 810-937, 810-1065, 812-1031, 812-1045, 813-1042, 815-1063, 819-1019, 819-1026, 831-1067

【 0 5 4 9 】

10

20

30

【表 4 - 17】

表 4-17

ポリヌクレオチド SEQ ID NO/ Incyte ID/配列 長	配列断片
92/7503625CBI/ 1685	1-1685, 48-284, 49-147, 49-166, 49-185, 49-196, 49-201, 49-215, 49-218, 49-227, 49-228, 49-231, 49-232, 49-234, 49-235, 49-237, 49-239, 49-240, 49-244, 49-247, 49-248, 49-252, 49-253, 49-255, 49-256, 49-258, 49-261, 49-263, 49-265, 49-270, 49-273, 49-277, 49-278, 49-279, 49-280, 49-283, 49-284, 49-286, 49-288, 49-289, 49-291, 49-292, 49-295, 49-296, 49-298, 49-303, 49-305, 49-311, 49-314, 49-333, 49-335, 49-345, 49-379, 49-423, 49-446, 49-449, 49-551, 49-612, 49-616, 49-641, 49-649, 50-246, 56-304, 59-336, 62-344, 64-423, 69-254, 70-412, 71-490, 72-332, 73-349, 80-659, 83-358, 103-361, 103-528, 105-574, 106-380, 107-505, 112-253, 117-566, 119-517, 119-584, 122-603, 124-448, 130-423, 130-549, 133-338, 135-230, 138-511, 148-362, 154-374, 164-623, 171-417, 172-371, 174-435, 177-285, 179-404, 179-441, 179-450, 182-333, 183-385, 183-389, 190-420, 197-490, 200-389, 200-495, 209-440, 209-475, 209-613, 213-493, 214-379, 224-509, 225-469, 230-467, 234-458, 236-438, 242-437, 244-412, 245-476, 251-550, 253-474, 253-479, 255-545, 258-481, 258-484, 258-657, 259-453, 259-569, 262-374, 263-587, 265-499, 270-485, 275-505, 285-515, 288-551, 290-443, 290-514, 290-540, 295-542, 297-514, 299-520, 300-539, 300-576, 308-503, 316-609, 317-549, 317-580, 323-545, 329-543, 330-585, 337-613, 342-597, 342-612, 343-542, 344-484, 346-649, 349-615, 354-449, 365-657, 383-641, 390-602, 391-634, 393-615, 397-661, 407-603, 419-652, 421-617, 426-625, 429-655, 433-608, 433-660, 456-697, 464-687, 473-690, 473-691, 544-797
93/7503627CBI/ 1117	1-478, 36-1117, 108-741, 161-656, 187-666, 201-475, 211-493, 224-488, 229-499, 230-505, 235-492, 236-494, 236-609, 238-506, 239-422, 239-499, 241-500, 241-501, 247-518, 250-497, 251-531, 253-487, 255-496, 255-503, 255-505, 255-506, 255-518, 256-499, 256-518, 256-558, 257-517, 260-494, 260-538, 261-520, 261-560, 262-529, 272-576, 280-615, 290-494, 291-546, 291-554, 307-772, 308-591, 308-592, 310-586, 314-505, 314-544, 314-555, 314-587, 314-764, 315-595, 319-566, 321-728, 323-563, 325-593, 325-602, 326-548, 326-569, 327-559, 327-583, 334-544, 334-549, 334-606, 336-538, 339-541, 348-624, 370-515, 375-657, 376-689, 379-510, 379-630, 381-582, 387-650, 387-653, 388-585, 389-646, 391-640, 396-477, 397-633, 406-825, 417-575, 420-749, 423-650, 427-622, 429-684, 443-730, 448-630, 462-597, 494-756, 505-749, 512-702, 567-815
94/7505744CBI/ 586	1-586, 50-458, 50-461, 72-461, 153-418, 153-586, 156-423, 178-453, 197-332, 199-453, 253-514, 261-409, 272-571, 274-495, 274-530, 301-579, 302-586, 307-540, 348-586, 444-586

10

20

30

【表 4 - 1 8】

表 4-18

ポリヌクレオチド SEQ ID No/ Incyte ID/配列 長	配列断片
93/7503712CBI/ 3394	1-3261, 1-3280, 393-523, 756-862, 789-1077, 1037-1427, 1438-1711, 1450-1707, 1450-1757, 1450-1759, 1450-1762, 1450-1763, 1450-1955, 1450-2042, 1450-2083, 1450-2112, 1451-2250, 1573-2240, 1604-2223, 1637-2012, 1755-2015, 1940-2228, 1952-2471, 2032-2307, 2041-2334, 2128-2418, 2141-2771, 2223-2695, 2281-2583, 2281-2588, 2284-2531, 2294-2973, 2324-2900, 2336-2592, 2428-2904, 2433-3013, 2465-3102, 2468-2733, 2471-3180, 2503-3184, 2507-3190, 2517-3119, 2517-3145, 2517-3193, 2524-3046, 2524-3061, 2524-3177, 2545-2959, 2545-3055, 2548-3221, 2582-2957, 2644-3249, 2698-3017, 2713-3242, 2726-2997, 2747-3026, 2758-3273, 2781-3063, 2786-3266, 2792-3238, 2798-2872, 2799-2865, 2799-3198, 2799-3242, 2799-3291, 2802-3243, 2817-3302, 2827-3053, 2830-3211, 2841-3121, 2863-3261, 2874-3288, 2888-3258, 2890-3180, 2903-3275, 2906-3177, 3007-3259, 3007-3274, 3026-3287, 3026-3301, 3037-3277, 3038-3275, 3042-3261, 3042-3296, 3070-3267, 3077-3261, 3078-3275, 3079-3273, 3103-3394
96/7503713CBI/ 3213	1-3080, 1-3099, 393-523, 737-1338, 756-862, 789-1077, 793-1350, 916-1350, 1361-1634, 1373-1630, 1373-1680, 1373-1682, 1373-1685, 1373-1686, 1373-1878, 1373-1965, 1373-2006, 1373-2035, 1374-2173, 1496-2163, 1527-2146, 1560-1935, 1678-1938, 1863-2151, 1955-2230, 1964-2260, 2034-2620, 2194-2618, 2233-2820, 2256-2723, 2256-2832, 2256-2857, 2284-2921, 2287-2552, 2290-2999, 2322-3003, 2326-3009, 2336-2938, 2336-2964, 2336-3012, 2343-2865, 2343-2880, 2343-2996, 2364-2778, 2364-2874, 2367-3040, 2401-2776, 2460-2712, 2463-3068, 2517-2836, 2532-3061, 2545-2816, 2566-2845, 2577-3092, 2600-2882, 2605-3085, 2611-3057, 2617-2691, 2618-2684, 2618-3017, 2618-3061, 2618-3110, 2621-3062, 2636-3121, 2646-2872, 2649-3030, 2660-2940, 2682-3080, 2693-3107, 2707-3077, 2709-2999, 2722-3094, 2725-2996, 2826-3078, 2826-3093, 2845-3106, 2845-3120, 2856-3096, 2857-3094, 2861-3080, 2861-3115, 2889-3086, 2896-3080, 2897-3094, 2898-3092, 2922-3213

10

20

30

【表 4 - 1 9】

表 4-19

ポリヌクレオチド SEQ ID NO/ Incyte ID/配列 長	配列断片
97/7502225CBI/ 1435	1-331, 36-487, 50-573, 67-329, 67-389, 67-549, 72-488, 78-398, 82-342, 100-183, 100-206, 100-368, 101-357, 116-406, 119-417, 119-420, 119-426, 119-427, 119-429, 119-530, 119-530, 119-594, 119-647, 119-694, 126-422, 128-458, 128-614, 137-514, 138-616, 142-524, 155-524, 168-424, 174-725, 185-591, 210-429, 210-435, 214-500, 229-619, 229-816, 229-847, 263-591, 283-907, 285-589, 321-586, 321-647, 321-675, 324-635, 324-652, 324-658, 324-667, 324-671, 333-605, 360-623, 371-518, 381-647, 388-647, 431-787, 445-1080, 484-712, 530-757, 533-805, 665-931, 720-965, 743-997, 765-1131, 774-1168, 774-1178, 817-1235, 817-1435, 837-1041, 843-1163, 851-1033
98/7502778CBI/ 2371	1-846, 326-915, 439-1029, 607-1043, 617-1253, 655-1209, 675-1253, 703-999, 711-1253, 743-1312, 743-1405, 743-1449, 747-1489, 792-1396, 852-1682, 878-1176, 890-1254, 913-1199, 916-1711, 926-1451, 935-1662, 940-1662, 948-1622, 965-1620, 967-1458, 969-1472, 974-1568, 978-1520, 987-1866, 1029-1255, 1029-1581, 1033-1566, 1108-1866, 1131-1394, 1166-1866, 1221-1845, 1240-1866, 1244-1866, 1263-2038, 1270-1900, 1288-1855, 1288-1858, 1485-1861, 1489-1866, 1510-2159, 1515-2173, 1523-1866, 1528-1866, 1607-1861, 1641-2123, 1660-2371, 1716-2174, 1721-2174, 1802-2172
99/7503699CBI/ 3760	1-275, 1-509, 1-3739, 242-525, 284-667, 597-1132, 599-1183, 624-1323, 892-1506, 964-1227, 964-1483, 964-1502, 1012-1351, 1015-1501, 1041-1309, 1046-1535, 1115-1514, 1213-1349, 1231-1579, 1265-1720, 1265-1721, 1265-1722, 1265-1725, 1265-1734, 1265-1740, 1265-1743, 1265-1745, 1265-1747, 1265-1749, 1265-1753, 1265-1755, 1266-1742, 1268-1740, 1270-1751, 1273-1742, 1273-1755, 1274-1726, 1274-1747, 1279-1744, 1280-1725, 1281-1742, 1282-1742, 1283-1725, 1300-1516, 1389-1791, 1543-1791, 1612-1766, 1626-1800, 1626-1936, 1626-2242, 1626-2246, 1626-2248, 1626-2276, 1626-2305, 1626-2368, 1626-2394, 1626-2412, 1626-2438, 1626-2452, 1626-2465, 1627-2242, 1650-2106, 1650-2139, 1683-1799, 1683-1843, 1718-2256, 1718-2429, 1719-2342, 1719-2350, 1719-2368, 1719-2440, 1720-2390, 1850-2615, 1889-2428, 1893-2606, 1905-2615, 1914-2615, 1933-2606, 1933-2615, 1962-2548, 2132-2539, 2215-2302, 2251-2606, 2314-2607, 2947-3205, 2947-3462, 2957-3617, 2960-3371, 2963-3581, 2967-3497, 2984-3605, 2986-3577, 3006-3580, 3014-3651, 3023-3644, 3027-3502, 3044-3534, 3047-3561, 3049-3654, 3064-3641, 3069-3565, 3069-3657, 3083-3626, 3085-3681, 3089-3480, 3119-3706, 3119-3735, 3127-3626, 3129-3704, 3131-3739, 3199-3760, 3203-3661, 3212-3734, 3267-3719, 3274-3665, 3327-3678, 3336-3699, 3385-3644
100/6026715CBI/ 1522	1-1522, 201-624, 201-725, 201-852, 202-869, 206-490, 238-948, 405-628, 428-918, 477-1107, 722-1182, 995-1461, 999-1466, 1012-1467, 1025-1467, 1048-1260, 1051-1466, 1059-1462, 1139-1463, 1168-1463, 1215-1467, 1222-1466, 1236-1486, 1236-1501, 1236-1522

10

20

30

【表 4 - 2 0】

表 4-20

ボリヌクレオチド SEQ ID NO/ Incyte ID/配列 長	配列断片
101/7503631CBI/ 1315	1-197, 1-210, 1-226, 1-243, 1-266, 1-273, 1-315, 1-533, 1-1313, 2-230, 2-235, 2-259, 2-278, 2-293, 2-405, 2-594, 3-217, 3-222, 3-265, 4-200, 4-209, 4-213, 4-221, 4-260, 4-266, 4-271, 4-280, 4-361, 4-598, 4-623, 4-631, 5-148, 5-219, 5-247, 5-255, 5-262, 6-214, 6-216, 6-217, 6-317, 6-327, 7-240, 7-259, 7-268, 8-226, 8-234, 8-237, 8-245, 8-260, 8-261, 8-361, 9-237, 10-167, 10-285, 11-287, 12-252, 22-237, 30-129, 30-178, 30-183, 30-219, 30-229, 30-235, 30-238, 30-240, 30-260, 30-261, 30-262, 30-270, 30-274, 30-277, 30-278, 30-280, 30-285, 30-296, 30-428, 30-431, 32-228, 38-286, 41-318, 44-326, 46-405, 51-236, 52-394, 53-472, 54-314, 55-331, 62-641, 65-340, 85-343, 85-510, 87-556, 88-362, 89-487, 94-235, 99-548, 101-499, 101-566, 104-585, 106-430, 112-405, 112-531, 115-320, 117-212, 120-493, 130-344, 136-356, 146-605, 153-399, 154-353, 156-417, 159-267, 161-386, 161-423, 161-432, 164-315, 165-367, 165-371, 172-402, 179-472, 182-371, 182-475, 191-422, 191-457, 191-595, 195-474, 196-361, 206-491, 207-451, 212-449, 216-440, 218-420, 224-419, 226-394, 227-458, 233-532, 235-456, 235-461, 237-527, 240-463, 240-466, 240-639, 241-435, 241-551, 244-356, 245-569, 247-481, 252-467, 257-487, 267-497, 270-533, 272-425, 272-496, 272-522, 277-524, 279-496, 281-502, 282-521, 282-558, 290-485, 298-591, 299-531, 299-562, 305-527, 311-525, 312-567, 319-595, 324-579, 324-594, 325-524, 326-466, 326-585, 328-631, 329-731, 331-597, 336-431, 347-639, 365-623, 367-720, 372-584, 373-616, 375-597, 379-643, 389-585, 396-704, 401-634, 403-493, 403-599, 408-607, 411-637, 414-671, 415-590, 415-642, 438-679, 445-719, 446-669, 455-672, 455-673, 485-699, 491-736, 502-730, 502-743, 523-726, 526-1069, 529-659, 529-664, 532-743, 534-736, 534-737, 535-743, 553-707, 558-743, 736-928, 736-946, 736-950, 736-968, 736-972, 736-987, 736-989, 736-999, 736-1014, 736-1050, 736-1125, 736-1164, 741-975, 746-1023, 757-986, 757-991, 760-1045, 767-996, 767-999, 769-968, 777-1050, 778-1032, 784-936, 785-1018, 791-1195, 793-917, 793-947, 793-976, 794-1062, 795-1066, 803-1018, 805-1007, 806-1007, 808-1048, 808-1066, 813-1226, 816-1072, 818-1081, 820-1188, 828-1075, 845-1158, 856-1124, 857-1054, 858-1093, 858-1115, 859-1128, 863-1084, 868-1148, 870-1162, 875-1113, 878-1203, 878-1240, 878-1276, 882-1167, 882-1175, 887-1287, 888-1137, 892-1119, 896-1134, 897-1243, 917-1099, 918-1238, 924-1182, 947-1197, 971-1158, 976-1232, 978-1135, 981-1171, 1000-1255, 1007-1198, 1008-1131, 1008-1240, 1008-1306, 1009-1278, 1010-1231, 1011-1308, 1012-1211, 1015-1232, 1016-1256, 1028-1277, 1034-1291, 1041-1270, 1046-1174, 1058-1185, 1058-1313, 1060-1279, 1060-1293, 1061-1290, 1063-1311, 1067-1267, 1067-1274, 1079-1315

【 0 5 5 3】

10

20

30

【表 4 - 2 1】

表 4-21

ボリスクレオチド SEQ ID NO/ Incyte ID/配列 長	配列断片
102/7503664CB1/ 1373	1-197, 1-210, 1-226, 1-243, 1-266, 1-273, 1-315, 1-533, 1-1373, 2-230, 2-235, 2-259, 2-278, 2-293, 2-405, 2-594, 3-217, 3-222, 3-265, 4-200, 4-213, 4-221, 4-260, 4-266, 4-271, 4-280, 4-361, 4-598, 4-623, 4-631, 5-148, 5-219, 5-247, 5-255, 5-262, 6-214, 6-216, 6-217, 6-317, 6-327, 7-240, 7-259, 7-268, 8-226, 8-234, 8-237, 8-245, 8-260, 8-261, 8-361, 9-237, 10-167, 10-285, 11-287, 12-252, 21-178, 21-219, 21-229, 21-262, 21-428, 21-431, 30-129, 30-183, 30-235, 30-237, 30-238, 30-240, 30-260, 30-261, 30-270, 30-274, 30-277, 30-278, 30-280, 30-285, 30-296, 32-228, 38-286, 41-318, 44-326, 46-405, 51-236, 52-394, 53-472, 54-314, 55-331, 62-641, 65-340, 85-343, 85-510, 87-556, 88-362, 89-487, 94-235, 99-548, 101-499, 101-566, 104-585, 106-430, 112-405, 112-531, 115-320, 117-212, 120-493, 130-344, 136-356, 146-605, 153-399, 154-553, 156-417, 159-267, 161-386, 161-423, 161-432, 164-315, 165-367, 165-371, 172-402, 179-472, 182-371, 182-475, 191-422, 191-457, 191-595, 195-474, 196-361, 206-491, 207-451, 212-449, 216-440, 218-420, 224-419, 226-394, 227-458, 233-532, 235-456, 235-461, 237-527, 240-463, 240-466, 240-639, 241-435, 241-551, 244-356, 245-569, 247-481, 252-467, 257-487, 267-497, 270-533, 272-425, 272-496, 272-522, 277-524, 279-496, 281-502, 282-521, 282-558, 290-485, 298-591, 299-531, 299-562, 305-527, 311-525, 312-567, 319-595, 324-579, 324-594, 325-524, 326-466, 326-585, 328-631, 329-731, 329-771, 331-597, 336-431, 347-639, 357-844, 365-623, 367-720, 372-584, 373-616, 375-597, 379-643, 389-585, 396-704, 401-634, 403-493, 403-599, 408-607, 411-637, 414-671, 415-590, 415-642, 438-679, 445-719, 446-669, 455-672, 455-673, 468-760, 473-814, 485-699, 491-736, 502-730, 502-751, 523-726, 529-659, 529-664, 531-994, 532-748, 534-736, 534-737, 535-754, 536-859, 548-798, 551-813, 553-707, 558-754, 565-826, 568-855, 568-865, 575-841, 591-877, 592-794, 601-910, 601-932, 611-1048, 620-838, 620-850, 621-875, 621-1008, 629-884, 633-869, 634-908, 640-821, 640-888, 660-918, 683-884, 686-947, 692-928, 698-931, 704-949, 706-903, 713-904, 713-919, 716-961, 718-1014, 721-900, 725-963, 728-967, 729-909, 730-1006, 734-987, 735-980, 738-980, 757-1027, 763-994, 766-997, 773-1037, 776-1016, 776-1046, 778-1023, 781-1039, 783-1001, 783-1010, 784-1008, 784-1020, 786-1034, 801-1009, 801-1010, 801-1019, 801-1051, 813-1042, 824-1051, 832-1036, 838-1051, 892-1044, 901-1025, 901-1051, 997-1241, 1049-1193, 1049-1216, 1049-1229, 1049-1290, 1058-1313, 1065-1256, 1066-1189, 1066-1298, 1066-1364, 1067-1336, 1068-1289, 1069-1366, 1070-1269, 1073-1290, 1074-1314, 1086-1335, 1092-1349, 1099-1328, 1104-1232, 1116-1243, 1116-1371, 1118-1337, 1118-1351, 1119-1348, 1121-1369, 1125-1325, 1125-1332, 1137-1371

【 0 5 5 4 】

10

20

30

表 4-22

ポリヌクレオチド SEQ ID NO/ Incyte ID/配列 長	配列断片
103/7504812CBI/ 1002	1-110, 1-138, 1-201, 1-260, 1-283, 1-297, 1-314, 1-478, 1-540, 1-547, 1-573, 1-575, 1-583, 1-585, 1-600, 1-601, 1-602, 1-605, 1-1002, 2-267, 2-297, 2-610, 3-241, 3-530, 3-596, 3-598, 4-243, 4-584, 5-228, 6-259, 6-288, 6-491, 6-600, 6-605, 7-309, 7-607, 10-269, 11-491, 14-295, 19-488, 20-600, 28-605, 157-408, 173-437, 175-402, 176-433, 180-471, 182-413, 187-471, 194-440, 215-464, 220-393, 228-460, 237-524, 242-485, 243-586, 245-511, 246-446, 246-479, 253-481, 255-508, 261-428, 266-540, 267-473, 268-498, 269-514, 270-393, 270-475, 270-483, 281-599, 282-609, 283-517, 285-528, 287-501, 289-532, 289-546, 289-561, 289-564, 289-578, 291-546, 292-515, 292-564, 293-581, 295-579, 297-527, 298-553, 300-558, 300-587, 301-533, 302-488, 302-499, 302-521, 303-551, 308-591, 309-491, 309-549, 310-531, 314-570, 317-550, 318-488, 319-566, 321-545, 322-605, 323-583, 326-559, 326-606, 327-583, 327-585, 328-610, 340-461, 345-584, 345-585, 345-605, 345-607, 345-610, 346-558, 354-480, 354-595, 358-559, 362-608, 383-602, 384-610, 410-589, 428-565, 462-610, 471-610, 489-720, 541-917, 546-917, 615-873, 630-1002, 635-869, 715-917, 716-917, 748-917, 757-974, 769-1002, 851-1002, 853-989, 855-989, 855-991, 855-1002, 856-1002, 900-994, 903-1002, 910-1002, 913-969, 913-979, 922-1002
104/7504996CBI/ 1062	1-530, 1-627, 1-753, 8-628, 103-384, 153-695, 219-592, 242-476, 242-1062, 293-886, 307-771, 320-585, 323-590, 345-620, 364-499, 366-620, 420-681, 428-576, 439-738, 441-662, 441-697, 468-746, 469-763, 474-707, 515-765, 611-775
105/7377279CBI/ 1794	1-204, 14-123, 18-133, 30-488, 30-1364, 252-481, 780-1327, 780-1460, 823-1466, 910-1179, 910-1283, 910-1362, 910-1371, 910-1389, 910-1413, 910-1443, 910-1463, 910-1464, 910-1469, 910-1470, 910-1500, 910-1523, 910-1768, 916-1466, 924-1518, 933-1582, 1003-1513, 1043-1269, 1045-1379, 1053-1565, 1149-1646, 1162-1299, 1169-1628, 1172-1435, 1201-1423, 1225-1317, 1240-1664, 1241-1768, 1248-1794, 1261-1672, 1263-1548, 1413-1614, 1413-1621, 1413-1681, 1417-1616, 1485-1768
106/2060984CBI/ 1667	1-302, 7-200, 17-611, 18-130, 18-682, 25-204, 25-417, 26-200, 27-272, 29-118, 39-286, 42-574, 100-1019, 212-463, 359-802, 376-641, 378-622, 378-894, 417-669, 430-679, 450-684, 450-716, 450-1015, 473-720, 485-728, 493-754, 535-786, 540-797, 559-718, 580-789, 580-1364, 585-779, 602-903, 642-916, 666-1113, 666-1204, 695-1128, 703-929, 713-979, 723-991, 726-957, 726-958, 734-999, 750-1217, 755-1020, 765-998, 791-1038, 791-1322, 799-1066, 804-1105, 806-1418, 808-1259, 844-1095, 845-1646, 847-1259, 887-1138, 887-1250, 923-1208, 953-1404, 974-1181, 987-1650, 988-1266, 988-1398, 1022-1432, 1028-1223, 1037-1655, 1041-1436, 1044-1168, 1044-1300, 1076-1428, 1081-1325, 1088-1336, 1090-1286, 1116-1434, 1146-1428, 1150-1381, 1195-1654, 1198-1484, 1201-1506, 1214-1487, 1214-1512, 1217-1435, 1229-1502, 1234-1461, 1251-1658, 1266-1659, 1278-1596, 1281-1658, 1281-1662, 1287-1667, 1317-1567, 1476-1656

10

20

30

【表 4 - 2 3】

表 4-23

ポリヌクレオチド SEQ ID NO/ Incyte ID/配列 長	配列断片
107/4085993CBI/ 2290	1-273, 1-281, 18-74, 23-656, 37-708, 279-1147, 348-985, 484-729, 513-1121, 605-801, 605-881, 605-1018, 605-1081, 605-1139, 605-1184, 673-1133, 708-1252, 790-1147, 949-1666, 963-1637, 1000-1299, 1000-1497, 1026-1536, 1162-1761, 1212-1754, 1213-1761, 1218-1823, 1238-1831, 1243-1766, 1263-1652, 1276-1706, 1278-1497, 1309-1686, 1316-1735, 1322-1809, 1334-1969, 1356-1991, 1356-2007, 1389-1881, 1404-2002, 1410-1862, 1410-1910, 1410-2002, 1421-1883, 1424-1955, 1434-2062, 1436-1734, 1484-1838, 1487-2148, 1506-2018, 1517-2083, 1531-1851, 1539-2095, 1553-2173, 1585-2136, 1608-2162, 1617-1861, 1629-1836, 1638-2166, 1653-2264, 1657-2045, 1657-2256, 1677-1869, 1725-2290, 1732-2288, 1793-2285, 1809-2285, 1871-2285, 1899-2290, 2003-2290
108/6756305CBI/ 3053	1-40, 1-237, 49-3053, 50-293, 53-357, 76-359, 76-368, 77-329, 78-318, 83-292, 83-319, 83-329, 83-347, 83-631, 83-745, 83-800, 85-428, 90-367, 90-374, 94-122, 113-364, 134-393, 145-346, 163-393, 189-401, 253-479, 253-634, 286-555, 335-676, 354-916, 354-1014, 356-629, 392-1061, 440-687, 441-657, 445-1018, 492-764, 499-1185, 561-907, 574-845, 644-949, 652-833, 668-1241, 671-1201, 689-1092, 776-1073, 798-993, 826-1053, 828-1117, 855-1093, 879-1174, 973-1250, 1020-1545, 1027-1224, 1077-1344, 1080-1371, 1085-1368, 1087-1287, 1098-1379, 1190-1456, 1294-1606, 1354-1752, 1358-1639, 1438-1946, 1440-1705, 1475-1670, 1475-2071, 1525-1851, 1537-1794, 1559-1733, 1583-1821, 1640-1883, 1670-1925, 1717-1955, 1733-1981, 1790-2109, 1847-2063, 1847-2124, 1859-2542, 1860-2080, 1860-2084, 1860-2438, 1878-2183, 1953-2185, 1971-2265, 1984-2195, 1984-2450, 2026-2221, 2067-2352, 2097-2353, 2134-2363, 2153-2676, 2156-2433, 2160-2400, 2165-2416, 2167-2405, 2174-2440, 2190-2446, 2199-2464, 2213-2851, 2274-2547, 2274-2550, 2277-2585, 2285-2559, 2296-2545, 2296-2549, 2304-2908, 2314-2566, 2317-2557, 2319-2572, 2324-2632, 2331-2606, 2336-2526, 2338-2526, 2339-2789, 2370-2578, 2374-2696, 2376-2544, 2383-2641, 2384-2625, 2386-2673, 2400-2635, 2403-2982, 2415-2674, 2421-3051, 2436-2855, 2439-2597, 2450-3041, 2453-2688, 2460-2653, 2463-2716, 2496-2727, 2502-2630, 2502-2781, 2502-2785, 2506-2747, 2506-3053, 2510-2807, 2522-2781

10

20

30

【表 4 - 2 4】

表 4-24

ポリヌクレオチド SEQ ID NO/ Incyte ID/配列 長	配列断片
109/7504842CB1/ 2850	1-276, 1-420, 1-515, 1-2132, 72-366, 81-541, 83-346, 83-357, 89-362, 89-609, 89-761, 91-450, 92-488, 95-334, 135-391, 155-400, 156-598, 180-356, 185-356, 197-541, 198-664, 203-633, 206-734, 235-467, 287-517, 316-768, 360-812, 360-933, 509-856, 640-902, 642-902, 647-1063, 669-1241, 703-960, 703-1203, 714-1299, 727-975, 727-1222, 862-1160, 879-1153, 914-1462, 1088-1294, 1088-1301, 1088-1517, 1088-1520, 1088-1522, 1088-1557, 1088-1562, 1088-1578, 1088-1580, 1088-1592, 1088-1663, 1088-1671, 1098-1353, 1132-1683, 1193-1850, 1248-1880, 1313-1908, 1316-1908, 1365-2127, 1402-1575, 1408-1575, 1418-2053, 1434-2068, 1447-2068, 1449-1737, 1454-1847, 1455-2095, 1467-2067, 1503-2095, 1534-2116, 1535-2123, 1568-2122, 1681-2132, 1695-2129, 1696-2137, 1697-2137, 1703-2159, 1708-2141, 1725-2171, 1736-1990, 1736-1996, 1738-2149, 1745-2129, 1809-2161, 1978-2141, 2005-2131, 2014-2131, 2034-2132, 2052-2850
110/7500901CB1/ 1247	1-227, 1-267, 1-1243, 7-227, 7-272, 7-284, 7-307, 8-228, 8-276, 11-270, 11-527, 11-548, 11-611, 11-615, 15-268, 42-284, 42-638, 45-670, 46-336, 49-726, 59-346, 173-741, 199-687, 203-624, 222-518, 286-548, 286-551, 290-459, 298-875, 326-905, 343-645, 400-833, 407-950, 420-968, 429-939, 430-652, 438-872, 440-721, 445-667, 472-763, 493-704, 493-975, 509-713, 509-972, 517-696, 520-765, 524-714, 525-738, 558-863, 590-677, 617-937, 617-1173, 617-1205, 637-924, 672-957, 718-944, 747-985, 773-999, 774-974, 789-947, 803-976, 824-1243, 894-1243, 978-1243, 979-1245, 990-1243, 1001-1243, 1004-1152, 1004-1236, 1010-1243, 1040-1243, 1063-1247, 1064-1158, 1073-1203, 1120-1240, 1160-1247
111/7500898CB1/ 1379	1-227, 1-267, 1-1378, 6-593, 7-227, 7-272, 7-276, 8-228, 8-288, 11-270, 15-268, 42-276, 110-360, 277-418, 277-834, 285-864, 302-604, 359-792, 366-909, 379-927, 388-898, 389-611, 397-831, 399-680, 404-626, 431-722, 441-1164, 452-663, 452-934, 468-672, 468-997, 476-655, 477-1075, 479-724, 483-673, 484-697, 517-822, 517-1036, 549-636, 576-896, 596-883, 605-1210, 631-916, 670-1041, 677-903, 680-1234, 706-938, 706-1294, 733-933, 748-906, 762-956, 764-1304, 770-1229, 789-1073, 813-1371, 824-1090, 850-1372, 850-1374, 885-938, 887-1376, 909-1364, 912-1245, 912-1346, 912-1379, 925-1360, 925-1365, 926-1367, 934-1346, 939-1365, 945-1368, 947-1378, 963-1355, 967-1364, 983-1365, 987-1345, 988-1184, 988-1325, 990-1371, 995-1364, 997-1374, 1007-1362, 1010-1372, 1018-1373, 1033-1364, 1042-1360, 1046-1368, 1050-1364, 1055-1374, 1056-1346, 1098-1365, 1098-1379, 1109-1365, 1120-1364, 1123-1271, 1123-1355, 1129-1377, 1129-1379, 1159-1379, 1182-1358, 1183-1277, 1192-1322, 1239-1359, 1279-1373

10

20

30

【表 4 - 2 5】

表 4-25

ポリヌクレオチド SEQ ID NO/ Incyte ID/配列 長	配列断片
112/7500912CBI/ 907	1-627, 82-215, 98-881, 103-192, 132-810, 203-762, 215-318, 215-325, 215-345, 215-385, 215-414, 215-420, 215-431, 215-449, 215-458, 215-459, 215-465, 215-467, 215-470, 215-476, 215-490, 215-664, 215-695, 215-720, 215-803, 215-810, 215-855, 216-434, 217-810, 218-606, 219-771, 220-801, 221-864, 222-876, 232-803, 234-782, 244-793, 245-557, 249-712, 253-657, 255-789, 267-498, 277-529, 284-581, 293-803, 295-480, 295-570, 300-556, 300-604, 300-862, 303-744, 304-593, 305-849, 306-691, 309-875, 310-843, 312-594, 312-608, 318-585, 319-417, 321-602, 323-586, 325-600, 333-543, 333-583, 335-847, 336-598, 337-567, 338-598, 343-798, 346-588, 346-751, 349-436, 350-843, 355-847, 356-619, 356-629, 356-843, 358-733, 360-603, 361-592, 367-733, 370-591, 370-766, 370-882, 380-570, 380-792, 380-849, 386-582, 386-596, 388-841, 388-843, 392-849, 394-868, 397-660, 397-843, 397-864, 397-865, 397-891, 400-832, 400-860, 400-863, 401-876, 402-849, 402-897, 403-849, 405-614, 407-708, 409-742, 412-894, 415-664, 415-745, 415-760, 416-842, 417-665, 418-868, 419-864, 423-547, 426-878, 428-681, 428-829, 428-881, 429-846, 432-635, 437-677, 437-879, 439-647, 439-843, 440-863, 442-877, 443-907, 444-858, 448-683, 449-664, 452-656, 452-796, 452-843, 452-864, 454-660, 456-866, 461-840, 467-724, 467-846, 469-842, 469-866, 470-855, 471-722, 471-843, 472-673, 472-717, 475-687, 475-688, 475-704, 475-843, 477-605, 477-860, 478-904, 482-679, 482-862, 486-722, 487-846, 488-865, 490-739, 494-761, 495-754, 498-752, 502-846, 502-848, 506-723, 507-842, 507-844, 508-704, 512-846, 513-779, 513-860, 519-720, 519-758, 521-818, 529-794, 535-735, 540-774, 546-800, 546-808, 566-712, 570-843, 581-801, 585-860, 586-807, 596-841, 599-877, 602-863, 604-847, 608-866, 613-869, 618-821, 621-839, 621-843, 621-871, 622-730, 634-843, 642-803, 651-873, 653-884, 654-863, 662-863, 662-868, 668-853, 684-903, 699-818, 701-817, 702-864, 721-904, 727-863, 739-801, 739-844, 744-837, 744-850, 751-846, 768-860

10

20

30

【表 4 - 2 6】

表 4-26

ポリヌクレオチド SEQ ID NO/ Incyte ID/配列 長	配列断片
113/7505851CBI/ 1391	1-271, 2-1198, 63-242, 99-243, 106-243, 109-365, 117-243, 126-243, 126-275, 430-516, 433-657, 433-746, 433-781, 433-916, 433-1064, 438-520, 475-789, 520-962, 521-634, 521-698, 521-720, 521-722, 521-724, 521-731, 521-734, 521-743, 521-747, 521-748, 521-758, 521-771, 521-774, 521-787, 521-788, 521-790, 521-799, 521-801, 521-809, 521-812, 521-819, 521-822, 521-846, 521-1000, 521-1007, 521-1019, 521-1021, 521-1080, 521-1082, 522-753, 522-811, 523-914, 523-1067, 524-790, 524-909, 527-1080, 528-1061, 530-812, 530-826, 532-900, 536-803, 537-635, 537-640, 539-820, 540-764, 541-804, 543-670, 543-818, 543-865, 549-748, 551-733, 551-761, 551-801, 553-776, 553-1065, 554-660, 554-810, 554-816, 555-785, 555-861, 556-816, 560-765, 560-817, 561-1016, 564-806, 564-846, 564-969, 565-778, 566-806, 566-896, 567-654, 567-861, 567-1101, 567-1107, 567-1179, 567-1185, 568-1061, 573-818, 573-1065, 574-837, 574-1061, 576-951, 577-848, 578-821, 579-810, 581-826, 585-951, 588-809, 588-910, 588-984, 588-1041, 594-725, 598-788, 598-809, 598-822, 598-884, 598-1010, 598-1067, 603-944, 604-800, 604-814, 606-1059, 606-1061, 610-1067, 612-1082, 613-878, 615-878, 615-1061, 615-1082, 618-1050, 618-1078, 618-1081, 619-1080, 620-1082, 621-880, 621-1067, 623-832, 625-926, 626-881, 626-908, 627-960, 628-1067, 630-1082, 633-882, 633-963, 633-978, 634-833, 634-1060, 635-883, 636-1082, 637-885, 637-1122, 637-1191, 640-1067, 641-765, 644-1080, 646-899, 646-1047, 646-1082, 647-1064, 648-1064, 650-853, 653-1059, 653-1064, 655-895, 655-1082, 657-865, 657-1061, 658-1081, 660-1082, 661-1075, 661-1082, 662-1076, 664-1183, 666-901, 667-882, 670-874, 670-911, 670-1014, 670-1061, 670-1089, 672-878, 674-1082, 679-1058, 685-942, 685-1064, 686-915, 687-1060, 687-1082, 688-1073, 689-940, 689-1061, 690-891, 690-935, 693-905, 693-906, 693-922, 693-1061, 695-823, 695-1078, 696-1079, 700-897, 700-1080, 704-940, 705-1064, 705-1065, 706-1082, 708-877, 708-957, 711-1028, 712-979, 713-972, 716-970, 720-1064, 720-1066, 724-941, 725-1060, 725-1062, 726-922, 726-923, 730-1064, 731-997, 731-1078, 736-1391, 737-938, 737-976, 739-1036, 742-1145, 747-1012, 753-953, 754-1064, 758-992, 764-1018, 764-1026, 777-1198, 784-930, 788-1061, 789-1067, 796-1061, 799-1019, 799-1060, 799-1067, 803-1078, 804-1025, 814-1059, 817-1082, 820-1081, 822-1065, 826-1082, 831-1082, 832-1042, 836-1039, 839-1057, 839-1061, 839-1082, 852-1061, 860-1021, 869-1082, 871-1082, 872-1081, 875-1067, 878-1060, 880-982, 880-1081, 880-1082, 886-1071, 900-1053, 902-1082, 917-1036, 919-1035, 920-1082, 921-1077, 939-1061, 945-1081, 957-1019, 957-1062, 962-1055, 962-1068, 969-1064, 969-1185, 989-1060, 1002-1307, 1016-1300, 1041-1198

10

20

30

【表 4 - 27】

表 4-27

ポリヌクレオチド SEQ ID NO/ Incyte ID/配列 長	配列断片
114/7503696CBI/ 3579	1-275, 1-499, 1-3494, 413-678, 413-912, 413-925, 831-1170, 860-1128, 865-1357, 934-1337, 1032-1168, 1050-1398, 1084-1539, 1084-1540, 1084-1541, 1084-1544, 1084-1553, 1084-1559, 1084-1562, 1084-1564, 1084-1566, 1084-1568, 1084-1572, 1084-1574, 1085-1561, 1087-1559, 1089-1570, 1092-1561, 1092-1574, 1093-1545, 1093-1566, 1098-1563, 1099-1544, 1100-1561, 1101-1561, 1102-1544, 1119-1335, 1431-1585, 1445-2061, 1445-2065, 1445-2067, 1445-2095, 1445-2124, 1445-2231, 1445-2271, 1445-2284, 1446-2061, 1469-1925, 1469-1958, 1537-2075, 1537-2248, 1538-2161, 1538-2169, 1538-2187, 1538-2259, 1539-2209, 1669-2434, 1708-2247, 1712-2425, 1719-2434, 1752-2425, 1781-2367, 1845-2434, 1951-2358, 2070-2425, 2133-2426, 2766-3024, 2766-3281, 2776-3436, 2779-3190, 2782-3400, 2786-3316, 2803-3424, 2805-3396, 2825-3399, 2833-3470, 2842-3463, 2846-3321, 2863-3353, 2866-3380, 2868-3473, 2883-3460, 2888-3384, 2888-3476, 2902-3445, 2904-3500, 2908-3299, 2938-3525, 2938-3554, 2946-3445, 2948-3523, 2950-3558, 3018-3579, 3022-3480, 3031-3553, 3086-3538, 3093-3484, 3146-3497, 3155-3518, 3204-3463

10

20

30

【表 5 - 1】

表 5-1

ポリヌクレオチド SEQ ID NO:	Incyte プロジエクト ID:	代表的ライブラリ
58	1318936CB1	OVARDIR01
59	033784CB1	TESTNOF01
60	4160218CB1	ADRENOT14
61	7501989CB1	THPLNOT03
62	7500695CB1	BLADTUT04
63	7502088CB1	TLYJTXF01
64	7198825CB1	MUSLDR02
65	71863981CB1	BRAHTDR03
66	7500513CB1	HEARNOT01
67	7501080CB1	293TF4T01
68	3144878CB1	HNT2AZS07
69	7502112CB1	SKINDIA01
70	7502788CB1	TLYJTXN01
71	7500171CB1	LUNGNON07
72	7500172CB1	CERVNOT01
73	7500899CB1	FIBPFEN06
74	7500916CB1	TYMNOT08
75	7502479CB1	PROSTUS23
76	3015057CB1	BONRFEC01
77	6303570CB1	NERDTON03
78	7501579CB1	ISLTNOT01
79	7503812CB1	BRSTTUT01
80	7503970CB1	BRAHNON05
81	2578986CB1	KIDNTUT13
82	7503786CB1	BRAXNOA01
83	7505684CB1	BRSTTUT08
84	302635CB1	TESTNOC01
85	4757551CB1	CORPNOT02
86	7503157CB1	PLACNOB01

10

20

【 0 5 6 1 】

【表 5 - 2】

表 5-2

87	7503702CB1	UTRENOT10
88	72096217CB1	BLADNOT05
89	7503620CB1	CARGDIT01
90	7503621CB1	CARGDIT01
91	7503624CB1	CARGDIT01
92	7503625CB1	CARGDIT01
93	7503627CB1	BRAITUT03
94	7505744CB1	KERANOT02
95	7503712CB1	BRAHNON05
96	7503713CB1	BRAHNON05
97	7502225CB1	BRAHNON05
98	7502778CB1	BRSTNOT24
99	7503699CB1	UTRENOT10
100	6026715CB1	TESTNOT03
101	7503631CB1	CARGDIT01
102	7503664CB1	CARGDIT01
103	7504812CB1	ADRETUR01
104	7504996CB1	KERANOT02
105	7377279CB1	ESOGTUE01
106	2060984CB1	BRAINON01
107	4085993CB1	SMCCNOS01
108	6756305CB1	UTRSTMR01
109	7504842CB1	BSTMNON02
110	7500901CB1	FIBPFEN06
111	7500898CB1	FIBPFEN06
112	7500912CB1	TYLMNNT08
113	7505851CB1	TYLMNNT08
114	7503696CB1	TYLMNNT08

10

20

【 0 5 6 2 】

表 6-1

ライブラリ	ベクター	ライブラリの説明
293TF4T01	pINCY	ライブラリは、e2f1 および dp1 で形質移入された、腎臓上皮組織由来の形質転換胚性細胞株(293-EBNA)から単離した RNA を用いて作製した。これら細胞はアデノウイルス 5 DNA で形質転換した。
ADRENOT14	pINCY	ライブラリは無酸素症で死亡した 8 才の黒人男子から採取した副腎組織から単離した RNA を用いて作製した。
ADRETUR01	PCDNA2.1	このランダムプライムされたライブラリは、52 才の白人男性の腎尿管膀胱切除と腎臓病変の局所的破壊時に左上極副腎腫瘍組織から単離した RNA を用いて作製した。病理学検査では、グレード 3 の副腎皮質癌が副腎実質組織のほとんど全体に浸潤し、隣接の脂肪組織まで伸びた塊を形成しているのが見られた。転移性の腫瘍結節が門部に同定された。腎臓の静脈は腫瘍で浸潤されており、新生物形成過程が腎臓静脈の切除した縁に存在した。副腎皮質癌の断片及び血栓が下大静脈に見つけられた。患者の病歴には異常な体重減少が含まれる。家族歴には皮膚癌、1 型糖尿病、及び神経症性鬱病が含まれていた。
BLADNOT05	pINCY	ライブラリは、根治的膀胱切除、前立腺除去および輸精管切除手術時に 60 才白人男性から取り除かれた膀胱組織から単離された RNA を用いて作製された。随伴する腫瘍組織の病理学検査では、グレード 3 転移性細胞癌が見られた。ドームと三角部に原位癌が同定された。患者の病歴には喫煙がある。
BLADTUT04	pINCY	ライブラリは、根治的膀胱切除、前立腺除去および輸精管切除時に 60 才白人男性から取り除かれた膀胱腫瘍組織から単離された RNA を用いて作製された。病理は左膀胱壁にグレード 3 の移行上皮癌が見られた。ドームと三角部に原位癌が同定された。患者の病歴には喫煙がある。家族歴には 1 型糖尿病、胃の悪性新生物、アテローム性冠動脈疾患および急性心筋梗塞がある。
BONRFEC01	pINCY	この大型分画のライブラリは妊娠 20 週にてパーセントリミーで死亡した白人男子胎児から採取した肋骨組織から単離した RNA を用いて作製した。血清検査は陰性だった。

10

20

30

【表 6 - 2】

表 6-2

ライブラリ	ベクター	ライブラリの説明
BRAHNON05 pINCY		このノーマライズした海馬組織ライブラリは、海馬組織ライブラリの160万個の独立クローンから作製した。開始 RNA は、心不全で死亡した35才の白人男性から採取した後部海馬から作製した。病理検査では、中程度の軟膜線維症と大脳新皮質の複数微小梗塞が見られた。大脳半球は、焦点石灰沈着を伴う、中程度の軟膜線維症と判明した。大脳半球全体に、縮んだわずかに好酸性の難性ニューロンの形跡があった。神経膠症を伴う、顕微鏡的小部分の空洞化が大脳皮質全体に散在的に見られた。患者の病歴には、心筋症、CHF、心肥大、脾臓と肝臓の肥大がある。患者の使用薬剤には、シメチコン、ラシックス、ジゴキシン、コラース、ザンタック、キヤプトプリルおよびバソプテックが含まれる。このライブラリは、極めて長時間(48時間/1回)の再アニーリングによるハイブリダイゼーションを用いた他は、Soares 他, PNAS (1994) 91:9228 および Bonaldi 他, Genome Research 6(1996) 791 を適用した条件を用いて2回にわたりノーマライズした。
BRAHTR03 pCDNA2.1		このランダムプライムしたライブラリは、胆管癌で死亡した55才白人女性から切除した旧皮質、前海馬組織から単離した RNA を用いて作製された。病理は、円蓋部全体に優勢な軽度の髄膜線維形成があり、帯状皮質白質および視床に軸索球状体が散在し、嗅内皮質および中脳水道灰白質領域に、少数の神経原線維変化が散在した。随伴する腫瘍組織の病理は、残存腫瘍または再発性腫瘍を持つ高分化型の肝臓胆管癌を示した。患者の病歴には、胆管癌、術後パッド・キアーリ症候群、胆汁性腹水、水胸症、脱水症、栄養不良、乏尿、および急性腎不全がある。過去の手術には、胆嚢切除術および、肝臓の85%の摘除がある。
BRAINON01 PSPORT1		ライブラリは或る脳組織ライブラリからの488万の独立クローンから作製し、ノーマライズした。RNA は26才の白人男性の頭蓋形成および髄膜病変の切除時に採取された脳組織から作製した。随伴腫瘍組織の病理は、脳の右前頭頂部におけるグレード4の乏突起星細胞腫を示した。極めて長時間(48時間)の再アニーリングによるハイブリダイゼーションを用いたことを除いては、ノーマライズ条件およびハイブリダイズ条件には、Soares 他, PNAS (1994) 91:9228 を適用した。

表 6-3

ライブラリ	ベクター	ライブラリの説明
BRAITUT03	PSPORT1	ライブラリは、17才の白人女性の脳腫瘍病変の切除時に、左前頭葉から採取した脳腫瘍組織から単離したRNAを用いて作製した。病理学検査では、グレード4の線維性巨大および小量状細胞腫が見られた。家族歴には良性の高血圧および脳血管系疾患がある。
BRAXNOA01	PSPORT1	この増幅されたライブラリは、心臓麻痺で死亡した35歳の白人男性から採取した感覚運動皮質組織から分離したRNAを使用して作製された。病理検査では、中程度の軟膜線維症と大脳新皮質の複数微小梗塞が見られた。顕微的に、大脳半球は、焦点石灰沈着を伴う、中程度の軟膜線維症と判明した。大脳半球全体に、縮んだわずかに好酸性の錐体ニューロンの形跡があった。大脳皮質全体に散在して、周囲に神経膠症を伴う空洞発生の複数の小さな微視的領域があった。当患者の病歴には、拡張型心筋症、鬱血性心不全、心肥大、及び肥大した脾臓と肝臓が含まれる。
BRSTNOT24	pINCY	ライブラリは46才の白人女性の両側皮下乳腺切除術時に採取した羅病乳房組織から単離したRNAを用いて作製した。病理は非増殖性繊維囊胞性疾患(乳腺症)を示した。家族歴には、乳癌および心疾患がある。
BRSTTUT01	PSPORT1	ライブラリは55才の白人女性の片側性拡大単純乳房切除時に採取した乳房腫瘍組織から単離したRNAを用いて作製した。病理は侵襲度4の、左乳房を大きく含む、小葉状、管状を混合した乳腺癌を示した。腫瘍は乳管近くの深い真皮に見られ、皮膜外への伸展(extracapsular extension)を伴っていた。7箇所の中位および低位の、また5箇所の高位の腋窩リンパ節が腫瘍に陽性を示した。増殖性繊維囊胞性変化は、アポクリン異形成、硬化性腺症、囊胞形成および非異型性管過形成を特徴としていた。患者の病歴には心房性頻脈、血便、および良性乳房新生物が含まれていた。家族歴には、良性高血圧症、アテローム性冠動脈疾患、脳血管疾患および抑鬱性疾患が含まれる。

表 6-4

ライブラリ	ベクター	ライブラリの説明
BRSTTUT08	pINCY	ライブラリは 45 才の白人女性の片側性乳大単純乳房切除時に採取した乳房腫瘍組織から単離した RNA を用いて作製した。病理は浸潤性核グレード 2~3 の腺癌(尿管)があり、23 個のリンパ節が転移疾患陽性であった。腫瘍の容積の 50%以上が原位置にあり、面胞型および非面胞型の両方があった。免疫染色はエストロゲン/プロゲステロン受容体に対して陽性であり、癌のない組織は増殖変化を示していた。患者は同時に複式子宮全摘手術を受けた。患者の病歴は、交換を伴わない僧房弁形成術、リュウマチ性僧房弁不全およびリュウマチ性心臓病があった。家族歴には急性心筋梗塞、アテローム硬化型冠動脈疾患および II 型糖尿病がある。
BSTMNON02	PSPORT1	このノーマライズした脳幹ライブラリは、脳幹ライブラリの 284 万個の独立性クローンから作製した。開始 RNA は心筋梗塞で死亡した 72 才の白人男性から採取した脳幹組織から作製した。患者の病歴には冠動脈疾患、インシュリン依存糖尿病および関節炎がある。ノーマライズ条件およびハイブリダイズ条件は、Soares 他 (PNAS (1994) 91:9228) を適用した。(PNAS (1994) 91:9228)。
CARGDIT01	pINCY	ライブラリは罹患軟骨脳組織から単離した RNA を用いて作製した。患者の病歴には、骨関節炎がある。
CERVNOT01	PSPORT1	ライブラリは 35 才の白人女性の、掻爬を伴った膣式子宮摘出時の、子宮頸部の組織から単離した RNA を用いて作製した。病理検査は、軽度の慢性子宮頸管炎を示した。家族歴にはアテローム冠動脈疾患、および II 型糖尿病がある。
CORPNOT02	pINCY	ライブラリはアルツハイマー病で死亡の 74 才の白人男性の脳から除去した罹患脳梁組織から単離した RNA を用いて作製した。

10

20

30

【表 6 - 5】

表 6-5

ライブラリ	バクター	ライブラリの説明
ESOGTUE01	pINCY	<p>この5'に偏向してランダムプライムされたライブラリは、61才の白人男性の食道部分切除、近位胃切除、幽門筋切開、および所属リンパ節切除時に取り除いた食道腫瘍組織から単離した RNA を用いて作製した。病理検査は、食道での浸潤性でグレード3の腺癌を示し、遠位に伸長して胃食道接合部に至っていた。腫瘍は筋層を通過して食道周囲と胃周囲の軟組織に及んでいた。胃周囲の1つのリンパ節と食道周囲の2つのリンパ節が腫瘍に陽性であった。胃周囲と食道周囲に複数の腫瘍転移(tumor implants)があった。患者は欠乏性貧血と脊髄形成異常を示した。患者の病歴は高脂質血症と、共に寛解期にあるタバコ濫用とアルコール濫用があった。以前の骨髄吸引では、アデノイド扁桃摘出術、造鼻術、精管切除、および痔切除があった。以前の骨髄吸引では、その年齢としては骨髄が細胞過多であり、実質/脂肪比(cellularity-to-fat ratio)が95:5であった。骨髄は限局的かつ高密度に線維性であった。顆粒球前駆体は、正常な成熟と共にわずかに増加していた。</p>
FIBPFEN06	pINCY	<p>芽細胞の推定は5%超であった。巨核球は増加しており、クラスター状に異型に見えた。貯蔵細胞と肉芽腫はなかった。患者の服用薬剤にはEpoetin, Danocrine, Berocca Plus 錠剤, Selenium, ビタミンB6 リン酸, ビタミンEとビタミンC、βカロチンが含まれる。家族歴としては、父親にアルコール濫用、アテローム性冠動脈疾患、タイプII糖尿病、慢性肝臓病、および特発性心筋症があり、母親に良性高血圧症と脳血管病がある。</p> <p>ノーマライズされた前立腺間質性線維芽細胞組織ライブラリは、或る前立腺線維芽細胞ライブラリからの156万個の独立クローンから作製した。開始RNAは妊娠26週間後死亡の男子胎児から採取した前立腺間質の線維芽細胞から作製した。このライブラリは、極めて長時間(48時間/1回)の再アニーリングによるハイブリダイゼーションを用いた他は、Soares 他, PNAS (1994) 91:9228 および Bonaldo 他, Genome Research (1996) 6:791 を適応した条件を用いて2回にわたりノーマライズした。このライブラリは次のようにして、クローンを含む挿入断片用を選択するために直線化し、再度環状にした。プラスミドDNAは軟寒天形質転換後にノーマライズした前立腺間質線維芽細胞組織ライブラリからの約100万個のクローンから調製した。</p>
HEARNOT01	PBLUESCRIP T	<p>ライブラリは、頭蓋内出血で死亡した56才白人男性の心臓全体の組織から単離された RNA を用いて作製された。</p>

【表 6 - 6】

表 6-6

ライブラリ	バクダー	ライブラリの説明
HNT2AZS07	PSPORT1	このサブトラクシオンライブラリは、0.35 ミクロモルの AZ で3日間処理した hNT2 細胞系 (分化決定済み (committed) の神経前駆体の特性を示すヒト奇形癌腫に由来する) から単離された RNA から作製した。サブトラクシオン用ハイブリダイゼーションプロトコルは未処理の hNT2 細胞から同様に作製されたライブラリに由来する。AZ 処理ライブラリからの 308 万のクローンには、未処理のライブラリからの 304 万のクローンとのサブトラクシオンハイブリダイゼーションを3回行った。サブトラクシオンハイブリダイゼーションの条件は Swaroop 他(1991)NAR 19 :1954 および Bonaldo 他(1996)Genome Research 6 :791 の方法に基づいたものである。
ISLTNOT01	pINCY	ライブラリはプールした腺癌細胞のコレクションから単離した RNA を用いて作製した。
KERANOT02	PSPORT1	ライブラリは表皮性乳房角化細胞 (NHEK) から単離された RNA を用いて作製した。NHEK (Clontech #CC-2501) は、30 才の黒人女性から乳房縮小手術中に採取したヒト乳房角化細胞株である。
KIDNTUT13	pINCY	ライブラリは 51 才の白人女性の腎尿管切除時に採取した腎臓腫瘍組織から単離した RNA を用いて作製した。病理検査では、グレード 3 の腎臓細胞癌を示した。患者の病歴には、鬱病性障害、低血糖症、および子宮内臓症がある。家族歴には、腎臓の結石、大腸癌、および II 型糖尿病がある。
LUNGNON07	pINCY	このノーマライズした肺組織ライブラリは、或る肺組織ライブラリの 510 万個の独立クローンから作製した。開始 RNA の作製は、肺組織から単離した RNA から行った。このライブラリは、極めて長時間(48 時間/1 回)の再アニーリングによるハイブリダイゼーションを用いた他は、Soares 他、PNAS (1994) 91:9228-9232 及び Bonaldo 他、Genome Research (1996) 6:791 を適用した条件を用いて 2 回にわたりノーマライズした。

10

20

30

【表 6 - 7】

表 6-7

ライブラリ	ベクター	ライブラリの説明
MUSLTD02	PCDNA2.1	このランダムプライムしたライブラリは 58 才白人男性の右後大腿の広範な切除時に摘出した右下腿筋組織から単離した RNA を用いて作製した。病理は、残存腫瘍が右後大腿軟部組織に無いことを示した。変化は過去の生検部位と一致した。軟部組織と筋肉とを通る断面に 1 つの平滑な嚢胞腔があり、出血が片側の辺縁部に在った。嚢胞腔は平滑で淡黄褐色であった。マツチする腫瘍組織の病理は、グレード 2 の脂肪肉腫を示した。患者の病歴は脂肪肉腫(右大腿)と高コレステロール血症がある。過去の手術は右大腿腫瘍の切除がある。家族歴は、心筋梗塞と詳細不明の稀な血液病がある。
NERDTD03	pINCY	このノーマライズされた後根神経節組織のライブラリは、或る後根神経節組織ライブラリの 105 万の独立クローンから作製した。開始 RNA は、急性肺水腫、急性気管支肺炎、両側性胸膜滲出、心嚢液貯留、及び悪性リンパ腫 (ナチュラルキラー細胞タイプ) で死亡した 32 才の白人男性の頸椎から除去した後根神経節組織から作製された。当患者には、原因不明の発熱、倦怠感、疲労、及び胃腸出血があった。患者の病歴には、推定サイトメガロウイルス感染、肝臓鬱血、脂肪肝、脾腫、出血性膀胱炎、甲状腺出血、呼吸不全、左肺の肺炎、咽頭のナチュラルキラー細胞リンパ腫、ベル麻痺、及びタバコとアルコールの濫用等がある。過去の手術には、結腸内視鏡、閉鎖型結腸生検、アデノイド口蓋扁桃摘出、鼻咽腔内視鏡検査および生検等がある。患者の薬物療法には、Diflucan (fluconazole)、Deliasone (prednisone)、hydrocodone, Lorlab, アルブアラゾラム (Alprazolam)、Reazodone、ProMace-Cytibom、Etoposide、シスプラチン (Cisplatin)、シタラピン (Cytarabine)、及びデキサメタゾン (dexamethasone) 等がある。当患者は放射線療法及び複数の輸血を受けた。このライブラリは、極めて長時間(48 時間/一回)の再アニーリングによるハイブリダイゼーションを用いたことを除いては、Soares 他, PNAS (1994) 91:9228 および BonaI do 他, Genome Research (1996) 6:791 を適応した条件を用いて 2 回にわたりノーマライズした。

表 6-8

ライブラリ	ベクター	ライブラリの説明
OVARDIR01	PCDNA2.1	このランダムブライムライブラリは、45才の白人女性の腹式子宮全摘出、両側卵巣摘出、膈懸垂と固定化、および付随的虫垂切除時に除去した右卵巣組織から単離した RNA を用いて作製した。病理は、左右卵巣の間質性卵巣炎膜癌を示した。一致する腫瘍組織の病理検査では、左の卵巣に類皮嚢胞（良性嚢胞性奇形腫）があった。複数（3）の壁内平滑筋腫が同定された。頸部は扁平上皮化生を示した。患者の履歴には、不正子宮出血、女性緊張性尿失禁、脱毛症、抑鬱病、肺炎、正常分娩および欠乏性貧血が含まれる。家族歴には、良性高血圧、アテローム性冠動脈疾患、高脂血症、および結核性初期変化群（primary tuberculous complex）がある。
PLACNOB01	PBLUESCRIP ^T	ライブラリは、胎盤から単離した RNA を用いて作製した。
PROSTUS23	pINCY	サブトラクシオンされた前立腺腫瘍ライブラリは、或るプールされた前立腺組織ライブラリの1000万のクローンとの2回のサブトラクシオンハイブリダイゼーションにかけられた、或るプールされた前立腺腫瘍ライブラリの1000万のクローンをを用いて作製した。サブトラクシオンを開始ライブラリは、58才（A）、61才（B）、66才（C）、および68才（D）の白人男子からリンパ節切除を伴う前立腺摘除時に採取した前立腺腫瘍から単離した mRNA を用いた4個の前立腺腫瘍ライブラリから等しい数のクローンをプールすることによって作製した。病理はすべてのドナーにおいて腺癌を示した。病理は、ドナーAでは、PSAの上昇、硬結およびタバコの癌用、ドナーBはPSAの上昇、硬結、前立腺肥厚、腎不全、骨関節炎、腎動脈狭窄、良性のHIV、血小板減少症、高脂血症、タバコ/アルコール癌用、およびC型肝炎（キャリア）、ドナーCは、PSAの上昇、硬結およびタバコの癌用、また、ドナーDは、PSAの上昇、硬結、高コレステロール血症および腎結石である。サブトラクシオン ハイブリダイゼーションプロトコルは、前立腺組織、前立腺上皮細胞および三人のドナーによる前立腺ストロマからの線維芽細胞から由来する3個の組織ライブラリから得られた同じ数のcDNAクローンをプールすることによって作製した。サブトラクシオンハイブリダイゼーションの条件は Swaroop 他, <i>NAR</i> 19 (1991):1954 および Bonaldo 他 <i>Genome Research</i> 6 (1996):791 の方法に基づいたものである。
SKINDIA01	PSPORT1	この増幅したライブラリは皮膚生検時に女性1人、男性4人から採取した罹患皮膚組織から単離した RNA を用いて作製した。病理は類結核らいいおよびらい腫型らいいを示した。

【表 6 - 9】

表 6-9

ライブラリ	ベクター	ライブラリの説明
SMCCNOS01	pINCY	このサブトラクシオンした冠状動脈平滑筋細胞ライブラリは或る冠状動脈平滑筋細胞ライブラリの 7.56 X 10 ⁶ のクローンを用いて作製し、第二の冠状動脈平滑筋細胞ライブラリの 6.12 X 10 ⁶ のクローンとの 48 時間 2 回のサブトラクシオンハイブリダイゼーションにかけた。サブトラクシオン開始ライブラリは、3 才の白人男子から切除した冠状動脈平滑筋細胞群から単離した RNA を用いて作製した。細胞は TNF α と IL-1 β 各 10ng/ml で 20 時間処理した。サブトラクシオンハイブリダイゼーションプロープは同じドナーからの無処理の冠状動脈平滑筋細胞群から単離された RNA から同様に作製されたライブラリから得られた。サブトラクシオンハイブリダイゼーションの条件は Swaroop 他 (NAR 19 (1991):1954)および Bonaudo 他 (Genome Research 6 (1996):791-806)の方法に基づいたものである。
TESTNOC01	PBLUESCRIP T	この大型分画のライブラリは、11 例の、10 才から 61 才の白人男性のプーアルからの精巣組織から単離した RNA を使用して作製された。
TESTNOF01	PSPORT1	この 5'キヤップの単離された完全長ライブラリは、自動車事故による頭部外傷で死亡した 26 歳の白人男性の精巣組織から単離された RNA を用いて作製された。血清検査は陰性だった。患者の病歴には、誕生時のヘルニア、タバコの使用 (1日1.5箱)、マリファナの使用および毎日のアルコール飲用 (ビールと蒸留酒)があった。
TESTNOT03	PBLUESCRIP T	ライブラリは肝疾患で死亡した 37 才の白人男性から採取した精巣組織から単離した RNA を用いて作製した。患者の病歴には、肝硬変、黄疸、肝不全があった。
THPINOT03	pINCY	ライブラリは、無処理 THP-1細胞から単離した RNA を用いて作製した。THP-1は、急性単球性白血病的 1才白人男児の末梢血に由来するヒト前単球株である (参照: Int. J. Cancer (1980) 26:171)。
TLYJTXF01	pRARE	この 5'キヤップの単離された完全長ライブラリは、ある男性の T細胞由来の処理した Jurkat 細胞株から単離した RNA を用いて作製された。細胞は 5nM の PMA と 50ng/ml のイオノマイシンで 1時間処理した。患者の病歴には急性 T細胞白血病が含まれる。

10

20

30

表 6-10

ライブラリ	ベクター	ライブラリの説明
TLXJTXN01	pRARE	このノーマライズしたジャーカット細胞株ライブラリは、処理済みのジャーカット細胞株ライブラリの独立クローンから作製した。開始 RNA は或る 1 人の男性の T 細胞由来の処理したジャーカット細胞株から作製された。細胞は 0.1 μM の PMA で 30 分間処理した。患者の病歴には急性 T 細胞白血病が含まれる。このライブラリは、極めて長時間(48 時間/一回)の再アニーリングによるハイブリダイゼーションを用いたことを除いては、Seares 他, PNAS (1994) 91:9228 および Bonaldo 他, Genome Research (1996) 6:791 を適応した条件を用いて 1 回でノーマライズした。
TLYMNOI08	pINCY	ライブラリは、成人(40 - 50 才)の白人男性から抽出したアネルギー(無感作)性同種異系(aneurigenic) T リンパ球組織から単離された RNA を用いて作製した。この細胞を 1 ミクログラム/ml の OKT3 mAb と 5 % のヒト血清の存在下で 3 日間インキュベートした。
UTREN0T10	pINCY	ライブラリは、子宮内膜生検時に 3 人の成人女性から採取したプールされた子宮内膜組織から単離した RNA を用いて作製した。病理学的検査では正常の子宮内膜を示した。3 人の患者すべては β 3 インテグリンに陽性であった。
UTRSTMR01	pINCY	ライブラリは 41 才の白人女性の膣式子宮摘出時に除去された子宮筋層組織から単離した RNA を用いて作製した。子宮内膜は分泌性であり、子宮内膜ポリープの断片が含まれていた。随伴する腫瘍組織の病理学検査では、子宮平滑筋腫が見られた。患者の病歴には腹部ヘルニアおよび良性の卵巣腫瘍がある。

10

20

30

【表 7 - 1】

表7-1

プログラム	説明	参考文献	パラメータ 閾値
ABI FACTURA	核酸配列においてベクター配列を除去し、 て、あいまいな塩基をマスクするプログラム	Applied Biosystems, Foster City, CA.	
ABI/PARACEL FDF	Fast Data Finder。アミノ酸配列または核酸配列の比較および注釈付けに有用である。	Applied Biosystems, Foster City, CA; Paracel Inc., Pasadena, CA.	不一致<50%
ABI AutoAssembler	核酸配列をアセンブリするプログラム。	Applied Biosystems, Foster City, CA.	
BLAST	Basic Local Alignment Search Tool。アミノ酸配列および核酸配列の配列類似性検索に有用である。BLASTにはblastn, blastx, tblastnおよびtblastxの5つの機能がある。	Aitschul, S.F. 他 (1990) J. Mol. Biol. 215:403-410, Aitschul, S.F. 他 (1997) Nucleic Acids Res. 25:3389-3402.	EST:確立値=1.0E-8以下完全長配列:確率値=1.0E-10以下
PASTA	問合せ配列と同種の配列群との類似性を検索するPearson およびLipman アルゴリズム。FASTAには最少5つの機能(fasta, ifasta, fastx, ifastxおよびssearch)がある。	Pearson, W. R. 及びD. J. Lipman (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:2444-2448, Pearson, W. R. (1990) Methods Enzymol. 183:63-98, Smith, T. F. 及びM. S. Waterman (1981) Adv. Appl. Math. 2:482-489.	ESTs:fasta E値= 1.06E-6アセンブリされたESTs:fasta同一性=95%以上、一致長さ=200塩基以上、fastx E値=1.0E-8以下、全長fastx スコア= 100以上
BLIMPS	配列をBLOCKS、PRINTS、DOMO、PRODOMおよびPFAM データベースの配列と対応させて遺伝子ファミリー、同姓および構造的フィンガープリント領域を検索するBLocks IMProved Searcher。	Henikoff, S. 及びJ. G. Henikoff (1991) Nucleic Acids Res. 19:6565-6572, Henikoff, J. G. 及びS. Henikoff (1996) Methods Enzymol. 266:88-105, Attwood, T. K. 他. (1997) J. Chem. Inf. Comput. Sci. 37:417-424.	確率値= 1.0E-3以下
IMMER	PFAM、INCY、SMARTおよびTIGRFAMのようなタンパク質ファミリーコンセンサス配列の隠れマルコフモデル(HMM)に基づいたデータベースに対して問合せ配列を検索するアルゴリズム。	Krogh, A. 他. (1994) J. Mol. Biol. 235:1501-1531; Sonnhammer, E. L. L. 他 (1998) Nucleic Acids Res. 26:320-322; Durbin, R. 他. (1998) Our World View, in a Nutshell, Cambridge Univ. Press, 1-350.	PFAM、INCY、SMARTあるいはTIGRFAMヒット確率値= 1.0E-3以下、シグナルペプチドヒット:スコア=0以上

【表 7 - 2】

表7-2

プログラム	説明	参考文献	パラメータ閾値
ProfileScan	Prosieで定義された配列パターンと一致するタンパク質配列内の構造的モチーフおよび配列モチーフを検索するアルゴリズム。	Gribskov, M. 他(1988) CABIOS 4:61-66, Gribskov, M. 他(1989) Methods Enzymol.183:146-159, Bairoch, A. 他. (1997) Nucleic Acids Res. 25:217-221. Ewing, B. 他(1998) Genome Res. 8:175-185, Ewing, B. および P. Green(1998) Genome Res. 8:186-194.	標準化された質のスコア≧特定の Prosie モチーフに対するGGG指定[HIGH]値 一般的に、スコア=1.4-2.1.
Phred	高い感度と確率で自動配列決定機トレースを調べるベースコーティングアルゴリズム。	Ewing, B. 他(1998) Genome Res. 8:175-185, Ewing, B. および P. Green(1998) Genome Res. 8:186-194.	
Phrap	Smith-Waterman アルゴリズムの効率的なインプリメンテーションに基づくSWATや CrossMatchを含むPhils Revised Assembly プログラムで、配列相同性の検索やDNA配列のアセンブリに有用である。	Smith, T.F. 及び M.S. Waterman (1981) Adv. Appl. Math. 2:482-489; Smith, T.F. 及び M.S. Waterman (1981) J. Mol. Biol. 147:195-197; および Green, P., University of Washington, Seattle, WA.	スコア=120以上、一致した長さ=56以上
Consed	Phrapアセンブリの表示および編集用グラフィカルツール。	Gordon, D. 他(1998) Genome Res. 8:195-202.	
SPScan	タンパク質配列をスキャンして、分泌シグナルペプチドの存在を調べる重み行列解析プログラム。	Nielson, H. 他 (1997) Protein Engineering 10:1-6; Claverie, J.M. 及び S. Audic (1997) CABIOS 12:431-439.	スコア=3.5以上
TMAP	重み行列を用いて蛋白配列での膜貫通セグメントを描写し配向を決定するプログラム。	Persson, B. および P. Argos (1994) J. Mol. Biol. 237:182-192, Persson, B. および P. Argos (1996) Protein Sci. 5:363-371.	
TMMMER	隠れMarkov モデル(HMM)を使ってタンパク質配列上の膜貫通セグメントを描写し、配向を決定するプログラム。	Sonnhammer, E.L. 他(1998) Proc. Sixth Intl. Conf. On Intelligent Systems for Mol.Biol., Glasgow 他. 編集, The Am. Assoc. for Artificial Intelligence (AAAI) Press, Menlo Park, CA., MIT Press, Cambridge, MA, 175-182ページ。	
74Motifs	Prosieで定義された配列と一致したバターのアミノ酸配列を検索するプログラム。	Bairoch, A. 他(1997) Nucleic Acids Res. 25:217-221, Wisconsin Package Program Manual, 第9版, M51-59ページ, Genetics Computer Group, Madison, WI.	

10

20

30

40

【配列表】

2005521382000001.app

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US02/31095
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
IPC(7) : C07K 1/00; A61K 39/00; C12Q 1/00; G01N 33/53 US CL : 530/350; 424/184.1,185.1;435/4,7.1 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) U.S. : 530/350; 424/184.1,185.1;435/4,7.1		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) MEDLINE, STN, US PATENT DATABASE OF SEQUENCES (SEQ ID NO:1)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A,P	WO 02/48368A2 (INCYTE GENOMICS, INC) 20 June 2002 (20.06.2002) entire document.	1-2, 17-27, 56
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents:		
"A"	document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"E"	earlier application or patent published on or after the international filing date	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"L"	document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"O"	document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&" document member of the same patent family
"P"	document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	
Date of the actual completion of the international search 21 March 2003 (21.03.2003)	Date of mailing of the international search report 16 APR 2003	
Name and mailing address of the ISA/US Commissioner of Patents and Trademarks Box PCT Washington, D.C. 20231 Facsimile No. (703)305-3230	Authorized officer Gary B. Nickel Ph.D.	Telephone No. 703-308-0196

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US02/31095

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 1 of first sheet)

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

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

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of Item 2 of first sheet)This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:
Please See Continuation Sheet

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.: **1-2, 17-27, 56-112 (SEQ ID No:1)**

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

PCT/US02/31095

BOX II. OBSERVATIONS WHERE UNITY OF INVENTION IS LACKING

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be examined, the appropriate additional examination fees must be paid.

Groups 1, claim(s) 1-2, 17-27, 56-112, drawn to the special technical feature of isolated polypeptides selected from the group consisting of one polypeptide of SEQ ID Nos: 1-57 and corresponding methods of use.

Groups 2, claim(s) 3-10, 12-16, 28-29, 46-55, 113-169, drawn to the special technical feature of isolated polynucleotides selected from the group consisting of one polynucleotide of SEQ ID Nos: 58-114 and corresponding methods of use.

Groups 3, claim(s) 11, 30-45, drawn to the special technical feature of isolated antibodies which selectively bind to one polypeptide of SEQ ID Nos: 1-57 and corresponding methods of use.

This application contains claims directed to more than one species of the generic invention. These species are deemed to lack unity of invention because they are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1.

In order for more than one species to be examined, the appropriate additional examination fees must be paid. The species are as follows:

SEQ ID Nos: 1-114.

The claims are deemed to correspond to the species listed above in the following manner:

Group 1 corresponds to one polypeptide selected from the group consisting of SEQ ID Nos: 1-57

Group 2 corresponds to one polynucleotide selected from the group consisting of SEQ ID Nos: 58-114

Group 3 corresponds to one antibody specific for one polypeptide selected from the group consisting of SEQ ID Nos: 1-57

The following claim(s) are generic: 1-55.

The inventions listed as Groups 1-3 do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons: Groups 1-3 encompass different special technical features as identified in the groupings above. The inventions listed above do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because under unity of invention between different categories of inventions unity of invention will only be found to exist if specific combinations of inventions are present. Those combinations include:

- A) A product and a special process of manufacture of said product.
- B) A product and a process of use of said product.
- C) A product, a special process of manufacture of said product, and a process of use of said product.
- D) A process and an apparatus specially designed to carry out said process.
- E) A product, a special process of manufacture of said product, and an apparatus specially designed to carry out said process.

The allowed combinations do not include multiple products, and multiple methods of using said products, as claimed in the instant application. Since multiple products and multiple methods with different special technical features are claimed, the first invention of the category first mentioned in the claims of the application will be considered as the main invention in the claims, see PCT article 17(3) (a) and 1.476 (c), 37 C.F.R. 1.475(d). Accordingly, Groups 1-3 are not so linked as to form a single general inventive concept and restriction is proper.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

PCT/US02/31095

Additionally, the species listed above do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, the species lack the same or corresponding special technical features for the following reasons: Each species has a different special technical feature which encompasses distinct products that impart different biological functions and uses and represent separate and distinct molecules with different structures and functions such that one species could not be interchanged with the other.

フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 P 1/18	A 6 1 P 3/00	4 B 0 6 5
A 6 1 P 3/00	A 6 1 P 3/10	4 C 0 8 4
A 6 1 P 3/10	A 6 1 P 5/00	4 H 0 4 5
A 6 1 P 5/00	A 6 1 P 5/06	
A 6 1 P 5/06	A 6 1 P 5/14	
A 6 1 P 5/14	A 6 1 P 5/40	
A 6 1 P 5/40	A 6 1 P 7/00	
A 6 1 P 7/00	A 6 1 P 7/04	
A 6 1 P 7/04	A 6 1 P 7/06	
A 6 1 P 7/06	A 6 1 P 7/08	
A 6 1 P 7/08	A 6 1 P 9/00	
A 6 1 P 9/00	A 6 1 P 9/10	
A 6 1 P 9/10	A 6 1 P 9/10	1 0 1
A 6 1 P 11/00	A 6 1 P 11/00	
A 6 1 P 11/06	A 6 1 P 11/06	
A 6 1 P 13/08	A 6 1 P 13/08	
A 6 1 P 15/00	A 6 1 P 15/00	
A 6 1 P 15/08	A 6 1 P 15/08	
A 6 1 P 15/10	A 6 1 P 15/10	
A 6 1 P 17/00	A 6 1 P 17/00	
A 6 1 P 17/02	A 6 1 P 17/02	
A 6 1 P 17/06	A 6 1 P 17/06	
A 6 1 P 19/02	A 6 1 P 19/02	
A 6 1 P 19/06	A 6 1 P 19/06	
A 6 1 P 19/10	A 6 1 P 19/10	
A 6 1 P 21/00	A 6 1 P 21/00	
A 6 1 P 21/04	A 6 1 P 21/04	
A 6 1 P 25/00	A 6 1 P 25/00	
A 6 1 P 25/02	A 6 1 P 25/02	
A 6 1 P 25/08	A 6 1 P 25/02	1 0 3
A 6 1 P 25/14	A 6 1 P 25/08	
A 6 1 P 25/16	A 6 1 P 25/14	
A 6 1 P 25/18	A 6 1 P 25/16	
A 6 1 P 25/20	A 6 1 P 25/18	
A 6 1 P 25/22	A 6 1 P 25/20	
A 6 1 P 25/28	A 6 1 P 25/22	
A 6 1 P 27/02	A 6 1 P 25/28	
A 6 1 P 27/06	A 6 1 P 27/02	
A 6 1 P 27/12	A 6 1 P 27/06	
A 6 1 P 27/16	A 6 1 P 27/12	
A 6 1 P 29/00	A 6 1 P 27/16	
A 6 1 P 31/00	A 6 1 P 29/00	
A 6 1 P 31/04	A 6 1 P 29/00	1 0 1
A 6 1 P 31/10	A 6 1 P 31/00	
A 6 1 P 31/12	A 6 1 P 31/04	
A 6 1 P 31/18	A 6 1 P 31/10	
A 6 1 P 33/00	A 6 1 P 31/12	

A 6 1 P 33/02	A 6 1 P 31/18	
A 6 1 P 35/00	A 6 1 P 33/00	
A 6 1 P 37/02	A 6 1 P 33/02	
A 6 1 P 37/04	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 37/06	A 6 1 P 37/02	
A 6 1 P 37/08	A 6 1 P 37/04	
A 6 1 P 39/02	A 6 1 P 37/06	
A 6 1 P 43/00	A 6 1 P 37/08	
C 0 7 K 14/47	A 6 1 P 39/02	
C 0 7 K 16/18	A 6 1 P 43/00	1 1 1
C 1 2 M 1/00	C 0 7 K 14/47	
C 1 2 N 1/15	C 0 7 K 16/18	
C 1 2 N 1/19	C 1 2 M 1/00	A
C 1 2 N 1/21	C 1 2 N 1/15	
C 1 2 N 5/10	C 1 2 N 1/19	
C 1 2 N 15/02	C 1 2 N 1/21	
C 1 2 P 21/02	C 1 2 P 21/02	C
C 1 2 P 21/08	C 1 2 P 21/08	
C 1 2 Q 1/68	C 1 2 Q 1/68	A
G 0 1 N 33/15	G 0 1 N 33/15	Z
G 0 1 N 33/50	G 0 1 N 33/50	Z
G 0 1 N 33/53	G 0 1 N 33/53	D
G 0 1 N 37/00	G 0 1 N 33/53	M
	G 0 1 N 37/00	1 0 2
	C 1 2 N 5/00	A
	C 1 2 N 15/00	C
	C 1 2 N 15/00	F
	A 6 1 K 37/02	

- (31)優先権主張番号 60/329,690
(32)優先日 平成13年10月12日(2001.10.12)
(33)優先権主張国 米国(US)
- (31)優先権主張番号 60/348,165
(32)優先日 平成13年10月26日(2001.10.26)
(33)優先権主張国 米国(US)
- (31)優先権主張番号 60/345,384
(32)優先日 平成13年10月26日(2001.10.26)
(33)優先権主張国 米国(US)
- (31)優先権主張番号 60/350,219
(32)優先日 平成13年11月2日(2001.11.2)
(33)優先権主張国 米国(US)
- (31)優先権主張番号 60/344,518
(32)優先日 平成13年11月9日(2001.11.9)
(33)優先権主張国 米国(US)
- (31)優先権主張番号 60/345,143
(32)優先日 平成13年11月9日(2001.11.9)
(33)優先権主張国 米国(US)
- (31)優先権主張番号 60/332,375
(32)優先日 平成13年11月16日(2001.11.16)
(33)優先権主張国 米国(US)

- (31)優先権主張番号 60/336,908
 (32)優先日 平成13年12月3日(2001.12.3)
 (33)優先権主張国 米国(US)
- (31)優先権主張番号 60/340,747
 (32)優先日 平成13年12月7日(2001.12.7)
 (33)優先権主張国 米国(US)
- (81)指定国 AP(GH,GM,KE,LS,MW,MZ,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT, BE,CH,CY,DE,DK,ES,FI,FR,GB,GR,IE,IT,LU,MC,NL,PT,SE,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN, TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ,EC,EE,ES,FI,GB,GD,GE, GH,GM,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KP,KR,KZ,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LV,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MZ,NO,NZ,OM,PH, P L,PT,RO,RU,SD,SE,SG,SI,SK,SL,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VN,YU,ZA,ZM,ZW
- (72)発明者 ボーグン、マライア・アール
 アメリカ合衆国カリフォルニア州9 4 5 7 7・サンレアンドロ・サンティアゴロード 1 4 2 4 4
- (72)発明者 ベチャ、シャニア・ディー
 アメリカ合衆国カリフォルニア州9 4 5 4 6・カストロバレー・# 1 1 7・ゲイリードライブ 2
 1 0 6 2
- (72)発明者 ボロースキー、マーク・エル
 アメリカ合衆国カリフォルニア州9 4 0 6 1・レッドウッドシティ・オーチャードアベニュー 1
 2 2
- (72)発明者 チョーラ、ナリンダー・ケイ
 アメリカ合衆国カリフォルニア州9 4 5 8 7・ユニオンシティ・# 7 1 2・ユニオンスクエア 3
 3
- (72)発明者 エリオット、ビッキー・エス
 アメリカ合衆国カリフォルニア州9 5 1 2 1・サンノゼ・ポルトンブレイスウェイ 3 7 7 0
- (72)発明者 エマーリング、ブルック・エム
 アメリカ合衆国カリフォルニア州9 4 3 0 3・パロアルト・# 7 1・ウッドランドアベニュー 1
 7 3 5
- (72)発明者 ガンディー、アミーナ・アール
 アメリカ合衆国カリフォルニア州9 4 1 1 8・サンフランシスコ・フィフスアベニュー 7 0 5
- (72)発明者 ギーツェン、キンバリー・ジェイ
 アメリカ合衆国カリフォルニア州9 5 1 2 3・サンノゼ・ロスウエコスドライブ 6 9 1
- (72)発明者 ゴーバッド、アン・イー
 アメリカ合衆国カリフォルニア州9 4 5 5 0・リバモア・マリーコモン 3 6 9
- (72)発明者 グリフィン、ジェニファー・エイ
 アメリカ合衆国カリフォルニア州9 4 5 5 5・フレモント・メローウェイ 3 3 6 9 1
- (72)発明者 ハファリア、エープリル・ジェイ・エイ
 アメリカ合衆国カリフォルニア州9 5 0 5 4・サンタクララ・コーレデプリマベータ 2 2 2 7
- (72)発明者 アイソン、クレイグ・エイチ
 アメリカ合衆国カリフォルニア州9 5 1 1 8・サンノゼ・ウェザーズフィールドウェイ 1 2 4 2
- (72)発明者 ケーブル、エイミー・イー
 アメリカ合衆国カリフォルニア州9 4 1 0 9・サンフランシスコ・# 4・ポークストリート 2 3
 4 5
- (72)発明者 カラフス、ダニエル・ピー
 アメリカ合衆国カリフォルニア州9 4 1 2 1・サンフランシスコ・トゥエンティフィフスアベニ
 ュー 5 5 1
- (72)発明者 レーア・メイソン、パトリシア・エム
 アメリカ合衆国カリフォルニア州9 5 0 1 4・モーガンヒル・クラークレーン 3 6 0
- (72)発明者 リュ、デュング・アイナ・エム

- アメリカ合衆国カリフォルニア州 9 5 1 2 3 ・ サンノゼ ・ コイドライブ 2 3 3
- (72)発明者 マーキス、ジョセフ・ピー
アメリカ合衆国カリフォルニア州 9 5 1 3 5 ・ サンノゼ ・ レイジーレーン 4 4 2 8
- (72)発明者 ニュエン、ダニエル・ピー
アメリカ合衆国カリフォルニア州 9 5 1 1 1 ・ サンノゼ ・ アルニカコート 4 9 2 2
- (72)発明者 ランクマール、ジャヤラクシミ
アメリカ合衆国カリフォルニア州 9 4 5 5 5 ・ フレモント ・ メイバードサークル 3 4 3 5 9
- (72)発明者 リチャードソン、トマス・ダブリュ
アメリカ合衆国カリフォルニア州 9 4 0 6 2 ・ レッドウッドシティ ・ # 1 0 7 ・ キャニオンロード
6 1 6
- (72)発明者 カレス、ステファニー・ケイ
アメリカ合衆国カリフォルニア州 9 4 0 6 2 ・ レッドウッドシティ ・ ハイランドアベニュー 3 5
3 1
- (72)発明者 スウォーナカール、アニータ
アメリカ合衆国カリフォルニア州 9 4 1 2 2 ・ サンフランシスコ ・ # 5 ディー ・ ロックスリーアベ
ニュー 8
- (72)発明者 タング、ワイ・トム
アメリカ合衆国カリフォルニア州 9 5 1 1 8 ・ サンノゼ ・ ランウィックコート 4 2 3 0
- (72)発明者 トラン、ユエン・ケイ
アメリカ合衆国カリフォルニア州 9 5 1 3 3 ・ サンノゼ ・ メイブリースクエア 2 6 3 8
- (72)発明者 ワレン、ブリジット・エイ
アメリカ合衆国カリフォルニア州 9 4 0 2 4 ・ エンシニタス ・ # ビー 1 0 3 ・ サウスエルカミーノ
レアル 1 8 1 0
- (72)発明者 スー、ユーミング
アメリカ合衆国カリフォルニア州 9 4 0 4 0 ・ マウンテンビュー ・ ウォルナットドライブ 1 7 3
9
- (72)発明者 ヤオ、モニーク・ジー
アメリカ合衆国インディアナ州 4 6 0 3 3 ・ カメル ・ ウッドゲートドライブ 1 1 8 9
- (72)発明者 ユエ、ヒュイピン
アメリカ合衆国カリフォルニア州 9 5 0 1 4 ・ クーペルティエーノ ・ サウスステリングロード 1 1
7 0
- (72)発明者 ユエ、ヘンリー
アメリカ合衆国カリフォルニア州 9 4 0 8 7 ・ サニーベイル ・ ルイスアベニュー 8 2 6
- F ターム(参考) 2G045 AA34 AA35 CB01 DA13 DA14 FB02 FB03
4B024 AA01 AA11 BA44 BA80 CA04 CA09 CA11 GA11 HA12
4B029 AA23 BB20 CC03
4B063 QA18 QA19 QQ42 QQ52 QR08 QR55 QR62 QR82 QS25 QS34
QS39
4B064 AG27 CA10 CA19 CA20 CC24 DA01 DA13
4B065 AA93Y AB01 AC14 BA02 CA24 CA25 CA44 CA46
4C084 AA01 AA02 AA06 AA07 AA17 BA01 BA08 BA22 BA23 CA18
DC50 NA14 ZA01 ZA02 ZA05 ZA06 ZA15 ZA16 ZA18 ZA20
ZA24 ZA33 ZA34 ZA36 ZA45 ZA51 ZA53 ZA55 ZA59 ZA66
ZA75 ZA81 ZA89 ZA94 ZA96 ZA97 ZB05 ZB09 ZB11 ZB13
ZB26 ZB27 ZB33 ZB35 ZB37 ZB38 ZC03 ZC04 ZC06 ZC08
ZC21 ZC31 ZC35 ZC37 ZC54 ZC55
4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 BA10 CA40 DA76 DA86 EA20 EA50
FA72 FA74

专利名称(译)	细胞生长，分化和细胞死亡相关的蛋白质		
公开(公告)号	JP2005521382A	公开(公告)日	2005-07-21
申请号	JP2003530835	申请日	2002-09-26
[标]申请(专利权)人(译)	洞察Genomics公司		
申请(专利权)人(译)	洞察基因组公司		
[标]发明人	アジムザイヤルダ ボーグンマライアアール ベチャシャニアディー ポロースキーマークエル チョーラナリンダーケイ エリオットビッキーエス エマーリングブルックエム ガンディーアミーナアール ギーツエンキンバリージェイ ゴーバッドアンイー グリフィンジェニファーエイ ハファリアエープリルジェイエイ アイソクレイグエイチ ケーブルエイミーイー カラフスダニエルピー レアメysonパトリシアエム リュデュングアイナエム マーキスジョセフピー ニュエンダニエルビー ランクマールジャヤラクシミ リチャードソントマスダブリュ カレスステファニーケイ スウォーナカールアニータ タングワイトム トランユエンケイ ワレンブリジットエイ スーユーミング ヤオモニークジー ユエヒュイビン ユエヘンリー		
发明人	アジムザイ、ヤルダ ボーグン、マライア・アール ベチャ、シャニア・ディー ポロースキー、マーク・エル チョーラ、ナリンダー・ケイ エリオット、ビッキー・エス エマーリング、ブルック・エム ガンディー、アミーナ・アール ギーツエン、キンバリー・ジェイ ゴーバッド、アン・イー グリフィン、ジェニファー・エイ ハファリア、エープリル・ジェイ・エイ アイソン、クレイグ・エイチ ケーブル、エイミー・イー		

カラフス、ダニエル・ピー
 レーア・メイソン、パトリシア・エム
 リュ、デュング・アイナ・エム
 マーキス、ジョセフ・ピー
 ニュエン、ダニエル・ビー
 ランクマール、ジャヤラクシミ
 リチャードソン、トマス・ダブリュ
 カレス、ステファニー・ケイ
 スウォーナカール、アニー・タ
 タング、ワイ・トム
 トラン、ユエン・ケイ
 フレン、ブリジット・エイ
 スー、ユーミング
 ヤオ、モニー・ク・ジー
 ユエ、ヒュイビン
 ユエ、ヘンリー

IPC分类号 G01N33/50 A01K67/00 A61K38/00 A61K38/17 A61K39/00 A61K39/395 A61K45/00 A61P1/04 A61P1/16 A61P1/18 A61P3/00 A61P3/10 A61P5/00 A61P5/06 A61P5/14 A61P5/40 A61P7/00 A61P7/04 A61P7/06 A61P7/08 A61P9/00 A61P9/10 A61P11/00 A61P11/06 A61P13/08 A61P15/00 A61P15/08 A61P15/10 A61P17/00 A61P17/02 A61P17/06 A61P19/02 A61P19/06 A61P19/10 A61P21/00 A61P21/04 A61P25/00 A61P25/02 A61P25/08 A61P25/14 A61P25/16 A61P25/18 A61P25/20 A61P25/22 A61P25/28 A61P27/02 A61P27/06 A61P27/12 A61P27/16 A61P29/00 A61P31/00 A61P31/04 A61P31/10 A61P31/12 A61P31/18 A61P33/00 A61P33/02 A61P35/00 A61P37/02 A61P37/04 A61P37/06 A61P37/08 A61P39/02 A61P43/00 C07K1/00 C07K14/47 C07K14/475 C07K16/18 C12M1/00 C12N C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C12N15/02 C12N15/09 C12N15/12 C12N15/18 C12P21/02 C12P21/08 C12Q1/00 C12Q1/68 G01N33/15 G01N33/53 G01N37/00

CPC分类号 A61P1/04 A61P1/16 A61P1/18 A61P3/00 A61P3/10 A61P5/00 A61P5/06 A61P5/14 A61P5/40 A61P7/00 A61P7/04 A61P7/06 A61P7/08 A61P9/00 A61P9/10 A61P11/00 A61P11/06 A61P13/08 A61P15/00 A61P15/08 A61P15/10 A61P17/00 A61P17/02 A61P17/06 A61P19/02 A61P19/06 A61P19/10 A61P21/00 A61P21/04 A61P25/00 A61P25/02 A61P25/08 A61P25/14 A61P25/16 A61P25/18 A61P25/20 A61P25/22 A61P25/28 A61P27/02 A61P27/06 A61P27/12 A61P27/16 A61P29/00 A61P31/00 A61P31/04 A61P31/10 A61P31/12 A61P31/18 A61P33/00 A61P33/02 A61P35/00 A61P37/02 A61P37/04 A61P37/06 A61P37/08 A61P39/02 A61P43/00 A01K67/00 A61K38/00 A61K38/17 A61K39/00 A61K45/00 C07K16/18 C12Q1/6886 C12Q2600/158 C07K1/00 C07K14/47 C07K14/475 C12N1/00 C12N5/10 C12P21/02 C12Q1/00 G01N33/5011 G01N33/5014 G01N33/574 G01N33/6893 G01N33/6896 G01N2500/04 G01N2500/10 G01N2500/20 G01N2800/2821 G01N2800/7028 G01N33/50 G01N33/53

FI分类号 C12N15/00.ZNA.A A61K45/00 A61P1/04 A61P1/16 A61P1/18 A61P3/00 A61P3/10 A61P5/00 A61P5/06 A61P5/14 A61P5/40 A61P7/00 A61P7/04 A61P7/06 A61P7/08 A61P9/00 A61P9/10 A61P9/10.101 A61P11/00 A61P11/06 A61P13/08 A61P15/00 A61P15/08 A61P15/10 A61P17/00 A61P17/02 A61P17/06 A61P19/02 A61P19/06 A61P19/10 A61P21/00 A61P21/04 A61P25/00 A61P25/02 A61P25/02.103 A61P25/08 A61P25/14 A61P25/16 A61P25/18 A61P25/20 A61P25/22 A61P25/28 A61P27/02 A61P27/06 A61P27/12 A61P27/16 A61P29/00 A61P29/00.101 A61P31/00 A61P31/04 A61P31/10 A61P31/12 A61P31/18 A61P33/00 A61P33/02 A61P35/00 A61P37/02 A61P37/04 A61P37/06 A61P37/08 A61P39/02 A61P43/00.111 C07K14/47 C07K16/18 C12M1/00.A C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12P21/02.C C12P21/08 C12Q1/68.A G01N33/15.Z G01N33/50.Z G01N33/53.D G01N33/53.M G01N37/00.102 C12N5/00.A C12N15/00.C C12N15/00.F A61K37/02

F-TERM分类号 2G045/AA34 2G045/AA35 2G045/CB01 2G045/DA13 2G045/DA14 2G045/FB02 2G045/FB03 4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/BA44 4B024/BA80 4B024/CA04 4B024/CA09 4B024/CA11 4B024/GA11 4B024/HA12 4B029/AA23 4B029/BB20 4B029/CC03 4B063/QA18 4B063/QA19 4B063/QQ42 4B063/QQ52 4B063/QR08 4B063/QR55 4B063/QR62 4B063/QR82 4B063/QS25 4B063/QS34 4B063/QS39 4B064/AG27 4B064/CA10 4B064/CA19 4B064/CA20 4B064/CC24 4B064/DA01 4B064/DA13 4B065/AA93Y 4B065/AB01 4B065/AC14 4B065/BA02 4B065/CA24 4B065/CA25 4B065/CA44 4B065/CA46 4C084/AA01 4C084/AA02 4C084/AA06 4C084/AA07 4C084/AA17 4C084/BA01 4C084/BA08 4C084/BA22 4C084/BA23 4C084/CA18 4C084/DC50 4C084/NA14 4C084/ZA01 4C084/ZA02 4C084/ZA05

4C084/ZA06 4C084/ZA15 4C084/ZA16 4C084/ZA18 4C084/ZA20 4C084/ZA24 4C084/ZA33 4C084/ZA34 4C084/ZA36 4C084/ZA45 4C084/ZA51 4C084/ZA53 4C084/ZA55 4C084/ZA59 4C084/ZA66 4C084/ZA75 4C084/ZA81 4C084/ZA89 4C084/ZA94 4C084/ZA96 4C084/ZA97 4C084/ZB05 4C084/ZB09 4C084/ZB11 4C084/ZB13 4C084/ZB26 4C084/ZB27 4C084/ZB33 4C084/ZB35 4C084/ZB37 4C084/ZB38 4C084/ZC03 4C084/ZC04 4C084/ZC06 4C084/ZC08 4C084/ZC21 4C084/ZC31 4C084/ZC35 4C084/ZC37 4C084/ZC54 4C084/ZC55 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/CA40 4H045/DA76 4H045/DA86 4H045/EA20 4H045/EA50 4H045/FA72 4H045/FA74

優先権

60/326389 2001-09-28 US
 60/328186 2001-10-05 US
 60/327380 2001-10-05 US
 60/329690 2001-10-12 US
 60/348165 2001-10-26 US
 60/345384 2001-10-26 US
 60/350219 2001-11-02 US
 60/344518 2001-11-09 US
 60/345143 2001-11-09 US
 60/332375 2001-11-16 US
 60/336908 2001-12-03 US
 60/340747 2001-12-07 US

外部链接

[Espacenet](#)

摘要(译)

本发明的各种实施方案提供了细胞增殖，分化和细胞死亡相关的人蛋白（CGDD）和鉴定和编码CGDD的多核苷酸。本发明的实施方案还提供表达载体，宿主细胞，抗体，激动剂和拮抗剂。另一个实施方案还提供用于诊断，治疗或预防与CGDD的异常表达相关的疾病的方法。

表1-1

Incyte プロジェクト ID	Incyte ポリペプチド SEQ ID NO:	Incyte ポリペプチド SEQ ID NO:	Incyte ポリペプチド SEQ ID NO:	Incyte 変体 ID	Incyte 変体名
1318936	1	1318936CD1	58	1318936CBI	580089CA2
033784	2	033784CD1	59	033784CBI	816828CA2, 9013330CA2, 9013331CA2, 9013332CA2, 9013334CA2, 9013340CA2, 9013341CA2, 9013344CA2
4160218	3	4160218CD1	60	4160218CBI	272249CA2
7501989	4	7501989CD1	61	7501989CBI	
7500695	5	7500695CD1	62	7500695CBI	
7502088	6	7502088CD1	63	7502088CBI	
7198625	7	7198625CD1	64	7198625CBI	
71863981	8	71863981CD1	65	71863981CBI	
7500513	9	7500513CD1	66	7500513CBI	90021353CA2, 90021385CA2, 90021453CA2, 90021571CA2
7501080	10	7501080CD1	67	7501080CBI	
3144878	11	3144878CD1	68	3144878CBI	
7502112	12	7502112CD1	69	7502112CBI	
7502788	13	7502788CD1	70	7502788CBI	
7500171	14	7500171CD1	71	7500171CBI	