

(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2005-525788

(P2005-525788A)

(43) 公表日 平成17年9月2日(2005.9.2)

(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 2 G O 4 5
A 6 1 K 38/00	A 6 1 K 39/395	D 4 B O 2 4
A 6 1 K 39/395	A 6 1 K 39/395	N 4 B O 2 9
A 6 1 K 45/00	A 6 1 K 45/00	4 B O 5 0
A 6 1 P 3/00	A 6 1 P 3/00	4 B O 6 3
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 297 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2003-544177 (P2003-544177)	(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26日 (2004.5.26)		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/US2002/031096		
(87) 国際公開番号	W02003/042357	(74) 代理人	100089266
(87) 国際公開日	平成15年5月22日 (2003.5.22)		弁理士 大島 陽一
(31) 優先権主張番号	60/326,388	(72) 発明者	ヤング、ジュンミン
(32) 優先日	平成13年9月28日 (2001.9.28)		アメリカ合衆国カリフォルニア州95129・サンノゼ・パークレーン 7125
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(72) 発明者	リュ、デュング・アイナ・エム
(31) 優先権主張番号	60/328,979		アメリカ合衆国カリフォルニア州95123・サンノゼ・コイドライブ 233
(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	60/346,034		
(32) 優先日	平成13年10月19日 (2001.10.19)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		
最終頁に続く			

(54) 【発明の名称】 酵素

(57) 【要約】

本発明の多様な実施様態は、ヒトの酵素 (ENZM) 群および、ENZMを同定し、コードするポリヌクレオチド群を提供する。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。他の実施様態はENZM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 (k) 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:1-53 (配列番号 1 乃至 53) 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:2、SEQ ID NO:8-9、SEQ ID NO:11-13、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:29-34、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:50 から成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

(c) SEQ ID NO:4 および SEQ ID NO:23 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 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 10

(d) SEQ ID NO:10 および SEQ ID NO:35 から成る群から選択された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含むポリペプチド

(e) SEQ ID NO:17 から選択した或るアミノ酸配列に対して少なくとも 94% 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) SEQ ID NO:37 および SEQ ID NO:53 から成る群から選択された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

(g) SEQ ID NO:39 および SEQ ID NO:49 からなる群から選択された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

(h) SEQ ID NO:47 および SEQ ID NO:51 から成る群から選択されたアミノ酸配列に対して少なくとも 91% 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

(i) SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:42-43、SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:52 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 90% 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) SEQ ID NO:1-53 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

(k) SEQ ID NO:1-53 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】

SEQ ID NO:1-53 からなる群から選択したアミノ酸配列を含む、請求項 1 に記載の単離されたポリペプチド。 30

【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:54-106 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】

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。 40

【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 に記載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 に記載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、

(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:1-53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 (u) 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:54-106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

10

(b) SEQ ID NO:54-57、SEQ ID NO:60-70、SEQ ID NO:73-89、SEQ ID NO:91-93、SEQ ID NO:97、SEQ ID NO:106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:58 のポリヌクレオチド配列に対して少なくとも 98% が同一であるような天然ポリヌクレオチド配列を持つポリヌクレオチド

(d) SEQ ID NO:71 の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

(e) SEQ ID NO:72 および SEQ ID NO:90 から成る群から選択されたポリヌクレオチド配列に対して少なくとも 91% 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

20

(f) SEQ ID NO:102 のポリヌクレオチド配列に対して少なくとも 93% 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

(g) SEQ ID NO:100 のポリヌクレオチド配列に対して少なくとも 96% 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

(h) SEQ ID NO:101 および SEQ ID NO:103 から成る群から選択されたポリヌクレオチド配列に対して少なくとも 97% 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

(i) SEQ ID NO:104 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

(j) SEQ ID NO:94-96、SEQ ID NO:98-99、SEQ ID NO:105 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

30

(k) (a) のポリヌクレオチドに相補的なポリヌクレオチド

(l) (b) のポリヌクレオチドに相補的なポリヌクレオチド

(m) (c) のポリヌクレオチドに相補的なポリヌクレオチド

(n) (d) のポリヌクレオチドに相補的なポリヌクレオチド

(o) (e) のポリヌクレオチドに相補的なポリヌクレオチド

(p) (f) のポリヌクレオチドに相補的なポリヌクレオチド

(q) (g) のポリヌクレオチドに相補的なポリヌクレオチド

(r) (h) のポリヌクレオチドに相補的なポリヌクレオチド

40

(s) (i) のポリヌクレオチドに相補的なポリヌクレオチド

(t) (j) 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

(u) (a) ~ (t) 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。

【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 2

50

0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、SEQ ID NO:1-53からなる群から選択されたアミノ酸配列を持つことを特徴とする、請求項17に記載の組成物。

【請求項19】

機能的ENZM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】

機能性ENZM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に記載の成分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ENZMの過剰発現に関連する疾患や病態の治療方法であって、そのような治療が必要な患者に請求項24の組成物を投与する過程を含むことを特徴とする治療方法。

【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、 10

(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。

【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、 20

(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。

【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 に記載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】

生体サンプル中の ENZM の発現に関連する症状または疾患に対する診断試験法であって、 40

(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、

(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 3 2】

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 3 3】

被検者のENZMの発現に関連する病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 3 4】

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 3 5】

被検者のENZMの発現に関連する病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。 10

【請求項 3 6】

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:1-53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:1-53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 3 7】

20

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 3 8】

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 3 9】

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:1-53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、 30

(d) 前記ハイブリドーマ細胞を培養する過程と、

(e) SEQ ID NO:1-53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 4 0】

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 4 1】

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 4 2】

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。 40

【請求項 4 3】

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 4 4】

SEQ ID NO:153を有す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:153からなる群か 50

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。

【請求項 4 5】

SEQ ID NO:1-53 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:1-53 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、該基板上の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、該基板上の固有の物理的位置の各々は、該基板上の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。

10

20

30

40

50

【請求項 5 6】	
SEQ ID N0:1のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。	
【請求項 5 7】	
SEQ ID N0:2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 N0:3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 N0:4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 N0:5のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。	10
【請求項 6 1】	
SEQ ID N0:6のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。	
【請求項 6 2】	
SEQ ID N0:7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 N0:8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 N0:9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 N0:10のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。	20
【請求項 6 6】	
SEQ ID N0:11のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。	
【請求項 6 7】	
SEQ ID N0:12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 N0:13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 N0:14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 N0:15のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。	30
【請求項 7 1】	
SEQ ID N0:16のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。	
【請求項 7 2】	
SEQ ID N0:17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 N0:18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 N0:19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 N0:20のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。	40
【請求項 7 6】	
SEQ ID N0:21のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。	
【請求項 7 7】	
SEQ ID N0:22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 N0:23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 N0:24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 N0:25のアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載のポリペプチド。	50

【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。	
【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。	10
【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。	
【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のアミノ酸配列を含む請求項 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。	20
【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。	
【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。	30
【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。	
【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のアミノ酸配列を含む請求項 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。	40
【請求項 1 0 1】	
SEQ ID NO:46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 2】	
SEQ ID NO:47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 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。	50

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。

SEQ ID NO:100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 6】

SEQ ID NO:101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 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。

10

【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。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

本発明は、新規の核酸およびこれらの核酸によりコードされた酵素に関する。本発明はまた、これらの核酸とタンパク質を利用した、自己免疫／炎症性の疾患、感染症、免疫不全症、代謝障害、生殖系疾患、神経系疾患、心血管疾患、眼疾患、及び癌等を含む細胞の異常増殖の診断・治療・予防に関する。本発明は更に、核酸および酵素の発現における、外因性化合物の効果についての評価に関する。

20

【背景技術】

【0 0 0 2】

生物発生と生分解の細胞過程には、酸化還元酵素、トランスフェラーゼ、ヒドロラーゼ、リアーゼ、イソメラーゼ、リガーゼその他多数の重要な酵素クラスが関与している。各酵素クラスは正確で高度に調節された機能を持つ多くの基質特異的酵素を含んでいる。酵素は、解糖、トリカルボン酸回路、および脂肪酸代謝のような代謝過程； アミノ酸、ステロイド、リン脂質、およびアルコールの合成または分解； 細胞シグナル伝達、増殖、炎症およびアポトーシス； DNA複製、修復および翻訳過程の重要な段階を触媒する。

【0 0 0 3】

酸化還元酵素

30

生物発生と生分解の多くの経路は、補助因子の還元または酸化とカップリングされた酸化還元酵素（デヒドロゲナーゼまたはレダクターゼ）を必要とする。補助因子として可能性があるのは、チトクローム、酸素、ジスルフィド、鉄硫黄タンパク質、フラビンアデニンジヌクレオチド（FAD）およびニコチンアミドアデニンジヌクレオチドNADおよびNADP等である(Newsholme, E.A.およびA.R. Leech(1983) Biochemistry for the Medical Sciences, John WileyおよびSons, Chichester, U. K. 779-793ページ)。レダクターゼ活性は基質と補助因子の間の電子の伝達（およびそれと同時に起こる補助因子の酸化）を触媒する。リバーシブルデヒドロゲナーゼの活性は補助因子の還元とそれに伴う基質の酸化を触媒する。酸化還元酵素は生物体の全ての細胞内の反応を触媒する広範囲のスーパーファミリーである。そうした反応としては糖の代謝、ある種の解毒反応、そして脂肪酸、アミノ酸、グリコルチコイド、エストロゲン、アンドロゲンおよびプロスタグランジンの合成または分解が含まれる。ファミリーメンバーの中には酸化還元酵素、オキシダーゼ、レダクターゼ、またはデヒドロゲナーゼと言及されるものがあり、サイトゾル、原形質膜、ミトコンドリアの内膜または外膜、ペルオキシソーム等の細胞内の特定の場所に存在する。

40

【0 0 0 4】

短鎖アルコールデヒドロゲナーゼ（SCAD）はわずか15%から30%の配列同一性しか共有していないデヒドロゲナーゼの或るファミリーである。類似しているのは主に補酵素結合ドメインと基質結合ドメインである。SCADはエタノールの解毒に役割を果たすほか、脂肪酸、ステロイドおよび一部のプロスタグランジンの合成と分解に関与しているため

50

、脂質貯蔵病、ミオパシー、S C A D 欠乏症、ある種の遺伝的疾患を含むさまざまな疾患に関連していると考えられている。たとえば、レチノールをレチノイン酸の前駆体であるレチナールに変換するレチノールデヒドロゲナーゼは S C A D ファミリのメンバーである (Simon, A. 他 (1995) J. Biol. Chem. 270:1107-1112)。分化とアポトーシスの調節因子であるレチノイン酸は細胞増殖と炎症に関与する遺伝子を下方調節することが明らかにされている (Chai, X. 他 (1995) J. Biol. Chem. 270:3900-3904)。さらに、レチノールデヒドロゲナーゼは常染色体劣性小児期発症網膜ジストロフィなどの遺伝性の眼病に関連付けられている (Simon, A. 他 (1996) Genomics 36:424-430)。膜結合コハク酸デヒドロゲナーゼ (コハク酸：キノンレダクターゼ、S Q R) およびフマル酸レダクターゼ (キノール：フマル酸レダクターゼ、Q F R) はコハク酸のフマル酸への酸化をキノンのキノールへの還元のカップリングさせ、その逆反応も触媒する。Q F R と S Q R 複合体はコハク酸：キノン酸化還元酵素 (EC 1.3.5.1) として総称され、類似した組成を持っている。これらの複合体は2つの親水性サブユニットおよび1つまたは2つの疎水性膜内在サブユニットからなっている。大きな親水性サブユニット A は共有結合したフラビンアデニンジヌクレオチドを持ち、サブユニット B は3つの鉄硫黄中心を持っている (Lancaster, C.R. および A. Kroger. (2000) Biochim. Biophys. Acta 1459:422-431)。ヒトの心臓のコハク酸デヒドロゲナーゼ (コハク酸：(アクセプター) 酸化還元酵素；EC 1.3.99.1) のフラビンタンパク質サブユニットの完全長 c D N A 配列は、システイントリプレットを含む点と活性部位が酵母や原核生物の S Q R に存在しない余分のシステインを含んでいる点でウシのコハク酸デヒドロゲナーゼに類似している (Morris, A. A. 他 (1994) Biochim. Biophys. Acta 29: 125-128)。

【0005】

神経インパルスの伝播、細胞増殖および分化の変調、免疫応答の誘発および組織恒常性には神経伝達物質の代謝が関与する (Weiss, B. (1991) Neurotoxicology 12:379-386; Collins, S.M. 他 (1992) Ann. N.Y. Acad. Sci. 664:415-424, Brown, J.K. および Imam, H. (1991) J. Inherit. Metab. Dis. 14:436-458)。神経伝達物質代謝の多くの経路は NAD^+/NADH などの補助因子の還元または酸化とカップリングされた酸化還元酵素活性を必要とする (Newsholme および Leech, 前出 779-793 ページ)。カテコールアミン (エピネフリンまたはノルエピネフリン) の分解にはアルコールデヒドロゲナーゼ (脳内) またはアルデヒドデヒドロゲナーゼ (末梢組織) が必要である。 NAD^+ 依存性アルデヒドデヒドロゲナーゼは脳、血小板、肝臓および肺内皮の 5 ヒドロキシインドール - 3 - 酢酸 (5 ヒドロキシトリプタミン (セロトニン) 代謝の産物) を酸化する (Newsholme, および Leech, 前出 786 ページ)。 NAD^+/NADH 依存酸化還元酵素活性を利用したその他の神経伝達物質分解経路としては L - D O P A (ドーパミンの前駆体、神経興奮化合物)、グリシン (脳および脊髄の抑制性神経伝達物質)、ヒスタミン (炎症反応時にマスト細胞から遊離)、およびタウリン (脳幹、脊髄および網膜の抑制性神経伝達物質) などがある (Newsholme および Leech, 前出 790, 792 ページ)。神経伝達物質代謝経路の後生的または遺伝的欠陥はパーキンソン病および遺伝性ミオクロームスなどの病気の原因となりうる (McCance, K.L. 及び S.E. Huether (1994) Pathophysiology, Mosby-Year Book, Inc., St. Louis, MO 402-404 ページ、及び Gundlach, A.L. (1990) FASEB J. 4:2761-2766)。

【0006】

テトラヒドロ葉酸はグルタミン酸分子の誘導体であり、キャリアとして作用し、プリン、プリミジン、アミノ酸のメチオニンの合成など、広範囲の生合成反応に活性化された 1 炭素ユニットを提供する。テトラヒドロ葉酸はテトラヒドロ葉酸シンターゼと呼ばれるホロ酵素複合体の活性によって生成されるが、これにはテトラヒドロ葉酸デヒドロゲナーゼ、テトラヒドロ葉酸シクロヒドラーゼおよびテトラヒドロ葉酸シンターゼの3つの酵素活性が含まれる。このようにして、テトラヒドロ葉酸デヒドロゲナーゼは細胞増殖に必須な核酸およびアミノ酸の構築要素を生成するのに重要な役目を果たす。

【0007】

3 ヒドロキシアシル C o A デヒドロゲナーゼ (3 H A C D) は脂肪酸の代謝に関与して

いる。この酵素は真核細胞のミトコンドリアおよびペルオキシソームにおいて3ヒドロキシシアシルCoAを3オキソアシルCoAに還元し、同時にNADをNADHに酸化する反応を触媒する。ペルオキシソームにおいては3HACDとエノイルCoAヒドラターゼが二機能酵素と呼ばれる酵素複合体を形成するが、この酵素の欠陥はペルオキシソームの二機能酵素欠乏症に関連付けられている。この脂肪酸代謝障害により、超長鎖脂肪酸が蓄積し、脳、骨および副腎の発達を妨害する。この欠乏症を持って生まれた幼児は6ヶ月以内に死ぬのが普通である(Watkins, P. 他 (1989) J. Clin. Invest. 83:771-1277、Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM), #261515)。アルツハイマー病の神経変性の特徴として、脳のある領域で細胞外のプラークが生じてくる。これらのプラークの主要なタンパク質成分はペプチドアミロイドβ (Aβ)であり、これはアミロイド前駆体タンパク質 (APP) のいくつかの切断産物のうちの一つである。3HACDはAβペプチドに結合することが示されており、アルツハイマー病に影響を受けているニューロンで過剰発現している。さらに、3HACDに対する或る抗体はアルツハイマー病の細胞培養モデルにおいてAβの毒性をを阻止することができる(Yan, S. 他 (1997) Nature 389:689-695、OMIM, #602057)。

10

20

30

40

50

【0008】

エストロゲン、テストステロンおよびコルチコステロンなどのステロイドは共通の前駆体であるコレステロールから生成され、互いに変換される。コレステロールに作用する酵素としてはデヒドロゲナーゼが含まれる。ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼのようなステロイドデヒドロゲナーゼは高血圧、受胎能力および癌に関与している(Duax, W.L. およびD. Ghosh. (1997) Steroids 62:95-100)。このようなデヒドロゲナーゼの一例は2オキソ5-α-ステロイドデヒドロゲナーゼ(OASD)であるが、これは前立腺およびその他のアンドロゲン応答性組織で高度に発現しているミクロソーム膜タンパク質である。OASDはテストステロンのジヒドロテストステロンへの変換を触媒するが、ジヒドロテストステロンは最も強力なアンドロゲンである。ジヒドロテストステロンは胚形成中の男性表現型の形成に必須であるとともに、前立腺および男性性器のような組織が組織がアンドロゲンを仲介として適正に成長するためにも必須である。OASDに欠陥があると、外部性器の形成に欠陥を生じる(Andersson, S. 他 (1991) Nature 354:159-161、Labrie, F. 他 (1992) Endocrinology 131:1571-1573、OMIM #264600)。

【0009】

17βヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ(17βHSD6)は雄の生殖ホルモンであるジヒドロテストステロン(DHTT)の調節に重要な役割を果たす。17βHSD6はDHTTの前駆体である3αジオールを酸化してアンドロステロンにすることによってDHTTレベルを下げる。アンドロステロンは容易にグルクロン酸抱合されて除去される。17βHSD6は胚の腎臓293細胞においてアンドロゲンとエストロゲン基質の両方に活性がある。17βHSDのアイソザイムはさまざまな組織内の酸化および/または還元反応を触媒し、それぞれ異なるステロイド基質を好む(Biswas, M.G. およびD.W. Russell. (1997) J. Biol. Chem. 272:15959-15966)。たとえば17βHSD1はエストラジオールを好んで還元し、卵巣と胎盤に豊富に存在する。17βHSD2はアンドロゲンの酸化を触媒し、子宮内膜と胎盤に存在する。17βHSD3は睪丸だけに存在する還元酵素である(Geissler, W.M. 他 (1994) Nature Genet 7:34-39)。DHTTなどのアンドロゲンが過剰にあると、良性前立腺過形成および前立腺癌などの病気に寄与することがある。

【0010】

酸化還元酵素のイソクエン酸デヒドロゲナーゼはイソクエン酸のαケトグルタル酸(クエン酸回路の一基質)への変換を触媒する。イソクエン酸デヒドロゲナーゼはNADまたはNADP依存性で、サイトゾル、ミトコンドリアおよびペルオキシソームに見られる。イソクエン酸デヒドロゲナーゼの活性はホルモン、神経伝達物質および成長因子によって発生的に調節される。

【0011】

ヒドロキシビルビン酸レダクターゼ(HPR)はペルオキシソームのグリコール酸経路の

2 ヒドロキシ酸デヒドロゲナーゼの一種であり、ヒドロキシピルビン酸のグリセリン酸への変換を触媒し、その際NADHとNADPHの両方を酸化する。逆のデヒドロゲナーゼ反応はNAD⁺とNADP⁺を還元する。HPRはヌクレオチドと塩基を、ATPとGTPの合成につながる経路にリサイクルし、このATPとGTPがDNAとRNAの生成に使用され、また信号伝達とエネルギー代謝のさまざまな側面の制御に使用される。プリンヌクレオチド生合成インヒビターは癌およびウィルス疾患治療用の抗増殖剤として使用される。HPRはまた、セリンの生化学的合成とタンパク質合成に使用できる細胞セリンレベルを調節する。

【0012】

ミトコンドリア電子伝達系（すなわち呼吸鎖）は、一連の酸化還元酵素タイプの酵素複合体であってミトコンドリア膜内にあり、NADHから酸素への電子伝達と、この酸化作用をATPの合成に共役させる過程（酸化的リン酸化）とに関わる。ATPはエネルギーを要する反応を駆動するためのエネルギーを提供する。主要な呼吸鎖複合体はNADH：ユビキノン酸化還元酵素（複合体I）、コハク酸：ユビキノン酸化還元酵素（複合体II）、チトクロームc₁-b酸化還元酵素（複合体III）、チトクロームcオキシダーゼ（複合体IV）およびATPシンターゼ（複合体V）である（Alberts, B. 他（1994）*Molecular Biology of the Cell*, Garland Publishing, Inc., New York, NY, 677-678ページ）。これらの複合体は、複合体IIを除いて全てミトコンドリア膜の内側マトリクス側に位置している。複合体IIはサイトゾル側にあつてクエン酸回路で生成される電子を呼吸鎖まで輸送する。クエン酸回路でコハク酸をフマル酸に酸化するとき放出される電子は複合体IIの電子キャリアを通じて膜結合ユビキノ（Q）に移送される。これらの核でコードされる遺伝子の転写調節により、呼吸酵素の生物発生が制御される。呼吸鎖内の酵素の発現が変容されたり欠陥があったりすると、さまざまな疾患状態に結びつくと考えられている。

【0013】

NADを補助因子として使ったその他のデヒドロゲナーゼ活性としては、たとえば3ヒドロキシイソブチル酸デヒドロゲナーゼ（3HBD）があるが、これはミトコンドリアにおいて3ヒドロキシイソブチル酸のメチルマロン酸セミアルデヒドへのNADに依存した酸化を触媒する。3ヒドロキシイソブチル酸レベルはケトアシドーシス、メチルマロン酸血症、およびその他の疾患において上昇している（Rougraff, P.M. 他（1989）*J. Biol. Chem.* 264:5899-5903）。アミノ酸代謝で重要なミトコンドリアのデヒドロゲナーゼとしてもう一つ重要なのはイソバレリルCoAデヒドロゲナーゼ（IVD）である。IVDはロイシン代謝に関与していて、イソバレリルCoAのメチルクロトニルCoAへの酸化を触媒する。ヒトのIVDはサイトゾルで合成される四量体のフラビンタンパク質であり、ミトコンドリアのインポートシグナル配列を持っている。IVDをコードしている遺伝子に突然変異があると、イソ吉草酸血症になる（Vockley, J. 他（1992）*J. Biol. Chem.* 267:2494-2501）。

【0014】

グルタチオン・ペルオキシダーゼのファミリーは、四量体グルタチオン・ペルオキシダーゼ（GPx1-3）と単量体リン脂質ヒドロペルオキシド・グルタチオン・ペルオキシダーゼ（PHGPx/GPx4）を含む。四量体酵素とGPx4の間の全体的な相同性は30%未満であるが、活性部位に関連する著しい類似性がクラスターで検出された。また共通の触媒トライアドを構造的及び運動データにより定義した（Epp, O. 他（1983）*Eur. J. Biochem.* 133:51-69）。GPx1は細胞内に普遍的に発現するが、GPx2は肝臓と結腸に存在し、またGPx3は原形質に存在する。GPx4は全ての組織に低レベルで見つかるが、睾丸では高レベルで発現されている（Ursini, F. 他（1995）*Meth. Enzymol.* 252:38-53）。GPx4は哺乳動物で見つかる唯一の単量体のグルタチオンペルオキシダーゼであり、リン脂質ヒドロペルオキシドに対する親和性と反応性が高く膜に結合している唯一の哺乳動物グルタチオンペルオキシダーゼである。GPx4とビタミンEの抗酸化活性についてはタンデム機構が示唆されている。GPx4は代替的な転写および翻訳開始部位を持っていて、それによって細胞内の局在性が決まる（Esworthy, R.S. 他（1994）*Gene* 144:317-318、Maiorino, M. 他（1990）*Meth. Enzymol.* 186:448-450）。

【0015】

グルタチオンSトランスフェラーゼ (GST) は、生体異物の生体内変化と解毒、薬物代謝、および、過酸化損傷に対する組織保護における、重要な生化学的機能を実施する、二重基質特異性を有する酵素の普遍的なファミリーである。これらの酵素は還元型グルタチオン (GSH) による求電子物質の抱合を触媒し、その結果として活性化または不活性化/解毒が起こる。還元型のGSHがさまざまな化学物質に結合する絶対的な必要性があるため、さまざまな生物と細胞の種類でGST構造の多様性を必要とする。GSTはホモ二量体またはヘテロ二量体タンパク質であって、サイトゾルに局在する。主なイソ酵素は、共通の構造および触媒特性を共有し、 α 、 μ 、 π 、および θ の4つの主要クラスを含む。それぞれのGSTは、GSHに対する共通の結合部位および特定の求電子基質に特異的な可変性疎水性結合部位を有する。GST内の特定のアミノ酸残基が、これらの結合部位および触媒活性に重要であるとして同定されている。残基Q67、T68、D101、E104、およびR131は、GSHの結合に重要である (Lee, H-C他(1995) J. Biol. Chem. 270:99-109)。残基R13、R20、およびR69はGSTの触媒活性に重要である (Stenberg G他(1991) Biochem. J. 274:549-555)。

10

【0016】

通常、GSTは突然変異誘発および発癌の可能性をもつ化学物質を不活性化し、解毒する。ラットとヒトのGSTの内には、信頼できる発癌の新生物発生前マーカーもある。マウスにおいて肝腫瘍を引き起こすジハロメタン (dihalomethanes) は、GSTによって活性化されると考えられている (Thier, R. 他(1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:8567-8580)。二臭化エチレンおよび二塩化エチレンの変異誘発性が、ヒト α GST, A1-1を発現する細菌細胞において上昇し、アフラトキシンB1の変異誘発がGSTの発現が促進されることで実質的に減少する (Simula, T. P.他(1993) Carcinogenesis 14:1371-1376)。従って、GST活性の制御は、変異誘発および発癌の制御において有用であろう。

20

【0017】

GSTは、多剤耐性 (MDR) として知られている現象である、多くの癌の、薬物治療に対する獲得耐性に関係すると思われる。MDRは、シクロホスファミドなどの細胞毒で治療を受けた癌患者に起こり、その薬物に対する耐性を有するようになった後、更にその他の様々な細胞毒に対しても耐性を有するようになる。GSTレベルの上昇は、薬物耐性癌の幾つかに関係する。また、薬剤に応答してGSTレベルが上昇した後、GSTによって触媒されたGSH抱合反応によりその薬剤が不活性化されると考えられる。次に、上昇したGSTレベルにより癌細胞がGSTが親和性を有する他の細胞毒から保護される。腫瘍におけるA1-1のレベルの上昇は、シクロホスファミド治療によって生じた薬剤耐性に関係する (Dirven H. A.他 (1994) Cancer Res. 54:6215-6220)。従って、癌組織におけるGST活性の調節は、癌患者のMDR治療に有用であろう。

30

【0018】

細胞増殖中のDNA合成に必要な対応するデオキシリボヌクレオチドへのリボヌクレオチドの還元は、リボヌクレオチドニリン酸還元酵素によって触媒される。グルタレドキシンは、リボヌクレオチドニリン酸還元酵素のためのグルタチオン (GSH) 依存水素供与体であり、活性部位コンセンサス配列 -C-P-Y-C- を含む。この配列は、大腸菌、ワクシニアウイルス、酵母菌、植物、哺乳動物細胞等の異なる生物からのグルタレドキシニンで保存されている。グルタレドキシンは、GSH、NADPH、GSH-レダクターゼとの共役系 (coupled system) で固有のGSH-ジスルフィド・オキシドレダクターゼ (チオールトランスフェラーゼ) 活性を有し、タンパク質の他に低分子量ジスルフィドの還元を触媒する。グルタレドキシンは、チオレドキシニンに類似の効果的なタンパク質ジスルフィドレダクターゼそして特異なGSH-混合ジスルフィドレダクターゼの両者として作用することにより一般的なタンパク質活性のチオールレドックス調節を与えると提案されてきた (Padilla, C.A. 他 (1996) (1996) FEBS Lett. 378:69-73)。

40

【0019】

DNA合成と細胞分裂における重要な役割に加えて、グルタレドキシニンと他のチオプロテインは酸素ラジカルと過酸化水素に対する有効な酸化防止を提供する (Schallreuter, K.U. 及び J.M. Wood (1991) Melanoma Res. 1:159-167)。グルタレドキシンは、in vivoで

50

タンパク質の脱チオール化 (dethiolation) に関与する主な薬剤であり、正常なヒト好中球内でデヒドロアスコルビン酸を還元する (Jung, C.H. 及び J.A. Thomas (1996) Arch. Biochem. Biophys. 335:61-72、Park, J.B. 及び M. Levine (1996) Biochem. J. 315:931-938)。

【0020】

チオレドキシン系はリボスクレオチド還元酵素のための水素供与体としてまた酸化還元制御による酵素の調節因子として役割を果たす。チオレドキシン系はまた、NF- κ B、AP-1、ステロイド受容体等の転写因子の活性を調節する。大人T細胞白血病由来因子、3B6-インターロイキン-1、T-ハイブリドーマ由来 (MP-6) B細胞刺激因子、早期妊娠因子などの複数のサイトカインまたは分泌したサイトカイン様因子がチオレドキシンと同一であると報告されてきた (Holmgren, A. (1985) Annu. Rev. Biochem. 54:237-271、Abate, C他. (1990) Science 249:1157-1161、Tagaya, Y. 他 (1989) EMBO J. 8:757-764、Wakasugi, H. (1987) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84:804-808、Rosen, A. 他 (1995) Int. Immunol. 7:625-633)。従って刺激したリンパ球により分泌したチオレドキシン (Yodoi, J. 及び T. Tursz (1991) Adv. Cancer Res. 57:381-411、Tagaya, N. 他 (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:82828286) は、細胞成長の調節因子と免疫系のメディエーターとしての役割を含む細胞外活性を有する (Miranda-Vizuite, A. 他 (1996) J. Biol. Chem. 271:19099-19103、Yamauchi, A. 他 (1992) Mol. Immunol. 29:263-270)。チオレドキシンおよびチオレドキシンレダクターゼは、アルツハイマー病などの疾患で反応性酸素種によって仲介される細胞毒に対する保護を提供する (Lovell, M.A. (2000) Free Radic. Biol. Med. 28:418-427)。

【0021】

セレン含有タンパク質チオレドキシンレダクターゼは、正常また新生物性細胞の両者により分泌される。また成長因子としてそしてアポトーシスに関係するポリペプチドの両者として関与してきた (Soderberg, A. 他 (2000) Cancer Res. 60:2281-2289)。ハムスター卵巣細胞 (HT-1080) により分泌される細胞外プラスミンレダクターゼが、プラスミンからのアンギオスタチン (angiostatin) の生成に関与することが示されている。この場合、プラスミンジスルフィド結合の還元は、血管形成阻害薬、angiostatinを産生するプラスミンのタンパク質分解切断を誘発する (Stathakis, P. 他 (1997) J. Biol. Chem. 272:20641-20645)。原形質における低レベルの還元したスルフヒドリル基は、リウマチ様関節炎に関連付けられてきた。活性酸素種類 (例えば活性化好中球により産生する過酸化水素) を除去する点でこれらのスルフヒドリル基の失敗は、周囲の組織に酸化的な傷害と結果として炎症を引き起こす (Hall, N.D. 他 (1994) Rheumatol. Int. 4:35-38)。

【0022】

細胞代謝における酸化還元反応の重要性の別の例は、補酵素A (CoA) 活性化脂肪酸から2個の炭素のユニットを次々に除くミトコンドリアとペルオキシソームのベータ酸化酵素による飽和及び不飽和脂肪酸の分解である。主要な β 酸化経路は飽和脂肪酸と不飽和脂肪酸の両方を分解し、補助経路は不飽和脂肪酸の分解に必要な付加的ステップを行う。

【0023】

ミトコンドリアとペルオキシソームのベータ酸化経路は同様の酵素を使用するが、異なる基質特異性と機能をもつ。ミトコンドリアは、短鎖、中鎖、長鎖の脂肪酸を酸化し、細胞のためのエネルギーを産生する。ミトコンドリア β 酸化は、心筋と骨格筋の主要なエネルギー源となっている。飢餓、持久運動、及び糖尿病の場合のようにグルコースレベルが低くなった時は、肝臓での β 酸化がケトン体を末梢循環へ提供する (Eaton, S. 他 (1996) Biochem. J. 320:345-357)。ペルオキシソームは、中鎖、長鎖、超長鎖の脂肪酸、ジカルボン脂肪酸、分岐脂肪酸、プロスタグランジン、生体異物、胆汁酸中間物を酸化する。ペルオキシソーム β 酸化の主な役割は、毒性の脂肪親和性カルボン酸を短くしてそれらの排泄を促進させ、ミトコンドリア β 酸化の前に超長鎖脂肪酸を短くすることにある (Mannaerts, G.P. 及び P.P. Van Veldhoven (1993) Biochimie 75:147-158)。

【0024】

補助ベータ酸化酵素である2,4-ジエノイルC o A還元酵素は、下記の反応を触媒する：
 トランス-2、シス/トランス-4--ジエノイル-C o A + NADPH + H⁺ ---> トランス-3--エノ
 イル-C o A + NADP⁺

【0025】

この反応は、主要なベータ酸化経路に入る前に不飽和脂肪酸から偶数の二重結合を取り除く(Koivuranta, K.T. 他(1994) Biochem. J. 304:787-792)。酵素は不飽和脂肪酸から奇数の二重結合をも取り除くことができる(Smeland, T.E. 他 (1992) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:6673-6677)。

【0026】

ラット2,4-ジエノイル-C o A還元酵素は、ミトコンドリアとペルオキシソームの両者にも存在する(Dommes, V. 他. (1981) J. Biol. Chem. 256:8259-8262)。ラットのミトコンドリア酵素の免疫学的に異なる2つの型は、その分子量が60 kDaと120 kDaである(Hakola, E.H.及びJ.K. Hiltunen (1993) Eur. J. Biochem. 215:199-204)。120 kDaのラットのミトコンドリア酵素を、成熟酵素を形成するために切断される29アミノ酸N-末端リーダーペプチドと335アミノ酸前駆体として合成する(Hirose, A.他 (1990) Biochim. Biophys. Acta 1049: 346-349)。ラットの酵素に83%類似であるヒトのミトコンドリア酵素は、19アミノ酸N-末端リーダーペプチドの付いた335アミノ酸残基前駆体として合成される(前出のKoivuranta 他)。これらのクローニングされたヒトとラットのミトコンドリア酵素はホモ四量体として機能する(前出のKoivuranta 他)。出芽酵母菌 (*Saccharomyces cerevisiae*) ペルオキシソーム2,4-ジエノイル-C o A還元酵素は長さが295アミノ酸であり、C-末端ペルオキシソーム標的シグナルを含む。またホモ二量体として機能する(Coe, J.G.S. 他 (1994) Mol. Gen. Genet. 244:661-672、Gurvitz, A. 他 (1997) J. Biol. Chem. 272:22140-22147)。すべての2,4-ジエノイル-C o A還元酵素は、かなりよく保存されたNADPH結合部位モチーフを有する(前出のKoivuranta 他)。

【0027】

主要経路ベータ酸化酵素であるエノイルC o Aヒドラターゼは、下記の反応を触媒する：
 :



【0028】

この反応は、2-トランス-エノイル-CoAのC-2とC-3間の二重結合を水酸化するが、それは飽和脂肪酸と不飽和脂肪酸から生成する(Engel, C.K. 他(1996) EMBO J. 15:5135-5145)。このステップは、2, 4-ジエノイル還元酵素によって触媒されるステップから下流にある。異なるエノイル-C o Aヒドラターゼ群が、短鎖、中鎖、および長鎖の脂肪酸に作用する(前出のEaton 他)。ミトコンドリアとペルオキシソームとのエノイル-C o Aヒドラターゼは、単一機能酵素及び多機能酵素複合体の一部の両方として存在する。ヒトの肝臓ミトコンドリア短鎖エノイル-C o A還元酵素を、29アミノ酸N-末端リーダーペプチドと290アミノ酸前駆体として合成する(Kanazawa, M 他 (1993) Enzyme Protein 47:9-13、Janssen, U. 他 (1997) Genomics 40:470-475)。ラットの短鎖エノイル-C o Aヒドラターゼは、このタンパク質の成熟領域においてヒトの配列と87%同一であり、ホモ六量体として機能する(前出のKanazawa 他、前出のEngel 他)。ミトコンドリアの或る三機能タンパク質は、長鎖エノイル-C o Aヒドラターゼ、3ヒドロキシアシルC o A脱水素酵素、および長鎖3-オキシチオラーゼ活性を有する(前出のEaton 他)。ヒトのペルオキシソームでは、エノイル-C o A還元酵素活性が327アミノ酸残基単一機能酵素及び二機能酵素としても知られる多機能酵素化合物の部分の両者に見出される。それはエノイル-C o A還元酵素、エノイル-C o Aイソメラーゼ、3-ヒドロキシアシル-CoAヒドロゲナーゼ活性を有する(FitzPatrick, D.R.他 (1995) Genomics 27:457-466; および Hoefler, G. 他(1994) Genomics 19:60-67)。短鎖エノイル-C o Aヒドラターゼ活性を伴う339アミノ酸残基ヒトタンパク質もAU-特異的RNA結合タンパク質として作用する(Nakagawa, J.他 (1995) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92:2051-2055)。全てのエノイル-C o A還元酵素は、高度に保存された17アミノ酸残基を伴う2つの活性部位グルタミン酸残基付近の相同性を共有する(

10

20

30

40

50

Wu, W.-J. 他 (1997) *Biochemistry* 36:2211-2220)。

【0029】

ミトコンドリアとペルオキシソームのベータ酸化酵素における先天的欠陥は、生後まもなく発現して数年以内に死亡につながることもある重度の疾患と関連する。ミトコンドリアのベータ酸化酵素が関連する不全症としては例えば、カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼおよびカルニチン欠損症、超長鎖アシルCoAデヒドロゲナーゼ欠損症、中鎖アシルCoAデヒドロゲナーゼ欠損症、短鎖アシルCoAデヒドロゲナーゼ欠損症、電子伝達フラビンタンパク質および電子伝達フラビンタンパク質：ユビキノンオキシドレダクターゼ欠損症、三機能タンパク質欠乏症、および短鎖3ヒドロキシアシルCoAデヒドロゲナーゼ欠損症が含まれる(前出のEaton 他)。ミトコンドリア三機能タンパク質(エノイル-CoAヒドラターゼを含む)欠損患者は、長鎖エノイル-CoAヒドラターゼ活性が下がっている。そして非ケトン性低血糖症、乳幼児突然死症候群、心筋症、肝機能障害、筋衰弱を患い、若死にする可能性もある(前出のEaton 他)。

10

【0030】

ミトコンドリアのベータ酸化の欠陥は、ライ症候群(肝機能障害、および子供の場合ウイルス感染の後に時折おこる脳障害により特徴付けられる疾患)と関連する。ライ症候群患者は、遊離の脂肪酸の血中濃度が上昇し得る(Cotran, R.S. 他 (1994) *Robbins Pathologic Basis of Disease*, W.B. Saunders Co., Philadelphia PA, p.866)。ミトコンドリア短鎖3ヒドロキシアシルCoAデヒドロゲナーゼ欠乏症と中鎖3ヒドロキシアシルCoAデヒドロゲナーゼ欠乏症を患う患者は、ライ症候群のような病気を示した(前出のEaton及びEgidio, R.J. 他 (1989) *Am. Fam. Physician* 39:221-226)。

20

【0031】

ペルオキシソームのベータ酸化と関連する遺伝性病態には、ツェルウェー症候群、新生児副腎脳白質ジストロフィー、小児レフサム症候群、アシルCoAオキシダーゼ欠乏症、ペルオキシソームチオラーゼ欠乏症、二価性タンパク質欠乏症がある(Suzuki, Y. 他 (1994) *Am. J. Hum. Genet.* 54:36-43、前出のHoeftler 他)。エノイルCoA還元酵素を含むペルオキシソーム二価性酵素欠乏症を患う患者は、低血圧症、発作、精神運動欠陥、欠陥神経移動を患い、長鎖の脂肪酸を蓄積し、通常は誕生後数年で死亡する(Watkins, P.A. 他 (1989) *J. Clin. Invest.* 83:771-777)。

【0032】

ペルオキシソームのベータ酸化は、癌性組織で十分に機能しなくなる。新生物ヒト乳房上皮細胞は正常な細胞と同数のペルオキシソームを有するが、脂肪アシルCoAオキシダーゼ活性は対照組織より低い(el Bouhtoury, F. 他 (1992) *J. Pathol.* 166:27-35)。ヒト結腸腺癌は正常な結腸組織よりも少ないペルオキシソームを有し、正常な組織よりも脂肪アシルCoAオキシダーゼと二機能酵素(エノイルCoA還元酵素を含む)活性が低い(Cable, S. 他 (1992) *Virchows Arch. B Cell Pathol. Incl. Mol. Pathol.* 62:221-226)。

30

【0033】

6-ホスホグルコン酸デヒドロゲナーゼ(6-PGDH)は、NADPHの産生を伴うリブローズ5-リン酸への6-ホスホグルコン酸のNADP⁺依存性酸化脱炭酸反応を触媒する。6-PGDHが存在しなかったり、阻害があると、真核細胞で6-ホスホグルコン酸が有毒レベルまで蓄積する。6-PGDHは、ペントースリン酸経路(PPP)の3番目の酵素であり、遍在性である。あるヘテロ型発酵種では、NAD⁺は補助因子として使用され、続いてNADHの生成が起こる。

40

【0034】

反応は、3-ケト中間物質を介して進み、これが脱カルボキシル化されてリブローズ5-リン酸のエノールを与える。次いでエノールの互変異性化後にケト生成物に変換する(Berdis A.J.及びP.F. Cook (1993) *Biochemistry* 32:2041-2046)。6-PGDH活性をNADPHの阻害作用そして6-ホスホグルコン酸の活性作用により調節する(Rippa, M.他 (1998) *Biochim. Biophys. Acta* 1429: 83-92)。6-PGDH活性の欠乏は、慢性溶血性貧血に関連すると考えられている。

【0035】

50

6-PGDHの特異的形態の標的（例えばトリパノゾームに見出される酵素）は、寄生虫感染を制御するための手段と思われる（Tetaud, E. 他（1999）Biochem. J. 338:55-60）。例えばトリパノソーマ・ブルセイ（*Trypanosoma brucei*）の酵素は、哺乳動物酵素に比べて基質類似体6-ホスホ-2-デオキシグルコン酸と補酵素類似体アデノシン2',5'-2リン酸による阻害に対して際立って感受性が高い（Hanau, S. 他（1996）Eur. J. Biochem. 240: 592-599）。

【0036】

リボヌクレオチドニリン酸還元酵素は、リボヌクレオチドニリン酸（即ち、ADP、GDP、CDP、UDP）の、DNAの合成に使用される対応するデオキシリボヌクレオチドニリン酸（即ちdADP、dGDP、dCDP、dUDP）への還元を触媒する。それによってリボヌクレオチドニリン酸還元酵素は、デオキシヌクレオチド前駆体のデノボ合成において重要な役割を果たす。デオキシヌクレオチドはまた、サルベージ経路経由でヌクレオシドキナーゼによりデオキシヌクレオシドから生成される。

10

【0037】

哺乳動物リボヌクレオチドニリン酸還元酵素は、エフェクター結合成分(E)と非ヘム鉄成分(F)の2つの成分から成る。成分Fは触媒に必要な鉄ラジカルを含み、成分Eはヌクレオシド三リン酸エフェクターと結合する。ホロ酵素と同じく、EとF成分の分子量の決定値は、タンパク質の精製で用いられる方法と研究室によって異なる。成分Eは約90~100 kDaであり、成分Fは約100~120 kDa、ホロ酵素は200~250 kDaである。

【0038】

20

リボヌクレオチドニリン酸還元酵素活性は、EDTAと同様、チオセミカルバゾン等の鉄キレート剤により悪影響を受ける。デオキシリボヌクレオチドニリン酸も、リボヌクレオチドニリン酸還元酵素の負のアロステリック・エフェクターのようである。ヌクレオチド三リン酸（リボ-とデオキシリボ-の両者）はこの酵素の活性を刺激するようである。広く使用される有機リン農薬の代謝産物である3-メチル-4-ニトロフェノールは、哺乳動物細胞のリボヌクレオチドニリン酸還元酵素の強力なインヒビターである。DNAウイルス（例えばヘルペスウイルス）で感染した細胞と癌細胞のリボヌクレオチドニリン酸還元酵素活性は、アロステリック制御因子による調節に対して感受性が低く、高レベルのリボヌクレオチドニリン酸還元酵素活性と高速度の細胞増殖（例えば肝癌）との間には相関が存在することを示す証拠がある。この観察によると、ウイルスがコードしたリボヌクレオチドニリン酸還元酵素と癌細胞に存在するリボヌクレオチドニリン酸還元酵素は、ウイルスのゲノムの生成用または癌細胞を特徴付ける増加したDNA合成用のために増加した供給デオキシリボヌクレオチドのプールを維持することが可能であることを示す。したがって、リボヌクレオチドニリン酸還元酵素は、治療処置の標的である（Nutter, L.M.及びY.-C. Cheng (1984) Pharmac. Ther. 26:191-207、Wright, J.A. (1983) Pharmac. Ther. 22:81-102）。

30

【0039】

ジヒドロジオールデヒドロゲナーゼ(DD)は、NAD(P)⁺-依存性で、単量体形の34~37 kDaの酵素であり、ベンゾ[α]イレン、ベンゾ[α]アントラセン、7-メチル-ベンゾ[α]アントラセン、7,12-ジメチル-ベンゾ[α]アントラセン、クリセン、5-メチルクリセン等の多環式芳香族炭化水素(PAH)のトランス-ジヒドロジオール代謝物とアンチジオールエポキシド代謝産物の解毒に関与する。哺乳動物細胞では、ベンゾ[α]イレン等の環境的PAH毒素はミクロソームチトクロームP450によりまずエポキシ化されて7R,8R-アレーン-オキシドを産生し、続いて(-)-7R,8R-ジヒドロジオール((-)-トランス-7,8-ジヒドロキシ-7,8-ジヒドロベンゾ[α]ピレンまたは(-)-トランス-B[α]P-ジオール)を産生する。後者の化合物は更に種によって異なる酵素または同じ酵素によりベンゾ[α]ピレンの抗ジオールエポキシド（即ち(±)アンチ-7β,8α-ジヒドロキシ-9α,10α-エポキシ-7,8,9,10-テトラヒドロベンゾ[α]ピレン）に転換する。この結果として生じるベンゾ[α]イレンのアンチ-ジオールエポキシドまたは別のPAH化合物からの対応する誘導体は、突然変異誘発性が高い。

40

50

【0040】

DDは、効果的にアンチ-ジオールエポキシドの前駆体（即ちトランス-ジヒドロジオール）を一過性カテコールに酸化し、一過性カテコールはキノンに自己酸化し、過酸化水素とセミキノンラジカルをも生成する。この反応は発癌性の高いアンチ-ジオールの形成を妨げる。アンチ-ジオールはそれ自体はDDの基質ではないが、アンチ-ジオール化合物を含むサンプルへのDDの添加はエイムス試験で観察される誘導された突然変異誘発率の有意な減少へとつながる。この場合、DDは抗ジオールが酸化されなくても、抗ジオールに結合し隔離することができる。酸化または隔離のいずれによるにせよ、DDは生体異物多環化合物の代謝産物の解毒において重要な役割を果たす(Penning, T.M. (1993) *Chemico-Biological Interactions* 89:1-34)。

10

【0041】

15-オキソプロスタグランジン 13-還元酵素(PGR)と15-ヒドロキシプロスタグランジン・デヒドロゲナーゼ(15-PGDH)は、循環するプロスタグランジンの分解に関与する肺に存在する酵素である。肺系の通過による酸化異化は、循環するプロスタグランジンの濃度を減少する一般的な手段である。15-PGDHは、対応する15-オキソ化合物を生成するために多様なプロスタグランジンの15-ヒドロキシ基を酸化する。15-オキソ誘導体は通常、15-ヒドロキシル分子に比べて減少した生物学的活性を有する。PGRは更に、15-オキソ化合物の13, 14二重結合を還元し、これは通常、その生物学的活性を更に減らす。PGRは約36 kDaの分子量を有する単量体である。この酵素には、補助因子としてNADHかNADPHが必要であるが、NADHの方がより好まれる。プロスタグランジンPGE₁、PGE₂、PGE_{2α}の15-オキソ誘導体はすべてPGRの基質である。しかし、非誘導プロスタグランジン（即ちPGE₁、PGE₂、PGE_{2α}）は基質ではない(Ensor, C.M. 他 (1998) *Biochem. J.* 330:103-108)。

20

【0042】

15-PGDHとPGRはまた、リポキシンA₄(LXA₄)の代謝を触媒する。リポキシン(LX)は、オータコイド（限局性の炎症の部位で生成される脂質）であり、多形核白血球(PMN)機能を下方調節して、限局性外傷の回復を促進する。リポキシン生成は、既にアスピリンによりアセチル化されたシクロオキシゲナーゼII (COX II)を現す細胞、また、5-リポキシゲナーゼ(5-L0)を有し相互作用してリポキシンを生成する細胞では、アスピリンの投与により刺激される。15-PGDHは、15-オキソ化合物を更に13,14-ジヒドロ-15-オキソ-LXA₄に転換するPGRと共に15-オキソ-LXA₄を産出する(Clish, C.B. 他 (2000) *J. Biol. Chem.* 275:25372-25380)。この発見は、プロスタグランジン・デヒドロゲナーゼの幅広い基質特異性を示す。また薬物代謝におけるこれらの酵素の関連を暗示する。そして炎症を調節するための治療のための標的としての関連を暗示する。

30

【0043】

酵素のGMC(グルコースメタノールコリン)オキシドレダクターゼファミリーは、ショウジョウバエのグルコースデヒドロゲナーゼ、大腸菌のコリンデヒドロゲナーゼ、黒色麹菌(*Aspergillus niger*)のグルコースオキシダーゼ、*Hansenula polymorpha*のメタノールオキシダーゼの配列アラインメントに基づいて定義される。異なる源泉と異なる基質特異性にもかかわらず、これらの4つのフラビンタンパク質は相同であり、幾つかの独特の配列と構造的特徴の存在により特徴付けられる。各分子は、アミノ末端に近い正準なADP結合、β-α-βモノヌクレオチド結合モチーフを含む。この折り畳みは、3ストランド逆並行ベータシートとアルファヘリックスに挟まれた4ストランド並列ベータシートから成る。ヌクレオチドは、この鎖折り畳みに関連して類似の位置を結合する(Cavener, D.R. (1992) *J. Mol. Biol.* 223:811-814, Wierenga, R.K. 他 (1986) *J. Mol. Biol.* 187:101-107)。GMCオキシドレダクターゼファミリーのメンバーも、ポリペプチドの中心領域近くのコンセンサス配列を共有する。GMCオキシドレダクターゼファミリーの他のメンバーには、*Brevibacterium sterolicum*とストレプトマイセスのコレステロール・オキシダーゼ、*Pseudomonas oleovorans*のアルコールデヒドロゲナーゼが含まれる(前出のCavener, Henikoff, S.及びJ.G. Henikoff (1994) *Genomics* 19:97-107, van Beilen, J.B. 他. (1992) *Mol. Microbiol.* 6:3121-3136)。

40

50

【0044】

IMPデヒドロゲナーゼとGMPレダクターゼは、配列類似性を持つ多くの領域を共有する2つの酸化還元酵素である。IMPデヒドロゲナーゼ(EC 1.1.1.205)は、GTPのデノボ合成の一部としてIMP(イノシン1リン酸)からXMP(キサンチン1リン酸)へのNAD依存性の還元を触媒する(Collart, F.R.及びE. Huberman (1988) J. Biol. Chem. 263:15769-15772)。GMPレダクターゼは、GMPからIMPへのNADPH依存性還元的脱アミノ反応を触媒し、アデニンとグアニンのヌクレオチドの細胞内バランスの維持を助ける(Andrews, S.C.及びJ.R. Guest (1988) Biochem. J. 255:35-43)。

【0045】

ピリジンヌクレオチドジスルフィド酸化還元酵素は、FADから基質への還元当量の転移に参与するFADフラビン蛋白質である。これらのフラビン蛋白質は、このタンパク質ファミリーの特長であるコンセンサス配列内に含まれる対のレドックス活性システインを含む(Kurlyan, J.他(1991) Nature 352:172-174)。酸化還元酵素のこのファミリーのメンバーには、グルタチオンレダクターゼ(EC 1.6.4.2)、高等な真核生物のチオレドキシニンレダクターゼ(EC 1.6.4.5)、trypanothione レダクターゼ(EC 1.6.4.8)、リポアミド・デヒドロゲナーゼ(EC 1.8.1.4)、 α ケト酸デヒドロゲナーゼ化合物のE3成分、水銀還元酵素(EC 1.16.1.1)が含まれる。

【0046】

トランスフェラーゼ

トランスフェラーゼは分子グループの転移を触媒する酵素である。この反応は酸化、還元または共有結合の切断に参与する場合があり、基質またはある種の基質の特定部位にしばしば特異的である。トランスフェラーゼは、細胞構成成分の合成や分解、細胞のシグナル伝達などの細胞機能の調節、細胞増殖、炎症、アポトーシス、分泌および排泄のような機能にとって必須の反応に参与する。トランスフェラーゼはこれらに関連する疾患の過程における重要な段階に参与している。トランスフェラーゼは転移される基のタイプにしたがってしばしば分類される。例えば、メチルトランスフェラーゼは一つの炭素メチル基を転移し、アミノトランスフェラーゼは窒素を含むアミノ基を転移し、また同様に名付けられた酵素はアルデヒド基またはケトン基、アシル基、グリコシル基、アルキル基あるいはアリール基、イソプレニル基、糖(saccharyl)基、リン含有(phosphorous-containing)基、硫黄含有基、またはセレンウム含有基、および補酵素Aのような小さい酵素基を転移する。

【0047】

アシルトランスフェラーゼには脂肪酸 β 酸化経路に参与するペルオキシソームのカルニチンオクタノイルトランスフェラーゼ、および脂肪酸代謝および輸送に参与するミトコンドリアのカルニチンパルミトイルトランスフェラーゼがある。コリン0-アセチルトランスフェラーゼは神経伝達物質アセチルコリンの生合成を触媒する。

【0048】

N-アシルトランスフェラーゼ酵素は、アミノ酸抱合体の、活性化したカルボキシル基への転移を触媒する。内因性化合物および生体異物は、サイトゾル、ミクロソームおよびミトコンドリアにおいて、アシル-CoAシンセターゼによって活性化される。次に、アシル-CoA中間体は、サイトゾルまたはミトコンドリアにおけるN-アシルトランスフェラーゼによってアミノ酸(通常はグリシン、グルタミン、またはタウリンであるが、オルニチン、アルギニン、ヒスチジン、セリン、アスパラギン酸、およびいくつかのジペプチドを含む)と抱合し、アミド結合を有する代謝産物を形成する。胆汁酸-CoA:アミノ酸N-アシルトランスフェラーゼ(BAT)は、このクラスの良く特徴づけられた酵素の1つである。BATは、胃腸管において界面活性剤として作用する、胆汁酸抱合体の生成を担う(Falany, C. N.他(1994) J. Biol. Chem. 269:19375-19379; Johnson, M. R.他(1991) J. Biol. Chem. 266:10227-10233)。BATはまた、部分肝切除の後の肝臓癌患者の予後の予測インジケータとして有用である(Furutani, M.他(1996) Hepatology 24:1441-1445)。

【0049】

アセチルトランスフェラーゼ

アセチルトランスフェラーゼは、ヒストンのアセチル化における役割について広く研究されている。ヒストンのアセチル化により、真核細胞のクロマチン構造が弛緩し、それによって転写因子が、ゲノムの、影響を受けた領域（またはゲノム全体）におけるDNAの鋳型のプロモータエレメントに到達できるようになる。

これとは対照的に、ヒストンの脱アセチル化により、クロマチン構造が閉じ転写因子の到達が制限されて転写が減少する。このため、ヒストンの脱アセチル化を阻害する化学薬品（例えば酪酸ナトリウム）を細胞転写の刺激の一般的な手段として用いると、人為的結果であるが遺伝子発現が全体的に上昇する。アセチル化による遺伝子発現の調節 (modulation) はまた、限定するものではないが、p53、GATA-1、MyoD、ACTR、TFIIE、TFIIF、および高移動度群タンパク質 (HMG) など、他のタンパク質のアセチル化によっても生じ得る。p53の場合、アセチル化によりDNAへの結合が増大し、p53によって調節される遺伝子の転写が刺激される。プロトタイプのヒストンアセチラーゼ (HAT) は、出芽酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) に由来するGcn5である。Gcn5は、テトラヒメナp55、ヒトGcn5、およびヒトp300/CBPを含む、アセチラーゼの1ファミリーのメンバーである。ヒストンのアセチル化についてはCheung, W. L.他 (2000) Curr. Opin. Cell Biol. 12:326-333およびBerger, S. L (1999) Curr. Opin. Cell Biol. 11:336-341に概説されている。数種のアセチルトランスフェラーゼ酵素は、限定するものではないがアセチルコリンエステラーゼおよびカルボキシルエステラーゼなど幾つかの他の酵素の主なクラスに一般的である、 α/β ヒドロラーゼフォールド (alpha/beta hydrolase fold) (Center of Applied Molecular Engineering Inst. of Chemistry and Biochemistry - University of Salzburg, <http://predict.sanger.ac.uk/irbm-course97/Docs/ms/>) を有する (Structural Classification of Proteins, <http://scop.mrc-lmb.cam.ac.uk/scop/index.html>)。 10 20

【0050】

N-アセチルトランスフェラーゼは、補助因子アセチル補酵素A (アセチル-CoA) を用いてアセチル基を芳香族アミンおよびヒドラジン含有化合物に転移するサイトゾル酵素である。ヒトの場合、2つの高度に類似したN-アセチルトランスフェラーゼ酵素であるNAT1およびNAT2が存在し、マウスには第3型酵素であるNAT3が存在する。N-アセチルトランスフェラーゼのヒト型は、独立した調節 (NAT1は広範に発現されるが、NAT2は肝臓および腸のみに発現される) および、重複した基質選択性を有する。両方の酵素はある程度まで多くの基質を受容するようであるが、NAT1は数種の基質 (パラアミノ安息香酸、パラアミノサリチル酸、スルファメトキサゾール、およびスルファニルアミド) を好み、一方NAT2は他の基質 (イソニアジド、ヒドララジン、プロカインアミド、ダプソン、アミノグルテチミド、およびスルファメタジン) を好む。最近単離されたヒト遺伝子、tubedown-1は酵母NAT-1 N-アセチルトランスフェラーゼに相同であり、アセチルトランスフェラーゼ活性に関連するタンパク質をコードする。tubedown-1の発現型は血管および造血の発達に関与することが示唆される (Gendron, R.L. 他 (2000) Dev. Dyn. 218:300-315)。 30

【0051】

アミノトランスフェラーゼ類は、ピリドキサル5'-リン酸 (PLP) 依存性酵素の1ファミリーを構成する。これらのPLP依存性酵素は、アミノ酸の成分置換を触媒する。アミノトランスフェラーゼはタンパク質の合成や分解において重要な役割を果たし、他の過程にも寄与する。例えば、GABA アミノトランスフェラーゼ (GABA-T) は主要な阻害性アミノ酸神経伝達物質であるGABAの分解を触媒する。GABA-Tの活性化はアルコール中毒症、癲癇およびアルツハイマー疾患のような神経精神疾患に関連する (Sherif, F.M.およびAhmed, S.S. (1995) Clin. Biochem. 28:145-154)。このファミリーの他のメンバーには、ピルビン酸アミノトランスフェラーゼ、分枝鎖アミノ酸アミノトランスフェラーゼ、チロシンアミノトランスフェラーゼ、芳香族アミノトランスフェラーゼ、アラニン：グリオキシル酸アミノトランスフェラーゼ (AGT) およびキヌレニンアミノトランスフェラーゼが含まれる (Vacca, R. A.他(1997) J. Biol. Chem. 272:21932-21937)。 40

【0052】

キヌレニンアミノトランスフェラーゼは、L-トリプトファン代謝産物L-キヌレニンの不可逆アミノ転移を触媒しキヌレン酸を形成する。この酵素はまた、L-2-アミノアジピン酸から2-オキソグルタル酸およびその逆への可逆的なアミノ基転移反応を触媒して2-オキソアジピン酸およびL-グルタミン酸を生成し得る。キヌレン酸は、グルタミン酸作動性神経伝達の推定上のモジュレーターであるため、キヌレニンアミノトランスフェラーゼの欠損が多面発現性効果に関係すると思われる(Buchli, R.他 (1995) J. Biol. Chem. 270:29330-29335)。

【0053】

グリコシルトランスフェラーゼには哺乳類UDP-グルクロノシルトランスフェラーゼがあり、これは、薬物、発癌物質および他の外来性物質の解毒および排泄において重要な役割を果たす反応においてグルクロン酸の親油性基質への転移を触媒する膜結合性ミクロソーム酵素のファミリーである。他の哺乳類グリコシルトランスフェラーゼである、哺乳類UDP-P-ガラクトース-セラミド-ガラクトシルトランスフェラーゼは神経系のミエリン膜におけるガラクトセレブロシドの合成においてガラクトースのセラミドへの転移を触媒する。UDPグリコシルトランスフェラーゼは約50アミノ酸残基の保存されたシグネチャドメインを共有している(Prosite: PDOC00359, <http://expasy.hcuge.ch/sprot/prosite.html>)。

【0054】

メチルトランスフェラーゼは薬理学的に重要な多様な過程に関与している。ニコチンアミドN-メチルトランスフェラーゼはニコチンアミドおよび他のピリジンのN-メチル化を触媒するが、これは薬物や他の外来化合物の細胞内処理における重要な段階である。フェニルエタノールアミンN-メチルトランスフェラーゼはノルアドレナリンからアドレナリンへの変換を触媒する。6-O-メチルグアニン-DNA メチルトランスフェラーゼは発癌の重要な段階であるDNA メチル化を逆転する。二つのメチル基の転移を触媒してS-アデノシル-L-メチオニンからウロポルフィリノーゲン IIIにするウロポルフィリン-IIIC-メチルトランスフェラーゼはコバラミンの生合成における最初の特異的酵素である。コバラミンは悪性貧血においてその取り込みが欠乏する食餌性酵素である。タンパク質-アルギニンメチルトランスフェラーゼはタンパク質におけるアルギニン残基の翻訳後メチル化を触媒し、グアニジノ基におけるアルギニンのモノメチル化やジメチル化を生じる。基質にはヒストン、ミエリン塩基タンパク質およびmRNA プロセッシング、スプライシングおよび輸送に関与する不均一核内リボ蛋白質 (heterogeneous nuclear ribonucleoproteins)がある。タンパク質-アルギニンメチルトランスフェラーゼは、分裂促進因子によって上方制御されるタンパク質、慢性リンパ性白血病に関与するタンパク質およびインターフェロンと相互作用するが、これはサイトカイン受容体シグナル伝達におけるメチル化の重要な役割を示唆している (Lin, W.-J. 他 (1996) J. Biol. Chem. 271:15034-15044, Abramovich, C. 他(1997) EMBO J. 16:260-266, Scott, H.S. 他 (1998) Genomics 48:330-340)。

【0055】

ホスホトランスフェラーゼは高エネルギーリン酸基の転移を触媒し、エネルギー要求反応および放出性反応において重要である。代謝酵素のクレアチンキナーゼはクレアチン/クレアチンリン酸とATP/ADPとの間の可逆的リン酸転移を触媒する。グリコシアミンキナーゼはATP からグアニド酢酸へのリン酸の転移を触媒し、アルギニンキナーゼはATPからアルギニンへのリン酸転移を触媒する。システイン含有活性部位はこのファミリー (Prosite E: PDOC00103)で保存されている。

【0056】

プレニルトランスフェラーゼは、イソプレニル基の転移を触媒する、 α および β サブユニットからなるヘテロ二量体である。Ras ファルネシルトランスフェラーゼ(FTase) はサイトゾルのファルネシルピロリン酸からRas発癌遺伝子タンパク質のカルボキシル末端のシステイン残基にファルネシル部分を転移する。この修飾はRasがシグナル伝達における役割を果たすことができるようにRas を細胞膜に固着するために必要である。FTase インヒビターはRas機能を遮断し、抗腫瘍活性を示す (Buolamwini, J.K. (1999) Curr. Opin. Chem. Biol. 3:500-509)。FTase はゲラニルゲラニルトランスフェラーゼ即ちRab GG

10

20

30

40

50

トランスフェラーゼと構造的類似性を共有しているおり、Rabタンパク質をプレニル化し、それらが小胞輸送の調節に関与できるようにする(Seabra, M.C. (1996) J. Biol. Chem. 271:14398-14404)。

【0057】

糖転移酵素(saccharyl transferases)は多様な代謝過程に関与する糖化酵素である。たとえばオリゴ糖トランスフェラーゼ48は後期糖化生成物であり、その蓄積は糖尿病の血管性合併症、大血管の疾患、腎不全およびアルツハイマー病において見られる(Thornalley, P.J. (1998) Cell Mol. Biol. (Noisy-Le-Grand) 44:1013-1023)。

【0058】

補酵素A(CoA) トランスフェラーゼは2つのカルボン酸間の CoA の転移を触媒する。例えば、スクシニルCoA:3オキソ酸CoA トランスフェラーゼはスクシニル-CoA からアセト酢酸のような受容体に CoA を転移する。アセト酢酸はケトン体の代謝に必須である。ケトン体は糖尿病のような代謝性疾患によって影響される組織に蓄積する(PROSITE: PDOC00980)。

【0059】

トランスグルタミナーゼトランスフェラーゼ(Tgアーゼ)は、タンパク質結合グルタミンからタンパク質結合リジン残基または他の一級アミンの ϵ -アミノ基への γ -カルボキシ基の転移を触媒することによってイソペプチド結合を形成できる Ca^{2+} 依存性酵素である。Tgアーゼは角化膜(CE)の架橋を担う酵素であり、CEは角質細胞の表面にある可溶性の高いタンパク質構造であるが、架橋により、化学的かつ機械的に耐性のあるタンパク質高分子になる。7種の既知のヒトTgアーゼが同定されている。個々のトランスグルタミナーゼ遺伝子生成物は第XIIIa因子のような特定のタンパク質または組織構造の架橋をするように特殊化されている。例えば第XIIIa因子は止血におけるフィブリン凝固を安定化し、前立腺トランスグルタミナーゼは精液凝固において作用し、組織トランスグルタミナーゼは受容体シグナル伝達においてGTP-結合に関与する。Tgアーゼ 1、2、3およびXの四つのTgアーゼは表皮のような最終的に分化している上皮において発現される。Tgアーゼは、先天性魚鱗癬と呼ばれるある種の皮膚疾患を患う患者の病理に見られるように角化膜の適切な架橋のために重要である。先天性魚鱗癬はケラチン生成細胞トランスグルタミナーゼ (TG_K) 遺伝子の突然変異に関連する(Nemes, Z. 他 (1999) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 96:8402-8407、Aeschlimann, D. 他(1998) J. Biol. Chem. 273:3452-3460を参照)。

【0060】

ヒドロラーゼ

ヒドロラーゼは水分子の導入によって基質内のさまざまな共有結合の切断を触媒する酵素クラスである。この反応においては、水分子の酸素原子が基質内の標的結合に求核攻撃を加える。水分子が標的結合のところで分かれて結合を破り、二つの分子が生成される。ヒドロラーゼは細胞成分の合成と分解などの機能および、細胞シグナル伝達、細胞増殖、炎症、アポトーシス、分泌および排泄を含む細胞機能の調節に必須な反応にかかわっている。ヒドロラーゼはこれらの機能にかかわる病気プロセスの重要な過程に関連している。加水分解酵素、すなわちヒドロラーゼは基質特異性によってホスファターゼ、ペプチダーゼ、リゾホスホリパーゼ、ホスホジエステラーゼ、グリコシダーゼ、グリオキサラーゼ、アミノヒドロラーゼ、カルボキシエステラーゼ、スルファターゼ、ホスホヒドロラーゼ、ヌクレオチダーゼ、リゾチームなど多くのクラスに分類される。

【0061】

ホスファターゼは加水分解によりタンパク質からリン酸基を除去する。これは、多くの細胞内シグナル伝達経路を調節し、ひいては細胞成長と分化、細胞間接触、細胞周期および発癌を制御するエネルギー供給過程である。

【0062】

ペプチダーゼはプロテアーゼとも呼ばれ、ペプチドやタンパク質の鎖のバックボーンを形成するペプチド結合を切断する。タンパク質分解は細胞増殖、分化、再構築や恒常性ならびに炎症および免疫反応において重要である。典型的なタンパク質の半減期は数時間から

10

20

30

40

50

数日の範囲であるため、ペプチダーゼはつねにタンパク質前駆体を切断して活性型に変え、標的タンパク質からシグナル配列を除去し、古いタンパク質や欠陥のあるタンパク質を分解している。ペプチダーゼはバクテリア、寄生生物およびウィルスの侵入と宿主内での複製の際に機能する。ペプチダーゼの例としてはトリプシンおよびキモトリプシン（補体カスケードと血液凝固カスケードの成分）リソソームのカテプシン、カルパイン、ペプシン、レニンおよびキモシンなどが挙げられる(Beynon, R.J. および J.S. Bond (1994) Proteolytic Enzymes: A Practical Approach, Oxford University Press, New York, NY, 1-5ページ)。

【0063】

リゾホスホリパーゼ (LPL) はエステル結合の加水分解でアシル基を除去するという、脂質分解の重要な過程を触媒することによって細胞内脂質を調節する。約 15～30 kD の小さい LPL アイソフォームはヒドロラーゼとして機能し、大きなアイソフォームはヒドロラーゼとアシル基転移酵素の両方の機能をする。LPL の特定の基質であるリソホスファチジルコリンは細胞膜の溶解を起こす。LPL の活性は、炎症反応を含む数多くの経路で重要なシグナル伝達分子によって調節される。

【0064】

ホスホジエステラーゼはホスホジエステル化合物内の 2 つのエステル結合のうちの 1 つの加水分解を触媒する。従って、ホスホジエステラーゼは様々な細胞プロセスにとって重要である。ホスホジエステラーゼには DNA および RNA のエンドヌクレアーゼおよびエキソヌクレアーゼが含まれるが、これらは細胞の成長と複製およびタンパク質合成に必須である。エンドヌクレアーゼ V (デオキシイノシン 3' エンドヌクレアーゼ) はタイプ II の部位特異性デオキシリボヌクレアーゼの一例であり、ヒポキサンチン、ウラシルまたはミスマッチ塩基を含む DNA を切断する推定 DNA 修復酵素であると推定されている。大腸菌エンドヌクレアーゼ V は、デオキシキサンチンへの第 2 のホスホジエステル結合 3' においてデオキシキサンチンを含む DNA を切断し、切断部位で 3' ヒドロキシル基および 5' ホスホリル基を生成することが示されている(He, B. 他. (2000) *Mutat. Res.* 459:109-114)。大腸菌エンドヌクレアーゼ V は脱アミノ化されたグアニンすなわちキサンチンを DNA から除去する際に役割を果たし、ひいてはニトロソ基の脱アミノ化による突然変異誘発効果から細胞を保護すると示唆されている(Schouten KA および Weiss B (1999) *Mutat. Res.* 435:245-254)。真核生物においては、tRNA スプライシング過程において、アンチコドンループ 1 塩基 3' からアンチコドン妨害する小さな tRNA イントロンを除去する必要がある。この過程にはエンドヌクレアーゼ、リガーゼおよびホスホトランスフェラーゼの段階的な作用が必要とされる(Hong, L. 他 (1998) *Science* 280:279-284)。リボヌクレアーゼ P (Rnase P) は、tRNA スプライシング過程に成熟した tRNA 5' 末端を生成するために必要な普遍的な RNA 処理エンドヌクレアーゼである。これは tRNA 前駆体上の特異的な部位で P-3' 結合の切断を触媒することによって 5' リン酸および 3' ヒドロキシル末端基を生成することで達成される。Rnase P による触媒反応は Mg^{2+} または Mn^{2+} などの 2 価のカチオンに絶対的に依存している(Kurz, J.C. 他 (2000) *Curr. Opin. Chem. Biol.* 4:553-558)。Rnase P の基質認識機構は真核生物および細菌の間でよく保存されている(FENZMi, S. 他 (1998) *Science* 280:284-286)。出芽酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*,) において、POP1 (Processing Of Precursor RNAs) が、Rnase P および Rnase MRP (もう一つの RNA 処理タンパク質) の両方のタンパク質成分をコードしている。酵母菌 POP1 における突然変異は致死的である(Lygerou, Z. 他 (1994) *Genes Dev.* 8:1423-1433)。もう 1 つのホスホジエステラーゼである酸性スフィンゴミエリナーゼは、膜リン脂質スフィンゴミエリンを加水分解してセラミドおよびホスホリルコリンを生成する。ホスホリルコリンはホスファチジルコリンの合成に機能を持っている。ホスファチジルコリンは細胞内シグナル伝達経路に関与している。セラミドは、神経組織に高濃度に存在する膜脂質であるガングリオシドの生成に必須な前駆体である。酸性スフィンゴミエリナーゼホスホジエステラーゼに欠陥があると、ニーマン・ピック病になる。

【0065】

10

20

30

40

50

グリコシダーゼはグリコシドのヘミアセチル結合を切断する。グリコシドは1つ以上の糖を含む化合物である。たとえば、哺乳動物のラクターゼ・フロリジンヒドロラーゼは乳糖を分割する腸酵素である。哺乳動物のベータガラクトシダーゼはガングリオシド、糖タンパク質およびグリコサミノグリカンから末端ガラクトースを除去し、この酵素の欠損はモルキオ病タイプBとして知られるガングリオシド蓄積症と関連している (PROSITE PCDOCO0910)。脊椎動物のリソソームのアルファグルコシダーゼ (グリコーゲン、マルトースおよびイソマルトースを加水分解) および脊椎動物の腸スクラーゼ・イソマルターゼ (スクロース、マルトースおよびイソマルトースを加水分解) はこのファミリーの広範囲に分布するメンバーであり、活性部位に高度に保存された配列を持っている。

【0066】

グリオキシラーゼ系は糖新生、すなわち体内に保存された化合物からグルコースを產生することに関与している。この系はグリオキシラーゼI (トリオースリン酸エネルギー代謝の副産物であるメチルグリオキサールからS-Dラクトイルグルタチオンを形成する反応を触媒) およびグリオキシラーゼII (S-DラクトイルグルタチオンをD乳酸と還元グルタチオンに加水分解) からなっている。グリオキシラーゼは高血糖症、非インシュリン依存糖尿病、バクテリア毒素の解毒、および細胞増殖と微小管アセンブリの制御に関与している。

【0067】

NG, NG-ジメチルアルギニンジメチルアミノヒドロラーゼ (DDAH) は、内因性一酸化窒素シンターゼ (NOS) インヒビターである、NG-モノメチル-アルギニンおよび NG, NG-ジメチル-L-アルギニンを加水分解してL-シトルリンにする酵素である。DDAHが阻害されると、NOSが阻害されるのに十分な濃度までにNOSインヒビターの細胞内濃度が増加する。したがって、DDAH阻害によってNOS阻害の方法が提供され、DDAH活性の変化が一酸化窒素生成における病態生理学的な変化に関与しているであろう (MacAllister, R.J. 他 (1996) Br. J. Pharmacol. 119: 1533-1540)。DDAHは細胞骨格異常を示す神経細胞およびアルツハイマー病における酸化ストレスに発見されている。同年齢の対照例の神経細胞には、DDAHは発見されていない。これは酸化ストレスや一酸化窒素に媒介される現象がアルツハイマー病の病因に関与していることを示唆する (Smith, M.A. 他 (1998) Free Radic. Biol. Med. 25: 898-902)。

【0068】

アシルCoAチオエステラーゼはカルボキシルエステラーゼファミリーのもう一つのメンバーである (Alexson, S.E. 他 (1993) Eur. J. Biochem. 214:719-727)。アシルCoAチオエステラーゼはステロイド産生組織において調節的役割を持っていることを示唆する証拠がある (Finkelstein, C. 他 (1998) Eur. J. Biochem. 256:60-66)。

【0069】

アルファ/ベータヒドロラーゼタンパク質フォールドは多様な系統発生上の起源および多様な触媒機能を持ついくつかのヒドロラーゼに共通である。アルファ/ベータヒドロラーゼフォールドを持つ酵素は8枚のベータシートがアルファヘリックスでつながれた共通のコア構造をもっている。このフォールドの最もよく保存された構造的な特徴は求核ヒスチジン-酸の触媒トライアッドである。この触媒トライアッドの中のヒスチジンは完全に保存されているのに対して、求核ループおよび酸ループは2つ以上のタイプのアミノ酸を受け入れる (Ollis, D.L. 他 (1992) Protein Eng. 5:197-211)。

【0070】

スルファターゼは、配列相同性が高く、構造もよく類似した、高度に保存された遺伝子ファミリーのメンバーである。スルファターゼは硫酸エステルの切断を触媒する。この機能を果たすために、スルファターゼは小胞体でユニークな翻訳後修飾を受ける。これには保存されたシステイン残基の酸化が関与している。多発性スルファターゼ欠損症と呼ばれるヒトの病気はこの翻訳後修飾ステップの欠陥によって不活性なスルファターゼができることに起因する (Recksiek, M. 他 (1998) J. Biol. Chem. 273:6096-6103)。

【0071】

ホスホヒドロラーゼはリン酸エステルを加水分解する酵素である。一部のホスホヒドロ

10

20

30

40

50

ラーゼはmutTドメインシグネチャ配列を含んでいる。mutTは酸化で損傷したグアニンをDNAから除去するGO系に関与するタンパク質である。mutTのN末端にある約40アミノ酸残基の領域は一部のホスホヒドロラーゼを含む他のタンパク質にも見られる(Prosite PDOC00695)。

【0072】

セリンヒドロラーゼは活性部位にセリン残基を含む加水分解酵素の大きな機能クラスである。このクラスの酵素としては、さまざまな基質を加水分解するプロテイナーゼ、エステラーゼおよびリパーゼが含まれ、生物学的な役割もさまざまである。。このスーパーファミリのタンパク質は基質特異性またはアミノ酸類似性によってさらにサブファミリ-に分けることができる(Puente, X.S.およびC. Lopez-Otin. (1995) J. Biol. Chem. 270:12 10 926-12932)。

【0073】

神経障害標的エステラーゼ(NTE)は脊椎動物の一部の非神経細胞タイプおよび全てのニューロンに存在する膜内在性タンパク質である。NTEは発生中の神経系においてニューロンとアクセサリグリア細胞の間の相互作用を制御する細胞シグナル伝達経路に関与している。NTEはセリンエステラーゼ活性を持ち、フェニルバレレート酸(phenyl valerate、PV)の加水分解をin vitroで効率よく触媒するが、生理学的な基質は未知である。NTEはアセチルコリンエステラーゼを含む主要なセリンエステラーゼファミリにもその他の既知のセリンヒドロラーゼにも関係していない。NTEは少なくとも2つの機能ドメインを持っている。1つはN末端の推定上の調節ドメインで、もう1つはC末端のエフェクタードメインであり、後者はエステラーゼ活性を含み、部分的には細菌、酵母、線虫および昆虫のタンパク質で保存されている。NTEのエフェクタードメインは3つの推定膜貫通セグメントを含み、活性部位のセリン残基はこれらのセグメントのうちの1つの中心に位置している。分離された組換えドメインは、リン脂質リポソームに導入されたときにのみPVヒドロラーゼ活性を示す。NTEのエステラーゼ活性はおおむね成体の脊椎動物においては冗長であるが、in vivoでNTEと反応する有機リン酸は未知のイベントを経て、長い軸索の変性を伴う神経障害につながる。これらの神経障害性有機リン酸は活性部位のセリン残基に共有結合した負に帯電した基を残し、これがNTEの毒性獲得の原因になる(Glynn, P. (1999) Biochem. J. 344:625-631)。さらにショウジョウバエの神経変性遺伝子スイスチーズ(swiss-cheese)は、グリア-ニューロン相互作用に関与して上記のヒトのNTEと相同な神経タンパク質をコードする(Moser, M. 他 (2000) Mech. Dev. 90:279-282)。 20 30

【0074】

キチナーゼはさまざまな生物体中存在するキチン分解酵素であり、細胞壁の再構築、防御および異化作用などのプロセスに関わっている。キチナーゼ活性はヒトの血清、白血球、顆粒球に、そして哺乳動物の受精した卵母細胞に関連して見出されている(Escott, G.M. (1995) Infect. Immunol. 63:4770-4773; DeSouza, M.M. (1995) Endocrinology 136: 2485-2496)。ヒトの解糖およびタンパク質分解分子は肺の疾患による組織損傷および癌の腫瘍原性と転移潜在性に関与している(Mulligan, M.S. (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. 90:11523-11527、Matrisian, L.M. (1991) Am. J. Med. Sci. 302:157-162、Witty, J.P. (1994) Cancer Res. 54:4805-4812)。キチン分解活性を持つヒトの酵素が発見されたということは注目に値する。なぜならヒトの体内には内因性のキチンはないからである(Raghavan, N. (1994) Infect. Immun. 62:1901-1908)。しかし、細菌、カビ、植物および昆虫などのさまざまな非哺乳動物体のキチナーゼと相同性を持った哺乳動物タンパク質のグループが存在する。このファミリのメンバーはキチンまたはキチン様基質を加水分解する能力が異なっている。このファミリの哺乳動物メンバーの一部(特異的なキチン分解活性を示さないヒトの軟骨タンパク質およびウシの乳清キトリオシダーゼ(chitotriosidase))は組織リモデリングイベントに関連して発現してる(Rejman, J.J. (1988) Biochem. Biophys. Res. Commun. 150:329-334、Nyirkos, P. (1990) Biochem. J. 268:265-268)。ヒトの軟骨タンパク質のレベルの上昇がリウマチ性関節炎の患者の滑液および軟骨内で報告されている。この病気は罹患した関節に軟骨の重度の変性と滑膜の増殖をもたらす 40 50

(Hakala, B.E. (1993) J. Biol. Chem. 268:25803-25810)。

【0075】

エーテル結合に作用するヒドロラーゼの小さなサブクラスとして、チオエーテルヒドロラーゼなどが挙げられる。SアデノシルLホモシステインヒドラーゼはAdoHcyaseまたは SAHH (PROSITE PDOC00603; EC 3.3.1.1)としても知られているが、S-アデノシル-L-ホモシステイン(AdoHcy)からアデノシンとホモシステインへの可逆的な加水分解に参与する活性としてラットの肝臓抽出物中で初めて記述されたチオエーテルヒドラーゼである(Sganga, M.W. 他 (1992) PNAS 89:6328-6332)。SAHHはサイトゾル酵素であって、大腸菌およびある種の関連バクテリアを除いて、試験されたすべての細胞で見ついている(Walker, R.D. 他(1975) Can. J. Biochem. 53:312-319、Shimizu, S. 他 (1988) FEMS Microbiol. Lett. 51:177-180、Shimizu, S. 他 (1984) Eur. J. Biochem. 141:385-392)。SAHH活性は補助因子としてNAD⁺に依存している。SAHHの欠損は高メチオニン血症(Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) #180960 Hypermethioninemia)に関連しているが、これは新生児胆汁鬱滞、成長障害、知的および運動能力の遅進、異常な毛および歯を含む顔面異形症、および心筋症によって特徴付けられる病理学的状態である(Labruno, P. 他 (1990) J. Pediatr. 117:220-226)。ヒドロラーゼのもう1つのサブクラスにはペプチド結合以外の炭素窒素(C-N)結合に作用する酵素が含まれる。このサブクラスにはアミド、アミジンおよびその他のC-N結合を加水分解する酵素が属している。このサブクラスはさらにリニアアミド、サイクリックアミド、リニアアミジン、サイクリックアミジン、ニトリルおよびその他の化合物を含む基質特異性によって分けられている。この酵素サブクラスに属するヒドロラーゼでサイクリックアミジンに作用するのがアデノシンデアミナーゼ(ADA)である。ADAはアデノシンをイノシンに分解する反応を触媒する。ADAは胎盤、筋肉、肺、胃、消化性憩室、脾臓、赤血球、胸腺、精漿、甲状腺、T細胞、骨髄幹細胞および肝臓を含む多くの哺乳動物組織に存在する。ADAのサブクラスであるADARはRNAに作用し、RNAエディターゼ(editase)として分類されている。ショウジョウバエからのADARであるdADARは発達中の神経系で発現し、中枢神経系のパラ電位依存性(para voltage-gated) Na⁺チャネル転写物に作用する可能性がある(Palladino, M.J. 他 (2000) RNA 6:1004-1018)。ADAの欠損は重症複合型免疫不全(SCID)を伴う重大なリンパ球減少症を引き起こす。ADA欠損を示す患者の細胞はADA触媒活性およびADAタンパク質の量が少ないか、ときには検出不能な場合もある。ADA欠損はADA遺伝子の遺伝的な突然変異に起因する(Hershfield, M.S. (1998) Semin. Hematol. 4:291-298)。ADA欠損の代謝への影響は肺胞生成(alveogenesis)の欠陥、肺の炎症および気道閉塞と関連している(Blackburn, M.R. 他 (2000) J. Exp. Med. 192:159-170)。

【0076】

脾臓リボヌクレアーゼ(RNase)は、ある種の哺乳動物分類群および一部の爬虫類の脾臓に大量に見られるピリミジン特異的なエンドヌクレアーゼである(Beintema, J.J. 他 (1988) Prog. Biophys. Mol. Biol. 51:165-192)。哺乳動物の脾臓RNaseスーパーファミリーのタンパク質は、2段階リン酸転移加水分解反応を通じてRNAを分解する非サイトゾルのエンドヌクレアーゼである(Beintema, J.J. 他 (1986) Mol. Biol. Evol. 3:262-275)。特に、これらの酵素は3'ホスホモノヌクレオチドと3'ホスホオリゴヌクレオチドの内ヌクレオチド結合を切断してC-PまたはU-Pと2', 3'サイクリックリン酸中間体にする過程に参与している。リボヌクレアーゼは一本鎖のDNAと複合体を作ってDNAヘリックスを巻き戻すことができる。この複合体は酵素のリジンおよびアルギニン残基とヌクレオチドのリン酸基の間の拡張多部位カチオン・アニオン相互作用によって生じる。このファミリーに属する酵素の一部は純粋な消化機能を演じているようであるが、その他のものは強力な異例な生物学的活性を示す(D'Alessio, G. (1993) Trends Cell Biol. 3:106-109)。脾臓RNaseファミリーに属するタンパク質としては、ウシの精囊および脳リボヌクレアーゼ、腎臓非分泌型リボヌクレアーゼ(Beintema, J.J. 他 (1986) FEBS Lett. 194:338-343)、肝臓タイプリボヌクレアーゼ(Rosenberg, H.F. 他(1989) PNAS U.S.A. 86:4460-4464)、正常および悪性組織の血管新生を誘発するアンギオジェニン、リボヌクレアーゼ活性を

持つ細胞毒素および寄生虫毒素である好酸球カチオン性タンパク質(Hofsteenge, J. 他.(1989) Biochemistry 28:9806-9813)、およびカエル肝臓リボヌクレアーゼとカエルのシアル酸結合レクチンが含まれる。脾臓 RNase の配列には4つの保存されたジスルフィド結合と触媒活性に関与する3つのアミノ酸残基が含まれている。

【0077】

ADPリボシル化は、ADPリボース部分が β -NADからアルギニンまたはシステインなどの標的アミノ酸に移される可逆的な翻訳後タンパク質修飾である。ADPリボシルアルギニンヒドラーゼはタンパク質からADPリボースを除去してアルギニンを再生することによりADPリボシル化サイクルを完了する(Moss, J. 他 (1997) Adv. Exp. Med. Biol. 419:25-33)。ADPリボシル化はバクテリア毒素でよく知られた反応である。たとえば、コレラ毒素は興奮性Gタンパク質の α サブユニットをADPリボシル化することによりアデニリルシクラーゼ系を乱して細胞内cAMPの増加を引き起こす(Moss, JおよびM. Vaughan (Eds) (1990) ADP-ribosylating Toxins and G-Proteins: Insights into Signal Transduction, American Society for Microbiology, Washington, D.C.)。また、ADPリボシル化は、真核生物において調節機能を持ち、細胞骨格アセンブリ(Zhou, H. 他 (1996) Arch. Biochem. Biophys. 334:214-222)および細胞毒性T細胞の細胞増殖(Wang, J. 他 (1996) J. Immunol. 156:2819-2827)に影響している可能性がある。

10

【0078】

ヌクレオチダーゼはヌクレオチドから遊離ヌクレオシドを生成する反応を触媒する。ハトの心臓からクローン化されたサイトゾルヌクレオチダーゼcN-I (5'ヌクレオチダーゼ I) はATPの加水分解中に生成されるAMPからアデノシンを生成する反応を触媒する(Sala-Newby, G.B. 他 (1999) J. Biol. Chem. 274:17789-17793)。アデノシン濃度の増加は代謝ストレスのシグナルであると考えられており、アデノシン受容体は血管拡張、興奮性ニューロン発火の減少および心臓内の虚血性プレコンディショニングを含む効果を仲介する(Schrader, J. (1990) Circulation 81:389-391; Rubino, A. 他 (1992) Eur. J. Pharmacol. 220:95-98; de Jong, J.W. 他 (2000) Pharmacol. Ther. 87:141-149)。ピリミジン5'ヌクレオチダーゼの欠損は遺伝的な溶血性貧血(OMIM #266120)を引き起こすことがある。

20

【0079】

リゾチームcスーパーファミリーは従来型のリゾチームc、カルシウム結合リゾチームcおよび α ラクトアルブミンからなる(Prager, E.M. およびP. Jolles (1996) EXS 75:9-31)。このスーパーファミリーの中のタンパク質は35~40%の配列相同性を持ち、共通した三次元フォールドを共有しているが、機能は異なりうる。リゾチームcはさまざまな組織および分泌物に遍在し、ある種の細菌の細胞壁を溶解させることができる(McKenzie, H.A. (1996) EXS 75:365-409)。アルファラクトアルブミンはカルシウムを結合する金属タンパク質であり、乳糖の合成に参加している(Iyer, L.K. および P.K. Qasba (1999) Protein Eng. 12:129-139)。アルファラクトアルブミンは哺乳動物の乳汁および初乳に存在している(前出のMcKenzie)。

30

【0080】

リゾチームは細菌の細胞壁のある種のムコ多糖の加水分解を触媒する。具体的にはNアセチルムラミン酸とNアセチルグルコサミンの間のベータ(1-4)グリコシド結合の加水分解を触媒して細菌溶解を引き起こす。リゾチームはウィルス、鳥および哺乳動物を含む多様な生物体に存在する。ヒトにおいては、リゾチームは脾臓、肺、腎臓、白血球、血漿、唾液、乳汁、涙および軟骨にみられる(OMIM #153450 Lysozyme; Weaver, L.H. 他.(1985) J. Mol. Biol. 184:739-741)。リゾチームcは反芻動物において消化酵素として機能し、摂取された細菌細胞からタンパク質を放出するが、ヒトの新生児においても同じ機能を果たしている可能性がある(Braun, O.H. 他 (1995) Klin. Pediatr. 207:4-7)。

40

【0081】

2つの既知のリゾチームの型であるニワトリ型とグース型ははじめそれぞれニワトリとカモの卵白から単離された。ニワトリ型とグース型は三次元構造が類似しているが、アミ

50

ノ酸配列は異なっている(Nakano, T. および T. Graf (1991) Biochim. Biophys. Acta 1090:273-276)。ニワトリにおいては、両方の型のリゾチームが好中性顆粒球(異染性)で見られるが、卵白にはニワトリ型リゾチームだけが見られる。一般に、ニワトリ型リゾチームのmRNAは接着性単球とマクロファージおよび非接着性前骨髄球と顆粒球の両方、さらには骨髄、脾臓、嚢、および卵管の細胞にも見られる。グース型リゾチームのmRNAは骨髄と肺の非接着性細胞に見られる。ウサギにおいていくつかのアイソザイムが見つかり、その中には白血球、胃腸、およびおそらくリンパ上皮の型などがある(前出のOMIM #153450; 前出のNakanoおよびGraf, GenBank GI 1310929)。ニワトリ型リゾチームに類似したタンパク質をコードするヒトのリゾチーム遺伝子がクローン化されている(Yoshimura, K. 他 (1988) Biochem. Biophys. Res. Commun. 150:794-801)。定間隔のシステイン残基を持つコンセンサスモチーフがさまざまな種のリゾチームCから得られている(PROSITE PS00128)。リゾチームCは α ラクトアルブミンと約40%の配列同一性を持っている。

10

【0082】

リゾチームはいくつかの病気と関連をもっている。リゾチーム尿症は糖尿病性腎症(Shima, M. 他(1986) Clin. Chem. 32:1818-1822)、地方性腎症(endemic nephropathy)(Bruckner, I. 他 (1978) Med. Interne. 16:117-125)、尿道感染症(Heidegger, H. (1990) Minerva Ginecol. 42:243-250)、および急性単球白血病(Shaw, M.T. (1978) Am. J. Hematol. 4:97-103)において観察されている。NakanoおよびGraf(前出)はリゾチームが宿主防御システムにおいて役割を果たしているのではないかと示唆している。遺伝性のリゾチーム欠損症を持つ年齢の高いウサギは皮下膿瘍などの感染を受けやすくなることが示された(前出のOMIM #153450)。ヒトのリゾチーム遺伝子の突然変異は遺伝性の全身アミロイド沈着症(腎臓、副腎、脾臓および肝臓などの内臓にアミロイドが沈着する稀な常染色体優性疾患)を引き起こす。この病気は通常50歳までに致死的となる。これらのアミロイド沈着はリゾチームの変異体を含んでいる。腎臓アミロイド沈着症は内臓に起こるものとしてはもっとも普通だがもっとも重篤である可能性をもっている(Pepys, M.B. 他 (1993) Nature 362:553-557, OMIM #105200 Familial Visceral Amyloidosis, Cotran, R.S. 他 (1994) Robbins Pathologic Basis of Disease, W.B. Saunders Company, Philadelphia PA, 231-238ページ)。細菌性髄膜炎の患者の脳脊髄液ではリゾチームと乳酸のレベルが増えていた(Ponka, A. 他 (1983) Infection 11:129-131)。急性単球白血病は特徴的に大規模なリゾチーム尿症を伴う(Den Tandt, W.R. (1988) Int. J. Biochem. 20:713-719)。

20

30

【0083】

リアーゼ

リアーゼは、2分子を形成するために、加水分解や酸化せずにC-C、C-O、C-N、C-S、C-(ハロゲン化合物)、P-Oあるいは他の結合の切断を触媒する酵素のクラスであり、その2分子の少なくとも1つは二重結合を含んでいる(Stryer, L. (1995) Biochemistry, W.H. Freeman and Co., New York NY, 620ページ)。酵素の国際的な分類(Webb, E.C. (1992) Enzyme Nomenclature 1992: Recommendations of the Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology on the Nomenclature and Classification of Enzymes, Academic Press, San Diego CA)の下で、リアーゼは酵素番号の最初の桁が数字4で名付けられる(即ちEC 4.x.x.x)固有のクラスを形成する。

40

【0084】

リアーゼのさらに細かい分類は、切断した分子基の性質だけでなく切断した結合のタイプを反映している。C-Cリアーゼのグループには、カルボキシル・リアーゼ(デカルボキシラーゼ)、アルデヒド・リアーゼ(アルドラーゼ)、オキソ酸リアーゼとその他のリアーゼが含まれる。C-Oリアーゼのグループには、多糖に作用するリアーゼであるヒドロリアーゼや他のリアーゼが含まれる。C-Nリアーゼのグループには、アンモニアリアーゼ、アミジンリアーゼ、アミンリアーゼ(デアミナーゼ)その他のリアーゼが含まれる。リアーゼは細胞生化学の重要な成分であり、脂肪酸代謝、トリカルボン酸回路や他の多様な酵素プロセス等の代謝エネルギー生産において役割を果たしている。

【0085】

50

1つの重要なリアーゼのファミリーは、炭酸デヒドラターゼとも呼ばれる炭酸脱水素酵素(CA)であり、 $\text{H}_2\text{O} + \text{CO}_2 \rightarrow \text{HCO}_3^- + \text{H}^+$ 反応における二酸化炭素の水和を触媒する。このタンパク質の表面下約15Åの深い裂け目に位置し、3つのHis残基のイミダゾール基に配位される亜鉛イオンにより、CAはこの反応を 10^6 を超える割合で加速する。亜鉛イオンに結合する水は、急速に HCO_3^- に変換される。

【0086】

炭酸脱水素酵素の8つの、酵素的そして進化的に関連する型が、現在ヒトに存在することが知られている：3つのサイトゾルイソ酵素(CAI、CAII、CAIII)、2つの膜結合型(CAIV、CAVII)、ミトコンドリア型(CAV)、分泌唾液型(CAVI)、まだ特徴付けられていないイソ酵素である(PROSITE PDOC00146Eukaryotic-type carbonic anhydrases signature)。イソ酵素CAI、CAIIとウシCAIIIは類似の二次構造とポリペプチド鎖折り畳みを有するが、CAIは6-トリプトファン、CAIIは7-トリプトファン、CAIIIは8-トリプトファンを有する(Boren, K. 他. (1996) Protein Sci. 5:2479-2484)。CAIIは哺乳動物の脳の主要なCAイソ酵素である。

【0087】

CAは、pH調節、 CO_2 及び HCO_3^- 輸送、イオン輸送、水分と電解質バランスを含む多様な生理的プロセスに参与する。例えばCAIIは、胃壁細胞、尿細管細胞、および破骨細胞による H^+ 分泌に寄与するが、破骨細胞は骨を再吸収する区画を酸性化するために H^+ を分泌する。更にCAIIは腓骨細胞、毛様体上皮組織、脈絡叢、唾液腺腺房細胞、遠位結腸上皮組織による HCO_3^- 分泌を促進する。それにより胆汁、房水、脳脊髄液、唾液の生成に参与すると共に、電解質と水分のバランスに寄与する。CAIIは腎臓の近位尿細管、赤血球、肺における CO_2 交換をも促進する。CAIVは幾つかの組織において役割を果たす。：腎臓において HCO_3^- の再吸収を促進する；脳、骨格筋、心筋等の組織における CO_2 流動を促進する；血液中から肺の肺胞への CO_2 交換を促進する。CAVIはCAIIと共に唾液のpH調節におそらく参与する。また食道と胃での保護効果を有し得るミトコンドリアのCAVは、糖新生と尿生成の経路へのCAのインヒビター効果に基づいてこれらにおいて重要な役割を果たすように思われる(Sly, W.S及びP.Y. Hu (1995) Ann. Rev. Biochem. 64:375-401)。

【0088】

多数の疾患状態が、CA活性の変化によって特徴付けられる。CAIIの欠損を引き起こすCAIIにおける突然変異は、尿細管性アシドーシスを伴う骨石化症の原因である(OMIM #259730 Osteopetrosis with Renal Tubular Acidosis)。脳脊髄液(CSF)におけるCAIIの濃度は、脳損傷の患者の疾患作用を特徴付けるように思われる。高いCA濃度が脳梗塞を患う患者で観察された。一過性脳虚血発作、多発性硬化症あるいは癲癇を患う患者のCAIIの濃度は、通常正常な範囲であるが、中枢神経系感染、痴呆あるいは三叉神経痛の患者にはCSFにおいて高いレベルのCAIIが観察されてきた(Parkkila, A.K. 他 (1997) Eur. J. Clin. Invest. 27:392-397)。非腫瘍性対照は、大腸陰窩の上半分に並んだ円柱細胞の細胞質にCAIとCAIIを示すが、大腸腺腫と腺癌はCAに対して染色しないことが観察されてきた。腫瘍は、正常な陰窩の基底に並ぶ、それほど成熟していない細胞に類似の染色パターンを示す(Gramlich T.L.他 (1990) Arch. Pathol. Lab. Med. 114:415-419)。

【0089】

多数の疾患における治療は、CA活性を変更することを伴う。アセタゾールアミド等のCAインヒビターが緑内障(Stewart, W.C. (1999) Curr. Opin. Ophthalmol. 10:99-108)、本態性振戦とパーキンソン病(Uitti, R.J. (1998) Geriatrics 53:46-48, 53-57)、間欠性運動失調(Singhvi, J.P. 他. (2000) Neurology India 48:78-80)、高度と関連する疾患(Klocke, D.L. 他 (1998) Mayo Clin. Proc. 73:988-992)の治療において使用される。

【0090】

CA活性は、酵素が生理学的変化に対して比較的ゆっくり反応するので、長期の疾患状態の指標として特に有用である。甲状腺亢進症のグレーブス病ではCAIと亜鉛濃度の下降(Yoshida, K. (1996) Tohoku J. Exp. Med. 178:345-356)、糖尿病ではグリコシル化CAI(Kondo, T. 他 (1987) Clin. Chim. Acta 166:227-236)が観察される。正の相関性がCAI、CAI

I反応性と子宮内膜症の間で観察される(Brinton, D.A他 (1996) Ann. Clin. Lab. Sci. 26:409-420、D' Cruz, O.J. 他 (1996) Fertil. Steril. 66:547-556)。

【0091】

リアーゼのファミリーの別の重要なメンバーは、ポリアミン生合成における初期律速酵素であるオルニチンデカルボキシラーゼ(ODC)である。ODCは、L-オルニチン→ プトレッシン+CO₂反応におけるオルニチンからプトレッシンへの転換を触媒する。ポリアミンは、プトレッシン、および続く代謝経路の生成物であるスペルミジンとスペルミンを含み、DNA合成、細胞分化、増殖に不可欠な遍在性細胞構成成分である。このようにポリアミンは腫瘍増殖において重要な役割を果たす(Medina, M.A. 他 (1999) Biochem. Pharmacol. 57:1341-1344)。

10

【0092】

ODCは、ホモ二量体として活性であるピリドキサル-5-リン酸(PLP)依存性酵素である。保存される残基には、PLP結合部位での残基と基質結合領域の一部と思われるグリシン残基の区間が含まれる(Prosite PDOC00685 Orn/DAP/Arg decarboxylase family 2 signatures)。哺乳動物のODCは、PEST領域(細胞内分解のためのシグナルとして作用するプロリン、グルタミン酸、セリン、トレオニン残基がリッチな配列断片)をも含む(前出のMedina 他)。

【0093】

多くの化学発癌物質と腫瘍プロモータがODCレベルと活性を上昇させる。複数の既知の発癌遺伝子が、ODC遺伝子の転写を促進することによりODCレベルを上昇させる。また 20
超高レベルで発現する時、ODC自体が発癌遺伝子として作用する可能性がある。高レベルのODCが多数の前癌症状で見出される。またODCレベルの上昇が腫瘍促進化合物のためのスクリーニングの一部として使用される(Pegg, A.E. 他 (1995) J. Cell. Biochem. Suppl. 22:132-138)。

【0094】

動物モデルとヒトの臨床試験において腫瘍を治療するためにODCのインヒビターが使用されており、膀胱、脳、食道、胃腸管、肺、口腔、乳腺、胃、皮膚、気管の腫瘍の発達を抑制することを示してきた(前出Pegg 他、McCann, P.P及びA.E. Pegg. (1992) Pharmac. Ther. 54:195-215)。ODCは化学防御のための標的としても有望である(前出Pegg 他)。ODC 30
インヒビターは、アフリカトリパノゾーマ、マラリア、ニューモシスティスカリニ属による感染を治療するためにも使用されている。また狼瘡とリウマチ様関節炎等の自己免疫性疾患の治療のために潜在的に有用である(前出McCannおよびPegg)。

【0095】

ピリドキサル依存性デカルボキシラーゼの別のファミリーは、グループIIデカルボキシラーゼである。このファミリーには、グルタミン酸から神経伝達物質GABAへの脱炭酸反応を触媒するグルタミン酸デカルボキシラーゼ(GAD)、ヒスチジンからヒスタミンへの脱炭酸反応を触媒するヒスチジндеカルボキシラーゼ(HDC)、トリプトファンからトリプタミンへの脱炭酸反応を触媒し、また5-ヒドロキシ-トリプトファンとジヒドロキシフェニルアラニン(L-dopa)にも作用する芳香族L-アミノ酸脱炭酸酵素(DDC)(L-ドーパ脱炭酸酵素 40
またはトリプトファン・デカルボキシラーゼとしても知られる)、システインからのタウリンの合成における律速酵素であるシステインスルフィン酸脱炭酸酵素(CSD)が含まれる(Prosite PDOC00329 DDC/GAD/HDC/TyrDC pyridoxal-phosphate attachment site)。タウリンは脳内の豊富なスルホン基アミノ酸(sulfonic amino acid)であり、脳細胞内で浸透圧調節因子として作用すると思われる(Bitoun, M.及び M. Tappaz. (2000) J. Neurochem. 75:919-924)。

【0096】

イソメラーゼ

イソメラーゼは1つの分子の中の幾何学的または構造的変化を触媒し、単一の生成物をもたらす酵素のクラスである。このクラスにはラセマーゼとエピメラーゼ、シス-トランス・イソメラーゼ、分子内酸化還元酵素、分子内トランスフェラーゼ(ムターゼ)および 50

分子内リアーゼが含まれる。イソメラーゼは細胞の生化学に必須な成分であり、解糖を含む代謝エネルギー生成およびその他の多様な酵素プロセスにおいて役割をもっている (Stryer, 前出 483-507ページ)。

【0097】

ラセマーゼはイソメラーゼの1つのサブセットであり、単一の非対称中心を持った基質の中の非対称炭素原子の回りで分子配置を反転することで2つのラセミ体の相互変換を行う。エピメラーゼはイソメラーゼのもう1つのサブセットであり、2つ以上の非対称中心を持った基質の中の非対称炭素原子の回りで分子配置を反転することで2つのエピマーの相互変換を行う。ラセマーゼとエピメラーゼはアミノ酸とその誘導体、ヒドロキシ酸およびその誘導体、糖質およびその誘導体に作用することができる。UDPガラクトースとUDPグルコースの相互変換はUDPガラクトース4' エピメラーゼによって触媒される。このエピメラーゼの機能の適正な調節は、糖タンパク質と糖脂質の合成に必須である。幼児のスクリーニングプログラムにおいて、血液ガラクトースレベルの上昇がUDPガラクトース4' エピメラーゼ欠損と相関付けられている (Gitzelmann, R. (1972) *Helv. Paediat. Acta* 27:125-130)。

10

【0098】

新しく合成されたタンパク質の正しい折りたたみは分子シャペロンおよび折りたたみ触媒という2つの無関係なヘルパー分子グループによって補助される。シャペロンは折りたたみ中間体に化学量論的に結合することによって非生産的な副反応を抑圧し、折りたたみ酵素はタンパク質が最終的な機能的配置を達成するための複数の折りたたみステップのうちいくつかを触媒する (Kern, G. 他 (1994) *FEBS Lett.* 348:145-148)。折りたたみ酵素の1つのクラスであるペプチジルプロリルシス-トランスイソメラーゼ (PPIアーゼ) はタンパク質の熟成と移出の律速過程と考えられている過程においてある種のプロリンイミド結合を異性化する。PPIアーゼ類は、タンパク質内の特定のプロリンイミド結合の、シスからトランスへの異性化を触媒する。進化的に無関係なPPIアーゼのファミリーが3つある、すなわちサイクロフィリン、FK506結合タンパク質および新しく特徴付けられた parvulinファミリーである (Rahfeld, J.U. 他 (1994) *FEBS Lett.* 352:180-184)。

20

【0099】

サイクロフィリン (CyP) ははじめは免疫抑制剤シクロスポリンA (CsA) (T細胞活性化のインヒビター) の主要な受容体として識別された (Handschumacher, R.E. 他 (1984) *Science* 226: 544-547、Harding, M.W. 他 (1986) *J. Biol. Chem.* 261:8547-8555)。したがって、CyPのペプチジルプロリルイソメラーゼ活性は、T細胞活性化につながるシグナル伝達経路の一部である可能性がある。引き続いた研究により、CyPのイソメラーゼ活性は適切なタンパク質折りたたみおよびタンパク質輸送に必須であることが実証されており、またタンパク質複合体のアセンブリまたは分解、およびタンパク質活性の調節にも関与している可能性がある。例えば、ショウジョウバエにおいてCyP NinaA はロドプシンの正確な局在化に必要であるが、哺乳類のCyP (Cyp40) はステロイド受容体に結合するHsp90/Hsp70 複合体の一部である。哺乳類CyP (CypA) はヒト免疫不全ウイルス1 (HIV-1) からのgagタンパク質と結合することが示されているが、この相互作用はシクロスポリンによって抑制し得る。シクロスポリンは強力な抗HIV-1活性を有するので、CypAはHIV-1の複製において重要な機能を果たし得る。最後に、Cyp40は転写因子c-Mybに結合し、これを不活性化することが示されているが、この作用はシクロスポリンによって逆転される。この作用は、転写、形質転換および分化の調節でのCyp類の関与を意味する (Bergsma, D.J. 他 (1991) *J. Biol. Chem.* 266:23204 -23214、Hunter, T. (1998) *Cell* 92: 141-143、Levenson, J.D.およびS.A. Ness (1998) *Mol. Cell.* 1:203-211)。

30

40

【0100】

タンパク質の折りたたみの主要な律速過程の1つはタンパク質を正しくアセンブリするのに必要なチオール：ジスルフィド交換である。還元されて折り畳まれていないタンパク質が、酸化されたチオールと還元されたチオールを所定の比で含むバッファー中でインキュベートされると生来のコンフォメーションを引き起こすが、折り畳みの速度は遅く、

50

生来のコンフォーメーションの達成度はタンパク質中のシステインの数とサイズに比例して減少する。真核生物の小胞体や原核生物のペリプラズム間隙などの特定の細胞区画は、周囲のサイトゾルよりも更に酸化した状態を維持する。正しいジスルフィド形成がこれらの区画で発生し得るが、正常な細胞プロセスには不十分な速度であり、分泌タンパク質を合成するのに適切ではない。タンパク質ジスルフィドイソメラーゼ、チオレドキシン、およびグルタレドキシンは、ジスルフィド結合の形成を触媒することが可能であり、必要なチオール：ジスルフィド交換を可能とするために細胞の酸化還元環境を調節する (Loferer, H. (1995) J. Biol. Chem. 270:26178-26183)。

【0101】

これらの各タンパク質は多少異なる機能を有するが、すべてが保存した活性部位配列を含むジスルフィド含有レドックス・タンパク質の群に属し、真核生物や原核生物に広範囲に分布する。タンパク質ジスルフィドイソメラーゼは真核生物の小胞体や原核生物のペリプラズム間隙に見出される。これらは、折り畳みペプチド鎖中のチオールを自らのジスルフィドと交換することにより機能する。対照的に、還元したチオレドキシンとグルタレドキシンは通常は細胞質に見出され、基質タンパク質中で直接ジスルフィドを還元することにより機能する。

【0102】

酸化還元酵素もイソメラーゼでありえる。酸化還元酵素は酸化される基質から還元される基質への電子の可逆的な転移を触媒する。このクラスの酵素としては、デヒドロゲナーゼ、ヒドロキシラーゼ、オキシダーゼ、オキシゲナーゼ、ペルオキシダーゼおよびレダクターゼが含まれる。酸化還元酵素レベルの適正な維持は生理学的に重要である。たとえば、リポアミドデヒドロゲナーゼの遺伝的に関連した欠損は乳酸アシドーシスを引き起こすことがある (Robinson, B. H. 他 (1977) *Pediatr. Res.* 11:1198-1202)。

【0103】

イソメラーゼのもう1つのサブグループはトランスフェラーゼ(またはムターゼ)である。トランスフェラーゼは1つの化合物(ドナー)からもう1つの化合物(アクセプター)に化学基を転移する。これらの酵素によって転移される基としては、アシル基、アミノ基、リン酸基(ホスホトランスフェラーゼまたはホスホムターゼ)その他がある。トランスフェラーゼであるカルニチンパルミトイルトランスフェラーゼは脂肪酸代謝の重要な成分である。このトランスフェラーゼ内での遺伝的に関連した欠損群はミオパシーを引き起こすことがある (Scriber C. . 他 (1995) The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease, McGraw-Hill New York NY 1501-1533ページ)。

【0104】

イソメラーゼのさらにもう1つのサブグループはトポイソメラーゼである。トポイソメラーゼはDNAのトポロジー的な状態に影響する酵素である。たとえば、トポイソメラーゼあるいはその調節の欠損は正常な生理機能に影響しうる。トポイソメラーゼIIのレベルの低下は、血管拡張性失調症と関連付けられているDNAプロセッシング欠損の一部と関連付けられている (Singh, S.P. 他 (1988) *Nucleic Acids Res.* 16:3919-3929)。

【0105】

リガーゼ

リガーゼは2つの基質分子の間の結合の形成を触媒する。このプロセスはATPまたは類似したエネルギードナーのピロリン酸結合の加水分解を伴う。リガーゼは形成する結合のタイプの性質に基づいて分類されるが、その中には炭素-酸素、炭素-硫黄、炭素-窒素、炭素-炭素およびリン酸エステル結合が含まれる。

【0106】

炭素-酸素結合を形成するリガーゼとしては、翻訳において役割を持っている重要なRNA会合酵素であるアミノアシル転移RNA(tRNA)合成酵素が含まれる。蛋白質生合成は、各アミノ酸が適切なtRNAとの連結を形成することに依存している。アミノアシル-tRNA合成酵素は、アミノ酸の活性化と、その同族tRNAとの正しい付着とを担う。20種のアミノアシル-tRNA合成酵素は2つの構造クラスに分けることができ、各クラスは触媒ドメインに明

10

20

30

40

50

瞭なトポロジー的特徴をもっている。クラスI 酵素には、ヌクレオチド結合した「ロスマンフォールド (Rossman fold)」に基づく触媒的ドメインがある。クラスII 酵素は中央触媒ドメイン (7本鎖の逆平行 β -シートモチーフからなる) と、N末端およびC末端の調節ドメインを持つ。クラスII酵素は酵素のヘテロ二量体構造あるいはホモ二量体構造に基づき2群に分けられるが、後者はさらにN末端およびC末端の調節ドメインの構造によって分けられる (Hartlein, M.およびS. Cusack (1995) J. Mol. Evol. 40:519-530)。アミノアシル-tRNAに対する自己抗体は、皮膚筋炎及び多発性筋炎の患者によって産生される。また、複雑な間質性肺疾患 (ILD) と強度に相関する。これらの自己抗体はウイルス感染に応じて産生されるとみられ、コクサッキー ウイルスは動物に実験的ウイルス性筋炎を誘発するために用いられている。

10

【0107】

炭素-硫黄結合を形成するリガーゼ (酸チオールリガーゼ) は炭素原子を含む基質 (炭素基質) の分子間転移を伴う多数の細胞生合成中間代謝プロセスを仲介する。こうした反応の例としては、トリカルボン酸回路、脂肪酸と長鎖リン脂質の合成、アルコールとアルデヒドの合成、中間代謝産物の合成、およびアミノ酸分解経路に関与する反応などが挙げられる。これらの反応の一部はエネルギーの入力を必要とするが、通常それはATPをADPまたはAMPとピロリン酸に変換する形を取る。

【0108】

多くの場合、炭素基質は少なくとも2つの炭素原子を含む小さな分子に由来する。炭素基質はしばしばより大きな分子に共有結合していて、この大きな分子が細胞内で炭素基質のキャリアとしてふるまう。上記の生合成機構において、キャリア分子は補酵素Aである。補酵素A (CoA) は構造的にはヌクレオチドADPの誘導体に関係していて、アデノシン3'、5'-2リン酸の α リン酸基にホスホジエステル結合を通じて連結した4'ホスホパンテテインからなっている。4'ホスホパンテテインの末端チオール基は炭素基質結合の形成部位となる。細胞内の生合成および中間代謝においてCoAをキャリア分子として利用する主要な炭素基質は、アセチル、サクシニル、およびプロピオニル部分であり、これらはアシル基と総称される。その他の炭素基質としては、エノイル脂質 (脂肪酸酸化の中間体として作用する) およびカルニチン (アセチルCoAフラックス調節因子/ミトコンドリアアシル基転移タンパク質として作用する) などが挙げられる。アシルCoAおよびアセチルCoAは細胞内でそれぞれアシルCoA合成酵素およびアセチルCoA合成酵素によって合成される。

20

30

【0109】

脂肪酸の活性化は少なくとも3つの型のアシルCoA合成酵素活性によって仲介される。すなわち、i)アセチルCoA合成酵素 (酢酸およびいくつかの他の低分子量カルボン酸を活性化し、筋肉のミトコンドリアおよびその他の組織のサイトゾルに見られる) ; ii)中鎖アシルCoA合成酵素 (4~11個の炭素原子を含む脂肪酸 (主に食餌由来) を活性化し、肝臓のミトコンドリアのみに存在する) ; およびiii)アシルCoA合成酵素 (6~20個の炭素原子をもつ長鎖脂肪酸に特異的で、ミクロソームおよびミトコンドリアに見られる)。アシルCoA合成酵素活性に関連するタンパク質は細菌、酵母、植物、マウスおよびヒトを含む多くの供給源から同定されている。アシルCoA合成酵素の活性は、この酵素をcAMP依存性のタンパク質キナーゼでリン酸化することによって調節できる。

40

【0110】

炭素-窒素結合を形成するリガーゼとしては、ATP加水分解のエネルギーを使ってアンモニアでグルタミン酸をアミノ化してグルタミンにする反応を触媒するグルタミン合成酵素 (グルタミン・アンモニアリガーゼ) などのアミド合成酵素などが挙げられる。グルタミンはピリミジンヌクレオチドのde novo 合成およびプリンとピリミジンリボヌクレオチドの相互変換に関与するさまざまなアミド転移反応におけるアミノ基の主要な供給源である。グルタミン合成酵素の過剰発現は主に肝臓癌において観察されている (Christa, L. 他 (1994) Gastroent. 106:1312-1320)。

【0111】

酸-アミノ-酸リガーゼ (ペプチドシンターゼ) は真核細胞および一部の細菌の細胞タン

50

パク質の主要な分解経路であるユービキチン抱合系（UCS）に関連するユービキチン抱合酵素によって代表される。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経路においては、分解を目的とするタンパク質は、小さな熱安定性のタンパク質であるユビキチン(Ub)に抱合される。Ubは最初ユビキチン活性化酵素（E1）によって活性化され、いくつかのUb抱合酵素（E2）のうちの1つに転移される。E2は次にC末端のグリシンを通じてUb分子を標的タンパク質の内部リジン（アクセプターリジン）に連結する。次にユビキチンが結合したタンパク質が、大きな多サブユニットタンパク質分解性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。そしてユビキチンはユビキチンプロテアーゼにより放出されて再利用される。UCSは、有糸分裂サイクリックキナーゼ、腫瘍性タンパク質、癌抑制遺伝子（p53等）、ウイルスタンパク質、シグナル伝達に関連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, A. (1994) Cell 79:1321）。

10

【0112】

シクロリガーゼおよびその他の炭素-窒素リガーゼは、プリンおよびピリミジン生合成のde novo 経路に関与するさまざまな酵素および酵素複合体を含んでいる。これらの経路はRNAおよびDNAの両方の複製のためのヌクレオチド合成に必須であるため、これらの酵素の多くは感染病および癌などの増殖異常の治療用の臨床薬の標的とされてきた。

【0113】

プリンの生合成はアミノ酸のグリシンとグルタミンおよびその他の小分子からde novo で生じる。このプロセスの重要な反応のうちの3つは、グリシンアミドリボヌクレオチド合成酵素（GARS）、アミノイミダゾールリボヌクレオチド合成酵素(AIRS)、およびグリシンアミドリボヌクレオチドトランスホルミラーゼ（GART）からなる3機能酵素によって触媒される。これら3つの酵素が合わさってリン酸リボシルアミンとグリシンを結合してホスホリボシルアミノイミダゾール（アデニル酸およびグアニル酸ヌクレオチドの前駆体）を生成する。この3機能タンパク質はダウン症候群の病理に関与していると考えられてきた(Aimi, J. 他 (1990) Nucleic Acid Res. 18:66656672)。アデニロコハク酸合成酵素はプリン生合成での後期のステップ、即ちイノシン酸をアデニロコハク酸に変換するステップ（ATP合成経路に重要）を触媒する。この酵素はもう1つの炭素-窒素リガーゼであるアルギニノコハク酸合成酵素（尿素回路で類似の反応を触媒）とも類似している(Powell, S .M. 他 (1992) FEBS Lett. 303:4-10)。

20

30

【0114】

アデニロコハク酸合成酵素、アデニロコハク酸リガーゼおよびAMPデアミナーゼはプリンヌクレオチド回路と呼ばれる1つの機能ユニットであると考えられ得る。この回路はAMPをイノシンモノリン酸（IMP）に変換し、アデニルコハク酸を通じてIMPをAMPに再変換してそれによってNH₃を生成し、アスパラギン酸からフマル酸を形成する。筋肉においては、プリンヌクレオチド回路は、激しい運動中に、アデニル酸キナーゼ反応をATP形成の方向に向かわせることにより、またクレブス回路中間体を提供することによってATPの再生に寄与する。腎臓においては、プリンヌクレオチド回路は通常の酸塩基条件においてNH₃放出の役割を果たす。脳においては、プリンヌクレオチド回路はATP回収に寄与している可能性がある。アデニロコハク酸リアーゼ欠損症はしばしば自閉的特徴を帯びた精神運動遅滞を誘発する(Van den Berghe, G. 他 (1992) Prog Neurobiol.: 39:547561)。プリン代謝の酵素パターンの顕著な不平衡は癌細胞の転換および/または進行に結び付けられている。ラットの肝臓癌においては、同化酵素、IMPデヒドロゲナーゼ、GMP合成酵素、アデニロコハク酸合成酵素、アデニロサクシナーゼ、AMPデアミナーゼおよびアミドホスホリボシルトランスフェラーゼの特異的活性が正常な肝臓に比べてそれぞれ13.5、3.7、3.1、1.8、5.5および2.8倍に増加した(Weber, G. (1983) Clin. Biochem. 16:57-63)。

40

【0115】

プリンのde novo 生合成の場合と同様に、ピリミジンヌクレオチドのウリジル酸およびシチジル酸のde novo 生合成は共通の前駆体から生じる。この場合の前駆体はオロチン酸

50

およびホスホリルリボシルピロリン酸 (PPRP) から誘導されたヌクレオチドのオロチジル酸である。このプロセスでも、3つの炭素-窒素リガーゼを含む3機能酵素が重要な役割を果たす。この場合の酵素であるアスパラギン酸トランスカルバミラーゼ (ATCアーゼ)、カルバミルリン酸合成酵素II、およびジヒドロオロターゼ (DHOアーゼ) はCADと呼ばれる単一の遺伝子でコードされる。これら3つの酵素が協同して、ピリミジン生合成の最初の反応物であるグルタミン、 CO_2 およびATPを化合させてジヒドロオロチン酸を形成する。ジヒドロオロチン酸はオロチン酸とオロチジル酸の前駆体である(Iwahana, H. 他 (1996) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 219:249-255)。その先のステップにより、オロチジル酸からウリジンヌクレオチドを合成するに至る。シチジンヌクレオチドはウリジン5' 3リン酸 (UTP) に由来するが、グルタミンをアミノ供与体として、酵素としてCTP合成酵素を使ったUTPのアミド化によって得られる。ヒトのCTP合成酵素の調節突然変異は癌治療に広く使用されている薬剤への多剤耐性を与えられている(Yamauchi, M. 他 (1990) *EMBO J.* 9:2095-2099)。

10

【0116】

炭素-炭素結合を形成するリガーゼの例としてはカルボキシラーゼのアセチルCoAカルボキシラーゼおよびピルビン酸カルボキシラーゼなどがある。アセチルCoAカルボキシラーゼは、ATPの加水分解のエネルギーを使って CO_2 と H_2O からアセチルCoAをカルボキシル化する反応を触媒する。アセチルCoAカルボキシラーゼは長鎖脂肪酸の生合成における律速酵素である。アセチルCoAカルボキシラーゼの2つのアイソフォーム、タイプIとタイプIIはヒトで組織特異的に発現される(Ha, J. 他 (1994) *Eur. J. Biochem.* 219:297-306)。ピルビン酸カルボキシラーゼは、クエン酸回路の重要な中間体であるオキサロ酢酸へのピルビン酸からの変換を触媒するミトコンドリア酵素であり、核によってコードされる。

20

【0117】

リン酸エステルを形成するリガーゼとしてはDNAの複製と修復の両方に関与するDNAリガーゼが含まれる。DNAリガーゼはDNAの中の2つの隣り合うヌクレオチドの間のホスホジエステル結合をシールする。この反応では、まずATP加水分解のエネルギーを使って1つのヌクレオチドの自由な5' リン酸を活性化し、次にそれを隣のヌクレオチドの3' -OH基と反応させる。この再シール反応はDNA複製において新しいDNAを複製する過程で一時的に形成される岡崎フラグメントと呼ばれる小さなDNA断片をつなぐために使用され、またDNA修復においても使用される。

30

【0118】

DNA修復のプロセスによって、偶発的な塩基変化 (原因は例えば酸化損傷、加水分解的攻撃、DNAの無秩序なメチル化など) が、DNAの複製または転写が起きる前に修正される。ブルーム症候群は遺伝性のヒト疾患であるが、この患者はこのDNAライゲーションが部分的に欠損しているため、癌の発症の増加を示す(Alberts 他、前出 247ページ)。

【0119】

パントテン酸合成酵素 (Dパントイン酸; ベータアラニンリガーゼ (AMP形成); EC 6.3.2.1) はパントテン酸 (ビタミンB(5)) 合成経路の最後の酵素である。この酵素はATP依存反応においてパントイン酸とベータアラニンの縮合を触媒する。この酵素は二量体であり、プロトマーごとに2つの明確に定義されたドメインがある。このうちN末端ドメイン (ロスマンフォールド) は活性部位空洞を含み、C末端ドメインは蝶番付の蓋のような構造を形成している。N末端ドメインは構造的にクラスIアミノアシルtRNA合成酵素と非常に良く似ていて、そのためにシチジリルトランスフェラーゼスーパーファミリのメンバーとなっている(von Delft, F. 他 (2000) *Structure (Camb)* 9:439-450)。

40

【0120】

ファルネシル2リン酸シンターゼ (FPPS) はコレステロールの合成とタンパク質のプレニル化の両方に必要な重要な酵素である。この酵素はジメチルアリル2リン酸とイソペンチル2リン酸からファルネシル2リン酸を形成する反応を触媒する。FPPSは窒素含有2ホスホン酸によって阻害され、これによってタンパク質のプレニル化が防がれるため、破骨細胞伸介性の骨の再吸収が阻止されることがある(Dunford, J.E. 他 (2001) *J. Pharmacol.*

50

Exp. Ther. 296:235-242)。

【0121】

5 アミノレブリン酸シンターゼ (ALAS; デルタアミノレブリン酸シンターゼ; EC 2.3.1.37) は赤血球および非赤血球細胞の両方におけるヘムの生合成の律速過程を触媒する。この酵素はヘム生合成経路において2つの遺伝子でコードされているというユニークな特徴を持っているが、その第一はALAS1 (遍在的に発現している、赤血球に特異的でない酵素) で第二はALAS2 (赤血球細胞のみで発現) である。ALAS1とALAS2の遺伝子はそれぞれ3番染色体およびX染色体上に配置されている。ALAS2をコードしている遺伝子の欠陥はX染色体関連の鉄芽球性貧血をもたらす。ALASのレベルの上昇は急性の肝性ポルフィリン症において見られ、亜鉛メソポルフィリンによって下げることができる。

10

【0122】

薬物代謝酵素 (DME)

薬物の代謝および薬物の体内の移動 (薬物動態学) は、その効果、毒性、および他の薬物との相互作用を判定する上で重要である。薬物の吸収、様々な組織への分布、および薬物代謝産物の排除の、3つのプロセスが薬物動態を支配する。これらのプロセスは薬物代謝に密接に関係するが、それは様々な代謝修飾が、溶解性、受容体への結合、および排泄速度を含む、薬物の物理化学的特性および薬理学的特性の大部分を変容させるためである。薬物を修飾する代謝経路はまた、ステロイド、脂肪酸、プロスタグランジン、ロイコトリエン、およびビタミン等、様々な天然基質を受容する。従って、これらの経路における酵素は、天然化合物、薬物、発癌物質、変異誘発物質、および生体異物の間の生化学的および薬理学的相互作用の重要な部位となる。

20

【0123】

薬物代謝における遺伝的な差異が、個体間で薬物効果および毒性のレベルの著しい違いを生むことが以前から認識されている。DMEが重要な部分を占める薬理ゲノミックス研究が進歩すれば、薬物の効果および毒性の疑問に耐え得るツールが発展し、そのような情報が拡大されるであろう (Evans, W. E. および R. V. Relling (1999) Science 286:487-491 を参照)。DMEは、たとえば、多様で高い特異性を持っている抗体とは異なって、基質特異性が広がっている。DMEは広くさまざまな分子を代謝するため、薬物相互作用が代謝のレベルで起こり、そのためたとえば1つの化合物がDMEを誘起し、そのDMEがもう1つの化合物の代謝に影響したりする。

30

【0124】

薬物代謝反応は、薬物分子を機能化および更なる代謝のために準備するフェーズI、およびそれに引き続くフェーズIIに分類される。一般に、フェーズIの反応生成物は部分的或いは完全に不活性であり、フェーズIIの反応生成物は主要な排泄種である。しかしながら、フェーズI反応生成物は、投与された元の薬物よりも活性が高い場合があり、この代謝活性化原理がプロドラッグとして利用される (例えば、L-ドパ)。加えて、数種の非毒性化合物 (例えば、アフラトキシン、ベンゾ- α -ピレン) は、これらの経路を経て毒性中間体へ代謝される。フェーズI反応は通常、薬物代謝における律速段階である。しかし、その化合物または他の化合物類への事前曝露によって、フェーズI酵素群の発現を誘発させることができ、それによって、代謝経路を経る基質フラックスを増し得る (Klaassen, C .D. 他 (1996) Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons, McGraw-Hill, New York, NY, 113-186 ページ; Katzung, B.G. (1995) Basic and Clinical Pharmacology, Appleton および Lange, Norwalk, CT, 48-59 ページ; Gibson, G.G. および P. S kett (1994) Introduction to Drug Metabolism, Blackie Academic and Professional, London 参照)。

40

【0125】

フェーズI酵素の主なクラスには、限定するものではないがチトクロームP450およびフラビン含有モノオキシゲナーゼが含まれる。フェーズI型触媒サイクルおよび反応に関与するその他の酵素クラスには、限定するものではないが、NADPHチトクロームP450還元酵素 (CPR)、ミクロソームチトクロームb5/NADHチトクロームb5レダクターゼ系、フェレド

50

キシニン／フェレドキシンレダクターゼレドックス対、アルド／ケト還元酵素、およびアルコールデヒドロゲナーゼが含まれる。フェーズII酵素の主なクラスには、限定するものではないが、UDPグルクロニルトランスフェラーゼ、スルホトランスフェラーゼ、グルタチオンSトランスフェラーゼ、Nアシルトランスフェラーゼ、およびNアセチルトランスフェラーゼが含まれる。

【0126】

チトクロームP450およびP450触媒サイクル関連酵素

チトクロームP450スーパーファミリー酵素のメンバーは、様々な基質の酸化的代謝を触媒する。そのような基質としては、ステロイド、脂肪酸、プロスタグランジン、ロイコトリエン、およびビタミン等の天然化合物や、薬物、発癌物質、変異誘発物質、および生体異物が含まれる。P450ヘム-チオレートタンパク質としても知られるチトクロームP450は通常、P450含有モノオキシゲナーゼ系と呼ばれる多成分電子伝達鎖における末端酸化酵素として作用する。触媒される特異的反応には、ヒドロキシ化、エポキシ化、N-酸化、スルホキシド化、N-脱アルキル、S-脱アルキル、およびO-脱アルキル、脱硫酸化、脱アミノ化、並びにアゾ、ニトロ、およびN-オキシド基の還元が含まれる。これらの反応は、動物における糖質コルチコイド、コルチゾール、エストロゲン、およびアンドロゲンのステロイド産生や、昆虫における殺虫剤耐性や、植物における除草剤耐性および花の発色や、微生物による環境浄化バイオレメディエーションに関係する。薬物、発癌物質、変異誘発物質、および生体異物にチトクロームP450が作用して、解毒あるいは、その物質の、より毒性の強い生成物への変換を引き起こし得る。チトクロームP450は肝臓に豊富に存在するが、その他の組織にも出現し、これらの酵素はミクロソームに位置する (ExPASyENZYME EC 1.14.14.1、Prositesite PDOC00081 Cytochrome P450 cysteine heme-iron ligand signature、PRINTS EP450I E-Class P450 Group I signature、Graham-Lorence, SおよびPeterson, J. A. (1996) FASEB J. 10:206-214を参照)。

10

20

【0127】

400種類のチトクロームP450が、細菌、真菌、植物、および動物を含む様々な生物において同定されている (Graham-LorenceおよびPeterson、前出)。Bクラスは原核生物および真菌に見られ、Eクラスは細菌、植物、昆虫、脊椎動物、および哺乳動物に見られる。5つのサブクラス即ちグループが、EクラスチトクロームP450の大きなファミリーの中に含まれる (PRINTS EP450I E-Class P450 Group I signature)。

30

【0128】

全てのチトクロームP450はヘム補因子を用いており、構造的特性を共有する。ほとんどのチトクロームP450は、400～530アミノ酸の長さである。この酵素の二次構造は、約70%の α ヘリックスと約22%の β シートである。このタンパク質のC末端部におけるヘム結合部位の周りの領域は、全てのチトクロームP450で保存されている。このヘム-鉄リガンド領域におけるアミノ酸10個のシグネチャ配列が同定され、この配列には、第5の配位部位にある、ヘム鉄の結合に関与する保存されたシステインが含まれる。真核生物チトクロームP450では、通常は膜貫通領域がこのタンパク質の初めの15～20のアミノ酸において見られ、一般に、約15の疎水性残基およびそれに続く正に帯電した1つの残基からなる (Prositesite PDOC00081前出、Graham-LorenceおよびPeterson前出を参照)。

40

【0129】

チトクロームP450酵素は、細胞増殖および発達に関係する。この酵素は、化学物質を代謝して、DNAとの付加体を形成する反応性中間体にすることで起こる化学的な変異誘発および発癌において役割を持つ (Nebert, D. W.およびF.J. Gonzalez. (1987) Ann. Rev. Biochem. 56:945-993)。これらの付加体は、発癌に導く、ヌクレオチド変化およびDNA再編成を引き起こし得る。肝臓およびその他の組織におけるチトクロームP450の発現は、多環式芳香族炭化水素、ペルオキシソーム増殖因子、フェノバルビタールおよび、糖質コルチコイドであるデキサメタゾン等、生体異物によって誘発される (Dogra, S. C.他 (1998) Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. 25:1-9)。或るチトクロームP450タンパク質は、P450遺伝子CYP1B1における突然変異が原発性先天性緑内障を引き起こすように、眼の発達に関

50

与する可能性がある (OMIM #601771 Cytochrome P450, subfamily I (dioxin-inducible), polypeptide 1; CYP1B1)。

【0130】

チトクロームP450は炎症および感染に関係する。肝チトクロームP450活性は、様々な感染および炎症性の刺激によって大いに影響され、抑制される活性と誘発される活性がある (Morgan, E. T. (1997) Drug Metab. Rev. 29:1129-1188)。in vivoで観察される効果は、炎症誘発性のサイトカインおよびインターフェロンによって模倣され得る。2つのチトクロームP450タンパク質に対する自己抗体は、自己免疫性多腺性内分泌不全症I型 (APE CED、1種の多腺性自己免疫症候群)の患者に見られた (OMIM #240300 Autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy)。

10

【0131】

チトクロームP450類における突然変異は、乳幼児期の副腎障害で最も多い先天性副腎過形成や、偽ビタミンD欠乏くる病、脳髄黄色腫症 (進行性神経機能障害、早発性アテローム性動脈硬化症、および白内障によって特徴付けられる、1種の脂質貯蔵病)、抗凝血薬であるクマリンおよびワルファリンに対する遺伝性の耐性を含む、種々の代謝障害に結び付けられる (Isselbacher, K.J.他(1994) Harrison's Principles of Internal Medicine, McGraw-Hill, Inc. New York, NY, 1968-1970ページ; Takeyama, K.他(1997) Science 277:1827-1830; Kitanaka, S.他(1998) N. Engl. J. Med. 338:653-661、OMIM #213700 Cerebrotendinous xanthomatosis、OMIM #122700 Coumarin resistance)。チトクロームP450タンパク質アロマトラーゼの、極度に高レベルの発現が、重度の女性化乳房 (gynecomastia, feminization) を有する1少年の層状線維化肝細胞癌 (fibrolamellar hepatocellular carcinoma) に見られた (Agarwal, V.R. (1998) J. Clin. Endocrinol. Metab. 83:1797-1800)。

20

【0132】

チトクロームP450触媒サイクルは、NADPHチトクロームP450レダクターゼ (CPR) によるチトクロームP450の還元によって完了する。チトクロームb5とNADPHチトクロームb5レダクターゼとからなる別のミクロソーム電子伝達系は、チトクロームP450触媒サイクルへの電子の主要な供与体ではないと一般に思われている。しかしながら、Lamb, D.C.他 (1999; FEBS Lett. 462:283-288) による近年の研究報告は、ミクロソームチトクロームb5/NADPHチトクロームb5レダクターゼ系によって効果的に還元およびサポートされ得る或る鵝口瘡カンジダ (Candida albicans) チトクロームP450 (CYP51) を同定した。従って、この代替電子供与系によってサポートされる多くのチトクロームP450が存在すると思われる。

30

【0133】

チトクロームb5レダクターゼはまた、赤血球において、酸化ヘモグロビン (酸素を輸送できない、メトヘモグロビンすなわちferrihemoglobin) を、活性型ヘモグロビン (ferrohemoglobin) へ還元する。酸化剤または、十分に還元されていない異常ヘモグロビン (ヘモグロビンM) が高いレベルで存在すると、メトヘモグロビン血症が引き起こされる。メトヘモグロビン血症はまた、赤血球チトクロームb5レダクターゼの遺伝的な欠損症からも起こり得る (概説はMansour, A.およびA.A. Lurie. (1993) Am. J. Hematol. 42:7-12を参照)。

40

【0134】

チトクロームP450ファミリーのメンバーはまた、ビタミンDの合成および異化に密接に関係している。ビタミンDは、植物組織で生成されるエルゴカルシフェロール (ビタミンD2) および動物組織で生成されるコレカルシフェロール (ビタミンD3) の、2種の生物学的に等価なプロホルモンとして存在する。後者のコレカルシフェロールは、7-デヒドロコレステロールが近紫外線 (すなわち290~310 nm) に曝露されると形成される。通常は、皮膚が短時間日光に曝されれば生成される (概説はMiller, W.L.およびA.A. Portale. (2000) Trends Endocrinol. Metab. 11:315-319を参照)。

【0135】

両方のプロホルモン型は更に、肝臓において酵素25-ヒドロキシラーゼによって25-ヒ

50

ドロキシビタミンD (25(OH)D) へ更に代謝される。25(OH)DはビタミンDの最も豊富に存在する前駆体であって、腎臓において酵素25-ヒドロキシビタミンD 1 α -ヒドロキシラーゼ (1 α -ヒドロキシラーゼ) によって、活性型である1 α ,25-ジヒドロキシビタミンD (1 α ,25(OH)₂D) へ更に代謝される。1 α ,25(OH)₂D生成の調節は主に、合成経路の、この最終ステップで行われる。1 α -ヒドロキシラーゼ活性は、酵素産物 (1 α ,25(OH)₂D) の循環レベル、並びに副甲状腺ホルモン (PTH)、カルシトニン、インスリン、カルシウム、リン、成長ホルモン、およびプロラクチンのレベルなど、幾つかの生理学的因子に左右される。更に、腎臓外の1 α -ヒドロキシラーゼ活性が報告され、組織特異的かつ局所的な1 α ,25(OH)₂D生成の調節が生物学的に重要であると考えられる。1 α ,25(OH)₂Dの24, 25-ジヒドロキシビタミンD (24,25(OH)₂D) への触媒作用は、酵素25-ヒドロキシビタミンD 24-ヒドロキシラーゼ (24-ヒドロキシラーゼ) を伴い、腎臓でも起こる。24-ヒドロキシラーゼはまた、基質として25(OH)Dを利用できる (Shinki, T.他 (1997) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 94:12920-12925, MillerおよびPortale, 前出、並びにその参考文献)。

10

20

30

40

50

【0136】

ビタミンD25-ヒドロキシラーゼ、1 α -ヒドロキシラーゼ、および24-ヒドロキシラーゼは全て、NADPH依存性I型 (ミトコンドリア) チトクロームP450酵素であって、そのファミリーの他のメンバーとの高い相同性を示す。ビタミンD25-ヒドロキシラーゼはまた、幅広い基質特異性を示し、胆汁酸中間体の26-ヒドロキシル化および、コレステロールの25-ヒドロキシル化、26-ヒドロキシル化、および27-ヒドロキシル化をも行う可能性がある (Dilworth, F.J.他 (1995) J. Biol. Chem. 270:16766-16774; MillerおよびPortale 前出、並びにその参考文献)。

【0137】

ビタミンDの活性型 (1 α ,25(OH)₂D) は、カルシウムおよびリン酸の恒常性に関与し、骨髄性細胞および皮膚細胞の分化を促進する。ビタミンDの代謝に関与する酵素 (例えば、1 α -ヒドロキシラーゼ) の欠損によって生じるビタミンDの欠乏は、低カルシウム血症、低リン酸血症、ビタミンD依存性 (感受性) くる病 (骨密度の低下並びに、あひる歩行を伴う内反膝すなわちO脚という特有の症状を示す疾患) を引き起こす。ビタミンD25-ヒドロキシラーゼの欠損は、脳髄黄色腫症 (アキレス腱、脳、肺、およびその他の多くの組織におけるコレステロールおよびコレスタノールの沈着という特徴をもつ脂質貯蔵病) を引き起こす。この疾患は、進行性神経機能障害 (思春期後の小脳性運動失調症を含む)、アテローム性動脈硬化症、および白内障を示す。ビタミンD25-ヒドロキシラーゼの欠乏によってくる病が起きないことから、25(OH)D合成の別の経路が存在することが推定される (Griffin, J.E.およびJ.E. Zerwekh (1983) J. Clin. Invest. 72:1190-1199, Gambli n, G.T. 他. (1985) J. Clin. Invest. 75:954-960, MillerおよびPortale, 前出)。

【0138】

フェレドキシンおよびフェレドキシンレダクターゼは電子伝達アクセサリタンパク質であって、少なくとも1つのヒトチトクロームP450種 (CYP27遺伝子によってコードされるチトクロームP450c27) をサポートする (Dilworth, F. J.他 (1996) Biochem. J. 320:267-71)。ストレプトマイセス - グリセウス (*Streptomyces griseus*) のチトクロームP450であるCYP104D1は、大腸菌において異種発現され、内因性フェレドキシンおよびフェレドキシンレダクターゼ酵素によって還元されることが発見された (Taylor, M.他 (1999) Biochem. Biophys. Res. Commun. 263:838-842)。このことから、多くのチトクロームP450種が、フェレドキシン/フェレドキシンレダクターゼ対によってサポートされることが示唆される。フェレドキシンレダクターゼはまた、或るモデル薬物代謝系に見られ、抗腫瘍性抗生物質であるアクチノマイシンDを反応性フリーラジカル種に還元することが知られている (Flitter, W.D.およびR.P. Mason. (1988) Arch. Biochem. Biophys. 267:632-639)。

【0139】

フラビン含有モノオキシゲナーゼ (FMO)

フラビン含有モノオキシゲナーゼは、異例な範囲の基質群の、求核性の窒素、硫黄、およびリンのヘテロ原子を酸化する。チトクロームP450と同様、FM0はミクロソーム酵素であってNADPHおよび O_2 を用い、その基質はチトクロームP450の基質と広範に重なる。FM0は、肝臓、腎臓、および肺などの組織に分布している。

【0140】

哺乳動物におけるFM0アイソフォームとしてはFM01、FM02、FM03、FM04、およびFM05などがあり、これらは組織特異的に発現される。これらのアイソフォームは基質特異性が異なり、更に様々な化合物による阻害および、反応の立体特異性等の特性も異なる。FM0は、アミノ酸13個のシグネチャ配列を有し、その成分はN末端の3分の2の配列にまたがる。それら成分には、また、多くのNヒドロキシル化酵素に見られるFATGYモチーフ、およびFAD結合領域を含む (Stehr, M.他(1998) Trends Biochem. Sci. 23:56-57; PRINTS FM0 OXYGENASE Flavin-containing monooxygenase signature)。

10

【0141】

特異的な反応には、求核性三級アミンのNオキシドへの酸化、二級アミンのヒドロキシルアミンおよびニトロソへの酸化、一級アミンのヒドロキシルアミンおよびオキシムへの酸化、および硫黄含有化合物およびホスフィンのS-オキシドおよびP-オキシドへの酸化が含まれる。ヒドラジン、ヨウ化物、セレン化物、および硼素含有化合物も基質である。FM0のアイソフォームの熱安定性と界面活性剤への感受性はさまざまであるが、FM0は *in vitro* でチトクロームP450に比べてより易熱性があり、界面活性剤への感受性が低い。

20

【0142】

FM0は、幾つかの薬物および生体異物の代謝に重要な役割を果たす。FM0 (肝臓FM03) は、(S)ニコチンの(S)ニコチンN-1'-オキシド (尿中に排泄) への代謝を主に担う。FM0はまた、胃潰瘍の治療に広く用いられる H_2 -アンタゴニストであるシメチジンのS-酸素化に関与する。FM0の肝臓発現型は、チトクロームP450と同じ調節制御下でない。例えば、ラットにおいて、フェノバルビタール処理によりチトクロームP450が誘導されるが、FM01は抑制される。

【0143】

リジルオキシダーゼ

リジルオキシダーゼ (リジン6-オキシダーゼ、L0) は、コラーゲンとエラスチンとの架橋結合による結合組織マトリクスの形成に関与する銅依存性アミノオキシダーゼである。L0は、約50 kDaのNグリコシル化された前駆体タンパク質として分泌され、或るメタロプロテアーゼによって切断され成熟型の酵素と成るが、この前駆型も活性である。L0内の銅原子は、酸素へ、また酸素からの電子の伝達に関与し、これらの細胞外マトリクスタンパク質においてリジン残基の酸化的脱アミノ反応を促進する。銅の配位がL0活性に必須であるが、食事による銅の摂取が不十分でも、このアポ酵素の発現はその影響を受けない。しかし、機能的L0の不在は、食餌性銅欠乏に伴う、骨格組織および血管組織の障害に結び付けられる。L0はまた、様々なセミカルバジド、ヒドラジン、およびアミノ亜硝酸 (amino nitrites)、並びにヘパリンによって阻害される。 β -アミノプロピオニトリルは、一般に用いられるインヒビターの1つである。L0の活性は、オゾンやカドミウムに応答して増大し、また、局所組織外傷に応答して放出されるホルモンのレベルの上昇に応答して増大する。このようなホルモンの例には、トランスフォーミング成長因子- β 、血小板由来成長因子、アンジオテンシンII、および線維芽成長因子等が含まれる。L0活性における異常は、メンケス症候群および後角症候群 (occipital horn syndrome) に結び付けられる。サイトゾル型のL0酵素は、異常な細胞増殖に関係すると思われる (概説はRucker, R. B.他(1998) Am. J. Clin. Nutr. 67:996S-1002S、Smith-Mungo, L. I.およびH.M. Kagan. (1998) Matrix Biol. 16:387-398を参照)。

30

40

【0144】

ジヒドロ葉酸レダクターゼ

ジヒドロ葉酸レダクターゼ (DHFR) は遍在性の酵素であって、ジヒドロ葉酸の、テトラヒドロ葉酸へのNADPH依存性の還元を触媒するが、この反応はグリシンとプリン類との *de*

50

novο合成、並びにデオキシウリジンーリン酸(dUMP)のデオキシチミジンーリン酸(dTMP)への変換における、必須過程である。この基本的な反応は、

7,8-ジヒドロ葉酸 + NADPH → 5,6,7,8-テトラヒドロ葉酸 + NADP⁺ である。

【0145】

DHFR酵素は、トリメトプリム(trimethoprim)およびメトトレキセートなど、様々なジヒドロ葉酸類似体によって阻害され得る。豊富なdTMPがDNA合成に必要であるため、迅速な細胞分裂にはDHFR活性が必要である。DNAウイルス(例えば、ヘルペスウイルス)の複製にも、高いレベルのDHFR活性を必要とする。そのため、DHFRを標的とする薬物が、癌の化学療法や、DNAウイルス複製の抑制に用いられている(同様の理由で、チミジル酸合成酵素も標的酵素である)。DHFRを抑制する薬物は、急激に分裂する細胞(すなわちDNAウイルス感染細胞)に対して優先的な細胞毒性を持つが、特異性を持たず、分裂する細胞を無差別に破壊する。更に癌細胞は、獲得性の輸送欠陥、または1つ以上のDHFR遺伝子の重複(duplication)の結果、メトトレキセート等の薬物に対し耐性になり得る(Stryer, L. (1988) *Biochemistry*. W.H Freeman and Co., Inc. New York. 511-519ページ)。

10

【0146】

アルド／ケト還元酵素

アルド／ケト還元酵素は単量体NADPH依存性オキシドレダクターゼであり、幅広い基質特異性を有する(Bohren, K.M. 他(1989) *J. Biol. Chem.* 264:9547-9551)。これらの酵素は、カルボニル含有糖および芳香族化合物など、カルボニル含有化合物の、対応するアルコールへの還元を触媒する。従って、様々なカルボニル含有薬物および生体異物はこのクラスの酵素によって代謝されると思われる。

20

【0147】

ファミリーメンバーであるアルドースレダクターゼによって触媒される既知の或る反応は、グルコースがソルビトールへ還元され、更にソルビトールデヒドロゲナーゼによってフルクトースに代謝される。標準状態では、グルコースのソルビトールへの還元は主な経路ではない。しかしながら、高血糖状態では、ソルビトールの蓄積は糖尿病合併症の発症に関係すると思われる(OMIM #103880 Aldo-keto reductase family 1, member B1)。この酵素ファミリーのメンバーはまた、数種の肝癌で高発現される(Cao, D. 他(1998) *J. Biol. Chem.* 273:11429-11435)。

30

【0148】

アルコールデヒドロゲナーゼ

アルコールデヒドロゲナーゼ(ADH)は、単純アルコール類を対応するアルデヒド類へ酸化する。ADHはサイトゾル酵素であって、補因子NAD⁺を好み、また亜鉛イオンに結合する。ADHのレベルは肝臓において最も高く、腎臓、肺、および胃粘膜においては低い。

【0149】

既知のADHアイソフォームは、40 kDaのサブユニットからなる二量体タンパク質である。これらのサブユニットをコードする5つの既知の遺伝子座(a、b、g、p、c)が存在し、その内の幾つかは特徴的な対立遺伝子変異体(b1、b2、b3、g1、g2)を有する。サブユニットはホモ二量体およびヘテロ二量体を形成することができ、サブユニットの構成によって活性な酵素の特異的特性が決定される。従って、ホロ酵素がクラスI(サブユニット構成、aa、ab、ag、bg、gg)、クラスII(pp)、およびクラスIII(cc)として分類されている。クラスIのADHイソ酵素はエタノールその他の小さい脂肪族アルコールを酸化し、ピラゾールによって阻害される。クラスIIイソ酵素は長鎖の脂肪族アルコールおよび芳香族アルコールを好み、メタノールを酸化できない。また、ピラゾールによって阻害されない。クラスIIIイソ酵素は、更に長い長鎖脂肪族アルコール(5炭素以上)および芳香族アルコールを好み、ピラゾールによって阻害されない。

40

【0150】

短鎖アルコールデヒドロゲナーゼには、様々な基質特異性を有する多数の近縁酵素が含まれる。このグループに含まれるものは哺乳動物酵素であるD-β-ヒドロキシ酪酸デヒ

50

ドロゲナーゼ、(R)-3-ヒドロキシ酪酸デヒドロゲナーゼ、15-ヒドロキシプロスタグランジンデヒドロゲナーゼ、NADPH-依存性カルボニルレダクターゼ、コルチコステロイド11- β -デヒドロゲナーゼ、エストラジオール-17- β -デヒドロゲナーゼと、細菌酵素であるアセトアセチル-CoAレダクターゼ、グルコース1-デヒドロゲナーゼ、3- β -ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ、20- β -ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ、リビトールデヒドロゲナーゼ、3-オキソアシルレダクターゼ、2, 3-dihydro-2,3-dihydroxybenzoate dehydrogenase、ソルビトール-6-リン酸2-デヒドロゲナーゼ、7- α -ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ、cis-1,2-ジヒドロキシ-3,4-cyclohexadiene-1-carboxylate dehydrogenase、シス-トルエンジヒドロジオールデヒドロゲナーゼ、シス-ベンゼングリコールデヒドロゲナーゼ、ビフェニル-2,3-ジヒドロ-2,3-ジオールデヒドロゲナーゼ、N-アシルマンノサミン1-デヒドロゲナーゼ (N-acylmannosamine 1-dehydrogenase)、および2-デオキシ-D-グルコン酸3-デヒドロゲナーゼがある (Krozowski, Z. (1994) J. Steroid Biochem. Mol. Biol. 51:125-130; Krozowski, Z. (1992) Mol. Cell Endocrinol. 84:C25-31; 並びに Marks, A.R. 他 (1992) J. Biol. Chem. 267:15459-15463)。

10

【0151】

スルホトランスフェラーゼ

硫酸抱合は0-グルクロン酸抱合を受ける基質と同じ基質の多くに生じ、高水溶性の硫酸エステルが生成される。スルホトランスフェラーゼ (ST) は、補助因子3'-ホスホアデノシン-5'-ホスホ硫酸 (PAPS) から基質へ SO_3^- を転移することにより、この反応を触媒する。STの基質は主にフェノールおよび脂肪族アルコールであるが、抱合して対応するスルファミン酸を生成する芳香族アミンおよび脂肪族アミンも含まれる。これらの反応による生成物は主に尿中に排泄される。

20

【0152】

STは、肝臓、腎臓、腸管、肺、血小板、および脳を含む様々な組織に見られる。ST酵素は、一般にサイトゾル酵素であって、多数の型が同時に発現される場合が多い。例えば、12種類を越えるSTの型がラットの肝サイトゾルに存在する。これらの生化学的に特徴付けられたSTは、それらの基質選択性に基づいて、アリールスルホトランスフェラーゼ、アルコールスルホトランスフェラーゼ、エストロゲンスルホトランスフェラーゼ、チロシンエステルスルホトランスフェラーゼ、および胆汁酸塩スルホトランスフェラーゼの5つのクラスに分類される。

30

【0153】

ST酵素活性は、ラットでは性別および年齢によって著しく異なる。発生の合図 (developmental cues) と性関連ホルモン類との効果があいまって、ST発現プロファイルにおけるこれらの差異並びに、チトクロームP450等の他のDMEのプロファイルにおけるこれらの差異を生じさせると考えられている。注目すべきは、ネコにおけるSTの高発現が、UDPグルクロニルトランスフェラーゼ活性のレベルの低下を部分的に補償する。

【0154】

STの幾つかの型は、ヒト肝サイトゾルから精製されクローニングされている。熱安定性および基質選択性が異なった2つのフェノールスルホトランスフェラーゼが存在する。熱安定酵素は、パラニトロフェノール、ミノキシジル、およびアセトアミノフェン等のフェノールの硫酸化を触媒し、熱不安定酵素は、ドーパミン、エピネフリンおよびlevodopa等、モノアミン基質を好む。その他のクローニングされたSTには、エストロゲンスルホトランスフェラーゼおよびN-アセチルグルコサミン-6-O-スルホトランスフェラーゼが含まれる。この最後の酵素は、細胞生化学におけるSTの別の主要な役割を例示する。即ち、細胞分化およびプロテオグリカンの成熟に重要となり得る、糖構造の修飾である。実際、或るスルホトランスフェラーゼの遺伝性の欠損は、成熟したケラタン硫酸プロテオグリカンの合成不良という特徴をもつ障害である、斑状角膜変性症に関係すると思われる (Nakazawa, K. 他 (1984) J. Biol. Chem. 259:13751-13757, OMIM #217800 Macular dystrophy, corneal)。

40

50

【0155】

ガラクトシルトランスフェラーゼ

ガラクトシルトランスフェラーゼ類は、溶液に遊離している糖脂質または糖タンパク質の一部である、末端のN-アセチルグルコサミン (GlcNAc) オリゴ糖鎖にガラクトース (Gal) を転移する、グリコシルトランスフェラーゼ (糖転移酵素) のサブセットである (Kolbinger, F.他 (1998) J. Biol. Chem. 273:433-440; Amado, M.他 (1999) Biochim. Biophys. Acta 1473: 35-53)。ガラクトシルトランスフェラーゼは細胞表面で検出される可溶性細胞外タンパク質であり、ゴルジ体にも存在する。 $\beta 1,3$ -ガラクトシルトランスフェラーゼは、Gal($\beta 1-3$)GlcNAc結合を有するI型糖鎖を形成する。既知のヒトおよびマウス $\beta 1,3$ -ガラクトシルトランスフェラーゼは、短いサイトゾルドメイン、1つの膜貫通ドメイン、および8つの保存された領域を有する触媒ドメインを有すると考えられる (Kolbinger, 前出および Hennet, T.他 (1998) J. Biol. Chem. 273:58-65)。マウスUDP-ガラクトースである β -N-アセチルグルコサミン $\beta 1,3$ -ガラクトシルトランスフェラーゼ-Iの領域1がアミノ酸残基の78-83、領域2がアミノ酸残基の93-102、領域3がアミノ酸残基116-119、領域4がアミノ酸残基147-158、領域5がアミノ酸残基の172-183、領域6がアミノ酸残基の203-206、領域7がアミノ酸残基の236-246、領域8がアミノ酸残基の264-275に位置する。マウスUDP-ガラクトース β -N-アセチルグルコサミン $\beta 1,3$ -ガラクトシルトランスフェラーゼ-Iの領域8内に見られる或る配列の或る変異体が、細菌ガラクトシルトランスフェラーゼにも見られることから、この配列がガラクトシルトランスフェラーゼ配列モチーフを決定すると考えられる (Hennet, 他. 前出)。近年の研究は、brainiacタンパク質は1種の $\beta 1,3$ -ガラクトシルトランスフェラーゼであることを示唆している (Yuan, Y.他 (1997) Cell 88:9-11、Hennet, 他 前出)。

10

20

【0156】

UDP-Gal : GlcNAc-1,4-ガラクトシルトランスフェラーゼ ($-1,4$ -GalT) (Sato, T.他 (1997) EMBO J. 16:1850-1857) は、Gal($\beta 1-4$)GlcNAc結合を有するII型糖鎖の形成を触媒する。 $\beta 1,3$ -ガラクトシルトランスフェラーゼの場合と同様に、酵素の可溶型が、膜結合型の切断によって形成される。 $\beta 1,4$ -ガラクトシルトランスフェラーゼに保存されているアミノ酸には、ジスルフィド結合によって連結された2つのシステイン残基および触媒ドメインにおける推定上のUDP-ガラクトース結合部位が含まれる (Yadav, S.およびK. Brew. (1990) J. Biol. Chem. 265:14163-14169、Yadav, S. P.およびK. Brew. (1991) J. Biol. Chem. 266:698-703、Shaper, N. L.他 (1997) J. Biol. Chem. 272:31389-31399)。 $\beta 1,4$ -ガラクトシルトランスフェラーゼは、糖タンパク質または糖脂質上に糖鎖を合成するのに加えて、いくつかの特定の役割を有する。哺乳動物において、 α -ラクトアルブミンを有するヘテロ二量体の一部として $\beta 1,4$ -ガラクトシルトランスフェラーゼが、乳汁分泌哺乳動物の乳汁の生成に作用する。精子の表面上の $\beta 1,4$ -ガラクトシルトランスフェラーゼは、卵を特異的に認識する受容体として働く。細胞表面 $\beta 1,4$ -ガラクトシルトランスフェラーゼ類はまた、細胞接着、細胞/基底膜相互作用、正常な細胞遊走、および転移性細胞遊走で作用する (Shur, B. (1993) Curr. Opin. Cell Biol. 5:854-863、Shaper, J. (1995) Adv. Exp. Med. Biol. 376:95-104)。

30

40

【0157】

 γ -グルタミルトランスぺプチダーゼ

γ -グルタミルトランスぺプチダーゼは広範に発現する酵素であって、 γ -グルタミルアミド結合を切断して細胞外のグルタチオン (GSH) の分解を開始させる。GSHの分解は、生合成経路のためにシステインが集まった領域を細胞に提供する。 γ -グルタミルトランスぺプチダーゼはまた、細胞の酸化防止に寄与し、その発現は酸化ストレスによって引き起こされる。この細胞表面局在糖タンパク質は、癌細胞において高いレベルで発現される。幾つかの研究の示唆するところでは、癌細胞の表面における γ -グルタミルトランスぺプチダーゼの高レベルの活性を前駆薬の活性化に利用し、抗癌治療薬を局所的に高い濃度

50

, N.およびY. Ikeda (1998) Adv. Enzymol. Relat. Areas Mol. Biol. 72:239-278、Chikhi, N.他(1999) Comp. Biochem. Physiol. B. Biochem. Mol. Biol. 122:367-380)。

【0158】

アミノトランスフェラーゼ

アミノトランスフェラーゼ類は、ピリドキサル5'-リン酸 (PLP) 依存性酵素の1ファミリーを構成する。PLP依存性酵素は、アミノ酸の成分置換を触媒する。アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AspAT) は、最も広く研究されたPLP含有酵素である。AspATは、ジカルボキシルL-アミノ酸 (アスパラギン酸およびグルタミン酸)、および対応する2-オキソ酸 (オキサロ酢酸、および2-オキソグルタル酸) の、可逆的なアミノ基転移反応を触媒する。このファミリーの他のメンバーには、ピルビン酸アミノトランスフェラーゼ、分枝鎖アミノ酸アミノトランスフェラーゼ、チロシンアミノトランスフェラーゼ、芳香族アミノトランスフェラーゼ、アラニン：グリオキシル酸アミノトランスフェラーゼ (AGT) およびキヌレニンアミノトランスフェラーゼが含まれる (Vacca, R. A.他(1997) J. Biol. Chem. 272:21932-21937)。

【0159】

原発性高シュウ酸尿症I型は、常染色体性劣性疾患であって、肝特異的ペルオキシソーム酵素であるアラニン：グリオキシル酸アミノトランスフェラーゼ-1の欠損が起こる。この疾患の表現型は、グリオキシル酸代謝の欠損である。AGTが存在しない場合、グリオキシル酸はグリシンへアミノ基転移されず、シュウ酸へ酸化される。その結果、不溶性シュウ酸カルシウムが腎臓と尿路に沈着し、最終的に腎不全を起こす (Lumb, M. J. 他(1999) J. Biol. Chem. 274:20587-20596)。

【0160】

キヌレニンアミノトランスフェラーゼは、L-トリプトファン代謝産物L-キヌレニンの不可逆アミノ転移を触媒しキヌレン酸を形成する。この酵素はまた、L-2-アミノアジピン酸から2-オキソグルタル酸およびその逆への可逆的なアミノ基転移反応を触媒して2-オキソアジピン酸 (oxoadipate) およびL-グルタミン酸を生成し得る。キヌレン酸はグルタミン酸作動性神経伝達の推定上のモジュレーターであるため、キヌレニンアミノトランスフェラーゼの欠損は多面発現的 (pleiotrophic) 効果に関係すると思われる (Buchli, R. 他(1995) J. Biol. Chem. 270:29330-29335)。

【0161】

カテコール-O-メチルトランスフェラーゼ

カテコール-O-メチルトランスフェラーゼ (COMT) は、カテコール基質 (例えば、レボドパ、ドーパミン、またはDBA) の1つのヒドロキシル基への、S-アデノシル-L-メチオニン (AdoMet; SAM) 供与体のメチル基の転移を触媒する。3'-水酸基のメチル化は4'-水酸基のメチル化より優先され、COMTの膜結合アイソフォームは可溶型よりも位置特異的である。この酵素の可溶型の翻訳は、完全長mRNA (1.5kb) の内部開始コドンの利用によるか、或いは内部プロモータから転写された短いmRNA (1.3kb) の翻訳による。提案されたS_N2様メチル化反応には、Mg²⁺が必要であり、Ca²⁺によって抑制される。供与体および基質の、COMTへの結合は逐次的に起こる。まず、AdoMetがMg²⁺非依存的にCOMTに結合し、Mg²⁺の結合およびカテコール基質の結合がそれに続く。

【0162】

組織内のCOMTの量は通常必要とされる活性の量より多いため、阻害が困難である。しかしながら、インヒビター群は、in vitroでの使用 (例えば、没食子酸、トロポロン、U-0521、および3', 4'-ジヒドロキシ-2-メチル-プロピオフェトロポロン: propiophetropolon) および臨床での使用 (例えば、ニトロカテコール系化合物およびトルカポン (tolcapone)) のために開発されている。これらのインヒビターを投与するとレボドパの半減期が長くなり、続いてドーパミンの形成が起こる。また、COMTの阻害により、限定するものではないがエピネフリン/ノルエピネフリン、イソプレナリン、リミテロール、ドブタミン、フェノルドパム (fenoldopam)、アポモルフィン、およびα-メチルドパなど、他の様々なカテコール構造化合物の半減期が長くなると思われる。ノルエピネフリンの欠損は臨

10

20

30

40

50

床的抑鬱症に繋がるため、COMTインヒビターの使用は抑鬱症の治療に有用であると思われる。COMTインヒビターは通常、耐受性が良く副作用が最小限であり、最終的に肝臓で代謝され、体内にはわずかな代謝物が残るのみである(Mannisto, P.T.およびS. Kaakkola. (1999) Pharmacological Reviews 51:593-628)。

【0163】

銅-亜鉛スーパーオキシドジスムターゼ

銅-亜鉛スーパーオキシドジスムターゼはコンパクトなホモ二量体金属酵素であって、酸化的な損傷に対する細胞防御に関係する。この酵素は1つの亜鉛原子および1つの銅原子を各サブユニットに有し、スーパーオキシドアニオンの、 O_2 および H_2O_2 への不均化反応を触媒する。この不均化反応の速度は、拡散律速されるので、基質と酵素活性部位との間の好ましい静電的相互作用の存在によって増大する。このクラスの酵素の数例が、全て真核細胞の細胞質において同定され、幾つかの細菌種のペリプラズムでも同定された。銅-亜鉛スーパーオキシドジスムターゼ類は強健な酵素であって、蛋白分解的消化や、尿素およびSDSによる変性に対し、高い耐性を持つ。これらの酵素のコンパクトな構造に加えて、金属イオンおよびサブユニット内ジスルフィド結合が酵素の安定性に寄与していると考えられている。これらの酵素は70℃もの高温でも可逆的に変性する(Battistoni, A.他(1998) J. Biol. Chem. 273:5655-5661)。

10

【0164】

スーパーオキシドジスムターゼの過剰な発現は、遺伝子組み換えアルファルファの耐凍性を高めるのに関与し、ジフェニルエーテル除草剤であるアシフルオルフェン(acifluorfen)などの環境毒素に対する耐性をも与えると思われる(McKersie, B. D.他(1993) Plant Physiol. 103:1155-1163)。加えて、酵母細胞は、過酸化水素への曝露の後に凍結融解損傷に対する耐性が高まる。これは、曝露によるスーパーオキシドジスムターゼの発現のアップレギュレートにより、酵母細胞が更なる過酸化ストレスに適応するようになるためである。この研究では、酵母スーパーオキシドジスムターゼ遺伝子群の突然変異は、冷凍保存過程を経て生物が生存するか否かを決定するのに重要であると長い間考えられていたグルタチオン代謝の調節に影響を及ぼす突然変異よりも、凍結融解抵抗性に悪影響を与えた(Jong-In Park, J.-I.他(1998) J. Biol. Chem. 273:22921-22928)。

20

【0165】

スーパーオキシドジスムターゼの発現はまた、結核を引き起こす生物である結核菌に関連する。スーパーオキシドジスムターゼは結核菌によって分泌される10種の主なタンパク質の内の1つであり、その発現は酸化ストレスに応じて約5倍上方制御される。結核菌は非病原性ミコバクテリアの恥垢菌(*M. smegmatis*)よりスーパーオキシドジスムターゼをほぼ2桁多く発現し、極めてより高い比率で、発現された酵素を分泌する。この結果、結核菌は恥垢菌よりも最大350倍多い酵素を分泌し、酸化ストレスに対する実質的な耐性を与える(Harth, G.およびHorwitz, M. A. (1999) J. Biol. Chem. 274:4281-4292)。

30

【0166】

銅-亜鉛スーパーオキシドジスムターゼの発現の低下、並びに抗酸化能力を有するその他の酵素の発現の低下は初期の癌に関係すると思われる。銅-亜鉛スーパーオキシドジスムターゼの発現は前立腺上皮内新生物および前立腺癌において低下している(Bostwick, D. G. (2000) Cancer 89:123-134)。

40

【0167】

ホスホエステラーゼ

ホスホトリエステラーゼ(PTE、パラオキソナーゼ(paraoxonase))類の酵素は有毒の有機リン化合物を加水分解し、PTEは種々の組織から単離されている。ホスホトリエステラーゼは、哺乳動物による殺虫剤の解毒において中心的な役割を果たす。鳥と昆虫はPTEを欠いているために、有機リン化合物に対する耐性が低い(Vilanova, E.およびM.A. Sogorb (1999) Crit. Rev. Toxicol. 29:2157)。ホスホトリエステラーゼ活性は個人によって差があり、大人より幼児の方が低い。PTEノックアウトマウスは、有機リン系の毒素であ

50

る diazoxon および クロルピリホスオキソン (chlorpyrifos oxon) に対して顕著な感受性を有する (Furlong, C.E., 他 (2000) Neurotoxicology 21:91-100)。ホスホトリエステラーゼはまた、アテローム硬化型冠動脈疾患およびリポタンパク質代謝に関与する病気に関与していると考えられている。

【0168】

グリセロホスホリルジエステルホスホジエステラーゼ (glycerophosphoryl diester phosphodiesterase) (グリセロホスホジエステルホスホジエステラーゼとも呼ばれる) は、脱アセチル化リン脂質グリセロホスホジエステル (deacetylated phospholipid glycerophosphodiesters) を加水分解して sn-グリセロール-3-リン酸およびアルコールを生成するホスホジエステラーゼである。グリセロホスホコリン、グリセロホスホエタノールアミン (glycerophosphoethanolamine)、グリセロホスホグリセロール (glycerophosphoglycerol)、およびグリセロホスホイノシトール (glycerophosphoinositol) は、グリセロホスホリルジエステルホスホジエステラーゼの基質の例である。大腸菌由来の或るグリセロホスホリルジエステルホスホジエステラーゼは、グリセロホスホジエステル (glycerophosphodiester) 基質に対し広範な特異性を有する (Larson, T. J. 他 (1983) J. Biol. Chem. 248:5428-5432)。

10

【0169】

サイクリックヌクレオチドホスホジエステラーゼ (PDE) は、サイクリックヌクレオチドである cAMP および cGMP の調節に極めて重要な酵素である。cAMP および cGMP は、ホルモン、光および神経伝達物質など、様々な細胞外シグナルを伝達する細胞内セカンドメッセンジャーとして機能する。PDE はサイクリックヌクレオチドをそれらの対応する一リン酸に分解し、それによってサイクリックヌクレオチドの細胞内濃度およびシグナル伝達におけるそれらの効果を調節する。それらの役割がシグナル伝達の制御因子であることから、PDE は化学療法の標的として大規模に研究された (Perry, M. J. および G. A. Higgs (1998) Curr. Opin. Chem. Biol. 2:472-481; Torphy, J. T. (1998) Am. J. Resp. Crit. Care Med. 157:351-370)。

20

【0170】

哺乳動物 PDE のファミリーは、それらの基質特異性および親和性、補助因子に対する感受性、および抑制剤に対する感受性に基づいて分類される (Beavo, J. A. (1995) Physiol. Rev. 75:725-748; Conti, M. 他 (1995) Endocrine Rev. 16:370-389)。これらのファミリーのいくつかは固有の遺伝子群を持ち、その多くは様々な組織でスプライス変異体として発現される。PDE ファミリーの中には、多数のイソ酵素およびこれらのイソ酵素の多数のスプライス変異体が存在する (Conti, M. および S.-L. C. Jin (1999) Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol. 63:1-38)。多数の PDE ファミリー、イソ酵素、およびスプライス変異体の存在は、サイクリックヌクレオチドが関する調節経路の多様性および複雑性を示すものである (Houslay, M. D. および G. Milligan (1997) Trends Biochem. Sci. 22:217-224)。

30

【0171】

PDE1 型 (PDE1) は Ca^{2+} / カルモジュリン依存性であって、それぞれが少なくとも 2 つの異なったスプライス変異体を有する少なくとも 3 つの異なった遺伝子によってコードされられると思われる (Kakkar, R. 他 (1999) Cell Mol. Life Sci. 55:1164-1186)。PDE1 は、肺、心臓、および脳で見られる。数種の PDE1 イソ酵素は、in vitro でリン酸化 / 脱リン酸化によって調節される。これらの PDE1 イソ酵素をリン酸化すると、カルモジュリンに対するこの酵素の親和性が低下し、PDE 活性が低下し、cAMP の定常状態レベルが増大する (Kakkar, 他 前出)。PDE1 は、サイクリックヌクレオチドおよびカルシウムのシグナル伝達の両方に関与するので、中枢神経系および心血管、免疫系の障害のための有用な治療標的を提供し得る (Perry および Higgs, 前出)。

40

【0172】

PDE2 は cGMP に刺激される PDE であり、小脳、新皮質、心臓、腎臓、肺、肺動脈、骨格筋に見られる (Sadhu, K. 他 (1999) J. Histochem. Cytochem. 47:895-906)。PDE2 は cAMP がカ

50

テコールアミン分泌に与える効果を媒介し、アルドステロンの制御に関すると思われ (Beavo, 前出)、嗅覚シグナル伝達で役割を果たすと思われる (Juilfs, D.M.他(1997) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94:3388-3395)。

【0173】

PDE3はcGMPおよびcAMPの両方に対し高い親和性を有するため、これらのサイクリックヌクレオチドは、PDE3の競合的基質として作用する。PDE3は、心筋収縮能の刺激、血小板凝集の抑制、血管および気道の平滑筋の弛緩、Tリンパ球および血管平滑筋培養細胞の増殖抑制、脂肪組織からのカテコールアミン誘導性遊離脂肪酸放出の調節に作用する。ホスホジエステラーゼのPDE3ファミリーは、cilostamide、enoximone、およびlixazinoneなど、特異的インヒビターに対する感受性を有する。PDE3のイソ酵素は、cAMP依存性プロテインキナーゼまたはインスリン依存性キナーゼによって抑制され得る (Degerman, E.他(1997) J. Biol. Chem. 272:6823-6826)。

【0174】

PDE4はcAMPに特異的であり、気道平滑筋、血管内皮、および全ての炎症細胞に局在し、cAMP依存性リン酸化によって活性化され得る。cAMPレベルの上昇によって炎症細胞の活性化が抑制され気管支平滑筋が弛緩し得るため、PDE4は喘息治療の発見に重点をおいて新規の抗炎症剤の可能性のある標的として広範に研究された。PDE4インヒビターは現在、喘息、慢性閉塞性肺疾患およびアトピー性湿疹の治療薬として臨床試験が行われている。PDE4の既知の4つ全てのイソ酵素は、マウスの行動記憶を向上させることが示された化合物であるインヒビター、ロリプラムに対して感受性を持つ (Barad, M.他(1998) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95:15020-15025)。PDE4インヒビターはまた、急性肺傷害、内毒素血症、リウマチ様関節炎、多発性硬化症、および様々な神経や胃腸の疾患に対する可能性のある治療薬として研究された (Doherty, A. M. (1999) Curr. Opin. Chem. Biol. 3:466-473)。

【0175】

PDE5は、基質としてのcGMPに対して高い選択性を有し (Turko, I. V.他(1998) Biochemistry 37:4200-4205)、2つのアロステリックcGMP特異的結合部位を有する (McAllister-Lucas, L. M. 他. (1995) J. Biol. Chem. 270:30671-30679)。cGMPのこれらのアロステリック結合部位への結合は、触媒活性の直接的な調節よりもcGMP依存性プロテインキナーゼによるPDE5のリン酸化にとって重要であると思われる。高いレベルのPDE5は、血管平滑筋、血小板、肺および腎臓に見られる。インヒビターであるザプリナストはPDE5およびPDE1に対して効果がある。PDE5に対する特異性を得るためにザプリナストを改良してsildenafilを生成した (VIAGRA; Pfizer, Inc., New York NY)。sildenafilは男性勃起不全の治療薬である (Terrett, N. 他(1996) Bioorg. Med. Chem. Lett. 6:1819-1824)。PDE5のインヒビターは、心血管治療薬として現在研究されている (PerryおよびHiggs 前出)。

【0176】

光受容体サイクリックヌクレオチドホスホジエステラーゼであるPDE6類は、光伝達カスケードの重要な要素である。PDE6はGタンパク質トランスデュシンと結合し、cGMPを加水分解して光受容体膜におけるcGMP作動性陽イオンチャネルを調節する。cGMP結合活性部位に加えてPDE6はまた、PDE6の機能における調節的な役割を果たすと考えられる2つの高親和性cGMP結合部位を有する (Artemyev, N. O.他(1998) Methods 14:93-104)。PDE6の欠損は網膜の疾患に関係する。rdマウスの網膜変性症 (Yan, W.他(1998) Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 39:2529-2536)、ヒトの常染色体劣性網膜色素変性症 (色素性網膜炎) (Danciger, M. 他(1995) Genomics 30:1-7)およびアイリッシュセッター犬の杆体/錐体異形成1型 (Suber, M. L.他(1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:3968-3972)は、PDE6B遺伝子における突然変異が原因である。

【0177】

PDEのPDE7ファミリーは、複数のスプライス変異体を有する唯一つの既知のメンバーから成る (Bloom, T. J.およびJ. A. Beavo (1996) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:14188-14192)。PDE7はcAMP特異的であるが、その他の生理機能については殆ど知られていない

。PDE7をコードするmRNAは骨格筋、心臓、脳、肺、腎臓および脾臓で見られるが、PDE7タンパク質の発現は特定の組織型に限定される (Han, P.他(1997) J. Biol. Chem. 272:16152-16157; PerryおよびHiggs, 前出)。PDE7はPDE4ファミリーに密接に関連するが、PDE4の特異的なインヒビターであるロリプラムによって阻害されない (Beavo, 前出)。

【0178】

PDE8類はcAMP特異的であり、PDE4ファミリーに密接に関連する。PDE8は、甲状腺、精巢、眼、肝臓、骨格筋、心臓、腎臓、卵巣および脳において発現される。PDE8のcAMP加水分解活性はPDEのインヒビターであるロリプラム、ビンボセチン、ミルリノン、IBMX (3-イソブチル-1-メチルキサンチン) またはザプリナストによって抑制されないが、PDE8はジピリダモールによって抑制される (Fisher, D. A.他(1998) Biochem. Biophys. Res. Commun. 246:570-577; Hayashi, M. 他(1998) Biochem. Biophys. Res. Commun. 250:751-756; Soderling, S.H. 他(1998) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95:8991-8996)。

【0179】

PDE9類はcGMP特異的であって、PDEのPDE8ファミリーに最も類似している。PDE9は、腎臓、肝臓、肺、脳、脾臓および小腸において発現される。PDE9はsildenafil(VIAGRA; Pfizer, Inc., New York NY)、ロリプラム、ビンボセチン、ジピリダモールまたはIBMX (3-イソブチル-1-メチルキサンチン) によって抑制されないが、PDE5インヒビターであるザプリナストに対して感受性を有する (Fisher, D. A.他(1998) J. Biol. Chem. 273:1559-15564; Soderling, S.H. 他(1998) J. Biol. Chem. 273:15553-15558)。

【0180】

PDE10類は二重基質PDEであって、cAMPおよびcGMPの両方を加水分解する。PDE10は、脳、甲状腺、及び精巢に発現する (Soderling, S.H. 他(1999) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 96:7071-7076; Fujishige, K.他(1999) J. Biol. Chem. 274:18438-18445; Loughney, K. 他 (1999) Gene 234:109-117)。

【0181】

PDE類は、約270~300アミノ酸の触媒ドメイン、および補助因子の結合に働くN末端調節ドメインを持ち、場合によっては、機能が未知の親水性C末端ドメインを持つ (ContiおよびJin 前出)。全てのPDEの触媒ドメイン中に保存されている或る推定亜鉛結合モチーフが同定された。N末端調節ドメインとしては、PDE2、PDE5およびPDE6における非触媒cGMP結合ドメイン、PDE1におけるカルモジュリン結合ドメイン、並びにPDE3およびPDE4におけるリン酸化部位を持つドメインを含む。PDE5中でN末端cGMP結合ドメインは約380アミノ酸残基にまたがり、或る保存配列モチーフのタンデムリピートを含んでいる (McAllister-Lucas, L.M.他(1993) J. Biol. Chem. 268:22863-22873)。このNKXnDモチーフは、変異誘発によってcGMP結合に重要であると示された (Turko, I. V.他(1996) J. Biol. Chem. 271:22240-22244)。PDEファミリーは触媒ドメイン内において約30%のアミノ酸同一性を有するが、同じファミリー内のイソ酵素は通常約85から95%のこの領域における同一性を示す (例えばPDE4AとPDE4B)。更に、或るファミリー内の触媒ドメイン外の類似性は高いが (60%を超える)、ファミリー間のこのドメイン外の配列類似性は殆ど存在しない。

【0182】

免疫応答および炎症応答を構成する機能の多くは、細胞内のcAMPのレベルを上昇させる薬剤によって阻害される (Verghese, M. W.他(1995) Mol. Pharmacol. 47:1164-1171)。様々な疾患がPDE活性の上昇によって起こり、サイクリックヌクレオチドのレベル低下を伴う。例えばマウスにおける尿崩症の或る型はPDE4活性の上昇に係り、低 K_m cAMP PDE活性の上昇がアトピー患者の白血球に見られ、PDE3が心疾患に関連する。

【0183】

PDE類の多くのインヒビターについて臨床試験が行われている (PerryおよびHiggs 前出、Torphy, T. J. (1998) Am. J. Respir. Crit. Care Med. 157:351-370)。PDE3インヒビター類は、抗血栓剤、血圧降下薬および、鬱血性心不全の治療に有用な強心薬として開発中である。PDE4インヒビターであるロリプラムは、抑鬱症の治療に用いられ、PDE4のその他のインヒビターは抗炎症薬効果がある。ロリプラムはHIV-1の複製を阻害すると考え

られる (Angel, J. B.他(1995) AIDS 9:1137-1144)。さらに、ロリプラムはインターフェロン γ 、TNF- α および β などのサイトカインの産生を抑制するため、脳脊髄炎に対して効果的である。ロリプラムはまた遅発性ジスキネジアと多発性硬化症の治療に効果があり得る (Sommer, N.他(1995) Nat. Med. 1:244-248; Sasaki, H. 他(1995) Eur. J. Pharmacol. 282:71-76)。

【0184】

テオフィリンは、気管支喘息その他の呼吸器疾患の治療に用いられる非特異的PDEインヒビターである。テオフィリンは、気道平滑筋の機能に作用し、呼吸器疾患の治療における抗炎症能力または免疫調節能力があると考えられる (Banner, K. H.およびC. P. Page (1995) Eur. Respir. J. 8:996-1000)。ペントキシフィリンは、間欠性跛行および糖尿病性末梢血管疾患の治療に用いられる別の非特異的PDEインヒビターである。ペントキシフィリンはまた、TNF- α の生成を阻止することが知られ、また、HIV-1の複製を阻害し得る (Angel他, 前出)。

10

【0185】

PDE類は、様々な細胞型の細胞増殖に影響を与えると報告があり (Conti他(1995) Endocrine Rev. 16:370-389)、また様々な癌に関係すると思われる。前立腺癌細胞株DU145およびLNCaPの成長は、cAMP誘導体およびPDEインヒビターの送達によって抑制された (Bang, Y. J.他(1994) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91:5330-5334)。これらの細胞はまた、上皮からニューロン形態への、表現型における永久的な変換を示した。また、PDEインヒビターがメサングウム細胞の増殖 (Matousovich, K.他(1995) J. Clin. Invest. 96:401-410)、およびリンパ球の増殖 (Joulain, C.他(1995) J. Lipid Mediat. Cell Signal. 11:63-79)を調節できることが示唆された。或る癌治療においては、PDEを腫瘍の特定の細胞区画に送達し、細胞死を導いた (Deonarain, M. P.およびA. A. Epenetos (1994) Br. J. Cancer 70:786-794)。

20

【0186】

UDPグルクロニルトランスフェラーゼファミリー (UGT) のメンバーは、補因子ウリジン二リン酸-グルクロン酸 (UDP-グルクロン酸) から基質へのグルクロン酸基の転移を触媒する。この転移は、通常は求核性ヘテロ原子 (O、N、またはS) に対して行われる。基質の例には、フェーズI反応によって機能的になった生体異物並びに、ビリルビン、ステロイドホルモン、および甲状腺ホルモン等、内因性化合物が含まれる。グルクロン酸抱合の生成物は、基質の分子量が約250g/mol未満であれば尿中に排泄されるが、グルクロン酸抱合された基質がそれより大きい場合は胆汁に排泄される。

30

【0187】

UGTは肝臓、腎臓、腸、皮膚、脳、脾臓、および鼻粘膜のミクロソームに存在する。これらの位置でUGTは、チトクロームP450酵素およびフラビン含有モノオキシゲナーゼとは小胞体膜の同じ側にある。UGTは、そのUGTを小胞体膜に固着するC末端膜貫通ドメイン並びに、そのC末端部分における約50のアミノ酸残基の保存されたシグネチャドメインを有する (PROSITE PDOC00359 UDP-glycosyltransferase signature)。

【0188】

薬物代謝に関係するUGTは、UGT1およびUGT2の2つの遺伝子ファミリーによってコードされる。UGT1ファミリーのメンバーは、補助因子結合および膜挿入に関係する定常領域、および可変基質結合ドメインを有する、単一の遺伝子座の選択的スプライシングによって生じる。UGT2ファミリーのメンバーは異なる複数の遺伝子座によってコードされ、UGT2AおよびUGT2Bの2つのファミリーに分類される。2Aサブファミリーは嗅上皮で発現し、2Bサブファミリーは肝臓ミクロソームで発現する。UGT遺伝子における突然変異は、高ビリルビン血症 (OMIM# 143500 Hyperbilirubinemia I)、出生時からの著しい高ビリルビン血症によって特徴付けられるクリグラ-ナジャー症候群 (OMIM# 218800 Crigler-Najjar syndrome)、ジルベール病と呼ばれる軽度の高ビリルビン血症 (OMIM #191740 UGT1) に関係する。

40

【0189】

50

チオエステラーゼ

脂肪酸生合成に関する2つの可溶性チオエステラーゼが、哺乳動物組織から単離された。一方は長鎖脂肪アシルチオエステルに対してのみ活性で、他方は広範な長さの脂肪アシル鎖を有するチオエステルに対して活性である。これらのチオエステラーゼは、脂肪酸の *de novo* 生合成における連鎖停止 (chain termination) 段階を触媒する。連鎖停止は、脂肪アシル鎖を脂肪酸シンターゼのアシルキャリアタンパク質 (ACP) サブユニットの4'-ホスホパンテテイン補欠分子族と結合させるチオエステル結合の加水分解を伴う (Smith, S. (1981a) *Methods Enzymol.* 71:181-188、Smith, S. (1981b) *Methods Enzymol.* 71:188-200)。

【0190】

大腸菌は、長鎖アシルチオエステルに対してのみ活性なチオエステラーゼI型および、様々な長さの鎖に対して特異性を有するチオエステラーゼII型 (TEII) の、2つの可溶性チオエステラーゼを持つ (Naggert, J.他(1991) *J. Biol. Chem.* 266:11044-11050)。大腸菌TEIIは、新規の脂肪酸生合成における連鎖停止酵素 (chain-terminating enzyme) として機能する哺乳動物チオエステラーゼの2つの型のいずれとも配列類似性を示さない。哺乳動物チオエステラーゼとは異なり、大腸菌TEIIは特徴的なセリン活性部位 gly-X-ser-X-gly 配列モチーフを欠く上に、セリン変性剤であるジイソプロピルフルオロリン酸によって不活化されない。しかし、ヨードアセトアミドおよびジエチルピロカルボネートによるヒスチジン58の修飾によってTEII活性が失われる。TEIIの過剰発現が大腸菌内の脂肪酸含量を変化させないことは、脂肪酸生合成において連鎖停止酵素として機能しないことを示す (Naggert他, 前出)。この理由から、Naggert他(前出)の提起では、大腸菌TEIIの生理学的基質はACP-ホスホパンテテイン脂肪酸エステルではなく補酵素A(CoA)脂肪酸エステルである。

【0191】

カルボキシエステラーゼ

哺乳動物カルボキシエステラーゼ類は、様々な組織および細胞型で発現される多重遺伝子ファミリーを構成する。アセチルコリンエステラーゼ、ブチリルコリンエステラーゼおよびカルボキシエステラーゼは、エステラーゼのセリンスーパーファミリー (B-エステラーゼ) にグループ化される。他のカルボキシエステラーゼとしては、サイログロブリン、トロニン、第IX因子、グリオタクチン (gliotactin) およびプラスミノゲンがある。カルボキシエステラーゼは分子のエステル基およびアミド基の加水分解を触媒し、薬物、環境毒および発癌物質の解毒に関与する。カルボキシエステラーゼの基質としては、短鎖および長鎖アシルグリセロール、アシルカルニチン、炭酸、塩酸ジピペフリン (dipivefrin hydrochloride)、コカイン、サリチル酸、カプサイシン、パルミトイル-CoA、イミダプリル、ハロペリドール、ピロリジジナルカロイド、ステロイド、p-ニトロフェニル酢酸、マラチオン、ブタニリカイン (butanilicaine)、およびイソカルボキサジドが含まれる。カルボキシエステラーゼはまた、プロドラッグを遊離酸に変換するために重要である。対応する遊離酸は、例えば血中コレステロールを低下させるために用いられるロバスタチンなど、そのプロドラッグの活性型であり得る (概説はSato, T.およびHosokawa, M. (1998) *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 38:257-288を参照)。

【0192】

ニューロリギン (neuroligin) 類は、(i) N末端シグナル配列を有し、(ii) 細胞表面受容体群に類似し、(iii) カルボキシエステラーゼドメインを持ち、(iv) 脳で高度に発現され、(v) カルシウム依存的にニューレキシン類と結合する、分子の1クラスである。カルボキシエステラーゼ類との相同性を持つものの、ニューロリギン類は活性部位セリン残基を欠き、これらは触媒作用ではなく基質結合において役割を果たすと考えられる (Ichtchenko, K.他(1996) *J. Biol. Chem.* 271:2676-2682)。

【0193】

スクアレノエポキシダーゼ

スクアレノエポキシダーゼ (スクアレノモノオキシゲナーゼ、SE) はミクロソーム膜結

10

20

30

40

50

合FAD依存性オキシドレドクターゼであり、真核細胞のステロール生合成経路における初めの酸素添加ステップを触媒する。コレステロールは、LDL受容体仲介経路、若しくは生合成経路によって獲得される、細胞質膜の必須の構成成分である。SEはスクアレンを2,3(S)-オキシドスクアレンに変換するが、これは次にラノステロールに変換され、更にコレステロールに変換される。

【0194】

血清コレステロールのレベルが過度に上昇すると高等生物の動脈ではアテローム斑が形成される。高度に不溶性の脂質が重要な血管の壁に沈着するため、血流が低下して壊死の可能性がでてくる。HMG-CoAレダクターゼは、コレステロール生合成の第1のステップである3-ヒドロキシ-3-メチル-グルタリルCoA (HMG-CoA) のメバロン酸への変換を担う。HMG-CoAは、血漿コレステロールレベルを低下させるようにデザインされた様々な医薬化合物の標的である。しかし、HMG-CoAの阻害はまた、その他の生化学経路に必要な非ステロール中間体の合成をも減少させる。SEは、ステロール合成経路の後期に起こる或る律速反応を触媒し、コレステロールはこの経路の唯一の最終産物であるため、SEは抗高脂血症薬をデザインするための理想的な標的である (Nakamura, Y. 他 (1996) 271:8053-8056)。

10

【0195】

エポキシドヒドロラーゼ

エポキシドヒドロラーゼ(加水分解酵素)は、エポキシド含有化合物への水の添加を触媒し、それによってエポキシドがその対応する1,2-ジオールに加水分解される。これらは細菌性ハロアルカンデハロゲナーゼに近縁で、 α/β 加水分解酵素フォールドファミリーの酵素の他のメンバーに配列類似性を示す。この酵素のファミリーは、導入されると求電子性が高く破壊性になる場合が多い生体異物エポキシド化合物の解毒にとって重要である。エポキシドヒドロラーゼ反応の例には、ロイコトキシンのロイコトキシンジオールへの加水分解、およびイソロイコトキシンのイソロイコトキシンジオールへの加水分解が含まれる。ロイコトキシンは膜の透過性とイオン輸送を改変し、炎症応答を引き起こす。加えて、エポキシド発癌物質は、薬物および環境毒素の解毒における中間体としてチトクロームP450によって生成される。エポキシドヒドロラーゼは、Asp、AspおよびHisからなる、触媒トライアッドを有する (Arand, M. 他 (1996) J. Biol. Chem. 271:4223-4229; Rink, R. 他 (1997) J. Biol. Chem. 272:14650-14657; Argiriadi, M.A. 他 (2000) J. Biol. Chem. 275:15265-15270)。

20

30

【0196】

チロシン触媒作用に関する酵素

コハク酸とピルビン酸か又はフマル酸とアセト酢酸へのアミノ酸チロシンの分解には多数の酵素が必要であり、多数の中間化合物が生成される。加えて多くの生体異物化合物は、チロシン異化経路の一部である1つ以上の反応を用いて代謝され得る。コハク酸とピルビン酸へのチロシンの分解に関係する酵素には (例えばアルスロバクター属: *Arthrobacter* speciesで)、4-ヒドロキシフェニルピルビン酸オキシダーゼ、4-ヒドロキシフェニル酢酸3-ヒドロキシラーゼ (4-hydroxyphenylacetate 3-hydroxylase)、3,4-ジヒドロキシフェニル酢酸2,3-ジオキシゲナーゼ (3,4-dihydroxyphenylacetate 2,3-dioxygenase)、5-カルボキシメチル-2-ヒドロキシムコン酸セミアルデヒドデヒドロゲナーゼ (5-carboxymethyl-2-hydroxymuconic semialdehyde dehydrogenase)、トランス,シス-5-カルボキシメチル-2-ヒドロキシムコン酸イソメラーゼ (trans,cis-5-carboxymethyl-2-hydroxymuconate isomerase)、ホモプロトカテチュ酸イソメラーゼ/デカルボキシラーゼ (homoprotocatechuate isomerase/decarboxylase)、cis-2-oxohept-3-ene-1,7-diolate hydratase、2,4-dihydroxyhept-trans-2-ene-1,7-diolate aldolase、およびコハク酸セミアルデヒドデヒドロゲナーゼ (succinic semialdehyde dehydrogenase) が含まれる。チロシンのフマル酸とアセト酢酸への分解 (例えばシュードモナス属で) に関係する酵素には、4-ヒドロキシフェニルピルビン酸ジオキシゲナーゼ、ホモゲンチシン酸-1,2-ジオキシゲナーゼ、マレイルアセト酢酸イソメラーゼ、フマリルアセトアセターゼおよび

40

50

4-ヒドロキシフェニルアセターゼが含まれる。様々な生物においてチロシン代謝に関係する更なる酵素の例として、4-クロロフェニル酢酸-3,4-ジオキシゲナーゼ (4-chloro phenylacetate-3,4-dioxygenase)、芳香族アミノトランスフェラーゼ、5-oxopent-3-ene-1,2,5-tricarboxylate decarboxylase、2-oxo-hept-3-ene-1,7-dioate hydrataseおよび5-カルボキシメチル-2-ヒドロキシムコン酸イソメラーゼ (5-carboxymethyl-2-hydroxymuconate isomerase) が挙げられる (Ellis, L. B. M.他(1999) Nucleic Acids Res.27: 373-376、Wackett, L.P.およびEllis, L.B.M. (1996) J. Microbiol. Meth. 25:91-93、Schmidt, M. (1996) Amer. Soc. Microbiol. News 62:102)。

【0197】

ヒトでは、チロシン分解経路の酵素における後天性或いは先天性の遺伝的欠陥は、遺伝性チロシン血症を引き起こし得る。この疾患の1つの型である遺伝性チロシン血症I型 (HT1) は、チロシンをフマル酸とアセト酢酸に代謝する生物における経路の最終酵素であるフマリルアセト酢酸ヒドロラーゼの欠損によって生じる。HT1は幼児期に始まる進行性の肝損傷で特徴づけられ、肝癌のリスクが高い (Endo, F.他(1997) J. Biol. Chem. 272:24426-24432)。

【0198】

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ーがある。

【0199】

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、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。

【0200】

発現情報

DNAメチル化は、哺乳動物細胞における遺伝子発現を変更する後成的なプロセスである。シトシン残基のメチル化は、DNA複製中に特異的5'-CG-3'ジヌクレオチド塩基対で発生する。高密度のCGジヌクレオチドであるCpG島 (CGI) は、ヒト遺伝子の約60%のプロモーターの近くで見出される。CGIのメチル化は通常低下した遺伝子発現 (メチル化サイレンシング) と関連するが、これは、おそらくプロモーターで結合する転写因子の干渉による。5-アザ-2'-デオキシシチジン (5-アザDC) の化合物は、DNAの脱メチル化とメチル化によってサイレンシングされた遺伝子の発現を回復するために一般的に使用されてきたDNAメチルトランスフェラーゼの不可逆インヒビターである。多くの遺伝子のメチル化は、X染色体不活化とゲノムインプリンティングの一部としての発達中に通常発生する。また遺伝子メチル化の累積的増加は老化と関連する。

【0201】

全般的な低メチル化と局在的高メチル化等を含む異常DNAメチル化は、ヒトの腫瘍の一般的な特徴であり、腫瘍進行の重要な経路として最近同定された。癌特異的メチル化パターンである「CpG島メチル化表現型」 (CIMP) は、結腸直腸原発腫瘍と細胞株の固有のサブセットで記述されてきた。CIMPは、非腫瘍性結腸直腸組織の老化と関連しているように思われる遺伝子メチル化のパターンと異なる (Toyota 他 2000; PNAS 97:710-715)。最近、

高メチル化が癌における腫瘍抑制遺伝子不活化の重要なメカニズムであることが分かった。例えば、主要なミスマッチ修復酵素 (hMLH1) のメチル化サイレンシングは結腸直腸癌 (CRC)で見られる遺伝的不安定性の一形態であるマイクロサテライトの不安定性 (MSI)の原因として関与すると考えられていた (Herman 他 (1998) Proc Natl Acad Sci 95:6870-6875)。癌におけるメチル化サイレンシングの標的であることが示されている他の腫瘍抑制遺伝子には、p16^{INK4a}、VHL、BRCA1、TIMP-3、ER、E-カドヘリンが含まれる (BaylinおよびHerman (2000) Trends Genet 16:168-174)。

【0202】

結腸直腸癌は4番目に発生率の高い癌であり、米国では癌による死の2番目に高い原因となっており、毎年約13万人が新患となり、5万5千人が死亡する。CRCは良性腺腫性ポリープから浸潤性転移性癌へとゆっくり進行する。他の癌のタイプと同様、腫瘍進行には主要な腫瘍抑制遺伝子とプロト癌遺伝子における染色体喪失と欠失、MSI、突然変異等の多様な形態の遺伝的不安定性が関係する。例えば、すべてのCRC症例のうち約85%に腫瘍抑制遺伝子APCにおける不活性化突然変異が関係し、これは腫瘍開始につながる最も早期の既知の遺伝的事象である。腫瘍進行中、多くのCRCは別の腫瘍抑制因子とK-ras、p53、DCC、TGFbRII、BAX等のプロトオンコジーンにおいて付加的な突然変異を獲得する。CRCの大部分は散発的であるが、CRCに対する高い素因に関与する2つの遺伝的症候群には家族性大腸腺腫症 (FAP)と遺伝性非ポリポーシス大腸癌 (HNPCC)がある。FAPはAPCにおける不活性化突然変異の生殖系列遺伝によって引き起こされ、その結果非常に頻繁なポリープ形成が起こり、悪性癌腫に進行する場合もある。HNPCCは、DNAミスマッチ修復酵素hMLH1またはhMSH2における生殖系列突然変異と関連がある。

【0203】

結腸直腸癌のAPC不全の「MIN」マウスモデルにおいて、DNAメチルトランスフェラーゼI活性を遺伝的に減少させることと共に5アザDCで処理することによって、ポリープ形成が低下する。このことは、メチル化サイレンシングが結腸直腸癌のポリープ形成において重要な役割を果たし得ること、また5アザDC処理は有益であり得ることを示唆する (Laird 他. 1995; Cell 81:197-205)。マイクロアレイ実験と他の方法の組合せを使用して、Karpf 他. (1999; Proc Natl Acad Sci USA 96:14007-14012)は、結腸直腸癌細胞株である培養したHT-29細胞の5アザDC処理によってインターフェロン (IFN)シグナル伝達に関連する幾つかの遺伝子の特異的発現が引き起こされることを示した。さらに5アザDC処理は培養中のHT29細胞の成長を阻害する。またこの阻害はIFN応答遺伝子の誘発と同時に起こりし、IFNの既知の成長抑制機能と一致する (Karpf 他., 前出)。従って、IFNシグナル伝達と関連する遺伝子等のメチル化サイレンシング遺伝子の活性化は腫瘍細胞における成長制御を向上させる。

【0204】

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は、アレイは次のような試験を行う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、ハウスキーピング機能を行うか、シグナル伝達カスケードの一部であるか、又は、特定の遺伝的素因や、条件、疾患、または障害に、特異的に関連する遺伝子であるかの試験である。

【0205】

遺伝子発現プロファイル作成の潜在的応用は特に、疾患の、診断、予後診断、および治療の向上に関わる。例えば、大腸癌患者に由来する組織に発現されるレベルと配列との双方を、正常組織に発現されるレベルおよび配列と比較しうる。

【0206】

本発明は、DNAメチル化と関連するタンパク質をコードする遺伝子の発現における変化の検出で用いる複数のcDNAを含む或る組合せを提供する。そのような組合せは、差次的な遺伝子発現と相関する癌の診断、予後、または治療に用い得る。本発明は、結腸直腸癌等

の疾患の患者の診断、病期の判断、治療、進行または治療のモニターするために全体あるいは一部が使用され得る一組の差次的に発現される遺伝子を提供することにより当分野の必要を満たす。

【0207】

ブドウ球菌の外毒素は、適切なTCR-V β 鎖を発現して特異的にヒトのT細胞を活性化する。自然状態ではポリクローナルであるが、ブドウ球菌の外毒素によってT細胞を活性化するには、外毒素分子をT細胞に提示して最適なT細胞活性化に必要な共刺激シグナルを伝える、抗原提示細胞(APC)の存在を要する。ブドウ球菌の外毒素はAPCによってT細胞に提示される必要があるが、これらの分子はAPCによるプロセッシングを必要としない。ブドウ球菌の外毒素はヒトのMHCクラスII分子の非多型性部分に直接結合する。

10

【0208】

脂肪組織は、脂肪を貯蔵し、放出する。脂肪組織はまた、インスリンの重要な標的組織の1つである。タイプII糖尿病における脂質生成とインシュリン耐性は連結している。II型糖尿病の殆どの患者は肥満であり、肥満は次にインシュリン耐性を生じる。ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体 γ アゴニスト(PPAR γ アゴニスト)であるチアゾリジンジオンは、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であるペルオキシソーム増殖因子活性化受容体 γ (PPAR γ)を結合し、活性化することができる。インシュリンへの感度を増すPPARアゴニスト薬剤である1ファミリーであるチアゾリジンジオンは、成熟した脂肪細胞に分化するよう前脂肪細胞を誘発する。

20

【0209】

結腸癌

軟組織肉腫は比較的まれであるが、同疾患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。肉腫の発達に導く分子経路は、疾患が稀であること病理のばらつきのため比較的未知である。結腸癌の発達には複数の段階があり、これらの段階の中で前癌結腸細胞が比較的順序の決まったイベントを経て腫瘍を形成する。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、突然変異、及び選択がある。

【0210】

結腸直腸癌における遺伝子の改変の本質を理解するために、多くの研究は遺伝性症候群に焦点を合わせてきた。家族性大腸腺腫症(FAP)は、タンパク質の不完全または不活性な形態につながる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。遺伝性非ポリポーシス結腸直腸癌(HNPCC)は、ミスマッチ修復遺伝子における突然変異により引き起こされる。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突然変異は疾患における開始現象であると考えられている。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。

30

【0211】

C3A細胞

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。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転換、iv)芳香アミノ酸の代謝、v)グルコースの無いまたインシュリンの無い培地での増殖。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)。

40

50

【0212】

ゲムフィブロジルは、血清トリグリセリドを下げ、またリポタンパク質における望ましい変化を作り出すfibrin acidの抗高脂血症剤である。ゲムフィブロジルは、男性の冠状動脈性心臓病の危険を減らすうえで効果的である(Frick, M.H., 他 (1987) New Engl. J. Med; 317:1237-1245)。化合物は末梢での脂肪分解を阻害し、遊離脂肪酸の肝臓の抽出を減少することができる。そして肝性トリグリセリド産生を減少する。ゲムフィブロジルはまた合成を阻害して、VLDLのキャリア分子であるアポリポタンパク質Bの除去を強化する。ゲムフィブロジルは、LDLコレステロールに対して多様な影響を有する。ゲムフィブロジルはタイプIIa高リポ蛋白血症の患者で中程度の低下を引き起こすが、タイプIIbまたはタイプIV高リポ蛋白血症の患者における変化は予測できない。一般的に、HMG-CoA還元酵素インヒビターは、LDLコレステロールの低下においてはゲムフィブロジルより効果的である。分子レベルでは、ゲムフィブロジルはペルオキシソーム増殖因子活性化受容体(PAR)アゴニストとして機能し得る。ゲムフィブロジルは胃腸管から急速にまた完全に吸収され、腸肝再循環を受ける。ゲムフィブロジルは、主に代謝産物として肝臓によって新陳代謝され、腎臓により排出されるが、そのうちの1つは薬理学的活性を有する。ゲムフィブロジルはラットでペルオキシソーム増殖と肝臓癌形成を引き起こし、それが一般的にはfibrin acid派生薬剤の懸念の原因である。ヒトにおいて、ゲムフィブロジルは他のfibrin acidよりよく忍容されるが、fibrin acid誘導体は胆嚢疾患の危険を増すことが知られている。ラット等のげっ歯類種と比較してヒトにおけるゲムフィブロジルの相対的な安全性は、異なる種における該化合物の代謝と除去における相違により得る (Dix, K.J., 他 (1999) Drug Metab. Distrib. 27:138-146、Thomas, B.F., 他 (1999) Drug Metab. Distrib. 27:147-157)。

【0213】

当分野では新規の組成物群を必要とする。これら新規の組成物には、自己免疫／炎症性の疾患、感染症、免疫不全症、代謝障害、生殖系疾患、神経系疾患、心血管疾患、眼疾患、及び癌等を含む細胞の異常増殖の診断・予防・治療のための核酸とタンパク質が含まれる。

【発明の開示】

【発明の効果】

【0214】

本発明の種々の実施態様は、総称して「ENZM」、個別にはそれぞれ「ENZM-1」、「ENZM-2」、「ENZM-3」、「ENZM-4」、「ENZM-5」、「ENZM-6」、「ENZM-7」、「ENZM-8」、「ENZM-9」、「ENZM-10」、「ENZM-11」、「ENZM-12」、「ENZM-13」、「ENZM-14」、「ENZM-15」、「ENZM-16」、「ENZM-17」、「ENZM-18」、「ENZM-19」、「ENZM-20」、「ENZM-21」、「ENZM-22」、「ENZM-23」、「ENZM-24」、「ENZM-25」、「ENZM-26」、「ENZM-27」、「ENZM-28」、「ENZM-29」、「ENZM-30」、「ENZM-31」、「ENZM-32」、「ENZM-33」、「ENZM-34」、「ENZM-35」、「ENZM-36」、「ENZM-37」、「ENZM-38」、「ENZM-39」、「ENZM-40」、「ENZM-41」、「ENZM-42」、「ENZM-43」、「ENZM-44」、「ENZM-45」、「ENZM-46」、「ENZM-47」、「ENZM-48」、「ENZM-49」、「ENZM-50」、「ENZM-51」、「ENZM-52」、および「ENZM-53」と呼ぶ精製されたポリペプチドと酵素、これらのタンパク質とそれらをコードするポリヌクレオチドとを用いた、疾患と病状との検出、診断、および治療の方法とを提供する。実施態様は、効果、適量、毒性、薬理学的決定を含む薬剤発見プロセスを促進するために、精製した酵素そして/あるいはそれらを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。関連する実施態様は、疾患の病因と医学的状況を調査するために、精製した酵素そして/あるいはそれらを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。

【0215】

或る実施態様は、(a)SEQ ID NO:1-53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:1-53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:1-53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:1-53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。別の実施態様は、SEQ ID NO:1-53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。

【0216】

また別の実施態様は(a)SEQ ID NO:1-53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:1-53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:1-53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:1-53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。一実施態様では、該ポリヌクレオチドは、SEQ ID NO:1-53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。別の実施態様では、ポリヌクレオチドはSEQ ID NO:54-106からなる群から選択される。

【0217】

更に別の実施態様は、(a)SEQ ID NO:1-53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:1-53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:1-53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:1-53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。

【0218】

別の実施態様は、(a)SEQ ID NO:1-53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:1-53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:1-53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:1-53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。

【0219】

更に別の実施態様は、(a)SEQ ID NO:1-53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:1-53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:1-53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:1-53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。

【0220】

また更に別の実施態様は、(a)SEQ ID NO:54-106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:54-106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。別の実施様態では、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。

【0221】

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: 54-106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: 54-106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。関連する或る実施様態では、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。

10

【0222】

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: 54-106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: 54-106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。

20

30

【0223】

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:1-53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:1-53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:1-53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:1-53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。一実施態様では、その組成物は、SEQ ID NO:1-53からなる一群から選択されたアミノ酸配列を含むことができる。他の実施態様は、機能的ENZMの発現の低下や異常に関連した疾患やその症状の治療方法を提供し、その内には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。

40

【0224】

また別の実施様態は、(a)SEQ ID NO:1-53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:1-53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:1-53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:1-53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

50

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。また別の実施様態は、機能的ENZMの発現の低下を伴う疾患や症状の治療を要する患者への、この組成物の投与方法を提供する。

【0225】

さらにまた別の実施様態は、(a)SEQ ID NO:1-53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:1-53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:1-53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:1-53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。更なる別の実施様態では、本発明は、機能的ENZMの過剰発現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。

10

20

【0226】

別の実施様態は、(a) SEQ ID NO:1-53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:1-53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:1-53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:1-53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。

30

【0227】

また別の実施様態は、(a)SEQ ID NO:1-53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:1-53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:1-53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:1-53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。

40

【0228】

更に別の実施様態は、SEQ ID NO:54-106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

50

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。

【0229】

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:54-106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:54-106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) 10 (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:54-106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:54-106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 20 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】

【0230】

(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 30 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。

【0231】

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の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。 40

【0232】

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な開示に対して先行する権利を与えられていないことを認めるものではない。

【0233】

(定義)

用語「ENZM」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ENZMのアミノ酸配列を指す。

【0234】

用語「アゴニスト」は、ENZMの生物学的活性を強めたり、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成分を挙げることができるが、これらはENZMと直接相互作用することによって、或いはENZMが関与する生物学的経路の構成エレメントに作用することによって、ENZMの活性を調節する。

【0235】

用語「対立遺伝子変異配列」は、ENZMをコードする遺伝子の別の形を指す。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。

【0236】

ENZMをコードする「変異」核酸配列は、様々なヌクレオチドの欠失、挿入、或いは置換が起こっても、ENZMと同じポリペプチド或いはENZMの機能特性の少なくとも1つを備えるポリペプチドを指す。この定義には、ENZM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、対立遺伝子変異配列群への不適当あるいは予期しないハイブリダイゼーションを含み、また、ENZMをコードするポリヌクレオチドの特定の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。コードされたタンパク質も変異され得、サイレント変化を生じENZMと機能的に等価となるアミノ酸残基の欠失、挿入、或いは置換を含み得る。意図的なアミノ酸置換は、生物学的或いは免疫学的にENZM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。

【0237】

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。

【0238】

「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。

【0239】

用語「アンタゴニスト」は、ENZMの生物学的活性を阻害或いは減弱する分子である。アンタゴニストは、ENZMに直接相互作用するか、或いはENZMが関与する生物学的経路の成分と作用して、ENZMの活性を調節する抗体、アンティカリン、核酸、糖質、小分子、任意の他の化合物や組成物などのタンパク質を含み得る。

【0240】

「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

10

20

30

40

50

の断片、例えばFab₁、F(ab')₂及びFv断片を指す。ENZMポリペプチドを結合する抗体は、免疫抗原として、そのままのポリペプチド、または関心のある小ペプチドを含む断片を用いて作製可能である。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結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。

【0241】

「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。

【0242】

用語「アプタマー」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結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)。

【0243】

「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)。

【0244】

「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。

【0245】

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。

【0246】

「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、天然或いは組換え体のENZM、合成のENZM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。

【0247】

「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。

【0248】

「～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。ENZMをコード、若しくはENZMの断片をコードするポリヌクレオチドを持つ組成物は、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。

【0249】

「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。

【0250】

「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。

【0251】

10

20

30

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	10
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	20
Val	Ile, Leu, Thr	

【0252】

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βシートやα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。

【0253】

「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。

30

【0254】

「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。

【0255】

「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。

40

【0256】

「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。

【0257】

「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

50

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。

【0258】

用語「断片」は、ENZMの又はENZMをコードす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得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。

10

【0259】

SEQ ID NO:54-106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:54-106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:54-106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つ以上の実施態様、またはSEQ ID NO:54-106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:54-106の断片の正確な長さ及び断片に対応するSEQ ID NO:54-106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。

20

【0260】

SEQ ID NO:1-53の断片はSEQ ID NO:54-106の断片によってコードされている。SEQ ID NO:1-53の断片はSEQ ID NO:1-53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:1-53の断片は、SEQ ID NO:1-53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:1-53の断片および断片に対応するSEQ ID NO:1-53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。

30

【0261】

「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。

【0262】

「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。

40

【0263】

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。

【0264】

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

50

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。

【0265】

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。

【0266】

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

【0267】

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。

【0268】

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。

【0269】

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。対照的に、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。

【0270】

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。

10

【0271】

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。

【0272】

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

20

【0273】

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。

30

【0274】

「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。

【0275】

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。

40

【0276】

「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、

50

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℃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。

【0277】

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℃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。

【0278】

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℃で1時間の洗浄過程を含む。別法では、約65℃、60℃、55℃、または42℃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のせん断した変性サケ精子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。

【0279】

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 (C₀tまたはR₀t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。

【0280】

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。

【0281】

「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。

【0282】

用語「免疫原性断片」は、例えば哺乳動物などの生きている動物に導入すると、免疫反応を引き起こすENZM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ENZMのポリペプチド断片またはオリゴペプチド断片を含む。

【0283】

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。

【0284】

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

10

20

30

40

50

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。

【0285】

用語「調節(modulate)」は、ENZMの活性の変化を指す。例えば、調節によって、ENZMのタンパク質活性、或いは結合特性、またはその他の生物学的特性、機能的特性或いは免疫学的特性の変化が起こる。

【0286】

「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。

10

【0287】

「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。

【0288】

「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。

20

【0289】

ENZM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、蛋白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、ENZM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。

【0290】

「プローブ」とは、核酸の内、ENZMやそれらの相補配列、またはそれらの断片をコードし、同一や対立遺伝子核酸、または関連する核酸の検出に用いる核酸を指す。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得る。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。

30

【0291】

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。

40

【0292】

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 Ha

50

rbor 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)などの参考文献に記載がある。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。

【0293】

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

【0294】

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。

40

【0295】

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。

【0296】

「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

50

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。

【0297】

「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な部分である。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。

【0298】

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。

10

【0299】

用語「サンプル」は、その最も広い意味で用いられている。ENZM、ENZMをコードする核酸、またはその断片を含むと推定されるサンプルは、体液と、細胞からの抽出物や細胞から単離された染色体や細胞内小器官、膜と、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、組織プリント等を含み得る。

【0300】

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。

20

【0301】

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。

【0302】

「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。

30

【0303】

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。

【0304】

「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。

40

【0305】

「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

50

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。

【0306】

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。

【0307】

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。

【0308】

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%、あるいは少なくとも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。

【0309】

(発明)

本発明の多様な実施態様には、新規のヒトの酵素(ENZM)及びENZMをコードするポリヌクレオチドの発見に基づき、これらの組成物を利用した自己免疫/炎症疾患、感染症、免疫不全、代謝の障害、生殖系疾患、神経の疾患、心血管疾患、眼疾患、および癌を含む細胞増殖異常の診断、治療、または予防に関する。

【0310】

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ンのIncyte ID 番号を示す。完全長のクロンは列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。

10

【0311】

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。

20

【0312】

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。

30

【0313】

表2及び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、それら特性が請求の範囲に記載されたポリペプチドが酵素であることを確立している。例として、SEQ ID NO:1はヒトサイクリックAMP特異的ホスホジエステラーゼHSPDE4A1A(GenBank ID g3293241)とD155残基からT409残基まで100%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 $8.4e-135$ であり、これは観測されたポリペプチド配列を偶然に得る確率を示す。SEQ ID NO:1はまた、1つの3'5'-サイクリックヌクレオチドホスホジエステラーゼ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)。BLAST-PRODOMおよびBLAST-DOM解析からのデータは、SEQ ID NO:1がホスホジエステラーゼである、更なる確証を提供する。また他の例として、SEQ ID NO:5はヒトのパラオキシナーゼ(paraoxonase)(GenBank ID g3694659)とM1残基からL342残基まで96%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 $1e-179$ 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:5はヒドロラーゼ活性を有し、また有毒有機リン酸を加水分解することができるパラオキシナーゼであることが、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:2もまた、1つのアリアルエステラーゼ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(

40

50

表3参照)。BLIMPS及びBLAST解析よりのデータは、SEQ ID NO:5が血清芳香族ヒドロラーゼであることをさらに確証する証拠を提供する。また他の例として、SEQ ID NO:6はヒトの2-アミノ-3-ケト酪酸-CoAリガーゼ(GenBank ID g3342906)とM1残基からL411残基まで98%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 $3.9e-217$ 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:6はトランスフェラーゼ活性を有し、また2-アミノ-3-ケト酪酸-補酵素Aリガーゼであることが、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:6もまた、1つのアミノトランスフェラーゼ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、PROFILESCAN、BLAST解析からのデータは、SEQ ID NO:6が2-アミノ-3-ケト酪酸補酵素Aリガーゼであることを示す更なる確証を提供する。また他の例として、SEQ ID NO:12は、ヒトの3-ヒドロキシメチル-3-メチルグルタリル補酵素Aリアーゼ(GenBank ID g14714839)に対してM1残基からV117残基まで100%、A115残基からL254残基まで99%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 $3.3e-129$ 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:12はミトコンドリアに局在化し、リアーゼ活性を有し、またエネルギー代謝、ケトン生成、ロイシン異化作用において機能する3-ヒドロキシメチル-3-メチルグルタリル補酵素Aリアーゼであることが、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:12もまた、1つのHMGL(ヒドロキシメチルグルタリル-CoAリアーゼ)様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、BLAST、MOTIFS解析よりのデータは、SEQ ID NO:12がヒドロキシメチルグルタリル-CoAリアーゼであるという、さらに確証的な証拠を提供する。別の例において、SEQ ID NO:13はヒトのファルネシル2リン酸シンターゼ(GenBank ID g14603061)とM1残基からY311残基にかけて99%、E303残基からK374残基にかけて94%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 $1.9e-202$ 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:13はトランスフェラーゼ活性を有し、またコレステロール生合成において機能するファルネシル2リン酸シンターゼであることが、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:13はまた、1つのポリプレニル合成酵素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及びBLAST解析よりのデータは、SEQ ID NO:13がファルネシルピロリン酸シンテターゼである、さらに実証的な証拠を提供する。別の例においてSEQ ID NO:17は、G19残基からV338残基までが92%、M1残基からQ46残基までが100%、ヒト超長鎖アシルCoAデヒドロゲナーゼ(GenBank ID g790447)に対して同一であると、Basic Local Alignment Search Tool (BLAST)で判定された(表2参照)。BLAST確率スコアは $1.1e-175$ 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。さらに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:17はミトコンドリアに局在化し、酸化還元酵素活性を有し、ヒトの超長鎖アシル補酵素Aデヒドロゲナーゼに相同的である。そして脂肪酸 β 酸化の開始ステップにおいて直線の鎖アシルCoAを酸化する。また遺伝子の突然変異による欠損が乳幼児突然死症候群、肥大型心筋症を引き起こす(PROTEOME ID NO:339036|ACADV1)。SEQ ID NO:17はまた、アシルCoAデヒドロゲナーゼN末端および中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、PROFILESCAN、および追加のBLAST解析よりのデータは、SEQ ID NO:4がアシル-CoAデヒドロゲナーゼである、更なる確証を提供する。また他の例として、SEQ ID

N0:25はヒトのホスホエノールピルビン酸カルボキシキナーゼ2(GenBank ID g12655193)とM1残基からM608残基まで99%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0.0であるが、これは観測されたポリペプチド配列が偶然に得られる確率を示す。SEQ ID N0:25はホスホエノールピルビン酸カルボキシキナーゼであることが、PROTEOMEデータベースを使ったBLAST解析によって示された。SEQ ID N0:6はまた、1つのホスホエノールピルビン酸カルボキシキナーゼ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解析からのデータは、SEQ ID N0:25がホスホエノールピルビン酸カルボキシキナーゼであるという、さらに確証的な証拠を提供する。また他の例として、SEQ ID N0:33はヒトのNAD(P)H:メナジオンオキシドレダクターゼ(GenBank ID g189246)とM1残基からQ101残基まで100%、F66残基からK236残基まで83%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確率スコアはそれぞれ、 $3.3\text{e-}48$ 、 $1.3\text{E}71$ 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 N0:33は細胞質内にあり、酸化還元酵素活性を有し、ストレス反応において機能するサイトゾル性でキノンを標的とするレダクターゼであるキノンレダクターゼ(NAD(P)H:メナジオンオキシドレダクターゼ)に対して相通的である。ヒトのキノンレダクターゼ遺伝子の欠損は、増加したベンゼンの血液毒性(benzene hematotoxicity)、尿路結石症、様々な癌と関連する(PROTEOME ID:331838|Rn.11234)。SEQ ID N0:33もまた、1つのNAD(P)Hデヒドロゲナーゼ(キノン)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)。付加的なBLAST解析よりのデータは、SEQ ID N0:33がオキシドレダクターゼである、さらに実証的な証拠を提供する。また他の例として、SEQ ID N0:34はアフリカツメガエルのNfr1(GenBank ID g2443331)とM1残基からS598残基まで77%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 $3.1\text{e-}258$ 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 N0:34はオキシドレダクターゼであることが、PROTEOMEデータベースを使ったBLAST解析によって示された。SEQ ID N0:34はまた、1つのピリジンヌクレオチドジスルフィド酸化還元酵素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と付加的なBLAST解析よりのデータは、SEQ ID N0:34がオキシドレダクターゼである、さらに実証的な証拠を提供する。また他の例として、SEQ ID N0:48は、残基M1から残基R618まで、ヒトの長鎖アシルCoAデヒドロゲナーゼ(GenBank ID g1008852)と99%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0.0であるが、これは観測されたポリペプチド配列が偶然に得られる確率を示す。SEQ ID N0:48はさらに酸化機能を有するアシル補酵素A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 N0:48はまた、複数のアシルCoAデヒドロゲナーゼドメインを有することが、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)。PRODOMとDOMOデータベースのBLIMPS、MOTIFS、PROFILESCAN、および付加的なBLAST解析よりのデータは、SEQ ID N0:48がアシル-CoAデヒドロゲナーゼ酵素である、更なる確証を提供する。また他の例として、SEQ ID N0:51は、M1残基からM478残基まで、ヒトの長鎖アシルCoAデヒドロゲナーゼ(GenBank ID g790447)と同一であることが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 $4.2\text{e-}253$ 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 N0:51はまた長鎖アシルCoAデヒドロゲナーゼ(339036|ACADVL)と相同性を有することがPROTEOMEデー

データベースを使ったBLAST解析によって示された。SEQ ID NO:51はまた、複数のアシルCoAデヒドロゲナーゼドメインを有することが、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:51がアシルCoAデヒドロゲナーゼのスプライス変異配列であるという、さらに確証的な証拠を提供する。SEQ ID NO:2-4、SEQ ID NO:7-11、SEQ ID NO:14-16、SEQ ID NO:18-24、SEQ ID NO:26-32、SEQ ID NO:35-47、SEQ ID NO:49-50、SEQ ID NO:52-53は、同様な方法で解析され注釈された。SEQ ID NO:1-53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。

【0314】

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、また、例えばSEQ ID NO:54-106を同定するため、或いはSEQ ID NO:54-106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。

【0315】

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_{1,2,3,4} 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、FL_XXXXXX_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では、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。

【0316】

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

10

20

30

40

50

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

【0317】

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。

【0318】

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

【0319】

表8は、本発明のポリヌクレオチド配列に見られる一塩基多型((SNP)を、種々のヒト集団での対立遺伝子(アレル)頻度と共に示す。列1および列2はそれぞれ、本発明の各ポリヌクレオチドのポリヌクレオチド配列識別番号(SEQ ID NO:)およびそれに対応するIncyteプロジェクト識別番号(PID)を示す。列3はSNPが検出されたESTのIncyte識別番号(EST ID)を示し、列4はSNPの識別番号(SNP ID)を示す。列5はSNPが存在するEST配列内の位置(EST SNP)を示し、列6は完全長ポリヌクレオチド配列内のSNPの位置(CB1 SNP)を示す。列7はEST配列内に存在する対立遺伝子を示す。列8および列9はSNP部位に存在する2つの対立遺伝子を示す。列10はESTに存在する対立遺伝子に基づいてSNP部位に含まれるコドンによってコードされるアミノ酸を示す。列11~14は四つの異なったヒト母集団における対立遺伝子1の発生頻度を示す。n/d(検出されない)の項目は母集団における対立遺伝子1の発生頻度が低すぎて検出されなかったことを示し、また、n/a(利用不可)はその母集団において対立遺伝子の発生頻度が決定されなかったことを示す。

40

【0320】

本発明には、ENZMの変異体も含まれる。ENZMの変異体の様々な実施形態は、ENZM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ENZM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。

【0321】

50

種々の実施態様もまた、ENZMをコードするポリヌクレオチドをも含む。特定の実施例において、本発明は、ENZMをコードする、SEQ ID NO:54-106からなる一群から選択された配列を含む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:54-106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。

【0322】

本発明はまた、ENZM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は、ENZMをコードするポリヌクレオチドとの、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:54-106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%ものポリヌクレオチド配列同一性を有するようなSEQ ID NO:54-106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配列の変異配列を含む。上記の任意のポリヌクレオチドの変異体は、ENZMの機能的若しくは構造的特徴を少なくとも1つ有するアミノ酸配列をコードし得る。

【0323】

さらに、或いは別法では、本発明のポリヌクレオチド変異体は、ENZM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ENZM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、ENZM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、ENZM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:93の配列を含むポリヌクレオチドおよびSEQ ID NO:54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:99の配列を含むポリヌクレオチドおよびSEQ ID NO:59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:98の配列を含むポリヌクレオチドおよびSEQ ID NO:62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:102の配列を含むポリヌクレオチドおよびSEQ ID NO:66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:100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:104の配列を含むポリヌクレオチドおよび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:94の配列を含むポリヌクレオチド、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およびSEQ ID NO:73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:97の配列を含むポリヌクレオチドおよびSEQ ID NO:75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:105の配列を含むポリヌクレオチドおよびSEQ ID NO:79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:103の配列を含むポリヌクレオチド、SEQ ID NO:106の配列を含むポリヌクレオチド、SEQ ID NO:89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:57の配列を含むポリヌクレオチド、SEQ ID NO:58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:67の配列を含むポリヌクレオチド、SEQ ID NO:68の配列を含むポリヌクレオチド、SEQ ID NO:71の配列を含むポリヌクレオチドおよび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:82の配列を含むポリヌクレオチド、SEQ ID NO:83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。上記したスプライス変異配列は何れも、ENZM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。

【0324】

遺伝暗号の縮重により作り出され得るENZMをコードする種々のポリヌクレオチド配列には、自然発生する任意の既知の遺伝子のポリヌクレオチド配列と最小の類似性しか有しないものも含まれることを、当業者は理解するであろう。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。これらの組み合わせは、天然ENZM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作られる。また、このような全ての変異が明確に開示されていると考慮されたい。

【0325】

ENZM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ENZMをコードする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ENZM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、ENZM及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。

【0326】

本発明はまた、ENZM及びその誘導体をコードするポリヌクレオチドまたはそれらの断片を完全に合成化学によって作り出すことも含む。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ENZM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。

【0327】

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:54-106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。

【0328】

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 (In vitrogen, 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)。

【0329】

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、ENZM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

サルプライマー及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)。

【0330】

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.19:3055-3060)。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。

【0331】

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。

【0332】

市販のキャピラリー電気泳動システムを用いて、シークエンシングまたは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、キャピラリーシークエンシングは、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小断片のシークエンシングに特に適している。

【0333】

本発明の別の実施態様では、適切な宿主細胞内で、ENZM、その断片または機能的等価物を発現させる組換えDNA分子群内で、ENZMをコードするポリヌクレオチド群またはその断片群を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ENZMの発現に利用可能である。

【0334】

種々の目的で、ENZM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。

【0335】

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、ENZM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。

10

【0336】

別の実施態様では、ENZM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、ENZM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 NY, 55-60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。更に、ENZMのアミノ酸配列または任意のその一部を、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み合わせることにより、或る天然ポリペプチドの配列を有するポリペプチドまたは変異体ポリペプチドが作製され得る。

20

30

【0337】

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)。

【0338】

生物学的に活性なENZMを発現させるために、ENZMまたはその誘導体をコードするヌクレオチドを好適な発現ベクターに挿入することができる。好適な発現ベクターとは即ち好適な宿主内で挿入されたコーディング配列の転写及び翻訳の調節に必要な要素を含むベクターである。必要なエレメントとしては、ベクター内およびENZM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。固有開始シグナルを用いて、ENZMをコードするポリヌクレオチドをより効果的に翻訳することも可能である。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。ENZM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でないこともある。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

40

50

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. 20:125-162)。

【0339】

当業者に周知の方法を用いて、ENZMをコードするポリヌクレオチド、好適な転写及び翻訳調節エレメントを含む発現ベクターを作製することが可能である。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)。

【0340】

種々の発現ベクター／宿主系を利用して、ENZMをコードするポリヌクレオチドを保持および発現し得る。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. 264:5503-5509、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。

【0341】

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、ENZM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ENZM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。ベクターのマルチクローニング部位にENZMをコードするポリヌクレオチドを連結反応するとlacZ 遺伝子が破壊され、組換え分子を含む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)。例えば、抗体の産生のためなどに多量のENZMが必要な場合は、ENZM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。

【0342】

酵母の発現系を使用してENZMを産出し得る。 α 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) Met

hods Enzymol.153:516-544; Scorer, C.A.他(1994) Bio/Technology 12:181-184)。

【0343】

植物系を使用してENZMを発現することも可能である。ENZM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、例えば単独或いはTMV (Takamatsu, N. (1987) EMBO J 6:307-311) 由来のオメガリーダー配列と組み合わせて用いられるようなCaMV由来の35S及び19Sプロモーターによって促進される。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. 17:85-105)。

【0344】

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)。

【0345】

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。アデノウイルスを発現ベクターとして用いる場合、後期プロモーターと3連リーダー配列を持つアデノウイルス転写／翻訳複合体に、ENZMをコードするポリヌクレオチドを結合し得る。アデノウイルスゲノムの非必須E1またはE3領域への挿入を用いれば、宿主細胞内でENZMを発現する感染ウイルスを得ることができる(Logan, J.およびT. Shenk (1984) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 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。

【0346】

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)。

【0347】

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は、株化細胞におけるENZMの安定した発現が望ましい。例えば、ENZM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。

【0348】

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 77:35673570, 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

10

20

30

40

50

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、例えばアントシアニン、緑色蛍光タンパク質 (GFP; Clontech)、 β グルクロニダーゼ及びその基質 β グルクロニド、またはルシフェラーゼ及びその基質ルシフェリン等を用いてもよい。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する一過性或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)。

【0349】

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、ENZMをコードする配列がマーカー遺伝子配列の中に挿入された場合、ENZMをコードするポリヌクレオチドを含む形質転換された細胞は、マーカー遺伝子機能の欠落により同定可能である。または、1つのプロモーターの制御下でマーカー遺伝子がENZMをコードする配列とタンデムに配置することも可能である。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。

10

【0350】

一般に、ENZMをコードするポリヌクレオチドを持ち、ENZMを発現する宿主細胞は、当業者に周知の種々の方法を用いて特定できる。これらの方法には、DNA-DNA或いはDNA-RNAハイブリダイゼーションや、PCR法、核酸或いはタンパク質の検出及び/または数量化のための膜系、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生物学的試験法または免疫学的アッセイが含まれるが、これらに限定されるものではない。

20

【0351】

特異的ポリクローナル抗体または特異的モノクローナル抗体を用いてENZMの発現の検出及び計測を行うための免疫学的方法は、当分野で公知である。このような技術の例としては、酵素に結合したイムノソルベントアッセイ (ELISA)、ラジオイムノアッセイ (RIA)、蛍光活性化細胞選別 (FACS) などが挙げられる。ENZM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、競合結合試験も用い得る。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)。

30

【0352】

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。ENZM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、標識したヌクレオチドを用いるPCR増幅が含まれる。或いはENZMをコードするポリヌクレオチド、またはその任意の断片を、mRNAプローブを生成するためのベクターにクローニングしうる。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。

40

【0353】

ENZM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

50

依存する。ENZMをコードするポリヌクレオチドを含む発現ベクターは、原核細胞膜及び真核細胞膜を透過してのENZMの分泌を誘導するシグナル配列を含むように設計できることは、当業者には理解されよう。

【0354】

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。

【0355】

本発明の別の実施形態では、ENZMをコードする天然のポリヌクレオチド、修飾されたポリヌクレオチド、または組換えのポリヌクレオチドを上記した任意の宿主系の融合タンパク質の翻訳となる異種配列に連結させ得る。例えば、市販されている抗体を用いて認識可能な異種部分を含むキメラENZMタンパク質は、ENZM活性阻害剤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、ENZM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、ENZMが精製の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。

【0356】

別の実施形態では、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* で放射能標識したENZMの合成が可能である。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。

【0357】

ENZM或いはその断片またはその変異体を用いて、ENZM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。ENZMに対する特異結合について、一つ以上の試験化合物をスクリーンすることができる。種々の実施形態において、ENZM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。

【0358】

関連の実施形態で、ENZM変異体を用いて試験化合物たとえば抗体の、ENZMへの結合や、ENZM変異体へ、または組み合わせたENZMおよび/または1つ以上のENZM変異体への結合をスクリーニングできる。ある実施形態においては、SEQ ID NO:1-53の配列の正確な配列を有するENZMではなく、ENZMの変異体に結合する化合物のスクリーニングにENZM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ENZM変異体はENZMに約50%から約99%の範囲で配列同一性を有し得る。また、種々の実施態様で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。

【0359】

或る実施態様でENZMへの特異結合スクリーニングで同定された化合物は、ENZM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ENZMの天然リガンドであり得る (Howard, A.D. 他. (2001) Trends Pharmacol.Sci.22:132-140; Wise, A. 他 (2002) Drug Discovery Today 7: 235-246)。

【0360】

別の実施態様でENZMへの特異結合スクリーニングで同定した化合物は、ENZM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ENZM受容体の場合や、シグナルを伝播できないENZM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; Immunex Corp., Seattle WA) 作製に用いた技術を含む。エタネルセプトは、ヒト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 部分に連結されている (Taylor, P.C. 他 (2001) Curr. Opin. Immunol. 13:611-616)。

【0361】

ある実施態様においては、類似した、あるいは異なる特異性を持つ2つ以上の抗体を、ENZM、ENZMの断片またはENZMの変異体への結合についてスクリーニングすることができる。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、ENZM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、ENZM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。別の実施態様で、ENZM産生の増加、低下、或いは異常を有する特定の疾患または病状を優先的に診断できる結合特異性を持つ抗体を選択できる。

【0362】

1つの実施態様で、anticalinを、ENZM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リ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β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な置換を行うこともできる。

【0363】

一実施態様では、ENZMに特異的に結合、もしくは刺激または阻害する化合物のスクリーニングには、分泌タンパク質或いは細胞膜上のタンパク質の何れか一方としてENZMを発現する適切な細胞の作製が含まれる。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。次に、ENZMを発現する細胞、またはENZMを含む細胞膜分画を試験化合物と接触させて、ENZMまたは試験化合物の何れかの、結合または活性の刺激あるいは阻害を分析する。

【0364】

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、溶液中の或いは固体支持物に固定されたENZMと混合するステップと、ENZM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。

【0365】

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)。

10

20

【0366】

ENZMまたはその断片、あるいはENZMの変異体を用いて、ENZMの活性を変調する化合物を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。ある実施態様では、ENZMの活性が許容される条件下でアッセイを実施し、そのアッセイでは少なくとも1つの試験化合物をENZMと混合し、試験化合物の存在下でENZMの活性を試験化合物不在下でのENZMの活性と比較する。試験化合物の存在下でのENZMの活性の変化は、ENZMの活性を調節する化合物の存在を示唆する。別の実施態様において、試験化合物をENZMの活性に適した条件下でENZMを含む *in vitro* または無細胞再構成系と結合させてアッセイを実施する。これらアッセイの何れにおいても、ENZMの活性をモジュレートする試験化合物は間接的にモジュレートする場合があります、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。

30

40

【0367】

別の実施例では、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、ENZM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「ノックアウト」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ノックアウトする(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。

【0368】

ENZMをコードするポリヌクレオチドを *in vitro* でヒト胚盤胞由来のES細胞において操作

50

することが可能である。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)。

【0369】

ENZM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「ノックイン」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)を作製することが可能である。ノックイン技術を用いて、ENZMをコードするポリヌクレオチドの或る領域を動物ES細胞に注入し、注入した配列を動物細胞ゲノムに組み込ませる。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。別法では、例えばENZMを乳汁内に分泌するなどENZMを過剰発現する哺乳動物近交系は、このタンパク質の簡便な源泉ともなり得る (Janne, J. 他 (1998) Biotechnol. Annu. Rev. 4:55-74)。

10

【0370】

(治療)

ENZMのある領域と酵素の領域との間に、例えば配列およ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、ENZMを発現する組織の例が、表6および実施例11に見つけられる。従ってENZMは、自己免疫/炎症性の疾患、感染症、免疫不全症、代謝障害、生殖系疾患、神経系疾患、心血管疾患、眼疾患、及び癌等を含む細胞の異常増殖において或る役割を果たすものと考えられる。ENZM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、ENZMの発現または活性を低下させることが望ましい。また、ENZM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、ENZMの発現または活性を増大させることが望ましい。

20

【0371】

従って、一実施態様では、ENZM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ENZMまたはその断片や誘導体が投与され得る。限定するものではないが、このような疾患として自己免疫/炎症性疾患には、後天性免疫不全症候群(AIDS)、アジソン病、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、貧血症、喘息、アテローム性動脈硬化症、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(APECED)、気管支炎、胆嚢炎、接触皮膚炎、クローン病、アトピー皮膚炎、皮膚筋炎、真性糖尿病、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、脾炎、多発性筋炎、乾癬、ライター症候群、慢性関節リウマチ、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、全身性硬化症、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、外傷が含まれ、;感染症としては、たとえばアデノウィルス(急性呼吸器疾患、肺炎)、アレナウィルス(リンパ球性脈絡髄膜炎)、ブンヤウィルス(ハンタウィルス)、コロナウィルス(肺炎、慢性気管支炎)、ヘパドナウィルス(肝炎)、ヘルペスウィルス(ヘルペスシンプレックスウィルス、帯状ヘルペスウィルス、エプスタイン-バーウィルス、サイトメガロウィルス)、フラビウィルス(黄熱病)、オルトミクソウィルス(インフルエンザ)、パピローマウィルス(癌)、パラミクソウィルス(はしか、おたふく風邪)、ピコルナウィルス(リノウィルス、ポリオウィルス、コクサッキーウィルス)、ポリオーマウィルス(BKウィルス、JCウィルス)、ポックスウィルス(天然痘)、レオウィルス(コロラドダニ熱)、レトロウィルス(ヒト免疫不全ウィルス、ヒトTリンパ球向性ウィルス)、ラブドウィルス(狂犬病)、ロタウィルス(胃腸炎)、トガウィルス(脳炎、風疹)などに起因するウィルス感染症および細菌感染症、真菌感染症、寄生虫感染症、原虫感染症、および蠕虫感染症が含まれ、;免疫不全としては、後天性免疫不全症候群(AIDS)、X連鎖ブルトン型伴性無ガンマロブリン血症、分類不能型免疫不全症(CVI)、ディジ

30

40

50

ョージ症候群(胸腺形成不全症)、胸腺異形成、IgA単独欠損症、重症複合型免疫不全(SCID)、血小板減少および湿疹を伴う免疫不全症(ウィスコット-アルドリッチ症候群)、チェディアック-東症候群、慢性肉芽腫症、遺伝性血管神経性浮腫、クッシング病に関連した免疫不全疾患が含まれ、;代謝障害の中には、アジソン病、脳腱黄色腫症、先天性副腎過形成、クマリン耐性(coumarin resistance)、嚢胞性繊維症、糖尿病、脂肪性肝硬変、フルクトース-1、6-ジホスファターゼ欠乏症、ガラクトース血症、甲状腺腫、グルカゴノーマ、糖原病、遺伝性果糖不耐症、副腎皮質機能亢進症(Hyperadrenalism)、副甲状腺機能亢進症、副甲状腺機能低下症、高コレステロール血症、甲状腺機能亢進症、低血糖症、甲状腺機能低下症、脂肪過剰血症、脂質ミオパシー、脂肪ジストロフィー症、リソソーム蓄積症、モノシドーシス、ノイラミニナーゼ欠損症、肥満、ペントース尿フェニルケトン症、プソイドビタミンD欠損佝僂病が含まれ、生殖系疾患として、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、自己免疫障害、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、インポテンシ、男性乳癌、女性化乳房が含まれ、;神経系疾患には、癲癇、虚血性脳血管障害、脳卒中、大脳新生物、アルツハイマー病、ピック病、ハンチントン病、痴呆、パーキンソン病及びその他の錐体外路障害、筋萎縮性側索硬化及びその他の運動ニューロン障害、進行性神経性筋萎縮症、色素性網膜炎、遺伝性運動失調、多発性硬化症及び他の脱髄疾患、細菌性及びウイルス性髄膜炎、脳膿瘍、硬膜下蓄膿症、硬膜外膿瘍、化膿性頭蓋内血栓性静脈炎、脊髄炎及び神経根炎、ウイルス性中枢神経系疾患、プリオン病(クールー、クロイツフェルト-ヤコブ病、及びGerstmann-Straussler-Scheinker症候群を含む)、致死性家族性不眠症、神経系性栄養病及び代謝病、神経線維腫症、結節硬化症、小脳網膜血管芽腫(cerebelloretinal hemangioblastomatosis)、脳3叉神経血管症候群、ダウン症候群を含む中枢神経系の精神薄弱及び他の発達障害、脳性麻痺、神経骨格異常症、自律神経系障害、脳神経障害、脊髄障害、筋ジストロフィー及びその他の神経筋障害、末梢神経疾患、皮膚筋炎及び多発性筋炎、遺伝性、代謝性、内分泌性、及び中毒性の筋疾患、重症筋無力症、周期性四肢麻痺、精神病(気分性、不安性の障害、分裂病性疾患)、季節性障害(SAD)、静座不能、健忘症、緊張病、糖尿病性ニューロパシー、錐体外路性終末欠陥症候群、ジストニー、分裂病性精神障害、帯状疱疹後神経痛、トゥーレット病が含まれ、心血管障害には動静脈瘻、アテローム性動脈硬化症、高血圧、脈管炎、レイノー病、動脈瘤、動脈解離、静脈瘤、血栓静脈炎および静脈血栓、血管系腫瘍、血栓溶解の合併症、バルーン血管形成術、血管置換術、冠動脈バイパス移植、うっ血性心不全、虚血性心疾患、狭心症、心筋梗塞、高血圧性心疾患、変性弁膜性心疾患、石灰化大動脈弁狭窄症、先天性2尖大動脈弁、僧帽弁輪部石灰化、僧帽弁逸脱、リウマチ熱及びリウマチ性心疾患、感染性心内膜炎、非細菌性血栓性心内膜炎、全身性紅斑性狼瘡の心内膜炎、カルチノイド心疾患、心筋症、心筋炎、心膜炎、腫瘍性心疾患、先天性心臓疾患、心臓移植の合併症、先天性肺異常、肺拡張不全、肺うっ血および肺水腫、肺動脈塞栓症、肺出血、肺梗塞、肺高血圧症、血管硬化症、閉塞性肺疾患、拘束性肺疾患、慢性閉塞性肺疾患、肺気腫、慢性気管支炎、気管支喘息、気管支拡張症、細菌性肺炎、ウイルス性肺炎およびマイコプラズマ肺炎、肺膿瘍、肺結核、びまん性間質性疾患、塵肺症、サルコイド症、特発性肺線維症、剥離性間質性肺炎、過敏性肺炎、肺好酸球増加、閉塞性細気管支炎-器質化肺炎(bronchiolitis obliterans-organizing pneumonia)、びまん性肺出血症候群、グッドパスチャー症候群、特発性肺血鉄症、膠原血管病併発性肺疾患、肺胞タンパク症、肺腫瘍、炎症性および非炎症性胸水、気胸症、胸膜腫瘍、薬物性肺疾患、放射線による肺疾患、および肺移植の合併症などが含まれ、;眼疾患には高眼圧症、緑内障が含まれ、;細胞増殖異常には日光性角化症、動脈硬化、アテローム性動脈硬化、滑液包炎、硬変、肝炎、混合型結合組織病(MCTD)、骨髓線維症、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、並びに腺癌及び白血病、リンパ腫、黒色腫、骨髄腫、肉腫、及び奇形癌、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、

10

20

30

40

50

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、子宮の癌が含まれる。

【0372】

別の実施態様では、ENZMまたはその断片や誘導体を発現し得るベクターを患者に投与して、上記しだけに限られるものではないが疾患を含むENZMの発現または活性の低下に関連した疾患を治療または予防することも可能である。

【0373】

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、ENZM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ENZM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。

10

【0374】

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、ENZM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、ENZMの活性を調節するアゴニストを被験者に投与し得る。

【0375】

更なる実施態様では、ENZM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ENZM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、そのような疾患としては上記の自己免疫/炎症疾患、感染症、免疫不全、代謝の障害、生殖系疾患、神経の疾患、心血管疾患、眼疾患、および癌を含む細胞増殖異常が含まれる。一実施態様においては、アンタゴニストとして直接的に、或いはENZMを発現する細胞または組織に薬剤を輸送するターゲティングまたは輸送機構として間接的にENZMと特異結合する抗体を用いることができる。

20

【0376】

別の実施例では、限定するものではないが上に列記した疾患を含むENZM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、ENZM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患者に投与することも可能である。

【0377】

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、当業者が従来の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。

30

【0378】

ENZMのアンタゴニストは、当分野で一般的な方法を用いて製造できる。詳しくは、精製されたENZMを用いて抗体を作ったり、治療薬のライブラリ群をスクリーニングしてDMEと特異結合する薬物を同定できる。ENZMに対する抗体も、当分野で一般的な方法を用いて製造することが可能である。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、Fab断片、及びFab発現ライブラリによって作られた断片が含まれる。但し、これらに限定されるものではない。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. 74:277-302)。

40

【0379】

抗体の産生のためには、ヤギ、ウサギ、ラット、マウス、ラクダ、ヒトコブラクダ、ラマ、ヒト及びその他のものを含む種々の宿主が、ENZM または任意の断片、または免疫原性の特性を備えるそのオリゴペプチドの注入によって免疫化され得る。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

50

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 - ゲラン杆菌) 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。

【0380】

ENZM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。ENZMアミノ酸の短い伸長部は、別のタンパク質、例えばスカシガイのヘモシニアンの配列と融合し、キメラ分子に対する抗体が産生され得る。

10

【0381】

ENZM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)。

【0382】

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)。別法では、当分野で周知の方法を用いて、一本鎖抗体の産生のための記載された技術を適用して、ENZM特異的一本鎖抗体を生成する。関連特異性を有するがイデ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)。

20

【0383】

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)。

30

【0384】

ENZMに対する特異的な結合部位を含む抗体も得ることができる。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)。

【0385】

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はモノクローナル抗体の何れかを用いる競合的結合アッセイ、または免疫放射定量測定法のための数々のプロトコルが、当分野では周知である。通常このような免疫測定法には、ENZMとその特異性抗体との間の複合体の計測が含まれる。2つの非干渉性ENZMエピトープに反応するモノクローナル抗体を用いるような、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、競合結合アッセイを利用してもよい (前出の Pound の文献)。

40

【0386】

ラジオイムノアッセイ技術と共に様々な方法、例えばスキッチャード分析を用いて、

50

ENZMに対する抗体の親和性を評価する。親和性は結合定数Kaで表す。Kaは、平衡状態においてENZM抗体複合体のモル濃度を遊離抗体と遊離抗原のモル濃度で除した値であると定義する。ポリクローナル抗体類は多数のENZMエピトープに対して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、ENZMに対する抗体群の平均の親和性または結合活性を表す。特定のENZMエピトープに単一特異的なモノクローナル抗体の製剤のKaは、親和性の真の測定値を表す。Ka値が約 $10^9 \sim 10^{12}$ L/molの範囲にあるような高親和性抗体試薬は、ENZM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用いるのが好ましい。Ka値が約 $10^6 \sim 10^7$ L/molの範囲にあるような低親和性抗体試薬は、ENZM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. and Cryer, A. (1991) A Practical Guide to Monoclonal Antibodies, John Wiley & Sons, New York NY)。

10

【0387】

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 $1 \sim 2 \text{ mg/ml}$ の特異的な抗体、好ましくは $5 \sim 10 \text{ mg/ml}$ 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、ENZM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)。

【0388】

20

本発明の別の実施態様では、ENZM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、治療目的で使用する。ある実施態様では、ENZM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、ENZM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)。

【0389】

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)。

30

40

【0390】

本発明の別の実施例では、ENZMをコードするポリヌクレオチドを、体細胞若しくは生殖細胞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 (thalassamia)、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 (

50

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。ENZM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ENZM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

【0391】

本発明の更なる実施例では、ENZMをコードする哺乳動物発現ベクターを作製し、これらのベクターを機械的手段によってENZM欠損細胞に導入することによって、ENZMの欠損による疾患や異常症を治療する。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)。

【0392】

ENZMの発現に効果的である発現ベクターには、限定するものではないが、PCDNA 3.1、E PITAG、PRCCMV2、PREP、PVAX、PCR2-TOPOTA ベクター(Invitrogen, Carlsbad CA)、PCMV5 CRIP、PCMV-TAG、PEGSH/PERV(Stratagene, La Jolla CA)およびPTETOFF、PTETON、PTRE2、PTRE2-LUC、PTK-HYG(Clontech, Palo Alto CA)が含まれる。ENZMを発現させるために、(i) 恒常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β-アクチン遺伝子等)、(ii)誘導性プロモーター(例えば、市販されているT-REXプラスミド(Invitrogen)に含まれている、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. and H.M. Blau (1998) Curr. Opin. Biotechnol. 9:451-456)、エクジソン誘導性プロモーター(市販されているプラスミドPVGRXR及びPINDに含まれている:Invitrogen)、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ENZMをコードする内在性遺伝子の天然のプロモーター若しくは組織特異的プロモーターを用いることが可能である。

20

30

【0393】

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。

40

【0394】

本発明の別の実施例では、ENZM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を、(i)レトロウイルス長末端反復配列(LTR)プロモーター若しくは或る独立プロモーターのコントロール下でENZM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群と、(iii)追加のレトロウイルス・シス作用性RNA配列と、効率的なベクター増殖に必要なコーディング配列とを伴う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.

50

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)。

【0395】

別の実施様態では、アデノウイルス系遺伝子治療の或る送達系を用いて、ENZMの発現に関連する1つ以上の遺伝子異常を有する細胞群に、ENZMをコードするポリヌクレオチド群を送達する。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)。

【0396】

別の実施様態では、ヘルペス系遺伝子治療の送達系を用いて、ENZMの発現に関連する1つ或いは複数の遺伝子異常を有する標的細胞にENZMをコードするポリヌクレオチドを送達する。単純ヘルペスウイルス (HSV) 系のベクターは、HSV親和性の中枢神経細胞にENZMを導入する際に特に有用であり得る。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. 163:152-161)。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。

【0397】

別の実施様態では、αウイルス (正の一本鎖RNAウイルス) ベクターを用いてENZM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α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. Opin. Biotech.* 9:464-469)。α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、ENZMに対するコード配列をカプシドコード領域のαウイルスゲノムに導入することにより、ベクター導入細胞において多数のENZMコードRNAが産生され、高レベルのENZMが合成される。通常、α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、α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)。広範な宿主にαウイルスを使用できるので、様々なタイプの細胞にENZMを導入できる。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。αウイルスの感染性cDNAクローンの処置方法、αウイルスのcDNAおよびRNAの形質移入方法およびαウイルスの感染方法は、当業者に公知である。

10

【0398】

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。

20

【0399】

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、人工的に作製されたハンマーヘッド型リボザイム分子が、ENZMをコードするRNA分子の内ヌクレオチド鎖分解性の切断を特異的且つ効果的に触媒できる可能性がある。

30

【0400】

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

【0401】

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、オリゴヌクレオチドを化学的に合成する方法がある。或いは、ENZMをコードするDNA分子の*in vitro* 及び*in vivo*転写によってRNA分子を産出し得る。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。

【0402】

50

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、チオール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)、ワイブトシン (wybutosine) を加える。

【0403】

本発明の別の実施様態では、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を、当分野で知られているRNA干渉(RNAi)または転写後遺伝子サイレンシング(PTGS)方法を用いて変更、阻害、低下、または抑制し得る。RNAiは、遺伝子サイレンシングの転写後モードであり、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。これは効果的に標的遺伝子の発現をロックアウトするか、実質的に低下させる。PTGSはまた、DNAあるいはDNA断片の使用によっても達成され得る。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はまた、本明細書に記載された、または当分野で既知である遺伝子送達法そして/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。

【0404】

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、内因性リボヌクレアーゼの作用により導入されたdsRNAのin vivoでの分解から生じる。siRNAは哺乳動物で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ヌクレオチドの3'でのオーバーハングを有する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。

【0405】

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、あるいは本明細書で記述されているまたは当分野で既知の、哺乳類の形質移入方法と試薬(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は、AUG開始コドンから下流のヌクレオチド配列のための標的ポリヌクレオチド(例えばmRNA)の転写物を試験し、および各ヌクレオチドそして3'に隣接する19から23ヌクレオチドを潜在的なsiRNA標的部位(好ましくは21ヌクレオチド長を有する配列をもつ)としての存在を記録することにより選択され得る。標的siRNA部位のために避けられる領域には、5'および3'の非翻訳領域(UTR)また開始コドンに近くの領域(75塩基内)が含まれるが、その理由は、これらが調節タンパク質結合部位に関して豊富であり得るからである。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の選択された標的部位は、当分野で既知のBLASTあるいは他の配列比較アルゴリズム一式を用いて適切なゲノムデータベース(例えばヒト等)と比較し得る。他のコード配列に対して著しく相同的な標的配列は、考慮から排除することができる。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)等キットを用いてin vitro転写によって生成され得る。

【0406】

別の実施様態では、長期の遺伝子サイレンシングそして/またはRNAi効果は、siRNAを連続的に発現する発現ベクターを用いて選択された組織に導入され得る。これは、当分野で既知の方法を用いてヘアピンRNA(shRNA)を発現するよう遺伝子操作された発現ベクターを

10

20

30

40

50

用いて達成される (Brummelkamp, T.R. 他. (2002) Science 296:550-553, Paddison, P.J. 他. (2002) Genes Dev. 16:948-958)。これらの実施様態とそれらに関連する実施様態では、shRNAは当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は遺伝子特異的サイレンシングを実行可能なsiRNA様分子へと *in vivo* で処理される。

【0407】

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。

10

【0408】

本発明の更なる実施例は、ENZMをコードするポリヌクレオチドの発現の変化に有効な化合物をスクリーニングする方法を含む。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、ENZM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、ENZM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、ENZM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、ENZM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

【0409】

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対して、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。ENZMをコードするポリヌクレオチドを含むサンプルを、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。ENZMをコードするポリヌクレオチドの発現における変化は、当分野で通常知られている任意の方法でアッセイする。通常、ENZM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有するプローブを用いたハイブリダイゼーションにより、特異ヌクレオチドの発現を検出する。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*) 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

30

40

50

）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）。

【0410】

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）。

【0411】

10

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。

【0412】

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。このような組成物は、ENZM、ENZMの抗体、擬態、アゴニスト、アンタゴニスト、またはENZMのインヒビターなどからなる。

【0413】

20

多様な実施様態において、医薬品成分等の本明細書で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。

【0414】

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が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

【0415】

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。

【0416】

特殊形状の成分は、ENZMまたはその断片を含む高分子を直接細胞内輸送するために調製される。例えば、細胞不透過性高分子を含むリポソーム製剤は、その高分子の細胞融合と細胞内送達とを促進し得る。別法では、ENZM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）。

40

【0417】

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。

50

【0418】

治療上の有効投与量は、症状や容態を回復させるような活性成分量を参考にする。そのような活性成分の例としては、ENZMまたはその断片、ENZMの抗体、ENZMのアゴニスト、アンタゴニストまたはインヒビターがある。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

【0419】

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

【0420】

通常、投与量は、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。

【0421】

（診断）

別の実施例では、ENZMに特異的に結合する抗体を、ENZMの発現によって特徴付けられる障害の診断に、または、ENZMやENZM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、上記の治療の箇所で記載した方法と同じ方法で作成される。ENZMの診断アッセイには、抗体及び標識を利用してヒトの体液において或いは細胞や組織のエキスにおいてENZM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。

30

【0422】

ENZMを測定するための様々なプロトコル、例えばELISA、RIA、FACS等が本技術分野において知られており、ENZM発現の修正レベル或いは異常レベルを診断する基準を提供する。複合体の形成に適した条件下でヒト対象等の正常な哺乳動物対象から採取した体液または細胞とENZMに対する抗体とを結合させることにより、ENZM発現の正常値または標準値が決定される。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。被験者、対照および生検組織からの疾患サンプルで発現するENZMの量を標準値と比較する。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。

40

【0423】

本発明の別の実施態様では、ENZM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。ポリヌクレオチドは、検体におけるENZMの発現が疾患

50

と相関し得るような該検体における遺伝子発現の検出及び定量に用いることができる。この診断アッセイを用いて、ENZMの存在の有無、更に過剰な発現を調べ、治療中のENZM値の調節を監視する。

【0424】

或る実施形態では、ENZM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、ENZMをコードする核酸配列を同定するために用いることができる。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、或い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にかかわらず、そのプローブの特異性と、ハイブリダイゼーション或いは増幅のストリンジェントによって、そのプローブがENZMをコードする自然界の配列のみを同定するかどうか、或いは対立遺伝子や関連配列コードする自然界の配列のみを同定するかどうかが決まるであろう。

10

【0425】

プローブはまた、関連する配列の検出に利用され、ENZMをコードする任意の配列と少なくとも50%の配列同一性を有し得る。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:54-106の配列、或いはENZM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。

【0426】

ENZMをコードするポリヌクレオチドに対する特異的ハイブリダイゼーションプローブを作製する方法には、ENZMまたはENZM誘導体をコードするポリヌクレオチドを、mRNAプローブを作製するためのベクターにクローニングする方法が含まれる。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、或いはアビジン/ビ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。

20

【0427】

ENZMをコードするポリヌクレオチドは、ENZMの発現に関係する疾患の診断の為に用い得る。限定するものではないが、このような疾患として自己免疫/炎症性疾患には、後天性免疫不全症候群(AIDS)、アジソン病、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、貧血症、喘息、アテローム性動脈硬化症、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(APECED)、気管支炎、胆嚢炎、接触皮膚炎、クローン病、アトピー皮膚炎、皮膚筋炎、真性糖尿病、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、慢性関節リウマチ、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、全身性硬化症、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、外傷が含まれ、;感染症としては、たとえばアデノウイルス（急性呼吸器疾患、肺炎）、アレナウイルス（リンパ球性脈絡髄膜炎）、ブニヤウイルス（ハンタウイルス）、コロナウイルス（肺炎、慢性気管支炎）、ヘパドナウイルス（肝炎）、ヘルペスウイルス（ヘルペスシンプレックスウイルス、帯状ヘルペスウイルス、エプスタイン-バーウイルス、サイトメガロウイルス）、フラビウイルス（黄熱病）、オルトミクソウイルス（インフルエンザ）、パピローマウイルス（癌）、パラミクソウイルス（はしか、おたふく風邪）、ピコルナウイルス（リノウイルス、ポリオウイルス、コクサッキーウイルス）、ポリオーマウイルス（BKウイルス、JCウイルス）、ポックスウイルス（天然痘）、レオウイルス（コロラドダニ熱）、レトロウイルス（ヒト免疫不全ウイルス、ヒトTリンパ球向性ウイルス）、ラブドウイルス（狂犬病）、ロタウイルス（胃腸炎

30

40

50

)、トガウィルス(脳炎、風疹)などに起因するウィルス感染症および細菌感染症、真菌感染症、寄生虫感染症、原虫感染症、および蠕虫感染症が含まれ、;免疫不全としては、後天性免疫不全症候群(AIDS)、X連関ブルトン型伴性無ガンマロブリン血症、分類不能型免疫不全症(CVI)、ディジョージ症候群(胸腺形成不全症)、胸腺異形成、IgA単独欠損症、重症複合型免疫不全(SCID)、血小板減少および湿疹を伴う免疫不全症(ウィスコット-アルドリッチ症候群)、チェディアック-東症候群、慢性肉芽腫症、遺伝性血管神経性浮腫、クッシング病に関連した免疫不全疾患が含まれ、;代謝障害の中には、アジソン病、脳腱黄色腫症、先天性副腎過形成、クマリン耐性(coumarin resistance)、嚢胞性繊維症、糖尿病、脂肪性肝硬変、フルクトース-1、6-ジホスファターゼ欠乏症、ガラクトース血症、甲状腺腫、グルカゴノーマ、糖原病、遺伝性果糖不耐症、副腎皮質機能亢進症(Hyperadrenalism)、副甲状腺機能亢進症、副甲状腺機能低下症、高コレステロール血症、甲状腺機能亢進症、低血糖症、甲状腺機能低下症、脂肪過剰血症、脂質ミオパシー、脂肪ジストロフィー症、リソソーム蓄積症、マノシドーシス、ノイラミニナーゼ欠損症、肥満、ペントース尿フェニルケトン症、プロソイドビタミンD欠損佝僂病が含まれ、生殖系疾患として、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、自己免疫障害、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、女性化乳房が含まれ、;神経系疾患には、癲癇、虚血性脳血管障害、脳卒中、大脳新生物、アルツハイマー病、ピック病、ハンチントン病、痴呆、パーキンソン病及びその他の錐体外路障害、筋萎縮性側索硬化及びその他の運動ニューロン障害、進行性神経性筋萎縮症、色素性網膜炎、遺伝性運動失調、多発性硬化症及び他の脱髄疾患、細菌性及びウイルス性髄膜炎、脳膿瘍、硬膜下蓄膿症、硬膜外膿瘍、化膿性頭蓋内血栓性静脈炎、脊髄炎及び神経根炎、ウイルス性中枢神経系疾患、プリオン病(クールー、クロイツフェルト-ヤコブ病、及びGerstmann-Straussler-Scheinker症候群を含む)、致死性家族性不眠症、神経系性栄養病及び代謝病、神経線維腫症、結節硬化症、小脳網膜血管芽腫(cerebelloretinal hemangioblastomatosis)、脳3叉神経血管症候群、ダウン症候群を含む中枢神経系性の精神薄弱及び他の発達障害、脳性麻痺、神経骨格異常症、自律神経系障害、脳神経障害、脊髄障害、筋ジストロフィー及びその他の神経筋障害、末梢神経疾患、皮膚筋炎及び多発性筋炎、遺伝性、代謝性、内分泌性、及び中毒性の筋疾患、重症筋無力症、周期性四肢麻痺、精神病(気分性、不安性の障害、分裂病性疾患)、季節性障害(SAD)、静座不能、健忘症、緊張病、糖尿病性ニューロパシー、錐体外路性終末欠陥症候群、ジストニー、分裂病性精神障害、帯状疱疹後神経痛、トゥーレット病が含まれ、心血管障害には動静脈瘻、アテローム性動脈硬化症、高血圧、脈管炎、レイノー病、動脈瘤、動脈解離、静脈瘤、血栓静脈炎および静脈血栓、血管系腫瘍、血栓溶解の合併症、バルーン血管形成術、血管置換術、冠動脈バイパス移植、うっ血性心不全、虚血性心疾患、狭心症、心筋梗塞、高血圧性心疾患、変性弁膜性心疾患、石灰化大動脈弁狭窄症、先天性2尖大動脈弁、僧帽弁輪部石灰化、僧帽弁逸脱、リウマチ熱及びリウマチ性心疾患、感染性心内膜炎、非細菌性血栓性心内膜炎、全身性紅斑性狼瘡の心内膜炎、カルチノイド心疾患、心筋症、心筋炎、心膜炎、腫瘍性心疾患、先天性心臓疾患、心臓移植の合併症、先天性肺異常、肺拡張不全、肺うっ血および肺水腫、肺動脈塞栓症、肺出血、肺梗塞、肺高血圧症、血管硬化症、閉塞性肺疾患、拘束性肺疾患、慢性閉塞性肺疾患、肺気腫、慢性気管支炎、気管支喘息、気管支拡張症、細菌性肺炎、ウイルス性肺炎およびマイコプラズマ肺炎、肺膿瘍、肺結核、びまん性間質性疾患、塵肺症、サルコイド症、特発性肺線維症、剥離性間質性肺炎、過敏性肺炎、肺好酸球増加、閉塞性細気管支炎-器質化肺炎(bronchiolitis obliterans-organizing pneumonia)、びまん性肺出血症候群、グッドパスチャー症候群、特発性肺血鉄症、膠原血管病併発性肺疾患、肺胞タンパク症、肺腫瘍、炎症性および非炎症性胸水、気胸症、胸膜腫瘍、薬物性肺疾患、放射線による肺疾患、および肺移植の合併症などが含まれ、;眼疾患には高眼圧症、緑内障が含まれ、;細胞増殖異常には日光性角化症、動脈硬化、アテローム性動脈硬化、滑液包炎、硬変

10

20

30

40

50

、肝炎、混合型結合組織病（MCTD）、骨髓線維症、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、並びに腺癌及び白血病、リンパ腫、黒色腫、骨髓腫、肉腫、及び奇形癌、具体的には、副腎、膀胱、骨、骨髓、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、子宮の癌が含まれる。ENZMをコードするポリヌクレオチドは、サザン法やノーザン法、ドットブロット法、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ENZM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。

10

【0428】

或る特定の実施態様では、ENZM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。ENZMをコードする配列に相補的なポリヌクレオチドを、標準的な方法で標識化し、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ENZM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。

20

【0429】

ENZMの発現に関連する障害の診断の基礎を提供するために、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或いは増幅に好適な条件の下で、動物或いはヒトの何れかの正常な被験者から採取された体液或いは細胞抽出物と、ENZMをコードする配列或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。

30

【0430】

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。

【0431】

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。

40

【0432】

ENZMをコードする配列群から設計されたオリゴヌクレオチド群の、更なる診断への利用には、PCRの利用が含まれ得る。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、好ましくはENZMをコードするポリヌクレオチドの断片、或いはENZM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含み、最適化した条件下で、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。

【0433】

50

或る特定態様で、ENZM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一塩基多型(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、ENZM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, isSNP)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。

10

【0434】

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ッ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、イソニアジドに応答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)。

20

30

【0435】

ENZM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、Duplaa, 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。

【0436】

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

40

50

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。

【0437】

別の実施態様では、ENZM、ENZMの断片群または、ENZMに特異的な抗体類を、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。

【0438】

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 10 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。

【0439】

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。 20

【0440】

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. 24:15 3-159; 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。たとえば、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。 30 40

【0441】

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。 50

【0442】

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。

10

20

【0443】

タンパク質の（proteomic）プロフィールは、ENZMに特異的な抗体を用いてENZM発現レベルを定量することによっても作成し得る。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, Mendozze, 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。

30

【0444】

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。

40

【0445】

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。

【0446】

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

50

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。

【0447】

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、Shalton, 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)。

【0448】

本発明の別の実施態様ではまた、ENZMをコードする核酸配列群を用いて、天然ゲノム配列を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群を作製し得る。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)の遺伝とが関連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)。

【0449】

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関連し得る(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。物理的な染色体地図上のENZMをコードする遺伝子の位置と、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、位置を決定するクローニングの作業を促進し得る。

【0450】

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、本発明のスクレオチド配列を用い得る。

【0451】

本発明の別の実施態様では、ENZM、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群を、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群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

10

20

30

40

50

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。ENZMと、試験する薬物との結合による複合体の形成を測定し得る。

【0452】

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(Geyssen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。試験用化合物は、ENZM、或いはその断片と反応してから洗浄される。次に、本技術分野でよく知られている方法で、結合したENZMを検出する。精製したENZMはまた、上記した薬剤のスクリーニング技術において用いるプレート上で直接コーティングすることもできる。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。

10

【0453】

別の実施例では、ENZMと特異結合可能な中和抗体がENZMとの結合について試験用化合物と競合する、競合的薬剤スクリーニングアッセイを用いることができる。この方法では、抗体が、ENZMと1つ以上の抗原決定因子を共有するどのペプチドの存在も検出する。

【0454】

別の実施態様では、ENZMをコードするヌクレオチド配列群を、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群の特性(限定はされないが、トリプレット遺伝暗号及び特異的な塩基対相互作用など)に依存する新技術に用い得る。

【0455】

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。

20

【0456】

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60/326,388号、第60/328,979号、第60/346,034号、第60/348,284号、第60/338,048号、第60/332,340号、第60/340,357号、第60/387,119号、第60/368,799号、第60/368,722号、第60/390,662号、第60/381,558号は、言及することをもって本明細書の一部となす。

【実施例】

【0457】

30

1 cDNAライブラリの作製

Incyte cDNA群の由来は、LIFESEQ 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。

【0458】

40

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dT(オリゴdT)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。

【0459】

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SUPERScriptプラスミドシステム(Invitrogen)を用いて本技術分野で公知の推

50

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DH5α、DH10BまたはElectroMAX DH10Bなど適格な大腸菌細胞に形質転換した。

【0460】

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。

【0461】

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。

【0462】

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）か、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）か、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。

【0463】

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 s 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、スティッチされた配列群、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て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ンメントは、アラインメントした配列間の一致率も計算するMEGALIGNマルチシークエンスアラインメントプログラム(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。

【0464】

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)。

【0465】

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:54-106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。

【0466】

4 ゲノムDNAからのコード配列の同定及び編集

推定上の酵素は、公共のゲノム配列データベース(例えば、gbpriやgbhtg)においてGenscan遺伝子同定プログラムを実行して初めに同定された。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ード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、どの配列が酵素をコードするかを決定するために、コードされたポリペプチドをPFAMモデルにおいて酵素について問合せて分析した。潜在的酵素はまた、酵素として注釈が付けられた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。Incyte 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。

【0467】

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

スティッチ配列 (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ィ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。

【0468】

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。Ge

nBank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。

【0469】

6 ENZM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:54-106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:54-106 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。

10

【0470】

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。

20

【0471】

パーキンソン病とENZMポリヌクレオチドの会合

幾つかの遺伝子が、パーキンソン病(PD)の常染色体優性型に連鎖を示すと特定されてきた。PDは、運動緩慢、安静時振戦、筋強剛、姿勢不安定を引き起こす一般的な神経変性障害である。レビー小体と呼ばれる細胞質好酸球性封入体および、特に黒質緻密部での神経損失は、PDの病理学的特徴である(Valente, E.M. 他 (2001) Am. J. Hum. Genet. 68:895-900)。レビー小体パーキンソン病は、特異的常染色体優生疾患と考えられてきた(Wakabayashi, K. 他 (1998) Acta Neuropath. 96:207-210)。若年性パーキンソン病は、特異的常染色体劣性疾患であり得る(Matsumine, H. 他 (1997) Am. J. Hum. Genet. 60: 588596, 1997)。(Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM. Johns Hopkins University, Baltimore, MD. MIM Number: 168600: 2002年9月9日. World Wide Web URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/>)。

30

【0472】

疾患と染色体遺伝子座の関連は、LOD（ロッド）スコアにより決定することができる。LODスコアは、遺伝病を有する家族内の2つ以上の遺伝子座の連鎖を試験するために用いられる統計的手法である。LODスコアは、連鎖が存在する確率の対数（底を10とする）である。連鎖とは、同一染色体上の2種の遺伝子が減数分裂を通じて共に遺伝される傾向として定義される(*Genetics in Medicine*, 第5版, (1991) Thompson, M.W. 他. W.B. Saunders Co. Philadelphia)。LODスコア+3以上（連鎖が存在する確率が1000:1）は、或る特定のマーカーが罹病者に偶然だけで見出される確率が1000に対して1であることを示すが、それは2つの遺伝子座が連鎖している強力な証拠である。

40

【0473】

PDに関係しているそのような遺伝子の1つはPARK3であり、2p13にマップされる(Gasser, T. 他(1998) Nature Genet. 18:262-265)。染色体位置D2S441に在る或るマーカーが、PA

50

RK3の領域においてLODスコア3.2を有することが見出された。このマーカーは、D2S134からD2S286までの染色体区間におけるPARK3と疾患の関連性を支持した(Gasser 他., 前出)。2番染色体の短腕上の83.88から94.05センチモルガンの間にマッピングされた、染色体区間D2S134とD2S286内に位置するマーカーを用いて、D2S134とD2S286の間の領域にマップする遺伝子群を同定した。

【0474】

早期発症性劣性パーキンソニズムに関与するとされる2つ目のPD遺伝子はPARK6であり、1p35-1p36で1番染色体に位置する。3以上のLODスコアを有する幾つかのマーカーが得られており、D1S199、D1S2732、D1S2828、D1S478、D1S2702、D1S2734、D1S2674が含まれた(Valente, E.M. 他. 前出)。これらのマーカーは、染色体座(chromosome loc)のPD関連範囲を決定し、D1S199とD1S2885の間で1番染色体に位置付ける配列を同定するために用いられた。ENZMポリヌクレオチドは、疾患また他の目的の生理的プロセスと関連するマーカーが位置する染色体領域内に位置付けることが見出された。

【0475】

配列標識部位(STS)として知られるDNAの領域の近くであることを示す制限酵素断片長多型(RFLP)マーカーは、ePCRを用いてHuman Genome Projectによって作成されたNT_コンティグ(NT_Contig)群に位置付けられてきた(Schuler, G.D. (1997) Genome Research 7: 541-550、および(1998) Trends Biotechnol. 16(11):456-9)。従って既知の疾患に関連するマーカー群を持つDNAの領域を含むコンティグは、遺伝子の疾患関連領域にマップするENZM配列を同定するよう利用される。1Mbより長いコンティグは、オーバーラップした部分が100 kbである長さが1Mbのサブコンティグに分けられる。予備的ステップでは、MEGABLASTと類似のアルゴリズムが利用され、mRNA配列/マスクしたゲノムDNAコンティグ組合せを定義した。最初のアルゴリズムによって同定されたcDNA/ゲノム組合せは確認され、Sim4を用いてENZMポリヌクレオチドがDNAコンティグにマップされた(Florea, L. 他(1998) Genome Res. 8:967-74、2000年5月版)が、Sim4は高い処理能力とストランド(鎖)の割当の信頼度に関して研究室内(in house)において最適化された。SIM4によって選択されたmRNA配列/ゲノムコンティグ対は、ゲノムコンティグ上のENZMポリヌクレオチドの正確な位置と鎖同一性を決定するようさらに処理された。

【0476】

SEQ ID NO:7500114は、2002年2月2日よりNCBI発表のコンティグGBI:NT_004359_002.8の領域にマップされ、一貫してパーキンソン病と関連する染色体領域である6番染色体上のパーキンソン病座の14.8MB内にSEQ ID NO:7500114を位置付けた。

【0477】

アルツハイマー病とENZMポリヌクレオチドの関連

配列標識部位(STS)として知られるDNAの領域の近くであることを示す制限酵素断片長多型(RFLP)マーカーは、ePCRを用いてHuman Genome Projectによって作成されたNT_コンティグにマップされてきた(Schuler, G.D. (1997) Genome Research 7: 541-550、および(1998) Trends Biotechnol. 16(11):456-9)。従って既知の疾患を持つDNAの領域を含むコンティグと関連するマーカーは、遺伝子の疾患関連領域にマップするENZM配列を同定するために利用される。1Mbより長いコンティグは、オーバーラップした部分が100 kbである長さが1Mbのサブコンティグに分けられる。予備的ステップでは、MEGABLASTと類似したアルゴリズムが利用され、mRNA配列/マスクしたゲノムDNAコンティグ組合せを定義する。最初のアルゴリズムによって同定されるcDNA/ゲノム組合せは確認され、Sim4を用いてENZMポリヌクレオチドがDNAコンティグにマップされた(Florea, L. 他(1998) Genome Res. 8:967-74、2000年5月版)が、Sim4は高い処理能力とストランド(鎖)の割当に関する信頼度に関して研究室内(in house)において最適化された。mRNA配列/ゲノムコンティグ対のSIM4-出力は、ゲノムコンティグ上のENZMポリヌクレオチドの正確な位置と鎖同一性を決定するようさらに処理された。

【0478】

特定の疾患と関連する領域にマップされる染色体上の座は、これらの特定の疾患のマ

カーとして用い得る。次にこれらのマーカーは、これらの疾患の診断および治療的手段を開発するために用い得る。例えば、10番染色体上の座は、痴呆の最も一般的な形態を表す進行性神経変性疾患であるアルツハイマー病(AD)と関連するか、または連鎖している(Ait-Ghezala, G. 他.(2002) *Neurosci Lett.* 325:87-90)。ADは常染色体優性特徴として遺伝され得る。さらに、遺伝学研究は新規の治療または改善された診断の潜在的な標的である遺伝子群の同定に集中してきた。脳の特定領域でのβアミロイドの蓄積と凝集は、ADの主要な神経病理学的の顕著な特徴である。インシュリン分解酵素(IDE)は、βアミロイドを分解し得る(Abraham, R. 他.(2001) *Hum. Genet.* 109:646-652)。IDE遺伝子は、ADに関連する座(10q23-q25)の近隣にマップされてきた(Espinosa R. 3rd 他.(1991) *Cytogenet. Cell Genet.* 57:184-186)。IDE遺伝子マーカーを用いる連鎖分析が、少なくとも2人の家族成員がADの影響を受けている435家族からの患者1426人で実施された。

10

【0479】

連鎖(lod)スコアのオッズ比の対数が3以上であることは、特定のマーカーが罹病者で偶然単独で見出される確率が1000分の1であることを示す。10番染色体上の115.3cMに位置する多型マーカーD10S583と年齢50才以上でのAD発現の間に有意な連鎖(lodスコア3.3)が報告された(Betram, L. 他.(2000) *Science* 290:2302-2303)。D10S583はIDE遺伝子の36 kb上流をマップする。しかし、134人の白人の遅発型AD(LOAD)症例と英国からの111症例のマッチさせた対照の研究での、この領域のさらなる分析は、IDE遺伝子と遅発型AD(LOAD)隣接領域内のSNP(一塩基多型)の関連を示さなかった(Abraham, R. 他. 前出)。従って、IDEの活性はLOADへの感受性には影響を及ぼさないかもしれないが、IDE遺伝子のマーカーD10S583を含む染色体領域とADには実質的な連鎖がある。IDE遺伝子とD10S583両者は、10番染色体の或る領域(サイズが9.16 Mbである)を含むコンティグNT_008769にマップする。

20

【0480】

SEQ ID NO:7503454は、2002年2月2日よりNCBI発表のコンティグGBI:NT_008804_005.8の領域にマップされ、染色体10q上のアルツハイマー病座の9.16 Mb内にSEQ ID NO:7503454を位置付けた。従って、SEQ ID NO:7503454はアルツハイマー病と常に関連することを示した座の近傍に位置する。

【0481】

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)。

30

【0482】

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。

40

【0483】

【数1】

(BLASTスコア×配列一致率)

5 × (長さ(配列1), 長さ(配列2))の最小値

【0484】

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

50

。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。

10

【０４８５】

或いは、ENZMをコードするポリヌクレオチドを、由来する組織に対して分析する。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、脾臓、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。各カテゴリーのライブラリ数を数えて、全カテゴリー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／条件カテゴリー即ち癌、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。各カテゴリーのライブラリ数を数えて、全カテゴリーの総ライブラリ数で除する。演算結果の割合は、ENZMをコードするcDNAの組織特異発現または疾患特異発現を反映する。cDNA配列及びcDNAライブラリ／組織情報については、LIFESEQ G OLDデータベース（Incyte Genomics, Palo Alto CA）で見られる。

20

【０４８６】

８ ポリヌクレオチドをコードするENZMの伸長

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。

30

【０４８７】

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。

【０４８８】

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

40

50

回繰り返す、ステップ6：68℃で5分間、ステップ7：4℃で保存。

【0489】

各ウェルのDNA濃度は、1×TE及び0.5μlの希釈していないPCR産物に溶解した100μl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した。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5～10μl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。

【0490】

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、個々のコロニーを選択してLB/2x carb液体培地の384穴プレート内において37℃で一晩培養した。

【0491】

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 シーケ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 シーケンシング反応キット(Terminator cycle sequencing ready reaction kit)(Applied Biosystems)を用いてシーケンシングした。

【0492】

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。

【0493】

9 ENZMをコードするポリヌクレオチドの一塩基多型の同定

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:54-106において同定された。実施例3に記述されているように、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。前段フィルターは、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ー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ーは、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。最後のフィルター群によって、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。

【0494】

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MASSARRAY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。

【0495】

10 個々のハイブリダイゼーションプローブの標識化及び使用

SEQ ID NO:54-106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、 $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]$ アデノシン3リン酸(Amersham Biosciences)250 μCi 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、SEPHADEX G-25超細繊維分子サイズ排除デキストラン ビーズカラム(Amersham Biosciences)を用いて実質的に精製する。Ase I、Bgl II、Eco RI、Pst I、XbaI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。

【0496】

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ー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。

【0497】

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)。

【0498】

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。 10

【0499】

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ため、MLLV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）を用いて200ngのポリ(A)⁺RNA含有の25体積ml内で行う。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℃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℃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。 20

【0500】

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、クローン化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によって、1～2ngの初期量から5 μ gを超える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。

【0501】

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℃のオーブンで硬化させる。 40

【0502】

米国特許第5,807,522号に記載されている手順を用いて、コーティングしたガラス基板にアレイエレメント群を付加する。この特許は、引用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 50

element) に充填する。装置はここで、スライド毎に約 5 nl のアレイエレメントサンプルを置く。

【0503】

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 °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。

【0504】

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 µl 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 µg を、5 × 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 °C まで 5 分間加熱し、マイクロアレイ表面上で等分して 1.8 cm² 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 µl の 5 × 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 °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 × SSC, 0.1 % SDS) において 45 °C 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 °C で 10 分間、3 度洗浄して乾燥させる。

【0505】

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 488 nm、Cy5 の励起のために 632 nm 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 1.8 cm × 1.8 cm のアレイは、解像度 20 µm でスキャンする。

【0506】

2 回の異なるスキャンで、混合ガスマルチラインレーザは 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 565 nm、Cy5 では 650 nm 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。

【0507】

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。

【0508】

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-ディジタル (A/D) 変換ボード (Analog Devices, Inc., Norwood MA) を用いてディジタル化される。ディジタル化したデータは、青色 (低シグナル) から

10

20

30

40

50

赤色（高シグナル）までの擬似カ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に起因する）を補正される。

【0509】

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。 10

【0510】

発現

SEQ ID NO:157、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:65は正常な乳房組織と比較すると乳癌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。乳癌の組織学および分子の評価によると、乳癌の発生・発達は複数の段階を通じて進み、これらの段階を通じて悪性になる前の乳房表皮細胞が比較的順序の決まったイベントを経て腫瘍を形成することが明らかになった。腫瘍発達の早期に導管過形成が観察されている。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。限定するわけではないが、環境因子から遺伝因子に至るまで、幾つかの因子が腫瘍進行と悪性転換との過程に影響する。 20

【0511】

異なる段階の乳癌と関連する分子的特徴と表現型の特徴のより良い判定のために、腫瘍進行の様々な段階の乳癌細胞株が、初代ヒト乳房上皮細胞と比較された。SEQ ID NO:57とSEQ ID NO:58の発現は、43才の女性の胸水から単離したヒトの乳腺癌細胞株であるSk-BR-3（ヌード・マウスに注射された場合、低分化型の腺癌を形成する）において少なくとも2倍増加する。対照的に、SEQ ID NO:65の発現は初代乳房上皮HMEC細胞と比較してこの同じ株で少なくとも2分の1倍減少する。SEQ ID NO:65の発現は、乳房管癌細胞株T-47DとMDA-mb-435Sにおいて少なくとも2分の1減少した。T-47Dは、54才の浸潤性腺管癌の女性から得た胸水から単離された。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

【0512】

乳腺細胞株と36才の繊維嚢胞性疾患の女性から単離された非悪性細胞株MCF10Aへの別の交差比較が実行された。SEQ ID NO:57とSEQ ID NO:58の発現は、HMEC、MCF7、T-47D、MDA-mb-231細胞株で少なくとも2分の1に減少した。さらにSEQ ID NO:57とSEQ ID NO:58は、無血清成長条件下で上記の細胞株と同じくBT20において発現の減少を示した。MCF7は69才の女性の胸水から由来された、乳腺上皮の特徴、例えば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プロセスする能力を維持する非悪性腺癌細胞株である。BT20は或る74才の女性から単離した腫瘍塊の薄切片から遊出した細胞群から*in vitro*で得られた乳腺癌株である。MDA-mb-231は、51才の女性の胸水から得られた乳房腫瘍細胞株であり、ヌードマウスとALS-処理BALB/cマウスにおいて低分化型の腺癌を形成する。初代乳房上皮株HMECと乳房管癌株T-47Dについては、上記で記述した。 40

【0513】

SEQ ID NO:57とSEQ ID NO:58は、3つの他のタイプの癌組織において差次的に発現した。すなわち、結腸癌（軟部組織肉腫）、卵巣癌、前立腺癌であり、これはマイクロアレイ分析で判定した。軟組織肉腫は比較的まれであるが、同疾患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。肉腫の発達に導く分子経路は、比較的未知である。肉腫形成に導き得る経路を描写するために、一人の提供者からのサンプルによって正常および腫瘍性組織の一对の比較がなされた。SEQ ID NO:57とSEQ ID NO:58の発現は、正常なS状 50

結腸組織と比較して、48才の女性から単離したS状結腸腫瘍組織において少なくとも2分の1に減少した。結腸腫瘍は転移性胃肉腫に由来する。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。SEQ ID NO:57とSEQ ID NO:58の発現は、79才の女性由来の卵巣腺癌組織において同じ提供者の正常な卵巣組織に比べると少なくとも2倍上昇した。

【0514】

ほとんどの腫瘍と同様、前立腺癌は多段階の過程を通して発達して、最終的に侵略的な腫瘍の表現型をもたらす。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abltaionに反応するが、アンドロゲン非依存性の或る細胞集団が過形成した集団から発展する。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。正常な前立腺上皮細胞PrEC2への前立腺腫瘍細胞株の交差比較において、SEQ ID NO:57とSEQ ID NO:58の発現は、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DU 145において少なくとも2倍増加した。この細胞株には検出可能なホルモン感受性がなく、半固形培地でコロニーを形成する。そして酸性ホスファターゼに対してほんの弱陽性である。これらの配列の差次発現は、DU 145細胞を成長因子とホルモンの存在下または不在下で成長させた実験で観察された。

10

【0515】

乳癌組織における差次発現に加えて、SEQ ID NO:65はまたゲムフィブログルとカルボキシメチルセルロース(CMC)への曝露の時、肝臓腫瘍株C3Aで差次的にも発現されたことが、マイクロアレイ分析で判定された。C3A細胞株は、肝臓腫瘍を患う15歳の男子から単離した肝臓癌細胞株であるHepG2のクローン誘導体である。C3A細胞は、強力な接触阻害成長に関して選択された。ゲムフィブログルは、fibrin acidの抗高脂血症剤であり、血清トリグリセリドを効果的に下げ、またリポタンパク質における望ましい変化を作り出す。C3A細胞における遺伝子発現へのゲムフィブログルの効果は、時間と投与量に関する実験で試験された。すなわち、細胞は120、600、800または1200 μ g/mlのゲムフィブログルに3または6時間曝露された。溶剤のCMCのみで処理された細胞と比較して、試験された各時点および各投与量で、CMCに溶かしたゲムフィブログルで処理されたC3A細胞において、SEQ ID NO:65の発現が少なくとも2分の1減少した。

20

【0516】

SEQ ID NO:63とSEQ ID NO:64は肺癌組織において差次的発現を示したが、これはマイクロアレイ分析で判定した。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。

30

【0517】

肺癌は、4つの組織病理的に異なる群に分けられる。扁平上皮癌、腺癌を含む3群は非小細胞肺癌に分類され、第4群は小細胞肺癌に分類される。非小細胞肺癌を合わせると、全症例中の70%になる。対比較を行い、同じドナーからの正常な組織と腫瘍組織とを比較した。SEQ ID NO:63の発現は、66才の男性患者由来の、50%の顕性の腫瘍細胞を含む肺扁平上皮細胞癌組織において、また66才の女性患者由来の、80%以上の顕性の腫瘍細胞を含む肺腺癌組織において少なくとも2倍上昇した。SEQ ID NO:18の発現は、73才の女性由来の、80%の顕性の腫瘍細胞を含む肺扁平上皮細胞癌組織において少なくとも2分の1減少した。

40

【0518】

これらの実験は、SEQ ID NO:57、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:65は、乳癌の診断アッセイまた乳癌の治療の潜在的な生物学的マーカーおよび治療薬として有用であることを示唆する。さらに、結果は、SEQ ID NO:57とSEQ ID NO:58は、結腸および前立腺癌の診断アッセイまた結腸および前立腺癌の治療の潜在的な生物学的マーカーおよび治療薬として有用であることを示唆する。最後に、これらの実験は、SEQ ID NO:63とSEQ ID NO:64は、肺癌の診断アッセイまた肺癌の治療の潜在的な生物学的マーカーおよび治療薬として有用であることを示唆する。

50

【0519】

別の例では、SEQ ID NO:67とSEQ ID NO:68はマイクロアレイ分析が実証するように正常な骨細胞に対して骨の骨肉腫組織において差次的発現を示した。SEQ ID NO:67とSEQ ID NO:68の発現は、正常な骨細胞に比べて骨の骨肉腫組織で少なくとも2倍増加した。したがってSEQ ID NO:67とSEQ ID NO:68は、骨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。

【0520】

別の実施例において、マッチした正常な組織に比べて結腸腫瘍組織におけるSEQ ID NO:78の発現が減少した。結腸癌と診断された83才の女性である同じ提供者からのマッチした正常および腫瘍サンプルは、競合的ハイブリダイゼーションにより比較された。サンプルは、Huntsman Cancer Instituteから提供された。したがって、SEQ ID NO:78は、細胞増殖性障害の診断と治療に有用である。

10

【0521】

別の実施例において、SEQ ID NO:78の発現はブドウ球菌エンドトキシンB (SEB) で72時間処理された末梢血単核細胞 (PBMC) において増加した。ヒトの末梢血単核球細胞 (PBMC) は、Bリンパ球、Tリンパ球、NK細胞、単球、樹状細胞、前駆細胞を含む。7人の健常な志願提供者に由来するPBMCが*in vitro*でプールされ、SEBで刺激された。各提供者からのSEB処理されたPBMCが、同じ提供者からの、SEBなしで24時間インキュベートされたPBMCと比較された。したがって、SEQ ID NO:78は、自己免疫/炎症疾患の診断と治療に有用である。

20

【0522】

別の実施例において、SEQ ID NO:78の発現は、未処理の含脂肪細胞と比較してPPAR- γ とインシュリンで処理された含脂肪細胞において、処理の第一週中に増加した。初代前脂肪細胞は体格指数 (BMI) 27.7の36才の健常な女性の脂肪組織から単離された。前脂肪細胞は培養され、増殖因子活性化受容体 γ アゴニスト (PPAR- γ アゴニスト) とヒトインシュリン (Zen-Bio) 等の活性化成分を含有する自家製の分化培地で培養することにより含脂肪細胞に分化するよう誘発された。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日間処理された。次いでインシュリンだけを含有する培地にさらに5、9、12日間、移された。分化した脂肪細胞は、誘発剤の入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。したがって、SEQ ID NO:78は、代謝障害の診断と治療に有用である。

30

【0523】

さらに別の実施例では、SEQ ID NO:79の発現は、5-アザ-2'-デオキシシチジンで処理したHT29結腸直腸腺癌細胞において減少した。遺伝子発現プロファイルは、同じ提供者からの正常な結腸組織と腫瘍性直腸組織を比較することにより得られた。提供者は浸潤性低分化腺癌の、13リンパ節中2への転移があると診断された38才の男性である (TNM分類: T3、N1、Mx)。サンプルは、Huntsman Cancer Instituteから提供された。したがって、SEQ ID NO:79は、細胞増殖性障害の診断と治療に有用である。

【0524】

別の実施例では、SEQ ID NO:98の発現は、正常な結腸組織に対して結腸癌組織では下方制御されるが、これはマイクロアレイ分析で判定した。SEQ ID NO:98の発現は、提供者からの病変組織に対して同じ提供者に由来する正常な組織と比較して減少した。このようにSEQ ID NO:98を、結腸癌の治療モニタリングと診断アッセイとに用い得る。

40

【0525】

SEQ ID NO:94とSEQ ID NO:95は、ゲムフィブロジルで処理されたC3A細胞において、未処理のC3A細胞と比べて差次的に制御されたことが、マイクロアレイ分析により決定された。コンフルエント前期のC3A細胞は、1、3、6時間の間、CMCに溶解された様々な量のゲムフィブロジル (120、600、800、1200 μ g/ml) で処理された。C3A細胞の並行サンプルは、対照として1%CMCのみで処理された。SEQ ID NO:94とSEQ ID NO:95の発現は、ゲムフィブロジルで処理したC3A細胞サンプル12のうち4で減少した。SEQ ID NO:34の発現は、ゲムフィブロジルで処理したC3A細胞で増加した。したがって、SEQ ID NO:94とSEQ ID NO:95を

50

、代謝障害、心血管疾患、肝臓疾患の治療モニタリングと診断アッセイとに用い得る。

【0526】

さらに、SEQ ID NO:98は組織特異的発現を示した。様々な正常なヒトの組織から単離したRNAサンプルが、一般的な参照サンプルと比較された。参照サンプルに寄与する組織は、ヒトの体におけるRNAの完全な分布を提供する能力によって選択され、脳(4%)、心臓(7%)、腎臓(3%)、肺(8%)、胎盤(46%)、小腸(9%)、脾臓(3%)、胃(6%)、精巣(9%)、および子宮(5%)を含む。アッセイされた正常な組織は、少なくとも3人の異なる提供者から得られた。各提供者からのRNAは別々に単離され、個別にマイクロアレイにハイブリダイズされた。これらのハイブリダイゼーション実験は共通の参照サンプルを用いて実施されたので、差次的発現値は1つの組織から別の組織へと直接比較可能である。

10

【0527】

SEQ ID NO:98の発現は、参照サンプルと比較して肝臓では少なくとも2倍増加した。従って、SEQ ID NO:98は肝臓の組織マーカーとして用い得る。

【0528】

12 相補的ポリヌクレオチド

ENZM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配列は、天然のGCRECの発現を検出し、低下させ、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。適切なオリゴヌクレオチド群を設計するため、Oligo 4.06ソフトウェア(National Biosciences)および、ENZMのコーディング配列を用いる。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。翻訳を阻害するには、相補的なオリゴヌクレオチドを設計して、ENZMをコードする転写物にリボソームが結合するのを防ぐ。

20

【0529】

13 ENZMの発現

ENZMの発現及び精製は、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。細菌でENZMを発現するために、抗生物質耐性遺伝子及びcDNAの転写レベルを高める誘導性のプロモーターを含む好適なベクターに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。抗生物質耐性をもつ細菌が、イソプロピルβ-Dチオガラクトピラノシド(IPTG)で誘導されるとENZMを発現する。真核細胞でのENZMの発現は、一般にバキュロウイルスとして知られているAutographica californica核多面性ウイルス(AcMNPV)を昆虫細胞株または哺乳動物細胞株に感染させて行う。バキュロウイルスの可欠ポリヘドリン遺伝子を、相同的組換え、或いは転移プラスミドの仲介に関与する細菌仲介遺伝子転移のどちらかによって、ENZMをコードするcDNAと置換する。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)。

30

40

【0530】

殆どの発現系では、ENZMが、例えばグルタチオンSトランスフェラーゼ(GST)と、またはFLAGや6-Hisなどのペプチドエピトープ標識と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素早く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)。精製の後、GST部分を特定の操作部位でENZMからタンパ

50

ク分解的に切断できる。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。これらの方法で得た精製ENZM を直接用いて以下の実施例 17、18、および19の、適用可能なアッセイを行うことができる。

【0531】

14 機能的アッセイ

ENZM機能は、哺乳動物細胞培養系において生理学的に高められたレベルでのENZMをコードする配列の発現によって評価する。cDNAを高いレベルで発現する強いプロモーターを含む哺乳動物発現ベクターに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 (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。

【0532】

遺伝子発現に与えるENZMの影響は、ENZM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。形質転換された細胞と形質転換されない細胞とは、ヒトIgGかCD64に対する抗体かのどちらかで被覆された磁気ビーズを用いて効率的に分離することができる (DYNAL, Lake Success NY)。mRNAは、当業者に周知の方法で細胞から精製することができる。ENZMと、目的とする他の遺伝子とをコードするmRNAの発現は、ノーザン分析やマイクロアレイ技術で分析することができる。

【0533】

15 ENZMに特異的な抗体の作製

ポリアクリルアミドゲル電気泳動法 (PAGE; Harrington, M.G. (1990) Methods Enzymol. 182:488-495等を参照) または他の精製技術を用いて実質上精製されたENZMを用いて、標準プロトコルでウサギを免疫化して抗体を産出する。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。

【0534】

或いは、レーザGENEソフトウェア (DNASTAR) を用いてENZM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）。

【0535】

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及び抗ENZM活性を検査するには、ペプチドまたはENZM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されたヤギ抗ウサギIgGと反応させる。 10

【0536】

16 特異的抗体を用いる天然ENZMの精製

天然または組換えENZMを、ENZM特異抗体を用いた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ENZM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。

【0537】

ENZMを含む培養液をイムノアフィニティークラムに通し、ENZMを優先的に吸着する条件下（例えば洗浄剤が存在する高イオン強度緩衝液）でカラムを洗浄する。そのカラムを、抗体とENZMとの結合を切るような条件で（例えば、pH 2～3のバッファー、或いは高濃度の尿素またはチオシアン酸イオンのようなカオトロップで）溶出させ、ENZMを収集する。 20

【0538】

17 ENZMと相互作用する分子の同定

ENZM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に予め配列しておいた候補の分子を、標識したENZMと共にインキュベートし、洗浄して、標識したENZM複合体を有する全てのウェルをアッセイする。様々なENZM 濃度で得られたデータを用いて、候補分子と結合したENZM の数量及び親和性、会合についての値を計算する。 30

【0539】

別法では、ENZM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（yeast two-hybrid system）や、MATCHMAKERシステム（Clontech）などの2-ハイブリッドシステムに基づく市販キットを用いて分析する。

【0540】

ENZM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）。 40

【0541】

18 ENZM活性の実証

ENZMの活性はさまざまな特定の酵素アッセイによって実証される。その一部を以下に概説する。

【0542】

ENZMの酸化還元酵素活性は、酸化活性についてはNAD(P)H補酵素の340nmにおける吸光係数の増加によって測定し、還元活性についてはNAD(P)H補酵素の340nmにおける吸光係数の減少によって測定する（Dalziel, K. (1963) J. Biol. Chem. 238:2850-2858）。3つの基質Asn-β Gal、ピオシチジンまたはユービキノン-10のうちの1つを使用することができ 50

る。酵素反応のそれぞれのサブユニット、たとえばチトクローム c_1 -b酸化還元酵素およびチトクローム c が再構成される。反応混合液は a) 1-2 mg/ml の ENZM; および b) 15 mM の基質および 2.4 mM の NAD(P)^+ を含む pH 7.1 の 0.1 M リン酸バッファ (酸化反応) あるいは 2.0 mM の NAD(P)H を含む pH 7.4 の 0.1 M の Na_2HPO_4 バッファ (還元反応) であり、全容積は 0.1 ml である。340 nm における吸収 (A_{340}) が 23.5°C で記録式分光光度計 (Shimadzu Scientific Instruments, Inc., Pleasanton, CA) を使って測定される。 NAD(P)H の量は化学量論的に初期に存在する基質の量と同等であり、 A_{340} の変化は生成される NAD(P)H の量の直接の測定値である ($\Delta A_{340} = 6620[\text{NADH}]$)。ENZM の活性はアッセイ中に存在する NAD(P)H の量に比例する。

【0543】

10

ENZM のアルド／ケトレダクターゼ活性は、 NADPH が消費されるにつれ 340nm における吸光度の減少に比例する (あるいは、例えば逆反応が観察される場合のように NADPH が生成されるなら吸収度は増加する)。標準的な反応混合液は、135mM のリン酸ナトリウムバッファ (酵素により pH 6.2~7.2 の範囲)、0.2mM NADPH 、0.3M 硫酸リチウム、0.5~2.5 μg の ENZM、および好適なレベルの基質を含む。この混合液を 30°C でインキュベートし、反応を分光光度計で連続的に測定する。ENZM 活性は、ENZM 1mg 当たり消費される NADPH のモル数として計算される。

【0544】

ENZM のアシル CoA デヒドロゲナーゼ活性を、嫌気性電子伝達フラビンタンパク質 (ETF) アッセイを用いて測定する。反応混合液は、32°C に前もって加熱した 50mM Tris-HCl (pH 8.0)、0.5% グルコースと 50 μM のアシル CoA 基質 (即ちイソバレリル CoA) から成る。混合液は、真空への反復して曝露することにより酸素をなくし、その後アルゴンガスで覆われる。ブドウ糖酸化酵素とカタラーゼの添加によって微量の酸素を除去し、最終濃度 1 μM の ETF を追加する。この反応は、精製した ENZM または ENZM を含むサンプルを加え、342nm で反応液を励起することによって開始した。基質から ETF への電子の転移により引き起こされる蛍光の消光 (クエンチング) が、496 nm において観察される。アシル CoA デヒドロゲナーゼ活性の 1 ユニットを、1 分間に ETF 1 μmol を減少するために必要な ENZM の量として定義する (Reinard, T. 他 (2000) J. Biol. Chem. 275:33738-33743)。

20

【0545】

ENZM のアルコールデヒドロゲナーゼ活性を、25°C、0.1 M リン酸カリウム (pH 7.5)、0.1 M グリシン (pH 10.0)、2.4 mM NAD^+ で 340 nm ($\epsilon_{340} = 6.22 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) における NAD^+ から NADH への変換を追跡して測定する。次に、基質 (エタノール等) と ENZM が反応液に添加される。 NADH の生成は、340nm における吸光度の増加を生じる。そしてこれは、アルコール基質の酸化と、また、ENZM サンプル中のアルコールデヒドロゲナーゼ活性の量と相関する (Svensson, S. (1999) J. Biol. Chem. 274:29712-29719)。

30

【0546】

ENZM のアルデヒドデヒドロゲナーゼ活性は、ENZM の総デヒドロゲナーゼ活性+加水分解酵素活性の決定し、加水分解酵素活性を引くことにより測定する。加水分解酵素活性を、例えば 10-HCO-HPteGlu (10-ホルミルテトラヒドロ葉酸、HPteGlu, テトラヒドロ葉酸) または 10-FDDF (10-ホルミル-5,8-dideazafolate) 等の 0.05 M Tris-HCl (pH 7.8)、100 mM 2-ME、0.5-18 μM 基質を含む反応混合液で最初に決定する。約 1 μg の ENZM を最終容量 1.0 ml に追加する。反応をモニターして、酵素以外のすべての成分を含むブランク対照のキュベットに比較して測定する。5,8-dideazafolate で 1.89×10^4 、HPteGlu で 2.17×10^4 のモル吸光係数を用いて 5,8-dideazafolate に対しては 295 nm あるいは HPteGlu に対しては 300 nm で生成物を測定する。反応混合液への NADP^+ の添加により、デヒドロゲナーゼ活性と加水分解酵素活性の両者の測定が可能となる (アッセイはすでに記載されたように実施する)。 NADP^+ の存在下での生成物の生成と補助因子の不存在下での生成物の生成に基づき、ENZM のアルデヒドデヒドロゲナーゼ活性を計算する。別法では、プロパナールを基質として用いてアルデヒドデヒドロゲナーゼ活性をアッセイする。反応混合液は、1 ml の総量に 60 mM ピロリン酸ナトリウムバッファ (pH 8.5) 5 mM プロパナール、1 mM NADP^+ 、および E

40

50

NZM を含む。NADPHの生成による340nmにおける吸光度の増加により、活性を決定する。そしてサンプル中のアルデヒドデヒドロゲナーゼ活性と比例する(Sergey A. Krupenko. S.A. 他. (1995) J. Biol. Chem. 270:519-522)。

【0547】

ENZMの6-ホスホグルコン酸デヒドロゲナーゼ活性を、120 mMトリエタノールアミン(pH 7.5)、0.1 mM EDTA、0.5 mM NADP^+ 、10~150 μM の6-ホスホグルコン酸の基質を含む溶液に精製したENZMまたはENZMから成る組成物を20~25°Cでインキュベートして測定する。NADPHの生成を蛍光的に測定し(340 nm 励起、450 nm 発光)、それは6-ホスホグルコン酸デヒドロゲナーゼ活性を意味する。あるいは、NADPHの生成物を吸光度340 nmに基づいて光度測定する。反応で生成したNADPHのモル量は、サンプル中の6-ホスホグルコン酸デヒ

10

【0548】

ENZMのリボヌクレオチドニリン酸還元酵素活性は、ジチオスレイトールと共に精製したENZM またはENZM から成る組成物、 Mg^{++} 、ADP、GDP、CDP、およびUDPの基質をインキュベートすることにより決定する。対応するデオキシリボヌクレオチドである反応の生成物は、薄層クロマトグラフィにより基質から分離される。反応生成物は、移動速度に基づいて反応物質から区別することが可能である。放射標識した基質の使用は、アッセイの感度を高めるための代替である。反応で生成したデオキシリボヌクレオチドの量は、サンプル中のリボヌクレオチドニリン酸還元酵素の活性量に比例する(酵素は生成物により負にフィードバック阻害されるので、リボヌクレオチドニリン酸還元酵素活性が定常状態に至る以

20

【0549】

ENZM のジヒドロジオールアルデヒドデヒドロゲナーゼ活性は、限定するわけではないが(±)-トランス-ナフタリン-1,2-ジヒドロジオール、(±)-トランス-フェナントレン-1,2-ジヒドロジオール、(±)-トランス-クリセン-1,2-ジヒドロジオールを含むグループから選択したトランス-ジヒドロジオールの基質、50 mMグリシン(pH 9.0)、2.3 mM NADP^+ 、8% DMSOから成る反応混合液において精製したENZM またはENZM から成る組成物をインキュベートして測定する。酸化反応をNADPHの形成を検出するために340nmにおいて観察する。NADPHの形成は基質の酸化を示す。反応成分の立体化学を決定するために、またENZMにより酸化するラセミ酸基質成分の光学異性体を決定するために円偏光二色性によりENZMの

30

【0550】

多くのグルタチオンSトランスフェラーゼ(GST)の共通基質である1-クロロ-2,4-ジニトロベンゼン(CDNB)とGSHとの抱合を触媒するENZM活性測定により、ENZMのGST活性を決定する。ENZMを0.1Mリン酸カリウムバッファ(pH 6.5)中で、1 mM CDNBと2.5 mM GSHと共に25°Cでインキュベートする。紫外線分光光度計を用いて340 nmにおいて抱合反応を吸光度の変化により測定する。ENZM活性は、340 nmでの吸光度の変化に比例する。

【0551】

ENZMの15-オキソプロスタグランジン13-還元酵素(PGR)活性を、DEAEクロマトグラフィにより15-ヒドロキシプロスタグランジンデヒドロゲナーゼ(15-PGDH)活性のコンタミネーションを分離した後に測定する。PGRを含む分画の分離(あるいは精製したENZMの使用)後に、0.1M リン酸ナトリウム(pH 7.4)、1mM 2-メルカプトエタノール、20 μg 基質(例えばプロスタグランジン PGE_1 、 PGE_2 、 $\text{PGE}_2\alpha$ の15-オキソ誘導体)と1mM NADH (あるいはより高濃度のNADPH)から成る反応液で活性をアッセイする。ENZMを反応液に添加する。そして37°Cで10分インキュベートする。この反応は0.25 ml 2N NaOHを加えて止める。サンプル中に残る15-オキソ化合物の量は、停止した反応物の500 nmでの最大吸光度の測定により決定する。そしてこの値を、ENZMを入れなかった停止したコントロール反応液の測定値と比較する。1ユニットの酵素は、1分間に1 μmol の基質の酸化を触媒するために必要な量と定義されており、サンプル中のPGR活性量に比例する。

40

【0552】

50

唯一の炭素源と窒素源としてコリンを含む培地で増殖させるために、ENZM発現ベクターで形質転換した大腸菌の能力により、ENZMのコリンデヒドロゲナーゼ活性を同定する。形質転換したバクテリアの成長能力は、コリンデヒドロゲナーゼ活性を示す(Magne Osteras, M. (1998) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 95:11394-11399)。

【0553】

ENZMのチオレドキシン活性は記載された方法でアッセイされる(Luthman, M. (1982) Biochemistry 21:6628-6633)。チオレドキシンはジスルフィド結合の形成を触媒し、必要なチオール：ジスルフィド交換を可能とするために細胞の酸化還元環境を調節する。チオール：ジスルフィド交換を測定する1つの方法は、0.1Mのリン酸カリウム (pH 7.0)、2mMのEDTA、0.16 μ Mのインスリン、0.33mMのDTTおよび0.48mMのNADPHを含む混合溶液中のイン 10
スリンの還元を測定することである。この混合液にいろいろな濃度のENZMを加え、340nmでNADPHの酸化をモニターすることにより反応速度を測定する。

【0554】

ENZMトランスフェラーゼ活性は供与基質と受容基質の間の放射標識されたメチル基の転移を測定するメチルトランスフェラーゼアッセイのような試験によって測定される(Bokar, J.A. 他 (1994) J. Biol. Chem. 269:17697-17704)。反応混合液(最終容量50 μ l)にはpH 7.9の15mM HEPES、1.5mM $MgCl_2$ 、10 mM ジチオスレイトール、3% ポリビニルアルコール、1.5 μ Ci [methyl- ^3H]AdoMet(0.375 μ M AdoMet)(DuPont-NEN)、0.6 μ g ENZM、および受容基質(1 mM の最終濃度に対して、0.4 μ g [^3S]RNAまたは6-メルカプトプリン(6-MP)) 20
が含まれる。反応混合液は30°Cで30分間、次に65°Cで5分間インキュベートする。この生成物はクロマトグラフィーか、または電気泳動によって分離し、メチルトランスフェラーゼ活性のレベルをmethyl- ^3H 回収の定量によって測定する。

【0555】

ENZMのアミノトランスフェラーゼ活性は、ENZMを含むサンプルを、1mM L-キヌレニンおよび1mM 2-オキソグルタル酸の存在下で、最終容量200 μ lの70 μ M PLPを含む150mM Tris 酢酸バッファ (pH8.0)で37°C、1時間インキュベートしてアッセイする。キヌレン酸の形成は、当業者に周知の好適な標準およびコントロールを用いて330nmで分光光度検出によりHPLCで定量する。別法では、L-3-ヒドロキシキヌレニンを基質として用い、キサンツレン酸の生成を340nmでのUV検出と生成物のHPLC分析により判定する。キヌレン酸およびキサンツレン酸の生成はそれぞれ、アミノトランスフェラーゼ活性を示す (Buchli, 他 30
、前出)。

【0556】

別法では、ENZMのアミノトランスフェラーゼ活性の測定は、酵素結合補助因子であるピリドキサル5'-リン酸 (PLP)のUV/VIS吸収スペクトルにおける変化をモニタリングして、一回のターンオーバー条件下で、精製したENZM或いはENZMを有する未精製サンプルの、様々なアミノ酸およびオキソ酸基質に対する活性を判定して行う。この反応は、9 μ M精製ENZMまたはENZM含有サンプルおよび検査する基質 (アミノ酸およびオキソ酸基質) を含む50 mM 4-メチルモルフォリン (pH7.5)において25°Cで行う。アミノ酸からオキソ酸への半反応を調べるため、酵素結合したPLPのピリドキサミン5'リン酸 (PMP) への変換により生じる、360nmにおける吸光度の低下および330nmにおける吸光度の増加を測定する。ENZMの特 40
異性および相対的な活性を、特定の基質に対する酵素活性によって測定する (Vacca, 前出)。

【0557】

ENZMのキチナーゼ活性は蛍光基質の4-メチルウンベリフェリルキトトリオース、4-メチルウンベリフェリルキトキトビオースまたは4-メチルウンベリフェリルN-アセチルグルコサミンを使って決定される。生成されたENZMを0.5 μ Mの基質とともにpH 4.0 (0.1M クエン酸バッファ)、pH 5.0 (0.1M リン酸バッファ)またはpH 6.0 (0.1M Tris-HCL)でインキュベートする。さまざまなインキュベーション時間の後、0.1Mグリシンバッファ (pH 10.4) を加えることによって反応を止め、遊離のメチルウンベリフェロンの濃度を蛍光分析で測定する。セラチア菌 (*Serratia marcescens*) のキチナーゼBを陽性対照として使 50

用することができる (Hakala, 前出)。

【0558】

ENZMのイソメラーゼ活性は2-ヒドロキシヘプタ-2,4-ジエン-1,7 ジオエートイソメラーゼ (HHDDイソメラーゼ) の活性を測定することにより求められる。方法はGarrido-Perittera, AおよびR.A. Cooper (1981; Eur. J. Biochem. 17:581-584)に記載されている。サンプルをHHDDイソメラーゼの基質である5-カルボキシメチル-2-オキソ-ヘクス-3-ene-1,5, ジオエイト (CMHD) と混合する。246 nmにおける吸光度を測定することによりCMHD濃度をモニターする。246 nmにおける吸光度の低下がENZMのHHDDイソメラーゼ活性に比例する。

【0559】

ペプチジルプロリルシス/トランスイソメラーゼ活性のようなENZMイソメラーゼの活性は、Rahfeld, 前出によって記載されている酵素アッセイによって測定できる。このアッセイは、キモトリプシン (0.5 mg/ml) と種々の濃度のENZMを含む35mMのHEPESバッファー (pH 7.8) で10℃にて行う。これらのアッセイ条件下で、基質であるSuc-Ala-Xaa-Pro-Phe-4-NAはプロリル結合に関して平衡になり、トランス構造が80~95%であり、シス構造が5~20%である。ジメチルスルホキシド (10 mg/ml) 中に溶解したアリコット (2 µl) の基質を上記の反応混液に加える。シス異性体のみがキモトリプシンによって切断される基質である。したがって、基質がENZMによって異性化されると、生成物はキモトリプシンによって切断されて4-ニトロアニリドが生成され、これは390 nmでのその吸光度によって検出される。4-ニトロアニリドの出現は時間依存性であり、またENZM濃度依存的であると思

10

20

【0560】

別方法として、ENZMのペプチジルプロリルシス/トランスイソメラーゼ活性は発色ペプチドを使ったキモトリプシンとの共役アッセイにより調べることができる (Fischer, G. 他 (1984) Biomed. Biochim. Acta 43:1101-1111)。

【0561】

ENZMのUDP グルクロニルトランスフェラーゼ (glucuronyltransferase) 活性は、遊離アミノ基の比色判定を用いて測定する (Gibson, G.G. および P. Skett (1994) Introduction to Drug Metabolism, Blackie Academic and Professional, London)。アミン含有基質 (例えば2-アミノフェノール) のインキュベートを37℃で、必要な補因子群を含有する反応バッファ (40mM Tris (pH 8.0)、7.5 mM MgCl₂, 0.025% Triton X-100、1 mM アスコルビン酸、0.75 mM UDP-グルクロン酸)中のこの酵素のアリコットと共にいった。充分な時間をおき、反応は氷冷した20%トリクロロ酢酸 (0.1 Mリン酸バッファ (pH 2.7) 中) を添加して停止させ、氷上でインキュベートし、遠心分離して上澄みを清澄化させる。全ての未反応2-アミノフェノールは、このステップで破壊される。充分な、新たに調製した亜硝酸ナトリウムを次に添加し、このステップにより、グルクロン酸抱合産物のジアゾニウム塩が形成される。過剰な亜硝酸を除去するため充分なスルファミン酸アンモニウム (ammonium sulfamate) を添加し、ジアゾニウム塩を芳香族アミン (例えばN-ナフチルエチレンジアミン) と反応させ、着色したアゾ化合物を産生する。この化合物は、分光光度法でアッセイできる (540 nmなど)。標準曲線は、既知濃度のアニリンを用いて作成できる。このアニリンは、2-アミノフェノール グルクロニドと同様の特性を持つ発色団を形成することとなる。

30

40

【0562】

ENZMのアデニロコハク酸合成酵素活性はAMPからのIMPの合成によって測定する。サンプルとAMPを混合する。IMP濃度は23℃で248 nmにおいて分光光度法でモニターする (Wang, W. 他 (1995) J. Biol. Chem. 270:13160-13163)。IMP濃度の増加はENZM活性に比例する。

【0563】

別法では、ENZMのAMP結合活性の測定を、サンプルと³²P標識したAMPとを混合させて行う。この反応溶液を37℃でインキュベートし、反応はトリクロロ酢酸の添加で終了させる。酸抽出物を中和し、ゲル電気泳動にかけて非結合標識を除去する。ゲル内に留まる放

50

射活性が、ENZMの活性に比例する。

【0564】

さらに別方法においては、ENZMの生体異物カルボン酸：CoAリガーゼ活性を、サンプルと γ - ^{32}P -ATPを混合して γ - ^{32}P -ピロリン酸の形成の時間変化を測定することによって測定する (Vessey, D.A. 他 (1998) J. Biochem. Mol. Toxicol. 12:151-155)。

【0565】

タンパク質ホスファターゼ (PP) 活性は、P-ニトロフェニルリン酸 (PNPP) の加水分解によって測定する。ENZMを、0.1%の β メルカプトエタノールの存在下で、pH7.5のHEPESバッファー中にPNPPと共に37°Cで60分インキュベートする。この反応は6 mlの10N NaOHを加えて停止する (Diamond, R.H.他 (1994) Mol. Cell. Biol. 14:3752-62)。或るいは、ENZMの酸性ホスファターゼ活性は、pH4.5の0.1Mクエン酸ナトリウム、及び50 μl の40mM塩化ナトリウム中にENZMを含む抽出液と100 μl の10mM PNPPを37°Cで20分インキュベートして実証する。この反応は0.5 mlの0.4M グリシン/NaOH (pH10.4)を加えて止める (Safitig, P. 他 (1997) J. Biol. Chem. 272:18628-18635)。PNPPの加水分解によって起こる410nmでの光吸収の増加を分光光度計で測定する。このアッセイでは、光吸収の増加がENZMの活性に比例する。

10

【0566】

別法では、ENZM活性は、リン酸化したタンパク質基質から除去されたリン酸の量を測定して決定する。反応は、60mM Tris (pH7.6)、1mM EDTA、1mM EGTA、0.1%の2-メルカプトエタノール、および10 μM 基質 (セリン/トレオニンまたはチロシン残基で好適に ^{32}P 標識された基質)を含む最終容量30 μl に、2nM或いは4nMのENZMを加えて行なう。反応は基質で開始し、30°Cで10~15分間インキュベートする。0.6 M HCl、90mM $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ 、および2mM NaH_2PO_4 中の4% (w/v)活性化木炭450 μl で停止させ、次に12,000 $\times$ gで5分間遠心分離する。酸可溶性 ^{32}P iを液体シンチレーションカウンターで定量する (Sinclair, C. 他 (1999) J. Biol. Chem. 274:23666-23672)。

20

【0567】

ENZMのアデノシンデアミナーゼ活性は、アデノシン基質をENZMとインキュベートしたときに起こるアミノ化の速度を測定することによって求める。反応は、53.3 mMのリン酸カリウムと0.045 mMのアデノシンを含む最終容積3.0 mlに所定量のENZMを含むサンプルで行われる。ENZMを除くアッセイ試薬を石英のキュベット内で混合し、25°Cで平衡化する。反応はENZMを加えてただちに逆さまにして混合することで開始する。アデノシンのイノシンへの加水分解によって起こる265nmでの光吸収の増加を分光光度計で測定する。 $A_{265\text{ nm}}$ の減少を約5分間記録する。このアッセイでは、光吸収の減少がENZMの活性に比例する。

30

【0568】

ENZM加水分解酵素活性は、種々の色素原分子で抱合した適切な合成ペプチド基質の加水分解によって測定される。この加水分解の程度は遊離された発色団の分光光度的 (または蛍光定量的) 吸光度によって定量される (BeynonおよびBond、前出、25-55ページ)。エンドペプチダーゼ (セリンプロテアーゼ、システインプロテアーゼ、アスパラギン酸プロテアーゼ)、アミノペプチダーゼ (ロイシンアミノペプチダーゼ)、またはカルボキシペプチダーゼ (カルボキシペプチダーゼAおよびB、プロコラーゲンC-プロテイナーゼ) のような、プロテアーゼ活性のカテゴリにしたがって、ペプチドの基質が設計される。

40

【0569】

ENZMの炭酸脱水素酵素活性のアッセイは、炭酸脱水素酵素活性を測定するためにストップフロー蛍光光度法を併用して蛍光pH指示薬8-ヒドロキシピレン-1,3,6-トリスルホン酸塩 (ピラニン) を使用する (Shingles, 他. 1997, Anal. Biochem. 252: 190-197)。pH 6.0の溶液をpH 8.0の溶液と混合し、重炭酸の脱水化の初期速度を測定する。pH 6.0の溶液への炭酸脱水素酵素の追加により、2 ミリ秒の分解時間で生理学的温度における活性の初期速度の測定が可能となる。Shingles他 (前出) はこのアッセイを使用して、哺乳動物の炭酸脱水素酵素アイソフォーム間の比較により、活性とスルホンアミドへの感度の差異を解析した。蛍光技術の感度により、65 ng/mlほどの低いタンパク質濃度の初期速度の決定が

50

可能となる。

【0570】

ENZMのデカルボキシラーゼ活性は、標識化基質からのCO₂の放出として測定される。例えば、ENZMのオルニチンデカルボキシラーゼ活性をL-[1-¹⁴C]-オルニチンからのCO₂の放出を測定することによりアッセイする(Reddy, S.G 他. (1996) J. Biol. Chem. 271:24945-24953)。活性は、0.5 μCiのL-[1-¹⁴C]オルニチンを加えた0.5 mM L-オルニチンを含有する200 μlアッセイバッファー(50 mM Tris/HCl (pH 7.5)、0.1 mM EDTA、2 mMジチオスレイトール、5 mM NaF、0.1% Brij35、1 mM PMSF、60 μM ピリドキサル-5-リン酸)で測定される。15~30分後に、1M クエン酸を加えることにより反応を停止し、放出された¹⁴CO₂を20 μlの2N NaOHで飽和したペーパー・ディスク・フィルタに吸着させる。ディスク上の放射能は、液体シンチレーション分光法により測定される。放出した¹⁴CO₂の量は、ENZMのオルニチンデカルボキシラーゼ活性に比例する。 10

【0571】

ENZMの加水分解の方向へのAdoHCYase活性は、5,5'-ジチオビス(2-ニトロ安息香酸)(DTNB)との反応により形成された生成物(ホモシステイン)の速度を測定することにより分光器で測定される。1mMのEDTAを含有する、ENZM 4.7 μgと50 mMのリン酸カリウムバッファー(pH 7.2)中の4単位のアデノシンデアミナーゼを含有する800 μlの酵素溶液(バッファA)に、バッファAの250 μM DTNBを含有する200 μlのS-アデノシルLホモシステイン(500 μM)が加えられた。反応混合物は37℃で2分間インキュベートされた。加水分解活性を412nmでダイオード・アレイUV分光光度計を用いて連続的にモニターする。酵素活性とは、1 μmolのSアデノシルLホモシステイン/分を加水分解することができる酵素の量として定義される(Yuan, C-S 他. (1996) J. Biol. Chem. 271:28009-28015)。 20

【0572】

ENZMの合成方向へのAdoHCYアーゼ活性は、基質として3-デアザアデノシンを用いて形成された生成物(Sアデノシルホモシステイン)として測定することが可能である(前出、Sganga, .他)。要するに、ENZMを0.1mMの3-デアザアデノシン(deazaadenosine)、5mMのホモシステイン、20mMのHEPES(pH 7.2)を含有する容量100 μl中でインキュベートする。アッセイ混合液を37℃で15分間インキュベートする。10 μlの3M 過塩素酸を加えることにより反応を停止する。氷上で15分間インキュベートした後、混合物をマイクロ遠心分離で4℃で5分間18,000 x gで遠心分離機にかけた。上澄みを除去して、1M炭酸カリウムの添加により中和して、再び遠心分離した。次に上澄みの50 μlのアリコットは、流速1 ml/minで0.2 M 無水リン酸アンモニウム(Aldrich)での定組成溶離により、Altex Ultrasphere 0 DSカラム(5 μmの粒子、4.6×250mm)でクロマトグラフィーにかける。ビシンコニン酸(bi cinchoninic acid)アッセイによりタンパク質を決定する(Pierce)。 30

【0573】

または、ENZMのAdoHCYアーゼ活性はTLC方法による合成方向で測定することが可能である(Hershfield, M.S. 他. (1979) J. Biol. Chem. 254:22-25)。プレインキュベーション段階で、50mM[8-¹⁴C]アデノシンはNAD⁺の5モルの等価物と共に15分間22℃でインキュベートする。50mMのリン酸カリウムバッファー(pH 7.4)、1mMのDTT、5mMのホモシステインから中にENZMを含有するアッセイサンプル(50 μlの最終容量)は、反応を開始するためにプレインキュベートした[8-¹⁴C]アデノシン/NAD⁺と混合させる。反応は37℃でインキュベートする。またサンプル1 μlを30分間、5分間隔でTLCプレートにスポットとして載せる。クロマトグラムはブタノール-1/氷酢酸/水(12:3:5, v/v)で展開して、乾燥させる。紫外線下で基質と生成物を同定するために標準が用いられる。次に[¹⁴C]アデノシンと[¹⁴C]SAHを含有する完全なスポットは、X線フィルムをTLCプレートに曝露することにより検出される。次に放射標識した基質と生成物はクロマトグラムから切断され、液体シンチレーション分析器により計数される。生成物 v s 時間プロットの線形最小二乗法の傾斜とサンプル中のタンパク質のmgから酵素の特異的活性を決定する(Bethin, K.E. 他. (1995) J. Biol. Chem. 270:20698-20702)。 40

【0574】

ENZMのアスパラギナーゼ活性は加水分解方向で測定することができる。それには、50 mM リン酸バッファ (pH7.5) の中で25°Cで0.6 mM N4-β'-N-アセチルグルコサミニル-L-アスパラギン基質をENZMとインキュベートしたときにこの基質から放出される放射能標識されたL-アスパラギン酸の量を求める (Kaartinen, V. 他 (1991) J. Biol. Chem. 266:5860-5869)。

【0575】

ENZMの加水分解方向におけるアシルCoA酸ヒドロラーゼ活性は、基質 (アシル-CoA) とENZMの5,5'-ジチオビス (2-ニトロ安息香酸) (DTNB)存在下での反応で形成される生成物 (CoASH) の出現によって分光学的にモニターする。最終反応容積は、0.1mMのDTNB、20 μg/mlのウシ血清アルブミン、10 μMの種々の長さのアシル-CoA (C6-CoA、C10-CoA、C14-CoAおよびC18-CoA、Sigma)およびENZMを含む1mlの0.05M リン酸カリウムバッファ (pH 8) である。反応混合液を22°Cで7分間インキュベートする。加水分解活性は、分光光度計で412 nmの吸収を測定することでモニターする (Poupon, V. 他、(1999) J. Biol. Chem. 274:19188-19194)。

【0576】

ENZMのENZM活性は、ENZMと共にRNA基質をインキュベートする結果として生成される可溶性RNAの量を決定することにより分光光度法で測定することが可能である。ENZMを含有する40 mMのリン酸ナトリウム (pH 7.5) の0.8 mlに、4mg/mlの酵母tRNA (Sigma)溶液を5 μl (20 μg)を加える。反応液を25°Cで15分間インキュベートする。3%過塩素酸を加えた20mM 硝酸ランタンの氷冷した新鮮な溶液0.5mlを加えることにより、反応を停止する。停止した反応物を氷上で少なくとも15分インキュベートする。そして10,000gで5分間遠心分離機にかけることにより不溶性tRNAを除去する。可溶性tRNAは、可溶性tRNAの40 μgに対応する1.0のA₂₆₀、残りの上澄みのUV吸収(260nm)として測定された (Rosenberg, H.F.他. (1996) Nucleic Acids Research 24:3507-3513)。

【0577】

ENZM活性は、³²P内部標識化テトラヒメナ (*T. thermophila*) のtRNA^{Gln}前駆体を切断するENZMの能力として測定することができる。ENZMと基質は反応槽に加えられ、反応はMBBバッファ (50 mM トリス-HCl (pH 7.5)、10 mM MgCl₂)で1時間、37°Cで実施される。反応は同じローディングバッファ (SLB: 40mM EDTA、8 M 尿素、0.2% キシレンシアノール、0.2% ブロムフェノール青)の同量を添加して停止する。反応生成物は、8 M尿素、6% ポリアクリルアミドゲルで電気泳動法により分離する。そして検出機器と、生成物を定量化可能なソフトウェアを使用して分析する。ENZM活性の1ユニットは、1時間、37°Cで生成物を成熟するのに*T. thermophila* のtRNA^{Gln}前駆体28fmolの10%を切断するのに必要な酵素の量として定義される (True, H.L. 他. (1996) J. Biol. Chem. 271:16559-16566)。

【0578】

あるいは、ENZMによる³²P内部標識化基質tRNAの切断は、30 mMのHEPES-KOH (pH 7.6)、6 mMのMgCl₂、30 mMのKCl、2 mMのDTT、25 μg/mlのウシ血清アルブミン、1unit/μlのrRNasin、ゲル精製基質RNA 5,000-50,000 cpmを含有する20 μlの反応混合物において測定可能である。3.0 μlのENZMを反応混合物に加え、次に37°C、30分間インキュベートする。反応はグアニジウム/フェノール抽出により停止し、グリコーゲンの存在下でエタノールで沈殿させた、そして変性ポリアクリルアミドゲル電気泳動法 (6または8%ポリアクリルアミド、7 M尿素)とオートラジオグラフィーにかけた (Rossmanith, W. 他 (1995) J. Biol. Chem. 270:12885-12891)。ENZM活性は、検出された切断生成物の量に比例する。

【0579】

ENZM活性は、前出のSala-Newby他が記載しているように、AMPの加水分解の結果として生成される遊離アデノシンの量を決定することにより測定することが可能である。短時間の間、37°Cの適切なバッファ内でENZMとAMPを10分間インキュベートする。遊離アデノシンをAMPから分離して逆相HPLCで測定する。

【0580】

別方法として、ADPリボシルアルギニンの加水分解によってENZM活性を測定することも

10

20

30

40

50

できる(Konczalik, P.およびJ. Moss (1999) J. Biol. Chem. 274:16736-16740)。50 mMリン酸カリウム (pH 7.5)、5 mMジチオスレイトール、10 mM MgCl_2 の中で50 ngのENZMを100 μM のADPリボシル [^{14}C]アルギニン(78,000 cpm)と共にインキュベートする(最終容積100 μl)。37°Cで1時間経過した後、サンプルの90 μl をAffiGel 601(boronate)カラム(0.5×4cm)に注入し、平衡化され、1 mlの0.1Mグリシン (pH9.0)、0.1MのNaClおよび10mMの MgCl_2 の5倍量で溶出される。全溶出液中の遊離 ^{14}C -Argを液体シンチレーション計数により測定する。

【0581】

ENZMのエポキシドヒドロラーゼ活性は $[\text{H}^3]$ 標識された酸化トランススチルベン (TSO) を基質として放射線アッセイによって求めることができる。短時間の間、ENZMを37°C、全容積100 μl のTris-HCl (pH7.4) バッファに1分間だけ予備インキュベートする。 $[\text{H}^3]$ 標識されたTSOを1 μl (エタノール中に0.5 μM) 加え、反応混合液を37°Cで10分間インキュベートする。反応混合液を200 μl のn-ドデカンで抽出する。水溶液相を50 μl 取り出して、液体シンチレーションカウンタ (LSC) でジオール生成物を定量する。ENZM活性はnmolジオール生成物/分/mgタンパク質として計算する(Gill, S.S. 他 (1983) Analytical Biochemistry 131:273-282)。

10

【0582】

ENZMのリゾホスファチジン酸アシルトランスフェラーゼ活性は、ENZMを含むサンプルを100 mM Tris-HCl (pH 7.4)、1 mMのチオール試薬 5,5'-ジチオビス(2-ニトロ安息香酸) (DTNB)、50 mM LPA, および 50 mM アシル-CoA とともにインキュベートすることによって測定される。この反応はアシル-CoAを加えることによって開始され、平衡状態に到達させる。アシル-CoA からLPAへのアシル基の転移によって遊離CoAが放出され、これがDTNBと反応する。DTNBと遊離CoA間の反応生成物は413nmの光を吸収する。413nmにおける吸光度の変化は、分光光度計を用いて測定され、また、サンプル中のENZMのリゾホスファチジン酸アシルトランスフェラーゼ活性に比例する。

20

【0583】

ENZMのN-アシルトランスフェラーゼ活性は、放射標識されたアミノ酸基質を用いて、放射標識の抱合型生成物への取り込みを測定することによって測定される。非標識アシル-CoA化合物と放射標識アミノ酸を含む反応バッファ中でENZMをインキュベートし、放射標識アシル抱合体をn-ブタノールまたは他の適切な有機溶媒に抽出することによって未反応のアミノ酸から分離する。例えばJohnson, M. R 他 (1990; J. Biol. Chem. 266:10227-10233)は、胆汁酸-CoA:アミノ酸N-アシルトランスフェラーゼ活性の測定を、この酵素をコリル-CoA および ^3H -グリシンまたは ^3H -タウリンと共にインキュベートし、また、トリチウム化コール酸抱合体 (tritiated cholate conjugate)をn-ブタノールへの抽出によって分離し、シンチレーションによって抽出産物内の放射活性を測定して行った。あるいはN-アシルトランスフェラーゼ活性の測定には、下記の還元されたCoA(CoASH)の分光光度測定法を用いる。

30

【0584】

ENZMのN-アシルトランスフェラーゼ活性は ^{14}C アセチル-CoA から基質分子への放射標識の転移を用いて測定される(例えば、Deguchi, T. (1975) J. Neurochem. 24:1083-5参照)。あるいは、CoASHとのDTNB反応に基づいた、より新しい分光光度アッセイを用いてもよい。遊離のチオール含有CoASHは、N-アセチルトランスフェラーゼが触媒する、基質へのアセチル基の転移時に形成される。CoASHの検出には、DTNB抱合体の吸光度(412nm)を用いる(De Angelis, J. 他(1997) J. Biol. Chem. 273:3045-3050)。ENZM活性は放射活性の基質への取り込み率、すなわち分光光度測定における吸光度の増加率に比例する。

40

【0585】

ENZMのガラクトシルトランスフェラーゼ活性は、放射性アッセイでUDP-ガラクトースからGlcNAc末端オリゴサッカライド鎖へのガラクトースの転移を測定することによって測定できる(Kolbinger, F. 他 (1998) J. Biol. Chem. 273:58-65)。ENZMサンプルは、14 μl のアッセイ用ストック溶液(180 mMのカコジル酸ナトリウム、pH 6.5、1mg/mlのウシ血清

50

アルブミン、0.26mM のUDP-ガラクトース、2 μ l のUDP-[³H]ガラクトース)、1 μ l のMnCl₂ (500mM)および 2.5 μ l のGlcNAc β 0-(CH₂)₈-CO₂Me (ジメチルスルホキシド中に37mg/ml)で37°Cにて60分間インキュベートする。この反応は1mlの水を加えて停止させ、C18 Sep-Pak カートリッジ(Waters)に搭載し、カラムを2回5mlの水で洗浄して未反応のUDP-[³H]ガラクトースを除去する。 [³H]ガラクトシル化GlcNAc β 0-(CH₂)₈-CO₂Meは水で洗浄する間はカラムに結合されたままであり、5mlのメタノールで溶出する。溶出された物質の放射活性は液体シンチレーションカウンターで測定され、これは開始サンプルのENZM のガラクトシルトランスフェラーゼ活性に比例する。

【0586】

ENZMのホスホリボシルトランスフェラーゼ活性はホスホリボシルピロリン酸(PRPP) からプリンまたはピリミジン塩基へのホスホリボシル基の転移として測定される。pH 9.0の50 mM Tris 酢酸、20 mM 2-メルカプトエタノール、12.5 mM MgCl₂および0.1 mM 標識基質([¹⁴C]ウラシル等)を含むアッセイ混合液(20ml)は、pH 9.7の0.1 M Tris 酢酸で希釈したENZM、1 mg/ml のウシ血清アルブミンを含む20mlの溶液と混合する。反応液は前もって37°Cで1分間加熱し、10 μ l の6mM PRPPで開始され、37°Cで5分間インキュベートする。この反応は100°Cで1分間加熱することによって停止する。生成物 [¹⁴C]UMPをDEAE-セルロース紙上で [¹⁴C]ウラシルから分離する(Turner, R.J. 他 (1998) J. Biol. Chem. 273:5932-5938)。生成された [¹⁴C]UMP の量はENZMのホスホリボシルトランスフェラーゼ活性に比例する。

10

【0587】

ENZMのADP-リボシルトランスフェラーゼ活性はアデニン-NADからアグマチンへの放射標識の転移として測定される(Weng, B. 他 (1999) J. Biol. Chem. 274:31797-31803)。精製されたENZMは、50mM リン酸カリウム(pH.7.5)、20mM アグマチン、および0.1mM[アデニン-U-¹⁴C]NAD(0.05mCi)を含む総量300 μ l中で1時間、30°Cでインキュベートする。サンプル(100ml)をDowex カラムにかけ、5mlの水で [¹⁴C]ADP-リボシルアグマチンを溶出し、液体シンチレーションカウンターにかける。回収された放射活性の量は、ENZMのADP-リボシルトランスフェラーゼ活性に比例する。

20

【0588】

あるENZM活性アッセイでは、tRNAのアミノアシル化を放射能標識された基質の存在下で測定する。ENZMは、 [¹⁴C]-標識されたアミノ酸と好適な同族の tRNA (例えば、 [¹⁴C]アラニンおよび tRNA^{Ala}) とともに緩衝液中にインキュベートされる。¹⁴C-標識の産物は遊離 [¹⁴C]アミノ酸からクロマトグラフィーによって分離され、取り込まれた [¹⁴C]はシンチレーションカウンターで測定される。このアッセイでは、検出された¹⁴C-標識産物の量がENZMの活性に比例する(Ibba, M.他(1997) Science 278:1119-1122)。

30

【0589】

別方法として、ENZMのアルギニノコハク酸シンターゼ活性は [³H]アスパラギン酸の [³H]アルギニノコハク酸への変換に基づいて測定する。 [³H]アスパラギン酸、シトルリン、Tris-HCl(pH 7.5)、ATP、MgCl₂、KCl、ホスホエノールピルビン酸、ピルビン酸キナーゼ、ミオキナーゼ、およびピロホスホターゼの混合溶液の中でENZMをインキュベートし、37°Cで60分間反応させる。酵素活性は酢酸を添加して90°Cで30分間加熱することによって停止する。 [³H]アルギニノコハク酸はクロマトグラフィーで未触媒 [³H]アスパラギン酸から分離し、液体シンチレーション分光法を使って定量化する。このアッセイでは検出される [³H]アルギノコハク酸の量がENZMの活性に比例する (O'Brien, W. E. (1979) Biochemistry 18:53535356)。

40

【0590】

別方法として、ENZMのエステラーゼ活性は p -ニトロフェニル酢酸 (NPA) の加水分解によってアッセイする。150 mMのNaClを含む0.1 Mリン酸カリウムバッファ(pH 7.25) の中で0.1 μ M NPAとENZMを一緒にインキュベートする。NPAの加水分解は分光光度計によって400 nmの吸収の増加として測定する。このアッセイでは、光吸収の増加がENZM の活性に比例する(Probst, M.R 他(1994) J. Biol. Chem. 269:21650-21656)。

50

【0591】

19 ENZMのアゴニスト及びアンタゴニストの同定

ENZMの活性化若しくは抑制のアゴニスト若しくはアンタゴニストを、実施例18で記述したアッセイを用いてテストし得る。アゴニストはENZM活性の増加を生じ、アンタゴニストはENZM活性の低下を生じる。

【0592】

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せられ得る。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。

10

【0593】

(表の簡単な説明)

20

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態様の命名の概略である。

【0594】

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。

【0595】

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態様の構造的特徴を、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。

30

【0596】

表4は、ポリヌクレオチド実施態様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。

【0597】

表5は、ポリヌクレオチド実施態様の代表的なcDNAライブラリを示す。

【0598】

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。

【0599】

40

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。

【0600】

表8は、本発明のポリヌクレオチド配列に見られる一塩基多型を、種々のヒト集団での対立遺伝子(アレル)頻度と共に示す。

【0601】

【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
7499940	1	7499940CD1	54	7499940CB1	90059996CA2
3329870	2	3329870CD1	55	3329870CB1	
7500698	3	7500698CD1	56	7500698CB1	
7500223	4	7500223CD1	57	7500223CB1	
7500295	5	7500295CD1	58	7500295CB1	2134968CA2
7502095	6	7502095CD1	59	7502095CB1	
7500507	7	7500507CD1	60	7500507CB1	90150580CA2
7500840	8	7500840CD1	61	7500840CB1	
7493620	9	7493620CD1	62	7493620CB1	
7494697	10	7494697CD1	63	7494697CB1	90156851CA2
8146738	11	8146738CD1	64	8146738CB1	
7500114	12	7500114CD1	65	7500114CB1	6054195CA2
7500197	13	7500197CD1	66	7500197CB1	
7500145	14	7500145CD1	67	7500145CB1	
7500874	15	7500874CD1	68	7500874CB1	
7500495	16	7500495CD1	69	7500495CB1	5723074CA2, 90162244CA2
7500194	17	7500194CD1	70	7500194CB1	
7500871	18	7500871CD1	71	7500871CB1	1486817CA2, 157510CA2, 3737615CA2, 6383983CA2, 90156928CA2, 90156955CA2, 90188640CA2, 90188703CA2, 90188732CA2, 90188735CA2, 90188920CA2, 1486817CA2, 157510CA2, 3737615CA2, 6383983CA2, 90156928CA2, 90156955CA2, 90188640CA2, 90188703CA2, 90188732CA2, 90188735CA2, 90188920CA2
7500873	19	7500873CD1	72	7500873CB1	
7503491	20	7503491CD1	73	7503491CB1	

10

20

30

40

【表 1 - 2】

表 1 - 2

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
7503427	21	7503427CD1	74	7503427CB1	90176824CA2, 90176832CA2
7503547	22	7503547CD1	75	7503547CB1	7975468CA2
1932641	23	1932641CD1	76	1932641CB1	
6892447	24	6892447CD1	77	6892447CB1	
7503416	25	7503416CD1	78	7503416CB1	
7503874	26	7503874CD1	79	7503874CB1	90053561CA2
7503454	27	7503454CD1	80	7503454CB1	90009326CA2, 90177533CA2
7503528	28	7503528CD1	81	7503528CB1	
7503705	29	7503705CD1	82	7503705CB1	
7503707	30	7503707CD1	83	7503707CB1	
90001962	31	90001962CD1	84	90001962CB1	90001962CA2
70819231	32	70819231CD1	85	70819231CB1	2967971CA2
					2455713CA2, 90029385CA2, 90035649CA2, 90087151CA2, 90137747CA2, 90137824CA2, 90137863CA2, 90137879CA2, 90138023CA2, 90138031CA2, 90161864CA2, 90161872CA2, 90161880CA2, 90161972CA2
7504066	33	7504066CD1	86	7504066CB1	
90001862	34	90001862CD1	87	90001862CB1	90013122CA2
7503046	35	7503046CD1	88	7503046CB1	
7503211	36	7503211CD1	89	7503211CB1	
7503264	37	7503264CD1	90	7503264CB1	2515841CA2
					90120135CA2, 90141723CA2, 90141731CA2
90120235	38	90120235CD1	91	90120235CB1	
90014961	39	90014961CD1	92	90014961CB1	
7503199	40	7503199CD1	93	7503199CB1	
7511530	41	7511530CD1	94	7511530CB1	

【表 1 - 3】

表 1 - 3

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
7511535	42	7511535CD1	95	7511535CB1	90130146CA2
7511536	43	7511536CD1	96	7511536CB1	
7511583	44	7511583CD1	97	7511583CB1	
7511395	45	7511395CD1	98	7511395CB1	
7511647	46	7511647CD1	99	7511647CB1	
7510335	47	7510335CD1	100	7510335CB1	90057788CA2, 90057941CA2, 90078607CA2
7510337	48	7510337CD1	101	7510337CB1	
7510353	49	7510353CD1	102	7510353CB1	
7510470	50	7510470CD1	103	7510470CB1	
7504648	51	7504648CD1	104	7504648CB1	
7512747	52	7512747CD1	105	7512747CB1	
7510146	53	7510146CD1	106	7510146CB1	

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	7499940CD1	g3293241	8.4E-135	[ヒト] サイクリック AMP 特異的ホスホエステラーゼ HSPDE4A1A (Sullivan,M. 他. (1998) Biochem. J. 333 (Pt 3), 693-703)。
2	3329870CD1	g5726647	6.9E-85	[マウス]チオレドキシン相互作用因子 (Junn,E. 他.(2000) J. Immunol. 164 (12), 6287-6295)。
3	7500698CD1	g11545707	3.1E-73	[ヒト] ISCU2 (Tong,W.H. 他. (2000) EMBO J. 19 (21), 5692-5700)
4	7500223CD1	g3694659	1E-179	[ヒト] パラオキシナーゼ/アリアルエステラーゼ(Sulston,J.E. 他. (1998) Genome Res. 8 (11), 1097-1108)
4	7500223CD1	337086[PON2]	8E-180	[ヒト][ヒドロラーゼ] パラオキシナーゼ/アリアルエステラーゼ、有毒有機リン酸 エステルを加水分解する 1 ファミリーのメンバーであり、酸化修飾に対して低 密度リポタンパク質を保護する面でおそらく機能する。;変異体はパラチオン中 毒への感受性を変更する。
4	7500223CD1	337084[PON1]	9.5E-122	[ヒト][ヒドロラーゼ] パラオキシナーゼ(アリアルエステラーゼ)、有毒有 機リン酸エステルを加水分解し、酸化修飾に対して低密度リポタンパ ク質を保護する面でおそらく機能する。;変異体は抗アテローム性応 答および抗炎症応答に影響し得る。
4	7500223CD1	326742[Pon1]	2E-119	[マウス][ヒドロラーゼ]パラオキシナーゼ(A-エステラーゼ、芳香族エステラーゼ、 アリアルエステラーゼ)、有毒有機リン酸エステルを加水分解する 1 ファミリー のメンバーであり、酸化修飾に対して低密度リポタンパク質を保護する面でお そらく機能する。アテローム発生において役割を果たし得る。
5	7500295CD1	g3694659	1E-179	[ヒト] パラオキシナーゼ/アリアルエステラーゼ(Sulston,J.E. 他. (1998) Genome Res. 8 (11), 1097-1108)

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
5	7500295CD1	337086 PON2	8E-180	[ヒト][ヒドロラーゼ] パラオキシナーゼ/アリアルエステラーゼ、有毒有機リン酸 エステルを加水分解する 1 ファミリーのメンバーであり、酸化修飾に対して低 密度リポタンパク質を保護する面でおそらく機能する。;変異体はパラチオン中 毒への感受性を変更する。
5	7500295CD1	337084 PON1	9.5E-122	[ヒト][ヒドロラーゼ] パラオキシナーゼ(アリアルエステラーゼ)、有毒有機リン酸 エステルを加水分解し、酸化修飾に対して低密度リポタンパク質を保護する 面でおそらく機能する。;変異体は抗アテローム性応答および抗炎症応答に 影響し得る。
5	7500295CD1	326742 Pon1	2E-119	[マウス][ヒドロラーゼ]パラオキシナーゼ(A-エステラーゼ、芳香族エステラーゼ、 アリアルエステラーゼ)、有毒有機リン酸エステルを加水分解する 1 ファミリー のメンバーであり、酸化修飾に対して低密度リポタンパク質を保護する面 でおそらく機能する。アテローム発生において役割を果たし得る。
5	7502095CD1	729797 lfc4_A	1.1E-104	[タンパク質データベース] 2-アミノ-3-ケト酪酸補酵素 A リガーゼ
6	7502095CD1	g3342906	3.9E-217	[ヒト] 2-アミノ-3-ケト酪酸-CoA リガーゼ (Edgar,A.J. 他. (2000) Eur. J. Biochem. 267:1805-1812)
6	7502095CD1	729797 lfc4_A	1.1E-104	[タンパク質データベース] 2-アミノ-3-ケト酪酸補酵素 A リガーゼ
6	7502095CD1	251191.1 T25B 9.1	4.1E-73	[線虫 (Caenorhabditis elegans)][トランスフェラーゼ] セリン/アルミトトラ ンスフェラーゼタンパク質ファミリーのメンバー
7	7500507CD1	g3220249	9.6E-246	[ヒト] 5アミノレブリン酸シンターゼ 2(Surinya,K.H. 他. (1998) J. Biol. Chem. 273:16798-16809)

【表 2 - 3】

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
7	7500507CD1	665827 Alas2	4.8E-281	[マウス][トランスフェラーゼ] 5アミノレブリン酸シンターゼ、ヒトの ALAS2 に対して強い類似性を有し、ヘムの合成の第一ステップを触媒する。ヒト遺伝子における突然変異は先天性鉄芽球性貧血を引きこす。
7	7500507CD1	339080 ALAS2	3.7E-246	[ヒト][トランスフェラーゼ]赤血球特異的デルタアミノレブリン酸シンターゼ、ヘムの合成の第一ステップ、ヒト遺伝子における突然変異は先天性鉄芽球性貧血を引きこす。
7	7500507CD1	334122 ALAS1	9.6E-192	[ヒト][トランスフェラーゼ]デルタアミノレブリン酸シンターゼ、ヘムの合成の第一ステップを触媒する。
8	7500840CD1	g1220285	5.6E-15	[分裂酵母 (Schizosaccharomyces pombe)]電子伝達タンパク質
8	7500840CD1	371927 etp1	5E-16	[分裂酵母 (Schizosaccharomyces pombe)] 推定的電子伝達タンパク質、出芽酵母 Cox15p に対して高類似性を有する。
8	7500840CD1	644198 orf6.7220	1.2E-13	[驚口瘡カンジダ (Candida albicans)][オキシドレダクターゼ] a2FE-2S クラスターを含む電子伝達タンパク質のフェレドキシンファミリーのメンバー、特徴付けられていない出芽酵母 Yah1p に対して高い類似性を有する。
8	7500840CD1	340544 FDX1	1.7E-12	[ヒト]オキシドレダクターゼ、小分子結合タンパク質 [細胞質、ミトコンドリア] フェレドキシン(アドレノドキシン)、アドレノドキシンドレダクターゼから P450 ^{sec} へ電子を伝達する鉄硫黄タンパク質、P450 ^{sec} はステロイド、ビタミン D、胆汁酸代謝に関与する。
9	7493620CD1	g516150	1.2E-249	[ヒト]UDP-グルクロノシルトランスフェラーゼ (Jin,C.J. 他. (1993) Biochem. Biophys. Res. Commun. 194:496-503)

【表 2 - 4】

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
9	7493620CD1	338816 UGT2B7	7.2E-227	[ヒト]トランスフェラーゼ[小胞体; 細胞質]親油性アグリコン基質をグルクロン酸に抱合する小胞体糖タンパク質の UDP-グルクロノシルトランスフェラーゼ 2B サブファミリーのメンバー、3,4-カテコール・エストロゲンとエストロールをグルクロン酸抱合する。
9	7493620CD1	344906 UGT2B11	2.2E-225	[ヒト]トランスフェラーゼ[小胞体; 細胞質]親油性アグリコン基質をグルクロン酸に抱合する小胞体糖タンパク質の UDP-グルクロノシルトランスフェラーゼ 2B サブファミリーのメンバー、可能な基質にはポリヒドロキシ化されたエストロゲンと生体異物がある。
9	7493620CD1	348401 UGT2B4	4E-217	[ヒト]トランスフェラーゼ[小胞体; 細胞質]胆汁酸 UDP グリコシルトランスフェラーゼ、親油性アグリコン基質をグルクロン酸に抱合する小胞体糖タンパク質の UDP-グルクロノシルトランスフェラーゼ 2B サブファミリーのメンバー、幾つかの生体異物とステロイドをグルクロン酸抱合する。
9	7493620CD1	338812 UGT2B15	2.9E-207	[ヒト]トランスフェラーゼ[小胞体; 細胞質]親油性アグリコン基質をグルクロン酸に抱合する小胞体糖タンパク質の UDP-グルクロノシルトランスフェラーゼ 2B サブファミリーのメンバー、幾つかの生体異物とステロイドをグルクロン酸抱合する。
10	7494697CD1	g1088448	1.1E-155	[ヒト]NADP 依存性ロイコトリエン b412-ヒドロキシデヒドロゲナーゼ (Yokomizo,T. 他. (1996) J. Biol. Chem. 271:2844-2850)
10	7494697CD1	424790 LTB4DH	1E-156	[ヒト]オキシドレクタナーゼ[ロイコトリエン B4 12-ヒドロキシデヒドロゲナーゼ、非白血球でロイコトリエン B4 を不活性化し、ロイコトリエン B4 を 12-オキソ-誘導体に変換する。

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
10	7494697CD1	638338 orf6.4290	3.5E-28	【驚口瘡カンジダ (Candida albicans)】[オキシドレダクターゼ]亜鉛含有アルコ ールデヒドロゲナーゼファミリーのメンバー、ヒトLTB4DH に対して類似性は低 い。ヒトLTB4DH はロイコトリエン B4 を 12-オキソ-誘導体に変換する ロイ コトリエン B4 12-ヒドロキシデヒドロゲナーゼである。
11	8146738CD1	g12597293	6.9E-220	【ヒト酸性哺乳動物キチナーゼ前駆体(Boot.R.G. 他. (2001) J. Biol. Chem. 276:6770-6778)
11	8146738CD1	623690 TSA1902	1.8E-168	【ヒト】[ヒドロラーゼ]キトトリオシダーゼ (chitotriosidase) (CHIT1) に対して高い 類似性を有するタンパク質、活性化マクロファージによって分泌され、病原体 壁を分解するよう機能し得るキチナーゼである。グリコシルヒドロラーゼ 18 フ ァミリーのメンバーである。
11	8146738CD1	712501 Ecf-1	2.2E-145	【マウス】好酸球走化サイトカイン、好酸球、骨髓多形核白血球、および T リンパ球に対して走化性のキチナーゼファミリータンパク質である。
11	8146738CD1	334648 CHIT1	1.5E-116	【ヒト】[ヒドロラーゼ][細胞外(細胞壁を除く)キトトリオシダーゼ (chitotriosidase) (メチルウンベリファエリル テトラ-N-アセチル-キトテトラオシド ヒドロラーゼ)、活性化マクロファージによって分泌され、病原体壁を分解する よう機能し得るキチナーゼであり、対応する遺伝子における突然変異はキト トリオシダーゼ欠乏症を引き起こす。
12	7500114CD1	g14714839	3.3E-129	【ヒト】3-ヒドロキシメチル-3-メチルグルタルイル補酵素 A リアーゼ (hydroxymethylglutaricaciduria)
12	7500114CD1	347256 HMGCL	1.5E-120	【ヒト】[リアーゼ][ミトコンドリアマトリックス,細胞質,ミトコンドリア] 3-ヒドロキシ 3-メチルグルタルイル補酵素 A リアーゼ、3-ヒドロキシ-3-メチルグルタルイル CoA をアセト酢酸とアセチル-CoA に分解する。ケトン生成とロイシン異化作用の 最終ステップであり、エネルギー代謝で機能し、欠乏は低血糖症と昏睡につ ながる。

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
13	7500197CD1	g14603061	1.9E-202	[ヒト] ファルネシル 2 リン酸シターゼ(ファルネシルピロリン酸シターゼ、ジ メチルアリルトランストランスフェラーゼ、ゲラニルトランストランスフェラーゼ)
13	7500197CD1	335298 FDPS	1.7E-203	[ヒト][トランスフェラーゼ] ファルネシルピロリン酸シターゼ(ファルネシル 2 リ ン酸シターゼ)、コレステロール合成経路の一部
14	7500145CD1	g2121310	8.4E-176	[ヒト]GP-39 軟骨タンパク質(Rehli, M. 他. (1997) Genomics 43:221-225.)
14	7500145CD1	345056 CHI3L1	7.4E-177	[ヒト][構造タンパク質:ヒドロラーゼ][細胞外マトリックス(表皮および基底膜); 細胞外(細胞壁を除く)]軟骨 糖タンパク質-39、キチナーゼに対して類似性を 有し、リウマチ様関節炎軟骨と滑液細胞において発現する(Hakala, B. E. 他. (1993) Human cartilage gp-39, a major secretory product of articular chondrocytes and synovial cells, is a mammalian member of a chitinase protein family. J Biol Chem 268:25803-25810; Kirkpatrick, R. B. et al. (1997) Induction and expression of human cartilage glycoprotein 39 in rheumatoid inflammatory and peripheral blood monocyte-derived macrophages. Exp. Cell Res. 237:46-54.)。

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
14	7500145CD1	321804 Chi3l1	5.5E-129	[マウス][ヒドローゼ][細胞外(細胞壁を除く)糖タンパク質 39、neu と ras で開始された乳房腫瘍で発現されるが、c-myc (Myc)あるいは int-2 で開始された乳房腫瘍では発現せず、グリコシルヒドローゼに対して類似性を有する (Morrison, B. W.,および Leder, P. (1994) neu and ras initiate murine mammary tumors that share genetic markers generally absent in c-myc and int-2-initiated tumors. Oncogene 9:3417-3426, Hakala, B. E. 他. (1993) 前出, Jin, H. M., 他. (1998) Genetic characterization of the murine Ym1 gene and identification of a cluster of highly homologous genes. Genomics 54:316-322) [ヒト]GP-39 軟骨タンパク質(Rehli, M. 他. (1997) Genomics 43:221-225.)
15	7500874CD1	g2121310	1.5E-66	
15	7500874CD1	428668 PRDX5	1.9E-84	[ヒト][オキシドレダクターゼ][細胞質;ミトコンドリア;ペルオキシソーム]抗酸化酵素、AhpC/TSA ペルオキシレドキシン抗酸化剤のサブファミリーの 1 メンバー、ペルオキシダーゼと抗酸化酵素活性化を有し、酸化過程と炎症過程でおそらく機能する (Knoops, B., 他. (1999) Cloning and characterization of AOEB166, a novel mammalian antioxidant enzyme of the peroxiredoxin family. J Biol Chem 274:30451-30458, Yamashita, H. 他. (1999) Characterization of human and murine PMP20 peroxisomal proteins that exhibit antioxidant activity in vitro. J Biol Chem 274:29897-29904, Wattiez, R. 他. (1999) 前出)

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
15	7500874CD1	430156 Pmp20	1.5E-50	[マウス][オキシレダクターゼ][細胞質;ペルオキシソーム]ペルオキシレドキシン V、反応性酸素種の p53 (Tp53)依存性産生を阻害し、p53 誘発アポトーシスを阻害するチオレドキシンペルオキシダーゼ、レドックスシグナル伝達において機能する。 (Zhou, Y., 他. (2000) Mouse peroxiredoxin V is a thioredoxin peroxidase that inhibits p53-induced apoptosis. Biochem. Biophys. Res. Commun. 268:921-927)。
16	7500495CD1	g6103724	2.2E-83	[ヒト]抗酸化酵素 B166(Andresen, B. S. 他. (1996) Hum. Mol. Genet. 5:461-472.)
16	7500495CD1	428668 PRDX5	1.9E-84	[ヒト][オキシレダクターゼ][細胞質;ミトコンドリア;ペルオキシソーム]抗酸化酵素、AhpC/TSAAhpC/TSA ペルオキシレドキシン抗酸化剤のサブファミリーの 1 メンバー、ペルオキシダーゼと抗酸化酵素活性化を有し、酸化過程と炎症過程でおそらく機能する (Knoops, B., 他. (1999) Cloning and characterization of AOEB166, a novel mammalian antioxidant enzyme of the peroxiredoxin family. J Biol Chem 274:30451-30458、Yamashita, H. 他. (1999) Characterization of human and murine PMP20 peroxisomal proteins that exhibit antioxidant activity in vitro. J Biol Chem 274:29897-29904、Wattiez, R. 他. (1999) 前出)

【表 2 - 9】

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
16	7500495CD1	430156 Pmp20	1.5E-50	[マウス]オキシレダクターゼ[細胞質;ペルオキシソーム]ペルオキシレドキシン V、反応性酸素種の p53 (Tp53)依存性産生を阻害し、p53 誘発アポトーシスを阻害するチオレドキシンペルオキシダーゼ、レドックスシグナル伝達において機能する。 (Zhou, Y., 他. (2000) Mouse peroxiredoxin V is a thioredoxin peroxidase that inhibits p53-induced apoptosis. Biochem. Biophys. Res. Commun. 268:921-927)。 [ヒト]超長鎖アシル CoA デヒドロゲナーゼ (Andresen, B. S. 他. (1996) Hum. Mol. Genet. 5:461-472.) [ヒト]オキシレダクターゼ[細胞質、ミトコンドリア]超長鎖アシル補酵素 A デヒドロゲナーゼ、脂脂肪酸 β 酸化の開始ステップにおいて直鎖アシル CoA を酸化する。また遺伝子の突然変異による欠損が乳幼児突然死候群、肥大型心筋症を引き起こす (Aoyama, T. 他. (1995) Cloning of human very-long-chain acyl-coenzyme A dehydrogenase and molecular characterization of its deficiency in two patients. Am. J. Hum. Genet. 57:273-283、Strauss, A. W. et al. (1995) Molecular basis of human mitochondrial very-long-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency causing cardiomyopathy and sudden death in childhood. Proc Natl Acad Sci U S A 92:10496-10500)
17	7500194CD1	g790447	1.1E-175	
17	7500194CD1	339036 ACAD VL	9.4E-177	
18	7500871CD1	g14919433	3.8E-164	[ヒト]キチナーゼ 3-様 1 に類似 (軟骨糖タンパク質-39)

表 2 - 1 0

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	7500871CD1	345056 CHI3L1	1.1E-164	[ヒト][構造タンパク質:ヒドロラーゼ][細胞外マトリックス(表皮および基底膜): 細胞外(細胞壁を除く)]軟骨糖タンパク質-39、キチナーゼに対して類似性を 有し、リウマチ様関節炎軟骨と滑液細胞において発現する(Hakala, B. E. 他 (1993) 前出、Kirkpatrick, R. B. 他(1997) 前出)
18	7500871CD1	321804 Chi3l1	4.5E-122	[マウス][ヒドロラーゼ][細胞外(細胞壁を除く)]糖タンパク質 39、neu と ras で開始された乳房腫瘍で発現されるが、c-myc (Myc)あるいは int-2 で開 始された乳房腫瘍では発現せず、グリコシルヒドロラーゼに対して類似性を 有する (Morrison, B. W.,および Leder, P. 前出、Hakala, B. E. 他.(1993) 前出、 Jin, H. M., 他.(1998) 前出)
19	7500873CD1	g14919433	4.6E-120	[ヒト]キチナーゼ 3-様 1 に類似 (軟骨糖タンパク質-39)
19	7500873CD1	345056 CHI3L1	1.4E-120	[ヒト][構造タンパク質:ヒドロラーゼ][細胞外マトリックス(表皮および基底膜): 細胞外(細胞壁を除く)]軟骨糖タンパク質-39、キチナーゼに対して類似性を 有し、リウマチ様関節炎軟骨と滑液細胞において発現する(Hakala, B. E. 他 (1993) 前出、Kirkpatrick, R. B. 他(1997) 前出)

表 2 - 1 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
19	7500873CD1	321804 Chi3l1	1.5E-89	[マウス][ヒドラーゼ][細胞外(細胞壁を除く)]糖タンパク質 39、neu と ras で開始された乳房腫瘍で発現されるが、c-myc (Myc)あるいは int-2 で開始された乳房腫瘍では発現せず、グリコシルヒドラーゼに対して類似性を有する (Morrison, B. W.,および Leder, P. 前出、Hakala, B. E. 他. (1993) 前出、Jin, H. M., 他. (1998) 前出) [ヒト]ウロポルフィリノーゲンデカルボキシラーゼ [タンパク質データバンク]ウロポルフィリノーゲンデカルボキシラーゼ
20	7503491CD1	g4151819	1.8E-186	[ヒト][リアーゼ]ウロポルフィリノーゲンデカルボキシラーゼ、ヘム合成においてコプロポルフィリノーゲン III を形成するためにウロポルフィリノーゲン III の 4 つのアセチル側鎖の脱炭酸反応を触媒する。欠乏は家族性晩発性皮膚ポルフィリン症と肝造血性ポルフィリン症 (hepatoerythropoietic porphyria) を引き起こす。 Moran-Jimenez, M. J. 他. (1996) Am. J. Hum. Genet. 58:712-721 Uroporphyrinogen decarboxylase: complete human gene sequence and molecular study of three families with hepatoerythropoietic porphyria. Am J Hum Genet 58, 712-21 (1996)。
20	7503491CD1	720887 Uro_A	1.5E-187	
20	7503491CD1	606326 UROD	1.5E-187	
20	7503491CD1	326094 Urod	2.3E-171	[マウス][リアーゼ] ウロポルフィリノーゲンデカルボキシラーゼ、ヘム合成においてコプロポルフィリノーゲン III を形成するためにウロポルフィリノーゲン III の 4 つのアセチル側鎖の脱炭酸反応を触媒する。

表 2 - 1 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
20	7503491CD1	367482 Urod	3.5E-166	[ラット][リアーゼ] ウロポルフィリノーゲンデカルボキシラーゼ、ヒト UROD に対して強い類似性を有する。ヒト UROD はヘム合成においてコプロポルフィリノーゲン III を形成するためにウロポルフィリノーゲン III の 4 つのアセチル側鎖の脱炭酸反応を触媒する。 [驚口瘡カンジダ (Candida albicans)][リアーゼ]出芽酵母 (S. cerevisiae) Hem12p に対して類似性が高いタンパク質、Hem12p はコプロポルフィリノーゲンを産生するためにウロポルフィリノーゲンアセチル側鎖の脱炭酸反応を実行するウロポルフィリノーゲンデカルボキシラーゼである。ウロポルフィリノーゲンデカルボキシラーゼ(URO-D)ファミリーのメンバーである。 [ヒト]キノンオキシドレダクターゼ(Jaiswal, A.K., 他. (1990) Biochemistry 29:1899-1906) [ヒト]オキシドレダクターゼ NAD(P)H:キノンオキシドレダクターゼ、キノンと酸化還元色素によって NADH または NADPH を酸化するフラビンタンパク質。
20	7503491CD1	646474 orf6.8352.7E-87 8		
21	7503427CD1	g190818	1.2E-101	
21	7503427CD1	336626 NMOR 2	1.1E-102	
21	7503427CD1	727253 lqr2_A 611228 Nmor2	3.6E-102 5.1E-82	[タンパク質データバンク] キノンレダクターゼタイプ 2 [マウス][オキシドレダクターゼ] NRH: キノンオキシドレダクターゼ、ヒト NMOR2 に対して強い類似性を有する。ヒト NMOR2 はキノンと酸化還元色素によって NADH または NADPH を酸化するフラビンタンパク質である。
21	7503427CD1	336624 DIA4	7.5E-43	[ヒト]オキシドレダクターゼ[細胞質]軸索チトクローム b5 レダクターゼ、レドックス色素とキノンを還元し、キノンとその前駆体によって引き起こされる癌から保護し得る。対応する遺伝子における突然変異はベンゼンの血液毒性 (benzene hematotoxicity) の危険増加と関連する。
21	7503427CD1	722688 Id4a_A	2.5E-42	[タンパク質データバンク]キノンレダクターゼ

表 2 - 1 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
22	7503547CD1	g181553	1.6E-91	[ヒト]ヒドロプロテリジン還元酵素 (EC 1.6.99.7) (Lockyer, J. 他. (1987) Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 84:3329-3333) [タンパク質データベース]ヒドロプロテリジン還元酵素(Dhpr)
22	7503547CD1	726758 1hdr_	1.1E-92	[ヒト] [オキシドレダクターゼ]ヒドロプロテリジン還元酵素、ジヒドロピオプテリンの NADH 依存性還元を触媒する。芳香アミノ酸のプロテリン依存性ヒドロキシ ル化系 (hydroxylating systems) に必要である。
22	7503547CD1	337462 QDPR	1.4E-92	
22	7503547CD1	718799 1dhr_	4.1E-73	[タンパク質データベース]ヒドロプロテリジン還元酵素(Dhpr)(E.C.1.6.99.7)
22	7503547CD1	628635 Qdpr	4.1E-73	[ラット][オキシドレダクターゼ]ヒドロプロテリジン還元酵素、ヒト QDPR に対し てとても強い類似性を有する。ヒト QDPR はキノイドジヒドロピオプテリンを還 元し、芳香アミノ酸のプロテリン依存性ヒドロキシル化系に必要である。
22	7503547CD1	249586 T03F6.11.2E-43		[線虫] ヒト キノイドジヒドロプロテリジン還元酵素 (QDPR) に対して強い類似 性を有するタンパク質(Hs.75438)
23	1932641CD1	g4159682	2.4E-281	[チャイニーズハムスター (Cricetulus griseus)]ホスファチジルグリセロリン酸シ ンターゼ (Kawasaki, K.(1999) J. Biol. Chem. 274:1828-1834)
23	1932641CD1	605378 DKFZp 762M186	3.6E-145	[ヒト] 未知の機能のタンパク質、出芽酵母 (<i>S. cerevisiae</i>) Pgs1p の領域に 対して類似性が低い。Pgs1p はホスファチジルグリセロリン酸シンターゼであ る。
23	1932641CD1	715208 PGS1	4.5E-60	[発芽酵母 (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>)] [トランスフェラーゼ][小胞体; 原 形質膜; ミトコンドリア外膜; ミトコンドリア]ホスファチジルグリセロリン酸シンター ゼ、カルジオリピン合成経路の最初の酵素

表 2 - 1 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
23	1932641CD1	646720 orf6.8484.6E-58 1		[鷲口瘡カンジダ(<i>Candida albicans</i>)] [トランスフェラーゼ] 出芽酵母 (<i>S. cerevisiae</i>) Pgs1p に対して類似性が高いタンパク質、Pgs1p はホスファチジルセロリン酸シンターゼであり、カルジオリン合成経路の最初の酵素であり、ホスホリパーゼ D/transphosphatidylase ファミリーのメンバーである。
23	1932641CD1	657982 SPBP18.1.4E-38 G5.02		[分裂酵母 (<i>Schizosaccharomyces pombe</i>)] 推定的ホスファチジルセロリン酸シンターゼ、カルジオリン合成経路の最初の酵素
24	6892447CD1	g12484149	6.1E-62	[ごま葉枯病菌(<i>Cochliobolus heterostrophus</i>)] ペプチド合成酵素様タンパク質
24	6892447CD1	424014 KIAA0934	0.0	[ヒト]1つの AMP 結合ドメインを含有するタンパク質
24	6892447CD1	424244 KIAA0184	0.0	[ヒト]1つの AMP 結合ドメインを含有するタンパク質
25	7503416CD1	g12655193	0.0	[ヒト]ホスホエノールピルビン酸カルボキシナーゼ 2(ミトコンドリア)
25	7503416CD1	341026 PCK2	0.0	[ヒト][リアーゼ;他のキナーゼ][細胞質;ミトコンドリア]ホスホエノールピルビン酸カルボキシナーゼ、オキサロ酢酸の脱炭酸反応によりホスホエノールピルビン酸の形成(糖新生の律速過程)を触媒する。
25	7503416CD1	368648 Pck1	2E-240	[マウス][リアーゼ;他のキナーゼ][細胞質]ホスホエノールピルビン酸カルボキシナーゼ、オキサロ酢酸の脱炭酸反応によりホスホエノールピルビン酸の形成を触媒する。

表 2 - 1 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
25	7503416CD1	336802 PCK1	7E-238	[ヒト][リアーゼ,他のキナーゼ][細胞質]Cyto Solic ホスホエノールピルビン酸 カルボキシキナーゼ (GTP) (GTP:オキサロ酢酸カルボキシ-リアーゼ(リン酸転 移)), オキサロ酢酸の脱炭酸反応によりホスホエノールピルビン酸の形成 (糖 新生の律速過程)を触媒する。 Rucktaschel, A. K. 他. (2000) Biochem. J. 352:211-217 Regulation by glucagon (cAMP) and insulin of the promoter of the human phosphoenolpyruvate carboxykinase gene (cytosolic) in cultured rat hepatocytes and in human hepatoblastoma cells
25	7503416CD1	249071 R11A5. 4	2.9E-195	[線虫][リアーゼ][ミトコンドリアマトリックス,ミトコンドリア]ホスホエノールピルビン 酸カルボキシキナーゼタンパク質ファミリーのメンバー
25	7503416CD1	251847 W05G1 1.6	6.5E-189	[線虫][リアーゼ][ミトコンドリアマトリックス,ミトコンドリア]ホスホエノールピルビン 酸カルボキシキナーゼタンパク質ファミリーのメンバー
26	7503874CD1	g3335098	7.6E-241	[ヒト] CD39L2 (Chadwick, B.P. および Frischauf, A.M. (1998) Genomics 50:357-367)
26	7503874CD1	339194 ENTPD 6	6.7E-242	[ヒト][ヒドロラーゼ, ATPase]CD39 様ファミリーのメンバー、推定的 ecto- apyrase
26	7503874CD1	339198 ENTPD 5	4.2E-97	[ヒト][ヒドロラーゼ, ATPase]CD39 様ファミリーのメンバー、推定的 ecto- apyrase

表 2 - 1 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
26	7503874CD1	583749 Entpd5	3.5E-87	[マウス][他のホスファターゼヒドrolラーゼ][小胞体: 細胞質]小胞体ヌクレオシ ドホスファターゼ、UDP を UMP に加水分解する。小胞体における糖タンパ ク質折りたたみと品質管理に關与する再グルコシル化を促進し得る。CD39 様ファミリーのメンバー
27	7503454CD1	g12314236	2.9E-115	[ヒト]bA127L20.1 (新規グルタチオンS トランスフェラーゼ)
27	7503454CD1	340658 GSTTL p28	7.5E-79	[ヒト][トランスフェラーゼ]グルタチオン依存性チオールトランスフェラーゼ活性と グルタチオン依存性デヒドロアスコルビン酸レダクターゼ活性を有する GST オ メガクラスタンパク質の 1 ファミリーのメンバー Board, P. G. 他. (2000) J. Biol. Chem. 275:24798-24806 Identification, characterization, and crystal structure of the omega class glutathione transferases.
27	7503454CD1	718283 leem_A	7.5E-79	[タンパク質データベース]グルタチオン S トランスフェラーゼ
27	7503454CD1	429880 Gsttl	4.2E-68	[マウス][小分子結合タンパク質][核:細胞質]グルタチオンを結合するが、明 白なトランスフェラーゼまたはペルオキシダーゼ活性を有さない GST-様タンパ ク質の 1 ファミリーのメンバー
27	7503454CD1	248040 K10F12 .4	2.2E-28	[線虫 (Caenorhabditis elegans)][トランスフェラーゼ][細胞質]グルタチオン S-トランスフェラーゼタンパク質ファミリーのメンバー、ヒトと出芽酵母 (<i>S. cerevisiae</i>) のグルタチオン S トランスフェラーゼに対して類似性がある。
27	7503454CD1	242759 F13A7 10	8.6E-25	[線虫 (Caenorhabditis elegans)][トランスフェラーゼ][細胞質]グルタチオン S-トランスフェラーゼタンパク質ファミリーのメンバー、ヒトと出芽酵母 (<i>S. cerevisiae</i>) のグルタチオン S トランスフェラーゼに対して類似性がある。
28	7503528CD1	g12654777	1.6E-110	[ヒト]グルタチオン S-トランスフェラーゼサブユニット 13 相同体

表 2 - 1 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
29	7503705CD1	g1504040	7.8E-89	[ヒト] (D86983)キイロシヨウジョウバエ ペルオキシダシン (peroxidasin) (U11052)に類似 (Nagase,T. 他. (1996) DNA Res. 3:321-329.)
29	7503705CD1	628843 D2S448	6.8E-90	[ヒト]ペルオキシダシン(黒色腫関連)、シヨウジョウバエのペルオキシダシンに対して類似性を有する。、シヨウジョウバエのペルオキシダシンは細胞外マトリクス関連ペルオキシダーゼである。 (Horikoshi, N. 他. (1999) Isolation of differentially expressed cDNAs from p53-dependent apoptotic cells: activation of the human homologue of the Drosophila peroxidasin gene. Biochem. Biophys. Res. Commun. 261:864-869.)
29	7503705CD1	344170 EPX	4E-27	[ヒト]オキシドレダクターゼ[好酸球ペルオキシダーゼ、反応性オキシダントの発生による細胞外病原体に対する宿主防御に関与する。喘息や他の慢性炎症症状の組織損傷において役割を果たし得る (Henderson, J. P. 他. (2001) Bromination of deoxycytidine by eosinophil peroxidase: a mechanism for mutagenesis by oxidative damage of nucleotide precursors. Proc. Natl. Acad. Sci. U S A 98:1631-1636.)
30	7503707CD1	g1504040	0.0	[ヒト] (D86983)キイロシヨウジョウバエ ペルオキシダシン(U11052)に類似 (Nagase,T. 他. (1996) DNA Res. 3:321-329.)
30	7503707CD1	628843 D2S448	0.0	[ヒト]ペルオキシダシン(黒色腫関連)、シヨウジョウバエのペルオキシダシンに対して類似性を有する。シヨウジョウバエのペルオキシダシンは細胞外マトリクス関連ペルオキシダーゼである。 (Horikoshi, N. 他. (1999) 前出)

表 2 - 1 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
30	7503707CD1	429244 Tpo	1.4E-129	[マウス][オキシドレクターゼ]甲状腺ペルオキシダーゼ、甲状腺ホルモンの合 成に必要である。ラット相合体 Rn.9957 の発現は TSH により誘発される (Kotani, T. 他. (1993) Nucleotide sequence of the cDNA encoding mouse thyroid peroxidase. Gene 123:289-290、Nguyen, L. Q. 他. (2000) A dominant negative CREB (cAMP response element-binding protein) isoform inhibits thyrocyte growth, thyroid-specific gene expression, differentiation, and function. Mol. Endocrinol. 14:1448-1461.)
31	90001962CD1	g7533024	1.4E-189	[ヒト]オキシステロール 7 α -ヒドロキシラーゼ(Li-Hawkins, J. 他(2000) J. Biol. Chem. 275:16543-16549)。
31	90001962CD1	476053 CYP39 A1	1.3E-190	[ヒト][オキシドレクターゼ; 小分子結合タンパク質][小胞体細胞質、ミクロ ソーム分画]オキシステロール 7 α -ヒドロキシラーゼ、オキシステロールを 7 α ヒ ドロキシル化胆汁酸に変換するミクロソームチトクローム P450 酵素、24-ヒ ドロキシコレステロールを好む。肝臓で発現する。 (Li-Hawkins, J. 他.(2000) 前出)

表 2 - 1 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
31	90001962CD1	340310 CYP7B 1	8.7E-39	[ヒト][オキシドレクターゼ; 小分子結合タンパク質][小胞体;ミクロソーム分画;細胞質]オキシステロール 7 α -ヒドロキシラーゼ、チトクローム P450 酵素、胆汁酸生成の酸性経路で機能する。対応する遺伝子での突然変異は重度の新生児胆汁鬱滞性肝疾患を引き起こす。 (Setchell, K. D. 他. (1998) Identification of a new inborn error in bile acid synthesis: mutation of the oxysterol 7 α phal-hydroxylase gene causes severe neonatal liver disease. J. Clin. Invest. 102:1690-1703)。
31	90001962CD1	583943 Cyp7b1	5.2E-38	[マウス][オキシドレクターゼ;輸送体;小分子結合タンパク質]おそらく脳ステロイド代謝において機能するチトクローム P450、主に脳で発現される (Stapleton, G. 他. (1995) A novel cytochrome P450 expressed primarily in brain. J. Biol. Chem. 270:29739-29745)。
32	70819231CD1	g4760647	4.5E-190	[ヒト]ホスホリパーゼ(Tani, K. 他. (1999) p125 is a novel mammalian Sec23p-interacting protein with structural similarity to phospholipid-modifying proteins. J. Biol. Chem. 274:20505-20512.)
32	70819231CD1	423709 KIAA0 725	0.0	[ヒト]ヒト P125 の領域に対して高い類似性を有するタンパク質、ヒト P125 は Sec23-相互作用タンパク質であり、ホスファチジン酸をより好むホスホリパーゼ A1 に対して類似性を有し、初期分泌経路において作用し得る。

表 2 - 2 0

【 表 2 - 2 0 】

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
32	70819231CD1	428430 P125	3.9E-191	[ヒト]小分子結合タンパク質[ゴルジ小胞体,細胞質]Sec23-相互作用タンパク質、ホスファチジル酸をより好むホスホリパーゼA1 に対して高い類似性を有し、COPII 小胞コートタンパク質 Sec23p に結合する。また初期分泌経路において役割を有し得る。 (Tani, K. 他. (1999) 前出、Mizoguchi, T. 他. (2000) Determination of functional regions of p125, a novel mammalian Sec23p-interacting protein. Biochem. Biophys. Res. Commun. 279:144-149.)
33	7504066CD1	g189246	1.3E-71	[ヒト] NAD(P)H:メナジオンオキシシドレダクターゼ(Jaiswal, A. K. 他.(1988) J. Biol. Chem. 263:13572-13578 を参照)。
33	7504066CD1	331838 Rn.11231.7E-108 4		[ラット]オキシシドレダクターゼ[細胞質]キノレダクターゼ (NAD(P)H:メナジオンオキシシドレダクターゼ)、ストレス応答で機能するキノンを標的とするサイトゾルレダクターゼ、ヒト DIA4 欠乏症は増加したベンゼンの血液毒性、尿路結石症、様々な癌と関連する (Jaiswal, A. K. (1991) Human NAD(P)H:quinone oxidoreductase (NQO1) gene structure and induction by dioxin. Biochemistry 30:10647-10653、Yonehara, N. 他. (1997) Involvement of nitric oxide in re-innervation of rat molar tooth pulp following transection of the inferior alveolar nerve. Brain Res. 757:31-36.)
34	90001862CD1	g2443331	3.1E-258	[アフリカツメガエル]Nfr1(Hatada, S. 他. (1997) Gene 194 (2), 297-299)
34	90001862CD1	715427 F20D6. 5.2E-82 11		[線虫]オキシシドレダクターゼ]推定上のオキシシドレダクターゼ、ヒトおよび出芽酵母 (S. cerevisiae) ジヒドロリポアミド・デヒドロゲナーゼに対して弱い類似性を有する。

【表 2 - 2 1】

表 2 - 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
34	90001862CD1	372246 SPAC2 9A4.01c	1.5E-28	[分裂酵母 (Schizosaccharomyces pombe)] 推定アラビタンパク質
34	90001862CD1	718217 ld7y_A	5.4E-28	[タンパク質データベース] フェレドキシンレダクターゼ
34	90001862CD1	339966 PDCD8	1.3E-23	[ヒト] オキシドレダクターゼ; 小分子結合タンパク質 [核、細胞質、ミトコン ドリア] プログラム細胞死 8 (Programmed cell death 8) (アポトーシス誘発因 子)、カスパーゼ非依存性アポトーシス性プロテアーゼ活性化因子およびフラ ビンタンパク質、クロマチン凝縮と DNA 断片化において或る役割を果たすた めにミトコンドリアから核へ移動する。
34	90001862CD1	704471 Pdcd8	1.6E-22	[ラット] プログラム細胞死 8 (Programmed cell death 8) (アポトーシス誘発 因子)、誘発された光受容体アポトーシス中に DNA 断片化において或る役 割を果たすためにミトコンドリアから核へ移動するアポトーシス活性化因子
35	7503046CD1	g1854550	1.4E-230	[マウス] red-1 (Kurooka, H. 他. (1997) Genomics 39 (3), 331-339)
35	7503046CD1	326490 Nxn	1.2E-231	[マウス] [オキシドレダクターゼ] [核] 推定上 nucleoredoxin、転写因子の DNA 結合ドメインでシステイン残基を修飾し得る
36	7503211CD1	g181333	6E-232	[ヒト] ステロイド 11-β-ヒドロキシラーゼ (Mornet, E. 他. (1989) J. Biol. Chem. 264 (35), 20961-20967)
36	7503211CD1	709557 CYP11 B1	5.2E-233	[ヒト] [オキシドレダクターゼ; 小分子結合タンパク質] [細胞質、ミトコンドリア] ステロイド 11-β-ヒドロキシラーゼ、11 デオキシコルチゾールをコルチゾールに 変換するチトクローム P450、欠乏症は高血圧性先天性副腎過形成を引 き起こす、他の遺伝子との遺伝子の融合はアルドステロン合成の疾患と関 連する。

表 2 - 2 2

【 表 2 - 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
36	7503211CD1	709559 CYP11B2	5.5E-216	[ヒト]オキシレダクターゼ輸送体:小分子結合タンパク質[チトクローム P450 サブファミリーXIB ポリペプチド 2、アルドステロンを合成する。対応する遺伝子の突然変異は高アルドステロン症、アルドステロンシクターゼ欠乏症タイプ I、コルチコステロンメチルオキシダーゼ I 欠乏症、心臓肥大を引き起こす。
36	7503211CD1	697979 Cyp11b2	1.6E-157	[ラット]オキシレダクターゼ[アルドステロンシクターゼ、チトクローム P450 11-β ヒドロキシラーゼ/アルドステロン-2 シクターゼ、11-デオキシコルチコステロンをアルドステロン、コルチコステロン、18-ヒドロキシコルチコステロンに変換する。
36	7503211CD1	422985 Cyp11b1	3.9E-156	[ラット]オキシレダクターゼ輸送体:小分子結合タンパク質[P450 11-β ヒドロキシラーゼ、11-デオキシコルチコステロンをコルチコステロンと 18-ヒドロキシコルチコステロンに転換するために、副腎内でミネラルコルチコイドとグルココルチコイドの合成で作用する。
36	7503211CD1	590009 Cyp11b	4.2E-146	[ラット]オキシレダクターゼ輸送体:小分子結合タンパク質[チトクローム P450 11β、11 デオキシコルチコステロンをコルチコステロンと 18-ヒドロキシ 11 デオキシコルチコステロンに変換するために、ミネラルコルチコイドの合成成において作用する。血圧の制御に役立ち得る。
37	7503264CD1	g4960208	9.5E-151	[ヒト]無機ピロホスファターゼ(Fairchild,T.A. 他. (1999) Biochim. Biophys. Acta 1447 (2-3), 133-136)
37	7503264CD1	622055 PP	8.3E-152	[ヒト][他のホスファターゼ:ヒドロラーゼ]無機ピロホスファターゼ、ピロリン酸塩の無機リン酸への加水分解を触媒する(Pi)。

表 2 - 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
37	7503264CD1	439569 C47E12 4	6.7E-76	[線虫 (<i>Caenorhabditis elegans</i>)] [他のホスファターゼ: ヒドロラーゼ] [細胞質] 無機ピロホスファターゼタンパク質ファミリーのメンバー
37	7503264CD1	697512 SID6- 306	6.0E-75	[ヒト] 無機ピロホスファターゼ (PP) への高い類似性を有するタンパク質
37	7503264CD1	5980 IPP1	7.6E-75	[出芽酵母菌 (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>)] [他のホスファターゼ: ヒドロラー ゼ] [細胞質] 無機ピロホスファターゼ、細胞質
37	7503264CD1	717086 Ic6a_A	1.2E-74	[タンパク質データベース] 無機ピロホスファターゼ
38	90120235CD1	g2408127	7.9E-19	[クルーズ トリパノソマ (<i>Trypanosoma cruzi</i>)] [グリコシルホスファチジルイノシ トール-特異的ホスホリパーゼ C (Redpath, M.B. 他 (1998) Mol. Biochem. Parasitol. 94 (1), 113-121)
39	90014961CD1	g2634852	2.4E-20	[枯草菌] [グリセロホスホジェステルホスホジェステラーゼ] に類似 (Kunst, F. 他, (1997) Nature 390 (6657), 249-256)
39	90014961CD1	370061 SPAC4 D7.02c	2.7E-13	[分裂酵母 (<i>Schizosaccharomyces pombe</i>)] [グリセロホスホリルジェステルホ スホジェステラーゼ] に対して弱い類似性を有するタンパク質
40	7503199CD1	g3293241	5.9E-81	[ヒト] サイクリック AMP 特異的ホスホジェステラーゼ HSPDE4A1A (Sullivan, M. 他, (1998) Biochem. J. 333, 693-703)。
40	7503199CD1	344690 PDE4A	5.2E-82	[ヒト] [ヒドロラーゼ] [原形質膜] 抗鬱薬ロリプラムに対して感受性を有する cAMP-特異的ホスホジェステラーゼ、シオウジョウバエ <i>dnc</i> に対して類似性 を有する。シオウジョウバエ <i>dnc</i> は学習と記憶の突然 <i>dunce</i> において影響を 受けたタンパク質である。 (Huston, E. 他 (1996) J. Biol. Chem. 271:31334-31344)。

表 2 - 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
40	7503199CD1	329794 Pde4a	9.8E-71	[ラット][ヒドロラーゼ][細胞質]抗鬱薬ロリプラムに対して感受性を有する cAMP-特異的ホスホエステラーゼ、ショウジョウバエ dnc に対して類似性 を有する。学習と記憶の突然変異 dunce において影響を受けたタンパク質 である。 (Davis, R. L. 他. (1989) Proc. Natl. Acad. Sci. U S A 86:3604-3608.)
41	7511530CD1	g4151815	6.5E-21	[ヒト]ウロポルフィリノーゲンデカルボキシラーゼ
41	7511530CD1	606326 UROD	5.2E-22	[ヒト][リアーゼ]ウロポルフィリノーゲンデカルボキシラーゼ、ヘム合成経路に おいてウロポルフィリノーゲン I または III のコプロポルフィリノーゲンへの変換を 触媒する。UROD 遺伝子における突然変異群は家族性晩発性皮膚ポル フィリン症と肝造血性ポルフィリン症を引き起こす
41	7511530CD1			Phillips, J. D. 他., A mouse model of familial porphyria cutanea tarda., Proc Natl Acad Sci U S A 98, 259-264. (2001)。
41	7511530CD1			McManus, J. F. 他., Five new mutations in the uroporphyrinogen decarboxylase gene identified in families with cutaneous porphyria., Blood 88, 3589-600. (1996).
42	7511535CD1	g4151815	4.2E-136	[ヒト]ウロポルフィリノーゲンデカルボキシラーゼ
42	7511535CD1	606326 UROD	3.4E-137	[ヒト][リアーゼ]ウロポルフィリノーゲンデカルボキシラーゼ、ヘム合成経路に おいてウロポルフィリノーゲン I または III のコプロポルフィリノーゲンへの変換を 触媒する。UROD 遺伝子における突然変異群は家族性晩発性皮膚ポル フィリン症と肝造血性ポルフィリン症を引き起こす
42	7511535CD1			Phillips, J. D. 他.(前出)
42	7511535CD1			McManus, J. F. 他.(前出)
43	7511536CD1	g2905794	9.2E-169	[ヒト]ウロポルフィリノーゲンデカルボキシラーゼ

表 2 - 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
43	7511536CD1	606326 UROD	8.4E-169	[ヒト]リアーゼ]ウロポルフィノーゲンデカルボキシラーゼ、ヘム合成経路においてウロポルフィノーゲン I または III のコプロポルフィノーゲンへの変換を触媒する。UROD 遺伝子における突然変異群は家族性晩発性皮膚ポルフィリン症と肝造血性ポルフィリン症を引き起こす
43	7511536CD1			Phillips, J. D. 他.(前出)
43	7511536CD1			McManus, J. F. 他.(前出)
44	7511583CD1	g12653601	7.7E-73	[ヒト]キノイドジヒドロプロテリジン還元酵素
44	7511583CD1	337462 QDPR	1.3E-73	[ヒト][オキシドレダクターゼ]キノイドジヒドロプロテリジン還元酵素、ジヒドロピオブテリンの NADH 依存性還元を触媒する。芳香アミノ酸のプテリン依存性ヒドロキシル化系に必要である。対応する遺伝子の突然変異は異型フェニールケトン尿症を引き起こす。
44	7511583CD1			Sumi-Ichinose, C. 他., Catecholamines and Serotonin Are Differently Regulated by Tetrahydrobiopterin. A STUDY FROM 6-PYRUVOYL-TETRAHYDROPTERIN SYNTHASE KNOCKOUT MICE., J Biol Chem 276, 41150-60. (2001).
44	7511583CD1	628635 Qdpr	5.8E-71	[ラット][オキシドレダクターゼ]キノイドジヒドロプロテリジン還元酵素、ジヒドロピオブテリンの NADH 依存性還元を触媒する。ヒト QDPR の突然変異は異型フェニールケトン尿症を引き起こす。
44	7511583CD1			Pereon, Y. 他, Chronic stimulation differentially modulates expression of mRNA for dihydropyridine receptor isoforms in rat fast twitch skeletal muscle., Biochem Biophys Res Commun 235, 217-22 (1997)。

【表 2 - 2 6】

表 2 - 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
45	7511395CD1	g516150	6.1E-242	[ヒト]UDP-グルクロノシルトランスフェラーゼ(Jin, C. J. 他., (1993) Biochem. Biophys. Res. Commun. 194, 496-503)
45	7511395CD1	338810 UGT2B 10	4.9E-243	[ヒト][トランスフェラーゼ][小胞体: 細胞質]UDP グリコシルトランスフェラーゼ 2 ポリペプチド B10、基質がまだ見出されていない 1UDP-グルクロノシルトラ ンスフェラーゼ、基質の極性を不活化して増やす、またより容易に排出される ことを可能にするグルクロン酸抱合においてある役割を果たすらしい。
45	7511395CD1			Turgeon, D. 他., Relative Enzymatic Activity, Protein Stability, and Tissue Distribution of Human Steroid-Metabolizing UGT2B Subfamily Members., Endocrinology 142, 778-787. (2001)。
45	7511395CD1	344906 UGT2B 11	1.4E-223	[ヒト][トランスフェラーゼ][小胞体: 細胞質]UDP グリコシルトランスフェラーゼ 2 ポリペプチド B11、基質がまだ見出されていない 1UDP-グルクロノシルトラ ンスフェラーゼ、基質の極性を不活化して増やす、またより容易に排出される ことを可能にするグルクロン酸抱合においてある役割を果たすらしい。
45	7511395CD1			Strassburg, C. P. 他. Polymorphic Gene Regulation and Interindividual Variation of UDP-glucuronosyltransferase Activity in Human Small Intestine., J Biol Chem 275, 36164-36171 (2000)。
46	7511647CD1	g4808241	3.4E-31	[ヒト]dJ466N1.2 (グリシン C-アセチルトランスフェラーゼ(2-アミノ-3-ケト酪酸 補酵素 A リガーゼ))

表 2 - 2 7

【 表 2 - 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
46	7511647CD1	569126 GCAT	2.7E-32	[ヒト]2つのアミノトランスフェラーゼクラス I と II ドメインを含むタンパク質、アミノトランスフェラーゼクラス I と II ドメインは或るポリドキシサル依存性酵素で見出されている。セリンパルミトイルトランスフェラーゼ長鎖塩基サブユニット 1 (ヒト SPTLC1) に対して低い類似性を有する。ヒト SPTLC1 はセラミド生成に関与する。 [マウス]未知の機能のタンパク質、赤血球の特異的デルタアミノレブリン酸シントナーゼ(ヒト ALAS2)の或る領域に対して中程度の類似性を有する。ヒト ALAS2 はヘムの生成の第一ステップを触媒する。
46	7511647CD1	587005 Gcat	2.8E-19	
47	7510335CD1	g12653261 339036 ACAD VL	5.7E-130 4.6E-131	[ヒト]アシル補酵素 A デヒドロゲナーゼ、超長鎖 [ヒト]オキシドレダクターゼ[細胞質、ミトコンドリア]超長鎖アシル補酵素 A デヒドロゲナーゼ、脂肪酸β酸化の開始ステップにおいて直鎖アシル CoA を酸化する。遺伝子の突然変異による欠損が乳幼児突然死候群、肥大型心筋症を引き起こす (Aoyama, T. 他. (1995) Am J Hum Genet 57:273-283)。
48	7510337CD1	589769 Acadv1	1.4E-104	[ラット]オキシドレダクターゼ[細胞質、ミトコンドリア]超長鎖アシル補酵素 A デヒドロゲナーゼ、長鎖脂肪酸のβ酸化における律速酵素である。 Aoyama, T. 他 (1994) J Biol Chem 269:19088-19094.
		g12653261	0.0	[ヒト]アシル補酵素 A デヒドロゲナーゼ、超長鎖

表 2 - 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
		339036 ACAD VL	0	[ヒト][オキシレダクターゼ][細胞質、ミトコンドリア]超長鎖アシル補酵素 A デヒドロゲナーゼ、脂肪酸 β 酸化の開始ステップにおいて直鎖アシル CoA を 酸化する。また遺伝子の突然変異による欠損が乳幼児突然死候群、肥 大型心筋症を引き起こす (Aoyama, T. 他. (1995) Am J Hum Genet 57:273-283)。
		608019 Acadvl	1.8E-278	[マウス][オキシレダクターゼ][細胞質、ミトコンドリア]超長鎖アシル補酵素 A デヒドロゲナーゼ、長鎖脂肪酸の β 酸化に関与する。 She, P. 他. (2000) Mol. Cell. Biol. 20:6508-6517.
49	7510353CD1	g14603061	4.8E-227	[ヒト] ファルネシル 2 リン酸シンターゼ(ファルネシルピロリン酸シンターゼ、ジ メチルアリルトランストランスフェラーゼ、ガラニルトランストランスフェラーゼ)
50	7510470CD1	g181333	4E-200	[ヒト]ステロイド 11- β -ヒドロキシラーゼ
51	7504648CD1	g790447	4.2E-253	[ヒト]超長鎖アシル CoA デヒドロゲナーゼ (Andresen, B. S. 他. (1996) Hum. Mol. Genet. 5:461-472.)

表 2 - 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
51	7504648CD1	339036 ACAD VL	3.5E-254	[ヒト]オキシレダクターゼ[細胞質、ミトコンドリア]超長鎖アシル補酵素 A デヒドロゲナーゼ、脂肪酸β酸化の開始ステップにおいて直鎖アシル CoA を 酸化する。また重大な欠乏が致死率の高い新生児心筋症、中程度の欠 乏が低ケトン性低血糖症 (hypoketotic hypoglycemia) を引き起こす Aoyama, T. 他. Am J Hum Genet 57, 273-83 (1995); Aoyama, T. 他. Biochem Biophys Res Commun 191, 1369-72 (1993); Strauss, A. W. 他. Proc Natl Acad Sci U S A 92, 10496-500 (1995); Bonnet, D. 他. Circulation 100, 2248-53. (1999); Andresen, B. S. 他. Am J Hum Genet 64, 479-94. (1999).
52	7512747CD1	g4454690	3.1E-95	[ヒト] グルタチオン S-トランスフェラーゼサブユニット 13 相同体 (Zhang, Q. H. 他., (2000) Genome Res. 10, 1546-1560)
52	7512747CD1	475637 LOC51 064	2.4E-96	[ヒト] 2-ヒドロキシクロメン(hydroxychromene)-2-カルボン酸イソメラーゼタ ンパク質ファミリーのメンバー、このファミリーは原核生物の多環芳香族炭化 水素(PAH)異化作用に関与する。、特徴付けられていない線虫 ZK1320.1 に対し低い類似性を有する。
53	7510146CD1	g181333	1.3E-171	[ヒト]ステロイド 11-β-ヒドロキシラーゼ(Mornet,E. 他. (1989) J. Biol. Chem. 264 (35), 20961-20967)

表 2 - 3 0

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
53	7510146CD1	709557[CYP11 B1	2.8E-172	[ヒト]オキシレダクターゼ、小分子結合タンパク質][細胞質、ミトコンドリア] ステロイド 11-β-ヒドロキシラーゼ、11 デオキシコルチゾールをコルチゾールに 変換する或るチトクローム P450、欠乏症は高血圧性先天性副腎過形成 を引き起こす、他の遺伝子との遺伝子の融合はアルドステロン合成の疾患と 関連する。 Pascoe, L. 他. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 89, 8327-8331 (1992)。
53	7510146CD1	697979[Cyp11b 2	9.2E-112	[ラット]オキシレダクターゼ]チトクローム P450 サブファミリー-XIB ポリペプチド 2(アルドステロンシンターゼ)、11-βヒドロキシラーゼ-アルドステロン-2 シンタ ーゼ活性を有し、発現は繊維性肝臓(fibrotic liver)または高カリウムあるい は低ナトリウムで上方制御される。そして心臓肥大発症において役割を有し 得る。 Imai, M. 他. FEBS Lett. 263, 299-302 (1990)。

表 3 - 1

【 表 3 - 1 】

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
------------	------------------	---------	-----------	-------------	---------------------	--------------

1	7499940CD1	409	S8 S74 S104 S105 S121 S140 S145 S150 S152 S263 S320 S321 S351 S404 T25 T81 T179 T194 T235 T252 T365 T388		3'5'-サイクリックヌクレオチドホスホジエステラーゼ: D155-R199	HMMER_PFAM
---	------------	-----	--	--	--	------------

ホスホジエステラーゼ 4A CAMP CAMP-依存性 BLAST_PRODOM
3' 5 サイクリック DPDE2 ヒドロラーゼ 選択的スプライシング PD023907: D200-P408

CAMP-依存性 3' 5'サイクリック ホスホジエステラ BLAST_PRODOM
ーゼ ヒドロラーゼ CAMP 選択的スプライシング 多
重遺伝子族 PD023901: G22-S89

ホスホジエステラーゼ CAMP CAMP-依存性 3' 5' BLAST_PRODOM
サイクリック ヒドロラーゼ 選択的スプライシング 多
重遺伝子族 PD007678: F108-D155

3'5'-サイクリックヌクレオチド ホスホジエステラー BLAST_DOM0
ゼ:DM02037|P27815|1-245: M1-S245

DM07721|P27815|759-885: E282-T409 BLAST_DOM0
DM00370|P27815|343-722: D155-M246 BLAST_DOM0
DM00370|P14645|95-473: D155-E243 BLAST_DOM0

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
2	3329870	CD1 418	S33 S86 S96 S155 N220 N325 S164 S198 S222 S241 S280 S358 S399 S406 T132 T246 T271 T342		タンパク質 類似 ヒト ヒドロキシビタミン D3 誘導 C04E12.11 β ARRESTIN C04E12.12 R06B9.3 PD004148: V23-A240	BLAST_PRODOM
3	7500698	CD1 154	S20 T55 T100 T106		NiRu-様 N 末端ドメイン: L34-K147	HMMER_PFAM
					タンパク質 NIFU 窒素 プラスミド部分の固定化 NIFU-様遺伝子産物 PD002743: Y35-Q144	BLAST_PRODOM
					NIFU; 固定化; 窒素; YOR226C; DM02171	BLAST_DOMO
					[C64064 25-137: Y35-A132	BLAST_DOMO
					[S60953 24-137: R33-A132	BLAST_DOMO
					[P20628 1-118: V49-A132	BLAST_DOMO
					[P05343 1-112: Y35-A132	BLAST_DOMO
4	7500223	CD1 363	S174 S217 S237 S284 S320 S343 T139 T166 T274	S174 S217 S237 S263 N278 N332	signal_cleavage: M1-G39	SPSCAN
					シグナルペプチド: M22-A36, M22-G39, M22-A44, M22-L45	HMMER
					アリールエステラーゼ: G23-L363	HMMER
					サイトゾル内ドメイン: M1-R20	HMMER_PFAM
					膜貫通ドメイン:	HMMER_PFAM
						TMHMMER
						TMHMMER
						TMHMMER

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
5	7500295CD1 342	S153 S196 S216 S263 S299 S322 T118 T145 T253	S153 S196 S216 S263 S299 S322 T118 T145 T253	N242 N257 N311 signal_cleavage.M1-G18	A21-L43	TMHMMER
					非サイトソノル内ドメイン:	TMHMMER
					A44-L363	TMHMMER
					血清パラオキシナーゼ/アリアル	BLIMPS_PRODOM
					PD02637: R53-L107, E150-I178, T179-E226, BLIMPS_PRODOM	
					G227-E257, V290-I315, Q316-L363	BLIMPS_PRODOM
					血清 芳香族ヒドロラーゼ 糖タンパク質 エステラー	BLIMPS_PRODOM
					ゼ パラオキシナーゼ/アリアルエステラーゼ シグナル	
					A-エステラーゼ ARYLDIACYLPHOSPHATASE	
					PD005046: E70-L363	BLAST_PRODOM
					血清 芳香族ヒドロラーゼ 糖タンパク質 エステラー	BLIMPS_PRODOM
					ゼ パラオキシナーゼ/アリアルエステラーゼ シグナル	
					A-エステラーゼ ARYLDIACYLPHOSPHATASE	
					PD005529: M22-I69	BLAST_PRODOM
					血清 パラオキシナーゼ/アリアルエステラーゼ	BLAST_DOMO
					DM07178	BLAST_DOMO
					P54832 1-353: M22-L363	BLAST_DOMO
					P27169 1-353: R24-L363	BLAST_DOMO
						SPSCAN
					シグナルペプチド:	HMMER

表 3 - 4

SEQ ID NO:	Incyte ポリ アミノ酸 ペプチド ID 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
6	7502095CD1416	S46 S73 S94 S126N253 S154 S325 S390 T43 T51 T140 T235 T320		M1-A15, M1-G18, M1-A23, M1-L24	HMME
				アリンエステルゼ: G2-L342	HMME_PFAM
				血清パラオキソナーゼ/アリン	BLIMPS_PROD
				PD02637: R32-L86, E129-I157, T158-E205,	BLIMPS_PROD
				G206-E236, V269-I294, Q295-L342	BLIMPS_PROD
				血清 芳香族ヒドロラーゼ 糖タンパク質 イステラーゼ	BLAST_PROD
				パラオキソナーゼ/アリンエステルゼ シグナル	BLAST_PROD
				A-エステルゼ ARYLDIARYLPHOSPHATASE	BLAST_PROD
				PD005046: E49-L342	BLAST_PROD
				血清 芳香族ヒドロラーゼ 糖タンパク質 イステラーゼ	BLAST_PROD
6	7502095CD1416	S46 S73 S94 S126N253 S154 S325 S390 T43 T51 T140 T235 T320		パラオキソナーゼ/アリンエステルゼ シグナル	BLAST_PROD
				A-エステルゼ ARYLDIARYLPHOSPHATASE	BLAST_PROD
				PD005529: M1-I48	BLAST_PROD
				血清 パラオキソナーゼ/アリンエステルゼ	BLAST_PROD
				DM07178	BLAST_PROD
				P54832 1-353: M1-L342	BLAST_PROD
				P27169 1-353: R3-L342	BLAST_PROD
				アミトランスフェラーゼクラス I および II	HMME_PFAM
				A90-V402	HMME_PFAM
					HMME_PFAM

表 3 - 5

【 表 3 - 5 】

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
アミノトランスフェラーゼクラス II ピリドキサルリン酸付着部位:						
BL00599: A65-S73, S93-A121, S147-I156, D224-G236						
アミノトランスフェラーゼクラス II ピリドキサルリン酸付着部位:						
G236-Y285						
2-アミノ-3 ケト酪酸 COA リガーゼ EC 2.3.1.29 リ						
ガーゼ トランスフェラーゼ アシルトランスフェラーゼ						
PD168670: M1-I30						
アミノトランスフェラーゼクラス II ピリドキサルリン酸付着部位:						
DM00464						
P07912 3-390: L31-G405						
P53556 1-382: A65-G405						
P26505 1-394: F63-V404						
P08262 1-393: I60-V404						
7 7500507CD1.550						
S365 S397 S531 N47 N191 N225						
T124 T195 T317 Y125						
signal_cleavage:M1-A15						
SPSCAN						
シグナルペプチド:						
M1-G17						
アミノレブリン酸シンターゼドメイン:						
F106-R181						
HMMER						
HMMER						
HMMER_PFAM						
HMMER_PFAM						

【表 3 - 6】

表 3 - 6

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
					アミノトランスフェラーゼクラス I および II: A184-L499	HMMER_PFAM HMMER_PFAM
					アミノトランスフェラーゼクラス II ピリドキサル-リン酸付着部位: BL00599: D122-T130, G187-A215, S243-I252, D320-G332, I345-T351	BLIMPS_BLOCKS BLIMPS_BLOCKS BLIMPS_BLOCKS
					アミノトランスフェラーゼクラス II ピリドキサル-リン酸付着部位: S330-F380	PROFILESCAN PROFILESCAN
					シンターゼ 酸 トランスフェラーゼ アシルトランスフェラーゼ 5-アミノレブリン酸 デルタ-アミノレブリン酸 デルタ-ALA 合成酵素 赤血球-特異的 ミトコンドリア前駆体	BLAST_PRODUM BLAST_PRODUM
					PD013126: M1-T101	BLAST_PRODUM BLAST_PRODUM
					シンターゼ 酸 トランスフェラーゼ 5-アミノレブリン酸 デルタ-アミノレブリン酸 デルタ-ALA 合成酵素 ミトコンドリア前駆体 ヘム	BLAST_PRODUM BLAST_PRODUM
					PD001038: L481-G542	BLAST_PRODUM BLAST_PRODUM
					シンターゼ トランスフェラーゼ 酸 合成酵素 生成 5-アミノレブリン酸 デルタ-アミノレブリン酸 アシルトランスフェラーゼ デルタ-ALA ヘム	BLAST_PRODUM BLAST_PRODUM

【表 3 - 7】

表 3 - 7

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
8	7500840CD1 142	S11 S83 T41 T42			PD001058; Y138-S193	BLAST_PRODOM
					シンターゼ トランスフェラーゼ 酸 デルタ-アミノレブリン酸 5-アミノレブリン酸 デルタ-ALA 合成酵素	BLAST_PRODOM
					トコンドリア前駆体 ヘルム	
					PD003154; F106-A147	BLAST_PRODOM
					アミノトランスフェラーゼ クラス II ピリドキサール-リン酸 付着部位:	BLAST_DOM0
					DM00464	BLAST_DOM0
					P22557 142-538; V105-A502	BLAST_DOM0
					P43090 138-533; F106-L500	BLAST_DOM0
					P07997 191-587; F106-L500	BLAST_DOM0
					P43091 183-580; F106-W503	BLAST_DOM0
					アミノトランスフェラーゼ クラス II ピリドキサール-リン酸 付着部位:	MOTIFS
					T351-G360	MOTIFS
					シグナルペプチド: M1-W24	HMME
					フレドキシニン[2FE-2S]	BLAST_DOM0
					DM00144	BLAST_DOM0
					Q10361 517-620; V68-E131	BLAST_DOM0
					S61012 59-162; V68-E131	BLAST_DOM0
					アドレノドキシニンファミリー、鉄硫黄結合領域シグネチャ	MOTIFS
					C105-H115	MOTIFS

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
チトクロム C ファミリーヘム結合部位シグネチャ						
C111-V116						
MOTIFS						
9	7493620CD1524	S97 S131 S142 S297 S416 T70 T81 T83 T205 T244 T248 T503 Y235	N66 N314 N477	シグナルペプチド: M1-S18, M1-S21, M1-G23, M1-C22, M1-G20	HMIMER	
UDP-グルコノシル(glucoronosyl)および UDP-グルコシルトランスフェラーゼ: G23-K522						
サイトゾル内ドメイン:						
Y511-E524						
膜貫通ドメイン:						
V488-I510						
非サイトゾル内ドメイン:						
M1-D487						
UDP-グリコシルトランスフェラーゼタンパク質						
BL00375: S33-L55, C126-P166, P189-N212, I254-C281, F294-G343, N345-P389, H444-Y483						
UDP-グリコシルトランスフェラーゼシグネチャ						
N373-T414						
BLIMPS_BLOCKS						
BLIMPS_BLOCKS						
BLIMPS_BLOCKS						
BLIMPS_BLOCKS						
PROFILES CAN						
PROFILES CAN						

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
					トランスフェラーゼ、グリコシルトランスフェラーゼタンパク質、UDP-グルクロノシルトランスフェラーゼ 前駆体 シグナル 膜貫通 UDP-GT 糖タンパク質ミクロソーム	BLAST_PRODOM
					PD000190: G23-T324, I386-E524, S297-P431	BLAST_PRODOM
					UDP-グルクロノシル及び UDP-グルコシルトランスフェラーゼ	BLAST_DOMO
					DM00367	BLAST_DOMO
					P36537 186-460: F186-F457	BLAST_DOMO
					P17717 188-462: F186-F457	BLAST_DOMO
					P16662 187-461: F186-F457	BLAST_DOMO
					P36538 187-461: I187-F457	BLAST_DOMO
10	7494697CD1300	S20 S95 S198 S207 T8 T18 T202 Y296	N246		亜鉛結合デヒドロゲナーゼ:	HMMER_PFAM

D21-D300
HMMER_PFAM
NADP-依存性 オキシドレダクターゼ NADP タンパク質
ロイコトリエン B4 12 ヒドロキシデヒドロゲナーゼ
推定 15-オキソプロスタグランジン 13-還元酵素
PD005709: R3-R51
亜鉛含有アルコール デヒドロゲナーゼ
DM00064
S47093|9-327: L9-D300
BLAST_PRODOM
BLAST_DOMO
BLAST_DOMO
BLAST_DOMO

【表 3 - 1 0】

表 3 - 1 0

SEQ ID NO:	Incyte 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
11	8146738CD1483	S89 S112 S194 S394 S424 S431 T67 T383 T450 Y337			S57611 3-340: L9-E293	BLAST_DOMO
					S58197 17-359: F22-N246	BLAST_DOMO
					S57614 290-616: V68-Y245	BLAST_DOMO
					signal_cleavage:M1-A21	SPSCAN
					シグナルペプチド:	HMMER
					M1-A16, M1-I18, M1-A21, M1-Q23	HMMER
					グリコシル ヒドロラーゼ ファミリー:	HMMER_PFAM
					Y22-D366	HMMER_PFAM
					キチナーゼファミリー 18 タンパク質	BLIMPS_BLOCKS
					BL01095: G98-T108, F133-G144, F355-D366	BLIMPS_BLOCKS
					ヒドロラーゼ グリコシダーゼ タンパク質 キチナーゼ 前駆体 シグナル 糖タンパク質 キチン 分解 エンド キチナーゼ	BLAST_PROD0M
					PD000471: T29-S322, E168-D366	BLAST_PROD0M
					キチナーゼ ファミリー 18 タンパク質	BLAST_DOMO
					DM00467	BLAST_DOMO
					S27879 27-365: Y27-D366	BLAST_DOMO
					P36222 27-356: Y27-D366	BLAST_DOMO
					S51327 27-356: Y27-D366	BLAST_DOMO
					I48271 27-357: Y27-D366	BLAST_DOMO
					キチナーゼファミリー 18 活性化部位:	MOTIFS
					F133-E141	MOTIFS

表 3 - 1 1

【 表 3 - 1 1 】

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
12	7500114CD1	254	S17 S69 S78 S130 S183 S244 T118 T251		シグナルペプチド: M4-S25, M4-G27, M1-G27	HMMER
					HMGL-様: R41-V247	HMMER_PFAM HMMER_PFAM
					ヒドロキシメチルグルタルル-補酵素 A リアーゼタンパク質	BLIMPS_BLOCKS
					BL01062: T107-I142, M143-D186, S187-G232	BLIMPS_BLOCKS
					ヒドロキシメチルグルタルル CoA リアーゼ 前駆体	BLAST_PRODUM
					HMGCoA HL 3 ヒドロキシ 3 メチルグルタル酸	
					CoA ミトコンドリア 輸送 ペプチド 疾患	
					PD023169: M1-P40	BLAST_PRODUM
					リアーゼ シンターゼ ビルビン酸 2-イソプロピルリンゴ酸	BLAST_PRODUM
					カルボキシラーゼ ピオチン タンパク質 ホモクイン酸 生合成 α -イソプロピルリンゴ酸	
					PD000608: V117-I235, R41-E72	BLAST_PRODUM
					ヒドロキシメチルグルタルル-補酵素 A リアーゼ	BLAST_DOMO
					DM08710	BLAST_DOMO
					P35915 3-297: A115-L254, P30-L131	BLAST_DOMO
					P13703 1-300: A115-A250, V33-L131	BLAST_DOMO

表 3 - 1 2

【 表 3 - 1 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
ヒドロキシメチルグルタルル-補酵素 A リア-ゼ活性 MOTIFS						
化部位						
S188-Y197						
MOTIFS						
プレニル化:						
C252-L254						
MOTIFS						
signal_cleavage:M1-C51						
SPSCAN						
13	7500197CD1	374	S29 S34 S46 S64 T95 T177 T255 Y117 Y259			
シグナルペプチド:						
M1-A21						
HMME						
ポリプレニル合成酵素:						
R110-Q337						
HMME PFAM						
ポリプレニル合成酵素タンパク質						
BL00723: G121-V131, D169-C183, T255-M280,						
BLIMPS_BLOCKS						
M301-K323						
BLIMPS_BLOCKS						
ファルネシルピロリン酸合成酵素 FPP FPS ニリ						
ン酸 含む:ジメチルアリルトランスフェラーゼ ゲラニル						
トランストランスフェラーゼ トランスフェラーゼ						
PD122945: M67-R110						
BLAST_PRODOM						
ポリプレニル合成酵素						
DM00371						
BLAST_DOM0						
P14324 7-267: S73-Y311						
BLAST_DOM0						
B34713 7-267: D74-Y311						
BLAST_DOM0						

表 3－1 3

【 表 3－1 3 】

SEQ ID NO:	Incyte 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	7500145CD1 327		S103 S115 S187 N60 S277 T82 Y189		P08524 2-264; K80-Y311	BLAST_DOM0
					P49349 2-261; A77-Y311	BLAST_DOM0
					ポリプレニル合成酵素シグネチャ 1:	MOTIFS
					L166-G174	MOTIFS
					signal_cleavage:M1-A21	SPSCAN
					シグナルペプチド: M1-A21, M1-L24, M1-C26	HMMER
					グリコシルヒドロラーゼファミリー- 18: V199-D301, Y22-L198	HMMER_PFAM
					キチナーゼファミリー- 18 タンパク質	BLIMPS_BLOCKS
					BL01095: G97-S107, F132-G143, L290-D301	BLAST_PROD0M
					ヒドロラーゼ グリコシダーゼ タンパク質 キチナーゼ 前駆体 シグナル 糖タンパク質 キチン 分解 エンド キチナーゼ	
					PD000471: Y22-F205, L198-D301, Y22-I61	
					軟骨糖タンパク質 39 39 KD 滑膜タンパク質 YKL40 キチナーゼ 3 様 1 糖タンパク質 シグナル PD164290: S30-I66	BLAST_PROD0M
					キチナーゼ ファミリー- 18 DM00467 P36222 27-356: Y27-F205, L198-D301	BLAST_DOM0
					DM00467 S51327 27-356: Y27-L198, L198-D301	
					DM00467 I48271 27-357: Y27-L198, L198-D301	

【表 3 - 1 4】

表 3 - 1 4

SEQ ID NO:	Incyte 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
DM00467 S61550 27-357: Y27-L198, L198-D301						
15	7500874CD1207		S103 S115 S122 N60 S157 T82		signal_cleavage: M1-A21	SPSCAN
シグナルペプチド: M1-A21, M1-L24, M1-C26						
グリコシルヒドロラーゼファミリー- 18: G129-D181, Y22-R128						
軟骨 糖タンパク質 39 39 KD 滑液 タンパク質						
YKL40 キチナーゼ 3 様 1 糖タンパク質 シグナル						
PD164290: S30-I66						
ヒドロラーゼ グリコシダーゼ タンパク質 キチナーゼ						
前駆体 シグナル 糖タンパク質 キチン 分解 エンド						
キチナーゼ						
PD000471: Y22-D167, P141-D181, Y22-I61						
キチナーゼファミリー- 18						
DM00467 S61550 27-357: Y27-R128, I123-D181						
DM00467 I48271 27-357: Y27-R128, I123-D181						
DM00467 P36222 27-356: Y27-Q169, I123-D181						
DM00467 S51327 27-356: Y27-Q148, I123-						

【表 3 - 1 5】

表 3 - 1 5

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
------------	------------------	---------	-----------	-------------	---------------------	--------------

D181

16	7500495CD1 169	S34 S82 S137			signal_cleavage: M1-A28	SPSCAN
17	7500194CD1 360	S21 S199 S205 T329 T340	N222 N349		シグナルペプチド: M6-G29	HMMER
					アシル-CoA デヒドロゲナーゼ、N-末端ドメイン: W111-A191	HMMER_PFAM
					アシル-CoA デヒドロゲナーゼ、中ドメイン: C193-L301	HMMER_PFAM
					アシル-CoAデヒドロゲナーゼタンパク質 BL00072: L117-E127, Y219-G231, G268-F308	BLIMPS_BLOCKS
					アシル-CoAデヒドロゲナーゼシグネチャ: L194-T250	PROFILERSCAN
					タンパク質 デヒドロゲナーゼ アシル-CoA 酸化還元酵素 フラビンタンパク質 FAD オキシダーゼ 脂 肪酸代謝	BLAST_PRODOM
					PD000396: V71-T285, V71-A357	
					アシル-CoA デヒドロゲナーゼ 超長鎖 特異的 前 駆体 VLCAD オキシドレクターゼ フラビンタンパク 質 FAD 脂肪	BLAST_PRODOM
					PD015520: M1-Q46, A44-V71	

【表 3 - 1 6】

表 3 - 1 6

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	7500873CD1 305	S25 S37 S109 S157 S255 T4 Y111			アシル-CoAデヒドロゲナーゼ: DM00853 P48818 85-478; D63-V338 DM00853 P45857 1-377; L72-A357 DM00853 P45867 3-379; L72-E343 DM00853 Q06319 3-383; L114-V338 アシル-CoAデヒドロゲナーゼシグネチャ 1: C193- S205	BLAST_DOMO
					グリコシルヒドロラーゼファミリー 18: M1-D279	HMMER_PFAM
					キチナーゼファミリー 18 タンパク質 BL01095: G19-S29, F54-G65, L268-D279	BLIMPS_BLOCKS
					ヒドロラーゼ グリコシダーゼ タンパク質 キチナーゼ 前駆体 シグナル 糖タンパク質 キチン 分解 イン キチナーゼ	BLAST_PRODOM
					PD000471: K6-T229, H140-D279, D55-K80	
					キチナーゼ ファミリー 18 DM00467 P36222 27-356; M1-D279 DM00467 S51327 27-356; L2-D279 DM00467 I48271 27-357; L2-D279 DM00467 S61550 27-357; L2-D279	BLAST_DOMO
					糖輸送タンパク質シグネチャ 2: F130-R155	MOTIFS
					signal_cleavage: M1-T28	SPSCAN
					グリコシルヒドロラーゼファミリー 18: M1-D201	HMMER_PFAM
19	7500873CD1 227	S31 S79 S177 Y33				

【表 3 - 1 7】

表3-17

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
ヒドロラーゼ グリコシダーゼ タンパク質 キチナーゼ BLAST_PRODOM						
前駆体 シグナル 糖タンパク質 キチン 分解 エンド キチナーゼ						
PD000471: K13-T151, H62-D201						
キチナーゼ ファミリー 18 BLAST_DOM0						
DM00467 P36222 27-356: M1-D201						
DM00467 S51327 27-356: M1-D201						
DM00467 I48271 27-357: M1-D201						
DM00467 S61550 27-357: M1-D201						
糖輸送タンパク質 シグネチャ 2: F52-R77 MOTIFS						
20	7503491CD1346	潜在的リン酸化部 潜在的グリコシル化			ウロポルフィリノーゲン デカルボキシラーゼ(URO-D): L14-H339	HMMER_PFAM
位: S86 S292 T58 部位: N16						
ウロポルフィリノーゲン デカルボキシラーゼ タンパク BLIMPS_BLOCKS						
質 BL00906: L280-Y290, R311-L320, F19-Y42, R127-P164, Q165-F208						
ウロポルフィリノーゲン デカルボキシラーゼ リアーゼ BLAST_PRODOM						
ポルフィリン 合成 UPD メチルトランスフェラーゼ						
トランスフェラーゼ ヘム A PD003225: Q71-H337, K15-L73						

表 3 - 1 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
21	7503427CD1 193		潜在的リン酸化部位: S21 S61 S159 S171 T38 T52	潜在的グリコシル化部位: N19	ウロポルフィリノーゲン デカルボキシラーゼ	BLAST_DOMO
					DM01567	
					P06132 I1-366: Q71-N346, F11-L73	
					P32347 4-361: Q71-K338, F11-Q71	
					P29680 1-353: L68-S340, E13-L73	
					P32395 3-352: L70-R341, E13-T69	
					Atp_Gtp_A: A270-T277	
					Urod_1: P32-R41	
					Urod_2: G132-G147	
						MOTIFS
21	7503427CD1 193		潜在的リン酸化部位: S21 S61 S159 S171 T38 T52	潜在的グリコシル化部位: N19	NAD(P)H デヒドロゲナーゼ(キノン): D41-Q175	MOTIFS
						MOTIFS
						MOTIFS
21	7503427CD1 193		潜在的リン酸化部位: S21 S61 S159 S171 T38 T52	潜在的グリコシル化部位: N19		HMME PFAM

オキシドレダクターゼ NADPH タンパク質 推定上 BLAST_PRODUM
デヒドロゲナーゼ キノン 還元酵素 アゾ還元酵素
フィロキノン メナジオン PD004598: G102-E180

NADPH デヒドロゲナーゼ キノン 還元酵素 アゾ還元 BLAST_PRODUM
元酵素 フィロキノン メナジオン オキシドレダクター
ゼ NAD NADP PD016667: M1-Y68

【表 3 - 1 9】

表 3 - 1 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
NADPH デヒドロゲナーゼ キノン 2 EC 1.6.99.2 還元酵素 DTDIAPHORASE アゾ還元酵素 フィロキノン メナジオン オキシレダクターゼ NAD NADP フラビンタンパク質 FAD 多重遺伝子族 PD099728: M166-Q193						
NAD: オキシレダクターゼ; デヒドロゲナーゼ; SPOIIIc; DM02281 P16083 39-219: D96-P182, V39-V109						
NAD: オキシレダクターゼ; デヒドロゲナーゼ; SPOIIIc; DM02281 P15559 39-219: F100-P182, S40-V109						
Signal_cleavage: M1-A64						
SPSCAN						
短鎖アルコールデヒドロゲナーゼ/レダクターゼファミリシグネチャ: G98-V152						
ジヒドロプロテリジン還元酵素 HDHPR キノイド テト ラヒドロピオブテリン 生成 オキシレダクターゼ NADP 3D 構造 フェニールケトン尿症 PD038408: V36-V178, G8-L53						
A55R; 還元酵素; 末端; ジヒドロプロテリジン; DM00099 P09417 78-113: E47-T83						
Adh_Short: A106-A134						
MOTIFS						
BLAST_DOM0						

【表 3 - 2 0】

表 3 - 2 0

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
23	1932641	CD1556	潜在的リン酸化部位 位: S35 S49 S102 S143 S175 S313 N390 T243 T333 T374 T402 Y352	潜在的グリコシル化部位 位: N213 N236	シグネチャ配列、ドメインおよびモチーフ	SPSCAN
O-ホスファチジル-トランスフェラーゼ CDP-ジアシルBLAST_PROD0M グリセロールセリン ホスファチジルセリン シンターゼ リン脂質 合成 膜 推定上 ミトコンドリア PD014389: N85-L522						
PEL1; シンターゼ; ホスファチジルセリン; BLAST_DOM0 DM05669 P25578 1-145: R84-N213 ホスファチジル転移酵素; ジアシルグリセロール; BLAST_DOM0 CDP; CDP ジアシルグリセロール; DM07147 P44704 1-454: N85-E298, M308-F555						
24	6892447	CD11558	潜在的グリコシル化部位: N205 N494 N612 N1383	AMP 結合酵素: T1005-V1477, T353-I499, V706-R805	AMP-結合モチーフへの類似性 PD147817: L645-C1006; PD170422: F1478-M1558, I842-V914	HMMER_PFAM

表 3－2 1

【 表 3－2 1 】

SEQ ID NO:	Incylt 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
染色体タンパク質 I 膜貫通 YOR3170C FROM BLAST_PRODOM						
XV C22F3.04 C56F8.02 PD016696: S1260-L1540						
SPAC22F3.04; DM05110 Q10250 778-1480: H872-Y1556, T341-E847						
SPAC22F3.04; DM05110 S62419 703-1389: H1031-R1537						
SPAC22F3.04; DM05110 Q09773 693-1389: H1031-R1537						
MASC; DM08837 Q10976 56-610: Q979-R1537, P382-S898, A846-G894						
潜在的リン酸化部位: S31 S81 S82 S84 S116 S120 S137 S139 S253 S257 S333 S361 S615 S631 S655 S717 S802 S852 S947 S955 S1165 S1210 S1236 S1247 S1251 S1313 S1348 S1406 S1471 S1493 S1531 T12 T125 T131 T201 T266 T340 T374 T420 T503 T533 T668 T702 T853 T984 T1058 T1073						
Crystallin_Betagama: I1043-T1058 MOTIFS						
ホスホエノールピルビン酸カルボキシナーゼ: D46-HMMER_PFAM P456, K457-M608						

25	7503416CD1 608	潜在的リン酸化部位: S23 S51 S115 S136 S187 S535 T29 T66 T75				
----	----------------	--	--	--	--	--

表 3 - 2 2

SEQ ID NO:	Incyte ポリ アミノ酸 ペプチド ID 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
				ホスホエノールピルビン酸カルボキシナーゼ(GTP) BLIMPS_BLOCKS タンパク質 BL00505: G339-A365, A367-E389, W404-I446, P441-L484, P495-G532, K88-P121, G132-G175, V176-G195, D204-P217, W228-L258, L266-L318 ホスホエノールピルビン酸 カルボキシナーゼ (GTP)シグネチャ: H282-I330 ホスホエノールピルビン酸 カルボキシナーゼ GTP BLAST_PRODOR カルボキシラーゼ リアーゼ デカルボキシラーゼ GTP-結合 糖新生 PEPCK CYto SOLIC PD004738: D46-K457, K457-M608 ホスホエノールピルビン酸カルボキシナーゼ, ミトコ BLAST_PRODOR ンドリア前駆体 GTP EC 4.1.1.32 カルボキシラーゼ PEPCKM 糖新生リアーゼデカルボキシラーゼ GTP-結合ミトコンドリア輸送ペプチド マンガン PD144568: M1-R45 ホスホエノールピルビン酸カルボキシナーゼ(GTP) BLAST_DOMO DM01781 P05153 15-621: V32-F466, K457-M608 P20007 40-646: G35-D464, K457-M608 P29190 9-617: G35-G458, K457-K607 Q05893 30-640: V32-G458, G458-V605 Pepck_Gtp: F302-N310 MOTIFS	

表 3 - 2 3

SEQ ID NO:	Incye 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
26	7503874CD1	450	潜在的リン酸化部位: S10 S14 S33 S37 S238 S301 S317 S395 T9 T93 T134 T286 T420	潜在的グリコシル化部位: N220 N284	Cyto Solic ドメイン: M1-S37 膜貫通ドメイン: L38-I60 非 Cyto Solic ドメイン: K61-S450	TMHMMER
Signal_cleavage: M29-A77						
GDA1_CD39 GDA1/CD39 (ヌクレオシドホスファターゼ)ファミリー						
ヌクレオシドホスファターゼタンパク質 BL01238 の GDA1/CD39 ファミリー: G248-F261, I104-F118, P176-R186, M219-K240						
CD39L2 PD175837: V310-S450; PD172427: M1-G97						
ヒドロラーゼ 膜貫通 タンパク質						
ヌクレオシド トリリン酸分解酵素						
NTPASE 前駆体 ATP ジホスホヒドロラーゼ						
PD003822: V100-S293, E191-V310, F394-G433						

表 3 - 2 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
27	7503454CD1 209		潜在的リン酸化部位: S28 S35 S138 部位: N128 Y64	潜在的グリコシル化	活性化; ヌクレオシド; 抗原; リンパ; DM02628 P32621 84-517: T93-R303, N332-A434 P52914 35-454: Y102-L307, F345-L442 P40009 1-462: T134-R303, Y102-T134, K422-Y438 I56242 40-471: V100-G298	BLAST_DOMO
28	7503528CD1 214		潜在的リン酸化部位: S188 T149 Y12	潜在的グリコシル化	グルタチオン S トランスフェラーゼ PF000043: I72- S101 2-ヒドロキシクロメン(hydroxychromene)-2-カルボン酸異性体: T7-E200	BLIMPS_PFAM
29	7503705CD1 332		S59 S184 S189 T34 Y103 Y214	潜在的リン酸化部位: N152 N221	イソメラゼ タンパク質 S トランスフェラーゼ 染色体 ジオキシゲナーゼ 2 ヒドロキシクロメン 2-カルボニン酸 プラスミド THE グルタチオン ミトコンドリア PD008447: R6-G199	SPSCAN
29	7503705CD1 332		S59 S184 S189 T34 Y103 Y214	潜在的リン酸化部位: N152 N221	シグナルペプチド: M1-C18, M1-G21, M1-P23, M1-C24, M1-C28, M1-P20, M1-S26	HMMER

【表 3 - 2 5】

表 3 - 2 5

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
フォンウィルブランド因子タイプ C ドメイン: C264-C319						
HMMER_PFAM						
ペルオキシダーゼ 酸化還元酵素 前駆体 シグナル ヘム 糖タンパク質 タンパク質 類似 ミエロペルオキシダーゼ 好酸球 PD001354: L56-F141						
BLAST_PRODOM						
ミエロペルオキシダーゼ						
DM01034 S46224 911-1352: L56-C167						
DM01034 P11678 282-714: L56-Q165						
DM01034 P05164 310-743: Y57-D166						
DM01034 B28894 395-828: Y57-D166						
BLAST_DOMO						
VWFC domain signature: C283-C319						
MOTIFS						
30	7503707CD1 1316	S90 S167 S171	N271 N387 N401	signal_cleavage: M1-P23	SPSCAN	HMMER_PFAM
		S233 S310 S500	N529 N626 N705	シグナルペプチド: M1-C18, M1-G21, M1-P23, M1-C24, M1-C28, M1-P20, M1-S26	HMMER	
		S554 S613 S627	N717 N1068	動物 ヘム ペルオキシダーゼ: K726-Q1265	HMMER_PFAM	
		S634 S696 S719	N1161 N1283	ロイシンリッチリピート: R147-D170, Q51-K74, S123-L146, N75-E98, N99-I122	HMMER_PFAM	
		S871 S903 S929		ロイシンリッチリピート C 末端ドメイン: N180-Q232	HMMER_PFAM	
		S1164 S1190 T34				
		T53 T117 T141				
		T225 T254 T347				
		T389 T424 T472				
		T504 T520 T566				
		T628 T639 T710				
		T823 T1070				
				免疫グロブリンドメイン: G344-A400, G248-A307, G525-A582, C440-A490	HMMER_PFAM	

表 3 - 2 6

SEQ ID NO:	Incyte ポリ アミノ酸 ペプチド ID 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
------------	----------------------------	------------	--------------	---------------------	--------------

T1123 Y303
Y1234
動物 ヘム ペルオキシダーゼ シグネチャ PR00457: BLIMPS_PRINTS
R751-R762, M802-T817, F954-T972, T972-
W992, V997-G1023, T1050-I1060, D1177-
W1197, L1248-D1262

ペルオキシダーゼ 酸化還元酵素 前駆体 シグナ
ル ヘム 糖タンパク質 タンパク質 類似 ミエロペルオ
キシダーゼ 好酸球 PD001354: K1166-F1272

タンパク質 ZK994.3 K09C8.5 ペルオキシダシ
(peroxidase) 前駆体シグナル PD144227:
N584-K726

ペルオキシダーゼ 酸化還元酵素 前駆体 シグナ
ル ミエロペルオキシダーゼ ヘム 糖タンパク質 アスコ
ルビン酸 カタラーゼ L アスコルビン酸 PD000217:
Y727-A784, F1086-T1163, R825-K931

HEMICENTIN 前駆体 シグナル 糖タンパク質
EGF 様ドメイン HIM4 タンパク質 選択的スプライ
シング PD066634: P234-C398, N401-C580

ミエロペルオキシダーゼ
DM01034|S46224|911-1352: C859-C1298
DM01034|P09933|284-735: A857-D1297
DM01034|P35419|276-725: C859-D1297
DM01034|P11678|282-714: F862-Q1296

BLAST_DOMO

【表 3 - 2 7】

表 3 - 2 7

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	90001962CD 449 1	S88 S198 S218 S271 S298 S379 S389 S418 T77 T104 T162 T238 T315 T325 Y173 Y337	S88 S198 S218 S271 S298 S379 S389 S418 T77 T104 T162 T238 T315 T325 Y173 Y337	N156 N194	シグナルペプチド: M1-Q22	HMMER
					チトクロム P450: W264-L412, P29-M73	HMMER_PFAM
					サイトゾル内ドメイン:Q22-G247	TMHMMER
					膜貫通ドメイン:I4-L21, L248-L270	
					非サイトゾル内ドメイン: M1-L3, S271-I449	
					E-クラス P450 グループ I シグネチャ PR00463:	BLIMPS_PRINTS
					R57-A76, A262-G288, S348-K372, F384-C394, C394-C417	
					E-クラス P450 グループ II シグネチャ PR00464:	BLIMPS_PRINTS
					L50-G70, S271-G288, K304-I324, G342-K357, Y358-A373, L381-C394, C394-C417	
					E-クラス P450 グループ IV シグネチャ PR00465:	BLIMPS_PRINTS
P29-G46, E51-T74, P244-L270, L305-P321, Y337-W351, H353-K371, H378-C394, C394-L412						
チトクロム P450		BLAST_DOMO				
DM00022 S50211 59-488: W252-E438						
DM00022 S45039 89-486: A253-L419						
DM00022 P51538 59-488: L112-E438						
DM00022 P24462 59-488: Y147-Y415						
32	70819231CD 711 1	S6 S12 S24 S35 S73 S367 S373 S442 S447 S489 S503 S624 S626	S6 S12 S24 S35 S73 S367 S373 S442 S447 S489 S503 S624 S626	N200 N301	DDHD ドメイン: L495-Q700	HMMER_PFAM
					SAM ドメイン(不妊 α モチーフ): D383-K445	HMMER_PFAM
					WWE ドメイン: S35-R112	HMMER_PFAM

表 3 - 2 8

【 表 3 - 2 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
33	7504066CD1 236		S593 S624 S626 S670 T114 T145 T184 T193 T279 T303 T318 T389 T420 T443 T514 T529 T614 T618 Y125 Y525		タンパク質 染色体 ホスファチジン酸をより好む ホ スホリパーゼ A1 類似性 over A 短 PD014530: F267-Q364, L653-E697, C530-L586, I213- S243	BLAST_PRODOM
			S13 S52 S102 S189 T57 T158	signal_cleavage: M1-F18 NAD(P)H デヒドロゲナーゼ(キノン): D41-E175	SPSCAN HMMER_PFAM	
リボソームタンパク質 S5 シグネチャ: I50-S114 PROFILESCAN						
NADPH デヒドロゲナーゼ キノン還元酵素 アゾ還元酵素 元酵素 フィロキノン メナジオン オキシレダクター ゼ NAD NADP PD022346: S154-K236 PD016667: M1-Y68						
オキシレダクターゼ NADPH タンパク質 推定上 BLAST_PRODOM デヒドロゲナーゼ キノン還元酵素 アゾ還元酵素 フィロキノンメナジオン PD004598: K103-Y153, A75-Q101						
NAD: オキシレダクターゼ; デヒドロゲナーゼ; SPOMC; DM02281 P15559 39-219:: F66-P182, E39- Q101 DM02281 P16083 39-219: D96-P182, S40- Q101						

表 3 - 2 9

【 表 3 - 2 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
------------	------------------	---------	-----------	-------------	---------------------	--------------

34	90001862CD	598	S32 S36 S63 S138N43 N136 S219 S300 S305 S359 S414 S521 S576 T45 T212 T244 T277 T316 T319 T352 T550 T594 Y164		Rieske [2Fe-2S] ドメイン: V68-S168	HMMER_PFAM
	1					
					ピリジヌクレオチド-ジスルフィド酸化還元酵素: N196-N478 FAD 依存性ピリジヌクレオチドレダクターゼシグネチャ PR00368: L293-K302, N334-S359, D421-F435, V462-V469, N196-F218 ピリジヌクレオチドジスルフィド還元酵素 クラス II シグネチャ PR00469: N196-F218, A330-K354, R388-E404, V422-L443, T457-W475 鉄硫黄 電子 輸送 PD02042: V93-G119, V126-G140 TAMEGOLOH PD067039: M1-A71 タンパク質 TAMEGOLOH EG:22E5.5 推定上フ ラビンタンパク質 C26F1.14C 類似 オキシレダクターゼ PD020901:Y512-E586 オキシレダクターゼ フラビンタンパク質 FAD 還元 酵素 レドックス活性 中心 デヒドロゲナーゼ タンパク質 NADP NAD PD000139: L288-D421, V418-E506, D77-L95	HMMER_PFAM BLIMPS_PRINTS BLIMPS_PRINTS BLIMPS_PRODOR BLAST_PRODOR BLAST_PRODOR

【表 3 - 3 0】

表 3 - 3 0

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
ピリジン ヌクレオチドジスルフィド 酸化還元酵素 ク BLAST_DOM0						
ラス-I DM00071						
P17052 1-243: V197-P431						
P43494 1-242: N196-P431						
Q07946 1-243: S194-A432						
P37337 1-243: V197-A432						
35	7503046CD1435		S93 S189 S218 S242 S335 S381 S401 T142 T396		signal_cleavage: M1-S43	SPSCAN
チオレドキシンファミリ-タンパク質 BL00194: BLIMPS_BLOCKS						
G197-R209						
チオレドキシンファミリ-シグネチャ PR00421: BLIMPS_PRINTS						
V196-W204, W204-R213, G271-D282						
タンパク質 抗酸化 ペルオキシダーゼ PD00210: BLIMPS_PROD0M						
V196-L211						
NUCLEOREDOXIN RED1 遺伝子 PD084980: BLAST_PROD0M						
H308-I435						
NUCLEOREDOXIN RED1 遺伝子 PD077508: BLAST_PROD0M						
M1-Q101						
タンパク質 レドックス活性 中心 T13D8.29 BLAST_PROD0M						
TRYPAREDOXIN NUCLEOREDOXIN RED1 遺						
伝子 PREDICTED II PD150301: Y246-W307, D102-W165						
タンパク質 T13D8.29 レドックス活性 中心 チオレ BLAST_PROD0M						
ドキシン C35B1.5 R05H5.3 コスミド F29B9						
F17B5.1 PD004855: S190-Y246						

表 3 - 3 1

【 表 3 - 3 1 】

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
36	7503211CD1437		S249 S350 T71 T326 T372 T411 T432		signal_cleavage: M1-A23	SPSCAN
					チトクロム P450: P42-G400, V401-A435 ミトコンドリア P450 シグネチャ PR00408: F193-L211, R332-L345, T360-V378, W116-L131 E-クラス P450 グループ II シグネチャ PR00464: H194-V212, A303-A331, R332-A349, E361-F381 チトクロム P450 電子 輸送 オキシレダクターゼ 前駆体 モノオキシゲナーゼ 膜 ヘム ステロイド PD002412: M1-W49	HMMER_PFAM BLIMPS_PRINTS BLIMPS_PRINTS BLAST_PRODOM
					チトクロム P450 DM00022 P15538 84-494: G84-L402 P19099 84-494: G84-L402 P15150 83-494: L83-L402 P30099 94-501: G84-L402	BLAST_DOMO
37	7503264CD1271		S5 S204 T82 T214 T228 T260	N226	無機ピロホスファターゼ: H27-A211	HMMER_PFAM
					無機ピロホスファターゼ タンパク質 BL00387: F26-M40, D54-K91, G115-D145 無機ピロホスファターゼシグネチャ: A78-G124	BLIMPS_BLOCKS PROFILESCAN

表 3 - 3 2

【 表 3 - 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
					無機ピロホスファターゼ EC 3.6.1.1 ピロリン酸ホスホヒドロラーゼ PPASE マグネシウム PD095166: L212-N271	BLAST_PRODOM
					無機ピロホスファターゼ ピロリン酸 PPASE ヒドロラーゼ マグネシウム PHOSPHO 可溶性タンパク質ホスホヒドロラーゼ PD002014: H27-A211	
					無機ピロホスファターゼ DM0100	
					IP37980 33-227: V19-K210	
					IP13998 29-227: V25-K210	
					IP28239 62-260: H27-D207	BLAST_DOMO
					IP19117 31-228: K23-K210	
					無機ピロホスファターゼシグネチャ: D98-V104	
					MOTIFS	
38	90120235CD	341	S95 S118 S239 S252 T26 T101 T198 T201 T250 T268 T300	N99 N236	signal_cleavage: M1-D58	SPSCAN
39	90014961CD	314	S44 S86 S164 S247 T78 T95 T269 Y112	N100 N311	signal_cleavage: M1-G14	SPSCAN
グリセロホスホリル ジエステル ホスホジエステラーゼ HMER_PFAM H45-R306						

表 3 - 3 3

【 表 3 - 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
40	7503199CD1 271	S8 S74 S104 S105 S125 S182 S183 S213 S266 T25 T81 T114 T227 T250			サイトゾル内ドメイン:K25-L199 膜貫通ドメイン:A5-L24, F200-I22 非サイトゾル内ドメイン: M1-T4, R223-A314 タンパク質 ヒドロラーゼ ホスホジェステラーゼ グリセ BLAST_PROD0M ロホスホリル ジエステテル グリセロホスホジェステルグ リセロール 代謝 前駆体 染色体 PD002136: I43-K153	TMHMMER
					ホスホジェステラーゼ; グリセロホスホリル; ジエステ ル; 膜: DM01508 P54527 1-159: L39-C189	
41	7511530CD1 102			N16	ホスホジェステラーゼ 4A cAMP cAMP-依存性 3' BLAST_PROD0M 5 サイクリック DPDE2 ヒドロラーゼ 選択的スプライ シング PD023907: Q110-P270 cAMP-依存性 3' 5'サイクリック ホスホジェステラー-BLAST_PROD0M ゼヒドロラーゼ cAMP 選択的スプライシング 多重 遺伝子族 PD023901: G22-S89 3'5'-サイクリックヌクレオチド ホスホジェステラーゼ BLAST_DOM0 DM07721 P27815 759-885: E144-T271 DM02037 P27815 1-245: M1-S213 DM07721 P14645 475-609: Q169-P270	SPSCAN
					Signal_cleavage: M1-C54	

表 3 - 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
42	7511535CDI 328	S274 T58	N16		ウロポルフィリノーゲン デカルボキシラーゼ DM01567 P06132 I1-366: F11-P44	BLAST_DOMO
					ウロポルフィリノーゲン デカルボキシラーゼ シグネチャ 1: P32-R41	MOTIFS
42	7511535CDI 328	S274 T58	N16		ウロポルフィリノーゲン デカルボキシラーゼ (URO-D): L14-H321	IMMER_PFAM
					ウロポルフィリノーゲン デカルボキシラーゼ (URO-D) IPB000257: L20-A39, C59-Q104, P111-P146, Q147-Y197, R293-L302, V240-I278	BLIMPS_BLOCKS
					ウロポルフィリノーゲン デカルボキシラーゼ リアーゼ	BLAST_PRODOM
					ポルフィリン 生成 UPD メチルトランスフェラーゼ	
					トランスフェラーゼ ヘム A PD003225: K15-R74 P72-H319	
					ウロポルフィリノーゲン デカルボキシラーゼ	BLAST_DOMO
					DM01567 P06132 I1-366: F11-R74, Q71-N328	
					ウロポルフィリノーゲン デカルボキシラーゼ	BLAST_DOMO
					DM01567 P29680 I-353: E13-R74, P72-S322	
					ウロポルフィリノーゲン デカルボキシラーゼ	BLAST_DOMO
					DM01567 P32347 4-361: Q71-K320, F11-P111	
					ウロポルフィリノーゲン デカルボキシラーゼ	BLAST_DOMO
					DM01567 P32395 3-352: E13-E75, Q71-R323	
					ATP/GTP 結合部位モチーフ A(P-loop): A252-T259	MOTIFS
					ウロポルフィリノーゲン デカルボキシラーゼ シグネチャ 1: P32-R41	MOTIFS
					ウロポルフィリノーゲン デカルボキシラーゼ シグネチャ 2: G114-G129	MOTIFS

【表 3 - 3 5】

表 3 - 3 5

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
43	7511536CD1	313	S107 S259 T58	N16	ウロポルフィリノーゲン デカルボキシラーゼ(URO-D): L14-H306 ウロポルフィリノーゲン デカルボキシラーゼ(URO-D)IPB000257: L20-A39, C59-K104, V225-I263, R278-L287 ウロポルフィリノーゲン デカルボキシラーゼリアーゼ ポルフィリン 合成 UPD メチルトランスフェラーゼ トランスフェラーゼ ヘム A PD003225: K15-P158, A155-H304 ウロポルフィリノーゲン デカルボキシラーゼ DM01567 P06132 11-366: F11-P158 V149-N313 ウロポルフィリノーゲン デカルボキシラーゼ DM01567 P32347 4-361: F11-I183 A155-K305 ウロポルフィリノーゲン デカルボキシラーゼ DM01567 P32395 3-352: E13-P158 A155-R308 ウロポルフィリノーゲン デカルボキシラーゼ DM01567 P16891 2-353: L20-P158 G156-L310 ATP/GTP 結合部位モチーフ A(P-loop): A237-T244 ウロポルフィリノーゲン デカルボキシラーゼシグネチャ 1: P32-R41	HMMER_PFAM BLIMPS_BLOCKS BLAST_PRODOM BLAST_DOM0 BLAST_DOM0 BLAST_DOM0 BLAST_DOM0

表 3 - 3 6

【 表 3 - 3 6 】

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
44	7511583CD1	162	S59 T156		ジヒドロプロテリジン還元酵素 HDHPR キノイド テト BLAST_PROD0M ラヒドロプロテリジン 合成 オキシドレダクターゼ NADP 3D 構造 フェニールケトン尿症 PD038408: G8-P145	
					A55R: 還元酵素; 末端: ジヒドロプロテリジン; DM000099 P09417 78-113: E78-T114	BLAST_DOM0
45	7511395CD1	444	S97 S131 S142 S213 S336 S352 T70 T81 T83 T160 T164	S97 S131 S142 N66 N230 N397	シグナルペプチド: M1-S18 シグナルペプチド: M1-S21 シグナルペプチド: M1-G23 シグナルペプチド: M1-C22 シグナルペプチド: M1-G20 UDP-グルコシル(glucoronosyl)および UDP-グ ルコシルトランスフェラーゼ: G23-K442 サイトゾル内ドメイン: K433-D444; 膜貫通ドメイ ン: G410-W432; 非サイトゾル内ドメイン: M1-I409 UDP-グルコシル(glucoronosyl)および UDP-グ ルコシルトランスフェラーゼ IPB002213: W271- D313 UDP-グリコシルトランスフェラーゼシグネチャ: N293-T334	HMMER HMMER HMMER HMMER HMMER PFAM TMMMER

表 3 - 3 7

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
------------	------------------	---------	-----------	-------------	---------------------	--------------

トランスフェラーゼ、グリコシルトランスフェラーゼタンパク質、UDP-グルコノシルトランスフェラーゼ 前駆体、シグナル膜貫通、UDPGT 糖タンパク質ミクロソーム型 PD000190: G23-G156, V211-S352, S336-R443, I61-L262

UDP-グルコノシル及び UDP-グルコシルトランスフェラーゼ DM00367|P36537|186-460: G156-F377

UDP-グルコノシル及び UDP-グルコシルトランスフェラーゼ DM00367|P16662|187-461: G156-F377

UDP-グルコノシル及び UDP-グルコシルトランスフェラーゼ DM00367|P36538|187-461: G156-F377

UDP-グルコノシル及び UDP-グルコシルトランスフェラーゼ DM00367|P06133|187-461: G156-F377

UDP-グリコシルトランスフェラーゼシグネチャ: MOTIFS W271-Q314

46	7511647CD191	S46 T43 T51	Signal_cleavage: M1-A20	SPSCAN
2-アミノ-3-ケト酪酸 COA リガーゼ EC 2.3.1.29 リ BLAST_PRODOM				
ガーゼ トランスフェラーゼ アシルトランスフェラーゼ				
PD168670 M1-I30				

【表 3 - 3 8】

表 3 - 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	S21 S221 S227 T61	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
47	7510335CD1	275		S21 S221 S227 T61	N244	シグナルペプチド: M6-G29	HMMER
						アシル-CoA デヒドロゲナーゼ、N-末端ドメイン: L94-A213	HMMER_PFAM
						アシル-CoAデヒドロゲナーゼタンパク質 BL00072: BLIMPS_BLOCKS L139-E149, Y241-P253	
						アシル-CoAデヒドロゲナーゼシグネチャ: L216-S272	PROFILES SCAN
						アシル CoA デヒドロゲナーゼ 超長鎖 特異的 前駆体 VLCAD オキシレダクターゼ フラビンタンパク質 FAD 脂肪 PD015520: M1-V93	BLAST_PROD OM
						タンパク質 デヒドロゲナーゼ アシル-CoA 酸化還元酵素 フラビンタンパク質 FAD オキシダーゼ 脂肪酸代謝	BLAST_PROD OM
						PD000396: V93-H256	
						アシル-CoAデヒドロゲナーゼ DM00853	BLAST_DOMO
						[P48818 85-478: D85-I250	
						[P45857 1-377: L94-I250	
						[P26440 40-420: L94-I250	
						[P45867 3-379: L94-I250	
						アシル-CoAデヒドロゲナーゼシグネチャ1: C215-S227	MOTIFS
48	7510337CD1	618		S21 S221 S227 S588 T61 T351 T364 T545	N244 N365	シグナルペプチド: M6-G29	HMMER

【表 3 - 3 9】

表 3 - 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
					アシル-CoA デヒドロゲナーゼ、C-末端ドメイン: G327-A473	HMMER_PFAM
					アシル-CoA デヒドロゲナーゼ、中ドメイン: C215-L323	HMMER_PFAM
					アシル-CoA デヒドロゲナーゼ、N-末端ドメイン: W133-A213	HMMER_PFAM
					アシル-CoAデヒドロゲナーゼタンパク質 BL00072: L139-E149, Y241-G253, G290-F330, M344-E394, E432-L474	BLIMPS_BLOCKS
					アシル-CoAデヒドロゲナーゼシグネチャ: L216-T272	PROFILES SCAN
					アシル-CoAデヒドロゲナーゼシグネチャ: A415-I467	PROFILES SCAN
					デヒドロゲナーゼ アシル-CoA 超長鎖 特異的 前駆体 VLCAD オキシドレダクターゼ フラビンタンパク質 FAD 脂肪 PD013349: L484-E609	BLAST_PROD OM
					タンパク質 デヒドロゲナーゼ アシル-CoA 酸化還元酵素 フラビンタンパク質 FAD オキシダーゼ 脂肪酸代謝 PD000396: V93-M404, V93-T307, L337-A473	BLAST_PROD OM
					アシル-CoA デヒドロゲナーゼ 超長鎖 特異的 前駆体 VLCAD オキシドレダクターゼ フラビンタンパク質 FAD 脂肪 PD015520: M1-V93	BLAST_PROD OM

表 3 - 4 0

【 表 3 - 4 0 】

SEQ ID NO:	Incyte 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
					アシル-CoAデヒドロゲナーゼ DM00853	BLAST_DOMO
					P48818 85-478: D85-M478	
					P45857 1-377: L94-A473	
					P45867 3-379: L94-A473	
					Q06319 3-383: L136-1467	
					アシル-CoAデヒドロゲナーゼシグネチャ 1: C215- M0TIFS	
					S227	
					アシル-CoAデヒドロゲナーゼシグネチャ 2: Q435- M0TIFS	
					D454	
					signal_cleavage: M1-C51	
					S29 S34 S46 S64	
					S326 T95 T177	
					T255 T356 Y117	
					Y259	
					シグナルペプチド: M1-A21	
					ポリプレニル合成酵素: R110-Q417	
					ポリプレニル合成酵素タンパク質 BL00723: G121-BLIMPS_BLOCKS	HMMER
					V131, D169-C183, T255-M280	
					ポリプレニル合成酵素シグネチャ: A279-C368	
					PROFILES SCAN	
					ピロリン酸シンターゼ 合成酵素 トランスフェラーゼ	BLAST_PROD OM
					生合成 イソプレネン ガラニルトランスフェラーゼ 2リ	
					ン酸 ガラニルガラニル アルネシル PD000572:	
					L111-I307, D344-D410	

【表 3 - 4 1】

表 3 - 4 1

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
ファルネシルピロリン酸合成酵素 FPP FPS ニリ BLAST_PRODROM						
ン酸 含む:ジメチルアリルトランスフェラーゼ ガラニルトランスランスフェラーゼ トランススフェラーゼ PD122945: M67-R110						
ポリプレニル合成酵素 DM00371 BLAST_DOM0						
P14324 7-267: S73-Q308, Q343-S369						
B34713 7-267: D74-Q308, Q343-S369						
P08524 2-264: K80-Q308, Q343-S369						
P49349 2-261: A77-Q308, Q343-S369						
ポリプレニル合成酵素シグネチャ 1: L166-G180 MOTIFS						
signal_cleavage: M1-A23						
SPSCAN						
チトクロム P450: P42-K375, R397-A524						
チトクロム P450 システインヘム鉄リガンドタンパク質 BL00086: H463-L494						
チトクロム P450 システインヘム鉄リガンドシグネチャ: P443-Q495						
P450 スーパーファミリーシグネチャ PR00385: G314-A331, R332-L345, A367-E378, V464-C473						
HMMER_PFAM						
BLIMPS_BLOCKS						
PROFILES SCAN						
BLIMPS_PRINTS						

表 3 - 4 2

【 表 3 - 4 2 】

SEQ ID NO:	Incyte ポリ アミノ酸 ペプチド ID 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	7504648CD1 527	S21 S221 S227 S488 T61 T351 T364	N244 N365	シグナルペプチド: M6-G29	HMMER
				アシル-CoA デヒドロゲナーゼ、C-末端ドメイン: G327-C477	HMMER_PFAM
				アシル-CoA デヒドロゲナーゼ、中ドメイン: C215-L323	HMMER_PFAM
				アシル-CoA デヒドロゲナーゼ、N-末端ドメイン: L94-A213	HMMER_PFAM
				チトクローム P450 システインヘム鉄リガンドシグネチャ: F466-G475	MOTIFS
				チトクローム P450 DM00022	BLAST_DOMO
				P19099 84-494: G84-R374, T395-P518	
				P15150 83-494: L83-R374, T395-P518	
				P30099 94-501: G84-R374, T395-P518	
				P15538 84-494: G84-R374, T318-P518	
				ミトコンドリア P450 シグネチャ PR00408: W116-L131, L132-L142, F193-L211, G314-A331, R332-L345, T360-E378, Y446-I454, V464-C473, C473-L484	BLIMPS_PRINTS
				チトクローム P450 電子 輸送 オキシレダクターゼ 前駆体 モノオキシゲナーゼ 膜 ヘム ステロイド PD002412: M1-W49	BLAST_PRODOM

表3－4 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
------------------	----------------------	-------------	---------------	-----------------	---------------------	------------------

イソメラゼタンパク質 S トランスフェラーゼ 染色
体 ジオキシゲナーゼ 2 ヒドロキシクロメン 2-カルボ
ン酸 プラスミド THE グルタチオン ミトコンドリア
PD008447: L26-G168

53	7510146CD1329	S249 T71 T318 T326	signal_cleavage: M1-A23	SPSCAN	ミトコンドリア P450 シグネチャ PR00408: W116- L131, L132-L142, F193-L211 チトクローム P450 電子 輸送 オキシドレクター ゼ 前駆体 モノオキシゲナーゼ 膜 ヘム ステロイド PD002412: M1-W49	BLAST_PROD0M
					チトクローム P450 DM00022 P15538 84-494: G84-T318 P19099 84-494: G84-T318 P15150 83-494: L83-T318 P30099 94-501: G84-T318	BLAST_DOM0

【表 4 - 1】

表 4 - 1

ポリヌクレオチド SEQ ID NO/ Incyte ID/配 列長	配列断片
54/7499940CB1/ 1640	1-1640, 9-1624, 57-659, 57-677, 57-752, 57-775, 57-776, 57-834, 57-836, 57-843, 57-901, 57-951, 63-845, 591-1140, 614-1480, 630-1480, 637-1480, 655-1272, 666-1480, 667-1480, 670-1480, 671-1480, 706-1250, 709-1479, 742-1480, 772-1480, 803-1480, 824-1295, 831-1480, 847-1479, 868-1479, 870-1136, 883-1479, 885-1409, 893-1586, 905-1097, 920-1479, 976-1432, 1013-1312, 1025-1470, 1026-1605, 1077-1459, 1083-1453, 1131-1473, 1167-1453, 1221-1498, 1228-1625, 1280-1587, 1280-1596, 1291-1572, 1423-1614, 1451-1638, 1494-1614, 1495-1622, 1557-1640
55/3329870CB1/ 2373	1-311, 20-768, 73-729, 432-954, 477-640, 563-1244, 672-1323, 747-1291, 766-1026, 892-1193, 892-1326, 918-1521, 1094-1751, 1113-1748, 1162-1845, 1165-1721, 1175-1777, 1348-1907, 1498-2069, 1725-2373, 1767-2010, 1834-2287, 1837-2116, 1987-2293, 2001-2259, 2004-2288
56/7500698CB1/ 600	1-171, 2-134, 2-172, 2-600, 3-172, 9-131, 9-169, 10-172, 11-134, 15-172, 16-168, 114-387, 114-391, 122-387, 170-226, 186-375, 186-430, 207-528, 213-459, 214-478, 216-480, 221-543, 234-475, 234-554, 250-482, 260-531, 262-600, 265-537, 271-582, 290-543, 295-466, 297-546, 299-534, 300-554, 301-559, 302-569, 313-596, 325-534, 342-600, 386-568, 438-579, 522-552
57/7500223CB1/ 1579	1-136, 1-263, 1-1566, 3-255, 7-150, 8-253, 9-192, 10-277, 10-308, 14-272, 23-273, 31-299, 31-442, 32-174, 33-263, 36-242, 36-364, 37-291, 40-177, 42-306, 42-311, 51-313, 51-385, 63-308, 64-384, 65-320, 72-363, 74-192, 79-317, 84-264, 89-344, 91-284, 91-369, 92-348, 101-388, 103-365, 109-340, 111-437, 112-393, 118-400, 138-425, 139-727, 207-666, 208-342, 256-407, 259-568, 265-356, 294-564, 302-896, 325-821, 340-483, 342-684, 356-941, 372-1078, 389-645, 403-861, 412-653, 412-922, 419-726, 435-594, 435-685, 435-728, 435-892, 435-1099, 435-1115, 435-1220, 435-1223, 436-652, 436-714, 436-917, 438-1078, 445-671, 453-766, 454-672, 454-1112, 459-747, 462-675, 465-634, 468-747, 471-678, 471-775, 471-944, 476-1333, 478-729, 478-977, 481-663, 481-1108, 482-710, 496-708, 497-849, 497-1003, 498-893, 504-1078, 521-1076, 527-791, 531-747, 533-773, 533-774, 538-748, 540-657, 548-1166, 553-780, 555-662, 555-969, 567-1026, 568-994, 572-812, 581-1057, 585-800, 588-848, 588-1269, 592-1144, 592-1270, 598-942, 602-1034, 603-848, 603-865, 603-868, 605-1103, 613-719, 614-1250, 615-1175, 621-851, 621-881, 628-962, 631-865, 636-874, 636-1272, 637-893, 643-906, 643-1047, 646-904, 652-883, 652-905, 652-1039, 652-1041, 662-946, 666-1370, 673-895, 673-1442, 682-1111, 687-1016, 687-1225, 690-1202, 696-916, 701-968, 704-1068, 707-1119, 708-876, 708-962, 710-1275, 712-955, 712-997, 722-1274, 724-1313, 727-959, 730-978, 732-1284, 733-975, 734-982, 737-1242, 739-931, 739-978, 742-987, 743-984, 743-1011, 743-1341, 743-1449, 745-1019, 746-1269, 748-1050, 749-1115, 753-1001, 760-1291, 763-1022, 767-1082, 767-1329, 768-993, 773-1202, 773-1206, 774-1252, 776-1201, 781-1346, 785-1223, 788-1286, 789-1039, 794-1035, 800-1039, 802-1326, 805-996, 805-1269, 811-1349, 815-1263, 819-1027, 819-1080, 819-1115, 826-1269, 829-1076, 831-917, 838-1087, 838-1108, 845-1230, 847-1118, 847-1263, 848-1109, 849-1127, 850-1269, 853-1374, 861-1099, 861-1101, 864-1103, 867-

10

20

30

【表 4 - 2】

表 4 - 2

ポリヌクレオチ ド SEQ ID NO/ Incyte ID/配 列長	配列断片
	1269, 868-1141, 868-1147, 868-1173, 871-1161, 872-1270, 872-1459, 877-1135, 886-1257, 887-1149, 892-1565, 901-1142, 903-1520, 906-1171, 917-1144, 919-1439, 920-1530, 922-1474, 926-1184, 932-1557, 938-1117, 940-1191, 944-1251, 946-1577, 949-1565, 951-1176, 953-1269, 954-1198, 958-1198, 965-1175, 965-1338, 966-1497, 968-1558, 969-1564, 973-1457, 974-1558, 978-1209, 978-1210, 978-1211, 979-1237, 979-1268, 979-1555, 980-1262, 980-1579, 981-1565, 983-1229, 988-1271, 993-1222, 993-1227, 993-1362, 993-1489, 996-1113, 1005-1227, 1007-1249, 1007-1262, 1007-1277, 1010-1575, 1012-1216, 1017-1362, 1018-1561, 1019-1322, 1021-1527, 1023-1251, 1026-1292, 1031-1579, 1034-1347, 1038-1557, 1041-1276, 1046-1293, 1046-1310, 1048-1579, 1051-1273, 1053-1270, 1068-1350, 1071-1577, 1072-1579, 1074-1260, 1074-1337, 1084-1565, 1086-1565, 1088-1379, 1089-1285, 1089-1569, 1092-1579, 1101-1539, 1101-1574, 1104-1569, 1107-1568, 1108-1560, 1109-1555, 1109-1579, 1115-1568, 1126-1569, 1133-1565, 1133-1570, 1134-1564, 1134-1579, 1136-1565, 1136-1571, 1136-1579, 1140-1565, 1144-1572, 1146-1566, 1150-1565, 1159-1249, 1164-1385, 1165-1482, 1167-1436, 1172-1565, 1174-1566, 1176-1249, 1177-1476, 1181-1249, 1189-1566, 1199-1565, 1200-1565, 1205-1499, 1209-1565, 1212-1557, 1214-1488, 1215-1572, 1215-1579, 1216-1565, 1221-1568, 1225-1551, 1229-1457, 1229-1556, 1233-1565, 1235-1568, 1238-1496, 1243-1567, 1252-1491, 1253-1557, 1256-1520, 1257-1528, 1260-1566, 1261-1571, 1263-1558, 1263-1559, 1263-1565, 1267-1568, 1280-1567, 1286-1561, 1298-1579, 1300-1579, 1308-1579, 1310-1565, 1310-1569, 1315-1565, 1319-1565, 1320-1566, 1321-1579, 1323-1536, 1323-1565, 1361-1574, 1366-1543, 1366-1565, 1368-1579, 1381-1579, 1382-1565, 1389-1565, 1396-1572, 1399-1521, 1409-1530, 1417-1567, 1440-1563, 1440-1579, 1483-1579, 1508-1568

58/7500295CB1/ 1601	1-264, 1-1567, 2-137, 4-256, 8-151, 9-254, 10-193, 11-278, 11-309, 15-273, 24-274, 32-300, 32-443, 33-175, 34-264, 37-243, 37-365, 38-292, 41-178, 43-307, 43-312, 52-314, 52-386, 53-438, 59-438, 64-309, 65-385, 66-321, 73-364, 75-193, 80-318, 85-265, 90-345, 92-285, 92-370, 93-349, 102-389, 104-366, 110-341, 112-438, 113-394, 119-401, 139-426, 140-728, 208-667, 209-343, 209-438, 257-408, 260-569, 266-357, 295-565, 303-897, 326-820, 341-484, 343-685, 357-942, 373-1079, 390-646, 404-862, 413-654, 413-923, 420-727, 436-595, 436-686, 436-729, 436-893, 436-1100, 436-1116, 436-1221, 436-1224, 437-653, 437-670, 437-715, 437-918, 439-1079, 440-482, 446-672, 454-767, 455-673, 455-1113, 460-748, 463-676, 465-627, 466-635, 469-748, 472-679, 472-776, 472-945, 477-1334, 479-730, 479-978, 482-664, 482-1109, 483-711, 497-709, 498-850, 498-1004, 499-894, 505-1079, 522-1077, 528-792, 532-748, 534-774, 534-775, 539-749, 541-658, 549-1167, 554-781, 556-663, 556-970, 568-1027, 569-995, 573-809, 582-1058, 586-801, 589-849, 589-1270, 593-1145, 593-1271, 599-943, 603-1035, 604-849, 604-866, 604-869, 606-1104, 608-732, 614-720, 615-1251, 616-1176, 621-886, 622-882, 622-882, 629-963, 632-866, 637-875, 637-1273, 638-894, 644-907, 644-1048, 647-905, 653-884, 653-906, 653-1040, 653-1042.
------------------------	--

【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
	663-947, 667-1371, 674-896, 674-1443, 683-1112, 688-1017, 688-1226, 691-1203, 697-917, 702-969, 705-1069, 708-1120, 709-877, 709-963, 711-1276, 713-956, 713-998, 723-1275, 725-1314, 727-1003, 728-960, 731-979, 733-1285, 734-976, 735-983, 738-1243, 740-932, 740-979, 743-988, 744-984, 744-985, 744-1012, 744-1342, 744-1450, 746-1020, 747-1270, 749-1051, 750-1116, 754-1002, 761-1292, 764-1023, 768-1083, 768-1330, 769-994, 774-1203, 774-1207, 775-1253, 777-1202, 782-1347, 786-1224, 789-1287, 790-1040, 795-1036, 803-1040, 803-1327, 806-997, 808-1270, 812-935, 812-1350, 812-1525, 816-1264, 819-981, 820-1028, 820-1081, 820-1116, 827-1270, 830-1077, 832-918, 839-1088, 839-1109, 845-1476, 846-1231, 848-1119, 848-1264, 849-1110, 850-1128, 851-1270, 852-1070, 854-1375, 862-1100, 862-1102, 865-1104, 868-1270, 869-1142, 869-1148, 869-1174, 872-1162, 873-1271, 873-1460, 878-1136, 887-1258, 888-1150, 893-1566, 902-1143, 904-1521, 907-1172, 918-1145, 919-1211, 920-1440, 921-1531, 923-1475, 927-1185, 933-1558, 939-1118, 941-1192, 945-1252, 947-1578, 950-1566, 952-1177, 954-1270, 955-1199, 955-1205, 959-1199, 966-1176, 966-1339, 967-1498, 969-1559, 970-1565, 974-1458, 975-1559, 979-1210, 979-1211, 979-1212, 980-1238, 980-1269, 980-1556, 981-1263, 981-1580, 982-1566, 984-1230, 989-1272, 994-1223, 994-1228, 994-1363, 994-1490, 997-1114, 998-1547, 1006-1204, 1006-1228, 1008-1250, 1008-1263, 1008-1278, 1011-1576, 1013-1217, 1018-1363, 1019-1562, 1020-1323, 1022-1528, 1023-1312, 1024-1252, 1027-1293, 1028-1583, 1032-1588, 1035-1348, 1038-1523, 1039-1558, 1039-1599, 1042-1277, 1045-1307, 1047-1294, 1047-1311, 1049-1581, 1052-1274, 1054-1271, 1065-1403, 1069-1351, 1072-1578, 1073-1584, 1075-1261, 1075-1338, 1085-1566, 1086-1586, 1087-1566, 1089-1279, 1089-1380, 1090-1286, 1090-1570, 1093-1581, 1095-1250, 1101-1572, 1102-1540, 1102-1594, 1103-1347, 1105-1570, 1106-1390, 1108-1569, 1109-1561, 1110-1556, 1110-1584, 1114-1365, 1114-1377, 1116-1566, 1116-1569, 1116-1584, 1117-1565, 1118-1421, 1123-1566, 1127-1570, 1129-1570, 1134-1566, 1134-1571, 1135-1250, 1135-1565, 1135-1601, 1136-1566, 1137-1566, 1137-1572, 1137-1580, 1139-1566, 1140-1404, 1141-1566, 1143-1585, 1145-1573, 1146-1566, 1147-1421, 1147-1423, 1147-1567, 1148-1556, 1151-1566, 1153-1250, 1154-1250, 1156-1566, 1158-1423, 1160-1250, 1165-1386, 1165-1418, 1166-1483, 1168-1357, 1168-1437, 1168-1566, 1170-1436, 1172-1438, 1173-1566, 1175-1567, 1177-1250, 1178-1446, 1178-1477, 1182-1250, 1182-1418, 1188-1567, 1190-1567, 1191-1417, 1200-1250, 1200-1566, 1201-1566, 1202-1566, 1206-1500, 1210-1554, 1210-1566, 1213-1558, 1214-1566, 1215-1471, 1215-1489, 1215-1566, 1216-1573, 1216-1585, 1217-1566, 1218-1596, 1222-1569, 1226-1552, 1230-1458, 1230-1557, 1233-1566, 1234-1566, 1235-1566, 1236-1569, 1239-1497, 1244-1568, 1254-1558, 1257-1521, 1258-1529, 1261-1567, 1262-1572, 1264-1510, 1264-1559, 1264-1560, 1264-1566, 1268-1569, 1281-1568, 1287-1562, 1287-1568, 1296-1592, 1299-1595, 1301-1566, 1301-1599, 1309-1580, 1311-1566, 1311-1570, 1313-1574, 1316-1566, 1320-1566, 1321-1567, 1324-1537, 1324-1566, 1327-1558, 1361-1598, 1362-1589, 1367-

10

20

30

表 4 － 4

ポリヌクレオチド	配列断片
SEQ ID NO/ Incyte ID/配列長	

1544, 1367-1566, 1369-1580, 1382-1599, 1383-1566, 1390-1566, 1390-1592, 1397-1573, 1400-1522, 1410-1531, 1418-1568, 1421-1566, 1441-1564, 1441-1599, 1484-1597, 1509-1569

59/7502095CBI/1433	1-173, 1-190, 1-1427, 30-190, 47-395, 66-218, 83-173, 123-190, 124-190, 174-244, 174-269, 176-874, 192-497, 213-471, 214-745, 250-916, 334-629, 385-657, 479-545, 514-1260, 533-1068, 550-839, 553-837, 573-1137, 625-1152, 927-1433, 1284-1425, 1284-1433, 1317-1433
60/7500507CBI/1919	1-250, 1-286, 1-1894, 100-709, 100-798, 102-924, 110-389, 112-405, 112-529, 411-1232, 425-994, 430-1014, 439-636, 440-896, 444-1014, 459-966, 468-1054, 470-719, 475-1142, 481-980, 482-1153, 486-751, 502-752, 529-989, 530-894, 543-1126, 547-921, 563-781, 593-1017, 598-721, 598-1410, 622-1058, 642-1221, 659-1260, 673-1209, 673-1321, 678-1178, 683-953, 683-959, 698-1304, 724-975, 725-960, 730-965, 758-1351, 769-1369, 794-1004, 794-1310, 798-1278, 799-1052, 801-1409, 802-1374, 808-942, 808-1390, 838-1483, 842-1108, 852-1280, 853-1271, 883-1136, 893-1465, 896-1374, 901-1152, 927-1465, 934-1280, 939-1203, 958-1459, 973-1288, 978-1498, 1013-1343, 1016-1480, 1027-1499, 1036-1689, 1038-1421, 1043-1309, 1043-1317, 1062-1284, 1068-1259, 1078-1674, 1081-1508, 1089-1336, 1103-1856, 1113-1631, 1117-1741, 1120-1569, 1144-1390, 1155-1825, 1162-1392, 1171-1418, 1183-1574, 1188-1807, 1193-1466, 1197-1531, 1197-1878, 1198-1888, 1232-1500, 1234-1731, 1247-1884, 1254-1839, 1267-1365, 1268-1884, 1276-1874, 1280-1867, 1287-1487, 1300-1887, 1323-1690, 1331-1879, 1332-1905, 1349-1855, 1354-1843, 1399-1912, 1413-1879, 1414-1680, 1417-1821, 1419-1906, 1428-1891, 1429-1707, 1440-1919, 1445-1910, 1452-1716, 1453-1919, 1455-1893, 1461-1919, 1470-1892, 1482-1722, 1487-1893, 1492-1889, 1492-1919, 1507-1919, 1514-1893, 1518-1893, 1519-1797, 1520-1895, 1525-1893, 1536-1779, 1540-1801, 1540-1877, 1540-1890, 1567-1881, 1572-1785, 1577-1891, 1585-1825, 1585-1826, 1585-1839, 1588-1890, 1597-1905, 1601-1895, 1604-1866, 1620-1893, 1620-1903, 1627-1901, 1648-1890, 1654-1893, 1706-1897

表 4 - 5

【 表 4 - 5 】

ポリヌクレオチド SEQ ID NO/ Incyte ID/配 列長	配列断片
61/7500840CB1/ 793	1-291, 1-792, 5-290, 13-263, 19-284, 20-257, 22-281, 22-294, 84-340, 86-355, 97-489, 120-277, 120-364, 120-374, 178-358, 335-588, 336-791, 368-790, 380-691, 553-793
62/7493620CB1/ 1816	1-510, 8-610, 9-830, 9-890, 9-913, 9-914, 9-916, 17-495, 18-636, 22-1503, 67-527, 111-689, 111-697, 112-684, 160-713, 160-739, 160-760, 160-799, 160-813, 160-820, 160-829, 160-857, 163-718, 163-763, 163-776, 163-781, 163-819, 187-766, 196-709, 196-778, 198-907, 211-777, 345-967, 360-967, 373-967, 382-967, 385-967, 390-967, 397-967, 403-967, 408-967, 411-967, 466-873, 469-967, 473-967, 478-967, 484-965, 1069-1592, 1395-1816, 1455-1786
63/7494697CB1/ 1370	1-600, 5-610, 21-714, 27-557, 44-561, 44-815, 44-902, 47-671, 65-718, 100-585, 102-693, 107-541, 112-558, 114-759, 133-686, 147-869, 200-871, 220-831, 291-882, 293-546, 293-569, 293-738, 293-756, 293-761, 293-776, 293-782, 293-859, 293-870, 297-545, 301-817, 306-576, 316-912, 323-639, 324-709, 326-612, 326-864, 326-943, 328-846, 358-629, 377-772, 383-978, 385-648, 387-663, 389-648, 399-864, 423-689, 423-939, 430-917, 433-951, 434-659, 436-829, 441-705, 452-650, 468-845, 479-766, 483-729, 485-681, 498-722, 499-899, 506-1101, 509-1031, 510-802, 521-785, 526-1078, 528-777, 528-893, 530-784, 534-711, 534-824, 534-828, 534-848, 563-1180, 582-1141, 590-1315, 593-1237, 594-1183, 626-1221, 670-1248, 748-1293, 748-1328, 755-1328, 800-1315, 879-1211, 882-1328, 992-1251, 1034-1333, 1093-1370, 1124-1364
64/8146738CB1/ 1543	1-673, 3-841, 13-290, 13-403, 13-436, 13-471, 13-477, 13-490, 13-499, 13-513, 13-565, 13-580, 13-581, 13-598, 13-599, 13-613, 13-667, 13-675, 14-628, 15-270, 17-155, 17-209, 17-210, 29-721, 40-731, 64-723, 88-746, 109-912, 130-734, 133-625, 133-763, 139-749, 143-547, 143-696, 161-787, 163-656, 214-798, 224-819, 237-920, 273-636, 273-879, 315-799, 404-895, 423-1098, 426-868, 446-1029, 496-614, 496-624, 496-648, 496-652, 496-679, 496-689, 496-703, 496-741, 496-743, 496-756, 496-804, 496-807, 496-821, 496-868, 496-914, 496-955, 496-962, 496-973, 550-1235, 579-1083, 605-1117, 637-775, 670-1130, 671-1046, 826-1414, 841-1490, 932-1422, 948-1364, 1108-1543

【表 4 - 6】

表 4 - 6

ポリヌクレオチド SEQ ID NO/ Incyte ID/配列長	配列断片
65/7500114CB1/ 1364	1-96, 1-114, 1-123, 1-158, 1-167, 1-182, 1-213, 1-217, 1-235, 1-237, 1-245, 1-265, 1-268, 1-274, 1-282, 1-301, 1-304, 1-305, 1-338, 1-354, 1-419, 1-437, 1-457, 1-510, 1-523, 1-594, 1-597, 1-612, 1-629, 1-735, 2-230, 3-566, 3-685, 4-299, 5-230, 6-560, 7-240, 7-591, 8-309, 9-560, 10-247, 10-277, 10-281, 10-306, 11-130, 11-227, 11-281, 12-291, 12-318, 13-178, 13-248, 13-262, 13-278, 13-288, 13-314, 13-331, 13-597, 13-604, 13-691, 14-288, 14-299, 14-360, 15-306, 15-469, 16-220, 17-306, 18-236, 18-247, 18-249, 21-286, 21-304, 23-411, 24-237, 24-274, 28-255, 30-293, 31-316, 73-318, 73-326, 88-332, 90-348, 93-272, 105-665, 124-720, 125-728, 128-816, 130-673, 206-768, 276-849, 303-927, 358-800, 358-812, 358-1022, 359-1022, 364-657, 377-942, 377-1042, 381-840, 385-638, 390-683, 390-1000, 438-662, 438-1185, 443-1007, 450-1068, 462-980, 462-1022, 470-1000, 497-1066, 498-702, 501-1088, 517-1058, 518-774, 521-806, 525-1045, 532-1042, 537-759, 554-791, 562-1172, 565-817, 567-1064, 588-1275, 604-875, 606-826, 615-852, 616-1279, 617-870, 625-1213, 634-1280, 635-1348, 638-1274, 643-751, 658-1141, 660-864, 660-1301, 661-968, 663-892, 663-960, 671-913, 674-1242, 680-914, 680-1268, 681-879, 681-1343, 683-940, 684-986, 702-921, 702-923, 702-924, 704-1352, 710-1318, 711-1352, 716-1336, 729-1321, 751-1048, 751-1328, 751-1334, 753-1287, 768-1364, 779-1036, 784-1364, 798-1342, 801-1096, 804-1334, 806-1238, 806-1323, 807-1364, 810-1272, 811-1272, 819-1353, 821-1351, 821-1364, 827-1247, 834-1364, 835-1364, 837-948, 841-1364, 842-1364, 850-1255, 851-1183, 851-1187, 851-1348, 857-1364, 858-1364, 860-1353, 863-1269, 865-1096, 868-1133, 870-1341, 875-1364, 876-1351, 881-1353, 888-1355, 888-1364, 889-1335, 890-1352, 892-1344, 892-1351, 893-1348, 895-1364, 910-1353, 924-1352, 929-1351, 939-1364, 940-1349, 988-1357, 989-1158, 992-1229, 993-1354, 994-1352, 996-1351, 998-1350, 998-1356, 1003-1357, 1016-1345, 1017-1112, 1017-1351, 1019-1353, 1029-1342, 1041-1302, 1041-1321, 1041-1322, 1055-1364, 1057-1353, 1061-1364, 1073-1354, 1087-1354, 1088-1349, 1097-1353, 1097-1364, 1098-1353, 1101-1353, 1107-1353, 1118-1361, 1124-1277, 1154-1355, 1172-1348, 1211-1351, 1222-1344, 1235-1351

【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
66/7500197CB1/ 1205	1-225, 7-253, 10-205, 12-291, 12-1205, 20-288, 21-280, 23-568, 24-460, 35-536, 78-252, 82-348, 186-433, 189-302, 189-371, 189-411, 189-413, 189-416, 189-419, 189-424, 189-430, 189-437, 189-440, 189-447, 189-449, 189-460, 190-425, 190-435, 190-450, 191-349, 191-426, 193-736, 208-409, 208-435, 208-443, 208-444, 208-450, 208-454, 208-457, 208-465, 208-481, 208-484, 208-492, 208-499, 208-505, 208-507, 208-525, 208-563, 208-627, 208-654, 208-679, 208-748, 208-758, 208-884, 208-916, 209-375, 209-390, 209-435, 209-493, 209-505, 209-822, 211-490, 214-476, 217-712, 218-472, 218-477, 221-738, 223-673, 225-490, 227-536, 229-854, 231-462, 244-484, 244-870, 246-469, 246-477, 248-442, 248-837, 249-684, 257-486, 267-522, 268-479, 271-523, 277-509, 277-515, 277-527, 278-868, 280-425, 280-561, 283-552, 284-555, 290-543, 292-541, 309-764, 310-552, 310-599, 312-596, 312-777, 327-838, 331-532, 331-608, 332-491, 338-589, 340-595, 346-773, 351-588, 353-615, 356-921, 356-923, 361-615, 367-720, 377-607, 377-681, 384-946, 385-862, 385-946, 386-877, 388-632, 388-658, 388-705, 390-629, 390-657, 394-901, 399-693, 400-709, 407-676, 407-787, 421-683, 422-881, 424-701, 426-776, 430-766, 434-946, 435-708, 435-813, 436-823, 436-898, 436-900, 436-929, 439-780, 456-724, 465-1034, 466-748, 469-1192, 470-938, 473-703, 474-700, 478-744, 481-939, 484-697, 485-778, 489-740, 492-774, 493-721, 501-780, 512-770, 513-717, 521-758, 546-799, 562-690, 565-939, 569-856, 569-901, 570-748, 570-811, 573-801, 574-1027, 580-871, 581-884, 585-826, 593-845, 593-850, 595-887, 604-701, 604-760, 604-858, 604-886, 611-877, 617-900, 621-900, 624-893, 624-897, 633-886, 633-1146, 637-930, 644-929, 671-946, 673-893, 673-900, 695-935, 709-938, 709-939, 709-946, 711-1205, 722-946, 734-935, 744-1201, 749-946, 778-909, 826-946, 872-946, 907-1192, 936-1167, 936-1191, 936-1197, 936-1203, 936-1205, 937-1205, 939-1205, 942-1194, 951-1204, 952-1141, 967-1102, 969-1172, 969-1194, 970-1198, 973-1194, 978-1205, 994-1194, 996-1178, 1016-1193, 1019-1194, 1022-1205, 1026-1137, 1029-1205, 1030-1205, 1038-1205, 1046-1194, 1054-1205, 1056-1194, 1058-1192, 1058-1194, 1060-1194, 1074-1194, 1077-1194, 1078-1194, 1091-1194, 1130-1195, 1135-1205

10

20

30

40

【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
67/7500145CBI/1631	1-197, 1-249, 1-277, 1-289, 1-416, 1-1609, 3-701, 6-269, 6-507, 10-241, 12-281, 12-292, 12-296, 12-298, 12-465, 12-536, 13-286, 13-308, 13-656, 16-613, 17-328, 17-592, 23-300, 28-691, 29-699, 33-562, 33-699, 34-556, 41-326, 42-275, 42-299, 42-302, 42-304, 42-313, 42-316, 42-320, 42-322, 42-691, 43-589, 44-251, 44-326, 44-661, 45-312, 45-375, 46-281, 46-294, 46-322, 46-337, 46-571, 47-168, 47-267, 47-268, 47-271, 47-276, 47-287, 47-290, 47-294, 47-300, 47-303, 47-304, 47-305, 47-311, 47-322, 47-325, 47-331, 47-355, 47-361, 48-148, 48-269, 48-293, 48-297, 48-299, 48-300, 48-302, 48-312, 48-313, 48-317, 48-328, 48-345, 48-346, 48-360, 48-677, 49-327, 50-275, 50-297, 50-326, 50-355, 50-375, 50-661, 51-138, 51-284, 51-315, 51-318, 51-320, 51-326, 51-329, 51-339, 51-350, 51-532, 51-571, 51-585, 51-589, 51-657, 51-700, 51-705, 51-710, 52-247, 52-286, 52-304, 52-314, 52-322, 52-327, 52-328, 52-338, 52-343, 52-347, 52-353, 52-367, 52-610, 53-260, 53-331, 53-342, 53-374, 53-609, 53-699, 54-308, 54-310, 54-321, 54-325, 54-377, 54-512, 54-622, 54-636, 54-702, 55-198, 55-252, 55-256, 55-309, 55-313, 55-318, 55-322, 55-325, 55-334, 55-344, 55-352, 55-367, 55-673, 56-263, 56-270, 56-325, 57-303, 57-348, 57-699, 58-288, 58-326, 58-373, 59-274, 59-347, 59-355, 59-367, 60-343, 60-705, 61-303, 61-344, 61-350, 61-352, 61-365, 61-702, 62-642, 63-655, 64-317, 64-339, 64-355, 64-515, 65-334, 65-549, 65-553, 66-329, 66-699, 69-709, 72-623, 75-710, 80-352, 80-674, 82-641, 83-295, 83-366, 83-383, 83-709, 84-351, 84-709, 89-377, 100-701, 106-701, 110-473, 115-402, 123-374, 126-403, 126-705, 141-709, 154-442, 155-386, 167-581, 168-559, 192-519, 206-673, 225-514, 236-388, 301-559, 307-557, 312-655, 319-541, 329-619, 334-535, 334-536, 377-612, 377-643, 377-656, 408-642, 411-1088, 463-697, 486-636, 577-709, 706-1255, 706-1261, 706-1327, 706-1408, 710-1239, 730-1169, 731-1155, 737-1005, 738-1336, 744-997, 746-1046, 749-1223, 758-1052, 765-1463, 768-1081, 773-1040, 799-1319, 818-1389, 820-1069, 824-1052, 824-1072, 825-1113, 829-1079, 829-1522, 837-1460, 844-1411, 845-1103, 845-1208, 852-1098, 852-1107, 858-1455, 863-1513, 877-1540, 903-1503, 908-1466, 908-1501, 909-1242, 926-1328, 929-1160, 930-1222, 930-1226, 938-1244, 941-1202, 947-1555, 958-1535, 960-1213, 961-1607, 962-1595, 965-1202, 966-1556, 967-1607, 970-1195, 974-1460, 975-1244, 978-1519, 980-1228, 982-1196, 982-1604, 983-1504, 985-1607, 988-1572, 988-1607, 992-1560, 995-1550, 1032-1474, 1037-1147, 1050-1338, 1056-1620, 1059-1332, 1068-1161, 1071-1623, 1077-1346, 1077-1457, 1077-1592, 1106-1623, 1122-1629, 1131-1459, 1134-1605, 1139-1631, 1142-1446, 1143-1385, 1143-1432, 1146-1427, 1146-1441, 1148-1361, 1149-1622, 1151-1395, 1151-1396, 1151-1402, 1151-1459, 1152-1378, 1157-1457, 1161-1615, 1167-1441, 1167-1462, 1168-1482, 1168-1615, 1171-1402, 1176-1615, 1177-1416, 1177-1440, 1184-1627, 1187-1593, 1193-1447, 1195-1462, 1198-1624, 1198-1626, 1202-1460, 1202-1550, 1206-1605, 1211-1605, 1212-1402, 1212-1605, 1212-1613, 1213-1613, 1216-1605, 1217-1484, 1217-1610, 1217-1611, 1218-1615, 1222-1610, 1232-1495, 1232-1504, 1238-1605, 1239-1463, 1239-1476, 1239-1491, 1240-1353, 1245-1484, 1248-1606, 1252-1612, 1256-1629, 1257-1613, 1257-

【表 4－9】

表 4－9

ポリヌクレオチ ド SEQ ID NO/ Incyte ID/配 列長	配列断片
---	------

1615, 1261-1556, 1267-1563, 1277-1605, 1281-1605, 1282-1444, 1282-1571, 1284-1612, 1286-1600,
1290-1560, 1290-1614, 1300-1563, 1302-1612, 1310-1607, 1312-1605, 1313-1568, 1325-1574, 1332-
1605, 1336-1451, 1342-1578, 1384-1611, 1462-1581

【0 6 8 7】

68/7500874CB1/ 1174	1-263, 1-270, 1-281, 1-285, 1-287, 1-295, 1-454, 2-203, 2-263, 2-264, 2-266, 2-274, 2-275, 2-279, 2-297, 2-301, 3-281, 3-390, 4-273, 6-249, 6-317, 10-469, 11-281, 11-305, 12-269, 12-289, 12-299, 17-461, 23- 469, 30-315, 30-1114, 31-264, 31-286, 31-288, 31-291, 31-293, 31-302, 31-305, 31-309, 31-311, 33-238, 33-240, 33-315, 33-321, 33-339, 34-216, 34-301, 34-364, 35-270, 35-283, 35-311, 35-326, 35-327, 35- 331, 35-332, 35-356, 36-157, 36-238, 36-241, 36-246, 36-255, 36-256, 36-257, 36-259, 36-260, 36-265, 36-275, 36-276, 36-279, 36-283, 36-286, 36-289, 36-292, 36-293, 36-294, 36-299, 36-300, 36-303, 36- 311, 36-314, 36-318, 36-320, 36-324, 36-328, 36-338, 36-342, 36-344, 36-350, 36-351, 36-376, 36-469, 37-137, 37-258, 37-282, 37-286, 37-288, 37-289, 37-291, 37-301, 37-302, 37-306, 37-317, 37-334, 37- 335, 37-349, 38-316, 39-147, 39-199, 39-264, 39-278, 39-286, 39-315, 39-322, 39-326, 39-343, 39-344, 39-364, 40-127, 40-243, 40-265, 40-273, 40-279, 40-281, 40-304, 40-307, 40-309, 40-315, 40-318, 40- 328, 40-339, 40-340, 40-469, 41-190, 41-236, 41-263, 41-275, 41-293, 41-303, 41-310, 41-311, 41-315, 41-316, 41-317, 41-322, 41-327, 41-328, 41-329, 41-332, 41-336, 41-338, 41-342, 41-343, 41-356, 41- 373, 42-249, 42-320, 42-329, 42-331, 42-363, 43-172, 43-180, 43-241, 43-254, 43-264, 43-273, 43-291, 43-297, 43-299, 43-302, 43-310, 43-314, 43-316, 43-323, 43-339, 43-366, 43-465, 44-187, 44-229, 44- 241, 44-245, 44-283, 44-297, 44-298, 44-302, 44-307, 44-311, 44-314, 44-322, 44-323, 44-327, 44-333, 44-339, 44-340, 44-341, 44-345, 44-356, 45-252, 45-259, 45-260, 45-314, 46-273, 46-292, 46-331, 46- 337, 46-358, 46-376, 47-277, 47-315, 47-343, 47-362, 48-230, 48-263, 48-269, 48-332, 48-334, 48-336, 48-337, 48-343, 48-344, 48-345, 48-347, 48-351, 48-356, 48-425, 49-313, 49-332, 50-289, 50-292, 50- 315, 50-321, 50-324, 50-326, 50-333, 50-339, 50-341, 50-349, 50-354, 51-325, 52-315, 52-322, 53-202, 53-306, 53-328, 53-333, 53-336, 53-339, 53-344, 53-347, 53-352, 53-363, 53-372, 54-296, 54-323, 54- 347, 54-467, 54-468, 55-295, 55-318, 57-343, 59-335, 60-315, 65-227, 65-343, 67-242, 69-323, 69-341.
------------------------	---

【表 4 - 1 0】

表 4 - 1 0

ポリヌクレオチド SEQ ID NO/ Incyte ID/配 列長	配列断片
	69-345, 71-336, 72-284, 72-333, 72-341, 72-355, 72-366, 72-372, 73-273, 73-284, 73-340, 73-381, 73-393, 73-469, 78-366, 94-370, 97-350, 99-462, 104-391, 107-370, 107-378, 110-374, 112-363, 115-344, 115-392, 115-397, 120-282, 130-222, 130-431, 130-469, 133-469, 141-354, 141-397, 141-430, 143-431, 144-375, 149-451, 166-409, 176-469, 181-469, 214-466, 215-460, 216-459, 220-310, 225-377, 287-469, 306-558, 323-462, 470-564, 470-681, 470-698, 470-701, 470-708, 470-713, 470-724, 470-739, 470-742, 470-746, 470-766, 470-776, 470-830, 470-948, 470-1000, 470-1018, 470-1061, 470-1092, 470-1124, 470-1133, 470-1141, 473-1040, 474-709, 474-725, 474-732, 474-837, 474-896, 475-756, 476-1099, 477-1089, 481-727, 481-736, 482-745, 485-729, 487-1084, 488-1068, 492-1119, 493-1093, 493-1110, 496-1089, 481-727, 481-736, 482-745, 485-729, 487-1084, 488-1068, 492-1119, 493-1093, 493-1110, 496-760, 498-1100, 505-700, 505-712, 506-1168, 509-744, 511-790, 514-1110, 524-737, 526-772, 526-1030, 532-1136, 534-1132, 535-707, 537-1095, 537-1130, 538-782, 538-871, 541-790, 541-814, 545-829, 545-833, 545-851, 545-859, 546-746, 546-833, 547-836, 550-833, 551-779, 551-837, 552-762, 555-957, 558-789, 558-831, 558-844, 559-841, 559-851, 559-855, 559-1174, 562-802, 565-891, 567-873, 569-687, 569-787, 569-799, 570-831, 572-807, 572-854, 575-806, 575-871, 575-885, 577-1099, 582-762, 582-849, 583-872, 585-1011, 585-1131, 587-1161, 589-842, 590-1121, 594-831, 596-831, 596-865, 596-877, 597-930, 599-824, 601-893, 602-836, 603-1089, 604-873, 608-824, 608-830, 609-850, 609-857, 609-863, 611-825, 611-1067, 611-1158, 612-1132, 617-1129, 618-833, 618-835, 623-1130, 633-878, 634-873, 634-893, 635-929, 637-1102, 640-856, 640-913, 643-1115, 645-907, 647-894, 651-1115, 651-1129, 653-935, 660-911, 661-884, 661-1103, 668-776, 668-959, 670-936, 670-1089, 673-905, 677-909, 677-918, 677-949, 677-984, 679-964, 679-967, 686-1102, 687-933, 687-945, 687-948, 688-961, 691-1173, 693-934, 693-944, 697-790, 703-933, 703-951, 703-968, 706-975, 706-982, 706-1086, 708-1040, 709-909, 712-971, 713-977, 716-946, 716-1001, 717-911, 717-943, 717-971, 719-933, 719-950, 723-1132, 725-1066, 728-785, 734-983, 734-990, 734-1003, 734-1016, 740-1004, 745-1037, 747-994, 750-910, 750-1037, 751-994, 754-1019, 756-1034, 760-1032, 760-1088, 761-1031, 763-1003, 771-1075, 772-1014, 772-1061, 775-1056, 775-1070, 777-990, 780-1024, 780-1025, 780-1031, 780-1088, 781-1007, 786-1086, 796-1070, 796-1091, 797-1058, 797-1111, 800-1031, 801-1024, 806-1045, 806-1069, 822-1076, 824-1091, 827-1105, 831-1089, 841-1031, 846-1110, 846-1113, 849-1147, 851-1128, 853-1073, 861-1124, 861-1132, 868-1092, 868-1105, 868-1120, 869-982, 869-1152, 874-1113, 911-1073, 926-1132, 965-1080
69/7500495CB1/783	1-207, 23-271, 23-763, 27-247, 28-255, 32-249, 32-277, 37-272, 39-291, 44-292, 45-283, 47-325, 51-287, 53-219, 53-292, 53-302, 53-325, 55-298, 68-330, 69-299, 72-360, 88-346, 92-352, 92-571, 93-215, 93-224, 95-291, 95-360, 95-475, 95-482, 96-281, 98-307, 98-344, 98-369, 116-236, 117-331, 117-363, 117-366, 119-252, 119-337, 119-383, 119-403, 120-398, 122-730, 123-280, 125-384, 127-611, 134-390, 134-441, 136-286, 144-398, 152-274, 156-313, 160-442, 197-426, 200-479, 215-713, 216-474, 220-701,

【 0 6 8 8 】

10

20

30

40

【表 4－1 1】

表 4－1 1

ポリヌクレオチド SEQ ID NO/ Incyte ID/配 列長	配列断片
239-434, 239-503, 264-491, 301-567, 319-516, 322-760, 326-664, 328-592, 331-471, 334-529, 337-599, 337-604, 339-783, 342-762, 350-556, 352-594, 352-762, 355-781, 356-537, 356-634, 356-638, 358-618, 359-633, 360-619, 362-620, 368-783, 380-624, 380-702, 391-658, 397-762, 399-605, 401-582, 401-650, 401-660, 404-502, 409-624, 413-673, 432-703, 435-718, 442-743, 474-704, 505-762, 508-763, 576-762, 663-769, 675-762	
70/7500194CB1/ 1521	1-1521, 75-653, 91-391, 105-221, 105-358, 241-504, 245-795, 247-492, 247-495, 247-503, 247-536, 247-630, 247-761, 247-775, 247-791, 247-795, 247-891, 247-912, 266-563, 268-548, 269-844, 274-583, 277-513, 277-514, 281-450, 281-524, 291-497, 292-530, 292-601, 292-605, 292-1020, 292-1047, 297-663, 307-572, 309-772, 319-629, 330-588, 331-775, 333-615, 339-559, 343-659, 351-876, 359-628, 359-741, 361-621, 363-601, 363-631, 363-646, 364-626, 366-623, 370-621, 375-619, 375-655, 376-488, 390-532, 391-806, 391-1029, 394-943, 396-566, 402-738, 406-657, 409-633, 409-663, 414-693, 414-935, 416-675, 418-986, 419-574, 423-900, 430-710, 431-679, 431-706, 431-746, 438-704, 438-725, 445-643, 447-746, 455-697, 455-704, 455-731, 458-752, 459-1352, 468-637, 473-707, 474-1103, 482-715, 488-727, 491-681, 502-1105, 506-1104, 516-1352, 526-773, 530-742, 533-1136, 533-1352, 534-1352, 535-774, 538-784, 539-801, 540-784, 541-771, 541-1022, 541-1077, 544-805, 545-801, 545-1120, 550-865, 551-741, 553-756, 554-802, 562-795, 564-1154, 565-1151, 566-1046, 573-1103, 574-991, 578-1241, 578-1275, 579-1352, 580-892, 582-1352, 589-808, 589-1209, 593-854, 595-772, 603-848, 605-884, 606-795, 606-867, 607-1142, 616-1101, 621-879, 622-809, 622-857, 623-755, 623-1075, 623-1101, 628-937, 631-891, 631-1352, 632-1109, 635-1105, 636-826, 638-930, 647-846, 650-921, 654-855, 658-928, 666-1220, 679-1172, 691-1114, 694-896, 697-907, 707-959, 724-1241, 733-1014, 735-1402, 739-1369, 743-981, 748-1179, 753-1243, 755-998, 759-1011, 764-1046, 768-1074, 769-1043, 771-1044, 773-1032, 774-1050, 785-1036, 793-992, 793-1039, 793-1053, 795-897, 795-1313, 798-1071, 798-1091, 803-1341, 806-917, 808-1063, 809-1483, 810-1070, 824-1063, 831-1077, 835-1090, 841-1047, 848-1123, 858-1050, 858-1063, 860-997, 874-1121, 875-1122, 894-1055, 896-1162, 898-1154, 899-1150, 900-1172, 902-1435, 902-1518, 925-1202, 935-1094, 944-1044, 949-1203, 950-1147, 952-1081, 955-1423, 957-1387, 957-1410, 964-1316, 973-1233, 976-1211, 976-1253, 976-1276, 976-1286, 987-1197, 992-1215, 999-1227, 999-1244, 999-1258, 1003-1206, 1012-1405, 1014-1255, 1019-1263, 1019-1282, 1025-1413, 1026-1327, 1044-1231, 1059-1228, 1062-1148, 1071-1386, 1075-1295, 1084-1218, 1103-1349, 1113-1416, 1113-1457, 1118-1402, 1119-1388, 1121-1510, 1122-1397, 1123-1521, 1130-1412, 1131-1521, 1156-1422, 1158-1402, 1158-1430, 1161-1433, 1163-1521, 1175-1440, 1183-1449, 1185-1406, 1188-1319, 1188-1352, 1196-1469, 1210-1492, 1215-1334, 1218-1521, 1221-1521, 1225-1511, 1225-1521, 1232-1470, 1235-1496, 1235-1497, 1235-1517, 1242-1409, 1242-1480, 1242-1489, 1242-1512, 1248-1521, 1249-1513, 1265-1521, 1278-1458, 1281-1521, 1292-1521, 1293-1521, 1390-1521

【表 4－1 2】

表 4－1 2

ポリヌクレオチ ド SEQ ID NO/ Incyte ID/配 列長	配列断片	
71/7500871CB1/ 1558		1-129, 1-1498, 4-271, 7-128, 8-108, 10-118, 10-129, 11-98, 12-125, 14-129, 15-129, 17-129, 18-129, 27-129, 36-129, 130-397, 130-522, 130-585, 130-609, 130-650, 130-664, 130-676, 130-796, 139-696, 143-333, 144-428, 144-436, 144-688, 150-807, 151-814, 156-477, 157-500, 163-867, 164-386, 170-461, 174-464, 179-380, 179-381, 179-429, 179-447, 179-466, 180-829, 181-385, 184-753, 189-738, 191-578, 191-789, 192-820, 196-671, 197-440, 199-814, 199-816, 199-909, 199-955, 199-979, 199-1018, 201-434, 202-582, 202-812, 205-813, 214-505, 216-449, 216-528, 222-501, 223-460, 227-456, 227-537, 231-497, 242-462, 249-923, 254-704, 255-550, 255-600, 255-872, 255-915, 259-516, 269-546, 269-630, 269-1088, 270-503, 273-514, 276-973, 279-902, 282-1003, 284-534, 288-434, 288-840, 295-808, 295-1028, 297-388, 297-538, 298-600, 299-581, 300-622, 303-582, 303-590, 303-924, 307-620, 307-755, 308-542, 308-552, 309-575, 311-809, 311-900, 311-918, 312-571, 313-728, 313-734, 314-976, 314-1117, 317-573, 320-1003, 322-598, 323-985, 331-597, 331-603, 333-585, 338-610, 340-577, 340-789, 340-835, 341-580, 348-591, 348-877, 348-964, 350-622, 352-434, 352-746, 352-874, 358-959, 360-1040, 361-652, 361-953, 361-987, 362-912, 362-960, 367-651, 367-793, 367-1077, 368-1215, 370-897, 371-643, 373-1071, 375-1005, 377-457, 377-522, 377-590, 385-874, 386-639, 386-648, 386-656, 389-980, 395-626, 395-964, 397-1062, 399-1070, 401-674, 405-1255, 406-666, 407-1066, 410-934, 422-554, 422-689, 423-621, 423-627, 423-680, 423-705, 424-668, 424-669, 424-670, 425-677, 426-1092, 429-725, 434-647, 434-716, 434-750, 435-521, 435-1015, 436-611, 436-657, 436-706, 436-730, 436-864, 436-880, 439-685, 439-713, 441-1045, 444-689, 444-735, 447-652, 448-710, 450-897, 452-665, 455-714, 456-716, 457-685, 457-748, 463-694, 463-1060, 466-733, 468-632, 468-718, 468-720, 468-746, 469-674, 473-747, 478-1017, 478-1036, 479-746, 480-1124, 481-648, 483-769, 483-771, 484-869, 487-770, 491-765, 492-1038, 493-758, 500-1137, 507-877, 508-805, 509-1050, 510-772, 510-1039, 514-783, 514-866, 519-805, 520-791, 523-609, 523-697, 523-859, 523-866, 523-1040, 523-1056, 523-1149, 524-609, 524-745, 524-1040, 526-1039, 531-1065, 534-784, 534-827, 534-1191, 535-825, 537-786, 537-825, 538-950, 541-806, 541-1143, 544-827, 544-1194, 545-845, 545-869, 547-827, 549-1155, 551-763, 551-779, 551-782, 551-837, 551-841, 552-1012, 552-1040, 554-1214, 556-1112, 560-708, 560-998, 563-804, 563-1212, 569-970, 573-1149, 573-1179, 573-1214, 574-851, 574-1014, 576-861, 579-1111, 579-1189, 584-853, 585-864, 586-859, 587-1363, 588-1136, 591-875, 592-833, 593-1189, 594-832, 600-853, 602-847, 603-1247, 604-845, 606-884, 606-1165, 609-944, 609-1193, 610-697, 610-785, 610-875, 610-1028, 612-704, 614-843, 614-996, 616-866, 627-918, 631-830, 632-841, 632-859, 637-878, 637-903, 637-936, 639-1001, 639-1342, 640-1185, 641-1245, 643-843, 643-891, 643-1215, 644-864, 644-911, 649-848, 649-873, 652-842, 652-1217, 655-941, 657-973, 658-921, 659-933, 660-962, 661-1285, 670-1248, 677-898, 680-899, 682-853, 683-1145, 684-971, 691-956, 693-959, 696-1315, 698-750, 698-813, 698-841, 698-1238, 700-983, 700-1274, 701-984, 705-953, 706-1339, 710-952, 712-1287, 714-1340, 717-1380, 718-1268, 720-1329, 723-

【表 4 - 1 3】

表 4 - 1 3

ポリスクレオチ ド	配列断片
SEQ ID NO/ Incyte ID/配 列長	
	1252, 726-1137, 727-1269, 728-972, 728-1010, 728-1014, 728-1339, 729-1265, 730-1018, 734-1000, 734-1015, 735-957, 735-1013, 739-1226, 743-1182, 743-1337, 744-1015, 744-1168, 746-1030, 750-1018, 751-1034, 751-1198, 751-1338, 751-1349, 752-1007, 757-1010, 758-1040, 758-1326, 758-1386, 759-1059, 762-1236, 762-1243, 762-1269, 769-1009, 770-1384, 771-1065, 772-1043, 774-1362, 775-1058, 776-1013, 777-968, 778-1476, 779-913, 781-1094, 781-1335, 781-1375, 781-1395, 786-1007, 786-1050, 786-1468, 787-1050, 788-1140, 791-997, 792-1035, 801-1506, 803-1001, 804-1092, 804-1410, 806-1094, 812-1332, 813-1508, 816-1117, 816-1250, 824-1123, 831-1402, 831-1525, 832-987, 833-1082, 837-1065, 837-1085, 838-1126, 842-1092, 844-988, 848-1483, 850-1445, 850-1473, 851-1517, 857-1424, 858-1093, 858-1109, 858-1116, 858-1221, 858-1280, 859-1140, 865-1111, 865-1120, 866-1129, 869-1113, 871-1468, 872-1452, 876-1503, 877-1477, 877-1494, 880-1144, 882-1484, 889-1030, 889-1084, 889-1096, 890-1552, 893-1128, 895-1174, 898-1494, 908-1121, 910-1156, 910-1414, 916-1520, 918-1516, 919-1091, 921-1479, 921-1514, 922-1166, 922-1255, 925-1174, 925-1198, 929-1213, 929-1217, 929-1235, 929-1243, 930-1217, 931-1220, 934-1217, 935-1221, 936-1146, 939-1341, 942-1173, 942-1215, 943-1235, 943-1558, 949-1275, 953-1183, 954-1215, 956-1191, 956-1238, 959-1269, 961-1483, 966-1233, 967-1256, 969-1395, 969-1515, 971-1545, 973-1226, 974-1505, 980-1249, 980-1261, 981-1314, 983-1208, 985-1277, 986-1220, 987-1473, 988-1257, 992-1208, 992-1214, 993-1234, 993-1241, 993-1247, 995-1209, 995-1451, 995-1542, 996-1516, 1001-1513, 1002-1219, 1007-1514, 1017-1262, 1018-1257, 1018-1277, 1019-1313, 1021-1486, 1024-1240, 1024-1297, 1027-1499, 1029-1291, 1031-1278, 1035-1499, 1035-1513, 1037-1319, 1044-1295, 1045-1268, 1045-1487, 1052-1160, 1052-1343, 1054-1320, 1054-1473, 1057-1289, 1061-1293, 1061-1302, 1061-1333, 1061-1368, 1063-1348, 1063-1351, 1070-1486, 1071-1317, 1071-1329, 1071-1332, 1072-1345, 1075-1557, 1077-1318, 1077-1328, 1081-1174, 1087-1317, 1087-1335, 1087-1352, 1090-1359, 1090-1366, 1090-1470, 1092-1424, 1093-1293, 1096-1355, 1097-1361, 1100-1330, 1100-1385, 1101-1295, 1101-1327, 1101-1355, 1103-1317, 1103-1334, 1107-1516, 1109-1450, 1118-1367, 1118-1374, 1118-1387, 1118-1400, 1124-1388, 1129-1421, 1131-1378, 1134-1294, 1134-1421, 1135-1378, 1138-1403, 1140-1418, 1144-1416, 1144-1472, 1145-1415, 1147-1387, 1155-1459, 1156-1398, 1156-1445, 1159-1440, 1159-1454, 1161-1374, 1164-1408, 1164-1409, 1164-1415, 1164-1472, 1165-1391, 1170-1470, 1180-1454, 1180-1475, 1181-1442, 1181-1495, 1184-1415, 1185-1408, 1190-1429, 1190-1453, 1206-1460, 1208-1475, 1211-1489, 1215-1473, 1225-1415, 1230-1494, 1230-1497, 1233-1531, 1235-1512, 1237-1457, 1245-1508, 1245-1516, 1252-1476, 1252-1489, 1252-1504, 1253-1366, 1253-1536, 1258-1497, 1295-1457, 1310-1516, 1349-1464

【 0 6 9 1 】

10

20

30

【表 4 - 1 4】

表 4 - 1 4

ポリヌクレオチド SEQ ID NO/ Incyte ID/配列長	配列断片
72/7500873CB1/1471	1-130, 1-1411, 6-130, 7-128, 7-269, 7-638, 8-108, 8-253, 10-118, 10-130, 11-98, 12-131, 14-130, 15-130, 17-130, 18-130, 27-130, 36-130, 130-347, 130-362, 130-401, 130-418, 130-495, 130-584, 130-651, 130-702, 130-742, 130-822, 132-725, 133-609, 133-733, 134-441, 134-726, 135-355, 135-370, 135-414, 136-373, 140-367, 140-450, 144-410, 150-666, 155-375, 162-836, 167-383, 167-617, 168-463, 168-513, 168-785, 168-828, 172-429, 182-459, 182-543, 182-1001, 183-416, 186-427, 189-886, 192-445, 192-815, 195-916, 197-447, 201-347, 201-753, 208-721, 210-301, 210-451, 211-513, 212-494, 213-535, 216-495, 216-503, 216-533, 216-837, 220-533, 220-668, 221-337, 221-455, 221-465, 222-488, 224-722, 224-813, 224-831, 225-484, 226-641, 226-647, 227-889, 227-1030, 230-486, 233-916, 235-511, 236-898, 240-468, 244-480, 244-501, 244-510, 244-516, 246-498, 251-523, 253-490, 253-702, 253-748, 254-493, 261-504, 261-538, 261-790, 261-877, 263-535, 265-347, 265-659, 265-787, 271-872, 273-953, 274-866, 274-900, 275-825, 275-873, 280-564, 280-706, 280-990, 281-1128, 283-810, 284-556, 286-984, 288-918, 290-370, 290-435, 290-503, 297-540, 298-787, 299-552, 299-561, 299-569, 302-893, 308-539, 308-877, 310-975, 312-983, 314-587, 318-1168, 319-579, 320-979, 323-847, 335-467, 335-602, 336-534, 336-540, 336-593, 336-618, 337-581, 337-582, 337-583, 338-590, 339-1005, 342-638, 347-560, 347-629, 347-663, 348-928, 349-524, 349-570, 349-619, 349-643, 349-777, 349-793, 352-598, 352-626, 354-958, 357-602, 357-648, 360-565, 361-623, 362-584, 363-810, 365-578, 368-627, 369-629, 370-598, 370-661, 376-607, 376-973, 379-646, 381-545, 381-631, 381-633, 381-659, 382-587, 386-660, 391-930, 391-949, 392-659, 393-1037, 394-561, 396-682, 396-684, 397-782, 400-683, 404-678, 405-951, 406-671, 413-1050, 420-790, 421-718, 422-963, 423-685, 423-952, 427-696, 427-779, 432-718, 433-704, 436-522, 436-610, 436-772, 436-779, 436-953, 436-969, 436-1062, 437-522, 437-658, 437-953, 439-952, 444-978, 447-697, 447-740, 447-1104, 448-738, 450-699, 450-738, 451-863, 454-719, 454-1056, 457-740, 457-1107, 458-758, 458-782, 460-740, 462-1068, 464-676, 464-692, 464-695, 464-750, 464-754, 465-925, 465-953, 467-1127, 469-1025, 473-621, 473-911, 476-717, 476-1125, 482-883, 486-1062, 486-1092, 486-1127, 487-764, 487-927, 489-774, 492-1024, 492-1102, 497-766, 498-777, 499-772, 500-1276, 501-1049, 504-788, 505-746, 506-1102, 507-745, 513-766, 515-760, 516-1160, 517-758, 519-797, 519-1078, 522-857, 522-1106, 523-610, 523-698, 523-788, 523-941, 525-617, 527-756, 527-909, 529-779, 540-831, 544-743, 545-754, 545-772, 550-791, 550-816, 550-849, 552-914, 552-1255, 553-1098, 554-1158, 556-756, 556-804, 556-1128, 557-777, 557-824, 562-761, 562-786, 565-755, 565-1130, 568-854, 570-886, 571-834, 572-846, 573-875, 574-1198, 583-1161, 590-811, 593-812, 595-766, 596-1058, 597-884, 604-869, 606-872, 609-1228, 611-663, 611-726, 611-754, 611-1151, 613-896, 613-1187, 614-897, 618-866, 619-1252, 623-865, 625-1200, 627-1253, 630-1293, 631-1181, 633-1242, 636-1165, 639-1050, 640-1182, 641-885, 641-923, 641-927, 641-1252, 642-1178, 643-931, 647-913, 647-928, 648-870, 648-926, 652-1139, 656-1095, 656-1250, 657-928, 657-1081, 659-943, 663-931, 664-947, 664-1111, 664-1251, 664-1262, 665-

【表 4－15】

表 4－15

ポリヌクレオチ ド SEQ ID NO/ Incyte ID/配 列長	配列断片
	920, 670-923, 671-953, 671-1239, 671-1299, 672-972, 675-1149, 675-1156, 675-1182, 682-922, 683-1297, 684-978, 685-956, 687-1275, 688-971, 689-926, 690-881, 691-1389, 692-826, 694-1007, 694-1248, 694-1288, 694-1308, 699-920, 699-963, 699-1381, 700-963, 701-1053, 704-910, 705-948, 714-1419, 716-914, 717-1005, 717-1323, 719-1007, 725-1245, 726-1421, 729-1030, 729-1163, 737-1036, 744-1315, 744-1438, 745-900, 746-995, 750-978, 750-998, 751-1039, 755-1005, 757-901, 761-1396, 763-1358, 763-1386, 764-1430, 770-1337, 771-1006, 771-1029, 771-1134, 771-1193, 778-1024, 778-1033, 782-1026, 784-1381, 785-1365, 789-1416, 790-1390, 790-1407, 793-1057, 795-1397, 802-943, 802-997, 802-1009, 803-1465, 808-1087, 811-1407, 821-1034, 823-1069, 823-1327, 829-1433, 831-1429, 832-1004, 834-1392, 834-1427, 835-1079, 835-1168, 838-1087, 838-1111, 842-1126, 842-1130, 842-1148, 842-1156, 843-1130, 844-1133, 847-1130, 848-1134, 849-1059, 852-1254, 855-1086, 855-1128, 856-1148, 856-1471, 862-1188, 866-1096, 867-1128, 869-1104, 869-1151, 872-1168, 874-1396, 879-1146, 880-1169, 882-1308, 882-1428, 884-1458, 886-1139, 887-1418, 893-1162, 893-1174, 894-1227, 896-1121, 898-1190, 899-1133, 900-1386, 901-1170, 905-1121, 905-1127, 906-1147, 906-1154, 906-1160, 908-1122, 908-1364, 908-1455, 909-1429, 914-1426, 920-1427, 930-1175, 931-1190, 932-1226, 934-1399, 937-1153, 937-1210, 940-1412, 942-1204, 944-1191, 948-1412, 948-1426, 950-1232, 957-1208, 958-1181, 958-1400, 965-1073, 965-1256, 967-1233, 967-1386, 970-1202, 974-1206, 974-1215, 974-1246, 974-1281, 976-1261, 976-1264, 983-1399, 984-1230, 984-1242, 984-1245, 985-1258, 988-1470, 990-1231, 990-1241, 994-1087, 1000-1230, 1000-1248, 1000-1265, 1003-1272, 1003-1279, 1003-1383, 1005-1337, 1006-1206, 1009-1268, 1010-1274, 1013-1243, 1013-1298, 1014-1208, 1014-1240, 1014-1268, 1016-1230, 1016-1247, 1020-1429, 1022-1363, 1031-1280, 1031-1287, 1031-1300, 1031-1313, 1037-1301, 1042-1334, 1044-1291, 1047-1207, 1047-1334, 1048-1291, 1051-1316, 1053-1331, 1057-1329, 1057-1385, 1058-1328, 1060-1300, 1068-1372, 1069-1311, 1069-1358, 1072-1353, 1072-1367, 1074-1287, 1077-1321, 1077-1322, 1077-1328, 1077-1385, 1078-1304, 1083-1383, 1093-1367, 1093-1388, 1094-1355, 1094-1408, 1097-1328, 1098-1321, 1103-1342, 1103-1366, 1119-1373, 1121-1388, 1124-1402, 1128-1386, 1138-1328, 1143-1407, 1143-1410, 1146-1444, 1148-1425, 1150-1370, 1158-1421, 1158-1429, 1165-1389, 1165-1402, 1165-1417, 1166-1279, 1166-1449, 1171-1410, 1208-1370, 1223-1429, 1262-1377

【表 4 - 1 6】

表 4 - 1 6

ポリヌクレオチド SEQ ID NO/ Incyte ID/配列長	配列断片
73/7503491CBI/ 1169	1-196, 1-242, 1-1166, 11-205, 32-211, 46-297, 60-328, 69-578, 132-266, 227-386, 227-506, 266-842, 273-600, 284-543, 292-537, 294-583, 295-1133, 299-943, 307-637, 322-574, 329-598, 334-625, 337-596, 337-597, 337-931, 343-875, 345-691, 350-967, 351-638, 352-606, 354-569, 354-1016, 358-1166, 369-574, 369-594, 373-612, 373-977, 374-630, 382-901, 383-681, 391-694, 406-689, 416-729, 418-665, 422-685, 424-917, 434-1108, 451-1169, 454-977, 455-711, 458-663, 469-1014, 474-908, 474-1109, 475-1152, 484-1108, 485-953, 491-1112, 494-621, 512-1113, 514-971, 519-958, 519-1134, 522-794, 530-1166, 533-846, 535-1166, 538-1128, 544-1166, 546-1152, 547-759, 555-1163, 558-803, 562-1087, 565-1161, 566-775, 566-797, 566-813, 584-1122, 594-746, 594-899, 605-1163, 612-803, 617-905, 620-871, 620-1018, 621-850, 621-884, 624-808, 628-1094, 630-1116, 634-936, 648-912, 649-908, 652-877, 652-881, 652-901, 660-918, 666-962, 671-883, 671-928, 673-952, 690-1166, 705-1166, 708-1166, 709-1166, 713-981, 715-1166, 716-1166, 720-1166, 723-1166, 725-1166, 728-1166, 731-1166, 744-1004, 746-1002, 746-1166, 747-1166, 751-1166, 764-1166, 765-1166, 767-1161, 773-1166, 789-1166, 806-1166, 819-1040, 822-1166, 823-1166, 835-1166, 836-1096, 840-1049, 847-1166, 863-1078, 864-1166, 880-1166, 882-1166, 884-1166, 885-1166, 895-1166, 896-1166, 903-1101, 916-1166, 929-1160, 929-1165, 936-1166, 981-1087
74/7503427CBI/ 1096	1-207, 1-285, 1-452, 1-713, 5-570, 18-282, 24-317, 29-288, 33-295, 33-358, 41-285, 41-314, 42-265, 42-401, 43-291, 43-373, 44-183, 47-330, 48-312, 52-319, 54-608, 57-309, 60-312, 60-351, 63-330, 77-346, 81-331, 88-381, 91-332, 91-368, 96-322, 96-362, 107-365, 114-350, 118-692, 120-390, 128-409, 139-316, 139-386, 172-401, 173-376, 193-470, 211-460, 212-444, 212-461, 212-462, 212-475, 212-488, 212-499, 224-454, 225-286, 228-539, 244-502, 253-520, 254-501, 272-954, 275-379, 283-569, 283-571, 283-572, 301-538, 301-547, 301-549, 301-551, 301-563, 301-576, 301-580, 346-531, 348-575, 352-591, 380-1005, 446-978, 448-589, 606-1011, 610-983, 610-991, 613-1016, 617-869, 617-1005, 626-989, 641-953, 641-990, 653-883, 662-996, 671-990, 673-990, 684-997, 686-993, 694-932, 696-991, 709-941, 709-953, 713-988, 715-988, 720-1008, 725-954, 729-979, 729-1007, 735-989, 748-986, 762-997, 762-1004, 762-1005, 767-1015, 783-990, 784-990, 803-991, 829-988, 848-1087, 853-1096, 886-990
75/7503547CBI/ 1637	1-530, 67-650, 73-826, 73-1486, 86-397, 87-346, 101-362, 101-841, 102-426, 121-680, 121-755, 121-764, 121-790, 121-791, 121-849, 143-203, 202-918, 203-470, 203-526, 218-476, 239-458, 242-521, 242-562, 244-497, 288-592, 290-582, 293-504, 293-528, 305-561, 308-564, 321-611, 332-585, 342-579, 343-613, 361-529, 384-651, 550-849, 604-1201, 609-1130, 612-1127, 635-1260, 650-1250, 658-1016, 658-1113, 661-1250, 683-1157, 736-1268, 747-1287, 748-952, 752-1250, 757-1429, 776-1399, 781-1187, 786-1346, 789-1482, 851-1508, 886-1344, 892-1486, 893-1346, 912-1474, 920-1199, 920-1344, 939-1351, 958-1169, 962-1240, 973-1393, 975-1348, 998-1445, 1031-1207, 1046-1475, 1069-1195, 1083-1474, 1096-1533, 1097-1342, 1116-1351, 1119-1278, 1174-1346, 1174-1434, 1206-1346, 1250-1471.

【 0 6 9 4 】

表 4 - 1 7

【 表 4 - 1 7 】

ポリヌクレオチ ド SEQ ID NO/ Incyte ID/配 列長	配列断片
---	------

1326-1461, 1326-1522, 1326-1555, 1374-1637

76/1932641CB1/
2001

1-626, 1-655, 4-449, 5-284, 10-527, 12-613, 12-815, 13-494, 13-830, 15-287, 15-314, 23-566, 23-1012, 29-293, 31-905, 35-231, 37-294, 38-676, 40-289, 42-333, 44-781, 45-671, 47-680, 47-742, 52-645, 53-240, 63-684, 162-1435, 262-556, 275-503, 275-563, 280-699, 352-432, 383-635, 384-582, 387-722, 405-682, 431-533, 438-925, 449-683, 449-1006, 544-989, 562-1210, 583-880, 588-938, 588-1218, 594-1271, 611-1184, 703-1289, 706-1411, 708-1334, 719-1353, 727-1323, 728-1394, 737-1299, 743-1196, 745-1293, 753-1435, 753-1447, 759-1397, 816-1411, 822-1151, 828-1076, 828-1450, 837-1566, 841-1349, 854-1413, 854-1444, 857-1139, 915-1589, 918-1500, 929-1171, 929-1423, 939-1229, 941-1237, 945-1204, 945-1217, 953-1420, 956-1540, 960-1588, 965-1711, 982-1677, 997-1634, 998-1629, 1008-1592, 1010-1624, 1025-1625, 1029-1298, 1038-1344, 1041-1753, 1054-1268, 1059-1716, 1062-1716, 1064-1732, 1082-1743, 1086-1547, 1086-1706, 1087-1626, 1087-1648, 1113-1784, 1116-1831, 1126-1743, 1133-1696, 1136-1361, 1136-1387, 1137-1812, 1145-1437, 1146-1418, 1156-1815, 1165-1760, 1165-1761, 1168-1725, 1172-1713, 1177-1818, 1183-1859, 1190-1825, 1193-1891, 1202-1859, 1205-1811, 1210-1607, 1215-1457, 1226-1747, 1226-1808, 1242-1837, 1252-1816, 1268-1914, 1269-1896, 1273-1873, 1294-1815, 1314-1974, 1319-2001, 1343-1998, 1346-1884, 1349-1603, 1369-1628, 1382-1994

77/6892447CB1/
6830

1-640, 76-383, 236-479, 479-876, 534-1141, 565-1140, 801-1379, 801-1517, 810-1480, 932-6826, 1060-1379, 1125-1641, 1130-1635, 1130-1641, 1158-1751, 1158-1767, 1574-2008, 1685-1970, 1872-2527, 1908-2022, 1916-2074, 2245-2502, 2245-2767, 2245-2776, 2245-2809, 2245-2815, 2346-2975, 2376-2980, 2506-2980, 2733-2976, 3048-3748, 3179-3851, 3222-3669, 3280-4230, 3543-4068, 3603-3903, 3603-3975, 3603-4113, 3603-4143, 3603-4154, 3603-4187, 3603-4191, 3603-4196, 3607-4193, 3655-4288, 3781-4133, 3802-4417, 3822-4302, 3859-4293, 3879-4500, 3913-4430, 4023-4786, 4061-4545, 4061-4551, 4257-4837, 4279-4939, 4353-4869, 4353-4928, 4368-4883, 4378-5060, 4387-4963, 4397-4987, 4456-5118, 4466-5073, 4467-4896, 4467-5035, 4470-5111, 4474-5117, 4495-5062, 4498-5074, 4501-5133, 4502-5110, 4508-5111, 4519-4906, 4525-5126, 4597-5215, 4605-5092, 4605-5093, 4662-5122, 4676-5192, 4833-5506, 4865-5320, 4869-5484, 4961-5787, 4974-5465, 5004-5515, 5064-5569, 5091-5645, 5126-5795, 5140-5645, 5181-5719, 5187-5691, 5217-5801, 5244-5779, 5260-5679, 5309-5728, 5319-5830, 5329-5812, 5348-5752, 5375-5812, 5389-6112, 5393-5774, 5401-5804, 5401-5882, 5403-5806, 5413-5801, 5419-5812, 5421-5812, 5426-5797, 5426-5797, 5487-5805, 5527-6095, 5583-6166, 5650-6552, 5720-6212, 5751-6431, 5799-6292, 5834-6479, 5834-6486, 5846-6435, 5855-6750, 5882-6344, 5886-6315, 5887-6448, 5939-6450, 5963-6500, 5974-6516, 5974-6541, 5974-6577, 5974-

【表 4－18】

表 4－18

ポリスクレオチ ド SEQ ID NO/ Incyte ID/配 列長	配列断片
	6649, 5980-6504, 5980-6506, 6042-6663, 6079-6777, 6097-6777, 6133-6788, 6164-6606, 6172-6616, 6176-6788, 6178-6830, 6186-6671, 6195-6825, 6205-6819, 6213-6830, 6213-6819, 6213-6830, 6230-6751, 6233-6830, 6238-6707, 6238-6709, 6238-6718, 6244-6776, 6245-6705, 6247-6733, 6253-6830, 6361-6829, 6366-6830, 6370-6828, 6371-6827, 6373-6830, 6375-6825, 6378-6830, 6396-6828, 6396-6830, 6398-6825, 6398-6828, 6399-6826, 6421-6825, 6422-6765, 6422-6830, 6423-6830, 6430-6826, 6460-6826, 6466-6810, 6472-6830, 6504-6826

78/7503416CB1/ 2106	1-508, 9-30, 31-200, 31-272, 31-283, 31-308, 31-323, 31-527, 31-555, 31-577, 31-599, 31-617, 31-619, 33-471, 37-595, 42-310, 43-372, 45-301, 45-324, 45-458, 45-497, 45-531, 47-300, 47-348, 53-324, 53-744, 73-395, 79-695, 80-660, 120-353, 122-377, 122-384, 123-309, 123-2077, 143-414, 171-413, 202-567, 218-811, 221-795, 266-595, 268-825, 294-540, 301-579, 320-579, 374-648, 375-1032, 381-655, 424-687, 442-743, 449-1004, 468-1039, 486-733, 553-990, 553-1106, 554-1106, 561-1109, 564-1106, 575-1420, 590-1324, 602-819, 602-851, 602-1152, 612-1261, 622-1204, 637-894, 643-916, 684-1210, 706-1039, 707-986, 712-968, 722-969, 725-918, 741-984, 751-930, 756-1379, 759-1114, 760-1013, 760-1015, 761-1300, 764-1120, 776-1315, 781-984, 806-995, 813-967, 824-1106, 824-1311, 827-1311, 840-1426, 846-1411, 854-1054, 854-1467, 858-1403, 895-1429, 906-1106, 922-1158, 927-1107, 929-1106, 930-1106, 930-1175, 944-1264, 955-1467, 978-1214, 990-1427, 1024-1295, 1034-1312, 1035-1370, 1071-1382, 1115-1288, 1115-1303, 1115-1314, 1115-1316, 1115-1325, 1115-1329, 1115-1371, 1115-1394, 1115-1420, 1129-1464, 1150-1423, 1153-1384, 1193-1361, 1193-1363, 1236-1467, 1236-1526, 1256-1410, 1317-1460, 1351-1603, 1351-1644, 1352-1621, 1429-1711, 1454-2052, 1454-2062, 1461-2066, 1464-2066, 1465-1741, 1465-2087, 1467-1691, 1468-2081, 1478-1928, 1480-2001, 1480-2023, 1492-1724, 1506-2044, 1511-2030, 1518-1784, 1524-2079, 1527-2093, 1531-1810, 1551-2040, 1554-1873, 1562-1797, 1571-1706, 1573-1773, 1573-2080, 1573-2081, 1596-1856, 1597-2080, 1605-2106, 1614-2106, 1618-2080, 1620-2098, 1626-2082, 1630-1794, 1639-2079, 1645-2101, 1646-2085, 1646-2101, 1655-2106, 1663-2086, 1664-1929, 1664-2064, 1664-2096, 1671-2081, 1672-2083, 1673-1926, 1673-2009, 1673-2080, 1673-2092, 1680-2079, 1686-2081, 1692-1946, 1703-2081, 1705-1931, 1707-2079, 1710-2081, 1713-1945, 1717-2081, 1719-2085, 1720-2080, 1721-2081, 1725-2080, 1725-2094, 1727-2081, 1728-1840, 1767-2047, 1777-2081, 1781-2080, 1786-2086, 1792-2079, 1794-2046, 1796-
------------------------	---

【表 4 - 1 9】

表 4 - 1 9

ポリヌクレオチ ド SEQ ID NO/ Incyte ID/配 列長	配列断片
---	------

2078, 1800-2080, 1843-2100, 1889-2078, 1906-2069, 1925-2081, 1983-2080

79/7503874CBI/ 2888	1-130, 1-569, 25-695, 27-303, 29-218, 29-296, 29-316, 29-2632, 32-307, 42-747, 57-293, 57-574, 102-499, 129-360, 142-894, 148-801, 290-531, 290-764, 385-572, 402-899, 431-636, 443-988, 556-1018, 560-1448, 570-937, 592-1074, 601-1085, 647-1107, 679-919, 690-914, 742-1028, 803-985, 883-1123, 1106-1362, 1107-1748, 1109-1390, 1110-1374, 1116-1815, 1127-1419, 1141-1670, 1143-1426, 1146-1786, 1150-1739, 1177-1344, 1181-1553, 1181-1655, 1188-1762, 1195-1777, 1215-1486, 1215-1491, 1215-1498, 1215-1499, 1217-1772, 1241-1543, 1241-1549, 1241-1735, 1258-1520, 1258-1708, 1258-1830, 1258-1916, 1274-1936, 1282-1733, 1293-1891, 1304-1528, 1304-1572, 1304-1852, 1310-1767, 1339-1934, 1340-1807, 1347-1826, 1352-1586, 1352-1627, 1354-1988, 1357-1981, 1358-1625, 1361-1611, 1374-1653, 1377-1556, 1381-1569, 1390-1664, 1391-2302, 1393-1715, 1394-2302, 1397-1637, 1397-1920, 1399-1624, 1404-1645, 1411-1612, 1411-2022, 1412-1658, 1425-1726, 1426-1695, 1432-1752, 1449-1687, 1457-1667, 1463-2302, 1473-1733, 1476-1663, 1484-2068, 1486-2302, 1487-1779, 1492-1764, 1492-2109, 1502-1709, 1505-2302, 1508-1716, 1510-1923, 1516-2099, 1517-2340, 1518-1769, 1518-1787, 1521-2252, 1522-1770, 1523-1758, 1523-1963, 1524-1780, 1524-1833, 1528-2299, 1529-2302, 1536-1810, 1541-1773, 1559-1837, 1559-1840, 1560-1817, 1560-2108, 1561-1639, 1561-1809, 1567-1801, 1569-2179, 1570-2299, 1573-1793, 1577-2207, 1579-1862, 1580-1867, 1580-1872, 1581-1872, 1599-1785, 1602-1918, 1604-2221, 1610-2140, 1614-2309, 1625-1882, 1630-1902, 1641-2302, 1642-1911, 1642-1936, 1646-1900, 1664-1960, 1674-1930, 1681-2303, 1685-2408, 1687-2302, 1688-2113, 1692-2286, 1697-2261, 1702-2162, 1714-2403, 1719-1853, 1721-2031, 1726-2353, 1729-2038, 1729-2363, 1731-2002, 1735-2013, 1736-2247, 1742-1946, 1756-2355, 1760-2452, 1762-2384, 1764-2097, 1764-2302, 1766-2053, 1766-2071, 1769-2008, 1769-2040, 1769-2049, 1769-2280, 1769-2406, 1770-2065, 1775-2011, 1775-2150, 1781-2296, 1783-2313, 1783-2555, 1785-2574, 1791-2037.
------------------------	---

【表 4－20】

表 4－20

ポリヌクレオチド SEQ ID NO/ Incyte ID/配 列長	配列断片
	1800-2082, 1806-2038, 1806-2082, 1807-2091, 1821-2031, 1824-2305, 1831-2086, 1833-2414, 1836-2540, 1839-2243, 1842-2064, 1842-2236, 1849-2102, 1850-2576, 1854-2118, 1859-2121, 1859-2316, 1873-2586, 1875-2559, 1883-2105, 1885-2098, 1890-2172, 1890-2592, 1894-2187, 1904-2157, 1904-2442, 1915-2423, 1917-2169, 1918-2207, 1919-2491, 1921-2559, 1923-2207, 1924-2512, 1938-2152, 1941-2173, 1943-2212, 1949-2232, 1952-2573, 1953-2230, 1955-2404, 1955-2508, 1962-2195, 1962-2207, 1963-2559, 1971-2601, 1975-2622, 1981-2623, 1984-2624, 2001-2536, 2005-2594, 2011-2255, 2012-2283, 2012-2606, 2018-2564, 2020-2622, 2022-2626, 2029-2521, 2029-2624, 2032-2289, 2033-2581, 2034-2302, 2043-2310, 2044-2557, 2045-2284, 2045-2613, 2047-2624, 2052-2582, 2070-2632, 2070-2654, 2073-2219, 2079-2368, 2082-2328, 2086-2309, 2091-2582, 2092-2318, 2102-2408, 2103-2391, 2108-2400, 2110-2333, 2117-2656, 2130-2652, 2132-2406, 2136-2653, 2136-2669, 2138-2647, 2142-2446, 2143-2624, 2144-2629, 2145-2422, 2149-2653, 2151-2409, 2151-2491, 2151-2584, 2165-2407, 2165-2423, 2165-2630, 2166-2492, 2166-2632, 2173-2632, 2174-2409, 2175-2632, 2176-2646, 2180-2632, 2182-2658, 2183-2640, 2188-2444, 2188-2632, 2191-2474, 2192-2368, 2192-2471, 2193-2443, 2195-2638, 2198-2643, 2200-2639, 2209-2632, 2209-2664, 2216-2628, 2218-2632, 2221-2477, 2225-2532, 2237-2430, 2238-2438, 2242-2478, 2245-2592, 2246-2347, 2250-2660, 2255-2438, 2255-2576, 2255-2643, 2261-2632, 2263-2632, 2270-2636, 2271-2537, 2272-2641, 2278-2630, 2289-2551, 2297-2509, 2301-2632, 2304-2632, 2304-2633, 2304-2636, 2305-2632, 2309-2632, 2316-2569, 2318-2632, 2319-2561, 2319-2613, 2319-2649, 2319-2650, 2319-2651, 2319-2652, 2319-2653, 2319-2654, 2330-2632, 2331-2632, 2342-2632, 2346-2534, 2355-2630, 2357-2650, 2371-2888, 2387-2646, 2401-2632, 2401-2641, 2418-2633, 2422-2632, 2450-2632, 2459-2632, 2465-2632, 2466-2640, 2474-2645, 2480-2632, 2490-2606, 2492-2653, 2501-2632, 2557-2632
80/7503454CB1/ 1077	1-533, 80-927, 80-1027, 127-1043, 313-1043, 336-592, 337-576, 340-610, 341-581, 358-443, 358-519, 358-528, 358-536, 358-549, 358-569, 358-577, 358-614, 358-642, 358-835, 358-1077, 366-837, 428-1064, 450-805, 454-1077, 464-721, 465-609, 465-717, 535-805, 627-1077, 629-1077, 688-1077, 723-1077, 735-1077, 789-1068, 810-1077, 843-1070

【表 4 - 2 1】

表 4 - 2 1

ポリヌクレオチド SEQ ID NO/ Incyte ID/配 列長	配列断片
81/7503528CB1/ 1319	1-313, 1-319, 1-387, 1-476, 5-130, 5-169, 7-245, 7-275, 12-250, 12-274, 12-308, 13-262, 13-326, 23-270, 23-316, 27-258, 27-517, 27-1025, 29-249, 30-305, 32-269, 32-275, 32-276, 32-290, 32-296, 33-249, 33-265, 35-283, 36-287, 36-305, 36-321, 36-331, 37-289, 38-137, 38-298, 38-308, 38-326, 38-327, 38-476, 38-485, 39-314, 41-307, 42-255, 47-301, 48-130, 48-194, 48-202, 48-303, 48-311, 48-328, 48-346, 48-366, 49-272, 49-288, 49-291, 49-326, 49-336, 49-365, 49-407, 49-476, 50-303, 51-224, 52-323, 54-361, 54-632, 55-284, 55-321, 56-476, 57-305, 58-468, 58-513, 59-290, 59-301, 59-304, 59-307, 59-327, 59-351, 60-288, 61-226, 61-335, 62-308, 63-333, 63-343, 64-299, 64-450, 67-297, 67-307, 67-326, 67-337, 71-169, 71-266, 71-296, 71-361, 71-392, 72-332, 73-288, 73-374, 73-476, 73-676, 74-217, 74-299, 74-347, 74-348, 74-354, 74-365, 74-378, 76-360, 76-428, 78-328, 78-333, 78-335, 78-342, 79-287, 79-298, 79-333, 79-341, 79-344, 79-346, 79-361, 79-377, 79-417, 80-327, 80-377, 81-336, 81-337, 81-340, 81-368, 81-499, 82-359, 82-379, 82-682, 83-412, 83-420, 84-331, 84-338, 84-406, 85-345, 86-210, 86-301, 86-333, 86-360, 87-362, 87-369, 88-227, 88-311, 88-314, 88-318, 88-320, 88-322, 88-325, 88-326, 88-333, 88-335, 88-337, 88-338, 88-342, 88-343, 88-344, 88-345, 88-347, 88-351, 88-355, 88-356, 88-357, 88-360, 88-365, 88-369, 88-370, 88-376, 88-384, 88-404, 88-405, 88-445, 88-453, 88-476, 88-487, 88-605, 89-332, 89-341, 90-310, 90-317, 90-333, 90-364, 90-545, 91-292, 91-328, 91-335, 91-336, 91-339, 91-342, 91-349, 91-356, 91-359, 91-476, 92-196, 92-327, 92-360, 92-576, 92-577, 92-578, 92-579, 95-361, 97-422, 98-319, 99-389, 100-376, 102-330, 104-312, 104-377, 105-277, 108-390, 109-375, 110-376, 120-385, 122-417, 125-421, 127-366, 128-373, 129-385, 131-277, 132-380, 136-677, 141-399, 142-368, 146-386, 155-417, 155-441, 155-592, 160-441, 161-476, 163-460, 172-375, 180-455, 181-476, 186-431, 186-440, 194-472, 194-473, 196-460, 198-440, 199-449, 199-476, 209-440, 212-449, 217-448, 219-476, 236-472, 236-476, 236-602, 244-445, 244-476, 244-487, 246-474, 246-476, 248-476, 251-476, 262-615, 279-476, 305-476, 387-438, 419-1037, 468-998, 474-977, 476-678, 477-602, 477-634, 477-643, 477-667, 477-689, 477-693, 477-697, 477-706, 477-708, 477-718, 477-735, 477-865, 477-911, 477-940, 477-955, 477-992, 477-1015, 477-1038, 477-1045, 478-746, 478-1015, 479-710, 480-722, 481-707, 481-790, 481-1045, 484-1040, 491-754, 493-1039, 494-689, 500-721, 500-746, 500-758, 500-785, 501-768, 502-998, 504-740, 504-749, 504-767, 505-713, 505-743, 511-771, 511-1000, 511-1049, 512-1045, 515-807, 516-631, 516-1006, 522-1000, 524-995, 526-1014, 527-1032, 528-970, 534-743, 535-809, 535-1040, 537-1034, 540-767, 540-1027, 543-1000, 543-1014, 543-1022, 544-1007, 546-1011, 547-977, 548-765, 548-1008, 548-1017, 549-1030, 550-778, 551-1014, 553-813, 553-890, 553-999, 553-1063, 555-1017, 557-1025, 558-804, 558-816, 559-1009, 559-1014, 560-1014, 562-1035, 563-749, 563-991, 564-1011, 564-1052, 565-849, 565-853, 565-1014, 566-998, 567-1015, 568-1008, 569-1025, 571-797, 572-1017, 572-1030, 574-1015, 578-1009, 578-1033, 580-1024, 580-1032, 582-1034, 583-784, 583-1014, 584-1051, 589-1014, 590-1023, 594-797, 594-1005, 594-1014, 595-1009, 595-1014, 595-1017, 595-1036, 597-

10

20

30

表 4 - 2 2

【 表 4 - 2 2 】

ポリヌクレオチド SEQ ID NO/ Incyte ID/配列長	配列断片
	1015, 598-1039, 601-1039, 602-1014, 602-1017, 604-977, 604-1014, 604-1015, 605-876, 605-1008, 606-1019, 609-870, 609-1017, 610-1015, 612-769, 613-1010, 616-1014, 618-1014, 622-828, 626-1009, 626-1013, 626-1026, 627-1026, 629-1014, 630-874, 630-1009, 631-909, 631-920, 632-1010, 633-1015, 634-969, 634-1026, 634-1043, 637-1013, 637-1014, 637-1031, 638-1009, 638-1041, 638-1044, 639-1014, 644-885, 644-1019, 648-1014, 651-997, 651-1012, 651-1013, 651-1023, 652-975, 657-855, 658-841, 658-891, 661-891, 663-1017, 666-885, 670-924, 670-1014, 672-974, 674-919, 674-1014, 675-898, 680-1060, 682-1009, 682-1011, 683-1009, 684-1009, 685-1015, 688-983, 690-935, 693-1011, 693-1014, 694-961, 696-980, 696-1014, 698-1009, 699-1012, 699-1018, 700-1013, 701-984, 702-1009, 702-1013, 703-1015, 704-1015, 719-1014, 721-1009, 721-1012, 721-1014, 726-1014, 727-1007, 729-1009, 729-1014, 729-1059, 733-1009, 737-1009, 738-988, 738-1017, 739-952, 742-1007, 742-1015, 742-1026, 743-1007, 744-1009, 744-1010, 750-1023, 752-1019, 753-1017, 753-1035, 754-945, 754-980, 754-982, 754-1009, 756-948, 756-1008, 758-1011, 764-890, 765-1009, 766-1009, 767-1009, 768-1053, 769-1039, 779-1052, 782-1006, 782-1013, 783-1020, 784-1013, 784-1015, 788-1011, 794-1026, 798-1031, 801-1040, 820-1016, 820-1036, 820-1038, 821-1038, 827-1037, 829-1015, 854-1026, 872-1009, 872-1014, 872-1015, 884-1009, 886-1076, 899-1026, 901-1319, 908-1035, 919-1015, 946-1075
82/7503705CB1/ 1707	1-1685, 1-1700, 448-619, 641-1379, 785-1627, 806-895, 812-1623, 817-1627, 903-1537, 913-1660, 950-1696, 965-1704, 966-1621, 977-1696, 1014-1696, 1036-1667, 1061-1549, 1061-1554, 1136-1707
83/7503707CB1/ 4863	1-4848, 331-1029, 331-1046, 334-1058, 889-1606, 956-1609, 961-1609, 1199-4838, 3022-3639, 3022-3652, 3022-3685, 3022-3744, 3022-3789, 3025-3672, 3209-4012, 3253-3517, 3253-3521, 3253-3644, 3253-3799, 3253-3867, 3271-4087, 3297-4084, 3312-4087, 3320-4087, 3334-3846, 3340-4011, 3355-4012, 3356-4012, 3358-4011, 3362-4012, 3366-4087, 3374-4012, 3388-4012, 3417-4012, 3439-4012, 3538-4012, 3622-4012, 3664-4012, 3680-4019, 3947-4288, 3983-4611, 3986-4430, 4142-4853, 4191-4844, 4217-4844, 4280-4844, 4284-4815, 4284-4863, 4287-4844, 4340-4861, 4435-4839, 4539-4842, 4748-4845
84/90001962CB1/ 1529	1-833, 1-975, 128-976, 608-1516, 609-1419, 756-1529

【表 4 - 2 3】

表 4 - 2 3

ポリヌクレオチド SEQ ID NO/ Incyte ID/配 列長	配列断片	
85/70819231CB1/ 2718	1-606, 105-728, 133-456, 134-757, 160-668, 228-477, 340-784, 349-880, 364-630, 373-1288, 449-799, 452-704, 452-856, 452-916, 470-713, 470-940, 496-931, 501-1090, 506-1135, 523-1138, 558-729, 597-882, 625-1013, 733-985, 733-1196, 733-1240, 779-1306, 809-959, 824-1047, 824-1048, 824-1052, 824-1078, 824-1111, 831-1478, 920-1185, 952-1565, 1030-1215, 1030-1316, 1030-1564, 1031-1373, 1054-1674, 1102-1699, 1171-1826, 1190-1815, 1206-1740, 1211-1815, 1219-1770, 1248-1900, 1254-1668, 1266-1539, 1266-1792, 1266-1884, 1266-1959, 1266-1962, 1266-1982, 1286-2042, 1295-1498, 1393-2103, 1395-1425, 1406-2005, 1414-2211, 1422-1983, 1422-2087, 1462-2046, 1520-2070, 1528-2090, 1547-2100, 1556-2085, 1559-2145, 1582-2150, 1589-2053, 1590-1859, 1590-2023, 1590-2024, 1590-2095, 1590-2098, 1590-2123, 1590-2130, 1590-2136, 1590-2156, 1590-2173, 1590-2210, 1592-2072, 1616-1879, 1628-2170, 1649-2126, 1670-2143, 1725-2352, 1735-2420, 1740-2342, 1741-2340, 1745-2302, 1764-2036, 1778-2050, 1784-2483, 1796-2249, 1814-2106, 1814-2252, 1814-2314, 1815-2098, 1816-1974, 1853-2443, 1860-2417, 1864-2323, 1864-2354, 1864-2382, 1873-2352, 1880-2421, 1883-2420, 1886-2088, 1886-2450, 1916-2140, 1918-2619, 1968-2221, 1990-2254, 1990-2621, 2049-2624, 2101-2615, 2121-2637, 2171-2324, 2191-2716, 2204-2487, 2206-2420, 2214-2492, 2224-2420, 2251-2318, 2256-2469, 2256-2635, 2283-2710, 2286-2718, 2293-2522, 2293-2530, 2293-2582, 2293-2626, 2319-2576, 2320-2616, 2421-2605, 2421-2607, 2421-2638, 2421-2714	
86/7504066CB1/ 2120	1-251, 1-1600, 88-577, 105-406, 113-661, 113-815, 113-836, 113-878, 139-453, 144-411, 145-443, 162-445, 165-326, 165-411, 165-428, 165-432, 165-444, 165-451, 165-466, 165-574, 165-575, 166-400, 166-406, 166-409, 166-412, 166-420, 166-423, 166-424, 166-427, 166-430, 166-439, 166-442, 166-444, 166-452, 166-457, 166-461, 166-471, 166-475, 166-563, 166-577, 167-394, 168-411, 168-414, 168-420, 168-424, 168-433, 168-444, 168-453, 168-454, 168-464, 169-428, 170-440, 171-418, 171-426, 171-461, 171-525, 172-341, 172-408, 172-463, 174-375, 174-379, 174-461, 175-421, 175-467, 176-413, 177-446, 178-290, 178-415, 178-416, 178-437, 178-444, 178-445, 178-454, 178-478, 178-517, 178-543, 179-417, 179-459, 180-448, 182-263, 182-413, 182-429, 182-618, 182-694, 182-762, 182-775, 182-827, 183-721, 184-325, 184-431, 184-443, 184-557, 186-335, 186-447, 186-452, 187-420, 187-455, 187-490, 187-517, 187-735, 190-479, 192-440, 192-540, 209-688, 212-454, 212-481, 213-367, 213-448, 213-463, 213-471, 213-518, 213-519, 214-450, 221-496, 229-551, 234-485, 236-526, 252-508, 258-531, 259-577, 265-372, 270-466, 271-553, 278-494, 280-522, 280-557, 283-538, 283-544, 298-577, 336-937, 340-552, 346-542, 361-544, 377-577, 378-577, 378-666, 378-741, 405-576, 427-1370, 435-682, 491-1110, 491-1111, 507-925, 571-1372, 572-834, 572-1108, 572-1369, 572-1370, 577-1370, 577-1372, 579-816, 579-818, 580-965, 580-1370, 583-869, 586-833, 587-1369, 588-1110, 598-1372, 610-963, 623-1372, 637-1370, 640-1284, 640-1373, 647-1436, 649-1049, 656-1114, 659-1116, 661-1372, 669-1119, 670-1116, 671-1116, 672-1128, 673-1107, 676-1116, 680-1038, 683-1239, 684-952, 686-920, 686-946, 686-1120, 690-	

【表 4 - 2 4】

表 4 - 2 4

ポリヌクレオチド SEQ ID NO/ Incyte ID/配 列長	配列断片	
87/90001862CBI/ 2349	1-267, 78-772, 79-817, 81-799, 81-817, 81-818, 115-270, 336-791, 510-1159, 540-993, 542-1009, 573-1404, 587-1048, 590-1059, 590-1244, 593-1017, 593-1056, 593-1082, 593-1089, 601-1140, 601-1150, 606-1002, 608-1057, 612-1008, 621-1042, 629-1441, 630-1235, 630-1486, 663-1381, 675-1216, 680-934, 694-930, 694-1162, 703-1143, 705-1565, 707-1158, 730-968, 734-1426, 738-1593, 765-1435, 769-964, 778-1028, 818-881, 1271-1878, 1342-1967, 1365-2006, 1390-1955, 1391-2030, 1470-2061, 1473-2025, 1478-2062, 1489-2304, 1504-2305, 1508-2133, 1516-2303, 1517-2303, 1524-2303, 1555-2305, 1556-2013, 1558-2303, 1574-2237, 1585-2301, 1612-2067, 1614-2015, 1628-2019, 1637-2312, 1638-2277, 1650-2180, 1652-2176, 1654-1858, 1659-1982, 1659-2204, 1666-2346, 1672-1914, 1677-2284, 1697-2190, 1720-2341, 1725-1967, 1730-2005, 1753-2317, 1767-2349, 1811-2075, 1811-2314, 1811-2349, 1817-1989, 1818-2349, 1822-2287, 1823-2284, 1823-2287, 1823-2289, 1826-2286, 1826-2349, 1839-2300, 1841-2335, 1844-2287, 1846-2334, 1852-2347, 1876-2143, 1895-2141, 1913-2076, 1913-2335, 1916-2177, 1916-2295, 1916-2340, 1916-2349, 1927-2104, 1975-2258, 1983-2349, 1991-2349, 2012-2211, 2018-2318, 2074-2333, 2097-2344, 2124-2324	1116, 692-959, 693-1107, 693-1116, 695-1127, 697-1119, 699-956, 706-1372, 710-1117, 714-1120, 715-919, 718-1117, 719-1119, 720-973, 732-1119, 753-1119, 755-1116, 757-1113, 758-1115, 760-1012, 761-1013, 763-1119, 764-1119, 765-1119, 767-1013, 772-1115, 773-1117, 835-1119, 837-1369, 839-1119, 842-1495, 856-1092, 858-1025, 860-1370, 925-1116, 947-1120, 955-1221, 956-1153, 972-1271, 974-1120, 1005-1120, 1008-1115, 1024-1120, 1027-1296, 1027-1642, 1034-1116, 1058-1120, 1109-1780, 1110-1357, 1113-1477, 1123-1357, 1178-1590, 1187-1594, 1220-1464, 1220-1866, 1223-1498, 1223-2120, 1226-1491, 1226-1717, 1265-1589, 1281-1899, 1294-1789, 1311-1886, 1367-1604, 1392-1688, 1403-1712,
88/7503046CBI/ 2395	1-489, 404-747, 467-708, 480-1081, 486-1283, 491-641, 493-674, 493-1018, 504-785, 522-981, 522-982, 522-1015, 538-1253, 543-804, 543-1085, 569-1103, 574-1214, 577-980, 577-1274, 585-838, 596-879, 608-825, 615-1192, 663-980, 772-1022, 772-1022, 772-1305, 830-1126, 845-1055, 845-1061, 845-1062, 972-1254, 973-1246, 979-1177, 1020-1355, 1066-1312, 1066-1637, 1067-1590, 1165-1467, 1170-1409, 1170-1415, 1170-1618, 1199-1473, 1257-1853, 1257-2090, 1258-1388, 1258-1487, 1258-1837, 1258-1846, 1325-1574, 1325-1915, 1354-1662, 1429-2047, 1485-1748, 1571-2159, 1610-1857, 1610-2060, 1621-1878,	1409-1600, 1436-1870, 1450-1689, 1463-1711, 1475-1717, 1500-1787

【表 4 - 2 5】

表 4 - 2 5

ポリヌクレオチ ド SEQ ID NO/ Incyte ID/配 列長	配列断片
	1628-1865, 1800-2048, 1800-2302, 1818-2395, 1833-2234, 1915-2255

89/7503211CBI/ 1954	1-627, 3-531, 3-654, 9-231, 9-244, 9-254, 9-256, 9-258, 9-289, 9-508, 9-529, 9-584, 9-609, 9-660, 9-667, 9-756, 9-1954, 10-186, 10-235, 11-243, 11-527, 12-605, 13-254, 13-607, 14-456, 14-466, 14-610, 15- 227, 16-263, 16-266, 16-304, 16-313, 16-652, 16-704, 17-227, 20-155, 20-227, 20-309, 20-316, 20-317, 20-328, 20-408, 20-565, 20-576, 20-583, 20-592, 20-609, 20-625, 21-227, 21-329, 22-227, 23-818, 25- 220, 25-225, 25-227, 25-544, 25-782, 26-306, 26-643, 27-629, 29-332, 35-485, 39-456, 42-280, 42-332, 42-436, 45-590, 47-221, 47-297, 54-207, 55-704, 58-220, 104-601, 109-708, 146-619, 146-636, 146-823, 146-896, 146-906, 157-378, 189-954, 193-790, 193-842, 259-662, 263-563, 263-694, 263-697, 263-705, 263-720, 263-736, 263-790, 263-812, 263-867, 263-905, 263-922, 268-845, 297-885, 306-597, 306-829, 306-916, 311-862, 313-697, 319-1005, 357-1101, 360-662, 371-803, 378-851, 409-696, 411-943, 444- 967, 515-883, 550-883, 577-1123, 602-912, 607-902, 633-1164, 694-1346, 749-967, 927-1522, 966- 1165, 967-1211, 967-1627, 1001-1213, 1062-1821, 1090-1380, 1147-1900, 1214-1898, 1215-1749, 1219- 1898, 1223-1604, 1232-1893, 1234-1806, 1238-1895, 1248-1651, 1252-1491, 1261-1767, 1265-1532, 1268-1751, 1270-1490, 1271-1541, 1271-1887, 1272-1542, 1274-1508, 1278-1745, 1279-1941, 1281- 1724, 1286-1845, 1290-1517, 1304-1614, 1306-1533, 1314-1543, 1319-1879, 1319-1894, 1319-1903, 1328-1898, 1355-1603, 1357-1942, 1364-1899, 1373-1901, 1378-1679, 1386-1954, 1396-1619, 1396- 1635, 1397-1942, 1401-1674, 1405-1637, 1428-1872, 1431-1885, 1432-1727, 1433-1655, 1433-1662, 1443-1711, 1447-1901, 1447-1903, 1453-1693, 1458-1756, 1504-1612, 1514-1788, 1517-1736, 1521- 1797, 1529-1842, 1548-1797, 1555-1855, 1612-1842, 1612-1850, 1619-1834, 1620-1915, 1632-1894, 1656-1875, 1684-1929, 1718-1919, 1759-1890
------------------------	---

【表 4 - 2 6】

表 4 - 2 6

ポリヌクレオチド SEQ ID NO/ Incyte ID/配 列長	配列断片
90/7503264CB1/ 1200	1-549, 1-812, 1-1180, 61-668, 80-251, 112-182, 112-280, 112-305, 112-312, 112-331, 112-344, 112-361, 112-368, 112-372, 112-374, 112-382, 112-444, 112-492, 113-354, 113-361, 115-163, 115-455, 115-567, 117-322, 120-349, 122-371, 122-402, 122-408, 124-386, 126-388, 127-566, 130-326, 131-576, 135-770, 141-377, 141-378, 143-397, 144-340, 144-347, 144-391, 144-428, 145-374, 145-394, 145-411, 145-459, 146-378, 150-470, 159-391, 159-411, 160-420, 160-458, 164-391, 167-445, 169-522, 170-401, 174-810, 178-419, 181-451, 182-734, 186-426, 187-476, 193-586, 197-470, 200-377, 204-377, 204-456, 212-377, 212-443, 212-503, 212-740, 213-480, 214-502, 214-741, 215-507, 216-416, 216-744, 217-450, 219-471, 219-783, 219-1016, 222-391, 225-438, 225-480, 225-483, 226-494, 236-437, 236-496, 236-497, 236-941, 237-478, 237-486, 238-503, 238-802, 239-508, 241-487, 244-950, 245-401, 248-528, 266-519, 269-513, 269-545, 271-1105, 274-535, 275-567, 277-543, 277-556, 279-530, 280-499, 280-512, 281-552, 286-531, 286-547, 292-546, 297-589, 307-534, 313-551, 320-600, 328-610, 329-789, 330-1185, 334-581, 337-587, 339-902, 341-592, 341-616, 341-628, 342-919, 343-611, 343-617, 345-578, 345-584, 349-601, 356-1162, 359-667, 361-649, 362-983, 363-615, 363-692, 363-779, 366-777, 381-1131, 385-1132, 387-857, 391-653, 391-654, 392-548, 393-1178, 394-1127, 397-774, 398-696, 398-697, 399-623, 400-643, 404-784, 411-668, 411-687, 411-691, 417-676, 418-1180, 424-1142, 427-656, 427-696, 427-885, 427-886, 427-946, 428-885, 429-1155, 431-726, 431-1013, 432-710, 433-1003, 434-770, 434-1146, 435-579, 437-626, 437-718, 437-732, 437-922, 437-935, 437-1054, 437-1126, 440-1143, 441-683, 441-707, 441-710, 441-758, 442-627, 442-647, 442-723, 443-703, 443-882, 446-697, 450-743, 455-1133, 458-833, 464-1104, 465-1080, 467-755, 475-1158, 476-718, 476-769, 476-1083, 476-1161, 477-1106, 480-1029, 483-739, 484-733, 492-749, 492-765, 493-966, 493-1096, 494-966, 495-775, 504-788, 504-1133, 504-1176, 505-1183, 512-1126, 515-822, 516-761, 516-782, 517-715, 520-764, 520-809, 520-1193, 521-711, 521-1112, 522-812, 525-780, 525-984, 525-1191, 526-793, 526-1036, 534-789, 536-832, 536-885, 536-937, 537-1158, 538-1197, 539-1163, 542-844, 542-1194, 546-802, 547-942, 557-861, 559-806, 559-818, 562-744, 562-1179, 563-1175, 574-841, 575-813, 575-838, 575-839, 576-1183, 578-922, 580-811, 580-870, 583-1128, 583-1171, 585-859, 586-1159, 588-1200, 589-825, 592-749, 592-842, 592-927, 598-1187, 602-838, 606-1173, 608-887, 615-874, 615-910, 627-1170, 630-1029, 635-855, 635-867, 635-889, 635-969, 640-1176, 647-828, 651-911, 651-939, 653-929, 654-902, 654-908, 655-882, 656-971, 661-856, 661-1197, 665-812, 665-938, 666-958, 670-991, 672-933, 673-933, 691-1198, 698-1135, 699-1180, 701-944, 702-1005, 706-951, 706-1133, 706-1174, 708-948, 708-959, 708-1007, 708-1043, 711-1153, 711-1181, 714-1175, 717-1198, 721-1180, 723-1181, 724-986, 724-1062, 727-1183, 729-1180, 731-1183, 733-1180, 737-983, 737-1180, 738-1178, 740-1177, 743-1191, 744-1182, 747-1182, 753-1144, 754-1194, 756-1183, 759-1180, 761-1011, 761-1180, 763-1180, 764-1004, 764-1180, 765-1180, 765-1182, 767-1183, 768-959, 769-1180, 770-1180, 771-1185, 772-1180, 773-1135, 774-1200, 775-1071, 775-1180,

【表 4 - 2 7】

表 4 - 2 7

ポリヌクレオチ ド SEQ ID NO/ Incyte ID/配 列長	配列断片
	775-1181, 776-1180, 776-1184, 778-1180, 778-1186, 779-1197, 780-994, 782-1044, 782-1180, 784-1183, 785-1015, 785-1041, 787-1006, 787-1029, 787-1181, 787-1183, 788-1182, 789-1180, 789-1183, 791-1073, 792-1194, 792-1198, 811-1189, 814-1182, 819-1056, 819-1060, 822-1200, 829-1180, 829-1181, 839-1002, 839-1101, 839-1178, 840-1116, 840-1181, 841-1128, 844-1128, 844-1180, 845-1180, 846-1105, 847-1132, 850-1136, 851-1180, 851-1181, 853-1180, 854-1163, 855-1169, 856-1184, 856-1186, 856-1190, 857-1180, 859-1180, 862-1185, 864-1180, 868-1117, 869-1130, 872-1183, 874-1148, 874-1180, 875-1194, 884-1180, 885-1183, 890-1107, 901-1180, 901-1198, 910-1180, 913-1183, 917-1169, 918-1182, 919-1124, 919-1183, 925-1067, 928-1180, 930-1180, 932-1180, 934-1180, 936-1068, 936-1176, 936-1195, 938-1180, 940-1181, 951-1170, 962-1200, 982-1198, 989-1200, 997-1106, 997-1177, 1006-1169, 1009-1180, 1015-1163, 1022-1173, 1032-1180, 1063-1187, 1063-1200, 1064-1170, 1065-1200, 1067-1181, 1068-1180, 1069-1200, 1091-1199, 1097-1178, 1099-1200, 1128-1200, 1129-1182
91/90120235CB1/ 1649	1-595, 1-1649, 73-713, 404-1162, 404-1210, 404-1297, 404-1370, 538-1182, 757-1649, 784-1649, 795-1649
92/90014961CB1/ 1000	1-840, 1-853, 1-860, 1-864, 7-864, 19-864, 30-864, 56-864, 630-1000
93/7503199CB1/ 1170	1-617, 1-618, 1-678, 1-681, 1-733, 1-738, 1-823, 1-830, 1-845, 1-862, 1-1170, 116-1010, 118-1010, 146-1010, 176-1010, 185-1006, 216-1010, 324-1010, 387-1009, 387-1010, 398-607, 398-873, 398-1009, 400-666, 413-1009, 414-1116, 415-939, 435-627, 450-689, 450-1009, 506-962, 513-711, 513-712, 535-765, 543-842, 555-1000, 556-1135, 607-989, 613-983, 661-1003, 697-983, 751-1028, 758-1155, 810-1117, 810-1126, 821-1102, 953-1144, 981-1168, 1024-1144, 1025-1152, 1087-1170

【表 4 - 2 8】

表 4 - 2 8

ポリヌクレオチ ド SEQ ID NO/ Incyte ID/配 列長	配列断片
94/7511530CB1/ 1179	1-1177, 78-202, 158-431, 190-450, 206-455, 208-424, 216-431, 219-723, 233-442, 234-746, 243-728, 244-486, 252-763, 260-499, 279-606, 281-544, 290-549, 298-503, 298-543, 300-589, 301-1139, 305-949, 313-643, 328-580, 335-604, 340-530, 340-631, 343-602, 343-603, 343-850, 349-881, 351-697, 356-973, 357-644, 358-612, 360-575, 364-1174, 375-580, 375-600, 379-618, 380-636, 388-907, 389-687, 403-745, 405-1169, 412-695, 422-735, 424-671, 428-691, 428-708, 430-923, 436-824, 440-1114, 457-1172, 460- 983, 461-717, 464-669, 475-1020, 480-1115, 481-1158, 490-1114, 491-961, 500-627, 518-1119, 520- 977, 525-964, 525-1140, 528-796, 528-800, 536-1175, 539-852, 541-1179, 544-1134, 550-736, 550- 1175, 552-1158, 553-765, 562-1065, 564-809, 568-1093, 568-1179, 572-781, 572-803, 572-819, 572- 821, 579-1138, 600-752, 600-905, 611-1175, 618-809, 623-911, 624-1179, 626-877, 626-1024, 627-856, 627-890, 628-1179, 630-814, 630-1179, 633-1165, 634-1100, 636-1122, 636-1175, 639-1179, 640-942, 640-1179, 641-1179, 642-1179, 644-1163, 654-918, 655-914, 658-883, 658-887, 658-907, 666-924, 672- 954, 672-968, 677-889, 677-934, 679-958, 688-1179, 691-1179, 696-1176, 696-1179, 698-1177, 699- 1172, 703-1176, 704-1174, 705-1177, 709-1179, 710-1174, 711-1174, 711-1175, 711-1179, 714-1173, 714-1177, 715-1176, 715-1177, 716-1179, 718-1179, 719-987, 719-1175, 720-1179, 721-1175, 721- 1176, 722-1174, 725-1178, 726-1177, 726-1179, 728-1174, 729-1174, 729-1179, 731-1175, 732-1176, 734-1179, 735-995, 737-857, 737-1177, 741-765, 741-769, 741-1179, 743-1174, 745-1026, 746-1135, 747-1174, 748-1179, 749-1025, 750-1010, 751-1179, 752-1008, 752-1174, 753-1174, 753-1175, 753- 1179, 755-1177, 755-1179, 756-1174, 756-1179, 757-1174, 757-1176, 758-1179, 759-1173, 761-1174, 762-1174, 763-1174, 764-1179, 765-1179, 766-1175, 768-1177, 769-1179, 770-1174, 770-1178, 771- 1174, 771-1179, 772-1068, 772-1179, 773-1142, 773-1174, 773-1176, 773-1179, 774-1174, 775-1174, 779-1174, 782-1142, 784-1177, 786-1174, 786-1177, 786-1179, 787-1174, 787-1179, 789-1179, 790- 1025, 790-1174, 794-1179, 795-1174, 797-1174, 806-1175, 812-1174, 814-1174, 816-1175, 821-1179, 823-1179, 825-1045, 825-1046, 825-1179, 828-1174, 829-1174, 833-1171, 835-1174, 839-1088, 840- 1174, 840-1179, 841-1174, 841-1175, 841-1177, 842-1102, 842-1179, 843-1176, 846-1055, 853-1174, 858-1173, 862-1106, 863-1169, 868-1174, 869-1084, 870-1061, 870-1169, 870-1170, 870-1173, 870- 1174, 870-1178, 870-1179, 871-1178, 882-1179, 886-1174, 886-1176, 888-1174, 890-1174, 891-1179, 898-1159, 901-1174, 902-1179, 909-1107, 922-1174, 925-1174, 927-1178, 935-1166, 935-1171, 935- 1179, 937-1179, 939-1178, 942-1174, 943-1059, 943-1179, 952-1174, 973-1179, 975-1177, 977-1174, 987-1093, 1000-1174, 1003-1174, 1006-1177, 1069-1179, 1106-1173, 1113-1174, 1113-1179

10

20

30

40

【表 4 - 2 9】

表 4 - 2 9

ポリヌクレオチド SEQ ID NO/ Incyte ID/配 列長	配列断片
95/7511535CBI/ 1142	1-226, 1-235, 9-1140, 13-248, 16-291, 18-268, 22-285, 24-216, 24-219, 24-265, 34-228, 35-291, 42-278, 45-291, 46-291, 52-291, 53-287, 53-291, 55-234, 55-276, 55-291, 56-282, 57-291, 64-291, 65-241, 67-272, 68-291, 69-274, 71-291, 78-202, 78-282, 78-284, 78-291, 78-292, 79-291, 80-241, 80-291, 81-285, 82-266, 82-291, 82-653, 83-286, 83-288, 83-291, 91-289, 95-291, 96-291, 110-280, 110-284, 117-291, 155-288, 287-466, 287-506, 287-552, 287-606, 287-912, 287-1102, 291-543, 298-567, 303-493, 303-594, 306-565, 306-566, 306-813, 312-844, 314-660, 319-936, 320-607, 321-575, 323-538, 327-1137, 338-543, 338-563, 342-581, 343-599, 351-870, 352-650, 366-708, 368-1132, 375-658, 385-698, 387-634, 391-654, 391-671, 393-886, 399-787, 403-1077, 420-1135, 423-946, 424-680, 427-632, 438-983, 443-1078, 444-1121, 453-1077, 454-924, 463-590, 481-1082, 483-940, 488-927, 488-1103, 491-759, 491-763, 499-1138, 502-815, 504-1142, 507-1097, 513-699, 513-1138, 515-1121, 516-728, 525-1028, 527-772, 531-1056, 531-1142, 535-744, 535-766, 535-782, 535-784, 542-1101, 563-715, 563-868, 574-1138, 581-772, 586-874, 587-1142, 589-840, 589-987, 590-819, 590-853, 591-1142, 593-777, 593-1142, 596-1128, 597-1063, 599-1085, 599-1138, 602-1142, 603-905, 603-1142, 604-1142, 605-1142, 607-1126, 617-881, 618-877, 621-846, 621-850, 621-870, 629-887, 635-917, 635-931, 640-852, 640-897, 642-921, 651-1142, 654-1142, 659-1139, 659-1142, 661-1140, 662-1135, 666-1139, 667-1137, 668-1140, 672-1142, 673-1137, 674-1137, 674-1138, 674-1142, 677-1136, 677-1140, 678-1139, 678-1140, 679-1142, 681-1142, 682-950, 682-1138, 683-1142, 684-1138, 684-1139, 685-1137, 688-1141, 689-1140, 689-1142, 691-1137, 692-1137, 692-1142, 694-1138, 695-1139, 697-1142, 698-958, 700-820, 700-1140, 704-728, 704-732, 704-1142, 706-1137, 708-989, 709-1098, 710-1137, 711-1142, 712-988, 713-973, 713-1140, 714-1142, 715-971, 715-1137, 716-1137, 716-1138, 716-1142, 718-1142, 719-1137, 719-1142, 720-1137, 720-1139, 721-1142, 722-1136, 724-1137, 725-1137, 726-1137, 727-1142, 728-1142, 729-1138, 731-1140, 732-1142, 733-1137, 733-1141, 734-1137, 734-1142, 735-1031, 735-1142, 736-1105, 736-1137, 736-1139, 736-1142, 737-1137, 738-1137, 742-1137, 745-1105, 747-1140, 747-1142, 749-1137, 749-1140, 749-1142, 750-1137, 750-1142, 752-1142, 753-988, 753-1137, 757-1142, 758-1137, 760-1137, 769-1138, 775-1137, 777-1137, 779-1138, 784-1142, 786-1142, 788-1008, 788-1009, 788-1142, 791-1137, 792-1137, 796-1134, 798-1137, 802-1051, 803-1137, 803-1142, 804-1137, 804-1138, 804-1140, 805-1065, 805-1142, 806-1139, 809-1018, 816-1137, 821-1136, 825-1069, 826-1132, 831-1137, 832-1047, 833-1024, 833-1136, 833-1137, 833-1142, 834-1141, 845-1142, 849-1137, 849-1139, 851-1137, 853-1137, 854-1142, 861-1122, 864-1137, 865-1142, 872-1070, 885-1137, 888-1137, 890-1141, 898-1129, 898-1134, 898-1142, 900-1142, 902-1141, 905-1137, 906-1022, 906-1142, 915-1137, 936-1142, 938-1140, 940-1137, 950-1056, 963-1137, 966-1137, 969-1140, 1032-1142, 1069-1136, 1076-1137, 1076-1142

【表 4 - 3 0】

表 4 - 3 0

ポリヌクレオチド SEQ ID NO/ Incyte ID/配 列長	配列断片
96/7511536CB1/ 1115	1-409, 1-560, 18-244, 18-253, 18-466, 18-472, 18-495, 18-508, 18-521, 18-522, 18-529, 18-551, 18-567, 19-413, 27-1113, 28-508, 31-266, 34-329, 36-286, 37-466, 40-303, 42-234, 42-237, 42-283, 42-332, 52-246, 53-319, 53-356, 53-727, 60-296, 61-330, 61-344, 63-314, 64-317, 66-332, 68-351, 70-323, 71-305, 71-310, 71-317, 71-365, 73-252, 73-294, 73-311, 73-316, 73-336, 73-567, 74-300, 75-323, 75-326, 76-362, 81-338, 82-324, 83-259, 83-343, 85-290, 85-345, 85-353, 85-430, 86-329, 86-350, 86-362, 86-366, 86-371, 86-391, 87-292, 87-339, 87-348, 89-390, 90-359, 90-362, 90-405, 93-333, 94-341, 94-343, 94-349, 94-363, 94-370, 94-567, 95-347, 95-350, 96-220, 96-300, 96-302, 96-309, 96-329, 96-331, 96-333, 96-334, 96-339, 96-345, 96-346, 96-356, 96-373, 96-382, 96-387, 96-390, 96-501, 97-344, 97-351, 97-358, 97-361, 97-379, 97-389, 97-395, 98-259, 98-316, 98-341, 98-352, 98-360, 98-363, 98-371, 98-374, 98-384, 98-471, 99-303, 99-307, 99-339, 99-354, 99-357, 99-395, 100-284, 100-319, 100-327, 100-362, 100-367, 100-392, 100-397, 100-407, 100-412, 100-442, 100-542, 101-304, 101-306, 101-325, 101-326, 101-335, 101-340, 101-346, 101-351, 101-354, 101-358, 101-366, 101-377, 101-391, 101-445, 101-467, 102-385, 103-375, 103-467, 104-401, 104-565, 106-389, 108-340, 108-374, 109-465, 110-362, 110-412, 111-352, 111-388, 113-338, 113-369, 113-389, 114-361, 116-379, 116-401, 120-394, 121-356, 124-422, 128-298, 128-302, 132-339, 135-356, 138-476, 173-306, 173-437, 174-472, 175-567, 187-428, 198-363, 201-444, 211-497, 213-350, 223-471, 234-459, 237-466, 242-494, 255-492, 272-489, 273-532, 275-534, 295-553, 304-339, 306-522, 316-529, 331-540, 349-567, 556-745, 556-1105, 556-1110, 556-1111, 559-847, 564-792, 564-813, 564-960, 564-1115, 568-750, 568-826, 568-1115, 569-1101, 570-1036, 572-1058, 572-1111, 575-1115, 576-878, 576-1115, 577-1115, 578-1115, 580-1099, 590-854, 591-850, 594-819, 594-823, 594-843, 602-860, 608-890, 608-904, 613-825, 613-870, 615-894, 624-1115, 627-1115, 632-1112, 632-1115, 634-1113, 635-1108, 639-1112, 640-1110, 641-1113, 645-1115, 646-1110, 647-1110, 647-1111, 647-1115, 650-1109, 650-1113, 651-1112, 651-1113, 652-1115, 654-1115, 655-923, 655-1111, 656-1115, 657-1111, 657-1112, 658-1110, 661-1114, 662-1113, 662-1115, 664-1110, 665-1110, 665-1115, 667-1111, 668-1112, 670-1115, 671-931, 673-793, 673-1113, 677-701, 677-705, 677-1115, 679-1110, 681-962, 682-1071, 683-1110, 684-1115, 685-961, 686-946, 686-1113, 687-1115, 688-944, 688-1110, 689-1110, 689-1111, 689-1115, 691-1115, 692-1110, 692-1115, 693-1110, 693-1112, 694-1115, 695-1109, 697-1110, 698-1110, 699-1110, 700-1115, 701-1115, 702-1111, 704-1113, 705-1115, 706-1110, 706-1114, 707-1110, 707-1115, 708-1004, 708-1004, 709-1078, 709-1110, 709-1112, 709-1115, 710-1110, 711-1110, 715-1110, 718-1078, 720-1113, 720-1115, 722-1110, 722-1113, 722-1115, 723-1110, 723-1115, 725-1115, 726-961, 726-1110, 730-1115, 731-1110, 733-1110, 742-1111, 748-1110, 750-1110, 752-1111, 757-1115, 759-1115, 761-981, 761-982, 761-1115, 764-1110, 765-1110, 769-1107, 771-1110, 775-1024, 776-1110, 776-1115, 777-1110, 777-1111, 777-1113, 778-1038, 778-1115, 779-1112, 782-991, 789-1110, 794-1109, 798-1042, 799-1105, 804-1110, 805-1020, 806-997, 806-

【0708】

10

20

30

【表 4 - 3 1】

表 4 - 3 1

ポリヌクレオチ ド	配列断片
SEQ ID NO/ Incyte ID/配 列長	

1105, 806-1109, 806-1110, 806-1114, 806-1115, 807-1114, 818-1115, 822-1110, 822-1112, 824-1110, 826-1110, 827-1115, 834-1095, 837-1110, 838-1115, 845-1043, 858-1110, 861-1110, 863-1114, 871-1102, 871-1107, 871-1115, 873-1115, 875-1114, 878-1110, 879-995, 879-1115, 888-1110, 909-1115, 911-1113, 913-1110, 923-1029, 936-1110, 939-1110, 942-1113, 1005-1115, 1042-1109, 1049-1110, 1049-1115

97/7511583CB1/
1465
1-204, 1-209, 1-223, 1-231, 1-232, 1-255, 1-270, 1-275, 1-1314, 3-260, 7-255, 7-289, 8-272, 8-462, 9-116, 9-153, 9-307, 10-299, 11-269, 11-289, 11-290, 12-301, 12-461, 13-282, 15-273, 15-276, 15-323, 17-210, 17-236, 17-286, 19-256, 22-283, 22-306, 22-318, 22-325, 22-328, 22-337, 23-271, 23-298, 28-279, 29-272, 29-286, 30-276, 30-287, 30-307, 30-314, 31-260, 31-462, 32-191, 32-255, 32-265, 32-272, 32-279, 33-226, 34-170, 37-295, 38-254, 38-288, 38-333, 40-250, 43-324, 44-322, 44-435, 45-301, 45-308, 46-312, 49-218, 49-308, 49-329, 49-340, 55-149, 56-462, 88-394, 110-347, 110-362, 111-246, 111-390, 123-394, 138-373, 140-367, 141-462, 155-454, 159-409, 161-391, 164-449, 172-435, 194-447, 195-435, 200-462, 208-462, 263-430, 306-648, 461-1088, 463-672, 463-678, 463-725, 463-958, 463-989, 463-991, 465-716, 475-661, 477-1075, 478-1077, 486-844, 486-941, 489-803, 489-1077, 500-752, 511-985, 541-743, 557-774, 558-1029, 563-1015, 570-853, 570-940, 571-911, 574-851, 575-1115, 576-780, 578-1138, 580-1077, 585-1257, 594-1031, 595-878, 596-827, 601-1033, 604-1130, 608-1015, 609-1015, 614-1035, 614-1174, 617-1310, 623-854, 628-874, 630-1121, 646-918, 655-1025, 661-907, 666-923, 667-998, 667-1146, 668-1027, 669-1032, 674-1118, 676-948, 685-1015, 685-1186, 689-987, 690-1320, 695-963, 695-1316, 696-1174, 697-958, 705-1024, 707-974, 714-1019, 714-1172, 718-1249, 719-1174, 720-1314, 721-1174, 723-941, 723-1128, 723-1173, 737-1174, 740-1301, 748-1027, 748-1172, 751-957, 756-995, 761-1173, 764-1044, 764-1095, 766-1030, 766-1068, 767-1179, 774-944, 774-994, 786-997, 790-1068, 801-1221, 803-1004, 803-1176, 803-1328, 813-941, 814-1308, 826-1273, 828-1063, 832-1294, 843-1172, 846-1088, 851-1077, 852-1172, 859-1036, 865-1293, 866-1129, 873-1015, 874-1301, 881-1299, 882-1015, 886-1307, 889-1299, 895-1109, 897-1023, 897-1313, 898-1300, 899-1301, 899-1308, 904-1174, 910-1172, 911-1299, 911-1301, 917-1325, 920-1170, 921-1142, 924-1361, 925-1170, 925-1178, 925-

【表 4 - 3 2】

表 4 - 3 2

ポリスクレオチ ド	配列断片
SEQ ID NO/ Incyte ID/配 列長	
	1302, 929-1299, 944-1179, 946-1232, 947-1106, 950-1166, 956-1166, 960-1171, 960-1233, 966-1159, 980-1174, 993-1286, 996-1166, 1002-1174, 1002-1262, 1004-1304, 1037-1174, 1055-1299, 1070-1301, 1079-1299, 1082-1333, 1103-1299, 1103-1341, 1154-1261, 1154-1299, 1154-1383, 1175-1297, 1202-1465
98/7511395CB1/ 1356	1-156, 1-213, 1-258, 1-273, 1-330, 1-748, 1-778, 1-821, 1-822, 1-828, 1-830, 1-831, 1-853, 1-896, 1-912, 1-947, 1-1356, 7-469, 87-469, 115-153, 116-156, 128-156, 426-1337, 443-1334, 447-1337, 460-1337, 463-1337, 465-1337, 468-567, 468-570, 468-889, 468-1075, 468-1111, 468-1121, 468-1187, 468-1337, 468-1356, 473-1337, 474-1337, 474-1356, 480-1356, 481-1356, 483-1356, 496-1337, 496-1356, 499-1027, 509-1356, 513-1337, 514-1337, 529-1337, 531-1337, 536-1337, 537-1337, 552-1356, 564-1337, 595-1356, 606-1337, 612-1185, 621-1356, 623-1337, 625-1337, 641-1185, 655-1337, 664-1337, 671-1356, 709-1337, 720-1356, 799-1119, 815-1356, 862-1337, 878-1356, 879-1185, 982-1356, 1205-1337
99/7511647CB1/ 1315	1-1315, 70-484, 227-522, 278-550, 443-732, 446-730, 518-1045, 581-806, 603-826, 647-911, 651-941, 660-876, 710-977, 753-1310, 762-1297, 766-865, 774-1090, 779-1047, 780-1310, 808-1272, 820-1315, 828-1190, 836-1297, 847-1301, 850-1309, 851-1310, 856-1142, 858-1104, 859-1304, 862-1303, 863-1310, 874-1310, 877-1310, 878-1315, 879-1304, 881-1251, 881-1304, 886-1129, 904-1306, 908-1311, 913-1315, 915-1315, 917-1304, 921-1297, 927-1299, 935-1310, 939-1313, 959-1310, 961-1306, 968-1310, 985-1315, 991-1304, 994-1312, 994-1313, 995-1267, 996-1247, 996-1297, 998-1304, 1002-1259, 1018-1217, 1018-1225, 1022-1315, 1035-1315, 1062-1315, 1063-1304, 1082-1315, 1087-1315, 1143-1310, 1144-1315, 1160-1310, 1166-1304, 1166-1307, 1166-1312, 1166-1315, 1179-1315, 1199-1315
100/7510335CB1/ 2356	1-455, 11-33, 11-277, 11-581, 11-620, 11-689, 11-727, 11-730, 11-748, 11-767, 11-772, 11-792, 11-810, 11-827, 11-840, 11-871, 11-899, 11-903, 11-920, 11-2351, 12-609, 17-495, 21-784, 28-361, 28-569, 28-662, 29-180, 29-305, 29-659, 29-715, 29-744, 30-587, 30-606, 30-752, 31-271, 32-338, 32-574, 34-319, 34-618, 35-741, 36-175, 40-289, 42-674, 43-871, 48-218, 48-234, 48-294, 48-296, 49-326, 49-544, 49-583, 49-675, 49-680, 49-683, 49-698, 49-718, 49-785, 49-796, 50-468, 50-487, 50-490, 50-690, 50-747, 51-818, 52-584, 53-301, 54-670, 56-734, 57-314, 57-320, 57-552, 57-560, 63-754, 63-823, 63-867, 63-871, 63-978, 65-679, 66-202, 66-292, 66-311, 66-621, 68-870, 72-838, 73-858, 74-546, 74-626, 74-871, 75-298, 75-1033, 76-872, 80-675, 81-319, 83-375, 83-524, 83-674, 85-333, 85-367, 85-654, 85-657, 87-321, 87-373, 87-380, 87-420, 87-743, 87-764, 87-871, 88-331, 88-348, 88-363, 89-727, 90-587, 91-335, 93-355, 93-505, 93-587, 94-357, 95-754, 96-569, 97-871, 98-715, 98-717, 99-180, 99-359, 99-659, 102-553, 103-382, 103-718, 106-386, 108-409, 108-745, 109-346, 109-727, 109-856, 115-231, 115-257, 115-356, 115-414, 115-417, 115-673, 115-735, 115-894, 115-897, 119-722, 123-342, 125-341, 125-845, 126-722, 141-788, 142-743, 148-611, 150-731, 181-435, 184-659, 196-720, 196-755, 201-894, 204-856, 217-

【表 4 - 3 3】

表 4 - 3 3

ポリヌクレオチド SEQ ID NO/ Incyte ID/配列長	配列断片
	858, 221-465, 226-767, 231-421, 242-490, 242-867, 245-510, 249-590, 250-486, 251-827, 253-528, 261-931, 262-515, 264-769, 266-563, 267-507, 272-511, 272-514, 272-620, 277-700, 277-797, 281-482, 282-578, 287-568, 289-402, 289-632, 291-851, 296-564, 296-867, 297-894, 304-920, 306-500, 306-914, 309-571, 309-895, 309-981, 310-568, 311-579, 312-876, 313-608, 320-579, 320-837, 321-706, 323-432, 323-580, 323-612, 342-639, 344-624, 350-659, 353-589, 353-590, 357-526, 357-600, 367-573, 368-561, 368-606, 368-677, 368-681, 368-871, 373-739, 373-927, 383-648, 385-848, 386-935, 395-705, 406-664, 407-851, 409-691, 419-735, 421-1022, 435-817, 436-1015, 437-697, 439-677, 439-707, 439-722, 440-702, 442-699, 446-697, 452-564, 466-608, 472-642, 482-733, 485-709, 485-739, 490-769, 490-1092, 492-751, 502-827, 506-786, 507-755, 507-782, 507-822, 514-780, 514-801, 519-755, 521-719, 523-822, 530-940, 531-773, 531-780, 531-807, 534-828, 544-713, 549-783, 556-981, 558-791, 564-803, 571-893, 601-750, 606-818, 609-1263, 614-860, 627-817, 645-1288, 671-848, 682-904, 699-831, 713-966, 713-967, 744-975, 751-1032, 778-1031, 790-1044, 799-1074, 805-1092, 846-1144, 885-1085, 964-1012, 964-1163, 964-1210, 966-1068, 969-1001, 973-1628, 979-1189, 979-1234, 1002-1248, 1006-1261, 1008-1600, 1012-1423, 1029-1221, 1029-1234, 1029-1307, 1035-1534, 1037-1245, 1037-1764, 1039-1581, 1045-1292, 1045-1649, 1049-1318, 1064-1734, 1096-1372, 1098-1398, 1101-1389, 1102-1523, 1105-1397, 1105-1698, 1106-1265, 1106-1392, 1107-1614, 1109-1382, 1114-1400, 1116-1385, 1117-1405, 1120-1409, 1123-1252, 1126-1414, 1126-1723, 1130-1667, 1132-1653, 1136-1398, 1143-1418, 1143-1421, 1144-1395, 1144-1842, 1147-1389, 1147-1453, 1150-1795, 1158-1390, 1162-1600, 1167-1641, 1167-1686, 1170-1413, 1170-1432, 1170-1464, 1183-1466, 1213-1830, 1216-1485, 1219-1435, 1220-2048, 1222-1481, 1223-1496, 1224-1648, 1225-1495, 1228-1467, 1228-1482, 1234-1409, 1234-1591, 1241-1533, 1242-1476, 1245-1537, 1249-1489, 1258-1489, 1269-2237, 1275-1515, 1279-1521, 1279-1555, 1283-1548, 1284-1495, 1291-1489, 1291-1518, 1291-1535, 1291-1565, 1291-1595, 1291-1603, 1291-1786, 1291-1842, 1291-1875, 1292-2237, 1294-1585, 1295-1569, 1295-1858, 1297-1807, 1298-1484, 1298-1511, 1298-1840, 1305-1489, 1305-1658, 1308-1752, 1308-1860, 1315-1860, 1316-1887, 1317-1581, 1317-1760, 1320-1927, 1322-1857, 1324-1941, 1324-1955, 1325-1571, 1325-1593, 1325-2201, 1326-1875, 1327-1532, 1327-1647, 1329-1547, 1329-1560, 1329-1574, 1329-1811, 1330-1700, 1331-1478, 1332-1597, 1334-1630, 1335-1611, 1338-1608, 1344-1927, 1344-2237, 1346-1731, 1346-1807, 1346-1892, 1348-1576, 1349-1629, 1349-1633, 1349-1789, 1350-1526, 1351-1469, 1351-1571, 1351-1632, 1351-1636, 1352-1610, 1353-1604, 1353-1621, 1354-1612, 1354-1617, 1354-1631, 1354-1632, 1354-2060, 1355-1699, 1356-1556, 1360-1617, 1361-1572, 1361-1633, 1361-1643, 1363-1562, 1363-1607, 1363-1819, 1363-1868, 1363-1956, 1365-1630, 1365-2237, 1368-1481, 1368-1538, 1368-1647, 1368-2237, 1371-1588, 1371-1662, 1372-1624, 1372-1641, 1381-1567, 1381-1642, 1381-1649, 1385-1940, 1388-1613, 1388-1911, 1393-1649, 1393-1658, 1394-1574, 1397-1673, 1397-1889, 1401-1892.

【表 4 - 3 4】

表 4 - 3 4

ポリヌクレオチ ド SEQ ID NO/ Incyte ID/配 列長	配列断片	
	1402-1640, 1402-1671, 1402-1675, 1402-1678, 1402-1905, 1404-1671, 1404-1678, 1404-1680, 1404-1689, 1404-1702, 1404-2014, 1408-1649, 1408-2070, 1411-1660, 1411-1670, 1412-1663, 1412-1926, 1412-2031, 1417-1664, 1419-1631, 1419-1967, 1423-1672, 1425-2041, 1426-1624, 1426-1677, 1426-1683, 1426-1695, 1426-1710, 1428-1780, 1430-1622, 1430-1659, 1430-1665, 1432-1576, 1432-1688, 1433-2080, 1436-1732, 1437-1658, 1437-1690, 1437-1693, 1438-1722, 1440-1649, 1440-1663, 1440-1685, 1440-1706, 1440-1718, 1440-2039, 1441-1683, 1441-2276, 1447-1690, 1451-1711, 1452-2026, 1456-1721, 1456-1743, 1457-1756, 1457-1758, 1458-1745, 1461-1650, 1461-1734, 1461-1752, 1461-1756, 1461-2297, 1462-1693, 1462-2235, 1465-1707, 1465-1719, 1467-1670, 1467-1700, 1468-1732, 1470-1751, 1471-2161, 1473-2239, 1478-1789, 1479-1995, 1482-1563, 1482-1729, 1483-2146, 1484-2088, 1484-2107, 1487-1731, 1487-1745, 1487-1746, 1487-1757, 1487-2147, 1489-1737, 1490-1708, 1490-1774, 1492-1717, 1492-1735, 1492-2256, 1493-1560, 1493-1777, 1499-1750, 1499-1799, 1501-1758, 1501-1760, 1503-1792, 1509-1798, 1511-1783, 1512-2088, 1512-2330, 1514-2298, 1518-1923, 1519-2239, 1521-2074, 1522-1783, 1522-2236, 1525-1959, 1525-2306, 1526-1730, 1526-2053, 1530-1749, 1530-1790, 1531-1962, 1532-1690, 1532-1798, 1532-1839, 1533-1819, 1533-2096, 1534-1787, 1535-1780, 1535-1785, 1535-1820, 1535-1852, 1535-1863, 1535-2041, 1535-2205, 1536-1786, 1536-1795, 1536-1839, 1538-2182, 1540-2090, 1543-1787, 1544-1807, 1545-1626, 1545-1757, 1545-1758, 1545-1820, 1546-1802, 1546-2147, 1551-1740, 1552-1856, 1556-1768, 1556-1808, 1556-1811, 1556-1854, 1560-1760, 1560-1825, 1561-1707, 1561-1765, 1562-1828, 1568-1811, 1568-1820, 1570-1788, 1570-1800, 1570-1810, 1570-2179, 1570-2283, 1570-2346, 1571-1787, 1571-1802, 1571-2189, 1573-1845, 1575-1860, 1576-1873, 1577-1758, 1579-1818, 1580-1959, 1581-2163, 1582-2346, 1584-2107, 1588-1648, 1588-1845, 1590-1878, 1591-1763, 1593-2025, 1594-1825, 1594-1836, 1598-1871, 1598-1874, 1598-1881, 1598-2236, 1602-1777, 1602-1803, 1602-1847, 1602-1951, 1603-1782, 1603-1839, 1603-2139, 1604-1793, 1606-1813, 1606-2222, 1607-1870, 1608-1836, 1609-1835, 1609-1843, 1609-1849, 1609-1859, 1609-1905, 1609-2040, 1609-2070, 1611-2192, 1612-1867, 1612-2346, 1613-1837, 1613-1843, 1613-1855, 1614-2346, 1620-1853, 1620-1867, 1620-2312, 1621-1904, 1622-1872, 1624-1721, 1624-1834, 1624-1901, 1629-1842, 1630-1839, 1630-1865, 1630-1875, 1630-1893, 1630-1899, 1630-1914, 1630-2234, 1631-1774, 1631-1884, 1631-1887, 1632-2228, 1634-1870, 1634-1877, 1636-1929, 1637-1875, 1639-2087, 1640-2137, 1640-2346, 1644-1987, 1645-1894, 1645-2321, 1645-2336, 1646-2344, 1648-1879, 1648-1897, 1648-2280, 1649-2152, 1650-2238, 1652-1928, 1653-1908, 1653-1909, 1653-1910, 1654-1903, 1654-1948, 1655-1876, 1655-1880, 1655-1898, 1655-1905, 1655-1911, 1656-1901, 1656-1914, 1656-2277, 1656-2318, 1659-1868, 1659-1932, 1660-2087, 1660-2133, 1661-1895, 1662-1893, 1662-1909, 1662-1919, 1662-1949, 1663-1803, 1663-1868, 1663-1896, 1663-1909, 1663-1917, 1663-1925, 1663-1932, 1663-1943, 1663-1944, 1663-1987, 1663-2165, 1663-2256, 1663-	

【表 4 - 3 5】

表 4 - 3 5

ポリヌクレオチド SEQ ID NO/ Incyte ID/配 列長	配列断片	
		2310, 1667-2053, 1671-1892, 1671-1903, 1671-1925, 1672-2286, 1673-1915, 1675-1926, 1675-1936, 1675-2281, 1676-1923, 1677-1880, 1677-2350, 1680-2340, 1681-2245, 1687-1917, 1687-1923, 1687-1964, 1687-2011, 1688-2356, 1689-1979, 1690-1967, 1694-1948, 1694-1976, 1694-2298, 1696-1951, 1696-1999, 1696-2211, 1698-1933, 1703-1842, 1704-1992, 1704-2214, 1704-2311, 1707-1944, 1707-1955, 1707-1958, 1707-1992, 1709-2290, 1711-1997, 1712-1988, 1715-2212, 1716-2276, 1718-1975, 1719-1994, 1720-2334, 1724-1959, 1728-2022, 1731-2288, 1732-1967, 1732-2332, 1734-2066, 1734-2158, 1735-2356, 1737-1977, 1737-2290, 1738-2000, 1741-1988, 1741-2339, 1742-2298, 1744-1899, 1746-2028, 1746-2355, 1746-2356, 1747-2061, 1747-2296, 1747-2349, 1747-2350, 1748-1888, 1750-1975, 1750-1994, 1750-2250, 1751-2276, 1754-2016, 1754-2046, 1757-1971, 1757-1983, 1758-2238, 1758-2308, 1759-2023, 1761-2036, 1762-2025, 1763-2019, 1763-2307, 1763-2342, 1764-2038, 1764-2042, 1764-2056, 1764-2130, 1764-2341, 1767-2341, 1768-1973, 1768-2026, 1768-2039, 1768-2350, 1769-1976, 1769-2074, 1773-1974, 1773-2228, 1774-2047, 1774-2123, 1775-2046, 1775-2059, 1775-2293, 1775-2349, 1776-2071, 1776-2356, 1778-2001, 1778-2356, 1780-1989, 1785-2356, 1786-2063, 1787-1994, 1787-2057, 1787-2088, 1787-2223, 1787-2350, 1790-2356, 1791-2352, 1793-2081, 1793-2243, 1793-2292, 1796-2081, 1796-2309, 1798-2071, 1803-2029, 1803-2060, 1803-2062, 1803-2074, 1803-2350, 1806-2043, 1806-2095, 1807-2325, 1809-2063, 1811-2048, 1811-2102, 1811-2356, 1813-2057, 1813-2356, 1814-2356, 1815-2310, 1816-2089, 1818-2346, 1819-2103, 1821-2300, 1823-2350, 1824-2313, 1824-2356, 1826-2060, 1827-2341, 1828-2080, 1830-2343, 1832-2110, 1834-2030, 1834-2205, 1835-2355, 1835-2356, 1836-2129, 1836-2233, 1837-2337, 1838-2093, 1840-2127, 1840-2128, 1844-2072, 1847-2300, 1848-2339, 1851-2350, 1863-2294, 1868-2356, 1869-2356, 1870-2128, 1870-2138, 1870-2155, 1870-2162, 1877-2125, 1878-2131, 1878-2147, 1878-2151, 1878-2152, 1878-2153, 1878-2154, 1879-2289, 1879-2356, 1880-2321, 1881-2350, 1882-2117, 1882-2143, 1882-2328, 1883-2142, 1883-2192, 1883-2279, 1883-2353, 1885-2115, 1885-2154, 1885-2201, 1885-2242, 1885-2356, 1889-2120, 1889-2123, 1889-2143, 1889-2160, 1889-2212, 1890-2350, 1891-2047, 1891-2187, 1892-2138, 1892-2174, 1895-2135, 1896-2139, 1896-2159, 1896-2348, 1896-2355, 1897-2182, 1900-2199, 1901-2174, 1902-2356, 1906-2185, 1909-2356, 1922-2221, 1922-2350, 1922-2354, 1923-2349, 1924-2168, 1924-2349, 1924-2354, 1925-2356, 1926-2174, 1926-2205, 1926-2356, 1928-2071, 1928-2213, 1929-2352, 1931-2178, 1931-2356, 1932-2173, 1933-2134, 1934-2178, 1934-2204, 1934-2350, 1938-2351, 1939-2350, 1939-2352, 1940-2351, 1941-2176, 1943-2068, 1943-2350, 1943-2355, 1943-2356, 1944-2356, 1945-2350, 1945-2354, 1946-2354, 1946-2356, 1947-2208, 1947-2350, 1949-2174, 1949-2356, 1950-2350, 1950-2352, 1951-2199, 1951-2356, 1952-2340, 1952-2353, 1952-2356, 1956-2356, 1958-2101, 1958-2208, 1959-2212, 1960-2196, 1960-2356, 1963-2356, 1964-2225, 1964-2353, 1964-2356, 1965-2356, 1966-2349, 1968-2243, 1969-2302, 1969-2352, 1970-2351, 1971-2353, 1972-2355.

【表 4 - 3 6】

表 4 - 3 6

ポリヌクレオチ ド SEQ ID NO/ Incyte ID/配 列長	配列断片	
	101/7510337CB1/ 2347	
	1-455, 11-33, 11-277, 11-581, 11-620, 11-689, 11-727, 11-730, 11-748, 11-767, 11-772, 11-792, 11-810, 11-827, 11-840, 11-871, 11-949, 11-2342, 12-609, 17-495, 21-784, 28-361, 28-569, 28-662, 29-180, 29-305, 29-659, 29-715, 29-744, 30-587, 30-606, 30-752, 31-271, 32-338, 32-574, 34-319, 34-618, 35-741, 36-175, 40-289, 42-674, 43-884, 48-218, 48-234, 48-294, 48-296, 49-326, 49-544, 49-583, 49-675, 49-680, 49-683, 49-698, 49-718, 49-785, 49-796, 50-468, 50-487, 50-490, 50-690, 50-747, 51-818, 52-584, 53-301, 54-670, 56-734, 57-314, 57-320, 57-552, 57-560, 63-754, 63-823, 63-830, 63-867, 63-879, 63-880, 65-679, 66-202, 66-292, 66-311, 66-621, 68-948, 72-838, 73-934, 74-546, 74-626, 74-874, 75-298, 76-900, 80-675, 81-319, 83-375, 83-524, 83-674, 85-333, 85-367, 85-654, 85-657, 87-321, 87-373, 87-380, 87-420, 87-743, 87-764, 87-931, 88-331, 88-348, 88-363, 89-727, 90-587, 91-335, 93-355, 93-505, 93-587, 94-357, 95-754, 96-569, 97-879, 98-715, 98-717, 99-180, 99-359, 99-659, 102-553, 103-382, 103-718, 106-386, 108-409, 108-745, 109-346, 109-727, 109-985, 115-231, 115-257, 115-356, 115-414, 115-417, 115-673, 115-735, 115-866, 115-871, 119-722, 123-342, 125-341, 125-845, 126-722, 141-788, 142-743, 148-611, 150-731, 181-435, 184-659, 196-720, 196-755, 204-856, 217-858, 221-465, 226-767, 2302, 1983-2308, 1984-2350, 1985-2341, 1986-2350, 1987-2234, 1987-2247, 1987-2256, 1987-2351, 1990-2349, 1990-2356, 1991-2356, 1994-2352, 1994-2355, 1995-2271, 1995-2349, 1995-2353, 1996-2268, 1997-2321, 1998-2350, 1998-2356, 2001-2285, 2004-2203, 2004-2210, 2011-2297, 2012-2306, 2012-2349, 2018-2354, 2027-2286, 2027-2350, 2029-2291, 2029-2354, 2029-2356, 2034-2350, 2034-2356, 2037-2347, 2038-2247, 2038-2336, 2040-2351, 2040-2356, 2042-2350, 2042-2356, 2045-2319, 2045-2356, 2046-2348, 2049-2341, 2049-2350, 2051-2350, 2051-2356, 2054-2256, 2055-2356, 2061-2350, 2061-2356, 2062-2350, 2063-2287, 2063-2349, 2065-2351, 2066-2350, 2068-2271, 2068-2306, 2068-2349, 2068-2350, 2069-2294, 2070-2350, 2071-2356, 2072-2350, 2073-2350, 2074-2350, 2074-2352, 2076-2355, 2077-2353, 2081-2274, 2081-2291, 2081-2331, 2083-2350, 2089-2356, 2091-2355, 2092-2308, 2092-2350, 2092-2354, 2094-2349, 2095-2356, 2097-2349, 2099-2297, 2099-2314, 2099-2350, 2099-2356, 2100-2356, 2102-2353, 2106-2350, 2108-2329, 2108-2356, 2109-2350, 2110-2356, 2111-2350, 2111-2356, 2112-2350, 2113-2349, 2113-2356, 2114-2321, 2114-2350, 2114-2353, 2116-2350, 2117-2356, 2120-2350, 2122-2289, 2122-2350, 2129-2309, 2129-2356, 2132-2342, 2134-2346, 2135-2349, 2136-2349, 2139-2350, 2139-2353, 2139-2356, 2140-2351, 2141-2347, 2141-2356, 2142-2353, 2142-2356, 2143-2356, 2145-2335, 2145-2356, 2148-2356, 2149-2349, 2150-2291, 2153-2351, 2153-2353, 2153-2356, 2155-2350, 2160-2350, 2161-2350, 2161-2351, 2166-2350, 2168-2286, 2168-2295, 2174-2356, 2175-2350, 2186-2350, 2188-2348, 2188-2351, 2189-2336, 2192-2340, 2192-2351, 2194-2350, 2195-2350, 2195-2353, 2204-2350, 2209-2311, 2225-2356, 2229-2356, 2245-2348, 2259-2356, 2264-2350, 2265-2356, 2267-2356, 2278-2356, 2282-2356, 2284-2356	

【表 4 - 3 7】

表 4 - 3 7

ポリヌクレオチ ド SEQ ID NO/ Incyte ID/配 列長	配列断片	
		231-421, 242-490, 242-867, 245-510, 249-590, 250-486, 251-827, 253-528, 262-515, 264-769, 266-563, 267-507, 272-514, 272-620, 277-700, 277-797, 281-482, 282-578, 287-568, 289-402, 289-632, 291-851, 296-564, 296-867, 304-871, 306-500, 309-571, 309-863, 310-568, 311-579, 312-871, 313-608, 317-967, 320-579, 320-837, 321-706, 323-432, 323-580, 323-612, 342-639, 344-624, 345-920, 350-659, 353-589, 353-590, 357-526, 357-600, 367-573, 368-561, 368-606, 368-677, 368-681, 368-873, 368-1123, 373-739, 383-648, 385-848, 395-705, 406-664, 407-851, 409-691, 419-735, 427-952, 435-704, 435-817, 437-697, 439-677, 439-707, 439-722, 440-702, 442-699, 446-697, 451-695, 451-731, 452-564, 466-608, 467-882, 467-1105, 470-1019, 472-642, 482-733, 485-709, 485-739, 490-769, 490-1011, 492-751, 495-650, 496-986, 502-827, 506-786, 507-755, 507-782, 507-822, 514-780, 514-801, 519-755, 521-719, 523-822, 531-773, 531-780, 531-807, 534-828, 544-713, 549-783, 550-1179, 558-791, 564-803, 567-757, 578-1181, 582-1180, 601-750, 602-849, 606-818, 609-1198, 611-850, 614-860, 615-877, 616-860, 617-847, 617-1098, 620-881, 620-1270, 621-877, 621-1196, 626-941, 627-817, 629-832, 630-878, 638-871, 642-1122, 642-1363, 649-1179, 656-968, 665-884, 669-895, 669-905, 669-930, 671-848, 679-924, 681-960, 682-871, 682-943, 683-1198, 692-1177, 696-1215, 697-955, 698-885, 698-933, 699-831, 699-1151, 699-1177, 704-1013, 707-967, 708-1185, 711-1181, 712-902, 712-1344, 714-1006, 723-922, 726-997, 730-931, 734-1004, 739-1260, 740-1286, 763-1361, 767-1190, 767-1301, 767-1339, 767-1352, 767-1376, 770-972, 773-983, 775-1503, 783-1035, 784-1435, 786-1441, 809-1090, 811-1399, 819-1057, 831-1074, 834-1175, 834-1614, 835-1087, 838-1174, 840-1122, 844-1150, 845-1119, 845-1291, 849-1108, 850-1126, 857-1149, 861-1112, 869-1068, 869-1115, 869-1129, 871-973, 874-1147, 874-1167, 878-1533, 882-993, 884-1094, 884-1139, 886-1146, 890-1144, 900-1139, 907-1153, 911-1166, 911-1196, 911-1215, 913-1505, 917-1123, 917-1328, 918-1192, 924-1198, 925-1206, 934-1126, 934-1139, 934-1212, 936-1073, 940-1439, 942-1150, 942-1669, 944-1486, 946-1553, 949-1263, 950-1197, 950-1554, 951-1198, 954-1223, 959-1265, 969-1639, 970-1131, 971-1227, 975-1198, 976-1198, 976-1228, 976-1245, 979-1254, 987-1282, 998-1189, 1001-1277, 1003-1198, 1003-1303, 1006-1294, 1006-1304, 1006-1449, 1007-1428, 1010-1302, 1010-1603, 1011-1170, 1011-1297, 1012-1519, 1014-1287, 1016-1284, 1016-1304, 1019-1252, 1019-1305, 1020-1120, 1021-1290, 1022-1310, 1025-1198, 1025-1314, 1028-1157, 1028-1269, 1031-1319, 1031-1628, 1035-1572, 1037-1558, 1041-1303, 1048-1323, 1048-1326, 1049-1300, 1049-1747, 1052-1294, 1052-1296, 1052-1358, 1055-1288, 1055-1700, 1063-1277, 1063-1295, 1067-1505, 1072-1546, 1072-1591, 1075-1318, 1075-1337, 1075-1369, 1079-1370, 1088-1371, 1118-1735, 1120-1372, 1121-1390, 1124-1340, 1125-1947, 1127-1386, 1128-1401, 1128-1404, 1129-1553, 1130-1400, 1133-1372, 1133-1387, 1136-1372, 1139-1314, 1139-1496, 1146-1438, 1147-1381, 1150-1442, 1151-1403, 1154-1394, 1162-1396, 1163-1394, 1177-1382, 1180-1420, 1184-1426, 1184-1460, 1188-1453, 1189-1400, 1190-1415, 1196-1394, 1196-1424, 1196-1440, 1196-1472, 1196-1500.

【表 4 - 3 8】

表 4 - 3 8

ポリスクレオチ ド	配列断片
SEQ ID NO/ Incyte ID/配 列長	

1196-1508, 1196-1691, 1196-1747, 1196-1789, 1199-1490, 1200-1474, 1200-1763, 1202-1712, 1203-1390, 1203-1418, 1203-1745, 1208-1397, 1208-1440, 1210-1563, 1213-1668, 1213-1765, 1216-1554, 1220-1765, 1221-1792, 1222-1486, 1222-1665, 1225-1832, 1227-1763, 1229-1846, 1229-1860, 1230-1476, 1230-1498, 1230-1552, 1231-1797, 1232-1437, 1232-1481, 1234-1384, 1234-1452, 1234-1465, 1234-1716, 1235-1503, 1235-1605, 1239-1535, 1240-1516, 1243-1513, 1249-1832, 1251-1636, 1251-1712, 1251-1797, 1253-1481, 1254-1534, 1254-1538, 1254-1694, 1255-1449, 1256-1374, 1256-1476, 1256-1537, 1256-1541, 1257-1515, 1258-1509, 1258-1528, 1259-1517, 1259-1522, 1259-1536, 1259-1537, 1259-1947, 1260-1604, 1261-1461, 1265-1522, 1266-1469, 1266-1477, 1266-1538, 1266-1548, 1268-1512, 1268-1724, 1268-1773, 1268-1861, 1270-1535, 1272-1410, 1273-1443, 1273-1552, 1276-1493, 1276-1567, 1277-1529, 1277-1546, 1286-1474, 1286-1547, 1286-1554, 1290-1845, 1293-1518, 1293-1816, 1296-1564, 1297-1481, 1298-1554, 1302-1578, 1302-1794, 1306-1797, 1307-1545, 1307-1576, 1307-1580, 1307-1583, 1307-1810, 1309-1576, 1309-1583, 1309-1585, 1309-1594, 1309-1607, 1309-1919, 1313-1554, 1313-1947, 1316-1565, 1316-1575, 1317-1554, 1317-1568, 1317-1831, 1317-1936, 1322-1569, 1324-1536, 1324-1872, 1328-1577, 1331-1529, 1331-1582, 1331-1588, 1331-1600, 1331-1615, 1333-1685, 1335-1527, 1335-1554, 1335-1564, 1335-1572, 1337-1481, 1337-1593, 1338-1554, 1342-1563, 1342-1595, 1342-1598, 1343-1593, 1343-1613, 1343-1627, 1344-1590, 1345-1554, 1345-1568, 1345-1623, 1345-1944, 1352-1595, 1357-1931, 1361-1626, 1361-1648, 1362-1661, 1362-1663, 1363-1650, 1366-1555, 1366-1639, 1366-1657, 1366-1661, 1367-1598, 1370-1613, 1370-1624, 1372-1605, 1373-1637, 1375-1656, 1383-1696, 1384-1900, 1387-1468, 1387-1634, 1392-1636, 1392-1650, 1392-1651, 1392-1662, 1394-1642, 1395-1613, 1395-1679, 1397-1622, 1397-1642, 1398-1465, 1398-1682, 1404-1655, 1404-1704, 1406-1663, 1406-1665, 1408-1697, 1414-1703, 1416-1688, 1423-1828, 1427-1688, 1430-1554, 1430-1864, 1431-1635, 1431-1704, 1431-1947, 1435-1654, 1436-1867, 1437-1595, 1437-1693, 1437-1703, 1437-1744, 1438-1724, 1440-1685, 1440-1690, 1440-1757, 1441-1691, 1441-1700, 1441-1744, 1448-1692, 1449-1712, 1450-1725, 1451-1707, 1457-1761, 1461-1673, 1461-1713, 1461-1716, 1461-1759, 1465-1665, 1465-1730, 1466-1612, 1466-1670, 1467-1733, 1473-1716, 1473-1725, 1475-1694, 1475-1705, 1475-1715, 1476-1507, 1481-1778, 1482-1663, 1484-1723, 1485-1864, 1496-1668, 1498-1930, 1499-1730, 1507-1682, 1507-1701, 1508-1687, 1511-1718, 1513-1741, 1536-1679, 1553-1802, 1560-1810, 1572-1947, 1643-1905, 1651-1698, 1651-1702, 1651-1920, 1651-1921, 1651-1947, 1659-1921, 1869-2062, 1870-2330, 1874-1992, 1883-2344, 1885-2230, 1899-2326, 1905-2330, 1910-2328, 1918-2146, 1922-2161, 1924-2333, 1936-2342, 1938-2173, 1953-2327, 1974-2089, 1988-2261, 1999-2334, 2015-2336, 2021-2327, 2028-2327, 2028-2334, 2031-2233, 2032-2336, 2038-2327, 2038-2334, 2039-2347, 2040-2264, 2040-2327, 2045-2248, 2046-2344, 2051-2329, 2058-2268, 2069-2285, 2069-2327, 2071-2326, 2071-2327, 2074-2326, 2085-2306, 2088-2336, 2093-

10

20

30

【表 4 - 3 9】

表 4 - 3 9

ポリヌクレオチ ド SEQ ID NO/ Incyte ID/配 列長	配列断片
---	------

2327, 2094-2342, 2099-2327, 2116-2330, 2117-2304, 2119-2330, 2122-2312, 2126-2326, 2130-2330,
2137-2327, 2138-2327, 2165-2328, 2166-2313, 2184-2326, 2202-2327, 2220-2345, 2241-2327, 2244-
2345

102/7510353CBI/ 1-225, 7-253, 12-291, 12-1445, 20-288, 21-280, 23-568, 24-460, 35-536, 78-252, 82-348, 187-433, 189-
1445
302, 189-411, 189-413, 189-416, 189-419, 189-420, 189-424, 189-425, 189-426, 189-430, 189-437, 189-
440, 189-447, 189-449, 189-450, 189-460, 189-871, 190-435, 191-349, 193-736, 208-375, 208-409, 208-
435, 208-443, 208-444, 208-454, 208-457, 208-481, 208-484, 208-492, 208-493, 208-499, 208-505, 208-
507, 208-525, 208-563, 208-627, 208-654, 208-679, 208-748, 208-758, 208-822, 208-859, 208-884, 208-
916, 211-490, 214-476, 216-937, 217-512, 217-712, 218-472, 218-477, 221-738, 223-673, 225-490, 227-
536, 229-854, 231-462, 244-484, 244-870, 246-469, 246-477, 248-442, 248-714, 249-684, 257-486, 267-
522, 268-479, 271-523, 277-509, 277-515, 277-527, 278-868, 280-425, 280-561, 283-552, 284-555, 290-
543, 292-541, 309-764, 310-552, 310-599, 312-596, 312-777, 327-838, 331-532, 331-608, 331-826, 338-
589, 340-595, 351-588, 353-615, 356-921, 356-923, 361-615, 367-720, 377-607, 377-681, 380-938, 384-
938, 385-862, 385-938, 386-877, 388-632, 388-658, 388-705, 390-629, 390-657, 394-901, 399-693, 400-
709, 407-676, 407-787, 421-683, 422-881, 424-701, 426-776, 429-659, 430-766, 436-898, 436-929, 437-
938, 439-780, 456-724, 466-748, 473-703, 473-756, 474-700, 478-744, 481-938, 485-778, 489-740, 501-
780, 512-770, 513-717, 521-758, 535-600, 562-690, 570-811, 578-611, 580-871, 581-884, 585-826, 595-
887, 604-701, 604-886, 617-900, 624-893, 624-897, 632-822, 637-930, 644-929, 673-900, 695-935, 758-
1037, 859-1131, 859-1386, 859-1387, 922-1178, 1040-1065, 1040-1067, 1040-1068, 1059-1439, 1076-
1437, 1086-1434, 1103-1333, 1125-1435, 1136-1436, 1168-1407, 1173-1437, 1182-1434, 1209-1412,
1209-1434

【表 4 - 4 0】

表 4 - 4 0

ポリヌクレオチド SEQ ID NO/ Incyte ID/配列長	配列断片
103/7510470CB1/2179	1-627, 3-531, 3-654, 9-244, 9-254, 9-256, 9-258, 9-529, 9-584, 9-609, 9-660, 9-667, 9-756, 10-186, 10-235, 10-2167, 11-243, 11-527, 12-464, 12-605, 13-254, 13-607, 14-456, 14-466, 14-610, 15-227, 16-266, 16-304, 16-313, 16-652, 16-704, 17-227, 20-155, 20-227, 20-309, 20-317, 20-328, 20-408, 20-472, 20-565, 20-576, 20-583, 20-609, 20-625, 21-227, 21-329, 22-227, 23-818, 25-220, 25-225, 25-227, 25-544, 25-782, 26-306, 26-643, 27-629, 29-332, 35-485, 39-456, 42-280, 42-332, 42-436, 45-590, 47-221, 47-297, 54-207, 55-704, 58-220, 104-601, 109-708, 146-619, 146-636, 146-823, 146-896, 146-906, 157-378, 189-954, 193-790, 193-842, 259-662, 263-563, 263-694, 263-697, 263-705, 263-720, 263-736, 263-790, 263-812, 263-867, 263-905, 263-922, 268-845, 297-885, 306-597, 306-829, 306-916, 311-862, 313-697, 319-1005, 357-1101, 360-662, 378-851, 409-696, 411-943, 444-967, 515-883, 550-883, 577-1123, 602-912, 607-902, 749-967, 919-1428, 967-1318, 1013-1794, 1066-1854, 1068-1345, 1076-1965, 1144-1373, 1155-1825, 1179-1638, 1203-1894, 1208-1910, 1217-1894, 1226-1887, 1236-1282, 1251-1894, 1255-1854, 1270-1836, 1311-1829, 1313-2165, 1334-1880, 1338-1917, 1342-2061, 1357-1736, 1364-2177, 1373-1857, 1392-1928, 1394-1900, 1395-2155, 1397-1958, 1399-1924, 1399-1934, 1405-2165, 1427-1976, 1438-2122, 1456-1956, 1474-2099, 1481-2088, 1481-2167, 1482-2016, 1490-1871, 1501-2073, 1505-2162, 1515-1902, 1519-1758, 1528-2034, 1532-1799, 1535-2018, 1537-1757, 1538-1808, 1538-2154, 1539-1809, 1539-2130, 1541-1775, 1545-2012, 1548-1991, 1553-2109, 1557-1784, 1571-1881, 1573-1800, 1581-1810, 1586-2146, 1586-2161, 1586-2179, 1595-2165, 1622-1870, 1624-2168, 1631-2166, 1640-2179, 1645-1946, 1663-1886, 1663-1902, 1668-1941, 1672-1904, 1695-2139, 1698-2152, 1699-1994, 1700-1922, 1700-1929, 1710-1978, 1714-2178, 1714-2179, 1720-1960, 1725-2023, 1771-1879, 1781-2055, 1784-2003, 1788-2067, 1796-2110, 1815-2067, 1822-2122, 1879-2109, 1879-2117, 1886-2101, 1887-2170, 1899-2161, 1904-2179, 1923-2142, 1924-2173, 1963-2179, 2016-2179, 2025-2179, 2026-2157, 2034-2179, 2099-2179

【表 4 - 4 1】

表 4 - 4 1

ポリヌクレオチド SEQ ID NO/ Incyte ID/配 列長	配列断片
104/7504648CBI/ 2160	1-393, 1-552, 1-701, 5-459, 5-581, 15-37, 15-281, 15-585, 15-624, 15-693, 15-731, 15-734, 15-752, 15-771, 15-776, 15-796, 15-814, 15-831, 15-844, 15-875, 15-953, 15-2160, 16-613, 21-499, 25-788, 27-560, 32-365, 32-573, 32-666, 33-184, 33-309, 33-587, 33-663, 33-719, 33-748, 34-591, 34-610, 34-756, 35-275, 36-342, 36-578, 38-323, 38-622, 40-179, 42-670, 44-293, 46-678, 50-646, 52-222, 52-238, 52-298, 52-300, 53-330, 53-548, 53-555, 53-587, 53-679, 53-684, 53-687, 53-702, 53-722, 53-789, 53-800, 54-472, 54-491, 54-494, 54-686, 54-694, 55-822, 56-588, 57-305, 57-661, 58-674, 60-738, 61-318, 61-324, 61-556, 61-564, 61-690, 69-683, 70-206, 70-296, 70-315, 70-625, 70-731, 71-664, 74-668, 74-722, 77-938, 78-550, 78-630, 78-878, 84-679, 87-379, 87-528, 87-678, 89-337, 89-371, 89-658, 89-661, 89-749, 91-325, 91-377, 91-384, 91-424, 91-747, 91-768, 91-800, 91-935, 92-335, 92-352, 92-367, 92-783, 93-731, 94-591, 95-339, 97-359, 97-509, 97-591, 98-361, 99-758, 100-573, 100-771, 101-756, 101-883, 103-184, 103-363, 103-663, 105-747, 106-557, 107-386, 107-722, 110-390, 112-749, 113-564, 113-731, 113-989, 119-235, 119-360, 119-418, 119-421, 119-497, 119-677, 119-739, 119-794, 123-726, 127-346, 128-311, 129-345, 129-849, 130-726, 142-720, 144-757, 145-792, 146-747, 147-390, 152-615, 154-735, 175-640, 185-439, 188-663, 200-724, 200-759, 208-860, 221-862, 225-469, 230-771, 235-425, 246-494, 246-871, 249-514, 253-594, 254-490, 255-831, 257-532, 265-872, 266-519, 270-567, 270-759, 271-511, 276-515, 276-518, 276-816, 276-847, 281-704, 281-801, 285-486, 286-582, 291-572, 292-815, 293-406, 293-636, 294-504, 295-855, 300-568, 300-871, 308-875, 308-992, 310-504, 313-575, 313-867, 314-572, 315-583, 316-875, 321-971, 324-583, 324-841, 325-710, 327-584, 327-616, 346-643, 348-628, 348-759, 349-924, 354-663, 357-593, 357-594, 361-530, 361-604, 371-577, 372-565, 372-610, 372-681, 372-685, 372-1100, 372-1127, 377-743, 387-652, 389-852, 399-709, 410-668, 411-855, 413-695, 419-639, 423-739, 431-956, 439-708, 439-821, 441-701, 441-759, 443-681, 443-711, 443-726, 444-706, 446-703, 450-701, 455-699, 455-735, 456-568, 470-612, 471-886, 471-1109, 474-1023, 476-646, 482-818, 486-737, 489-713, 489-743, 494-773, 494-1015, 496-755, 498-1066, 499-654, 503-980, 510-790, 511-759, 511-786, 511-826, 518-784, 518-805, 525-723, 527-826, 535-777, 535-784, 535-811, 538-832, 548-717, 553-787, 554-1183, 562-795, 568-807, 571-761, 582-1185, 586-1184, 605-754, 606-853, 610-822, 613-1202, 615-854, 618-864, 619-881, 620-864, 621-851, 621-1102, 621-1157, 624-885, 624-1274, 625-881, 625-1200, 630-945, 631-821, 633-836, 634-882, 642-875, 646-1126, 653-1183, 654-1071, 660-972, 669-888, 673-899, 673-909, 673-934, 675-852, 683-928, 685-964, 686-875, 686-947, 687-1202, 696-1181, 698-1393, 700-1219, 700-1342, 701-959, 702-889, 702-937, 703-835, 703-1155, 703-1181, 703-1370, 708-1017, 711-971, 712-1189, 715-1185, 716-906, 716-1348, 718-1010, 727-926, 730-1001, 734-935, 738-1008, 743-1264, 744-1290, 749-1434, 767-1365, 771-1194, 771-1305, 771-1343, 771-1356, 771-1380, 774-976, 777-987, 779-1507, 787-1039, 788-1439, 790-1445, 813-1094, 815-1403, 822-1489, 823-1061, 835-1078, 838-1179, 839-1091, 842-1178, 844-1126, 848-1154, 849-1123, 849-1295, 853-1112, 853-1421.

【表 4 - 4 2】

表 4 - 4 2

ポリヌクレオチ ド SEQ ID NO/ Incyte ID/配 列長	配列断片
	854-1130, 861-1153, 865-1116, 873-1072, 873-1119, 873-1133, 875-977, 878-1151, 878-1171, 882-1537, 886-997, 888-1098, 888-1143, 890-1150, 894-1148, 904-1143, 911-1157, 915-1170, 915-1200, 915-1219, 917-1509, 921-1127, 921-1332, 922-1196, 928-1202, 929-1210, 934-1505, 938-1130, 938-1143, 938-1216, 940-1077, 944-1443, 945-1558, 946-1154, 948-1490, 950-1557, 953-1267, 954-1201, 954-1630, 955-1202, 958-1227, 963-1269, 974-1135, 975-1231, 979-1202, 980-1202, 980-1232, 980-1249, 983-1258, 991-1286, 1002-1193, 1005-1281, 1007-1307, 1010-1298, 1010-1308, 1010-1453, 1011-1432, 1014-1306, 1014-1554, 1015-1174, 1015-1301, 1016-1523, 1018-1291, 1020-1288, 1020-1308, 1023-1256, 1023-1309, 1024-1124, 1025-1294, 1026-1314, 1029-1202, 1029-1318, 1032-1161, 1032-1273, 1035-1323, 1039-1559, 1041-1558, 1045-1307, 1052-1327, 1052-1330, 1053-1304, 1056-1298, 1056-1300, 1056-1362, 1059-1292, 1059-1558, 1067-1281, 1067-1299, 1071-1509, 1076-1550, 1076-1556, 1079-1322, 1079-1341, 1079-1373, 1083-1374, 1092-1375, 1119-1546, 1124-1376, 1125-1394, 1128-1344, 1131-1390, 1132-1366, 1132-1405, 1132-1408, 1133-1557, 1134-1404, 1137-1376, 1137-1391, 1140-1376, 1143-1318, 1150-1381, 1150-1442, 1151-1385, 1154-1446, 1155-1407, 1158-1398, 1166-1400, 1167-1398, 1181-1386, 1184-1424, 1192-1457, 1193-1404, 1198-1450, 1200-1398, 1200-1504, 1200-1512, 1207-1394, 1212-1444, 1214-1558, 1217-1558, 1226-1490, 1228-1362, 1234-1480, 1234-1502, 1234-1556, 1236-1441, 1236-1485, 1238-1456, 1238-1469, 1239-1507, 1243-1539, 1244-1520, 1247-1517, 1256-1907, 1257-1485, 1258-1538, 1258-1542, 1259-1453, 1260-1378, 1260-1459, 1260-1480, 1260-1541, 1260-1545, 1261-1519, 1262-1513, 1262-1532, 1263-1521, 1263-1526, 1263-1540, 1263-1541, 1265-1465, 1268-1490, 1269-1526, 1270-1473, 1270-1481, 1270-1542, 1270-1552, 1272-1516, 1274-1539, 1276-1414, 1277-1447, 1277-1556, 1280-1497, 1280-1558, 1281-1533, 1281-1550, 1290-1478, 1290-1551, 1290-1562, 1297-1522, 1300-1558, 1301-1485, 1302-1559, 1304-1858, 1311-1549, 1313-1558, 1317-1561, 1320-1558, 1321-1827, 1328-1540, 1334-1614, 1334-1787, 1335-1533, 1339-1531, 1339-1608, 1341-1485, 1342-1870, 1347-1618, 1347-1622, 1349-1570, 1391-1472, 1408-1669, 1429-1598, 1434-1604, 1445-1741, 1445-1752, 1451-1717, 1454-1535, 1533-1829, 1544-2160, 1557-1839, 1557-1877, 1557-2084, 1557-2087, 1557-2101, 1557-2160, 1558-2107, 1559-1699, 1559-2119, 1559-2143, 1559-2155, 1561-1786, 1561-1805, 1562-2032, 1562-2087, 1565-1827, 1565-1857, 1568-1782, 1568-1794, 1570-1834, 1571-2149, 1571-2160, 1572-1847, 1572-2120, 1573-1836, 1573-2123, 1574-1830, 1574-2153, 1575-1853, 1575-1867, 1575-1941, 1578-2152, 1579-1784, 1579-1837, 1579-1850, 1579-2157, 1580-1787, 1580-1885, 1584-2039, 1585-1858, 1585-1934, 1586-1857, 1586-1870, 1589-1812, 1589-2160, 1596-2160, 1597-1874, 1598-1805, 1598-1868, 1598-1899, 1598-2109, 1598-2160, 1601-2159, 1602-2160, 1604-1892, 1604-2054, 1604-2157, 1607-1892, 1607-2120, 1609-1882, 1614-1840, 1614-1871, 1614-1873, 1614-1885, 1614-2160, 1617-1854, 1617-1906, 1618-2136, 1620-1874, 1622-1859, 1622-1913, 1622-2160, 1624-1868, 1624-2160, 1625-2160, 1627-1900.

【表 4 - 4 3】

表 4 - 4 3

ポリヌクレオチ ド SEQ ID NO/ Incyte ID/配 列長	配列断片
	1629-2157, 1630-1914, 1632-2111, 1634-2160, 1635-2160, 1637-1871, 1638-2152, 1639-1891, 1641-2154, 1643-1921, 1645-1841, 1645-2016, 1646-2160, 1647-1940, 1647-2044, 1648-2148, 1649-1904, 1651-1938, 1651-1939, 1655-1883, 1658-2111, 1659-2150, 1662-2160, 1679-2160, 1680-2160, 1681-1949, 1681-1973, 1688-1936, 1689-1942, 1689-1958, 1689-1962, 1689-1963, 1689-1964, 1689-1965, 1690-2160, 1691-2074, 1691-2132, 1692-2160, 1693-1928, 1693-1954, 1693-2139, 1694-1953, 1694-2003, 1694-2090, 1694-2160, 1696-1926, 1696-1965, 1696-2012, 1696-2160, 1700-1931, 1700-1934, 1700-1954, 1700-1971, 1700-2023, 1701-2160, 1702-1858, 1702-1998, 1703-1949, 1703-1985, 1705-2160, 1706-1946, 1706-1995, 1707-1950, 1707-1970, 1707-2160, 1711-2065, 1712-1985, 1713-2160, 1717-1996, 1720-2160, 1723-2160, 1733-2032, 1733-2160, 1734-2160, 1735-1979, 1735-2160, 1736-2160, 1737-1985, 1737-2016, 1737-2160, 1739-2024, 1740-2160, 1742-1991, 1742-2160, 1743-1984, 1745-1991, 1745-2015, 1745-2160, 1749-2160, 1750-2160, 1751-2160, 1752-1987, 1754-1879, 1754-2159, 1754-2160, 1755-2159, 1756-2160, 1757-2159, 1757-2160, 1758-2019, 1758-2160, 1760-2159, 1760-2160, 1761-2160, 1762-2010, 1762-2160, 1763-2151, 1763-2159, 1763-2160, 1767-2160, 1769-2019, 1770-2023, 1771-2007, 1771-2160, 1774-2159, 1774-2160, 1775-2036, 1775-2144, 1775-2160, 1776-2160, 1777-2092, 1780-2113, 1780-2160, 1781-2160, 1782-2160, 1783-2160, 1784-2160, 1785-2157, 1791-2160, 1792-2160, 1793-2135, 1794-2115, 1794-2119, 1795-2160, 1796-2152, 1797-2160, 1798-2045, 1798-2058, 1798-2160, 1801-2159, 1801-2160, 1802-2160, 1805-2160, 1806-2082, 1806-2160, 1807-2079, 1808-2132, 1809-2157, 1809-2159, 1809-2160, 1812-2096, 1815-2014, 1815-2021, 1822-2108, 1823-2117, 1823-2160, 1829-2160, 1831-2160, 1838-2097, 1838-2160, 1840-2102, 1840-2159, 1840-2160, 1845-2160, 1846-2160, 1849-2058, 1849-2147, 1851-2160, 1853-2160, 1855-2160, 1856-2130, 1856-2160, 1860-2152, 1860-2160, 1862-2160, 1865-2067, 1866-2159, 1872-2160, 1873-2160, 1874-2098, 1874-2144, 1874-2160, 1876-2160, 1877-2160, 1879-1989, 1879-2082, 1879-2117, 1879-2160, 1880-2105, 1880-2160, 1881-2160, 1882-2160, 1883-2160, 1884-2160, 1885-2160, 1887-2160, 1888-2160, 1892-2085, 1892-2102, 1892-2142, 1894-2160, 1900-2160, 1902-2160, 1903-2119, 1903-2160, 1905-2160, 1906-2160, 1908-2160, 1910-2108, 1910-2125, 1910-2160, 1911-2160, 1913-2160, 1917-2160, 1919-2140, 1919-2160, 1920-2160, 1921-2160, 1922-2159, 1922-2160, 1923-2160, 1924-2160, 1925-2112, 1925-2132, 1925-2160, 1927-2160, 1928-2160, 1931-2160, 1933-2100, 1933-2160, 1940-2120, 1940-2160, 1945-2157, 1945-2160, 1946-2160, 1950-2160, 1951-2138, 1951-2160, 1952-2158, 1952-2160, 1953-2160, 1954-2160, 1956-2146, 1956-2160, 1959-2160, 1960-2160, 1961-2102, 1964-2160, 1966-2160, 1971-2160, 1972-2160, 1977-2160, 1979-2097, 1979-2106, 1985-2160, 1986-2160, 1997-2160, 1999-2160, 2000-2147, 2000-2157, 2003-2160, 2005-2160, 2006-2160, 2015-2160, 2018-2124, 2018-2160, 2021-2160, 2035-2160, 2036-2085, 2036-2160, 2039-2160, 2040-2160, 2049-2160, 2054-2160, 2070-2160, 2075-2160, 2076-2160, 2078-2160, 2093-2160, 2095-2160

【表 4 - 4 4】

表 4 - 4 4

ポリヌクレオチ ド	SEQ ID NO/ Incyte ID/配 列長	配列断片
106/7510146CBI/ 2510		105/7512747CBI/ 1-903, 25-198, 45-143, 62-186, 146-431, 220-654, 220-903, 236-645, 241-894, 246-437, 249-737, 254-796, 261-854, 264-903, 268-814, 268-823, 268-864, 268-883, 269-815, 269-816, 269-830, 272-861, 282-836, 291-900, 292-895, 305-823, 307-436, 317-350, 319-858, 321-852, 331-589, 331-591, 331-891, 332-792, 332-901, 346-671, 350-894, 358-821, 358-903, 359-898, 361-603, 362-903, 365-894, 383-879, 385-621, 386-624, 392-881, 393-903, 396-902, 403-881, 405-876, 407-894, 408-903, 409-851, 416-690, 416-903, 418-894, 421-648, 424-881, 424-894, 425-895, 427-892, 428-858, 429-646, 429-889, 429-894, 430-903, 431-659, 431-771, 431-894, 431-895, 431-901, 431-902, 431-903, 432-894, 434-694, 434-771, 434-880, 434-903, 436-894, 438-903, 439-685, 439-697, 440-890, 440-894, 441-894, 443-895, 444-630, 445-892, 445-903, 446-730, 446-734, 446-894, 447-879, 448-894, 449-894, 450-903, 452-678, 453-894, 453-903, 455-894, 459-890, 459-903, 461-894, 461-903, 463-903, 464-665, 464-894, 465-903, 470-894, 471-894, 475-678, 475-886, 475-894, 476-790, 476-890, 476-894, 476-903, 478-894, 479-894, 482-903, 483-894, 485-858, 485-894, 486-757, 486-894, 487-894, 490-751, 490-894, 491-894, 493-650, 494-891, 497-894, 499-894, 503-709, 507-895, 507-903, 508-903, 509-826, 510-894, 511-755, 511-890, 512-790, 512-801, 512-890, 513-891, 514-894, 515-850, 515-903, 518-894, 519-890, 519-903, 520-894, 525-766, 525-894, 529-894, 532-878, 532-893, 532-895, 533-856, 538-736, 539-722, 539-772, 542-772, 544-894, 547-766, 551-805, 551-894, 553-855, 555-800, 555-894, 556-609, 556-779, 561-903, 563-890, 563-892, 564-890, 565-890, 566-894, 569-864, 571-816, 574-892, 574-894, 575-842, 577-861, 577-894, 579-890, 580-893, 580-894, 581-895, 582-865, 583-890, 583-894, 584-894, 585-894, 588-837, 600-894, 602-890, 602-893, 602-894, 607-894, 608-895, 610-890, 610-894, 610-903, 614-890, 618-890, 619-869, 619-893, 619-900, 620-833, 623-894, 624-888, 625-890, 625-891, 631-903, 633-894, 634-894, 634-901, 635-826, 635-861, 635-863, 635-890, 637-829, 637-889, 639-892, 646-890, 647-890, 648-890, 649-903, 650-894, 660-903, 662-891, 663-887, 663-900, 664-894, 665-894, 665-895, 669-892, 675-903, 679-903, 682-903, 691-854, 701-894, 701-903, 702-895, 708-903, 710-894, 735-903, 753-890, 753-891, 753-894, 762-903, 765-890, 767-895, 780-903, 782-903, 789-901, 800-894, 827-903

106/7510146CBI/ 2510		1-233, 2-184, 8-582, 8-625, 8-658, 8-665, 8-753, 8-2510, 13-225, 21-816, 144-617, 144-821, 144-894, 191-788, 191-840, 261-561, 261-692, 261-695, 261-703, 261-734, 261-788, 261-810, 261-865, 261-903, 261-920, 266-843, 271-983, 304-595, 304-827, 304-914, 309-860, 311-695, 341-1042, 344-1048, 369-801, 376-849, 407-694, 409-941, 409-1024, 436-1024, 442-982, 443-1064, 469-1097, 471-1150, 513-881, 526-1167, 533-1144, 548-881, 554-1179, 591-1356, 605-900, 931-1637, 980-1676, 1078-1650, 1083-1605, 1103-1592, 1113-1679, 1129-1830, 1131-1738, 1160-1586, 1176-1808, 1183-1732, 1183-1823, 1202-1779, 1225-1817, 1231-1823, 1242-1712, 1280-1844, 1290-1835, 1290-1897, 1301-1839, 1367-1636, 1384-1628
-------------------------	--	---

【表 5 - 1】

表 5 - 1

ポリヌクレオチ ド SEQ ID NO:	Incyte プロジェクト代表的ライブラリ	
	エクト ID:	
54	7499940CB1	MONOTXN05
55	3329870CB1	SEMVNOT03
56	7500698CB1	BRAFTUE03
57	7500223CB1	LUNGNOT02
58	7500295CB1	LUNGNOT02
59	7502095CB1	MLP000028
60	7500507CB1	BMARNOT03
61	7500840CB1	PGANNOT03
62	7493620CB1	ADMEDNV17
63	7494697CB1	HELAUNT01
64	8146738CB1	LUNGNOT34
65	7500114CB1	OVARDIR01
66	7500197CB1	LUNGTUT07
67	7500145CB1	FIBRUNT02
68	7500874CB1	FIBRUNT02
69	7500495CB1	SINTFET03
70	7500194CB1	BRAITDR03
71	7500871CB1	FIBRUNT02
72	7500873CB1	FIBRUNT02
73	7503491CB1	UTREDIT07
74	7503427CB1	FIBPFEN06
75	7503547CB1	BRABDIE02
76	1932641CB1	COLNNOT16
77	6892447CB1	ARTANOT06
78	7503416CB1	EPIPUNA01
79	7503874CB1	OVARTUE01
80	7503454CB1	BRSTNOT16
81	7503528CB1	NGANNOT01
82	7503705CB1	HEAONOE01

【表 5 - 2】

表 5 - 2

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
83	7503707CB1	HEAONOE01
85	70819231CB1	THYRNOT03
86	7504066CB1	HELAUNT01
87	90001862CB1	COLENOR03
88	7503046CB1	SINTFEE01
89	7503211CB1	KIDNNOC01
90	7503264CB1	ISLTNOT01
93	7503199CB1	TESTNOT03
94	7511530CB1	ADRENOT03
95	7511535CB1	ENDANOT01
96	7511536CB1	ENDANOT01
97	7511583CB1	SCORNOT04
98	7511395CB1	LIVRDIT02
99	7511647CB1	BRAINOT11
100	7510335CB1	SINTNOR01
101	7510337CB1	SINTNOR01
102	7510353CB1	UCMCNOT02
103	7510470CB1	KIDNNOC01
104	7504648CB1	SINTNOR01
105	7512747CB1	KIDNNOT34
106	7510146CB1	KIDNNOC01

表 6 - 1

ライブラリ	ベクター	ライブラリの説明
ADMEDNV17PCR2-TOPOTA		ライブラリは異なるドナーから提供されたプールされた cDNA を用いて作製された。10 人の突然死の白人男女ドナー (21 才から 57 才まで) から採取し、プールされた骨格筋組織、9 人の突然死の白人男女ドナー (18 才から 32 才まで) から採取し、プールされた胸腺組織、32 人の自然流産のため死亡の白人男女胎児 (妊娠 18 週から 24 週まで) から採取し、プールされた肝組織、59 人の自然流産のため死亡の白人男女胎児 (妊娠 20 週から 33 週まで) から採取した、腎組織、妊娠 23 週で胎児死亡の 1 人の白人男子から採取された脳組織から単離された mRNA を用いて cDNA を作製した。
ADRENOT03 PSPORT1		ライブラリは、脳無酸素症で死亡した 17 才白人男性の副腎組織から単離された RNA を用いて作製された。
ARTANOT06 pINCY		ライブラリは 48 才の白人男子から採取した大動脈外膜組織から単離した RNA を用いて作製した。
BMARNOT03 pINCY		ライブラリは 16 才の白人男性の遊離型皮膚移植を伴った脛骨の左部分骨切除時に左脛骨の骨髓組織から単離された RNA を用いて作製した。患者の病歴には赤血球の異常があった。過去の手術には骨および骨髓生検および軟部組織切除がある。患者の病歴には、骨関節炎 (変形性関節症) がある。
BRABDIE02 pINCY		この 5' に偏ったランダムプライムのライブラリは脳血管事故死亡の 57 才の白人男性の脳から除去した罹病小脳組織から単離した RNA を用いて作製した。血清検査は陰性だった。患者の病歴は、ハンチントン病、気腫およびタバコの乱用 (40 年間 1 日 3~4 箱) などであった。
BRAFTUE03 PCDNA2.1		この 5' に偏ってランダムプライムされたライブラリは、40 才の白人女性の脳髓膜病変の切除時に、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。病理はグレード 4 の大円形細胞性星状細胞腫を示した。患者には、昏睡、癲癇、尿便失禁、II 型糖尿病、意志欠乏、麻痺が見られた。患者の病歴には、慢性腎炎と帝王切開術がある。患者の使用薬剤には、Decadron とフェニトインナトリウムがある。

表 6 - 2

ライブラリ	ベクター	ライブラリの説明
BRAINOT11	pINCY	ライブラリは、5才の白人男子の脳半球切除術時に右側頭葉から摘出された脳組織から単離された RNA を用いて作製された。病理は、慢性癲癇発作に一致する広範囲の多小脳回症 (polymicrogyria) と軽度から中等度の神経膠症 (主に、軟膜下、皮質下) を示した。家族歴には子宮頸癌が含まれる。
BRAITDR03	PCDNA2.1	このランダムにプライムされたライブラリは、胆管癌で死亡した 55 才白人女性から切除した不 等皮質 (帯状回後部組織) から単離した RNA を用いて作製した。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、少数の神経原繊維変化が散在した。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。
BRSTNOT16	pINCY	ライブラリは 59 才の白人女性の片側性拡大単純乳房切除時に採取した罹患乳房組織から単離し た RNA を用いて作製した。随伴する腫瘍組織の病理は侵襲性小葉癌を示し、これは管内に伸展 していた。患者の病歴には、肝硬変、食道潰瘍、高脂血症およびニューロパシーがある。
COLENOR03	PCDNA2.1	ライブラリは自動車事故で死亡した 13 才の白人女子から採取した大腸上皮組織から単離した RNA を用いて作製した。
COLNNOT16	pINCY	ライブラリは 62 才の白人男性の S 状結腸切除術と永久的人工肛門形成術時に採取した S 状結腸 組織から単離した RNA を用いて作製した。
ENDANOT01	PBLUESCRIPT	ライブラリは、心臓移植時に或る男性から切除した外植心臓からの大動脈内皮細胞組織から単 離された RNA を用いて作製された。
EPIPUNA01	PSPORT1	ライブラリは、17 才のヒスパニック系男子から採取した未処理の前立腺上皮細胞組織から単離 した RNA を用いて作製した。血清検査は陰性だった。

表 6 - 3

ライブラリ	ベクター	ライブラリの説明
FIBPFEN06	pINCY	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 を適応した条作を用いて 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化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。
FIBRUNT02	pINCY	ライブラリは 14 才の白人男子から採取した骨肉腫に由来する MG-63 細胞株から単離した RNA を用いて作製した。
HEAONOE01	PCDNA2.1	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、発癌による損傷で死亡した 39 才白人男性の大動脈から単離された RNA を用いて作製された。血清検査は、サイトメガロウィルス (CMV) が陽性であった。患者の病歴には、タバコの乱用 (25 年間毎日 1 箱)、および時折のコカイン、マリファナ、アルコールの摂取がある。
HELAUNT01	pINCY	ライブラリは、HeLa 細胞系から単離した RNA を用いて作製した。HeLa 細胞系は、31 才の黒人女性から採取された頸部腺癌に由来する。
ISLTNOT01	pINCY	ライブラリはプールした臍島細胞のコレクションから単離した RNA を用いて作製した。
KIDNNOC01	pINCY	この大型分画のライブラリは妊娠 20 週にパトー症候群 (13-トリソミー) で死亡した白人男子胎児から採取してプールした左右腎臓組織から単離した RNA を用いて作製した。
KIDNNOT34	pINCY	ライブラリは、頭蓋内出血で死亡した 8 才白人男性の左腎臓組織から単離された RNA を用いて作製された。この患者が服用していた薬剤は無い。
LIVRDIT02	pINCY	ライブラリは、生体肝移植中の 63 才白人女性から取り除かれた病的な肝臓組織から単離された RNA を用いて作製された。患者の病歴には原発性胆汁性肝硬変症があった。
LUNGNOT02	PBLUESCRIPT	ライブラリは、くも膜下出血で死亡した 47 才白人男子の肺組織から単離された RNA を用いて作製された。

【表 6 - 4】

表 6 - 4

ライブラリ	ベクター	ライブラリの説明
LUNGNOT34	pINCY	ライブラリは 12 才の白人男子から採取した肺組織から単離した RNA を用いて作製した。
LUNGTUT07	pINCY	ライブラリは、50 才の白人男性の肺部分切除時に上葉から採取した肺腫瘍組織から単離した RNA を用いて作製した。病理学の示すところでは、浸潤性、グレード 4 の扁平上皮細胞腺癌である。患者の病歴には喫煙がある。家族歴には皮膚癌が含まれていた。
MLP000028	PCR2-TOPOTA	ライブラリは、異なる提供者からブールした cDNA を使って作製された。cDNA は下記から単離された mRNA を用いて作製された。：大動脈、小脳、リンパ節、筋肉、扁桃 (リンパ様過形成)、膀胱腫瘍 (侵襲度 3 の移行上皮癌)、乳房 (増殖性繊維細胞性変化であって異型性が無く特徴は上皮乳管過形成)、精巣腫瘍 (胚性癌腫)、脾臓、卵巣、副甲状腺、回腸、乳房皮膚、S 字結腸、陰茎腫瘍 (菌状に発育する侵襲度 4 の扁平上皮癌)、胎児肺、乳房、胎児小腸、胎児肝臓、胎児すい臓、胎児肺、胎児皮膚、胎児陰茎、胎児骨、胎児肋骨、前頭脳腫瘍 (グレード 4 の大円形細胞性星状細胞腫)、卵巣 (間質性卵巣莢膜増殖症)、膀胱、膀胱腫瘍 (侵襲度 3 の移行上皮癌)、胃、リンパ節腫瘍 (転移性基底様扁平上皮癌)、扁桃 (反応性リンパ組織増殖症)、骨膜 (脛骨のもの)、胎児脳、胎児脾臓、子宮腫瘍、子宮内膜 (グレード 3 の腺扁平上皮癌)、精囊、肝臓、大動脈、副腎、リンパ節 (転移度 3 の扁平上皮癌)、舌の筋肉、食道

、食道腫瘍 (侵襲度 3 の腺癌)、回腸、すい臓、頭蓋からの軟部組織腫瘍 (グレード 3 の上衣腫)、横行結腸 (良性家族性ポリポシス)、直腸腫瘍 (グレード 3 の結腸腺癌)、肋骨腫瘍 (転移度 3 骨肉腫)、肺、心臓、胎盤、胸腺、胃、脾臓 (鬱血を伴う脾腫大)、子宮、子宮頸部 (軽度の慢性子宮頸管炎に焦点性の扁平上皮化生を伴うもの)、脾臓腫瘍 (悪性リンパ腫、びまん性大細胞型、B 細胞表現型であって豊富な反応性 T 細胞と著しい肉芽腫性応答を伴うもの)、臍帯血単核細胞、上葉肺腫瘍 (グレード 3 の扁平上皮癌)、子宮内膜 (分泌期)、肝臓、肝臓腫瘍 (転移度 2 の神経内分泌癌)、結腸、臍帯血 (Th1 細胞、非活性化)、臍帯血 (Th2 細胞、非活性化) 冠状動脈内皮細胞 (無処理)、冠状動脈平滑筋細胞 (無処理)、冠状動脈平滑筋細胞 (処理を TNF および IL-1 各 10ng/ml で 20 時間行ったもの)、膀胱 (軽度の慢性膀胱炎)、喉頭蓋、乳房皮膚、小腸、胎児前立腺間質繊維芽細胞、前立腺上皮細胞 (PrEC 細胞)。

【表 6 - 5】

表 6 - 5

ライプツラリ	ベクター	ライプツラリの説明
胎児副腎、胎児肝臓、腎臓転換した胚性細胞株(293-EBNA) (処理を 5 アザ-2 デオキシチジンで 72 時間おこなったもの)、乳腺上皮細胞(HMEC 細胞)、末梢血単球(処理を IL-10、時間 0 に 10ng/ml で行い、LPS の添加を 1 時間後に 5ng/ml で行い、インキュベーションを 24 時間)、末梢血単球(処理は抗-IL-10 を時間 0 に 10ng/ml、LPS を 1 時間後に 5ng/ml 添加、インキュベートを 24 時間)、背髄、髄質基部(ハンチントン舞踏病)、大腿筋および腕の筋肉(ALS)、乳房皮膚線維芽細胞(無処理)、乳房皮膚線維芽細胞(処理は 9CIS レチノイン酸 1μM で 20 時間)、乳房皮膚線維芽細胞(処理は TNFα および IL-1β 各 10ng/ml で 20 時間)、胎児肝臓肥満細胞、造血器(肥満細胞をヒト胎児肝臓造血前駆細胞(CD34+幹細胞)から調製。幹細胞の培養は hIL-6 と hSCF との存在下で 18 日間)、大腸の上皮層、気管支上皮細胞(処理は 20 時間、20% スモーク条件の培地使用)、リンパ節、プールした末梢血単核細胞(無処理)、プールした以下の脳セグメント: 線状体、淡蒼球および後部被殻(アルツハイマー病)。下垂体、臍帯血、CD34+由来樹状細胞(処理は SCF、GM-CSF および TNFα で 13 日間)、臍帯血、CD34+由来樹状細胞(処理は SCF、GM-CSF および TNFα で 13 日間の後、PMA/イオノマイシンで 5 時間)、小腸、直腸、骨髄神経芽腫細胞株(SH-SY5Y 細胞、処理は 6-ヒドロキシドパーミン 100 μM で 8 時間)、骨髄、神経芽腫細胞株(SH-SY5Y 細胞、無処理)、また 1 人のドナーからの脳セグメント群である、扁桃核、内嗅皮質、淡蒼球、無名質、線状体、背側尾状核、背側被殻、腹側坐核、旧皮質(海馬前側および後側)、視床、大縫線核、水道周囲灰白質、中脳、黒質、および歯状核。また、松果体(アルツハイマー病)、前脂肪細胞(無処理)、前脂肪細胞(処理をペルオキシソーム増殖因子で活性化した或る受容体 γ アゴニスト 1 マイクロ M で 4 時間おこなったもの)、プールした前立腺(腺繊維腫過形成)、プールした腎臓、プールした脂肪細胞(無処理)、		

【表 6 - 6】

表 6 - 6

ライプツラリ		ライプツラリの説明
ベクター		プー ルした脂肪細胞(処理をヒトのインスリンで行った)、プー ルした腸間膜脂肪および腹部脂肪、プー ルした副腎、プー ルした甲状腺(正常および腺腫様過形成)、プー ルした脾臓(正常および、特発性血小板減少性紫斑病に一致する変化を伴うもの)、プー ルした左右乳房、プー ルした肺、プー ルした鼻ポリープ、プー ルした脂肪、プー ルした滑膜(正常およびリウマチ様関節炎)、プー ルした脳(髄膜腫、大円形細胞性星状細胞腫およびアルツハイマー病)、プー ルした胎児結腸、プー ルした結腸である、上行結腸、下行結腸(慢性潰瘍性大腸炎)、および直腸腫瘍(腺癌)、プー ルした食道で正常および腫瘍(侵襲度 3 の腺癌)、プー ルした乳房皮膚線維芽細胞(一方は処理を w/9CIS レチノイン酸で行い、他方は TNF α および IL-1 ベータで行った)、プー ルした胆嚢(急性壊死性胆嚢炎に胆石症を伴うもの(臨床的に水症)、急性出血性胆嚢炎に胆石症を伴うもの、慢性胆嚢炎および胆石症)、プー ルした胎児心臓、(Patau's および胎児性死亡)、プー ルした神経原性腫瘍細胞株、SK-N-MC、(神経上皮腫、眼窩上野への転移、無処理)および
		ニューロン、NT-2 細胞株、(処理をマウスのレプチン 1 μg/ml および 9cis レチノイン酸 3.3 μM で 6 日間おこなった)、プー ルした卵巣(正常および多嚢胞卵巣)、プー ルした前立腺(腺腫様過形成)、プー ルした精嚢、プー ルした小腸、プー ルした胎児小腸、プー ルした胃および胎児の胃、前立腺上皮細胞、プー ルした精巣(正常および胚性癌腫)、プー ルした子宮、プー ルした子宮腫瘍(グレード 3 の腺扁平上皮癌および平滑筋腫)、プー ルした子宮、子宮内膜、および子宮筋、(正常および、腺腫様過形成であって扁平上皮癌および焦点性異型性を伴うもの)、また、プー ルした脳であって(側頭葉髄膜腫、小脳、および海馬(アルツハイマー病)、プー ルした皮膚、胎児肺、副腎腫瘍(副腎皮質細胞癌)、前立腺腫瘍(腺癌)、胎児心臓、胎児小腸、卵巣腫瘍(粘液性囊胞腺腫)、卵巣、卵巣腫瘍(移行上皮癌)、罹患前立腺(腺線維腫増殖症)、胎児結腸、子宮腫瘍(平滑筋腫)、側頭脳、顎下腺、結腸腫瘍(腺癌)、上行結腸と横行結腸、卵巣腫瘍(類内膜癌)、

【表 6 - 7】

表 6 - 7

ライブラリ	ベクター	ライブラリの説明
-------	------	----------

肺腫瘍(扁平上皮癌)、胎児脳、胎児肺、尿管腫瘍(移行上皮癌)、未処理の HNT 細胞、大動脈軟組織、精巣、精囊、病変した卵巣(子宮内腹症)、側頭葉、子宮筋層、病変した胆嚢(胆嚢炎、胆石症)、胎盤、乳房腫瘍(管内腺癌)、乳房、肺腫瘍(脂肪肉腫)、子宮内膜、腹部脂肪、頸椎後根神経節、胸部脊椎後根神経節、病変した甲状腺(腺腫過形成)、肝臓、腎臓、胎児肝臓、NT-2 細胞(処理をマウスのレプシン1および 9cisRA)、K562 細胞(処理を 9cis RA で)、小脳、脳梁、視床下部、胎児脳星状細胞(処理を TNFα および IL-1b で)、下位頭頂部皮質、後部海馬、橋、視床、C3A 細胞(未処理)、C3A 細胞(3-メチルコラントレンで処理)、精巣、結腸上皮層、プールされた前立腺、プールされた肝臓、黒質緻密部、腿筋、肋骨、卵管腫瘍(類内膜型および漿液性腺癌)、病変した肺(特発性の呼吸器系統の病変)、前帯状異種皮質および新皮質、後帯状異種皮質、聴覚の新皮質、前頭新皮質、

眼窩下新皮質、上頭頂新皮質、視覚一次新皮質、歯状核、後部帯状、小脳、虫部、下側頭皮質、延髄、後頭頂皮質、結腸ポリープ、プールされた乳房、海馬前側および後側、腸膜間および腹部脂肪、プールされた食道、プールされた胎児腎臓、プールされた胎児肝臓、回腸、小腸、プールされた胆嚢、前頭および上側頭皮質、プールされた卵巣、プールされた子宮内膜、プールされた前立腺、プールされた腎臓、胎児大腿、仙骨腫瘍(巨大細胞腫瘍)、プールされた腎臓と腎臓腫瘍(腎細胞癌、透明細胞タイプ)、プールされた肝臓と肝臓腫瘍(神経内分泌腺癌)、プールされた胎児肝臓、プールされた脾臓、胎児脾臓、脾臓腫瘍(悪性リンパ腫)、病変した脾臓(皮脂腺リンパ節腫)、後腹膜および声門上軟組織、脾臓、胎児脾臓、脾臓腫瘍(悪性リンパ腫)、病変した副腎と副腎腫瘍(褐色細胞腫)、プールされたリンパ節腫瘍(ホジキン病と転移性腺癌)、プールされた首と腓筋、およびプールされた膀胱である。

MONOTXN05pINCY

ノーマライズした処理済単球細胞組織ライブラリは、単球組織ライブラリの 103 万個の独立性クロールンから作製した。開始 RNA は 4 2 歳の女性から採られた抹消血液の処理済単球細胞から単離された RNA を使って作製された。細胞はインターロイキン 10 (IL-10) およびリポ多糖 (LPS) で処理された。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他は、Soares 他, PNAS (1994) 91:9228-9232 および Bonaldo 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

表 6 - 8

ライブラリ	ベクター	ライブラリの説明
		ズした。

NGANNOT01 PSORT1

ライブラリは 9 才白人男子の胸壁の軟部組織切除時に摘出された腫瘍性神経節組織から単離した RNA を用いて作製した。病理は神経節細胞腫を示した。患者の病歴には、喘息が含まれる。

OVARDIR01 PCDNA2.1

このランダムプライムライブラリは、45 才の白人女性の腹式子宮全摘出、両側卵管卵巣摘出、腔懸垂と固定化、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胞莖膜増殖症を示した。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。

OVARTUE01 PCDNA2.1

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、44 才女性から摘出した左卵巣腫瘍組織から単離した RNA を用いて作製した。病理学検査は、左右卵巣に solid mass cystic masses を形成するグレード 4（4 の内）の血清癌を示した。腫瘍性沈着は側卵巣軟部組織において確認された。

PGANNOT03 pINCY

ライブラリは、46 才の白人男性の試験開腹中に腹内領域から採取したパラガングリオン性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、良性の傍神経節腫を示し、グレード 2 の腎細胞癌（明細胞タイプ、被膜に貫入していない）に付随していた。外科的縁 (surgical margin) では、腫瘍が陰性であった。

【表 6 - 9】

表 6 - 9

ライブラリ	ベクター	ライブラリの説明
SCORNOT04	pINCY	ライブラリは、急性肺水腫、急性気管支肺炎、両側性胸膜滲出、心包液貯留、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、白人男性の頸部脊椎から取り除かれた頸髄の組織から単離された RNA を使って作製された。患者の病歴には、推定サイトメガロウイルス感染症、肝鬱血および脂肪肝、脾腫大、出血性膀胱炎、甲状腺出血および顔面麻痺がある。手術には、結腸鏡検査、大腸生検、アデノイド口蓋扁桃摘出、および、上咽頭内視鏡検査および生検があり、治療には放射線療法がある。
SEMVNOT03	pINCY	ライブラリは 56 才の男性の根本的前立腺切除時に採取した精嚢組織から単離した RNA を用いて作製した。随伴する腫瘍組織の病理学検査では、腺癌（Gleason グレード 3 + 3）が見られた。
SINTFEE01	pINCY	この 5' に偏向してランダムプライムしたライブラリは、死亡した白人男子胎児から採取した小腸組織から単離した RNA を用いて作製された。死因は胎児性死亡である。
SINTFET03	pINCY	ライブラリは妊娠 20 週で死亡の白人女子胎児から採取した小腸組織から単離した RNA を用いて作製された。
SINTNOR01	PCDNA2.1	このランダムプライムされたライブラリは、31 才白人女性の Roux-Y 胃吻合時に除去した小腸組織から単離された RNA を用いて作製された。患者の病歴には、臨床的肥満がある。
TESTNOT03	PBLUESCRIPT	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。
THYRNOT03	pINCY	ライブラリは 28 才白人女性の甲状腺全摘手術時に左甲状腺から取り除かれた甲状腺組織から単離した RNA を用いて作成した。病理は左甲状腺に小結節の腺腫性過形成が見られた。随伴腫瘍組織の病理は、顕著な濾胞状腺腫を示しており、左甲状腺に被包性塊が形成されていた。
UCMCNOT02	pINCY	ライブラリは、9 個体の臍帯血から得た単核細胞から単離された RNA を用いて作製した。
UTREDIT07	pINCY	ライブラリは子宮内膜生検時に女性から採取した病変した子宮内膜組織から単離した RNA を用いて作製した。病理学検査は、欠損したベータ 3、タイプ II 欠損を伴う子宮内膜を示した。

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、Applied Biosystems, Foster City, CA. あいまいな塩基をマスクするプログラム		
ABI/PARACEL FDF	Fast Data Finder. アミノ酸配列または核酸配列Applied Biosystems, Foster City, CA; 列の比較および注釈付けに有用である。	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blastp、blastn、blastx、tblastnおよびtblastxの5つの機能がある。	Altschul, S.F. 他 (1990) J. Mol. Biol. 215:403-410, Altschul, S.F. 他. (1997) Nucleic Acids Res. 25:3389-3402.	EST:確率値=1.0E-8 以下; 完全長配列:確率値= 1.0E-10 以下
FASTA	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、fasta、fastx、tblastxおよびtblastx)がある。	Pearson, W.R. 及 び J.D. 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.	EST:fasta E値 = 1.06E-6; アセンブリしたEST群:fasta 同一性 =95%以上、一致長さ=200塩基以上、fastx E値=1.0E-8以下、完全長配列:fastxスコア =100以上
BLIMPS	配列をBLOCKS、PRINTS、DOMO、PRODOMHenikoff, S. 及 び J.G. Henikoff およびPFAM データベースの配列と対応させ、遺伝子ファミリー、配列相同性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
HMMER	問合せ配列を、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(PFAM、INCY、SMART、TIGRFAM等)に対して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	Prosites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, Smith, T.F. 及び M. S. Waterman (1981) Adv. Appl. Math. 2:482-489; 56以上 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.	ノーマライズされた質スコア≧特定のPrositesモチーフに対するGCG指定「HIGH」値通常、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リングアルゴリズム。		
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。		スコア = 120以上; マッチ長さ = スコア>3.5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Nielsen, H. 他 (1997) Protein Engineering 10:1-6; Claverie, J.M. 及び S. Audic (1997) CABIOS 12:431-439.		
TMAP	重み行列を用いて蛋白質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.	
TMHMM	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。	Sonnhammer, E. L. 他(1998)	

【表 7 - 3】

表 7 - 3

プログラム	説明	参考文献	パラメータ閾値
74Motifs	Prositeで定義された配列と一致したパターン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.	

表 8 - 1

SEQ ID NO:	PID	EST ID	SNP ID	EST SNP	CBI SNP	EST SNP	アレル 1	アレル 2	アミノ酸	白人アレル 1 頻度	アフリカ系アレル 1 頻度	アジア系アレル 1 頻度	ヒスパニック系アレル 1 頻度
94	7511530	3218974H1	SNP0004949 2	34	78	G	G	A	M1	n/a	n/a	n/a	n/a
94	7511530	4515573H1	SNP0014959 6	123	212	T	C	T	I46	n/a	n/a	n/a	n/a
95	7511535	2812434H1	SNP0014959 6	182	292	C	C	T	L73	n/a	n/a	n/a	n/a
95	7511535	3218974H1	SNP0004949 2	34	78	G	G	A	M1	n/a	n/a	n/a	n/a
96	7511536	2812434H1	SNP0014959 6	182	310	C	C	T	L73	n/a	n/a	n/a	n/a
96	7511536	3218974H1	SNP0004949 2	34	96	G	G	A	M1	n/a	n/a	n/a	n/a
97	7511583	1224254H1	SNP0014433 6	16	70	T	T	C	V15	n/a	n/a	n/a	n/a
97	7511583	1296182H1	SNP0009564 6	72	281	C	C	T	C85	n/a	n/a	n/a	n/a
97	7511583	1401267F6	SNP0006962 9	266	1190	C	T	C	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
97	7511583	157722F1	SNP0006962 8	327	976	T	T	C	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
97	7511583	1616725T6	SNP0005917 1	166	963	G	T	G	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
97	7511583	1616725T6	SNP0005917 2	138	991	C	C	T	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
97	7511583	1757780H1	SNP0000783 5	178	422	G	G	A	L132	0.76	0.76	0.99	0.84
97	7511583	1757780H1	SNP0014433 7	127	371	G	G	A	S115	n/a	n/a	n/a	n/a
97	7511583	5095527F6	SNP0015220 0	374	422	A	G	A	L132	n/a	n/a	n/a	n/a
98	7511395	1630029H1	SNP0000361	131	806	G	C	G	L268	0.13	n/a	n/a	n/a

表 8 - 2

【 表 8 - 2 】

SEQ ID NO:	PID	EST ID	SNP ID	EST SNP	CB1 SNP	EST SNP	アレル	アレル 1	アレル 2	アミノ酸	白人アレル 1 頻度	アフリカ系アレル 1 頻度	アジア系アレル 1 頻度	ヒスパニック系アレル 1 頻度
98	7511395	1633719F6	0	SNP0002356	202	938	T	C	T	F312	n/a	n/a	n/a	n/a
99	7511647	1286725H1	6	SNP0001024	142	1169	G	G	A	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
99	7511647	1286725T6	1	SNP0001024	73	1187	G	G	A	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
99	7511647	2242360F6	1	SNP0001024	110	1201	A	G	A	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
99	7511647	2242360T6	1	SNP0001024	41	1205	A	G	A	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
99	7511647	2595325T6	1	SNP0001024	85	1175	A	G	A	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
99	7511647	5021938T1	1	SNP0001024	78	1171	G	G	A	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
99	7511647	6022930H1	9	SNP0012808	30	118	C	C	T	R39	n/a	n/a	n/a	n/a
100	7510335	1212125H1	0	SNP0014049	174	2243	C	C	T	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
100	7510335	1216827H1	2	SNP0015009	184	2325	C	C	T	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
100	7510335	1291887H1	7	SNP0012833	147	1933	C	C	T	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
100	7510335	1398850H1	7	SNP0006025	217	2108	C	C	T	非翻訳	n/d	n/d	n/d	n/d
100	7510335	1419179H1	6	SNP0006025	119	2001	C	C	T	非翻訳	n/d	n/a	n/a	n/a
100	7510335	1540254H1	5	SNP0003309	171	1589	C	C	T	非翻訳	n/d	n/d	n/d	n/d
100	7510335	1544766H1	7	SNP0014791	40	1076	T	T	C	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a

表 8 - 3

【 表 8 - 3 】

SEQ ID NO:	PID	EST ID	SNP ID	EST SNP	CB1 SNP	EST SNP	アレル 1	アレル 2	アミノ酸	白人アレル 1 頻度	アフリカ系アレル 1 頻度	アジア系アレル 1 頻度	ヒスパニック系アレル 1 頻度
100	7510335	1710273H1	SNP0014791	67	1498	G	G	A	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
100	7510335	1804935H1	SNP0013552	20	1706	G	G	C	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
100	7510335	1961191H1	SNP0003309	186	1590	C	C	T	非翻訳	n/d	n/d	n/d	n/d
100	7510335	2212721H1	SNP0006849	134	579	G	G	C	G154	n/a	n/a	n/a	n/a
100	7510335	2212721H1	SNP0014671	43	488	T	C	T	D123	n/a	n/a	n/a	n/a
100	7510335	223647H1	SNP0006025	104	2107	C	C	T	非翻訳	n/d	n/d	n/d	n/d
100	7510335	2811126H1	SNP0003309	51	1587	C	C	T	非翻訳	n/d	n/d	n/d	n/d
100	7510335	2961433H1	SNP0012833	126	1930	C	C	T	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
100	7510335	3023579H1	SNP0012833	169	1932	C	C	T	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
100	7510335	3090372H1	SNP0003309	208	1588	C	C	T	非翻訳	n/d	n/d	n/d	n/d
100	7510335	3106751H1	SNP0012833	136	1928	C	C	T	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
100	7510335	3111223H1	SNP0014791	41	1497	G	G	A	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
100	7510335	3320948H1	SNP0014791	95	1496	G	G	A	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
100	7510335	3497717H1	SNP0006025	169	2000	C	C	T	非翻訳	n/d	n/a	n/a	n/a
100	7510335	3534331H1	SNP0014791	69	1074	T	T	C	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
100	7510335	3604157H1	SNP0006025	222	2105	C	C	T	非翻訳	n/d	n/d	n/d	n/d

表 8 - 4

【 表 8 - 4 】

SEQ ID NO:	PID	EST ID	SNP ID	EST SNP	CB1 SNP	EST SNP	アレル 1	アレル 2	アミノ酸	白人アレル 1 頻度	アフリカ系アレル 1 頻度	アジア系アレル 1 頻度	ヒスパニック系アレル 1 頻度
100	7510335	3605357H1	7 SNP0006025	114	1998	C	C	T	非翻訳	n/d	n/a	n/a	n/a
100	7510335	3674561H1	6 SNP0014791	101	1489	A	G	A	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
100	7510335	3806218H1	8 SNP0003309	135	1574	C	C	T	非翻訳	n/d	n/d	n/d	n/d
100	7510335	3946457H1	5 SNP0006849	169	577	G	G	C	G153	n/a	n/a	n/a	n/a
100	7510335	3946457H1	8 SNP0014671	78	486	C	C	T	H123	n/a	n/a	n/a	n/a
100	7510335	4042248H1	6 SNP0012853	27	1219	C	C	T	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
100	7510335	4070502H1	8 SNP0006025	271	2106	C	C	T	非翻訳	n/d	n/d	n/d	n/d
100	7510335	4070502H1	7 SNP0012833	96	1931	C	C	T	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
100	7510335	4095392H1	7 SNP0014049	230	2240	C	C	T	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
100	7510335	4118647H1	0 SNP0006025	26	1953	C	C	T	非翻訳	n/d	n/a	n/a	n/a
100	7510335	4125450H1	6 SNP0012853	196	1214	C	C	T	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
100	7510335	4516130H1	8 SNP0012853	153	1222	C	C	T	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
100	7510335	4668664H1	8 SNP0014791	175	1491	G	G	A	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
100	7510335	4776052H1	8 SNP0013552	9	1704	G	G	C	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
100	7510335	4838066H1	5 SNP0012833	143	1929	C	C	T	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
			7										

表 8－5

【 表 8－5 】

SEQ ID NO:	PID	EST ID	SNP ID	EST SNP	CBJ SNP	EST SNP	アレル	アレル 1	アレル 2	アミノ酸	白人アレル 1 頻度	アフリカ系アレル 1 頻度	アジア系アレル 1 頻度	ヒスパニック系アレル 1 頻度
100	7510335	4850641H1	SNP0014791 7	5	1075	T	T	C	C	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
100	7510335	5025486H1	SNP0013552 5	47	1700	G	G	C	C	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
100	7510335	5218718H1	SNP0014049 0	103	2183	C	C	T	T	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
100	7510335	5802821H1	SNP0012833 7	121	1898	C	C	T	T	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
100	7510335	5810857H1	SNP0006849 8	158	576	G	G	C	C	V153	n/a	n/a	n/a	n/a
100	7510335	5971080H1	SNP0015009 2	320	425	T	C	T	T	L102	n/a	n/a	n/a	n/a
100	7510335	5987440H1	SNP0015009 2	47	2324	C	C	T	T	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
100	7510335	6164432H1	SNP0003309 5	155	1583	C	C	T	T	非翻訳	n/d	n/d	n/d	n/d
100	7510335	6217485H1	SNP0012833 7	402	1834	C	C	T	T	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
100	7510335	6243311H1	SNP0015009 1	88	799	C	C	T	T	S227	n/a	n/a	n/a	n/a
100	7510335	6251127H1	SNP0003309 5	264	1552	C	C	T	T	非翻訳	n/d	n/d	n/d	n/d
100	7510335	6362371H1	SNP0013552 5	320	1779	G	G	C	C	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
100	7510335	6472431H1	SNP0012833 7	152	1812	C	C	T	T	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
100	7510335	683181H1	SNP0014671 6	48	487	C	C	T	T	A123	n/a	n/a	n/a	n/a
100	7510335	687860H1	SNP0013552 5	62	1716	G	G	C	C	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
100	7510335	7048680H1	SNP0014791	97	859	G	G	A	A	R247	n/a	n/a	n/a	n/a

表 8 - 6

SEQ ID NO:	PID	EST ID	SNP ID	EST SNP	EST SNP	EST SNP	アレル	アレル1	アレル2	アミノ酸	白人アレル1 頻度	アフリカ系アレル1 頻度	アジア系アレル1 頻度	ヒスパニック系アレル1 頻度
100	7510335	837712H1	SNP0014791	8	1073	T	T	C	C	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
101	7510337	1212125H1	SNP0014049	174	2220	C	C	T	T	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
101	7510337	1216827H1	SNP0015009	184	2302	C	C	T	T	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
101	7510337	1291887H1	SNP0012833	147	1838	C	C	T	T	I573	n/a	n/a	n/a	n/a
101	7510337	1459431H1	SNP0006025	53	1906	C	C	T	T	A596	n/d	n/a	n/a	n/a
101	7510337	1540254H1	SNP0003309	171	1494	C	C	T	T	R459	n/d	n/d	n/d	n/d
101	7510337	1544766H1	SNP0014791	40	981	T	T	C	C	F288	n/a	n/a	n/a	n/a
101	7510337	1710273H1	SNP0014791	67	1403	G	G	A	A	K428	n/a	n/a	n/a	n/a
101	7510337	1804935H1	SNP0013552	20	1611	G	G	C	C	A498	n/a	n/a	n/a	n/a
101	7510337	1961191H1	SNP0003309	186	1495	C	C	T	T	P459	n/d	n/d	n/d	n/d
101	7510337	1964030H1	SNP0006025	187	2015	C	C	T	T	非翻訳	n/d	n/d	n/d	n/d
101	7510337	2212721H1	SNP0006849	134	579	G	G	C	C	G154	n/a	n/a	n/a	n/a
101	7510337	2212721H1	SNP0014671	43	488	T	T	C	T	D123	n/a	n/a	n/a	n/a
101	7510337	2811126H1	SNP0003309	51	1492	C	C	T	T	S458	n/d	n/d	n/d	n/d
101	7510337	3023579H1	SNP0012833	169	1837	C	C	T	T	T573	n/a	n/a	n/a	n/a

表 8 - 8

SEQ ID NO:	PID	EST ID	SNP ID	EST SNP	EST SNP	アレル	アレル1	アレル2	アミノ酸	白人アレル1 頻度	アフリカ系アレル1 頻度	アジア系アレル1 頻度	ヒスパニック系アレル1 頻度
101	7510337	4776052H1	SNP0013552	9	1609	G	G	C	S497	n/a	n/a	n/a	n/a
101	7510337	4838066H1	SNP0012833	143	1834	C	C	T	A572	n/a	n/a	n/a	n/a
101	7510337	4850641H1	SNP0014791	5	980	T	T	C	G287	n/a	n/a	n/a	n/a
101	7510337	5025486H1	SNP0013552	47	1605	G	G	C	G496	n/a	n/a	n/a	n/a
101	7510337	5218718H1	SNP0014049	103	2160	C	C	T	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
101	7510337	5596417H1	SNP0015009	92	794	C	C	T	A225	n/a	n/a	n/a	n/a
101	7510337	5802821H1	SNP0012833	121	1803	C	C	T	Q562	n/a	n/a	n/a	n/a
101	7510337	5810857H1	SNP0006849	158	576	G	G	C	V153	n/a	n/a	n/a	n/a
101	7510337	5971080H1	SNP0015009	320	425	T	C	T	L102	n/a	n/a	n/a	n/a
101	7510337	5987440H1	SNP0015009	47	2301	C	C	T	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
101	7510337	6164432H1	SNP0003309	155	1488	C	C	T	L457	n/d	n/d	n/d	n/d
101	7510337	6217485H1	SNP0012833	402	1739	C	C	T	L540	n/a	n/a	n/a	n/a
101	7510337	6243311H1	SNP0015009	88	799	C	C	T	S227	n/a	n/a	n/a	n/a
101	7510337	6251127H1	SNP0003309	264	1457	C	C	T	P446	n/d	n/d	n/d	n/d
101	7510337	6362371H1	SNP0013552	320	1684	G	G	C	S522	n/a	n/a	n/a	n/a

【表 8 - 9】

表 8 - 9

SEQ ID NO.	PID	EST ID	SNP ID	EST SNP	CB1 SNP	EST SNP	アレル	アレル1	アレル2	アミノ酸	白人アレル1	アフリカ系アレル1	アジア系アレル1	ヒスパニック系アレル1	頻度
101	7510337	6472431H1	7	SNP0012833	152	1717	C	C	T	A533	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
101	7510337	6501461H1	7	SNP0006025	461	2085	C	C	T	非翻訳	n/d	n/d	n/d	n/d	n/d
101	7510337	6802209J1	7	SNP0006025	231	2014	C	C	T	非翻訳	n/d	n/d	n/d	n/d	n/d
101	7510337	683181H1	6	SNP0014671	48	487	C	C	T	A123	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
101	7510337	687860H1	5	SNP0013552	62	1621	G	G	C	R501	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
101	7510337	7048680H1	6	SNP0014791	97	859	G	G	A	R247	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
101	7510337	837712H1	7	SNP0014791	8	978	T	T	C	C287	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
102	7510353	1420447H1	7	SNP0014737	42	525	C	C	T	T171	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
102	7510353	1493080H1	9	SNP0014939	154	225	A	A	G	Q71	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
102	7510353	2314923H1	8	SNP0014737	248	576	T	T	C	L188	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
102	7510353	2569281H1	2	SNP0014976	219	595	C	C	T	A194	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
102	7510353	2848514H1	9	SNP0014939	135	222	A	A	G	D70	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
102	7510353	3593344H1	9	SNP0014939	23	223	A	A	G	E70	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
102	7510353	4187759H1	5	SNP0009961	27	650	T	T	G	C213	n/d	n/a	n/a	n/a	n/a
102	7510353	4201932H1	5	SNP0009961	26	648	T	T	G	F212	n/d	n/a	n/a	n/a	n/a
102	7510353	4640886H1		SNP0014737	205	524	C	C	T	L171	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a

【 0 7 4 5 】

表 8 - 1 0

【 表 8 - 1 0 】

SEQ ID NO:	P ID	EST ID	SNP ID	EST SNP	EST SNP	アレル	アレル 1	アレル 2	アミノ酸	白人アレル 1 頻度	アフリカ系アレル 1 頻度	アジア系アレル 1 頻度	ヒスパニック系アレル 1 頻度
102	7510353	5583090H1	7 SNP0014939	149	224	A	A	G	K71	n/a	n/a	n/a	n/a
102	7510353	5895839H1	9 SNP0009961	249	647	T	T	G	Y212	n/d	n/a	n/a	n/a
102	7510353	5895839H1	5 SNP0014976	194	592	C	C	T	D193	n/a	n/a	n/a	n/a
102	7510353	6567150H1	2 SNP0009226	520	1209	T	T	C	V399	n/d	n/a	n/a	n/a
103	7510470	1417623H1	5 SNP0003712	190	1726	T	T	C	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
103	7510470	217091H1	2 SNP0000916	27	1912	G	G	A	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
103	7510470	2364930H1	5 SNP0015439	130	1829	G	G	C	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
103	7510470	2367975H1	7 SNP0012256	54	1833	C	C	T	非翻訳	n/d	n/a	n/a	n/a
103	7510470	2371106H1	3 SNP0012256	186	1848	C	C	T	非翻訳	n/d	n/a	n/a	n/a
103	7510470	2562140H1	3 SNP0012601	119	144	G	A	G	R44	n/a	n/a	n/a	n/a
103	7510470	2562140H1	9 SNP0012602	275	300	A	A	G	D96	n/a	n/a	n/a	n/a
103	7510470	2647388H1	0 SNP0015439	14	1828	G	G	C	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
103	7510470	2659667H1	7 SNP0003712	54	1725	T	T	C	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
103	7510470	2659667H1	2 SNP0012256	176	1847	C	C	T	非翻訳	n/d	n/a	n/a	n/a
103	7510470	2664626H1	3 SNP0012602	147	303	T	T	C	V97	n/a	n/a	n/a	n/a

表 8 - 1 1

【 表 8 - 1 1 】

SEQ ID NO:	PID	EST ID	SNP ID	EST SNP	EST SNP	EST SNP	アレル 1	アレル 2	アミノ酸	白人アレル 1 頻度	アフリカ系アレル 1 頻度	アジア系アレル 1 頻度	ヒスパニック系アレル 1 頻度
103	7510470	2664980H1	SNP0005838	165	1234	A	A	C	R407	n/a	n/a	n/a	n/a
103	7510470	2958538H1	SNP0007551	240	259	C	T	C	D82	0.44	n/a	n/a	n/a
103	7510470	2960825H1	SNP0003712	73	1716	T	T	C	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
103	7510470	3501789H1	SNP0012601	129	143	G	A	G	G44	n/a	n/a	n/a	n/a
103	7510470	3502578H1	SNP0012602	259	299	A	A	G	N96	n/a	n/a	n/a	n/a
103	7510470	3502578H1	SNP0012602	262	302	T	T	C	L97	n/a	n/a	n/a	n/a
103	7510470	7011485H1	SNP0007551	66	252	T	T	C	M80	0.44	n/a	n/a	n/a
103	7510470	7012255H1	SNP0010640	397	1246	A	A	G	S411	n/d	n/a	n/a	n/a
103	7510470	7014056H1	SNP0005838	61	873	T	C	T	I287	n/d	n/a	n/a	n/a
103	7510470	7014228H1	SNP0007551	135	1444	T	C	T	R477	n/a	n/a	n/a	n/a
103	7510470	7014873H1	SNP0003712	487	2110	G	G	A	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
103	7510470	7371634H1	SNP0012602	485	502	A	G	A	A163	n/a	n/a	n/a	n/a
103	7510470	7650627H1	SNP0011967	192	1277	G	G	A	A422	n/d	n/a	n/a	n/a
103	7510470	940290H1	SNP0015439	117	1827	G	G	C	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
104	7504648	1212125H1	SNP0014049	174	2054	C	C	T	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
104	7504648	1216827H1	SNP0015009	184	2136	C	C	T	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a

表 8 - 1 2

SEQ ID NO:	PID	EST ID	SNP ID	EST SNP	CB1 SNP	EST SNP	アレル 1	アレル 2	アミノ酸	白人アレル 1 頻度	アフリカ系アレル 1 頻度	アジア系アレル 1 頻度	ヒスパニック系アレル 1 頻度
104	7504648	1291887H1	SNP0012833 2 7	147	1744	C	C	T	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
104	7504648	1398850H1	SNP0006025 7	217	1919	C	C	T	非翻訳	n/d	n/d	n/d	n/d
104	7504648	1419179H1	SNP0006025 6	119	1812	C	C	T	非翻訳	n/d	n/a	n/a	n/a
104	7504648	1540254H1	SNP0003309 5	171	1498	C	C	T	R459	n/d	n/d	n/d	n/d
104	7504648	1544766H1	SNP0014791 7	40	985	T	T	C	F288	n/a	n/a	n/a	n/a
104	7504648	1710273H1	SNP0014791 8	67	1407	G	G	A	K428	n/a	n/a	n/a	n/a
104	7504648	1961191H1	SNP0003309 5	186	1499	C	C	T	P459	n/d	n/d	n/d	n/d
104	7504648	2212721H1	SNP0006849 8	134	583	G	G	C	G154	n/a	n/a	n/a	n/a
104	7504648	2212721H1	SNP0014671 6	43	492	T	C	T	D123	n/a	n/a	n/a	n/a
104	7504648	223647H1	SNP0006025 7	104	1918	C	C	T	非翻訳	n/d	n/d	n/d	n/d
104	7504648	2811126H1	SNP0003309 5	51	1496	C	C	T	S458	n/d	n/d	n/d	n/d
104	7504648	2961433H1	SNP0012833 7	126	1741	C	C	T	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
104	7504648	3023579H1	SNP0012833 7	169	1743	C	C	T	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
104	7504648	3089579H1	SNP0012833 7	210	1742	C	C	T	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
104	7504648	3090372H1	SNP0003309 5	208	1497	C	C	T	F458	n/d	n/d	n/d	n/d

【表 8 - 1 3】

表 8 - 1 3

SEQ ID NO.	PID	EST ID	SNP ID	EST SNP	CB1 SNP	EST SNP	アレル 1	アレル 2	アミノ酸	白人アレル 1 頻度	アフリカ系アレル 1 頻度	アジア系アレル 1 頻度	ヒスパニック系アレル 1 頻度
104	7504648	3106751H1	SNP0012833	136	1739	C	C	T	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
104	7504648	3111223H1	SNP0014791	41	1406	G	G	A	R428	n/a	n/a	n/a	n/a
104	7504648	3320948H1	SNP0014791	95	1405	G	G	A	E428	n/a	n/a	n/a	n/a
104	7504648	3497717H1	SNP0006025	169	1811	C	C	T	非翻訳	n/d	n/a	n/a	n/a
104	7504648	3534331H1	SNP0014791	69	983	T	T	C	V287	n/a	n/a	n/a	n/a
104	7504648	3604157H1	SNP0006025	222	1916	C	C	T	非翻訳	n/d	n/d	n/d	n/d
104	7504648	3605357H1	SNP0006025	114	1809	C	C	T	非翻訳	n/d	n/a	n/a	n/a
104	7504648	3674561H1	SNP0014791	101	1398	A	G	A	A425	n/a	n/a	n/a	n/a
104	7504648	3806218H1	SNP0003309	135	1483	C	C	T	H454	n/d	n/d	n/d	n/d
104	7504648	3946457H1	SNP0006849	169	581	G	G	C	G153	n/a	n/a	n/a	n/a
104	7504648	3946457H1	SNP0014671	78	490	C	C	T	H123	n/a	n/a	n/a	n/a
104	7504648	4042248H1	SNP0012853	27	1128	C	C	T	H335	n/a	n/a	n/a	n/a
104	7504648	4070502H1	SNP0006025	271	1917	C	C	T	非翻訳	n/d	n/d	n/d	n/d
104	7504648	4095392H1	SNP0014049	230	2051	C	C	T	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
104	7504648	4118647H1	SNP0006025	26	1764	C	C	T	非翻訳	n/d	n/a	n/a	n/a
104	7504648	4125450H1	SNP0012853	196	1123	C	C	T	L334	n/a	n/a	n/a	n/a

表 8 - 1 4

【 表 8 - 1 4 】

SEQ ID NO:	PID	EST ID	SNP ID	EST SNP	CB1 SNP	EST アレ ル	アレ ル 1	アレ ル 2	アミノ酸	白人アレ ル 1 頻度	アフリカ 系アレ ル 1 頻度	アジア系 アレ ル 1 頻度	ヒスパニ ック系ア レル 1 頻 度
104	7504648	4516130H1	8 SNP0012853	153	1131	C	C	T	I336	n/a	n/a	n/a	n/a
104	7504648	4668664H1	8 SNP0014791	175	1400	G	G	A	G426	n/a	n/a	n/a	n/a
104	7504648	4838066H1	7 SNP0012833	143	1740	C	C	T	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
104	7504648	4850641H1	7 SNP0014791	5	984	T	T	C	G287	n/a	n/a	n/a	n/a
104	7504648	5218718H1	0 SNP0014049	103	1994	C	C	T	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
104	7504648	5596417H1	1 SNP0015009	92	798	C	C	T	A225	n/a	n/a	n/a	n/a
104	7504648	5802821H1	7 SNP0012833	121	1709	C	C	T	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
104	7504648	5810857H1	8 SNP0006849	158	580	G	G	C	V153	n/a	n/a	n/a	n/a
104	7504648	5971080H1	2 SNP0015009	320	429	T	C	T	L102	n/a	n/a	n/a	n/a
104	7504648	5987440H1	2 SNP0015009	47	2135	C	C	T	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
104	7504648	6164432H1	5 SNP0003309	155	1492	C	C	T	L457	n/d	n/d	n/d	n/d
104	7504648	6243311H1	1 SNP0015009	88	803	C	C	T	S227	n/a	n/a	n/a	n/a
104	7504648	6472431H1	7 SNP0006025	327	1787	C	C	T	非翻訳	n/d	n/d	n/d	n/d
104	7504648	6472431H1	7 SNP0012833	152	1612	C	C	T	Q497	n/a	n/a	n/a	n/a
104	7504648	683181H1	6 SNP0014671	48	491	C	C	T	A123	n/a	n/a	n/a	n/a

表 8-15

SEQ ID NO:	PID	EST ID	SNP ID	EST SNP	CBI SNP	EST SNP	アレル 1	アレル 2	アミノ酸	白人アレル 1 頻度	アフリカ系アレル 1 頻度	アジア系アレル 1 頻度	ヒスパニック系アレル 1 頻度
104	7504648	7048680H1	SNP0014791 ⁶	97	863	G	G	A	R247	n/a	n/a	n/a	n/a
104	7504648	837712H1	SNP0014791 ⁷	8	982	T	T	C	C287	n/a	n/a	n/a	n/a
105	7512747	1215521H1	SNP0009687 ⁷	235	378	G	G	C	M104	n/a	n/a	n/a	n/a
105	7512747	1215521H1	SNP0013444 ⁶	201	344	A	A	G	Q93	n/a	n/a	n/a	n/a
105	7512747	2060954R6	SNP0009687 ⁷	415	377	G	G	C	R104	n/a	n/a	n/a	n/a
105	7512747	2060954R6	SNP0013444 ⁶	381	343	A	A	G	K93	n/a	n/a	n/a	n/a
105	7512747	7754178J1	SNP0009687 ⁷	358	355	G	G	C	A97	n/a	n/a	n/a	n/a
105	7512747	7754178J1	SNP0013444 ⁶	324	321	A	A	G	R85	n/a	n/a	n/a	n/a
106	7510146	1417623H1	SNP0003712 ²	190	2017	T	T	C	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
106	7510146	217091H1	SNP00000916 ⁵	27	2203	G	G	A	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
106	7510146	2364930H1	SNP0015439 ⁷	130	2120	G	G	C	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
106	7510146	2367975H1	SNP0012256 ³	54	2139	C	C	T	非翻訳	n/d	n/a	n/a	n/a
106	7510146	2562140H1	SNP0012601 ⁹	119	142	G	A	G	R44	n/a	n/a	n/a	n/a
106	7510146	2562140H1	SNP0012602 ⁰	275	298	A	A	G	D96	n/a	n/a	n/a	n/a
106	7510146	2564755H1	SNP0005838 ⁴	80	1525	A	A	C	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
106	7510146	2664626H1	SNP0012602 ⁴	147	301	T	T	C	V97	n/a	n/a	n/a	n/a

表 8-1-6

SEQ ID NO:	PID	EST ID	SNP ID	EST SNP	CBI SNP	EST SNP	アレル 1	アレル 2	アミノ酸	白人アレル 1 頻度	アフリカ系アレル 1 頻度	アジア系 アレル 1 頻度	ヒスパニック系 アレル 1 頻度
106	7510146	2958538H1	SNP0007551 1	240	257	C	T	C	D82	0.44	n/a	n/a	n/a
106	7510146	2962264T6	SNP0000916 7	179	2222	G	G	A	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
106	7510146	2962264T6	SNP0003712 5	365	2036	C	T	C	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
106	7510146	2962264T6	SNP0012256 2	243	2158	C	C	T	非翻訳	n/d	n/a	n/a	n/a
106	7510146	7012255H1	SNP0010640 3	397	1537	A	A	G	非翻訳	n/d	n/a	n/a	n/a
106	7510146	7013451F8	SNP0003712 3	382	2401	G	G	A	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
106	7510146	7014056H1	SNP0005838 3	61	871	T	C	T	I287	n/d	n/a	n/a	n/a
106	7510146	7014228H1	SNP0007551 8	135	1735	T	C	T	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
106	7510146	7370025H1	SNP0005838 4	343	1526	A	A	C	非翻訳	n/a	n/a	n/a	n/a
106	7510146	7371634H1	SNP0012601 9	127	151	G	A	G	S47	n/a	n/a	n/a	n/a
106	7510146	7371634H1	SNP0012602 0	283	307	A	A	G	K99	n/a	n/a	n/a	n/a
106	7510146	7371634H1	SNP0012602 1	286	310	T	T	C	L100	n/a	n/a	n/a	n/a
106	7510146	7371634H1	SNP0012602 2	485	510	A	G	A	N167	n/a	n/a	n/a	n/a
106	7510146	7650307J2	SNP0005838 3	557	873	C	C	T	R288	n/d	n/a	n/a	n/a
106	7510146	7651139H1	SNP0012602 2	452	500	A	G	A	A163	n/a	n/a	n/a	n/a

2005525788000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US02/31096

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(7) : C12N 9/00, 9/14, 916; C07K 16/00, 1/00 US CL : 435/183, 195, 196; 530/300, 350 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. : 435/183, 195, 196; 530/300, 350 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) REGISTRY, CAPLUS, MEDLINE			
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT			
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.	
X	SULLIVAN et al. Identification and Characterization of the Human Homologue of the Short PDE4A cAMP-specific phosphodiesterase RD1 (PDE4A1) by Analysis of the Human HSPDE4A Gene Locus located at Chromosome 19p13.2. Biochem. J. 1998, Vol. 333, pages 693-703, entire document.	1-7, 12-13, 17-18, 56 and 109	
X	EDGAR, A.J. et al. Molecular Cloning of the Human and Murine 2-amino-3-ketobutyrate coenzyme A Ligase cDNAs. Eur. J. Biochem. 2000, Vol. 267, pages 1805-1812, entire document.	1-7, 12-13, 17-18, 61 and 114	
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ 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		Date of mailing of the international search report	
18 June 2003 (18.06.2003)		26 JUN 2003	
Name and mailing address of the ISA/US		Authorized officer	
Mail Stop PCT, Attn: ISA/US		P. Ponnaluri	
Commissioner for Patents		Telephone No. 703-308-0196	
P.O. Box 1450			
Alexandria, Virginia 22313-1450			
Facsimile No. (703)305-3230			

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1998)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US02/31096

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.: 1-7, 12-13, 17-18, 56, 61, 109, 114
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.:

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/US02/31096

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 1-53, claim(s) 1-2, 17-18, 56-108, each group (groups 1-53) is drawn to a single polypeptide of SEQ ID NO: 1 to SEQ ID NO: 53.

Groups 54-106, claim(s) 3-7, 12-13, 109-161, each group (groups 54-106) is drawn to an isolated polynucleotide encoding a polypeptide of SEQ ID NO: 1-53 or polynucleotide SEQ ID NO: 54-106 and a cell (claim 7).

Groups 107-159, claim(s) 8, drawn to a transgenic organism (with a single polynucleotide from SEQ ID NO: 54-106).

Group 160, claim(s) 9-10, drawn to a method of producing a polypeptide of claim 1.

Groups 161-214, claim(s) 11, 31-32, 34, 42-43, each group (groups 161-214) is drawn to an isolated antibody specifically binds to a polypeptide of SEQ ID NO: 1-53.

Group 215, claim(s) 14-15, drawn to a method of detecting polynucleotide in a sample.

Group 216, claim(s) 16, drawn to a method of detecting a polynucleotide in a sample.

Group 217 claim 19, drawn to a method of treating a disease using either one polypeptide of SEQ ID NO: 1-53.

Group 218, claim(s) 20, drawn to a method of screening a compound using either one polypeptide of SEQ ID NO: 1-53.

Group 219, claim 21, drawn to a composition comprising an agonist compound identified by the method of claim 20.

Group 220, claim 22, drawn to a method of treating a disease using the composition of claim 21.

Group 221, claim(s) 23, drawn to a method of screening a compound for effectiveness as an antagonist of a polypeptide of claim 1.

Group 222, claim 24, drawn to a composition comprising an antagonist compound.

Group 223, claim 25, drawn to a method of screening a compound that modulates the activity of a polypeptide of claim 1.

Group 224, claim 26, drawn to a method of screening a compound that specifically binds to the polypeptide of claim 1.

Group 225, claim(s) 27, drawn to a method of screening a compound that modulates the activity of claim 1.

Groups 226, claim 28, drawn to a method of screening a compound for effectiveness for altering the expression of polynucleotide.

Group 227, claim 29, drawn to a method of assessing toxicity of a test compound.

Group 228, claim 30, drawn to a diagnostic test.

Group 229, claim(s) 33, 35, drawn to a method of diagnosing a condition or disease.

Group 230, claim 36, drawn to a method of preparing a polyclonal antibody using a polypeptide selected from SEQ ID NO: 1-53.

Groups 231-283, claims 37-38, drawn to a polyclonal antibody produced by the method of claim 36.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

PCT/US02/31096

Groups 284, claim 39, drawn to a method of making a monoclonal antibody to a polypeptide selected from SEQ ID NO: 1-53.

Groups 285-338, claims 40-41, drawn to a monoclonal antibody produced by the method of claim 39.

Group 339, claim 44, drawn to a method of detecting a polypeptide.

Groups 340, claim 45, drawn to a method of purifying a polypeptide.

Group 341, claim 46, drawn to a microarray.

Groups 342, claim 47, drawn to a method of generating an expression profile of a sample.

Groups 343, claims 48-55, drawn to an array comprising different nucleotide molecules.

The inventions listed as Groups 1 -343 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: The individual polypeptide or polynucleotide of the instant claims are structurally and functionally distinct from each other and the results of the use of the individual polypeptide or polynucleotide would differ. The instant claim methods if applicants wish to be searched in the case each method would be (after paying for additional group) searched along with the elected polypeptide or polynucleotide only.

Further the invention lacks unity, the polypeptide in claim 1 with SEQ ID NO: 1 is well known in the prior art. See Sullivan et al (Biochem. J., 1998, vol. 333, pages 693-703).

NOTE: above lack of unity is subject to PCT Article 14(4) (e.g., limited search facilities) and PCT Article 17 (1) (ii) (e.g., extent Disclosure/claims/drawings limit a meaningful search).

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 9/00	A 6 1 P 9/00	4 B 0 6 4
A 6 1 P 11/00	A 6 1 P 11/00	4 B 0 6 5
A 6 1 P 13/00	A 6 1 P 13/00	4 C 0 8 4
A 6 1 P 15/00	A 6 1 P 15/00	4 C 0 8 5
A 6 1 P 17/00	A 6 1 P 17/00	4 H 0 4 5
A 6 1 P 25/00	A 6 1 P 25/00	
A 6 1 P 27/00	A 6 1 P 27/00	
A 6 1 P 29/00	A 6 1 P 29/00	
A 6 1 P 31/04	A 6 1 P 31/04	
A 6 1 P 35/00	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 37/00	A 6 1 P 37/00	
A 6 1 P 37/04	A 6 1 P 37/04	
A 6 1 P 43/00	A 6 1 P 43/00	1 1 1
C 0 7 K 14/47	C 0 7 K 14/47	
C 0 7 K 16/18	C 0 7 K 16/18	
C 0 7 K 16/40	C 0 7 K 16/40	
C 0 7 K 16/46	C 0 7 K 16/46	
C 1 2 M 1/00	C 1 2 M 1/00	A
C 1 2 N 1/15	C 1 2 N 1/15	
C 1 2 N 1/19	C 1 2 N 1/19	
C 1 2 N 1/21	C 1 2 N 1/21	
C 1 2 N 5/10	C 1 2 N 9/00	
C 1 2 N 9/00	C 1 2 P 21/02	C
C 1 2 P 21/02	C 1 2 P 21/08	
C 1 2 P 21/08	C 1 2 Q 1/02	
C 1 2 Q 1/02	C 1 2 Q 1/68	A
C 1 2 Q 1/68	G 0 1 N 33/15	Z
G 0 1 N 33/15	G 0 1 N 33/50	Z
G 0 1 N 33/50	G 0 1 N 33/53	D
G 0 1 N 33/53	G 0 1 N 33/53	M
G 0 1 N 37/00	G 0 1 N 37/00	1 0 2
	C 1 2 N 5/00	A
	C 1 2 N 15/00	F
	A 6 1 K 37/02	

- (31)優先権主張番号 60/348,284
(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 60/338,048
(32)優先日 平成13年11月8日(2001.11.8)
(33)優先権主張国 米国(US)
(31)優先権主張番号 60/332,340
(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 60/340,357
(32)優先日 平成13年12月14日(2001.12.14)
(33)優先権主張国 米国(US)

- (31)優先権主張番号 60/368,799
 (32)優先日 平成14年3月29日(2002.3.29)
 (33)優先権主張国 米国(US)
 (31)優先権主張番号 60/368,722
 (32)優先日 平成14年3月29日(2002.3.29)
 (33)優先権主張国 米国(US)
 (31)優先権主張番号 60/381,558
 (32)優先日 平成14年5月17日(2002.5.17)
 (33)優先権主張国 米国(US)
 (31)優先権主張番号 60/387,119
 (32)優先日 平成14年6月7日(2002.6.7)
 (33)優先権主張国 米国(US)
 (31)優先権主張番号 60/390,662
 (32)優先日 平成14年6月21日(2002.6.21)
 (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,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,IE,IT,LU,MC,NL,PT,SE,SK,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,N O,NZ,OM,PH,PL,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 ユエ、ヘンリー
 アメリカ合衆国カリフォルニア州94087・サニーベイル・ルイスアベニュー 826
 (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95121・サンノゼ・ポルトンブレイスウェイ 3770
 (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94024・エンシニタス・#ビー103・サウスエルカミーノ
 レアル 1810
 (72)発明者 ダガン、ブレンダン・エム
 アメリカ合衆国カリフォルニア州94086・サニーベイル・#306・ブエナビスタアベニュー
 243
 (72)発明者 フォーサイス、イアン・ジェイ
 アメリカ合衆国カリフォルニア州94061・レッドウッドシティ・ローブルアベニュー 308
 (72)発明者 リー、アーンステーション・エイ
 アメリカ合衆国カリフォルニア州94552・カストロバレー・クロウクリークロード 2052
 3
 (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95054・サンタクララ・コーレデブリマベラ 2227
 (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94555・フレモント・メイバードサークル 34359
 (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94587・ユニオンシティ・#712・ユニオンスクエア 3
 3
 (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94577・サンレアンドロ・サンティアゴロード 14244
 (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94546・カストロバレー・#117・ゲイリードライブ 2
 1062
 (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 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 リー、ジョアナ・エックス
アメリカ合衆国カリフォルニア州 9 4 1 1 2 ・ サンフランシスコ ・ ジュネーブアベニュー 1 2 6 4
- (72)発明者 ヤオ、モニック・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 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 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 リー、ソー・ユーン
アメリカ合衆国カリフォルニア州 9 4 0 1 5 ・ デイリーシティ ・ ウェストデールアベニュー 4 0
- (72)発明者 チャン、シンール
アメリカ合衆国カリフォルニア州 9 4 0 0 2 ・ ベルモント ・ トレジャーアイランドドライブ 3 2 6
- (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 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 ラル、プリーティ・ジー
アメリカ合衆国カリフォルニア州 9 5 0 5 6 ・ サンタクララ ・ ピーオーボックス 5 1 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 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 ジアング、シン
アメリカ合衆国カリフォルニア州 9 5 0 7 0 ・ サラトガ ・ エルバアベニュー 1 4 3 7 1
- (72)発明者 ジャクソン、アラン・エイ
アメリカ合衆国カリフォルニア州 9 5 0 3 2 ・ ロスガトス ・ エルウッドドライブ 1 5 4 1
- (72)発明者 ゼバージャディアン、イエガナー
アメリカ合衆国カリフォルニア州 9 4 1 2 7 ・ サンフランシスコ ・ ジュニペロセラブルバード 8 3 0
- (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 ウィルソン、エイミー・ディー
アメリカ合衆国カリフォルニア州 9 4 0 0 2 ・ ベルモント ・ # 2 7 ・ コンチネンタルズウェイ 1 0 5 6
- (72)発明者 ジン、ペイ
アメリカ合衆国カリフォルニア州 9 4 3 0 6 ・ パロアルト ・ # ディー ・ カートナーアベニュー 3 2 0
- (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 バティア、ウメシュ
アメリカ合衆国カリフォルニア州 9 5 1 2 4 ・ サンノゼ ・ ユニオンアベニュー 5 2 1 2

- (72)発明者 バリル、ジョン・ディー
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・ブリュスタアベニュー 2 2
1 8
- (72)発明者 リー、サリー
アメリカ合衆国カリフォルニア州 9 4 1 1 0 ・ サンフランシスコ・トゥエンティシックスストリート 3 6 4 3
- (72)発明者 ブレイク、ジュリー・ジェイ
アメリカ合衆国カリフォルニア州 9 4 1 1 6 ・ サンフランシスコ・サートイーフィフスアベニュー 1 9 7 5
- (72)発明者 ホー、アン
アメリカ合衆国カリフォルニア州 9 4 0 8 6 ・ サニーベイル・# 1 1 4 ・ ポプラーアベニュー 1
2 7 9
- (72)発明者 ゼング、ウェンジン
アメリカ合衆国カリフォルニア州 9 4 0 4 3 ・ マウンテンビュー・サッタークリークレーン 9
- (72)発明者 ガオ、ジンゲ
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・アパートメント エム 6 ・ テナカブ
レイス 1 5 7 5

F ターム(参考) 2G045 AA34 AA35 BB20 CB01 DA13 DA36 FB02 FB03 FB12 GC15
4B024 AA01 AA11 AA12 AA13 BA07 BA08 BA10 BA11 BA12 BA31
BA41 BA61 BA80 CA04 CA11 DA03 EA04 GA11 HA03 HA14
4B029 AA07 AA21 AA23 BB20 CC03 CC08 FA12
4B050 CC01 CC03 DD01 DD11 DD13 LL01 LL03
4B063 QA01 QA05 QA13 QA18 QA19 QQ02 QQ13 QQ43 QQ53 QR08
QR32 QR56 QR62 QR80 QR84 QS25 QS34 QS38 QX02
4B064 AG01 AG26 AG31 CA01 CA19 CA20 CC24 DA01 DA13
4B065 AA01Y AA57Y AA87Y AA92X AA93X AA93Y AB01 AC14 BA02 CA24
CA25 CA26 CA27 CA28 CA29 CA31 CA44 CA46
4C084 AA02 AA07 AA17 BA01 BA18 BA22 NA14 ZA02 ZA33 ZA36
ZA59 ZA81 ZB05 ZB07 ZB08 ZB09 ZB11 ZB26 ZC21
4C085 AA13 AA14 BB11 CC21 CC23 CC32 EE01
4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 BA10 CA10 CA20 CA30 CA40 CA50
DA76 DA86 EA20 EA50 FA72 FA74

專利名称(译)	酵素		
公开(公告)号	JP2005525788A	公开(公告)日	2005-09-02
申请号	JP2003544177	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	ヤングジュンミング リュデュングアイナエム ユエヘンリー エリオットビッキーエス ワレンブリジットエイ ダガンプレンダンエム フォーサイスイアンジェイ リーアーンスティーンエイ ハファリアエープリルジェイエイ ランクマールジャヤラクシミ チョーラナリンダーケイ ボーグンマライアアール ベチャシャニアディー ゴーバッドアンイー トランユエンケイ リージョアナエックス ヤオモニークジー アイソククレイグエイチ グリフィンジェニファーエイ リーソーユーン チャンシンル エマーリングブルックエム タングワイトム ラルプリーティジー ケーブルエイミーイー マーキスジョセフピー ジアングシン ジャクソンアランエイ ゼバージャディアンイエガネー スウォーナカールアニータ ウィルソンエイミーディー ジンベイ リチャードソントマスダブリュ バティアウメシュ バリルジョンディー リーサリー ブレイクジュリージェイ ホーアン ゼングウエンジン ガオジンギ		
发明人	ヤング、ジュンミング リュ、デュング・アイナ・エム ユエ、ヘンリー エリオット、ビッキー・エス		

ワレン、ブリジット・エイ
ダガン、ブレンダン・エム
フォーサイス、イアン・ジェイ
リー、アーンステイーン・エイ
ハファリア、エープリル・ジェイ・エイ
ランクマール、ジャヤラクシミ
チョーラ、ナリンダー・ケイ
ボーグン、マライア・アール
ベチャ、シャニア・ディー
ゴーバッド、アン・イー
トラン、ユエン・ケイ
リー、ジョアナ・エックス
ヤオ、モニーク・ジー
アイソン、クレイグ・エイチ
グリフィン、ジェニファー・エイ
リー、ソー・ユーン
チャン、シン・ル
エマーリング、ブルック・エム
タング、ワイ・トム
ラル、プリーティ・ジー
ケーブル、エイミー・イー
マーキス、ジョセフ・ピー
ジアング、シン
ジャクソン、アラン・エイ
ゼバージャディアン、イエガネー
スウォーナカール、アニータ
ウィルソン、エイミー・ディー
ジン、ペイ
リチャードソン、トマス・ダブリュ
バティア、ウメシュ
バリル、ジョン・ディー
リー、サリー
ブレイク、ジュリー・ジェイ
ホー、アン
ゼング、ウェンジン
ガオ、ジング

IPC分類号	G01N33/50 A61K38/00 A61K39/395 A61K45/00 A61P3/00 A61P9/00 A61P11/00 A61P13/00 A61P15/00 A61P17/00 A61P25/00 A61P27/00 A61P29/00 A61P31/04 A61P35/00 A61P37/00 A61P37/04 A61P43/00 C07K1/00 C07K14/47 C07K16/00 C07K16/18 C07K16/40 C07K16/46 C12M1/00 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C12N9/00 C12N9/14 C12N9/16 C12N9/20 C12N15/09 C12P21/02 C12P21/08 C12Q1/02 C12Q1/68 G01N33/15 G01N33/53 G01N37/00
CPC分類号	A61K38/00 A61P3/00 A61P11/00 A61P13/00 A61P15/00 A61P17/00 A61P25/00 A61P27/00 A61P29/00 C07K14/4702 C12N9/20
FI分類号	C12N15/00.ZNA.A A61K39/395.D A61K39/395.N A61K45/00 A61P3/00 A61P9/00 A61P11/00 A61P13/00 A61P15/00 A61P17/00 A61P25/00 A61P27/00 A61P29/00 A61P31/04 A61P35/00 A61P37/00 A61P37/04 A61P43/00.111 C07K14/47 C07K16/18 C07K16/40 C07K16/46 C12M1/00.A C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N9/00 C12P21/02.C C12P21/08 C12Q1/02 C12Q1/68.A G01N33/15.Z G01N33/50.Z G01N33/53.D G01N33/53.M G01N37/00.102 C12N5/00.A C12N15/00.F A61K37/02
F-TERM分類号	2G045/AA34 2G045/AA35 2G045/BB20 2G045/CB01 2G045/DA13 2G045/DA36 2G045/FB02 2G045/FB03 2G045/FB12 2G045/GC15 4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/AA12 4B024/AA13 4B024/BA07 4B024/BA08 4B024/BA10 4B024/BA11 4B024/BA12 4B024/BA31 4B024/BA41 4B024/BA61 4B024/BA80 4B024/CA04 4B024/CA11 4B024/DA03 4B024/EA04 4B024/GA11 4B024/HA03 4B024/HA14 4B029/AA07 4B029/AA21 4B029/AA23 4B029/BB20 4B029/CC03 4B029/CC08 4B029/FA12 4B050/CC01 4B050/CC03 4B050/DD01 4B050/DD11 4B050/DD13 4B050/LL01 4B050/LL03 4B063/QA01

4B063/QA05 4B063/QA13 4B063/QA18 4B063/QA19 4B063/QQ02 4B063/QQ13 4B063/QQ43 4B063/QQ53 4B063/QR08 4B063/QR32 4B063/QR56 4B063/QR62 4B063/QR80 4B063/QR84 4B063/QS25 4B063/QS34 4B063/QS38 4B063/QX02 4B064/AG01 4B064/AG26 4B064/AG31 4B064/CA01 4B064/CA19 4B064/CA20 4B064/CC24 4B064/DA01 4B064/DA13 4B065/AA01Y 4B065/AA57Y 4B065/AA87Y 4B065/AA92X 4B065/AA93X 4B065/AA93Y 4B065/AB01 4B065/AC14 4B065/BA02 4B065/CA24 4B065/CA25 4B065/CA26 4B065/CA27 4B065/CA28 4B065/CA29 4B065/CA31 4B065/CA44 4B065/CA46 4C084/AA02 4C084/AA07 4C084/AA17 4C084/BA01 4C084/BA18 4C084/BA22 4C084/NA14 4C084/ZA02 4C084/ZA33 4C084/ZA36 4C084/ZA59 4C084/ZA81 4C084/ZB05 4C084/ZB07 4C084/ZB08 4C084/ZB09 4C084/ZB11 4C084/ZB26 4C084/ZC21 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/BB11 4C085/CC21 4C085/CC23 4C085/CC32 4C085/EE01 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/CA10 4H045/CA20 4H045/CA30 4H045/CA40 4H045/CA50 4H045/DA76 4H045/DA86 4H045/EA20 4H045/EA50 4H045/FA72 4H045/FA74

優先権
60/326388 2001-09-28 US
60/328979 2001-10-12 US
60/346034 2001-10-19 US
60/348284 2001-10-26 US
60/338048 2001-11-08 US
60/332340 2001-11-16 US
60/340357 2001-12-14 US
60/368799 2002-03-29 US
60/368722 2002-03-29 US
60/381558 2002-05-17 US
60/387119 2002-06-07 US
60/390662 2002-06-21 US

外部リンク [Espacenet](#)

摘要(译)

本発明の各種実施方案提供了鉴定和编码ENZMの人酶 (ENZM) 和多核甘酸。 本発明の実施方案还提供表达载体，宿主细胞，抗体，激动剂和拮抗剂。 其他实施方案提供了用于诊断，治疗或预防与ENZM异常表达有关的疾病的方法。

(43) 公表日 平成17年9月2日 (2005. 9. 2)			
(51) Int. Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)	
C 1 2 N 15/00	C 1 2 N 15/00	Z N A A	2 G 0 4 5
A 6 1 K 38/00	A 6 1 K 39/385	D	4 B 0 2 4
A 6 1 K 39/395	A 6 1 K 39/385	N	4 B 0 2 9
A 6 1 K 45/00	A 6 1 K 45/00		4 B 0 5 0
A 6 1 P 3/00	A 6 1 P 3/00		4 B 0 6 3
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 297 頁) 最終頁に続			
(21) 出願番号	特願2003-544177 (P2003-544177)	(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26日 (2004. 5. 26)		アメリカ合衆国カリフォルニア州94304・パロアルト・ボータードドライブ 3160
(86) 国際出願番号	PCT/US2002/031096		
(87) 国際公開番号	W02003/042357	(74) 代理人	100089266
(87) 国際公開日	平成15年5月22日 (2003. 5. 22)		弁理士 大島 陽一
(31) 優先権主張番号	60/326, 388	(72) 発明者	ヤング、ジュンミン
(32) 優先日	平成13年9月28日 (2001. 9. 28)		アメリカ合衆国カリフォルニア州95129・サンノゼ・パークレーン 7125
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(72) 発明者	リュ、チュング・アイナ・エム
(31) 優先権主張番号	60/328, 979		アメリカ合衆国カリフォルニア州95123・サンノゼ・コイドライブ 233
(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	60/346, 034		
(32) 優先日	平成13年10月19日 (2001. 10. 19)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		
最終頁に続く			