

(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2004-515244

(P2004-515244A)

(43) 公表日 平成16年5月27日(2004.5.27)

(51) Int. Cl. <sup>7</sup>	F I	テーマコード (参考)
<b>C 1 2 N 15/09</b>	C 1 2 N 15/00	Z N A A
<b>A O 1 K 67/027</b>	A O 1 K 67/027	2 G O 4 5
<b>A 6 1 K 38/00</b>	A 6 1 K 48/00	4 B O 2 4
<b>A 6 1 K 48/00</b>	A 6 1 P 31/12	4 B O 6 3
<b>A 6 1 P 31/12</b>	A 6 1 P 35/00	4 B O 6 4
		4 B O 6 5
	審査請求 未請求 予備審査請求 有	(全 59 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2002-549713 (P2002-549713)	(71) 出願人	502210552
(86) (22) 出願日	平成13年12月11日 (2001.12.11)		ファーマ パシフィック プロプライエタリー リミテッド
(85) 翻訳文提出日	平成15年6月10日 (2003.6.10)		オーストラリア国、ビクトリア、レイバートン ノース、パイプ ロード 103-105
(86) 国際出願番号	PCT/GB2001/005496	(74) 代理人	100066692
(87) 国際公開番号	W02002/048182		弁理士 浅村 皓
(87) 国際公開日	平成14年6月20日 (2002.6.20)	(74) 代理人	100072040
(31) 優先権主張番号	0030184.6		弁理士 浅村 肇
(32) 優先日	平成12年12月11日 (2000.12.11)	(74) 代理人	100088926
(33) 優先権主張国	イギリス (GB)		弁理士 長沼 暉夫
		(74) 代理人	100102897
			弁理士 池田 幸弘
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 インターフェロン-アルファ誘導遺伝子

## (57) 【要約】

本発明はインターフェロン- $\alpha$  投与により上方調節され、SEQ ID No: 1 で記述される cDNA 配列に対応する遺伝子の同定に関するものである。この遺伝子の発現生成物の測定は 1 型インターフェロン受容体に作用するインターフェロン- $\alpha$  及びその他のインターフェロンによる治療に対する反応性を予測するのに有用であると提案されている。同遺伝子によりコードされているタンパクを治療に使用することも意図されている。

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

( i ) S E Q I D N o : 2 のアミノ酸配列 ;  
 ( i i ) 免疫調節作用及び / または抗ウイルス作用及び / または抗腫瘍作用から選択された実質的に同じ機能を持つその変異体 ;  
 ( i i i ) 免疫調節作用及び / または抗ウイルス作用及び / または抗腫瘍作用から選択された実質的に同じ機能を保持している ( i ) または ( i i ) のフラグメント、  
 を含む単離ポリペプチド。

## 【請求項 2】

該ポリペプチド及び / または天然に存在するその変異体に対する特異的抗体を作るために  
 10 適した S E Q I D N o : 2 に記述されるアミノ酸配列によって規定されるポリペプチドの変異体またはフラグメント。

## 【請求項 3】

請求項 1 または 2 に記載されたポリペプチドをコードするポリヌクレオチド。

## 【請求項 4】

c D N A である請求項 3 に記載のポリヌクレオチド。

## 【請求項 5】

ポリヌクレオチドが :

( a ) S E Q I D N o : 1 の核酸配列またはそのコード配列及び / またはそれに相補  
 20 的配列 ;

( b ) ( a ) に規定した配列にハイブリッド形成する配列 ;

( c ) ( a ) または ( b ) に規定した配列に対する遺伝子コードの結果として縮重してい  
 る配列 ;

( d ) ( a ) 、 ( b ) または ( c ) に規定した配列に対して少なくとも 6 0 % 相同性を有  
 する配列、

を含む請求項 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。

## 【請求項 6】

請求項 1 または 2 に記載のポリペプチドを発現することができる請求項 3 から 5 のい  
 づれか一つに記載のポリヌクレオチド配列を含む発現ベクター。

## 【請求項 7】

請求項 6 に記載の発現ベクターを含む宿主細胞。

## 【請求項 8】

請求項 1 または 2 に記載のポリペプチドに特異的な抗体。

## 【請求項 9】

請求項 1 に記載のポリペプチドのインピボにおける発現を指令する単離ポリヌクレオチ  
 0 。

## 【請求項 1 0】

ヒトまたは非ヒト動物の治療処置に使用するための請求項 1 に記載のポリペプチドまたは  
 請求項 9 に記載のポリヌクレオチド。

## 【請求項 1 1】

請求項 1 に記載のポリペプチドまたは請求項 9 に記載のポリヌクレオチド及び医薬として  
 40 許容し得る担体または希釈剤を含む医薬組成物。

## 【請求項 1 2】

抗ウイルス、抗腫瘍または免疫調節薬として治療に使用する薬剤の調製に請求項 1 に記載  
 のポリペプチドまたは請求項 9 に記載のポリヌクレオチドの使用。

## 【請求項 1 3】

請求項 1 に記載のポリペプチドまたは請求項 9 に記載のポリヌクレオチドの有効量を該患  
 者に投与することからなる 1 型インターフェロンで治療し得る疾患を持つ患者の治療方法  
 。

## 【請求項 1 4】

ポリペプチドの発現に適した条件下に請求項 7 に記載の宿主細胞を培養しそして該ポリペプチドを単離することからなる請求項 1 または 2 に記載のポリペプチド製造方法。

【請求項 15】

SEQ ID No : 2 のポリペプチドまたはその天然に存在する変異体を発現することができる細胞を用意し、該細胞を被検化合物とインキュベートしそして該ポリペプチドまたは変異体をコードする遺伝子の上方調節を監視することからなる免疫調節作用及び/または抗ウイルス作用及び/または抗腫瘍作用を有する化合物の同定方法。

【請求項 16】

ヒトまたは非ヒト動物の治療処置に使用するための該コード配列の SEQ ID No : 2 のポリペプチドまたはその天然に存在する変異体のコード配列に対してアンチセンス配列をインピボにおいて発現することができるポリヌクレオチド。 10

【請求項 17】

治療的処置に使用するための請求項 8 に記載の抗体。

【請求項 18】

請求項 4 に記載の cDNA 内の配列を標的とする核酸増幅のためのプライマーのセット。

【請求項 19】

請求項 3 から 5 のいずれか一つに記載のポリヌクレオチドから誘導した核酸プローブ。

【請求項 20】

固体支持体に接着した請求項 19 に記載のプローブ。 20

【請求項 21】

該検体を 1 型インターフェロンの投与後に該患者から得るかまたは該測定の前に 1 型インターフェロンでインピトロ処理して、該患者の細胞検体における SEQ ID No : 2 に記述されているアミノ酸配列により規定されるタンパクまたはその天然に存在する変異体、または対応する mRNA のレベルを測定することからなる 1 型インターフェロンによる治療に対する患者の反応性を予測する方法。

【請求項 22】

該検体を得る前に投与するかまたは該検体をインピトロで処理するために使用するインターフェロンが該患者の治療に提案しているインターフェロンである請求項 21 に記載の方法。 30

【請求項 23】

患者の血液検体から単離した末梢血単核細胞を含む検体を 1 型インターフェロンでインピトロ処理する請求項 21 または請求項 22 に記載の方法。

【請求項 24】

該測定が SEQ ID No : 2 に記述されているアミノ酸配列により規定されるタンパクまたは該タンパクの天然に存在する変異体をコードする mRNA のレベルを測定することからなる請求項 21 から 23 のいずれか一つに記載の方法。

【請求項 25】

請求項 1 に記載のポリペプチドを発現することができる非ヒト遺伝子導入動物。

【発明の詳細な説明】

【0001】

(発明の分野) 本発明はそのコード配列が以前は不明と考えられていた、インターフェロン - (IFN - ) 投与により上方調節されるヒト遺伝子の同定に関するものである。この遺伝子の発現生成物の検出は、IFN - 及び 1 型インターフェロン受容体に作用するその他のインターフェロンに対する反応性を予測するために使用することができる。この遺伝子によりコードされる新規の単離タンパクを治療に使用することも意図されている。 40

【0002】

(発明の背景) IFN - は多くの病気の治療に広く使用されている。IFN - を使用して治療し得る病気には、白血病、リンパ腫、及び固形腫瘍、AIDS - 随伴カポジ肉腫のような新生物 50

疾患及び慢性肝炎のようなウイルス感染が含まれる。また I F N - は、自己免疫、マイコバクテリア、神経変性、寄生虫及びウイルスなどによる疾患の治療に経口腔粘膜投与が提案されてきた。特に、I F N - は、例えば、多発性硬化症、癩、結核、脳炎、マラリア、頸癌、性器ヘルペス、B型及びC型肝炎、H I V、H P V及びH S V - 1及び2の治療に推奨されてきた。また関節炎、狼瘡及び糖尿病の治療に対しても示唆されている。新生物疾患、例えば多発性骨髄腫、有毛細胞白血病、慢性骨髄性白血病、低度リンパ腫、皮膚T - 細胞リンパ腫、類癌腫瘍、頸癌、カポジ肉腫を含む肉腫、腎腫瘍、腎細胞癌、肝細胞癌、鼻咽頭癌を含む癌腫、血液癌、結腸・直腸癌、グリオブラストーマ、喉頭乳頭腫、肺癌、結腸癌、悪性黒色腫及び脳腫瘍もまた経口腔粘膜、すなわち経口または経鼻による I F N - の投与により治療し得ることが示されている。

10

## 【0003】

I F N - は1型インターフェロンファミリーの1員であり、1型インターフェロン受容体と相互作用することによりその特異的生物学的活性を発現する。その他の1型インターフェロンとしてはI F N - , I F N - 及びI N F - がある。

## 【0004】

残念ながら、インターフェロン - のような1型インターフェロンの潜在的治療対照である患者、例えば、慢性ウイルス性肝炎、新生物疾患及び再発多発性硬化症に罹患した患者が全て1型インターフェロンの治療に良好に反応するとは限らず、反応しても長期の有用性を示すのは一部に過ぎない。医師が1型インターフェロンによる治療結果を確信を持って予測できないために、高価な生物製剤の浪費及び治療時間の喪失という点のみならず、深刻な副作用に患者を曝すという点においても、この治療の費用 効用比に関して重大な問題が生じる。さらに、I F N - の異常生産は多数の自己免疫疾患に関連することが示されている。このような理由から、1型インターフェロンは多数の遺伝子の発現を調節することによりその治療作用を発生しているため、1型インターフェロンが応答する遺伝子を同定することに非常に関心が有る。事実、患者が治療に良好に反応するか否かを決定するのは、1型インターフェロン治療に誘導される遺伝子発現の特別なパターンである。

20

## 【0005】

(発明の要約)

経口腔粘膜または静脈内投与した I F N - により上方調節されたマウス遺伝子に対応するヒト遺伝子 c D N A が今同定され、そして新規 D N A であると考えられる。またこの対応ヒト遺伝子を今 I F N - 上方調節遺伝子と命名する。

30

## 【0006】

H u I F R G 70 遺伝子は618アミノ酸のタンパクをコードしており、このタンパクを以下 H u I F R G 70 タンパクと呼ぶ。このタンパクは470アミノ酸タンパク ( A B 0 3 3 0 9 4 )、419アミノ酸タンパク ( A K 0 2 2 5 4 2 ) 及び373アミノ酸タンパク ( A K 0 0 1 7 7 0 )、全て機能未知、と相同性を示す。H u I F R G 70 タンパク及びその機能性変異体は治療薬として、特に抗ウイルス薬、抗癌剤または免疫調節剤としての使用が考慮されている。例えば、自己免疫、マイコバクテリア、神経変性、寄生虫またはウイルス性疾患、関節炎、糖尿病、狼瘡、多発性硬化症、癩、結核、脳炎、マラリア、頸癌、性器ヘルペス、B型またはC型肝炎、H I V、H P V及びH S V - 1または2、または新生物疾患、例えば多発性骨髄腫、有毛細胞白血病、慢性骨髄性白血病、低度リンパ腫、皮膚T - 細胞リンパ腫、類癌腫瘍、頸癌、カポジ肉腫を含む肉腫、腎腫瘍、腎細胞癌、肝細胞癌、鼻咽頭癌を含む癌腫、血液癌、結腸・直腸癌、グリオブラストーマ、喉頭乳頭腫、肺癌、結腸癌、悪性黒色腫及び脳腫瘍の治療に使用することができる。言い換えると、そのタンパクは1型インターフェロンで治療し得る疾患の治療に使用することができる。

40

## 【0007】

1型インターフェロンで治療された患者、例えば I F N - を、例えば経口粘膜または静脈内投与により投与された患者の細胞検体中の H u I F R G 70 タンパクまたは天然に存在するその変異体、または対応する m R N A のレベルを測定することはその治療に対す

50

る反応性を予測するのもにも使用できるであろう。さらに、それとは別に、より望ましくは、例えばヒト末梢血単核細胞の検体を1型インターフェロンでインビトロ処理し、そしてHuIFRG 70遺伝子に対応する発現生成物(望ましくはMrna)の上方調節または下方調節を調べることによりその反応性を判断できることが判明した。

【0008】

本発明の第一の態様によると、以下を含む単離ポリペプチドが提供される；

(i) SEQ ID NO: 2のアミノ酸配列；

(ii) 本質的に同じ機能、例えば、免疫調節活性及び/または抗ウイルス活性及び/または抗腫瘍活性を有するその変異体；または

(iii) 本質的に同じ機能、例えば、免疫調節活性及び/または抗ウイルス活性及び/または抗腫瘍活性を保持する(i)または(ii)のフラグメント。 10

【0009】

本発明はまた、ヒトまたはヒト以外の動物の治療処置に使用する、より特異的には抗ウイルス、抗腫瘍または免疫調節剤として使用するタンパクを供給する。上記に示したように、その使用は1型インターフェロンで治療し得るあらゆる疾患に拡張することができる。

【0010】

本発明のその他の態様により、上記に定義した本発明のポリペプチドをコードしている単離ポリヌクレオチドまたはその補体が供給される。そのポリヌクレオチドは典型的に下記からなる配列を含んでいる；

(a) SEQ ID NO: 1の核酸またはそのコード配列及び/またはその相補的配列； 20

(b) (a)に定義した配列の相補的配列に、例えば厳密な条件の下に、ハイブリッド形成する配列；

(c) (a)または(b)に定義した配列に対する遺伝子コードの結果として縮重している配列；

(d) (a), (b)または(c)に定義した配列と少なくとも60%の相同性を持つ配列。

【0011】

本発明はまた以下を供給する；

- 本発明のポリヌクレオチドを含み、本発明のポリペプチドを発現することができる発現ベクター； 30

- 本発明の発現ベクターを含む宿主細胞；

- 本発明のポリペプチドに特異的な抗体；

- HuIFRG 70タンパクまたはその機能的変異体の有効量を該患者に投与することを含む、1型インターフェロンで治療し得る疾患の患者を治療する方法；

- 抗ウイルスまたは抗腫瘍または免疫調節剤として治療に使用する、より特異的にはI型インターフェロンで治療し得る疾患の治療に使用する医薬品の製造におけるそのペプチドの使用；

- 本発明のポリペプチド及び医薬として受容し得る担体または希釈剤からなる医薬組成物； 40

- ポリペプチドを発現させそして該ポリペプチドを単離するのに適した条件下に本発明の宿主細胞を維持することからなる、本発明のポリペプチドを製造する方法；

- 例えば、発現ベクターの形で、ヒトまたは非ヒト動物の治療処置に使用する、より特異的には抗ウイルス薬抗腫瘍剤または免疫調節剤として使用するために上記のポリペプチドのインビボにおける発現を指令する本発明のポリヌクレオチド；

- そのポリヌクレオチド及び医薬として受容し得る担体または希釈剤からなる医薬組成物；

- そのポリヌクレオチドの有効量を該患者に投与することからなる、I型インターフェロンで治療し得る病気の患者の治療方法；

- 抗ウイルスまたは抗腫瘍または免疫調節剤として治療に使用する、より特異的には1 50

型インターフェロンで治療し得る病気の治療に使用する医薬品（例えばベクター製剤）の製造におけるそのポリヌクレオチドの使用；及び

- HuIFRG 70タンパクまたは天然に存在するその変異体を発現し得る細胞を供給し、該細胞を被検化合物とインキュベートし、HuIFRG 70遺伝子発現の上方調節を監視することからなる、免疫調節活性及び/または抗ウイルス活性及び/または抗腫瘍活性を有する化合物の同定方法。

【0012】

さらにその他の態様において、本発明は、1型インターフェロン（例えばIFN- $\gamma$ ）を経口腔粘膜または静脈内投与した該患者から得たかまたは該測定の前にIFN- $\gamma$ のような1型インターフェロンでインビトロ処理した患者からの細胞検体（例えば血液検体）中の、HuIFRG 70タンパクまたは天然に存在するその変異体（例えば対立変異体）、または対応するmRNAの濃度を測定することからなる、1型インターフェロンによる治療、例えばIFN- $\gamma$ 治療（例えば経口腔粘膜または非経口、例えば静脈内、皮下、または筋肉内投与によるIFN- $\gamma$ 治療）に対する患者の反応性を予測する方法を提供する。本発明はその試験を行なうためのキットにも及ぶ。

10

【0013】

（配列の簡単な説明）

SEQ ID NO: 1はヒトタンパクHuIFRG 70のアミノ酸配列及びそれをコードするcDNAである。

SEQ ID NO: 2はHuIFRG 70タンパクのアミノ酸配列のみである。

20

【0014】

（発明の詳細な説明）

上記に示したように、ヒトタンパクHuIFRG 70及びその機能的変異体は治療上有用な薬物、より特異的には抗ウイルス薬、抗腫瘍薬または免疫調節薬として使用することが今意図されている。

【0015】

この目的のヒトタンパクHuIFRG 70の変異体は天然に存在する変異体（対立変異体または種変異体）であり、これらはHuIFRG 70タンパクと本質的に同じ機能活性を有しており、またIFN- $\gamma$ の投与に反応して上方調節される。その他に、治療用のHuIFRG 70タンパクの変異体は、SEQ ID NO: 2とは異なるが、非天然突然変異体の配列を持つことがある。

30

【0016】

用語「機能的変異体」とは、HuIFRG 70タンパクと同じ本質的性質または基本的機能を有するポリペプチドのことである。HuIFRG 70タンパクの本質的性質は免疫調節ペプチドと見なすことができる。機能的変異体ポリペプチドはさらにまたはその他に抗ウイルス作用及び/または抗腫瘍作用を示すことがある。

【0017】

望ましい抗ウイルス作用は、例えば、次のように試験することができる。抗ウイルス作用は次のように監視することができる。試験する変異体をコードする配列を、ウイルスパッケージシグナル及び薬剤耐性マーカを含むモロニーネズミ白血病ウイルス(MoMuLV)に由来するレトロウイルスベクターのようなレトロウイルスベクター中にクローニングする。そして、ウイルスgag及びpol遺伝子を含む汎親和性パッケージ細胞系を、組換えレトロウイルスベクター及び高力価感染性複製が不可能なウイルスを作るために水疱性口内炎ウイルスのエンベロープグリコタンパクを含むプラスミド、pVSVGと共に遺伝子導入する(Burns et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84, 5232-5236)。感染性組換えウイルスを次いでインターフェロン感受性繊維芽細胞またはリンパ芽球細胞に遺伝子導入するために使用し、そして変異タンパクを安定して発現する細胞系を選別して、そして標準的インターフェロン生物検定(Tovey et al., Nature, 271, 622-625, 1978)においてウイルス感染抵抗性を試験する。標準的増殖検定(Mosmann, T., J. Immunol

40

50

1. Methods, 65, 55-63, 1983)を使用した増殖抑制及び標準的技術を使用したMHCクラスI及びクラスII抗原の発現を測定することもできる。

【0018】

HuIFRG 70の望ましい機能的変異体は本質的にはSEQ ID No: 2の配列から構成される。SEQ ID No: 2の機能的変異体は、SEQ ID No: 2の少なくとも20、望ましくは少なくとも30、例えば少なくとも100連続アミノ酸または全長に亘って、SEQ ID No: 2のアミノ酸配列と少なくとも60%から70%相同、望ましくは少なくとも80%または少なくとも90%そして特に望ましいのは少なくとも95%、少なくとも97%または少なくとも99%相同であるポリペプチドである。タンパク相同性の測定方法は既知技術である。

10

【0019】

アミノ酸置換は、例えば、1、2、または3から10、20または30置換を行なうことができる。保存的置換も、例えば次ぎの表に従って行なうことができる。第2欄の同じブロックにあるアミノ酸及び望ましくは第3欄の同じ行にあるアミノ酸は互いに置換することができる。

脂肪族	非極性	GAP
		ILV
	極性-非荷電	CSTM
		NQ
	極性-荷電	DE
		KR
芳香族		HFVY

20

30

【0020】

本発明による治療用変異ポリペプチド配列はより短いポリペプチド配列であり、例えば、少なくとも20アミノ酸または50, 60, 70, 80, 100, 150または200アミノ酸の長さまでのペプチドは、HuIFRG 70タンパクの適切な生物学的作用を保持している限り本発明の範囲内に入ると考えられる。特に(限定はしないが)、本発明のこの態様は変異体が完全な天然に存在するタンパク配列のフラグメントである場合を包含している。

【0021】

また抗-HuIFRG 70タンパク抗体を作製するために使用することができるHuIFRG 70タンパクの修飾型及びそのフラグメントは本発明に包含される。そのような変異体はHuIFRG 70タンパクの抗原決定基を含んでいるであろう。

40

【0022】

本発明のポリペプチドは化学的に修飾することができる(例えば、翻訳後修飾)。例えば、それらをグリコシル化することができ及び/または修飾したアミノ酸残基を含むこともできる。またN-末端及び/またはC-末端に配列を加えることによる修飾をすることもできる(例えば、精製を容易にするヒスチジン残基またはT7タグの追加または細胞膜への侵入を促進するシグナル配列の追加)。そのような修飾ポリペプチドは本発明の用語「ポリペプチド」の範囲内に入る。

【0023】

本発明のポリペプチドは表示ラベルで標識することができる。表示ラベルはポリペプチド

50

を検出できるようにする適切なラベルであれば何でも良い。適当なラベルには<sup>125</sup>I、<sup>35</sup>Sのような放射性同位元素または酵素、抗体、ポリヌクレオチド及びビオチンのようなリンカーが含まれる。本発明の標識ポリペプチドは検定に使用することができる。その検定において、固体支持体に接着したポリペプチドを用意することが望ましい。本発明はまた容器中にキットの形で収めたその標識及び/または固定化ポリペプチドにも関係している。キットは任意に他の適当な試薬、対照または説明書などを含んでいる。

**【0024】**

本発明のポリペプチドは合成的にまたは組換え法により作ることができる。本発明のそのポリペプチドは修飾により天然に存在しないアミノ酸、例えば、Dアミノ酸を含むことができる。本発明の変異ポリペプチドは修飾によりインビトロ及び/またはインビボにおける安定性を増加させることができる。ポリペプチドが合成的手段により作られる場合には、その修飾は製造中に導入される。ポリペプチドは合成または組換えによる製造の後に修飾することもできる。

10

**【0025】**

多数の側鎖修飾がタンパク修飾技術では知られており、本発明のポリペプチドにも存在する。その修飾には、例えば、アルデヒドと反応させ次いでNaBH<sub>4</sub>で還元する還元的アルキル化、メチルアセチミデートによるアミジン化または無水酢酸によるアシル化によるアミノ酸の修飾が含まれる。

**【0026】**

本発明のポリペプチドは実質的に単離された形であろう。ポリペプチドはそのポリペプチドの使用目的を妨害しない担体または希釈剤と混合することができるがそれでも実質的には単離されていると見なされることは理解されるであろう。本発明のポリペプチドは実質的に精製された形であり、その場合に一般的に標品中に本発明のポリペプチドを重量で90%以上、例えば、95%、98%または99%を含んでいる。

20

**【0027】**

ポリヌクレオチド

本発明はまたHuIFRG 70タンパクまたはその変異体をコードする単離ヌクレオチド配列並びにそれらに相補的な単離ヌクレオチド配列を含んでいる。ヌクレオチド配列はDNAまたはRNA、1本鎖または2本鎖で、ゲノムDNA、合成DNAまたはcDNAを含むことがあり得る。望ましいヌクレオチド配列はDNA配列であり、最も望ましいのはcDNA配列である。

30

**【0028】**

上記に示したように、そのポリヌクレオチドは典型的に下記の配列を含んでいる：

(a) SEQ ID No: 1の核酸またはそのコード配列及び/またはそれに相補的な配列；

(b) 例えば、厳密な条件で、(a)に規定した配列に相補的な配列にハイブリッド形成する配列；

(c) (a)または(b)に規定した配列を遺伝的にコードした結果として縮重している配列；

(d) (a)、(b)または(c)に規定した配列に少なくとも60%相同性を持つ配列

40

**【0029】**

適当なコード配列を含むポリペプチドは既知技術の方法、例えばSambrook et al. (1989) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2<sup>nd</sup> edition, Cold Spring Harbor Laboratory Pressに記載されている方法に従ってヒト細胞から単離するかまたは合成することができる。

**【0030】**

本発明のポリヌクレオチドはその中に合成または修飾ヌクレオチドを含むことができる。多くの種々の形のポリヌクレオチドの修飾は既知技術である。これにはメチルホスフォネ

50

ート及びホスフォチオエート骨格、分子の3'及び/または5'末端へのアクリジンまたはポリリジン鎖の付加が含まれる。そのような修飾は本発明のポリヌクレオチドのインビボ活性の増強または寿命の延長のために行われることがある。

#### 【0031】

本発明のポリヌクレオチドは典型的に、SEQ ID No: 1のコード配列またはその相補体を選択的な条件下にハイブリッド形成することができるヌクレオチドの連続配列であることが望ましいヌクレオチド配列を含むであろう。そのハイブリッド形成はバックグランドより有意に高いレベルで生じるであろう。バックグランドハイブリッド形成は、例えば、cDNAライブラリー中に存在する他のcDNAのために生じ得る。本発明のポリヌクレオチドとSEQ ID No: 1のコード配列またはその相補体の間の相互作用により発生するシグナルレベルは典型的に、他のポリヌクレオチドとSEQ ID No: 1のコード配列の間の相互作用の強度の少なくとも10倍、望ましくは少なくとも100倍であろう。その相互作用の強度は、例えば、プローブを、例えば、<sup>32</sup>Pで放射性同位元素標識することにより測定することができる。選択的なハイブリッド形成は典型的に、低ストリンジェンシー(0.3M塩化ナトリウム及び0.03Mクエン酸ナトリウム、40)、中間ストリンジェンシー(例えば、0.3M塩化ナトリウム及び0.03Mクエン酸ナトリウム、50)または高ストリンジェンシー(例えば、0.03M塩化ナトリウム及び0.03Mクエン酸ナトリウム、60)で行なうことができる。

10

#### 【0032】

SEQ ID No: 1のコード配列はヌクレオチド置換、例えば1、2または3から10、25、50または100置換により修飾することができる。縮重置換が行われることもありそして/または修飾された配列が翻訳される場合(例えば上記表に示したように)、保存的アミノ酸置換を生じる置換が行われることもある。SEQ ID No: 1のコード配列はその他にまたはさらに複数の挿入及び/または欠失及び/または1端または両端への延長による修飾をすることもできる。

20

#### 【0033】

SEQ ID No: 1のコード配列から選択したDNA配列に選択的にハイブリッド形成できる本発明のポリヌクレオチド、そのコード配列及びそれらに相補的なDNA配列は一般的に標的配列に対して少なくとも70%、望ましくは少なくとも80または90%そしてより望ましくは少なくとも95%または97%相同である。この相同性は典型的に少なくとも20、望ましくは少なくとも30、例えば少なくとも40、60または100またはそれ以上の連続ヌクレオチドに亘っている。

30

#### 【0034】

上記の相同性の程度及び最小サイズのいずれの組合せも本発明のポリヌクレオチドを規定するために使用することができる、より厳密な組合せ(すなわち、より長い長さに亘るより高い相同性)が望ましい。例えば25、望ましくは30ヌクレオチドに亘って少なくとも80%相同であるポリヌクレオチドは、40ヌクレオチドに亘って少なくとも90%相同であるポリヌクレオチドと同様に適当であることが判明するであろう。

#### 【0035】

ここに記述したようなポリヌクレオチドまたはタンパク配列の同族体は既知の相同性計算方法に従って測定することができる。例えば、タンパク相同性はアミノ酸同一性(時には「ハードホモロジー」と言われることもある)に基づいて計算することができる。例えばUWGCパッケージは、例えばデフォルトセッティングで使用される相同性計算のために使用することができるBESTFITプログラムを提供する(Devereux et al. (1984) *Nucleic Acids Research* 12, 387-395)。例えばAltschul S. F. (1993) *J. Mol. Evol.* 36, 290-300; Altschul, S. F. et al. (1990) *J. Mol. Biol.* 215, 403-10に記述されているように、PILEUP及びBLASTアルゴリズムを典型的にはデフォルトセッティングで相同性を計算したり、配列を整列したり、または同一または対応配列を同定したりするために使用することができる。

40

50

## 【0036】

BLAST分析を実行するためのプログラムはNational Center for Biotechnology Information (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)を經由して誰でも入手できる。このアルゴリズムは最初、データベースの配列中の同じ長さの文字列と整列した時にマッチするかまたはある正の閾値スコアTを満足する問題の配列中の短い長さWの文字列を同定することにより高スコア配列対(HSP)を同定することが必要である。Tを近隣文字列スコア閾値という(Altschulet al., 上記)。このような最初の近隣文字列発見がそれを含むHSPを発見するための調査を開始する種として作用する。この文字列発見は各配列に沿って両方向に、累積整列スコアが増加する限り、拡張される。各方向における文字列発見の拡張は次の場合に中止される：累積整列スコアが最大に達した値から数値X低下する；1以上の負スコア残基の整列の累積のために累積スコアが零かそれ以下になる；または配列の端に達する。BLASTアルゴリズムパラメータW, T及びXは整列の感度及び速度を決定する。BLASTプログラムはデフォルトとして文字列長(W)を11、BLOSUM62スコアリングマトリックス(Henikoff and Henikoff (1992) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89, 10915-10919を参照)整列(B)を50、期待値(E)を10、M=5、N=4及び両鎖の比較を使用する。

10

## 【0037】

BLASTアルゴリズムは二つの配列間の類似性について統計解析を行なう：例えば、Karlin and Altschul (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 5873-5787を参照。BLASTアルゴリズムにより提供される類似性の一つの尺度は最小合計確率(P(N))であり、これは二つのヌクレオチドまたはアミノ酸配列間の一致が偶然に生じる確率の指標を提供する。例えば、もし第一の配列を第二の配列と比較した際の最小合計確率が約1未満、望ましくは約0.1未満、より望ましくは約0.01未満、そして最も望ましいのは0.001未満であるならば、その配列はもう一つの配列と類似していると考えられる。

20

## 【0038】

本発明によるポリヌクレオチドは、インビトロ、インビボまたはエクスビボにおいて行われる本発明によるタンパクの生成に有用である。そのポリヌクレオチド中において、本発明の求めるタンパクのためのコード配列は、選ばれた宿主細胞中において求めるタンパクの発現を指令することができるプロモーター配列に作動的に結合しているであろう。そのようなポリヌクレオチドは一般的に発現ベクターの形になっているであろう。本発明のポリヌクレオチドは、例えば、免疫調節作用及び/または抗ウイルス作用及び/または抗腫瘍作用を有する本発明のポリペプチドのインビボ発現を指令する発現ベクターの形で、治療用薬剤として使用することができる。

30

## 【0039】

その目的の発現ベクターは組換えDNA技術の通常の作業により構築することができる。それらは、例えば、プラスミドDNAの使用を必要とする。それらには複製の起点が準備されている。そのベクターは1以上の選別を容易にするマーカー遺伝子、例えば細菌プラスミドの場合にはアンピシリン耐性遺伝子を含むことができる。本発明のベクターのその他の特徴は適当なイニシエーター、エンハンサー及びその他の要素、例えばタンパク発現のために望ましくそして正しい方向に位置しているポリアデニル化シグナルを含んでいる。その他の適当な非プラスミドベクターは当業者には明白であろう。これに関するその他の例は再度 Sambrook et al., 1989 (上記)を参照。そのベクターはさらに、例えば、ウイルスベクターを含む。適当なウイルスベクターの例としては、単純疱疹ウイルスベクター、レンチウイルス、アデノウイルス、アデノ随伴ウイルス、HPVウイルス(HPV-16及びHPV-18のような)を含む複製不能レトロウイルス、及び弱毒インフルエンザウイルスがある。

40

## 【0040】

50

プロモーター及びその他の発現調節シグナルは発現が計画されている宿主細胞に適合するように選択することができる。例えば、イーストプロモーターには *S. cerevisiae* GAL4 及び ADH プロモーター、*S. pombe* nmt1 及び adh プロモーターがある。哺乳動物プロモーターにはカドミウムのような重金属に反応して誘導することができるメタロチオネインプロモーター及び - アクチンプロモーターがある。SV40 ラージ T 抗原プロモーターまたはアデノウイルスプロモーターのようなウイルスプロモーターも使用することができる。使用し得るウイルスプロモーターのその他の例としてはモロニーネズミ白血病ウイルスの長い末端反復配列 (MMLV LTR)、ラウス肉腫ウイルス (RSV) LTR プロモーター、ヒトサイトメガロウイルス (CMV) IE プロモーター、及び HPV プロモーター、特に HPV 上流調節領域 (URR) がある。その他の適当なプロモーターは組換え DNA 技術において同業者にはよく知られているであろう。

【0041】

本発明の発現ベクターはさらに本発明の求めるポリペプチドに対するコード配列に隣接し真核ゲノム配列 (望ましくは哺乳動物ゲノム配列またはウイルスゲノム配列) に相同な配列、を提供する配列を含むことができる。これにより本発明のそのポリヌクレオチドを真核細胞またはウイルスのゲノム中へ相同組換えにより導入することができる。特に、ウイルス配列に隣接した発現カセットを含むプラスミドベクターは本発明のポリヌクレオチドを哺乳動物細胞に導入するのに適したウイルスベクターを調製するために使用することができる。

【0042】

本発明は、HuIFRG 70 タンパクまたはその変異体を発現するように修飾されたインビトロの細胞、例えば原核細胞または真核細胞も含んでいる。その細胞は、例えば、HuIFRG 70 タンパクまたはその変異体をコードしたポリヌクレオチドを宿主ゲノム中に取込んで安定した真核細胞系を含んでいる。本発明の宿主細胞は哺乳動物細胞または昆虫細胞、イーストのような下等真核細胞または細菌細胞のような原核細胞であり得る。本発明のポリペプチドをコードするベクターの挿入により修飾することができる細胞の個別例としては哺乳動物 HEK293T, CHO, HeLa 及び COS 細胞がある。望ましくは細胞系は安定であるだけでなく、ポリペプチドの十分なグリコシル化もできるものが選択される。発現は、例えば、形質転換卵母細胞において行なうことができる。

【0043】

本発明のポリペプチドは遺伝子導入非ヒト動物、望ましくはマウスの細胞においても発現することができる。本発明のポリペプチドを発現することができる遺伝子導入非ヒト動物は本発明の範囲内に含まれる。

【0044】

本発明によるポリヌクレオチドは、アンチセンス配列の生産に提供するためにアンチセンスの方向に上記のようにベクター中に挿入することもできる。アンチセンス RNA またはその他のアンチセンスポリヌクレオチドは合成的方法によっても生産できる。

【0045】

例えば、発現ベクターの形で、SEQ ID NO: 2 または天然に存在するその変異体により定義されるアミノ酸配列のコード配列に対するアンチセンス配列をインビボで発現することができ、ヒトまたは非ヒト動物の治療に使用するためのポリヌクレオチドも本発明の追加の態様を構成すると考えられる。そのポリヌクレオチドは HuIFRG 70 タンパクの上方調節が原因の疾患の治療に使用できるであろう。

【0046】

本発明のポリヌクレオチドは、本発明のポリペプチドに対する cDNA 内の配列を標的とする核酸増幅用のプライマーの組合せ、例えば、PCR 増幅用のプライマー対に拡張する。本発明はまた、明示標識、例えば、放射性標識または酵素またはビオチンのような非放射性標識で標識することができる本発明のポリペプチドに対する cDNA または RNA 内の配列を標的とするに適したプローブを提供する。そのプローブは固相に接着することができる。その固相は、その他の核酸、例えば、他の 1 型インターフェロン上方調節遺伝子

、例えば、IFN- の経口腔粘膜または静脈内投与に反応して上方調節されることが同定されているような遺伝子に対応するmRNAまたはその増幅生産物に対するプローブを含むマイクロアレイ（一般的には核酸に関しては、プローブまたはDNAチップとも呼ばれている）であり得る。そのようなマイクロアレイの構築方法はよく知られている（例えば、EP-B 0476014 and 0619321 of Affymax Technologies N.V. and Nature Genetics Supplement January 1999 entitled "The Chipping Forecast" を参照）。

【0047】

そのプライマーまたはプローブの核酸配列は望ましくは少なくとも10、望ましくは少なくとも15または少なくとも20、例えば少なくとも25、少なくとも30または少なくとも40のヌクレオチドの長さであろう。しかし、40、50、60、70、100または150ヌクレオチドの長さまたはそれ以上長くてもよい。

【0048】

本発明のその他の態様は、HuIFRG 70 遺伝子における突然変異、例えば一塩基多形（SNP）の同定に本発明のプローブまたはプライマーを使用することである。

【0049】

上記に示したように、その他の態様において本発明は、HuIFRG 70 タンパクまたは天然に存在するその変異体を発現することができる細胞を準備し、被検化合物と共に該細胞を培養し、HuIFRG 70 遺伝子発現の上方調節を監視することからなる、免疫調節作用及び/または抗ウイルス作用及び/または抗腫瘍作用を有する化合物を同定する方法を提供する。その監視はHuIFRG 70 タンパクまたは天然に存在するその変異体をコードするmRNAに対するプローブにより行われる。その他にはHuIFRG 70 及び天然に存在するその変異体の1つ以上と特異的に結合することができる抗体または抗体フラグメントを使用することができる。

【0050】

抗体

その他の態様によると、本発明はまた、通常の技術により得られ、そして本発明のポリペプチドに対して特異的である抗体（例えばポリクローナルまたは望ましくはモノクローナル抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体及び抗原結合能力を保持するそのフラグメント）にも関係している。その抗体は、例えば、精製、単離または免疫沈降を含むスクリーニング法に使用することができ、またHuIFRG 70 タンパクまたはその変異体の機能を更に解明するための道具として使用できる。それら自身が治療薬になり得る資格を有している。その抗体は本発明によるタンパクの抗原決定基に対して作ることができる。抗体は、それが特異的であるタンパクとは高親和性でそのタンパクに結合するが他のタンパクには結合しないかまたは低親和性で結合する場合に、特異的にタンパクに結合する。抗体の特異的結合能力を測定するための競合結合または免疫放射検定のための種々のプロトコールはよく知られている。

【0051】

医薬組成物

本発明のポリペプチドは典型的に医薬として受容し得る担体または希釈剤と共に投与するために製剤化される。医薬用担体または希釈剤は、例えば、等張溶液であり得る。例えば、固体の経口用形態は活性化合物と共に、下記を含むことができる。希釈剤、例えば、ラクトース、デキストロース、サッカロース、セルロース、コーンスターチ、またはジャガイモデンプン；潤滑剤、例えば、シリカ、タルク、ステアリン酸、ステアリン酸マグネシウムまたはカルシウム、及び/またはポリエチレングリコール；結合剤、例えば、デンプン類、アラビアゴム、ゼラチン、メチルセルロース、カルボキシメチルセルロースまたはポリビニールピロリドン；分離防止剤、例えば、デンプン、アルギン酸、アルギン酸塩またはデンプングリコール酸ナトリウム；発泡混合物；色素；甘味剤；レシチン、ポリソルベート、ラウリル硫酸のような湿潤剤；及び、一般的には、医薬製剤に使用される毒性の

10

20

30

40

50

ない薬理的に不活性の物質。そのような医薬製剤は既知方法、例えば、混合、顆粒化、錠剤化、糖 - コーティング、またはフィルムコーティングの操作により製造することができる。

【0052】

経口投与用の液体分散体はシロップ、乳剤及び懸濁剤のことがある。シロップは担体として、例えば、サッカロースまたはサッカロースとグリセリン及び/またはマンニトール及び/またはソルビトールを含むこともある。

【0053】

懸濁剤及び乳剤は担体として、例えば天然ゴム、寒天、アルギン酸ナトリウム、ペクチン、メチルセルロース、カルボキシメチルセルロース、またはポリビニルアルコールを含むことがある。筋肉内注射用の懸濁剤または溶液は、活性化化合物と共に、医薬品として受容し得る担体、例えば、滅菌水、オリーブ油、オレイン酸エチル、グリコール類、例えば、プロピレングリコール、及びもし必要であれば、適当な量の塩酸リドカインを含むことができる。

10

【0054】

静脈内投与または点滴用の溶液は担体として、例えば、滅菌水を含むか、または望ましくは滅菌等張食塩水溶液の形態になっている。

【0055】

本発明に従って使用するための H u I F R G 70 タンパクまたはその機能的同族体の適切な用量は、種々のパラメータ、特に使用される物質；年齢、体重及び治療する患者の状態；投与経路；及び必要な治療法によって決定することができる。さらに、医師は個別の患者に必要な投与経路及び投与量を定めることができるであろう。典型的な1日用量は、特異的阻害剤の活性、年齢、体重及び治療する患者の状態、及び投与の回数及び経路により、約 0.1 から 50 mg / kg、望ましくは 0.1 mg / kg から 10 mg / kg 体重であり得る。望ましくは、1日用量レベルは 5 mg から 2 g であろう。

20

【0056】

治療に適した本発明のポリヌクレオチドはまた典型的に医薬として受容し得る担体または希釈剤と共に投与するために製剤化されるであろう。そのようなポリヌクレオチドは、求めるポリペプチドの発現をインピボで達成することができる既知の技術のいずれかにより投与することができる。例えば、ポリヌクレオチドは、望ましくは皮内、皮下または筋肉内注射により導入することができる。その他には、核酸は粒子介在投与器を使用して皮膚を通して直接投与することができる。治療用核酸に適した本発明のポリヌクレオチドはその他に、例えば鼻腔内または口腔内投与より口腔粘膜表面に投与することもできる。

30

【0057】

治療に適した本発明の非ウイルスベクターは、例えば、リポソーム中にまたは界面活性剤含有ベクター供給粒子に詰め込むこともできる。本発明の核酸構築の取り込みは、例えば導入試薬の使用を含む既知の導入技術により促進される。これらの試薬の例としては、カチオン性試薬、例えばリン酸カルシウム及び D E A E デキストラン及びリポフェクタン、例えばリポフェクタム及びトランスフェクタムがある。投与すべき核酸の投与量は変動し得る。典型的に、核酸は粒子介在遺伝子投与では 1 pg から 1 mg、望ましくは 1 pg から 10 μg、そしてその他の経路では 10 μg から 1 mg の範囲で投与されるであろう。

40

【0058】

1型インターフェロン反応性の予測

上記に示したように、その他の態様において本発明は、1型インターフェロンの投与後該患者から採取したかまたは該測定前に1型インターフェロンでインピボ処理された該患者の細胞検体中の H u I F R G 70 タンパクまたは天然に存在するその変異体、または対応する m R N A のレベルを測定することからなる、1型インターフェロンによる治療、例えば、経口腔粘膜または静脈内による I F N - 治療のような I F N - 治療に対する患者の反応性を予測する方法を提供する。

50

## 【0059】

望ましくは、反応性試験に使用する1型インターフェロンは治療のために選択された1型インターフェロンであろう。それは推奨投与経路及び推奨治療用量で投与することができる。望ましくは、その後の分析検体は、例えば、血液検体または血液検体から単離された末梢血単核細胞(PBMC)の検体であろう。

## 【0060】

より便利で望ましいのは、患者から採取し、血液から単離したPBMCを含む検体を1型インターフェロンで、例えば、約1から10,000 IU/mlの用量範囲において、インビトロで処理することであろう。その処理は数時間、例えば、約7から8時間である。そのインビトロ試験の望ましい処理条件は正常提供者から採取したPBMCを同じ1型インターフェロンで試験しそして適当な発現生成物の上方調節を調べることにより決定することができる。繰り返しになるが、使用する1型インターフェロンは患者の治療に提案されている1型インターフェロン、例えば、組換えIFN- $\gamma$ であることが望ましい。その試験に使用するPBMCはFicoll-Hypaque密度勾配を使用して血液検体から通常の方法で単離することができる。1型インターフェロン反応性のそのようなインビトロ試験に適したプロトコルの例は下記例3に示されている。

10

## 【0061】

1型インターフェロンでのインビトロ処理後もし適するならば、検体をHuIFRG 70タンパクまたは天然に存在するその変異体のレベルについて分析する。これはHuIFRG 70タンパクまたは天然に存在するその変異体、例えば、その対立変異体の1以上と特異的に結合することができる抗体を使用して行われる。しかし、HuIFRG 70タンパクまたは天然に存在するその変異体をコードするmRNAについて検体を分析することも望ましいであろう。そのmRNA分析にはmRNAを検出する既知技術のいずれか、例えば、ノーザンブロット検出またはmRNAディフェレンシャルディスプレイを使用することができる。種々の既知核酸増幅プロトコルを、検出に先立って、検体中に存在する関心のmRNA、またはその部分の増幅に使用することができる。関心のmRNA、または対応する増幅核酸は固相に接着した核酸プローブを使用して調べることができる。その固相支持体は上記に既に記述したような、1型インターフェロン上方調節遺伝子、例えば、IFN- $\gamma$ の経口腔粘膜または静脈内投与に反応して上方調節することが同定されている遺伝子に対応するその他のmRNAまたはその増幅生成物のレベルを測定するためのプローブを有するマイクロアレイであり得る。

20

30

## 【0062】

以下の例により本発明を説明する：

例

## 【0063】

例1

以前の実験において正常成獣マウスの各鼻腔へ5 $\mu$ lのクリスタルバイオレットをP20エッペンドルフマイクロピペットを使用して適用したところ、直ちに口腔喉頭腔の全表面へ色素が分布することが認められた。口腔咽頭腔の染色は色素適用後30約分でも明らかであった。この結果は<sup>125</sup>I-標識組換えヒトIFN- $\gamma$  1-8を使用して同様に適用することにより確認された。同じ投与方法は下記試験における口腔粘膜投与を行なうために使用された。

40

## 【0064】

6週齢雄DBA/2マウスをLife Technologies Incから購入した組換えネズミインターフェロン(IFN) 100,000 IUの入ったリン酸緩衝食塩液(PBS)で、またはProtein Institute Incから購入した組換えヒトインターロイキン15(IL-15)の10 $\mu$ g、ウシ血清アルブミン(BSA)の100 $\mu$ g/mlを含むPBSのいずれかで処置するか、または無処置とした。8時間後マウスを頸椎脱臼により屠殺し、口腔咽頭腔からリンパ組織を外科的に採取し、液体窒素で急速凍結し、-80 $^{\circ}$ Cで保存した。RNAをChomczynski and S

50

acchi 1987 (Anal. Biochem. 162, 156 - 159) の方法によりリンパ組織から抽出し、mRNAディフェレンシャルディスプレイ分析 (Lang, P. and Pardee, A. B., Science, 257, 967 - 971) を行なった。

#### 【0065】

ディフェレンシャルディスプレイ分析

ディフェレンシャルディスプレイ分析は GenHunter Corporation の “Message Clean” 及び “RNA image” キットを本質的にメーカーの説明に従って使用して行なった。簡単に言うと、RNA は RNA 分解酵素を含まない DNA 分解酵素で処理し、そして 1 µg を 100 µl の反応バッファー中で、3 種の 1 塩基固定オリゴ - (dT) プライマー A, C, または G の 1 つまたはその他を使用して、逆転写した。RNA はまた 9 種の 2 塩基固定オリゴ - (dT) プライマー AA, CC, GG, AC, CA, GA, AG, CG, GC の 1 つまたはその他を使用して逆転写した。比較すべき全検体を同一実験において逆転写し、分割して凍結した。増幅はわずか 1 µl の逆転写検体と Taq DNA ポリメラーゼ及び  $^{32}P$  dATP (3,000 Ci/mmole) を含む 10 µl の増幅混合液中において実施した。80 種の 5' 末端 (HAP) ランダム配列プライマーを (HT11) A, C, G, AA, CC, GG, AC, CA, GA, AG, CG または GC プライマーのそれぞれと組合わせて使用した。次いで検体を 7% 変性ポリアクリルアミドゲルに展開し、オートラジオグラフィーを行なった。ディフェレンシャル発現と推定されるバンドを切り出し、メーカー説明に従って再増幅を行ない、そして IFN を投与した口腔咽頭腔、IL-15 処理及び賦形剤処理動物から抽出した RNA のノーザンブロットをハイブリッド形成するためのプローブとして使用した。

10

20

#### 【0066】

クローニング及び配列分析

再度増幅したディフェレンシャルディスプレイスクリーニングのバンドを pPCR-Script SK (+) プラスミド (Stratagene) の Sfr 1 部位にクローン化し、cDNA 末端の迅速増幅により増幅した cDNA を pCR3 プラスミド (Invitrogen) 中の TA クローニングにより単離した。DNA は自動ジデオキシシーケンサー (Perkin Elmer ABI PRISM 377) を使用して配列を分析した。

30

#### 【0067】

ヒト cDNA の単離

ディフェレンシャルディスプレイスクリーニングにより同定されたディフェレンシャル発現したネズミ 3' 配列を、United States National Center for Biotechnology Information (NCBI) の GenBank<sup>TM</sup> の dbEST データベース中に存在するランダムヒト発現配列タグ (EST) と比較した。ディフェレンシャルディスプレイスクリーニングから単離したネズミ EST に関係しそうな配列をコンティグと組合せ、理論的 cDNA に対応するヒト共通配列を構築するために使用した。その cDNA の一つは 4135 ヌクレオチドの長さであることが判明した。これは、組み換えネズミ IFN- を経口腔粘膜投与したマウスの口腔内リンパ組織中にその発現が約 5 倍増強されることが判明しているマウスの遺伝子に相当するものであった。

40

#### 【0068】

この理論的 cDNA が真正のヒト遺伝子に対応することを確認するために、共通配列の 5' 及び 3' 末端から誘導したプライマーを使用してヒト末梢血白血球 (PBL) から抽出した mRNA から特異的逆転写及び PCR 増幅により cDNA を合成した。予想したサイズの単一 cDNA フラグメントが得られ、クローニングしそして配列分析した (SEQ ID No: 1)。このヒト cDNA は 618 アミノ酸 (SEQ ID No: 2) のタンパクをコードする 1857 bp 長のオープンリードフレーム (ORF) を 36 - 1892 の位置に含んでいる。

50

## 【0069】

## 例 2

IFN- の静脈内投与

雄DBA/2マウスにLife Technologies Inc. から購入した組換えネズミIFN- の100,000 IUを200 $\mu$ lのPBSに溶解して静脈内投与するか、または同量のPBSのみを投与した。8時間後、動物を頸椎脱臼により殺処理し、脾臓を常法により採取した。総RNAをChomczynski and Sacchi (Anal. Biochem. (1987) 162, 156-159)の方法により抽出し、検体当たり総RNAの10.0 $\mu$ gをグリオキサールの存在下にノーザンブロット処理し、Dandoy - Dron et al. (J. Biol. Chem. (1998) 273, 7691-7697)により記述されているようにHuIFRG 70 mRNAに対するcDNAプローブでハイブリッド形成した。ブロットは最初オートラジオグラフィを行ない、次いでメーカー説明書に従いPhosphorImagerを使用して定量化した。賦形剤のみで処置した動物と比較してHuIFRG 70タンパクに対するmRNAレベルの増加(約10倍)がIFN- 処置動物の脾臓から抽出したRNA検体に検出された。

10

## 【0070】

## 例 3

インビトロにおける1型インターフェロン反応性の検査

正常提供者のヒト末梢血単核細胞(PBMC)をFicoll-Hypaque密度勾配により単離し、PBSに溶解した10,000IUの組換えヒトIFN- 2(シェリング-ブラウのイントロンA)あるいは同容量のPBSのみでインビトロ処理した。8時間後遠心分離(800 $\times$ g 10分間)し、細胞ペレットを得た。総RNAをChomczynski and Sacchiの方法により細胞ペレットから抽出し、そして検体当たり総RNAの10.0 $\mu$ gをグリオキサールの存在下にノーザンブロット処理し、上記例2に既に記述したようにHuIFRG 70 mRNAに対するcDNAプローブでハイブリッド形成した。PBSのみで処置した検体と比較してHuIFRG 70タンパクに対するmRNAレベルの増加(約2倍)がIFN- 処置PBMCから抽出したRNA検体に検出された。

20

## 【0071】

同じ方法を1型インターフェロンによる治療を勧めている患者から得たPBMCを使用し、1型インターフェロン反応性を予測するために使用することができる。

30

## 【国際公開パンフレット】

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization  
International Bureau(43) International Publication Date  
20 June 2002 (20.06.2002)

PCT

(10) International Publication Number  
WO 02/48182 A2

- (51) International Patent Classification: C07K 14/00 (81) Designated States (national): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, 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.
- (21) International Application Number: PCT/GB01/05496
- (22) International Filing Date:  
11 December 2001 (11.12.2001)
- (25) Filing Language: English
- (26) Publication Language: English
- (30) Priority Data:  
0050184.6 11 December 2000 (11.12.2000) GB
- (71) Applicant (for all designated States except US):  
PHARMA PACIFIC PTY. LTD [AU/AU]; 103-105  
Pipe Road, Laverton North, VIC 3026 (AU).
- (72) Inventors; and  
(75) Inventors/Applicants (for US only): MERITET,  
Jean-Francois [FR/FR]; 62, rue de Picpus, F-75012 Paris  
(FR); DRON, Michel [FR/FR]; 22, avenue des Cottages,  
F-92340 Boulogne la Reine (FR); TOVEY, Michael, Gerard  
[GB/FR]; 7, rue Lagrange, F-75005 Paris (FR).
- (74) Agent: IRVINE, Jonquil, Claire; J.A. Kemp & Co., 14  
South Square, Gray's Inn, London WC1R 5JJ (GB).
- (84) Designated States (regional): ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI patent (BE, BI, CE, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- Published:**  
— without international search report and to be republished upon receipt of that report
- For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.*



WO 02/48182 A2

(54) Title: INTERFERON-ALPHA INDUCED GENE

(57) Abstract: The present invention relates to identification of a gene upregulated by interferon- $\alpha$  administration corresponding to the cDNA sequence set forth in SEQ.ID. No. 1. Determination of expression products of this gene is proposed as having utility in predicting responsiveness to treatment with interferon- $\alpha$  and other interferons which act at the Type 1 interferon receptor. Therapeutic use of the protein encoded by the same gene is also envisaged.

**INTERFERON-ALPHA INDUCED GENE****Field of the Invention**

The present invention relates to identification of a human gene upregulated by interferon- $\alpha$  (IFN- $\alpha$ ) administration, the coding sequence of which is believed to be previously unknown. Detection of expression products of this gene may find use in predicting responsiveness to IFN- $\alpha$  and other interferons which act at the Type 1 interferon receptor. Therapeutic use of the isolated novel protein encoded by the same gene is also envisaged.

**Background of the Invention**

IFN- $\alpha$  is widely used for the treatment of a number of disorders. Disorders which may be treated using IFN- $\alpha$  include neoplastic diseases such as leukemia, lymphomas, and solid tumours, AIDS-related Kaposi's sarcoma and viral infections such as chronic hepatitis. IFN- $\alpha$  has also been proposed for administration via the oromucosal route for the treatment of autoimmune, mycobacterial, neurodegenerative, parasitic and viral disease. In particular, IFN- $\alpha$  has been proposed, for example, for the treatment of multiple sclerosis, leprosy, tuberculosis, encephalitis, malaria, cervical cancer, genital herpes, hepatitis B and C, HIV, HPV and HSV-1 and 2. It has also been suggested for the treatment of arthritis, lupus and diabetes. Neoplastic diseases such as multiple myeloma, hairy cell leukemia, chronic myelogenous leukemia, low grade lymphoma, cutaneous T-cell lymphoma, carcinoid tumours, cervical cancer, sarcomas including Kaposi's sarcoma, kidney tumours, carcinomas including renal cell carcinoma, hepatic cellular carcinoma, nasopharyngeal carcinoma, haematological malignancies, colorectal cancer, glioblastoma, laryngeal papillomas, lung cancer, colon cancer, malignant melanoma and brain tumours are also suggested as being treatable by administration of IFN- $\alpha$  via the oromucosal route, i.e. the oral route or the nasal route.

WO 02/48182

PCT/GB01/05496

2

IFN- $\alpha$  is a member of the Type 1 interferon family, which exert their characteristic biological activities through interaction with the Type 1 interferon receptor. Other Type 1 interferons include IFN- $\beta$ , IFN- $\omega$  and IFN- $\tau$ .

Unfortunately, not all potential patients for treatment with a Type 1 interferon such as interferon- $\alpha$ , particularly, for example, patients suffering from chronic viral hepatitis, neoplastic disease and relapsing remitting multiple sclerosis, respond favourably to Type 1 interferon therapy and only a fraction of those who do respond exhibit long-term benefit. The inability of the physician to confidently predict the therapeutic outcome of Type 1 interferon treatment raises serious concerns as to the cost-benefit ratio of such treatment, not only in terms of wastage of an expensive biopharmaceutical and lost time in therapy, but also in terms of the serious side effects to which the patient is exposed. Furthermore, abnormal production of IFN- $\alpha$  has been shown to be associated with a number of autoimmune diseases. For these reasons, there is much interest in identifying Type 1 interferon responsive genes since Type 1 interferons exert their therapeutic action by modulating the expression of a number of genes. Indeed, it is the specific pattern of gene expression induced by Type 1 interferon treatment that determines whether a patient will respond favourably or not to the treatment.

#### **Summary of the Invention**

A human gene cDNA has now been identified as corresponding to a mouse gene upregulated by administration of IFN- $\alpha$  by an oromucosal route or intravenously and is believed to represent a novel DNA. The corresponding human gene is thus now also designated an IFN- $\alpha$  upregulated gene.

The HuIFRG 70 gene encodes a protein of 618 amino acids and is referred to below as HuIFRG 70 protein. This protein shows homology to a 470 amino acid protein (AB033094), a 419 amino acid protein (AK022542) and a 373 amino acid protein (AK001770) all of unknown function. HuIFRG 70 protein, and functional variants thereof, are now envisaged as therapeutic agents, in particular for use as an anti-viral,

WO 02/48182

PCT/GB01/05496

3

anti-tumour or immunomodulatory agent. For example, they may be used in the treatment of autoimmune, mycobacterial, neurodegenerative, parasitic or viral disease, arthritis, diabetes, lupus, multiple sclerosis, leprosy, tuberculosis, encephalitis, malaria, cervical cancer, genital herpes, hepatitis B or C, HIV, HPV, HSV-1 or 2, or neoplastic disease such as multiple myeloma, hairy cell leukemia, chronic myelogenous leukemia, low grade lymphoma, cutaneous T-cell lymphoma, carcinoid tumours, cervical cancer, sarcomas including Kaposi's sarcoma, kidney tumours, carcinomas including renal cell carcinoma, hepatic cellular carcinoma, nasopharyngeal carcinoma, haematological malignancies, colorectal cancer, glioblastoma, laryngeal papillomas, lung cancer, colon cancer, malignant melanoma or brain tumours. In other words, such a protein may find use in treating any Type 1 interferon treatable disease.

Determination of the level of HuIFRG 70 protein or a naturally-occurring variant thereof, or the corresponding mRNA, in cell samples of Type 1 interferon-treated patients, e.g. patients treated with IFN- $\alpha$ , e.g. such as by the oromucosal route or intravenously, may also be used to predict responsiveness to such treatment. It has additionally been found that alternatively, and more preferably, such responsiveness may be judged, for example, by treating a sample of human peripheral blood mononuclear cells *in vitro* with a Type 1 interferon and looking for upregulation or downregulation of an expression product, preferably mRNA, corresponding to the HuIFRG 70 gene.

According to a first aspect of the invention, there is thus provided an isolated polypeptide comprising;

- (i) the amino acid sequence of SEQ ID NO: 2;
- (ii) a variant thereof having substantially similar function, e.g. an immunomodulatory activity and/or an anti-viral activity and/or an anti-tumour activity; or
- (iii) a fragment of (i) or (ii) which retains substantially similar function, e.g. an immunomodulatory activity and/or an anti-viral activity and/or an anti-tumour activity.

WO 02/48182

PCT/GB01/05496

4

The invention also provides such a protein for use in therapeutic treatment of a human or non-human animal, more particularly for use as an anti-viral, anti-tumour or immunomodulatory agent. As indicated above, such use may extend to any Type 1 interferon treatable disease.

According to another aspect of the invention, there is provided an isolated polynucleotide encoding a polypeptide of the invention as defined above or a complement thereof. Such a polynucleotide will typically include a sequence comprising:

- (a) the nucleic acid of SEQ. ID. No. 1 or the coding sequence thereof and/or a sequence complementary thereto;
- (b) a sequence which hybridises, e.g. under stringent conditions, to a sequence complementary to a sequence as defined in (a);
- (c) a sequence which is degenerate as a result of the genetic code to a sequence as defined in (a) or (b);
- (d) a sequence having at least 60% identity to a sequence as defined in (a), (b) or (c).

The invention also provides;

- an expression vector which comprises a polynucleotide of the invention and which is capable of expressing a polypeptide of the invention;
- a host cell containing an expression vector of the invention;
- an antibody specific for a polypeptide of the invention;
- a method of treating a subject having a Type 1 interferon treatable disease, which method comprises administering to the said patient an effective amount of HuIFRG 70 protein or a functional variant thereof
- use of such a polypeptide in the manufacture of a medicament for use in therapy as an anti-viral or anti-tumour or immunomodulatory agent, more particularly for use in treatment of a Type 1 interferon treatable disease;
- a pharmaceutical composition comprising a polypeptide of the invention and a pharmaceutically acceptable carrier or diluent;
- a method of producing a polypeptide of the invention, which method comprises maintaining host cells of the invention under conditions

suitable for obtaining expression of the polypeptide and isolating the said polypeptide;

- a polynucleotide of the invention, e.g. in the form of an expression vector, which directs expression *in vivo* of a polypeptide as defined above for use in therapeutic treatment of a human or non-human animal, more particularly for use as an anti-viral, anti-tumour or immunomodulatory agent;
- a pharmaceutical composition comprising such a polynucleotide and a pharmaceutically acceptable carrier or diluent;
- a method of treating a subject having a Type 1 interferon treatable disease, which method comprises administering to said patient an effective amount of such a polynucleotide;
- use of such a polynucleotide in the manufacture of a medicament, e.g. a vector preparation, for use in therapy as an anti-viral, anti-tumour or immunomodulatory agent, more particularly for use in treating a Type 1 interferon treatable disease; and
- a method of identifying a compound having immunomodulatory activity and/or anti-viral activity and/or anti-tumour activity comprising providing a cell capable of expressing HULFRG 70 protein or a naturally occurring variant thereof, incubating said cell with a compound under test and monitoring for upregulation of HULFRG 70 gene expression.

In a still further aspect, the invention provides a method of predicting responsiveness of a patient to treatment with a Type 1 interferon, e.g. IFN- $\alpha$  treatment (such as IFN- $\alpha$  treatment by the oromucosal route or a parenteral route, for example, intravenously, subcutaneously, or intramuscularly), which comprises determining the level of HULFRG 70 protein or a naturally-occurring variant thereof, e.g. an allelic variant, or the corresponding mRNA, in a cell sample from said patient, e.g. a blood sample, wherein said sample is obtained from said patient following administration of a Type 1 interferon, e.g. IFN- $\alpha$  by an oromucosal route or intravenously, or is treated prior to said determining with

WO 02/48182

PCT/GB01/05496

6

a Type I interferon such as IFN- $\alpha$  *in vitro*. The invention also extends to kits for carrying out such testing.

#### **Brief description of the Sequences**

SEQ. ID. No.1 is the amino acid sequence of human protein HulFRG 70 and its encoding cDNA.

SEQ. ID. No.2 is the amino acid sequence alone of HulFRG 70 protein.

#### **Detailed Description of the Invention**

As indicated above, human protein HulFRG 70 and functional variants thereof are now envisaged as therapeutically useful agents, more particularly for use as an anti-viral, anti-tumour or immunomodulatory agent.

A variant of HulFRG 70 protein for this purpose may be a naturally occurring variant, either an allelic variant or species variant, which has substantially the same functional activity as HulFRG 70 protein and is also upregulated in response to administration of IFN- $\alpha$ . Alternatively, a variant of HulFRG 70 protein for therapeutic use may comprise a sequence which varies from SEQ. ID. No. 2 but which is a non-natural mutant.

The term "functional variant" refers to a polypeptide which has the same essential character or basic function of HulFRG 70 protein. The essential character of HulFRG 70 protein may be deemed to be as an immunomodulatory peptide. A functional variant polypeptide may show additionally or alternatively anti-viral activity and/or anti-tumour activity.

Desired anti-viral activity may, for example, be tested as follows. antiviral activity may be monitored as follows. A sequence encoding a variant to be tested is cloned into a retroviral vector such as a retroviral vector derived from the Moloney murine leukemia virus (MoMuLV) containing the viral packaging signal  $\psi$ , and a drug-resistance marker. A pantropic packaging cell line containing the viral *gag*, and *pol*,

WO 02/48182

PCT/GB01/05496

7

genes is then co-transfected with the recombinant retroviral vector and a plasmid, pVSV-G, containing the vesicular stomatitis virus envelope glycoprotein in order to produce high-titre infectious replication incompetent virus (Burns *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA **84**, 5232-5236). The infectious recombinant virus is then used to transfect interferon sensitive fibroblasts or lymphoblastoid cells and cell lines that stably express the variant protein are then selected and tested for resistance to virus infection in a standard interferon bio-assay (Tovey *et al.*, Nature, **271**, 622-625, 1978). Growth inhibition using a standard proliferation assay (Mosmann, T., J. Immunol. Methods, **65**, 55-63, 1983) and expression of MHC class I and class II antigens using standard techniques may also be determined.

A desired functional variant of HuIFRG 70 may consist essentially of the sequence of SEQ. ID. No. 2. A functional variant of SEQ. ID. No.2 may be a polypeptide which has a least 60% to 70% identity, preferably at least 80% or at least 90% and particularly preferably at least 95%, at least 97% or at least 99% identity with the amino acid sequence of SEQ. ID. No. 2 over a region of at least 20, preferably at least 30, for instance at least 100 contiguous amino acids or over the full length of SEQ. ID. No. 2. Methods of measuring protein identity are well known in the art.

Amino acid substitutions may be made, for example from 1, 2 or 3 to 10, 20 or 30 substitutions. Conservative substitutions may be made, for example according to the following Table. Amino acids in the same block in the second column and preferably in the same line in the third column may be substituted for each other.

ALIPHATIC	Non-polar	G A P
		I L V
	Polar-uncharged	C S T M
		N Q
	Polar-charged	D E
		K R
AROMATIC		H F W Y

Variant polypeptide sequences for therapeutic use in accordance with the invention may be shorter polypeptide sequences, for example, a peptide of at least 20 amino acids or up to 50, 60, 70, 80, 100, 150 or 200 amino acids in length is considered to fall within the scope of the invention provided it retains appropriate biological activity of HuIFRG 70 protein. In particular, but not exclusively, this aspect of the invention encompasses the situation when the variant is a fragment of a complete natural naturally-occurring protein sequence.

Also encompassed by the invention are modified forms of HuIFRG 70 protein and fragments thereof which can be used to raise anti-HuIFRG 70 protein antibodies. Such variants will comprise an epitope of the HuIFRG 70 protein.

Polypeptides of the invention may be chemically modified, e.g. post-translationally modified. For example, they may be glycosylated and/or comprise modified amino acid residues. They may also be modified by the addition of a sequence at the N-terminus and/or C-terminus, for example by provision of histidine residues or a T7 tag to assist their purification or by the addition of a signal sequence to promote insertion into the cell membrane. Such modified polypeptides fall within the scope of the term "polypeptide" of the invention.

WO 02/48182

PCT/GB01/05496

9

A polypeptide of the invention may be labelled with a revealing label. The revealing label may be any suitable label which allows the polypeptide to be detected. Suitable labels include radioisotopes such as <sup>125</sup>I, <sup>35</sup>S or enzymes, antibodies, polynucleotides and linkers such as biotin. Labelled polypeptides of the invention may be used in assays. In such assays it may be preferred to provide the polypeptide attached to a solid support. The present invention also relates to such labelled and/or immobilised polypeptides packaged in the form of a kit in a container. The kit may optionally contain other suitable reagent(s), control(s) or instructions and the like.

The polypeptides of the invention may be made synthetically or by recombinant means. Such polypeptides of the invention may be modified to include non-naturally occurring amino acids, e.g. D amino acids. Variant polypeptides of the invention may have modifications to increase stability *in vitro* and/or *in vivo*. When the polypeptides are produced by synthetic means, such modifications may be introduced during production. The polypeptides may also be modified following either synthetic or recombinant production.

A number of side chain modifications are known in the protein modification art and may be present in polypeptides of the invention. Such modifications include, for example, modifications of amino acids by reductive alkylation by reaction with an aldehyde followed by reduction with NaBH<sub>4</sub>, amidination with methylacetimidate or acylation with acetic anhydride.

Polypeptides of the invention will be in substantially isolated form. It will be understood that the polypeptides may be mixed with carriers or diluents which will not interfere with the intended purpose of the polypeptide and still be regarded as substantially isolated. A polypeptide of the invention may also be in substantially purified form, in which case it will generally comprise the polypeptide in a preparation in which more than 90%, for example more than 95%, 98% or 99%, by weight of polypeptide in the preparation is a polypeptide of the invention.

#### Polynucleotides

The invention also includes isolated nucleotide sequences that encode HuIFRG 70 protein or a variant thereof as well as isolated nucleotide sequences which are complementary thereto. The nucleotide sequence may be DNA or RNA, single or double stranded, including genomic DNA, synthetic DNA or cDNA. Preferably the nucleotide sequence is a DNA sequence and most preferably, a cDNA sequence.

As indicated above, such a polynucleotide will typically include a sequence comprising:

- (a) the nucleic acid of SEQ. ID. No. 1 or the coding sequence thereof and/or a sequence complementary thereto;
- (b) a sequence which hybridises, e.g. under stringent conditions, to a sequence complementary to a sequence as defined in (a);
- (c) a sequence which is degenerate as a result of the genetic code to a sequence as defined in (a) or (b);
- (d) a sequence having at least 60% identity to a sequence as defined in (a), (b) or (c).

Polynucleotides comprising an appropriate coding sequence can be isolated from human cells or synthesised according to methods well known in the art, as described by way of example in Sambrook *et al.* (1989) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2<sup>nd</sup> edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press.

Polynucleotides of the invention may include within them synthetic or modified nucleotides. A number of different types of modification to polynucleotides are known in the art. These include methylphosphonate and phosphothioate backbones, addition of acridine or polylysine chains at the 3' and/or 5' ends of the molecule. Such modifications may be carried out in order to enhance the *in vivo* activity or lifespan of polynucleotides of the invention.

Typically a polynucleotide of the invention will include a sequence of nucleotides, which may preferably be a contiguous sequence of nucleotides, which is

WO 02/48182

PCT/GB01/05496

11

capable of hybridising under selective conditions to the coding sequence or the complement of the coding sequence of SEQ. ID. No. 1. Such hybridisation will occur at a level significantly above background. Background hybridisation may occur, for example, because of other cDNAs present in a cDNA library. The signal level generated by the interaction between a polynucleotide of the invention and the coding sequence or complement of the coding sequence of SEQ. ID. No. 1 will typically be at least 10 fold, preferably at least 100 fold, as intense as interactions between other polynucleotides and the coding sequence of SEQ. ID. No. 1. The intensity of interaction may be measured, for example, by radiolabelling the probe, e.g. with <sup>32</sup>P. Selective hybridisation may typically be achieved using conditions of low stringency (0.3M sodium chloride and 0.03M sodium citrate at about 40°C), medium stringency (for example, 0.3M sodium chloride and 0.03M sodium citrate at about 50°C) or high stringency (for example, 0.03M sodium chloride and 0.03M sodium citrate at about 60°C).

The coding sequence of SEQ ID No: 1 may be modified by nucleotide substitutions, for example from 1, 2 or 3 to 10, 25, 50 or 100 substitutions. Degenerate substitutions may be made and/or substitutions may be made which would result in a conservative amino acid substitution when the modified sequence is translated, for example as shown in the table above. The coding sequence of SEQ. ID. NO: 1 may alternatively or additionally be modified by one or more insertions and/or deletions and/or by an extension at either or both ends.

A polynucleotide of the invention capable of selectively hybridising to a DNA sequence selected from SEQ. ID No.1, the coding sequence thereof and DNA sequences complementary thereto will be generally at least 70%, preferably at least 80 or 90% and more preferably at least 95% or 97%, homologous to the target sequence. This homology may typically be over a region of at least 20, preferably at least 30, for instance at least 40, 60 or 100 or more contiguous nucleotides.

Any combination of the above mentioned degrees of homology and minimum sized may be used to define polynucleotides of the invention, with the more stringent combinations (i.e. higher homology over longer lengths) being preferred. Thus for

WO 02/48182

PCT/GB01/05496

12

example a polynucleotide which is at least 80% homologous over 25, preferably over 30 nucleotides forms may be found suitable, as may be a polynucleotide which is at least 90% homologous over 40 nucleotides.

Homologues of polynucleotide or protein sequences as referred to herein may be determined in accordance with well-known means of homology calculation, e.g. protein homology may be calculated on the basis of amino acid identity (sometimes referred to as "hard homology"). For example the UWGCG Package provides the BESTFIT program which can be used to calculate homology, for example used on its default settings, (Devereux *et al.* (1984) *Nucleic Acids Research* **12**, 387-395). The PILEUP and BLAST algorithms can be used to calculate homology or line up sequences or to identify equivalent or corresponding sequences, typically used on their default settings, for example as described in Altschul S. F. (1993) *J. Mol. Evol.* **36**,290-300; Altschul, S. F. *et al.* (1990) *J. Mol. Biol.* **215**,403-10.

Software for performing BLAST analyses is publicly available through the National Center for Biotechnology Information (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). This algorithm involves first identifying high scoring sequence pairs (HSPs) by identifying short words of length W in the query sequence that either match or satisfy some positive-valued threshold score T when aligned with a word of the same length in a database sequence. T is referred to as the neighbourhood word score threshold (Altschul *et al.*, supra). These initial neighbourhood word hits act as seeds for initiating searches to find HSPs containing them. The word hits are extended in both directions along each sequence for as far as the cumulative alignment score can be increased. Extensions for the word hits in each direction are halted when: the cumulative alignment score falls off by the quantity X from its maximum achieved value; the cumulative score goes to zero or below, due to the accumulation of one or more negative-scoring residue alignments; or the end of either sequence is reached. The BLAST algorithm parameters W, T and X determine the sensitivity and speed of the alignment. The BLAST program uses as defaults a word length (W) of 11, the BLOSUM62 scoring matrix (see Henikoff and Henikoff (1992) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **89**,10915-10919) alignments (B) of 50, expectation (E) of 10, M=5, N=4, and a comparison of both strands.

The BLAST algorithm performs a statistical analysis of the similarity between two sequences; see e.g., Karlin and Altschul (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 5873-5787. One measure of similarity provided by the BLAST algorithm is the smallest sum probability (P(N)), which provides an indication of the probability by which a match between two nucleotide or amino acid sequences would occur by chance. For example, a sequence is considered similar to another sequence if the smallest sum probability in comparison of the first sequence to the second sequence is less than about 1, preferably less than about 0.1, more preferably less than about 0.01, and most preferably less than about 0.001.

Polynucleotides according to the invention have utility in production of the proteins according to the invention, which may take place *in vitro*, *in vivo* or *ex vivo*. In such a polynucleotide, the coding sequence for the desired protein of the invention will be operably-linked to a promoter sequence which is capable of directing expression of the desired protein in the chosen host cell. Such a polynucleotide will generally be in the form of an expression vector. Polynucleotides of the invention, e.g. in the form of an expression vector, which direct expression *in vivo* of a polypeptide of the invention having immunomodulatory activity and/or anti-viral activity and/or anti-tumour activity may also be used as a therapeutic agent.

Expression vectors for such purposes may be constructed in accordance with conventional practices in the art of recombinant DNA technology. They may, for example, involve the use of plasmid DNA. They may be provided with an origin of replication. Such a vector may contain one or more selectable markers genes, for example an ampicillin resistance gene in the case of a bacterial plasmid. Other features of vectors of the invention may include appropriate initiators, enhancers and other elements, such as for example polyadenylation signals which may be desirable, and which are positioned in the correct orientation, in order to allow for protein expression. Other suitable non-plasmid vectors would be apparent to persons skilled in the art. By way of further example in this regard reference is made again to Sambrook *et al.*, 1989 (*supra*). Such vectors additionally include, for example, viral vectors. Examples of

WO 02/48182

PCT/GB01/05496

14

suitable viral vectors include herpes simplex viral vectors, replication-defective retroviruses, including lentiviruses, adenoviruses, adeno-associated virus, HPV viruses (such as HPV-16 and HPV-18) and attenuated influenza virus vectors.

Promoters and other expression regulation signals may be selected to be compatible with the host cell for which expression is designed. For example, yeast promoters include *S. cerevisiae* GAL4 and ADH promoters, *S. pombe nmt1* and *adh* promoter. Mammalian promoters include the metallothionein promoter which can be induced in response to heavy metals such as cadmium and  $\beta$ -actin promoters. Viral promoters such as the SV40 large T antigen promoter or adenovirus promoters may also be used. Other examples of viral promoters which may be employed include the Moloney murine leukemia virus long terminal repeat (MMLV LTR), the rous sarcoma virus (RSV) LTR promoter, the human cytomegalovirus (CMV) IE promoter, and HPV promoters, particularly the HPV upstream regulatory region (URR). Other suitable promoters will be well-known to those skilled in the recombinant DNA art.

An expression vector of the invention may further include sequences flanking the coding sequence for the desired polypeptide of the invention providing sequences homologous to eukaryotic genomic sequences, preferably mammalian genomic sequences, or viral genomic sequences. This will allow the introduction of such polynucleotides of the invention into the genome of eukaryotic cells or viruses by homologous recombination. In particular, a plasmid vector comprising the expression cassette flanked by viral sequences can be used to prepare a viral vector suitable for delivering the polynucleotides of the invention to a mammalian cell.

The invention also includes cells *in vitro*, for example prokaryotic or eukaryotic cells, which have been modified to express the HuIFRG 70 protein or a variant thereof. Such cells include stable, e.g. eukaryotic, cell lines wherein a polynucleotide encoding HuIFRG 70 protein or a variant thereof is incorporated into the host genome. Host cells of the invention may be mammalian cells or insect cells, lower eukaryotic cells, such as yeast or prokaryotic cells such as bacterial cells. Particular examples of cells which may be modified by insertion of vectors encoding for a polypeptide according to the invention include mammalian HEK293T, CHO, HeLa and COS cells. Preferably a cell line may

be chosen which is not only stable, but also allows for mature glycosylation of a polypeptide. Expression may, for example, be achieved in transformed oocytes.

A polypeptide of the invention may be expressed in cells of a transgenic non-human animal, preferably a mouse. A transgenic non-human animal capable of expressing a polypeptide of the invention is included within the scope of the invention.

Polynucleotides according to the invention may also be inserted into vectors as described above in an antisense orientation in order to provide for the production of antisense sequences. Antisense RNA or other antisense polynucleotides may also be produced by synthetic means.

A polynucleotide, e.g. in the form of an expression vector, capable of expressing *in vivo* an antisense sequence to a coding sequence for the amino acid sequence defined by SEQ. ID. No. 2, or a naturally-occurring variant thereof, for use in therapeutic treatment of a human or non-human animal is also envisaged as constituting an additional aspect of the invention. Such a polynucleotide will find use in treatment of diseases associated with upregulation of HuIFRG 70 protein.

Polynucleotides of the invention extend to sets of primers for nucleic acid amplification which target sequences within the cDNA for a polypeptide of the invention, e.g. pairs of primers for PCR amplification. The invention also provides probes suitable for targeting a sequence within a cDNA or RNA for a polypeptide of the invention which may be labelled with a revealing label, e.g. a radioactive label or a non-radioactive label such as an enzyme or biotin. Such probes may be attached to a solid support. Such a solid support may be a micro-array (also commonly referred to as nucleic acid, probe or DNA chip) carrying probes for further nucleic acids, e.g. mRNAs or amplification products thereof corresponding to other Type 1 interferon upregulated genes, e.g. such genes identified as upregulated in response to oromucosal or intravenous administration of IFN- $\alpha$ . Methods for constructing such micro-arrays are well-known (see, for example, EP-B 0476014 and 0619321 of Affymax Technologies N.V. and Nature Genetics Supplement January 1999 entitled "The Chipping Forecast").

WO 02/48182

PCT/GB01/05496

16

The nucleic acid sequence of such a primer or probe will preferably be at least 10, preferably at least 15 or at least 20, for example at least 25, at least 30 or at least 40 nucleotides in length. It may, however, be up to 40, 50, 60, 70, 100 or 150 nucleotides in length or even longer.

Another aspect of the invention is the use of probes or primers of the invention to identify mutations in HULFRG 70 genes, for example single nucleotide polymorphisms (SNPs).

As indicated above, in a still further aspect the present invention provides a method of identifying a compound having immunomodulatory activity and/or antiviral activity and/or anti-tumour activity comprising providing a cell capable of expressing HULFRG 70 protein or a naturally-occurring variant thereof, incubating said cell with a compound under test and monitoring for upregulation of HULFRG 70 gene expression. Such monitoring may be by probing for mRNA encoding HULFRG 70 protein or a naturally-occurring variant thereof. Alternatively antibodies or antibody fragments capable of specifically binding one or more of HULFRG 70 and naturally-occurring variants thereof may be employed.

#### Antibodies

According to another aspect, the present invention also relates to antibodies (for example polyclonal or preferably monoclonal antibodies, chimeric antibodies, humanised antibodies and fragments thereof which retain antigen-binding capability) which have been obtained by conventional techniques and are specific for a polypeptide of the invention. Such antibodies could, for example, be useful in purification, isolation or screening methods involving immunoprecipitation and may be used as tools to further elucidate the function of HULFRG 70 protein or a variant thereof. They may be therapeutic agents in their own right. Such antibodies may be raised against specific epitopes of proteins according to the invention. An antibody specifically binds to a protein when it binds with high affinity to the protein for which it is specific but does not bind or binds with only low affinity to other proteins. A variety of protocols for

WO 02/48182

PCT/GB01/05496

17

competitive binding or immunoradiometric assays to determine the specific binding capability of an antibody are well-known.

#### Pharmaceutical compositions

A polypeptide of the invention is typically formulated for administration with a pharmaceutically acceptable carrier or diluent. The pharmaceutical carrier or diluent may be, for example, an isotonic solution. For example, solid oral forms may contain, together with the active compound, diluents, e.g. lactose, dextrose, saccharose, cellulose, corn starch or potato starch; lubricants, e.g. silica, talc, stearic acid, magnesium or calcium stearate, and/or polyethylene glycols; binding agents; e.g. starches, arabic gums, gelatin, methyl cellulose, carboxymethylcellulose or polyvinyl pyrrolidone; desegregating agents, e.g. starch, alginic acid, alginates or sodium starch glycolate; effervescent mixtures; dyestuffs; sweeteners; wetting agents, such as lecithin, polysorbates, laurylsulphates; and, in general, non-toxic and pharmacologically inactive substances used in pharmaceutical formulations. Such pharmaceutical preparations may be manufactured in known manner, for example, by means of mixing, granulating, tableting, sugar-coating, or film coating processes.

Liquid dispersions for oral administration may be syrups, emulsions and suspensions. The syrups may contain as carriers, for example, saccharose or saccharose with glycerine and/or mannitol and/or sorbitol.

Suspensions and emulsions may contain as carrier, for example a natural gum, agar, sodium alginate, pectin, methyl cellulose, carboxymethylcellulose, or polyvinyl alcohol. The suspensions or solutions for intramuscular injections may contain, together with the active compound, a pharmaceutically acceptable carrier, e.g. sterile water, olive oil, ethyl oleate, glycols, e.g. propylene glycol, and if desired, a suitable amount of lidocaine hydrochloride.

Solutions for intravenous administration or infusions may contain as carrier, for example, sterile water or preferably they may be in the form of sterile, aqueous, isotonic saline solutions.

A suitable dose of HulFRG 70 protein or a functional analogue thereof for use in accordance with the invention may be determined according to various parameters, especially according to the substance used; the age, weight and condition of the patient to be treated; the route of administration; and the required regimen. Again, a physician will be able to determine the required route of administration and dosage for any particular patient. A typical daily dose may be from about 0.1 to 50 mg per kg, preferably from about 0.1mg/kg to 10mg/kg of body weight, according to the activity of the specific inhibitor, the age, weight and condition of the subject to be treated, and the frequency and route of administration. Preferably, daily dosage levels may be from 5 mg to 2 g.

A polynucleotide of the invention suitable for therapeutic use will also typically be formulated for administration with a pharmaceutically acceptable carrier or diluent. Such a polynucleotide may be administered by any known technique whereby expression of the desired polypeptide can be attained *in vivo*. For example, the polynucleotide may be introduced by injection, preferably intradermally, subcutaneously or intramuscularly. Alternatively, the nucleic acid may be delivered directly across the skin using a particle-mediated delivery device. A polynucleotide of the invention suitable for therapeutic nucleic acid may alternatively be administered to the oromucosal surface for example by intranasal or oral administration.

A non-viral vector of the invention suitable for therapeutic use may, for example, be packaged into liposomes or into surfactant containing vector delivery particles. Uptake of nucleic acid constructs of the invention may be enhanced by several known transfection techniques, for example those including the use of transfection agents. Examples of these agents include cationic agents, for example calcium phosphate and DEAE dextran and lipofectants, for example lipofectam and transfectam. The dosage of the nucleic acid to be administered can be varied. Typically, the nucleic acid will be administered in the range of from 1pg to 1mg, preferably from 1pg to 10 $\mu$ g nucleic acid for particle-mediated gene delivery and from 10 $\mu$ g to 1 mg for other routes.

Prediction of Type 1 interferon responsiveness

As also indicated above, in a still further aspect the present invention provides a method of predicting responsiveness of a patient to treatment with a Type 1 interferon, e.g. IFN- $\alpha$  treatment such as IFN- $\alpha$  treatment by an oromucosal route or intravenously, which comprises determining the level of HuIFRG 70 protein or a naturally-occurring variant thereof, or the corresponding mRNA, in a cell sample from said patient, wherein said sample is taken from said patient following administration of a Type 1 interferon or is treated prior to said determining with a Type 1 interferon *in vitro*.

Preferably, the Type 1 interferon for testing responsiveness will be the Type 1 interferon selected for treatment. It may be administered by the proposed treatment route and at the proposed treatment dose. Preferably, the subsequent sample analysed may be, for example, a blood sample or a sample of peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) isolated from a blood sample.

More conveniently and preferably, a sample obtained from the patient comprising PBMCs isolated from blood may be treated *in vitro* with a Type 1 interferon, e.g. at a dosage range of about 1 to 10,000 IU/ml. Such treatment may be for a period of hours, e.g. about 7 to 8 hours. Preferred treatment conditions for such *in vitro* testing may be determined by testing PBMCs taken from normal donors with the same interferon and looking for upregulation of an appropriate expression product. Again, the Type 1 interferon employed will preferably be the Type 1 interferon proposed for treatment of the patient, e.g. recombinant IFN- $\alpha$ . PBMCs for such testing may be isolated in conventional manner from a blood sample using Ficoll-Hypaque density gradients. An example of a suitable protocol for such *in vitro* testing of Type 1 interferon responsiveness is provided in Example 3 below.

The sample, if appropriate after *in vitro* treatment with a Type 1 interferon, may be analysed for the level of HuIFRG 70 protein or a naturally-occurring variant thereof. This may be done using an antibody or antibodies capable of specifically binding one or

more of HulFRG 70 protein and naturally-occurring variants thereof, e.g. allelic variants thereof. Preferably, however, the sample will be analysed for mRNA encoding HulFRG 70 protein or a naturally-occurring variant thereof. Such mRNA analysis may employ any of the techniques known for detection of mRNAs, e.g. Northern blot detection or mRNA differential display. A variety of known nucleic acid amplification protocols may be employed to amplify any mRNA of interest present in the sample, or a portion thereof, prior to detection. The mRNA of interest, or a corresponding amplified nucleic acid, may be probed for using a nucleic acid probe attached to a solid support. Such a solid support may be a micro-array as previously discussed above carrying probes to determine the level of further mRNAs or amplification products thereof corresponding to Type 1 interferon upregulated genes, e.g. such genes identified as upregulated in response to oromucosal or intravenous administration of IFN- $\alpha$ .

The following examples illustrate the invention:

#### Examples

##### Example 1

Previous experiments had shown that the application of 5  $\mu$ l of crystal violet to each nostril of a normal adult mouse using a P20 Eppendorf micropipette resulted in an almost immediate distribution of the dye over the whole surface of the oropharyngeal cavity. Staining of the oropharyngeal cavity was still apparent some 30 minutes after application of the dye. These results were confirmed by using  $^{125}$ I-labelled recombinant human IFN- $\alpha$ 1-8 applied in the same manner. The same method of administration was employed to effect oromucosal administration in the studies which are described below.

Six week old, male DBA/2 mice were treated with either 100,000 IU of recombinant murine interferon  $\alpha$  (IFN  $\alpha$ ) purchased from Life Technologies Inc, in phosphate buffered saline (PBS), 10 $\mu$ g of recombinant human interleukin 15 (IL-15) purchased from Protein Institute Inc, PBS containing 100  $\mu$ g/ml of bovine serum albumin (BSA), or left untreated. Eight hours later, the mice were sacrificed by cervical dislocation and the lymphoid tissue was removed surgically from the oropharyngeal

WO 02/48182

PCT/GB01/05496

21

cavity and snap frozen in liquid nitrogen and stored at -80°C. RNA was extracted from the lymphoid tissue by the method of Chomczynski and Sacchi 1987, (Anal. Biochem. **162**, 156-159) and subjected to mRNA Differential Display Analysis (Lang, P. and Pardee, A.B., Science, **257**, 967-971).

#### Differential Display Analysis

Differential display analysis was carried out using the "Message Clean" and "RNA image" kits of the GenHunter Corporation essentially as described by the manufacturer. Briefly, RNA was treated with RNase-free DNase, and 1 µg was reverse-transcribed in 100 µl of reaction buffer using either one or the other of the three one-base anchored oligo-(dT) primers A, C, or G. RNA was also reverse-transcribed using one or the other of the 9 two-base anchored oligo-(dT) primers AA, CC, GG, AC, CA, GA, AG, CG, GC. All the samples to be compared were reverse transcribed in the same experiment, separated into aliquots and frozen. The amplification was performed with only 1 µl of the reverse transcription sample in 10 µl of amplification mixture containing *Taq* DNA polymerase and  $\alpha$ -<sup>32</sup>P dATP (3,000 Ci/mmol). Eighty 5' end (HAP) random sequence primers were used in combination with each of the (HT11) A, C, G, AA, CC, GG, AC, CA, GA, AG, CG or GC primers. Samples were then run on 7% denaturing polyacrylamide gels and exposed to autoradiography. Putative differentially expressed bands were cut out, reamplified according to the instructions of the supplier, and further used as probes to hybridize Northern blots of RNA extracted from the oropharyngeal cavity of IFN treated, IL-15 treated, and excipient treated animals.

#### Cloning and Sequencing

Re-amplified bands from the differential display screen were cloned in the *Sfr* 1 site of the pPCR-Script SK(+) plasmid (Stratagene) and cDNAs amplified from the rapid amplification of cDNA ends were isolated by TA cloning in the pCR3 plasmid (Invitrogen). DNA was sequenced using an automatic di-deoxy sequencer (Perkin Elmer ABI PRISM 377).

WO 02/48182

PCT/GB01/05496

22

Isolation of Human cDNA

Differentially expressed murine 3' sequences identified from the differential display screen were compared with random human expressed sequence tags (EST) present in the dbEST database of GenBank™ of the United States National Center for Biotechnology Information (NCBI). The sequences potentially related to the murine EST isolated from the differential display screen were combined in a contig and used to construct a human consensus sequence corresponding to a putative cDNA. One such cDNA was found to be 4135 nucleotides in length. This corresponded to a mouse gene whose expression was found to be enhanced approximately 5-fold in the lymphoid tissue of the oral cavity of mice following oromucosal administration of recombinant murine IFN- $\alpha$ .

In order to establish that this putative cDNA corresponded to an authentic human gene, primers derived from the 5' and 3' ends of the consensus sequence were used to synthesise cDNA from mRNA extracted from human peripheral blood leukocytes (PBL) by specific reverse transcription and PCR amplification. A unique cDNA fragment of the predicted size was obtained, cloned and sequenced (SEQ. ID. No.1). This human cDNA contains an open reading frame (ORF) of 1857 bp in length at positions 36-1892 encoding a protein of 618 amino acids (SEQ. ID. No. 2).

Example 2Intravenous administration of IFN- $\alpha$ 

Male DBA/2 mice were injected intravenously with 100,000 IU of recombinant murine IFN- $\alpha$  purchased from Life Technologies Inc. in 200  $\mu$ l of PBS or treated with an equal volume of PBS alone. Eight hours later, the animals were sacrificed by cervical dislocation and the spleen was removed using conventional procedures. Total RNA was extracted by the method of Chomczynski and Sacchi (Anal. Biochem. (1987) 162,156-159) and 10.0  $\mu$ g of total RNA per sample was subjected to Northern blotting in the presence of glyoxal and hybridised with a cDNA probe for HuIFRG 70 mRNA as

WO 02/48182

PCT/GB01/05496

23

described by Dandoy-Dron et al. (J. Biol. Chem. (1998) 273, 7691-7697). The blots were first exposed to autoradiography and then quantified using a PhosphorImager according to the manufacturer's instructions. Enhanced levels of mRNA for HuIFRG 70 protein (approximately 10 fold) were detected in samples of RNA extracted from spleens of IFN- $\alpha$  treated animals relative to animals treated with excipient alone.

#### Example 3

##### Testing Type 1 interferon responsiveness *in vitro*

Human peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) from normal donors were isolated on Ficoll-Hypaque density gradients and treated *in vitro* with 10,000 IU of recombinant human IFN- $\alpha$ 2 (Intron A from Schering-Plough) in PBS or with an equal volume of PBS alone. Eight hours later the cells were centrifuged (800 x g for 10 minutes) and the cell pellet recovered. Total RNA was extracted from the cell pellet by the method of Chomczynski and Sacchi and 10.0  $\mu$ g of total RNA per sample was subjected to Northern blotting in the presence of glyoxal and hybridised with a cDNA probe for HuIFRG 70 mRNA as previously described in Example 2 above. Enhanced levels of mRNA for HuIFRG 70 protein (approximately 2-fold) were detected in samples of RNA extracted from IFN- $\alpha$  treated PBMCs compared to samples treated with PBS alone.

The same procedure may be used to predict Type 1 interferon responsiveness using PBMCs taken from a patient proposed to be treated with a Type 1 interferon.

CLAIMS

1. An isolated polypeptide comprising
  - (i) the amino acid sequence of SEQ ID NO: 2;
  - (ii) a variant thereof having substantially similar function selected from immunomodulatory activity and/or anti-viral activity and/or anti-tumour activity; or
  - (iii) a fragment of (i) or (ii) which retains substantially similar function selected from immunomodulatory activity and/or anti-viral activity and/or anti-tumour activity.
2. A variant or fragment of the polypeptide defined by the amino acid sequence set forth in SEQ. ID. No. 2 suitable for raising specific antibodies for said polypeptide and/or a naturally-occurring variant thereof.
3. A polynucleotide encoding a polypeptide as claimed in claim 1 or 2.
4. A polynucleotide as claimed in claim 3 which is a cDNA.
5. A polynucleotide encoding a polypeptide as claimed in claim 1, which polynucleotide comprises:
  - (a) the nucleic acid sequence of SEQ ID NO: 1 or the coding sequence thereof and/or a sequence complementary thereto;
  - (b) a sequence which hybridises to a sequence as defined in (a);
  - (c) a sequence that is degenerate as a result of the genetic code to a sequence as defined in (a) or (b); or
  - (d) a sequence having at least 60% identity to a sequence as defined in (a), (b) or (c).
6. An expression vector comprising a polynucleotide sequence as claimed in any one of claims 3 to 5, which is capable of expressing a polypeptide according to claim 1 or 2.

WO 02/48182

PCT/GB01/05496

25

7. A host cell containing an expression vector according to claim 6.
8. An antibody specific for a polypeptide as claimed in claim 1 or claim 2.
9. An isolated polynucleotide which directs expression *in vivo* of a polypeptide as claimed in claim 1.
10. A polypeptide as claimed in claim 1 or a polynucleotide as claimed in claim 9 for use in therapeutic treatment of a human or non-human animal.
11. A pharmaceutical composition comprising a polypeptide as claimed in claim 1 or a polynucleotide as claimed in claim 9 and a pharmaceutically acceptable carrier or diluent.
12. Use of a polypeptide as claimed in claim 1 or a polynucleotide as claimed in claim 9 in the preparation of medicament for use in therapy as an anti-viral, anti-tumour or immunomodulatory agent.
13. A method of treating a patient having a Type 1 interferon treatable disease, which comprises administering to said patient an effective amount of a polypeptide as claimed in claim 1 or a polynucleotide as claimed in claim 9.
14. A method of producing a polypeptide according to claim 1 or 2, which method comprises culturing host cells as claimed in claim 7 under conditions suitable for obtaining expression of the polypeptide and isolating the said polypeptide.
15. A method of identifying a compound having immunomodulatory activity and/or anti-viral activity and/or anti-tumour activity comprising providing a cell capable of expressing the polypeptide of SEQ. ID. No. 2 or a naturally-occurring variant thereof, incubating said cell with a compound under test and monitoring for upregulation of the gene encoding said polypeptide or variant.

WO 02/48182

PCT/GB01/05496

26

16. A polynucleotide capable of expressing *in vivo* an antisense sequence to a coding sequence for the amino acid sequence defined by SEQ. ID. No.2 or a naturally-occurring variant of said coding sequence for use in therapeutic treatment of a human or non-human animal.
17. An antibody as claimed in claim 8 for use in therapeutic treatment.
18. A set of primers for nucleic acid amplification which target sequences within a cDNA as claimed in claim 4.
19. A nucleic acid probe derived from a polynucleotide as claimed in any one of claims 3 to 5.
20. A probe as claimed in claim 19 which is attached to a solid support.
21. A method of predicting responsiveness of a patient to treatment with a Type 1 interferon, which comprises determining the level of the protein defined by the amino acid sequence set forth in SEQ. ID. No. 2 or a naturally-occurring variant thereof, or the corresponding mRNA, in a cell sample from said patient, wherein said sample is obtained from said patient following administration of a Type 1 interferon or is treated prior to said determining with a Type 1 interferon *in vitro*.
22. A method as claimed in claim 21 wherein the interferon administered prior to obtaining said sample or used to treat said sample *in vitro* is the interferon proposed for treatment of said patient.
23. A method as claimed in claim 21 or claim 22 wherein a sample comprising peripheral blood mononuclear cells isolated from a blood sample of the patient is treated with a Type 1 interferon *in vitro*.
24. A method as claimed in any one of claims 21 to 23 wherein said determining comprises determining the level of mRNA encoding the protein defined by the

WO 02/48182

PCT/GB01/05496

27

sequence set forth in SEQ. ID. No. 2 or a naturally-occurring variant of said protein.

25. A non-human transgenic animal capable of expressing a polypeptide that is claimed in claim 1.

WO 02/48182

PCT/GB01/05496

1

SEQUENCE LISTING

<110> PHARMA PACIFY PTY  
 <120> INTERFERON-ALPHA INDUCED GENE  
 <130> N81265A JCI  
 <160> 3  
 <170> PatentIn version 3.0  
 <210> 1  
 <211> 4135  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
 <220>  
 <221> CDS  
 <222> (36)..(1892)  
 <400> 1  
 ccgagtggtc aataaaatat tccagcatt ttcag atg aat ttg ccc aga agg 53  
 Met Asn Leu Pro Arg Arg  
 1 5  
 gtt aag gaa aat ctc gtc agt gac aaa ttt ccg aag gct aaa gat aca 101  
 Val Lys Glu Asn Leu Val Ser Asp Lys Phe Pro Lys Ala Lys Asp Thr  
 10 15 20  
 caa ggt ttt tat ggg act gtt tct agc cct gat tca ggt gtg tat gaa 149  
 Gln Gly Phe Tyr Gly Thr Val Ser Ser Pro Asp Ser Gly Val Tyr Glu  
 25 30 35  
 atg aag att ggc tcc atc atc ttc cag gtg gct tct gga gat atc acg 197  
 Met Lys Ile Gly Ser Ile Ile Phe Gln Val Ala Ser Gly Asp Ile Thr  
 40 45 50  
 aaa gaa gag gca gat gtg att gta aat tca aca tca aac tca ttc aat 245  
 Lys Glu Glu Ala Asp Val Ile Val Asn Ser Thr Ser Asn Ser Phe Asn  
 55 60 65 70  
 ctc aaa gca ggg gtc tcc aaa gca att tta gaa tgt gct gga caa aat 293  
 Leu Lys Ala Gly Val Ser Lys Ala Ile Leu Glu Cys Ala Gly Gln Asn  
 75 80 85  
 gta gaa agg gaa tgt tct cag caa gct cag cag cgc aaa aat gat tat 341  
 Val Glu Arg Glu Cys Ser Gln Gln Ala Gln Gln Arg Lys Asn Asp Tyr  
 90 95 100  
 ata atc acc gga ggt gga ttt ttg agg tgc aag aat atc att cat gta 389  
 Ile Ile Thr Gly Gly Gly Phe Leu Arg Cys Lys Asn Ile Ile His Val  
 105 110 115

WO 02/48182

PCT/GB01/05496

2

att ggt gga aat gat gtc aag agt tca gtt tcc tct gtt ttg cag gag Ile Gly Gly Asn Asp Val Lys Ser Ser Val Ser Ser Val Leu Gln Glu 120 125 130	437
tgt gaa aaa aaa aat tac tca tcc att tgc ctc cca gcc att ggg aca Cys Glu Lys Lys Asn Tyr Ser Ser Ile Cys Leu Pro Ala Ile Gly Thr 135 140 145 150	485
gga aat gcc aaa caa cac cca gat aag gtt gct gaa gcc ata att gat Gly Asn Ala Lys Gln His Pro Asp Lys Val Ala Glu Ala Ile Ile Asp 155 160 165	533
gcc att gaa gac ttt gtc cag aaa gga tca gcc cag tct gtg aaa aaa Ala Ile Glu Asp Phe Val Gln Lys Gly Ser Ala Gln Ser Val Lys Lys 170 175 180	581
ggt aaa gtt gtt atc ttt ctg cct caa gta ctg gat gtg ttt tat gct Val Lys Val Val Ile Phe Leu Pro Gln Val Leu Asp Val Phe Tyr Ala 185 190 195	629
aac atg aag aaa aga gaa ggg act cag ctt tct tcc caa cag tct gty Asn Met Lys Lys Arg Glu Gly Thr Gln Leu Ser Ser Gln Gln Ser Val 200 205 210	677
atg tct aaa ctt gca tca ttt ttg ggc ttt tca aag caa tct ccc caa Met Ser Lys Leu Ala Ser Phe Leu Gly Phe Ser Lys Gln Ser Pro Gln 215 220 225 230	725
aaa aag aat cat ttg gtt ttg gaa aag aaa aca gaa tca gca act ttt Lys Lys Asn His Leu Val Leu Glu Lys Lys Thr Glu Ser Ala Thr Phe 235 240 245	773
cgg gtg tgt ggt gaa aat gtc acg tgt gtg gaa tat gct atc tcc tgg Arg Val Cys Gly Glu Asn Val Thr Cys Val Glu Tyr Ala Ile Ser Trp 250 255 260	821
cta caa gac ctg att gaa aaa gaa cag tgt cct tac acc agt gaa gat Leu Gln Asp Leu Ile Glu Lys Glu Gln Cys Pro Tyr Thr Ser Glu Asp 265 270 275	869
gag tgc atc aaa gac ttt gat gaa aag gag tat cag gag ttg aat gag Glu Cys Ile Lys Asp Phe Asp Glu Lys Glu Tyr Gln Glu Leu Asn Glu 280 285 290	917
ctg cag aag aag tta aat att aac att tcc ctg gac cat aag aga cct Leu Gln Lys Lys Leu Asn Ile Asn Ile Ser Leu Asp His Lys Arg Pro 295 300 305 310	965
ttg att aag gtt ttg gga att agc aga gat gtg atg cag gct aga gat Leu Ile Lys Val Leu Gly Ile Ser Arg Asp Val Met Gln Ala Arg Asp 315 320 325	1013
gaa att gag gcg atg atc aag aga gtt cga ttg gcc aaa gaa cag gaa Glu Ile Glu Ala Met Ile Lys Arg Val Arg Leu Ala Lys Glu Gln Glu 330 335 340	1061

WO 02/48182

PCT/GB01/05496

3

tcc cgg gca gat tgt atc agt gag ttt ata gaa tgg cag tat aat gac Ser Arg Ala Asp Cys Ile Ser Glu Phe Ile Glu Trp Gln Tyr Asn Asp 345 350 355	1109
aat aac act tct cat tgt ttt aac aaa atg acc aat ctg aaa tta gag Asn Asn Thr Ser His Cys Phe Asn Lys Met Thr Asn Leu Lys Leu Glu 360 365 370	1157
gat gca agg aga gaa aag aaa aca gtt gat gtc aaa att aat cat Asp Ala Arg Arg Glu Lys Lys Thr Val Asp Val Lys Ile Asn His 375 380 385 390	1205
cgg cac tac aca gtg aac ttg aac aca tac act gcc aca gac aca aag Arg His Tyr Thr Val Asn Leu Asn Thr Tyr Thr Ala Thr Asp Thr Lys 395 400 405	1253
ggc cac agt tta tct gtt cag cgc ctc acg aaa tcc aaa gti gac atc Gly His Ser Leu Ser Val Gln Arg Leu Thr Lys Ser Lys Val Asp Ile 410 415 420	1301
cct gca cac tgg agt gat atg aag cag cag aat ttc tgt gtg gtg gag Pro Ala His Trp Ser Asp Met Lys Gln Gln Asn Phe Cys Val Val Glu 425 430 435	1349
ctg ctg cct agt gat cct gag tac aac acg gtg gca agc aag ttt aat Leu Leu Pro Ser Asp Pro Glu Tyr Asn Thr Val Ala Ser Lys Phe Asn 440 445 450	1397
cag acc tgc tca cac ttc aga ata gag aag att gag agg atc cag aat Gln Thr Cys Ser His Phe Arg Ile Glu Lys Ile Glu Arg Ile Gln Asn 455 460 465 470	1445
cca gat ctc tgg aat agc tac cag gca aag aaa aaa act atg gat gcc Pro Asp Leu Trp Asn Ser Tyr Gln Ala Lys Lys Lys Thr Met Asp Ala 475 480 485	1493
aag aat ggc cag aca atg aat gag aag caa ctc ttc cat ggg aca gat Lys Asn Gly Gln Thr Met Asn Glu Lys Gln Leu Phe His Gly Thr Asp 490 495 500	1541
gcc ggc tcc gtg cca cac gtc aat cga aat ggc ttt aac cgc agc tat Ala Gly Ser Val Pro His Val Asn Arg Asn Gly Phe Asn Arg Ser Tyr 505 510 515	1589
gcc gga aag aat gcc gtg gca tat gga aag gga acc tat ttt gct gtc Ala Gly Lys Asn Ala Val Ala Tyr Gly Lys Gly Thr Tyr Phe Ala Val 520 525 530	1637
aat gcc aat tat tct gcc aat gat acg tac tcc aga cca gat gca aat Asn Ala Asn Tyr Ser Ala Asn Asp Thr Tyr Ser Arg Pro Asp Ala Asn 535 540 545 550	1685
ggg aga aag cat gtg tat tat gtg cga gta ctt act gga atc tat aca Gly Arg Lys His Val Tyr Tyr Val Arg Val Leu Thr Gly Ile Tyr Thr 555 560 565	1733

WO 02/48182

PCT/GB01/05496

4

cat gga aat cat tca tta att gtg cct cct tca aag aac cct caa aat 1781  
 His Gly Asn His Ser Leu Ile Val Pro Pro Ser Lys Asn Pro Gln Asn  
 570 575 580

cct act gac ctg tat gac act gtc aca gat aat gtg cac cat cca agt 1829  
 Pro Thr Asp Leu Tyr Asp Thr Val Thr Asp Asn Val His His Pro Ser  
 585 590 595

tta ttt gtg gca ttt tat gac tac caa gca tac cca gag tac ctt att 1877  
 Leu Phe Val Ala Phe Tyr Asp Tyr Gln Ala Tyr Pro Glu Tyr Leu Ile  
 600 605 610

acg ttt aga aaa taa cactttggtg tccttcccac aaaattatc tccatttga 1932  
 Thr Phe Arg Lys  
 615

catatctagt tgaataacaa gttttagctt ttttttttaa ttctcttaa cagatttttc 1992

taatatccaa ggalcattct ttgtcctga agtcagctt tcctcagctt ctctttcata 2052

atggaatga acttattatc ttgagagcaa ataacttga aaatttaaat gagataatgc 2112

agtgcaact gtgtgtccc aagataggac atcaaatctg tgggaaaaga acaggtttgt 2172

atttccagg aggagagaat aacagcttta tagacagagg gcacagctaa gcacagctgc 2232

cactgcagga gacagcccc atgtcaggat gccatagctc tgtggggagc acagtattac 2292

ccagtgggta gggcttctgt ctctcctggg agcaaggatg gtatcttagt caattttttt 2352

cccttagat gaggctctgt cctgatgtac aacggatact ccataaatgt ttgacaaacc 2412

aacgaagaat gaaaaaagc ctagtacagc tcccaccaa agtaggaact atctctttaa 2472

cattcttgac tcaactatcac ttacctcaa attgaacaga ttccatgacg gaacttcatt 2532

cttcacaaac tagccagtga catgtgggac agctctggcc agggctctgg gactgcagtg 2592

tacttgcgct ctgcacggtc caggagctgt gatgtggctg tggcttaggg gaatcctgcc 2652

tgccccatgg agttgagcag cacaaacctg gctccaatlg ccagaaggct ctttttaatg 2712

ctgaacaaa atgccccttt ttttttttc tgagatggag tttactctt gttgcccagg 2772

ctggagtcca atggcgcgat ctacgtcac tgcagccact gcctcccagg ttcaagtgat 2832

ttctctgect cagcctccc agtagctggg attacaggca tgcgctaaca caccagcta 2892

attttgatt ttttagtagg acgaggttc tccatgttcg acaggtggt ctgaaactcc 2952

cactccagcc tccaaaactg ctggattac aggtgtgagc cactgtgacc agccaatgtg 3012

ccttcitata gtgtctactc attggtctit gttctgcca gtgataacaa tgggataacg 3072

cctgtcacac atcttcatlg tgaaccctt cccctgtgct gagattaat gaactctgag 3132

WO 02/48182

PCT/GB01/05496

5

```

attattaaat agtatatttt ccttgacagc ctagecgttg atgattttaa agccttatgt 3192
ataaataaac caaaggaagt aagcagtcac attgctaatt tgctaactcc tatctattga 3252
atggtgaagt tttaaaatt tccccagta agtttaagat tcaaacacca tctattgagc 3312
acctacattg tgtgccaggc agtaaatag gtgctttcat acacattgtc tcaatlcctg 3372
tgaggtcaga attatctctg catttgaac ttgaggaaac atgctcagag tgaagaagc 3432
ttccttgctt gagatcacct agaaaggaac cctcagagcc gccaactgaa tcttggctcc 3492
tgtgatgtca agccattgc tctcccactg cagaacatgg cctctagatt aatgccaccg 3552
attcaggaac acctccgaca gtcttgaat acccccatgt tgccttgttt gtttttctct 3612
tctggcttct tctattacag tctcttcatt ggaagctctg taggccaagg ccagagctga 3672
tacigacacg gagccaatgc agatagcaca tcagatgcta gggctcctg ggaggattaa 3732
gggacttaac ctgctaggaa cacctgtact tgaagtggag gagcctaggg gcccacagtt 3792
gctgcttcat taacatagaag gtttggatt tttttctctt gtggtttgtt ttttaagtg 3852
attggcagac tctttgttgc ttaagatgg ctttctagc aggcacttgg catctgaatt 3912
catcattgac aataaatgta agaatgga ataaaaaga gagccttctt gttattcct 3972
tttcttccc agtgatttga ttaactcagg gcaaggctga atatcagagt gtatgcact 4032
gaagaataat aatccattca gtaatgttat agttatcttc aatcaataa tgtcaactgt 4092
cattttgcta cttttcaaat aaaactctg aaaactgtca aaa 4135

```

<210> 2  
 <211> 618  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 2

```

Met Asn Leu Pro Arg Arg Val Lys Glu Asn Leu Val Ser Asp Lys Phe
1           5           10          15
Pro Lys Ala Lys Asp Thr Gln Gly Phe Tyr Gly Thr Val Ser Ser Pro
20          25
Asp Ser Gly Val Tyr Glu Met Lys Ile Gly Ser Ile Ile Phe Gln Val
35          40          45
Ala Ser Gly Asp Ile Thr Lys Glu Glu Ala Asp Val Ile Val Asn Ser
50          55          60
Thr Ser Asn Ser Phe Asn Leu Lys Ala Gly Val Ser Lys Ala Ile Leu
65          70          75          80

```

WO 02/48182

PCT/GB01/05496

6

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

WO 02/48182

PCT/GB01/05496

7

Thr Asn Leu Lys Leu Glu Asp Ala Arg Arg Glu Lys Lys Lys Thr Val  
 370 375 380  
 Asp Val Lys Ile Asn His Arg His Tyr Thr Val Asn Leu Asn Thr Tyr  
 385 390 395 400  
 Thr Ala Thr Asp Thr Lys Gly His Ser Leu Ser Val Gln Arg Leu Thr  
 405 410  
 Lys Ser Lys Val Asp Ile Pro Ala His Trp Ser Asp Met Lys Gln Gln  
 420 425 430  
 Asn Phe Cys Val Val Glu Leu Leu Pro Ser Asp Pro Glu Tyr Asn Thr  
 435 440  
 Val Ala Ser Lys Phe Asn Gln Thr Cys Ser His Phe Arg Ile Glu Lys  
 450 455 460  
 Ile Glu Arg Ile Gln Asn Pro Asp Leu Trp Asn Ser Tyr Gln Ala Lys  
 465 470 475 480  
 Lys Lys Thr Met Asp Ala Lys Asn Gly Gln Thr Met Asn Glu Lys Gln  
 485 490 495  
 Leu Phe His Gly Thr Asp Ala Gly Ser Val Pro His Val Asn Arg Asn  
 500 505 510  
 Gly Phe Asn Arg Ser Tyr Ala Gly Lys Asn Ala Val Ala Tyr Gly Lys  
 515 520 525  
 Gly Thr Tyr Phe Ala Val Asn Ala Asn Tyr Ser Ala Asn Asp Thr Tyr  
 530 535 540  
 Ser Arg Pro Asp Ala Asn Gly Arg Lys His Val Tyr Tyr Val Arg Val  
 545 550 555 560  
 Leu Thr Gly Ile Tyr Thr His Gly Asn His Ser Leu Ile Val Pro Pro  
 565 570 575  
 Ser Lys Asn Pro Gln Asn Pro Thr Asp Leu Tyr Asp Thr Val Thr Asp  
 580 585 590  
 Asn Val His His Pro Ser Leu Phe Val Ala Phe Tyr Asp Tyr Gln Ala  
 595 600 605  
 Tyr Pro Glu Tyr Leu Ile Thr Phe Arg Lys  
 610 615

<210> 3  
 <211> 1857  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

WO 02/48182

PCT/GB01/05496

8

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(1857)  
 <400> 3  
 atg aat ttg ccc aga agg gtt aag gaa aat ctc gtc agt gac aaa ttt 40  
 Met Asn Leu Pro Arg Arg Val Lys Glu Asn Leu Val Ser Asp Lys Phe  
 1 5 10 15  
 ccg aag gct aaa gat aca caa ggt ttt tat ggg act gtt tct agc cct 96  
 Pro Lys Ala Lys Asp Thr Gln Gly Phe Tyr Gly Thr Val Ser Ser Pro  
 20 25 30  
 gat tca ggt gtg tat gaa atg aag att gcc tcc atc atc ttc cag gtg 144  
 Asp Ser Gly Val Tyr Glu Met Lys Ile Gly Ser Ile Ile Phe Gln Val  
 35 40 45  
 gct tct gga gat atc acg aaa gaa gag gca gat gtg att gta aat tca 192  
 Ala Ser Gly Asp Ile Thr Lys Glu Glu Ala Asp Val Ile Val Asn Ser  
 50 55 60  
 aca tca aac tca ttc aat ctc aaa gca ggg gtc tcc aaa gca att tta 240  
 Thr Ser Asn Ser Phe Asn Leu Lys Ala Gly Val Ser Lys Ala Ile Leu  
 65 70 75 80  
 gaa tgt gct gga caa aat gta gaa agg gaa tgt tct cag caa gct cag 288  
 Glu Cys Ala Gly Gln Asn Val Glu Arg Glu Cys Ser Gln Gln Ala Gln  
 85 90 95  
 cag cgc aaa aat gat tat ata atc acc gga ggt gga ttt ttg agg tgc 336  
 Gln Arg Lys Asn Asp Tyr Ile Ile Thr Gly Gly Gly Phe Leu Arg Cys  
 100 105 110  
 aag aat atc att cat gta att ggt gga aat gat gtc aag agt tca gtt 384  
 Lys Asn Ile Ile His Val Ile Gly Gly Asn Asp Val Lys Ser Ser Val  
 115 120 125  
 tcc tct gtt ttg cag gag tgt gaa aaa aaa aat tac tca tcc att tgc 432  
 Ser Ser Val Leu Gln Glu Cys Glu Lys Lys Asn Tyr Ser Ser Ile Cys  
 130 135 140  
 ctc cca gcc att ggg aca gga aat gcc aaa caa cac cca gat aag gtt 480  
 Leu Pro Ala Ile Gly Thr Gly Asn Ala Lys Gln His Pro Asp Lys Val  
 145 150 155 160  
 gct gaa gcc ata att gat gcc att gaa gac ttt gtc cag aaa gga tca 528  
 Ala Glu Ala Ile Ile Asp Ala Ile Glu Asp Phe Val Gln Lys Gly Ser  
 165 170 175  
 gcc cag tct gtg aaa aaa gtt aaa gtt gtt atc ttt ctg cct caa gta 576  
 Ala Gln Ser Val Lys Lys Val Lys Val Val Ile Phe Leu Pro Gln Val  
 180 185 190

WO 02/48182

PCT/GB01/05496

9

ctg gat gtg ttt tat gct aac atg aag aaa aga gaa ggg act cag ctt Leu Asp Val Phe Tyr Ala Asn Met Lys Lys Arg Glu Gly Thr Gln Leu 195 200 205	624
tct tcc caa cag tct gtg atg tct aaa ctt gca tca ttt ttg ggc ttt Ser Ser Gln Gln Ser Val Met Ser Lys Leu Ala Ser Phe Leu Gly Phe 210 215 220	672
tca aag caa tct ccc caa aaa aag aat cat ttg gtt ttg gaa aag aaa Ser Lys Gln Ser Pro Gln Lys Lys Asn His Leu Val Leu Glu Lys Lys 225 230 235 240	720
aca gaa tca gca act ttt cgg gtg tgt ggt gaa aat gtc acg tgt gtg Thr Glu Ser Ala Thr Phe Arg Val Cys Gly Glu Asn Val Thr Cys Val 245 250 255	768
gaa tat gct atc tcc tgg cta caa gac ctg att gaa aaa gaa cag tgt Glu Tyr Ala Ile Ser Trp Leu Gln Asp Leu Ile Glu Lys Glu Gln Cys 260 265 270	816
cct tac acc agt gaa gat gag tgc atc aaa gac ttt gat gaa aag gag Pro Tyr Thr Ser Glu Asp Glu Cys Ile Lys Asp Phe Asp Glu Lys Glu 275 280 285	864
tat cag gag ttg aat gag ctg cag aag aag tta aat att aac att tcc Tyr Gln Glu Leu Asn Glu Leu Gln Lys Lys Leu Asn Ile Asn Ile Ser 290 295 300	912
ctg gac cat aag aga cct ttg att aag gtt ttg gga att agc aga gat Leu Asp His Lys Arg Pro Leu Ile Lys Val Leu Gly Ile Ser Arg Asp 305 310 315 320	960
gtg atg cag gct aga gat gaa att gag gcg atg etc aag aga gtt cga Val Met Gln Ala Arg Asp Glu Ile Glu Ala Met Ile Lys Arg Val Arg 325 330 335	1008
ttg gcc aaa gaa cag gaa tcc cgg gca gat tgt etc agt gag ttt ata Leu Ala Lys Glu Gln Glu Ser Arg Ala Asp Cys Ile Ser Glu Phe Ile 340 345 350	1056
gaa tgg cag tat aat gac aat aac act tct cat tgt ttt aac aaa atg Glu Trp Gln Tyr Asn Asp Asn Asn Thr Ser His Cys Phe Asn Lys Met 355 360 365	1104
acc aat ctg aaa tta gag gat gca agg aga gaa aag aaa aaa aca gtt Thr Asn Leu Lys Leu Glu Asp Ala Arg Arg Glu Lys Lys Lys Thr Val 370 375 380	1152
gat gtc aaa att aat cat cgg cac tac aca gtg aac ttg aac aca tac Asp Val Lys Ile Asn His Arg His Tyr Thr Val Asn Leu Asn Thr Tyr 385 390 395 400	1200
act gcc aca gac aca aag ggc cac agt tta tct gtt cag cgc ctc acg Thr Ala Thr Asp Thr Lys Gly His Ser Leu Ser Val Gln Arg Leu Thr 405 410 415	1248

WO 02/48182

PCT/GB01/05496

10

aaa tcc aaa gtt gac atc cct gca cac tgg agt gat atg aag cag cag Lys Ser Lys Val Asp Ile Pro Ala His Trp Ser Asp Met Lys Gln Gln 420 425 430	1296
aat ttc tgt gtg gtg gag ctg ctg cct agt gat cct gag tac aac acg Asn Phe Cys Val Val Glu Leu Leu Pro Ser Asp Pro Glu Tyr Asn Thr 435 440 445	1344
gtg gca agc aag ttt aat cag acc tgc tca cac ttc aga ata gag aag Val Ala Ser Lys Phe Asn Gln Thr Cys Ser His Phe Arg Ile Glu Lys 450 455 460	1392
att gag agg atc cag aat cca gat ctc tgg aat agc tac cag gca aag Ile Glu Arg Ile Gln Asn Pro Asp Leu Trp Asn Ser Tyr Gln Ala Lys 465 470 475 480	1440
aaa aaa act atg gat gcc aag aat ggc cag aca atg aat gag aag caa Lys Lys Thr Met Asp Ala Lys Asn Gly Gln Thr Met Asn Glu Lys Gln 485 490 495	1488
ctc ttc cat ggg aca gat gcc ggc tcc gtg cca cac gtc aat cga aat Leu Phe His Gly Thr Asp Ala Gly Ser Val Pro His Val Asn Arg Asn 500 505 510	1536
ggc ttt aac cgc agc tat gcc gga aag aat gcc gtg gca tat gga aag Gly Phe Asn Arg Ser Tyr Ala Gly Lys Asn Ala Val Ala Tyr Gly Lys 515 520 525	1584
gga acc tat ttt gct gtc aat gcc aat tat tct gcc aat gat acg tac Gly Thr Tyr Phe Ala Val Asn Ala Asn Tyr Ser Ala Asn Asp Thr Tyr 530 535 540	1632
tcc aga cca gat gca aat ggg aga aag cat gtg tat tat gtg cga gta Ser Arg Pro Asp Ala Asn Gly Arg Lys His Val Tyr Tyr Val Arg Val 545 550 555 560	1680
ctt act gga atc tat aca cat gga aat cat tca tta att gtg cct cct Leu Thr Gly Ile Tyr Thr His Gly Asn His Ser Leu Ile Val Pro Pro 565 570 575	1728
tca aag aac cct caa aat cct act gac ctg tat gac act gtc aca gat Ser Lys Asn Pro Gln Asn Pro Thr Asp Leu Tyr Asp Thr Val Thr Asp 580 585 590	1776
aat gtg cac cat cca agt tta ttt gtg gca ttt tat gac tac caa gca Asn Val His His Pro Ser Leu Phe Val Ala Phe Tyr Asp Tyr Gln Ala 595 600 605	1824
tac cca gag tac ctt att acg ttt aga aaa taa Tyr Pro Glu Tyr Leu Ile Thr Phe Arg Lys 610 615	1857

## 【国際公開パンフレット(コレクション)】

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization  
International Bureau(43) International Publication Date  
20 June 2002 (20.06.2002)

PCT

(10) International Publication Number  
WO 02/048182 A3

- (51) International Patent Classification: C07K 14/00 (81) Designated States (national): AE, AG, AI, 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, GI, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, 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.
- (21) International Application Number: PCT/GB01/05496
- (22) International Filing Date: 11 December 2001 (11.12.2001)
- (25) Filing Language: English
- (26) Publication Language: English
- (30) Priority Data: 0030184.6 11 December 2000 (11.12.2000) GB
- (71) Applicant (for all designated States except US): PHARMA PACIFIC PTY. LTD [AU/AU]; 103-105 Pipe Road, Laverton North, VIC 3026 (AU).
- (84) Designated States (regional): ARIPO patent (GH, GM, KI, LS, MW, MZ, SD, SI, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NI, SN, TD, TG).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): MERITET, Jean-Francois [FR/FR]; 62, rue de Piepus, F-75012 Paris (FR). DRON, Michel [FR/FR]; 22, avenue des Cottages, F-92340 Bourg-la Reine (FR). TOVEY, Michael, Gerard [GB/FR]; 7, rue Lagrange, F-75005 Paris (FR).

(74) Agent: IRVINE, Jonquil, Claire; J.A. Kemp & Co., 14 South Square, Gray's Inn, London WC1R 5JJ (GB).

Published:

with international search report

(88) Date of publication of the international search report: 6 September 2002

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.



WO 02/048182 A3

(54) Title: INTERFERON-ALPHA INDUCED GENE

(57) Abstract: The present invention relates to identification of a gene upregulated by interferon- $\alpha$  administration corresponding to the cDNA sequence set forth in SEQ.ID. No. 1. Determination of expression products of this gene is proposed as having utility in: predicting responsiveness to treatment with interferon- $\alpha$  and other interferons which act at the Type 1 interferon receptor. Therapeutic use of the protein encoded by the same gene is also envisaged.

## 【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International Application No. PCT/GB 01/05496
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 C07K14/00		
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) IPC 7 C07K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 0 242 329 A (CIBA GEIGY AG) 21 October 1987 (1987-10-21) abstract page 71 -page 79 ---	1-14, 19, 21
X	US 5 834 235 A (RICH STEVEN A ET AL) 10 November 1998 (1998-11-10) abstract ---	1,2
P,X	WO 01 59155 A (PHARMA PACIFIC PTY LTD ;MERITET JEAN FRANCOIS (FR); DRON MICHEL (F) 16 August 2001 (2001-08-16) abstract page 51 -page 52 --- -/--	1-24
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.		
* Special categories of cited documents:		
*A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance		
*E* earlier document but published on or after the international filing date		
*L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)		
*O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means		
*P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
*T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention		
*X* document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone		
*Y* document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art		
*Z* document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 8 May 2002	Date of mailing of the international search report 18/06/2002	
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel: (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer Weijland, A	

Form PCT/ISA(210) (second sheet) (July 1992)

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

In	International Application No
	PCT/GB 01/05496

G.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P,X	WO 01 42301 A (PHARMA PACIFIC PTY LTD ;MERITET JEAN FRANCOIS (FR); DRON MICHEL (F) 14 June 2001 (2001-06-14) abstract page 23 -page 25	1-25
X	--- HORSBERGER M A ET AL.: "IFN-ALPHA INDUCED HUMAN 78 KD PROTEIN: PURIFICATION AND HOMOLOGIES WITH THE MOUSE MX PROTEIN, PRODUCTION OF MONOCLONAL ANTIBODIES, AND POTENTIATION EFFECT OF IFN-GAMMA" JOURNAL OF INTERFERON RESEARCH, MARY ANN LIEBERT, INC., NEW YORK, NY, US, vol. 7, 1 August 1987 (1987-08-01), pages 331-343, XP002059946 ISSN: 0197-8357 the whole document	1,2,21
P,X	--- WO 01 58937 A (PHARMA PACIFIC PTY LTD ;MERITET JEAN FRANCOIS (FR); DRON MICHEL (F) 16 August 2001 (2001-08-16) page 29 -page 31	1,2

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (July 1992)

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**  
 Information on patent family members

 International Application No.  
**PCT/GB 01/05496**

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 0242329	A	21-10-1987	AT 125304 T 15-08-1995
			AU 608216 B2 28-03-1991
			AU 7151087 A 22-10-1987
			CA 1340289 A1 29-12-1998
			DE 3751409 D1 24-08-1995
			DE 3751409 T2 25-01-1996
			DK 193187 A 16-10-1987
			EP 0242329 A2 21-10-1987
			ES 2074420 T3 16-09-1995
			IE 67564 B1 17-04-1996
			JP 2572956 B2 16-01-1997
			JP 7236497 A 12-09-1995
			JP 2107176 C 06-11-1996
			JP 8022880 B 06-03-1996
			JP 62270599 A 24-11-1987
			PT 84670 A , B 01-05-1987
			US 5466585 A 14-11-1995
			US 5739290 A 14-04-1998
			US 5198350 A 30-03-1993
			US 5869264 A 09-02-1999
US 5834235	A	10-11-1998	US 6060279 A 09-05-2000
WO 0159155	A	16-08-2001	AU 3208801 A 20-08-2001
			WO 0159155 A2 16-08-2001
WO 0142301	A	14-06-2001	AU 1873201 A 18-06-2001
			WO 0142301 A1 14-06-2001
WO 0158937	A	16-08-2001	AU 3384701 A 20-08-2001
			WO 0158937 A2 16-08-2001

## フロントページの続き

(51) Int.Cl. <sup>7</sup>	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 P 35/00	A 6 1 P 37/02	4 C 0 8 4
A 6 1 P 37/02	A 6 1 P 43/00	4 H 0 4 5
A 6 1 P 43/00	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 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 P 21/02	C
C 1 2 N 5/10	C 1 2 Q 1/02	
C 1 2 P 21/02	C 1 2 Q 1/68	A
C 1 2 Q 1/02	G 0 1 N 33/15	Z
C 1 2 Q 1/68	G 0 1 N 33/50	Z
G 0 1 N 33/15	G 0 1 N 33/53	M
G 0 1 N 33/50	G 0 1 N 37/00	1 0 2
G 0 1 N 33/53	C 1 2 N 5/00	A
G 0 1 N 37/00	A 6 1 K 37/02	

(81) 指定国 AP(GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, 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 メリテ、ジャン - フランソワ  
フランス国 パリ、リュ デ ビクピュス、6 2

(72) 発明者 ドロン、ミシェル  
フランス国 ブール ラ レヌ、アブニュ デ コテッジ、2 2

(72) 発明者 トヴィ、マイケル、ジェラード  
フランス国 パリ、リュ ラグランジ、7

F ターム(参考) 2G045 AA40 BB03 BB20 CB01 CB17 CB21 DA12 DA13 DA14 DA37  
FB02 HA16  
4B024 AA01 AA11 BA80 CA04 CA09 CA12 CA20 DA02 FA01 GA11  
HA11 HA13 HA14 HA17  
4B063 QA01 QA05 QA19 QA20 QQ21 QQ41 QQ53 QQ61 QQ79 QQ89  
QR08 QR32 QR35 QR40 QR42 QR48 QR56 QR62 QR77 QS16  
QS25 QS33 QS34 QS36 QX01 QX02  
4B064 AG01 CA01 CA19 CC01 CC24 DA01 DA13  
4B065 AA01X AA58X AA72X AA87X AA93Y AC14 BA02 CA24 CA43 CA44  
CA46  
4C084 AA02 AA06 AA07 AA13 BA01 BA22 CA53 DC50 ZB032 ZB212  
ZB262 ZB332  
4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 BA10 CA40 DA75 EA20 EA22 EA50  
FA71 FA74

专利名称(译)	干扰素- $\alpha$ 诱导型基因		
公开(公告)号	<a href="#">JP2004515244A</a>	公开(公告)日	2004-05-27
申请号	JP2002549713	申请日	2001-12-11
申请(专利权)人(译)	太平洋制药有限公司专有		
[标]发明人	メリテジャンフランソワ ドロンミシエル トヴィマイケルジェラード		
发明人	メリテ、ジャン - フランソワ ドロン、ミシエル トヴィ、マイケル、ジェラード		
IPC分类号	A01K67/027 A61K38/00 A61K48/00 A61P31/12 A61P35/00 A61P37/02 A61P43/00 C07K14/47 C07K16/18 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C12N15/09 C12P21/02 C12Q1/02 C12Q1/68 G01N33/15 G01N33/50 G01N33/53 G01N37/00		
CPC分类号	A61P31/12 A61P35/00 A61P37/02 A61P43/00 C07K14/47		
FI分类号	C12N15/00.ZNA.A A01K67/027 A61K48/00 A61P31/12 A61P35/00 A61P37/02 A61P43/00.117 C07K14/47 C07K16/18 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12P21/02.C C12Q1/02 C12Q1/68.A G01N33/15.Z G01N33/50.Z G01N33/53.M G01N37/00.102 C12N5/00.A A61K37/02		
F-TERM分类号	2G045/AA40 2G045/BB03 2G045/BB20 2G045/CB01 2G045/CB17 2G045/CB21 2G045/DA12 2G045/DA13 2G045/DA14 2G045/DA37 2G045/FB02 2G045/HA16 4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/BA80 4B024/CA04 4B024/CA09 4B024/CA12 4B024/CA20 4B024/DA02 4B024/FA01 4B024/GA11 4B024/HA11 4B024/HA13 4B024/HA14 4B024/HA17 4B063/QA01 4B063/QA05 4B063/QA19 4B063/QA20 4B063/QQ21 4B063/QQ41 4B063/QQ53 4B063/QQ61 4B063/QQ79 4B063/QQ89 4B063/QR08 4B063/QR32 4B063/QR35 4B063/QR40 4B063/QR42 4B063/QR48 4B063/QR56 4B063/QR62 4B063/QR77 4B063/QS16 4B063/QS25 4B063/QS33 4B063/QS34 4B063/QS36 4B063/QX01 4B063/QX02 4B064/AG01 4B064/CA01 4B064/CA19 4B064/CC01 4B064/CC24 4B064/DA01 4B064/DA13 4B065/AA01X 4B065/AA58X 4B065/AA72X 4B065/AA87X 4B065/AA93Y 4B065/AC14 4B065/BA02 4B065/CA24 4B065/CA43 4B065/CA44 4B065/CA46 4C084/AA02 4C084/AA06 4C084/AA07 4C084/AA13 4C084/BA01 4C084/BA22 4C084/CA53 4C084/DC50 4C084/ZB032 4C084/ZB212 4C084/ZB262 4C084/ZB332 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/CA40 4H045/DA75 4H045/EA20 4H045/EA22 4H045/EA50 4H045/FA71 4H045/FA74		
代理人(译)	池田幸		
优先权	2000030184 2000-12-11 GB		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		

#### 摘要(译)

本发明涉及对应于SEQ.ID.ID.1所示cDNA序列的干扰素- $\alpha$ 给药上调的基因的鉴定。No.1。该基因表达产物的测定被认为可用于预测对用于干扰素- $\alpha$ 和其他作用于1型干扰素受体的干扰素治疗的反应性。还设想了由相同基因编码的蛋白质的治疗用途。

(5) Int. Cl. <sup>7</sup>		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 0 4 5
A O 1 K	67/027	A O 1 K	67/027		4 B 0 2 4
A 6 1 K	38/00	A 6 1 K	48/00		4 B 0 6 3
A 6 1 K	48/00	A 6 1 P	31/12		4 B 0 6 4
A 6 1 P	31/12	A 6 1 P	35/00		4 B 0 6 5
		審査請求	未請求	予備審査請求	有 (全 59 頁) 最終頁に付

  

(2) 出願番号	特願2002-549713 (P2002-549713)	(7) 出願人	502210552
(6) (2) 出願日	平成13年12月11日 (2001.12.11)		ファーマ バシフィック プロプライエ
(8) 翻訳文提出日	平成15年6月10日 (2003.6.10)		リー リミテッド
(8) 国際出願番号	PCT/GB2001/005496		オーストラリア、ビクトリア、レイバ
(8) 国際公開番号	W02002/048182		トン ノース、 バイブ ロード 1 0
(8) 国際公開日	平成14年6月20日 (2002.6.20)		- 1 0 5
(3) 優先権主張番号	0030184.6	(7) 代理人	100066892
(3) 優先日	平成12年12月11日 (2000.12.11)		弁理士 浅村 皓
(3) 優先権主張国	イギリス (GB)	(7) 代理人	100072040
			弁理士 浅村 肇
		(7) 代理人	100088926
			弁理士 長沼 曜夫
		(7) 代理人	100102897
			弁理士 池田 幸弘

最終頁に続く