

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2004-131471

(P2004-131471A)

(43) 公開日 平成16年4月30日(2004.4.30)

(51) Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 38/00	A 6 1 K 37/02 Z N A	2 G O 4 5
A O 1 K 67/027	A O 1 K 67/027	4 B O 2 4
A 6 1 K 31/7088	A 6 1 K 31/7088	4 B O 6 3
A 6 1 K 39/395	A 6 1 K 39/395 D	4 B O 6 5
A 6 1 K 45/00	A 6 1 K 39/395 N	4 C O 8 4
審査請求 未請求 請求項の数 56 O L (全 115 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2003-206386 (P2003-206386)	(71) 出願人	000002934 武田薬品工業株式会社
(22) 出願日	平成15年8月7日(2003.8.7)		大阪府大阪市中央区道修町四丁目1番1号
(31) 優先権主張番号	特願2002-232684 (P2002-232684)	(74) 代理人	100114041 弁理士 高橋 秀一
(32) 優先日	平成14年8月9日(2002.8.9)		
(33) 優先権主張国	日本国 (JP)	(74) 代理人	100106323 弁理士 関口 陽
		(72) 発明者	春日 久男 大阪府豊中市永楽荘1丁目9-5-215
		(72) 発明者	日沼 州司 茨城県つくば市春日1丁目7-9-140 2
		(72) 発明者	宮下 英昭 大阪府羽曳野市羽曳が丘西1-5-36
最終頁に続く			

(54) 【発明の名称】 RFRPおよびOT7T022の新規用途

(57) 【要約】

【課題】 RFRPおよびOT7T022の新規用途の提供。

【解決手段】 RFRPおよびOT7T022またはそれらをコードするDNAやOT7T022アゴニストは筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加または筋力低下などの予防・治療・改善薬として有用である。また、OT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物は、上記疾患の予防・治療・改善薬のスクリーニングに有用である。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】

【請求項1】

配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤。

【請求項2】

ポリペプチドが配列番号：1、配列番号：3、配列番号：5、配列番号：7、配列番号：9または配列番号：22で表されるアミノ酸配列からなるポリペプチドである請求項1記載の剤。

10

【請求項3】

部分ペプチドが、

(i) 配列番号：1または配列番号：3で表わされるアミノ酸配列の第56番目(Ser)～第92番目(Phe)、第70番目(Met)～第92番目(Phe)、第73番目(Met)～第92番目(Phe)、第81番目(Met)～第92番目(Phe)または第84番目(Ser)～第92番目(Phe)のアミノ酸配列からなるペプチド、

(ii) 配列番号：1または配列番号：3で表わされるアミノ酸配列の第101番目(Ser)～第112番目(Ser)のアミノ酸配列からなるペプチド、

(iii) 配列番号：1または配列番号：3で表わされるアミノ酸配列の第101番目(Asn)～第131番目(Phe)、第104番目(Asn)～第131番目(Phe)、第115番目(Asn)～第131番目(Phe)、第124番目(Val)～第131番目(Phe)、第125番目(Pro)～第131番目(Phe)、第126番目(Asn)～第131番目(Phe)または第127番目(Leu)～第131番目(Phe)のアミノ酸配列からなるペプチド、

20

(iv) 配列番号：5で表わされるアミノ酸配列の第58番目(Ser)～第92番目(Phe)、第70番目(Lys)～第92番目(Phe)、第73番目(Met)～第92番目(Phe)、第81番目(Met)～第92番目(Phe)または第84番目(Ser)～第92番目(Phe)のアミノ酸配列からなるペプチド、

(v) 配列番号：5で表わされるアミノ酸配列の第101番目(Ser)～第112番目(Leu)のアミノ酸配列からなるペプチド、

30

(vi) 配列番号：5で表わされるアミノ酸配列の第101番目(Ser)～第131番目(Phe)、第104番目(Ala)～第131番目(Phe)、第115番目(Asn)～第131番目(Phe)、第124番目(Val)～第131番目(Phe)、第125番目(Pro)～第131番目(Phe)、第126番目(Asn)～第131番目(Phe)または第127番目(Leu)～第131番目(Phe)のアミノ酸配列からなるペプチド、

(vii) 配列番号：9で表わされるアミノ酸配列の第58番目(Ser)～第94番目(Phe)、第72番目(Val)～第94番目(Phe)、第75番目(Met)～第94番目(Phe)、第83番目(Val)～第94番目(Phe)または第84番目(Pro)～第94番目(Phe)のアミノ酸配列からなるペプチド、

40

(viii) 配列番号：9で表わされるアミノ酸配列の第118番目(Phe)～第125番目(Phe)、第119番目(Pro)～第125番目(Phe)、第120番目(Ser)～第125番目(Phe)または第121番目(Leu)～第125番目(Phe)のアミノ酸配列からなるペプチド、

(ix) 配列番号：7または22で表わされるアミノ酸配列の第58番目(Ser)～第94番目(Phe)、第72番目(Asp)～第94番目(Phe)、第75番目(Met)～第94番目(Phe)、第83番目(Val)～第94番目(Phe)または第84番目(Pro)～第94番目(Phe)のアミノ酸配列からなるペプチド、

(x) 配列番号：7または22で表わされるアミノ酸配列の第118番目(Phe)～第125番目(Phe)、第119番目(Pro)～第125番目(Phe)、第120番

50

目 (S e r) ~ 第 1 2 5 番目 (P h e) または第 1 2 1 番目 (L e u) ~ 第 1 2 5 番目 (P h e) のアミノ酸配列からなるペプチド、
 (x i) 上記 (i) ~ (x) のペプチドのアミノ酸配列中の 1 ~ 5 個のアミノ酸が欠失したアミノ酸配列からなるペプチド、
 (x i i) 上記 (i) ~ (x) のペプチドのアミノ酸配列に 1 ~ 5 個のアミノ酸が付加したアミノ酸配列からなるペプチド、
 (x i i i) 上記 (i) ~ (x) のペプチドのアミノ酸配列に 1 ~ 5 個のアミノ酸が挿入されたアミノ酸配列からなるペプチド、
 (x i v) 上記 (i) ~ (x) のペプチドのアミノ酸配列中の 1 ~ 5 個のアミノ酸で置換されたアミノ酸配列からなるペプチド、または
 (x v) 上記 (x i) ~ (x i v) の欠失・付加・挿入・置換を組み合わせたアミノ酸配列からなるペプチドである請求項 1 記載の剤。

10

【請求項 4】

配列番号：1 で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドをコードする DNA を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤。

【請求項 5】

DNA が配列番号：1、配列番号：3、配列番号：5、配列番号：7、配列番号：9 または配列番号：22 で表されるアミノ酸配列からなるポリペプチドをコードする DNA である請求項 4 記載の剤。

20

【請求項 6】

DNA が、
 (i) 配列番号：1 または配列番号：3 で表わされるアミノ酸配列の第 5 6 番目 (S e r) ~ 第 9 2 番目 (P h e)、第 7 0 番目 (M e t) ~ 第 9 2 番目 (P h e)、第 7 3 番目 (M e t) ~ 第 9 2 番目 (P h e)、第 8 1 番目 (M e t) ~ 第 9 2 番目 (P h e) または第 8 4 番目 (S e r) ~ 第 9 2 番目 (P h e) のアミノ酸配列からなるペプチド、
 (i i) 配列番号：1 または配列番号：3 で表わされるアミノ酸配列の第 1 0 1 番目 (S e r) ~ 第 1 1 2 番目 (S e r) のアミノ酸配列からなるペプチド、
 (i i i) 配列番号：1 または配列番号：3 で表わされるアミノ酸配列の第 1 0 1 番目 (A s n) ~ 第 1 3 1 番目 (P h e)、第 1 0 4 番目 (A s n) ~ 第 1 3 1 番目 (P h e)、第 1 1 5 番目 (A s n) ~ 第 1 3 1 番目 (P h e)、第 1 2 4 番目 (V a l) ~ 第 1 3 1 番目 (P h e)、第 1 2 5 番目 (P r o) ~ 第 1 3 1 番目 (P h e)、第 1 2 6 番目 (A s n) ~ 第 1 3 1 番目 (P h e) または第 1 2 7 番目 (L e u) ~ 第 1 3 1 番目 (P h e) のアミノ酸配列からなるペプチド、
 (i v) 配列番号：5 で表わされるアミノ酸配列の第 5 8 番目 (S e r) ~ 第 9 2 番目 (P h e)、第 7 0 番目 (L y s) ~ 第 9 2 番目 (P h e)、第 7 3 番目 (M e t) ~ 第 9 2 番目 (P h e)、第 8 1 番目 (M e t) ~ 第 9 2 番目 (P h e) または第 8 4 番目 (S e r) ~ 第 9 2 番目 (P h e) のアミノ酸配列からなるペプチド、
 (v) 配列番号：5 で表わされるアミノ酸配列の第 1 0 1 番目 (S e r) ~ 第 1 1 2 番目 (L e u) のアミノ酸配列からなるペプチド、
 (v i) 配列番号：5 で表わされるアミノ酸配列の第 1 0 1 番目 (S e r) ~ 第 1 3 1 番目 (P h e)、第 1 0 4 番目 (A l a) ~ 第 1 3 1 番目 (P h e)、第 1 1 5 番目 (A s n) ~ 第 1 3 1 番目 (P h e)、第 1 2 4 番目 (V a l) ~ 第 1 3 1 番目 (P h e)、第 1 2 5 番目 (P r o) ~ 第 1 3 1 番目 (P h e)、第 1 2 6 番目 (A s n) ~ 第 1 3 1 番目 (P h e) または第 1 2 7 番目 (L e u) ~ 第 1 3 1 番目 (P h e) のアミノ酸配列からなるペプチド、
 (v i i) 配列番号：9 で表わされるアミノ酸配列の第 5 8 番目 (S e r) ~ 第 9 4 番目 (P h e)、第 7 2 番目 (V a l) ~ 第 9 4 番目 (P h e)、第 7 5 番目 (M e t) ~ 第 9 4 番目 (P h e)、第 8 3 番目 (V a l) ~ 第 9 4 番目 (P h e) または第 8 4 番目 (

30

40

50

Pro) ~ 第 94 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド、
 (viii) 配列番号：9 で表わされるアミノ酸配列の第 118 番目 (Phe) ~ 第 125 番目 (Phe)、第 119 番目 (Pro) ~ 第 125 番目 (Phe)、第 120 番目 (Ser) ~ 第 125 番目 (Phe) または第 121 番目 (Leu) ~ 第 125 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド、
 (ix) 配列番号：7 または 22 で表わされるアミノ酸配列の第 58 番目 (Ser) ~ 第 94 番目 (Phe)、第 72 番目 (Asp) ~ 第 94 番目 (Phe)、第 75 番目 (Met) ~ 第 94 番目 (Phe)、第 83 番目 (Val) ~ 第 94 番目 (Phe) または第 84 番目 (Pro) ~ 第 94 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド、
 (x) 配列番号：7 または 22 で表わされるアミノ酸配列の第 118 番目 (Phe) ~ 第 125 番目 (Phe)、第 119 番目 (Pro) ~ 第 125 番目 (Phe)、第 120 番目 (Ser) ~ 第 125 番目 (Phe) または第 121 番目 (Leu) ~ 第 125 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド、
 (xi) 上記 (i) ~ (x) のペプチドのアミノ酸配列中の 1 ~ 5 個のアミノ酸が欠失したアミノ酸配列からなるペプチド、
 (xii) 上記 (i) ~ (x) のペプチドのアミノ酸配列に 1 ~ 5 個のアミノ酸が付加したアミノ酸配列からなるペプチド、
 (xiii) 上記 (i) ~ (x) のペプチドのアミノ酸配列に 1 ~ 5 個のアミノ酸が挿入されたアミノ酸配列からなるペプチド、
 (xiv) 上記 (i) ~ (x) のペプチドのアミノ酸配列中の 1 ~ 5 個のアミノ酸で置換されたアミノ酸配列からなるペプチド、または
 (xv) 上記 (xi) ~ (xiv) の欠失・付加・挿入・置換を組み合わせたアミノ酸配列からなるペプチド、
 をコードする DNA である請求項 4 記載の剤。

【請求項 7】

配列番号：1 で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドをコードする DNA を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温変化、白血球数変化、血小板数変化、自発行動量の変化または筋力変化の診断剤。

【請求項 8】

配列番号：1 で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩に対する抗体を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量の減少の予防・治療・改善剤。

【請求項 9】

配列番号：1 で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩に対する抗体を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温変化、白血球数変化、血小板数変化、自発行動量の変化、筋力変化の診断剤。

【請求項 10】

配列番号：1 で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドをコードする DNA に相補的な塩基配列またはその一部を含有するアンチセンス DNA を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量の減少の予防・治療・改善剤。

【請求項 11】

配列番号：1 で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドの発現量を増加させる化合物またはその塩を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板減少、自発行動量の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤。

【請求項 12】

10

20

30

40

50

配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドの発現量を減少させる化合物またはその塩を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量の減少の予防・治療・改善剤。

【請求項13】

配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤。

【請求項14】

OT7T022が配列番号：11または配列番号：24で表されるアミノ酸配列からなるレセプター蛋白質である請求項13記載の剤。

【請求項15】

配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドをコードするDNAを含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤。

【請求項16】

DNAが配列番号：11または配列番号：24で表されるアミノ酸配列からなるレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドをコードするDNAである請求項15記載の剤。

【請求項17】

配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドをコードするDNAを含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温変化、白血球数変化、血小板数変化、自発行動量の変化または筋力変化の診断剤。

【請求項18】

配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対する抗体を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量の減少の予防・治療・改善剤。

【請求項19】

配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対する抗体を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温変化、白血球数変化、血小板数変化、自発行動量の変化または筋力変化の診断剤。

【請求項20】

配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドをコードするDNAに相補的な塩基配列またはその一部を含有するアンチセンスDNAを含有してなる筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量の減少の予防・治療・改善剤。

【請求項21】

配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対するアゴニストを含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤。

【請求項22】

配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対するアンタ

10

20

30

40

50

ゴニストを含有してなる筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量の減少の予防・治療・改善剤。

【請求項 2 3】

配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドの発現量を増加させる化合物またはその塩を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤。

【請求項 2 4】

配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドの発現量を減少させる化合物またはその塩を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量の減少の予防・治療・改善剤。

10

【請求項 2 5】

哺乳動物に対して、

(i) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩、

(ii) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドをコードするDNA、

20

(iii) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドの発現量を増加させる化合物またはその塩、

(iv) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩、

(v) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドをコードするDNA、

(vi) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対するアゴニスト、または

30

(vii) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドの発現量を増加させる化合物またはその塩の有効量を投与することを特徴とする筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加または筋力低下の予防・治療・改善方法。

【請求項 2 6】

哺乳動物に対して、

(i) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩に対する抗体、

40

(ii) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドをコードするDNAに相補的な塩基配列またはその一部を含有するアンチセンスDNA、

(iii) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドの発現量を減少させる化合物またはその塩、

(iv) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対する抗体、

50

(v) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドをコードするDNAに相補的な塩基配列またはその一部を含有するアンチセンスDNA、

(vi) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対するアンタゴニスト、または

(vii) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドの発現量を減少させる化合物またはその塩の有効量を投与することを特徴とする筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量の減少の予防・治療・改善方法。

10

【請求項27】

筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤を製造するための

(i) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩、

(ii) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドをコードするDNA、(iii) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有する

20

ポリペプチドまたはその部分ペプチドの発現量を増加させる化合物またはその塩、

(iv) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩、

(v) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドをコードするDNA、

(vi) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対するアゴニスト、または

(vii) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドの発現量を増加させる化合物またはその塩の使用。

30

【請求項28】

筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量の減少の予防・治療・改善剤を製造するための

(i) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩に対する抗体、

(ii) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドをコードするDNAに相補的な塩基配列またはその一部を含有するアンチセンスDNA、

40

(iii) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドの発現量を減少させる化合物またはその塩、

(iv) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対する抗体、

(v) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドをコードするDNAに相補的な塩基配列またはその一部を含有するアンチセンスDNA、

50

(v i) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対するアンタゴニスト、または

(v i i) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドの発現量を減少させる化合物またはその塩の使用。

【請求項29】

OT7T022遺伝子が不活性化された哺乳動物胚幹細胞。

【請求項30】

薬剤耐性である請求項29記載の胚幹細胞。

10

【請求項31】

薬剤がネオマイシンである請求項29記載の胚幹細胞。

【請求項32】

レポーター遺伝子の挿入によりOT7T022遺伝子が不活性化された請求項29記載の胚幹細胞。

【請求項33】

レポーター遺伝子がlacZ遺伝子である請求項32記載の胚幹細胞。

【請求項34】

哺乳動物がマウスである請求項29記載の胚幹細胞。

【請求項35】

OT7T022遺伝子が配列番号：12、配列番号：25、配列番号：26、配列番号：28または配列番号：32で表わされる塩基配列を含有する遺伝子である請求項29記載の胚幹細胞。

20

【請求項36】

OT7T022遺伝子発現不全非ヒト哺乳動物。

【請求項37】

レポーター遺伝子の挿入によりOT7T022遺伝子が不活性化された請求項36記載の動物。

【請求項38】

非ヒト哺乳動物がマウスである請求項36記載の動物。

30

【請求項39】

OT7T022遺伝子が配列番号：12、配列番号：28または配列番号：32で表わされる塩基配列を含有する遺伝子である請求項36記載の動物。

【請求項40】

野生型非ヒト哺乳動物に比べて、胸腺退縮遅延がみられる請求項36記載の動物。

【請求項41】

野生型非ヒト哺乳動物に比べて、後退歩行がみられる請求項36記載の動物。

【請求項42】

野生型非ヒト哺乳動物に比べて、侵害刺激に対して鈍麻がみられる請求項36記載の動物。

40

【請求項43】

野生型非ヒト哺乳動物に比べて、攻撃的行動が多い請求項36記載の動物。

【請求項44】

野生型非ヒト哺乳動物に比べて、腎臓絶対重量または胸腺絶対重量の低下がみられる請求項36記載の動物。

【請求項45】

野生型非ヒト哺乳動物に比べて、白血球数または血小板数の減少がみられる請求項36記載の動物。

【請求項46】

野生型非ヒト哺乳動物に比べて、筋力が低下している請求項36記載の動物。

50

【請求項 47】

請求項 36 記載の動物もしくはその組織またはそれらに由来する細胞を用いることを特徴とする、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加または筋力低下の予防・治療・改善薬のスクリーニング方法。

【請求項 48】

請求項 36 記載の動物もしくはその組織またはそれらに由来する細胞に試験化合物を投与することを特徴とする請求項 47 記載のスクリーニング方法。

【請求項 49】

請求項 36 記載の動物と他の病態モデル動物との交配によって生じる病態モデル動物。

【請求項 50】

請求項 36 記載の動物に対する薬剤誘発またはストレス負荷によって生じる病態モデル動物。

【請求項 51】

請求項 49 記載の動物に対する薬剤誘発またはストレス負荷によって生じる病態モデル動物。

【請求項 52】

請求項 49 ~ 51 のいずれかに記載の動物もしくはその組織またはそれらに由来する細胞を用いることを特徴とする、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加または筋力低下の予防・治療・改善薬のスクリーニング方法。

【請求項 53】

請求項 49 ~ 51 のいずれかに記載の動物もしくはその組織またはそれらに由来する細胞に試験化合物を投与することを特徴とする、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加または筋力低下の予防・治療・改善薬のスクリーニング方法。

【請求項 54】

請求項 37 記載の動物に、試験化合物を投与し、レポーター遺伝子の発現を検出することを特徴とする OT7T022 遺伝子に対するプロモーター活性を促進または阻害する化合物またはその塩のスクリーニング方法。

【請求項 55】

配列番号：1 で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩、および（または）配列番号：11 で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質 OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩を用いることを特徴とする筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加、筋力低下、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量の減少の予防・治療・改善薬のスクリーニング方法。

【請求項 56】

配列番号：1 で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩、および（または）配列番号：11 で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質 OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇

10

20

30

40

50

、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加、筋力低下、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量の減少の予防・治療・改善薬のスクリーニング用キット。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、RF RPおよびRF RPのレセプター蛋白質であるOT 7 T 0 2 2の新規用途に関する。

さらに、本発明は、OT 7 T 0 2 2遺伝子が不活性化された非ヒト哺乳動物の胚幹細胞、OT 7 T 0 2 2遺伝子発現不全非ヒト哺乳動物、それらを用いるスクリーニング方法およびそのスクリーニングによって得られうる予防・治療・改善薬などに関する。

10

【0002】

【従来の技術】

新規な受容体OT 7 T 0 2 2とそれに結合するC末端がL P L R F a m i d e様、L P L R S a m i d e様、L P Q R F a m i d e様またはL P L R L a m i d e様のペプチド(R F R P - 1、R F R P - 2、R F R P - 3)が報告されている(特許文献1)。

OT 7 T 0 2 2とR F R P - 1、R F R P - 2、R F R P - 3がプロラクチン分泌に関与していることが報告されている(特許文献2)。

R F R P - 1に対応するN P S FやR F R P - 3に対応するN P V FがOT 7 T 0 2 2に結合し、抗オピオイドに関与していることが記載されている(非特許文献1)。

20

しかし、RF RPおよびOT 7 T 0 2 2の生体内における機能および作用機序については、さらに解明すべき点が数多く残されている。

【0003】

【特許文献1】

W O 0 0 / 2 9 4 4 1号

【特許文献2】

W O 0 1 / 6 6 1 3 4号

【非特許文献1】

The Journal of Biological Chemistry, vol . 276, No. 40, p 36961 - 36969, 2001

30

【0004】

【発明が解決しようとする課題】

OT 7 T 0 2 2遺伝子が不活性化された非ヒト動物ES細胞の作製に成功すれば、OT 7 T 0 2 2遺伝子発現不全非ヒト動物を作出することができる。そして、得られるOT 7 T 0 2 2遺伝子発現不全非ヒト動物は、OT 7 T 0 2 2により誘導され得る種々の生物活性を欠失するため、OT 7 T 0 2 2の生物活性の不活性化を原因とする疾病のモデルとなり、これらの疾病の原因究明および治療法の検討が可能となる。

本発明は、RF RPおよびOT 7 T 0 2 2のさらなる機能を解明し、新たな医薬を提供することを課題とする。

40

【0005】

【課題を解決するための手段】

本発明者らは、上記の課題に鑑み、鋭意研究を重ねた結果、OT 7 T 0 2 2遺伝子発現不全非ヒト動物を作出することに成功し、該動物の発現型として、予想外にも体温上昇、腎臓絶対重量の増加、胸腺絶対重量の増加、白血球数の減少、血小板数の減少、自発行動量(特に、夜間自発行動量)の増加、攻撃行動の誘発、後退歩行、筋力の低下などが起こることを見出した。本発明者らは、これらの知見に基づいて、さらに検討を重ねた結果、本発明を完成するに至った。

【0006】

すなわち、本発明は、

50

〔 1 〕 配列番号： 1 で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤、

〔 2 〕 ポリペプチドが配列番号： 1、配列番号： 3、配列番号： 5、配列番号： 7、配列番号： 9 または配列番号： 22 で表されるアミノ酸配列からなるポリペプチドである上記〔 1 〕記載の剤、

〔 3 〕 部分ペプチドが、

（ i ） 配列番号： 1 または配列番号： 3 で表わされるアミノ酸配列の第 88 番目（ L e u ）～第 92 番目（ P h e ）のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列の N 末端側に、それぞれ配列番号： 1 または 3 で表わされるアミノ酸配列の第 1 番目（ M e t ）～第 87 番目（ A s n ）のアミノ酸配列の C 末端から数えて 1 ～ 87 個のアミノ酸が付加していてもよいアミノ酸配列からなるペプチド（ヒト R F R P - 1 ）、 10

（ i i ） 配列番号： 1 または配列番号： 3 で表わされるアミノ酸配列の第 101 番目（ S e r ）～第 112 番目（ S e r ）のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列の N 末端側に、それぞれ配列番号： 1 または 3 で表わされるアミノ酸配列の第 1 番目（ M e t ）～第 100 番目（ A r g ）のアミノ酸配列の C 末端から数えて 1 ～ 100 個のアミノ酸が付加していてもよいアミノ酸配列からなるペプチド（ヒト R F R P - 2 ）、

（ i i i ） 配列番号： 1 または配列番号： 3 で表わされるアミノ酸配列の第 127 番目（ L e u ）～第 131 番目（ P h e ）のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列の N 末端側に、それぞれ配列番号： 1 または 3 で表わされるアミノ酸配列の第 1 番目（ M e t ）～第 126 番目（ A s n ）のアミノ酸配列の C 末端から数えて 1 ～ 126 個のアミノ酸が付加していてもよいアミノ酸配列からなるペプチド（ヒト R F R P - 3 ）、 20

（ i v ） 配列番号： 5 で表わされるアミノ酸配列の第 88 番目（ L e u ）～第 92 番目（ P h e ）のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列の N 末端側に、配列番号： 5 で表わされるアミノ酸配列の第 1 番目（ M e t ）～第 87 番目（ L y s ）のアミノ酸配列の C 末端から数えて 1 ～ 87 個のアミノ酸が付加していてもよいアミノ酸配列からなるペプチド（ウシ R F R P - 1 ）、

（ v ） 配列番号： 5 で表わされるアミノ酸配列の第 101 番目（ S e r ）～第 112 番目（ L e u ）のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列の N 末端側に、配列番号： 5 で表わされるアミノ酸配列の第 1 番目（ M e t ）～第 100 番目（ A r g ）のアミノ酸配列の C 末端から数えて 1 ～ 100 個のアミノ酸が付加していてもよいアミノ酸配列からなるペプチド（ウシ R F R P - 2 ）、 30

（ v i ） 配列番号： 5 で表わされるアミノ酸配列の第 127 番目（ L e u ）～第 131 番目（ P h e ）のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列の N 末端側に、配列番号： 5 で表わされるアミノ酸配列の第 1 番目（ M e t ）～第 126 番目（ A s n ）のアミノ酸配列の C 末端から数えて 1 ～ 126 個のアミノ酸が付加していてもよいアミノ酸配列からなるペプチド（ウシ R F R P - 3 ）、

（ v i i ） 配列番号： 9 で表わされるアミノ酸配列の第 90 番目（ L e u ）～第 94 番目（ P h e ）のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列の N 末端側に、配列番号： 9 で表わされるアミノ酸配列の第 1 番目（ M e t ）～第 89 番目（ A s n ）のアミノ酸配列の C 末端から数えて 1 ～ 89 個のアミノ酸が付加していてもよいアミノ酸配列からなるペプチド（マウス R F R P - 1 ）、 40

（ v i i i ） 配列番号： 9 で表わされるアミノ酸配列の第 121 番目（ L e u ）～第 125 番目（ P h e ）のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列の N 末端側に、配列番号： 9 で表わされるアミノ酸配列の第 1 番目（ M e t ）～第 120 番目（ S e r ）のアミノ酸配列の C 末端から数えて 1 ～ 120 個のアミノ酸が付加していてもよいアミノ酸配列からなるペプチド（マウス R F R P - 3 ）、

（ i x ） 配列番号： 7 または 22 で表わされるアミノ酸配列の第 90 番目（ L e u ）～第 50

- 94番目(Phe)のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列のN末端側に、それぞれ配列番号：7または22で表わされるアミノ酸配列の第1番目(Met)～第89番目(Val)のアミノ酸配列のC末端から数えて1～89個のアミノ酸が付加していてもよいアミノ酸配列からなるペプチド(ラットRF RP-1)、
- (x)配列番号：7または22で表わされるアミノ酸配列の第121番目(Leu)～第125番目(Phe)のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列のN末端側に、それぞれ配列番号：7または22で表わされるアミノ酸配列の第1番目(Met)～第120番目(Ser)のアミノ酸配列のC末端から数えて1～120個のアミノ酸が付加していてもよいアミノ酸配列からなるペプチド(ラットRF RP-3)、
- (xi)上記(i)～(x)のペプチドのアミノ酸配列に1～5個のアミノ酸が付加したアミノ酸配列からなるペプチド、
- (xii)上記(i)～(x)のペプチドのアミノ酸配列に1～5個のアミノ酸が挿入されたアミノ酸配列からなるペプチド、
- (xiii)上記(i)～(x)のペプチドのアミノ酸配列中の1～5個のアミノ酸で置換されたアミノ酸配列からなるペプチド、または
- (xiv)上記(xi)～(xiii)の付加・挿入・置換を組み合わせたアミノ酸配列からなるペプチドである上記〔1〕記載の剤、
- 〔4〕部分ペプチドが、
- (i)配列番号：1または配列番号：3で表わされるアミノ酸配列の第56番目(Ser)～第92番目(Phe)、第70番目(Met)～第92番目(Phe)、第73番目(Met)～第92番目(Phe)、第81番目(Met)～第92番目(Phe)または第84番目(Ser)～第92番目(Phe)のアミノ酸配列からなるペプチド(ヒトRF RP-1)、
- (ii)配列番号：1または配列番号：3で表わされるアミノ酸配列の第101番目(Ser)～第112番目(Ser)のアミノ酸配列からなるペプチド(ヒトRF RP-2)、
- (iii)配列番号：1または配列番号：3で表わされるアミノ酸配列の第101番目(Asn)～第131番目(Phe)、第104番目(Asn)～第131番目(Phe)、第115番目(Asn)～第131番目(Phe)、第124番目(Val)～第131番目(Phe)、第125番目(Pro)～第131番目(Phe)、第126番目(Asn)～第131番目(Phe)または第127番目(Leu)～第131番目(Phe)のアミノ酸配列からなるペプチド(ヒトRF RP-3)、
- (iv)配列番号：5で表わされるアミノ酸配列の第58番目(Ser)～第92番目(Phe)、第70番目(Lys)～第92番目(Phe)、第73番目(Met)～第92番目(Phe)、第81番目(Met)～第92番目(Phe)または第84番目(Ser)～第92番目(Phe)のアミノ酸配列からなるペプチド(ウシRF RP-1)、
- (v)配列番号：5で表わされるアミノ酸配列の第101番目(Ser)～第112番目(Leu)のアミノ酸配列からなるペプチド(ウシRF RP-2)、
- (vi)配列番号：5で表わされるアミノ酸配列の第101番目(Ser)～第131番目(Phe)、第104番目(Ala)～第131番目(Phe)、第115番目(Asn)～第131番目(Phe)、第124番目(Val)～第131番目(Phe)、第125番目(Pro)～第131番目(Phe)、第126番目(Asn)～第131番目(Phe)または第127番目(Leu)～第131番目(Phe)のアミノ酸配列からなるペプチド(ウシRF RP-3)、
- (vii)配列番号：9で表わされるアミノ酸配列の第58番目(Ser)～第94番目(Phe)、第72番目(Val)～第94番目(Phe)、第75番目(Met)～第94番目(Phe)、第83番目(Val)～第94番目(Phe)または第84番目(Pro)～第94番目(Phe)のアミノ酸配列からなるペプチド(マウスRF RP-1)、
- (viii)配列番号：9で表わされるアミノ酸配列の第118番目(Phe)～第12

5 番目 (P h e)、第 1 1 9 番目 (P r o) ~ 第 1 2 5 番目 (P h e)、第 1 2 0 番目 (S e r) ~ 第 1 2 5 番目 (P h e) または第 1 2 1 番目 (L e u) ~ 第 1 2 5 番目 (P h e) のアミノ酸配列からなるペプチド (マウス R F R P - 3)、

(i x) 配列番号 : 7 または 2 2 で表わされるアミノ酸配列の第 5 8 番目 (S e r) ~ 第 9 4 番目 (P h e)、第 7 2 番目 (A s p) ~ 第 9 4 番目 (P h e)、第 7 5 番目 (M e t) ~ 第 9 4 番目 (P h e)、第 8 3 番目 (V a l) ~ 第 9 4 番目 (P h e) または第 8 4 番目 (P r o) ~ 第 9 4 番目 (P h e) のアミノ酸配列からなるペプチド (ラット R F R P - 1)、

(x) 配列番号 : 7 または 2 2 で表わされるアミノ酸配列の第 1 1 8 番目 (P h e) ~ 第 1 2 5 番目 (P h e)、第 1 1 9 番目 (P r o) ~ 第 1 2 5 番目 (P h e)、第 1 2 0 番目 (S e r) ~ 第 1 2 5 番目 (P h e) または第 1 2 1 番目 (L e u) ~ 第 1 2 5 番目 (P h e) のアミノ酸配列からなるペプチド (ラット R F R P - 3)、

(x i) 上記 (i) ~ (x) のペプチドのアミノ酸配列中の 1 ~ 5 個のアミノ酸が欠失したアミノ酸配列からなるペプチド (欠失型)、

(x i i) 上記 (i) ~ (x) のペプチドのアミノ酸配列に 1 ~ 5 個のアミノ酸が付加したアミノ酸配列からなるペプチド (付加型)、

(x i i i) 上記 (i) ~ (x) のペプチドのアミノ酸配列に 1 ~ 5 個のアミノ酸が挿入されたアミノ酸配列からなるペプチド (挿入型)、

(x i v) 上記 (i) ~ (x) のペプチドのアミノ酸配列中の 1 ~ 5 個のアミノ酸で置換されたアミノ酸配列からなるペプチド (置換型)、または

(x v) 上記 (x i) ~ (x i v) の欠失・付加・挿入・置換を組み合わせたアミノ酸配列からなるペプチドである上記〔 1 〕記載の剤、

〔 5 〕配列番号 : 1 で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドをコードする DNA を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量 (特に、夜間自発行動量) の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤、

〔 6 〕 DNA が配列番号 : 1、配列番号 : 3、配列番号 : 5、配列番号 : 7、配列番号 : 9 または配列番号 : 2 2 で表されるアミノ酸配列からなるポリペプチドをコードする DNA である上記〔 5 〕記載の剤、

〔 7 〕 DNA が、

(i) 配列番号 : 1 または配列番号 : 3 で表わされるアミノ酸配列の第 5 6 番目 (S e r) ~ 第 9 2 番目 (P h e)、第 7 0 番目 (M e t) ~ 第 9 2 番目 (P h e)、第 7 3 番目 (M e t) ~ 第 9 2 番目 (P h e)、第 8 1 番目 (M e t) ~ 第 9 2 番目 (P h e) または第 8 4 番目 (S e r) ~ 第 9 2 番目 (P h e) のアミノ酸配列からなるペプチド (ヒト R F R P - 1)、

(i i) 配列番号 : 1 または配列番号 : 3 で表わされるアミノ酸配列の第 1 0 1 番目 (S e r) ~ 第 1 1 2 番目 (S e r) のアミノ酸配列からなるペプチド (ヒト R F R P - 2)

(i i i) 配列番号 : 1 または配列番号 : 3 で表わされるアミノ酸配列の第 1 0 1 番目 (A s n) ~ 第 1 3 1 番目 (P h e)、第 1 0 4 番目 (A s n) ~ 第 1 3 1 番目 (P h e)、第 1 1 5 番目 (A s n) ~ 第 1 3 1 番目 (P h e)、第 1 2 4 番目 (V a l) ~ 第 1 3 1 番目 (P h e)、第 1 2 5 番目 (P r o) ~ 第 1 3 1 番目 (P h e)、第 1 2 6 番目 (A s n) ~ 第 1 3 1 番目 (P h e) または第 1 2 7 番目 (L e u) ~ 第 1 3 1 番目 (P h e) のアミノ酸配列からなるペプチド (ヒト R F R P - 3)、

(i v) 配列番号 : 5 で表わされるアミノ酸配列の第 5 8 番目 (S e r) ~ 第 9 2 番目 (P h e)、第 7 0 番目 (L y s) ~ 第 9 2 番目 (P h e)、第 7 3 番目 (M e t) ~ 第 9 2 番目 (P h e)、第 8 1 番目 (M e t) ~ 第 9 2 番目 (P h e) または第 8 4 番目 (S e r) ~ 第 9 2 番目 (P h e) のアミノ酸配列からなるペプチド (ウシ R F R P - 1)、

(v) 配列番号 : 5 で表わされるアミノ酸配列の第 1 0 1 番目 (S e r) ~ 第 1 1 2 番目 (L e u) のアミノ酸配列からなるペプチド (ウシ R F R P - 2)、

(vi) 配列番号 : 5 で表わされるアミノ酸配列の第 1 0 1 番目 (S e r) ~ 第 1 1 2 番目 (L e u) のアミノ酸配列からなるペプチド (ウシ R F R P - 2)、

(vii) 配列番号 : 5 で表わされるアミノ酸配列の第 1 0 1 番目 (S e r) ~ 第 1 1 2 番目 (L e u) のアミノ酸配列からなるペプチド (ウシ R F R P - 2)、

10

20

30

40

50

(v i) 配列番号：5で表わされるアミノ酸配列の第101番目(Ser)～第131番目(Phe)、第104番目(Ala)～第131番目(Phe)、第115番目(Asn)～第131番目(Phe)、第124番目(Val)～第131番目(Phe)、第125番目(Pro)～第131番目(Phe)、第126番目(Asn)～第131番目(Phe)または第127番目(Leu)～第131番目(Phe)のアミノ酸配列からなるペプチド(ウシRFRP-3)、

(v i i) 配列番号：9で表わされるアミノ酸配列の第58番目(Ser)～第94番目(Phe)、第72番目(Val)～第94番目(Phe)、第75番目(Met)～第94番目(Phe)、第83番目(Val)～第94番目(Phe)または第84番目(Pro)～第94番目(Phe)のアミノ酸配列からなるペプチド(マウスRFRP-1)

(v i i i) 配列番号：9で表わされるアミノ酸配列の第118番目(Phe)～第125番目(Phe)、第119番目(Pro)～第125番目(Phe)、第120番目(Ser)～第125番目(Phe)または第121番目(Leu)～第125番目(Phe)のアミノ酸配列からなるペプチド(マウスRFRP-3)、

(i x) 配列番号：7または22で表わされるアミノ酸配列の第58番目(Ser)～第94番目(Phe)、第72番目(Asp)～第94番目(Phe)、第75番目(Met)～第94番目(Phe)、第83番目(Val)～第94番目(Phe)または第84番目(Pro)～第94番目(Phe)のアミノ酸配列からなるペプチド(ラットRFRP-1)、

(x) 配列番号：7または22で表わされるアミノ酸配列の第118番目(Phe)～第125番目(Phe)、第119番目(Pro)～第125番目(Phe)、第120番目(Ser)～第125番目(Phe)または第121番目(Leu)～第125番目(Phe)のアミノ酸配列からなるペプチド(ラットRFRP-3)、

(x i) 上記(i)～(x)のペプチドのアミノ酸配列中の1～5個のアミノ酸が欠失したアミノ酸配列からなるペプチド(欠失型)、

(x i i) 上記(i)～(x)のペプチドのアミノ酸配列に1～5個のアミノ酸が付加したアミノ酸配列からなるペプチド(付加型)、

(x i i i) 上記(i)～(x)のペプチドのアミノ酸配列に1～5個のアミノ酸が挿入されたアミノ酸配列からなるペプチド(挿入型)、

(x i v) 上記(i)～(x)のペプチドのアミノ酸配列中の1～5個のアミノ酸で置換されたアミノ酸配列からなるペプチド(置換型)、または

(x v) 上記(x i)～(x i v)の欠失・付加・挿入・置換を組み合わせたアミノ酸配列からなるペプチド、

をコードするDNAである上記〔5〕記載の剤、

〔8〕配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドをコードするDNAを含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温変化、白血球数変化、血小板数変化、自発行動量(特に、夜間自発行動量)の変化または筋力変化の診断剤、

〔9〕配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩に対する抗体を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量(特に、夜間自発行動量)の減少の予防・治療・改善剤、

〔10〕配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩に対する抗体を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温変化、白血球数変化、血小板数変化、自発行動量(特に、夜間自発行動量)の変化、筋力変化の診断剤、

〔11〕配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配

10

20

30

40

50

列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドをコードするDNAに相補的な塩基配列またはその一部を含有するアンチセンスDNAを含有してなる筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少の予防・治療・改善剤、

〔12〕配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドの発現量を増加させる化合物またはその塩を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤、

〔13〕配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドの発現量を減少させる化合物またはその塩を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少の予防・治療・改善剤、 10

〔14〕配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤、

〔15〕OT7T022が配列番号：11で表されるアミノ酸配列からなるレセプター蛋白質である上記〔14〕記載の剤、 20

〔16〕配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドをコードするDNAを含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤、

〔17〕DNAが配列番号：11で表されるアミノ酸配列からなるレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドをコードするDNAである上記〔16〕記載の剤、

〔18〕配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドをコードするDNAを含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温変化、白血球数変化、血小板数変化、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の変化または筋力変化の診断剤、 30

〔19〕配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対する抗体を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少の予防・治療・改善剤、

〔20〕配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対する抗体を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温変化、白血球数変化、血小板数変化、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の変化または筋力変化の診断剤、 40

〔21〕配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドをコードするDNAに相補的な塩基配列またはその一部を含有するアンチセンスDNAを含有してなる筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少の予防・治療・改善剤、

〔22〕配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対するアゴニストを含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または 50

筋力低下の予防・治療・改善剤、

〔23〕配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対するアンタゴニストを含有してなる筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少の予防・治療・改善剤、

〔24〕配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドの発現量を増加させる化合物またはその塩を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤、

〔25〕配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドの発現量を減少させる化合物またはその塩を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少の予防・治療・改善剤、

〔26〕哺乳動物に対して、

（i）配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩、

（ii）配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドをコードするDNA、

（iii）配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドの発現量を増加させる化合物またはその塩、

（iv）配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩、

（v）配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドをコードするDNA、

（vi）配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対するアゴニスト、または

（vii）配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドの発現量を増加させる化合物またはその塩の有効量を投与することを特徴とする筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下の予防・治療・改善方法、

〔27〕哺乳動物に対して、

（i）配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩に対する抗体、

（ii）配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドをコードするDNAに相補的な塩基配列またはその一部を含有するアンチセンスDNA、

（iii）配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドの発現量を減少させる化合物またはその塩、

（iv）配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対する抗体、

10

20

30

40

50

(v) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドをコードするDNAに相補的な塩基配列またはその一部を含有するアンチセンスDNA、

(vi) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対するアンタゴニスト、または

(vii) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドの発現量を減少させる化合物またはその塩の有効量を投与することを特徴とする筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少の予防・治療・改善方法、

〔28〕筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤を製造するための

(i) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩、

(ii) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドをコードするDNA、

(iii) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドの発現量を増加させる化合物またはその塩、

(iv) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩、

(v) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドをコードするDNA、

(vi) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対するアゴニスト、または

(vii) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドの発現量を増加させる化合物またはその塩の使用、

〔29〕筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少の予防・治療・改善剤を製造するための

(i) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩に対する抗体、

(ii) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドをコードするDNAに相補的な塩基配列またはその一部を含有するアンチセンスDNA、

(iii) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドの発現量を減少させる化合物またはその塩、

(iv) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対する抗体、

(v) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドをコードするDNAに相補的な塩基配列またはその一部を含有するアンチセンスDNA、

10

20

30

40

50

- (v i) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対するアンタゴニスト、または
- (v i i) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドの発現量を減少させる化合物またはその塩の使用、
- 〔30〕OT7T022遺伝子が不活性化された哺乳動物胚幹細胞、
- 〔31〕薬剤耐性である上記〔30〕記載の胚幹細胞、
- 〔32〕薬剤がネオマイシンである上記〔29〕記載の胚幹細胞、
- 〔33〕レポーター遺伝子の挿入によりOT7T022遺伝子が不活性化された上記〔30〕記載の胚幹細胞、
- 〔34〕レポーター遺伝子がlacZ遺伝子である上記〔33〕記載の胚幹細胞、
- 〔35〕哺乳動物がマウスである上記〔30〕記載の胚幹細胞、
- 〔36〕OT7T022遺伝子が配列番号：12、配列番号：25、配列番号：26、配列番号：28または配列番号：32で表わされる塩基配列を含有する遺伝子である上記〔30〕記載の胚幹細胞、
- 〔37〕OT7T022遺伝子発現不全非ヒト哺乳動物、
- 〔38〕レポーター遺伝子の挿入によりOT7T022遺伝子が不活性化された上記〔37〕記載の動物、
- 〔39〕非ヒト哺乳動物がマウスである上記〔37〕記載の動物、
- 〔40〕OT7T022遺伝子が配列番号：12、配列番号：28または配列番号：32で表わされる塩基配列を含有する遺伝子である上記〔37〕記載の動物、
- 〔41〕野生型非ヒト哺乳動物に比べて、胸腺退縮遅延がみられる上記〔37〕記載の動物、
- 〔42〕野生型非ヒト哺乳動物に比べて、後退歩行がみられる上記〔37〕記載の動物、
- 〔43〕野生型非ヒト哺乳動物に比べて、侵害刺激（例、熱侵害刺激）に対して鈍麻がみられる上記〔37〕記載の動物、
- 〔44〕野生型非ヒト哺乳動物に比べて、攻撃的行動が多い上記〔37〕記載の動物、
- 〔45〕野生型非ヒト哺乳動物に比べて、腎臓絶対重量または胸腺絶対重量の低下がみられる上記〔37〕記載の動物、
- 〔46〕野生型非ヒト哺乳動物に比べて、白血球数または血小板数の減少がみられる上記〔37〕記載の動物、
- 〔47〕野生型非ヒト哺乳動物に比べて、筋力が低下している上記〔37〕記載の動物、
- 〔48〕上記〔37〕記載の動物もしくはその組織またはそれらに由来する細胞を用いることを特徴とする、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下の予防・治療・改善薬のスクリーニング方法、
- 〔49〕上記〔37〕記載の動物もしくはその組織またはそれらに由来する細胞に試験化合物を投与することを特徴とする上記〔48〕記載のスクリーニング方法、
- 〔50〕上記〔48〕記載のスクリーニング方法により得られる、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下の予防・治療・改善薬、
- 〔51〕上記〔48〕記載のスクリーニング方法により得られる予防・治療・改善薬を含有してなる痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数

減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤、

〔 5 2 〕 上記〔 3 7 〕記載の動物と他の病態モデル動物との交配によって生じる病態モデル動物、

〔 5 3 〕 上記〔 3 7 〕記載の動物に対する薬剤誘発またはストレス負荷によって生じる病態モデル動物、

〔 5 4 〕 上記〔 5 2 〕記載の動物に対する薬剤誘発またはストレス負荷によって生じる病態モデル動物、

〔 5 5 〕 上記〔 5 2 〕～〔 5 4 〕のいずれかに記載の動物もしくはその組織またはそれらに由来する細胞を用いることを特徴とする、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下の予防・治療・改善薬のスクリーニング方法、

10

〔 5 6 〕 上記〔 5 2 〕～〔 5 4 〕のいずれかに記載の動物もしくはその組織またはそれらに由来する細胞に試験化合物を投与することを特徴とする、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下の予防・治療・改善薬のスクリーニング方法、

20

〔 5 7 〕 上記〔 5 5 〕または〔 5 6 〕記載のスクリーニング方法により得られる、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下の予防・治療・改善薬、

〔 5 8 〕 上記〔 5 5 〕または〔 5 6 〕記載のスクリーニング方法により得られる予防・治療・改善薬を含有してなる痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤、

30

〔 5 9 〕 上記〔 3 8 〕記載の動物に、試験化合物を投与し、レポーター遺伝子の発現を検出することを特徴とする O T 7 T 0 2 2 遺伝子に対するプロモーター活性を促進または阻害する化合物またはその塩のスクリーニング方法、

〔 6 0 〕 上記〔 5 9 〕記載のスクリーニング方法で得られうる O T 7 T 0 2 2 遺伝子に対するプロモーター活性を促進または阻害する化合物またはその塩、

〔 6 1 〕 上記〔 5 9 〕記載のスクリーニング方法で得られうる O T 7 T 0 2 2 遺伝子に対するプロモーター活性を促進する化合物またはその塩を含有してなる痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤、

40

〔 6 2 〕 上記〔 5 9 〕記載のスクリーニング方法で得られうる O T 7 T 0 2 2 遺伝子に対するプロモーター活性を阻害する化合物またはその塩を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少の予防・治療・改善剤、鎮痛剤、モルヒネの鎮痛作用促進剤、モルヒネ耐性回避剤またはモルヒネ依存性回避剤、

〔 6 3 〕 配列番号： 1 で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩、および（または）配列番号： 1 1 で表されるアミノ酸配列と同一もしくは

50

実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩を用いることを特徴とする筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加、筋力低下、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少の減少の予防・治療・改善薬のスクリーニング方法、および〔64〕配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩、および（または）配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加、筋力低下、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少の予防・治療・改善薬のスクリーニング用キットを提供する。

10

【0007】

【発明の実施の形態】

本発明で用いられるRF RPは、配列番号：1で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド（以下、RF RPと称する場合がある）であり、ヒトや温血動物（例えば、モルモット、ラット、マウス、ニワトリ、ウサギ、ブタ、ヒツジ、ウシ、サルなど）の細胞（例えば、網膜細胞、肝細胞、脾細胞、神経細胞、グリア細胞、膵臓細胞、骨髄細胞、メサングウム細胞、ランゲルハンス細胞、表皮細胞、上皮細胞、内皮細胞、繊維芽細胞、繊維細胞、筋細胞、脂肪細胞、免疫細胞（例、マクロファージ、T細胞、B細胞、ナチュラルキラー細胞、肥満細胞、好中球、好塩基球、好酸球、単球）、巨核球、滑膜細胞、軟骨細胞、骨細胞、骨芽細胞、破骨細胞、乳腺細胞、肝細胞もしくは間質細胞、またはこれら細胞の前駆細胞、幹細胞もしくは癌細胞など）もしくはそれらの細胞が存在するあらゆる組織、例えば、脳、脳の各部位（例、網膜、嗅球、扁桃核、大脳基底球、海馬、視床、視床下部、大脳皮質、延髄、小脳）、脊髄、下垂体、胃、膵臓、腎臓、肝臓、生殖腺、甲状腺、胆のう、骨髄、副腎、皮膚、筋肉、肺、消化管（例、大腸、小腸）、血管、心臓、胸腺、脾臓、顎下腺、末梢血、前立腺、睾丸、卵巣、胎盤、子宮、骨、関節、骨格筋など、または血球系の細胞もしくはその培養細胞（例えば、MEL, M1, C T L L - 2, H T - 2, W E H I - 3, H L - 6 0, J O S K - 1, K 5 6 2, M L - 1, M O L T - 3, M O L T - 4, M O L T - 1 0, C C R F - C E M, T A L L - 1, J u r k a t, C C R T - H S B - 2, K E - 3 7, S K W - 3, H U T - 7 8, H U T - 1 0 2, H 9, U 9 3 7, T H P - 1, H E L, J K - 1, C M K, K O - 8 1 2, M E G - 0 1 など）に由来するポリペプチドであってもよく、合成ポリペプチドであってもよい。

20

30

配列番号：1で表わされるアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列としては、配列番号：1で表わされるアミノ酸配列と約70%以上、好ましくは約80%以上、より好ましくは約90%以上、さらに好ましくは約95%以上の相同性を有するアミノ酸配列などがあげられる。

アミノ酸配列の相同性は、相同性計算アルゴリズムNCBI BLAST (National Center for Biotechnology Information Basic Local Alignment Search Tool)を用い、以下の条件（期待値=10；ギャップを許す；マトリクス=BLOSUM62；フィルタリング=OFF）にて計算することができる。例えば、配列番号：1で表わされるアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列としては、配列番号：1で表わされるアミノ酸配列の第22～180番目のアミノ酸配列を有するアミノ酸配列や、配列番号：3、配列番号：5、配列番号：7、配列番号：9または配列番号：22で表されるアミノ酸配列などがあげられる。

40

【0008】

本発明に用いられるRF RPは、具体的には、前記の配列番号：1で表わされるアミノ酸

50

配列からなるポリペプチドまたは配列番号：1で表わされるアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列（例えば、配列番号：3、配列番号：5、配列番号：7、配列番号：9または配列番号：22で表されるアミノ酸配列など）を有し、配列番号：1で表わされるアミノ酸配列からなるポリペプチドと実質的に同質のプロラクチン分泌促進活性などを有するポリペプチドである。

実質的に同質とは、プロラクチン分泌促進活性などが性質的に（例、生化学的に、または薬理的に）同質であることを示す。従って、プロラクチン分泌促進活性が同等（例、約0.1～100倍、好ましくは約0.5～10倍、より好ましくは0.5～2倍）であることが好ましいが、これらの活性の程度、ポリペプチドの分子量などの量的要素は異なってもよい。

プロラクチン分泌促進活性の測定は、自体公知の方法に準じて行なうことができるが、例えば、WO 01/66134号の実施例1に従って測定することができる。

また、RF RPとしては、例えば、1 配列番号：1、配列番号：3、配列番号：5、配列番号：7、配列番号：9または配列番号：22で表わされるアミノ酸配列中の1～20個（好ましくは、1～15個、さらに好ましくは、1～5個、より好ましくは、1～3個）のアミノ酸が欠失したアミノ酸配列、2 配列番号：1、配列番号：3、配列番号：5、配列番号：7、配列番号：9または配列番号：22で表わされるアミノ酸配列に1～20個（好ましくは、1～15個、さらに好ましくは、1～5個、より好ましくは、1～3個）のアミノ酸が付加したアミノ酸配列、3 配列番号：1、配列番号：3、配列番号：5、配列番号：7、配列番号：9または配列番号：22で表わされるアミノ酸配列に1～20個（好ましくは、1～15個、さらに好ましくは、1～5個、より好ましくは、1～3個）のアミノ酸が挿入されたアミノ酸配列、4 配列番号：1、配列番号：3、配列番号：5、配列番号：7、配列番号：9または配列番号：22で表わされるアミノ酸配列中の1～20個（好ましくは、1～15個、さらに好ましくは、1～5個、より好ましくは、1～3個）のアミノ酸が他のアミノ酸で置換されたアミノ酸配列、または5 それら欠失・付加・挿入・置換を組み合わせたアミノ酸配列を有するポリペプチドも含まれる。

上記のようにアミノ酸配列が欠失、付加、挿入または置換されている場合、その欠失、付加、挿入または置換の位置は特に限定されない。

【0009】

本明細書におけるポリペプチドは、ペプチド標記の慣例に従って左端がN末端（アミノ末端）、右端がC末端（カルボキシル末端）である。配列番号：1で表わされるアミノ酸配列からなるヒトRF RPをはじめとするRF RPは、C末端がカルボキシル基（-COOH）、カルボキシレート（-COO⁻）、アミド（-CONH₂）またはエステル（-COOR）の何れであってもよい。

ここでエステルにおけるRとしては、例えば、メチル、エチル、n-プロピル、イソプロピルもしくはn-ブチルなどのC₁₋₆アルキル基、例えば、シクロペンチル、シクロヘキシルなどのC₃₋₈シクロアルキル基、例えば、フェニル、-ナフチルなどのC₆₋₁₂アリール基、例えば、ベンジル、フェネチルなどのフェニル-C₁₋₂アルキル基もしくは-ナフチルメチルなどの-ナフチル-C₁₋₂アルキル基などのC₇₋₁₄アラキル基のほか、経口用エステルとして汎用されるピバロイルオキシメチル基などが用いられる。

RF RPがC末端以外にカルボキシル基（またはカルボキシレート）を有している場合、カルボキシル基がアミド化またはエステル化されているものも本発明でいうRF RPの範囲に含まれる。この場合のエステルとしては、例えば上記したC末端のエステルなどが用いられる。

さらに、RF RPには、N末端のアミノ酸残基（例、メチオニン残基）のアミノ基が保護基（例えば、ホルミル基、アセチル基などのC₁₋₆アルカノイルなどのC₁₋₆アシル基など）で保護されているもの、生体内で切断されて生成するN末端のグルタミル基がピログルタミン酸化したもの、分子内のアミノ酸の側鎖上の置換基（例えば-OH、-SH

10

20

30

40

50

、アミノ基、イミダゾール基、インドール基、グアニジノ基など)が適当な保護基(例えば、ホルミル基、アセチル基などのC₁ - C₆アルカノイル基などのC₁ - C₆アシル基など)で保護されているもの、あるいは糖鎖が結合したいわゆる糖蛋白質などの複合蛋白質なども含まれる。以下、これらのポリペプチドを含めてRF R Pと略称することもある。

【0010】

本発明で用いられるRF R Pの具体例としては、例えば、配列番号：1で表わされるアミノ酸配列からなるヒトRF R P、配列番号：3で表わされるアミノ酸配列からなるヒトRF R P、配列番号：5で表わされるアミノ酸配列からなるウシRF R P、配列番号：7で表わされるアミノ酸配列からなるラットRF R P、配列番号：9で表わされるアミノ酸配列からなるマウスRF R P、配列番号：22で表わされるアミノ酸配列からなるラットRF R Pなどが用いられ、例えば、配列番号：1で表わされるアミノ酸配列からなるヒトRF R P、配列番号：3で表わされるアミノ酸配列からなるヒトRF R P、配列番号：5で表わされるアミノ酸配列からなるウシRF R Pが好ましく用いられる。

10

【0011】

RF R Pの部分ペプチド(以下、RF R P部分ペプチドと称する場合がある)としては、前記したRF R Pの部分ペプチドであって、後述するOT 7 T 0 2 2(配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質またはその塩)に結合する能力を有するものであれば、いかなるものでもよい。また、RF R P部分ペプチドは、そのアミノ酸配列中の1~5個(好ましくは、1~3個のアミノ酸が欠失し、または、そのアミノ酸配列に1~5個(好ましくは、1~3個)のアミノ酸が付加し、または、そのアミノ酸配列に1~5個(好ましくは、1~3個)のアミノ酸が挿入され、または、そのアミノ酸配列中の1~5個(好ましくは、1~3個)のアミノ酸が他のアミノ酸で置換されたアミノ酸配列からなるものであってもよく、または、それら欠失・付加・挿入・置換を組み合わせたアミノ酸配列からなるものであってもよい。また、RF R P部分ペプチドはC末端がカルボキシル基(-COOH)、カルボキシレート(-COO⁻)、アミド(-CONH₂)またはエステル(-COOR)(Rは上記と同意義を示す)のいずれであってもよい。なかでも、C末端がアミド(-CONH₂)であるものが好ましい。

20

RF R P部分ペプチドがC末端以外にカルボキシル基(またはカルボキシレート)を有している場合、カルボキシル基がアミド化またはエステル化されているものも本発明でいうRF R P部分ペプチドに含まれる。この場合のエステルとしては、例えば上記したC末端のエステルなどが用いられる。

30

さらに、RF R P部分ペプチドには、前記したRF R Pと同様に、N末端のアミノ酸残基(例、メチオニン残基)のアミノ基が保護基で保護されているもの、N端側が生体内で切断され生成したグルタミル基がピログルタミン酸化したもの、分子内のアミノ酸の側鎖上の置換基が適当な保護基で保護されているもの、あるいは糖鎖が結合したいわゆる糖ペプチドなどの複合ペプチドなども含まれる。以下、これらの部分ペプチドも含めてRF R P部分ペプチドと略称することもある。

RF R P部分ペプチドとして好ましくは、RFamide、RSamideまたはRLamide構造を有するペプチド、より好ましくは、RFamideまたはRSamide構造を有するペプチド、特に好ましくは、RFamideを有するペプチドが挙げられる。RFamide構造とは、ペプチドのC末端がArginine(アルギニン)-Phenylalanine(フェニルアラニン)-NH₂構造になっていることをいい、RSamide構造とは、ペプチドのC末端がArginine(アルギニン)-Serine(セリン)-NH₂構造になっていることをいい、RLamide構造とは、ペプチドのC末端がArginine(アルギニン)-Leucine(ロイシン)-NH₂構造になっていることを意味する。

40

【0012】

RF R P部分ペプチドの中でも、例えば、

(i)配列番号：1または配列番号：3で表わされるアミノ酸配列の第88番目(L e u

50

-) ~ 第 92 番目 (P h e) のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列の N 末端側に、それぞれ配列番号 : 1 または配列番号 : 3 で表わされるアミノ酸配列の第 1 番目 (M e t) ~ 第 87 番目 (A s n) のアミノ酸配列の C 末端から数えて 1 ~ 87 個のアミノ酸が付加していてもよいアミノ酸配列からなるヒト R F R P - 1、
- (i i) 配列番号 : 1 または配列番号 : 3 で表わされるアミノ酸配列の第 101 番目 (S e r) ~ 第 112 番目 (S e r) のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列の N 末端側に、それぞれ配列番号 : 1 または配列番号 : 3 で表わされるアミノ酸配列の第 1 番目 (M e t) ~ 第 100 番目 (A r g) のアミノ酸配列の C 末端から数えて 1 ~ 100 個のアミノ酸が付加していてもよいアミノ酸配列からなるヒト R F R P - 2、
- (i i i) 配列番号 : 1 または配列番号 : 3 で表わされるアミノ酸配列の第 127 番目 (L e u) ~ 第 131 番目 (P h e) のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列の N 末端側に、それぞれ配列番号 : 1 または配列番号 : 3 で表わされるアミノ酸配列の第 1 番目 (M e t) ~ 第 126 番目 (A s n) のアミノ酸配列の C 末端から数えて 1 ~ 126 個のアミノ酸が付加していてもよいアミノ酸配列からなるヒト R F R P - 3、
- (i v) 配列番号 : 5 で表わされるアミノ酸配列の第 88 番目 (L e u) ~ 第 92 番目 (P h e) のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列の N 末端側に、配列番号 : 5 で表わされるアミノ酸配列の第 1 番目 (M e t) ~ 第 87 番目 (A s n) のアミノ酸配列の C 末端から数えて 1 ~ 87 個のアミノ酸が付加していてもよいアミノ酸配列からなるウシ R F R P - 1、
- (v) 配列番号 : 5 で表わされるアミノ酸配列の第 101 番目 (S e r) ~ 第 112 番目 (L e u) のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列の N 末端側に、配列番号 : 5 で表わされるアミノ酸配列の第 1 番目 (M e t) ~ 第 100 番目 (A r g) のアミノ酸配列の C 末端から数えて 1 ~ 100 個のアミノ酸が付加していてもよいアミノ酸配列からなるウシ R F R P - 2、
- (v i) 配列番号 : 5 で表わされるアミノ酸配列の第 127 番目 (L e u) ~ 第 131 番目 (P h e) のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列の N 末端側に、配列番号 : 5 で表わされるアミノ酸配列の第 1 番目 (M e t) ~ 第 126 番目 (A s n) のアミノ酸配列の C 末端から数えて 1 ~ 126 個のアミノ酸が付加していてもよいアミノ酸配列からなるウシ R F R P - 3、
- (v i i) 配列番号 : 9 で表わされるアミノ酸配列の第 90 番目 (L e u) ~ 第 94 番目 (P h e) のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列の N 末端側に、配列番号 : 9 で表わされるアミノ酸配列の第 1 番目 (M e t) ~ 第 89 番目 (A s n) のアミノ酸配列の C 末端から数えて 1 ~ 89 個のアミノ酸が付加していてもよいアミノ酸配列からなるマウス R F R P - 1、
- (v i i i) 配列番号 : 9 で表わされるアミノ酸配列の第 121 番目 (L e u) ~ 第 125 番目 (P h e) のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列の N 末端側に、配列番号 : 9 で表わされるアミノ酸配列の第 1 番目 (M e t) ~ 第 120 番目 (S e r) のアミノ酸配列の C 末端から数えて 1 ~ 120 個のアミノ酸が付加していてもよいアミノ酸配列からなるマウス R F R P - 3、
- (i x) 配列番号 : 7 または 22 で表わされるアミノ酸配列の第 90 番目 (L e u) ~ 第 94 番目 (P h e) のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列の N 末端側に、配列番号 : 7 または 22 で表わされるアミノ酸配列の第 1 番目 (M e t) ~ 第 89 番目 (A s n) のアミノ酸配列の C 末端から数えて 1 ~ 89 個のアミノ酸が付加していてもよいアミノ酸配列からなるラット R F R P - 1、
- (x) 配列番号 : 7 または 22 で表わされるアミノ酸配列の第 121 番目 (L e u) ~ 第 125 番目 (P h e) のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列の N 末端側に、配列番号 : 7 または 22 で表わされるアミノ酸配列の第 1 番目 (M e t) ~ 第 120 番目 (S e r) のアミノ酸配列の C 末端から数えて 1 ~ 120 個のアミノ酸が付加していてもよいアミノ酸配列からなるラット R F R P - 3、
- (x i) 上記 (i) ~ (x) のペプチドのアミノ酸配列に 1 ~ 5 個のアミノ酸が付加した

アミノ酸配列からなるペプチド、

(x i i) 上記 (i) ~ (x) のペプチドのアミノ酸配列に 1 ~ 5 個のアミノ酸が挿入されたアミノ酸配列からなるペプチド、

(x i i i) 上記 (i) ~ (x) のペプチドのアミノ酸配列中の 1 ~ 5 個のアミノ酸で置換されたアミノ酸配列からなるペプチド、または

(x i v) 上記 (x i) ~ (x i i i) の付加・挿入・置換を組み合わせたアミノ酸配列からなるペプチドなどが用いられる。

【 0 0 1 3 】

これらの R F R P 部分ペプチドの中でも、

(i) 配列番号： 1 または配列番号： 3 で表わされるアミノ酸配列の第 5 6 番目 (S e r) ~ 第 9 2 番目 (P h e)、第 7 0 番目 (M e t) ~ 第 9 2 番目 (P h e)、第 7 3 番目 (M e t) ~ 第 9 2 番目 (P h e)、第 8 1 番目 (M e t) ~ 第 9 2 番目 (P h e) または第 8 4 番目 (S e r) ~ 第 9 2 番目 (P h e) のアミノ酸配列からなるヒト R F R P - 1、

(i i) 配列番号： 1 または配列番号： 3 で表わされるアミノ酸配列の第 1 0 1 番目 (S e r) ~ 第 1 1 2 番目 (S e r) のアミノ酸配列からなるヒト R F R P - 2、

(i i i) 配列番号： 1 または配列番号： 3 で表わされるアミノ酸配列の第 1 0 1 番目 (A s n) ~ 第 1 3 1 番目 (P h e)、第 1 0 4 番目 (A s n) ~ 第 1 3 1 番目 (P h e)、第 1 1 5 番目 (A s n) ~ 第 1 3 1 番目 (P h e)、第 1 2 4 番目 (V a l) ~ 第 1 3 1 番目 (P h e)、第 1 2 5 番目 (P r o) ~ 第 1 3 1 番目 (P h e)、第 1 2 6 番目 (A s n) ~ 第 1 3 1 番目 (P h e) または第 1 2 7 番目 (L e u) ~ 第 1 3 1 番目 (P h e) のアミノ酸配列からなるヒト R F R P - 3、

(i v) 配列番号： 5 で表わされるアミノ酸配列の第 5 8 番目 (S e r) ~ 第 9 2 番目 (P h e)、第 7 0 番目 (L y s) ~ 第 9 2 番目 (P h e)、第 7 3 番目 (M e t) ~ 第 9 2 番目 (P h e)、第 8 1 番目 (M e t) ~ 第 9 2 番目 (P h e) または第 8 4 番目 (S e r) ~ 第 9 2 番目 (P h e) のアミノ酸配列からなるウシ R F R P - 1、

(v) 配列番号： 5 で表わされるアミノ酸配列の第 1 0 1 番目 (S e r) ~ 第 1 1 2 番目 (L e u) のアミノ酸配列からなるウシ R F R P - 2、

(v i) 配列番号： 5 で表わされるアミノ酸配列の第 1 0 1 番目 (S e r) ~ 第 1 3 1 番目 (P h e)、第 1 0 4 番目 (A l a) ~ 第 1 3 1 番目 (P h e)、第 1 1 5 番目 (A s n) ~ 第 1 3 1 番目 (P h e)、第 1 2 4 番目 (V a l) ~ 第 1 3 1 番目 (P h e)、第 1 2 5 番目 (P r o) ~ 第 1 3 1 番目 (P h e)、第 1 2 6 番目 (A s n) ~ 第 1 3 1 番目 (P h e) または第 1 2 7 番目 (L e u) ~ 第 1 3 1 番目 (P h e) のアミノ酸配列からなるウシ R F R P - 3、

(v i i) 配列番号： 9 で表わされるアミノ酸配列の第 5 8 番目 (S e r) ~ 第 9 4 番目 (P h e)、第 7 2 番目 (V a l) ~ 第 9 4 番目 (P h e)、第 7 5 番目 (M e t) ~ 第 9 4 番目 (P h e)、第 8 3 番目 (V a l) ~ 第 9 4 番目 (P h e) または第 8 4 番目 (P r o) ~ 第 9 4 番目 (P h e) のアミノ酸配列からなるマウス R F R P - 1、

(v i i i) 配列番号： 9 で表わされるアミノ酸配列の第 1 1 8 番目 (P h e) ~ 第 1 2 5 番目 (P h e)、第 1 1 9 番目 (P r o) ~ 第 1 2 5 番目 (P h e)、第 1 2 0 番目 (S e r) ~ 第 1 2 5 番目 (P h e) または第 1 2 1 番目 (L e u) ~ 第 1 2 5 番目 (P h e) のアミノ酸配列からなるマウス R F R P - 3、

(i x) 配列番号： 7 または 2 2 で表わされるアミノ酸配列の第 5 8 番目 (S e r) ~ 第 9 4 番目 (P h e)、第 7 2 番目 (A s p) ~ 第 9 4 番目 (P h e)、第 7 5 番目 (M e t) ~ 第 9 4 番目 (P h e)、第 8 3 番目 (V a l) ~ 第 9 4 番目 (P h e) または第 8 4 番目 (P r o) ~ 第 9 4 番目 (P h e) のアミノ酸配列からなるラット R F R P - 1、

(x) 配列番号： 7 または 2 2 で表わされるアミノ酸配列の第 1 1 8 番目 (P h e) ~ 第 1 2 5 番目 (P h e)、第 1 1 9 番目 (P r o) ~ 第 1 2 5 番目 (P h e)、第 1 2 0 番目 (S e r) ~ 第 1 2 5 番目 (P h e) または第 1 2 1 番目 (L e u) ~ 第 1 2 5 番目 (P h e) のアミノ酸配列からなるラット R F R P - 3、

(x i) 上記 (i) ~ (x) のペプチドのアミノ酸配列中の 1 ~ 5 個のアミノ酸が欠失したアミノ酸配列からなる欠失型ペプチド、
 (x i i) 上記 (i) ~ (x) のペプチドのアミノ酸配列に 1 ~ 5 個のアミノ酸が付加したアミノ酸配列からなる付加型ペプチド、
 (x i i i) 上記 (i) ~ (x) のペプチドのアミノ酸配列に 1 ~ 5 個のアミノ酸が挿入されたアミノ酸配列からなる挿入型ペプチド、
 (x i v) 上記 (i) ~ (x) のペプチドのアミノ酸配列中の 1 ~ 5 個のアミノ酸で置換されたアミノ酸配列からなる置換型ペプチド、または
 (x v) 上記 (x i) ~ (x i v) の欠失・付加・挿入・置換を組み合わせたアミノ酸配列からなるペプチドなどが好ましく用いられる。

10

【 0 0 1 4 】

特にこれらのペプチドのアミド体 (好ましくは、これらペプチドの C 末端のカルボキシル基 (- C O O H) がアミド化された (- C O N H ₂) ペプチド) が好ましい。

具体的には、配列番号 : 1 で表わされるアミノ酸配列の第 8 1 番目 (M e t) ~ 第 9 2 番目 (P h e) のアミノ酸配列で表されるペプチドの C 末端がアミド化された (- C O N H ₂) ペプチド (配列番号 : 1 3)、配列番号 : 1 で表わされるアミノ酸配列の第 1 0 1 番目 (S e r) ~ 第 1 1 2 番目 (S e r) のアミノ酸配列で表されるペプチドの C 末端がアミド化された (- C O N H ₂) ペプチド (配列番号 : 1 5) および配列番号 : 1 で表わされるアミノ酸配列の第 1 2 4 番目 (V a l) ~ 第 1 3 1 番目 (P h e) のアミノ酸配列で表されるペプチドの C 末端がアミド化された (- C O N H ₂) ペプチド (配列番号 : 1 4) などがあげられる。

20

【 0 0 1 5 】

R F R P または R F R P 部分ペプチドの塩としては、生理学的に許容される酸 (例、無機酸、有機酸) や塩基 (例、アルカリ金属塩) などとの塩が用いられ、とりわけ生理学的に許容される酸付加塩が好ましい。このような塩としては、例えば、無機酸 (例えば、塩酸、リン酸、臭化水素酸、硫酸) との塩、あるいは有機酸 (例えば、酢酸、ギ酸、プロピオン酸、フマル酸、マレイン酸、コハク酸、酒石酸、クエン酸、リンゴ酸、蔞酸、安息香酸、メタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸) との塩などが用いられる。

R F R P もしくはその塩または R F R P 部分ペプチドもしくはその塩は、W O 0 0 / 2 9 4 4 1 号、W O 0 1 / 6 6 1 3 4 号などに記載の方法に従って製造することができる。

30

【 0 0 1 6 】

R F R P をコードする D N A としては、前述した R F R P をコードする塩基配列を含有するものであればいかなるものであってもよい。また、ゲノム D N A、ゲノム D N A ライブラリー、前記した細胞・組織由来の c D N A、前記した細胞・組織由来の c D N A ライブラリー、合成 D N A のいずれでもよい。

ライブラリーに使用するベクターは、バクテリオファージ、プラスミド、コスミド、ファージミドなどいずれであってもよい。また、前記した細胞・組織より t o t a l R N A または m R N A 画分を調製したものをを用いて直接 R e v e r s e T r a n s c r i p t a s e P o l y m e r a s e C h a i n R e a c t i o n (以下、R T - P C R 法と略称する) によって増幅することもできる。

40

【 0 0 1 7 】

R F R P をコードする D N A としては、例えば、配列番号 : 2、配列番号 : 4、配列番号 : 6、配列番号 : 8、配列番号 : 1 0 または配列番号 : 2 3 で表わされる塩基配列を含有する D N A、または配列番号 : 2、配列番号 : 4、配列番号 : 6、配列番号 : 8、配列番号 : 1 0 または配列番号 : 2 3 で表わされる塩基配列とハイストリンジェントな条件下でハイブリダイズする塩基配列を有し、配列番号 : 1、配列番号 : 3、配列番号 : 5、配列番号 : 7、配列番号 : 9 または配列番号 : 2 2 で表されるアミノ酸配列からなる R F R P と実質的に同質の活性を有するポリペプチドをコードする D N A などであれば何れのものでもよい。

配列番号 : 2、配列番号 : 4、配列番号 : 6、配列番号 : 8、配列番号 : 1 0 または配列

50

番号：23で表わされる塩基配列とハイストリンジェントな条件下でハイブリダイズできるDNAとしては、例えば、それぞれ配列番号：2、配列番号：4、配列番号：6、配列番号：8、配列番号：10または配列番号：23で表わされる塩基配列と約70%以上、好ましくは約80%以上、より好ましくは約90%以上、さらに好ましくは約95%以上の同一性を有する塩基配列を含有するDNAなどが用いられる。

塩基配列の同一性は、同一性計算アルゴリズムNCBI BLAST(National Center for Biotechnology Information Basic Local Alignment Search Tool)を用い、以下の条件(期待値=10;ギャップを許す;フィルタリング=ON;マッチスコア=1;ミスマッチスコア=-3)にて計算することができる。

ハイブリダイゼーションは、自体公知の方法あるいはそれに準じる方法、例えば、モレキュラー・クローニング(Molecular Cloning)2nd(J. Sambrook et al., Cold Spring Harbor Lab. Press, 1989)に記載の方法などに従って行なうことができる。また、市販のライブラリーを使用する場合、添付の使用説明書に記載の方法に従って行なうことができる。より好ましくは、ハイストリンジェントな条件に従って行なうことができる。

ハイストリンジェントな条件とは、例えば、ナトリウム濃度が約19~40mM、好ましくは約19~20mMで、温度が約50~70、好ましくは約60~65の条件を示す。特に、ナトリウム濃度が約19mMで温度が約65の場合が最も好ましい。

【0018】

より具体的には、配列番号：1で表わされるアミノ酸配列からなるヒトRFRRPをコードするDNAとしては、配列番号：2で表わされる塩基配列からなるDNAなどが用いられる。また、配列番号：3で表わされるアミノ酸配列からなるヒトRFRRPをコードするDNAとしては、配列番号：4で表わされる塩基配列からなるDNAなどが用いられる。配列番号：5で表わされるアミノ酸配列からなるウシRFRRPをコードするDNAとしては、配列番号：6で表わされる塩基配列からなるDNAなどが用いられる。配列番号：7で表わされるアミノ酸配列からなるラットRFRRPをコードするDNAとしては、配列番号：8で表わされる塩基配列からなるDNAなどが用いられる。配列番号：9で表わされるアミノ酸配列からなるマウスRFRRPをコードするDNAとしては、配列番号：10で表わされる塩基配列からなるDNAなどが用いられる。配列番号：22で表わされるアミノ酸配列からなるラットRFRRPをコードするDNAとしては、配列番号：23で表わされる塩基配列からなるDNAなどが用いられる。

【0019】

RFRRP部分ペプチドをコードするDNAとしては、前述したRFRRP部分ペプチドをコードする塩基配列を含有するものであればいかなるものであってもよい。また、ゲノムDNA、ゲノムDNAライブラリー、前記した細胞・組織由来のcDNA、前記した細胞・組織由来のcDNAライブラリー、合成DNAのいずれでもよい。

RFRRP部分ペプチドをコードするDNAとしては、例えば、配列番号：2、配列番号：4、配列番号：6、配列番号：8、配列番号：10または配列番号：23で表わされる塩基配列を含有するDNAの部分塩基配列を有するDNA、または配列番号：2、配列番号：4、配列番号：6、配列番号：8、配列番号：10または配列番号：23で表わされる塩基配列とハイストリンジェントな条件下でハイブリダイズする塩基配列を有し、配列番号：1、配列番号：3、配列番号：5、配列番号：7、配列番号：9または配列番号：22で表わされるアミノ酸配列からなるRFRRPと実質的に同質の活性を有するポリペプチドをコードするDNAの部分塩基配列を有するDNAなどが用いられる。

配列番号：2、配列番号：4、配列番号：6、配列番号：8、配列番号：10または配列番号：23で表わされる塩基配列とハイブリダイズできるDNAは、前記と同意義を示す。

塩基配列の同一性は、前記した同一性計算アルゴリズムNCBI BLASTを用い、同様の条件にて計算することができる。

10

20

30

40

50

ハイブリダイゼーションの方法およびハイストリンジェントな条件は前記と同様のものが用いられる。

【0020】

また、RFRRP部分ペプチドをコードするDNAとしてより具体的には、前記した具体的なRFRRP部分ペプチドをコードするDNAなどが用いられる。例えば、

(i) 配列番号：1または配列番号：3で表わされるアミノ酸配列の第56番目(Ser)～第92番目(Phe)、第70番目(Met)～第92番目(Phe)、第73番目(Met)～第92番目(Phe)、第81番目(Met)～第92番目(Phe)または第84番目(Ser)～第92番目(Phe)のアミノ酸配列からなるヒトRFRRP-1をコードするDNAとしては、それぞれ配列番号：2または配列番号：4で表わされる塩基配列の第166番目～第276番目、第208番目～第276番目、第217番目～第276番目、第241番目～第276番目または第250番目～第276番目の塩基配列からなるDNA、

(ii) 配列番号：1または配列番号：3で表わされるアミノ酸配列の第101番目(Ser)～第112番目(Ser)のアミノ酸配列からなるヒトRFRRP-2をコードするDNAとしては、それぞれ配列番号：2または配列番号：4で表わされる塩基配列の第301番目～第336番目の塩基配列からなるDNA、

(iii) 配列番号：1または配列番号：3で表わされるアミノ酸配列の第101番目(Asn)～第131番目(Phe)、第104番目(Asn)～第131番目(Phe)、第115番目(Asn)～第131番目(Phe)、第124番目(Val)～第131番目(Phe)、第125番目(Pro)～第131番目(Phe)、第126番目(Asn)～第131番目(Phe)または第127番目(Leu)～第131番目(Phe)のアミノ酸配列からなるヒトRFRRP-3をコードするDNAとしては、それぞれ配列番号：2または配列番号：4で表わされる塩基配列の第301番目～第393番目、第310番目～第393番目、第343番目～第393番目、第370番目～第393番目、第373番目～第393番目、第376番目～第393番目または第379番目～第393番目の塩基配列からなるDNA、

(iv) 配列番号：5で表わされるアミノ酸配列の第58番目(Ser)～第92番目(Phe)、第70番目(Lys)～第92番目(Phe)、第73番目(Met)～第92番目(Phe)、第81番目(Met)～第92番目(Phe)または第84番目(Ser)～第92番目(Phe)のアミノ酸配列からなるウシRFRRP-1をコードするDNAとしては、配列番号：6で表わされる塩基配列の第172番目～第276番目、第208番目～第276番目、第217番目～第276番目、第241番目～第276番目または第250番目～第276番目の塩基配列からなるDNA、

(v) 配列番号：5で表わされるアミノ酸配列の第101番目(Ser)～第112番目(Leu)のアミノ酸配列からなるウシRFRRP-2をコードするDNAとしては、配列番号：6で表わされる塩基配列の第301番目～第336番目の塩基配列からなるDNA、

(vi) 配列番号：5で表わされるアミノ酸配列の第101番目(Ser)～第131番目(Phe)、第104番目(Ala)～第131番目(Phe)、第115番目(Asn)～第131番目(Phe)、第124番目(Val)～第131番目(Phe)、第125番目(Pro)～第131番目(Phe)、第126番目(Asn)～第131番目(Phe)または第127番目(Leu)～第131番目(Phe)のアミノ酸配列からなるウシRFRRP-3をコードするDNAとしては、配列番号：6で表わされる塩基配列の第301番目～第393番目、第310番目～第393番目、第343番目～第393番目、第370番目～第393番目、第373番目～第393番目、第376番目～第393番目または第379番目～第393番目の塩基配列からなるDNA、

(vii) 配列番号：9で表わされるアミノ酸配列の第58番目(Ser)～第94番目(Phe)、第72番目(Val)～第94番目(Phe)、第75番目(Met)～第94番目(Phe)、第83番目(Val)～第94番目(Phe)または第84番目(

Pro) ~ 第94番目(Phe)のアミノ酸配列からなるマウスRF R P - 1をコードするDNAとしては、配列番号：10で表わされる塩基配列の第172番目~第282番目、第214番目~第282番目、第223番目~第282番目、第247番目~第282番目または第250番目~第282番目の塩基配列からなるDNA、

(viii) 配列番号：9で表わされるアミノ酸配列の第118番目(Phe) ~ 第125番目(Phe)、第119番目(Pro) ~ 第125番目(Phe)、第120番目(Ser) ~ 第125番目(Phe)または第121番目(Leu) ~ 第125番目(Phe)のアミノ酸配列からなるマウスRF R P - 3をコードするDNAとしては、配列番号：10で表わされる塩基配列の第352番目~第375番目、第356番目~第375番目、第358番目~第375番目または第361番目~第375番目の塩基配列からなるDNA、

(ix) 配列番号：7または22で表わされるアミノ酸配列の第58番目(Ser) ~ 第94番目(Phe)、第72番目(Asp) ~ 第94番目(Phe)、第75番目(Met) ~ 第94番目(Phe)、第83番目(Val) ~ 第94番目(Phe)または第84番目(Pro) ~ 第94番目(Phe)のアミノ酸配列からなるラットRF R P - 1をコードするDNAとしては、それぞれ配列番号：8または51で表わされる塩基配列の第172番目~第282番目、第214番目~第282番目、第223番目~第282番目、第247番目~第282番目または第250番目~第282番目の塩基配列からなるDNA、

(x) 配列番号：7または22で表わされるアミノ酸配列の第118番目(Phe) ~ 第125番目(Phe)、第119番目(Pro) ~ 第125番目(Phe)、第120番目(Ser) ~ 第125番目(Phe)または第121番目(Leu) ~ 第125番目(Phe)のアミノ酸配列からなるラットRF R P - 3をコードするDNAとしては、それぞれ配列番号：8または51で表わされる塩基配列の第352番目~第375番目、第355番目~第375番目、第358番目~第375番目または第361番目~第375番目の塩基配列からなるDNAなどが用いられる。

【0021】

RF R Pまたはその部分ペプチドを完全にコードするDNAのクローニングは、W000/29441号、W001/66134号などに記載の方法に従って行うことができる。また、RF R Pまたはその部分ペプチドをコードするDNAからRF R Pまたはその部分ペプチドを製造する場合、W000/29441号、W001/66134号などに記載の方法に従って行うことができる。

RF R Pもしくはその部分ペプチド、後述のOT7T022もしくはその部分ペプチド、およびこれらをコードするDNAは、自体公知の方法で標識化されていてもよく、具体的にはアイソトープラベル化されたもの、蛍光標識されたもの(例えば、フルオレセインなどによる蛍光標識)、ビオチン化されたものまたは酵素標識されたものなどがあげられる。

【0022】

RF R Pもしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩、RF R P部分ペプチドもしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩に対するレセプター蛋白質OT7T022(以下、OT7T022と略記する)としては、例えば、配列番号：11で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質が用いられる。

【0023】

OT7T022は、例えば、哺乳動物(例えば、ヒト、モルモット、ラット、マウス、ウサギ、ブタ、ヒツジ、ウシ、サルなど)のあらゆる細胞(例えば、脾細胞、神経細胞、グリア細胞、膵臓細胞、骨髄細胞、メサンギウム細胞、ランゲルハンス細胞、表皮細胞、上皮細胞、内皮細胞、繊維芽細胞、繊維細胞、筋細胞、脂肪細胞、免疫細胞(例、マクロファージ、T細胞、B細胞、ナチュラルキラー細胞、肥満細胞、好中球、好塩基球、好酸球、単球)、巨核球、滑膜細胞、軟骨細胞、骨細胞、骨芽細胞、破骨細胞、乳腺細胞、肝

10

20

30

40

50

細胞もしくは間質細胞、またはこれら細胞の前駆細胞、幹細胞もしくはガン細胞など)や血球系の細胞、またはそれらの細胞が存在するあらゆる組織、例えば、脳、脳の各部位(例、嗅球、扁頭核、大脳基底核、海馬、視床、視床下部、視床下核、大脳皮質、延髄、小脳、後頭葉、前頭葉、側頭葉、被殻、尾状核、脳染、黒質)、脊髄、下垂体、胃、膵臓、腎臓、肝臓、生殖腺、甲状腺、胆のう、骨髄、副腎、皮膚、筋肉、肺、消化管(例、大腸、小腸)、血管、心臓、胸腺、脾臓、顎下腺、末梢血、末梢血球、前立腺、睪丸、精巢、卵巣、胎盤、子宮、骨、関節、骨格筋など(特に、脳や脳の各部位)に由来する蛋白質であってもよく、また合成蛋白質であってもよい。

配列番号：11で表わされるアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列としては、例えば、配列番号：11で表わされるアミノ酸配列と約50%以上、好ましくは約70%以上、より好ましくは約80%以上、さらに好ましくは約90%以上、最も好ましくは約95%以上の相同性を有するアミノ酸配列などが挙げられる。

【0024】

配列番号：11で表わされるアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列を含有する蛋白質としては、例えば、配列番号：11で表わされるアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列を有し、配列番号：11で表わされるアミノ酸配列からなるOT7T022と実質的に同質の活性を有するレセプター蛋白質などが好ましく、具体的には、配列番号：24で表わされるアミノ酸配列からなるレセプター蛋白質などがあげられる。

アミノ酸配列の相同性は、相同性計算アルゴリズムNCBI BLAST(National Center for Biotechnology Information Basic Local Alignment Search Tool)を用い、以下の条件(期待値=10;ギャップを許す;マトリクス=BLOSUM62;フィルタリング=OFF)にて計算することができる。実質的に同質の活性としては、例えば、リガンド結合活性またはシグナル情報伝達作用などが挙げられる。実質的に同質とは、それらの活性が性質的に同質であることを示す。したがって、リガンド結合活性またはシグナル情報伝達作用などの活性が同等(例、約0.01~100倍、好ましくは約0.5~20倍、より好ましくは約0.5~2倍)であることが好ましいが、これらの活性の程度や蛋白質の分子量などの量的要素は異なってもよい。

リガンド結合活性またはシグナル情報伝達作用などの活性の測定は、自体公知の方法に準じて行なうことができるが、例えば、後述するリガンドの決定方法やスクリーニング方法に従って測定することができる。

また、OT7T022としては、1 配列番号：11または配列番号：24で表わされるアミノ酸配列中の1または2個以上(好ましくは、1~30個程度、より好ましくは1~10個程度、さらに好ましくは数個(1または2個))のアミノ酸が欠失したアミノ酸配列、2 配列番号：11または配列番号：24で表わされるアミノ酸配列に1または2個以上(好ましくは、1~30個程度、より好ましくは1~10個程度、さらに好ましくは数個(1または2個))のアミノ酸が付加したアミノ酸配列、3 配列番号：11または配列番号：24で表わされるアミノ酸配列中の1または2個以上(好ましくは、1~30個程度、より好ましくは1~10個程度、さらに好ましくは数個(1または2個))のアミノ酸が他のアミノ酸で置換されたアミノ酸配列、または4 それら欠失・付加・置換を組み合わせたアミノ酸配列からなるレセプター蛋白質なども用いられる。

【0025】

本明細書におけるOT7T022は、ペプチド標記の慣例に従って左端がN末端(アミノ末端)、右端がC末端(カルボキシル末端)である。配列番号：11で表わされるアミノ酸配列からなるOT7T022をはじめとするOT7T022は、C末端がカルボキシル基(-COOH)、カルボキシレート(-COO⁻)、アミド(-CONH₂)またはエステル(-COOR)のいずれであってもよい。

ここでエステルにおけるRとしては、例えば、メチル、エチル、n-プロピル、イソプロピルもしくはn-ブチルなどのC₁₋₆アルキル基、例えば、シクロペンチル、シクロヘキシルなどのC₃₋₈シクロアルキル基、例えば、フェニル、-ナフチルなどのC₆₋

C_{1-2} アリール基、例えば、ベンジル、フェネチルなどのフェニル - C_{1-2} アルキル基もしくは - ナフチルメチルなどの - ナフチル - C_{1-2} アルキル基などの C_{7-14} アルキル基のほか、経口用エステルとして汎用されるピバロイルオキシメチル基などが用いられる。

【0026】

OT7T022がC末端以外にカルボキシル基（またはカルボキシレート）を有している場合、カルボキシル基がアミド化またはエステル化されているものもOT7T022の範囲に含まれる。この場合のエステルとしては、例えば上記したC末端のエステルなどが用いられる。

さらに、OT7T022には、上記したOT7T022において、N末端のメチオニン残基のアミノ基が保護基（例えば、ホルミル基、アセチルなどの C_{2-6} アルカノイル基などの C_{1-6} アシル基など）で保護されているもの、N端側が生体内で切断され生成したグルタミル基がピログルタミン酸化したもの、分子内のアミノ酸の側鎖上の置換基（例えば、-OH、-SH、アミノ基、イミダゾール基、インドール基、グアニジノ基など）が適当な保護基（例えば、ホルミル基、アセチルなどの C_{2-6} アルカノイル基などの C_{1-6} アシル基など）で保護されているもの、あるいは糖鎖が結合したいわゆる糖蛋白質などの複合蛋白質なども含まれる。

OT7T022の具体例としては、例えば、配列番号：11で表わされるアミノ酸配列からなるラットOT7T022、配列番号：24で表されるアミノ酸配列からなるヒトOT7T022などが用いられる。

【0027】

OT7T022の部分ペプチドとしては、前記したOT7T022の部分ペプチドであれば何れのものであってもよいが、例えば、OT7T022蛋白質分子のうち、細胞膜の外に露出している部位であって、レセプター結合活性を有するものなどが用いられる。

具体的には、配列番号：11または配列番号：24で表わされるアミノ酸配列からなるOT7T022の部分ペプチドとしては、疎水性プロット解析において細胞外領域（親水性（Hydrophilic）部位）であると分析された部分を含むペプチドである。また、疎水性（Hydrophobic）部位を一部を含むペプチドも同様に用いることができる。個々のドメインを個別に含むペプチドも用い得るが、複数のドメインを同時に含む部分のペプチドでも良い。

OT7T022の部分ペプチドのアミノ酸の数は、前記したOT7T022の構成アミノ酸配列のうち少なくとも20個以上、好ましくは50個以上、より好ましくは100個以上のアミノ酸配列からなるペプチドなどが好ましい。

また、OT7T022の部分ペプチドは、上記アミノ酸配列中の1または2個以上（好ましくは、1～10個程度、さらに好ましくは数個（1または2個））のアミノ酸が欠失し、または、そのアミノ酸配列に1または2個以上（好ましくは、1～20個程度、より好ましくは1～10個程度、さらに好ましくは数個（1または2個））のアミノ酸が付加し、または、そのアミノ酸配列中の1または2個以上（好ましくは、1～10個程度、より好ましくは数個（1または2個））のアミノ酸が他のアミノ酸で置換されていてもよい。

また、OT7T022の部分ペプチドはC末端がカルボキシル基（-COOH）、カルボキシレート（-COO⁻）、アミド（-CONH₂）またはエステル（-COOR）（Rは上記と同意義を示す）のいずれであってもよい。

OT7T022の部分ペプチドがC末端以外にカルボキシル基（またはカルボキシレート）を有している場合、カルボキシル基がアミド化またはエステル化されているものもOT7T022の範囲に含まれる。この場合のエステルとしては、例えば上記したC末端のエステルなどが用いられる。

さらに、OT7T022の部分ペプチドには、前記したOT7T022と同様に、N末端のメチオニン残基のアミノ基が保護基で保護されているもの、N端側が生体内で切断され生成したグルタミル基がピログルタミン酸化したもの、分子内のアミノ酸の側鎖上の置換基が適当な保護基で保護されているもの、あるいは糖鎖が結合したいわゆる糖ペプチドな

10

20

30

40

50

どの複合ペプチドなども含まれる。

OT7T022またはその部分ペプチドの塩としては、とりわけ生理学的に許容される酸付加塩が好ましい。この様な塩としては、例えば無機酸（例えば、塩酸、リン酸、臭化水素酸、硫酸）との塩、あるいは有機酸（例えば、酢酸、ギ酸、プロピオン酸、フマル酸、マレイン酸、コハク酸、酒石酸、クエン酸、リンゴ酸、蔞酸、安息香酸、メタンシルホン酸、ベンゼンシルホン酸）との塩などが用いられる。

OT7T022またはその塩、およびOT7T022を発現する細胞またはその細胞膜画分は、W000/29441号、W001/66134号などに記載の方法に従って製造することができる。

【0028】

OT7T022をコードするポリヌクレオチドとしては、OT7T022をコードする塩基配列（DNAまたはRNA、好ましくはDNA）を含有するものであればいかなるものであってもよい。該ポリヌクレオチドとしては、OT7T022をコードするDNA、mRNA等のRNAであり、二本鎖であっても、一本鎖であってもよい。二本鎖の場合は、二本鎖DNA、二本鎖RNAまたはDNA：RNAのハイブリッドでもよい。一本鎖の場合は、センス鎖（即ち、コード鎖）であっても、アンチセンス鎖（即ち、非コード鎖）であってもよい。

OT7T022をコードするポリヌクレオチドを用いて、例えば、公知の実験医学増刊「新PCRとその応用」15（7）、1997記載の方法またはそれに準じた方法により、OT7T022のmRNAを定量することができる。

OT7T022をコードするDNAとしては、ゲノムDNA、ゲノムDNAライブラリー、前記した細胞・組織由来のcDNA、前記した細胞・組織由来のcDNAライブラリー、合成DNAのいずれでもよい。ライブラリーに使用するベクターは、バクテリオファージ、プラスミド、コスミド、ファージミドなどいずれであってもよい。また、前記した細胞・組織よりtotal RNAまたはmRNA画分を調製したものをを用いて直接Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction（以下、RT-PCR法と略称する）によって増幅することもできる。

【0029】

具体的には、OT7T022をコードするDNAとしては、例えば、配列番号：12、配列番号：25または配列番号：26で表わされる塩基配列を含有するDNA、または配列番号：12、配列番号：25または配列番号：26で表わされる塩基配列とハイストリンジェントな条件下でハイブリダイズする塩基配列を有し、配列番号：11または配列番号：24で表されるアミノ酸配列からなるOT7T022と実質的に同質の活性（例、リガンド結合活性、シグナル情報伝達作用など）を有するレセプター蛋白質をコードするDNAであれば何れのものでよい。

配列番号：12、配列番号：25または配列番号：26で表わされる塩基配列とハイブリダイズできるDNAとしては、例えば、配列番号：12、配列番号：25または配列番号：26で表わされる塩基配列と約70%以上、好ましくは約80%以上、より好ましくは約90%以上、最も好ましくは約95%以上の相同性を有する塩基配列を含有するDNAなどが用いられる。

塩基配列の相同性は、相同性計算アルゴリズムNCBI BLAST（National Center for Biotechnology Information Basic Local Alignment Search Tool）を用い、以下の条件（期待値=10；ギャップを許す；フィルタリング=ON；マッチスコア=1；ミスマッチスコア=-3）にて計算することができる。

ハイブリダイゼーションは、自体公知の方法あるいはそれに準じる方法、例えば、モレキュラー・クローニング（Molecular Cloning）2nd（J. Sambrook et al., Cold Spring Harbor Lab. Press, 1989）に記載の方法などに従って行なうことができる。また、市販のライブラリーを使用する場合、添付の使用説明書に記載の方法に従って行なうことができる。よ

10

20

30

40

50

り好ましくは、ハイストリンジェントな条件に従って行なうことができる。

該ハイストリンジェントな条件とは、例えば、ナトリウム濃度が約 19 ~ 40 mM、好ましくは約 19 ~ 20 mMで、温度が約 50 ~ 70、好ましくは約 60 ~ 65 の条件を示す。特に、ナトリウム濃度が約 19 mMで温度が約 65 の場合が最も好ましい。

より具体的には、配列番号：11で表わされるアミノ酸配列からなるラット OT7T022 をコードする DNA としては、配列番号：12で表わされる塩基配列からなる DNA などが用いられる。配列番号：24で表わされるアミノ酸配列からなるヒト OT7T022 をコードする DNA としては、配列番号：25または配列番号：26で表わされる塩基配列からなる DNA などが用いられる。

【0030】

OT7T022の部分ペプチドをコードする DNA としては、前述した OT7T022 の部分ペプチドをコードする塩基配列を含有するものであればいかなるものであってもよい。また、ゲノム DNA、ゲノム DNA ライブラリー、前記した細胞・組織由来の cDNA、前記した細胞・組織由来の cDNA ライブラリー、合成 DNA のいずれでもよい。ライブラリーに使用するベクターは、バクテリオファージ、プラスミド、コスミド、ファージミドなどいずれであってもよい。また、前記した細胞・組織より mRNA 画分を調製したものをを用いて直接 Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction (以下、RT-PCR法と略称する)によって増幅することもできる。

具体的には、OT7T022の部分ペプチドをコードする DNA としては、例えば、(1)配列番号：12、配列番号：25または配列番号：26で表わされる塩基配列を有する DNA の部分塩基配列を有する DNA、または(2)配列番号：12、配列番号：25または配列番号：26で表わされる塩基配列とハイストリンジェントな条件下でハイブリダイズする塩基配列を有し、配列番号：11または配列番号：24で表わされるアミノ酸配列からなる OT7T022 と実質的に同質の活性(例、リガンド結合活性またはシグナル情報伝達作用など)を有するレセプター蛋白質をコードする DNA の部分塩基配列を有する DNA などが用いられる。

OT7T022 またはその部分ペプチドをコードする DNA から OT7T022 またはその部分ペプチドを製造する場合、W000/29441号、W001/66134号などに記載の方法に従って行うことができる。

【0031】

RFRP、その部分ペプチド、もしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩に対する抗体は、自体公知の方法、例えば W000/29441号、W001/66134号などに記載の方法に従って製造し、使用することができる。

OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対する抗体は、自体公知の方法、例えば W000/29441号、W001/66134号などに記載の方法に従って製造し、使用することができる。

【0032】

RFRP または OT7T022 をコードする DNA の塩基配列の一部、または該 DNA と相補的な塩基配列の一部を含有してなるポリヌクレオチドとは、上記した RFRP または OT7T022 の部分ペプチドをコードする DNA を包含するだけでなく、RNA をも包含する意味で用いられる。

本発明に従えば、RFRP 遺伝子または OT7T022 遺伝子の複製または発現を阻害することのできるアンチセンス・ポリヌクレオチド(核酸)を、クローン化した、あるいは決定された RFRP または OT7T022 をコードする DNA の塩基配列情報に基づき設計し、合成しうる。そうしたポリヌクレオチド(核酸)は、RFRP 遺伝子または OT7T022 遺伝子の RNA とハイブリダイズすることができ、該 RNA の合成または機能を阻害することができるか、あるいは RFRP 関連 RNA または OT7T022 関連 RNA との相互作用を介して RFRP 遺伝子または OT7T022 遺伝子の発現を調節・制御することができる。RFRP 関連 RNA または OT7T022 関連 RNA の選択された配列

10

20

30

40

50

に相補的なポリヌクレオチド、および R F R P 関連 R N A または O T 7 T 0 2 2 関連 R N A と特異的にハイブリダイズすることができるポリヌクレオチドは、生体内および生体外で R F R P 遺伝子または O T 7 T 0 2 2 遺伝子の発現を調節・制御するのに有用であり、また病気などの治療または診断に有用である。用語「対応する」とは、遺伝子を含めたヌクレオチド、塩基配列または核酸の特定の配列に相同性を有するあるいは相補的であることを意味する。ヌクレオチド、塩基配列または核酸とペプチド（蛋白質）との間で「対応する」とは、ヌクレオチド（核酸）の配列またはその相補体から誘導される指令にあるペプチド（蛋白質）のアミノ酸を通常指している。O T 7 T 0 2 2 遺伝子の 5' 端ヘアピンループ、5' 端 6 - ベースペア・リピート、5' 端非翻訳領域、ポリペプチド翻訳開始コドン、蛋白質コード領域、O R F 翻訳開始コドン、3' 端非翻訳領域、3' 端パリンδροーム領域、および 3' 端ヘアピンループは好ましい対象領域として選択しうるが、R F R P 遺伝子または O T 7 T 0 2 2 遺伝子内の如何なる領域も対象として選択しうる。

10

【0033】

目的核酸と、対象領域の少なくとも一部に相補的でハイブリダイズすることができるポリヌクレオチドとの関係は、対象物と「アンチセンス」であるということができる。アンチセンス・ポリヌクレオチドは、2 - デオキシ - D - リボースを含有しているポリデオキシリボヌクレオチド、D - リボースを含有しているポリリボヌクレオチド、プリンまたはピリミジン塩基の N - グリコシドであるその他のタイプのポリヌクレオチド、あるいは非ヌクレオチド骨格を有するその他のポリマー（例えば、市販の蛋白質核酸および合成配列特異的な核酸ポリマー）または特殊な結合を含有するその他のポリマー（但し、該ポリマーは D N A や R N A 中に見出されるような塩基のペアリングや塩基の付着を許容する配置をもつヌクレオチドを含有する）などが挙げられる。それらは、2 本鎖 D N A、1 本鎖 D N A、2 本鎖 R N A、1 本鎖 R N A、さらに D N A : R N A ハイブリッドであることができ、さらに非修飾ポリヌクレオチド（または非修飾オリゴヌクレオチド）、さらには公知の修飾の付加されたもの、例えば当該分野で知られた標識のあるもの、キャップの付いたもの、メチル化されたもの、1 個以上の天然のヌクレオチドを類縁物で置換したもの、分子内ヌクレオチド修飾のされたもの、例えば非荷電結合（例えば、メチルホスホネート、ホスホトリエステル、ホスホルアミデート、カルバメートなど）を持つもの、電荷を有する結合または硫黄含有結合（例えば、ホスホロチオエート、ホスホロジチオエートなど）を持つもの、例えば蛋白質（ヌクレアーゼ、ヌクレアーゼ・インヒビター、トキシン、抗体、シグナルペプチド、ポリ - L - リジンなど）や糖（例えば、モノサッカライドなど）などの側鎖基を有しているもの、インターカレント化合物（例えば、アクリジン、プソラレンなど）を持つもの、キレート化合物（例えば、金属、放射活性をもつ金属、ホウ素、酸化性の金属など）を含有するもの、アルキル化剤を含有するもの、修飾された結合を持つもの（例えば、アノマー型の核酸など）であってもよい。ここで「ヌクレオシド」、「ヌクレオチド」および「核酸」とは、プリンおよびピリミジン塩基を含有するのみでなく、修飾されたその他の複素環型塩基をもつようなものを含んでいて良い。こうした修飾物は、メチル化されたプリンおよびピリミジン、アシル化されたプリンおよびピリミジン、あるいはその他の複素環を含むものであってよい。修飾されたヌクレオチドおよび修飾されたヌクレオチドはまた糖部分が修飾されていてよく、例えば、1 個以上の水酸基がハロゲンとか、脂肪族基などで置換されていたり、あるいはエーテル、アミンなどの官能基に変換されていてよい。

20

30

40

【0034】

本発明のアンチセンス・ポリヌクレオチド（核酸）は、R N A、D N A、あるいは修飾された核酸（R N A、D N A）である。修飾された核酸の具体例としては核酸の硫黄誘導體やチオホスフェート誘導體、そしてポリヌクレオシドアミドやオリゴヌクレオシドアミドの分解に抵抗性のものが挙げられるが、それに限定されるものではない。本発明のアンチセンス核酸は次のような方針で好ましく設計されうる。すなわち、細胞内でのアンチセンス核酸をより安定なものにする、アンチセンス核酸の細胞透過性をより高める、目標とするセンス鎖に対する親和性をより大きなものにする、そしてもし毒性があるならアンチセ

50

ンス核酸の毒性をより小さなものにする。

こうして修飾は当該分野で数多く知られており、例えば J. Kawakami et al., Pharm Tech Japan, Vol. 8, pp. 247, 1992; Vol. 8, pp. 395, 1992; S. T. Crooke et al. ed., Antisense Research and Applications, CRC Press, 1993 などに開示がある。

本発明のアンチセンス核酸は、変化せしめられたり、修飾された糖、塩基、結合を含有して良く、リポゾーム、ミクロスフェアのような特殊な形態で供与されたり、遺伝子治療により適用されたり、付加された形態で与えられることができる。こうして付加形態で用いられるものとしては、リン酸基骨格の電荷を中和するように働くポリリジンのようなポリカチオン体、細胞膜との相互作用を高めたり、核酸の取込みを増大せしめるような脂質（例えば、ホスホリピド、コレステロールなど）といった粗水性のものが挙げられる。付加するに好ましい脂質としては、コレステロールやその誘導体（例えば、コレステリルクロロホルメート、コール酸など）が挙げられる。こうしたものは、核酸の3'端あるいは5'端に付着させることができ、塩基、糖、分子内ヌクレオシド結合を介して付着させることができる。その他の基としては、核酸の3'端あるいは5'端に特異的に配置されたキャップ用の基で、エキソヌクレアーゼ、RNaseなどのヌクレアーゼによる分解を阻止するためのものが挙げられる。こうしたキャップ用の基としては、ポリエチレングリコール、テトラエチレングリコールなどのグリコールをはじめとした当該分野で知られた水酸基の保護基が挙げられるが、それに限定されるものではない。

アンチセンス核酸の阻害活性は、本発明の形質転換体、本発明の生体内や生体外の遺伝子発現系、あるいはG蛋白質共役型レセプター蛋白質の生体内や生体外の翻訳系を用いて調べることができる。該核酸それ自体公知の各種の方法で細胞に適用できる。

【0035】

RFRPまたはOT7T022をコードするポリヌクレオチドに対するsiRNA（以下、本発明のsiRNA）は、RFRPまたはOT7T022をコードするRNAの一部とそれに相補的なRNAを含有する二重鎖RNAである。

siRNAは、公知の方法（例、Nature, 411巻, 494頁, 2001年）に準じて、本発明のポリヌクレオチドの配列を基に設計して製造することができる。

RFRPまたはOT7T022をコードするRNAの一部を含有するリボザイムは、公知の方法（例、TRENDS in Molecular Medicine, 7巻, 221頁, 2001年）に準じて、本発明のポリヌクレオチドの配列を基に設計して製造することができる。例えば、公知のリボザイムの配列の一部をRFRPまたはOT7T022をコードするRNAの一部に置換することによって製造することができる。RFRPまたはOT7T022をコードするRNAの一部としては、公知のリボザイムによって切断され得るコンセンサス配列NUX（式中、Nはすべての塩基を、XはG以外の塩基を示す）の近傍の配列などが挙げられる。

【0036】

後述するように、OT7T022を欠損した非ヒト哺乳動物の表現型から、RFRPおよびOT7T022は、例えば、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加、筋力低下など、特に筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下などに関与していることが分かった。したがって、1 RFRP、その部分ペプチド、もしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩（以下、RFRPと略記する）、2 RFRPをコードするDNA、3 RFRPに対する抗体、4 RFRPをコードするDNAに対するアンチセンスDNA、5 OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩（OT7T022と略記する）、6 OT7T022をコードするDNA、7 OT7T02

2に対する抗体、 8 OT7T022をコードするDNAに対するアンチセンスDNAは、以下のような用途を有している。

【0037】

(1) RFRPの機能不全に関連する疾患の予防・治療・改善剤

a) RFRP、b) RFRPをコードするDNA、c) OT7T022またはd) OT7T022をコードするDNAを、RFRPまたはOT7T022の機能不全に関連する疾患の予防・治療・改善剤などの医薬として使用することができる。

例えば、生体内においてRFRPまたはOT7T022が減少しているために、RFRPまたはOT7T022の機能が期待できない患者がいる場合に、a) RFRPを該患者に投与し該RFRPの量を補充したり、b) (イ) RFRPをコードするDNAまたはOT7T022をコードするDNAを該患者に投与し発現させることによって、あるいは(ロ)対象となる細胞にRFRPをコードするDNAまたはOT7T022をコードするDNAを挿入し発現させた後に、該細胞を該患者に移植することなどによって、患者の体内におけるRFRPまたはOT7T022の量を増加させ、RFRPまたはOT7T022の機能を十分に発揮させることができる。すなわち、RFRPをコードするDNAまたはOT7T022をコードするDNAは、安全で低毒性なRFRPまたはOT7T022の機能不全に関連する疾患の予防および/または治療剤として有用である。

具体的には、a) RFRP、b) RFRPをコードするDNA、c) OT7T022またはd) OT7T022をコードするDNAは、例えば、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量(特に、夜間自発行動量)の増加、筋力低下など、特に、筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量(特に、夜間自発行動量)の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤として使用することができる。

RFRPまたはOT7T022を上記予防・治療・改善剤として使用する場合は、常套手段に従って製剤化することができる。

一方、RFRPをコードするDNAまたはOT7T022をコードするDNAを上記予防・治療・改善剤として使用する場合は、これらDNAを単独あるいはレトロウイルスベクター、アデノウイルスベクター、アデノウイルスアソシエートウイルスベクターなどの適当なベクターに挿入した後、常套手段に従って実施することができる。DNAは、そのままで、あるいは撮取促進のための補助剤とともに、遺伝子銃やハイドロゲルカテーテルのようなカテーテルによって投与できる。

例えば、a) RFRP、b) RFRPをコードするDNA、c) OT7T022またはd) OT7T022をコードするDNAは、必要に応じて糖衣を施した錠剤、カプセル剤、エリキシル剤、マイクロカプセル剤などとして経口的に、あるいは水もしくはそれ以外の薬学的に許容し得る液との無菌性溶液、または懸濁液剤などの注射剤の形で非経口的に使用できる。例えば、a) RFRP、b) RFRPをコードするDNA、c) OT7T022またはd) OT7T022をコードするDNAを生理学的に認められる公知の担体、香味剤、賦形剤、ベヒクル、防腐剤、安定剤、結合剤などとともに一般に認められた製剤実施に要求される単位用量形態で混和することによって製造することができる。これら製剤における有効成分量は指示された範囲の適当な容量が得られるようにするものである。

【0038】

錠剤、カプセル剤などに混和することができる添加剤としては、例えば、ゼラチン、コーンスターチ、トラガント、アラビアゴムのような結合剤、結晶性セルロースのような賦形剤、コーンスターチ、ゼラチン、アルギン酸などのような膨化剤、ステアリン酸マグネシウムのような潤滑剤、ショ糖、乳糖またはサッカリンのような甘味剤、ペパーミント、アカモノ油またはチェリーのような香味剤などが用いられる。調剤単位形態がカプセルである場合には、上記タイプの材料にさらに油脂のような液状担体を含有することができる。注射のための無菌組成物は注射用水のようなベヒクル中の活性物質、胡麻油、椰子油など

10

20

30

40

50

のような天然産出植物油などを溶解または懸濁させるなどの通常の製剤実施に従って処方することができる。注射用の水性液としては、例えば、生理食塩水、ブドウ糖やその他の補助薬を含む等張液（例えば、D - ソルビトール、D - マンニトール、塩化ナトリウムなど）などが用いられ、適当な溶解補助剤、例えば、アルコール（例、エタノール）、ポリアルコール（例、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール）、非イオン性界面活性剤（例、ポリソルベート 80^{T M}、HCO - 50）などと併用してもよい。油性液としては、例えば、ゴマ油、大豆油などが用いられ、溶解補助剤である安息香酸ベンジル、ベンジルアルコールなどと併用してもよい。

【0039】

また、上記予防・治療・改善剤は、例えば、緩衝剤（例えば、リン酸塩緩衝液、酢酸ナトリウム緩衝液）、無痛化剤（例えば、塩化ベンザルコニウム、塩酸プロカインなど）、安定剤（例えば、ヒト血清アルブミン、ポリエチレングリコールなど）、保存剤（例えば、ベンジルアルコール、フェノールなど）、酸化防止剤などと配合してもよい。調製された注射液は通常、適当なアンプルに充填される。

このようにして得られる製剤は安全で低毒性であるので、例えば、ヒトや哺乳動物（例えば、ラット、マウス、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ネコ、イヌ、サルなど）に対して投与することができる。

RFRPの投与量は、投与対象、対象臓器、症状、投与方法などにより差異はあるが、経口投与の場合、一般的に例えば、痛覚障害患者（体重60kgとして）においては、一日につき約0.1～100mg、好ましくは約1.0～50mg、より好ましくは約1.0～20mgである。非経口的に投与する場合は、その1回投与量は投与対象、対象臓器、症状、投与方法などによっても異なるが、例えば、注射剤の形では通常例えば、痛覚障害患者（体重60kgとして）においては、一日につき約0.01～30mg程度、好ましくは約0.1～20mg程度、より好ましくは約0.1～10mg程度を静脈注射により投与するのが好都合である。他の動物の場合も、体重60kgあたりに換算した量を投与することができる。

DNAの投与量は、投与対象、対象臓器、症状、投与方法などにより差異はあるが、経口投与の場合、一般的に例えば、痛覚障害患者（体重60kgとして）においては、一日につき約0.1～100mg、好ましくは約1.0～50mg、より好ましくは約1.0～20mgである。非経口的に投与する場合は、その1回投与量は投与対象、対象臓器、症状、投与方法などによっても異なるが、例えば、注射剤の形では通常例えば、痛覚障害患者（体重60kgとして）においては、一日につき約0.01～30mg程度、好ましくは約0.1～20mg程度、より好ましくは約0.1～10mg程度を静脈注射により投与するのが好都合である。他の動物の場合も、体重60kgあたりに換算した量を投与することができる。

【0040】

(2) 遺伝子診断剤

RFRPをコードするDNA、OT7T022をコードするDNA、またはこれらDNAに対するアンチセンスDNAは、プローブとして使用することにより、ヒトまたは哺乳動物（例えば、ラット、マウス、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ネコ、イヌ、サルなど）におけるRFRPまたはOT7T022をコードするDNAまたはmRNAの異常（遺伝子異常）を検出することができるので、例えば、該DNAまたはmRNAの損傷、突然変異あるいは発現低下や、該DNAまたはmRNAの増加あるいは発現過多などの遺伝子診断剤として有用である。

DNAまたはアンチセンスDNAを用いる上記の遺伝子診断は、例えば、自体公知のノーザンハイブリダイゼーションやPCR-SSCP法（ゲノミクス（Genomics）、第5巻、874～879頁（1989年）、プロシーディングズ・オブ・ザ・ナショナル・アカデミー・オブ・サイエンシズ・オブ・ユーエスエー（Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America）、第86巻、2766～2

770頁(1989年)などにより実施することができる。

例えば、ノーザンハイブリダイゼーションによりRFRPまたはOT7T022の発現低下または発現過剰が検出された場合は、例えば、RFRPまたはOT7T022の機能不全または過剰発現に関連する疾患である可能性が高いまたは将来罹患する可能性が高いと診断することができる。

RFRPまたはOT7T022の機能不全または過剰発現に関連する疾患としては、例えば、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温変化、白血球数変化、血小板数変化、自発行動量(特に、夜間自発行動量)の変化、筋力変化など、特に筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温変化、白血球数変化、血小板数変化、自発行動量(特に、夜間自発行動量)の変化または筋力変化などが挙げられる。

10

特に、RFRPまたはOT7T022の機能不全に関連する疾患としては、例えば、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量(特に、夜間自発行動量)の増加、筋力低下など、特に筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量(特に、夜間自発行動量)の増加、筋力低下などが挙げられる。

一方、RFRPまたはOT7T022の過剰発現に関連する疾患としては、例えば、筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加、自発行動量(特に、夜間自発行動量)の減少、痛み、モルヒネ耐性、特に筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加、自発行動量(特に、夜間自発行動量)の減少などが挙げられる。

20

【0041】

(3) RFRPまたはOT7T022の発現量を変化させる化合物またはその塩を含有する医薬

RFRPまたはOT7T022をコードするDNAは、プローブとして用いることにより、RFRPまたはOT7T022の発現量を変化させる化合物またはその塩のスクリーニングに用いることができる。

すなわち、本発明は、例えば、(i)非ヒト哺乳動物のa)血液、b)特定の臓器、c)臓器から単離した組織もしくは細胞、または(ii)形質転換体等に含まれるRFRPまたはOT7T022のmRNA量を測定することによる、RFRPまたはOT7T022の発現量を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法を提供する。

30

【0042】

RFRPまたはOT7T022のmRNA量の測定は具体的には以下のようにして行なう。

(i)正常あるいは疾患モデル非ヒト哺乳動物(例えば、マウス、ラット、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ネコ、イヌ、サルなど、より具体的には免疫不全モデルラット、マウス、ウサギなど)に対して、薬剤(例えば、免疫調節薬など)あるいは物理的ストレス(例えば、浸水ストレス、電気ショック、明暗、低温など)などを与え、一定時間経過した後、血液、あるいは特定の臓器(例えば、脳、肝臓、腎臓など)、または臓器から単離した組織、あるいは細胞を得る。

40

得られた細胞に含まれるRFRPまたはOT7T022のmRNAは、例えば、通常の方法により細胞等からmRNAを抽出し、例えば、TaqMan PCRなどの手法を用いることにより定量することができ、自体公知の手段によりノーザンブロットを行うことにより解析することもできる。

(ii)RFRPまたはOT7T022を発現する形質転換体をWO00/29441号またはWO01/66134号に記載の方法に従い作製し、該形質転換体に含まれるRFRPまたはOT7T022のmRNAを同様にして定量、解析することができる。

【0043】

50

RFRPまたはOT7T022の発現量を変化させる化合物またはその塩のスクリーニングは、

(i) 正常あるいは疾患モデル非ヒト哺乳動物に対して、薬剤あるいは物理的ストレスなどを与える一定時間前(30分前~24時間前、好ましくは30分前~12時間前、より好ましくは1時間前~6時間前)もしくは一定時間後(30分後~3日後、好ましくは1時間後~2日後、より好ましくは1時間後~24時間後)、または薬剤あるいは物理的ストレスと同時に試験化合物を投与し、投与後一定時間経過後(30分後~3日後、好ましくは1時間後~2日後、より好ましくは1時間後~24時間後)、細胞に含まれるRFRPまたはOT7T022のmRNA量を定量、解析することにより行なうことができ、

(ii) 形質転換体を常法に従い培養する際に試験化合物を培地中に混合させ、一定時間培養後(1日後~7日後、好ましくは1日後~3日後、より好ましくは2日後~3日後)、該形質転換体に含まれるRFRPまたはOT7T022のmRNA量を定量、解析することにより行なうことができる。

試験化合物としては、例えば、ペプチド、蛋白質、非ペプチド性化合物、合成化合物、発酵生産物、細胞抽出液、植物抽出液、動物組織抽出液、血漿などが用いられ、これら化合物は新規な化合物であってもよいし、公知の化合物であってもよい。

試験化合物は塩を形成していてもよく、試験化合物の塩としては、生理学的に許容される酸(例、無機酸など)や塩基(例、有機酸など)などとの塩が用いられ、とりわけ生理学的に許容される酸付加塩が好ましい。このような塩としては、例えば、無機酸(例えば、塩酸、リン酸、臭化水素酸、硫酸など)との塩、あるいは有機酸(例えば、酢酸、ギ酸、プロピオン酸、フマル酸、マレイン酸、コハク酸、酒石酸、クエン酸、リンゴ酸、蔞酸、安息香酸、メタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸など)との塩などが用いられる。

【0044】

本発明のスクリーニング方法を用いて得られる化合物またはその塩は、RFRPまたはOT7T022の発現量を変化させる作用を有する化合物またはその塩であり、具体的には、(イ)RFRPまたはOT7T022の発現量を増加させることにより、OT7T022を介する細胞刺激活性(例えば、アラキドン酸遊離、アセチルコリン遊離、細胞内Ca²⁺遊離、細胞内cAMP生成、細胞内cAMP生成抑制、細胞内cGMP生成、イノシトールリン酸産生、細胞膜電位変動、細胞内蛋白質のリン酸化、c-fosの活性化、pHの低下などを促進する活性または抑制する活性など)を増強させる化合物またはその塩、(ロ)RFRPの発現量を減少させることにより、該細胞刺激活性を減弱させる化合物またはその塩である。

本発明のスクリーニング方法を用いて得られる化合物としては、ペプチド、蛋白質、非ペプチド性化合物、合成化合物、発酵生産物、細胞抽出液、植物抽出液、動物組織抽出液、血漿などが挙げられ、これら化合物は新規な化合物であってもよいし、公知の化合物であってもよい。

該化合物の塩としては、前記したRFRPの塩と同様のものが用いられる。

上記スクリーニング方法で得られるRFRPまたはOT7T022の発現量を増加させる化合物またはその塩は、例えば、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温変化、白血球数変化、血小板数変化、自発行動量(特に、夜間自発行動量)の変化、筋力変化など、好ましくは筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温変化、白血球数変化、血小板数変化、自発行動量(特に、夜間自発行動量)の変化または筋力変化、特に筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量(特に、夜間自発行動量)の増加、筋力低下に対する安全で低毒性な予防・治療・改善剤として用いることができる。

上記スクリーニング方法で得られるRFRPまたはOT7T022の発現量を減少させる化合物またはその塩は、例えば、筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量(特に、夜間自発行動量)の減少に対する安全で低毒性な予防

・治療・改善剤、鎮痛剤、モルヒネの鎮痛作用促進剤、モルヒネ耐性回避剤、モルヒネ依存性回避剤などとして用いることができる。

【0045】

本発明のスクリーニング方法を用いて得られる化合物またはその塩を医薬組成物として使用する場合、常套手段に従って製剤化することができる。具体的には、上記したRFRPを含有する予防・治療・改善剤と同様に製造することができる。

得られる製剤は安全で低毒性であるので、例えば、ヒトや哺乳動物（例えば、ラット、マウス、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ネコ、イヌ、サルなど）に対して投与することができる。

該化合物またはその塩の投与量は、投与対象、対象臓器、症状、投与方法などにより差異はあるが、経口投与の場合、一般的に例えば、痛覚障害患者（体重60kgとして）においては、一日につきRFRPまたはOT7T022の発現量を増加させる化合物またはその塩を約0.1～100mg、好ましくは約1.0～50mg、より好ましくは約1.0～20mgである。非経口的に投与する場合は、その1回投与量は投与対象、対象臓器、症状、投与方法などによっても異なるが、例えば、注射剤の形では、通常例えば、痛覚障害患者（体重60kgとして）においては、一日につきRFRPまたはOT7T022の発現量を増加させる化合物またはその塩を約0.01～30mg程度、好ましくは約0.1～20mg程度、より好ましくは約0.1～10mg程度を静脈注射により投与するのが好都合である。他の動物の場合も、体重60kgあたりに換算した量を投与することができる。

【0046】

(4) 抗体を用いる診断方法

RFRPまたはOT7T022に対する抗体（以下、本発明の抗体と略記する）は、RFRPまたはOT7T022を特異的に認識することができるので、被検液中のRFRPまたはOT7T022の検出や中和に使用することができる。

すなわち、本発明は、

(i) 本発明の抗体と、被検液および標識化されたRFRPまたはOT7T022とを競合的に反応させ、該抗体に結合した標識化されたRFRPまたはOT7T022の割合を測定することを特徴とする被検液中のRFRPまたはOT7T022の定量法、および
(ii) 被検液と担体上に不溶化した本発明の抗体および標識化された本発明の別の抗体とを同時あるいは連続的に反応させたのち、不溶化担体上の標識剤の活性を測定することを特徴とする被検液中のRFRPまたはOT7T022の定量法を提供する。

【0047】

上記(ii)の定量法においては、一方の抗体がRFRPまたはOT7T022のN端部を認識する抗体で、他方の抗体がRFRPまたはOT7T022のC端部に反応する抗体であることが望ましい。

また、RFRPまたはOT7T022に対するモノクローナル抗体（以下、本発明のモノクローナル抗体）を用いてRFRPまたはOT7T022の定量を行うことができるほか、組織染色等による検出を行なうこともできる。これらの目的には、抗体分子そのものを用いてもよく、また、抗体分子のF(ab')₂、Fab'、あるいはFab画分を用いてもよい。

本発明の抗体を用いるRFRPまたはOT7T022の定量法は、特に制限されるべきものではなく、被測定液中の抗原量（例えば、RFRP量またはOT7T022量）に対応した抗体、抗原もしくは抗体-抗原複合体の量を化学的または物理的手段により検出し、これを既知量の抗原を含む標準液を用いて作製した標準曲線より算出する測定法であれば、いずれの測定法を用いてもよい。例えば、ネフロメトリー、競合法、イムノメトリック法およびサンドイッチ法が好適に用いられるが、感度、特異性の点で、後述するサンドイッチ法を用いるのが特に好ましい。

【0048】

標識物質を用いる測定法に用いられる標識剤としては、例えば、放射性同位元素、酵素、

蛍光物質、発光物質などが用いられる。放射性同位元素としては、例えば、 $[^{125}\text{I}]$ 、 $[^{131}\text{I}]$ 、 $[^3\text{H}]$ 、 $[^{14}\text{C}]$ などが用いられる。上記酵素としては、安定で活性の大きなものが好ましく、例えば、 α -ガラクトシダーゼ、 β -グルコシダーゼ、アルカリフォスファターゼ、パーオキシダーゼ、リンゴ酸脱水素酵素などが用いられる。蛍光物質としては、例えば、フルオレスカミン、フルオレッセンイソチオシアネートなどが用いられる。発光物質としては、例えば、ルミノール、ルミノール誘導体、ルシフェリン、ルシゲニンなどが用いられる。さらに、抗体あるいは抗原と標識剤との結合にビオチン-アビジン系を用いることもできる。

抗原あるいは抗体の不溶化に当っては、物理吸着を用いてもよく、また通常酵素等を不溶化、固定化するのに用いられる化学結合を用いる方法でもよい。担体としては、アガロース、デキストラン、セルロースなどの不溶性多糖類、ポリスチレン、ポリアクリルアミド、シリコン等の合成樹脂、あるいはガラス等があげられる。

サンドイッチ法においては不溶化した本発明のモノクローナル抗体に被検液を反応させ（1次反応）、さらに標識化した別の本発明のモノクローナル抗体を反応させ（2次反応）たのち、不溶化担体上の標識剤の活性を測定することにより被検液中のRFRP量を定量することができる。1次反応と2次反応は逆の順序に行っても、また、同時に行なってもよいし時間をずらして行なってもよい。標識化剤および不溶化の方法は前記のそれらに準じることができる。また、サンドイッチ法による免疫測定法において、固相用抗体あるいは標識用抗体に用いられる抗体は必ずしも1種類である必要はなく、測定感度を向上させる等の目的で2種類以上の抗体の混合物を用いてもよい。

【0049】

本発明のサンドイッチ法によるRFRPまたはOT7T022の測定法においては、1次反応と2次反応に用いられる本発明のモノクローナル抗体は、RFRPまたはOT7T022の結合する部位が相異なる抗体が好ましく用いられる。すなわち、1次反応および2次反応に用いられる抗体は、例えば、2次反応で用いられる抗体が、RFRPまたはOT7T022のC端部を認識する場合、1次反応で用いられる抗体は、好ましくはC端部以外、例えばN端部を認識する抗体が用いられる。

本発明のモノクローナル抗体をサンドイッチ法以外の測定システム、例えば、競合法、イムノメトリック法あるいはネフロメトリーなどに用いることができる。

競合法では、被検液中の抗原と標識抗原とを抗体に対して競合的に反応させたのち、未反応の標識抗原（F）と、抗体と結合した標識抗原（B）とを分離し（B/F分離）、B、Fいずれかの標識量を測定し、被検液中の抗原量を定量する。本反応法には、抗体として可溶性抗体を用い、B/F分離をポリエチレングリコール、前記抗体に対する第2抗体などを用いる液相法、および、第1抗体として固相化抗体を用いるか、あるいは、第1抗体は可溶性のものを用い第2抗体として固相化抗体を用いる固相化法とが用いられる。

イムノメトリック法では、被検液中の抗原と固相化抗原とを一定量の標識化抗体に対して競合反応させた後、固相と液相を分離するか、あるいは、被検液中の抗原と過剰量の標識化抗体とを反応させ、次に固相化抗原を加え未反応の標識化抗体を固相に結合させた後、固相と液相を分離する。次に、いずれかの相の標識量を測定し被検液中の抗原量を定量する。

また、ネフロメトリーでは、ゲル内あるいは溶液中で抗原抗体反応の結果生じた不溶性の沈降物の量を測定する。被検液中の抗原量が僅かであり、少量の沈降物しか得られない場合にもレーザーの散乱を利用するレーザーネフロメトリーなどが好適に用いられる。

これら個々の免疫学的測定法を本発明の定量方法に適用するにあたっては、特別の条件、操作等の設定は必要とされない。それぞれの方法における通常の方法、操作法に当業者の通常技術的配慮を加えてRFRPまたはOT7T022の測定系を構築すればよい。これらの一般的な技術手段の詳細については、総説、成書などを参照することができる。

例えば、入江 寛編「ラジオイムノアッセイ」（講談社、昭和49年発行）、入江 寛編「続ラジオイムノアッセイ」（講談社、昭和54年発行）、石川栄治ら編「酵素免疫測定法」（医学書院、昭和53年発行）、石川栄治ら編「酵素免疫測定法」（第2版）（医学

10

20

30

40

50

書院、昭和57年発行)、石川栄治ら編「酵素免疫測定法」(第3版)(医学書院、昭和62年発行)、「Methods in ENZYMOLOGY」Vol. 70 (Immunochemical Techniques (Part A))、同書 Vol. 73 (Immunochemical Techniques (Part B))、同書 Vol. 74 (Immunochemical Techniques (Part C))、同書 Vol. 84 (Immunochemical Techniques (Part D : Selected Immunoassays))、同書 Vol. 92 (Immunochemical Techniques (Part E : Monoclonal Antibodies and General Immunoassay Methods))、同書 Vol. 121 (Immunochemical Techniques (Part I : Hybridoma Technology and Monoclonal Antibodies)) (以上、アカデミックプレス社発行)などを参照することができる。

以上のようにして、本発明の抗体を用いることによって、RF R PまたはOT 7 T 0 2 2を感度良く定量することができる。

【0050】

さらには、本発明の抗体を用いてRF R PまたはOT 7 T 0 2 2の濃度を定量することによって、RF R PまたはOT 7 T 0 2 2の濃度の減少が検出された場合、例えば、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量(特に、夜間自発行動量)の増加、筋力低下など、特に筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量(特に、夜間自発行動量)の増加または筋力低下などの疾患である、または将来罹患する可能性が高いと診断することができる。

また、RF R PまたはOT 7 T 0 2 2の濃度の増加が検出された場合には、例えば、筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量(特に、夜間自発行動量)の減少、痛み、モルヒネ耐性などの疾患である、または将来罹患する可能性が高いと診断することができる。

【0051】

(5) RF R PとOT 7 T 0 2 2との結合性またはシグナル伝達を変化させる化合物またはその塩(アゴニスト、アンタゴニストなど)のスクリーニング方法、およびRF R PとOT 7 T 0 2 2との結合性またはシグナル伝達を変化させる化合物またはその塩を含有する医薬

OT 7 T 0 2 2を用いるか、または組換え型OT 7 T 0 2 2の発現系を構築し、該発現系を用いたレセプター結合アッセイ系を用いることによって、例えば、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量(特に、夜間自発行動量)の増加、筋力低下、体温減少、白血球数増加、血小板数増加、自発行動量(特に、夜間自発行動量)の減少、痛み、モルヒネ耐性などの予防・治療・改善薬として有用なRF R PとOT 7 T 0 2 2との結合性またはシグナル伝達を変化させる化合物(例えば、ペプチド、蛋白質、非ペプチド性化合物、合成化合物、発酵生産物など)またはその塩を効率よくスクリーニングすることができる。

このような化合物には、(イ)OT 7 T 0 2 2を介して細胞刺激活性(例えば、アラキドン酸遊離、アセチルコリン遊離、細胞内Ca²⁺遊離、細胞内cAMP生成、細胞内cAMP生成抑制、細胞内cGMP生成、イノシトールリン酸産生、細胞膜電位変動、細胞内蛋白質のリン酸化、c-fosの活性化、pHの低下などを促進する活性または抑制する活性など)を有する化合物(いわゆる、OT 7 T 0 2 2アゴニスト)、(ロ)OT 7 T 0 2 2を介する細胞刺激活性を阻害する化合物(いわゆる、OT 7 T 0 2 2アンタゴニスト

)、(八)RFRPとOT7T022との結合力を増強する化合物、または(二)RFRPとOT7T022との結合力を減少させる化合物などが含まれる。

すなわち、本発明は、

(1)RFRPおよび(または)OT7T022を用いることを特徴とする痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量(特に、夜間自発行動量)の増加、筋力低下、体温減少、白血球数増加、血小板数増加、自発行動量(特に、夜間自発行動量)の減少、痛み、モルヒネ耐性など、特に痛覚障害、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量(特に、夜間自発行動量)の増加、筋力低下、体温減少、白血球数増加、血小板数増加、自発行動量(特に、夜間自発行動量)の減少などの予防・治療・改善薬のスクリーニング方法、

10

(2)(i)RFRPとOT7T022とを接触させた場合と(ii)RFRPとOT7T022および試験化合物とを接触させた場合との比較を行なうことを特徴とする痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量(特に、夜間自発行動量)の増加、筋力低下、体温減少、白血球数増加、血小板数増加、自発行動量(特に、夜間自発行動量)の減少、痛み、モルヒネ耐性など、特に痛覚障害、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量(特に、夜間自発行動量)の増加、筋力低下、体温減少、白血球数増加、血小板数増加、自発行動量(特に、夜間自発行動量)の減少の予防・治療・改善薬のスクリーニング方法を提供する。

20

痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量(特に、夜間自発行動量)の増加、筋力低下、体温減少、白血球数増加、血小板数増加、自発行動量(特に、夜間自発行動量)の減少、痛み、モルヒネ耐性などの予防・治療・改善薬は、RFRPとOT7T022との結合性またはシグナル伝達を変化させる化合物またはその塩である。

30

本発明のスクリーニング方法においては、(i)と(ii)の場合における、例えば、OT7T022に対するRFRPの結合量、細胞刺激活性などを測定して、比較することを特徴とする。

【0052】

より具体的には、本発明は、

a)標識したRFRPを、OT7T022に接触させた場合と、標識したRFRPおよび試験化合物をOT7T022に接触させた場合における、標識したRFRPのOT7T022に対する結合量を測定し、比較することを特徴とするRFRPとOT7T022との結合性またはシグナル伝達を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法、

40

b)標識したRFRPを、OT7T022を含有する細胞または該細胞の膜画分に接触させた場合と、標識したRFRPおよび試験化合物をOT7T022を含有する細胞または該細胞の膜画分に接触させた場合における、標識したRFRPの該細胞または該膜画分に対する結合量を測定し、比較することを特徴とするRFRPとOT7T022との結合性またはシグナル伝達を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法、

c)標識したRFRPを、OT7T022をコードするDNAを含有する形質転換体を培養することによって細胞膜上に発現したOT7T022に接触させた場合と、標識したRFRPおよび試験化合物をOT7T022をコードするDNAを含有する形質転換体を培養することによって細胞膜上に発現したOT7T022に接触させた場合における、標識したRFRPのOT7T022に対する結合量を測定し、比較することを特徴とするRFR

50

R PとO T 7 T 0 2 2との結合性またはシグナル伝達を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法、

【0053】

d) R F R Pを活性化する化合物またはその塩(例えば、R F R Pなど)をO T 7 T 0 2 2を含有する細胞に接触させた場合と、R F R Pを活性化する化合物またはその塩および試験化合物をO T 7 T 0 2 2を含有する細胞に接触させた場合における、O T 7 T 0 2 2を介した細胞刺激活性を測定し、比較することを特徴とするR F R PとO T 7 T 0 2 2との結合性またはシグナル伝達を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法、および

e) R F R Pを活性化する化合物またはその塩(例えば、R F R Pなど)をO T 7 T 0 2 2をコードするDNAを含有する形質転換体を培養することによって細胞膜上に発現したO T 7 T 0 2 2に接触させた場合と、R F R Pを活性化する化合物またはその塩および試験化合物をO T 7 T 0 2 2をコードするDNAを含有する形質転換体を培養することによって細胞膜上に発現したO T 7 T 0 2 2に接触させた場合における、レセプターを介する細胞刺激活性を測定し、比較することを特徴とするR F R PとO T 7 T 0 2 2との結合性またはシグナル伝達を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法を提供する。本発明のスクリーニング方法では、R F R Pの代わりに、R F R PとO T 7 T 0 2 2との結合性を変化させる化合物またはその塩を用いることもできる。このR F R PとO T 7 T 0 2 2との結合性を変化させる化合物またはその塩は、R F R Pを用いて本発明のスクリーニング方法を実施することによって得ることができる。

【0054】

本発明のスクリーニング方法の具体的な説明を以下にする。

まず、本発明のスクリーニング方法に用いるO T 7 T 0 2 2としては、O T 7 T 0 2 2を含有する哺乳動物の臓器の細胞膜画分が好適である。しかし、特にヒト由来の臓器は入手が極めて困難なことから、スクリーニングに用いられるものとしては、組換え体を用いて大量発現させたヒト由来のO T 7 T 0 2 2などが適している。

O T 7 T 0 2 2を製造するには、W O 0 0 / 2 9 4 4 1号またはW O 0 1 / 6 6 1 3 4号に記載の方法が用いられるが、O T 7 T 0 2 2をコードするDNAを哺乳細胞や昆虫細胞で発現することにより行なうことが好ましい。目的とする蛋白質部分をコードするDNA断片には相補DNAが用いられるが、必ずしもこれに制約されるものではない。例えば、遺伝子断片や合成DNAを用いてもよい。O T 7 T 0 2 2をコードするDNA断片を宿主動物細胞に導入し、それらを効率よく発現させるためには、該DNA断片を昆虫を宿主とするバキュロウイルスに属する核多角体病ウイルス(nuclear polyhedrosis virus; NPV)のポリヘドリンプロモーター、SV40由来のプロモーター、レトロウイルスのプロモーター、メタロチオネインプロモーター、ヒトヒートショックプロモーター、サイトメガロウイルスプロモーター、SRプロモーターなどの下流に組み込むのが好ましい。発現したレセプターの量と質の検査はそれ自体公知の方法で行うことができる。例えば、文献〔Nambi, P.ら、ザ・ジャーナル・オブ・バイオロジカル・ケミストリー(J. Biol. Chem.), 267巻, 19555~19559頁, 1992年〕に記載の方法に従って行なうことができる。

したがって、本発明のスクリーニング方法において、O T 7 T 0 2 2を含有するものとしては、それ自体公知の方法に従って精製したO T 7 T 0 2 2であってもよいし、O T 7 T 0 2 2を含有する細胞を用いてもよく、またO T 7 T 0 2 2を含有する細胞の膜画分を用いてもよい。

【0055】

本発明のスクリーニング方法において、O T 7 T 0 2 2を含有する細胞を用いる場合、該細胞をグルタルアルデヒド、ホルマリンなどで固定化してもよい。固定化方法はそれ自体公知の方法に従って行なうことができる。

O T 7 T 0 2 2を含有する細胞としては、O T 7 T 0 2 2を発現した宿主細胞をいうが、該宿主細胞としては、大腸菌、枯草菌、酵母、昆虫細胞、動物細胞などが好ましい。

10

20

30

40

50

細胞膜画分としては、細胞を破碎した後、それ自体公知の方法で得られる細胞膜が多く含まれる画分のことをいう。細胞の破碎方法としては、Potter-Elvehjem型ホモジナイザーで細胞を押し潰す方法、ワーリングブレンダーやポリトロン(Kinematic社製)のよる破碎、超音波による破碎、フレンチプレスなどで加圧しながら細胞を細いノズルから噴出させることによる破碎などが挙げられる。細胞膜の分画には、分画遠心分離法や密度勾配遠心分離法などの遠心力による分画法が主として用いられる。例えば、細胞破碎液を低速(500~3000rpm)で短時間(通常、約1~10分)遠心し、上清をさらに高速(15000~30000rpm)で通常30分~2時間遠心し、得られる沈澱を膜画分とする。該膜画分中には、発現したOT7T022と細胞由来のリン脂質や膜蛋白質などの膜成分が多く含まれる。

10

OT7T022を含有する細胞や膜画分中のOT7T022の量は、1細胞当たり 10^3 ~ 10^8 分子であるのが好ましく、 10^5 ~ 10^7 分子であるのが好適である。なお、発現量が多いほど膜画分当たりのOT7T022結合活性(比活性)が高くなり、高感度なスクリーニング系の構築が可能になるばかりでなく、同一ロットで大量の試料を測定できるようになる。

【0056】

RFRPとOT7T022との結合性またはシグナル伝達を変化させる化合物またはその塩をスクリーニングする上記のa)~c)を実施するためには、例えば、適当なOT7T022画分と、標識したRFRPが必要である。

OT7T022画分としては、天然型のOT7T022画分か、またはそれと同等の活性を有する組換え型OT7T022画分などが望ましい。ここで、同等の活性とは、同等のリガンド結合活性、シグナル情報伝達作用などを示す。

20

標識したRFRPとしては、標識したRFRP、標識したRFRPアナログ化合物などが用いられる。例えば $[^3\text{H}]$ 、 $[^{125}\text{I}]$ 、 $[^{14}\text{C}]$ 、 $[^{35}\text{S}]$ などで標識されたRFRPなどが用いられる。

具体的には、RFRPとOT7T022との結合性またはシグナル伝達を変化させる化合物のスクリーニングを行なうには、まずOT7T022を含有する細胞または細胞の膜画分を、スクリーニングに適したバッファーに懸濁することによりOT7T022標品を調製する。バッファーには、pH4~10(望ましくはpH6~8)のリン酸バッファー、トリス-塩酸バッファーなどのRFRPとOT7T022との結合を阻害しないバッファーであればいずれでもよい。また、非特異的結合を低減させる目的で、CHAPS、Tween-80TM(花王-アトラス社)、ジギトニン、デオキシコレートなどの界面活性剤をバッファーに加えることもできる。さらに、プロテアーゼによるOT7T022やRFRPの分解を抑える目的でPMSF、ロイペプチン、E-64(ペプチド研究所製)、ペプスタチンなどのプロテアーゼ阻害剤を添加することもできる。0.01~10mlの該レセプター溶液に、一定量(5000~500000cpm)の標識したRFRPを添加し、同時に 10^{-4}M ~ 10^{-10}M の試験化合物を共存させる。非特異的結合量(NSB)を知るために大過剰の未標識のRFRPを加えた反応チューブも用意する。反応は約0~50分、望ましくは約4~37分で、約20分~24時間、望ましくは約30分~3時間行う。反応後、ガラス繊維濾紙等で濾過し、適量の同バッファーで洗浄した後、ガラス繊維濾紙に残存する放射活性を液体シンチレーションカウンターまたはβ-カウンターで計測する。拮抗する物質がない場合のカウント(B_0)から非特異的結合量(NSB)を引いたカウント($B_0 - \text{NSB}$)を100%とした時、特異的結合量($B - \text{NSB}$)が、例えば、50%以下になる試験化合物を拮抗阻害能力のある候補物質として選択することができる。

30

40

【0057】

RFRPとOT7T022との結合性またはシグナル伝達を変化させる化合物またはその塩をスクリーニングする上記のd)~e)の方法を実施するためには、例えば、OT7T022を介する細胞刺激活性を公知の方法または市販の測定用キットを用いて測定することができる。

50

具体的には、まず、OT7T022を含有する細胞をマルチウェルプレート等に培養する。スクリーニングを行なうにあたっては前もって新鮮な培地あるいは細胞に毒性を示さない適当なバッファーに交換し、試験化合物などを添加して一定時間インキュベートした後、細胞を抽出あるいは上清液を回収して、生成した産物をそれぞれの方法に従って定量する。細胞刺激活性の指標とする物質（例えば、アラキドン酸など）の生成が、細胞が含有する分解酵素によって検定困難な場合は、該分解酵素に対する阻害剤を添加してアッセイを行なってもよい。また、cAMP産生抑制などの活性については、フォルスコリンなどで細胞の基礎的産生量を増大させておいた細胞に対する産生抑制作用として検出することができる。

細胞刺激活性を測定してスクリーニングを行なうには、適当なOT7T022を発現した細胞が必要である。OT7T022を発現した細胞としては、天然型のOT7T022を有する細胞株、上記の組換え型OT7T022を発現した細胞株などが望ましい。

試験化合物としては、前記と同様のものが用いられる。

また、試験化合物としては、OT7T022の活性部位の原子座標およびリガンド結合ポケットの位置に基づいて、リガンド結合ポケットに結合するように設計された化合物が好ましく用いられる。OT7T022の活性部位の原子座標およびリガンド結合ポケットの位置の測定は、公知の方法あるいはそれに準じる方法を用いて行うことができる。

【0058】

RFRPとOT7T022との結合性またはシグナル伝達を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング用キットは、RFRP、OT7T022を含有する細胞またはその細胞膜画分を含有するものなどである。

本発明のスクリーニング用キットの例としては、次のものが挙げられる。

1. スクリーニング用試薬

a) 測定用緩衝液および洗浄用緩衝液

Hanks' Balanced Salt Solution (ギブコ社製) に、0.05%のウシ血清アルブミン (シグマ社製) を加えたもの。

孔径0.45 μmのフィルターで濾過滅菌し、4℃で保存するか、あるいは用時調製しても良い。

b) OT7T022 標品

OT7T022を発現させたCHO細胞を、12穴プレートに 5×10^5 個/穴で継代し、37℃、5%CO₂、95%airで2日間培養したもの。

c) 標識RFRP

市販の [³H]、[¹²⁵I]、[¹⁴C]、[³⁵S]などで標識したRFRP水溶液の状態のものを4℃あるいは-20℃にて保存し、用時に測定用緩衝液にて1 μMに希釈する。

d) RFRP 標準液

RFRPを0.1%ウシ血清アルブミン (シグマ社製) を含むPBSで1 mMとなるように溶解し、-20℃で保存する。

【0059】

2. 測定法

a) 12穴組織培養用プレートにて培養したOT7T022発現CHO細胞を、測定用緩衝液1 mlで2回洗浄した後、490 μlの測定用緩衝液を各穴に加える。

b) 10^{-3} ~ 10^{-10} Mの試験化合物溶液を5 μl加えた後、標識RFRPを5 μl加え、室温にて1時間反応させる。非特異的結合量を知るためには試験化合物の代わりに 10^{-3} MのRFRPを5 μl加えておく。

c) 反応液を除去し、1 mlの洗浄用緩衝液で3回洗浄する。細胞に結合した標識RFRPを0.2 N NaOH - 1% SDSで溶解し、4 mlの液体シンチレーターA (和光純薬製) と混合する。

d) 液体シンチレーションカウンター (ベックマン社製) を用いて放射活性を測定し、Percent Maximum Binding (PMB) を次の式で求める。

$$PMB = [(B - NSB) / (B_0 - NSB)] \times 100$$

PMB : Percent Maximum Binding

B : 検体を加えた時の値

NSB : Non-specific Binding (非特異的結合量)

B₀ : 最大結合量

【0060】

本発明のスクリーニング方法またはスクリーニング用キットを用いて得られる化合物としては、ペプチド、蛋白質、非ペプチド性化合物、合成化合物、発酵生産物、細胞抽出液、植物抽出液、動物組織抽出液、血漿などが挙げられ、これら化合物は新規な化合物であってもよいし、公知の化合物であってもよい。

10

上記スクリーニング方法で得られる化合物の塩としては、前記したRFRPの塩と同様の塩が用いられる。

本発明のスクリーニング方法またはスクリーニング用キットを用いて得られる化合物またはその塩は、RFRPとOT7T022との結合性またはシグナル伝達を変化させる作用を有する化合物またはその塩であり、具体的には、(イ)OT7T022を介して細胞刺激活性を有する化合物またはその塩(いわゆる、OT7T022アゴニスト)、(ロ)該細胞刺激活性を有しない化合物またはその塩(いわゆる、OT7T022アンタゴニスト)、(ハ)RFRPとOT7T022との結合力を増強する化合物またはその塩、または(ニ)RFRPとOT7T022との結合力を減少させる化合物またはその塩である。

OT7T022アゴニストであるか、アンタゴニストであるかの具体的な評価方法は以下の(i)および(ii)に従えばよい。

20

(i)例えば、前記a)~c)のスクリーニング方法で示されるバインディング・アッセイを行い、RFRPとOT7T022との結合性を変化させる(特に、結合を阻害する)化合物またはその塩を得た後、該化合物またはその塩が上記したOT7T022を介する細胞刺激活性を有しているか否かを測定する。細胞刺激活性を有する化合物またはその塩はOT7T022アゴニストであり、該活性を有しない化合物またはその塩はOT7T022アンタゴニストである。

(ii)(a)試験化合物をOT7T022を含有する細胞に接触させ、上記OT7T022を介した細胞刺激活性を測定する。細胞刺激活性を有する化合物またはその塩はOT7T022アゴニストである。

30

(b)OT7T022を活性化する化合物(例えば、RFRPなど)をOT7T022を含有する細胞に接触させた場合と、OT7T022を活性化する化合物および試験化合物をOT7T022を含有する細胞に接触させた場合における、OT7T022を介した細胞刺激活性を測定し、比較する。OT7T022を活性化する化合物による細胞刺激活性を減少させ得る化合物またはその塩はOT7T022アンタゴニストである。

OT7T022アゴニストは、RFRPが有する生理活性と同様の作用を有しており安全で低毒性な医薬として有用である。

OT7T022アンタゴニストは、RFRPが有する生理活性を抑制することができるので、RFRPの生理活性を抑制するための安全で低毒性な医薬として有用である。

RFRPとOT7T022との結合力を増強する化合物またはその塩は、RFRPが有する生理活性を増強することができるので、安全で低毒性な医薬として有用である。

40

RFRPとOT7T022との結合力を減少させる化合物またはその塩は、RFRPが有する生理活性を減少させることができるので、RFRPの生理活性を抑制するための安全で低毒性な医薬として有用である。

【0061】

具体的には、本発明のスクリーニング方法またはスクリーニング用キットを用いて得られるOT7T022アゴニストおよびRFRPとOT7T022との結合力を増強する化合物またはその塩は、例えば、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球

50

数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加、筋力低下など、特に筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下に対する予防・治療・改善剤として有用である。

一方、本発明のスクリーニング方法またはスクリーニング用キットを用いて得られるOT7T022アゴニストおよびRFRPとOT7T022との結合力を減少させる化合物またはその塩は、例えば、筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少に対する予防・治療・改善剤、鎮痛剤、モルヒネの鎮痛作用促進剤、モルヒネ耐性回避剤、モルヒネ依存性回避剤などとして有用である。

本発明のスクリーニング方法またはスクリーニング用キットを用いて得られる化合物またはその塩を上記の医薬組成物として使用する場合、常套手段に従って製剤化することができる。具体的には、上記したRFRPを含有する予防・治療・改善剤と同様に製造することができる。

得られる製剤は安全で低毒性であるので、例えば、ヒトや哺乳動物（例えば、ラット、マウス、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ネコ、イヌ、サルなど）に対して投与することができる。

該化合物またはその塩の投与量は、投与対象、対象臓器、症状、投与方法などにより差異はあるが、経口投与の場合、一般的に例えば、痛覚障害患者（体重60kgとして）においては、一日につきOT7T022アゴニストを約0.1～100mg、好ましくは約1.0～50mg、より好ましくは約1.0～20mgである。非経口的に投与する場合は、その1回投与量は投与対象、対象臓器、症状、投与方法などによっても異なるが、例えば、注射剤の形では通常例えば、痛覚障害患者（体重60kgとして）においては、一日につきOT7T022アゴニストを約0.01～30mg程度、好ましくは約0.1～20mg程度、より好ましくは約0.1～10mg程度を静脈注射により投与するのが好都合である。他の動物の場合も、体重60kg当たりに換算した量を投与することができる。

【0062】

(6) 細胞膜におけるOT7T022の量を変化させる化合物またはその塩を含有する医薬

OT7T022に対する抗体は、OT7T022を特異的に認識することができるので、細胞膜におけるOT7T022の量を変化させる化合物またはその塩のスクリーニングに用いることができる。

すなわち、本発明は、例えば、

(i) 非ヒト哺乳動物のa) 血液、b) 特定の臓器、c) 臓器から単離した組織もしくは細胞等を破壊した後、細胞膜画分を単離し、細胞膜画分に含まれるOT7T022を定量することによる、細胞膜におけるOT7T022の量を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法、

(ii) OT7T022を発現する形質転換体等を破壊した後、細胞膜画分を単離し、細胞膜画分に含まれるOT7T022を定量することによる、細胞膜におけるOT7T022の量を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法、

(iii) 非ヒト哺乳動物のa) 血液、b) 特定の臓器、c) 臓器から単離した組織もしくは細胞等を切片とした後、免疫染色法を用いることにより、細胞表層での該受容体蛋白質の染色度合いを定量化することにより、細胞膜上の該蛋白質を確認することによる、細胞膜におけるOT7T022の量を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法を提供する。

(iv) OT7T022を発現する形質転換体等を切片とした後、免疫染色法を用いることにより、細胞表層での該受容体蛋白質の染色度合いを定量化することにより、細胞膜上の該蛋白質を確認することによる、細胞膜におけるOT7T022の量を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法を提供する。

10

20

30

40

50

【0063】

細胞膜画分に含まれるOT7T022の定量は具体的には以下のようにして行なう。

(i) 正常あるいは疾患モデル非ヒト哺乳動物(例えば、マウス、ラット、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ネコ、イヌ、サルなど、より具体的には免疫不全ラット、マウス、化ウサギなど)に対して、薬剤(例えば、免疫調節薬など)あるいは物理的ストレス(例えば、浸水ストレス、電気ショック、明暗、低温など)などを与え、一定時間経過した後に、血液、あるいは特定の臓器(例えば、脳、肝臓、腎臓など)、または臓器から単離した組織、あるいは細胞を得る。得られた臓器、組織または細胞等を、例えば、適当な緩衝液(例えば、トリス塩酸緩衝液、リン酸緩衝液、ヘペス緩衝液など)等に懸濁し、臓器、組織あるいは細胞を破壊し、界面活性剤(例えば、トリトンX100TM、ツイーン20TMなど)などを用い、さらに遠心分離や濾過、カラム分画などの手法を用いて細胞膜画分を得る。

10

細胞膜画分としては、細胞を破碎した後、それ自体公知の方法で得られる細胞膜が多く含まれる画分のことをいう。細胞の破碎方法としては、Potter-Elvehjem型ホモジナイザーで細胞を押し潰す方法、ワーリングブレンダーやポリトロン(Kinematic社製)による破碎、超音波による破碎、フレンチプレスなどで加圧しながら細胞を細いノズルから噴出させることによる破碎などが挙げられる。細胞膜の分画には、分画遠心分離法や密度勾配遠心分離法などの遠心力による分画法が主として用いられる。例えば、細胞破碎液を低速(500~3000rpm)で短時間(通常、約1分~10分)遠心し、上清をさらに高速(15000~30000rpm)で通常30分~2時間遠心し、得られる沈澱を膜画分とする。該膜画分中には、発現したOT7T022と細胞由来のリン脂質や膜蛋白質などの膜成分が多く含まれる。

20

細胞膜画分に含まれるOT7T022は、例えば、本発明の抗体を用いたサンドイッチ免疫測定法、ウエスタンブロット解析などにより定量することができる。

かかるサンドイッチ免疫測定法は上記の方法と同様にして行なうことができ、ウエスタンブロットは自体公知の手段により行なうことができる。

(ii) OT7T022を発現する形質転換体を上記の方法に従い作製し、細胞膜画分に含まれるOT7T022を定量することができる。

【0064】

細胞膜におけるOT7T022の量を変化させる化合物またはその塩のスクリーニングは

30

(i) 正常あるいは疾患モデル非ヒト哺乳動物に対して、薬剤あるいは物理的ストレスなどを与える一定時間前(30分前~24時間前、好ましくは30分前~12時間前、より好ましくは1時間前~6時間前)もしくは一定時間後(30分後~3日後、好ましくは1時間後~2日後、より好ましくは1時間後~24時間後)、または薬剤あるいは物理的ストレスと同時に試験化合物を投与し、投与後一定時間経過後(30分後~3日後、好ましくは1時間後~2日後、より好ましくは1時間後~24時間後)、細胞膜におけるOT7T022の量を定量することにより行なうことができ、

(ii) 形質転換体を常法に従い培養する際に試験化合物を培地中に混合させ、一定時間培養後(1日後~7日後、好ましくは1日後~3日後、より好ましくは2日後~3日後)、細胞膜におけるRFRPの量を定量することにより行なうことができる。

40

細胞膜画分に含まれるOT7T022の確認は具体的には以下のようにして行なう。

(iii) 正常あるいは疾患モデル非ヒト哺乳動物(例えば、マウス、ラット、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ネコ、イヌ、サルなど、より具体的には免疫不全モデルラット、マウス、ウサギなど)に対して、薬剤(例えば、免疫調節薬など)あるいは物理的ストレス(例えば、浸水ストレス、電気ショック、明暗、低温など)などを与え、一定時間経過した後に、血液、あるいは特定の臓器(例えば、脳、肝臓、腎臓など)、または臓器から単離した組織、あるいは細胞を得る。得られた臓器、組織または細胞等を、常法に従い組織切片とし、本発明の抗体を用いて免疫染色を行う。細胞表層での該受容体蛋白質の染色度を定量化することにより、細胞膜上の該蛋白質を確認することにより、定量的または

50

定性的に、細胞膜におけるOT7T022の量を確認することができる。

(i v) OT7T022を発現する形質転換体等を用いて同様の手段をとることにより確認することもできる。

試験化合物としては、前記と同様のものが用いられる。

【0065】

本発明のスクリーニング方法を用いて得られる化合物は、細胞膜におけるOT7T022の量を変化させる作用を有する化合物であり、具体的には、(イ)細胞膜におけるOT7T022の量を増加させることにより、OT7T022を介する細胞刺激活性を増強させる化合物、(ロ)細胞膜におけるOT7T022の量を減少させることにより、該細胞刺激活性を減弱させる化合物である。

10

上記スクリーニング方法で得られる化合物の塩としては、前記したRFRPの塩と同様の塩が用いられる。

細胞膜におけるOT7T022の量を増加させることにより、細胞刺激活性を増強させる化合物またはその塩は、例えば、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量(特に、夜間自発行動量)の増加、筋力低下など、特に筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量(特に、夜間自発行動量)の増加または筋力低下に対する安全で低毒性な予防・治療・改善剤として有用である。

20

細胞膜におけるOT7T022の量を減少させることにより、細胞刺激活性を減弱させる化合物またはその塩は、例えば、筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量(特に、夜間自発行動量)の減少に対する安全で低毒性な予防・治療・改善剤、鎮痛剤、モルヒネの鎮痛作用促進剤、モルヒネ耐性回避剤、モルヒネ依存性回避剤などとして有用である。

本発明のスクリーニング方法を用いて得られる化合物またはその塩を医薬組成物として使用する場合、常套手段に従って製剤化することができる。具体的には、上記したRFRPを含有する予防・治療・改善剤と同様に製造することができる。

得られる製剤は安全で低毒性であるので、例えば、ヒトや哺乳動物(例えば、ラット、マウス、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ネコ、イヌ、サルなど)に対して投与することができる。

30

該化合物またはその塩の投与量は、投与対象、対象臓器、症状、投与方法などにより差異はあるが、経口投与の場合、一般的に例えば、痛覚障害患者(体重60kgとして)においては、細胞膜におけるOT7T022の量を増加させる化合物またはその塩を一日につき約0.1~100mg、好ましくは約1.0~50mg、より好ましくは約1.0~20mgである。非経口的に投与する場合は、その1回投与量は投与対象、対象臓器、症状、投与方法などによっても異なるが、例えば、注射剤の形では、通常例えば、痛覚障害患者(体重60kgとして)においては、細胞膜におけるOT7T022の量を増加させる化合物またはその塩を一日につき約0.01~30mg程度、好ましくは約0.1~20mg程度、より好ましくは約0.1~10mg程度を静脈注射により投与するのが好都合である。他の動物の場合も、体重60kg当りに換算した量を投与することができる。

40

【0066】

(7) RFRPまたはOT7T022に対する抗体を含有してなる医薬

RFRPまたはOT7T022に対して抗体(特に、中和抗体)は、RFRPまたはOT7T022が関与するシグナル伝達、例えば、OT7T022を介する細胞刺激活性を不活性化することができる。

したがって、RFRPまたはOT7T022に対する抗体は、例えば、筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量(特に、夜間自発行動量)の減少に対する予防・治療・改善剤、鎮痛剤、モルヒネの鎮痛作用促進剤、モルヒネ耐性回避剤、モルヒネ依存性回避剤などとして用いることができる。

50

上記予防・治療・改善剤は、前記した R F R P を含有する医薬と同様にして製造し、使用することができる。

【 0 0 6 7 】

(8) アンチセンス DNA または s i R N A を含有してなる医薬

R F R P をコードする DNA に対するアンチセンス DNA または O T 7 T 0 2 2 をコードする DNA に対するアンチセンス DNA (以下、アンチセンス DNA と略記する) または本発明の s i R N A は、例えば、筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量 (特に、夜間自発行動量) の減少に対する予防・治療・改善剤、鎮痛剤、モルヒネの鎮痛作用促進剤、モルヒネ耐性回避剤、モルヒネ依存性回避剤などとして用いることができる。

例えば、該アンチセンス DNA または s i R N A を用いる場合、該アンチセンス DNA または s i R N A を単独あるいはレトロウイルスベクター、アデノウイルスベクター、アデノウイルスアソシエートドウイルスベクターなどの適当なベクターに挿入した後、常套手段に従って実施することができる。該アンチセンス DNA または s i R N A は、そのまま、あるいは摂取促進のために補助剤などの生理学的に認められる担体とともに製剤化し、遺伝子銃やハイドロゲルカテーテルのようなカテーテルによって投与できる。

さらに、該アンチセンス DNA は、組織や細胞における R F R P または O T 7 T 0 2 2 をコードする DNA の存在やその発現状況を調べるための診断用オリゴヌクレオチドプローブとして使用することもできる。

【 0 0 6 8 】

(9) O T 7 T 0 2 2 ノックアウト動物

(O T 7 T 0 2 2 遺伝子発現不活性哺乳動物 E S 細胞)

O T 7 T 0 2 2 遺伝子が不活性化された哺乳動物 E S 細胞とは、哺乳動物 E S 細胞が有する O T 7 T 0 2 2 遺伝子に人為的に変異を加えることにより、遺伝子の発現能を抑制するか、もしくは該遺伝子がコードしている O T 7 T 0 2 2 の活性を実質的に喪失させることにより、遺伝子が実質的に O T 7 T 0 2 2 の発現能を有さない不活性化された (以下、本発明のノックアウト遺伝子と称することがある) 哺乳動物の E S 細胞をいう。

O T 7 T 0 2 2 遺伝子としては、前記した O T 7 T 0 2 2 をコードする DNA が用いられるが、具体的には、マウス O T 7 T 0 2 2 遺伝子としては、配列番号 : 2 7 で表わされるアミノ酸配列からなるマウス O T 7 T 0 2 2 の部分蛋白質をコードする、配列番号 : 3 2 または配列番号 : 2 8 で表わされる塩基配列からなる遺伝子 (ゲノム DNA) などが用いられる。

ラット O T 7 T 0 2 2 遺伝子としては、配列番号 : 1 1 で表わされるアミノ酸配列からなる O T 7 T 0 2 2 をコードする、配列番号 : 1 2 で表わされる塩基配列を含有する遺伝子などが用いられる。

本明細書中、E S 細胞の材料とする哺乳動物としては、例えば、ヒト、ウシ、ブタ、ヒツジ、ヤギ、ウサギ、イヌ、ネコ、モルモット、ハムスター、マウス、ラットなどが用いられる。

また、本明細書中、非ヒト動物としては、O T 7 T 0 2 2 遺伝子を有するヒト以外の動物ならば、いかなる動物でもよいが、非ヒト哺乳動物が好ましい。非ヒト哺乳動物としては、例えば、ウシ、ブタ、ヒツジ、ヤギ、ウサギ、イヌ、ネコ、モルモット、ハムスター、マウス、ラットなどが用いられる。非ヒト哺乳動物のなかでも、病態動物モデル系の作製の面から個体発生および生物サイクルが比較的短く、また繁殖が容易なゲッ歯動物、とりわけマウス (例えば純系として、C 5 7 B L / 6 系統, D B A 2 系統など、交雑系として、B 6 C 3 F 1 系統, B D F 1 系統, B 6 D 2 F 1 系統, B A L B / c 系統, I C R 系統など (なかでも好ましくは、純系として、C 5 7 B L / 6 系統など、交雑系として、B D F 1 系統または I C R 系統など)) またはラット (例えば、W i s t a r 系統, S D 系統など) などが特に好ましい。

【 0 0 6 9 】

O T 7 T 0 2 2 遺伝子に人為的に変異を加える方法としては、例えば、遺伝子工学的手法

により該遺伝子配列の一部又は全部の削除、もしくは他遺伝子の挿入または置換があげられる。これらの変異により、例えば、コドンの読み取り枠をずらすか、プロモーターあるいはエキソンの機能を破壊することにより本発明のノックアウト遺伝子を作製することができる。

O T 7 T 0 2 2 遺伝子が不活性化された哺乳動物（好ましくは、非ヒト哺乳動物）E S 細胞（以下、O T 7 T 0 2 2 遺伝子不活性化 E S 細胞またはノックアウト E S 細胞と略記する）の具体例としては、例えば、薬剤耐性遺伝子（例えば、ネオマイシン耐性遺伝子、ハイグロマイシン耐性遺伝子またはゼオシン耐性遺伝子など、好ましくは、ネオマイシン耐性遺伝子など）、あるいはレポーター遺伝子（例えば、lacZ（大腸菌 - ガラクトシダーゼ遺伝子）、cat（クロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ遺伝子）、GUS（ - グルクロニダーゼ遺伝子）、ルシフェラーゼ遺伝子、エクオリン遺伝子、タウマリン遺伝子、GFP（Green Fluorescent Protein）遺伝子など、好ましくは、lacZ など）等を挿入することにより O T 7 T 0 2 2 遺伝子のエキソンの機能を破壊するか、あるいはエキソン間のイントロン部分に遺伝子の転写を終結させる DNA 配列（例えば、poly A 付加シグナルなど）を挿入し、完全な mRNA を合成できなくすることによって、結果的に遺伝子を破壊するように構築した DNA 配列を有する DNA ベクター（以下、ターゲティングベクターと略記する）を作製する。レポーター遺伝子を挿入してエキソンの機能を破壊する場合、該レポーター遺伝子は、O T 7 T 0 2 2 プロモーターの制御下で発現するように挿入することが好ましい。

上記「薬剤耐性遺伝子」とは、抗生物質などの薬剤耐性に関与する遺伝子を示し、導入される遺伝子が細胞において発現したか否かを選抜するマーカーとして利用される。

また、上記「レポーター遺伝子」とは、遺伝子発現の指標になる遺伝子群のことを示し、通常、発光反応や呈色反応を触媒する酵素の構造遺伝子が利用されることが多く、1 遺伝的背景がないもの、2 遺伝子発現を定量的に行える高感度の方法があるもの、3 形質転換細胞への影響が少ないもの、4 発現部位の局在性が示されるものなどが好ましく用いられる（植物細胞工学、第2巻、第721頁、1990）。また、上記の「薬剤耐性遺伝子」なども同じ目的で使用されるが、「レポーター遺伝子」は、単に導入される遺伝子が細胞において発現したかどうかだけではなく、どの組織でいつ発現したかを調べることができ、しかも定量的に発現量を正確に調べることができるものである。

さらに、ターゲティングベクターを、例えば、相同組換え法により該動物の染色体に導入し、得られた E S 細胞について O T 7 T 0 2 2 遺伝子上あるいはその近傍の DNA 配列をプローブとしたサザンハイブリダイゼーション解析あるいはターゲティングベクター上の DNA 配列とターゲティングベクター作製に使用した O T 7 T 0 2 2 遺伝子以外の近傍領域の DNA 配列をプライマーとした PCR 法により解析し、本発明のノックアウト E S 細胞を選別することにより得ることができる。

上記のターゲティングベクターとしては、例えば、大腸菌由来のプラスミド（例、pBR322, pBR325, pUC12, pUC13 など）、枯草菌由来のプラスミド（例、pUB110, pTB5, pC194 など）、酵母由来のプラスミド（例、pSH19, pSH15 など）、ファージなどのバクテリオファージ、モロニー白血球ウイルスなどのレトロウイルス、ワクシニアウイルスまたはアデノウイルスベクター、バキュロウイルス、ウシ乳頭腫ウイルス、ヘルペスウイルス群からのウイルス、またはエプスタイン・バー・ウイルスなどの動物ウイルスなどが用いられる。

【0070】

また、相同組換え法等により O T 7 T 0 2 2 遺伝子を不活性化させる元の E S 細胞としては、例えば、前述のような既に樹立されたものを用いてもよく、また公知の Evans と Kaufman の方法に準じて新しく樹立したものでもよい。例えば、マウスの E S 細胞の場合、現在、一般的には 129 系統の E S 細胞が使用されているが、免疫学的背景がはっきりしていないので、これに代わる純系で免疫学的に遺伝的背景が明らかな E S 細胞を取得するなどの目的で、例えば、C57BL/6 系統マウスや DBA/2 系統との交雑種 BDF1 系統マウス（C57BL/6 系統と DBA/2 系統との F1）を用いて樹立した

10

20

30

40

50

ものなども良好に用いる。BDF1系統マウスは、採卵数が多く、かつ、卵が操作上にあるという利点に加えて、C57BL/6系統マウスを遺伝的背景に持つので、これを用いて得られたES細胞は病態モデルマウスを作出したとき、C57BL/6系統マウスと戻し交配することでその遺伝的背景をC57BL/6系統に戻すことが可能である点で有利に用い得る。

また、ES細胞を樹立する場合、一般には受精後3.5日目の胚盤胞を使用するが、これ以外に8細胞期胚(受精後2.5日目頃の8細胞期胚が好ましい)を採卵し胚盤胞まで培養して用いることにより効率よく多数の初期胚を取得することができる。

【0071】

また第二次セレクションは、G-バンディング法などを用いた核型分析等により行うことができる。得られるES細胞の染色体数は正常数の100%が望ましいが、樹立の際の物理的操作等の関係上困難な場合は、ES細胞の遺伝子をロックアウトした後、正常細胞(例えばマウスでは染色体数が $2n = 40$ である細胞)に再びクローニングすることが望ましい。

このようにして得られたES細胞株は、通常その増殖性は大変良いが、個体発生できる再生能を失いやすいので、注意深く継代培養することが必要である。例えば、STO繊維芽細胞のような適当なフィーダー細胞上でLIF(1~10000U/ml)存在下に炭酸ガス培養器内(好ましくは、5%炭酸ガス、95%空気または5%酸素、5%炭酸ガス、90%空気)で約37で培養するなどの方法で培養し、継代時には、例えば、トリプシン/EDTA溶液(通常0.001~0.5%トリプシン/0.1~5mM EDTA、好ましくは約0.1%トリプシン/1mM EDTA)処理により単細胞化し、新たに用意したフィーダー細胞上に播種する方法などがとられる。このような継代は、通常1~3日毎に行なうが、この際に細胞の観察を行い、形態的に異常な細胞が見受けられた場合は、その培養細胞は放棄することが望まれる。

ES細胞は、適当な条件により、高密度に至るまで単層培養するか、または細胞集塊を形成するまで浮遊培養することにより、頭頂筋、内臓筋、心筋などの種々のタイプの細胞に分化させることが可能であり(M. J. Evans及びM. H. Kaufman, ナイチャー(Nature)第292巻、154頁、1981年; G. R. Martin プロシーディングス・オブ・ナショナル・アカデミー・オブ・サイエンス・ユ-エスエー(Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.)第78巻、7634頁、1981年; T. C. Doetschman ら、ジャーナル・オブ・エンブリオロジー・アンド・エクスペリメンタル・モルフォロジー、第87巻、27頁、1985年)、本発明のES細胞を分化させて得られるOT7T022遺伝子発現不全細胞は、*in vitro*におけるOT7T022の細胞生物学的検討において有用である。

また、ES細胞を保存する場合には、適当な凍結用培地(例えば、10%DMSO、10%牛胎児血清を含むダルベッコ変法イーグル培地(DMEM))などを用いて、約-80以下で凍結保存する。

【0072】

本発明のOT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物(以下、遺伝子発現不全非ヒト動物と称す場合がある)とは、例えば、前記のOT7T022遺伝子が不活性化された哺乳動物ES細胞由来の細胞を用いて遺伝子工学的に作出されたものであり、例えば、生殖細胞および体細胞に胚形成初期に不活性化OT7T022遺伝子配列を導入された非ヒト動物である。

該非ヒト動物としては、前記と同様のものが用いられる。

OT7T022遺伝子をロックアウトさせるには、前記のターゲティングベクターを非ヒト動物ES細胞または非ヒト動物卵細胞に公知の方法(例えば、エレクトロポレーション法、マイクロインジェクション法、リン酸カルシウム法、リポフェクション法、凝集法、パーティクルガン法、DEAE-デキストラン法など)によって導入し(好ましい導入法としては、ES細胞に導入する場合にはエレクトロポレーション法、卵細胞に導入する場

合にはマイクロインジェクション法などがあげられる)、ターゲティングベクターの不活性化されたOT7T022遺伝子配列を相同組換えにより、非ヒト動物ES細胞または非ヒト動物卵細胞の染色体上のOT7T022遺伝子と入れ換えることにより行うことができる。OT7T022遺伝子がノックアウトされた細胞は、OT7T022遺伝子上またはその近傍のDNA配列をプローブとしたサザンハイブリダイゼーション解析またはターゲティングベクター上のDNA配列と、ターゲティングベクターに使用したマウス由来のOT7T022遺伝子以外の近傍領域のDNA配列とをプライマーとしたPCR法による解析で判定することができる。

非ヒト動物ES細胞を用いた場合は、相同組換えにより、OT7T022遺伝子が不活性化された細胞株をクローニングし、その細胞を胚形成の初期の適当な時期、例えば、8細胞期の非ヒト動物胚または胚盤胞に注入し(注入法)、またはOT7T022遺伝子が不活性化されたES細胞塊を2個の8細胞期胚ではさみ込む(集合キメラ法)ことにより作製したキメラ胚を偽妊娠させた該非ヒト動物の子宮に移植する。

作出された動物は正常なOT7T022遺伝子座をもつ細胞と人為的に変異したOT7T022遺伝子座をもつ細胞との両者から構成されるキメラ動物である。

該キメラ動物の生殖細胞の一部が変異したOT7T022遺伝子座をもつ場合、このようなキメラ個体と正常個体を交配することにより得られた個体群より、全ての組織が人為的に変異を加えたOT7T022遺伝子座をもつ細胞で構成された個体を、例えば、コートカラーの判定等により選別することにより得られる。このようにして得られた個体は、通常、OT7T022ヘテロ発現不全個体であり、OT7T022ヘテロ発現不全個体同志を交配し、それらの産仔からOT7T022ホモ発現不全個体を得ることができる。

卵細胞を使用する場合は、例えば、卵細胞核内にマイクロインジェクション法で遺伝子溶液を注入することによりターゲティングベクターを染色体内に導入したトランスジェニック非ヒト動物を得ることができ、これらのトランスジェニック非ヒト動物を比較することにより、相同組換えによりOT7T022遺伝子座に変異のあるものを選択することにより得られる。

OT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物は、該動物のmRNA量を公知の方法を用いて測定して間接的にその発現量を比較することにより、正常動物と区別することが可能である。

【0073】

このようにしてOT7T022遺伝子がノックアウトされている個体は、交配により得られた動物個体も該遺伝子がノックアウトされていることを確認して通常の飼育環境で飼育継代を行なうことができる。

さらに、生殖系列の取得および保持についても常法に従って行うことができる。即ち、該不活化遺伝子配列を保有する雌雄の動物を交配することにより、該不活化遺伝子配列を相同染色体の両方に持つホモザイゴート動物を取得することができる。得られたホモザイゴート動物は、母親動物に対して、正常個体1,ホモザイゴート複数になるような状態で飼育することにより効率的に得ることができる。ヘテロザイゴート動物の雌雄を交配することにより、該不活化遺伝子配列を有するホモザイゴートおよびヘテロザイゴート動物を繁殖継代することができる。このようにして得られた該不活化遺伝子配列を有する動物の子孫も本発明のOT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物に含まれる。

本発明のOT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物(特に、OT7T022ホモ欠損非ヒト動物、好ましくはOT7T022ホモ欠損マウス)は、次のような性質を有している。

- (1) 野生型動物に比べて、成熟齢以降に胸腺の重量が増加している。
- (2) 野生型動物に比べて、後退歩行を主な特徴とする歩行異常さらに、振戦または痙攣などを示す場合がある。
- (3) 野生型動物に比べて、侵害刺激(例、熱侵害刺激)に対して反応性の低下が見られる。
- (4) 野生型動物に比べて、攻撃的行動が多い。
- (5) 野生型動物に比べて、腎臓絶対重量または胸腺絶対重量の低下がみられる。

10

20

30

40

50

(6) 野生型動物に比べて、白血球数または血小板数の減少がみられる。

(7) 野生型動物に比べて、筋力が低下している。

【0074】

このようにOT7T022遺伝子が不活性化された哺乳動物ES細胞は、OT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物を作出する上で、非常に有用である。また、OT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物、該動物に対する薬剤誘発あるいはストレス負荷によって生じる病態モデル動物、OT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物と他の病態モデル動物との交配によって生じるより良い病態モデル動物、OT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物と他の病態モデル動物との交配によって生じる病態モデル動物に対する薬剤誘発あるいはストレス負荷によって生じる病態モデル動物およびOT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物と他の病態モデル動物を用いた骨髄移植動物、もしくはそれらの組織またはそれらに由来する細胞は、OT7T022の欠損に起因する疾病、例えば、OT7T022により誘導され得る種々の生物活性の欠失に基づく、OT7T022の生物活性の不活性化に起因する疾病（例えば、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加、筋力低下など、特に筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下など）のより良いモデルとなり得るので、これらの疾病の原因究明及び治療法の検討に有用である。ここで、他の病態モデル動物としては、例えば、血液細胞側のみの遺伝子発現の欠損あるいは上昇に局限させた骨髄移植を用いたモデルマウスも挙げられる [Linton, M. F., et al., Science 267: 1034-1037 (1995)]。骨髄移植マウスは遺伝子機能の変化が局限されることで、より適した病態モデル動物となる可能性を秘めている。例えば、上記されたOT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物から得られた病態モデル動物をドナー動物として、その骨髄を採取し、あらかじめ放射線照射で骨髄を破壊した他のレシピエント動物に移植したマウス、あるいは、他の病態モデル動物をドナー動物として、その骨髄を採取し、あらかじめ放射線照射で骨髄を破壊したOT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物から得られた病態モデル動物をレシピエント動物として移植した骨髄移植マウスなども含まれる。

10

20

30

このように、本発明のOT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物、該動物に対する薬剤誘発あるいはストレス負荷によって生じる病態モデル動物、OT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物と他の病態モデル動物との交配によって生じる病態モデル動物、OT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物と他の病態モデル動物との交配によって生じる病態モデル動物に対する薬剤誘発あるいはストレス負荷によって生じる病態モデル動物、OT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物から得られた病態モデル動物と他の病態モデル動物を用いて骨髄移植して得られた病態モデル動物、もしくはそれらの組織またはそれらに由来する細胞を、該疾病の予防・治療・改善薬のスクリーニングに用いることができる。ここで、上記組織やそれに由来する細胞の例としては、肝臓や腎臓などのホモジネートを用いて特定の活性を測定する、あるいは、腹腔マクロファージを用いて特定産物の活性や産生量を測定することでスクリーニングに用いることができる。

40

【0075】

[本発明のスクリーニング方法A]

本発明は、本発明のOT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物もしくはその組織またはそれらに由来する細胞を用いることを特徴とする、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加または筋力低下、特に痛覚障害、筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加または筋力低下の予防・治療・改善薬のスクリーニング

50

方法を提供する。

本発明のスクリーニング方法において用いられる O T 7 T 0 2 2 遺伝子発現不全非ヒト動物、該動物の薬剤誘発あるいはストレス負荷によって生じる病態モデル動物、O T 7 T 0 2 2 遺伝子発現不全非ヒト動物と他の病態モデル動物との交配によって生じる病態モデル動物、O T 7 T 0 2 2 遺伝子発現不全非ヒト動物と他の病態モデル動物との交配によって生じる病態モデル動物に対する薬剤誘発あるいはストレス負荷によって生じる病態モデル動物、O T 7 T 0 2 2 遺伝子発現不全非ヒト動物から得られた病態モデル動物と他の病態モデル動物を用いて骨髄移植して得られた病態モデル動物、もしくはそれらの組織またはそれらに由来する細胞としては、前記と同様のものが挙げられる。

試験化合物としては、前記と同様のものが用いられる。

10

具体的には、本発明の O T 7 T 0 2 2 遺伝子発現不全非ヒト動物、該動物の薬剤誘発あるいはストレス負荷によって生じる病態モデル動物、O T 7 T 0 2 2 遺伝子発現不全非ヒト動物と他の病態モデル動物との交配によって生じる病態モデル動物、O T 7 T 0 2 2 遺伝子発現不全非ヒト動物と他の病態モデル動物との交配によって生じる病態モデル動物に対する薬剤誘発あるいはストレス負荷によって生じる病態モデル動物および O T 7 T 0 2 2 遺伝子発現不全非ヒト動物から得られた病態モデル動物と他の病態モデル動物を用いて骨髄移植して得られた病態モデル動物（以下、O T 7 T 0 2 2 遺伝子発現不全非ヒト動物等と称する場合がある）、もしくはそれらの組織またはそれらに由来する細胞を、試験化合物で処理し、無処理の対照動物と比較し、該動物の各器官、組織、細胞、疾病の症状等の変化、特に痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加、筋力低下など、特に筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下の改善効果を指標として試験化合物の予防・治療・改善効果を試験することができる。

20

【 0 0 7 6 】

試験動物（O T 7 T 0 2 2 遺伝子発現不全非ヒト動物等）を試験化合物で処理する方法としては、例えば、経口投与、静脈注射などが用いられ、試験動物の症状、試験化合物の性質などにあわせて適宜選択することができる。また、試験化合物の投与量は、投与方法、試験化合物の性質などにあわせて適宜選択することができる。

30

例えば、肥満症の予防・治療・改善薬をスクリーニングする場合、本発明の O T 7 T 0 2 2 遺伝子発現不全非ヒト動物等にコレステロール負荷処置を行い、コレステロール負荷処置前または処置後に試験化合物を投与し、該動物の血中コレステロール値および体重変化などを経時的に測定することによりスクリーニングすることができる。また、本発明の O T 7 T 0 2 2 遺伝子発現不全非ヒト動物等に S T Z あるいはアロキサンの薬剤投与を行い、糖負荷処置前または処置後に試験化合物を投与し、該動物の血糖値および体重変化などを経時的に測定することによりスクリーニングすることができる。

例えば、該スクリーニング方法において、試験動物に試験化合物を投与した場合、該試験動物の体重が約 10% 以上、好ましくは約 30% 以上、より好ましくは約 50% 以上減少した場合、該試験化合物を肥満症に対して治療・予防効果を有する物質として選択することができる。

40

また、痛覚障害の予防・治療・改善薬をスクリーニングする場合、本発明の O T 7 T 0 2 2 遺伝子発現不全非ヒト動物等に試験化合物を投与し、該動物の痛み防御行動（例、なめる行動、あばれる行動、引っかけ行動など）などを経時的に測定することによりスクリーニングすることができる。さらには、本発明の O T 7 T 0 2 2 遺伝子発現不全非ヒト動物等にモルヒネなどの鎮痛薬の投与を行った後、試験化合物を投与し、該動物の痛み防御行動（例、なめる行動、あばれる行動、引っかけ行動など）などを経時的に測定することによりスクリーニングすることができる。

例えば、該スクリーニング方法において、試験動物に試験化合物を投与した場合、該試験

50

動物の痛み防御行動が約10%以上、好ましくは約30%以上、より好ましくは約50%以上上昇した場合、該試験化合物を痛覚障害に対して治療・予防効果を有する物質として選択することができる。

【0077】

本発明のスクリーニング方法を用いて得られる予防・治療・改善薬は、上記した試験化合物から選ばれた化合物またはその塩を含有するものであり、OT7T022欠損によって引き起こされる疾患の予防・治療・改善効果を有するので、OT7T022の欠損によって引き起こされる疾病に対する安全で低毒性な治療・予防薬などの医薬として有用である。

また、該化合物から誘導される化合物も同様に用いることができる。該スクリーニング方法で得られた化合物の塩としては、例えば、無機塩基との塩、有機塩基との塩、無機酸との塩、有機酸との塩、塩基性または酸性アミノ酸との塩などの薬学的に許容し得る塩などがあげられる。

無機塩基との塩の好適な例としては、例えばナトリウム塩、カリウム塩などのアルカリ金属塩、カルシウム塩、マグネシウム塩などのアルカリ土類金属塩、並びにアルミニウム塩、アンモニウム塩などがあげられる。

有機塩基との塩の好適な例としては、例えばトリメチルアミン、トリエチルアミン、ピリジン、ピコリン、2,6-ルチジン、エタノールアミン、ジエタノールアミン、トリエタノールアミン、シクロヘキシルアミン、ジシクロヘキシルアミン、N,N'-ジベンジルエチレンジアミンなどとの塩あげられる。

無機酸との塩の好適な例としては、例えば塩酸、臭化水素酸、硫酸、リン酸などとの塩があげられる。

有機酸との塩の好適な例としては、例えばギ酸、酢酸、プロピオン酸、フマル酸、シュウ酸、酒石酸、マレイン酸、クエン酸、コハク酸、リンゴ酸、メタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、安息香酸などとの塩があげられる。

塩基性アミノ酸との塩の好適な例としては、例えばアルギニン、リジン、オルチニンなどとの塩があげられ、酸性アミノ酸との好適な例としては、例えばアスパラギン酸、グルタミン酸などとの塩があげられる。

【0078】

本発明のスクリーニング方法を用いて得られる化合物またはその塩を上述の治療・予防薬として使用する場合、常套手段に従って実施することができ、例えば、必要に応じて糖衣を施した錠剤、カプセル剤、エリキシル剤、マイクロカプセル剤などとして経口的に、あるいは水もしくはそれ以外の薬学的に許容し得る液との無菌性溶液、または懸濁液剤などの注射剤の形で非経口的に使用できる。例えば、該化合物またはその塩を薬学的に認められる担体、香味剤、賦形剤、ベヒクル、防腐剤、安定剤、結合剤などとともに一般に認められた製薬実施に要求される単位用量形態で混和することによって製造することができる。これら製剤における有効成分量は指示された範囲の適当な容量が得られるようにするのである。

錠剤、カプセル剤などに混和することができる添加剤としては、例えば、ゼラチン、コーンスターチ、トラガントゴム、アラビアゴムのような結合剤、結晶性セルロースのような賦形剤、コーンスターチ、ゼラチン、アルギン酸などのような膨化剤、ステアリン酸マグネシウムのような潤滑剤、ショ糖、乳糖またはサッカリンのような甘味剤、ペパーミント、アカモノ油またはチェリーのような香味剤などが用いられる。調剤単位形態がカプセルである場合には、前記タイプの材料にさらに油脂のような液状担体を含有することができる。注射のための無菌組成物は注射用水のようなベヒクル中の活性物質、胡麻油、椰子油などのよう天然産出植物油などを溶解または懸濁させるなどの通常の製剤実施に従って処方することができる。

【0079】

注射用の水溶液としては、例えば、生理食塩水、ブドウ糖やその他の補助薬を含む等張液（例えば、D-ソルビトール、D-マンニトール、塩化ナトリウムなど）などが挙げられ、適当な溶解補助剤、例えば、アルコール（例えば、エタノールなど）、ポリアルコール

10

20

30

40

50

(例えば、プロピレングリコール、ポリエチレングリコールなど)、非イオン性界面活性剤(例えば、ポリソルベート80TM、HCO-50など)などと併用してもよい。油性液としては、例えば、ゴマ油、大豆油などが挙げられ、溶解補助剤として安息香酸ベンジル、ベンジルアルコールなどと併用してもよい。また、緩衝剤(例えば、リン酸塩緩衝液、酢酸ナトリウム緩衝液など)、無痛化剤(例えば、塩化ベンザルコニウム、塩酸プロカインなど)、安定剤(例えば、ヒト血清アルブミン、ポリエチレングリコールなど)、保存剤(例えば、ベンジルアルコール、フェノールなど)、酸化防止剤などと配合してもよい。調製された注射液は通常、適当なアンプルに充填される。

このようにして得られる製剤は安全で低毒性であるので、例えば、ヒトまたは温血動物(例えば、マウス、ラット、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ウマ、トリ、ネコ、イヌ、サル、チンパンジーなど)に対して投与することができる。

該化合物またはその塩の投与量は、症状などにより差異はあるが、経口投与の場合、一般的に成人(体重60kgとして)の拒食症患者においては、一日につき約0.1~100mg、好ましくは約1.0~50mg、より好ましくは約1.0~20mgである。非経口的に投与する場合は、その1回投与量は投与対象、対象臓器、症状、投与方法などによっても異なるが、例えば、注射剤の形では通常成人(体重60kgとして)の拒食症患者においては、一日につき約0.01~30mg程度、好ましくは約0.1~20mg程度、より好ましくは約0.1~10mg程度を静脈注射により投与するのが好都合である。他の動物の場合も、体重60kg当りに換算した量を投与することができる。

【0080】

[本発明のスクリーニング方法B]

本発明は、本発明のOT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物に、試験化合物を投与し、レポーター遺伝子の発現を検出することを特徴とする本発明の遺伝子に対するプロモーターの活性を促進または阻害する化合物またはその塩のスクリーニング方法を提供する。

上記スクリーニング方法において、本発明のOT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物としては、前記した本発明のOT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物の中でも、OT7T022遺伝子がレポーター遺伝子を導入することにより不活性化され、該レポーター遺伝子がOT7T022遺伝子に対するプロモーターの制御下で発現しうるものが用いられる。

試験化合物としては、前記と同様のものがあげられる。

レポーター遺伝子としては、前記と同様のものが用いられ、 β -ガラクトシダーゼ遺伝子(1acZ)、可溶性アルカリフォスファターゼ遺伝子またはルシフェラーゼ遺伝子などが好適である。

OT7T022遺伝子をレポーター遺伝子で置換された本発明のOT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物では、レポーター遺伝子がOT7T022遺伝子に対するプロモーターの支配下に存在するので、レポーター遺伝子がコードする物質の発現をトレースすることにより、プロモーターの活性を検出することができる。

【0081】

例えば、OT7T022遺伝子領域の一部を大腸菌由来の β -ガラクトシダーゼ遺伝子(1acZ)で置換している場合、本来、OT7T022遺伝子の発現する組織で、OT7T022の代わりに β -ガラクトシダーゼが発現する。従って、例えば、5-プロモ-4-クロロ-3-インドリル- β -ガラクトピラノシド(X-gal)のような β -ガラクトシダーゼの基質となる試薬を用いて染色することにより、簡便にOT7T022の動物生体内における発現状態を観察することができる。具体的には、OT7T022遺伝子欠損マウスまたはその組織切片をグルタルアルデヒドなどで固定し、リン酸緩衝生理食塩液(PBS)で洗浄後、X-galを含む染色液で、室温または37℃付近で、約30分ないし1時間反応させた後、組織標本を1mM EDTA/PBS溶液で洗浄することによって、 β -ガラクトシダーゼ反応を停止させ、呈色を観察すればよい。また、常法に従い、1acZをコードするmRNAを検出してもよい。

例えば、該スクリーニング方法において、試験動物に試験化合物を投与した場合、レポ-

10

20

30

40

50

ター蛋白質の発現が約10%以上、好ましくは約30%以上、より好ましくは約50%以上増加した場合、該試験化合物をOT7T022遺伝子に対するプロモーター活性を促進する化合物またはその塩として選択でき、試験動物に試験化合物を投与した場合、レポーター蛋白質の発現が約10%以上、好ましくは約30%以上、より好ましくは約50%以上減少した場合、該試験化合物をOT7T022遺伝子に対するプロモーター活性を阻害する化合物またはその塩として選択できる。

上記スクリーニング方法を用いて得られる化合物またはその塩は、上記した試験化合物から選ばれた物質であり、OT7T022遺伝子に対するプロモーター活性を促進または阻害する化合物またはその塩である。

該スクリーニング方法で得られた化合物の塩としては、生理学的に許容される酸（例、無機酸など）や塩基（例、有機酸など）などとの塩が用いられ、とりわけ生理学的に許容される酸付加塩が好ましい。この様な塩としては、例えば、無機酸（例えば、塩酸、リン酸、臭化水素酸、硫酸など）との塩、あるいは有機酸（例えば、酢酸、ギ酸、プロピオン酸、フマル酸、マレイン酸、コハク酸、酒石酸、クエン酸、リンゴ酸、蔞酸、安息香酸、メタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸など）との塩などが用いられる。

【0082】

OT7T022遺伝子に対するプロモーター活性を促進する化合物またはその塩は、OT7T022の発現を促進し、OT7T022の機能を促進することができるので、例えば、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加、筋力低下など、特に筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下など疾患の予防・治療・改善剤などの医薬として使用することができる。

一方、OT7T022遺伝子に対するプロモーター活性を阻害する化合物またはその塩は、OT7T022の発現を阻害し、OT7T022の機能を阻害することができるので、例えば、筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少の予防・治療・改善剤、鎮痛剤、モルヒネの鎮痛作用促進剤、モルヒネ耐性回避剤、モルヒネ依存性回避剤などの医薬として使用することができる。

さらに、上記スクリーニングで得られた化合物から誘導される化合物も同様に用いることができる。

【0083】

該スクリーニング方法で得られた化合物またはその塩を含有する医薬は、前記したスクリーニング方法Aで得られた化合物またはその塩を含有する医薬と同様にして製造することができる。

このようにして得られる製剤は、安全で低毒性であるので、例えば、ヒトまたは哺乳動物（例えば、ラット、マウス、モルモット、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ウマ、ネコ、イヌ、サルなど）に対して投与することができる。

該化合物またはその塩の投与量は、対象疾患、投与対象、投与ルートなどにより差異はあるが、例えば、痛覚障害の治療目的でOT7T022遺伝子に対するプロモーター活性を促進する物質を経口投与する場合、一般的に成人患者（体重60kgとして）においては、一日につき該化合物またはその塩を約0.1~100mg、好ましくは約1.0~50mg、より好ましくは約1.0~20mg投与する。非経口的に投与する場合は、該化合物またはその塩の1回投与量は投与対象、対象疾患などによっても異なるが、例えば、痛覚障害の治療目的でOT7T022遺伝子に対するプロモーター活性を促進する化合物またはその塩を注射剤の形で通常成人患者（体重60kgとして）に投与する場合、一日につき該物質を約0.01~30mg程度、好ましくは約0.1~20mg程度、より好ましくは約0.1~10mg程度を静脈注射により投与するのが好都合である。他の動物の

場合も、体重 60 kg 当りに換算した量を投与することができる。

【0084】

このように、本発明の OT7T022 遺伝子発現不全非ヒト動物は、OT7T022 遺伝子に対するプロモーターの活性を促進または阻害する化合物またはその塩をスクリーニングする上で極めて有用であり、OT7T022 遺伝子発現不全に起因する各種疾患の原因究明または予防・治療・改善薬の開発に大きく貢献することができる。

また、OT7T022 遺伝子のプロモーター領域を含有する DNA を使って、その下流に種々の蛋白質をコードする遺伝子を連結し、これを動物の卵細胞に注入していわゆるトランスジェニック動物（遺伝子移入動物）を作成すれば、特異的にそのペプチドを合成させ、その生体での作用を検討することも可能となる。さらに上記プロモーター部分に適当なレポーター遺伝子を結合させ、これが発現するような細胞株を樹立すれば、OT7T022 そのものの体内での産生能力を特異的に促進もしくは抑制する作用を持つ低分子化合物の探索系として使用できる。

10

【0085】

(10) 各種薬物の作用メカニズムの解明方法

OT7T022 を用いることによって、各種薬物が OT7T022 を介して薬理効果を発揮しているか否かを確認することができる。

すなわち、本発明は、

(1) OT7T022 を用いることを特徴とする、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加、筋力低下、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少に対する予防・治療・改善薬、鎮痛薬、モルヒネの鎮痛作用促進薬、モルヒネ耐性回避薬などが OT7T022 に結合することを確認する方法、

20

(2) OT7T022 を用いることを特徴とする、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加、筋力低下など、特に筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下に対する予防・治療・改善薬が OT7T022 に対するアゴニストであることを確認する方法、

30

(3) OT7T022 を用いることを特徴とする、筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少に対する予防・治療・改善薬、鎮痛薬、モルヒネの鎮痛作用促進薬、モルヒネ耐性回避薬などが OT7T022 に対するアンタゴニストであることを確認する方法、

(4) 各薬を OT7T022 に接触させた場合における、各薬と OT7T022 との結合量を測定することを特徴とする上記(1)～(3)記載のスクリーニング方法を提供する。

40

この確認方法は、前記した RFRP と OT7T022 との結合性を变化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法において、試験化合物に代えて、上記の薬物を使用することによって実施することができる。

また、本発明の確認方法用キットは、前記した RFRP と OT7T022 との結合性を变化させる化合物のスクリーニング用キットにおいて、試験化合物に代えて、上記の薬物を含有するものである。

このように、本発明の確認方法を用いることによって、市販または開発途中の各種薬物が OT7T022 を介して薬理効果を発揮していることを確認することができる。

【0086】

本明細書および図面において、塩基やアミノ酸などを略号で表示する場合、IUPAC -

50

I U B C o m m i s s i o n o n B i o c h e m i c a l N o m e n c l a t u r e による略号あるいは当該分野における慣用略号に基づくものであり、その例を下記する。またアミノ酸に関し光学異性体があり得る場合は、特に明示しなければL体を示すものとする。

D N A	: デオキシリボ核酸	
c D N A	: 相補的デオキシリボ核酸	
A	: アデニン	
T	: チミン	
G	: グアニン	
C	: シトシン	10
I	: イノシン	
R	: アデニン (A) またはグアニン (G)	
Y	: チミン (T) またはシトシン (C)	
M	: アデニン (A) またはシトシン (C)	
K	: グアニン (G) またはチミン (T)	
S	: グアニン (G) またはシトシン (C)	
W	: アデニン (A) またはチミン (T)	
B	: グアニン (G)、グアニン (G) またはチミン (T)	
D	: アデニン (A)、グアニン (G) またはチミン (T)	
V	: アデニン (A)、グアニン (G) またはシトシン (C)	20
N	: アデニン (A)、グアニン (G)、シトシン (C) もしくはチミン (T) または不明もしくは他の塩基	
R N A	: リボ核酸	
m R N A	: メッセンジャーリボ核酸	
d A T P	: デオキシアデノシン三リン酸	
d T T P	: デオキシチミジン三リン酸	
d G T P	: デオキシグアノシン三リン酸	
d C T P	: デオキシシチジン三リン酸	
A T P	: アデノシン三リン酸	
E D T A	: エチレンジアミン四酢酸	30
S D S	: ドデシル硫酸ナトリウム	
B H A	: ベンズヒドリルアミン	
p M B H A	: p - メチルベンズヒドリルアミン	
T o s	: p - トルエンスルフォニル	
B z l	: ベンジル	
B o m	: ベンジルオキシメチル	
B o c	: t - ブチルオキシカルボニル	
D C M	: ジクロロメタン	
H O B t	: 1 - ヒドロキシベンズトリアゾール	
D C C	: N , N ' - ジシクロヘキシルカルボジイミド	40
T F A	: トリフルオロ酢酸	
D I E A	: ジイソプロピルエチルアミン	
G l y	: グリシン	
A l a または A	: アラニン	
V a l または V	: バリン	
L e u または L	: ロイシン	
I l e または I	: イソロイシン	
S e r または S	: セリン	
T h r または T	: スレオニン	
C y s または C	: システイン	50

M e t または M : メチオニン
 G l u または E : グルタミン酸
 A s p または D : アスパラギン酸
 L y s または K : リジン
 A r g または R : アルギニン
 H i s または H : ヒスチジン
 P h e または F : フェニルアラニン
 T y r または Y : チロシン
 T r p または W : トリプトファン
 P r o または P : プロリン
 A s n または N : アスパラギン
 G l n または Q : グルタミン
 p G l u : ピログルタミン酸

10

【 0 0 8 7 】

本願明細書の配列表の配列番号は、以下の配列を示す。

〔 配列番号 : 1 〕

R F R P のアミノ酸配列 (ヒト型) を示す。

〔 配列番号 : 2 〕

配列番号 : 1 で表わされるアミノ酸配列を有する R F R P をコードする D N A の塩基配列を示す。

20

〔 配列番号 : 3 〕

R F R P のアミノ酸配列 (ヒト型) を示す。

〔 配列番号 : 4 〕

配列番号 : 3 で表わされるアミノ酸配列を有する R F R P をコードする D N A の塩基配列を示す。

〔 配列番号 : 5 〕

R F R P のアミノ酸配列 (ウシ型) を示す。

〔 配列番号 : 6 〕

配列番号 : 5 で表わされるアミノ酸配列を有する R F R P をコードする D N A の塩基配列を示す。

30

〔 配列番号 : 7 〕

R F R P のアミノ酸配列 (ラット型) を示す (リクローニング前) 。

〔 配列番号 : 8 〕

配列番号 : 7 で表わされるアミノ酸配列を有する R F R P をコードする D N A の塩基配列を示す。

〔 配列番号 : 9 〕

R F R P のアミノ酸配列 (マウス型) を示す。

〔 配列番号 : 1 0 〕

配列番号 : 9 で表わされるアミノ酸配列を有する R F R P をコードする D N A の塩基配列を示す。

40

〔 配列番号 : 1 1 〕

ラット由来 G 蛋白質共役型レセプター蛋白質 r O T 7 T 0 2 2 のアミノ酸配列を示す。

〔 配列番号 : 1 2 〕

ラット由来 G 蛋白質共役型レセプター蛋白質 r O T 7 T 0 2 2 をコードする c D N A の塩基配列を示す。

〔 配列番号 : 1 3 〕

R F R P 部分ペプチドのアミノ酸配列を示す。

〔 配列番号 : 1 4 〕

R F R P 部分ペプチドのアミノ酸配列を示す。

〔 配列番号 : 1 5 〕

50

RFRP部分ペプチドのアミノ酸配列を示す。

〔配列番号：16〕

配列番号：1で表わされるアミノ酸配列の第81番目(Met)～第92番目(Phe)のアミノ酸配列を含有するペプチドをコードする塩基配列を示す。

〔配列番号：17〕

配列番号：1で表わされるアミノ酸配列の第101番目(Ser)～第112番目(Ser)のアミノ酸配列を含有するペプチドをコードする塩基配列を示す。

〔配列番号：18〕

配列番号：1で表わされるアミノ酸配列の第124番目(Val)～第131番目(Phe)のアミノ酸配列を含有するペプチドをコードする塩基配列を示す。

〔配列番号：19〕

配列番号：1で表わされるアミノ酸配列の第1番目(Met)～第92番目(Phe)のアミノ酸配列を含有するペプチドをコードする塩基配列を示す。

〔配列番号：20〕

配列番号：1で表わされるアミノ酸配列の、第1番目(Met)～第112番目(Ser)のアミノ酸配列を含有するペプチドをコードする塩基配列を示す。

〔配列番号：21〕

配列番号：1で表わされるアミノ酸配列の、第1番目(Met)～第131番目(Phe)のアミノ酸配列を含有するペプチドをコードする塩基配列を示す。

〔配列番号：22〕

RFRPのアミノ酸配列(ラット型)を示す(リクローニング後)。

〔配列番号：23〕

配列番号：22で表わされるアミノ酸配列を有するRFRPをコードするDNAの塩基配列を示す。

〔配列番号：24〕

ヒト由来G蛋白質共役型レセプター蛋白質hOT7T022をコードするアミノ酸配列を示す。

〔配列番号：25〕

配列番号：24で表されるアミノ酸配列を有するhOT7T022をコードするDNAの塩基配列を示す。

〔配列番号：26〕

配列番号：24で表されるアミノ酸配列を有するhOT7T022をコードするDNAの塩基配列を示す。

〔配列番号：27〕

マウス由来G蛋白質共役型レセプター蛋白質OT7T022の部分アミノ酸配列を示す。

〔配列番号：28〕

配列番号：27で表されるアミノ酸配列を有するマウス由来OT7T022をコードするゲノムDNAの塩基配列を示す。

〔配列番号：29〕

実施例3で使用したプライマーの塩基配列を示す。

〔配列番号：30〕

実施例3で使用したプライマーの塩基配列を示す。

〔配列番号：31〕

実施例3で使用したプライマーの塩基配列を示す。

〔配列番号：32〕

配列番号：27で表されるアミノ酸配列を有するマウス由来OT7T022をコードするゲノムDNAの塩基配列を示す。配列番号：28で表される塩基配列中のnを特定した配列である。

【0088】

後述の実施例1で得られた形質転換体 *Escherichia coli* JM109 /

10

20

30

40

50

p K S - O T 7 T 0 2 2 1 は 2 0 0 2 年 1 0 月 1 7 日 から 茨 城 県 つ く ば 市 東 1 丁 目 1 番 地 1 中 央 第 6 (郵 便 番 号 3 0 5 - 8 5 6 6) の 独 立 行 政 法 人 産 業 技 術 総 合 研 究 所 特 許 生 物 寄 託 セ ン タ ー に 寄 託 番 号 F E R M B P - 8 2 1 0 と し て 寄 託 さ れ て い る。

後 述 の 実 施 例 1 で 得 ら れ た 形 質 転 換 体 E s c h e r i c h i a c o l i J M 1 0 9 / p K S - O T 7 T 0 2 2 2 は 2 0 0 2 年 1 0 月 1 7 日 から 茨 城 県 つ く ば 市 東 1 丁 目 1 番 地 1 中 央 第 6 (郵 便 番 号 3 0 5 - 8 5 6 6) の 独 立 行 政 法 人 産 業 技 術 総 合 研 究 所 特 許 生 物 寄 託 セ ン タ ー に 寄 託 番 号 F E R M B P - 8 2 1 1 と し て 寄 託 さ れ て い る。

後 述 の 実 施 例 1 で 得 ら れ た 形 質 転 換 体 E s c h e r i c h i a c o l i J M 1 0 9 / p K S - O T 7 T 0 2 2 3 は 2 0 0 2 年 1 0 月 1 7 日 から 茨 城 県 つ く ば 市 東 1 丁 目 1 番 地 1 中 央 第 6 (郵 便 番 号 3 0 5 - 8 5 6 6) の 独 立 行 政 法 人 産 業 技 術 総 合 研 究 所 特 許 生 物 寄 託 セ ン タ ー に 寄 託 番 号 F E R M B P - 8 2 1 2 と し て 寄 託 さ れ て い る。

後 述 の 実 施 例 1 で 得 ら れ た 形 質 転 換 体 E s c h e r i c h i a c o l i J M 1 0 9 / p K S - O T 7 T 0 2 2 4 は 2 0 0 2 年 1 0 月 1 7 日 から 茨 城 県 つ く ば 市 東 1 丁 目 1 番 地 1 中 央 第 6 (郵 便 番 号 3 0 5 - 8 5 6 6) の 独 立 行 政 法 人 産 業 技 術 総 合 研 究 所 特 許 生 物 寄 託 セ ン タ ー に 寄 託 番 号 F E R M B P - 8 2 1 3 と し て 寄 託 さ れ て い る。

後 述 の 実 施 例 2 で 得 ら れ た 形 質 転 換 体 E s c h e r i c h i a c o l i J M 1 0 9 / p 0 2 2 T g v - 2 は 2 0 0 2 年 1 0 月 1 7 日 から 茨 城 県 つ く ば 市 東 1 丁 目 1 番 地 1 中 央 第 6 (郵 便 番 号 3 0 5 - 8 5 6 6) の 独 立 行 政 法 人 産 業 技 術 総 合 研 究 所 特 許 生 物 寄 託 セ ン タ ー に 寄 託 番 号 F E R M B P - 8 2 1 4 と し て 寄 託 さ れ て い る。

【 0 0 8 9 】

【 実 施 例 】

以 下 に、 実 施 例 を 挙 げ て 本 発 明 を さ ら に 具 体 的 に 説 明 す る が、 本 発 明 は そ れ に 限 定 さ れ る も の で は な い。 な お、 大 腸 菌 を 用 い て の 遺 伝 子 操 作 法 は、 モ レ キ ュ ラ ー ・ ク ロ ー ニ ン グ (M o l e c u l a r c l o n i n g) に 記 載 さ れ て い る 方 法 に 従 っ た。

【 0 0 9 0 】

実 施 例 1 マウス O T 7 T 0 2 2 の ク ロ ー ニ ン グ

ラ ッ ト O T 7 T 0 2 2 c D N A (配 列 番 号 : 1 2、 W O 0 0 / 2 9 4 4 1 号) を プ ロ ー プ に し た。 ラ ッ ト c D N A の 5 8 0 - 1 1 7 0 b p の D N A 断 片 を プ ロ ー プ と し て 作 製 し た (P C R - D I G プ ロ ー プ 合 成 キ ャ ッ セ ッ ト、 ロ シ ュ ダ イ ア ゴ ニ ス テ ィ ッ ク ス 社)。 そ の プ ロ ー プ を 用 い て、 マ ウ ス 1 2 9 S v J ラ ム ダ ゲ ノ ム ラ イ ブ ラ リ ー (ス ト ラ タ ジ ー ン 社) に 1 s t プ ラ ー ク ハ イ ブ リ ダ イ ゼ ー シ ョ ン を 行 っ た 結 果、 陽 性 プ ラ ー ク が 6 個 得 ら れ た。 1 s t プ ラ ー ク ハ イ ブ リ ダ イ ゼ ー シ ョ ン で 得 ら れ た 6 個 の 陽 性 プ ラ ー ク に 対 し て 2 n d プ ラ ー ク ハ イ ブ リ ダ イ ゼ ー シ ョ ン を 行 い、 2 個 の 陽 性 ク ロ ー ン を 単 離 し た。

サ ザ ン ハ イ ブ リ ダ イ ゼ ー シ ョ ン を 行 っ た 結 果、 約 4 . 5 k b p の B a m H I 断 片 に O T 7 T 0 2 2 の コ ー ド 領 域 が 存 在 す る こ と が 判 明 し た。 常 法 に よ り ク ロ ー ニ ン グ し た D N A 断 片 を シ ー ク エ ン サ ー (パ ー キ ン エ ル マ ー 社) に よ り 塩 基 配 列 を 調 べ た 結 果、 ラ ッ ト O T 7 T 0 2 2 の 3 ' 側 エ ク ソ ン (0 . 9 k b p) と 9 4 % の 相 同 性 を 有 す る 断 片 で あ り、 マ ウ ス O T 7 T 0 2 2 ゲ ノ ム D N A で あ る こ と を 確 認 し た。 さ ら に O T 7 T 0 2 2 を コ ー ド す る B a m H I 断 片 の 5 ' 側 3 . 8 k b p お よ び 3 ' 側 5 . 5 k b p の B a m H I 断 片 を ク ロ ー ニ ン グ し た。 サ ザ ン 解 析 に よ り 3 ' 側 エ ク ソ ン か ら 1 . 8 k b p 以 上 は な れ た 上 流 に 一 つ の エ ク ソ ン が 存 在 す る こ と が わ か っ た (配 列 番 号 : 2 8 ま た は 配 列 番 号 : 3 2)。

マウス O T 7 T 0 2 2 ゲ ノ ム D N A の 断 片 を 大 腸 菌 J M 1 0 9 株 に 形 質 転 換 し、 形 質 転 換 体 E s c h e r i c h i a c o l i J M 1 0 9 / p K S - O T 7 T 0 2 2 1、 形 質 転 換 体 E s c h e r i c h i a c o l i J M 1 0 9 / p K S - O T 7 T 0 2 2 2、 形 質 転 換 体 E s c h e r i c h i a c o l i J M 1 0 9 / p K S - O T 7 T 0 2 2 3、 形 質 転 換 体 E s c h e r i c h i a c o l i J M 1 0 9 / p K S - O T 7 T 0 2 2 4 を 取 得 し た。

【 0 0 9 1 】

実 施 例 2 タ ー ゲ ッ テ ィ ン グ ベ ク タ ー の 構 築 お よ び E S 相 同 組 み 換 え の 作 製

OT7T022 ターゲティングベクターの構築は、3'側エクソンの5'側 Sac I - Bam HI 断片 (3.2 kbp)、3'側 BstEII - Xho I 断片 (5.2 kbp)、ネオマイシン耐性遺伝子およびジフテリアトキシン遺伝子を用いて行い、3'側エクソン1.2 kbpを欠失させた OT7T022 ターゲティングベクター p022Tgv-2 の構築を終了した (図1)。OT7T022 ターゲティングベクター p022Tgv-2 を大腸菌 JM109 株に形質転換し、形質転換体 *Escherichia coli* JM109 / p022Tgv-2 を取得した。OT7T022 ターゲティングベクターをマウス 129SvEv 系統由来 ES 細胞 (AB2.2 系統) にエレクトロポレーションにより導入した。エレクトロポレーションはジーンパルサーエレクトロポレーションシステム (バイオラッド社製) を用いて電圧 230 V, 抵抗値 500 μ F, DNA 溶液濃度 30 μ g/ml の条件を設定して行った。

遺伝子導入実験は3回行い、それぞれ1000株以上のネオマイシン耐性株を得ることができた。ターゲティングベクター p022Tgv-2 によって得られた739株のネオマイシン耐性株を24ウェルプレートで培養し、-70 凍結融解、Proteinase K 処理後、エタノール沈殿によりDNAを抽出した。

そのうち595株のゲノムに対して5'側の BamHI - Xho I 600 bp断片 (ターゲティングベクターに用いたゲノムの外側の領域) をプローブとし、サザンハイブリダイゼーションを行った。その結果、6株に相同組換え体と推定される5.4 kbのバンドがみられた (野生型 3.8 kb)。

相同組換え体と考えられる DNA 断片が検出された6種のES細胞株 (No. 126, 130, 283, 491, 532, 545) について、再確認のためサザン解析を行った。凍結保存しておいた各細胞を培養後、DNAを抽出し、BamHI - Xho I 切断後、上記600 bp断片をプローブとし、サザンハイブリダイゼーションを行った。その結果、全ての細胞において5.4 kb断片 (野生型は3.8 kb断片のみが観察される) が再確認できた。また、プローブをネオマイシン耐性遺伝子としてサザンハイブリダイゼーションを行った結果、2 kb付近に野生型、組換え体共通に見られるバンドがあったが、組換え体のみ5.4 kbのバンドが確認でき、6種のES細胞すべてが相同組換え体であることが確認できた。

これら6系統の相同組換え体のうち増殖が良好であった3系統の相同組換え体細胞株 (No. 130, 283, 532) について核型分析のためフィーダー細胞存在下、ES細胞を25 cm² フラスコにコンフルエントになるまで培養し、コルセミドを添加 (最終細胞密度 0.1 μ g/ml) し、37、2時間培養した。PBSで洗浄後、トリプシン処理し、遠心1000 rpm、5分した。ペレットに0.075 M KCl 4 mlを添加し室温で20分放置後、細胞浮遊液にカルノア液 (酢酸:メタノール比=1:3) を1滴添加後穏やかに懸濁した。室温放置60分させ、遠心し、ペレットをカルノア液4 mlで穏やかに懸濁し、さらに室温放置した。30分5回程度繰り返した。遠心後ペレットにカルノア液2~3 mlを加え適度な濃度に調製し、スライドガラス上に細胞浮遊液を2~3滴滴下した。風乾後、3%ギムザ溶液で染色し、顕微鏡下で分裂期中期の染色体観察を行った。結果、正常核型を有する細胞の割合は61~69%であった。3系統の相同組換え体細胞株の核型異常がみられなかったので、増殖性の良好な細胞株 No. 283 を選抜した。

【0092】

実施例3 ノックアウトマウスの作製

相同組み換え細胞株 No. 283 を C57BL/6 系統マウス胚盤胞へのインジェクションを常法により行った。インジェクションされた胚盤胞は別途精管結紮マウスと交配することによって得られた偽妊娠マウス卵管に移植することによって妊娠させた。283株については移植胚の約半分が産仔として生まれ、75%がキメラマウスであった。雄キメラマウスはC57BL/6系統雌マウスと交配し、産仔での生殖系列移行およびヘテロマウスの取得をおこなった。

キメラとC57BL系統マウスとの交配によって51匹のES細胞由来マウスが得られた。マウス尾よりゲノムDNAを精製し、まずPCRによる遺伝子型判定の条件を検討した。検討の結果プライマーはターゲティングした領域の3'側 (AGGTGCTCAGTGTGTAGAAAGTGG (配列番号: 29)) を共通とし、また5'側は野生型検出用として、欠損させた領域内の終止コドン付近配列 (ATCCCAAGCCCTGGAACATTTTGAAGG (配列番号: 30))、変異型検出用としてネオマイシン耐性遺伝子内配列 (TCATAGCCGAATACGGTCTCCAC (配列番号: 31)) とし、ポリメラーゼはKOD-plus- (東洋紡株式会社製) を用いた。野生型は300bp断片のみを検出し、ヘテロ欠損個体であれば、300bpおよび600bp断片を検出できるように設計されたPCRによる遺伝子判定の結果、ヘテロ欠損マウスを得ることができた。次に、サザンハイブリダイゼーションを行って、遺伝子欠損の確認を行った。

【0093】

実施例4 臓器重量の変化

雄ホモ欠損マウスの生後8週齢個体を頸椎脱臼により屠殺し、解剖を行った。各主要臓器を取り出して重量測定を行った。その結果、臓器重量においては野生型マウスとホモ欠損マウスに差異は認められなかった。生後13週齢の臓器重量測定の結果では、胸腺において野生型マウスに比べ、ホモ欠損マウスで有意な増加がみられた。

【0094】

実施例5 体重、飲水量、摂食量

ホモ欠損マウスの体重、摂餌量および飲水量について経時的变化を調べた。離乳後雄ホモ欠損マウスの体重変化は、野生型マウスに比べ差異はみられなかった。摂餌量および飲水量の経時的变化において雄雌性ホモ欠損マウスとも野生型マウスと差異はみられなかった。

【0095】

実施例6 行動異常

日常行動および外見観察はIrwin (1968)の方法に準拠して行った。その結果、生後6ヶ月齢のホモ欠損マウス(雄性2例中、2例)において異常歩行が観察された。別ロットのホモ欠損マウス(7週齢)の中に後退歩行がみられ、後肢を引きずるような歩行異常も観察された。さらに振戦あるいは痙攣などを示す個体が見られたが、その程度は個体間差異がみられた。これら行動異常はC57BL/6Jおよび129SvEv系統の雑種において観察された。

【0096】

実施例7 侵害刺激に対する反応

侵害刺激に対する反応について評価するためマウスで用いられている方法(Wilson SG, Mogil JS. Behav Brain Res 125: 65-73, 2001)のなかで熱侵害刺激に対する反応性を評価するためホットプレート試験(熱板法とも呼ぶ)を行った。

ホットプレート試験は市販のホットプレート式鎮痛効果測定装置を用いて行った。最初、55に熱したホットプレート上に直径15cm高さ20cmのガラス製円筒を置き、マウスをその円筒内にいれ、マウスが後肢を舐めるあるいは跳躍などの行動が現れるまでの時間を測定した。その結果、雄ホモ欠損マウスにおいて後肢を舐めるあるいは跳躍時間が有意に遅延した。

【0097】

実施例8 攻撃行動

雄ホモ欠損マウスの行動観察を行ったところ、野生型マウスよりも他の雌雄マウスに対する攻撃性が観察された。さらに一部のマウスにおいてはハンドリング時にtail rattlingが観察され、飼育時においても軽微な挙尾反応が観察された。観察用ケージに雄マウスを2個体入れて相互の攻撃行動を観察する方法(Nature 378: 383-386, 1995)および(Nature 265: 1875-1878, 19

94)によりホモ欠損マウスの攻撃反応潜時を測定した。その結果、攻撃行動までの潜時がホモ欠損マウスで有意に短かった。これらの行動はC57BL/6Jおよび129SvEv系統の雑種において観察された。

【0098】

実施例9 モルヒネ投与試験

C57BL/6Jコンジェニック系統11週齢の雄ホモ欠損マウスを用いて52湯の入った水槽に尾先端から3cmのところまで浸漬して尾が水槽から出るまでの時間を熱侵害刺激に対する応答性として評価した(tail immersion test、温湯法とも呼ぶ)。

実験の最大時間(cutoff time)は20秒とした。ホモ欠損マウスおよびC57BL/6Jコンジェニック系統11週齢の野生型マウスはそれぞれvehicle投与群およびモルヒネ投与群に分けて実験を行った。投与前に上記のtail immersion testを行った結果、すべての群における反応平均時間に有意差はみられなかった。次にモルヒネ(kg体重当たり5mg)あるいはvehicleを腹腔内投与後、15分後、30分後に同じ方法でtail immersion testを実施した。モルヒネ投与雄ホモ欠損マウス群の反応時間は、その他の群より長くなった。モルヒネ投与前のtail immersion testには野生型マウスとホモ欠損マウスの反応latencyに差異はあったが、モルヒネ投与した野生型マウスは15分および30分後、latencyは投与前に比べて有意に延長したのに対してモルヒネ投与したホモ欠損マウスにおいてはモルヒネ投与後も熱刺激に対する反応のlatencyはモルヒネ投与前と変わらなかった。

【0099】

【発明の効果】

RFRPおよびOT7T022またはそれらをコードするDNAは、筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加または筋力低下などの予防・治療・改善薬として有用である。

また、OT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物は、上記疾患の予防・治療・改善薬のスクリーニングに有用である。

【0100】

【配列表】

10

20

30

[Sequence Listing]

<110> Takeda Chemical Industries, Ltd.

<120> Novel Use of RFRP and OT7T022

<130> B03176

<150> JP 2002-232684

<151> 2002-08-09

<160> 32

<210> 1

<211> 180

<212> PRT

<213> Human

<400> 1

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

10

20

30

40

130 135 140
Ser Asp Leu Cys Gln Gly Ser Met His Ser Pro Cys Ala Asn Asp Leu
145 150 155 160
Phe Tyr Ser Met Thr Cys Gln His Gln Glu Ile Gln Asn Pro Asp Gln
165 170 175
Lys Gln Ser Arg
180

10

<210> 2

<211> 540

<212> DNA

<213> Human

<400> 2

atggaaatta tttcatcaaa actattcatt ttattgactt tagccacttc aagcttgtta 60
 acatcaaaaca tttttgtgc agatgaatta gtgatgtcca atcttcacag caaagaaaat 120
 tatgacaaat attctgagcc tagaggatac caaaagggg aaagaagcct caattttgag 180
 gaattaaaag attggggacc aaaaaatgtt attaagaatga gtacacctgc agtcaataaa 240
 atgccacact ccttcgcca cttgccattg agatttggga ggaacgttca agaagaaaga 300
 agtgcctggag caacagccaa cctgcctctg agatctgga agaaatatgga ggtgagcctc 360
 gigagacgig ttcctaacct gccccaaagg ttiggagaaa caacaacagc caaaagtgic 420
 tgcaggaatgc tgagtattt gtgtcaagga tccatgcatt caccaatgtgc caatgactta 480
 tttactcca tgacctgcca gcaccaagaa atccagaatc ccgatcaaaa acagtcaagg 540

10

<210> 3

<211> 196

<212> PRT

<213> Human

<400> 3

20

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

30

40

<213> Human

<400> 4

atggaaaita tttcatcaaa actattcatt ttattgactt tagccacttc aagcttgtta 60
 acatcaaaca tttttgtgc agatgaatta gtgatgtcca atcttcacag caaagaaaat 120
 taigacaaat attctgagcc tagaggatac ccaaaagggg aaagaagcct caattttgag 180
 gaattaaaag attggggacc aaaaaatgtt attaagatga gtacacctgc agtcaataaa 240
 atgccacact ccttcgcaa cttgccattg agatttggga ggaacgttca agaagaaaga 300
 agtgcctggag caacagccaa cctgcctctg agatctggaa gaaatatgga ggtgagcctc 360
 gtgagacgtg ttctaacct gccccaaagg ttiggagaaa caacaacagc caaaagtgc 420
 tgcaggaatc tgagtgattt gtgtcaagga tccatgcatt caccaatgtc caatgactta 480
 tttactcca tgacctgcca gcaccaagaa atccagaatc ccgatcaaaa acagtcaagg 540
 agactgctat tcaagaaaat agatgatgca gaattgaac aagaaaaa 588

10

<210> 5

<211> 196

20

<212> PRT

<213> Bovine

<400> 5

Met Glu Ile Ile Ser Leu Lys Arg Phe Ile Leu Leu Met Leu Ala Thr
 1 5 10 15
 Ser Ser Leu Leu Thr Ser Asn Ile Phe Cys Thr Asp Glu Ser Arg Met
 20 25 30
 Pro Asn Leu Tyr Ser Lys Lys Asn Tyr Asp Lys Tyr Ser Glu Pro Arg
 35 40 45
 Gly Asp Leu Gly Trp Glu Lys Glu Arg Ser Leu Thr Phe Glu Glu Val
 50 55 60
 Lys Asp Trp Ala Pro Lys Ile Lys Met Asn Lys Pro Val Val Asn Lys
 65 70 75 80
 Met Pro Pro Ser Ala Ala Asn Leu Pro Leu Arg Phe Gly Arg Asn Met
 85 90 95
 Glu Glu Glu Arg Ser Thr Arg Ala Met Ala His Leu Pro Leu Arg Leu
 100 105 110

30

40

Gly Lys Asn Arg Glu Asp Ser Leu Ser Arg Trp Val Pro Asn Leu Pro
 115 120 125
 Gln Arg Phe Gly Arg Thr Thr Thr Ala Lys Ser Ile Thr Lys Thr Leu
 130 135 140
 Ser Asn Leu Leu Gln Gln Ser Met His Ser Pro Ser Thr Asn Gly Leu
 145 150 155 160
 Leu Tyr Ser Met Ala Cys Gln Pro Gln Glu Ile Gln Asn Pro Gly Gln
 165 170 175
 Lys Asn Leu Arg Arg Arg Gly Phe Gln Lys Ile Asp Asp Ala Glu Leu
 180 185 190
 Lys Gln Glu Lys
 195

10

<210> 6

<211> 588

<212> DNA

20

<213> Bovine

<400> 6

atggaaatta tttcattaac acgattcatt ttattgatgt tagccacttc aagcttgtaa 60
 acatcaaaca tttctgcac agacgaatca aggatgccca atctttacag caaaaagaat 120
 taigacaaat attccgagcc tagaggagat ctaggctggg agaaagaaag aagtcttact 180
 tttgaagaag taaaagattg ggcctcaaaa attaagatga ataaacctgt agtcaacaaa 240
 atgccacctt ctgcagccaa cctgccactg agatttggga ggaacatgga agaagaaagg 300
 agcactaggg cgaatggcca cctgcctctg agactcggaa aaaatagaga ggacagcctc 360
 tccagatggg tcccaaattc gccccagagg ttiggaagaa caacaacagc caaaagcatt 420
 accaagacc tgagtaattt gctccagcag tccatgcatt caccatctac caatgggcta 480
 cctactcca tggcctgcca gcccgaagaa atccagaatc ctggtcacaa gaacctaaagg 540
 agacgggat tccagaaaat agatgatgca gaattgaac aagaaaaa 588

10

<210> 7

<211> 203

<212> PRT

<213> Rat

<400> 7

Met Glu Ile Ile Ser Ser Lys Arg Phe Ile Leu Leu Thr Leu Ala Thr
 1 5 10 15
 Ser Ser Phe Leu Thr Ser Asn Thr Leu Cys Ser Asp Glu Leu Met Met
 20 25 30
 Pro His Phe His Ser Lys Glu Gly Tyr Gly Lys Tyr Tyr Gln Leu Arg
 35 40 45
 Gly Ile Pro Lys Gly Val Lys Glu Arg Ser Val Thr Phe Gln Glu Leu
 50 55 60
 Lys Asp Trp Gly Ala Lys Lys Asp Ile Lys Met Ser Pro Ala Pro Ala
 65 70 75 80
 Asn Lys Val Pro His Ser Ala Ala Asn Leu Pro Leu Arg Phe Gly Arg
 85 90 95

20

30

40

Asn Ile Glu Asp Arg Arg Ser Pro Arg Ala Arg Ala Asn Met Glu Ala
 100 105 110
 Gly Thr Met Ser His Phe Pro Ser Leu Pro Gln Arg Phe Gly Arg Thr
 115 120 125
 Thr Ala Arg Arg Ile Thr Lys Thr Leu Ala Gly Leu Pro Gln Lys Ser
 130 135 140
 Leu His Ser Leu Ala Ser Ser Glu Ser Leu Tyr Ala Met Thr Arg Gln
 145 150 155 160
 His Gln Glu Ile Gln Ser Pro Gly Gln Glu Gln Pro Arg Lys Arg Val
 165 170 175
 Phe Thr Glu Thr Asp Asp Ala Glu Arg Lys Gln Glu Lys Ile Gly Asn
 180 185 190
 Leu Gln Pro Val Leu Gln Gly Ala Met Lys Leu
 195 200

10

20

<210> 8

<211> 609

<212> DNA

<213> Rat

<400> 8

atggaaatta tttcatcaaa gcgattcatt ttattgactt tagcaacttc aagcttctta 60
 acttcaaaca cccittgttc agatgaatta atgatgcccc attttcacag caaagaaggt 120
 tatggaaaat attaccagct gagaggaatc ccaaaagggg taaaggaaag aagtgtcact 180
 tttcaagaac tcaaagattg gggggcaaag aaagatatta agatgagtc agccccctgcc 240
 aacaaagigc cccactcagc agccaacctt cccctgaggt ttgggaggaa catagaagac 300
 agaagaagcc ccagggcacg ggccaacatg gaggcagga ccatgagcca ttttcccagc 360
 cigcccaaaa ggtttgggag aacaacagcc agacgcatca ccaagacact ggcttggttg 420
 ccccagaaat ccttgcactc cctggcctcc agtgaatcgc tctatgcat gaccgccag 480
 catcaagaaa ttcagagtc ttgtcaagag caacctagga aacgggtgtt cacggaaca 540
 gatgatgcag aaaggaaca agaaaaata ggaaacctcc agccagtcct tcaaggggct 600
 atgaagcig 609

10

<210> 9

20

<211> 188

<212> PRT

<213> Mouse

<400> 9

Met Glu Ile Ile Ser Leu Lys Arg Phe Ile Leu Leu Thr Val Ala Thr
 1 5 10 15
 Ser Ser Phe Leu Thr Ser Asn Thr Phe Cys Thr Asp Glu Phe Met Met
 20 25 30
 Pro His Phe His Ser Lys Glu Gly Asp Gly Lys Tyr Ser Gln Leu Arg
 35 40 45
 Gly Ile Pro Lys Gly Glu Lys Glu Arg Ser Val Ser Phe Gln Glu Leu
 50 55 60
 Lys Asp Trp Gly Ala Lys Asn Val Ile Lys Met Ser Pro Ala Pro Ala
 65 70 75 80
 Asn Lys Val Pro His Ser Ala Ala Asn Leu Pro Leu Arg Phe Gly Arg
 85 90 95
 Thr Ile Asp Glu Lys Arg Ser Pro Ala Ala Arg Val Asn Met Glu Ala

30

40

Asn Ala Thr Cys Lys Met Ser Gly Leu Val Gln Gly Met Ser Val Ser
 115 120 125
 Ala Ser Val Phe Thr Leu Val Ala Ile Ala Val Glu Arg Phe Arg Cys
 130 135 140
 Ile Val His Pro Phe Arg Glu Lys Leu Thr Leu Arg Lys Ala Leu Phe
 145 150 155 160
 Thr Ile Ala Val Ile Trp Ala Leu Ala Leu Leu Ile Met Cys Pro Ser
 165 170 175
 Ala Val Thr Leu Thr Val Thr Arg Glu Glu His His Phe Met Leu Asp
 180 185 190
 Ala Arg Asn Arg Ser Tyr Pro Leu Tyr Ser Cys Trp Glu Ala Trp Pro
 195 200 205
 Glu Lys Gly Met Arg Lys Val Tyr Thr Ala Val Leu Phe Ala His Ile
 210 215 220
 Tyr Leu Val Pro Leu Ala Leu Ile Val Val Met Tyr Val Arg Ile Ala

10

20

225 230 235 240
 Arg Lys Leu Cys Gln Ala Pro Gly Pro Ala Arg Asp Thr Glu Glu Ala
 245 250 255
 Val Ala Glu Gly Gly Arg Thr Ser Arg Arg Arg Ala Arg Val Val His
 260 265 270
 Met Leu Val Met Val Ala Leu Phe Phe Thr Leu Ser Trp Leu Pro Leu
 275 280 285
 Trp Val Leu Leu Leu Leu Ile Asp Tyr Gly Glu Leu Ser Glu Leu Gln
 290 295 300
 Leu His Leu Leu Ser Val Tyr Ala Phe Pro Leu Ala His Trp Leu Ala
 305 310 315 320
 Phe Phe His Ser Ser Ala Asn Pro Ile Ile Tyr Gly Tyr Phe Asn Glu
 325 330 335
 Asn Phe Arg Arg Gly Phe Gln Ala Ala Phe Arg Ala Gln Leu Cys Trp
 340 345 350
 Pro Pro Trp Ala Ala His Lys Gln Ala Tyr Ser Glu Arg Pro Asn Arg
 355 360 365
 Leu Leu Arg Arg Arg Val Val Val Asp Val Gln Pro Ser Asp Ser Gly
 370 375 380
 Leu Pro Ser Glu Ser Gly Pro Ser Ser Gly Val Pro Gly Pro Gly Arg
 385 390 395 400
 Leu Pro Leu Arg Asn Gly Arg Val Ala His Gln Asp Gly Pro Gly Glu
 405 410 415
 Gly Pro Gly Cys Asn His Met Pro Leu Thr Ile Pro Ala Trp Asn Ile
 420 425 430

10

20

30

40

<210> 12

<211> 1296

<212> DNA

<213> Rat

<400> 12

atggaggcgg agceetecca gecteccaac ggcagctggc cctgggtca gaacgggagt	60	
gatgggaga ccagcatggc aaccagctc acctctctt cctactacca acactcctct	120	
ccggtggcag ceatgttcat cgcggcctac gtgctcatct tctctctctg catgggtggc	180	
aacacccigg tctgcttcat tgtgctcaag aaccggcaca tgcgcactgt caccaacaig	240	
tttatectca acctggccgt cagcgacctg ctgggtggca tcttctgcat gccacaacc	300	
ctggiggaca acctatcac tggttggcct ttigacaacg ccacatgcaa gatgagcggc	360	10
ttgggtcagg gcatgtccgt gtctgcatcg gtittcacac tgggtggccat cgtctggaa	420	
aggttccgct gcatcgtgca cctttccgc gagaagctga cctttcggaa ggcgctgttc	480	
accatcgcgg tgatctgggc tctggcctg ctcatcatgt gtccctcggc ggtcactctg	540	
acagtcacc gagaggagca tcacttcatg ctggatgctc gtaaccgctc ctaccgctc	600	
tactcgtgct gggaggcctg gcccgagaag ggcattgcga aggtctacac cgcggtgctc	660	
ttcgcgcaca tctacctggt gccgctggcg ctcatcgtag tgatgtactg gcgcatcgcg	720	
cgcaagctat gccaggcccc cggctctgcg cgcgacacgg aggaggcggg gcccgagggt	780	20
ggccgcactt cgcgccgtag ggcccgcgtg gtgcacatgc tggtcattgt ggcgctcttc	840	
ttcacgttgt cctggctgcc actctgggtg ctgctgctgc tcatcgacta tggggagctg	900	
agcgagctgc aactgcacct gctgtcggtc tacgccttcc ccttggcaca ctggctggcc	960	
ttcttccaca gcagcgccaa ccccatcctc tacggctact tcaacgagaa ctctccgccg	1020	
ggcttccagg ctgcttccg tgcacagctc tgcctggcctc cctgggcccgc ccacaagcaa	1080	
gcctactcgg agcggcccaa ccgctctctg cgcaggcggg tgggtgggtgga cgtgcaacc	1140	
agcgactccg gccigccatc agagctggc cccagcagcg gggctccagg gccctggccgg	1200	30
ctgccactgc gcaatggcg tgtggcccat caggatggcc cgggggaagg gccaggctgc	1260	
aaccacaigc cctcaccat cccggcctgg aacatt	1296	

<210> 13

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> the C-terminus of the polypeptide is amide (-CONH₂) form

<400> 13

10

20

30

40

Met Pro His Ser Phe Ala Asn Leu Pro Leu Arg Phe

1 5 10

<210> 14

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> the C-terminus of the polypeptide is amide (-CONH₂) form

<400> 14

10

Val Pro Asn Leu Pro Gln Arg Phe

1 5

<210> 15

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> the C-terminus of the polypeptide is amide (-CONH₂) form

<400> 15

20

Ser Ala Gly Ala Thr Ala Asn Leu Pro Leu Arg Ser

1 5 10

<210> 16

<211> 36

<212> DNA

<213> Human

<400> 16

atgccacact ccttcgcca cttgccattg agattt

36

<210> 17

<211> 36

<212> DNA

40

⟨213⟩ Human		
⟨400⟩ 17		
agtgctggag caacagccaa cctgccctctg agatct		36
⟨210⟩ 18		
⟨211⟩ 24		
⟨212⟩ DNA		
⟨213⟩ Human		10
⟨400⟩ 18		
gttcctaacc igcccaaaag gttt		24
⟨210⟩ 19		
⟨211⟩ 276		
⟨212⟩ DNA		
⟨213⟩ Human		
⟨400⟩ 19		20
atggaaatta tttcatcaaa actattcatt ttattgactt tagccacttc aagcttgtta	60	
acatcaaaca tttttgtgc agatgaatta gtgatgtcca atcttcacag caaagaaaat	120	
taigacaaat attctgagcc tagaggatac caaaagggg aaagaagcct caattttgag	180	
gaattaaaag attggggacc aaaaaatgtt attaagatga gtacacctgc agtcaataaa	240	
atgccacact ccttcgcca cttgccattg agattt	276	
⟨210⟩ 20		
⟨211⟩ 336		30
⟨212⟩ DNA		
⟨213⟩ Human		
⟨400⟩ 20		
atggaaatta tttcatcaaa actattcatt ttattgactt tagccacttc aagcttgtta	60	
acatcaaaca tttttgtgc agatgaatta gtgatgtcca atcttcacag caaagaaaat	120	
taigacaaat attctgagcc tagaggatac caaaagggg aaagaagcct caattttgag	180	
gaattaaaag attggggacc aaaaaatgtt attaagatga gtacacctgc agtcaataaa	240	40
atgccacact ccttcgcca cttgccattg agatttggga ggaacgttca agaagaaaga	300	

agtgcctggag caacagccaa cctgccctctg agatct 336
 <210> 21
 <211> 393
 <212> DNA
 <213> Human
 <400> 21
 atggaaatta tttcatcaaa actattcatt ttattgactt tagccacttc aagcttgta 60 10
 acatcaaaca tttttgtgc agatgaatta gtgatgtcca atcttcacag caaagaaaat 120
 taigacaaat attctgagcc tagaggatac ccaaaagggg aaagaagcct caattttgag 180
 gaattaaaag attggggacc aaaaaatgtt attaagatga gtacacctgc agtcaataaa 240
 atgccacact ccttcgccaa ctgcccattg agatttggga ggaacgttca agaagaaaga 300
 agtgcctggag caacagccaa cctgccctctg agatctgga agaaatatgga ggtgagcctc 360
 gtagagacgtg ttccctaacct gcccctaaagg ttt 393
 <210> 22 20
 <211> 203
 <212> PRT
 <213> Rat
 <400> 22
 Met Glu Ile Ile Ser Ser Lys Arg Phe Ile Leu Leu Thr Leu Ala Thr
 1 5 10 15
 Ser Ser Phe Leu Thr Ser Asn Thr Leu Cys Ser Asp Glu Leu Met Met 30
 20 25 30
 Pro His Phe His Ser Lys Glu Gly Tyr Gly Lys Tyr Tyr Gln Leu Arg
 35 40 45

Gly Ile Pro Lys Gly Val Lys Glu Arg Ser Val Thr Phe Gln Glu Leu
 50 55 60
 Lys Asp Trp Gly Ala Lys Lys Asp Ile Lys Met Ser Pro Ala Pro Ala
 65 70 75 80
 Asn Lys Val Pro His Ser Ala Ala Asn Leu Pro Leu Arg Phe Gly Arg
 85 90 95
 Asn Ile Glu Asp Arg Arg Ser Pro Arg Ala Arg Ala Asn Met Glu Ala
 100 105 110
 Gly Thr Met Ser His Phe Pro Ser Leu Pro Gln Arg Phe Gly Arg Thr
 115 120 125
 Thr Ala Arg Arg Ile Thr Lys Thr Leu Ala Gly Leu Pro Gln Lys Ser
 130 135 140
 Leu His Ser Leu Ala Ser Ser Glu Leu Leu Tyr Ala Met Thr Arg Gln
 145 150 155 160
 His Gln Glu Ile Gln Ser Pro Gly Gln Glu Gln Pro Arg Lys Arg Val
 165 170 175
 Phe Thr Glu Thr Asp Asp Ala Glu Arg Lys Gln Glu Lys Ile Gly Asn
 180 185 190
 Leu Gln Pro Val Leu Gln Gly Ala Met Lys Leu
 195 200

10

20

30

<210> 23

<211> 609

<212> DNA

<213> Rat

<400> 23

atggaaatta tttcatcaaa gcgattcatt ttattgactt tagcaacttc aagcttctta 60
 acttcaaaca cccittgttc agatgaatta atgatgcccc attttcacag caaagaaggt 120
 tatggaaaat attaccagct gagaggaatc ccaaaagggg taaaggaaag aagtgtcact 180
 tttcaagaac tcaaagattg gggggcaaag aaagatatta agatgagtc agccccgtcc 240
 aacaaagigc cccactcagc agccaacctt cccctgaggt ttgggaggaa catagaagac 300
 agaagaagcc ccagggcacg ggccaacatg gaggcagga ccatgagcca ttttcccagc 360
 cigcccaaaa ggtttgggag aacaacagcc agacgcatca ccaagacact ggctggtttg 420
 ccccagaaat ccttgcactc cctggcctcc agtgaattgc tctatgcat gaccgccag 480
 catcaagaaa ttcagagtc tggtaagag caacctagga aacgggtggt cacggaaca 540
 gatgatgcag aaaggaaca agaaaaata ggaaacctcc agccagtcct tcaaggggct 600
 atgaagcig 609

10

<210> 24

20

<211> 430

<212> PRT

<213> Human

<400> 24

Met Glu Gly Glu Pro Ser Gln Pro Pro Asn Ser Ser Trp Pro Leu Ser
 1 5 10 15
 Gln Asn Gly Thr Asn Thr Glu Ala Thr Pro Ala Thr Asn Leu Thr Phe
 20 25 30
 Ser Ser Tyr Tyr Gln His Thr Ser Pro Val Ala Ala Met Phe Ile Val
 35 40 45
 Ala Tyr Ala Leu Ile Phe Leu Leu Cys Met Val Gly Asn Thr Leu Val
 50 55 60
 Cys Phe Ile Val Leu Lys Asn Arg His Met His Thr Val Thr Asn Met
 65 70 75 80
 Phe Ile Leu Asn Leu Ala Val Ser Asp Leu Leu Val Gly Ile Phe Cys
 85 90 95
 Met Pro Thr Thr Leu Val Asp Asn Leu Ile Thr Gly Trp Pro Phe Asp

30

40

	100		105		110										
Asn	Ala	Thr	Cys	Lys	Met	Ser	Gly	Leu	Val	Gln	Gly	Met	Ser	Val	Ser
	115						120					125			
Ala	Ser	Val	Phe	Thr	Leu	Val	Ala	Ile	Ala	Val	Glu	Arg	Phe	Arg	Cys
	130						135					140			
Ile	Val	His	Pro	Phe	Arg	Glu	Lys	Leu	Thr	Leu	Arg	Lys	Ala	Leu	Val
145					150					155				160	
Thr	Ile	Ala	Val	Ile	Trp	Ala	Leu	Ala	Leu	Leu	Ile	Met	Cys	Pro	Ser
					165					170				175	
Ala	Val	Thr	Leu	Thr	Val	Thr	Arg	Glu	Glu	His	His	Phe	Met	Val	Asp
					180					185				190	
Ala	Arg	Asn	Arg	Ser	Tyr	Pro	Leu	Tyr	Ser	Cys	Trp	Glu	Ala	Trp	Pro
					195					200				205	
Glu	Lys	Gly	Met	Arg	Arg	Val	Tyr	Thr	Thr	Val	Leu	Phe	Ser	His	Ile
					210					215				220	
Tyr	Leu	Ala	Pro	Leu	Ala	Leu	Ile	Val	Val	Met	Tyr	Ala	Arg	Ile	Ala

10

20

225 230 235 240
 Arg Lys Leu Cys Gln Ala Pro Gly Pro Ala Pro Gly Gly Glu Glu Ala
 245 250 255
 Ala Asp Pro Arg Ala Ser Arg Arg Arg Ala Arg Val Val His Met Leu
 260 265 270
 Val Met Val Ala Leu Phe Phe Thr Leu Ser Trp Leu Pro Leu Trp Ala
 275 280 285
 Leu Leu Leu Leu Ile Asp Tyr Gly Gln Leu Ser Ala Pro Gln Leu His
 290 295 300
 Leu Val Thr Val Tyr Ala Phe Pro Phe Ala His Trp Leu Ala Phe Phe
 305 310 315 320
 Asn Ser Ser Ala Asn Pro Ile Ile Tyr Gly Tyr Phe Asn Glu Asn Phe
 325 330 335
 Arg Arg Gly Phe Gln Ala Ala Phe Arg Ala Arg Leu Cys Pro Arg Pro
 340 345 350
 Ser Gly Ser His Lys Glu Ala Tyr Ser Glu Arg Pro Gly Gly Leu Leu
 355 360 365
 His Arg Arg Val Phe Val Val Val Arg Pro Ser Asp Ser Gly Leu Pro
 370 375 380
 Ser Glu Ser Gly Pro Ser Ser Gly Ala Pro Arg Pro Gly Arg Leu Pro
 385 390 395 400
 Leu Arg Asn Gly Arg Val Ala His His Gly Leu Pro Arg Glu Gly Pro
 405 410 415
 Gly Cys Ser His Leu Pro Leu Thr Ile Pro Ala Trp Asp Ile
 420 425 430

10

20

30

40

<210> 25

<211> 1290

<212> DNA

<213> Human

(400) 25

atggaggggg	agccctccca	gcctcccaac	agcagtggc	ccctaagtca	gaatgggact	60	
aacacigagg	ccaccccggc	tacaaacctc	accttctct	ctactatca	gcacacctcc	120	
ctgtggcgg	ccatgttcat	tgtggcctat	gcgtctatct	tctgtctctg	catgggtggc	180	
aacacccigg	tcgtttcat	cgtgctcaag	aaccggcaca	tgcatactgt	caccaacaig	240	
ttcactctca	acctggctgt	cagtgaacctg	ctgggtggca	tcttctgcat	gcccaccacc	300	
ctgtgggaca	acctcatcac	tgggtggccc	ttcgacaatg	ccacatgcaa	gatgagcggc	360	10
ttgggtcagg	gcatgtctgt	gtcggcttcc	gttttcacac	tgggtggccat	tgtgttggaa	420	
aggttccgct	gcatcgtgca	ccctttccgc	gagaagctga	cccgtcggaa	ggcgtctgtc	480	
accatcggcg	tcacttgggc	ctgggcctg	ctcatcatgt	gtccctcggc	cgtcacgtctg	540	
accgtcacc	gtagggagca	ccacttcatg	gtggacgccc	gcaaccgctc	ctaccctctc	600	
tactcctgtct	gggaggcctg	gcccgagaag	ggcatgcgca	gggtctacac	cactgtgtctc	660	
ttctcgaca	ctacctggc	gccgctggcg	ctcatcgtgg	tcatgtacgc	ccgcatcgcg	720	
cgcaagctct	gccaggcccc	gggcccggcc	cccggggcg	aggaggctgc	ggaccgcgga	780	20
gcatcgcggc	gcagagcgcg	cgtgggtgac	atgctgggtca	tgggtggcgt	gtttctcacc	840	
ctgtcctggc	tgccgctctg	ggcgtctctg	ctgctcatcg	actacgggca	gtctcagcgcg	900	
ccgcagctgc	acctggtcac	cgtctacgcc	tcccccttcg	cgcactggct	ggccttcttc	960	
aacagcagcg	ccaaccccat	cacttacggc	tacttcaacg	agaacttccg	ccgcggcttc	1020	
caggccgctt	tccgcgccc	ctctgccc	cgcccgtcgg	ggagccacaa	ggaggcctac	1080	
tccgagcggc	ccggcggct	tctgcacagg	cgggtcttcc	tgggtggctcg	gcccagcgac	1140	
tccggctcgc	ctctgagtc	gggcccctagc	agtggggccc	ccaggcccgg	ccgcttccc	1200	30
ctgcggaatg	ggcgggtggc	tcaccacggc	ttgcccagg	aagggcctgg	ctgctcccac	1260	
ctgcccctca	ccattccagc	ctgggatatc				1290	

(210) 26

(211) 1290

(212) DNA

(213) Human

(400) 26

atggaggggg	agccctccca	gcctcccaac	agcagtggc	ccctaagtca	gaatgggact	60	
aacacigagg	ccaccccggc	tacaaacctc	accttctct	ctactatca	gcacacctcc	120	

40

ccgtggcgg ccaigtcat tgtggcctat gcgctcatct tctgtctctg catgggtgggc 180
 aacacccctgg tetgtttcat cgtgctcaag aaccggcaca tgcatactgt caccaacatg 240
 ttcatccca acctggctgt cagtacctg ctgggtgggca tcttctgcat gccaccacc 300
 ctgtggaca accteateac tgggtggccc ttgacaatg ccacatgcaa gatgagcggc 360
 ttggcagcagg gcatgtctgt gtcggcttcc gtittcacac tgggtggccat tgcgtggaa 420
 aggttccgct gcatcgtgca cctttccgc gagaagctga ccttgcggaa ggcgctcgtc 480
 accatcgccg tcatctgggc cctggcgtg ctcatactgt gtccctcggc cgtcacgctg 540
 accgtcaccg gtgaggagca ccacttcatg gtggacgccc gcaaccgctc ctaccgctc 600
 tactccigtct gggaggcctg gcccgagaag ggcatgcgca gggctctacac cactgtgctc 660
 ttctcgaca tctacctggc gccgctggcg ctcactgtgg tcatgtacgc ccgcatcgcg 720
 cgcaagctct gccaggcccc gggccccggc cccggggcg aggaggctgc ggaccgcga 780
 gcatcgcggc gcagagcgcg cgtgggtgac atgctggta tgggtggcgt gtitttcacg 840
 ctgtccggc tgcgctctg ggcgctgctg ctgctcatcg actacgggca gctcagcgcg 900
 ccgcagctgc acctggctac cgtctacgccc tccccctcg cgcactggct ggcctttctc 960
 aacagcagcg ccaacccat catctacggc tacttcaacg agaacttccg ccgcggcttc 1020
 caggccgct tccgcgccc cctctgccc cgcccgtcgg ggagccacaa ggaggcctac 1080
 tccgagcggc ccggcgggt tctgcacagg cgggtcttcg tgggtggcgc gccagcgcac 1140
 tccggcctgc cctctgagtc gggccctagc agtggggccc ccaggcccgg ccgcctcccg 1200
 ctgcggaatg ggccgggtggc tcaccacggc ttgcccaggg aagggcctgg ctgctcccac 1260
 ctgccccca ccattccagc ctgggatatc 1290

10

20

30

<210> 27

<211> 430

<212> PRT

<213> Mouse

<220>

<400> 27

Gly Glu Pro Ser Gln Pro Pro Asn Gly Ser Trp Pro Pro Ser Leu Arg

5

10

15

40

Glu Ser Asp Ala Glu Thr Ala Pro Val Ala Ser Leu Thr Phe Ser Ser

225 230 235 240
 Leu Cys Gln Ala Pro Gly Pro Ala Arg Asp Ala Glu Glu Ala Val Ala
 245 250 255
 Glu Gly Gly Arg Ala Ser Arg Arg Arg Ala Arg Val Val His Met Leu
 260 265 270
 Val Met Val Ala Leu Phe Phe Thr Leu Ser Trp Leu Pro Leu Trp Val
 275 280 285
 Leu Leu Leu Leu Ile Asp Tyr Gly Glu Leu Ser Glu Leu Gln Leu His
 290 295 300
 Leu Leu Ser Val Tyr Ala Phe Pro Leu Ala His Trp Leu Ala Phe Phe
 305 310 315 320
 His Ser Ser Ala Asn Pro Ile Ile Tyr Gly Tyr Phe Asn Glu Asn Phe
 325 330 335
 Arg Arg Gly Phe Gln Ala Ala Phe Arg Ala Gln Leu Cys Trp Leu Pro
 340 345 350
 Trp Ala Ala His Lys Gln Ala Tyr Ser Glu Arg Pro Gly Arg Leu Leu
 355 360 365
 Arg Arg Arg Val Val Val Asp Val Gln Pro Ser Asp Ser Gly Leu Pro
 370 375 380
 Ser Glu Ser Gly Pro Ser Ser Gly Val Pro Gly Pro Asn Arg Leu Pro
 385 390 395 400
 Leu Arg Asn Gly Arg Val Ala His Gln Asp Gly Pro Arg Glu Gly Pro
 405 410 415
 Gly Cys Asn His Met Pro Leu Thr Ile Pro Ala Trp Asn Ile
 420 425 430

10

20

30

40

<210> 28

<211> 16984

<212> DNA

<213> Mouse

<220>

<221> CDS

<222> (4706)..(5021)

<220>

<221> CDS

<222> (14061)..(14160)

<220>

<221> CDS

<222> (15476)..(16349)

<400> 28

```

caagtggccg ggcttgggag gtggggaaga gacaggggag tggcagtgag tgaggtggga    60
gggagtgggt tttctttatt taaacgtgca cttgtgtgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg    120
tgigtigtat gtataigtgt gtggagacgt gattaggata tgagigaaga tcagagggca    180
gtctgtgtgt gggagtgggg tctctctcc taccacgtag gtcccagga tcaaactcgg    240
gtcatcaggc ttggtagaag gcatcttacc tgctgagcca tctcgatgac ctggtttggc    300
ttggcggaaa ggtctcatgt agttcagggt ggctcaaac tcagtatgtc accaagaatg    360
acctaaacc tctcatcctt ctgctctgg agttctaggg gtatgggtgt acctagccc    420
ttggcttgca tggctctggg gttaggacct gtggctttgt ggatgttaag tcaagctcct    480
atcagctgag ccccatctct agctcctgga ctgtgagtta aaaaaaaaaa aagtagaaga    540
ctatttaaaa aaaaaaagat gcaaaactat tttcagtga aaaggaatgt cggctgacac    600
tcgcttcaga gcaactgagg aggaaagtca atggatgctg caggtaggaca gacttccgt    660
gggagtccct tttaccattc cattctcat ggttcattaa accttatact tctgcatgtg    720
ttcgccaaaa taatctctct tgtacgtgcc cggatatata tataattat tctattaaag    780
gtgtttgaat gctgttggag ctcttgaag gcctgtgtgt gggggagtac catcatctct    840
cagctccttc tctatcagta gacccctcat cccgccacac cctcctacag cccccactgg    900
ctcctgcagc ccctaagcc gctagtgcag tagcctgctg ccccagggtgt ctgtctccag    960
ccctcctgtg tgtgactgc gcctcgctcg ctcatitggc ttgcatggtg ctggggttgg   1020
agcctgtggc tttgtggatg ttaagtcaag ctctatcag ctgagcccca tctctagctc   1080
ctggactgtg agttaaaaa aaaaaaagta gaagactatt taaaaaaaaa aagatgcaaa   1140

```

10

20

30

40

actatititc agtgaaaagg aatgtcggct gacactcgt tcagagcaac tgaggaggaa 1200
agtcaatgga tgcctcaggt ggacagactt cccgtgggag tccitititac cattccattt 1260
ctcatgggtc attaaacttt atactctctc atgtgttcgc caaataatc tctcttctac 1320
gtgccccgat atatatatat attattctat taaaggigt tgaatgctgt tggagctctt 1380
gaaaggccig tgtgtggggg agtaccatca tctctcagct cttctctat cagtagacce 1440
ctcatccccg cacacctcc tacagcccc actggctctt gcagccccta tgcctctagt 1500
gcagtagcct gctgccccag gtgtctgtct ccagacctcc tgtgtgtgca ctgcgctctg 1560
ctcgtctata gccagtggct gagcgtctgg ctcacagaa agactcccca gggccacttc 1620
atctccaga atgggcccc tccagcccc gaggaagac atgaggggaa ctittaagac 1680
aacaccaatga ctaccaccg ctaatgactt cccagaagag ttatgattgg acactggact 1740

gctccctccg	aaagaagact	agggaaacac	acactcagcc	tgctgcta	gagaaacatg	1800	
iggacagggc	acttcccata	gatactgcag	gggcaggtaa	accagattg	gtattcctgc	1860	
cagcaggggg	tgcaaagaga	aagaataggt	tgctatgggt	gcttgggagt	tctagaagca	1920	
iggcctagag	tgtcttgctt	tgTTTTtctt	tcttttctt	ttcttttctt	ttcttttctt	1980	
ctttctctt	ttctgtctt	aaaacttatt	tatttaatgt	atgtgagtac	actgtagctg	2040	
taccttcat	gtggttggtg	ggaattgaat	tttaggacct	ctgctcactc	cagtcagccc	2100	
tgctcgctca	ggaccaaaaga	tttatttatt	attatacata	agtacactgt	agctgacttc	2160	10
agacacacca	ggagagggcg	tcagatctca	ttatgggtgg	ttgtgagcca	ccatgtgggt	2220	
gctgggactt	gaactcagga	cctctgggag	agcagtcagt	gctcttacc	gctgagccat	2280	
ctcgccagcc	cttgcctca	ttttctatt	gctataacaa	atatccaaga	ttgagtaggt	2340	
tataagaagt	ccaaaagcat	ggccctctg	ttcagggcct	gtttcctgca	ttctaacatg	2400	
gtgagggcat	cggtggcca	actagaacaa	gcacgtggcc	tggcagagag	gcctcggcca	2460	
tcgagtgac	ttgctcttg	tggatgagga	agtggttcca	ttaggaggca	tggccttggt	2520	
ggaggaagtg	tgctactgtg	taggaggct	ttgagggctc	ctagtgctca	agtgtctacce	2580	20
agtcagAAC	actcagtcac	tcttggtgt	cctatgatca	agatctagaa	ctctcagctt	2640	
ctctgcagc	actgtgtctg	tctgcatgct	gccaggcttc	ttgctatgat	gataatggac	2700	
igaacctctg	aaactgtaag	ccagcccaa	ttaaatgttt	gcctttgta	gagttagcctt	2760	
ggcatgggtg	ctgttcaca	gcaatagaaa	cttaactaa	gacacagttc	ttgaagagga	2820	
iggagtccct	agcaccatg	gccagcaact	caccataact	cttgttccag	ggaatctggt	2880	
gccctcttct	ggcctttaag	tgtatacaca	cacaccacac	acacacacac	accacacaca	2940	
cacacacaca	cacacacaca	tacacaccac	acacacacac	acacaccaca	gagagagaga	3000	30
agcacaatag	ctcaggattc	ttcttatgta	atcaccaatg	atgtcacagg	agctccacca	3060	
igtaacttcc	tataaatcta	actctcttcg	attttaataa	tttactatat	gtgggtgtgt	3120	
gtcagatctt	ggattacaga	cagtcatgac	ctgccaatgtg	gatgctggga	attgaaccgg	3180	
gattgctgag	ccatctctcc	tgtccctaa	ctcactctca	gaagccgcag	ttccaatac	3240	
ctttgacaca	tgtttgagg	gaattaaagt	gtctagacat	gagggtacat	tgaaggcaca	3300	
ataaggactc	actctacagg	acaagagctg	tgtctgctaa	cagtactggt	cccaggcagg	3360	
aaggagcca	ggaagcaaaa	actgactcct	ctcttgcttc	ccacctcatt	tagggcttcc	3420	40
catgactga	gtctaaccag	aagctggcag	gatgggtcc	tttagaagtt	agactcttgg	3480	

gcccgaggac	atagctcagt	tggtatagta	cttgcctaac	atgcacaaag	ctccaggttc	3540	
tatcacatac	agtgtaacagg	ttgacacact	tcatecagc	actcagggtgg	tagaggcagg	3600	
agggtaagag	ttcagggcca	tccttagcta	aagtggtag	ttcaaggcca	gcctgataig	3660	
gaagaccttg	tcaccaaga	agtctctga	gacccaaaag	atgacatgaa	gcacagggag	3720	
aagggtgga	iggagactag	ccaatgtgat	tgaggatga	gggccagca	cattgggtgt	3780	
gaggtttggg	caaac tcaa	agtccttgat	cagaggacgg	aggggtggtta	aatgg tcaag	3840	
aatgcttggt	ctccagagg	acctgatct	ggctcctagc	acctcattg	tgaccacaa	3900	10
aacatccata	actctagttc	tagggcactc	agcacacaca	ccatgcacat	acacgtgtgc	3960	
aggcaaaaca	ttcaaaaatc	taaaaattaa	aaaataaaat	aaaataaaat	tcttgacagt	4020	
gtgccaggt	gtccttgaga	cagtggacag	taataagtgg	gcttagggta	tatgtgatgg	4080	
ttgtataig	cttgctcaga	gagtagcact	attaggaggt	gtggcttgt	gggagttagt	4140	
gtgtcacgt	gggtgtgagc	ttaagagcct	catectagct	ccctggaagc	cagtctctc	4200	
ctagcagct	tcagatgaag	atgcagaact	ctcagctcct	ctacaccat	gtctgacctg	4260	
atgtgtctat	gtccccacct	tgatgataat	ggattgaacc	tctgaacctg	tcagccagac	4320	20
ccaattaaat	gtgtccttg	ataagatttg	ccttggctcat	ggtatctgtt	cacagtggta	4380	
aaacctaac	taagacagta	tgacacatga	gacacaaaaa	aactggaacc	ctttctttct	4440	
ttctttgca	agcgtcaatt	ggctgaagtt	ggcctaaaac	tctctaaagta	gatgagtgtc	4500	
cttgactcca	cttctgaaag	tgcttgggct	aaaggcatgt	accatgatac	tgctttatgt	4560	
ggtactgggg	tatcaacca	tagccttact	catgttaggc	aagcactctg	agctgcatcc	4620	
ccatccaagg	gttggctttt	tagtggtaga	aagcccgtta	actctctctc	gctttggctc	4680	
tgactctgt	gtcccccca	ctccagcgga	acctcccag	ctccccacg	gcagctggcc	4740	30
cccagctctg	cgagagagtg	atgctgaaac	cgccccgggtg	gccagcctca	cttctctctc	4800	
ctactaccag	cactctctc	cgggtggccgc	catgttcate	gccgcctacg	cgctcatctt	4860	
cctctctctg	atgggtggca	acacctgggt	ctgcttcate	gtgcttaaga	accggcaccat	4920	
gcgcaactgc	accaacatgt	tcatectcaa	cctggccgtc	agcgacctgc	tggtgggcat	4980	
cttctgcatg	cccacaacc	tcgtggacaa	ccttatacc	ggtagatg	accaaggggc	5040	
agcaggaagg	ccctcttca	ccctcgttc	gcttccactt	tccagctaaa	gactgacgcg	5100	
gaagccggga	agacagagat	cactgagcct	cacagacaag	gggcccggtg	tctcaaacctc	5160	40
tgacagagag	gtgaataaga	ataaccaacc	taatgggcta	atcagtgcc	ggcatgatgt	5220	

atgatttgta agttaaatta	attaatccct agaataagcc	aaccaagcat gctttgttat	5280	
ttagcctcat ttacggatg	aggaatcaag ctacagacag	ttaaggggct gatctgtaat	5340	
tattaccti gtcagigtca	gggccagtgt gtcataacce	ctgtgtctat tcatactcc	5400	
ttggccaca cccitggaga	gagttcccat ggacagaatt	agacagggga ggagtaggag	5460	
gigggcaact ttctctgca	cgaagacctg gaaatccact	ctgccaatcc atcctcccat	5520	
agaagatgct ctgtctctg	aggtcttgag ctcccatggg	ctggaagact caggagtagg	5580	
gactggctga ccgatgagct	gggactgggt aagaggctt	taaatggaag tagaccatca	5640	10
cctgcaaagt cccacagtg	tcagaatgtc acacactcat	ctctgatgat aaacctgtct	5700	
igtcttaaca tcagagttg	gagactcaag ctgtggagac	ccctcaggtc taagggggaa	5760	
gateccccgg ctacttgggg	ttactcagct gtctctaggg	agtcctctct ggtctgcct	5820	
ccctctttat agtggctctg	atgacgcagg cccagggagg	ggaagccctga ggggtgtcag	5880	
gttctctggat cctaaagga	aatgatggag agtcctctgg	ctgtatgccc ggtggagact	5940	
tgctctctg ttgagttctg	atccccgcag agatgccaaa	cacaaaccgt acaacctct	6000	
tccagcacce gcagacagtc	tagatctaga tctggcctac	aagctctcaa agggatatta	6060	20
cagtataatc atttaigtga	catttcaaa ggccaaatcg	tattttctgt cccctgagat	6120	
agcaaatga cagattcaag	agatggaggg tgggtccggt	aatgaaggac cgagtggaag	6180	
cttccctggag tgaigcaata	ttctgtatc ttgatggacg	ctgacctggct gcatgtgtgc	6240	
cttaaacctg tgcacctgta	tgccaaaaac agtggggctc	attgtttgtc gaaaatagtt	6300	
ccagigtgaa acatgccc	atgtagtcc atttccatgg	ttggatatac atgatgggtg	6360	
tcaagatggc tgagcaggtg	agtactgggt tggtecccaa	gtctctttcc ccgagcccca	6420	
taaagtagaa ggagaaggcc	tactctgca agttgtctc	tgacctctgt gcatgtatgc	6480	30
atgtgcacac gactgcactc	acacacacac acacacacac	aaatacacat gtgtatgtgt	6540	
gcatgcacac acatcaaatg	tgattttttt tttaaaaaaa	gagaagggct agagagatgg	6600	
ctcaggggtt aaagagatgg	cccagtgggt agagagatgg	cccagtgggt agagagatgg	6660	
ctcagtgggt agagagatgg	cccagtgggt agagagatgg	cccagtgggt agagagatgg	6720	
cccagtgggt agagagacag	cccagtgggt agagagatgg	ccaagtgggt acgagtgtgt	6780	
acggctcact agacgcactc	tcagctcca cgctgggtag	cttacagatg actagctcca	6840	
gttcaggaga tccaacacct	cttccactgt cacctgtgtt	catgtgcaca cacctaaaca	6900	40
cagagatgca gattacaca	tatagaata cactaaaaat	aaggtaatc tttttttaa	6960	

aagtcattg	gccctctaga	agaacaactc	tgtggctgta	agggagcttt	tgttggtagg	7020	
tactttttaa	atgggagtgt	ttgcctattc	tagtatgcat	gtatgtatgt	gtgtatataf	7080	
ttattgtgta	tgtatttggt	tgtatattta	tttatttggg	ttttgagac	aggtttctct	7140	
gtatagacct	caagctagct	ctgcagcttt	gaactcagag	atctggctgc	ctctgcectc	7200	
tgagtgctgg	gattaaaggc	gtggaccacc	actgctctgc	tatttttaa	actttttatc	7260	
ttattttatg	tgcatggaca	ttttgcttaa	tgtatacatg	tgcccccat	gcgtctctgg	7320	
tgccigcaga	gacttgaggg	gggcatcaga	ttccctcaa	ctggagttgt	agatggttct	7380	10
gagtcactga	tgctaggaac	caaacacagg	tectctgcaa	gatcaacaag	agctcttggc	7440	
cacggagcca	tcctcccagc	cccttgaac	aatgttagac	ttaaagtaaa	atagcgaagc	7500	
tagcatagaa	tccttggcat	atgctttgct	ctcttcccc	aacaatcata	atagagtaaa	7560	
tacciggaga	aagcttccc	tgtgttgata	actcatcagg	gttgggtggt	cttttggttt	7620	
ttggttttgt	ttgttttggg	ctatttttaa	tttactagt	gtccccata	tgctattttc	7680	
taggagttig	aaccataatt	ccaagaaca	caactgaaat	gctcaaatct	tgaatggtag	7740	
agccagggtg	gataactga	atgaactcaa	gaggccagcc	tgggggttat	gcagtgaaac	7800	20
igaactcaa	acagaaaaca	agcatcaatc	acaaggctat	gacaataaca	gcaatggaac	7860	
aggccacttc	agaggctgct	ttaactataa	agtaggcgac	aatagcttgt	attgctgcaa	7920	
gcataaacac	tcaggctact	aatgataatg	tgtgtgagac	gatcacaggt	ctgaacggtg	7980	
cattactgtt	cataatgggt	ctaaagtga	ggttgggaat	tgtatgcatt	ccactttaga	8040	
actigggatt	ctggattg	catggatg	ttggctattg	ttttcatgct	ctgaagaggg	8100	
actgtgacta	aggccactct	tatgaaagaa	agtatgtaat	tgggctttgc	ttacagtttc	8160	
agaggttagt	ccattgtcat	ggtgaccgaa	ggcagggcag	cacagaagtc	agtaagatct	8220	30
gcatcctgac	ataggcagag	agaggagaat	tgggctgtc	ataggctttt	taaaacctca	8280	
gagcccactc	cagtactca	cttctccaa	caaagccatg	cttctaatc	cttctaatcc	8340	
tttcaaagg	tcccatgctc	aggtgactaa	gcattccaat	agatgagctt	ctggggccat	8400	
tcctttctt	gggggaggg	ggttttgaga	caggtttct	ctgtgtagcc	ctggttgcca	8460	
ctctttttt	tttaaattaa	tttatttatt	tcatgtatgt	gagtacattg	ttgctgtctt	8520	
cagacacatt	agaagaggtt	attgaatccc	cattacagat	ggttgtgagc	caccatgtgg	8580	
ttgcagggaa	ttgaactcag	gacctcaaga	agaacagtca	gtgctcttaa	tcgctgagcc	8640	40
atctctccag	tccttggaa	tcactttgta	gaccaagctg	acctcaact	cagaaatccg	8700	

ccigcttcig	cccccagt	gctgggatta	aaggcgtgct	ccaccactgc	ccagctcigg	8760	
gggggtcgtt	ctattcaaa	ccaccacact	ggcagaaaac	tcaaactctg	igggggctag	8820	
ggigactgic	agatattacc	ctgtggttca	agcaagctcg	gaattggcta	tgcaaccagg	8880	
ctagccctggc	atgtgtgatt	ctctctgcaa	ctctgtcttc	tgagccctgt	ggtgccagct	8940	
gigtcttagc	tcactcgatt	cctaagacgt	tgggtgggct	ccacaaaac	ctttgatagg	9000	
tcacttctat	atagagttat	agacagtggc	cctgggggaa	gattttgaga	aatTTTgttt	9060	
cccgtaaaig	cagacatcaa	aaagatatca	ctaaatttta	tttattttatt	tattttatta	9120	10
tttattttatt	tattttatta	tttattttac	agacacagat	aaagtcagtg	iggcaacagt	9180	
gcacacactc	tiggagccag	atttcaaaa	gaagatacat	aatcagaac	tctctgaaag	9240	
tccgtgtata	gtttatattg	ccagtattca	aatgggtggg	gaaaagtcaa	atatccagca	9300	
ttaagaaaat	cttactttgg	gggtggggca	agaaaaaaaa	aagaggaagg	aaattgggct	9360	
ggctaggctc	ggagagatgg	agatggctca	gcagctaaga	attaagattc	ccttgcagag	9420	
gagccaigti	caatccccac	atggcgatgt	gttcaattgc	acctatggat	cacaacctgt	9480	
taacggtttc	tagctccttc	tctgtctcac	tgcaggtact	acatgcacat	ggtacacata	9540	20
caigcaggca	aaacactcat	aactaaatat	agatttttta	aaaagagggt	gataatgtaa	9600	
aaatagttag	aaggttttaa	aacttaaaaa	aaagcaaaaa	gttttaacat	atgaaaatat	9660	
gaaaaagigg	tacttcaggg	ttatattgta	agcagccaca	cagaggctcat	gcctaagggc	9720	
iggcaagccc	cgccatcctc	aaccatctgc	tgactgtctt	ggagtgcaat	aaacagttag	9780	
aggcagatct	tctctgattt	tccagcagcc	actccatttt	tgtttctcnn	nnnnnnnnnn	9840	
nnnnncccc	cccccccccc	cccccccccc	cnnnnnnnnn	nnnnnnnnnn	ngtgctggga	9900	
attccagtac	ctcigggtga	gtagccagtg	ctcttaacca	ctgagccacc	tctctagctc	9960	30
cccttatttt	caggttttaa	aatgacattt	tattcttggc	ctctctctct	tctctctctc	10020	
tctctctctc	tctctctctc	tctctctctc	tctctctctc	ctctctctct	ctgtgtctgt	10080	
atgtgtgtgt	atctgttact	tigtggggca	taggaatgca	tgtagcttaa	catacatgta	10140	
gaagtcagag	gacagcttat	ggcgctatgc	agtatagatt	ctctctctgt	atgtgggtct	10200	
tggattgagc	ttaggcttgt	gacaagagct	gaccttgacc	gccttgggtg	agcctagagt	10260	
gaacttgaac	tctccacct	ctggattatg	gtaattacag	gcccattccc	tacgttccac	10320	
tctcacgcat	gttctgtgtg	ataggtcttc	ctcgcttacc	ccactcaggc	tcacagtctc	10380	40
tccigaagat	atccttactg	tcacaaccaa	acaatgtct	tccaggttc	ccaggtgctc	10440	

igccttcctg acgiggatac aggtctcctg ggacagcctg gggcacactg atactccttc 10500
 cctggagcct tccatggaat ttgaagcttt cggccttggg ttttaggggt ttgatattta 10560
 ggagtttggg actigcgaac cgttgccttg gggagcctag actcaatctt tctgggttcc 10620
 tggattctga ctagaaccac ttgtctcacc caatgtcaga cctaggggtat ctagctgatt 10680
 ttaattattt ccttcctctt tcttgaccac cagtgcctagg gattagaatt aggcttcaac 10740
 catactttat cattaaacta cattctcagc catagttatg tgtgtatata cacacacaca 10800
 cacatatatt ttttttttg aggctggcga gatagctcag tggtaaagag catgtgcctgc 10860
 tcttgacagag gacctatgtt tggttcctag atcccacacg atggcccaca ctatcagtga 10920
 actcagttgc agaggttctc aagtcctctc cagcgcagag ggctccaggc atgcatagag 10980
 tgcacacatg caggcaaca ctatacaca taaaataaaa tataaaaaac cttattaact 11040
 tactcaigtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg tgcgcgcgtg cgcacgcgta tgcgtgggtg 11100
 atttgagtgt ttatagttc accatacatg tgtagggtgc tgtgaaggtc agaatcaaat 11160
 cccatagctc tggacttatt acagggtggt gtgagctgct gtgtggatg ctgagagtgg 11220
 aatcccactc ctctgcagga gcaacaagtg ctcttaacca ctgagccatc tctccaacce 11280
 ctgggtctct ttttgatttt tttttcttt gattttttga gacagggctc ctctgtgtag 11340
 cctggctgct ctggaactca cttgttagac caggctggcc tcaaactcag gaaatccacc 11400
 igcctctgcc tcccaggctc tgggattaaa ggcgtgcacc accatgcccg gctctctttt 11460
 tgattttatt ttgtgtgtgg atgcttatgc acgcacacat tcatgcatgc atgtatacat 11520
 tttttcatg tatgtgtgag tgtatgata ggtgcggagg cctgaggttg acatctcctg 11580
 ctttagcccc tgagtagctg ggatgacaag tctgtgcttc ccaggccagc tcaccgaagt 11640
 gtttccttag ctctctccaa tcagccctag gtgccaggtc atgacatcac atgtttagaa 11700
 gctgctcttc cattatttgc aatatgagca tttttgttgt tttctctgat gccaggacct 11760
 gcactttggc cctgggatcc ttgactaagg atgcctcgtg attagggcat ctgtaaagca 11820
 acctcttccc cttttctta aaggacagat gtctgtacag taaagctggg atcaggttgg 11880
 gttctctagc actacggatg cagagcagaa cctcagggag atgctctttt gatccagcac 11940
 tggaggggtg gtgtggaact tgtctcagac ggaggcctct acgggtgagc agtctcaggc 12000
 tgaaacatc ctaaacatcc aggaaggagt tgctagtctt ttcatacatt ggtcagtcca 12060
 tcataaacac tctggaacca agcctagtgg cactcacgtt aaatcctagc acttgggagg 12120
 cagaggcaag cagatctcta agtctgaggc cagcctggtc tccagagtga gttccaggat 12180

10

20

30

40

agccagggct acacagagaa accctgtctc aaaaaaaaaa aaaacacaac aagaaaaaaaa 12240
 agggggggat catattctga ttcgtgagga atgtgctggc attcctcttg agcctggcca 12300
 ataigacatg gctttgcaa tgcctgttag gtccaagctt tggagcctgc acatggctat 12360
 gcccattgag gcaatattca ttactcaga acttactec cteccgtgcg tectctgctc 12420
 cctacacctt gattagattc agttgagcca ttgagggacg tectctgctc cctacacctt 12480
 gattagattc agttgagcca ttgagggaga gcagcatgga tccgtgggca aggcacagat 12540
 gagagccgag cttttgctc gattgcttag gtaactgctg tctctaggct gtaagccag 12600
 cacttecccc ttcttaatta tgaagtacc tacggggatga tectctgaga ccatgcaaat 12660
 gtcattggctc gttatattt tgtaccgact tcatagtgtt gccaccaca acactgcttc 12720
 tcatcctgtt cctcttaat gacattcaca tectctgtat ttactaattg gctctctgct 12780
 tccggcggtt taatccaaca tgattgttta tttgttgc taaactgctc taggtctggc 12840
 aattgcaatt ggaagctcac agccgctggc ttctgtgtec tteccatata cagccatcat 12900
 gttggagta ttccctctt tcttattcc acagaatgtt ctgatcacc tcacaatttt 12960
 cttacaccag ccttggcaat aactagttct tttaaaagcc ttgtttctt tgattggcct 13020
 gcactatita gttctatitt atgcgcatgc gaattctact cgcatgctg gtgcccacag 13080
 aggtcagaag agggcatcag agctcctgga gctagagagt tatggatgtt gaaagccacc 13140
 atacggaigc tggggactga accagagtc tctgcaagag caaccagtg tcttagctgc 13200
 tgagccatct ccacaggcca aggagtagag tatttacaag caaaggctc acttctctgag 13260
 ggtgcttacc agggttagag tggcttgatt ctgactctg aaggacaga gctgggacat 13320
 gcatgcaaat tgccatagag ttctttgaca catgtctttt gttgttgttg ttgagacagg 13380
 gcttcacatg tagccttggg ttccctggaa ctactatgt aaccaggct gacctgaaac 13440
 tcaacagaga tctgtcttcc tctgtttccc aaatgctgag attaaagaca tgtatcacca 13500
 caccagctc cgtcttctg cctgtgtctg gccatgtgcc tgtatttcag aaactgtgct 13560
 ccatactaat acttcagatt ccaatccagt ctcaaaaaat gtattttagc tcttcccttt 13620
 ttgttagctt tctctcagt gagaacaaa atctttgttt atccacagcc tgtttattta 13680
 tctgtttggg ccacttcagt atacaggtgt gataataata tatacgctgt ggatatgtga 13740
 taatgatgat tgggtaataa cagagctact tcgaggaagg aacggcctcc ctcttgggct 13800
 ggataatagg ctccagacat caggcagggc tagatgacct gaaggctcatt gacacaatca 13860
 gctgtcaact aaaggccatc ttcttaaaag tagtgttcac acgctggttg gctctctggg 13920

10

20

30

40

cacagtcaca gagacctcac aagccctcac agcacgagga tcaatgagcg gtgtttccag 13980
gagacattgg ttataatggca ggtgctatgc attttgttga ttaggcactc ctcacctgt 14040
ggggccctci gtcgttacag gttggccttt tgacaatgcc acatgcaaga tgagcggctt 14100
ggtacagggc atgtccgtgt ctgcgtcggg tttcacactg gtggccattg ccgtggagag 14160
gtgagaacct tccttgggta attctgggac tggcacgctg ggactagcta gatggttgta 14220
gggagagatc ggttgagaat accaccccat cctttctgg gaggcagagg ccactcctga 14280
caagatcca tagcaattc tggggtctgc tcaaggcagt ctgcatctg ggtaccagga 14340
gtcccacctc tcctttgttt gagcccggga agccagagct agaggacct gtctgcagat 14400
ggccttggca tagctgggaa ggaccgacct ttttgtttc tatattctat ctacttgctg 14460
gtgtctggaa gccctggctt tactccgtct gcatgtctgt cgtttctggt catccannnn 14520
nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnc ccccccccc cccnnnnnn 14580
nnnnnnnnnn tgcttagtcc ggcttccaa gcacagagtg tttatcacag actnnnnnnn 14640
nngggctgig atgcccgcta ctgaataaaa gaaaaaggaa taaaggaaag cccatgactg 14700
ctccctggat atggtggagg agaaagctta ttatagatat gtgggtgaga acggccagag 14760
gcaggacat ctccagagag tccagagtgg tctgatctt gaacctctg gggagagggg 14820
gagggggagg gagagcggga aaccaaaggt cagcagccat gaggccaaag gtgcaaaagg 14880
aagtgaggagg tagcccaaaa tgtctaggct atataggag gagcctctgt gggaaaggca 14940
gcccagtgtc tggcctggag agttcagggt agagggtggg gtaggtcagc tatacccagt 15000
aacaggtagc aaccgagga tgctgggaga acctaaaggc caggctccgt ttgatattgt 15060
aaataggaac ctcaaggcc agtccctgggt tgaacctta gtactgccag ctaatctgtt 15120
ttaaataaaa gatctaagcc tctggagaga ggttgttctt tctcatcta ttccactaaa 15180
tccacctaaa gccataaaa tttagccgga ctgtgctgcc tcttccgaa aagacaaaacc 15240
aatttacttg taattaacc tgattagtgc cgaagcagtt ctcggtgtct gcctaagtgc 15300
agtgatgaat gtttggatc gttatccagt agcatccgaa actgcctcaa gtagggtgat 15360
gaatgtcag gtctctctc cagtggccc tagtcaggtc atctctggcc cgctgggcct 15420
ccaggatcc tcccagacac ttactctgtt tctcttccca ccccttccg tgcaggttcc 15480
gctgcatctg acaccttcc cgtgagaagc tgacctccg gaaggcgtg ctccacatag 15540
cggatgctg ggcgctggcg ctgctcatca tgtgtccctc ggcggtcact ctgacctca 15600
cgcgagagga gcatacttc atgctggatg ctgcaaccg ctctacctt ctctactctg 15660

10

20

30

40

gctgggaggc ctggcccag aagggcatgc gcaaggicta caccgccgtg ctcttcgcgc 15720
 acatctatct ggcccccgtg gcgctcatcg tggtagtgta cgcgcgcata gcgcgcaage 15780
 tggccaggc ccccggtcca gcgcgcgacg cggaggaggc ggtggccgag ggtggccgcg 15840
 cgtcgcgccg cagggcccgc gtggtgcata tgcctgcat ggtggcgcctc ttcttcacct 15900
 tgcctggct gccactctgg gtgctgctgc tgcctatga ctacggggag ctgagcgagc 15960
 tgcagctgca ctgtctgtec gtctacgect tcccgttggc acactggctg gcctttcttc 16020
 acagcagcgc caaccccatt atctacggct acttcaacga gaacttccgc cgcggcttcc 16080
 aggttgctt cccggcacag ctctgctggc tcccctgggc cgcaccacaag caagcctact 16140
 ccgagcggcc tggccgcctc ctgcgcaggc ggttgggtgt ggacgtgcaa cccagcgact 16200
 cagggctgcc atcggagtct ggccccagca gtggggctcc agggcctaac cggctgcca 16260
 tgcgcaatgg gcgtgaggcc caccaggatg gcccgagga agggcctggc tgcaaccaca 16320
 tgcctctac tctcccagcc tggaacattt gagggtgtcc agagagggaa cgtcctgtag 16380
 gccgtggcc ctgacctta actatgatgc ctgggcacaa tagcagtatt agaagagggt 16440
 gccgagatgc ctcttgata aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa cgagacagtg 16500
 aggcattgag acccaggag aggtgacaag gtctaccgt tgggaatcct acttgacca 16560
 gactccagta agtctccca ggaaaatgtg tctactaggtg gttaggaaga ggtgaccact 16620
 tctacacact gagcacctgt gaccgagtc cctgtgctgt gtgtctgaga gagctccct 16680
 tggcccttc ctgggaacaa tccaagctct ccgcttgcca gggccagtgt ttgagttgtt 16740
 ttattccagg aagtgccata cccacttcag catgtcacia ctgagcagct ccaagaagaa 16800
 ccctaggag cccattitaa tggcactggg ttgagcctaa gggagactcc ccccccccc 16860
 cccagagcca agcagagctt ccaacagtac caagagctca tgggtggcag gcaaggggaa 16920
 aaggaagaca gcaatgcaa ctctccctc aggaaatct ttagtgggcc agtgagcatg 16980
 aacc 16984

10

20

30

40

<210> 29

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<400> 29

aggigctcag tgtgtagaag tgg	23	
<210> 30		
<211> 24		
<212> DNA		
<213> Artificial Sequence		
<220>		
<400> 30		10
atcccagcct ggaacatttt gagg	24	
<210> 31		
<211> 23		
<212> DNA		
<213> Artificial Sequence		
<220>		
<400> 31		20
icatagccga atacggtctc cac	23	
<210> 32		
<211> 17833		
<212> DNA		
<213> Mouse		
<220>		
<221> CDS		30
<222> (4706).. (5021)		
<220>		
<221> CDS		
<222> (14106).. (14205)		
<220>		
<221> CDS		
<222> (16325).. (17198)		40
<400> 32		

caagttgccg	ggcttgggag	gtggggaaga	gacaggggag	tggcagtgag	tgaggtggga	60	
gggagtgggt	tttctttatt	taaacgtgca	cttgtgtgtg	tgtgtgtgtg	tgtgtgtgtg	120	
tggtgtgat	gtataigtgt	gtggagacgt	gattaggata	tgagigaaga	tcagagggca	180	
gtctgtgtgt	gggagtgggg	tctctctcc	taccacgtag	gtcccagggg	tcaaactcgg	240	
gtcatcaggc	tggtagaag	gcattctacc	tgctgagcca	tctcgatgac	ctggtttggc	300	
ttggcggaaa	ggctctatgt	agttcagggt	ggcttcaaac	tcagtatgtc	accaagaatg	360	
acctaaacc	tctcatcctt	ctgcctctgg	agttctaggg	gtatgggtgt	acctagccc	420	10
ttggcttgca	tgggtctggg	gttggagcct	gtggctttgt	ggatgttaag	tcaagctcct	480	
atcagctgag	ccccatctct	agctcctgga	ctgtgagtta	aaaaaaaaa	aagtagaaga	540	
ctatttaaaa	aaaaaaaaag	gcaaaactat	tttctcagta	aaaggaatgt	cggtctgacac	600	
tcgcttcaga	gcaactgagg	aggaaagtca	atggatgctg	caggtaggaca	gacttcccgt	660	
gggagtccct	ttaccattc	catttctcat	ggttcattaa	actttatact	tctgcatgtg	720	
ttcgccaaaa	taatctctct	tgtacgtgcc	cggatatata	tatatattat	tctattaag	780	
gtgtttgaat	gctgttggag	ctcttgaag	gcctgtgtgt	gggggagtac	catcatctct	840	20
cagctccctc	tctatcagta	gacccctcat	cccgccacac	ctctctacag	ccccactgg	900	
ctcctgcage	ccctaagcc	gctagtgcag	tagcctgctg	ccccaggtgt	ctgtctccag	960	
ccctccgtg	tgtgactgc	gcctcgctcg	ctcatttggc	tgtcatggtg	ctggggttgg	1020	
agcctgtggc	tttgtggatg	ttaagtcaag	ctcctatcag	ctgagcccca	tctctagctc	1080	
ctggactgtg	agttaaaaa	aaaaaaagta	gaagactatt	taaaaaaaaa	aagatgcaaa	1140	
actattttcc	agtgaaaagg	aatgtcggct	gacactcgct	tcagagcaac	tgaggaggaa	1200	
agtcaatgga	tgtgtcagggt	ggacagactt	cccgtgggag	tcttttttac	cattccattt	1260	30
ctcatgggtc	attaactttt	atactctctg	atgtgttcgc	caaaataatc	tctcttctac	1320	
gtgcccggat	atataatata	attattctat	taaagggtgt	tgaatgctgt	tggagctctt	1380	
gaaaggcctg	tgtgtggggg	agtaccatca	tctctcagct	cttctcttat	cagtagacce	1440	
ctcatcccgc	cacacctcc	tacagcccc	actggctcct	gcagccctta	tgccgctagt	1500	
gcagtagcct	gctgccccag	gtgtctgtct	ccagccctcc	tgtgtgtgca	ctgcgcctcg	1560	
ctcgtcata	gccagtggct	gagcgtggg	ctccacagaa	agactcccca	gggccacttc	1620	
atcctccaga	atgggcccc	tccagcccc	gaggaagac	atgaggggaa	cttttaagac	1680	40
aacaccaatga	ctcaccaccg	ctaatgactt	cccagaagag	ttatgattgg	acactggact	1740	

gctccctccg	aaagaagact	agggaaacac	acactcagcc	tgctgcta	gagaaacatg	1800	
iggacagggc	acttcccata	gatactgcag	gggcaggtaa	accagattg	gtattcctgc	1860	
cagcaggggg	tgcaaagaga	aagaataggt	tgctatgggt	gcttgggagt	tctagaagca	1920	
iggcctagag	tgtcttgctt	tgTTTTtctt	tcttttctt	ttcttttctt	ttcttttctt	1980	
ctttctctt	ttctgtctt	aaaacttatt	tatttaatgt	atgtgagtac	actgtagctg	2040	
taccttcat	gtggttggtg	ggaattgaat	tttaggacct	ctgctcactc	cagtcagccc	2100	
tgctcgtca	ggaccaaa	tttatttatt	attatacata	agtacactgt	agctgacttc	2160	10
agacacacca	ggagagggcg	tcagatctca	ttatgggtgg	ttgtgagcca	ccatgtgggt	2220	
gctgggactt	gaactcagga	cctctgggag	agcagtcagt	gctcttacc	gctgagccat	2280	
ctcggcagcc	cttgcctca	ttttctatt	gctataacaa	atatccaaga	ttgagtagtt	2340	
tataagaagt	ccaaaagcat	ggccctctg	ttcagggcct	gtttcctgca	ttctaacatg	2400	
gtgagggcat	cggtggcca	actagaacaa	gcacgtggcc	tggcagagag	gcctcggcca	2460	
tcgagtgac	ttgctcttg	tggatgagga	agtggttcca	ttaggaggca	tggccttggt	2520	
ggaggaagtg	tgctactgtg	taggagggtc	ttgagggttc	ctagtgctca	agtgtctacce	2580	20
agtcagAAC	actcagtcac	tcttggttgt	cctatgatca	agatctagaa	ctctcagctt	2640	
ctctgcagc	actgtgtctg	tctgcatgct	gccaggttc	ttgctatgat	gataatggac	2700	
igaacctctg	aaactgtaag	ccagcccaa	ttaaatgttt	gcctttgitta	gagttagcctt	2760	
ggcatgggtg	ctgttcaca	gcaatagaaa	cttaactaa	gacacagttc	ttgaagagga	2820	
iggagtccct	agcaccatg	gccagcaact	caccataact	cttgttccag	ggaatctggt	2880	
gccctcttct	ggcctttaag	tgtatacaca	cacaccacac	acacacacac	accacacaca	2940	
cacacacaca	cacacacaca	tacacaccac	acacacacac	acacaccaca	gagagagaga	3000	30
agcacaatag	ctcaggattc	ttcttatgta	atcaccaatg	atgtcacagg	agctccacca	3060	
igtaacttcc	tataaatcta	actctcttcg	attttaataa	tttactatat	gtgggtgtgt	3120	
gtcagatctt	ggattacaga	cagtcatgac	ctgccaatgtg	gatgctggga	attgaaccgg	3180	
gattgctgag	ccatctctcc	tgtccctaa	ctcactctca	gaagccgcag	ttccaatac	3240	
ctttgacaca	tgtttgagg	gaattaaagt	gtctagacat	gagggtacat	tgaaggcaca	3300	
ataaggactc	actctacagg	acaagagctg	tgtctgctaa	cagtactggt	cccaggcagg	3360	
aaggagcca	ggaagcaaaa	actgactcct	ctcttgcttc	ccacctcatt	tagggcttcc	3420	40
catgactga	gtctaaccag	aagctggcag	gatgggttcc	tttagaagtt	agactcttgg	3480	

gcccgaggac	atagctcagt	tggtatagta	cttgccaaac	atgcacaaaag	ctccagggtc	3540	
tatcacatac	agtgtaacagg	ttgacacact	tcatecagc	actcagggtg	tagaggcagg	3600	
agggtaagag	ttcaggcca	tccttagcta	aagtggtag	ttcaaggcca	gcctgataig	3660	
gaagaccttg	tcaccaaga	agtctctga	gacccaaaag	atgacatgaa	gcacagggag	3720	
aagggtgga	iggagactag	ccaatgtgat	tgaggatga	gggccagca	cattgggtgt	3780	
gaggtttggg	caaacataa	agtccttgat	cagaggacgg	aggggtggtta	aatgggtcaag	3840	
aatgcttgtt	ctccagagg	acctgatct	ggctcctagc	acctcattg	tgaccacaa	3900	10
aacatccata	actctagttc	tagggcactc	agcacacaca	ccatgcacat	acacgtgtgc	3960	
aggcaaaaca	ttcaaaaatc	taaaaattaa	aaaataaaat	aaaataaaat	tcttgacagt	4020	
gtgccagtt	gtccttgaga	cagtggacag	taataagtgg	gcttagggta	tatgtgatgg	4080	
ttgtataig	cttgctcaga	gagtagcact	attaggaggt	gtggcttgt	gggagttagt	4140	
gtgtcacigt	gggtgtgagc	ttaagagcct	catectagct	ccctggaagc	cagtctctc	4200	
ctagcagctt	tcagatgaag	atgcagaact	ctcagctcct	ctacaccat	gtctgacctg	4260	
atgtgtctat	gtccccacct	tgatgataat	ggattgaacc	tctgaacctg	tcagccagac	4320	20
ccaattaaat	gtgtccttg	ataagatttg	ccttggctcat	ggtatctgtt	cacagtggta	4380	
aaacctaac	taagacagta	tgacacatga	gacacaaaaa	aactggaacc	ctttctttct	4440	
ttctttgca	agcgtcaatt	ggctgaagtt	ggcctaaaac	tctctaaagta	gatgagtgtc	4500	
cttgactcca	cttctgaaag	tgcttgggct	aaaggcatgt	accatgatac	tgctttatgt	4560	
ggtactgggg	tatcaacca	tagccttact	catgtaggc	aagcactctg	agctgcatcc	4620	
ccatccaagg	gttggctttt	tagtggtaga	aagcccgtta	actctctctc	gctttggctc	4680	
tgactcttgt	gtcccccca	ctccagcga	acctcccag	ctccccaacg	gcagctggcc	4740	30
cccagctctg	cgagagagtg	atgctgaaac	cgccccgggtg	gccagcctca	cttctctctc	4800	
ctactaccag	cactctctc	cgggtggccgc	catgttcate	gccgcctacg	cgctcatctt	4860	
cctctctctg	atgggtggca	acacctgggt	ctgcttcate	gtgcttaaga	accggccat	4920	
gcgcaactgc	accaacatgt	tcatectcaa	cctggccgtc	agcgacctgc	tggtgggcat	4980	
cttctgcatg	cccacaacc	tcgtggacaa	ccttataacc	ggtgagtatg	accaaggggc	5040	
agcaggaagg	ccctcttca	cttctgctc	gcttccactt	tccagctaaa	gactgacgcg	5100	
gaagccggga	agacagagat	cactgagcct	cacagacaag	gggccctgtg	tctcaaacctc	5160	40
tgacagagag	gtgaataaga	ataaccaacc	taatgggcta	atcagtgcc	ggcatgatgt	5220	

atgatttgta	agttatctta	attaatccct	agaataagcc	aaccaagcat	gctttgttat	5280	
ttagcctcat	ttacggatg	aggaatcaag	ctcagagcag	ttaaggggct	gatctgtaat	5340	
tatttaccti	gtcagigtca	gggccagtgt	gctcataccc	ctgtgtctat	tcatactccc	5400	
tttggccaca	cccttggaga	gagttcccat	ggacagaatt	agacagggga	ggagtaggag	5460	
gtgggcaact	ttcttctgca	cgaagacctg	gaaatccact	ctgccaatcc	atcctcccat	5520	
agaagatgct	cttgtcctgc	aggtcttgag	ctcccatlgg	ctggaagact	caggagtagg	5580	
gactggctga	ccgatgagct	gggactgggt	aagaggcttt	taaatggaag	tagaccatca	5640	10
ccctgcaaagt	cccacagtig	tcagaatgtc	acacactcat	ctctgatgat	aaacctgtct	5700	
igtcttaaca	tcagagtttg	gagactcaag	ctgtggagac	ccctcaggtc	taagggggaa	5760	
gateccccig	ctacttgggg	ttactcagct	gttcttaggg	agtccttctt	ggctctgcct	5820	
ccctctttat	agtggctctg	atgacgcagg	cccagggagg	ggaagccctga	gggtgtgcag	5880	
gttctctggat	cttaaagggg	aatgatggag	agtcctctgg	ctgtatgccc	ggtggagact	5940	
tgctctctig	ttgagttctg	atccccgcag	agatgccaaa	cacaaaccgt	acaaccttct	6000	
tccagcacc	gcagacagtc	tagatctaga	tctggcctac	aagctctcaa	agggtattta	6060	20
cagtataatc	attatgtga	cattitcaa	ggccaaatcg	tattttctgt	ccccagat	6120	
agcaaatlga	cagattcaag	agatggaggg	tgggtccggt	aatgaaggac	cgagtggaag	6180	
cttccctggag	tgatgcaata	ttctgtatc	ttgatggacg	ctgcctggct	gcatgtgtgc	6240	
cttaaaccctg	tgcacctgta	tgccaaaaac	agtggggctc	attgtttgtc	gaaaatagtt	6300	
ccagigtgaa	acatgccc	atgttagtcc	atttccatgg	ttggatatac	atgatgggtg	6360	
tcaagatggc	tgagcaggtg	agtgactgg	tggtecccaa	gtctctttcc	ccgagcccca	6420	
taaagtagaa	ggagaaggcc	tactctgca	agttgtctc	tgacctctgt	gcatgtatgc	6480	30
atgtgcacac	gagtgcactc	acacacacac	acacacacac	aaatacacat	gtgtatgtgt	6540	
gcatgcacac	acatcaaatg	tgattttttt	tttaaaaaaa	gagaagggct	agagagatgg	6600	
ctcaggggtt	aaagagatgg	cccagtgggt	agagagatgg	cccagtgggt	agagagatgg	6660	
ctcagtgggt	agagagatgg	cccagtgggt	agagagatgg	cccagtgggt	agagagatgg	6720	
cccagtgggt	agagagacag	cccagtgggt	agagagatgg	ccaagtgggt	acgagtgtgt	6780	
acggctcact	agacgcactc	tcagctcca	cgctgggttag	cttacagatg	actagctcca	6840	
gttcaggaga	tccaacacct	cttccactgt	cacctgtgtt	catgtgcaca	cacctaaaca	6900	40
cagagatgca	gatttacaca	tatagaata	cactaaaaat	aaggtaatc	tttttttaa	6960	

aagtcattg	gccctcctaga	agaacaactc	tgtggcigtg	agggagcttt	tgttggtagg	7020	
tactttttaa	atgggagtgt	ttgcctattc	tagtatgcat	gtatgtatgt	gtgtatataf	7080	
ttattgtgta	tgtatttgtg	tgtatattta	tttatttggg	ttttigagac	aggtttctct	7140	
gtatagacct	caagctagct	ctgcagcttt	gaactcagag	atctggctgc	ctctgcectc	7200	
tgagtgctgg	gattaaaggc	gtggaccacc	actgctctgc	tatttttaa	actttttatc	7260	
ttattttatg	tgcattggaca	ttttgcttaa	tgtatacatg	tgcaccccat	gcgtctctgg	7320	
tgccigcaga	gacttgaggg	gggcatcaga	tccctcaaa	ctggagtgtg	agatggttct	7380	10
gagtcactga	tgctaggaac	caaacacagg	tectctgcaa	gatcaacaag	agctcttggc	7440	
cacggagcca	tctccccagc	cccttgaaac	aatgttagac	ttaaagtaaa	atagcgaagc	7500	
tagcatagaa	tecttggcat	atgctttgct	ctcttcccc	aacaatcata	atagagtaaa	7560	
tacciggaga	aagcttcccg	tgtgttgata	actcatcagg	gttgggtggt	cttttggttt	7620	
ttggttttgt	ttgttttggg	ctatttttaa	tttactaggt	gtccccataa	tgtcattttc	7680	
taggagttag	aaccataatt	ccaagaaaca	caactgaaat	gctcaaatct	tgaatggtag	7740	
agccagggtg	gataacttga	atgaactcaa	gaggccagcc	tgggggttat	gcagtgaaac	7800	20
tgaactcaa	acagaaaaca	agcatcaatc	acaaggctat	gacaataaca	gcaatggaac	7860	
aggccacttc	agaggctgct	ttaactataa	agtaggcgac	aatagcttgt	attgctgcaa	7920	
gcataaacac	tcaggctact	aatgataatg	tgtgtgagac	gatcacaggt	ctgaacggtg	7980	
cattactgtt	cataatgggt	ctaaagttaa	ggttgggaat	tgtatgcatt	ccactttaga	8040	
actigggatt	ctggatttgc	catggatgtc	tgggtcattg	ttttcatgct	ctgaagaggg	8100	
actgtgacta	aggccactct	tatgaaagaa	agtatgtaat	tgggctttgc	ttacagtttc	8160	
agaggttagt	ccattgtcat	ggtgaccgaa	ggcagggcag	cacagaagtc	agtaagatct	8220	30
gcatcctgac	ataggcagag	agaggagaat	tgggctgtc	ataggctttt	taaaacctca	8280	
gagcccactc	cagtactca	cttctccaa	caaagccatg	cttcttaate	cttctaatcc	8340	
tttcaaaggg	tcccatgctc	aggtgactaa	gcattccaat	agatgagctt	ctggggccat	8400	
tccttttctt	gggggagggg	ggttttgaga	caggtttct	ctgtgtagcc	ctggttgtca	8460	
ctcttttttt	tttaaattaa	tttatttatt	tcatgtatgt	gagtacattg	ttgctgtctt	8520	
cagacacatt	agaagaggtt	attgaatccc	cattacagat	ggttgtgagc	caccatgtgg	8580	
ttgcagggaa	ttgaactcag	gacctcaaga	agaacagtca	gtgctcttaa	tcgctgagcc	8640	40
atctctccag	tccctggaac	tcactttgta	gaccaagctg	acctcaact	cagaaatccg	8700	

ccigcttcig	cccccagt	gctgggatta	aaggcgtgct	ccaccactgc	ccagctctgg	8760	
gggggtcgtt	ctattcaaa	ccaccacact	ggcagaaaac	tcaaactctg	igggggctag	8820	
ggigactgic	agatattacc	ctgtggttca	agcaagctcg	gaattggcta	tgcaaccagg	8880	
ctagccctggc	atgtgtgatt	ctctctgcaa	ctctgtcttc	tgagccctgt	ggtgccagct	8940	
gigtcttagc	tcactgatt	citaagacgt	tgggtgggct	ccacaaaac	ctttgatagg	9000	
tcacttctat	atagagttat	agacagtggc	cctgggggaa	gattttgaga	aatTTTgttt	9060	
cccgtaaaig	cagacatcaa	aaagatatca	ctaaatttta	tttatttatt	tatttattta	9120	10
tttatttatt	tatttattta	tttattttac	agacacagat	aaagtcagtg	iggcaacagt	9180	
gcacacactc	tiggagccag	atttcaaaa	gaagatacat	aatcagaac	tctctgaaag	9240	
tccgtgtata	gtttatattg	ccagtattca	aatgggtggt	gaaaagtcaa	atatccagca	9300	
ttaagaaaat	ctactttgg	gggtggggca	agaaaaaaaa	aagaggaagg	aatTgggct	9360	
ggctaggctc	ggagagatgg	agatggctca	gcagctaaga	attaagattc	ccttgccagag	9420	
gagccaigti	caatccccac	atggcgatgt	gttcaattgc	acctatggat	cacaacctgt	9480	
taacggtttc	tagctccttc	tctgtccac	tgcaggtact	acatgcacat	ggtacacata	9540	20
caigcaggca	aaacactcat	aactaaatat	agatttttta	aaaagagggt	gataatgtaa	9600	
aaatagttag	aaggttttaa	aacttaaaaa	aaagcaaaaa	gttttaacat	atgaaaatat	9660	
gaaaaagigg	tacttcaggg	ttatattgta	agcagccaca	cagaggctcat	gcctaagggc	9720	
iggcaagccc	cgccatcctc	aaccatctgc	tgactgtctt	ggagtgccagt	aaacagttag	9780	
aggcagatct	tctctgattt	tccagcagcc	actccatttt	tgtttctctt	atTTTTaatg	9840	
tttaacgggt	tatttatttg	tatttacaag	cgctgtatct	gcatgtacac	ctgcatgcca	9900	
gaagagggca	tcagatccca	ttacagatgg	tigtgggtgc	tgggaattcc	agtacctctg	9960	30
ggtgagttag	cagtgtctct	aaccactgag	ccacctctct	agctccccct	atTTTcaggt	10020	
tttaaaaiga	catTTTatc	tigtctctct	ctctctctct	ctctctctct	ctctctctct	10080	
ctctctcttt	ctctctctct	ctctctctct	tctctctgtg	tctgtatgtg	tgtgtatctg	10140	
ttactttgtg	gggcatagga	atgcatgtag	cttaacatac	atgtagaagt	cagaggacag	10200	
cttatggcgc	tatgcagtat	agattctctt	ctgctatgtg	ggctctggat	tgagcttagg	10260	
ctgtgacaa	gagctgacct	tgaccgcttt	gggtgtagct	agagtgaact	tgaactctct	10320	
cacctctgga	ttatggtaat	tacaggccca	tgcctacgc	ttactctca	cgcatgttct	10380	40
gigtgatagg	tcttctctgc	cttaccact	caggctcaca	gtctctctctg	aagatatctt	10440	

tactgtcaca accaaaacaa tgcctttcca ggttcccagg tgctctgctt tccctgacgtg 10500
 gatacaggte tectgggaca gcctggggca cactgatact ccttccctgg agccttccat 10560
 ggaattigaa gctttcggct ttggttttta gggttttgat atttaggagt ttggtacttg 10620
 cgaaacgttg ctttggggag cttagactca atctttctgg tgttctggat tctgactaga 10680
 accactigtc tcaccaatg tcagacctag ggtatctagc tgattttaat tatttccctc 10740
 cttctttctg gaccccagtg ctagggatta gaattaggct tcaaccatac tttatcatta 10800
 aactacattc tcagccatat gtatgtgtgt atacacacac acacacacat atatTTTTTT 10860
 ttttgaggct ggcgagatag ctcaagtgtt aagagcatgt gctgctcttg cagaggacce 10920
 atgtttgggt cctagatccc acacgatggc ccacactatc agtgaactca gttgcagagg 10980
 ttctcaagtc ctctccagcg ccgagggctc caggcatgca tagagtgcac acatgcagge 11040
 aaacactcat acacataaaa taaaataaa aaaaccitat taacttactc atgtgtgtgt 11100
 gtgtgtgtgt gtgtgtgcgc gcgtgcgcac gcgtatgcgt ggtgtatttg agtgtttata 11160
 igttcacat acatgigttag gtgcctgtga aggtcagaat caaatccat agtccctggac 11220
 ttattacagg tggttgtgag ctgctgttgt ggatgctgag agttgaatcc cactcctctg 11280
 caggagcaac aagtgctctt aacctgag ccctctctcc aacctctgg tctctttttg 11340
 atTTTTTTT tctttgattt tttagacag ggtctctctg tgtagcctgg ctgtcctgga 11400
 actcacttig tagaccaggc tggcctcaaa ctcaggaat ccacctgctt ctgcctccca 11460
 ggtgctggga ttaaaggcgt gcaccacat gcccggctct ctttttgatt ttattttgtg 11520
 igtggatgct tatgcagca cacattcatg catgcatgta tacatttttt tcatgtatgt 11580
 gtgagtgtat gcataggtgc ggaggcctga ggttgacatc tcttgcctta gccctgagt 11640
 agctgggatg acaagctgt gcttcccagg ccagctcacc gaagtgtttc cttagctctc 11700
 tccaatcagc cctaggtgcc aggtcatgac atcacatgtt tagaagctgc tcttccatta 11760
 ttgcaatat gagcattttt gttgttttct ctgatgccag gacctgactt ttggccctgg 11820
 gatccttgac taaggatgcc tegtatttag ggcactgtga aagcaacctc tcccccttt 11880
 ctttaaagga cagatgttcg tacagtaaag ctgggatcag gtigggttct ctagcactac 11940
 ggatgcagag cagaacctca gggagatgct cttttgatcc agcactggag ggtgtgtgtg 12000
 gaactigtct cagacggagg cctctacggg tgagcagtct caggctgtaa acatcctaaa 12060
 catccaggaa ggagtgtcta gtcttttcat acattggtea gtccatcata aacactctgg 12120
 aaccaagcct agtggcactc acgttaaate ctagcacttg ggaggcagag gcaagcagat 12180

10

20

30

40

ctctaagcti gaggccagcc tggctccag agtgagtcc aggatagcca gggctacaca 12240
 gagaaaccti gtctcaaaaa aaaaaaaaaac acaacaagaa aaaaaagggg gggatcatat 12300
 tctgattcgt gaggaatgtg ctggcattcc tcttgagcct ggccaatatg acatggcttt 12360
 gccaatgtcc ttaggttcca agctttggag cctgcacatg gctatgceca ttaggcaat 12420
 attcatttac tcagaacttc actccctccc gtgcgtcttc tgcctccctac accttgatta 12480
 gattcagttg agccattgag ggacgtcttc tgcctccctac accttgatta gattcagttg 12540
 agccattgag ggagagcagc atggatccgt gggcaaggca cagatgagag ccgagccttt 12600
 tgcctcattg cttaggtaac tgcctctctt aggcctgtaa gccagcactt ccccccttct 12660
 aattatgaag tacctacgg ggtgatcttc tgagaccatg caaatgtcat ggctcgttat 12720
 atttttgtac cgacttcata gtgttgccac ccacaacact gcttctcctc ctgttccctc 12780
 ttaatgacat tcacatcttc tgtatttact aattggctct ctgcttctg gcgtttaate 12840
 caacatgatt gtttattttg ttgcttaaac tgccttaggt ctggcaattg caattggaag 12900
 ctacacagcc ctggcttctg tgccttccc atatacagcc atcattgttg gactatttcc 12960
 ttcttcttc attccacaga atgttctaga tcctctcaca attttcttac accagccctg 13020
 gaattaacta gtctttttaa aagccttgtt tctttgatt ggcttgcact atttagttct 13080
 attttatgct catgcgaatt ctactcgcct gcctgggtgcc cacagaggtc agaagagggc 13140
 atcagagctc ctggagctag agagttatgg atgttgaag ccaccatag gatgctgggg 13200
 actgaaccag agtctctgc aagagcaacc agttgtctta gctgctgagc catctccaca 13260
 ggccaaggag tagagtattt acaagcaaag gtctgacttc ctgaggggtc ttatcaggtt 13320
 tagagtggct tgattctaga ctctgaaggg acagagctgg gacatgcatg caaattgcca 13380
 tagattctt tgacacatgt cttttgttgt tgttgttag acagggcttc acatgtagcc 13440
 ttggtttccc tggaaactac tatgtaacc aggcctgacct gaaactcaac agagatctgt 13500
 ctctctctgt ttcccaaatg ctgagattaa agacatgtat caccacacc agctccgtct 13560
 tgcctctgt gtctggccat gtgcctgtat ttcagaaact gtgctccata ctaatacttc 13620
 agattccaat ccagctcag aaaatgtatt ttagctctc cttttttgt agcttcttc 13680
 tcagtgagaa caaaaatctt tgtttateca cagcctgttt atttatctgt ttggctcact 13740
 tcagtataca ggtgtgataa taatatatac gctgtggata tgtgataatg atgattgggt 13800
 aataacagag ctacttcgag gaaggaacgg cctccctctt gggctggata ataggctcca 13860
 gacatcaggc agggctagat gacctgaagg tcattgacac aatcagctgt caactaaagg 13920

10

20

30

40

ccatcttctt aaaagtagtg ttcacacgct ggttggctcc tcggtcacag tcacagagac 13980
 ctcaacaagcc ctcaacagcac gaggatcaat gacgggtgtt tccaggagac attggttata 14040
 tggcaggigc taigcatttt gttgattagg catctctcac cctgtggggg cctctgtcgt 14100
 tacaggttgg ccttttgaca atgccacatg caagatgagc ggcttgggtac agggcatgtc 14160
 cgtgtctgcg tcggttttca cactgggtggc cattgccgtg gagaggtagg aaccttcctt 14220
 gggtaattct gggactggca cgctgggact agctagatgg ttgtagggag agatcggttg 14280
 agaataccac cccatccctt tctggggaggc agaggccact cctgacaaga tctcatagca 14340 10
 atttctgggg tctgtcaag gcagtctgca tcttgggtac caggagtecc acctctcctt 14400
 gtttgagcc cgggaagcca gagctagagg agccgtctg cagatgggct tggcatagct 14460
 gggaaaggacc gacctttttt gtttctatat tctatctact tgcctgggtgc tggaaagccct 14520
 ggccttactc cgtctgatg tctgtcgtt ctggctatcc agcccttggc tccagcagag 14580
 gctagagtaa gaatcactct ggatgacaaa tggttctgta cgtgtggcca aggtgagctt 14640
 aagctttctt tcccagaaca cacagatgtg acccaccctc tgctctctat taagtagctc 14700
 agtatggcaa ggaatggctca gtggtaaga gcacaggctg ttcttccaga ggtcctgagt 14760 20
 tcaattcca gcaaccacat ggtggctcac agccatctt agtgagaagc tggtgccctc 14820
 ttctggctt cagtcgtaca tgcaggagac tgttgtttag ctatgagaca cagagagaga 14880
 gagagagaga gagagagaga gagagagaga gagagagaga gagagagaga acagggcaca 14940
 gtgtgtgac tgtggatct ctgaccagag agtagaaatg cttgtgggtt acaaaccag 15000
 aacagtgac gtggcaaaa gttctgac gtattgtaa tgccggggc ttggctgacc 15060
 tcagttttag ccggaaggca gctggatct agcaaatagt tcttctccaa tcattggggc 15120
 gggggggggg ggggagcggg ggggggggct gtcaataggc tccaccactg atccactccc 15180 30
 cagtcccagc tctgaggtt ttcagggagt ctataaacag ctaaaagta cacctgttac 15240
 atttggatg cgttggtaa gtggctcagt ggatcaaggt atggcacca agcctcttga 15300
 cctgaattcc attgctagga ccacatggta gaaagagatt gctgactgct gcagttgtct 15360
 ttgtgtgga gagggagaaa aggctaagt aaggagagg gagaacgaag cactaatacg 15420
 tgttttttaa aaaaagcgtt tgtatattg cctagtcggg ctctctaagc acagagtgtt 15480
 taccacagac tggcgtgta tgcccgctac tgaataaaag aaaaaggaat aaaggaaagc 15540
 ccatgactgc tccctggata tgggtggagga gaaagcttat tatagatatg tgggtgagaa 15600 40
 cggccagagg caggacatc tccagagagt ccagatggt cctgatcctg aacctcgtgg 15660

ggagaggggg agggggaggg agagcgggaa accaaaggtc agcagccatg aggccaaagg 15720
 igcaaaaagga agtgggaggt agcccaaat gtctaggcta tatagggagg agcctctgtg 15780
 ggaagggcag cccagigtct gggctggaga gtccagggta gagggtgggg taggtcagct 15840
 ataccagta acaggtagca accgaggat gctgggagaa cctaaaggcc aggtccgctt 15900
 tgataiggtg aataggaacc tcagtggcca gtccitgggtt gaacccttag tactgccagc 15960
 taatctgttt taaaataaag atctaagcct ctggagagag gtigtctctt cctcatctat 16020
 tccactaat ccacctaaag ccataacaat ttagccggac tigtctgctt ccttcgcaa 16080
 agacaaacca atttacttgt aaattaacct gattagtgcc gaagcagttc tcgggtgctg 16140
 cctaagtgca gtgatgaatg tttggtatcg tattccagta gcatccgaaa ctgctcaag 16200
 taggtgatg aatgtcacgt gtctcttcc agtggccctt agtcaggtca tctctggccc 16260
 gctgggcctc caggatcct cccagacact tactctgttt ctcttcccac ccttcgctt 16320
 gcaggttccg ctgcatcgtg cacccttcc gtgagaagct gaccctccgg aaggcgtgc 16380
 icaccatagc ggtgatctgg gcgctggcgc tgcctcatat gtgtccctcg gcggtcactc 16440
 tgaccgtcac gcgagaggag cactactca tgcctggatgc tcgcaaccgc tctaccctc 16500
 tctactcgtg ctgggagggc tggcccgaga agggcatgcg caaggcttac accgccgtgc 16560
 tcttcgcgca catctatctg gcgccgtgg cgtctatcgt ggtgatgtac gcgctcatcg 16620
 cgcgcaagct gtgccaggcc cccggtccag cgcgcgacgc ggaggaggcg gtggccgagg 16680
 gtggccgccc gtccgcccgc agggcccgcg tggctcatat gctgggtcatg gtggcgtctt 16740
 tcttaccctt gtccitggctg ccactctggg tgcctgtctt gctcatcgac tacggggagc 16800
 tgagcgagct gcagctgcac ttgctgtccg tctaccctt cccgttggca cactggctgg 16860
 ccttctcca cagcagcgc aacccattg tctaccgcta ctcaacgag aacttccgcc 16920
 gcggcttcca ggctgcctc cgggcacagc tctgttggct tccctgggccc gccacaagc 16980
 aagcctactc cgagcggcct ggccgctcc tgcgcaggcg ggtgggtggg gacgtgcaac 17040
 ccagcgactc agggctgcca tcggagtctg gcccagcag tgggttccca gggcctaacc 17100
 ggtgcccatt gcgcaatggg cgtgtggccc accaggatgg cccgagggaa gggcctggct 17160
 gcaaccacat gcccctact atcccagcct ggaacattg aggtgggtcca gagagggaac 17220
 gtccigttagg cctgtggccc tgacccttaa ctatgatgcc tgggcacaa agcagtatta 17280
 gaagaggggtg ccgagatgcc tcttgataa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaaac 17340
 gagacagiga ggcatigaga cccagggaga ggtgacaagg tctaccgtt gggaatccta 17400

10

20

30

40

```

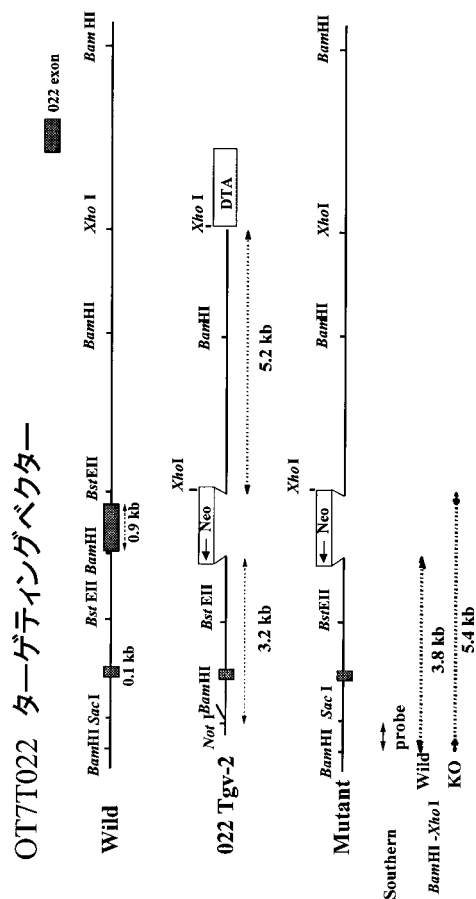
ctgacccag actccagtaa gtctcccag gaaaatgtgt cactaggtgg ttaggaagag 17460
gtgaccactt ctacacactg agcacctgtg accgagtecc ctgtgctgtg ttgctgagag 17520
agctccctt ggcccttcc tgggaaacat ccaagctctc cgcttgccag ggccagtgtt 17580
tgagtgttt tattccagga agtgccatac ccacttcage atgtcacaac tgagcagctc 17640
caagaagaac cctagggagc ccattitaaat ggcactgggt tgagcctaag ggagactccc 17700
ccccccccc ccagagccaa gcagagcttc caacagtacc aagagctcat ggggtggcagg 17760
caaggggaaa aggaagacag caatgccaac tctcccctca ggaataatct tagtgggcca 17820
gtgagcatga acc                                     17833

```

【 図面の簡単な説明 】

【 図 1 】 OT7T022 ターゲティングベクターの概略図を示す。

【 図 1 】



フロントページの続き

(51) Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 K 48/00	A 6 1 K 45/00	4 C 0 8 5
A 6 1 P 5/00	A 6 1 K 48/00	4 C 0 8 6
A 6 1 P 5/38	A 6 1 P 5/00	
A 6 1 P 7/00	A 6 1 P 5/38	
A 6 1 P 21/00	A 6 1 P 7/00	
A 6 1 P 25/00	A 6 1 P 21/00	
A 6 1 P 25/14	A 6 1 P 25/00	1 0 1
A 6 1 P 25/20	A 6 1 P 25/14	
C 1 2 N 5/10	A 6 1 P 25/20	
C 1 2 N 15/09	C 1 2 Q 1/02	
C 1 2 Q 1/02	G 0 1 N 33/15	Z
G 0 1 N 33/15	G 0 1 N 33/50	Z
G 0 1 N 33/50	G 0 1 N 33/53	D
G 0 1 N 33/53	C 1 2 N 15/00	A
	C 1 2 N 5/00	B

(72)発明者 松岡 邦夫

大阪府吹田市原町1 - 1 8 - 6

Fターム(参考) 2G045 AA29 AA34 AA35 BB20 BB46 CB01 DA13 DA36 FB02 FB03
 4B024 AA01 AA11 BA43 BA80 CA04 CA09 DA02 EA04 GA11 HA14
 HA15
 4B063 QA18 QQ08 QQ13 QQ20 QQ42 QQ52 QR55 QR62 QR77 QR80
 QS24 QS25 QS28 QS34
 4B065 AA90X AA91Y AA93Y AB01 AC14 BA02 CA24 CA46
 4C084 AA02 AA13 AA17 BA01 BA08 BA22 BA23 CA62 DC50 NA14
 ZA032 ZA052 ZA512 ZA942 ZC082
 4C085 AA13 AA14 BB11
 4C086 AA01 AA02 EA16 MA01 MA04 NA14 ZA03 ZA05 ZA51 ZA94
 ZC08

专利名称(译)	rfrp和ot7t022的新用途		
公开(公告)号	JP2004131471A	公开(公告)日	2004-04-30
申请号	JP2003206386	申请日	2003-08-07
申请(专利权)人(译)	武田化学工业有限公司		
[标]发明人	春日久男 日沼州司 宫下英昭 松岡邦夫		
发明人	春日 久男 日沼 州司 宫下 英昭 松岡 邦夫		
IPC分类号	A01K67/027 A61K31/7088 A61K38/00 A61K39/395 A61K45/00 A61K48/00 A61P5/00 A61P5/38 A61P7/00 A61P21/00 A61P25/00 A61P25/14 A61P25/20 C12N5/10 C12N15/09 C12Q1/02 G01N33/15 G01N33/50 G01N33/53		
FI分类号	A61K37/02.ZNA A01K67/027 A61K31/7088 A61K39/395.D A61K39/395.N A61K45/00 A61K48/00 A61P5/00 A61P5/38 A61P7/00 A61P21/00 A61P25/00.101 A61P25/14 A61P25/20 C12Q1/02 G01N33/15.Z G01N33/50.Z G01N33/53.D C12N15/00.A C12N5/00.B A61K38/00 A61K38/16 C12N5/00.102 C12N5/00.202.C C12N5/0735 C12N5/10		
F-TERM分类号	2G045/AA29 2G045/AA34 2G045/AA35 2G045/BB20 2G045/BB46 2G045/CB01 2G045/DA13 2G045/DA36 2G045/FB02 2G045/FB03 4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/BA43 4B024/BA80 4B024/CA04 4B024/CA09 4B024/DA02 4B024/EA04 4B024/GA11 4B024/HA14 4B024/HA15 4B063/QA18 4B063/QQ08 4B063/QQ13 4B063/QQ20 4B063/QQ42 4B063/QQ52 4B063/QR55 4B063/QR62 4B063/QR77 4B063/QR80 4B063/QS24 4B063/QS25 4B063/QS28 4B063/QS34 4B065/AA90X 4B065/AA91Y 4B065/AA93Y 4B065/AB01 4B065/AC14 4B065/BA02 4B065/CA24 4B065/CA46 4C084/AA02 4C084/AA13 4C084/AA17 4C084/BA01 4C084/BA08 4C084/BA22 4C084/BA23 4C084/CA62 4C084/DC50 4C084/NA14 4C084/ZA032 4C084/ZA052 4C084/ZA512 4C084/ZA942 4C084/ZC082 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/BB11 4C086/AA01 4C086/AA02 4C086/EA16 4C086/MA01 4C086/MA04 4C086/NA14 4C086/ZA03 4C086/ZA05 4C086/ZA51 4C086/ZA94 4C086/ZC08		
代理人(译)	高桥修一 呦关口		
优先权	2002232684 2002-08-09 JP		
外部链接	Espacenet		

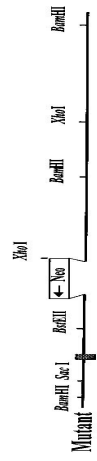
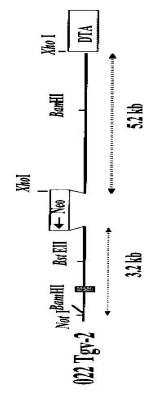
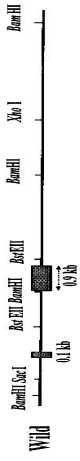
摘要(译)

要解决的问题：提供RFRP和OT7T022的新用途。 解决方案：RFRP和OT7T022或编码它们的DNA和OT7T022激动剂是肌肉疾病，肾上腺功能障碍，惊厥，攻击性行为，步态异常，体温升高，白细胞计数降低，血小板计数降低，自发运动增加或它可用作预防，治疗和改善肌肉无力的药物。此外，缺乏O7T022基因表达的非人类动物可用于筛选上述疾病的预防/治疗/改善药物。 [选择图] 无

0771022 ターゲティングベクター

1

022 con



Southern
 ↔
 probe

Wild
 BamHI XhoI
 3.8 kb

KO
 5.4 kb