

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公表特許公報 (A) (11)特許出願公表番号

特表2002 - 541800

(P2002 - 541800A)

(43)公表日 平成14年12月10日(2002.12.10)

(51) Int. Cl ⁷	識別記号	F I	テ-マ-コ-ド* (参考)
C 1 2 N 15/09	ZNA	A 0 1 K 67/027	2 G 0 4 5
A 0 1 K 67/027		A 6 1 K 31/7088	4 B 0 2 4
A 6 1 K 31/7088		39/00	H 4 B 0 6 3
39/00		39/395	E 4 B 0 6 4
39/395			T 4 B 0 6 5

審査請求 未請求 予備審査請求 (全156数) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2000 - 611669(P2000 - 611669)

(86)(22)出願日 平成12年4月12日(2000.4.12)

(85)翻訳文提出日 平成13年10月11日(2001.10.11)

(86)国際出願番号 PCT/US00/10039

(87)国際公開番号 W000/61746

(87)国際公開日 平成12年10月19日(2000.10.19)

(31)優先権主張番号 60/128,858

(32)優先日 平成11年4月12日(1999.4.12)

(33)優先権主張国 米国(US)

(71)出願人 アジェンシス , インコーポレイテッド
アメリカ合衆国 カリフォルニア 90404,
サンタ モニカ , 17ティーエイチ スト
リート 1545

(72)発明者 アファー , ダニエル イー .
アメリカ合衆国 カリフォルニア 90272,
パシフィック パリセイズ , サンセット
ブルバード 17250

(72)発明者 ハバート , レネ エス .
アメリカ合衆国 カリフォルニア 90026,
ロス アンジェルズ , ノース オシデン
ティアブルバード 1644

(74)代理人 弁理士 山本 秀策

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 前立腺癌において発現される 1 3 回膜貫通タンパク質

(57)【要約】

本明細書中に記載された発明は、新規な遺伝子およびそのコードされたタンパク質 (2 4 P 4 C 1 2 と称される) に関し、そして 2 4 P 4 C 1 2 を発現する種々のガン、特に前立腺癌の管理において有用な診断および治療方法および組成物に関する。2 4 P 4 C 1 2 は、前立腺組織異種移植片において高度に発現され、少なくともいくつかの前立腺癌において使用される証拠を提供する。本発明はまた、2 4 P 4 C 1 2 ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを開示する。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 24P4C12ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドであって、該ポリヌクレオチドが以下からなる群より選択される、ポリヌクレオチド：

(a) 図1A～1D(配列番号1)または図1E(配列番号3)に示される配列を有するポリヌクレオチドであって、TがUでもあり得る、ポリヌクレオチド；

(b) ヌクレオチド残基番号6～ヌクレオチド残基番号2138までの、図1A～1D(配列番号1)に示される配列を有するポリヌクレオチドであって、TがUでもあり得る、ポリヌクレオチド；

(c) 24P4C12ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドであって、該ポリペプチド配列が、アメリカンタイプカルチャーコレクションにそれぞれ受託番号207129および207084として寄託されたp24P4C12-GTE5またはp24P4C12-GTE9と称されるプラスミドに含まれるcDNAによりコードされる、ポリヌクレオチド；

(d) 図1A～1D(配列番号2)または図1E(配列番号4)に示されるアミノ酸配列を有する24P4C12タンパク質をコードするポリヌクレオチド；
および

(e) (a)～(d)のいずれか1つのポリヌクレオチドに十分相補的なポリヌクレオチド。

【請求項2】 図1A～1D(配列番号2)または図1E(配列番号4)に示されるアミノ酸配列に対して、その長さ全体にわたり少なくとも90%同一であるポリペプチドをコードするポリヌクレオチド。

【請求項3】 24P4C12ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドであって、該ポリペプチドは、以下からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、ポリヌクレオチド：

【化1】

NRSC (SEQ ID NO: 8), NSTG (SEQ ID NO: 9), NMTV (SEQ ID NO: 10), NDTT (SEQ ID NO: 11), NLSA (SEQ ID NO: 12), NISS (SEQ ID NO: 13), NTSC (SEQ ID NO: 14), NSSC (SEQ ID NO: 15), NGSL (SEQ ID NO: 16), SFR, SVK, SSK, TLR, SAK, SGR, SCID (SEQ ID NO: 17), SVAE (SEQ ID NO: 18), SCPE (SEQ ID NO: 19), TVGE (SEQ ID NO: 20), SVQE (SEQ ID NO: 21), RDEDDEAY (SEQ ID NO: 22), GAYCGM (SEQ ID NO: 23), GMGENK (SEQ ID NO: 24), GVPWNM (SEQ ID NO: 25), GLIDSL (SEQ ID NO: 26), GIYYCW (SEQ ID NO: 27), GASISQ (SEQ ID NO: 28), GQMMST (SEQ ID NO: 29), GLFWIL (SEQ ID NO: 30), GAFASF (SEQ ID NO: 31), LGKK (SEQ ID NO: 32), および LFILLRLRVAGPLVLVILGVL (SEQ ID NO: 33)。

【請求項4】 24P4C12ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドであって、該ポリペプチドが図1A～1D（配列番号2）に示される膜貫通ドメインを含む、ポリヌクレオチド。

【請求項5】 検出可能なマーカーで標識されている、請求項1～4のいずれか1項に記載のポリヌクレオチド。

【請求項6】 請求項1～4のいずれか1項に記載のポリヌクレオチドを含む、組換え発現ベクター。

【請求項7】 請求項6に記載の発現ベクターを含む宿主細胞。

【請求項8】 請求項7に記載の宿主細胞を24P4C12ポリペプチドの生成のために十分な条件下で培養する工程を包含する、24P4C12ポリペプチドを生成するためのプロセス。

【請求項9】 前記のように生成された前記24P4C12ポリペプチドを回収する工程をさらに包含する、請求項8に記載のプロセス。

【請求項10】 請求項8に記載のプロセスにより生成された24P4C12ポリペプチド。

【請求項11】 請求項1～4のいずれか1項に記載のポリヌクレオチドによりコードされる24P4C12ポリペプチド。

【請求項12】 請求項11に記載のポリペプチドの少なくとも15の連続

するアミノ酸を含む、ポリペプチド。

【請求項13】 請求項10～12のいずれか1項に記載の24P4C12ポリペプチドに特異的に結合する、抗体またはそのフラグメント。

【請求項14】 モノクローナルである、請求項13に記載の抗体またはそのフラグメント。

【請求項15】 ポリクローナルである、請求項13に記載の抗体またはそのフラグメント。

【請求項16】 請求項14に記載のモノクローナル抗体の抗原結合領域を含む、組換えタンパク質

【請求項17】 検出可能なマーカーで標識されている、請求項13～15のいずれか1項に記載の抗体またはそのフラグメント、あるいは請求項16に記載の組換えタンパク質。

【請求項18】 請求項17に記載の抗体またはそのフラグメントあるいは組換えタンパク質であって、前記検出可能なマーカーが、放射性同位体、蛍光化合物、生体発光化合物、化学発光化合物、金属キレート剤または酵素からなる群より選択される、抗体またはそのフラグメントあるいは組換えタンパク質。

【請求項19】 Fab、F(ab')₂、FvまたはSfvフラグメントである、請求項13に記載の抗体フラグメント。

【請求項20】 ヒト抗体である、請求項13～18のいずれか1項に記載の抗体またはそのフラグメント。

【請求項21】 毒素または治療薬剤に結合体化されている、請求項13～18のいずれか1項に記載の抗体またはそのフラグメント。

【請求項22】 マウス抗原結合領域残基およびヒト抗体残基を含む、請求項13～18のいずれか1項に記載の抗体。

【請求項23】 請求項20に記載のモノクローナル抗体を生成する、トランスジェニック動物。

【請求項24】 請求項14に記載のモノクローナル抗体を生成する、ハイブリドーマ。

【請求項25】 請求項14に記載のモノクローナル抗体の重鎖および軽鎖

の可変性ドメインを含む、単鎖モノクローナル抗体。

【請求項26】 請求項25に記載の単鎖モノクローナル抗体をコードするポリヌクレオチドを含む、ベクター。

【請求項27】 生物学的サンプルにおける24P4C12タンパク質の存在を検出するためのアッセイであって、該アッセイは、該サンプルと、請求項17または18に記載の抗体またはそのフラグメントあるいは組換えタンパク質とを接触させる工程、および該抗体またはそのフラグメントあるいは組換えタンパク質に対する、該サンプルにおける24P4C12タンパク質の結合を検出する工程、を包含する、アッセイ。

【請求項28】 生物学的サンプルにおける24P4C12ポリヌクレオチドの存在を検出するためのアッセイであって、該アッセイは、以下の工程：

(a) 該サンプルと、請求項1に記載のポリヌクレオチドに特異的にハイブリダイズするポリヌクレオチドプローブとを接触させる工程；および

(b) 該プローブと該サンプル中の24P4C12ポリヌクレオチドとの該ハイブリダイゼーションにより形成されたハイブリダイゼーション複合体の存在を検出する工程であって、該ハイブリダイゼーション複合体の存在が該サンプル内の24P4C12ポリヌクレオチドの存在を示す、工程、を包含する、アッセイ。

【請求項29】 生物学的サンプルにおける24P4C12 mRNAの存在を検出するためのアッセイであって、該アッセイは、以下の工程：

(a) 少なくとも1つのプライマーを用いて逆転写することにより、該サンプルからcDNAを生成する工程；

(b) 該サンプル中で24P4C12 cDNAを増幅するためのセンスプライマーおよびアンチセンスプライマーとして24P4C12ポリヌクレオチドを使用して、上記のように生成した該cDNAを増幅する工程；

(c) 該増幅した24P4C12 cDNAの存在を検出する工程、を包含し、
該センスプローブおよびアンチセンスプローブとして使用する該24P4C12ポリヌクレオチドが、アメリカンタイプカルチャーコレクションにそれぞれ受託

番号207129および207084として寄託されたp24P4C12-GTE5またはp24P4C12-GTE9と称されるプラスミド内に含まれる24P4C12 cDNAを増幅し得る、アッセイ。

【請求項30】 24P4C12タンパク質を発現する癌の存在を検出する方法であって、該方法は、個体由来の試験組織サンプル中の細胞により発現された24P4C12タンパク質のレベルを決定する工程、および上記のように決定されたレベルを、対応する正常サンプルにおいて発現された24P4C12のレベルと比較する工程を包含し、該試験サンプルにおける、該正常サンプルに対して上昇した24P4C12タンパク質の存在が、該個体におけるこのような癌の存在の指標を提供する、方法。

【請求項31】 24P4C12遺伝子産物をモニターする方法であって、該方法は、個体由来の試験組織サンプル中の細胞により発現された24P4C12遺伝子産物の状態を決定する工程、および上記のように決定された該状態を、対応する正常サンプルにおける24P4C12遺伝子産物の状態と比較する工程を包含し、該試験サンプルにおける、該正常サンプルに対して異常な24P4C12遺伝子産物の存在が該個体内の調節されない細胞増殖の指標を提供する、方法。

【請求項32】 個体における癌の存在を診断する方法であって、該方法は、以下の工程：

(a) 該個体から得られた試験サンプルにおいて発現された24P4C12 mRNAのレベルを決定する工程；および

(b) 上記のように決定されたレベルを、既知の類似の正常組織サンプルにおいて発現された24P4C12 mRNAのレベルと比較する工程、を包含し、該試験サンプルにおける、該正常組織サンプルに対して上昇した24P4C12 mRNA発現の存在が癌の存在の指標を提供する、方法。

【請求項33】 個体における癌の存在を診断する方法であって、該方法は、以下の工程：

(a) 該個体から得られた試験サンプルにおいて発現された24P4C12タンパク質のレベルを決定する工程；および

(b) 上記のように決定されたレベルを、既知の類似の正常組織サンプルにおいて発現された24P4C12タンパク質のレベルと比較する工程、を包含し、該試験サンプルにおける、該正常組織サンプルに対して上昇した24P4C12タンパク質の存在が癌の存在の指標を提供する、方法。

【請求項34】 請求項32または33に記載の方法であって、前記癌が前立腺癌であり、そして前記試験組織サンプルおよび正常組織サンプルが、前立腺組織、骨組織、リンパ組織、血清、血液および精液からなる群より選択される、方法。

【請求項35】 24P4C12特異的結合薬剤を同定するための方法であって、該方法は、以下の工程：

(a) 24P4C12を結合する候補薬剤と、H38087とを接触させる工程；および

(b) 該候補薬剤がH38087を結合するか否かを決定する工程であって、該候補薬剤のH38087に対する結合の欠如が、24P4C12特異性の指標である、工程、を包含する、方法。

【請求項36】 請求項35に記載の方法により同定された、24P4C12特異的結合薬剤。

【請求項37】 24P4C12を発現する癌を有する患者を処置するための組成物を調製するための、請求項26に記載のベクター、請求項1に記載のポリヌクレオチドに相補的なアンチセンスポリヌクレオチド、請求項1に記載のポリヌクレオチドを切断し得るリボザイム、または請求項13～21のいずれか1項に記載の抗体またはそのフラグメントあるいは組換えタンパク質の使用。

【請求項38】 24P4C12を発現する癌を処置するための組成物の調製のための、請求項10もしくは11に記載の24P4C12ポリペプチドまたはその免疫原性部分の使用。

【請求項39】 前記癌が前立腺癌である、請求項37または38に記載の使用。

【請求項40】 薬学的組成物であって、該薬学的組成物は、請求項10も

しくは11に記載の24P4C12ポリペプチドまたはその免疫原性部分、請求項26に記載のベクター、請求項1に記載のポリヌクレオチドに相補的なアンチセンスポリヌクレオチド、請求項1に記載のポリヌクレオチドを切断し得るリボザイム、請求項13～22のいずれか1項に記載の抗体もしくはそのフラグメントまたは組換えタンパク質、あるいは請求項36に記載の24P4C12特異的結合薬剤、および必要に応じて生理学的に受容可能なキャリアを含有する、薬学的組成物。

【請求項41】 24P4C12を発現する癌を有する患者を処置する方法であって、該方法は、請求項26に記載のベクターを該患者に投与する工程を包含し、その結果、該ベクターが、単鎖モノクローナル抗体コード配列を該癌細胞に送達し、そして該コードされた単鎖抗体が、該癌細胞において細胞内で発現される、方法。

【請求項42】 24P4C12を発現する癌を有する患者を処置する方法であって、該方法は、請求項40に記載の組成物を該患者に投与する工程を包含する、方法。

【請求項43】 24P4C12を発現する癌を処置するためのワクチン組成物であって、該ワクチンは、24P4C12の免疫原性部分および生理学的に受容可能なキャリアを含有する、ワクチン組成物。

【請求項44】 患者における24P4C12を発現する癌の発生または進行を阻害する方法であって、該方法は、請求項43に記載のワクチン組成物の有効量を該患者に投与する工程を包含する、方法。

【発明の詳細な説明】**【0001】**

本出願は、米国仮特許出願番号第60/128,858号(1999年4月12日出願)の優先権を主張する。この内容全体は、本明細書中に参考として援用される。

【0002】**(発明の分野)**

本明細書中に記載された発明は、新規な遺伝子およびそのコードされたタンパク質(24P4C12と称される)に関し、そして24P4C12を発現する種々のガン、特に前立腺癌の管理において有用な診断および治療方法および組成物に関する。

【0003】**(発明の背景)**

ガンは、心臓疾患(coronary disease)に次いで、第2の主なヒトの死亡原因である。全世界的に、数百万の人々が、毎年癌により死亡している。米国単独では、癌は毎年50万人をはるかに超える人々の死亡原因であり、毎年140万人あまりが新たな症例として診断されている。心臓疾患での死亡は、有意に減少している一方で、癌に起因する死亡は、一般に増加の傾向にある。来世紀の初期には、癌は死亡の主原因になると予測されている。

【0004】

全世界で、いくつかの癌が主要な死亡原因(killer)として顕著である。特に、肺、前立腺、胸部、結腸、膵臓、および卵巣の癌腫は、癌の主要な死亡原因の代表である。これらおよび事実上全ての他の癌腫は、共通する致死的特徴を共有している。ごくわずかな例外はあるが、癌腫が原因の転移性疾患は、致命的である。さらに、原発性癌を最初に生き延びた癌患者についてすら、生活が劇的に変化したという共通する経験が示されている。多くの癌患者は、再発または処置の失敗についての可能性があることを承知しているために駆り立てられる、強い不安を経験している。多くの癌患者は、処置後に肉体的衰弱を経験している。多くの癌患者は、再発を経験している。

【0005】

全世界で、前立腺癌は、男性において第4に最も一般的な癌である。北部アメリカおよび北欧では、はるかに、最も一般的な男性の癌であり、そして男性における癌による死亡の第2の主原因である。米国単独では、肺癌に次いで、40,000人をはるかに超える男性がこの疾患で毎年死亡している。これらの数字の規模にも拘わらず、転移性の前立腺癌に対する有効な処置は未だ存在しない。外科的前立腺切除、放射線療法、ホルモン除去(hormone ablation)療法、および化学療法は、主要な処置様式であり続けている。不運にも、これらの処置は、多くに対してあまり有効でなく、かつしばしば、所望されない結果と関連する。

【0006】

診断現場において、初期段階で局在化した腫瘍を正確に検出し得る前立腺腫瘍マーカーが存在しないことは、相変わらずこの疾患の管理の大きな限界である。血清PSAアッセイは非常に有用なツールであるが、その特異性および一般的利用性は、いくつかの重要な点が欠如していると広く考えられている。

【0007】

前立腺癌についてのさらなる特異的マーカーを同定することにおける進歩は、マウスにおける疾患の異なる段階を反復し得る前立腺癌異種移植片の生成により改善されてきた。LAPC(Los Angeles Prostate Cancer)異種移植片は、重症複合型免疫不全(SCID)マウスにおける経過を生き延び、かつ疾患進行(アンドロゲン依存性からアンドロゲン非依存性への移行および転移性病変の発生を含む)を模倣する能力を示した前立腺癌異種移植片である(Kleinら、1997、Nat. Med. 3:402)。より近年同定された前立腺癌マーカーとしては、PCTA-1(Suら、1996、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:7252)、前立腺幹細胞抗原(PSCA)(Reiterら、1998 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95:1735)およびSTEAP(Hubertら、1999、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 96:14523)。

【0008】

P S A、P S M、P C T AおよびP S C Aのような以前に同定されたマーカーは、前立腺癌を診断し、そしてこれを処置する取り組みを促進したが、診断および治療をさらに改善するために、前立腺および関連する癌に対するさらなるマーカーおよび治療標的を同定する必要がある。

【0009】

(発明の要旨)

本発明は、複数の膜貫通領域および前立腺癌における発現により特徴付けられる、遺伝子およびタンパク質の新規なファミリーに関する。より詳細には、本発明は、新規な遺伝子およびタンパク質(24P4C12と称される)を提供する。24P4C12遺伝子は、13の膜貫通ドメインを含み、かつ12の膜貫通ドメインを含むマウスおよび*C. elegans*遺伝子に相同性を有する710アミノ酸のタンパク質をコードする。ヒト24P4C12遺伝子のコード領域全体および部分的非コード領域のヌクレオチド配列、ならびにコードされたアミノ酸配列は、図1A~1Dに示される(配列番号1、2)。RT-PCRおよびノザンプロット分析により、正常結腸、前立腺、腎臓および肺において、ならびに前立腺癌異種移植片において24P4C12の発現が示される。24P4C12タンパク質の膜貫通特性は、前立腺癌におけるその発現と合わせると、24P4C12が、例えば、インビボで24P4C12タンパク質に結合し得、かつこれを調節し得る抗体および他の低分子を用いた、前立腺癌治療の標的であることを示唆する。さらに、前立腺癌細胞の細胞表面にこれが局在するので、24P4C12タンパク質を検出し得る抗体および他の薬剤は、前立腺癌画像化法において有用であり得る。例えば、24P4C12転写産物を検出し得るポリヌクレオチドプローブおよびプライマーを使用した種々の他の分子検出アッセイはまた、前立腺癌および潜在的な他の癌を診断し、モニターし、予知し、および病期分類する際における使用を見出し得る。

【0010】

本発明は、24P4C12遺伝子、mRNA、またはそのフラグメント(cDNA、RNA、オリゴヌクレオチドプローブおよびプライマーを含む)に対応するか、または相補的なポリヌクレオチドを提供する。本発明はさらに、種々の生

物学的サンプルにおいて24P4C12ポリヌクレオチドの存在を検出するための方法を提供する。24P4C12ポリヌクレオチドを用いた前立腺細胞の分子診断アッセイもまた提供される。このようなアッセイは、前立腺癌の存在および程度に関する診断情報および/または予知情報を提供し得る。本発明はさらに、24P4C12をコードするcDNAおよび遺伝子、ならびに変異した24P4C12および他の形態の24P4C12をコードするcDNAおよび遺伝子を単離するための手段を提供する。24P4C12ポリヌクレオチドを含む組換えDNA分子、このような分子で形質転換または形質導入した細胞、および24P4C12遺伝子産物の発現のための宿主-ベクター系もまた提供される。本発明はさらに、24P4C12タンパク質およびそのポリペプチドフラグメントを提供する。本発明はさらに、24P4C12タンパク質およびそのポリペプチドフラグメントに結合する抗体(ポリクローナル抗体およびモノクローナル抗体、マウスおよび他の哺乳動物の抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体および完全なヒト抗体、ならびに検出可能なマーカーで標識された抗体を含む)を提供する。

【0011】

本発明はさらに、種々の生物学的サンプルにおける24P4C12ポリヌクレオチドおよび24P4C12タンパク質の存在および状態を検出するための方法、ならびに24P4C12を発現する細胞を同定するための方法を提供する。本発明の代表的な実施形態は、癌のような増殖を調節できないいくつかの形態を有するまたはこのような形態を有することが疑われる組織サンプルにおける24P4C12遺伝子産物をモニターするための方法を提供する。

【0012】

本発明はさらに、前立腺の癌のような24P4C12を発現する癌を処置するための種々の治療組成物およびストラテジーを提供する。これらの組成物およびストラテジーとしては、24P4C12の転写、翻訳、プロセッシングまたは機能を阻害することを目的とした治療、ならびに癌ワクチンが挙げられる。

【0013】

さらに、本発明は、24P4C12に関連する新規な遺伝子およびタンパク質(H38087と称される)を提供する。H38087遺伝子は、11の潜在的

な膜貫通ドメインを含む704アミノ酸のタンパク質をコードする。ヒトH38087遺伝子のコード領域全体および部分的非コード領域のヌクレオチドおよびコードされたアミノ酸配列は、図7A~7Dに示される(配列番号6、7)。5'非翻訳領域の58塩基対は、非常にGCに富んでおり(87%)、この遺伝子が翻訳調節エレメントを含み得ることを示している。24P4C12およびH38087のアミノ酸配列は、配列全体に対して44%同一であり、56%相同である(図8)。発現分析により、H38087が偏在的に発現されることが示され(図9)、その最も高い発現レベルは、精巣において検出された。試験された種々のLAPC異種移植片の各々においても発現が観察された。H38087は、24P4C12特異的治療を試験するためのコントロールとして役立つか、または診断および/もしくは治療標的を提供し得る。24P4C12に選択的に影響を及ぼすが、H38087には選択的に影響を及ぼさない治療は、正常細胞に対してより毒性が少ない可能性がある。従って、H38087タンパク質は、24P4C12に指向される治療様式についての前臨床試験ツールとして有用であり得る。しかし、H38087タンパク質発現は、そのRNA発現より偏在的ではない可能性があり、このことは、診断および治療戦略についての標的としてのH38087を示唆する。

【0014】

本発明はさらに、24P4C12特異的結合薬剤を同定するための方法を提供する。この方法は、24P4C12を結合する候補薬剤と、H38087とを接触させる工程、およびこの候補薬剤がH38087を結合するか否かを決定する工程を包含する。この候補薬剤のH38087に対する結合の欠如は、24P4C12特性の指標である。このような結合は、当該分野で公知の従来結合アッセイ(本明細書中に記載の代表的なアッセイを含む)を使用して検出され得る。

【0015】

(発明の詳細な説明)

他に規定しない限り、本明細書中で使用されるすべての専門用語、表記、および他の科学的用語は、本発明が属する分野の当業者によって共通して理解される意味を有することが意図される。いくつかの場合において、共通して理解される

意味は、明確さおよび/または迅速な参照のために本明細書中で定義され、そしてこのような定義の本明細書中への包含は、当該分野において一般に理解されることにわたって実質的な相違を表すとは必ずしも解釈されるべきではない。本明細書中に記載または参照される技術および手順は、一般に、従来の方法論（例えば、Sambrookら、Molecular Cloning: A Laboratory Manual 第2版(1989) Cold Spring Harbor Laboratory Press、Cold Spring Harbor, N.Y.において記載されている方法論を広く利用した分子クローニングの方法論）を用いて、当業者によって十分に理解されかつ共通して用いられる。適切な場合、市販のキットおよび試薬の使用を含む手順は、他に注記されない限り、一般に、製造業者によって規定されるプロトコルおよび/またはパラメーターに従って実行される。

【0016】

本明細書中で使用される場合、用語「進行した前立腺癌」、「局所的に進行した前立腺癌」、「進行した疾患」および「局所的に進行した疾患」とは、前立腺皮膜を通して伸長した前立腺癌を意味し、そして米国泌尿器学会(AUA)システムの下でのステージC疾患、Whitmore-Jewettシステムの下でのステージC1 - C2疾患、およびTNM(腫瘍、節、転移)システムの下でのステージT3 - T4およびN+疾患を含むことが意味される。一般に、手術は、局所的に進行した疾患を有する患者のためには推奨されず、そしてこれらの患者は、臨床的に局在化している(器官に限定されている)前立腺癌を有する患者と比較して、実質的により好ましくない結果を有する。局所的に進行した疾患は、前立腺の側縁を超える硬化の明白な証拠、または前立腺基部上の非対称もしくは硬化によって臨床的に同定される。局所的に進行した前立腺癌は、腫瘍が前立腺皮膜に侵入するかもしくは浸透するか、外科的な境界まで伸長するか、または精嚢に侵入する場合、現在、徹底的な前立腺切除後に生理学的に診断される。

【0017】

本明細書中で使用する場合、用語「転移性前立腺癌」および「転移性疾患」は、局所的なリンパ節、または異なる部位に拡がった前立腺癌を意味し、そしてA

U Aシステム下でステージD疾患、およびT N Mシステム下でステージT x N x M + を包含することが意味される。局所的に進行した前立腺癌の場合、手術は一般的には転移性疾患を有する患者には示されず、そしてホルモン（アンドロゲン除去）治療が好ましい治療様式である。転移性前立腺癌を有する患者は、最終的に、処置の開始から12～18ヶ月以内にアンドロゲン抵抗性の状態を発症し、そしてこれらの患者のおよそ半数がその後6ヶ月以内に死亡する。前立腺癌転移の最も一般的な部位は骨である。前立腺癌の骨転移は、結局のところ、特徴として、溶骨性ではなくむしろ造血性である（すなわち、正味の骨の形成を生じる）。骨への転移は、脊椎において最も頻繁に見出され、大腿骨、骨盤、胸郭、頭蓋、および上腕骨と続く。転移のための他の一般的な部位には、リンパ節、肺、肝臓、および脳が含まれる。転移性の前立腺癌は、代表的には、直視的または腹腔鏡的な骨盤のリンパ節切除術、全身の放射性核種スキャン、骨格のラジオグラフィ、および/または骨損傷生検によって診断される。

【0018】

本明細書中で使用される場合、用語「ポリヌクレオチド」は、少なくとも10塩基または10塩基対の長さのヌクレオチドのポリマー型を意味し、リボヌクレオチドもしくはデオキシヌクレオチドまたはいずれかの型のヌクレオチドの改変型のいずれかであり、そして一本鎖および二本鎖の形態のDNAを含むことを意味する。

【0019】

本明細書中で使用する場合、用語「ポリペプチド」は、少なくとも10アミノ酸のポリマーを意味する。本明細書を通して、アミノ酸についての標準的な3文字表記または1文字表記が使用される。

【0020】

本明細書中で使用される場合、ポリヌクレオチドの状況において使用される、用語「ハイブリダイズ」、「ハイブリダイズする」、「ハイブリダイズする」などは、従来のハイブリダイゼーション条件（好ましくは、例えば、50%ホルムアミド、6×SSC/0.1% SDS/100μg/ml ssDNA）をいうことが意味される。ここで、ハイブリダイゼーションのための温度が、37

より高い温度であり、そして $0.1 \times SSC / 0.1\%$ SDS中での洗浄のための55 がより高い温度であり、そして最も好ましくは、ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件である。

【0021】

ハイブリダイゼーション反応の「ストリンジェンシー」は、当業者によって容易に決定可能であり、そして一般的には、プローブの長さ、洗浄温度、および塩濃度に依存する経験による計算である。一般に、より長いプローブは、正しいアニーリングのためにより高い温度を必要とするが、一方、より短いプローブは、より低い温度を必要とする。ハイブリダイゼーションは、一般に、融解温度より下の環境において、相補鎖が存在する場合、変性したDNAの再アニーリングする能力に依存する。プローブと、ハイブリダイズ可能な配列との間の所望される相同性の程度が高いほど、使用され得る相対的な温度が高くなる。結果として、相対的により高い温度が、反応条件をよりストリンジェントにする傾向があるが、より低い温度ではそのようなことがより少ない、ということになる。ハイブリダイゼーション反応のストリンジェンシーのさらなる詳細および説明については、Ausubelら、Current Protocols in Molecular Biology、Wiley, Interscience Publishers, (1995)を参照のこと。

【0022】

本明細書中に規定されるように、「ストリンジェントな条件」または「高ストリンジェンシー条件」は、以下の条件によって同定され得る：(1)洗浄のために低いイオン強度および高い温度を使用する条件(例えば、 $0.015M$ 塩化ナトリウム/ $0.0015M$ クエン酸ナトリウム/ 0.1% ドデシル硫酸ナトリウム、 $50^\circ C$)；(2)ハイブリダイゼーションの間に変性剤(例えば、ホルムアミド)を使用する条件(例えば、 50% (v/v)ホルムアミドおよび 0.1% ウシ血清アルブミン/ 0.1% Ficoll/ 0.1% ポリビニルピロリドン/ $50mM$ リン酸ナトリウム緩衝液(pH 6.5)および $750mM$ 塩化ナトリウム、 $75mM$ クエン酸ナトリウム、 $42^\circ C$)；または(3) 50% ホルムアミド、 $5 \times SSC$ ($0.75M$ NaCl、 $0.075M$

クエン酸ナトリウム)、50mM リン酸ナトリウム(pH 6.8)、0.1% ピロリン酸ナトリウム、5×Denhardt's 溶液、超音波処理したサケ精子DNA(50μg)、0.1% SDS、および10% 硫酸デキストラン、42、さらに以下の洗浄工程、42において0.2×SSC(塩化ナトリウム/クエン酸ナトリウム)および50%ホルムアミド、55、続いて、高ストリンジェンシー洗浄(EDTAを含む0.1×SSCからなる、55)を使用する条件。

【0023】

「中程度にストリンジェントな条件」は、Sambrookら、Molecular Cloning: A Laboratory Manual, New York: Cold Spring Harbor Press, 1989によって記載されたように同定され得、そして洗浄溶液およびハイブリダイゼーション条件(例えば、温度、イオン強度、およびSDS)の使用を含む。これは、上記に記載されたものよりもよりストリンジェントではない。中程度にストリンジェントな条件の例は、以下を含む溶液中での37、一晩のインキュベーションである: 20%ホルムアミド、5×SSC(150mM NaCl、15mM クエン酸三ナトリウム)、50mM リン酸ナトリウム(pH7.6)、5×Denhardt's 溶液、10% 硫酸デキストラン、および20mg/mL変性切断サケ精子DNA、続いて約37~50で1×SSC中でフィルターを洗浄する。当業者は、温度、イオン強度などを、因子(例えば、プローブ長などのような因子)を適応させるのに必要なように調整する方法を認識する。

【0024】

アミノ酸比較の状況において、用語「同一性」は、同一である同じ相対的位置のアミノ酸残基のパーセンテージを表現するために使用される。この状況においてはまた、用語「相同性」は、BLAST分析の保存性アミノ酸の判断基準を使用して、当該分野において一般的に理解されるように、同一であるかまたは類似であるかのいずれかである、同じ相対位置でのアミノ酸残基のパーセンテージを表現するために使用される。例えば、同一性%の値は、WU-BLAST-2(Altschulら、Methods in Enzymology, 266:

460-480(1996); <http://blast.wustl.edu/blast/README.html>)によって生成され得る。アミノ酸置換(これは、このような判断基準の下では保存性であると見なされる)に関するさらなる詳細は以下に提供される。

【0025】

さらなる定義が、引き続きサブセクションを通して提供される。

【0026】

本発明は、複数の膜貫通領域および前立腺癌における発現によって特徴付けされた、新規な遺伝子およびタンパク質のファミリーに関する。より詳細には、本発明は、24P4C12およびH38087と命名された、新規な遺伝子およびタンパク質を提供する。本発明は、一部は、24P4C12遺伝子およびH38087遺伝子の同定に基づき、そして、前立腺癌、正常な前立腺、および他の正常ヒト組織における、24P4C12およびH38087遺伝子の発現パターンの特徴付けに基づく。以下に続く実施例においてより完全に記載されるように、24P4C12遺伝子およびH38087遺伝子の発現パターンは、以下によって分析された：(1)組織および細胞株のパネルから調製した標的cDNAを使用する、RT-PCRによる示差的発現分析(正常前立腺、ならびにLAPC-4 ADおよびAI、およびLAPC-9 AD異種移植片を含む)(2)16の正常ヒト組織から調製されたcDNAを用いるRT-PCRによる組織特異性分析、ならびに(3)正常前立腺サンプルおよび前立腺癌異種移植片サンプルのノーザンプロット分析。この組み合わせた発現分析は、ADとAI組織の間、臨床的前立腺癌と正常な前立腺との間、および組織特異的の示差的発現に関する情報を提供するために設計された。さらに、24P4C12およびH38087の遺伝子産物の最初の生物学的特徴付けが、比較できる配列分析によって行われた。

【0027】

本明細書中に開示された24P4C12およびH38087のcDNA配列または遺伝子配列のすべてまたは一部に対応するヌクレオチドプローブが提供され、そして、24P4C12およびH38087の遺伝子配列のすべてまたは一部

をコードする他のcDNAを単離または同定するために使用され得る。本発明はさらに、24P4C12遺伝子およびH38087遺伝子またはそれらのRNA転写物を特異的に増幅させ得るプライマー、および24P4C12分子とH38087分子との間を区別するためのプライマーを提供する。本発明はさらに、24P4C12およびH38087の遺伝子産物のコード配列を含む単離されたポリヌクレオチドを提供する。このようなポリヌクレオチドは、多数のさらなる用途を有する、24P4C12およびH38087によってコードされるタンパク質およびペプチドを発現するために使用され得る。24P4C12およびH38087の遺伝子プローブおよびプライマーもまた、種々の生物学的サンプルにおいて24P4C12およびH38087のmRNAの存在または非存在を検出するために、24P4C12およびH38087を発現する前立腺癌細胞および他の細胞を検出するために、および前立腺癌についての分子的診断アッセイおよび予後アッセイにおいて使用され得る。24P4C12遺伝子に対応するか、またはそれに相補的なポリヌクレオチドは、例えば、24P4C12の生物学的活性を調節するかまたは阻害する際に、前立腺癌を処置するための方法において有用であり得る。

【0028】

本発明はまた、例えば、抗体を惹起するために使用され得る24P4C12およびH38087のタンパク質およびポリペプチドを提供する。24P4C12およびH38087のタンパク質およびポリペプチドに特異的に結合し得るか、またはそれらを同定し得る抗体は、24P4C12およびH38087の発現を検出するため、それらの細胞内位置を決定するため、前立腺癌細胞および前立腺腫瘍を検出および画像化するため、ならびに24P4C12およびH38087の生物学的活性を調節および阻害するために使用され得る。本発明のこれらおよび他の局面は、以下のサブセクションにより詳細に記載されている。

【0029】

(24P4C12の構造および発現)

以下の実施例においてさらに記載されるように、24P4C12遺伝子およびタンパク質が、多数の分析的アプローチを用いて特徴付けられた。例えば、ヌク

レオチドコード配列およびアミノ酸配列の分析は、潜在的に関連する分子、ならびに認識可能な構造ドメイン、トポロジー的特徴、および24P4C12 mRNAおよびタンパク質構造中の他のエレメントを同定するために行われた。24P4C12 mRNA発現のノーザンブロットは、24P4C12メッセージを発現する正常組織および癌性組織の範囲を確立させるために行われた。

【0030】

cDNA配列と合わせた、約3kbの24P4C12のヌクレオチド配列(配列番号1)および推定アミノ酸配列(配列番号2)は、図1A~1Dに提供される。この2587ヌクレオチド配列は、710アミノ酸のタンパク質をコードし、このタンパク質は、13の推定膜貫通ドメイン(図1A~1D中で下線を付した)を有し、そこに、105~173、261~329、439~506、678~746、768~836、924~992、1074~1142、1245~1313、1344~1412、1506~1575、1694~1763、1803~1871、および1935~2000として番号付けした。比較配列分析は、24P4C12 cDNA配列に対して有意な相同性を有する2つの公知の配列(最近同定されたマウスNG22遺伝子およびCEESB82Fと名付けられた*C. elegans*遺伝子)を同定した。これらの両方の遺伝子は、12の膜貫通ドメインを含むタンパク質をコードする。マウスNG22遺伝子(図4A~4B;配列番号5)は、マウスゲノム中のMHCクラスIIIを含むゲノムBACクローン中の多くのORFのうちの1つとして最近同定された。

【0031】

16の正常組織において行われた、24P4C12 SSHフラグメントプローブを使用したノーザンブロット分析は、主に、前立腺および結腸における発現を示し、より低い発現が、腎臓において検出され、そして有意により低い発現が、膵臓、肺および胎盤において検出された(図2A~2C、3A~3B)。癌組織における24P4C12発現を分析するために、ノーザンブロットティングを、LAPC異種移植片、ならびにいくつかの前立腺癌細胞株および非前立腺癌細胞株由来のRNAにおいて行った。結果は、LAPC-4 AD、LAPC-4 AI、LAPC-9 AD、LNCaPおよびLAPC-4細胞株において、24P

4 C 1 2 の高い発現レベルを示す (図 2 A 、 3 C 、 5) 。非常に高いレベルが、L A P C - 3 A I において検出される (図 5) 。より低いレベルが、L A P C - 9 A I において検出される (図 3 C) 。異種移植片のより詳細な分析は、2 4 P 4 C 1 2 が、マウスの脛骨内で増殖する場合でさえも、異種移植片において高度に発現されることを示す (図 5) 。ノザン分析はまた、2 4 P 4 C 1 2 が、正常前立腺、および前立腺癌患者由来の前立腺腫瘍組織において発現されることを示す (図 6 A) 。これらの結果は、2 4 P 4 C 1 2 が、前立腺癌において高度に発現される前立腺遺伝子であり、そして前立腺癌における薬物または抗体標的としての有用性を有し得る前立腺遺伝子であることを示唆する。

【 0 0 3 2 】

(H 3 8 0 8 7 の構造および発現)

H 3 8 0 8 7 は、N C B I における t b l a s t n 手段を使用して、2 4 P 4 C 1 2 アミノ酸配列を用いて d B E S T データベースを検索することによって、2 4 P 4 C 1 2 のファミリーメンバーとして同定された。相同タンパク質のタンパク質フラグメントをコードする E S T が同定された。これらのうちの 1 つである H 3 8 0 8 7 は、精巣ライブラリーからクローニングされた。c D N A (クローン G T B 6) は、2 7 3 8 b p の大きさ (配列番号 6) であり、そして 1 1 の推定膜貫通ドメインを有する (図 7 A ~ 7 D において、下線を引かれ、そしてその図において、1 5 2 ~ 2 2 0 、 3 1 1 ~ 3 7 9 、 7 4 3 ~ 8 1 1 、 8 3 0 ~ 8 9 5 、 9 9 5 ~ 1 0 6 0 、 1 1 3 3 ~ 1 2 0 1 、 1 3 9 4 ~ 1 4 5 9 、 1 5 5 6 ~ 1 6 2 4 、 1 6 5 5 ~ 1 7 2 3 、 1 8 5 9 ~ 1 9 2 4 および 1 9 8 8 0 ~ 2 0 5 6 として番号を付される) 7 0 4 のアミノ酸タンパク質 (配列番号 7) をコードする。5 ' 非翻訳領域の 5 8 の塩基対は、非常に G C に富み (8 7 %) 、これは、この遺伝子は、翻訳調節エレメントを含み得ることを示す。2 4 P 4 C 1 2 および H 3 8 0 8 7 のアミノ酸配列は、全体の配列に対して、4 4 % 同一であり、そして 5 6 % 相同である (図 8) 。

【 0 0 3 3 】

発現分析は、H 3 8 0 8 7 が、偏在して発現されることを示し (図 9) 、最も高い発現レベルが、精巣において検出される。発現はまた、すべての L A P C 異

種移植片において見られる。H38087が、偏在して発現されるので、24P4C12特異的療法を試験するためのコントロールとして役立つ。H38087の機能に影響を及ぼす24P4C12特異的療法は、正常細胞に対して毒性であり得る。しかし、24P4C12に選択的に影響を及ぼすが、H38087には影響を及ぼさない療法は、正常細胞に対して毒性がより減少され得る。従って、H38087タンパク質は、24P4C12に対して指向される治療様式のための前臨床試験手段として有用である。

【0034】

(ポリヌクレオチド)

本発明の一つの局面は、24P4C12遺伝子、mRNAおよび/またはコード配列(好ましくは、24P4C12タンパク質およびそのフラグメント、DNA、RNA、DNA/RNAハイブリッドならびに関連分子をコードするポリヌクレオチド、24P4C12遺伝子もしくはmRNA配列またはその一部分に相補的な、ポリヌクレオチドまたはオリゴヌクレオチド、ならびに24P4C12遺伝子、mRNAもしくは24P4C12をコードするポリヌクレオチド(集合的に、「24P4C12ポリヌクレオチド」)にハイブリダイズする、ポリヌクレオチドまたはオリゴヌクレオチドを含む単離形態における)のすべてもしくは一部分に対応するか、またはそのすべてもしくは一部分に相補的なポリヌクレオチドを提供する。本明細書中で使用される場合、24P4C12遺伝子およびタンパク質は、本明細書中で具体的に記載される24P4C12遺伝子およびタンパク質、ならびに他の24P4C12タンパク質および前述の構造的に類似の改変体に対応する、遺伝子およびタンパク質を含むことが意味される。このような他の24P4C12タンパク質および改変体は、一般的に、24P4C12コード配列に高度に相同なコード配列を有し、そして好ましくは、少なくとも約50%のアミノ酸同一性、そして少なくとも約60%のアミノ酸相同性を共有し(BLAST標準を使用して)、より好ましくは、70%以上の相同性を共有する(BLAST標準を使用して)。

【0035】

24P4C12ポリヌクレオチドの一つの実施形態は、図1A~1D(配列番

号1)に示される配列を有する24P4C12ポリヌクレオチドである。24P4C12ポリヌクレオチドは、図1A~1D(配列番号1)に示されるようなヒト24P4C12のヌクレオチド配列を有するポリヌクレオチド(ここで、Tはまた、Uであり得る);24P4C12タンパク質のすべてまたは一部分をコードするポリヌクレオチド;前述のポリヌクレオチドに相補的な配列;あるいは前述のうちのいずれかのポリヌクレオチドフラグメントを含み得る。別の実施形態は、図1A~1D(配列番号1)に示されるような、ヌクレオチド残基数6~ヌクレオチド残基数2138の配列を有するか、または図1E(配列番号3)に示されるような配列を有するポリヌクレオチドを含み、ここで、Tはまた、Uであり得る。別の実施形態は、配列が、それぞれ、American Type Culture Collectionに、指定(Designation)番号207129および207084として寄託された、p24P4C12-GTE5またはp24P4C12-GTE9と命名されたプラスミドのいずれかに含まれるcDNAによってコードされる、24P4C12ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む。別の実施形態は、ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下で、図1A~1D(配列番号1)に示されるヒト24P4C12cDNA、またはそのポリヌクレオチドフラグメントにハイブリダイズし得るポリヌクレオチドを含む。

【0036】

本明細書中で開示される本発明の代表的な実施形態は、24P4C12 mRNA配列の特定の一部をコードする24P4C12ポリヌクレオチド(例えば、タンパク質およびそのフラグメントをコードするポリヌクレオチド)を含む。例えば、本明細書中で開示される本発明の代表的な実施形態は、以下を含む:図1A~1D(配列番号2)に示される24P4C12タンパク質のおよそアミノ酸1~およそアミノ酸10をコードするポリヌクレオチド、図1A~1D(配列番号2)に示される24P4C12タンパク質のおよそアミノ酸20~およそアミノ酸30をコードするポリヌクレオチド、図1A~1D(配列番号2)に示される24P4C12タンパク質のおよそアミノ酸30~およそアミノ酸40をコードするポリヌクレオチド、図1A~1D(配列番号2)に示される24P4C

12タンパク質のおよそアミノ酸40～およそアミノ酸50をコードするポリヌクレオチド、図1A～1D（配列番号2）に示される24P4C12タンパク質のおよそアミノ酸50～およそアミノ酸60をコードするポリヌクレオチド、図1A～1D（配列番号2）に示される24P4C12タンパク質のおよそアミノ酸60～およそアミノ酸70をコードするポリヌクレオチド、図1A～1D（配列番号2）に示される24P4C12タンパク質のおよそアミノ酸70～およそアミノ酸80をコードするポリヌクレオチド、図1A～1D（配列番号2）に示される24P4C12タンパク質のおよそアミノ酸80～およそアミノ酸90をコードするポリヌクレオチド、および図1A～1D（配列番号2）に示される24P4C12タンパク質のおよそアミノ酸90～およそアミノ酸100をコードするポリヌクレオチドなど。このスキームの後、24P4C12タンパク質のアミノ酸100～710のアミノ酸配列の一部をコードするポリヌクレオチド（少なくとも10アミノ酸の）は、本発明の代表的な実施形態である。24P4C12タンパク質のより大きな部分をコードするポリヌクレオチドがまた意図される。例えば、図1A～1D（配列番号2）に示される24P4C12タンパク質のおよそアミノ酸1（または20、または30、または40など）～およそアミノ酸20（または30、または40、または50など）をコードするポリヌクレオチドは、当該分野に周知の種々の技術によって生成され得る。

【0037】

本明細書中で開示される本発明のさらなる例示的な実施形態は、24P4C12タンパク質配列内に含まれる、1つ以上の生物学的モチーフをコードする24P4C12ポリヌクレオチドフラグメントを含む。一つの実施形態において、本発明の代表的なポリヌクレオチドフラグメントは、本明細書中で開示される1つ以上の膜貫通ドメインをコードし得る。別の実施形態において、本発明の代表的なポリヌクレオチドフラグメントは、H38087、NG22またはCEESB82Fとの相同性を示す、24P4C12の1つ以上の領域をコードし得る。本発明の別の実施形態において、代表的なポリヌクレオチドフラグメントは、以下の24P4C12タンパク質およびポリペプチドを議論する主題において、より詳細に開示されるような、1つ以上の以下をコードし得る：24P4C12 N

グリコシル化部位、プロテインキナーゼCリン酸化部位、カゼインキナーゼIIリン酸化部位、チロシンキナーゼリン酸化部位、Nミリスチル化部位またはアミド化部位、あるいはロイシンジッパー型。本発明のなお別の実施形態において、代表的なポリヌクレオチドフラグメントは、1つ以上の24P4C12選択的スプライシング改変体に独特である配列をコードし得る。

【0038】

前述の段落のポリヌクレオチドは、多くの異なる特定の使用を有する。例えば、24P4C12は、前立腺癌において特異的に発現されることが示されるので(図2A、3C、5、6)、これらのポリヌクレオチドは、正常な組織対癌性組織における24P4C12遺伝子産物の状態を評価するための方法において使用され得る。代表的には、24P4C12タンパク質の特定の領域をコードするポリヌクレオチドが使用されて、24P4C12遺伝子産物の特定の領域(膜貫通ドメインを含むような領域)において、混乱状態(例えば、欠失、挿入、点変異など)の存在を評価し得る。例示的なアッセイは、RT-PCRアッセイ、ならびに一本鎖高次構造多型(SSCP)分析(例えば、Marrigiら、J. Cutan. Pathol. 26(8):369-378(1999)を参照のこと)の両方を含み、これらの両方は、タンパク質の特定の領域をコードするポリヌクレオチドを利用して、タンパク質内のこれらの領域を試験する。

【0039】

同様に、本発明はさらに、H38087遺伝子、mRNAおよび/またはコード配列(好ましくは、H38087タンパク質およびそのフラグメント、DNA、RNA、DNA/RNAハイブリッドならびに関連分子をコードするポリヌクレオチド、H38087遺伝子もしくはmRNA配列またはその一部分に相補的な、ポリヌクレオチドまたはオリゴヌクレオチド、ならびにH38087遺伝子、mRNAもしくはH38087をコードするポリヌクレオチド(集合的に、「H38087ポリヌクレオチド」)にハイブリダイズする、ポリヌクレオチドまたはオリゴヌクレオチドを含む単離形態における)のすべてもしくは一部分に対応するか、またはそのすべてもしくは一部分に相補的なポリヌクレオチドを提供する。本明細書中で使用される場合、H38087遺伝子およびタンパク質は、

本明細書中で具体的に記載されるH38087遺伝子およびタンパク質、ならびに他のH38087タンパク質および前述の構造的に類似の改変体に対応する、遺伝子およびタンパク質を含むことが意味される。このような他のH38087タンパク質および改変体は、一般的に、H38087コード配列に高度に相同なコード配列を有し、そして好ましくは、少なくとも約50%のアミノ酸同一性、そして少なくとも約60%のアミノ酸相同性を共有し(BLAST標準を使用して)、より好ましくは、70%以上の相同性を共有する(BLAST標準を使用して)。

【0040】

H38087ポリヌクレオチドの一つの実施形態は、図7A~7D(配列番号6)に示される配列を有するH38087ポリヌクレオチドである。H38087ポリヌクレオチドは、図7A~7D(配列番号6)に示されるようなヒトH38087のヌクレオチド配列を有するポリヌクレオチド(ここで、Tはまた、Uであり得る); H38087タンパク質のすべてまたは一部分をコードするポリヌクレオチド; 前述のポリヌクレオチドに相補的な配列; あるいは前述のうちのいずれかのポリヌクレオチドフラグメントを含み得る。別の実施形態は、図7A~7D(配列番号6)に示されるような、ヌクレオチド残基数59~ヌクレオチド残基数2173(図7A~7D; 配列番号6に示される番号付けを使用して)の配列を有するポリヌクレオチドを含む。別の実施形態は、ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下で、図7A~7Dに示されるヒトH38087cDNA、またはそのポリヌクレオチドフラグメントにハイブリダイズし得るポリヌクレオチドを含む。

【0041】

本明細書中で開示される本発明の代表的な実施形態は、H38087 mRNA配列の特定の一部をコードするH38087ポリヌクレオチド(例えば、タンパク質およびそのフラグメントをコードするポリヌクレオチド)を含む。例えば、本明細書中で開示される本発明の代表的な実施形態は、以下を含む: 図7A~7D(配列番号7)に示されるH38087タンパク質のおよそアミノ酸1~およそアミノ酸10をコードするポリヌクレオチド、図7A~7D(配列番号7

)に示されるH38087タンパク質のおよそアミノ酸20~およそアミノ酸30をコードするポリヌクレオチド、図7A~7D(配列番号7)に示されるH38087タンパク質のおよそアミノ酸30~およそアミノ酸40をコードするポリヌクレオチド、図7A~7D(配列番号7)に示されるH38087タンパク質のおよそアミノ酸40~およそアミノ酸50をコードするポリヌクレオチド、図7A~7D(配列番号7)に示されるH38087タンパク質のおよそアミノ酸50~およそアミノ酸60をコードするポリヌクレオチド、図7A~7D(配列番号7)に示されるH38087タンパク質のおよそアミノ酸60~およそアミノ酸70をコードするポリヌクレオチド、図7A~7D(配列番号7)に示されるH38087タンパク質のおよそアミノ酸70~およそアミノ酸80をコードするポリヌクレオチド、図7A~7D(配列番号7)に示されるH38087タンパク質のおよそアミノ酸80~およそアミノ酸90をコードするポリヌクレオチド、および図7A~7D(配列番号7)に示されるH38087タンパク質のおよそアミノ酸90~およそアミノ酸100をコードするポリヌクレオチドなど。このスキームの後、H38087タンパク質のアミノ酸100~704のアミノ酸配列の一部をコードするポリヌクレオチド(少なくとも10アミノ酸の)は、本発明の代表的な実施形態である。H38087タンパク質のより大きな部分をコードするポリヌクレオチドがまた意図される。例えば、図7A~7D(配列番号7)に示されるH38087タンパク質のおよそアミノ酸1(または20、または30、または40など)~およそアミノ酸20(または30、または40、または50など)をコードするポリヌクレオチドは、当該分野に周知の種々の技術によって生成され得る。

【0042】

本明細書中で開示される本発明のさらなる例示的な実施形態は、H38087タンパク質配列内に含まれる、1つ以上の生物学的モチーフをコードするH38087ポリヌクレオチドフラグメントを含む。一つの実施形態において、本発明の代表的なポリヌクレオチドフラグメントは、本明細書中で開示される1つ以上の膜貫通ドメインをコードし得る。別の実施形態において、本発明の代表的なポリヌクレオチドフラグメントは、24P4C12、NG22またはCEESB8

2 F との相同性を示す、H 3 8 0 8 7 の 1 つ以上の領域をコードし得る。本発明の別の実施形態において、代表的なポリヌクレオチドフラグメントは、以下の H 3 8 0 8 7 タンパク質およびポリペプチドを議論する主題において、より詳細に開示されるような、1 つ以上の以下をコードし得る：H 3 8 0 8 7 N グリコシル化部位、プロテインキナーゼ C リン酸化部位、カゼインキナーゼ E リン酸化部位、チロシンキナーゼ リン酸化部位、または N ミリスチル化部位、あるいはシグナル配列。本発明のなお別の実施形態において、代表的なポリヌクレオチドフラグメントは、1 つ以上の H 3 8 0 8 7 選択的スプライシング改変体に独特である配列をコードし得る。

【0043】

本明細書中で開示される本発明の他の具体的に意図された実施形態は、ゲノム DNA、c DNA、リボザイムおよびアンチセンス分子、ならびに天然の供給源または合成由来にせよ、代替の骨格に基づくか、または代替の塩基を含む核酸分子である。例えば、アンチセンス分子は、RNA、あるいは他の分子（ペプチド核酸（PNA）または塩基対依存様式で DNA もしくは RNA に特異的に結合する非核酸分子（例えば、ホスホロチオエート誘導体）を含む）であり得る。当業者は、2 4 P 4 C 1 2 および H 3 8 0 8 7 ポリヌクレオチドならびに本明細書中で開示されるポリヌクレオチド配列を使用して、核酸分子のこれらのクラスを容易に獲得し得る。

【0044】

アンチセンス技術は、細胞内部に位置する標的ポリヌクレオチドに結合する外因性オリゴヌクレオチドの投与を必然的に伴う。用語「アンチセンス」は、このようなオリゴヌクレオチドが、その細胞内標的（例えば、2 4 P 4 C 1 2 または H 3 8 0 8 7）に相補的であるという事実をいう。例えば、Jack Cohen, OLIGODEOXYNUCLEOTIDES, Antisense Inhibitors of Gene Expression, CRC Press, 1989; および Synthesis 1: 1-5 (1988) を参照のこと。本発明の 2 4 P 4 C 1 2 アンチセンスオリゴヌクレオチドおよび H 3 8 0 8 7 アンチセンスオリゴヌクレオチドは、S オリゴヌクレオチド（ホスホロチオエ

ート誘導体またはS - オリゴ、Jack Cohen、前出を参照のこと)のよ
うな誘導体を含み、この誘導体は、癌細胞増殖阻害作用の増大を示す。S - オリ
ゴ(ヌクレオシドホスホロチオエート)は、オリゴヌクレオチド(O - オリゴ)
の等電子アナログであり、リン酸基の非架橋酸素原子は、硫酸原子に置換される
。本発明のS - オリゴは、3H - 1, 2 - ベンゾジチオール - 3 - オン - 1, 1
- ジオキシド(これは、硫酸転移試薬である)での対応するO - オリゴの処理に
よって調製され得る。Iyer, R. P.ら、J. Org. Chem. 55: 4
693 - 4698 (1990); およびIyer, R. P.ら、J. Am. Ch
em. Soc. 112: 1253 - 1254 (1990) (これらの開示は、本
明細書中で参考として完全に援用される)を参照のこと。

【0045】

本発明の24P4C12およびH38087アンチセンスオリゴヌクレオチド
は、代表的に、24P4C12ゲノムもしくは対応するmRNA、またはH38
087ゲノムもしくは対応するmRNAの、最初の100N末端コドンまたは最
後の100C末端コドンに相補的であり、そしてこれらのコドンと安定にハイブ
リダイズする、RNAまたはDNAであり得る。完全なコンプリメンタリティー
(complementarity)は必要ではないが、高い程度のコンプリメ
ンタリティーが好ましい。この領域に相補的なオリゴヌクレオチドの使用は、2
4P4C12 mRNAまたはH38087 mRNAへの選択的ハイブリダイ
ゼーションを可能にし、そしてタンパク質キナーゼの他の調節サブユニットを特
定するmRNAへの選択的ハイブリダイゼーションを不可能にする。好ましくは
、本発明の24P4C12およびH38087アンチセンスオリゴヌクレオチド
は、24P4C12 mRNAまたはH38087 mRNAにハイブリダイズ
する配列を有するアンチセンスDNA分子の15 ~ 30merフラグメントであ
る。必要に応じて、24P4C12またはH38087アンチセンスオリゴヌク
レオチドは、24P4C12またはH38087の、最初の10のN末端コドン
および最後の10のC末端コドンにおける領域に相補的な30merオリゴヌク
レオチドである。あるいは、アンチセンス分子は、24P4C12またはH38
087発現の阻害において、リボザイムを利用するように改変される。L. A.

CoutureおよびD. T. Stinchcomb; Trends Gene
t 12:510-515(1996)。

【0046】

本発明のこの局面のさらなる特異的な実施形態は、プライマーおよびプライマーペアを含み、これは、本発明のポリヌクレオチドまたはその任意の特定の部分の特異的増幅、および本発明の核酸分子またはその任意の部分に選択的もしくは特異的にハイブリダイズするプローブの特異的増幅を可能にする。プローブは、検出可能なマーカ（例えば、放射性同位体、蛍光化合物、生物発光化合物、化学発光化合物、金属キレート剤または酵素のような）で標識され得る。このようなプローブおよびプライマーが、サンプルにおける24P4C12ポリヌクレオチドまたはH38087ポリヌクレオチドの存在を検出するために使用され得、そして24P4C12タンパク質またはH38087タンパク質を発現する細胞を検出するための手段として使用され得る。

【0047】

このようなプローブの例としては、図1A~1D（配列番号1）に示されるヒト24P4C12 cDNA配列の、すべてまたは一部分を含むポリペプチド、あるいは図7A~7D（配列番号6）に示されるヒトH38087 cDNA配列の、すべてまたは一部分を含むポリペプチドが挙げられる。24P4C12 mRNAまたはH38087 mRNAを特異的に増幅し得るプライマーペアの例はまた、続く実施例において記載される。当業者に理解されるように、非常に多くの異なるプライマーおよびプローブが、本明細書中に提供される配列に基づいて調製され得、そして24P4C12 mRNAまたはH38087 mRNAを、有効に増幅および/または検出するために使用され得る。

【0048】

本明細書中で使用されるように、ポリヌクレオチドは、24P4C12遺伝子またはH38087遺伝子ではない遺伝子に、対応するかまたは相補的である汚染物質ポリヌクレオチド、あるいは24P4C12遺伝子産物もしくはそのフラグメントまたはH38087遺伝子産物もしくはそのフラグメントではないポリペプチドをコードする汚染物質ポリヌクレオチドから実質的に分離される場合、

「単離された」と言われる。当業者は、容易に核酸単離手順を利用して、単離された24P4C12ポリヌクレオチドまたは単離されたH38087ポリヌクレオチドを獲得し得る。

【0049】

本発明の24P4C12またはH38087ポリヌクレオチドは、種々の目的に有用である。この目的としては、24P4C12遺伝子、mRNAまたはそのフラグメント、あるいはH38087遺伝子、mRNAまたはそのフラグメントの、増幅および/または検出のための、プローブおよびプライマーとしての使用；前立腺癌および他の癌の、診断および/または予後のための試薬としての使用；24P4C12ポリペプチドまたはH38087ポリペプチドの発現を指向し得るコード配列としての使用；24P4C12遺伝子もしくはH38087遺伝子の発現および/または24P4C12転写物もしくはH38087転写物の翻訳を、調節または阻害するための手段としての使用；ならびに治療薬としての使用が挙げられるが、これらに限定されない。

【0050】

(24P4C12をコードする核酸分子の単離およびH38087をコードする核酸分子の単離)

本明細書中に記載される24P4C12 cDNA配列およびH38087 cDNA配列は、24P4C12遺伝子産物またはH38087遺伝子産物をコードする他のポリヌクレオチドの単離、ならびに24P4C12またはH38087の遺伝子産物ホモログ、選択的にスプライシングされたアイソフォーム、対立遺伝子改変体、および24P4C12遺伝子産物またはH38087遺伝子産物の変異体形態をコードするポリヌクレオチドの単離を可能にする。24P4C12遺伝子またはH38087遺伝子をコードする全長cDNAを単離するために利用され得る種々の分子クローニング方法は、周知である(例えば、Sambrook, J.ら、Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 第2版、Cold Spring Harbor Press, New York, 1989; Current Protocols in Molecular Biology. Ausubelら編、Wiley

and Sons, 1995を参照のこと)。例えば、ファージクローニング方法論が、市販のクローニング系を使用して慣用的に利用され得る(例えば、Lambda ZAP Express, Stratagene)。24P4C12遺伝子cDNAまたはH38087遺伝子cDNAを含むファージクローンは、標識された24P4C12cDNAまたはそのフラグメント、あるいは標識されたH38087cDNAまたはそのフラグメントを用いて調べることにより同定され得る。例えば、一つの実施形態において、24P4C12cDNA(図1A~1D;配列番号1)またはその一部分が、合成され、そしてプローブとして使用されて、24P4C12遺伝子に対応する重複するcDNAおよび24P4C12遺伝子に対応する全長cDNAを回収し得る。24P4C12遺伝子自体は、24P4C12DNAプローブまたはプライマーを使用して、ゲノムDNAライブラリー、細菌人工染色体ライブラリー(BAC)、酵母人工染色体ライブラリー(YAC)などをスクリーニングすることによって単離され得る。

【0051】

(組換えDNA分子および宿主-ベクター系)

本発明はまた、24P4C12またはH38087ポリヌクレオチドを含む組換えDNAまたはRNA分子(これには、当該分野において周知のファージ、プラスミド、ファージミド、コスミド、YAC、BAC、ならびに種々のウイルス性および非ウイルス性ベクターが含まれるが、これらに限定されない)、およびこのような組換えDNAまたはRNA分子で形質転換またはトランスフェクトされた細胞を提供する。本明細書中で使用される場合、組換えDNAまたはRNA分子は、インビトロでの分子操作に供されたDNAまたはRNA分子である。このような分子を生成するための方法は周知である(例えば、Sambrookら、1989(前出)を参照のこと)。

【0052】

本発明はさらに、適切な原核生物宿主細胞または真核生物宿主細胞において24P4C12および/またはH38087ポリヌクレオチドを含む組換えDNA分子を含む、宿主-ベクター系を提供する。適切な真核生物宿主細胞の例としては、酵母細胞、植物細胞、または動物細胞(例えば、哺乳動物細胞または昆虫細胞)

胞（例えば、バキュロウイルス感染可能細胞（例えば、Sf9細胞またはHighFive細胞））が挙げられる。適切な哺乳動物細胞の例としては、種々の前立腺癌細胞株（例えば、LnCaP、PC3、DU145、LAPC4、TsuPr1、他のトランスフェクト可能であるかまたは形質導入可能な前立腺細胞株）、ならびに組換えタンパク質の発現のために慣用的に使用される多くの哺乳動物細胞（例えば、COS細胞、CHO細胞、293細胞、293T細胞）が挙げられる。より詳細には、24P4C12またはH38087のコード配列を含むポリヌクレオチドを使用し、当該分野で慣用的に使用され、そして広く知られたかなり多数の宿主-ベクター系を用いて、24P4C12もしくはH38087タンパク質またはそれらのフラグメントを生成し得る。

【0053】

24P4C12およびH38087タンパク質またはそれらのフラグメントの発現に適切な広範な種々の宿主-ベクター系が利用可能である（例えば、Sambrookら、1989（前出）；Current Protocols in Molecular Biology、1995（全出）を参照のこと）。哺乳動物での発現に好ましいベクターとしては、pcDNA3.1myc-His-tag（Invitrogen）およびレトロウイルスベクターpSRtkneo（Mullerら、1991、MCB 11:1785）が挙げられるが、これらに限定されない。これらの発現ベクターを使用して、24P4C12またはH38087は、好ましくは、いくつかの前立腺癌細胞株および非前立腺癌細胞株（例えば、293、293T、rat-1、NIH3T3、PC3、LNCaPおよびTsuPr1を含む）において発現させ得る。本発明の宿主-ベクター系は、24P4C12もしくはH38087タンパク質またはそれらのフラグメントの産生のために有用である。このような宿主-ベクター系は、24P4C12またはH38087および24P4C12またはH38087変異の機能的特性を研究するために使用され得る。

【0054】

組換えヒト24P4C12またはH38087タンパク質は、24P4C12またはH38087をコードする構築物でトランスフェクトされた哺乳動物細胞

によって産生され得る。実施例に記載した例示的な実施形態において、293T細胞は、24P4C12をコードする発現プラスミドでトランスフェクトされ得、この24P4C12タンパク質は、293T細胞において発現され、そして組換え24P4C12タンパク質は、標準的な精製方法（例えば、抗24P4C12抗体を使用するアフィニティ精製）を使用して単離され得る。本明細書中の実施例において同様に記載される別の実施形態では、24P4C12コード配列は、レトロウイルスベクターpSR tkneo中にサブクローン化され、そして種々の哺乳動物細胞株（例えば、NIH 3T3、PC3およびLnCaP）に感染するために使用されて、24P4C12発現細胞株を確立する。当該分野において周知の種々の他の発現系もまた使用され得る。24P4C12コード配列にインフレームで連結されたリーダーペプチドをコードする発現構築物は、組換え24P4C12タンパク質の分泌形態の産生のために使用され得る。

【0055】

24P4C12もしくはH38087遺伝子またはそれらのフラグメントによってコードされるタンパク質は、種々の用途を有する。これには、以下が挙げられるが、これらに限定されない：抗体の産生、および24P4C12またはH38087遺伝子産物に結合する、リガンドおよび他の因子および細胞構成要素を同定するための方法において。24P4C12もしくはH38087タンパク質またはそれらのフラグメントに対して惹起された抗体は、診断および予後アッセイにおいて、そして24P4C12タンパク質の発現によって特徴付けられるヒト癌（前立腺の癌を含むが、これに限定されない）の管理における画像化方法において有用であり得る。このような抗体は、細胞内で発現され得、そしてこのような癌を有する患者を処置する方法において使用され得る。24P4C12またはH38087タンパク質の検出のために有用な種々の免疫学的アッセイが意図され、これには、種々の型のラジオイムノアッセイ、酵素結合イムノソルベント検定法（ELISA）、酵素結合免疫蛍光アッセイ（ELIFA）、免疫細胞学的方法などが挙げられるが、これらに限定されない。このような抗体は、標識され得、そして24P4C12またはH38087発現細胞を検出し得る免疫学的画像化試薬として使用され得る（例えば、ラジオシンチグラフィ（radios

c i n t i g r a p h i c) 画像化方法において)。24P4C12タンパク質はまた、以下にさらに記載されるように、癌ワクチンを生成するにおいて特に有用であり得る。

【0056】

(24P4C12ポリペプチド)

本発明の別の局面は、24P4C12タンパク質およびそのポリペプチドフラグメントを提供する。本発明の24P4C12タンパク質としては、本明細書中で特に同定されたタンパク質、ならびに以下に概説される方法に従って過度な実験を伴わずに単離/生成および特徴付けされ得る対立遺伝子改変体、保存的置換改変体およびホモログが挙げられる。異なる24P4C12タンパク質またはそのフラグメントの部分を組合せる融合タンパク質、ならびに24P4C12タンパク質および異種ポリペプチドの融合タンパク質もまた含まれる。このような24P4C12タンパク質は、集合的に、24P4C12タンパク質、本発明のタンパク質、または24P4C12という。本明細書中で使用される場合、用語「24P4C12ポリペプチド」は、少なくとも10個のアミノ酸(好ましくは、少なくとも15個のアミノ酸)のポリペプチドフラグメントまたは24P4C12タンパク質をいう。

【0057】

24P4C12タンパク質の特定の実施形態は、図1A~1D(配列番号2)に示されるようなヒト24P4C12のアミノ酸配列を有するポリペプチドを含む。あるいは、24P4C12タンパク質の実施形態は、図1A~1D(配列番号2)に示されるようなヒト24P4C12のアミノ酸配列において変更を有する改変体ポリペプチドを含む。

【0058】

一般的に、ヒト24P4C12の天然に存在する対立遺伝子改変体は、高い程度の構造的同一性および相同性(例えば、90%以上の同一性)を共有する。代表的に、24P4C12タンパク質の対立遺伝子改変体は、本明細書中に記載される24P4C12配列内に保存的アミノ酸置換を含むか、または24P4C12ホモログにおいて対応する位置に由来するアミノ酸の置換を含む。24P4C

12対立遺伝子改変体の1つのクラスは、特定の24P4C12アミノ酸配列の少なくとも小さな領域と高い程度の相同性を共有するが、この配列とは根本的な背反(例えば、非保存的置換、短縮化(truncation)、挿入、またはフレームシフト)をさらに含むタンパク質である。

【0059】

保存的アミノ酸置換はしばしば、タンパク質のコンフォメーションも機能も変更することなく、タンパク質中で作製され得る。このような変化としては、以下が挙げられる：任意のイソロイシン(I)、バリン(V)、およびロイシン(L)の、任意の他のこれらの疎水性アミノ酸についての置換；グルタミン酸(E)に対するアスパラギン酸(D)、およびその逆の置換；アスパラギン(N)に対するグルタミン(Q)、およびその逆の置換；ならびに、スレオニン(T)に対するセリン(S)、およびその逆の置換。他の置換はまた、タンパク質の三次元構造における特定のアミノ酸の環境およびその役割に依存して、保存的とみなされ得る。例えば、グリシン(G)およびアラニン(A)は、しばしば交換可能であり得、アラニン(A)およびバリン(V)も同様であり得る。比較的疎水性であるメチオニン(M)はしばしば、ロイシンおよびイソロイシンと交換可能であり得、そして時としてバリンと交換可能であり得る。リシン(K)およびアルギニン(R)はしばしば、そのアミノ酸残基の重要な特徴がその電荷であり、そしてこれら2つのアミノ酸残基の異なるpKが重要でない位置において、交換可能である。さらに他の変化が、特定の状況において、「保存的」とみなされ得る。

【0060】

本明細書中に開示される本発明の実施形態は、広範な種々の当該分野で認められた24P4C12タンパク質の改変体(例えば、アミノ酸の挿入、欠失および置換を有するポリペプチド)を含む。24P4C12改変体は、当該分野において公知の方法(例えば、部位特異的変異誘発、アラニンスキニング(alanine scanning)、およびPCR変異誘発)を使用して作製され得る。部位特異的変異誘発[Carterら、Nud. Acids Res. 13: 4331(1986); Zollerら、Nud. Acids Res. 10: 6487(1987)]、カセット式変異誘発[Wellら、Gene 34:

315(1985)]、制限選択的変異誘発[Wellsら、Philos. Trans. R. Soc. London Ser A 317:415(1986)]または他の公知技術を、クローン化されたDNAにおいて実施し、24P4C12改変体DNAを産生し得る。走査型アミノ酸分析もまた、連続配列に沿って1以上のアミノ酸を同定するために使用され得る。とりわけ好ましい走査アミノ酸は、比較的小さい中性アミノ酸である。このようなアミノ酸としては、アラニン、グリシン、セリン、およびシステインが挙げられる。アラニンが、代表的に、この群の中で好ましい走査アミノ酸である。なぜなら、アラニンは、炭素を越えて鎖を排除し、そして改変体の主鎖コンフォメーションを変更する可能性が低いからである。アラニンが、代表的に好ましい。なぜなら、アラニンは、最も一般的なアミノ酸であるからである。さらに、埋没位置および露出位置の両方において、頻繁に見出される[Creighton、The Proteins (W. H. Freeman & Co., NY); Chothia、J. Mol. Biol. 150:1(1976)]。アラニン置換が適切な量の改変体を生じない場合には、同配体アミノ酸が使用され得る。

【0061】

上記で考察したように、特許請求された本発明の実施形態は、図1A~1D(配列番号2)に示される24P4C12タンパク質の710未満のアミノ酸配列を含むポリペプチドを含む。例えば、本明細書中に開示される本発明の代表的な実施形態は、以下が挙げられる：図1A~1D(配列番号2)に示される24P4C12タンパク質の約アミノ酸1個~約アミノ酸10個からなるポリペプチド、図1A~1D(配列番号2)に示される24P4C12タンパク質の約アミノ酸20個~約アミノ酸30個からなるポリペプチド、図1A~1D(配列番号2)に示される24P4C12タンパク質の約アミノ酸30個~約アミノ酸40個からなるポリペプチド、図1A~1D(配列番号2)に示される24P4C12タンパク質の約アミノ酸40個~約アミノ酸50個からなるポリペプチド、図1A~1D(配列番号2)に示される24P4C12タンパク質の約アミノ酸50個~約アミノ酸60個からなるポリペプチド、図1A~1D(配列番号2)に示される24P4C12タンパク質の約アミノ酸60個~約アミノ酸70個からなる

るポリペプチド、図1A～1D（配列番号2）に示される24P4C12タンパク質の約アミノ酸70個～約アミノ酸80個からなるポリペプチド、図1A～1D（配列番号2）に示される24P4C12タンパク質の約アミノ酸80個～約アミノ酸90個からなるポリペプチド、および図1A～1D（配列番号2）に示される24P4C12タンパク質の約アミノ酸90個～約アミノ酸100個からなるポリペプチドなど。このスキームに従って、24P4C12タンパク質のアミノ酸100～710のアミノ酸配列の部分からなるポリペプチドが、本発明の代表的な実施形態である。24P4C12タンパク質のより大きな部分からなるポリペプチドもまた意図される。例えば、図1A～1D（配列番号2）に示される24P4C12タンパク質の約アミノ酸1（または、20もしくは30もしくは40など）個～約アミノ酸20（または、30もしくは40もしくは50など）個からなるポリペプチドが、当該分野において周知の種々の技術によって生成され得る。

【0062】

本明細書中に開示される本発明のさらなる例示的な実施形態は、図1A（配列番号2）に示されるような24P4C12ポリペプチド配列内に含まれる1以上の生物学的モチーフのアミノ酸残基を含む24P4C12ポリペプチドである。1つの実施形態では、本発明の代表的ポリペプチドは、図1A～1D（配列番号2）に示される1以上の膜貫通領域、またはH38087、NG22もしくはCEEB82Fに対して相同性を示す24P4C12の1以上の領域を含み得る。別の実施形態では、本発明の代表的ポリペプチドは、残基29～32（図1Aに示される最初のアミノ酸残基から番号付ける）でNRSC（配列番号8）、残基69～72におけるNSTG（配列番号9）、残基155～158におけるNMTV（配列番号10）、残基197～200におけるNDTT（配列番号11）、残基298～301におけるNLSA（配列番号12）、残基393～396におけるNISS（配列番号13）、残基405～408におけるNTSC（配列番号14）、残基416～419におけるNSSC（配列番号15）、および/または残基678～681におけるNGSL（配列番号16）のような1以上の24P4C12 N-グリコシル化部位を含み得る。別の実施形態では、本

発明の代表的ポリペプチドは、残基22～24におけるSFR、残基218～220におけるSVK、残基430～432におけるSSK、残基494～496におけるTLR、残基573～575におけるSAK、および/または残基619～621におけるSGRのような1以上の24P4C12タンパク質キナーゼCリン酸化部位を含み得る。別の実施形態では、本発明の代表的ポリペプチドは、残基31～34でSCTD(配列番号17)、残基102～105におけるSVAE(配列番号18)、残基119～122におけるSCPE(配列番号19)、残基135～138におけるTVGE(配列番号20)、および/または残基304～307におけるSVQE(配列番号21)のような1以上の24P4C12カゼインキナーゼIIリン酸化部位を含み得る。別の実施形態では、本発明の代表的ポリペプチドは、残基6～13におけるRDEDEAY(配列番号22)のような1以上のチロシンキナーゼリン酸化部位を含み得る。別の実施形態では、本発明の代表的ポリペプチドは、残基72～77におけるGAYCGM(配列番号23)、残基76～81におけるGMGENK(配列番号24)、残基151～156におけるGVPWNM(配列番号25)、残基207～212におけるGLIDSL(配列番号26)、残基272～277におけるGIYYCW(配列番号27)、残基287～292におけるGASISQ(配列番号28)、残基379～354におけるGQMMS T(配列番号29)、残基449～454におけるGLFWTL(配列番号30)および/または残基467～472におけるGAFASF(配列番号31)のような1以上のN-ミリスチル化部位を含み得る。別の実施形態では、本発明の代表的ポリペプチドは、残基695～698におけるLGKK(配列番号32)のような1以上のアミド化部位を含み得る。別の実施形態では、本発明の代表的ポリペプチドは、残基245～266におけるLFILLRLVAGPLVLVILGVL(配列番号33)のようなロイシンジッパーパターンを含み得る。これらの本発明の関連した実施形態としては、上記で考察された異なるモチーフの組合せを含むポリペプチドが挙げられ、好ましい実施形態は、これらのポリペプチドのモチーフまたは介在配列のいずれにも、挿入も欠失も置換も含んでいないポリペプチドである。

【0063】

本発明のなお別の実施形態において、代表的なポリペプチドは、1以上の24P4C12の選択的スプライシング改変体に対して固有のアミノ酸配列を含み得る。24P4C12の選択的スプライシング改変体のモニタリングは、有用である。なぜなら、タンパク質の選択的スプライシング改変体における変化は、癌の進行を導く一連の事象における1つの工程として示唆されているからである(例えば、Carstensら、Oncogene 15(250:3059-3065(1997))を参照のこと)。結果として、24P4C12の選択的スプライシング改変体のモニタリングは、24P4C12遺伝子産物における摂動に関連する症候群(例えば、癌)を評価するためのさらなる手段を提供する。

【0064】

上記で議論された1以上の24P4C12モチーフからなるポリペプチドは、この上記で議論された24P4C12モチーフが増殖調節不全に関連するという観察の観点から、そして24P4C12が癌において過剰発現されるので(図5)、悪性疾患表現型の特異的特性の解明に有用である。例えば、カゼインキナーゼII、ならびにcAMPおよびcCMP依存性タンパク質キナーゼは、悪性疾患表現型の発生に関連することが公知の酵素である(例えば、Chenら、Lab Invest., 78(2):165-174(1998); Gaiddoniら、Endocrinology 136(10):4331-4338(1995)、およびHallら、Nucleic Acids Research 24(6):1119-1126(1996)を参照のこと)。さらに、グリコシル化およびミリスチル化の両方は、癌および癌進行にまた関連するタンパク質修飾である(例えば、Dennisら、Biochim. Biophys. Acta 1473(1):21-34(1999); Rajuら、Exp. Cell Res. 235(1):145-154(1997)を参照のこと)。

【0065】

前述の段落のポリペプチドは、多くの異なる特異的用途を有する。24P4C12は、前立腺癌において高度に発現されることが示されるので(図2A、3C、5、6)、これらのポリペプチドは、正常組織対癌性組織における24P4C12遺伝子産物の状態を評価するための方法、および悪性疾患表現型を解明

するための方法において使用され得る。代表的に、24P4C12タンパク質の特定の領域をコードするポリペプチドは、24P4C12遺伝子産物の特定の領域（例えば、膜貫通ドメインを含む領域）における摂動（例えば、欠失、挿入、点変異など）の存在を評価するために使用され得る。例示的アッセイは、24P4C12ポリペプチド配列内に含まれる1以上の生物学的モチーフのアミノ酸残基を含む24P4C12ポリペプチドを標的化する抗体を利用して、正常組織対癌性組織における、この領域の特性を解明し得る。あるいは、24P4C12ポリペプチド配列内に含まれる1以上の生物学的モチーフのアミノ酸残基を含む24P4C12ポリペプチドは、24P4C12のこの領域と相互作用する因子をスクリーニングするために使用され得る。

【0066】

上記で議論されたように、遺伝コードにおける縮重は、24P4C12遺伝子配列における変更を可能にする。特に、当業者は、特定の宿主種に好ましい特定のコードンを認識し、そして所望の宿主に好ましいように、開示された配列を適応させ得る。例えば、好ましいコードン配列は、代表的に、希少コードン（すなわち、所望の宿主の公知の配列において、約20%未満の使用頻度を有するコードン）が、高頻度のコードンで置換されている。特定の生物についてのコードンの好ましさは、例えば、以下のアドレスの、INTERNET上で利用可能なコードン使用表を利用することによって算出され得る：<http://www.dna.affrc.go.jp/~nakamura/codon.html>。約20%未満の使用頻度を有する任意のコードンを置換することによって、特定の宿主種について最適化されたヌクレオチド配列は、本明細書中で「コードン最適化配列」といわれる。

【0067】

さらなる配列改変が、細胞宿主におけるタンパク質発現を増強するのに公知である。これらとしては、偽性のポリアデニル化シグナル、エキソン/イントロンスプライシング部位シグナル、トランスポゾン様反復をコードする配列、および/または遺伝子発現に有害であり得る、他のこのような、よく特徴付けられた配列の排除が挙げられる。配列のGC含量は、所定の細胞宿主について、その宿主

細胞において発現される公知の遺伝子を参照して算出されるように、平均レベルに調整され得る。可能な場合、この配列はまた、予測されるヘアピンmRNA二次構造を回避するように改変され得る。他の有用な改変としては、Kozak, Mol. Cell. Biol. 9: 5073 - 5080 (1989)に記載のように、オープンリーディングフレームの開始部位での、翻訳開始コンセンサス配列の付加が挙げられる。コドン最適化に加えて、偽性のポリアデニル化配列の排除、エキソン/イントロンスプライシングシグナルの排除、トランスポゾン様反復の排除、および/またはGC含量の最適化によって、所定の宿主種における発現を最適化されたヌクレオチド配列は、本明細書中で、「発現増強配列」と呼ばれる。

【0068】

24P4C12タンパク質は、多くの形態、好ましくは、単離された形態で具体化され得る。本明細書中で使用される場合、物理的方法、機械的方法または化学的方法を使用して、24P4C12タンパク質に通常関連する細胞成分からこの24P4C12タンパク質を取り出した場合に、タンパク質が「単離された」といわれる、当業者は、標準的な精製方法を容易に使用して、単離された24P4C12タンパク質を獲得し得る。精製された24P4C12タンパク質分子は、24P4C12の抗体または他のリガンドへの結合を損なう、他のタンパク質または分子を実質的に含まない。単離および精製の性質および程度は、意図される用途に依存する。24P4C12タンパク質の実施形態として、精製された24P4C12タンパク質、および機能的な可溶性24P4C12タンパク質が挙げられる。1つの形態において、このような機能的な可溶性24P4C12タンパク質またはそのフラグメントは、抗体または他のリガンドを結合する能力を保持する。

【0069】

本発明はまた、24P4C12アミノ酸配列の生物学的に活性なフラグメント（例えば、図1A～1D（配列番号2）に示されるような24P4C12のアミノ酸配列の部分に対応するポリペプチド）を含む、24P4C12ポリペプチドを提供する。本発明のこのようなポリペプチドは、24P4C12タンパク質の

特性（例えば、24P4C12タンパク質に関連するエピトープを特異的に結合する抗体の産生を誘発する能力）を示す。

【0070】

24P4C12ポリペプチドは、本明細書中に開示されるヒト24P4C12タンパク質のアミノ酸配列に基づいて、当該分野において周知の、標準的なペプチド合成技術または化学切断方法を使用して生成され得る。あるいは、組換え方法を使用して、24P4C12タンパク質のポリペプチドフラグメントをコードする核酸分子を生成し得る、この点において、本明細書中に記載される24P4C12コード核酸分子は、24P4C12タンパク質の規定のフラグメントを生成するために手段を提供する。24P4C12ポリペプチドは、ドメイン特異的抗体（例えば、24P4C12タンパク質の細胞外エピトープおよび細胞内エピトープを認識する抗体）の生成および特徴付け、24P4C12またはその特定の構造ドメインに結合する薬剤または細胞因子の同定、および種々の治療状況（癌ワクチンを含むが、これらに限定されない）において、特に有用である。

【0071】

特定の興味深い構造を含む24P4C12ポリペプチドは、例えば、以下：Chou-Fasman、Garnier-Robson、Kyte-Doolittle、Eisenberg、Karplus-SchultzまたはJamerson-Wolf分析の方法を含む、当該分野で周知の種々の分析技術を使用するか、または免疫原性に基づいて、予測および/または同定され得る。このような構造を含むフラグメントは、サブユニット特異的抗24P4C12抗体の生成、または24P4C12に結合する細胞因子の同定において、特に有用である。

【0072】

以下の実施例に記載される実施形態において、24P4C12は、市販の発現ベクター（例えば、C末端6×HisおよびMYCタグを含む、24P4C12をコードするCMV駆動発現ベクター（pcDNA3.1/mycHis、Invitrogen））でトランスフェクトされた細胞（例えば、293T細胞）において、簡便に発現され得る。細胞において発現されたHISタグ化24P4

C12は、標準的な技術を使用して、ニッケルカラムを使用して精製され得る。

【0073】

24P4C12の改変(例えば、共有結合性改変)は、本発明の範囲内に含まれる。1つの型の共有結合性改変としては、24P4C12の選択された側鎖あるいはN末端残基またはC末端残基と反応し得る有機誘導体化薬剤での、24P4C12ポリペプチドの標的化されたアミノ酸残基の反応が挙げられる。本発明の範囲内の24P4C12ポリペプチドの別の型の共有結合性改変としては、このポリペプチドのネイティブなグリコシル化パターンの変更が挙げられる。「ネイティブなグリコシル化パターンの変更」は、本明細書中の目的に含まれ、ネイティブ配列24P4C12に見い出される1以上の炭水化物部分の欠失(基礎となるグリコシル化部位の除去、または化学的手段および/または酵素的手段によるグリコシル化の欠失のいずれかによって)、および/またはネイティブ配列24P4C12に存在しない、1以上のグリコシル化部位の付加を意味する。さらに、この句は、存在する種々の炭水化物部分の性質および割合の変更を含む、ネイティブタンパク質のグリコシル化の質的变化を含む。24P4C12の別の型の共有結合性改変としては、米国特許第4,640,835号、同第4,496,689号、同第4,301,144号、同第4,670,417号、同第4,791,192号または同第4,179,337号に示されるような様式の、種々の非タンパク質様ポリマー(例えば、ポリエチレングリコール(PEG)、ポリプロピレングリコールまたはポリオキシアルキレン)のうちの1つへの、24P4C12ポリペプチドの連結が挙げられる。

【0074】

本発明の24P4C12はまた、別の異種ポリペプチドまたはアミノ酸配列に融合された24P4C12を含むキメラ分子を形成する様式で、改変され得る。1つの実施形態において、このようなキメラ分子としては、ポリヒスチジンエピトープタグを有する24P4C12の融合体が挙げられ、このタグは、固定されたニッケルが選択的に結合し得るエピトープを提供する。このエピトープタグは、一般に、24P4C12のアミノ末端またはカルボキシル末端に配置される。代替的实施形態において、このキメラ分子は、24P4C12の免疫グロブリン

または免疫グロブリンの特定の領域との融合体を含み得る。キメラ分子の二価形態（「免疫付着因子（immuno adhesion）」とも呼ばれる）について、このような融合体は、IgG分子のFc領域に対するものであり得る。このIg融合体は、好ましくは、Ig分子内の少なくとも1つの可変領域の、24P4C12ポリペプチドの可溶性（膜貫通ドメインを欠失または不活性化した）形態での置換を含む。特に好ましい実施形態において、免疫グロブリン融合体は、IgG分子のヒンジ領域、CH2領域およびCH3領域、またはヒンジ領域、CH1領域、CH2領域およびCH3領域を含む。免疫グロブリン融合体の産生については、米国特許第5,428,130号（1995年6月27日公布）もまた参照のこと。

【0075】

（H38087ポリペプチド）

本発明の別の局面は、H38087タンパク質およびそのポリペプチドフラグメントを提供する。本発明のH38087タンパク質としては、本明細書中で特異的に同定されたH38087タンパク質、ならびに本明細書中に概略される方法に従って過度の実験を伴わずに、単離/生成および特徴付けされ得る、対立遺伝子改変体、保存的置換改変体およびホモログが挙げられる。異なるH38087タンパク質またはそのフラグメントの部分を組み合わせた融合タンパク質、ならびにH38087タンパク質と異種ポリペプチドとの融合タンパク質もまた、含まれる。このようなH38087タンパク質をまとめて、H38087タンパク質またはH38087と称する。本明細書中で使用される場合、用語「H38087ポリペプチド」とは、少なくとも10アミノ酸、好ましくは、少なくとも15アミノ酸の、ポリペプチドフラグメントまたはH38087タンパク質をいう。

【0076】

上記で議論されたように、本発明の実施形態は、図7A～7D（配列番号7）に示されるH38087タンパク質の704アミノ酸の配列未満を含むポリペプチドを含む。例えば、本明細書中に開示される本発明の代表的な実施形態は、図7A～7D（配列番号7）に示されるH38087タンパク質の約アミノ酸1～

約アミノ酸10からなるポリペプチド、図7A~7D(配列番号7)に示されるH38087タンパク質の約アミノ酸20~約アミノ酸30からなるポリペプチド、図7A~7D(配列番号7)に示されるH38087タンパク質の約アミノ酸30~約アミノ酸40からなるポリペプチド、図7A~7D(配列番号7)に示されるH38087タンパク質の約アミノ酸40~約アミノ酸50からなるポリペプチド、図7A~7D(配列番号7)に示されるH38087タンパク質の約アミノ酸50~約アミノ酸60からなるポリペプチド、図7A~7D(配列番号7)に示されるH38087タンパク質の約アミノ酸60~約アミノ酸70からなるポリペプチド、図7A~7D(配列番号7)に示されるH38087タンパク質の約アミノ酸70~約アミノ酸80からなるポリペプチド、図7A~7D(配列番号7)に示されるH38087タンパク質の約アミノ酸80~約アミノ酸90からなるポリペプチド、および図7A~7D(配列番号7)に示されるH38087タンパク質の約アミノ酸90~約アミノ酸100からなるポリペプチドなど、を含む。このスキームに従って、H38087タンパク質のアミノ酸100~710のアミノ酸配列の部分からなるポリペプチドは、本発明の代表的な実施形態である。H38087タンパク質のより大きい部分からなるポリペプチドもまた、意図される。例えば、図7A~7D(配列番号7)に示されるH38087タンパク質の約アミノ酸1(または20、または30、または40など)~約アミノ酸20(または30、または40、または50など)からなるポリペプチドが、当該分野で周知の種々の技術によって生成され得る。

【0077】

本明細書中に開示される本発明のさらなる例示的实施形態としては、図7(配列番号7)に示されるようなH38087ポリペプチド配列内に含まれる1以上の生物学的モチーフのアミノ酸残基を含むH38087ポリペプチドが挙げられる。1つの実施形態において、本発明の代表的なポリペプチドは、図7A~7Dに示される1以上の膜貫通領域、または24P4C12、NG22 OR CEE S B 8 2 Fに対して相同性を示すH38087の1以上の領域を含み得る。別の実施形態において、本発明の代表的なポリペプチドは、1以上のH38087のNグリコシル化部位(例えば、残基185~188(番号は、図7に示される

アミノ酸残基の最初のアミノ酸からの番号)のNETT(配列番号46)、残基198~201のNITD(配列番号47)、および/または残基695~698のNKTN(配列番号48))を含み得る。別の実施形態において、本発明の代表的なポリペプチドは、1以上のH38087タンパク質キナーゼCリン酸化部位(例えば、残基19~21のTFK、残基126~128のSSR、残基195~197のSRK、残基402~404のTAK、残基574~576のSAR、残基620~622のTHR、残基689~691のTLK、および/または残基697~699のTNK))を含み得る。別の実施形態において、本発明の代表的なポリペプチドは、1以上のH38087カゼインキナーゼIIリン酸化部位(例えば、残基54~57のTHGD(配列番号49)、残基67~70のSRGE(配列番号50)、残基77~80のTKNE(配列番号51)、残基126~129のSSRD(配列番号52)、残基187~190のTTYE(配列番号53)、残基188~191のTYED(配列番号54)、残基293~296のSLVD(配列番号55)、残基321~234のSILE(配列番号56)、残基385~388のTSNE(配列番号57)、および/または残基413~416のSSHE(配列番号58))を含み得る。別の実施形態において、本発明の代表的なポリペプチドは、1以上のチロシンキナーゼリン酸化部位(例えば、残基125~133のRSSRDFEYY(配列番号59))を含み得る。別の実施形態において、本発明の代表的なポリペプチドは、1以上のNミリスチル化部位(例えば、残基73~78のGQKGTK(配列番号60)、残基184~189のGNETTY(配列番号61)、残基194~199のGSRKNI(配列番号62)、残基205~210のGAKKAN(配列番号63)、残基211~216のGVLEAR(配列番号64)、残基236~241のGLVIAM(配列番号65)、残基273~278のGIFHCY(配列番号66)、残基289~294のGSDVSL(配列番号67)、残基431~436のGGESGY(配列番号68)、残基468~473のGAFASY(配列番号69)、および/または残基568~573のGTNFCT(配列番号70))を含み得る。これらの発明に関連する実施形態は、上記で議論された異なるモチーフの組み合わせを含むポリペプチドを含み、好ましい実施形態は

、これらのポリペプチドのモチーフまたは介在配列のいずれかの内で、挿入、欠失または置換を含まないポリペプチドである。

【0078】

本発明のH38087ポリペプチドは、当業者に公知かつ明らかなように、24P4C12ポリペプチドについての上記の様式と類似の様式で、改変、生成および使用され得る。

【0079】

(24P4C12抗体)

用語「抗体」は、広い意味で使用され、そして特に、単一の抗24P4C12モノクローナル抗体(アゴニスト、アンタゴニストおよび中和抗体を含む)、およびポリエピトープ(polyepitopic)特性を有する抗24P4C12抗体組成物を含む。本明細書中で使用される場合、用語「モノクローナル抗体」(mAb)とは、実質的に均質な抗体の集団(すなわち、個々の集団を含む抗体は、少量で存在し得る潜在的な天然に存在する変異を除いて、同一である)から得られた抗体をいう。

【0080】

本発明の別の局面は、24P4C12タンパク質およびポリペプチドに結合する抗体を提供する。最も好ましい抗体は、24P4C12タンパク質に特異的に結合し、そして非24P4C12タンパク質およびポリペプチドに結合しない(または、弱く結合する)。特に意図される抗24P4C12抗体としては、モノクローナル抗体およびポリクローナル抗体、ならびにこれらの抗体の抗原結合ドメインおよび/または1以上の相補性決定領域を含むフラグメントが挙げられる。本明細書中で使用される場合、抗体フラグメントは、その標的に結合する免疫グロブリン分子の可変領域(すなわち、抗原結合領域)の少なくとも一部として定義される。

【0081】

本発明の24P4C12抗体は、前立腺癌の診断アッセイおよび予後アッセイ、ならびに画像化方法において特に有用であり得る。細胞内発現された抗体(例えば、単鎖抗体)は、24P4C12の発現が関連する癌(例えば、進行性およ

び転移性の前立腺癌)の処置に治療的に有用であり得る。毒素または治療分子の送達のために、24P4C12機能に干渉するか、または24P4C12の細胞外領域を標的化する、全身投与された24P4C12抗体もまた、前立腺癌の処置のための治療方法において有用である。このような毒素または治療分子の送達は、24P4C12抗体またはそのフラグメントに対して第2の分子を結合体化させる公知の方法を使用して、達成され得る。同様に、このような抗体は、24P4C12が他の型の癌でもまた発現または過剰発現される限り、他の癌の処置、診断および/または予後に有用であり得る。

【0082】

本発明はまた、24P4C12および変異体24P4C12のタンパク質およびポリペプチドの、検出および定量に有用な種々の免疫学的アッセイを提供する。このようなアッセイは、一般に、適切には、24P4C12または変異体24P4C12タンパク質を認識および結合し得る、1以上の24P4C12抗体を含み、そして、以下を含むが、これらに限定されない当該分野で周知の種々の免疫学的アッセイ形式で行われ得る：種々の型のラジオイムノアッセイ、酵素連結免疫吸着アッセイ(ELISA)、酵素連結免疫蛍光アッセイ(ELIFA)など。さらに、前立腺癌および24P4C12を発現する他の癌を検出し得る、免疫学的画像化方法もまた、本発明によって提供され、これらには、標識した24P4C12抗体を使用するラジオシンチグラフィ画像化方法が挙げられるが、これらに限定されない。このようなアッセイは、24P4C12を発現する癌(例えば、前立腺癌)の検出、モニタリングおよび予後において、臨床的に有用であり得る。

【0083】

24P4C12抗体はまた、24P4C12および変異体24P4C12のタンパク質およびポリペプチドの精製、および24P4C12ホモログおよび関連分子の単離のための方法において使用され得る。例えば、1つの実施形態において、24P4C12タンパク質を精製する方法は、24P4C12抗体(これは、固体マトリックスに結合されている)を、24P4C12を含有する溶解物または他の溶液と共に、この24P4C12抗体が24P4C12に結合するのを

可能にする条件下でインキュベートする工程；固体マトリックスを洗浄して不純物を除去する工程；および24P4C12をその結合された抗体から溶出する工程を包含する。本発明の24P4C12抗体の他の用途としては、24P4C12タンパク質を模倣する抗イディオタイプ抗体の生成が挙げられる。

【0084】

抗体の調製のための種々の方法が、当該分野で周知である。例えば、抗体は、単離または免疫結合体化された形態の、24P4C12のタンパク質、ペプチドまたはフラグメントを使用して、適切な哺乳動物宿主を免疫することによって調製され得る (Antibodies: A Laboratory Manual, CSH Press 編、HarlowおよびLane (1988); Harlow、Antibodies, Cold Spring Harbor Press, NY (1989))。さらに、24P4C12の融合タンパク質 (例えば、24P4C12 GST融合タンパク質) もまた使用され得る。特定の実施形態において、図1A~1D (配列番号2) のオープンリーディングフレームアミノ酸配列の全てまたはほとんどを含むGST融合タンパク質が生成され得、そして適切な抗体を生成するための免疫原として使用され得る。別の実施形態において、24P4C12ペプチドが合成され得、そして免疫原として使用され得る。

【0085】

さらに、当該分野で公知の裸のDNA免疫技術を (精製24P4C12タンパク質または24P4C12発現細胞を伴い、または伴わずに) 使用して、そのコードされる免疫原に対する免疫応答を生成し得る (概要については、Donnellyら、1997、Ann. Rev. Immunol. 15: 617-648を参照のこと)。

【0086】

図1A~1D (配列番号2) に示されるような24P4C12のアミノ酸配列を使用して、抗体を生成するために24P4C12タンパク質の特定の領域を選択し得る。例えば、24P4C12アミノ酸配列の疎水性および親水性分析を使用して、24P4C12構造の疎水性領域を同定し得る。免疫原性構造を示す24P4C12タンパク質の領域、ならびに他の領域およびドメインは、以下のよ

うな当該分野で公知の種々の他の方法を使用して容易に同定され得る：Chou-Fasman、Garnier-Robson、Kyte-Doolittle、Eisenberg、Karplus-SchultzまたはJameson-Wolf分析。24P4C12抗体の生成のための方法はさらに、本明細書中に提供される実施例によって例示される。

【0087】

免疫原としての使用のためのタンパク質またはポリペプチドを調製するための方法、およびキャリア（例えば、BSA、KLHまたは他のキャリアタンパク質）とのタンパク質の免疫結合体を調製するための方法は、当該分野で周知である。いくつかの状況下で、例えば、カルボジイミド試薬を使用する直接的な結合体化が使用され得；他の例において、連結試薬（例えば、Pierce Chemical Co., Rockford, ILによって供給される連結試薬）が、効果的であり得る。24P4C12免疫原の投与は一般に、当該分野で一般に理解されるように、適切な期間にわたって、適切なアジュバントの使用を伴う注射によって行われ得る。免疫スケジュールの間、抗体の力価は、抗体形成の能力（adequacy）を決定することによって理解され得る。

【0088】

ポリクローナル24P4C12抗体は、当該分野で公知の従来技術を使用して調製され得る。このような抗体の調製のための代表的プロトコルは、以下の実施例に記載される。ポリクローナル抗体は、24P4C12に関連する複数のエピトープの高感度の検出に有用であり得る。

【0089】

24P4C12モノクローナル抗体は、当該分野で周知の種々の手段によって産生され得る。例えば、所望のモノクローナル抗体を分泌する不死化細胞株が、一般に公知のように、KohlerおよびMilsteinの標準的なハイブリドーマ技術、または産生性（producing）B細胞を不死化する改変を使用して調製され得る。所望の抗体を分泌する不死化細胞株は、抗原が24P4C12タンパク質または24P4C12フラグメントである免疫アッセイによってスクリーニングされる。所望の抗体を分泌する適切な不死化細胞培養物が同定さ

れた場合、これらの細胞を拡大し、そしてインビトロ培養物または腹水のいずれかから抗体が産生され得る。

【0090】

抗体またはフラグメントはまた、現在の技術を使用する、組換え手順によって産生され得る。24P4C12タンパク質の所望の領域に特異的に結合する領域はまた、複数の種起源のキメラ抗体またはCDR移植化(grafted)抗体の状況下で産生され得る。ヒト化24P4C12抗体またはヒト24P4C12抗体もまた産生され得、そして治療的状況下での使用のために好ましい。1以上の非ヒト抗体CDRを対応するヒト抗体配列と置換することによる、マウス抗体および他の非ヒト抗体をヒト化するための方法は、周知である(例えば、Jonesら、1986、Nature 321:522-525; Riechmanら、1988、Nature 332:323-327; Verhoeyenら、1988、Science 239:1534-1536を参照のこと)。Carterら、1993、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:4285、およびSimsら、1993、J. Immunol. 151:2296もまた参照のこと。完全なヒトモノクローナル抗体を産生するための方法としては、ファージディスプレイ法およびトランスジェニック法が挙げられる(概要について、Vaughanら、1998、Nature Biotechnology 16:535-539を参照のこと)。

【0091】

完全なヒト24P4C12モノクローナル抗体は、大きいヒトIg遺伝子コンビナトリアルライブラリー(すなわち、ファージディスプレイ)を使用するクローニング技術を使用して生成され得る(Protein Engineering of Antibody Molecules for Prophylactic and Therapeutic Applications (Man. Clark, M. 編)、Nottingham Academic、45-64頁(1993)のGriffithsおよびHoogenboom、Building an in vitro immune system: human antibodies from phage display libr

aries; BurtonおよびBarbas、Human Antibodies from combinatorial libraries (同書) 65-82頁)。完全なヒト24P4C12モノクローナル抗体はまた、PCT特許出願WO98/24893 (KucherlapatiおよびJakobovitsら、1997年12月3日提出) に記載されるように、ヒト免疫グロブリン遺伝子座を含むように操作されたトランスジェニックマウスを使用して産生され得る (Jakobovits、1998、Exp. Opin. Invest. Drugs 7(4): 607-614もまた参照のこと)。この方法は、ファージディスプレイ技術に必要とされるインビトロ操作を回避し、そして高親和性の真正ヒト抗体を効率的に産生する。

【0092】

24P4C12抗体の24P4C12タンパク質との反応性は、適切には、24P4C12タンパク質、24P4C12ペプチド、24P4C12発現細胞またはその抽出物を使用する、多くの周知の手段 (ウエスタンブロット、免疫沈降、ELISAおよびFACS分析を含む) によって確証され得る。

【0093】

本発明の24P4C12抗体またはそのフラグメントは、検出可能なマーカーで標識され得るか、または第2の分子に結合体化され得る。適切な検出可能なマーカーとしては、放射性同位体、蛍光化合物、生物発光化合物、化学発光化合物、金属キレート剤または酵素が挙げられるが、これらに限定されない。24P4C12抗体への結合体化のための第2の分子は、意図される用途に従って選択され得る。例えば、治療的用途のために、第2の分子は、毒素または治療薬剤であり得る。さらに、2以上の24P4C12エピトープに特異的な二特異的抗体が、当該分野で一般に公知の方法を使用して生成され得る。ホモダイマー性の抗体もまた、当該分野で公知の架橋技術によって生成され得る (例えば、Wolffら、Cancer Res. 53: 2560-2565)。

【0094】

(H38087抗体)

本発明はまた、H38087に対する抗体 (ポリクローナルおよびモノクロー

ナルの両方)を提供する。これらの抗体は、24P4C12抗体について上記に記載された様式と類似の様式で、改変、生成および使用され得る。H38087の遍在性の発現は、24P4C12特異的治療剤を試験するコントロールとして、および潜在的に24P4C12診断適用における比較のために、H38087を有用なものとする。H38087機能に影響を及ぼす24P4C12特異的治療剤は、正常細胞に対して毒性であり得る。しかし、24P4C12に選択的に影響を及ぼし、H38087には影響しない治療剤は、正常細胞に対してほとんど毒性がないかもしれない。従って、H38087タンパク質および抗体は、24P4C12に対する治療様式についての前臨床試験ツールとして有用であり得る。

【0095】

(24P4C12トランスジェニック動物)

24P4C12またはその改変形態をコードする核酸はまた、トランスジェニック動物または「ノックアウト」動物のいずれかを生成するために使用され得、これらの動物は、次いで、治療的に有用な試薬の開発およびスクリーニングにおいて有用である。トランスジェニック動物(例えば、マウスまたはラット)は、導入遺伝子を含む細胞を有する動物であり、その導入遺伝子は、その動物に、または出生前(例えば、胚段階)でその動物の祖先に導入される。導入遺伝子は、細胞のゲノム内に組み込まれるDNAであり、トランスジェニック動物は、その細胞から発生する。1つの実施形態において、24P4C12をコードするcDNAが、確立された技術に従って、24P4C12コードするゲノムDNAをクローニングするために使用され得、そしてそのゲノム配列は、24P4C12をコードするDNAを発現する細胞を含むトランスジェニック動物を生成するために使用され得る。トランスジェニック動物(特に、マウスまたはラットのような動物)を生成するための方法は、当該分野で慣用的となり、そして例えば、米国特許第4,736,866号および4,870,009号に記載される。代表的に、特定の細胞が、組織特異的エンハンサーと共に24P4C12導入遺伝子の組み込みのために標的化される。胚段階の動物の生殖系列に導入された、24P4C12をコードする1コピーの導入遺伝子を含むトランスジェニック動物を使

用して、24P4C12をコードするDNAの発現の増大の効果を試験し得る。このような動物は、例えば、その過剰発現と関連する病理学的状態からの防御を付与することが考えられる試薬についての、試験動物として使用され得る。本発明のこの局面に従って、動物をその試薬で処置し、そしてこの導入遺伝子を保有する処置していない動物と比較した、その病理学的状態の発生率の減少は、その病理学的状態についての潜在的な治療的介入を示す。

【0096】

あるいは、24P4C12の非ヒトホモログを使用して、24P4C12「ノックアウト」動物を構築し得、この動物は、24P4C12をコードする内因性遺伝子とその動物の胚細胞に導入された24P4C12をコードする改変ゲノムDNAと間の相同組換えの結果として、24P4C12をコードする欠損性または改変型遺伝子を有する。例えば、24P4C12をコードするcDNAを使用して、確立された技術に従って、24P4C12をコードするゲノムDNAをクローニングし得る。24P4C12をコードするゲノムDNAの一部は、欠失され得るか、または別の遺伝子（例えば、組み込みをモニターするために使用され得る、選択マーカーをコードする遺伝子）で置換され得る。代表的に、数千ベースの変更されていない隣接DNA（5'末端および3'末端の両方）が、そのベクターに含まれる[相同組換えベクターの記載については、例えば、ThomasおよびCapecchi、Cell、51:503(1987)を参照のこと]。このベクターは、胚性幹細胞株に（例えば、エレクトロポレーションによって）導入され、そして導入されたDNAが内因性のDNAと相同組換えした細胞が、選択される[例えば、Liら、Cell、69:915(1992)を参照のこと]。次いで、この選択された細胞を、動物（例えば、マウスまたはラット）の胚盤胞に導入し、凝集キメラを形成させる[例えば、Bradley、Teratocarcinomas and Embryonic Stem Cells: A Practical Approach、E.J. Robertson編(IRL, Oxford、1987)、113-152頁を参照のこと]。次いで、キメラ性の胚を、適切な偽妊娠雌性養母動物に移植し、そしてその胚は、満期まで育成させて、「ノックアウト」動物を作製し得る。生殖細胞中に

相同組換えされたDNAを有する子孫は、標準的な技術によって同定され得、そしてその子孫を用いて、全ての細胞が相同組換えDNAを含む動物を育種し得る。ノックアウト動物は、例えば、24P4C12ポリペプチドの非存在に起因する、特定の病理学的状態に対して防御する能力および病理学的状態の発生について、特徴付けられ得る。

【0097】

同様に、H38087トランスジェニック動物が、H38087をコードする核酸を使用して調製され得る。

【0098】

(24P4C12の検出のための方法)

本発明の別の局面は、24P4C12ポリヌクレオチド、ならびに24P4C12タンパク質およびその改変体を検出するための方法、および24P4C12を発現する細胞を同定するための方法に関する。24P4C12は、前立腺癌のリンパ節転移および骨転移に由来するLAPC異種移植片において発現されるようであり、そして24P4C12の発現プロファイルは、それを転移された疾患についての潜在的な診断マーカーにする。この状況において、24P4C12遺伝子産物の状態は、進行した状態の疾患に対する感受性、進行速度および/または腫瘍の凝集性を含む、種々の因子を予測するために有用な情報を提供し得る。以下で詳細に議論されるように、患者サンプル中の24P4C12遺伝子産物の状態は、以下を含む周知の種々のプロトコルによって分析され得る：免疫組織化学分析、インサイチュハイブリダイゼーションを含む種々のノーザンブロット技術、RT-PCR分析（例えば、レーザー捕捉微小分析サンプルに対して）、ウエスタンブロット分析および組織アレイ分析。

【0099】

より詳細には、本発明は、生物学的サンプル（例えば、血清、骨、前立腺および他の組織、尿、精液、細胞調製物など）中の24P4C12ポリヌクレオチドの検出のためのアッセイを提供する。検出可能な24P4C12ポリヌクレオチドとしては、例えば、24P4C12遺伝子またはそのフラグメント、24P4C12 mRNA、選択的スプライシング改変体24P4C12 mRNA、お

よび24P4C12ポリヌクレオチドを含む組換えDNAもしくはRNA分子が挙げられる。24P4C12ポリヌクレオチドを増幅し、そして/または24P4C12ポリヌクレオチドの存在を検出するための多くの方法は、当該分野において周知であり、そして本発明のこの局面の実施に用いられ得る。

【0100】

1つの実施形態において、生物学的サンプル中の24P4C12 mRNAを検出するための方法は、少なくとも1つのプライマーを使用して、逆転写によってサンプルからcDNAを産生する工程；その中の24P4C12 cDNAを増幅するために、センスおよびアンチセンスのプライマーとして24P4C12ポリヌクレオチドを使用して、そのように産生されたcDNAを増幅する工程；および増幅された24P4C12 cDNAの存在を検出する工程、を包含する。必要に応じて、増幅された24P4C12 cDNAの配列が、決定され得る。別の実施形態において、生物学的サンプル中の24P4C12遺伝子を検出する方法は、サンプルからゲノムDNAを最初に単離する工程；その中の24P4C12遺伝子を増幅するために、センスおよびアンチセンスのプライマーとして24P4C12ポリヌクレオチドを使用して単離されたゲノムDNAを増幅する工程；および増幅された24P4C12遺伝子の存在を検出する工程、を包含する。任意の多くの適切なセンスプローブおよびアンチセンスプローブの組合せが、24P4C12について提供されるヌクレオチド配列(図1A~1D；配列番号1)から設計され、そしてこの目的のために使用され得る。

【0101】

本発明はまた、組織または他の生物学的サンプル(例えば、血清、骨、前立腺、および他の組織、尿、細胞調製物など)中の24P4C12タンパク質の存在を検出するためのアッセイを提供する。24P4C12タンパク質を検出するための方法もまた、周知であり、そして例えば、免疫沈降、免疫組織化学分析、ウエスタンブロット分析、分子結合アッセイ、ELISA、ELIFAなどが挙げられる。例えば、1つの実施形態において、生物学的サンプル中の24P4C12タンパク質の存在を検出する方法は、24P4C12抗体、その24P4C12反応性フラグメント、または24P4C12抗体の抗原結合領域を含む組換え

タンパク質と、サンプルとを最初に接触させる工程；ならびに次いで、それに対するサンプル中の24P4C12タンパク質の結合を検出する工程、を包含する。

【0102】

24P4C12を発現する細胞を同定するための方法もまた、提供される。1つの実施形態において、24P4C12遺伝子を発現する細胞を同定するためのアッセイは、細胞中の24P4C12 mRNAの存在を検出するための工程を包含する。細胞中の特定のmRNAを検出するための方法は、周知であり、そして例えば、相補DNAプローブを使用するハイブリダイゼーションアッセイ（例えば、標識された24P4C12リボプローブを使用するインサイチュハイブリダイゼーション、ノーザンブロットおよび関連技術）ならびに種々の核酸増幅アッセイ（例えば、24P4C12に特異的な相補プライマーを使用するRT-PCR、および例えば、分岐DNA、SISBA、TMAなどの他の増幅型検出方法）が挙げられる。あるいは、24P4C12遺伝子を発現する細胞を同定するためのアッセイは、細胞中の24P4C12タンパク質または細胞によって分泌された24P4C12タンパク質の存在を検出する工程を包含する。タンパク質を検出するための種々の方法が、当該分野において周知であり、そして24P4C12タンパク質および24P4C12発現細胞の検出のために用いられ得る。

【0103】

24P4C12発現分析はまた、24P4C12遺伝子発現を調節する薬剤を同定かつ評価するためにツールとして有用であり得る。例えば、24P4C12発現は、前立腺癌で有意に上方制御され、そしてまた、他の癌において発現され得る。癌細胞での24P4C12発現または過剰発現を阻害し得る分子または生物学的薬剤の同定は、治療上の価値があり得る。このような薬剤は、RT-PCR、核酸ハイブリダイゼーションまたは抗体結合によって24P4C12発現を定量するスクリーニングを使用して、同定され得る。

【0104】

(24P4C12およびその産物の状態のモニタリング)

個体における24P4C12遺伝子および24P4C12遺伝子産物の状態を評価するアッセイは、この個体に由来する生物学的サンプルの増殖または腫瘍潜在性に関する情報を提供し得る。例えば、24P4C12 mRNAは、正常組織に比べて前立腺癌においてかなり多く発現されるので、生物学的サンプル中の24P4C12 mRNA転写物またはタンパク質の相対レベルを評価するアッセイは、24P4C12調節不全と関連する疾患（例えば、癌）を診断するために使用され得、そして適切な治療オプションを規定するに有用である予後情報を提供し得る。同様に、生物学的サンプルにおける24P4C12ヌクレオチドおよびアミノ配列の完全性を評価するアッセイもまた、この状況において使用され得る。

【0105】

24P4C12 mRNAが前立腺癌においてかなり多く発現され、そして正常組織においてかなり多く発現されないという知見は、この遺伝子が細胞増殖の調節不全に関連するという証拠を提供し、それによってこの遺伝子およびその産物を、当業者が24P4C12調節不全に関連する疾患を有することが疑われる個体由来の生物学的サンプルを評価するために使用し得る標的として同定する。この状況において、24P4C12遺伝子およびその産物の発現状態の評価は、組織サンプルに潜在的な疾患に関する情報を得るために使用され得る。この状況における用語「発現状態」は、遺伝子およびその産物の発現、機能および調節（例えば、mRNA発現レベル、発現された遺伝子産物（例えば、核酸およびアミノ酸配列）の完全性、ならびにこれらの分子に対する転写改変および翻訳改変）に關与する種々の因子を広範にいうために使用される。

【0106】

24P4C12の発現状態は、特定の疾患の状態、進行および/または腫瘍攻撃性に対する感受性を推定するために有用な情報を提供し得る。本発明は、24P4C12発現状態を決定し、そして24P4C12を発現する癌（例えば、前立腺癌、乳癌、膀胱癌、肺癌、骨癌、結腸癌、膵臓癌、精巣癌、頸部癌および卵巣癌）を診断するための方法およびアッセイを提供する。特定のサンプルにおける24P4C12発現状態は、当該分野で周知の多数の手段（免疫組織化学的分

析、インサイチュハイブリダイゼーション、レーザ捕捉マイクロ精査 (micro-dissected) サンプルに対するRT-PCR分析、臨床サンプルおよび細胞株のウエスタンブロット分析、ならびに組織アレイ分析が挙げられるがこれらに限定されない) によって分析され得る。24P4C12 遺伝子および遺伝子産物の発現状態を評価するための代表的なプロトコルは、例えば、Current Protocols In Molecular Biology, Units 2 [Northern Blotting], 4 [Southern Blotting], 15 [Immunoblotting] および 18 [PCR Analysis], Frederick M. Ausubulら (編) (1995) に見出され得る。

【0107】

1つの局面において、本発明は、細胞増殖の調節不全と関連する疾患 (例えば、過形成または癌) を有すると疑われる個体に由来する試験組織サンプル中の細胞によって発現される24P4C12 遺伝子産物の状態を決定して、次いでそのように決定された状態を、対応する正常サンプル中の24P4C12 遺伝子産物の状態に対して比較することによって24P4C12 遺伝子産物をモニターするための方法であって、正常サンプルと比較して試験サンプルにおける異常な24P4C12 遺伝子産物の存在は、この個体の細胞において細胞増殖の調節不全の存在を指標を提供する、方法を提供する。

【0108】

別の局面において、本発明は、個体における癌の存在の決定に有用なアッセイを提供する。このアッセイは、対応する正常細胞または組織における発現レベルと比べて、試験細胞サンプルまたは組織サンプルにおける24P4C12 mRNAまたはタンパク質の発現における有意な増加を検出する工程を包含する。これらの組織における24P4C12の有意な発現の存在は、癌の発生、存在および/または重篤度を示すために有用であり得る。

【0109】

関連する実施形態において、24P4C12 発現状態は、核酸レベルではなくタンパク質レベルで決定され得る。例えば、このような方法またはアッセイは、

試験組織サンプル中の細胞によって発現される24P4C12タンパク質のレベルを決定する工程、およびそのように決定されたレベルを、対応する正常サンプルにおいて発現される24P4C12のレベルに対して比較する工程を包含する。1つの実施形態において、24P4C12タンパク質の存在は、例えば、免疫組織化学方法を使用して評価される。24P4C12タンパク質発現を検出し得る24P4C12抗体または結合パートナーが、この目的のために、当該分野で周知の種々のアッセイ形式において使用され得る。

【0110】

他の関連する局面において、これらの分子の構造における混乱 (perturbation) (例えば、挿入、欠失、置換など) を同定するために、生物学的サンプル中の24P4C12ヌクレオチドおよびアミノ酸配列の完全性を評価し得る。このような実施形態は、有用である。なぜなら、ヌクレオチドおよびアミノ酸配列における混乱は、増殖調節不全の表現型と関連する多くのタンパク質で観察されるからである (例えば、Marrogiら、J. Gut. Pathol. 26(8):369~378(1999)を参照のこと)。この状況において、ヌクレオチドおよびアミノ酸配列における混乱を観察するための広範な種々のアッセイが、当該分野において周知である。例えば、24P4C12遺伝子産物の核酸配列またはアミノ酸配列のサイズおよび構造は、本明細書中で議論されるノーザン、サザン、ウエスタン、PCRおよびDNA配列決定プロトコルによって観察され得る。さらに、ヌクレオチドおよびアミノ酸配列における混乱を観察するための他の方法 (例えば、一本鎖高次構造多型分析) が、当該分野で周知である (例えば、米国特許第5,382,510号および同第5,952,170号を参照のこと)。

【0111】

別の関連する実施形態において、本発明は、個体における癌の存在の決定に有用なアッセイを提供する。このアッセイは、対応する正常細胞または組織における発現レベルに対して、試験細胞サンプルまたは組織サンプル中に発現される24P4C12選択的スプライシング改変体における有意な変化を検出する工程を包含する。24P4C12選択的スプライシング改変体のモニタリングは、有用

である。なぜなら、タンパク質の選択的スプライシングの変化は、癌の進行を引き起こす一連の事象における1つの段階として示唆されるからである(例えば、Garstensら、Oncogene 15(250:3059~3065(1997))を参照のこと)。

【0112】

遺伝子増幅は、24P4C12の状態を評価するさらなる方法を提供する。遺伝子増幅は、サンプルにおいて、例えば、本明細書中に提供される配列に基づいて、適切な標識プローブを使用して、従来のサザンブロットティング、mRNAの転写を定量するノーザンブロットティング[Thomas, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77:5201~5205(1980)]、ドットブロットティング(DNA分析)、またはインサイチュハイブリダイゼーションによって直接的に測定され得る。あるいは、特定の二重鎖(例えば、DNA二重鎖、RNA二重鎖、およびDNA-RNAハイブリッド二重鎖またはDNA-タンパク質二重鎖を含む)を認識し得る抗体が、用いられ得る。次いで、この抗体が、標識され得、そしてアッセイ(ここで二重鎖が表面に結合され、その結果、この表面上での二重鎖の形成により、二重鎖に結合した抗体の存在が検出され得る)が行われ得る。

【0113】

上記で議論される組織に加えて、末梢血が、24P4C12発現を検出するためにRT-PCRを使用して、癌細胞(前立腺癌を含むがこれに限定されない)の存在について従来通りにアッセイされ得る。RT-PCRにより増幅可能な24P4C12 mRNAの存在は、癌の存在の指標を提供する。末梢血中の腫瘍細胞についてのRT-PCR検出アッセイは、多数のヒト固形腫瘍の診断および管理における使用について現在評価されている。前立腺癌の分野において、これらは、PSAおよびPSMを発現する細胞の検出のためのRT-PCRアッセイを含む(Verkaikら、1997、Urol. Res. 25:373~384; Ghosseinら、1995、J. Clin. Oncol. 13:1195~2000; Hestonら、1995、Clin. Chem. 41:1687~1688)。RT-PCRアッセイは、当該分野で周知である。

【0114】

本発明の関連する局面は、個体における癌の発症の感受性の推定に関する。1つの実施形態において、癌に対する感受性を推定するための方法は、組織サンプル中の24P4C12 mRNAまたは24P4C12タンパク質を検出する工程であって、その存在が、癌に対する感受性を示し、ここで存在する24P4C12 mRNA発現の程度が感受性の程度に比例する、工程を提供する。特定の実施形態において、前立腺組織中の24P4C12の存在が、試験され、ここでこのサンプル中の24P4C12の存在は、前立腺癌の感受性（または前立腺腫瘍の発生もしくは存在）の指標を提供する。密接に関連する実施形態において、これらの分子の構造における混乱（例えば、挿入、欠失、置換など）を同定するために、生物学的サンプルにおける24P4C12ヌクレオチドおよびアミノ酸配列の完全性を評価し得、ここでサンプル中の24P4C12遺伝子産物における1以上の混乱の存在が、癌の感受性（または前立腺腫瘍の発生もしくは存在）の指標を提供する。

【0115】

本発明のなお別の関連する局面は、腫瘍攻撃性を測定するための方法に関する。1つの実施形態において、腫瘍の攻撃性を測定するための方法は、腫瘍サンプル中の細胞によって発現される24P4C12 mRNAまたは24P4C12タンパク質のレベルを決定する工程、そのように決定されたレベルを、同じ個体から採取された対応する正常組織または正常組織参照サンプル中に発現される24P4C12 mRNAまたは24P4C12タンパク質のレベルに対して比較する工程であって、ここで正常サンプルに対する腫瘍サンプルにおける24P4C12 mRNAまたは24P4C12タンパク質発現の程度が、攻撃性の程度を示す、工程を包含する。特定の実施形態において、前立腺腫瘍の攻撃性は、24P4C12が腫瘍細胞中に発現される程度を決定することによって評価され、ここでより高い発現レベルは、より攻撃性の腫瘍を示す。密接に関連する実施形態において、これらの分子の構造における混乱（例えば、挿入、欠失、置換など）を同定するために、生物学的サンプルにおける24P4C12ヌクレオチドおよびアミノ酸配列の完全性を評価し得、ここで1以上の混乱の存在は、より攻撃

性の腫瘍を示す。

【0116】

本発明のなお別の関連する局面は、個体の悪性疾患の進行を経時的に観察するための方法に関する。1つの実施形態において、個体における悪性疾患の進行を経時的に観察するための方法は、腫瘍サンプル中の細胞によって発現される24P4C12 mRNAまたは24P4C12タンパク質のレベルを決定する工程、そのように決定されたレベルを、同じ個体から異なる時間に採取された等価な組織サンプル中に発現される24P4C12 mRNAまたは24P4C12タンパク質のレベルに対して比較する工程であって、ここで腫瘍サンプルにおける経時的な24P4C12 mRNAまたは24P4C12タンパク質発現の程度が、癌の進行に関する情報を提供する、工程を包含する。特定の実施形態において、癌の進行は、腫瘍細胞における24P4C12発現が経時的に変化する程度を決定することによって評価され、ここでより高い発現レベルは、癌の進行を示す。密接に関連する実施形態において、これらの分子の構造における混乱（例えば、挿入、欠失、置換など）を同定するために、生物学的サンプル中の24P4C12ヌクレオチドおよびアミノ酸配列の完全性を評価し得、ここで1以上の混乱の存在は、癌の進行を示す。

【0117】

上記の診断アプローチは、当該分野で公知の種々の予後プロトコルおよび診断プロトコルのいずれか1つと組み合わせられ得る。例えば、本明細書中に開示される本発明の別の実施形態は、組織サンプルの状態を診断し、かつ予後を判定する手段として、24P4C12遺伝子および24P4C12遺伝子産物の発現（または24P4C12遺伝子および24P4C12遺伝子産物における混乱）と、悪性疾患に関連する因子との間の一致を観察するための方法に関する。この状況において、悪性疾患に関連する広範な種々の因子（例えば、そうでなければ悪性疾患と関連する遺伝子の発現（PSA、PSCAおよびPSM発現を含む）および肉眼的細胞学的観察（例えば、Bockingら, Anal Quant Cytol. 6(2):74~88(1984); Eptsein, Hum Pathol. 1995年2月; 26(2)223~9(1995); Thors

onら, Mod Pathol. 1998年1月; 11(6): 543~51; Baisdenら, Am J Surg Pathol. 23(8): 918~24(1999)を参照のこと)が、利用され得る。24P4C12遺伝子および24P4C12遺伝子産物の発現(または24P4C12遺伝子および24P4C12遺伝子産物における混乱)と、悪性疾患に関連するさらなる因子との間の一致を観察するための方法が、有用である。なぜなら、例えば、一致する一連のまたは一群の特定の因子の存在は、組織サンプルの状態を診断し、かつ予後を判定するために重要な情報を提供するからである。

【0118】

代表的な実施形態において、24P4C12遺伝子および24P4C12遺伝子産物の発現(または24P4C12遺伝子および24P4C12遺伝子産物における混乱)と、悪性疾患に関連する因子との間の一致を観察するための方法は、組織サンプルにおいて、24P4C12 mRNAまたはタンパク質の過剰発現を検出する工程、組織サンプルにおいてPSA mRNAまたはタンパク質の過剰発現を検出する工程、ならびに24P4C12 mRNAまたはタンパク質の過剰発現とPSA mRNAまたはタンパク質の過剰発現との一致を観察する工程を包含する。特定の実施形態において、前立腺組織における24P4C12 mRNAおよびPSA mRNAの発現が、試験される。好ましい実施形態において、サンプルにおける24P4C12 mRNA過剰発現とPSA mRNA過剰発現との一致は、前立腺癌、前立腺癌感受性、または前立腺腫瘍の発生もしくは存在の指標を提供する。

【0119】

24P4C12 mRNAまたはタンパク質の発現を検出および定量するための方法が、本明細書中に開示され、そして標準的な核酸およびタンパク質の検出技術および定量技術の使用が、当該分野において周知である。24P4C12 mRNAの検出および定量のための標準的な方法としては、標識された24P4C12リボプローブを使用するインサイチュハイブリダイゼーション、24P4C12ポリヌクレオチドプローブを使用するノーザンブロットおよび関連する技術、24P4C12に特異的なプライマーを使用するRT-PCR分析、ならび

に他の増幅型検出方法（例えば、分岐DNA、SISBA、TMAなど）が挙げられる。特定の実施形態において、半定量的RT-PCRが、以下の実施例に記載されるように、24P4C12 mRNA発現を検出および定量するために使用され得る。24P4C12を増幅し得る任意の数のプライマー（本明細書中に詳細に記載される種々のプライマーセットを含むがこれらに限定されない）が、この目的のために使用され得る。タンパク質の検出および定量のための標準的な方法が、この目的のために使用され得る。特定の実施形態において、野生型24P4C12タンパク質と特異的に反応するポリクローナル抗体またはモノクローナル抗体が、生検組織の免疫組織化学的アッセイにおいて使用され得る。

【0120】

（24P4C12と相互作用する分子の同定）

本明細書中に開示される24P4C12タンパク質配列により、当業者は、種々の当該分野で受け入れられるプロトコルのいずれか1つを通じて、この配列と相互作用する分子を同定し得る。例えば、種々のいわゆる相互作用捕捉系（「ツ－ハイブリッドシステム」ともいわれる）のうちの1つを利用し得る。このような系において、相互作用する分子は、転写因子およびレポーター遺伝子の直接的な発現を再構成し、次いで、その発現をアッセイする。代表的な系は、真核生物転写アクチベーターの再構成を通じて、インビボでタンパク質間相互作用を同定し、そして例えば、米国特許第5,955,280号、同第5,925,523号、同第5,846,722号および同第6,004,746号に開示されている。

【0121】

あるいは、ペプチドライブラリーをスクリーニングすることによって、24P4C12タンパク質配列と相互作用する分子を同定し得る。このような方法において、選択されたレセプター分子（例えば、24P4C12）に結合するペプチドが、アミノ酸の無作為または制御された収集物をコードするライブラリーをスクリーニングすることによって同定される。このライブラリーによってコードされるペプチドは、バクテリオファージコートタンパク質の融合タンパク質として発現され、次いで、バクテリオファージ粒子が、目的のレセプターに対してスク

リーニングされる。それによって、広範な種々の使用（例えば、治療用試薬または診断用試薬）を有するペプチドが、予期されるリガンド分子またはレセプター分子の構造に関する任意の予備情報を必要することなく同定され得る。24P4C12タンパク質配列と相互作用する分子を同定するために使用され得る代表的なペプチドライブラリーおよびスクリーニング方法が、例えば、米国特許第5,723,286号および同第5,773,731号に開示されている。

【0122】

あるいは、24P4C12を発現する細胞株が、24P4C12によって媒介されるタンパク質間相互作用を同定するために使用され得る。この可能性は、他の研究者によって示されるような免疫沈降技術（Hamilton BJら、*Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1999, 261: 646~51）を使用して試験され得る。代表的には、24P4C12タンパク質は、抗24P4C12抗体を使用して、24P4C12を発現している前立腺癌細胞株から免疫沈降され得る。あるいは、Hisタグに対する抗体が、（例えば、上記のベクターを使用して）24P4C12を発現するように操作された細胞株において使用され得る。免疫沈降した複合体は、ウエスタンブロッティング、タンパク質の³⁵S-メチオニン標識、タンパク質微量配列決定、銀染色および2次元ゲル電気泳動のような手順によってタンパク質の結合に対して試験され得る。

【0123】

このようなスクリーニングアッセイの関連する実施形態としては、24P4C12と相互作用する低分子を同定するための方法が挙げられる。代表的な方法は、例えば、米国特許第5,928,868号に議論されており、そして少なくとも1つのリガンドが低分子であるハイブリッドリガンドを形成するための方法が挙げられる。例示的な実施形態において、このハイブリッドリガンドは、細胞中に導入され、次いでこの細胞は、第1および第2の発現ベクターを含む。各発現ベクターは、転写モジュールについてのコード配列に連結された標的タンパク質をコードするハイブリッドタンパク質を発現するためのDNAを含む。各細胞は、レポーター遺伝子をさらに含み、その発現は、第1および第2のハイブリッド

タンパク質の互いに対する近接性の条件下に置かれており、ハイブリッドリガンドが、両方のハイブリッドタンパク質上の標的部位に結合する場合のみに、事象が生じる。レポーター遺伝子を発現するそれらの細胞が選択され、そして未知の低分子または未知のハイブリッドタンパク質が、同定される。

【0124】

本発明の代表的な実施形態は、図1A～1Dに示される24P4C12アミノ酸配列と相互作用する分子についてスクリーニングする方法からなる。この方法は、分子集団と24P4C12アミノ酸配列とを接触させる工程、相互作用を促進する条件下で、分子集団と24P4C12アミノ酸配列とを相互作用させる工程、24P4C12アミノ酸配列と相互作用する分子の存在を決定する工程、次いで24P4C12アミノ酸配列と相互作用する分子から24P4C12アミノ酸配列と相互作用しない分子を分離する工程を包含する。特定の実施形態において、この方法はさらに、24P4C12アミノ酸配列と相互作用する分子を精製する工程を包含する。好ましい実施形態において、24P4C12アミノ酸配列は、ペプチドのライブラリーと接触される。

【0125】

(治療方法および組成物)

24P4C12の前立腺腫瘍関連タンパク質としての同定は、このような癌の処置に対する多くの治療アプローチを開放する。上記で議論されるように、24P4C12は、増殖シグナルの活性化または調節に関与するレセプターとして機能し、そして治療のために標的とされ得る細胞表面上にエピトープを提示することが可能である。

【0126】

24P4C12の発現プロファイルは、MAGE、PSA、およびPMSAを暗示し、MAGE、PSA、およびPMSAは、黒色腫および他の癌にてアップレギュレートされる、組織特異的遺伝子である(Van de EyndeおよびBoon、Int J Clin Lab Res. 27: 81~86、1997)。癌におけるその組織特異的発現および高レベル発現に起因して、これらの分子は、癌ワクチンについての標的として現在調査されている(Durran

t、Anticancer Drugs 8:727~733、1997; Reynoldsら、Int J Cancer 72:972~976、1997)。24P4C12の発現パターンは、24P4C12が同様に、前立腺癌および他の癌に対する癌ワクチンアプローチのための潜在的標的であるという証拠を提供する。なぜなら、その発現が正常な組織に限定されるからである。潜在的レセプターとしてのその構造的特徴もまた、24P4C12が、低分子標的であり得ること、ならびに抗体に基づく治療戦略のための標的であり得ることの証拠を提供する。

【0127】

従って、24P4C12の細胞外部分を標的とする治療アプローチまたは24P4C12タンパク質の活性を阻害することを目指す治療アプローチが、前立腺癌、精巣癌、および24P4C12を発現する他の癌に罹患する患者に有用であることが予期される。24P4C12タンパク質の活性を阻害することを目指す治療アプローチは、一般的に、2つの種類に分類される。1つの種類は、その結合パートナーまたは他のタンパク質との、24P4C12タンパク質の結合または会合を阻害するための、種々の方法を包含する。別の種類は、24P4C12遺伝子の転写または24P4C12 mRNAの翻訳を阻害するための、種々の方法を包含する。

【0128】

(抗体に基づく治療のための細胞表面標的としての24P4C12)

24P4C12の構造的特徴は、この分子がおそらく細胞表面抗原であることを示し、抗体に基づく治療戦略のための魅力的な標的を提供する。24P4C12は正常な細胞と比較して、癌細胞にて過剰発現されるので、24P4C12免疫反応性組成物の全身投与は、非標的器官および非標的組織へのその免疫治療分子の結合により引き起こされる、毒性効果、非特異的効果および/または非標的効果が最小である、比較的良好な感受性を示すことが予期される。24P4C12の細胞外ドメインと特異的に反応性である抗体は、毒素または治療薬剤との結合体、あるいは細胞の増殖または機能を阻害し得る裸の抗体のいずれかとして、24P4C12を発現する癌を全身的に処置するために有用であり得る

。

【0129】

24P4C12抗体は、癌細胞上の24P4C12にその抗体が結合しかつ細胞および腫瘍の破壊を媒介し、かつ/または細胞もしくは腫瘍の増殖を阻害するように、患者に導入され得る。このような抗体が治療効果を発揮する機構は、補体媒介性細胞溶解、抗体依存性細胞性細胞傷害、24P4C12の生理学的機能を調節すること、リガンド結合またはシグナル伝達経路を阻害すること、腫瘍細胞分化を調節すること、腫瘍脈管形成因子プロフィールを変化させること、および/またはアポトーシスを誘導することを包含し得る。24P4C12抗体は、毒性薬剤または治療薬剤に結合され得、そして24P4C12を保有する腫瘍細胞に直接その毒性薬剤または治療薬剤を送達するために使用され得る。毒性薬剤の例としては、カルケマイシン(calchemicin)、マイタンシノイド(maytansinoid)、放射性同位体(例えば、¹³¹I、イットリウム、およびビスマス)が挙げられるが、これらに限定されない。

【0130】

抗24P4C12抗体を使用する癌免疫治療法は、以下を含むがこれらに限定されない、他の型の癌の処置にて首尾良く使用されている種々のアプローチから生じる技術に従い得る：結腸癌(Arlenら、1998、Crit. Rev. Immunol. 18:133~138)、多発性骨髄腫(Ozakiら、1997、Blood 90:3179~3186; Tsunenariら、1997、Blood 90:2437~2444)、胃癌(Kasprzykら、1992、Cancer Res. 52:2771~2776)、B細胞リンパ腫(Funakoshiら、1996、J. Immunother. Emphasis Tumor Immunol. 19:903~101)、白血病(Zhongら、1996、Leuk. Res. 20:581~589)、結腸直腸癌(Mounら、1994、Cancer Res. 54:6160~6166; Veldersら、1995、Cancer Res. 55:4398~4403)、および乳癌(Shepardら、1991、J. Clin. Immunol. 11:117~127)。いくつかの治療アプローチは、毒素への裸の抗体の

結合（例えば、抗CD20抗体への¹³¹Iの結合（例えば、RituxanTM、IDEC Pharmaceuticals Corp.、裸抗体；Coulter Pharmaceuticals、Palo Alto、CA、¹³¹I-CD20結合体）を含むが、一方他のアプローチは、抗体と他の治療薬剤との（例えば、HerceptinTM（トラスツズマブ（trastuzumab）とパクリタキセル（Genentech, Inc.）との）同時投与を含む。前立腺癌の処置のために、例えば、24P4C12抗体が、照射、化学療法またはホルモン切除と組み合わせて、投与され得る。

【0131】

24P4C12抗体治療は癌のすべての病期について有用であり得るが、抗体治療は、進行性または転移性の癌にて特に適切であり得る。本発明の抗体療法での処置は、以前に1つ以上の化学療法を受けている患者に示され得、一方、化学療法レジメンまたは照射レジメンと本発明の抗体療法を組み合わせることが、化学療法処置を受けていない患者に好ましくあり得る。さらに、抗体療法は、減少した投薬量の同時化学療法の使用を、特に、非常に十分にはその化学療法薬剤の毒性を許容しない患者にとって、可能にし得る。

【0132】

好ましくは、腫瘍組織の免疫組織化学的評価、定量的24P4C12画像化、または24P4C12発現の存在および程度を確かに示し得る他の技術を使用して、何人かの癌患者が24P4C12発現の存在およびレベルについて評価されることは、好ましくあり得る。腫瘍生検または外科的生検の免疫組織化学分析が、この目的に好ましくあり得る。腫瘍組織の免疫組織化学的分析のための方法が、当該分野で周知である。

【0133】

前立腺癌および他の癌を処置する際に有用な抗24P4C12モノクローナル抗体としては、その腫瘍に対する強力な免疫応答を示し得る抗体、および直接細胞傷害性であり得る抗体が挙げられる。これに関して、抗24P4C12モノクローナル抗体（mAb）は、補体媒介性細胞傷害または抗体依存性細胞傷害（ADCC）のいずれかの機構によって、腫瘍細胞溶解を惹起し得、これらの機構の

両方が、エフェクター細胞Fcレセプター部位または補体タンパク質との相互作用のために、その免疫グロブリン分子のインタクトなFc部分を必要とする。さらに、腫瘍増殖に対する直接の生物学的効果を発揮する抗24P4C12モノクローナル抗体が、本発明の実施にて有用である。このような直接細胞傷害性のモノクローナル抗体が作用し得る可能な機構としては、細胞増殖の阻害、細胞分化の調節、腫瘍脈管形成因子プロフィールの調節、およびアポトーシスの誘導が、挙げられる。特定の抗24P4C12モノクローナル抗体が抗腫瘍効果を発揮する機構は、当該分野で一般的に知られているように、ADCC、ASMCC、補体媒介性細胞溶解などを決定するように設計されたかなり多数のインビトロアッセイを使用して、評価され得る。

【0134】

マウスまたは他の非ヒトのモノクローナル抗体の使用、あるいはヒト/マウスキメラモノクローナル抗体の使用が、何人かの患者で、中程度から強力な免疫応答を誘導し得る。いくつかの場合において、これは、循環からの抗体のクリアランスおよび減少した効力をもたらす。最も深刻な場合において、このような免疫応答は、潜在的に腎不全を引き起こし得る、免疫複合体の広範な形成をもたらし得る。従って、本発明の治療法の実施にて使用される好ましいモノクローナル抗体は、高い親和性で標的24P4C12抗原に特異的に結合するが、患者において低い抗原性を示すかまたは全く抗原性を示さない、完全にヒトであるかまたはヒト化されているかのいずれかである抗体である。

【0135】

本発明の治療法は、単一の抗24P4C12モノクローナル抗体の投与、ならびに異なるモノクローナル抗体の組み合わせまたはカクテルの投与を意図する。このようなモノクローナル抗体カクテルは、それらが、異なるエピトープを標的とするモノクローナル抗体を含むか、異なるエフェクター機構を使用するか、または免疫エフェクター機能性に依存するモノクローナル抗体と直接細胞傷害性モノクローナル抗体を組み合わせると同じ程度だけ、特定の利点を有し得る。組み合わせたこのようなモノクローナル抗体は、相乗的治療効果を示し得る。さらに、抗24P4C12モノクローナル抗体の投与は、種々の化学療法薬剤、アン

ドロゲン遮断薬、および免疫モジュレーター（例えば、IL-2、GM-CSF）を含むがこれらに限定されない、他の治療薬剤と組合され得る。抗24P4C12モノクローナル抗体は、その「裸」の形態または非結合形態で投与され得るし、またはそれらに結合した治療薬剤を有し得る。

【0136】

抗24P4C12抗体処方物は、腫瘍部位にその抗体を送達し得る任意の経路を介して投与され得る。投与の潜在的に有効な経路としては、静脈内経路、腹腔内経路、筋肉内経路、腫瘍内経路、皮内経路などが挙げられるが、これらに限定されない。処置は一般的に、受容可能な投与経路（例えば、静脈注射（IV））を介する、代表的には約0.1～約10mg/kg体重の範囲の用量での、抗24P4C12抗体調製物の反復投与を包含する。10～500mgモノクローナル抗体/週の範囲の用量が、効果的であり得かつ十分に許容され得る。

【0137】

転移性乳癌の処置においてHerceptinモノクローナル抗体を用いる臨床実験に基づいて、初回負荷量約4mg/kg患者の体重のIVに続いての、毎週の用量約2mg/kgの抗24P4C12モノクローナル抗体調製物のIVが、受容可能な投薬レジメンを示し得る。好ましくは、この初回負荷量が、90分以上注入として投与される。周期的維持用量は、30分以上の注入として投与され得るが、ただし、その初回量が十分に許容された場合に限る。しかし、当業者が理解するように、種々の因子が、特定の場合における初回量レジメンに影響する。このような因子としては、例えば、使用される抗体またはモノクローナル抗体の結合親和性および半減期、患者における24P4C12発現の程度、循環する落ちた（shed）24P4C12抗原の程度、所望される安定状態の抗体濃度レベル、処置の頻度、ならびに本発明の処置方法と組み合わせて使用される化学療法薬剤の影響が、挙げられ得る。

【0138】

必要に応じて、患者は、最も有効な投薬レジメンおよび関連因子の決定を補助するために、血清中の循環する落ちた24P4C12抗原のレベルについて評価されるべきである。このような評価はまた、治療を通じモニターする目的のため

に使用され得、そして他のパラメーター（例えば、前立腺癌治療における血清PSAレベル）を評価することと組み合わせて、治療の成功を判断するために有用であり得る。

【0139】

（24P4C12タンパク質機能の阻害）

本発明は、その結合パートナーまたはリガンドへの24P4C12の結合あるいは他のタンパク質との24P4C12の会合を阻害するための、種々の方法および組成物、ならびに24P4C12機能を阻害するための方法を包含する。

【0140】

（細胞内抗体を用いる24P4C12の阻害）

1つのアプローチにおいて、24P4C12に特異的に結合する単鎖抗体をコードする組換えベクターが、24P4C12を発現する細胞中へと遺伝子移入技術を介して導入され得、その遺伝子移入技術において、そのコードされる単鎖抗体24P4C12抗体が細胞内発現され、24P4C12タンパク質に結合し、そしてそれにより24P4C12タンパク質の機能を阻害する。このような細胞内単鎖抗体を操作するための方法は、周知である。このような細胞内抗体（「内部抗体（intrabody）」としても公知）は、その細胞内の特定の区画に特異的に標的化され得、その処置の阻害活性が焦点を合わせる制御を提供する。この技術は、当該分野で首尾良く適用されている（概説として、RichardsonおよびMarasco、1995、TIBTECH、第13巻を参照のこと）。内部抗体は、そうしなければ豊富なはずの細胞表面レセプターの発現を事実上除去することが示されている。例えば、Richardsonら、1995、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92:3137~3141; Beerliら、1994、J. Biol. Chem. 289:23931~23936; Deshaneら、1994、Gene Ther. 1:332~337を参照のこと。

【0141】

単鎖抗体は、可撓性のリンカーポリペプチドにより結合された、重鎖および軽鎖の可変ドメインを含み、そして単一のポリペプチドとして発現される。必要に

応じて、単鎖抗体は、その軽鎖定常領域に結合された単鎖可変領域フラグメントとして発現され得る。周囲の細胞内輸送シグナルが、発現される内部抗体を所望の細胞内区画に正確に標的化するために、このような単鎖抗体をコードする組換えポリヌクレオチドベクター中に操作され得る。例えば、小胞体（ER）に標的化された内部抗体は、リーダーペプチドを組み込むように、そして必要に応じてC末端ER保持シグナル（例えば、KDELアミノ酸モチーフ）を組み込むように、操作され得る。核において活性を発揮することが意図される内部抗体は、核局在化シグナルを含むように操作され得る。脂質部分が、原形質膜の細胞質ゾル側に内部抗体をつなぐために、その内部抗体に結合され得る。内部抗体はまた、細胞質ゾルにおいて機能を発揮するように標的化され得る。例えば、細胞質内部抗体が、細胞質ゾル内に因子を隔離し、それによりそれらの因子がその天然での細胞での終着点に輸送されることを防ぐために、使用され得る。

【0142】

このような内部抗体の発現を特定の腫瘍細胞に特異的に向けるために、その内部抗体の転写が、適切な腫瘍特異的プロモーターおよび/またはプロモーターの調節制御下に配置され得る。前立腺に特異的に内部抗体発現を標的化するために、例えば、PSAプロモーターおよび/またはプロモーター/エンハンサーが、利用され得る（例えば、米国特許第5,919,652号を参照のこと）。

【0143】

（組換えタンパク質を用いる24P4C12の阻害）

別のアプローチにおいて、24P4C12に結合し得、それにより24P4C12がその結合パートナーに接近/結合することまたは他のタンパク質と会合することを妨げ得る、組換え分子が、24P4C12機能を阻害するために使用される。このような組換え分子は、例えば、24P4C12特異的抗体分子の反応性部分を含み得る。特定の実施形態において、24P4C12結合パートナーの24P4C12結合ドメインが、ヒトIgG（例えば、ヒトIgG1）のFc部分に連結された2つの24P4C12リガンド結合ドメインを含む、二量体融合タンパク質へと操作され得る。このようなIgG部分は、例えば、G_H2ドメインおよびG_H3ドメインならびにヒンジ領域を含み得るが、G_H1ドメインは含ま

ないかもしれない。このような二量体融合タンパク質は、可溶性形態で、24P4C12の発現と関係する癌に罹患する患者に投与され得、ここでこの二量体タンパク質は24P4C12に特異的に結合し、それにより結合パートナーとの24P4C12の相互作用をブロックする。このような二量体融合タンパク質は、公知の抗体連結技術を使用してさらに組み合わされて、多量体タンパク質にされ得る。

【0144】

(24P4C12の転写または翻訳の阻害)

別の種類の治療アプローチにおいて、本発明は、24P4C12遺伝子の転写を阻害するための、種々の方法および組成物を提供する。同様に、本発明はまた、24P4C12 mRNAからタンパク質への翻訳を阻害するための、方法および組成物も提供する。

【0145】

1つのアプローチにおいて、24P4C12遺伝子の転写を阻害する方法は、24P4C12遺伝子を24P4C12アンチセンスポリヌクレオチドと接触させる工程を包含する。別のアプローチにおいて、24P4C12 mRNAの翻訳を阻害する方法は、24P4C12 mRNAをアンチセンスポリヌクレオチドと接触させる工程を包含する。別のアプローチにおいて、24P4C12特異的リボザイムが、24P4C12メッセージを切断し、それにより翻訳を阻害するために使用され得る。このようなアンチセンスに基づく方法およびリボザイムに基づく方法はまた、24P4C12遺伝子の調節領域(例えば、24P4C12プロモーターエレメントおよび/またはエンハンサーエレメント)に関し得る。同様に、24P4C12遺伝子転写因子を阻害し得るタンパク質が、24P4C12 mRNA転写を阻害するために使用され得る。上述の方法において有用な種々のポリヌクレオチドおよび組成物が、上記に記載されている。転写および翻訳を阻害するためのアンチセンス分子およびリボザイム分子の使用は、当該分野で周知である。

【0146】

24P4C12転写活性化を妨害することを介して24P4C12の転写を阻

害する他の因子もまた、24P4C12を発現する癌の処置に有用であり得る。同様に、24P4C12のプロセッシングを妨害し得る因子は、24P4C12を発現する癌の処置に有用であり得る。このような因子を利用する癌の処置方法もまた、本発明の範囲内にある。

【0147】

(治療ストラテジーについての一般的な考慮)

遺伝子移入および遺伝子治療の技術は、24P4C12を合成している腫瘍細胞に、治療用ポリヌクレオチド分子(すなわち、アンチセンス、リボザイム、内部抗体をコードするポリヌクレオチドおよび他の24P4C12阻害分子)を送達するために使用され得る。多数の遺伝子治療アプローチが、当該分野で公知である。24P4C12アンチセンスポリヌクレオチド、リボザイム、24P4C12転写を妨害し得る因子などをコードする組換えベクターは、このような遺伝子治療アプローチを使用して標的腫瘍細胞に送達され得る。

【0148】

上記の治療アプローチは、広範な種々の化学療法または放射線療法のレジメンのいずれか1つと組み合わせられ得る。これらの治療アプローチはまた、特に、化学療法剤の毒性に十分に寛容ではない患者において、化学療法の投薬量の減少、および/またはより頻度の少ない投与の使用を可能にし得る。

【0149】

特定の組成物(例えば、アンチセンス、リボザイム、内部抗体)、またはこのような組成物の組合せの抗腫瘍活性は、種々のインビトロおよびインビボアッセイ系を使用して評価され得る。治療の可能性を評価するためのインビトロアッセイとしては、細胞増殖アッセイ、軟ゲルアッセイおよび腫瘍促進活性を示す他のアッセイ、治療用組成物が結合パートナーへの24P4C12の結合を阻害する程度を決定し得る結合アッセイなどが挙げられる。

【0150】

インビボでは、24P4C12治療用組成物の効果は、適切な動物モデルにおいて評価され得る。例えば、外因性前立腺癌モデル(ここで、ヒト前立腺癌外植片または継代された異種移植組織が、免疫無防備動物(例えば、ヌードマウス)

たはSCIDマウス)に導入される)は、前立腺癌に関して適切であり、そして記載されている(Kleinら、1997, Nature Medicine 3:402~408)。例えば、PCT特許出願WO98/16628, Sawyersら(1998年4月23日公開)は、原発性腫瘍の発生、微小転移、および後期段階疾患の特徴である骨芽細胞性転移の形成を要約し得る、ヒト前立腺癌の種々の異種移植モデルを記載している。効力は、腫瘍形成、腫瘍後退または転移などの阻害を測定するアッセイを使用して推定され得る。以下の実施例もまた参照のこと。

【0151】

アポトーシスの促進を修飾(qualify)するインビボアッセイもまた、潜在的な治療用組成物の評価において有用であり得る。1つの実施形態において、治療用組成物で処置された保有多マウス由来の異種移植片は、アポトーシス病巣の存在について試験され、そして未処置のコントロール異種移植片保有多マウスに比較される。アポトーシス病巣が処置マウスの腫瘍に見出される程度は、この組成物の治療効力の指標を提供する。

【0152】

前述の方法の実施において使用される治療用組成物は、所望の送達方法に適切なキャリアを含む薬学的組成物中に処方され得る。適切なキャリアとしては、治療用組成物と組み合わせられる場合に、治療用組成物の抗腫瘍機能を保持し、かつ患者の免疫系と非反応性である、任意の物質が挙げられる。例としては、任意の多数の標準的な薬学的キャリア(例えば、滅菌リン酸緩衝化生理食塩水溶液、静菌水など)が挙げられるがこれらに限定されない(一般には、Remington's Pharmaceutical Sciences(第16版), A. Osal. 編, 1980を参照のこと)。

【0153】

治療用処方物は、可溶化され得、そして腫瘍部位に治療用組成物を送達させ得る任意の経路を通じて投与され得る。潜在的に効果的な投与経路としては、静脈内、非経口、腹腔内、筋肉内、腫瘍内、皮内、器官内、眼内などが挙げられるがこれらに限定されない。静脈内注射に好ましい処方物は、保存された静菌水、滅

菌非保存水の溶液における治療用組成物を含み、そして/または注射用0.9%滅菌塩化ナトリウム(USP)を含むポリビニルクロリドまたはポリエチレンバッグに希釈される。治療用タンパク質調製物は、凍結乾燥され得、そして滅菌粉末として、好ましくは減圧下で貯蔵され得、次いで注射する前に、例えば、ベンジルアルコール保存剤を含む静菌水中に、または滅菌水中に再構成され得る。

【0154】

前述の方法を使用する癌の処置についての投薬量および投与プロトコルは、方法および標的の癌とともに変動し、そして一般に、当該分野で理解される多数の他の因子に依存する。

【0155】

(癌ワクチン)

本発明はさらに、24P4C12タンパク質またはそのフラグメントを含む癌ワクチン、およびDNAベースのワクチンを提供する。好ましくは、このワクチンは、24P4C12タンパク質またはポリペプチドの免疫原性部分を含む。24P4C12の組織により制限される発現を考慮すると、24P4C12癌ワクチンは、非標的組織に対して非特異的効果を生成することなく、24P4C12を発現している癌の特異的な予防および/または処置に効果的であることが予期される。抗癌療法での使用について、液性免疫および細胞媒介性免疫を生成するワクチンにおける腫瘍抗原の使用は、当該分野で周知であり、そしてヒトPSMAおよびげっ歯類PAP免疫原を使用して、前立腺癌に使用されている(Hodggra、1995、Int. J. Cancer 63:231~237; Fongら、1997、J. Immunol. 159:3113~3117)。このような方法は、24P4C12タンパク質もしくはそのフラグメント、または24P4C12をコードする核酸分子、および24P4C12免疫原を発現し、かつ適切に提示し得る組換えベクターを用いることによって容易に実施され得る。

【0156】

例えば、ウイルス遺伝子送達系は、24P4C12をコードする核酸分子を送達するために用いられ得る。本発明のこの局面の実施において使用され得る種々のウイルス遺伝子送達系は、以下を包含するが、これらに限定されない：ワクシ

ニアウイルス、鶏痘ウイルス、カナリア痘ウイルス、アデノウイルス、インフルエンザウイルス、ポリオウイルス、アデノ随伴ウイルス、レンチウイルス、およびシンドビスウイルス (Restifo, 1996, *Curr. Opin. Immunol.* 8: 658 - 663)。非ウイルス送達系もまた、抗腫瘍応答を誘導するために患者に導入される (例えば筋内で)、24P4C12タンパク質またはそのフラグメントをコードする裸のDNAを用いることにより用いられ得る。1つの実施形態では、全長ヒト24P4C12 cDNAが用いられ得る。別の実施形態では、特定の細胞傷害性Tリンパ球 (CTL) エピトープをコードする24P4C12核酸分子が用いられ得る。CTLエピトープは、特定化されたHLA対立遺伝子に最適に結合し得る、24P4C12タンパク質内のペプチドを同定するための特定のアルゴリズム (例えば、Epimer, Brown University) を用いて決定され得る。

【0157】

種々のエキソビボストラテジーが、用いられ得る。1つのアプローチは、患者の免疫系に24P4C12抗原を呈示するための樹状細胞の使用を包含する。樹状細胞は、MHCクラスIおよびII、B7共同刺激因子 (co-stimulator)、およびIL-12を発現し、そして従って、高度に分化された (specialized) 抗原提示細胞である。前立腺癌では、前立腺特異的膜抗原 (PSMA) のペプチドでパルスされた自己樹状細胞が、第I相臨床試験において、前立腺癌患者の免疫系を刺激するために使用されつつある (Tjoaら、1996、*Prostate* 28: 65 - 69; Murphyら、1996、*Prostate* 29: 371 - 380)。樹状細胞は、MHCクラスIおよびII分子の背景においてT細胞に対して24P4C12ペプチドを提示するために使用され得る。1つの実施形態では、自己樹状細胞は、MHC分子に結合し得る24P4C12ペプチドでパルスされる。別の実施形態では、樹状細胞は、完全24P4C12タンパク質でパルスされる。さらに別の実施形態は、当該分野で公知の種々の実行ベクター (例えば、アデノウイルス (Arthurら、1997、*Cancer Gene Ther.* 4: 17 - 25)、レトロウイルス (Hendersonら、1996、*Cancer Res.* 56: 3763

- 3770)、レンチウイルス、アデノ随伴ウイルス、DNAトランスフェクション(Ribasら、1997、Cancer Res. 57:2865-2869)、および腫瘍由来RNAトランスフェクション(Ashleyら、1997、J. Exp. Med. 186:1177-1182))を用いて樹状細胞における24P4C12遺伝子の過剰発現を操作することを包含する。24P4C12を発現する細胞は、免疫調節因子(例えば、GM-CSF)を発現するように操作され得、そして免疫剤として使用され得る。

【0158】

抗イディオタイプ抗24P4C12抗体もまた、抗癌療法において、24P4C12タンパク質を発現する細胞に対する免疫応答を惹起するためのワクチンとして使用され得る。詳細には、抗イディオタイプ抗体の生成は、当該分野で周知であり、そして24P4C12タンパク質上のエピトープを模倣する抗イディオタイプ抗24P4C12抗体を生成するように容易に適合され得る(例えば、Wagnerら、1997、Hybridoma 16:33-40; Foonら、1995、J Clin Invest 96:334-342; Herlynら、1996、Cancer Immunol Immunother 43:65-76を参照のこと)。このような抗イディオタイプ抗体は、癌ワクチンストラテジーにおいて使用され得る。

【0159】

遺伝子免疫法は、24P4C12を発現する癌細胞に対する予防的または治療的な体液性免疫応答および細胞性免疫応答を生成するために使用され得る。24P4C12タンパク質/免疫原をコードするDNAおよび適切な調節配列を含む構築物は、個体の筋肉または皮膚に直接的に注射され得、それにより、筋肉または皮膚の細胞が、この構築物を取り込み、そしてコードされた24P4C12タンパク質/免疫原を発現する。24P4C12タンパク質免疫原の発現は、前立腺癌に対する予防的または治療的な体液性免疫および細胞性免疫の生成を生じる。当該分野で公知の種々の予防的および治療的遺伝子免疫技術が使用され得る(検討のために、インターネットアドレスwww.genweb.comで公開されている情報および参考文献を参照のこと)。

【0160】

(キット)

上記で記載または示唆された診断適用および治療適用において使用するために、本発明によって、キットもまた提供される。このようなキットは、1つ以上のコンテナ手段(例えば、バイアル、チューブなど)を厳重に閉じ込めて受容するように区画化されるキャリア手段を備え得る。コンテナ手段のそれぞれは、本方法において、使用されるべき別々の要素の1つを含む。例えば、コンテナ手段の1つは、検出可能に標識された、または検出可能に標識され得るプローブを含み得る。このようなプローブは、それぞれ24P4C12(および/またはH38087)タンパク質または24P4C12(および/またはH38087)遺伝子またはメッセージに特異的な抗体またはポリヌクレオチドであり得る。キットが、標的核酸配列を検出するために核酸ハイブリダイゼーションを利用する場合、キットはまた、標的核酸配列の増幅用のヌクレオチドを含むコンテナ、および/またはレポーター分子(例えば、酵素標識、蛍光標識、または放射性同位体標識)に結合されるレポーター手段(例えば、ビオチン結合タンパク質(例えば、アビジンまたはストレプトアビジン)を含むコンテナを有し得る。

【0161】

本発明のキットは、代表的には、上記コンテナ、および使用説明書と共に、市販および使用者の観点で所望の材料(緩衝液、希釈剤、フィルター、ニードル、シリンジ、およびパッケージ挿入物を含む)を含む1つ以上の他のコンテナを含む。表示は、組成物が、特定の治療または非治療適用について使用されることを示し、そしてまたインビボまたはインビトロのいずれかの使用(例えば、上記の使用)についての説明を示し得るために、コンテナ上に存在し得る。

【0162】

24P4C12 cDNAは、ブダペスト条約の下でアメリカンタイプカルチャーコレクション(ATCC; 10801 University Blvd. Manassas, VA 20110-2209 USA)に、プラスミドp24P4C12-GTE9およびp24P4C12-GTE5としてそれぞれ1999年2月2日および26日に寄託され、そしてATCC受託番号207084

および207129で承認されている。

【0163】

(実施例)

本発明の種々の局面を、以下に続くいくつかの例によってさらに記載および例示する。これらはいずれも、本発明の範囲の制限を意図するものではない。

【0164】

(実施例1：24P4C12遺伝子のcDNAフラグメントのSSH生成単離)

(材料および方法)

(LAPC異種移植片)

LAPC異種移植片を、Cheales Sawyers博士(UCLA)から入手し、記載のように生成した(Kleinら、1997、Nature Med. 3:402-408; Craftら、1999、Cancer Res. 59:5030-5036)。アンドロゲン依存性LAPC-4異種移植片およびアンドロゲン非依存性LAPC-4異種移植片(それぞれLAPC-4 ADおよびAI)をそれぞれインタクトな雄SCIDマウスまたは雄去勢マウスにおいて増殖させ、そしてレシピエント雄に小組織塊として継代させた。LAPC-4 AI異種移植片は、LAPC-4 AD腫瘍から誘導して得た。AI異種移植片を生成するために、LAPC AD腫瘍を有する雄マウスを去勢し、そして2~3ヶ月間飼育した。LAPC腫瘍が再増殖した後、この腫瘍を採集し、そして去勢雄SCIDマウスにおいてまたは雌SCIDマウスにおいて継代させた。

【0165】

(細胞株)

ヒト細胞株(例えば、HeLa)を、ATCCから入手し、そして5%ウシ胎児血清を有するDMEM中で維持した。

【0166】

(RNA単離)

腫瘍組織および細胞株を、10ml/g組織または10ml/10⁸細胞を用いてTrizol試薬(Life Technologies、Gibco B

RL)においてホモジナイズし、総RNAを単離した。ポリA RNAを、Qiagen's Oligotex mRNA MiniキットおよびMidikitを用いて総RNAから精製した。総RNAおよびmRNAを、分光光度計分析(O.D. 260/280nm)によって定量し、そしてゲル電気泳動によって分析した。

【0167】

(オリゴヌクレオチド)

以下のHPLC精製オリゴヌクレオチドを使用した。

【0168】

DPNCDN(cDNA合成プライマー)：

5' TTTTGATCAAGCTT₃₀ 3' (配列番号34)

アダプター1(それぞれ配列番号35、36)：

5' CTAATACGACTCACTATAGGGCTCGAGCGGCCG
CCCGGGCAG 3'

3' GGCCCGTCCTAG 5'

アダプター2(それぞれ配列番号37、38)：

5' GTAATACGACTCACTATAGGGCAGCGTGGTCGC
GGCCGAG 3'

3' CGGCTCCTAG 5'

PCRプライマー1(配列番号39)：

5' CTAATACGACTCACTATAGGG 3'

ネスト化プライマー(NP)1(配列番号40)

5' TCGAGCGGCCCGCCCGGGCAGGA 3'

ネスト化プライマー(NP)2(配列番号41)：

5' AGCGTGGTCGCGGCCGAGGA 3'。

【0169】

(抑制サブトラクティブハイブリダイゼーション)

抑制サブトラクティブハイブリダイゼーション(SSH)を使用して、前立腺癌で示差的に発現され得る24P4C12に対応するcDNAを同定した。SS

H反応は2つの異なる前立腺組織源からのcDNAを利用し、LAPC-4 AD cDNAからBPH(良性前立腺肥大)cDNAを差し引く。LAPC-4 AD cDNAを「テスター」の供給源として使用し、一方、BPH cDNAを「ドライバー」の供給源として使用した。

【0170】

テスターcDNAおよびドライバーcDNAに対応する二本鎖cDNAを、CLONTECHのPCR-Select cDNA Subtraction Kitおよびプライマーとして1ngのオリゴヌクレオチドDPNCDNを使用して、上記のように、関連の異種移植片組織から単離された2μgのポリ(A)+RNAから合成した。第一鎖および第二鎖合成を、キットの使用者マニュアルプロトコル(CLONTECH Protocol No. PT1117-1、Catalog No. K1804-1)に記載のように実施した。得られたcDNAをDpnIIで37℃で3時間消化した。消化したcDNAをフェノール/クロロホルム(1:1)で抽出し、そしてエタノール沈殿した。

【0171】

ドライバーcDNAを、1:1比で、関連の異種移植片供給源からのDpnII消化cDNA(上述を参照のこと)を、ヒト良性前立腺肥大(BPH)、ヒト細胞株HeLa、293、A431、Colo205、およびマウス肝臓由来の消化cDNAの混合物と組み合わせることにより生成した。

【0172】

テスターcDNAを、5μlの水中に関連の異種移植片供給源(上記を参照のこと)からの1μlのDpnII消化cDNA(400ng)を希釈することにより生成した。次いで、希釈したcDNA(2μl、160ng)を、総容量10μlで16℃で一晩、400uのT4 DNAリガーゼ(CLONTECH)を用いて、別の連結反応中で、2μlのアダプター1およびアダプター2(10μM)に連結した。連結を、1μlの0.2M EDTAで、そして72℃で5分間加熱して終結させた。

【0173】

第一のハイブリダイゼーションは、1.5μl(600ng)のドライバーc

DNAを、 $1.5 \mu\text{l}$ (20 ng) のアダプター1連結のおよびアダプター2連結のテスター cDNAを含む2つの各チューブに添加することにより実施した。 $4 \mu\text{l}$ の最終容量で、サンプルに鉱油を重層し、MJ Research サーマルサイクラー中で、 98°C で1.5分間変性し、次いで、 68°C で8時間ハイブリダイズさせた。次いで、2つのハイブリダイゼーションを、さらなる $1 \mu\text{l}$ の新鮮な変性ドライバ cDNAと一緒に混合し、そして 68°C で一晩ハイブリダイズさせた。次いで、第二のハイブリダイゼーションを、 $200 \mu\text{l}$ の 20 mM HEPES、 $\text{pH} 8.3$ 、 50 mM NaCl、 0.2 mM EDTA中で希釈し、 70°C で7分間加熱し、そして -20°C で貯蔵した。

【0174】

(SSHから生成した遺伝子フラグメントのPCR増幅、クローニング、および配列決定)

SSH反応から生じる遺伝子フラグメントを増幅するために、2つのPCR増幅を行った。第一のPCR反応において、 $1 \mu\text{l}$ の希釈最終ハイブリダイゼーション混合物を、最終容量 $25 \mu\text{l}$ の $1 \mu\text{l}$ のPCRプライマー1 ($10 \mu\text{M}$)、 $0.5 \mu\text{l}$ dNTP混合物 ($10 \mu\text{M}$)、 $2.5 \mu\text{l}$ の $10\times$ 反応緩衝液 (CLONTECH)、および $0.5 \mu\text{l}$ の $50\times$ Advantage cDNA polymerase Mix (CLONTECH) に添加した。PCR1を、以下の条件を用いて実施した： 75°C で5分、 94°C で25秒、次いで27サイクルの 94°C で10秒、 66°C で30秒、 72°C で1.5分。5つの別の第一のPCR反応を各実験について行った。産物をプールし、そして水で1:10に希釈した。第二のPCR反応については、プールし、そして希釈した第一のPCR反応物からの $1 \mu\text{l}$ を、プライマーNP1およびNP2 ($10 \mu\text{M}$) をPCRプライマー1の代わりに使用したことを除き、PCR1について用いたものと同じ反応混合物に添加した。PCR2を、10~12サイクルの 94°C で10秒、 68°C で30秒、 72°C で1.5分を用いて実施した。PCR産物を、2%アガロースゲル電気泳動を用いて分析した。

【0175】

PCR産物を、T/Aベクタークローニングキット (Invitrogen)

を用いてpCR2.1に挿入した。形質転換*E. coli*を青/白およびアンピシリン選択に供した。白色コロニーを釣り上げ、96ウェルプレート中に並べ、そして液体培養中で一晚増殖させた。挿入物を同定するために、PCR増幅をPCR1の条件ならびにプライマーとしてNP1およびNP2を用いて1mlの細菌培養物において実施した。PCR産物を2%アガロースゲル電気泳動を用いて分析した。

【0176】

96ウェルフォーマットで20%グリセロール中に細菌クローンを貯蔵した。プラスミドDNAを調製し、配列決定し、そしてGenBank、dBest、およびNCI-CGAPデータベースの核酸相同性検索に供した。

【0177】

(RT-PCR発現分析)

第一鎖cDNAを、Gibco-BRL Superscript Pre-amplificationシステムを用いるオリゴ(dT)12~18プライミングによって1µgのmRNAから生成した。製造者プロトコルを使用し、そしてこれは、42℃で50分間の逆転写酵素とのインキュベーション、続いて37℃で20分間のRNase H処理を包含した。反応を完了した後、この容積を、標準化の前に水で200µlに増大させた。16の異なる正常ヒト組織からの第一鎖cDNAを、Clontechから入手した。

【0178】

複数の組織からの第一鎖cDNAの標準化を、プライマー5' atatcgc cgcgctcgtcgtcgacaa3' (配列番号42)および5' agc caccgcagctcattgtagaagg3' (配列番号43)を用いてアクチンを増幅することにより実施した。第一鎖cDNA(5µl)を、0.4µMプライマー、0.2µM各dNTP、1×PCR緩衝液(Clontech、10mM Tris-HCl、1.5mM MgCl₂、50mM KCl、pH8.3)、および1×Klentaq DNAポリメラーゼ(Clontech)を含む総容量50µlで増幅した。18サイクル、20サイクルおよび22サイクルで、5µlのPCR反応物を取り出し、そしてアガロース電気泳

動のために使用した。PCRを、以下の条件下で、MJ Researchサーマルサイクラーを用いて実施した：初期変性は94 で15秒間であり、続いて18サイクル、20サイクル、および22サイクルの94 で15、65 で2分、72 で5秒。72 での最終伸長を2分間行った。アガロースゲル電気泳動後、複数の組織からの283bpの アクチンバンドのバンド強度を可視検査によって比較した。22サイクルのPCR後に全ての組織において等しい アクチンバンド強度を生じるように、第一鎖cDNAの希釈因数を算定した。22サイクルのPCR後に全ての組織において等しいバンド強度を達成するには、3ラウンドの標準化が必要であった。

【0179】

24P4C12 遺伝子の発現レベルを決定するために、5µlの標準化された第一鎖cDNAを、以下のプライマー対を用いる25、30、および35サイクルの増幅を用いるPCRによって分析した。これらプライマーは、(MIT；詳細については、www.genome.wi.mit.eduを参照のこと)の補助により設計した：

5' - a g a t g a g g a g g a g g a c a a a g g t g - 3' (配列番号44)

5' - a c t g c t g g g a g g a g t a c c g a g t g - 3' (配列番号45)

半定量発現分析を、軽度のバンド強度を与えるサイクル数でPCR産物を比較することにより達成した。

【0180】

(結果)

上述の材料および方法に記載のSSH実験は、多数の候補遺伝子フラグメントクローン(SSHクローン)の単離に至った。全ての候補クローンを配列決定し、そして、対応する遺伝子の正体に関する情報を提供し、そして示差的な発現について特定の遺伝子を分析するための決定を導くのを補助するために、主な公的な遺伝子およびESTデータベース中の全配列に対する相同性分析に供した。一般に、検索したデータベースのいずれかにおいていかなる公知の配列とも相同性

を有さず、従って新規な遺伝子を表すと考えられる遺伝子フラグメント、ならびに以前に配列決定された発現配列タグ (E S T) に対して相同性を示す遺伝子フラグメントを、 R T - P C R および / またはノーザン分析によってディファレンシャル発現分析に供した。

【 0 1 8 1 】

約 1 6 0 b p を含む、 S H H クロンの 1 つは、 5 3 アミノ酸の推定オープンリーディングフレーム (O R F) をコードし、そして結腸腫瘍ライブラリー由来の E S T に有意な相同性を示す (図 1 E ; 配列番号 3、 4)。 2 4 P 4 C 1 2 と称される、この S S H クロンを、種々の組織における 2 4 P 4 C 1 2 遺伝子の R T - P C R 発現分析のためのプライマーを設計するために使用した。 R T - P C R 分析は、 2 4 P 4 C 1 2 が、 L A P C 異種移植片および正常前立腺の全てにおいて、ほぼ等しいレベルで発現されることを示した (図 2 A)。 1 6 の正常な組織由来の第一鎖 c D N A の R T - P C R 分析は、 2 5 サイクルの増幅後に結腸、前立腺、腎臓、および肺において発現を示した (図 2 B および 2 C)。プローブとして 2 4 P 4 C 1 2 S S H フラグメントを使用するノーザンプロット分析は、 L A P G - 9 A D、続いて L A P C - 4 A D におけるほぼ 3 k b の 2 4 P 4 C 1 2 転写物の最も高い発現を示す (図 3 A ~ 3 C)。

【 0 1 8 2 】

(実施例 2 : 全長 2 4 P 4 C 1 2 c D N A のクローニング)

2 4 P 4 C 1 2 遺伝子をコードする全長 c D N A を、正常な前立腺のライブラリーから単離し、そして配列決定した。単離されたクロンの 2 つ (2 4 P 4 C 1 2 - G T E 9 (2 4 P 4 C 1 2 遺伝子のコード領域のほとんどを含む) および 2 4 P 4 C 1 2 - G T E 5 (2 4 P 4 C 1 2 遺伝子のコード領域全体を含む) と称する) をそれぞれ、 A T C C (M a n a s s a s、 V i r g i n i a) に、プラスミド p 2 4 P 4 C 1 2 - G T E 9 および p 2 4 P 4 C 1 2 - G T E 5 として、 1 9 9 9 年 2 月 2 日 および 2 6 日に寄託し、そしてそれぞれ A T C C 受託番号 2 0 7 0 8 4 および 2 0 7 1 2 9 で承認されている。これらの 2 つのクロン、ならびに 2 4 P 4 C 1 2 コード領域のほとんどをコードする別のクロン 2 4 P 4 C 1 2 - G T E 4 は、 図 1 A ~ 1 D (配列番号 1) に示されるような 2 4 P 4

C12の完全なコード配列および部分的な非コード配列を生成するように合わせられた重複するヌクレオチド配列を有した。

【0183】

図1A~1D(配列番号1)に示された2587bpの24P4C12 cDNA配列は、マウス遺伝子NG22および*C. elegans* 遺伝子CEESB82Fに対して有意な相同性を有する710アミノ酸のORFをコードする。図1A~1D(配列番号2)のcDNAによりコードされたヒト24P4C12タンパク質およびマウスNG22遺伝子産物のアミノ酸配列整列を図4A~4Bに示す。

【0184】

NG22は、マウスゲノムにおいてMHCクラスIIIを包含するゲノムBACクローン内の多くのORFの1つとして、最近同定された。NG22およびCEESB82Fはともに、12の膜貫通ドメインを含む遺伝子であるようである。図1A~1D(配列番号1)に示される24P4C12 cDNA配列は、13の可能な膜貫通ドメインを含む。12回膜貫通輸送タンパク質が公知である(KittyおよびAmara, 1992, *Curr. Opin. Biotechnology* 3:675-682)。24P4C12の推定二次構造に起因して、24P4C12タンパク質は、細胞表面膜ポンプまたは輸送因子として機能すると考えられる。

【0185】

(実施例3:24P4C12遺伝子発現分析)

正常ヒト組織における24P4C12 mRNA発現を、プローブとして標識された24P4C12 SSHフラグメント(実施例1)を用いる、全部で16の異なる正常ヒト組織を含む、多重組織プロットのノーザンブロットングによって分析した(Clontech; Palo Alto, California)。RNAサンプルを、アクチンプローブを用いて定量的に標準化した。ノーザンブロット分析は、主に前立腺および結腸において発現を示し、腎臓においてやや低い発現が検出され、そして脾臓、肺および胎盤において顕著により低い発現が検出された。

【0186】

癌組織における24P4C12発現を分析するために、ノーザンブロッティングを、LAPC異種移植片、ならびにいくつかの前立腺および非前立腺癌細胞株由来のRNAにおいて実施した。結果は、LAPC-4 AD、LAPC-4 AI、LAPC-9 AD、LNCaP、およびLAPC-4細胞株において24P4C12の高い発現レベルを示す(図3、図5)。非常に高いレベルがLAPC-3 AIで検出される(図5)。より低いレベルが、LAPC-9 AIで検出される。異種移植片のより詳細な分析は、24P4C12が、マウスの脛骨内で増殖する場合でさえ、異種移植片において高度に発現されることを示す(図5)。ノーザン分析はまた、24P4C12が、正常な前立腺および前立腺癌患者に由来する前立腺腫瘍組織において発現されることを示している(図6A)。これらの結果は、24P4C12は、前立腺癌において高度に発現される前立腺遺伝子であり、そして前立腺癌における薬物または抗体標的としての有用性を有し得ることを示唆する。

【0187】

(実施例4：24P4C12ポリクローナル抗体の生成)

24P4C12に対するポリクローナル血清を生成するために、24P4C12タンパク質配列のアミノ酸1-14(MGGKQRDEDDEAYG；配列番号71)に対応するペプチドを合成した。このペプチドをキーホールリンペットヘモシアニン(KLH)にカップルさせ、そして以下のようにウサギを免疫するために用いた。最初にウサギを完全フロイントのアジュバント中に混合した200μgのペプチド-KLHで免疫した。次いで、不完全フロイントアジュバント中の200μgのペプチド-KLHを2週間毎に注射した。各免疫の後約7-10日に採血した。ELISAおよびウェスタンブロッティング分析を用いて免疫ペプチドおよび24P4C12タンパク質に対するウサギ血清の力価および特異性それぞれを測定した。アフィニティー精製した抗-24P4C12ポリクローナル抗体は、免疫ウサギからの粗血清をAffigel 15(BioRad)に共有結合した24P4C12ペプチドを含むアフィニティーマトリックス上を通過させることにより調製した。PBSを用いてマトリックスを十分に洗浄した

後、24P4C12ペプチドに特異的な抗体を、低pHグリシン緩衝液(0.1 M、pH2.5)で溶出し、そしてPBSに対して透析した。

【0188】

次いで、ウェスタンブロット分析を、CMVで駆動されるPCDNA3.1 Myc-His(Invitrogen)またはレトロウイルスpSR- 発現ベクターのいずれか中の24P4C12 cDNAで一過性にトランスフェクトした293T細胞の抗-24P4C12 pAbを用いて実施した。293T細胞は、10 µgの、空のベクター、またはpCDNA3.1 CMV駆動MYC-His(Invitrogen)またはpSR- レトロウイルス発現ベクターで、CaPO₄を用いて一過性にトランスフェクトした。40時間後、トランスフェクション細胞を回収し、そして2×SDS-PAGE試料緩衝液中で溶解した。試料緩衝液中の細胞溶解液を、次いで、温和な加熱変性(70)または強熱変性(100)のいずれかを行い、10%SDS-PAGEゲル上で分離し、そしてニトロセルロースに転写した。次いでメンブレンを、24P4C12のアミノ酸1-14(MGGKQRDEDEAYG;配列番号71)に対して惹起されたアフィニティー精製された2 µg/mlのウサギ抗-ペプチドpAbを用いるウェスタン分析にかけた。抗-24P4C12免疫反応性バンドを、二次抗体に結合した抗ウサギHRPとのインキュベーションおよび増大化学発光により可視化した。

【0189】

ウェスタンブロット分析の結果は、90 kDバンドと、トランスフェクト細胞中の高分子量スメアの特異的認識を示すが、空のベクターでトランスフェクトした細胞にはなかった(図10A、図10B)。アミノ酸配列から算出された24P4C12の分子量は、79.2 kDである。細胞溶解液のウェスタン分析における90 kDバンドの出現は、24P4C12が翻訳後改変を含むことを示唆する。実際、このアミノ酸配列から予想される複数の可能なN連結グリコシル化部位がある。高分子量スメアの比率は、温和な加熱(70)変性に比べ高加熱(100)によって増大し、これは、疎水性配列の熱誘導曝露に際し、この12の膜貫通タンパク質の凝集を示す。分解産物であり得る複数の低分子量バンドもま

た、高度に発現されたpCDNA3.1ベクターでトランスフェクトされた細胞中で検出される。

【0190】

(実施例5：哺乳動物系における組換え24P4C12の産生)

組換え24P4C12を発現するために、完全長の24P4C12 cDNAを、C末端に6Hisタグを提供する発現ベクター(pCDNA3.1 myc-his、Invitrogen)中にクローン化し得る。これらの構築物は、293T細胞中にトランスフェクトされ得る。トランスフェクト293T細胞溶解液は、ウェスタンブロットにおいて実施例4に記載された抗-24P4C12ポリクローナル血清でプローブされ得る。

【0191】

24P4C12遺伝子はまた、レトロウイルス発現ベクターpSR MSV tkneo中にサブクローン化し得、そして以下のように24P4C12発現細胞株0確立するために用いた。24P4C12コード配列(翻訳開始ATG~停止コドンまで)は、24P4C12 cDNAからds cDNAテンプレートをを用いてPCRにより増幅される。PCR産物を、ベクター上のEcoRI(平滑末端化)およびXbaI制限部位を介してpSR MSV tkneo中にサブクローン化し、そしてDH5 コンピテント細胞中に形質転換する。コロニーを釣り上げ、cDNA上の特有の内部制限部位をもつクローンをスクリーニングする。陽性のクローンは、このcDNA挿入片の配列決定により確認する。その後、レトロウイルスを、例えば、NIH3T3、PC3、およびLnCap細胞を用いる、種々の細胞株の感染および生成のために用いられ得る。

【0192】

(実施例6：バキュロウイルス系における組換え24P4C12の産生)

バキュロウイルス発現系における組換え24P4C12タンパク質を生成するために、24P4C12 cDNAを、N末端にHis-タグを提供する、バキュロウイルス転移ベクターpBlueBac4.5(Invitrogen)中にクローン化する。詳細には、pBlueBac-24P4C12を、ヘルパープラスミドpBac-N-Blue(Invitrogen)とともに、SF9

(*Spodoptera frugiperda*) 昆虫細胞中に同時トランスフェクトし、組換えバキュロウイルスを生成する(詳細についてはInvitrogenの指示マニュアルを参照のこと)。次いで、バキュロウイルスを細胞上清から収集し、そしてブランクアッセイにより生成する。

【0193】

次いで、組換え24P4C12タンパク質を、精製バキュロウイルスを用いたHighFive昆虫細胞(Invitrogen)の感染により生成する。組換え24P4C12タンパク質は、抗-24P4C12抗体を用いて検出され得る。24P4C12タンパク質は、精製され、そして種々の細胞を基礎にしたアッセイにおいて、または24P4C12に特異的なポリクローナルおよびモノクローナル抗体を生成するための免疫原として用いられ得る。

【0194】

(実施例7: H38087の同定&クローニング、24P4C12のファミリーメンバー)

H38087を、NCBI中のtblastnツールを用いて24P4C12アミノ酸配列を用いdBESTデータベースをサーチすることにより24P4C12のファミリーメンバーとして同定した。相同性タンパク質のタンパク質フラグメントをコードするESTを同定した。これらのうちの1つ、H38087は、精巢ライブラリーからクローン化した。このcDNA(クローンGTB6)は、サイズが2738bpであり、そして11の推定の膜貫通ドメインをもつ704アミノ酸タンパク質をコードする(図7A-7D; 配列番号6、7)。5'非翻訳領域の58塩基対は、非常にGCリッチ(87%)であり、この遺伝子が翻訳調節エレメントを含み得ることを示す(図7A-7D)。24P4C12(配列番号2)およびH38087(配列番号7)のアミノ酸配列は、完全配列に亘って44%同一および56%相同である(図8)。発現分析は、H38087が遍在的に発現されることを示す(図9)。最高の発現レベルが精巢で検出される。発現はまた、すべてのLAPC異種移植片中で観察される。H38087は、遍在的に発現されるので、24P4C12-特異的治療剤を試験するためのコントロールとして供し得る。H38087機能に影響する24P4C12特異的治

療剤は、正常細胞に対して毒性であり得る。しかし、H38087ではなく、24P4C12に選択的に影響する治療剤は、正常細胞に対してより少ない毒性であり得る。従って、H38087タンパク質は、24P4C12に対する治療様式の前臨床試験ツールとして有用である。

【0195】

(実施例8：潜在的なシグナル伝達経路の同定)

24P4C12が細胞中の既知のシグナル伝達経路を直接的または間接的に活性化するか否かを決定するために、ルシフェラーゼ(luc)を基礎にした転写レポーターアッセイを、24P4C12を発現する細胞中で実施する。これらの転写レポーターは、良く特徴付けられたシグナル伝達経路の下流にある、既知の転写因子のためのコンセンサス結合部位を含む。これらのレポーターおよびそれらの関連転写因子、シグナル伝達経路、および活性化刺激物の例を、以下に列挙する。

1. NF- κ B-luc、NF- κ B/Rel; Ik-キナーゼ/SAPK; 成長/アポトーシス/ストレス
2. SRE-luc、SRF/TCF/ELK1; MAPK/SAPK; 成長/分化
3. AP-1-luc、FOS/JUN; MAPK/SAPK/PKC; 成長/アポトーシス/ストレス
4. ARE-luc、アンドロゲンレセプター; ステロイド類/MAPK; 成長/分化/アポトーシス
5. p53-luc、p53; SAPK; 成長/分化/アポトーシス
6. CRE-luc、CREB/ATF2; PKA/p38; 成長/アポトーシス/ストレス

24P4C12媒介効果は、mRNA発現を示す細胞中でアッセイされ得る。ルシフェラーゼレポータープラスミドは、脂質媒介トランスフェクション(TFX-50、Promega)により導入され得るルシフェラーゼ活性、相対的転写活性の指標は、細胞抽出物のルシフェリン基質とのインキュベーションにより測定され、そして反応の化学発光がルミノメーター中でモニターされる。

【0196】

(実施例9：24P4C12モノクローナル抗体の生成)

24P4C12モノクローナル抗体を生成するために、24P4C12タンパク質を含むグルタチオン-S-トランスフェラーゼ(GST)融合タンパク質を合成し、そして免疫原として用いる。あるいは、24P4C12は、C末端6XHisおよびMYCタグをもつ24P4C12をコードするCMV駆動発現ベクター(p cDNA3.1/mycHis、Invitrogen)でトランスフェクトされた293T細胞中で首尾良く発現され得る。細胞中で発現されたHISタグ24P4C12は、標準的な技法を用いるニッケルカラムを用いて精製され得る。

【0197】

Balb Cマウスを、最初、腹腔内に、完全フロイントアジュバント中に交合された、200 µgのGST-24P4C12融合タンパク質で免疫する。次いで、マウスに、フロイントの不完全アジュバント中に混合された75 µgの24P4C12タンパク質で2週間毎に、合計3回の免疫を行う。完全長24P4C12タンパク質に対する免疫マウスからの血清の反応性を、293T細胞から発現されたHISタグ24P4C12タンパク質の部分精製された調製物(実施例5)を用いてELISAによりモニターする。最も強い反応性を示すマウスを3週間休息させ、そしてPBS中の融合タンパク質の最後の注射をし、次いで4日後に屠殺する。次いで屠殺マウスの脾臓を回収し、そして標準的な手順を用いてSPO/2ミエローマ細胞に融合する(HarlowおよびLane、1988)。HAT選択の後、増殖ウェルからの上清を、ELISAおよびWesternブロットによりスクリーニングし、24P4C12特異的抗体産生クローンを同定する。

【0198】

24P4C12モノクローナル抗体の結合親和性は、標準的な技術を用いて測定し得る。親和性測定は、エピトープ結合に対する抗体の強さを定量し、そしてどの24P4C12モノクローナル抗体が診断または治療使用に好適であるかを規定するのを補助するために用いられ得る。BIAcoreシステム(Upps

ala、Sweden)は、結合親和性を決定するための好適な方法である。BIAcoreシステムは、生体分子相互作用をリアルタイムでモニターするために、表面プラズモン共鳴を用いる(SPR、Weidford K. 1991、Opt. Quant. Elect. 23:1; MortonおよびMyszka、1998、Methods in Enzymology 295:268)。BIAcore分析は、会合速度定数、解離速度定数、平衡解離定数、および親和性定数を首尾良く生成する。

【0199】

(実施例10:24P4C12機能のインビトロアッセイ)

前立腺およびその他の癌における24P4C12の発現は、この遺伝子が腫瘍進行および/または腫瘍開始において機能的役割を有するという証拠を提供する。24P4C12が、増殖シグナルを活性化することに関与するレセプターとして機能する可能性がある。24P4C12機能は、インビトロアプローチを用いて哺乳動物細胞中で評価され得る。哺乳動物発現には、24P4C12は、pcDNA 3.1 myc-His-タグ(実施例5)およびレトロウイルスベクターpSR tkneo(Mullerら、1991、MCB 11:1785)を含む多くの適切なベクター中にクローン化され得る。このような発現ベクターを用い、24P4C12は、PC-3、NIH3T3、LNCaPおよび293Tを含むいくつかの細胞株で発現され得る。24P4C12の発現は、抗-24P4C12抗体およびノザンブロット分析を用いてモニターされ得る(実施例4および9を参照のこと)。

【0200】

24P4C12を発現する哺乳動物細胞株は、いくつかのインビトロおよびインビボアッセイで試験され得、これには、組織培養中の細胞増殖、アポトーシスシグナルの活性化、SCIDマウスにおける腫瘍形成、および膜侵襲培養系を用いるインビトロ侵襲(MICS; Welchら、Int. J. Cancer 43:449-457)が含まれる。24P4C12細胞表現型を、24P4C12の発現を欠く細胞の表現型と比較する。

【0201】

24P4C12を発現する細胞株はまた、マトリゲルでコートされた多孔性膜チャンバ(Becton Dickinson)を通る細胞の通過を測定することにより、侵襲および遊走性質の改変についてアッセイされ得る。対向する側面への膜を通じる細胞の通過は、カルセイン-Am(Molecular Probes)を負荷したインジケーター細胞を用いる蛍光アッセイ(Becton Dickinson Technical Bulletin #428)を用いてモニターされる。分析された細胞株は、親および24P4C12過剰発現PC3、NIH3T3ならびにLNCaP細胞を含む。24P4C12発現細胞が化学誘引物質の性質を有するか否かを決定するために、インジケーター細胞を、コントロール培地に比較して24P4C12馴化培地のグラジエントに向かう多孔性膜を通じる通過についてモニターする。このアッセイはまた、候補の癌治療組成物による24P4C12で誘導される効果の特異的中和を定性および定量するために用いられ得る。

【0202】

24P4C12の機能は、上記の種々の機能的アッセイ(例えば、成長、侵襲および移動)と連結された抗アンチセンスRNA技術を用いて評価され得る。アンチセンスRNAオリゴヌクレオチドを、24P4C12発現細胞中に導入し得、それによって24P4C12の発現を防ぐ。コントロールおよびアンチセンス含有細胞は、増殖、侵襲、移動、アポトーシスおよび転写能力について分析し得る。24P4C12発現の損失の局所および全身効果が評価され得る。

【0203】

(実施例11:24P4C12腫瘍成長促進に対するインビボアッセイ)

腫瘍細胞増殖に対する24P4C12タンパク質の影響は、腫瘍をもつマウス中の遺伝子過剰発現によりインビボで評価され得る。例えば、SCIDマウスに、各脇腹上に、tkNeo空ベクターまたは24P4C12を含む、PC3、T SUPR1、またはDU145細胞のいずれの 1×10^6 を皮下し得る。少なくとも以下の2つの戦略が用いられ得る:(1)ポリオーマウイルス、鶏痘ウイルス(1989年7月5日に公開されたUK2,211,504)、(アデノウイルス2のような)アデノウイルス、ウシパピローマウイルス、トリザルコーマウ

イルス、サイトメガロウイルス、レトロウイルス、B型肝炎ウイルスおよびシミアンウイルス40(SV40)のようなウイルスのゲノムから、または例えばアクチンプロモーターまたは免疫グロブリンプロモーター(このようなプロモーターが宿主細胞系と適合するという条件で)から得られた構成的プロモーターのようなプロモーターの調節下の、構成的24P4C12発現、および(2)(このようなプロモーターが宿主細胞系と適合するという条件で)ecdysone、tetなどのような、誘導性ベクター系の制御下の調節発現。次いで、腫瘍容積を、触知可能な腫瘍の出現時にモニターし、そして、経時的に、24P4C12発現細胞が、より速い速度で成長するか否か、および24P4C12発現細胞により生成される腫瘍が、改変された病原性の特徴(例えば、増大した転移、血管形成、化学的治療薬物に対して減少した応答性)を示すか否かを測定する。さらに、マウスに、 1×10^5 の同じ細胞を同所的に移植し得、24P4C12が、前立腺における局所成長に対する影響、または特に肺、リンパ節、および骨髄に特異的に転移する細胞の能力に対する影響を有するか否かを決定する。

【0204】

このアッセイはまた、(例えば、24P4C12内部抗体、24P4C12アンチセンス分子およびリボザイムのような)候補治療組成物の24P4C12阻害効果を決定するために有用である。

【0205】

(実施例12:細胞下画分中の24P4C12発現のウェスタン分析)

24P4C12の配列分析は、膜貫通ドメインの存在を示した。24P4C12の細胞位置は、細胞生物学で広く用いられる細胞下分画技法を用いて評価され得る(Storie Bら、Methods Enzymol. 1990; 182: 203-25)。前立腺細胞株は、核、細胞質ゾルおよび膜画分に分離され得る。異なる画分中の24P4C12発現は、ウェスタンブロッティング技法を用いて試験され得る。

【0206】

あるいは、24P4C12の細胞下局在化を決定するために、293T細胞を、HISタグ24P4C12をコードする発現ベクター(PCDNA 3.1

MYC/HIS、Invitrogen)でトランスフェクトされ得る。このトランスフェクト細胞を回収し、そして先に記載のように(Pemberton、P.A.ら、1997、J of Histochemistry and Cytochemistry、45:1697-1706)、差次的細胞下分画プロトコルに供し得る。このプロトコルは、細胞を、核、重膜(リソソーム、ペルオキシソーム、およびミトコンドリア)、軽膜(原形質膜および小胞体)、および可溶性タンパク質について濃縮された画分に分割する。

【0207】

本出願を通じて、種々の刊行物が括弧内に参照されている。これらの刊行物の開示は、それらの全体が本明細書に参考として援用されている。

【0208】

本発明は、本明細書に開示の実施の形態により範囲を限定されるべきではなく、これらは、本発明の個々の局面の単なる例示として意図され、そして機能的に等価である任意のものは、本発明の範囲内にある。本明細書に記載のこれらに加えて、本発明のモデルおよび方法に対する種々の改変は、先行する記述および教示から当業者に明らかとなり、そして本発明の範囲内に同様に入ることが意図される。このような改変またはその他の実施の形態は、本発明の真の範囲および思想から逸脱することなく実施され得る。これらの改変およびその他の実施の形態は、制限されることなく、24P4C12と組み合わせて、本明細書に開示の種々の方法、アッセイ、分子および戦略を、H38087との使用のために適合することを包含する。

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> Urogenesys, Inc., et al.

<120> NOVEL 13-TRANSMEMBRANE PROTEIN EXPRESSED
IN PROSTATE CANCER

<130> 129.11WOU1

<150> 60/128,858

<151> 1999-04-12

<160> 71

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1

<211> 2585

<212> DNA

<213> HUMAN

<220>

<221> CDS

<222> (4)...(2136)

<400> 1

gcc atg ggg gga aag cag cgg gac gag gat gac gag gcc tac ggg aag
48

Met Gly Gly Lys Gln Arg Asp Glu Asp Asp Glu Ala Tyr Gly Lys
1 5 10 15

cca gtc aaa tac gac ccc tcc ttt cga ggc ccc atc aag aac aga agc
96

Pro Val Lys Tyr Asp Pro Ser Phe Arg Gly Pro Ile Lys Asn Arg Ser
20 25 30

tgc aca gat gtc atc tgc tgc gtc ctc ttc ctg ctc ttc att cta ggt
144

Cys Thr Asp Val Ile Cys Cys Val Leu Phe Leu Leu Phe Ile Leu Gly
35 40 45

tac atc gtg gtg ggg att gtg gcc tgg ttg tat gga gac ccc cgg caa
192

Tyr Ile Val Val Gly Ile Val Ala Trp Leu Tyr Gly Asp Pro Arg Gln
50 55 60

gtc ctc tac ccc agg aac tct act ggg gcc tac tgt ggc atg ggg gag
240

Val Leu Tyr Pro Arg Asn Ser Thr Gly Ala Tyr Cys Gly Met Gly Glu
65 70 75

aac aaa gat aag ccg tat ctc ctg tac ttc aac atc ttc agc tgc atc
288

Asn Lys Asp Lys Pro Tyr Leu Leu Tyr Phe Asn Ile Phe Ser Cys Ile
80 85 90 95

ctg tcc agc aac atc atc tca gtt gct gag aac ggc cta cag tgc ccc
 336
 Leu Ser Ser Asn Ile Ile Ser Val Ala Glu Asn Gly Leu Gln Cys Pro
 100 105 110

aca ccc cag gtg tgt gtg tcc tcc tgc ccg gag gac cca tgg act gtg
 384
 Thr Pro Gln Val Cys Val Ser Ser Cys Pro Glu Asp Pro Trp Thr Val
 115 120 125

gga aaa aac gag ttc tca cag act gtt ggg gaa gtc ttc tat aca aaa
 432
 Gly Lys Asn Glu Phe Ser Gln Thr Val Gly Glu Val Phe Tyr Thr Lys
 130 135 140

aac agg aac ttt tgt ctg cca ggg gta ccc tgg aat atg acg gtg atc
 480
 Asn Arg Asn Phe Cys Leu Pro Gly Val Pro Trp Asn Met Thr Val Ile
 145 150 155

aca agc ctg caa cag gaa ctc tgc ccc agt ttc ctc ctc ccc tct gct
 528
 Thr Ser Leu Gln Gln Glu Leu Cys Pro Ser Phe Leu Leu Pro Ser Ala
 160 165 170 175

cca gct ctg ggg cgc tgc ttt cca tgg acc aac gtt act cca ccg gcg
 576
 Pro Ala Leu Gly Arg Cys Phe Pro Trp Thr Asn Val Thr Pro Pro Ala
 180 185 190

ctc cca ggg atc acc aat gac acc acc ata cag cag ggg atc agc ggt
 624
 Leu Pro Gly Ile Thr Asn Asp Thr Thr Ile Gln Gln Gly Ile Ser Gly
 195 200 205

ctt att gac agc ctc aat gcc cga gac atc agt gtt aag atc ttt gaa
 672
 Leu Ile Asp Ser Leu Asn Ala Arg Asp Ile Ser Val Lys Ile Phe Glu
 210 215 220

gat ttt gcc cag tcc tgg tat tgg att ctt gtt gcc ctg ggg gtg gct
 720
 Asp Phe Ala Gln Ser Trp Tyr Trp Ile Leu Val Ala Leu Gly Val Ala
 225 230 235

ctg gtc ttg agc cta ctg ttt atc ttg ctt ctg cgc ctg gtg gct ggg
 768
 Leu Val Leu Ser Leu Leu Phe Ile Leu Leu Leu Arg Leu Val Ala Gly
 240 245 250 255

ccc ctg gtg ctg gtg ctg atc ctg gga gtg ctg ggc gtg ctg gca tac
 816
 Pro Leu Val Leu Val Leu Ile Leu Gly Val Leu Gly Val Leu Ala Tyr
 260 265 270

ggc atc tac tac tgc tgg gag gag tac cga gtg ctg cgg gac aag ggc
 864

Gly Ile Tyr Tyr Cys Trp Glu Glu Tyr Arg Val Leu Arg Asp Lys Gly
 275 280 285

gcc tcc atc tcc cag ctg ggt ttc acc acc aac ctc agt gcc tac cag
 912

Ala Ser Ile Ser Gln Leu Gly Phe Thr Thr Asn Leu Ser Ala Tyr Gln
 290 295 300

agc gtg cag gag acc tgg ctg gcc gcc ctg atc gtg ttg gcg gtg ctt
 960

Ser Val Gln Glu Thr Trp Leu Ala Ala Leu Ile Val Leu Ala Val Leu
 305 310 315

gaa gcc atc ctg ctg ctg atg ctc atc ttc ctg cgg cag cgg att cgt
 1008

Glu Ala Ile Leu Leu Leu Met Leu Ile Phe Leu Arg Gln Arg Ile Arg
 320 325 330 335

att gcc atc gcc ctc ctg aag gag gcc agc aag gct gtg gga cag atg
 1056

Ile Ala Ile Ala Leu Leu Lys Glu Ala Ser Lys Ala Val Gly Gln Met
 340 345 350

atg tct acc atg ttc tac cca ctg gtc acc ttt gtc ctc ctc ctc atc
 1104

Met Ser Thr Met Phe Tyr Pro Leu Val Thr Phe Val Leu Leu Leu Ile
 355 360 365

tgc att gcc tac tgg gcc atg act gct ctg tac ctg gct aca tcg ggg
 1152

Cys Ile Ala Tyr Trp Ala Met Thr Ala Leu Tyr Leu Ala Thr Ser Gly
 370 375 380

caa ccc cag tat gtg ctc tgg gca tcc aac atc agc tcc ccc gcc tgt
 1200

Gln Pro Gln Tyr Val Leu Trp Ala Ser Asn Ile Ser Ser Pro Gly Cys
 385 390 395

gag aaa gtg cca ata aat aca tca tgc aac ccc acg gcc cac ctt gtg
 1248

Glu Lys Val Pro Ile Asn Thr Ser Cys Asn Pro Thr Ala His Leu Val
 400 405 410 415

aac tcc tcg tgc cca ggg ctg atg tgc gtc ttc cag ggc tac tca tcc
 1296

Asn Ser Ser Cys Pro Gly Leu Met Cys Val Phe Gln Gly Tyr Ser Ser
 420 425 430

aaa ggc cta atc caa cgt tct gtc ttc aat ctg caa atc tat ggg gtc
 1344

Lys Gly Leu Ile Gln Arg Ser Val Phe Asn Leu Gln Ile Tyr Gly Val
 435 440 445

ctg ggg ctc ttc tgg acc ctt aac tgg gta ctg gcc ctg ggc caa tgc
 1392

Leu Gly Leu Phe Trp Thr Leu Asn Trp Val Leu Ala Leu Gly Gln Cys
 450 455 460

gtc ctc gct gga gcc ttt gcc tcc ttc tac tgg gcc ttc cac aag ccc
 1440
 Val Leu Ala Gly Ala Phe Ala Ser Phe Tyr Trp Ala Phe His Lys Pro
 465 470 475

cag gac atc cct acc ttc ccc tta atc tct gcc ttc atc cgc aca ctc
 1488
 Gln Asp Ile Pro Thr Phe Pro Leu Ile Ser Ala Phe Ile Arg Thr Leu
 480 485 490 495

cgt tac cac act ggg tca ttg gca ttt gga gcc ctc atc ctg acc ctt
 1536
 Arg Tyr His Thr Gly Ser Leu Ala Phe Gly Ala Leu Ile Leu Thr Leu
 500 505 510

gtg cag ata gcc cgg gtc atc ttg gag tat att gac cac aag ctc aga
 1584
 Val Gln Ile Ala Arg Val Ile Leu Glu Tyr Ile Asp His Lys Leu Arg
 515 520 525

gga gtg cag aac cct gta gcc cgc tgc atc atg tgc tgt ttc aag tgc
 1632
 Gly Val Gln Asn Pro Val Ala Arg Cys Ile Met Cys Cys Phe Lys Cys
 530 535 540

tgc ctc tgg tgt ctg gaa aaa ttt atc aag ttc cta aac cgc aat gca
 1680
 Cys Leu Trp Cys Leu Glu Lys Phe Ile Lys Phe Leu Asn Arg Asn Ala
 545 550 555

tac atc atg atc gcc atc tac ggg aag aat ttc tgt gtc tca gcc aaa
 1728
 Tyr Ile Met Ile Ala Ile Tyr Gly Lys Asn Phe Cys Val Ser Ala Lys
 560 565 570 575

aat gcg ttc atg cta ctc atg cga aac att gtc agg gtg gtc gtc ctg
 1776
 Asn Ala Phe Met Leu Leu Met Arg Asn Ile Val Arg Val Val Val Leu
 580 585 590

gac aaa gtc aca gac ctg ctg ctg ttc ttt ggg aag ctg ctg gtg gtc
 1824
 Asp Lys Val Thr Asp Leu Leu Leu Phe Phe Gly Lys Leu Leu Val Val
 595 600 605

gga ggc gtg ggg gtc ctg tcc ttc ttt ttt ttc tcc ggt cgc atc ccg
 1872
 Gly Gly Val Gly Val Leu Ser Phe Phe Phe Phe Ser Gly Arg Ile Pro
 610 615 620

ggg ctg ggt aaa gac ttt aag agc ccc cac ctc aac tat tac tgg ctg
 1920
 Gly Leu Gly Lys Asp Phe Lys Ser Pro His Leu Asn Tyr Tyr Trp Leu
 625 630 635

```

ccc atc atg acc tcc atc ctg ggg gcc tat gtc atc gcc agc ggc ttc
1968
Pro Ile Met Thr Ser Ile Leu Gly Ala Tyr Val Ile Ala Ser Gly Phe
640                645                650                655

ttc agc gtt ttc ggc atg tgt gtg gac acg ctc ttc ctc tgc ttc ctg
2016
Phe Ser Val Phe Gly Met Cys Val Asp Thr Leu Phe Leu Cys Phe Leu
660                665                670

gaa gac ctg gag cgg aac aac ggc tcc ctg gac cgg ccc tac tac atg
2064
Glu Asp Leu Glu Arg Asn Asn Gly Ser Leu Asp Arg Pro Tyr Tyr Met
675                680                685

tcc aag agc ctt cta aag att ctg ggc aag aag aac gag gcg ccc ccg
2112
Ser Lys Ser Leu Leu Lys Ile Leu Gly Lys Lys Asn Glu Ala Pro Pro
690                695                700

gac aac aag aag agg aag aag tga cagctccggc cctgatccag gactgcaccc
2166
Asp Asn Lys Lys Arg Lys Lys *
705                710

caccgccacc gtccagccat ccaacctcac ttgccttac aggtctccat tttgtggtaa
2226
aaaaaggttt taggccaggc gccgtggctc acgcctgtaa tccaacactt tgagaggctg
2286
aggcggggcgg atcacctgag tcaggagttc gagaccagcc tggccaacat ggtgaaacct
2346
ccgtctctat taaaaataca aaaattagcc gagagtggtg gcacgcacct gtcaccccag
2406
ctactcggga ggctgaggca ggagaatcgc ttgaaccggg gaggcagagg ttgcagtgag
2466
ccgagatcgc gccactgcac tocaacctgg gtgacagact ctgtctccaa aacaaaaaaa
2526
acaaacaaaa agattttatt aaagatattt tgtaactca gtaaaaaaaaa aaaaaaaaaa
2585

<210> 2
<211> 710
<212> PRT
<213> HUMAN

<400> 2
Met Gly Gly Lys Gln Arg Asp Glu Asp Asp Glu Ala Tyr Gly Lys Pro
1                5                10                15
Val Lys Tyr Asp Pro Ser Phe Arg Gly Pro Ile Lys Asn Arg Ser Cys
20                25                30
Thr Asp Val Ile Cys Cys Val Leu Phe Leu Leu Phe Ile Leu Gly Tyr
35                40                45
Ile Val Val Gly Ile Val Ala Trp Leu Tyr Gly Asp Pro Arg Gln Val
50                55                60
Leu Tyr Pro Arg Asn Ser Thr Gly Ala Tyr Cys Gly Met Gly Glu Asn
65                70                75                80
Lys Asp Lys Pro Tyr Leu Leu Tyr Phe Asn Ile Phe Ser Cys Ile Leu

```

				85					90				95		
Ser	Ser	Asn	Ile	Ile	Ser	Val	Ala	Glu	Asn	Gly	Leu	Gln	Cys	Pro	Thr
			100					105					110		
Pro	Gln	Val	Cys	Val	Ser	Ser	Cys	Pro	Glu	Asp	Pro	Trp	Thr	Val	Gly
		115					120					125			
Lys	Asn	Glu	Phe	Ser	Gln	Thr	Val	Gly	Glu	Val	Phe	Tyr	Thr	Lys	Asn
	130					135					140				
Arg	Asn	Phe	Cys	Leu	Pro	Gly	Val	Pro	Trp	Asn	Met	Thr	Val	Ile	Thr
145					150					155					160
Ser	Leu	Gln	Gln	Glu	Leu	Cys	Pro	Ser	Phe	Leu	Leu	Pro	Ser	Ala	Pro
				165					170						175
Ala	Leu	Gly	Arg	Cys	Phe	Pro	Trp	Thr	Asn	Val	Thr	Pro	Pro	Ala	Leu
		180						185					190		
Pro	Gly	Ile	Thr	Asn	Asp	Thr	Thr	Ile	Gln	Gln	Gly	Ile	Ser	Gly	Leu
	195						200					205			
Ile	Asp	Ser	Leu	Asn	Ala	Arg	Asp	Ile	Ser	Val	Lys	Ile	Phe	Glu	Asp
210						215					220				
Phe	Ala	Gln	Ser	Trp	Tyr	Trp	Ile	Leu	Val	Ala	Leu	Gly	Val	Ala	Leu
225					230					235					240
Val	Leu	Ser	Leu	Leu	Phe	Ile	Leu	Leu	Leu	Arg	Leu	Val	Ala	Gly	Pro
				245					250						255
Leu	Val	Leu	Val	Leu	Ile	Leu	Gly	Val	Leu	Gly	Val	Leu	Ala	Tyr	Gly
			260					265					270		
Ile	Tyr	Tyr	Cys	Trp	Glu	Glu	Tyr	Arg	Val	Leu	Arg	Asp	Lys	Gly	Ala
	275						280					285			
Ser	Ile	Ser	Gln	Leu	Gly	Phe	Thr	Thr	Asn	Leu	Ser	Ala	Tyr	Gln	Ser
	290					295					300				
Val	Gln	Glu	Thr	Trp	Leu	Ala	Ala	Leu	Ile	Val	Leu	Ala	Val	Leu	Glu
305					310					315					320
Ala	Ile	Leu	Leu	Leu	Met	Leu	Ile	Phe	Leu	Arg	Gln	Arg	Ile	Arg	Ile
				325					330						335
Ala	Ile	Ala	Leu	Leu	Lys	Glu	Ala	Ser	Lys	Ala	Val	Gly	Gln	Met	Met
			340					345					350		
Ser	Thr	Met	Phe	Tyr	Pro	Leu	Val	Thr	Phe	Val	Leu	Leu	Leu	Ile	Cys
	355						360					365			
Ile	Ala	Tyr	Trp	Ala	Met	Thr	Ala	Leu	Tyr	Leu	Ala	Thr	Ser	Gly	Gln
	370					375					380				
Pro	Gln	Tyr	Val	Leu	Trp	Ala	Ser	Asn	Ile	Ser	Ser	Pro	Gly	Cys	Glu
385					390					395					400
Lys	Val	Pro	Ile	Asn	Thr	Ser	Cys	Asn	Pro	Thr	Ala	His	Leu	Val	Asn
				405					410						415
Ser	Ser	Cys	Pro	Gly	Leu	Met	Cys	Val	Phe	Gln	Gly	Tyr	Ser	Ser	Lys
		420						425					430		
Gly	Leu	Ile	Gln	Arg	Ser	Val	Phe	Asn	Leu	Gln	Ile	Tyr	Gly	Val	Leu
	435						440					445			
Gly	Leu	Phe	Trp	Thr	Leu	Asn	Trp	Val	Leu	Ala	Leu	Gly	Gln	Cys	Val
	450					455					460				
Leu	Ala	Gly	Ala	Phe	Ala	Ser	Phe	Tyr	Trp	Ala	Phe	His	Lys	Pro	Gln
465					470					475					480
Asp	Ile	Pro	Thr	Phe	Pro	Leu	Ile	Ser	Ala	Phe	Ile	Arg	Thr	Leu	Arg
				485					490					495	
Tyr	His	Thr	Gly	Ser	Leu	Ala	Phe	Gly	Ala	Leu	Ile	Leu	Thr	Leu	Val
			500					505					510		
Gln	Ile	Ala	Arg	Val	Ile	Leu	Glu	Tyr	Ile	Asp	His	Lys	Leu	Arg	Gly
	515						520					525			
Val	Gln	Asn	Pro	Val	Ala	Arg	Cys	Ile	Met	Cys	Cys	Phe	Lys	Cys	Cys
	530						535					540			

```

Leu Trp Cys Leu Glu Lys Phe Ile Lys Phe Leu Asn Arg Asn Ala Tyr
545          550          555
Ile Met Ile Ala Ile Tyr Gly Lys Asn Phe Cys Val Ser Ala Lys Asn
          565          570          575
Ala Phe Met Leu Leu Met Arg Asn Ile Val Arg Val Val Val Leu Asp
          580          585          590
Lys Val Thr Asp Leu Leu Leu Phe Phe Gly Lys Leu Leu Val Val Gly
          595          600          605
Gly Val Gly Val Leu Ser Phe Phe Phe Phe Ser Gly Arg Ile Pro Gly
          610          615          620
Leu Gly Lys Asp Phe Lys Ser Pro His Leu Asn Tyr Tyr Trp Leu Pro
625          630          635
Ile Met Thr Ser Ile Leu Gly Ala Tyr Val Ile Ala Ser Gly Phe Phe
          645          650          655
Ser Val Phe Gly Met Cys Val Asp Thr Leu Phe Leu Cys Phe Leu Glu
          660          665          670
Asp Leu Glu Arg Asn Asn Gly Ser Leu Asp Arg Pro Tyr Trp Met Ser
          675          680          685
Lys Ser Leu Leu Lys Ile Leu Gly Lys Lys Asn Glu Ala Pro Pro Asp
          690          695          700
Asn Lys Lys Arg Lys Lys
705          710

```

```

<210> 3
<211> 160
<212> DNA
<213> HUMAN

```

```

<220>
<221> CDS
<222> (1)...(160)

```

```

<400> 3
gat cag ggc ggc cag cca ggt ctc ctg cac gct ctg gta ggc act gag
48
Asp Gln Gly Gly Gln Pro Gly Leu Leu His Ala Leu Val Gly Thr Glu
  1          5          10          15
gtt ggt ggt gaa acc cag ctg gga gat gga ggc gcc ctc gtc ccg cag
96
Val Gly Gly Glu Thr Gln Leu Gly Asp Gly Gly Ala Leu Val Pro Gln
          20          25          30
cac tcg gta ctc ctc cca gca gta gta gat gcc ata tgc cag cac gcc
144
His Ser Val Leu Leu Pro Ala Val Val Asp Ala Ile Cys Gln His Ala
          35          40          45
cag cac tcc cag gat c
160
Gln His Ser Gln Asp
          50

```

```

<210> 4
<211> 53
<212> PRT

```

<213> HUMAN

<400> 4

Asp Gln Gly Gly Gln Pro Gly Leu Leu His Ala Leu Val Gly Thr Glu
 1 5 10 15
 Val Gly Gly Glu Thr Gln Leu Gly Asp Gly Gly Ala Leu Val Pro Gln
 20 25 30
 His Ser Val Leu Leu Pro Ala Val Val Asp Ala Ile Cys Gln His Ala
 35 40 45
 Gln His Ser Gln Asp
 50

<210> 5

<211> 705

<212> PRT

<213> Mouse

<400> 5

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

<220>

<221> CDS

<222> (58)...(2172)

<400> 6

gcccccccg gctggggctcg cgctggctcg gactccgctc cccgccccgc cgcggcc atg
60

Met

1

gag gac gag cgg aaa aac gga gcc tac gga acg cca cag aag tat gat
108

Glu Asp Glu Arg Lys Asn Gly Ala Tyr Gly Thr Pro Gln Lys Tyr Asp
5 10 15

ccc act ttc aaa gga ccc att tac aat agg ggc tgc acg gat atc ata
156

Pro Thr Phe Lys Gly Pro Ile Tyr Asn Arg Gly Cys Thr Asp Ile Ile
20 25 30

tgc tgt gtg ttc ctg ctc ctg gcc att gtg ggc tac gtg gct gta ggc
204

Cys Cys Val Phe Leu Leu Leu Ala Ile Val Gly Tyr Val Ala Val Gly
35 40 45

atc ata gcc tgg act cat gga gac cct cga aag gtg atc tac ccc act
252

Ile Ile Ala Trp Thr His Gly Asp Pro Arg Lys Val Ile Tyr Pro Thr
50 55 60 65

gat agc cgg ggc gag ttc tgc ggg cag aag ggc aca aaa aac gag aac
300

Asp Ser Arg Gly Glu Phe Cys Gly Gln Lys Gly Thr Lys Asn Glu Asn
70 75 80

aaa ccc tat ctg ttt tat ttc aac att gtg aaa tgt gcc agc ccc ctg
348

Lys Pro Tyr Leu Phe Tyr Phe Asn Ile Val Lys Cys Ala Ser Pro Leu
85 90 95

gtt ctg ctg gaa ttc caa tgt ccc act ccc cag atc tgc gtg gaa aaa
396

Val Leu Leu Glu Phe Gln Cys Pro Thr Pro Gln Ile Cys Val Glu Lys
100 105 110

tgc ccc gac cgc tac ctc acg tac ctg aat gct cgc agc tcc cgg gac
444

Cys Pro Asp Arg Tyr Leu Thr Tyr Leu Asn Ala Arg Ser Ser Arg Asp
115 120 125

ttt gag tac tat aag cag ttc tgt gtt cct ggc ttc aag aac aat aaa
492

Phe Glu Tyr Tyr Lys Gln Phe Cys Val Pro Gly Phe Lys Asn Asn Lys
130 135 140 145

gga gtg gct gag gtg ctt cga gat ggt gac tgc cct gct gtc ctc atc
540

Gly Val Ala Glu Val Leu Arg Asp Gly Asp Cys Pro Ala Val Leu Ile
 150 155 160
 ccc agc aaa ccc ttg gcc cgg aga tgc ttc ccc gct atc cac gcc tac
 588
 Pro Ser Lys Pro Leu Ala Arg Arg Cys Phe Pro Ala Ile His Ala Tyr
 165 170 175
 aag ggt gtc ctg atg gtg ggc aat gag acg acc tat gag gat ggg cat
 636
 Lys Gly Val Leu Met Val Gly Asn Glu Thr Thr Tyr Glu Asp Gly His
 180 185 190
 ggc tcc cgg aaa aac atc aca gac ctg gtg gag ggc gcc aag aaa gcc
 684
 Gly Ser Arg Lys Asn Ile Thr Asp Leu Val Glu Gly Ala Lys Lys Ala
 195 200 205
 aat gga gtc cta gag gcg cgg caa ctc gcc atg cgc ata ttt gaa gat
 732
 Asn Gly Val Leu Glu Ala Arg Gln Leu Ala Met Arg Ile Phe Glu Asp
 210 215 220 225
 tac acc gtc tct tgg tac tgg att atc ata ggc ctg gtc att gcc atg
 780
 Tyr Thr Val Ser Trp Tyr Trp Ile Ile Ile Gly Leu Val Ile Ala Met
 230 235 240
 gcg atg agc ctc ctg ttc atc atc ctg ctt cgc ttc ctg gct ggt att
 828
 Ala Met Ser Leu Leu Phe Ile Ile Leu Leu Arg Phe Leu Ala Gly Ile
 245 250 255
 atg gtc tgg gtg atg atc atc atg gtg att ctg gtg ctg ggc tac gga
 876
 Met Val Trp Val Met Ile Ile Met Val Ile Leu Val Leu Gly Tyr Gly
 260 265 270
 ata ttt cac tgc tac atg gag tac tcc cga ctg cgt ggt gag gcc ggc
 924
 Ile Phe His Cys Tyr Met Glu Tyr Ser Arg Leu Arg Gly Glu Ala Gly
 275 280 285
 tct gat gtc tct ttg gtg gac ctc ggc ttt cag acg gat ttc cgg gtg
 972
 Ser Asp Val Ser Leu Val Asp Leu Gly Phe Gln Thr Asp Phe Arg Val
 290 295 300 305
 tac ctg cac tta cgg cag acc tgg ttg gcc ttt atg atc att ctg agt
 1020
 Tyr Leu His Leu Arg Gln Thr Trp Leu Ala Phe Met Ile Ile Leu Ser
 310 315 320
 atc ctt gaa gtc att atc atc ttg ctg ctc atc ttt ctc cgg aag aga
 1068
 Ile Leu Glu Val Ile Ile Ile Leu Leu Leu Ile Phe Leu Arg Lys Arg
 325 330 335

att ctc atc gcg att gca ctc atc aaa gaa gcc agc agg gct gtg gga
 1116
 Ile Leu Ile Ala Ile Ala Leu Ile Lys Glu Ala Ser Arg Ala Val Gly
 340 345 350

tac gtc atg tgc tcc ttg ctc tac cca ctg gtc acc ttc ttc ttg ctg
 1164
 Tyr Val Met Cys Ser Leu Leu Tyr Pro Leu Val Thr Phe Phe Leu Leu
 355 360 365

tgc ctc tgc atc gcc tac tgg gcc agc act gct gtc ttc ctg tcc act
 1212
 Cys Leu Cys Ile Ala Tyr Trp Ala Ser Thr Ala Val Phe Leu Ser Thr
 370 375 380 385

tcc aac gaa gcg gtc tat aag atc ttt gat gac agc ccc tgc cca ttt
 1260
 Ser Asn Glu Ala Val Tyr Lys Ile Phe Asp Asp Ser Pro Cys Pro Phe
 390 395 400

act gcg aaa acc tgc aac cca gag acc ttc ccc tcc tcc cat gag tcc
 1308
 Thr Ala Lys Thr Cys Asn Pro Glu Thr Phe Pro Ser Ser His Glu Ser
 405 410 415

cgc caa tgc ccc aat gcc cgt tgc cag ttc gtc ttc tac ggt ggt gag
 1356
 Arg Gln Cys Pro Asn Ala Arg Cys Gln Phe Val Phe Tyr Gly Gly Glu
 420 425 430

tcg ggc tac cac cgg gcc ctg ctg ggc ctg cag atc ttc aat gcc ttc
 1404
 Ser Gly Tyr His Arg Ala Leu Leu Gly Leu Gln Ile Phe Asn Ala Phe
 435 440 445

atg ttc ttc tgg ttg gcc aac ttc gtg ctg gcg ctg ggc cag gtc acg
 1452
 Met Phe Phe Trp Leu Ala Asn Phe Val Leu Ala Leu Gly Gln Val Thr
 450 455 460 465

ctg gcc ggg gcc ttt gcc tcc tac tac tgg gcc ctg cgc aag ccg gac
 1500
 Leu Ala Gly Ala Phe Ala Ser Tyr Tyr Trp Ala Leu Arg Lys Pro Asp
 470 475 480

gac ctg ccg gcc ttc ccg ctc ttc tct gcc ttt ggc cgg gcg ctc agg
 1548
 Asp Leu Pro Ala Phe Pro Leu Phe Ser Ala Phe Gly Arg Ala Leu Arg
 485 490 495

tac cac aca ggc tcc ctg gcc ttt ggc gcg ctc atc ctg gcc att gtg
 1596
 Tyr His Thr Gly Ser Leu Ala Phe Gly Ala Leu Ile Leu Ala Ile Val
 500 505 510

cag atc atc cgt gtg ata ctc gag tac ctg gat cag cgg ctg aaa gct
 1644
 Gln Ile Ile Arg Val Ile Leu Glu Tyr Leu Asp Gln Arg Leu Lys Ala
 515 520 525

gca gag aac aag ttt gcc aag tgc ctc atg acc tgt ctc aaa tgc tgc
 1692
 Ala Glu Asn Lys Phe Ala Lys Cys Leu Met Thr Cys Leu Lys Cys Cys
 530 535 540 545

ttc tgg tgc ctg gag aag ttc atc aaa ttc ctt aat agg aat gcc tac
 1740
 Phe Trp Cys Leu Glu Lys Phe Ile Lys Phe Leu Asn Arg Asn Ala Tyr
 550 555 560

atc atg att gcc atc tac ggc acc aat ttc tgc acc tcg gcc agg aat
 1788
 Ile Met Ile Ala Ile Tyr Gly Thr Asn Phe Cys Thr Ser Ala Arg Asn
 565 570 575

gcc ttc ttc ctg ctc atg aga aac atc atc aga gtg gct gtc ctg gat
 1836
 Ala Phe Phe Leu Leu Met Arg Asn Ile Ile Arg Val Ala Val Leu Asp
 580 585 590

aaa gtt act gac ttc ctc ttc ctg ttg ggc aaa ctt ctg atc gtt ggt
 1884
 Lys Val Thr Asp Phe Leu Phe Leu Leu Gly Lys Leu Leu Ile Val Gly
 595 600 605

agt gtg ggg atc ctg gct ttc ttc ttc ttc acc cac cgt atc agg atc
 1932
 Ser Val Gly Ile Leu Ala Phe Phe Phe Phe Thr His Arg Ile Arg Ile
 610 615 620 625

gtg cag gat aca gca cca ccc ctc aat tat tac tgg gtt cct ata ctg
 1980
 Val Gln Asp Thr Ala Pro Pro Leu Asn Tyr Tyr Trp Val Pro Ile Leu
 630 635 640

acg gtg atc gtt ggc tcc tac ttg att gca cac ggt ttc ttc agc gtc
 2028
 Thr Val Ile Val Gly Ser Tyr Leu Ile Ala His Gly Phe Phe Ser Val
 645 650 655

tat ggc atg tgt gtg gac acg ctg ttc ctc tgc ttc ttg gag gac ctg
 2076
 Tyr Gly Met Cys Val Asp Thr Leu Phe Leu Cys Phe Leu Glu Asp Leu
 660 665 670

gag agg aat gac ggc tcg gcc gag agg cct tac ttc atg tct tcc acc
 2124
 Glu Arg Asn Asp Gly Ser Ala Glu Arg Pro Tyr Phe Met Ser Ser Thr
 675 680 685

ctc aag aaa ctc ttg aac aag acc aac aag aag gca gcg gag tcc tga
 2172

Leu Lys Lys Leu Leu Asn Lys Thr Asn Lys Lys Ala Ala Glu Ser *
 690 695 700

aggccccgtg ctccccacct ctcaaggagt ctcatgccgc aggggtgctca gtagctgggt
 2232
 ctgttcccc agcccccttg gtcacactga agtctatca ctgccgctct gccctcccc
 2292
 atgagccaga tcccaccagt ttctggacgt ggagagtctg gggcatctcc ttcttatgcc
 2352
 aaggggcgct tggagtttct atggctgccc ctccagactg cgagaaacaa gtaaaaaccc
 2412
 attggggcct cttgatgtct gggatggcac gtggcccgcac ctccacaagc tcctcatgc
 2472
 ttctgtccc cogcttacac gacaacgggc cagaccacgg gaaggacggt gtttgtgtct
 2532
 gagggagctg ctggccacag tgaacaccca cgtttattcc tgctgtctcc ggcaggact
 2592
 gaacccttcc tccacacctg aacagttggc tcaagggcca ccagaagcat ttctttatta
 2652
 ttattatttt ttaacctgga catgcattaa agggcttatt agctttcaaa aaaaaaaaaa
 2712
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa
 2737

<210> 7
 <211> 704
 <212> PRT
 <213> HUMAN

<400> 7
 Met Glu Asp Glu Arg Lys Asn Gly Ala Tyr Gly Thr Pro Gln Lys Tyr
 1 5 10 15
 Asp Pro Thr Phe Lys Gly Pro Ile Tyr Asn Arg Gly Cys Thr Asp Ile
 20 25 30
 Ile Cys Cys Val Phe Leu Leu Leu Ala Ile Val Gly Tyr Val Ala Val
 35 40 45
 Gly Ile Ile Ala Trp Thr His Gly Asp Pro Arg Lys Val Ile Tyr Pro
 50 55 60
 Thr Asp Ser Arg Gly Glu Phe Cys Gly Gln Lys Gly Thr Lys Asn Glu
 65 70 75 80
 Asn Lys Pro Tyr Leu Phe Tyr Phe Asn Ile Val Lys Cys Ala Ser Pro
 85 90 95
 Leu Val Leu Leu Glu Phe Gln Cys Pro Thr Pro Gln Ile Cys Val Glu
 100 105 110
 Lys Cys Pro Asp Arg Tyr Leu Thr Tyr Leu Asn Ala Arg Ser Ser Arg
 115 120 125
 Asp Phe Glu Tyr Tyr Lys Gln Phe Cys Val Pro Gly Phe Lys Asn Asn
 130 135 140
 Lys Gly Val Ala Glu Val Leu Arg Asp Gly Asp Cys Pro Ala Val Leu
 145 150 155 160
 Ile Pro Ser Lys Pro Leu Ala Arg Arg Cys Phe Pro Ala Ile His Ala
 165 170 175
 Tyr Lys Gly Val Leu Met Val Gly Asn Glu Thr Thr Tyr Glu Asp Gly
 180 185 190
 His Gly Ser Arg Lys Asn Ile Thr Asp Leu Val Glu Gly Ala Lys Lys
 195 200 205
 Ala Asn Gly Val Leu Glu Ala Arg Gln Leu Ala Met Arg Ile Phe Glu

Leu Glu Arg Asn Asp Gly Ser Ala Glu Arg Pro Tyr Phe Met Ser Ser
 675 680 685
 Thr Leu Lys Lys Leu Leu Asn Lys Thr Asn Lys Lys Ala Ala Glu Ser
 690 695 700

<210> 8
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> HUMAN

<400> 8
 Asn Arg Ser Cys
 1

<210> 9
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> HUMAN

<400> 9
 Asn Ser Thr Gly
 1

<210> 10
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> HUMAN

<400> 10
 Asn Met Thr Val
 1

<210> 11
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> HUMAN

<400> 11
 Asn Asp Thr Thr
 1

<210> 12
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> HUMAN

<400> 12
 Asn Leu Ser Ala
 1

<210> 13
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> HUMAN

<400> 13
 Asn Ile Ser Ser

1

<210> 14
<211> 4
<212> PRT
<213> HUMAN

<400> 14
Asn Thr Ser Cys
1

<210> 15
<211> 4
<212> PRT
<213> HUMAN

<400> 15
Asn Ser Ser Cys
1

<210> 16
<211> 4
<212> PRT
<213> HUMAN

<400> 16
Asn Gly Ser Leu
1

<210> 17
<211> 4
<212> PRT
<213> HUMAN

<400> 17
Ser Cys Thr Asp
1

<210> 18
<211> 4
<212> PRT
<213> HUMAN

<400> 18
Ser Val Ala Glu
1

<210> 19
<211> 4
<212> PRT
<213> HUMAN

<400> 19
Ser Cys Pro Glu
1

<210> 20

<211> 4
<212> PRT
<213> HUMAN

<400> 20
Thr Val Gly Glu
1

<210> 21
<211> 4
<212> PRT
<213> HUMAN

<400> 21
Ser Val Gln Glu
1

<210> 22
<211> 8
<212> PRT
<213> HUMAN

<400> 22
Arg Asp Glu Asp Asp Glu Ala Tyr
1 5

<210> 23
<211> 6
<212> PRT
<213> HUMAN

<400> 23
Gly Ala Tyr Cys Gly Met
1 5

<210> 24
<211> 6
<212> PRT
<213> HUMAN

<400> 24
Gly Met Gly Glu Asn Lys
1 5

<210> 25
<211> 6
<212> PRT
<213> HUMAN

<400> 25
Gly Val Pro Trp Asn Met
1 5

<210> 26
<211> 6
<212> PRT
<213> HUMAN

<400> 26
Gly Leu Ile Asp Ser Leu
1 5

<210> 27
<211> 6
<212> PRT
<213> HUMAN

<400> 27
Gly Ile Tyr Tyr Cys Trp
1 5

<210> 28
<211> 6
<212> PRT
<213> HUMAN

<400> 28
Gly Ala Ser Ile Ser Gln
1 5

<210> 29
<211> 6
<212> PRT
<213> HUMAN

<400> 29
Gly Gln Met Met Ser Thr
1 5

<210> 30
<211> 6
<212> PRT
<213> HUMAN

<400> 30
Gly Leu Phe Trp Thr Leu
1 5

<210> 31
<211> 6
<212> PRT
<213> HUMAN

<400> 31
Gly Ala Phe Ala Ser Phe
1 5

<210> 32
<211> 4
<212> PRT
<213> HUMAN

<400> 32
Leu Gly Lys Lys

1

<210> 33
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> HUMAN

<400> 33
 Leu Phe Ile Leu Leu Leu Arg Leu Val Ala Gly Pro Leu Val Leu Val
 1 5 10 15
 Leu Ile Leu Gly Val Leu
 20

<210> 34
 <211> 14
 <212> DNA
 <213> HUMAN

<400> 34
 ttttgatcaa gctt
 14

<210> 35
 <211> 42
 <212> DNA
 <213> HUMAN

<400> 35
 ctaatacgcac tcactatagg gctcgcgcgg ccgccccggc ag
 42

<210> 36
 <211> 12
 <212> DNA
 <213> HUMAN

<400> 36
 ggccccgtcct ag
 12

<210> 37
 <211> 40
 <212> DNA
 <213> HUMAN

<400> 37
 gtaatacgcac tcactatagg gcagcgtggt cgcggccgag
 40

<210> 38
 <211> 10
 <212> DNA
 <213> HUMAN

<400> 38
 cggctcctag
 10

<210> 39
<211> 22
<212> DNA
<213> HUMAN

<400> 39
ctaatacgcac tcactatagg gc
22

<210> 40
<211> 22
<212> DNA
<213> HUMAN

<400> 40
tcgagcggcc gcccgggcag ga
22

<210> 41
<211> 20
<212> DNA
<213> HUMAN

<400> 41
agcgtggtcg cggccgagga
20

<210> 42
<211> 25
<212> DNA
<213> HUMAN

<400> 42
atatcgccgc gctcgtcgtc gacaa
25

<210> 43
<211> 26
<212> DNA
<213> HUMAN

<400> 43
agccacacgc agctcattgt agaagg
26

<210> 44
<211> 23
<212> DNA
<213> HUMAN

<400> 44
agatgaggag gaggacaaag gtg
23

<210> 45
<211> 23

<212> DNA
<213> HUMAN

<400> 45
actgctggga ggagtaccga gtc
23

<210> 46
<211> 4
<212> PRT
<213> HUMAN

<400> 46
Asn Glu Thr Thr
1

<210> 47
<211> 4
<212> PRT
<213> HUMAN

<400> 47
Asn Ile Thr Asp
1

<210> 48
<211> 4
<212> PRT
<213> HUMAN

<400> 48
Asn Lys Thr Asn
1

<210> 49
<211> 4
<212> PRT
<213> HUMAN

<400> 49
Thr His Gly Asp
1

<210> 50
<211> 4
<212> PRT
<213> HUMAN

<400> 50
Ser Arg Gly Glu
1

<210> 51
<211> 4
<212> PRT
<213> HUMAN

<400> 51
Thr Lys Asn Glu
1

<210> 52
<211> 4
<212> PRT
<213> HUMAN

<400> 52
Ser Ser Arg Asp
1

<210> 53
<211> 4
<212> PRT
<213> HUMAN

<400> 53
Thr Thr Tyr Glu
1

<210> 54
<211> 4
<212> PRT
<213> HUMAN

<400> 54
Thr Tyr Glu Asp
1

<210> 55
<211> 4
<212> PRT
<213> HUMAN

<400> 55
Ser Leu Val Asp
1

<210> 56
<211> 4
<212> PRT
<213> HUMAN

<400> 56
Ser Ile Leu Glu
1

<210> 57
<211> 4
<212> PRT
<213> HUMAN

<400> 57
Thr Ser Asn Glu
1

<210> 58
<211> 4
<212> PRT
<213> HUMAN

<400> 58
Ser Ser His Glu
1

<210> 59
<211> 9
<212> PRT
<213> HUMAN

<400> 59
Arg Ser Ser Arg Asp Phe Glu Tyr Tyr
1 5

<210> 60
<211> 6
<212> PRT
<213> HUMAN

<400> 60
Gly Gln Lys Gly Thr Lys
1 5

<210> 61
<211> 6
<212> PRT
<213> HUMAN

<400> 61
Gly Asn Glu Thr Thr Tyr
1 5

<210> 62
<211> 6
<212> PRT
<213> HUMAN

<400> 62
Gly Ser Arg Lys Asn Ile
1 5

<210> 63
<211> 6
<212> PRT
<213> HUMAN

<400> 63
Gly Ala Lys Lys Ala Asn
1 5

<210> 64
<211> 6

<212> PRT
<213> HUMAN

<400> 64
Gly Val Leu Glu Ala Arg
1 5

<210> 65
<211> 6
<212> PRT
<213> HUMAN

<400> 65
Gly Leu Val Ile Ala Met
1 5

<210> 66
<211> 6
<212> PRT
<213> HUMAN

<400> 66
Gly Ile Phe His Cys Tyr
1 5

<210> 67
<211> 6
<212> PRT
<213> HUMAN

<400> 67
Gly Ser Asp Val Ser Leu
1 5

<210> 68
<211> 6
<212> PRT
<213> HUMAN

<400> 68
Gly Gly Glu Ser Gly Tyr
1 5

<210> 69
<211> 6
<212> PRT
<213> HUMAN

<400> 69
Gly Ala Phe Ala Ser Tyr
1 5

<210> 70
<211> 6
<212> PRT
<213> HUMAN

```

<400> 70
Gly Thr Asn Phe Cys Thr
 1                               5

<210> 71
<211> 14
<212> PRT
<213> HUMAN

<400> 71
Met Gly Gly Lys Gln Arg Asp Glu Asp Asp Glu Ala Tyr Gly
 1                               5                               10

```

【図面の簡単な説明】

【図1A】

図1A～Dは、24P4C12遺伝子の完全コード配列（および3'非翻訳領域の一部）のヌクレオチド配列（配列番号1）および推定アミノ酸配列（配列番号2）を示す。この配列は、3つのcDNAクローン（24P4C12-GTE9、24P4C12-GTE5、および24P4C12-GTE4と命名された）の重複する配列から生成された（実施例2）。13の潜在的な膜貫通ドメインに下線を付し、太字で示す。Kozak配列および推定開始メチオニンを、太字で示す。

【図1B】

図1A～Dは、24P4C12遺伝子の完全コード配列（および3'非翻訳領域の一部）のヌクレオチド配列（配列番号1）および推定アミノ酸配列（配列番号2）を示す。この配列は、3つのcDNAクローン（24P4C12-GTE9、24P4C12-GTE5、および24P4C12-GTE4と命名された）の重複する配列から生成された（実施例2）。13の潜在的な膜貫通ドメインに下線を付し、太字で示す。Kozak配列および推定開始メチオニンを、太字で示す。

【図1C】

図1A～Dは、24P4C12遺伝子の完全コード配列（および3'非翻訳領域の一部）のヌクレオチド配列（配列番号1）および推定アミノ酸配列（配列番号2）を示す。この配列は、3つのcDNAクローン（24P4C12-GTE9、24P4C12-GTE5、および24P4C12-GTE4と命名された

)の重複する配列から生成された(実施例2)。13の潜在的な膜貫通ドメインに下線を付し、太字で示す。Kozak配列および推定開始メチオニンを、太字で示す。

【図1D】

図1A~Dは、24P4C12遺伝子の完全コード配列(および3'非翻訳領域の一部)のヌクレオチド配列(配列番号1)および推定アミノ酸配列(配列番号2)を示す。この配列は、3つのcDNAクローン(24P4C12-GTE9、24P4C12-GTE5、および24P4C12-GTE4と命名された)の重複する配列から生成された(実施例2)。13の潜在的な膜貫通ドメインに下線を付し、太字で示す。Kozak配列および推定開始メチオニンを、太字で示す。

【図1E】

図1Eは、24P4C12遺伝子の最初に単離されたSSHフラグメントのヌクレオチド配列(配列番号3)およびORFアミノ酸配列(配列番号4)を示す。

【図2A】

図2Aは、前立腺癌異種移植片、正常前立腺、ならびに他の組織および細胞株の24P4C12遺伝子発現のRT-PCR分析を示し、これは、正常前立腺およびLAPC前立腺癌異種移植片におけるおよそ等しいレベルの発現を示す。レーンは以下の組織を表す:(1)脳;(2)前立腺;(3);LAPC-4AD;(4)LAPC-4AI;(5)LAPC-9AD;(6)HeLa;(7)マウスcDNA;および(8)陰性コントロール。

【図2B】

図2Bは、種々の組織における24P4C12遺伝子発現のRT-PCR分析を示し、これは、25サイクルのPCR増幅後の正常腎臓および肺においてのみ、検出可能な発現を示す。より低い発現は、30サイクルの増幅後の種々の他の組織において検出可能である。レーンは以下の組織を表す:(1)脳;(2)心臓;(3)腎臓;(4)肝臓;(5)肺;(6)脾臓;(7)胎盤;および(8)骨格筋。

【図2C】

図2Cは、種々の組織における24P4C12遺伝子発現のRT-PCR分析を示し、これは、25サイクルのPCR増幅後の正常結腸および前立腺においてのみ、検出可能な発現を示す。より低い発現は、30サイクルの増幅後の種々の他の組織において検出可能である。レーンは以下の組織を表す：(1)結腸；(2)卵巣；(3)白血球；(4)前立腺；(5)小腸；(6)脾臓；(7)精巣；および(8)胸腺。

【図3A】

図3Aは、正常ヒト組織のパネルにわたる24P4C12発現のノーザンブロット分析を示し、腎臓における約3kb転写物の発現を示す。レーンは以下の組織を表す：(1)心臓；(2)脳；(3)胎盤；(4)肺；(5)肝臓；(6)骨格筋；(7)腎臓；および(8)脾臓。

【図3B】

図3Bは、正常ヒト組織のパネルにわたる24P4C12発現のノーザンブロット分析を示し、前立腺および結腸における約3kb転写物の発現を示す。レーンは以下の組織を表す：(1)脾臓；(2)胸腺；(3)前立腺；(4)精巣；(5)卵巣；(6)小腸；(7)結腸；および(8)白血球。

【図3C】

図3Cは、前立腺癌移植片および前立腺癌細胞株における24P4C12発現のノーザンブロット分析を示し。レーンは以下の組織を表す：(1)PrEC；(2)LAPC-4AD；(3)LAPC-4AI；(4)LAPC-9AD；(5)LAPC-9AI；(6)LNCaP；(7)PC-3；(8)DU145；(9)TsUPr1；および(10)LAPC-4CL。

【図4】

図4Aおよび4Bは、24P4C12遺伝子産物およびマウスNG22(配列番号5)のアミノ酸配列アラインメントを示す。

【図5】

図5は、LAPC異種移植片における24P4C12の発現を示す。マウス骨内に皮下(sc)または脛骨内(it)で移植したLAPC異種移植片からRN

Aを抽出した。1レーンあたり10 μ gの総RNAを有するノーザンプロットを、24P4C12 SSHフラグメントを用いて探索(probe)した。キロベース(kb)のサイズ標準物を、側方に示す。レーンは以下の組織を表す：(1) LAPC-4 ADsc；(2) LAPC-4 ADsc；(3) LAPC-4 ADsc；(4) LAPC-4 ADit；(5) LAPC-4 ADit；(6) LAPC-4 ADit；(7) LAPC-4 AD²；(8) LAPC-9 ADsc；(9) LAPC-9 ADsc；(10) LAPC-9 ADit；(11) LAPC-9 ADit；(12) LAPC-9 ADit；(13) LAPC-3 AIs c；および(14) LAPC-3 AIs c。

【図6A】

図6Aは、前立腺癌患者サンプルにおける24P4C12の発現を示す。前立腺癌患者由来の前立腺腫瘍およびその正常な隣接組織から、RNAを抽出した。1レーンあたり10 μ gの総RNAを有するノーザンプロットを、24P4C12 SSHフラグメントを用いて探索した。キロベース(kb)のサイズ標準物を、側方に示す。レーンは以下の組織を表す：(1)患者1、正常隣接組織；(2)患者1、グリーソン7腫瘍；(3)患者2、正常隣接腫瘍；(4)患者2、グリーソン9腫瘍；(5)患者3、正常隣接組織；(6)患者3、グリーソン7腫瘍。

【図6B】

図6Bは、図6Aについて記載されるような前立腺癌患者サンプルにおける24P4C12の発現が、アクチンと比較されたことを示す。レーンは以下の組織を表す：(1)患者1、正常隣接組織；(2)患者1、グリーソン7腫瘍；(3)患者2、正常隣接腫瘍；(4)患者2、グリーソン9腫瘍；(5)患者3、正常隣接組織；(6)患者3、グリーソン7腫瘍。

【図7】

図7A~7Dは、H38087(クローンGTB6)のcDNA配列(配列番号2)およびアミノ酸配列(配列番号7)を示す。潜在的なKozak配列および開始メチオニン(太字で表す)の前に5'非翻訳(UTR)領域中のGCリッチ領域(87%GC含量)が示される。潜在的な膜貫通ドメインに下線を付し、

太字で示す。

【図8】

図8は、BLAST機能(NCBI)を使用してH38087との24P4C12の相同性アラインメントを示す。

【図9A】

図9Aは、ヒト組織における24P4C12の発現を示す。1レーンあたり2 μ gのmRNAを用いる複数の組織のノーザンブロット(Clontech)を、24P4C12 SSHフラグメントを用いて探索した。キロベース(kb)のサイズ標準物を、側方に示す。レーンは以下の組織を表す：(1)心臓；(2)脳；(3)胎盤；(4)肺；(5)肝臓；(6)骨格筋；(7)腎臓；および(8)脾臓。

【図9B】

図9Bは、ヒト組織における24P4C12の発現を示す。1レーンあたり2 μ gのmRNAを用いる複数の組織のノーザンブロットを、24P4C12 SSHフラグメントを用いて探索した。キロベース(kb)のサイズ標準物を、側方に示す。レーンは以下の組織を表す：(1)脾臓；(2)胸腺；(3)前立腺；(4)精巣；(5)卵巣；(6)小腸；(7)結腸；および(8)白血球。

【図9C】

図9Cは、ヒト組織における24P4C12の発現を示す。1レーンあたり10 μ gの総RNAを用いるLAPC異種移植片のノーザンブロット(Clontech)を、24P4C12 SSHフラグメントを用いて探索した。サイズ標準物(kb)を、側方に示す。レーンは以下の組織を表す：(1)PC-3；(2)LAPC-4 AD；(3)LAPC-4 AI；(4)LAPC-9 AD；(5)LAPC-9 AI。

【図10A】

図10Aは、24P4C12特異的ポリクローナル抗体によって24P4C12 cDNAでトランスフェクトされた293T細胞中での24P4C12タンパク質の検出を示す。293T細胞は、空のベクター、または、pCDNA3.1 CMVで駆動されたMYC-HisまたはpSR-レトロウイルス発現ベ

クター中の24P4C12 cDNAで一過性にトランスフェクトされた。次いで、サンプル緩衝液中の細胞溶解物を、穏やかな熱変性(70℃)に供し、そして10% SDS-PAGEゲル上で分離し、そしてニトロセルロースに転写した。次いで、膜を、24P4C12のアミノ酸1~14(MGGKQRDEDEEAYG)に対して惹起した、アフィニティー精製したウサギ抗ペプチドpAb 2 µg/mlを用いてウェスタン分析に供した。抗24P4C12免疫応答性バンドを、抗ウサギHRP結合体化二次抗体とともにインキュベーションすることによって可視化し、そして化学発光検出を増強した。結果は、熱変性によって増強された、90 kDの免疫反応性バンド(矢印)および高分子量スミア(>132 kD)の特異的認識を示す。

【図10B】

図10Bは、24P4C12特異的ポリクローナル抗体によって24P4C12 cDNAでトランスフェクトされた293T細胞中での24P4C12タンパク質の検出を示す。図10Aについてと同様に調製されたトランスフェクトされた293T細胞を、サンプル緩衝液中で溶解し、そして強力な熱変性(100℃)に供した。24P4C12のアミノ酸1~14(MGGKQRDEDEEAYG)に対して惹起した、アフィニティー精製したウサギ抗ペプチドpAb 2 µg/mlを用いるウェスタン分析を、図10Aについてと同様に行った。結果は、熱変性によって増強された、90 kDの免疫反応性バンド(矢印)および高分子量スミア(>132 kD)の特異的認識を示す。

【図1A】

FIG. 1A

```

5'  GCC ATG GGG GGA AAG CAG CCG GAC GAG GAT GAC GAG GCC TAC GGG AAG CCA GTC
    ---
      M  G  G  K  Q  R  D  E  D  D  E  A  Y  G  K  P  V

      65          74          83          92          101          110
AAA  TAC GAC CCC TCC TTT CGA GGC CCC ATC AAG AAC AGA AGC TGC ACA GAT GTC
    ---
      K  Y  D  P  S  F  R  G  P  I  K  N  R  S  C  T  D  V

      119          128          137          146          155          164
ATC  TGC TGC GTC CTC TTC CTG CTC TTC ATT CTA GGT TAC ATC GTG GTG GGG ATT
    ---
      I  C  C  V  L  F  L  L  F  I  L  G  Y  I  V  V  G  I

      173          182          191          200          209          218
GTG  GCC TGG TTG TAT GGA GAC CCC CGG CAA GTC CTC TAC CCC AGG AAC TCT ACT
    ---
      V  A  W  L  Y  G  D  P  R  Q  V  L  Y  P  R  N  S  T

      227          236          245          254          263          272
GGG  GCC TAC TGT GGC ATG GGG GAG AAC AAA GAT AAG CCG TAT CTC CTG TAC TTC
    ---
      G  A  Y  C  G  M  G  E  N  K  D  K  P  Y  L  L  Y  F

      281          290          299          308          317          326
AAC  ATC TTC AGC TGC ATC CTG TCC AGC AAC ATC ATC TCA GTT GCT GAG AAC GGC
    ---
      N  I  F  S  C  I  L  S  S  N  I  I  S  V  A  E  N  G

      335          344          353          362          371          380
CTA  CAG TGC CCC ACA CCC CAG GTG TGT GTG TCC TCC TGC CCG GAG GAC CCA TGG
    ---
      L  Q  C  P  T  P  Q  V  C  V  S  S  C  P  E  D  P  W

      389          398          407          416          425          434
ACT  GTG GGA AAA AAC GAG TTC TCA CAG ACT GTT GGG GAA GTC TTC TAT ACA AAA
    ---
      T  V  G  K  N  E  F  S  Q  T  V  G  E  V  F  Y  T  K

      443          452          461          470          479          488
AAC  AGG AAC TTT TGT CTG CCA GGG GTA CCC TGG AAT ATG ACG GTG ATC ACA AGC
    ---
      N  R  N  F  C  L  P  G  V  P  W  N  M  T  V  I  T  S

      497          506          515          524          533          542
CTG  CAA CAG GAA CTC TGC CCC AGT TTC CTC CTC CCC TCT GCT CCA GCT CTG GGG
    ---
      L  Q  Q  E  L  C  P  S  F  L  L  P  S  A  P  A  L  G

      551          560          569          578          587          596
CGC  TGC TTT CCA TGG ACC AAC GTT ACT CCA CCG GCG CTC CCA GGG ATC ACC AAT
    ---
      R  C  F  P  W  T  N  V  T  P  P  A  L  P  G  I  T  N

```

【図1B】

FIG. 1B

```

      605          614          623          632          641          650
GAC ACC ACC ATA CAG CAG GGG ATC AGC GGT CTT ATT GAC AGC CTC AAT GCC CGA
-----
D T T I Q Q G I S G L I D S L N A R

      659          668          677          686          695          704
GAC ATC AGT GTT AAG ATC TTT GAA GAT TTT GCC CAG TCC TGG TAT TGG ATT CTT
-----
D I S V K I F E D F A Q S W Y W I L

      713          722          731          740          749          758
GTT GCC CTG GGG GTG GCT CTG GTC TTG AGC CTA CTG TTT ATC TTG CTT CTG CGC
-----
V A L G V A L V L S L L F I L L L R

      767          776          785          794          803          812
CTG GTG GCT GGG CCC CTG GTG CTG GTG CTG ATC CTG GGA GTG CTG GGC GTG CTG
-----
L V A G P L V L V L I L G V L G V L

      821          830          839          848          857          866
GCA TAC GGC ATC TAC TAC TGC TGG GAG GAG TAC CGA GTG CTG CGG GAC AAG GGC
-----
A Y G I Y Y C W E E Y R V L R D K G

      875          884          893          902          911          920
GCC TCC ATC TCC CAG CTG GGT TTC ACC ACC AAC CTC AGT GCC TAC CAG AGC GTG
-----
A S I S Q L G F T T N L S A Y Q S V

      929          938          947          956          965          974
CAG GAG ACC TGG CTG GCC GCC CTG ATC GTG TTG GCG GTG CTT GAA GCC ATC CTG
-----
Q E T W L A A L I V L A V L E A I L

      983          992          1001          1010          1019          1028
CTG CTG ATG CTC ATC TTC CTG CGG CAG CGG ATT CGT ATT GCC ATC GCC CTC CTG
-----
L L M L I F L R Q R I R I A I A L L

      1037          1046          1055          1064          1073          1082
AAG GAG GCC AGC AAG GCT GTG GGA CAG ATG ATG TCT ACC ATG TTC TAC CCA CTG
-----
K E A S K A V G Q M M S T M F Y P L

      1091          1100          1109          1118          1127          1136
GTC ACC TTT GTC CTC CTC CTC ATC TGC ATT GCC TAC TGG GCC ATG ACT GCT CTG
-----
V T F V L L L I C I A Y W A M T A L

      1145          1154          1163          1172          1181          1190
TAC CTG GCT ACA TCG GGG CAA CCC CAG TAT GTG CTC TGG GCA TCC AAC ATC AGC
-----
Y L A T S G Q P Q Y V L W A S N I S

      1199          1208          1217          1226          1235          1244
TCC CCC GGC TGT GAG AAA GTG CCA ATA AAT ACA TCA TGC AAC CCC ACG GCC CAC
-----
S P G C E K V P I N T S C N P T A H

```

【図1C】

FIG. 1C

1253	1262	1271	1280	1289	1298
CTT GTG AAC TCC TCG TGC CCA GGG CTG ATG TGC GTC TTC CAG GGC TAC TCA TCC					

<u>L V N S S C P G L M C V F Q G Y S S</u>					
1307	1316	1325	1334	1343	1352
AAA GGC CTA ATC CAA CGT TCT GTC TTC AAT CTG CAA ATC TAT GGG GTC CTG GGG					

<u>K G L I Q R S V F N L Q I Y G V L G</u>					
1361	1370	1379	1388	1397	1406
CTC TTC TGG ACC CTT AAC TGG GTA CTG GCC CTG GGC CAA TGC GTC CTC GCT GGA					

<u>L F W T L N W V L A L G Q C V L A G</u>					
1415	1424	1433	1442	1451	1460
GCC TTT GCC TCC TTC TAC TGG GCC TTC CAC AAG CCC CAG GAC ATC CCT ACC TTC					

<u>A F A S F Y W A F H K P Q D I P T F</u>					
1469	1478	1487	1496	1505	1514
CCC TTA ATC TCT GCC TTC ATC CGC ACA CTC CGT TAC CAC ACT GGG TCA TTG GCA					

<u>P L I S A F I R T L R Y H T G S L A</u>					
1523	1532	1541	1550	1559	1568
TTT GGA GCC CTC ATC CTG ACC CTT GTG CAG ATA GCC CGG GPC ATC TTG GAG TAT					

<u>F G A L I L T L V Q I A R V I L E Y</u>					
1577	1586	1595	1604	1613	1622
ATT GAC CAC AAG CTC AGA GGA GTG CAG AAC CCT GTA GCC CGC TGC ATC ATG TGC					

<u>I D H K L R G V Q N P V A R C I M C</u>					
1631	1640	1649	1658	1667	1676
TGT TTC AAG TGC TGC CTC TGG TGT CTG GAA AAA TTT ATC AAG TTC CTA AAC CGC					

<u>C F K C C L W C L E K F I K F L N R</u>					
1685	1694	1703	1712	1721	1730
AAT GCA TAC ATC ATG ATC GCC ATC TAC GGG AAG AAT TTC TGT GTC TCA GCC AAA					

<u>N A Y I M I A I Y G K N F C V S A K</u>					
1739	1748	1757	1766	1775	1784
AAT GCG TTC ATG CTA CTC ATG CGA AAC ATT GTC AGG GTG GTC GTC CTG GAC AAA					

<u>N A F M L L M R N I V R V V V L D K</u>					
1793	1802	1811	1820	1829	1838
GTC ACA GAC CTG CTG CTG TTC TTT GGG AAG CTG CTG GTG GTC GGA GGC GTG GGG					

<u>V T D L L L F F G K L L V V G G V G</u>					
1847	1856	1865	1874	1883	1892
GTC CTG TCC TTC TTT TTT TTC TCC GGT CGC ATC CCG GGG CTG GGT AAA GAC TTT					

<u>V L S F F F F S G R I P G L G K D F</u>					

【図 1 D】

FIG. 1D

```

      1901      1910      1919      1928      1937      1946
AAG AGC CCC CAC CTC AAC TAT TAC TGG CTG CCC ATC ATG ACC TCC ATC CTG GGG
-----
  K   S   P   H   L   N   Y   Y   W   L   P   I   M   T   S   I   L   G

      1955      1964      1973      1982      1991      2000
GCC TAT GTC ATC GCC AGC GGC TTC TTC AGC GTT TTC GGC ATG TGT GTG GAC ACG
-----
  A   Y   V   I   A   S   G   F   F   S   V   F   G   M   C   V   D   T

      2009      2018      2027      2036      2045      2054
CTC TTC CTC TGC TTC CTG GAA GAC CTG GAG CGG AAC AAC GGC TCC CTG GAC CGG
-----
  L   F   L   C   F   L   E   D   L   E   R   N   N   G   S   L   D   R

      2063      2072      2081      2090      2099      2108
CCC TAC TAC ATG TCC AAG AGC CTT CTA AAG ATT CTG GGC AAG AAG AAC GAG GCG
-----
  P   Y   Y   M   S   K   S   L   L   K   I   L   G   K   K   N   E   A

      2117      2126      2135      2144      2153      2162
CCC CCG GAC AAC AAG AAG AGG AAG AAG TGA CAG CTC CGG CCC TGA TCC AGG ACT
-----
  P   P   D   N   K   K   R   K   K   *

      2171      2180      2189      2198      2207      2216
GCA CCC CAC CCC CAC CGT CCA GCC ATC CAA CCT CAC TTC GCC TTA CAG GTC TCC
-----
      2225      2234      2243      2252      2261      2270
ATT TTG TGG TAA AAA AAG GTT TTA GGC CAG GCG CCG TGG CTC ACG CCT GTA ATC
-----
      2279      2288      2297      2306      2315      2324
CAA CAC TTT GAG AGG CTG AGG CGG GCG GAT CAC CTG AGT CAG GAG TTC GAG ACC
-----
      2333      2342      2351      2360      2369      2378
AGC CTG GCC AAC ATG GTG AAA CCT CCG TCT CTA TTA AAA ATA CAA AAA TTA GCC
-----
      2387      2396      2405      2414      2423      2432
GAG AGT GGT GGC ATG CAC CTG TCA TCC CAG CTA CTC GGG AGG CTG AGG CAG GAG
-----
      2441      2450      2459      2468      2477      2486
AAT CGC TTG AAC CCG GGA GGC AGA GGT TGC AGT GAG CCG AGA TCG CGC CAC TGC
-----
      2495      2504      2513      2522      2531      2540
ACT CCA ACC TGG GTG ACA GAC TCT GTC TCC AAA ACA AAA CAA ACA AAC AAA AAG
-----
      2549      2558      2567      2576      2585
ATT TTA TTA AAG ATA TTT TGT TAA CTC AGT AAA AAA AAA AAA AAA AA 3'
-----

```

【図 1 E】

FIG. 1E

```

      9          18          27          36          45          54
5'  GAT CAG GGC GGC CAG CCA GGT CTC CTG CAC GCT CTG GTA GGC ACT GAG GTT GGT
-----
  D   Q   G   G   Q   P   G   L   L   H   A   L   V   G   T   E   V   G

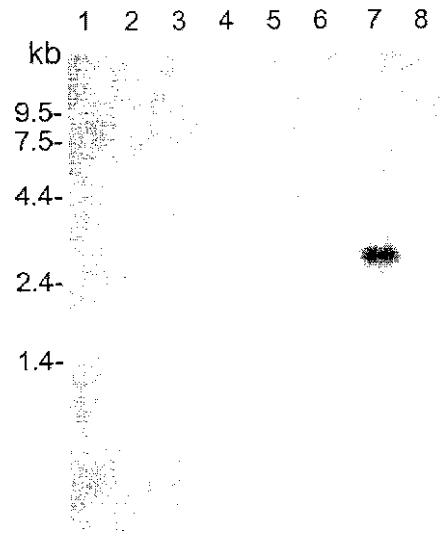
      63          72          81          90          99          108
GGT GAA ACC CAG CTG GGA GAT GGA GGC GCC CTC GTC CCG CAG CAC TCG GTA CTC
-----
  G   E   T   Q   L   G   D   G   G   A   L   V   P   Q   H   S   V   L

      117         126         135         144         153
CTC CCA GCA GTA GTA GAT GCC ATA TGC CAG CAC GCC CAG CAC TCC CAG GAT C 3'
-----
  L   P   A   V   V   D   A   I   C   Q   H   A   Q   H   S   Q   D

```

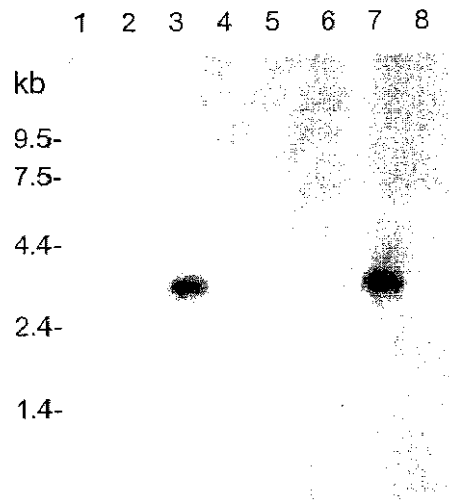

【図3A】

FIG. 3A



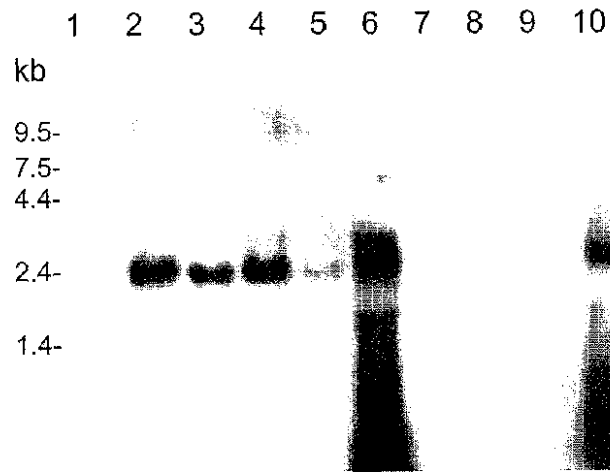
【図3B】

FIG. 3B



【図3C】

FIG. 3C




【 4 B】

FIG. 4B

```

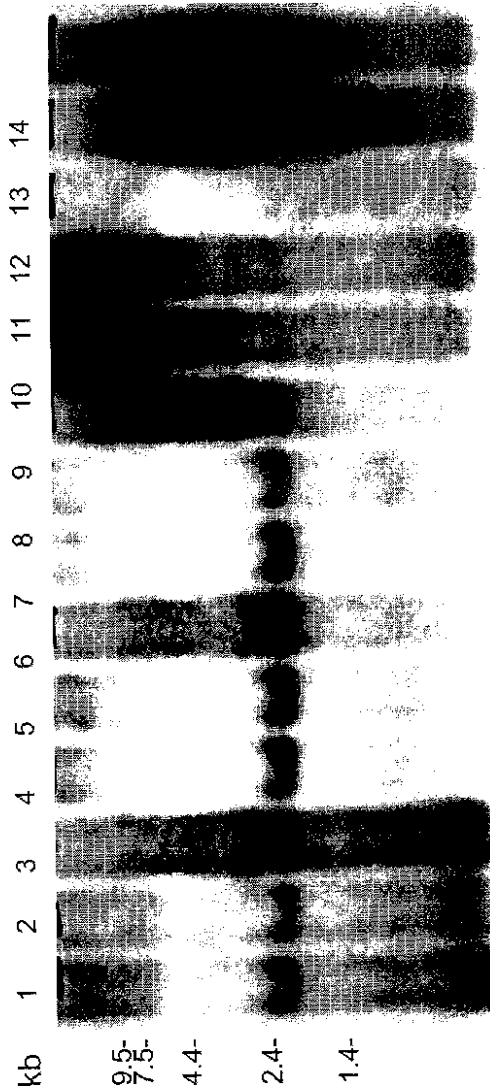
24P4C12 604 LLVVGGVGVLSFFFFSGRIPGLGKDFKSPHLNYYWLPIMTSILGAYVIASGFFSVFGMCV
mNG22 601 LLVVGGVGVLSFFFFSGRIKGLGKDFENPNLNYYWLPIMTSIMGAYVIASGFFSVFGMCV
***** * *****

24P4C12 664 DTLFLCFLEDLERNNGSLDRPYYSKSLKILGKKNEAPPDNKKRKK
mNG22 661 DTLFLCFLEDLERNDGSQERPYMPKALLKILGKKNEAPTGGKTRKK
***** ** ***** * *****

```

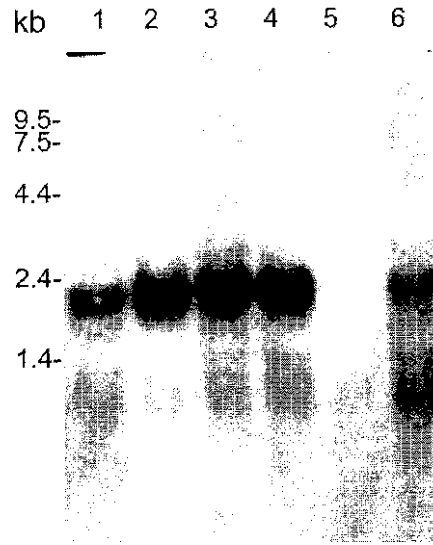
【 5】

FIG. 5



【図6A】

FIG. 6A



【図6B】



【図7A】

FIG. 7A

```

5'  GCC CGC CCG GGC TGG GGT CGC GCT GGC TCG GAC TCC GCT CCC CGC CCC GCC GCG 55
    -----
    64 73 82 91 100 109
    GCC ATG GAG GAC GAG CCG AAA AAC GGA GCC TAC GGA ACG CCA CAG AAG TAT GAT
    -----
    M E D E R K N G A Y G T P Q K Y D

    118 127 136 145 154 163
    CCC ACT TTC AAA GGA CCC ATT TAC AAT AGG GGC TGC ACG GAT ATC ATA TGC TGT
    -----
    P T F K G P I Y N R G C T D I I C C

    172 181 190 199 208 217
    GTG TTC CTG CTC CTG GCC ATT GTG GGC TAC GTG GCT GTA GGC ATC ATA GCC TGG
    -----
    V F L L L A I V G Y V A V G I I A W

    226 235 244 253 262 271
    ACT CAT GGA GAC CCT CGA AAG GTG ATC TAC CCC ACT GAT AGC CGG GGC GAG TTC
    -----
    T H G D P R K V I Y P T D S R G E F

    280 289 298 307 316 325
    TGC GGG CAG AAG GGC ACA AAA AAC GAG AAC AAA CCC TAT CTG TTT TAT TTC AAC
    -----
    C G Q K G T K N E N K P Y L F Y F N

    334 343 352 361 370 379
    ATT GTG AAA TGT GCC AGC CCC CTG GTT CTG CTG GAA TTC CAA TGT CCC ACT CCC
    -----
    I V K C A S P L V L L E F Q C P T P

    388 397 406 415 424 433
    CAG ATC TGC GTG GAA AAA TGC CCC GAC CGC TAC CTC ACG TAC CTG AAT GCT CGC
    -----
    Q I C V E K C P D R Y L T Y L N A R

    442 451 460 469 478 487
    AGC TCC CGG GAC TTT GAG TAC TAT AAG CAG TTC TGT GTT CCT GGC TTC AAG AAC
    -----
    S S R D F E Y Y K Q F C V P G P K N

    496 505 514 523 532 541
    AAT AAA GGA GTG GCT GAG GTG CTT CGA GAT GGT GAC TGC CCT GCT GTC CTC ATC
    -----
    N K G V A E V L R D G D C P A V L I

    550 559 568 577 586 595
    CCC AGC AAA CCC TTG GCC CGG AGA TGC TTC CCC GCT ATC CAC GCC TAC AAG GGT
    -----
    P S K P L A R R C F P A I H A Y K G

    604 613 622 631 640 649
    GTC CTG ATG GTG GGC AAT GAG ACG ACC TAT GAG GAT GGG CAT GGC TCC CGG AAA
    -----
    V L M V G N E T T Y E D G H G S R K
  
```

【図 7 B】

FIG. 7B

	658		667		676		685		694		703						
AAC	ATC	ACA	GAC	CTG	GTG	GAG	GGC	GCC	AAG	AAA	GCC	AAT	GGA	GTC	CTA	GAG	GCG
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
N	I	T	D	L	V	E	G	A	K	K	A	N	G	V	L	E	A
	712		721		730		739		748		757						
CGG	CAA	CTC	GCC	ATG	CGC	ATA	TTT	GAA	GAT	TAC	ACC	GTC	TCT	TGG	TAC	TGG	ATT
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
R	Q	L	A	M	R	I	F	E	D	Y	T	V	<u>S</u>	<u>W</u>	<u>Y</u>	<u>W</u>	<u>I</u>
	766		775		784		793		802		811						
ATC	ATA	GGC	CTG	GTC	ATT	GCC	ATG	GCG	ATG	AGC	CTC	CTG	TTC	ATC	ATC	CTG	CTT
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
<u>I</u>	<u>I</u>	<u>G</u>	<u>L</u>	<u>V</u>	<u>I</u>	<u>A</u>	<u>M</u>	<u>A</u>	<u>M</u>	<u>S</u>	<u>L</u>	<u>L</u>	<u>F</u>	<u>I</u>	<u>I</u>	<u>L</u>	<u>L</u>
	820		829		838		847		856		865						
CGC	TTC	CTG	GCT	GGT	ATT	ATG	GTC	TGG	GTG	ATG	ATC	ATC	ATG	GTG	ATT	CTG	GTC
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
R	F	L	A	G	I	<u>M</u>	<u>Y</u>	<u>W</u>	<u>V</u>	<u>M</u>	<u>I</u>	<u>I</u>	<u>M</u>	<u>V</u>	<u>I</u>	<u>L</u>	<u>V</u>
	874		883		892		901		910		919						
CTG	GGC	TAC	GGA	ATA	TTT	CAC	TGC	TAC	ATG	GAG	TAC	TCC	CGA	CTG	CGT	GGT	GAG
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
<u>L</u>	<u>G</u>	<u>Y</u>	<u>G</u>	<u>I</u>	<u>F</u>	<u>H</u>	<u>C</u>	<u>Y</u>	<u>M</u>	<u>E</u>	<u>Y</u>	<u>S</u>	<u>R</u>	<u>L</u>	<u>R</u>	<u>G</u>	<u>E</u>
	928		937		946		955		964		973						
GCC	GGC	TCT	GAT	GTC	TCT	TTG	GTG	GAC	CTC	GCC	TTT	CAG	ACG	GAT	TTC	CGG	GTC
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
A	G	S	D	V	S	L	V	D	L	G	F	Q	T	D	F	R	V
	982		991		1000		1009		1018		1027						
TAC	CTG	CAC	TTA	CGG	CAG	ACC	TGG	TTG	GCC	TTT	ATG	ATC	ATT	CTG	AGT	ATC	CTT
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
<u>Y</u>	<u>L</u>	<u>H</u>	<u>L</u>	<u>R</u>	<u>Q</u>	<u>T</u>	<u>W</u>	<u>L</u>	<u>A</u>	<u>F</u>	<u>M</u>	<u>I</u>	<u>I</u>	<u>L</u>	<u>S</u>	<u>I</u>	<u>L</u>
	1036		1045		1054		1063		1072		1081						
GAA	GTC	ATT	ATC	ATC	TTG	CTG	CTC	ATC	TTT	CTC	CGG	AAG	AGA	ATT	CTC	ATC	GCG
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
<u>E</u>	<u>V</u>	<u>I</u>	<u>I</u>	<u>I</u>	<u>L</u>	<u>L</u>	<u>L</u>	<u>I</u>	<u>F</u>	<u>L</u>	<u>R</u>	<u>K</u>	<u>R</u>	<u>I</u>	<u>L</u>	<u>I</u>	<u>A</u>
	1090		1099		1108		1117		1126		1135						
ATT	GCA	CTC	ATC	AAA	GAA	GCC	AGC	AGG	GCT	GTG	GGA	TAC	GTC	ATG	TGC	TCC	TTG
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
<u>I</u>	<u>A</u>	<u>L</u>	<u>I</u>	<u>K</u>	<u>E</u>	<u>A</u>	<u>S</u>	<u>R</u>	<u>A</u>	<u>V</u>	<u>G</u>	<u>Y</u>	<u>V</u>	<u>M</u>	<u>C</u>	<u>S</u>	<u>L</u>
	1144		1153		1162		1171		1180		1189						
CTC	TAC	CCA	CTG	GTC	ACC	TTC	TTC	TTG	CTG	TGC	CTC	TGC	ATC	GCC	TAC	TGG	GCC
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
<u>L</u>	<u>Y</u>	<u>P</u>	<u>L</u>	<u>V</u>	<u>T</u>	<u>F</u>	<u>F</u>	<u>L</u>	<u>L</u>	<u>C</u>	<u>L</u>	<u>C</u>	<u>I</u>	<u>A</u>	<u>Y</u>	<u>W</u>	<u>A</u>
	1198		1207		1216		1225		1234		1243						
AGC	ACT	GCT	GTC	TTC	CTG	TCC	ACT	TCC	AAC	GAA	GCG	GTC	TAT	AAG	ATC	TTT	GAT
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
<u>S</u>	<u>T</u>	<u>A</u>	<u>V</u>	<u>F</u>	<u>L</u>	<u>S</u>	<u>T</u>	<u>S</u>	<u>N</u>	<u>E</u>	<u>A</u>	<u>V</u>	<u>Y</u>	<u>K</u>	<u>I</u>	<u>F</u>	<u>D</u>
	1252		1261		1270		1279		1288		1297						
GAC	AGC	CCC	TGC	CCA	TTT	ACT	GCG	AAA	ACC	TGC	AAC	CCA	GAG	ACC	TTC	CCC	TCC
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
D	S	P	C	P	F	T	A	K	T	C	N	P	E	T	F	P	S

【図7C】

FIG. 7C

1306	1315	1324	1333	1342	1351
TCC CAT GAG	TCC CGC CAA	TGC CCC AAT	GCC CGT TGC	CAG TTC GTC	TTC TAC GGT
S H E	S R Q	C P N	A R C	Q F V	F Y G
1360	1369	1378	1387	1396	1405
GGT GAG TCG	GGC TAC CAC	CGG GCC CTG	CTG GGC CTG	CAG ATC TTC	AAT GCC TTC
G E S	G Y H	R A L	L G L	Q I <u>F N A F</u>	
1414	1423	1432	1441	1450	1459
ATG TTC TTC	TGG TTG GCC	AAC TTC GTG	CTG GCG CTG	GGC CAG GTC	ACG CTG GCC
<u>M F F</u>	<u>W L A</u>	<u>N F V</u>	<u>L A L</u>	<u>G Q V</u>	<u>T L A</u>
1468	1477	1486	1495	1504	1513
GGG GCC TTT	GCC TCC TAC	TAC TGG GCC	CTG GCG AAG	CCG GAC GAC	CTG CCG GCC
<u>G A F</u>	<u>A S Y</u>	<u>Y W A</u>	<u>L R K</u>	<u>P D D</u>	<u>L P A</u>
1522	1531	1540	1549	1558	1567
TTC CCG CTC	TTC TCT GCC	TTT GGC CGG	GCG CTC AGG	TAC CAC ACA	GGC TCC CTG
<u>F P L</u>	<u>F S A</u>	<u>F G R</u>	<u>A L R</u>	<u>Y H T</u>	<u>G S L</u>
1576	1585	1594	1603	1612	1621
GCC TTT GGC	GCG CTC ATC	CTG GCC ATT	GTG CAG ATC	ATC CGT GTG	ATA CTC GAG
<u>A F G</u>	<u>A L I</u>	<u>L A I</u>	<u>V Q I</u>	<u>I I R</u>	<u>V I L E</u>
1630	1639	1648	1657	1666	1675
TAC CTG GAT	CAG CGG CTG	AAA GCT GCA	GAG AAC AAG	TTT GCC AAG	TGC CTC ATG
<u>Y L D</u>	<u>Q R L</u>	<u>K A A</u>	<u>E N K</u>	<u>F A K</u>	<u>C L M</u>
1684	1693	1702	1711	1720	1729
ACC TGT CTC	AAA TGC TGC	TTC TGG TGC	CTG GAG AAG	TTC ATC AAA	TTC CTT AAT
<u>T C L</u>	<u>K C C</u>	<u>F W C</u>	<u>L E K</u>	<u>F I K</u>	<u>F L N</u>
1738	1747	1756	1765	1774	1783
AGG AAT GCC	TAC ATC ATG	ATT GCC ATC	TAC GGC ACC	AAT TTC TGC	ACC TCG GCC
<u>R N A</u>	<u>Y I M</u>	<u>I A I</u>	<u>Y G T</u>	<u>N F C</u>	<u>T S A</u>
1792	1801	1810	1819	1828	1837
AGG AAT GCC	TTC TTC CTG	CTC ATG AGA	AAC ATC ATC	AGA GTG GCT	GTC CTG GAT
<u>R N A</u>	<u>F P L</u>	<u>L M R</u>	<u>N I I</u>	<u>R V A</u>	<u>V L D</u>
1846	1855	1864	1873	1882	1891
AAA GTT ACT	GAC TTC CTC	TTC CTG TTG	GGC AAA CTT	CTG ATC GTT	GGT AGT GTG
<u>K V T</u>	<u>D F L</u>	<u>F L L</u>	<u>G K L</u>	<u>L I V</u>	<u>G S V</u>
1900	1909	1918	1927	1936	1945
GGG ATC CTG	GCT TTC TTC	TTC TTC ACC	CAC CGT ATC	AGG ATC GTG	CAG GAT ACA
<u>G I L</u>	<u>A F F</u>	<u>F F T</u>	<u>H R I</u>	<u>R I V</u>	<u>Q D T</u>

【図 7 D】

FIG. 7D

1954	1963	1972	1981	1990	1999
GCA CCA CCC	CTC AAT TAT	TAC TGG GTT	CCT ATA CTG	ACG GTG ATC	GTT GGC TCC
A P P	L N Y	Y W V	P I L	T V I	V G S
2008	2017	2026	2035	2044	2053
TAC TTG ATT	GCA CAC GGT	TTC TTC AGC	GTC TAT GGC	ATG TGT GTG	GAC ACG CTG
Y L I	A H G	F F S	V Y G	M C V	D T L
2062	2071	2080	2089	2098	2107
TTC CTC TGC	TTC TTG GAG	GAC CTG GAG	AGG AAT GAC	GGC TCG GCC	GAG AGG CCT
F L C	F L E	D L E	R N D	G S A	E R P
2116	2125	2134	2143	2152	2161
TAC TTC ATG	TCT TCC ACC	CTC AAG AAA	CTC TTG AAC	AAG ACC AAC	AAG AAG GCA
Y F M	S S T	L K K	L L N	K T N	K K A
2170	2179	2188	2197	2206	2215
GCG GAG TCC	TGA AGG CCC	CGT GCT CCC	CAC CTC TCA	AGG AGT CTC	ATG CCG CAG
A E S	*				
2224	2233	2242	2251	2260	2269
GGT GCT CAG	TAG CTG GGT	CTG TTC CCC	CAG CCC CTT	GGG CTC ACC	TGA AGT CCT
2278	2287	2296	2305	2314	2323
ATC ACT GCC	GCT CTG CCC	CTC CCC ATG	AGC CAG ATC	CCA CCA GTT	TCT GGA CGT
2332	2341	2350	2359	2368	2377
GGA GAG TCT	GGG GCA TCT	CCT TCT TAT	GCC AAG GGG	CGC TTG GAG	TTT TCA TGG
2386	2395	2404	2413	2422	2431
CTG CCC CTC	CAG ACT GCG	AGA AAC AAG	TAA AAA CCC	ATT GGG GCC	TCT TGA TGT
2440	2449	2458	2467	2476	2485
CTG GGA TGG	CAC GTG GCC	CGA CCT CCA	CAA GCT CCC	TCA TGC TTC	CTG TCC CCC
2494	2503	2512	2521	2530	2539
GCT TAC ACG	ACA ACG GGC	CAG ACC ACG	GGA AGG ACG	GTG TTT GTG	TCT GAG GGA
2548	2557	2566	2575	2584	2593
GCT GCT GGC	CAC AGT GAA	CAC CCA CGT	TTA TTC CTG	CCT GCT CCG	GCC AGG ACT
2602	2611	2620	2629	2638	2647
GAA CCC CTT	CTC CAC ACC	TGA ACA GTT	GGC TCA AGG	GCC ACC AGA	AGC ATT TCT
2656	2665	2674	2683	2692	2701
TTA TTA TTA	TTA TTT TTT	AAC CTG GAC	ATG CAT TAA	AGG GTC TAT	TAG CTT TCA
2710	2719	2728	2737		
A&A AAA AAA	AAA AAA AAA	AAA AAA AAA	AAA AAA AAA	A 3'	

【図 8】

FIG. 8

Score = 589 bits (1502), Expect = e-167
 Identities = 317/707 (44%), Positives = 408/707 (56%), Gaps = 34/707 (4%)

24P4C12 12 AYGKPVKYDPSFRGPIKNRSDTDVICCVLFLLPILGYIVVGIVAWLYGDPRQVLYPRNST 71
 H38087 9 AYGPQKYDPTFKGPIYNRGCTDIICCVFLLLAIVGYVAVGIIAWTHGDPRKVIYPTDSR 68

24P4C12 72 GAYCGMG--ENKDKPYLLYFNIFSCILSSNIIISVAENGLQCPTPQVCVSSCPEDPWTVGK 129
 G +CG +N++KPYL YFNI C ++ QCPTPQ+CV CP D +
 H38087 69 GEFCGQKGTKNENKPYLYFNIIVKASPLVLE-----FQCPTPQICVEKCP-DRYLTYL 122

24P4C12 130 NEFSQTVGEVIFYTKNRNFCCLPGVPMNMTVITSLQQELCPSFLLPSAPALGRCPWNTVTP 189
 N S E + + FC+PG N V L+ CP+ L+PS P RCFP +
 H38087 123 NARSSRDFEYY----KQFCVPGFKNNKGAELVRDGDCAVLIIPSKPLARRCPFAIHAYK 178

24P4C12 190 PALPGITNDTTIQG-----ISGLIDS-----LNARDISVKIPEDFAQSWYWIIXXX 236
 L + N+TT + G I+ L++ L AR ++++IFED+ SWYWI
 H38087 179 GVLM-VGNETTYEDGHGSRKNTDLVEGAKKANGVLEARQLAMRIPEYTVSWYWI IIGL 237

24P4C12 237 XXXCWEYRVLRDKGAS--ISQL 293
 +C+ BY LR + S + L
 H38087 238 VIAMAMSLFLFIILLRFLAGIMVWVMIIMVILVLGYGIFHCYMEYSRLRGEAGSDVSLVDL 297

24P4C12 294 GFTTNLSAYQSVQETWXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXQRIRIAIALAKEASKAVGQMMS 353
 GF T+ Y +++TW R+RI IAIAL+KEAS+AVG +M
 H38087 298 GFQDFRVYLHLRQTWLAFMIILSILEVIIILLIIFLRKRILIAIALIKEASRAVGYVMC 357

24P4C12 354 TMFYPLVTFVLLLI CIAYWAMTALYLATSGQPQVVLWASNISSPGCEKVPINTSCNPTAH 413
 ++ YPLVTF LL +CIAYWA TA++L+TS + Y ++ + P K N P++H
 H38087 358 SLLYPLVTFVLLCLCIAYWASTAVFLSTSNEAVYKIFDDS-PCPFTAKT-CNPETFPSSH 415

24P4C12 414 LVNSSCPGLMCVFQGYSSKGLIQRSVFNLIQYVGLGLFWTLNWLALGQCVLAGAFASY 473
 + CP C F Y + R++ LQI+ FW N+VLALGQ LAGAFAS+Y
 H38087 416 -ESRQCPNARCQFVYGGESGYHRALLGLQIFNAEMFFWLANFVLALGQVTLAGAFASY 474

24P4C12 474 WAFHKFQDIPTFPLISAFIRTLRYHTGSLAFGALILTLVQIARVILEYIDHKLRGVQNPV 533
 WA KP D+P FPL SAF R LRYHTGSLAFGALIL +VQI RVILEY+D +L+ +N
 H38087 475 WALRKPDDLPAFPLFSAPGRALRYHTGSLAFGALILAIVQIIRVILEYLDQRLKAENKF 534

24P4C12 534 ARCIMCCFKCCLWCLEKFIKFLNRNAYIMIAIYGKNFCVSAKNAFLLMRNIXXXXXXX 593
 A+C+M C KCC WCLEKFIKFLNRNAYIMIAIYG NFC SA+NAF LLMRNI
 H38087 535 AKCLMTCLKCCFWCLEKFIKFLNRNAYIMIAIYGTFNCTSAARNAFLLMRNIIRVAVLDK 594

24P4C12 594 XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXRI PGLGKDFKSPHLNYYWLPIMTSLGAYVIAS 653
 RI + +D +P LNYW+PI+T I+G+Y+IA
 H38087 595 VTDFLFLGKLLIVGSGILAFFFFTHRI-RIVQD-TAPPLNYYWVPIILTVIVGSYLIAH 652

24P4C12 654 GFFSVFGMCVDTLFLCFLEDLERNGSLDRPYMSKSLKILGKNE 700
 GFFSV+GMCVDTLFLCFLEDLERN+GS +RPY+MS +L K+L K N+
 H38087 653 GFFSVYGMCVDTLFLCFLEDLERNDGSAERPYPFMSSTLKKLLNKNTK 699


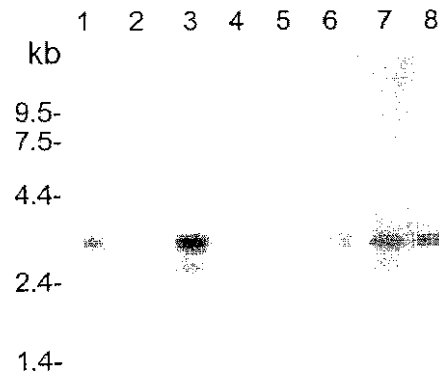
【 9 A】

FIG. 9A




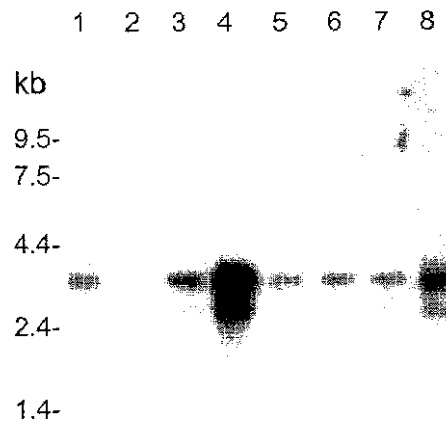
【 9 B】

FIG. 9B




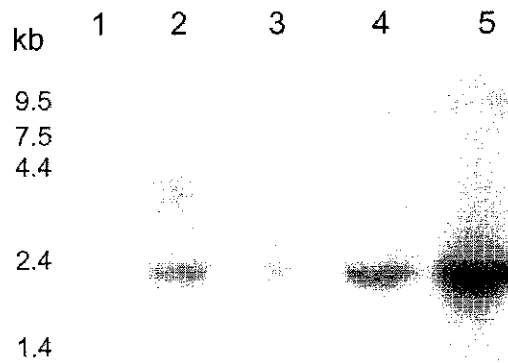
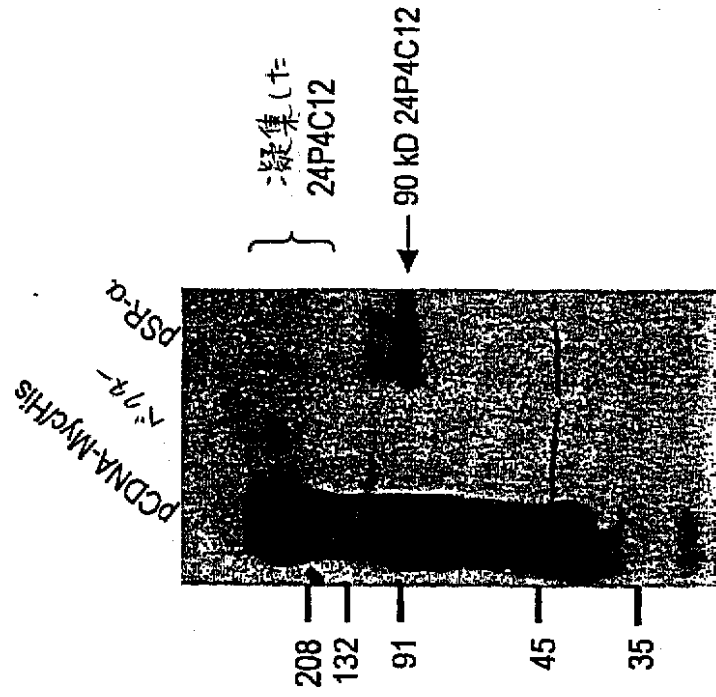
【 9 C】

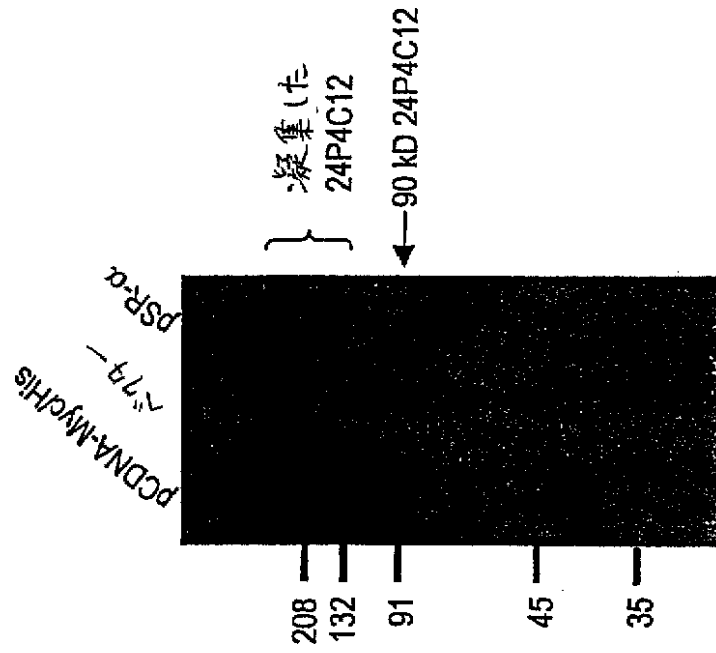
FIG. 9C



【図10A】



【図10B】



【國際調查報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International Application No. PCT/US 00/10039
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
IPC 7	C12N15/12 A61P13/08	C07K14/705 A61K38/17
	C07K16/28 A61K39/395	C12Q1/68 A01K67/027
G01N33/68		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)		
IPC 7 C12N C07K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)		
EPO-Internal, STRAND, BIOSIS		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 99 06548 A (LACROIX BRUNO ;DUCLERT AYMERIC (FR); GENSET (FR); DUMAS MILNE EDWA) 11 February 1999 (1999-02-11) Sequence ID no.313 page 504 and sequence ID no59 page 47	1 2-35, 37-44
A	---	
X	G.M. HUANG ET AL: "Prostate cancer expression profiling by cDNA sequencing analysis" EMBL DATABASE ENTRY AI557659, ACCESSION NUMBER AI557659, 25 March 1999 (1999-03-25), XP002144281 abstract & G.M. HUANG ET AL: GENOMICS, vol. 59, no. 2, July 1999 (1999-07), pages 178-186, ---	1
-/--		
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C.		<input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.
* Special categories of cited documents :		
A document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance *E* earlier document but published on or after the international filing date *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		*T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. *Z* document member of the same patent family
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
4 August 2000		07.08.00
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2580 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Le Cornec, N

1

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No PC1/US 00/10039

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 99 06549 A (LACROIX BRUNO ;DUCLERT AYMERIC (FR); GENSET (FR); DUMAS MILNE EDWA) 11 February 1999 (1999-02-11) Sequence ID no.226	1
A	---	2-35, 37-45
X	WO 99 06550 A (LACROIX BRUNO ;DUCLERT AYMERIC (FR); GENSET (FR); DUMAS MILNE EDWA) 11 February 1999 (1999-02-11) Sequence ID no.527	1-12
A	---	13-35, 37-45
X	NCI-CGAP: "National cancer institute, cancer genome Anatomy project (CGAP)" EMBL DATABASE ENTRY AA612666, ACCESSION NUMBER AA612666, 7 October 1997 (1997-10-07), XP002144282 & UNPUBLISHED, *96,8% identity in 160 nt with seq ID no.3 *	1
X	L. ROWEN ET AL: "sequence of the human major histocompatibility complex class III region" EMBL DATABASE ENTRY AF134726, ACCESSION NUMBER AF134726, 29 March 1999 (1999-03-29), XP002144283 abstract & UNPUBLISHED,	1-7
P,X	L. ROWEN ET AL: "Sequence of the human major histocompatibility complex class III region " EMBL DATABASE ENTRY Q9Y332, ACCESSION NUMBER Q9Y332, 1 November 1999 (1999-11-01), XP002144284 abstract	1-12
A	REITER ET AL: "PROSTATE STEM CELL ANTIGEN: A CELL SURFACE MARKER OVEREXPRESSED IN PROSTATE CANCER" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA,US,NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE. WASHINGTON, no. 95, 1 February 1998 (1998-02-01), pages 1735-1740, XP002078363 ISSN: 0027-8424 cited in the application	
	---	-/--

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/US 00/10039

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P,X	WO 99 63088 A (BAKER KEVIN ;CHEN JIAN (US); GENENTECH INC (US); YUAN JEAN (US); G) 9 December 1999 (1999-12-09) figures 24,35 -----	1-12
P,A		13-35, 37-45

I

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 national application No.
 PCT/US 00/10039
Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
 Although claims 41-42 and 44 are directed to a method of treatment of the human/animal body (rule 39.1 IV PCT), the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.
2. Claims Nos.: 36
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:
see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210
3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
 No protest accompanied the payment of additional search fees.

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Continuation of Box I.2

Claims Nos.: 36

Claim 36 refers to a 24P4C12-specific binding agent without giving a true technical characterization. Moreover, no such compound is defined in the application. In consequence, the scope of said claim is ambiguous and vague, and its subject-matter is not sufficiently disclosed and supported.

No search can be carried out for such purely speculative claim whose wording is, in fact, a mere recitation of the results to be achieved.

The applicant's attention is drawn to the fact that claims, or parts of claims, relating to inventions in respect of which no international search report has been established need not be the subject of an international preliminary examination (Rule 66.1(e) PCT). The applicant is advised that the EPO policy when acting as an International Preliminary Examining Authority is normally not to carry out a preliminary examination on matter which has not been searched. This is the case irrespective of whether or not the claims are amended following receipt of the search report or during any Chapter II procedure.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/US 00/10039

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WD 9906548 A	11-02-1999	AU 8554798 A EP 1000146 A	22-02-1999 17-05-2000
WD 9906549 A	11-02-1999	AU 8555098 A EP 1000147 A	22-02-1999 17-05-2000
WD 9906550 A	11-02-1999	AU 8555198 A EP 1000148 A	22-02-1999 17-05-2000
WD 9963088 A	09-12-1999	AU 4328699 A AU 2212299 A WD 9935170 A	20-12-1999 26-07-1999 15-07-1999

フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テ-マコ-ト' (参考)	
A 6 1 K	39/395	A 6 1 K	45/00	4 C 0 8 4
	45/00		48/00	4 C 0 8 5
	48/00	A 6 1 P	35/00	4 C 0 8 6
A 6 1 P	35/00	C 0 7 K	14/82	4 H 0 4 5
C 0 7 K	14/82		16/32	
	16/32	C 1 2 N	1/15	
C 1 2 N	1/15		1/19	
	1/19		1/21	
	1/21	C 1 2 P	21/02	C
	5/10	C 1 2 Q	1/02	
	15/02		1/68	A
C 1 2 P	21/02	G 0 1 N	33/15	Z
C 1 2 Q	1/02		33/50	Z
	1/68		33/53	D
G 0 1 N	33/15			M
	33/50		33/566	
	33/53		33/574	A
			33/577	B
	33/566		33/58	A
	33/574			Z
	33/577	C 1 2 P	21/08	
	33/58	C 1 2 R	1:91	
// C 1 2 P	21/08	C 1 2 N	15/00	Z N A A
(C 1 2 P	21/02		5/00	A
C 1 2 R	1:91)		15/00	B
(81)指定国	EP(AT, BE, CH, CY,			C
	DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, I			
	T, LU, MC, NL, PT, SE), OA(BF, BJ			
	, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML,			
	MR, NE, SN, TD, TG), AP(GH, GM, K			
	E, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW			
), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU,			
	TJ, TM), AE, AG, AL, AM, AT, AU,			
	AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, C			
	N, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE			
	, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR,			
	HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, K			
	P, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU			
	, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX,			
	NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, S			
	G, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ			
	, UA, UG, UZ, VN, YU, ZA, ZW			

- (72)発明者 レオン, カハン
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 90293,
 プラヤ デル レイ, マニトバ ストリ
 ート ナンバー109 8160
- (72)発明者 ライタノ, アーサー ビー.
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 90064,
 ロス アンジェルス, クシュドン ア
 ベニュー 10807
- (72)発明者 サフラン, ダグラス シー.
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 90049,
 ロス アンジェルス, ベラジオ ロー
 ド ナンバー204 11720

F ターム(参考) 2G045 AA26 AA29 AA40 CA26 CB01
 CB03 CB13 DA12 DA13 DA14
 DA36 DA78 FB02 FB03 FB07
 4B024 AA01 AA12 BA36 BA80 CA04
 DA02 EA02 GA03 GA11 HA04
 HA17
 4B063 QA01 QA18 QA19 QQ02 QQ53
 QQ79 QR32 QR38 QR56 QR59
 QR62 QR77 QR80 QS03 QS24
 QS25 QS34
 4B064 AG01 AG27 AG31 CA10 CA19
 CC24 CE12 CE13 DA05 DA14
 4B065 AA90X AA91X AA92X AA93X
 AA93Y AB01 AB05 AC14
 BA02 CA24 CA44 CA45 CA46
 4C084 AA13 AA17 ZB262
 4C085 AA03 AA13 AA14 BB11 DD62
 DD63 DD88
 4C086 AA01 AA02 AA03 AA04 EA16
 MA01 MA04 ZB26
 4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 CA41
 DA76 DA86 EA28 EA51 FA71
 FA72 FA74 GA26

专利名称(译)	在前列腺癌和其他癌症中表达的跨膜蛋白		
公开(公告)号	JP2002541800A5	公开(公告)日	2005-12-15
申请号	JP2000611669	申请日	2000-04-12
[标]申请(专利权)人(译)	艾更斯司股份有限公司		
申请(专利权)人(译)	Agensys公司		
当前申请(专利权)人(译)	Agensys公司		
[标]发明人	アファーダニエルイー ハバートレネエス レオンカハン ライタノアーサービー サフランダグラスシー		
发明人	アファー, ダニエル イー. ハバート, レネ エス. レオン, カハン ライタノ, アーサー ビー. サフラン, ダグラス シー.		
IPC分类号	G01N33/50 C12R C12Q A61K39/395 C07K16/32 C07K16/30 G01N33/58 A61P A01K C07K14/435 A61K45/00 C07K14/82 A61K38/17 C07K16/28 C12P21/08 C12P21/02 C07K C12N5/10 A61K39/00 A61P13/00 A61K48/00 G01N33/577 G01N33/15 C12N15/12 A61K31/7088 C12Q1/02 C12N C12N1/21 G01N A61P35/00 C12P C12Q1/68 C12N1/15 A61P13/08 C12N1/19 C12N15/09 G01N33/574 G01N33 /566 G01N33/68 G01N33/53 C12R1/91 A01K67/027 C12N15/02 C07K14/705 A61K		
CPC分类号	C12N2799/027 A01K2217/05 C07K14/705 C12N2799/026 C07K16/3069 A61P13/08 A61P35/00		
FI分类号	C12N15/00.ZNA.A A01K67/027 A61K31/7088 A61K39/00.H A61K39/395.E A61K39/395.T A61K45/00 A61K48/00 A61P35/00 C07K14/82 C07K16/32 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12P21/02.C C12Q1 /02 C12Q1/68.A G01N33/15.Z G01N33/50.Z G01N33/53.D G01N33/53.M G01N33/566 G01N33/574.A G01N33/577.B G01N33/58.A G01N33/58.Z C12N5/00.A C12N5/00.B C12N15/00.C C12P21/08 C12R1 /91		
F-TERM分类号	2G045/AA26 2G045/AA29 2G045/AA40 2G045/CA26 2G045/CB01 2G045/CB03 2G045/CB13 2G045 /DA12 2G045/DA13 2G045/DA14 2G045/DA36 2G045/DA78 2G045/FB02 2G045/FB03 2G045/FB07 4B024/AA01 4B024/AA12 4B024/BA36 4B024/BA80 4B024/CA04 4B024/DA02 4B024/EA02 4B024 /GA03 4B024/GA11 4B024/HA04 4B024/HA17 4B063/QA01 4B063/QA18 4B063/QA19 4B063/QQ02 4B063/QQ53 4B063/QQ79 4B063/QR32 4B063/QR38 4B063/QR56 4B063/QR59 4B063/QR62 4B063 /QR77 4B063/QR80 4B063/QS03 4B063/QS24 4B063/QS25 4B063/QS34 4B064/AG01 4B064/AG27 4B064/AG31 4B064/CA10 4B064/CA19 4B064/CC24 4B064/CE12 4B064/CE13 4B064/DA05 4B064 /DA14 4B065/AA90X 4B065/AA91X 4B065/AA92X 4B065/AA93X 4B065/AA93Y 4B065/AB01 4B065 /AB05 4B065/AC14 4B065/BA02 4B065/CA24 4B065/CA44 4B065/CA45 4B065/CA46 4C084/AA13 4C084/AA17 4C084/ZB262 4C085/AA03 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/BB11 4C085/DD62 4C085 /DD63 4C085/DD88 4C086/AA01 4C086/AA02 4C086/AA03 4C086/AA04 4C086/EA16 4C086/MA01 4C086/MA04 4C086/ZB26 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/CA41 4H045 /DA76 4H045/DA86 4H045/EA28 4H045/EA51 4H045/FA71 4H045/FA72 4H045/FA74 4H045/GA26		
优先权	60/128858 1999-04-12 US		
其他公开文献	JP2002541800A		

摘要(译)

本文所述的发明涉及新基因及其编码的蛋白质（称为24P4C12），以及可用于管理表达24P4C12的各种癌症，特别是前列腺癌的诊断和治疗方法。和成分。24P4C12在前列腺组织异种移植中高表达，并提供了至少在某些前列腺癌中使用的证据。本发明还公开了编码24P4C12多肽的多核苷酸。