

(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 - 543833

(P2002 - 543833A)

(43)公表日 平成14年12月24日(2002.12.24)

(51) Int.Cl ⁷	識別記号	F I	テ-マコード* (参考)
C 1 2 N 15/09	ZNA	A 6 1 K 31/711	2 G 0 4 5
A 6 1 K 31/711		39/395	D 4 B 0 2 4
38/00			N 4 B 0 6 3
39/395		45/00	4 B 0 6 4
		48/00	4 B 0 6 5

審査請求 未請求 予備審査請求 (全 54数) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2000 - 618442(P2000 - 618442)

(86)(22)出願日 平成12年5月10日(2000.5.10)

(85)翻訳文提出日 平成13年11月16日(2001.11.16)

(86)国際出願番号 PCT/US00/13046

(87)国際公開番号 W000/70036

(87)国際公開日 平成12年11月23日(2000.11.23)

(31)優先権主張番号 09/313,300

(32)優先日 平成11年5月17日(1999.5.17)

(33)優先権主張国 米国(US)

(71)出願人 インサイト・ゲノミックス・インコーポレイテッド
 アメリカ合衆国カリフォルニア州94304・パロアルト・ポータードライブ 3160

(72)発明者 カイザー、マシュー・アール
 アメリカ合衆国カリフォルニア州94546・カストロバレー・ユーイングロード 4793

(72)発明者 ラル、プリーティ
 アメリカ合衆国カリフォルニア州95054・サンタクララ・ラスドライブ 2382

(74)代理人 弁理士 大島 陽一

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 海馬で発現する分子

(57)【要約】

本発明は、発達段階的に制御される新規の海馬遺伝子及びそれらの遺伝子によってコードされるポリペプチドを提供する。本発明はまた、発現ベクター及び宿主細胞、抗体を提供する。更に本発明は、海馬に関連する疾患の診断方法や治療方法、または予防方法を提供する。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 海馬で発現する遺伝子を含む実質的に精製されたポリヌクレオチド。

【請求項2】 請求項1のポリヌクレオチドであって、

(a) SEQ ID NO:1乃至SEQ ID NO:7 (SEQ ID NO:1-7) からなる一群から選択されたポリヌクレオチド配列と、

(b) SEQ ID NO:8からなるポリペプチド配列をコードするポリヌクレオチド配列と、

(c) 前記(a)または(b)のポリヌクレオチド配列と少なくとも70%の同一性を有するポリヌクレオチド配列と、

(d) 前記(a)、(b)または(c)のポリヌクレオチド配列と相補的なポリヌクレオチド配列と、

(e) 前記(a)、(b)、(c)または(d)のポリヌクレオチド配列の少なくとも18個の連続するヌクレオチドを含むポリヌクレオチド配列と、

(f) ストリンジェントな条件の下で、前記(a)、(b)、(c)、(d)または(e)の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とで構成された一群から選択されたポリヌクレオチド配列を含むことを特徴とするポリヌクレオチド。

【請求項3】 SEQ ID NO:1-7からなる一群から選択された海馬で発現する遺伝子の遺伝子産物を含む実質的に精製されたポリペプチド。

【請求項4】 請求項3のポリペプチドであって、

(a) SEQ ID NO:8のポリペプチド配列と、

(b) 前記(a)のポリペプチド配列と少なくとも85%の同一性を有するポリペプチド配列と、

(c) 前記(a)または(b)のポリペプチド配列の少なくとも6個の連続するアミノ酸を含むポリペプチド配列とを含むことを特徴とするポリペプチド。

【請求項5】 請求項2のポリヌクレオチドを含む発現ベクター。

【請求項6】 請求項5の発現ベクターを含む宿主細胞。

【請求項7】 タンパク質を生産する方法であって、

(a) 前記タンパク質の発現に好適な条件下で、請求項6の宿主細胞を培養するステップと、

(b) 培養宿主細胞から前記タンパク質を回収するステップとを含むことを特徴するタンパク質生産方法。

【請求項8】 ポリヌクレオチド配列若しくはその断片を用いて、分子のライブラリーをスクリーニングし、前記核酸と特異的に結合する少なくとも1つの分子を同定する方法であって、

(a) 分子のライブラリーを準備するステップと、

(b) 特異的に結合するのに好適な条件下で、請求項2のポリヌクレオチド配列を分子のライブラリーと結合させるステップと、

(c) 特異的な結合を検出して、前記ポリヌクレオチド配列に特異的に結合する分子を同定するステップとを含むことを特徴とする方法。

【請求項9】 前記ライブラリーが、DNA分子及びRNA分子、PNA、ペプチド、リボザイム、抗体、アゴニスト、アンタゴニスト、免疫グロブリン、インヒビター、転写因子を含むタンパク質、エンハンサー、リプレッサー、薬物からなる一群から選択されることを特徴とする請求項8に記載のライブラリー。

【請求項10】 ポリヌクレオチド配列の活性を調節する請求項9に記載の分子。

【請求項11】 ポリペプチド若しくはその一部を用いて、分子のライブラリーをスクリーニングし、前記ポリペプチドと特異的に結合する少なくとも1つの分子を同定する方法であって、

(a) 分子のライブラリーを準備するステップと、

(b) 特異的に結合するのに好適な条件下で、請求項4のポリペプチド若しくはその一部と前記分子のライブラリーを結合させるステップと、

(c) 特異的な結合を検出して、前記ポリペプチドに特異的に結合する分子を同定するステップとを含むことを特徴とする方法。

【請求項12】 前記ライブラリーが、DNA分子及びRNA分子、PNA、ペプチド、リボザイム、抗体、アゴニスト、アンタゴニスト、免疫グロブリン、インヒビター、ペプチド、タンパク質、薬物からなる一群から選択されることを特徴

とする請求項11に記載の方法。

【請求項13】 ポリペプチドの活性を調節する請求項12に記載の分子

。

【請求項14】 海馬で発現する遺伝子の発現の変化に関連する疾患または症状を診断する方法であって、

(a) 生物学的サンプルを準備するステップと、

(b) 1 或いは複数のハイブリダイゼーション複合体の形成に効果的な条件下で、請求項2のポリヌクレオチドを前記生物学的サンプルとハイブリダイズさせるステップと、

(c) そのハイブリダイゼーション複合体を検出するステップと、

(d) 前記ハイブリダイゼーション複合体のレベルを非病変サンプルのハイブリダイゼーション複合体のレベルと比較するステップとを含み、

非病変サンプルのハイブリダイゼーション複合体のレベルに対する前記ハイブリダイゼーション複合体のレベルの相違が前記疾患若しくは症状の存在と相関することを特徴とする疾患または症状の診断方法。

【請求項15】 アルツハイマー病、ハンチントン病、精神分裂病、てんかん、及びそれらの合併症からなる一群から選択された疾患の治療若しくは診断のために効果的な量の請求項2のポリヌクレオチドを患者に投与することを含む、海馬で発現する遺伝子の発現の変化に関連する疾患の治療方法または診断方法

。

【請求項16】 アルツハイマー病、ハンチントン病、精神分裂病、てんかん、及びそれらの合併症からなる一群から選択された疾患の治療若しくは診断のために効果的な量の請求項4のポリペプチドを患者に投与することを含む、海馬で発現する遺伝子の発現の変化に関連する疾患の治療方法または診断方法。

【請求項17】 アルツハイマー病、ハンチントン病、精神分裂病、てんかん、及びそれらの合併症から選択された疾患の治療若しくは診断のために効果的な量の請求項10の分子を患者に投与することを含む、海馬で発現する遺伝子の発現の変化に関連する疾患の治療方法または診断方法。

【請求項18】 アルツハイマー病、ハンチントン病、精神分裂病、てん

かん、及びそれらの合併症から選択された疾患の治療若しくは診断のために効果的な量の請求項13の分子を患者に投与することを含む、海馬で発現する遺伝子の発現の変化に関連する疾患の治療方法または診断方法。

【発明の詳細な説明】**【0001】****(発明の技術分野)**

本発明は、海馬で発現する遺伝子の少なくとも断片を含むポリヌクレオチドに関連する。本発明はまた、アルツハイマー病、ハンチントン病、精神分裂病、てんかん等の海馬に関連する疾患の診断及び予後、予防、治療、治療の評価にこれらの分子を利用することに関連する。

【0002】**(発明の背景)**

海馬は、感情や動機付け、又は生理学的なその他の機能を制御する大脳辺縁系の一部である。辺縁系には、辺縁皮質及び海馬、小脳、視床下部、前視床が含まれる。海馬は、学習過程及びある種の記憶において重要な役割を果たす。海馬を刺激すると、怒りや受動性、過度な性衝動を含む行動的な応答が起こり得る。弱い電気刺激を与えると海馬発作が起こる。海馬機能を喪失した患者は、喪失前の記憶は保持しているが、喪失後に起こる事象は全て僅か2～3分以下の記憶しか持続されない(順行性健忘症)。従って、海馬は、入力された感覚情報の重要性を理解し、どの入力を記憶すべきかを決定すると考えられる。海馬はまた、情報の記憶が完全に定着するまで心の中で情報を何度も繰り返し述べさせる信号を送る。

【0003】

齧歯類及び霊長類、その他のヒト以外の動物の海馬を切除した場合の影響を調べるために様々な研究がなされた。記憶障害や空間認識能力が海馬の機能に関連することが分かった。細胞の喪失を含む海馬の形態学的な変化が、てんかん及び精神分裂病、アルツハイマー病、ある種の健忘症(Jack (1994) *Epilepsia* 35:S21-S29)に関連する。動物実験のデータから、ストレス時に分泌される糖質コルチコイドが海馬に損傷を与え、海馬ニューロンの神経発作に耐える能力を損なわせ得る(Sapolsky (1993) *Behav. Brain Res.* 57:175-82)。ヒト海馬もまた、糖質コルチコイドに継続的に曝されると損傷を受け可能性があり、糖質コルチコイドの過剰な分泌によって生じたクッシング症候群の患者に海馬の萎縮が見られ

たとの報告がある。

【0004】

生物間の系統発生的な関係が、何度も実証され、多様な原核生物及び真核生物の研究結果は、生化学的及び生理学的な機構、並びに代謝経路の段階的な進化を示唆する。様々な進化上のストレスにもかかわらず、酵母及び線虫、ハエ、ラット、ヒトの細胞周期を調節するタンパク質が、共通の化学的及び構造的な特徴を有し、共通の一般的な細胞内の活性を調節する。構造及び/または機能が既知であるヒト以外の生物の遺伝子配列とヒトの遺伝子配列とを比較することによって、研究者が類似性を引き出し、仮説を検証するためにモデル系を開発することができる。これらのモデル系は、ヒトの症状及び疾患、異常症の診断薬及び治療薬の開発及び検査において極めて重要である。

【0005】

海馬の発達に関連する遺伝子を同定することによって、可能性のある新規の診断及び治療標的を提供する。本発明は、アルツハイマー病及びハンチントン病、精神分裂病、てんかん等の海馬に関連する疾患の診断及び予後、治療、予防、治療の評価にとって有効な新規の組成物を提供することで当分野のニーズに応えることができる。

【0006】

(発明の概要)

第一実施態様では、海馬で発現する実質的に精製されたポリヌクレオチドを提供する。好適な実施例は、(a) SEQ ID NO:1-7のポリヌクレオチド配列と、(b) SEQ ID NO:8のポリペプチド配列をコードするポリヌクレオチド配列と、(c) 前記(a)または(b)のポリヌクレオチド配列と少なくとも70%の同一性を有するポリヌクレオチド配列と、(d) 前記(a)または(b)、(c)のポリヌクレオチド配列と相補的なポリヌクレオチド配列と、(e) 前記(a)または(b)、(c)、(d)のポリヌクレオチド配列の少なくとも10個の、好適には少なくとも18個の連続するヌクレオチドを含むポリヌクレオチド配列と、(f) 前記(a)若しくは(b)、(c)、(d)、(e)のポリヌクレオチドとストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドとが含

まれる。更に、本発明は、上記した任意のポリヌクレオチドを含む発現ベクター及びその発現ベクターを含む宿主細胞を提供する。更に本発明は、海馬で発現する遺伝子の発現の変化に関連する疾患や症状を治療及び予防するために好適な量の前記したポリヌクレオチドを患者に投与することを含む、前記疾患の治療または予防方法を提供する。

【0007】

第二実施態様では、本発明は、海馬で発現する遺伝子の遺伝子産物を含む実質的に生成されたポリペプチドを提供する。好適な実施例は、(a) SEQ ID NO:8のポリペプチド配列と、(b)前記(a)のポリペプチド配列と少なくとも85%の同一性を有するポリペプチド配列と、(c)前記(a)若しくは(b)のポリペプチド配列の少なくとも6個の連続するアミノ酸を含むポリペプチド配列とを含む。更に本発明は、上記したポリペプチドに特異的に結合する抗体を提供する。また本発明は、海馬で発現する遺伝子の発現の変化に関連する疾患や症状を治療及び予防するために好適な量の前記抗体を患者に投与することを含む、前記疾患の治療または予防方法を提供する。

【0008】

別の実施態様では、本発明は、好適な医薬用担体と共に上記したポリヌクレオチド若しくはポリペプチドの任意の1つを含む医薬組成物を提供する。また本発明は、海馬で発現する遺伝子の発現の変化に関連する疾患の患者に好適な量のそのような組成物を投与することを含む、前記疾患や症状を治療若しくは予防する方法を提供する。

【0009】

更なる実施態様では、本発明は、海馬で発現する遺伝子の発現の変化に関連する疾患や症状の診断方法を提供する。この方法は、(a)1或いは複数の海馬で発現した遺伝子を含むサンプルを提供するステップと、(b)1或いは複数のハイブリダイゼーション複合体を形成するのに好適な条件の下で、1或いは複数の上記したポリヌクレオチドを前記発現遺伝子とハイブリダイズさせるステップと、(c)そのようなハイブリダイゼーション複合体を検出するステップと、(d)そのようなハイブリダイゼーション複合体のレベルと非病片サンプルにおける

ハイブリダイゼーション複合体のレベルとを比較するステップとを含み、非病片サンプルにおけるハイブリダイゼーション複合体のレベルと比べた時の病片サンプルにおける1或いは複数のハイブリダイゼーション複合体のレベルの差異が、疾患や症状の存在と相関性を有する。

【0010】

本発明はまた、核酸若しくはその断片を用いて、ライブラリーの分子をスクリーニングして、前記核酸に特異的に結合する少なくとも1つの分子を同定する方法を提供する。この方法は、分子のライブラリーを提供するステップと、特異的に結合するのに好適な条件の下で、前記核酸と分子のライブラリーとを結合させるステップと、特異的な結合を検出するステップと、それによって前記核酸に特異的に結合する分子を同定するステップとを含む。このようなライブラリーには、DNA分子、RNA分子、ペプチド、ペプチド核酸、タンパク質や、複製及び転写、翻訳の潜在的なレギュレータであるものが含まれる。本発明はまた、タンパク質やその断片を用いて分子のライブラリーをスクリーニングして、前記タンパク質と特異的に結合する少なくとも1つの分子を同定する方法を提供する。このような方法は、分子のライブラリーを提供するステップと、特異的に結合するのに好適な条件の下で、前記タンパク質を分子のライブラリーと結合させるステップと、特異的な結合を検出するステップと、それによって前記タンパク質と特異的に結合する分子を同定するステップとを含む。ある実施態様では、このような方法によって同定された分子が、前記タンパク質の活性を調節する。

【0011】

更に本発明は、抗体、抗体の断片、及び前記したポリペプチドに対して特異性を有する免疫複合体、並びに海馬に関連する疾患や症状の治療方法若しくは予防方法を提供する。

【0012】

(発明の記載について)

本明細書において、単数形の「或る」及び「その(この)」の表記は、文脈に明確に記載されていない場合以外は、複数の意味も含むことに注意されたい。従って、例えば「或る宿主細胞」の表記には、複数のそのような宿主細胞が含まれ

、「ある抗体」の表記は、1またはそれ以上の抗体及び当業者に周知のそれらの等価物なども表している。

【0013】

(定義)

「NSEQ」は一般に、SEQ ID NO:1 - 7を含む本発明のポリヌクレオチド配列を指す。「PSEQ」は一般に、SEQ ID NO:8を含む本発明のポリペプチド配列を指す。

【0014】

「断片」は、好ましくは少なくとも20個の核酸の長さ、更に好ましくは40個の核酸長さ、最も好ましくは60個の核酸長さの核酸配列であって、例えば、SEQ ID NO:1 - 7の核酸1 - 50及び51 - 400、401 - 4,000、4,001 - 12,000などからなる断片を含む核酸配列を指す。

【0015】

「遺伝子」若しくは「遺伝子配列」は、遺伝子の部分的或いは完全なコーディング配列及びその相補体、その5'若しくは3'非翻訳領域を指す。

【0016】

「相同性」は、基準となる配列と少なくとも新規に配列決定されたクローン挿入物の断片またはそのコードされたアミノ酸配列との間の配列類似性を指す。

【0017】

「ポリヌクレオチド」は、核酸、核酸配列、オリゴヌクレオチド、ヌクレオチド、または任意のそれらの断片を指す。また、「ポリヌクレオチド」は、ゲノム若しくは合成起源のDNA或いはRNA、二本鎖或いは一本鎖あり、炭水化物または脂質、タンパク質、その他の物質と結合して、特定の活性を有したり、有用な組成物を形成し得る。「オリゴヌクレオチド」は、アンプリマー (amplimer) 及びプライマー、オリゴマー、エレメント、プローブと実質的に同一である。

【0018】

「ポリペプチド」は、天然或いは合成起源のアミノ酸またはアミノ酸配列、オリゴペプチド、ペプチド、タンパク質、またはそれらの一部を指す。

【0019】

「ペプチド配列の一部」は、好ましくは5個~15個、最も好ましくは少な

くとも10個のアミノ酸長さのアミノ酸配列であって、例えばSEQ ID NO:8のある生物学的或いは免疫学的活性を保持するペプチド配列を指す。

【0020】

「サンプル」は、その最も広い意味で用いられる。核酸を含むサンプルは、体液、細胞抽出物や、細胞から単離された染色体、細胞小器官、膜や、溶液中或のいは基板に結合されたゲノムDNAまたはRNA、cDNA、組織、細胞、組織プリント等を含み得る。

【0021】

「実質的に精製された」は、その自然環境から除去された核酸若しくはアミノ酸配列であって、単離或いは分離され、自然の状態では共に存在する他の成分から少なくとも約60%、好適には約75%、最も好適には、約90%取り除かれたものを指す。

【0022】

「基板」は、ポリヌクレオチド或いはポリペプチドが結合する任意の好適な固体或いは半固体の支持物を指し、膜またはフィルター、チップ、スライド、ウエハ、ファイバー、磁気または非磁気ビーズ、ゲル、毛細管または他のチューブ、プレート、ポリマー、微小粒子が含まれる。この基板は、孔または溝、ピン、チャンネル、細孔を含む様々な表面形態を有する。

【0023】

「変異体」は、SEQ ID NO:1-7から分岐したポリヌクレオチド配列若しくはSEQ ID NO:8から分岐したポリペプチド配列を指す。ポリヌクレオチド配列の多様性は、1或いは複数のヌクレオチドの欠失、付加、置換などの突然変異から生じ、コドンの読み枠が変わることも起こり得る。このような変異は、単独或いは組み合わせて、所定の配列で1回或いは複数回起こる。ポリペプチド変異体は、SEQ ID NO:8の構造的特徴或いは機能的特徴の少なくとも一方を有する配列を含む。

【0024】

(詳細な説明)

本発明の配列は、ラット胎児の海馬由来cDNAライブラリーで発現したポリヌク

レオチドと、ラット成体の海馬由来cDNAライブラリーで発現したポリヌクレオチドとを比較して初めに同定された。本ポリヌクレオチド配列の幾つかは、発現レベルにのみ基づいて同定されたため、海馬の特定の遺伝子機能のa prioriを知る必要がない。名称「Comparative Gene Transcript Analysis」、USPN 5,840,484に開示された本発明の存在量分類プログラムを用いて、ラット胎児及び成体の海馬組織で同定されたそれぞれの遺伝子に対応するmRNA転写物の頻度によって分類して表を作成した。またUSPN 5,840,484に言及することをもって本明細書の一部とする。また、この比較による遺伝子転写物の分析を利用して、ラット成体の海馬では発現するがラット胎児の海馬では発現しない異なって発現する遺伝子を同定した。

【0025】

ESTクラスターを構築した後、各cDNAライブラリーの転写物イメージを作成して、所定のESTクラスターの頻度或いは存在量を決定した。あるクローン集団におけるESTクラスターの頻度が特定の遺伝子の発現レベルに相関する。転写物の分析によって、それぞれの組織サンプルに特異的な同一、ユニーク及び相同な転写物の存在及び存在量を概算する。ラット成体の海馬のみで発現するポリヌクレオチドを用いて、ヒトの相同配列を同定する。ヒト核酸配列SEQ ID NO:1 - 7、SEQ ID NO:7に対応するアミノ酸配列SEQ ID NO:8、及びラット核酸配列SEQ ID NO:9 - 15を配列表に示す。

【0026】

表1は、ラット成体の海馬では発現するがラット胎児の海馬では発現しない核酸配列SEQ ID NO:9 - 15及びそれらのヒト相同配列SEQ ID NO:1 - 7を示す。列1は、ラット成体の海馬では発現するがラット胎児の海馬では発現しない、初めに同定された各核酸配列SEQ ID NO:9 - 15のインサイト社クローン番号を示す。これらの核酸配列を用いて、列3に示されているヒト核酸配列を同定した。列2及び列3はそれぞれ、それぞれのヒト核酸配列に対するSEQ ID NO及び対応するインサイト社クローン番号を示す。SEQ ID NO:1 - 7の断片は、同一或いは類似の配列の発現パターンの変化を同定するためのハイブリダイゼーション若しくは増幅技術において有用である。列4は、SEQ ID NO:1 - 7の具体的な断片を示す。列

5は、列4のラット核酸配列と対応する列2のヒト核酸配列との間の配列同一性を示す。列6は、列3の配列が優性に発現するヒトの組織を示す。ヒトの配列の全てが、海馬を含む神経組織で発現する。

【0027】

従って、一実施例では、本発明は、SEQ ID NO:1-7の配列を含むポリヌクレオチド配列(NSEQ)を含む。本発明の方法によって見出されたこれらの7つのポリヌクレオチドは、成体の海馬に関連して著しく異なって発現する。本発明はまた、そのポリヌクレオチド配列の変異体、その相補体、上記した配列の18個の連続するヌクレオチドを含む。ポリヌクレオチド変異配列は、通常はNSEQと少なくとも約70%、好適には約85%、最も好適には約95%の配列同一性を有する。

【0028】

本発明は、海馬で発現する1或いは複数の遺伝子の少なくとも断片を含むポリヌクレオチド配列を提供する。このようなポリヌクレオチド配列は、分子のライブラリーのスクリーニングして、特異的な結合を調べるため、並びにアルツハイマー病、ハンチントン病、精神分裂病、てんかん、及びそれらの合併症等の海馬の疾患の診断及び予後のために有用である。

【0029】

これらのポリヌクレオチド配列は、特に、マイクロアレイのハイブリダイズ可能なアレイ要素として有用である。このようなマイクロアレイを用いて、胎児の海馬、正常な海馬、病片海馬、または処置した海馬で異なって発現する遺伝子の発現をモニタリングする。マイクロアレイは、極めて多数のポリヌクレオチド配列の大量の遺伝子分析若しくは遺伝子発現の分析、表現型(症状)が明らかになる前の疾患の診断、または類似の症状を有する疾患の様々な診断に用いることができる。マイクロアレイはまた、海馬の機能に係るポリペプチドをコードする遺伝子の発現の変化がてんかん等の疾患を起こす場合のモニタリング及び治療の評価に用いることができる。更に、マイクロアレイを用いて、アルツハイマー病等の疾患に対する個人の疾病資質を検査することもできる。更に、マイクロアレイを用いて、神経細胞の増殖、再生、変性などの細胞応答を調べることができ

る。

【0030】

本発明のポリヌクレオチド配列をマイクロアレイのハイブリダイズ可能な要素として用いる場合、それぞれの要素が基板の指定の位置に配置されるようにアレイ要素は規則正しく配置される。各アレイ要素が基板の指定の位置に配置されているため、ハイブリダイゼーションのパターン及び強度（これらによって固有の発現プロファイルを作成する）を、特定の遺伝子の発現レベルと見なすことができ、また特定の疾患や症状、治療に相関性を有し得る。

【0031】

本発明はまた、好適な医薬様担体と共に本発明のポリヌクレオチド配列を含む医薬組成物を提供する。また本発明は、海馬に関連した疾患や症状の治療若しくは予防のために好適な量のこのような組成物を患者に投与することを含む、海馬を調節する遺伝子の発現の変化に関連する疾患や症状の治療または予防方法を提供する。

【0032】

ESTクラスターを構築した後、それぞれのcDNAライブラリーに対する転写物イメージを生成して、所定のESTクラスターの頻度若しくは存在量を決定する。あるクローン集団におけるESTクラスターの頻度が特定の遺伝子の発現レベルに相関する。転写物の分析によって、それぞれの組織サンプルに特異的な同一、ユニーク及び相同な転写物の存在及び存在量を概算する。異なった生物学的サンプルに由来する転写物イメージの比較によって、例えば疾患の状態及び治療の効果、様々な環境因子への暴露、遺伝子型などの細胞及び組織の情報と、特定の遺伝子若しくは遺伝子群の発現レベルとの間の統計的に有意な相関性を実証することができる。異なった条件下での同じ細胞や組織間、または異なった細胞や組織間の転写物イメージの比較をすることで、転写物の活性の違いを識別することができる。例えば、転写物イメージは、（a）海馬と前頭皮質との差、（b）正常な脳組織と病変脳組織との差、または（c）処置した脳組織と未処置の脳組織との差を示すことができる。

【0033】

転写物イメージの比較は当業者に周知の方法で行うことができる。例えば、アレ状のDNAクローンの量的なハイブリダイゼーション (Nguyen et al. (1995) *Genomics* 29:207-216)、遺伝子発現の連続的分析 (SAGE) 技術 (Velculescu 他 (1995) *Science* 270:484-487)、ポリメラーゼ連鎖反応 (Peng 他 (1992) *Science* 257:967-971; Prashar 他 (1996) *Proc. Natl. Acad. Sci.* 93:659-663)、または異なる増幅のプロトコル (Van Gelder 他 *USPN* 5,545,522) に基づいて、或いは比較遺伝子転写分析 (Seilhamer 他 *USPN* 5,840,484) やGEMTOOLS遺伝子発現分析プログラム (Incyte Pharmaceuticals, Palo Alto CA) などの電子分析に基づいて、異なる遺伝子発現アッセイによって、転写物のレベル及びイメージを求めて比較することができる。

【0034】

転写物プロファイルを比較して、(1) 胎児海馬のみに存在する転写物、(2) 成体海馬のみに存在する転写物、(3) 成体海馬より胎児海馬においてより高いレベルで発現する転写物、(4) 胎児海馬より成体海馬においてより高いレベルで発現する転写物、(5) 胎児や成体の海馬に存在しないが、肝臓などの他のラット組織に存在する転写物、(6) 組織を比較した場合に統計的に有意な発現の差を示さない、胎児海馬及び成体海馬の双方に存在する転写物のポリヌクレオチド配列を同定することが可能である。

【0035】

NSEQ若しくはコードされたPSEQを用いて、GenBankの霊長類 (pri) 及び齧歯類 (rod)、ほ乳類 (mam)、脊椎動物 (vrtp)、真核生物 (eukp) のデータベース、SwissProt、BLOCKS (Bairoch 他 (1997) *Nucleic Acids Res.* 25:217-221)、PFAMデータベース、並びにすでに同定され注釈のついたモチーフ及び配列、遺伝子機能を含むその他のデータベースに対して検索する。例えば、Basic Local Alignment Search Tool (BLAST: Altschul (1993) *J. Mol. Evol.* 36:290-300; Altschul 他 (1990) *J. Mol. Biol.* 215:403-410)、BLOCKS (Henikoff and Henikoff (1991) *Nucleic Acids Res.* 19:6565-6572)、隠れマルコフモデル (HMM: Eddy (1996) *Cur. Opin. Str. Biol.* 6:361-365; Sonnhammer 他 (1997) *Proteins* 28:405-420) 等のアルゴリズムだけではなく、二次構造ギャップペナルティを有する一

次配列パターンを検索する方法を用いて、ヌクレオチド配列やアミノ酸配列を操作して分析することができる。これらのデータベース、アルゴリズム、及びその他の方法は当分野で周知であり、Ausubel他(1997; Short Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, New York NY, unit 7.7)及びMeyers(1995: Molecular Biology and Biotechnology, Wiley VCH, New York NY, p 856-853)に記載されている。

【0036】

また本発明は、ストリンジェントな条件の下でSEQ ID NO:1-7及びその断片にハイブリダイズ可能なポリヌクレオチド配列を含む。ストリンジェントな条件は、塩濃度及び温度、また当分野で周知のその他の試薬及び条件によって決めることができる。好適な条件は、例えば、プレハイブリダイゼーション及びハイブリダイゼーション溶液、洗浄溶液の塩濃度を変えて、或いはハイブリダイゼーション及び洗浄の温度を変えて選択することができる。何種類かの基質を用いて、プレハイブリダイゼーション及びハイブリダイゼーション溶液にホルムアミドを加えて温度を低下させることができる。

【0037】

ハイブリダイゼーションは、1%のドデシル硫酸ナトリウム(SDS)を含む5xSSCなどのストリンジェンシーの低い緩衝液で、60℃で行うことができるが、核酸配列間に不一致を含む複合体の形成を許容し得る。45℃(中程度のストリンジェンシー)或いは68℃(高いストリンジェンシー)の何れかで、0.1%のSDSを含む0.2xSSCなどの緩衝液で続く洗浄を前記ハイブリダイゼーションより高いストリンジェンシーで行うことによって、完全に相補的な配列を含む複合体のみを維持する。SDSやSarcosyl、またはTriton X-100などの界面活性剤及び/またはサケ精子DNAなどの遮断剤を用いてバックグラウンドシグナルを低減することが可能である。ハイブリダイゼーションの方法については、Ausubel(前出 unit s 2.8-2.11, 3.18-3.19 and 4-6-4.9)及びSambrook他(1989: Molecular Cloning. A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor Press, Plainview NY)に記載されている。

【0038】

部分的なヌクレオチド配列を用いて、プロモーターや他の調節要素などの上流の配列を検出する当分野で周知の種々のPCR系の方法で、NSEQを伸長することが可能である（例えば、Dieffenbach and Dveksler (1995) PCR Primer, a Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Press, Plainview NYを参照）。或いは、XL-PCRキット（PE Biosystems, FosterCity CA）、ネスト化プライマー（nested primer）、及び市販のcDNA（Life Technologies, Rockville MD）、若しくはゲノムライブラリー（Clontech, Palo Alto CA）を用いて、配列を伸長することも可能である。全てのPCR系の方法では、プライマーが、例えばOLIG04.06ソフトウェア（National Biosciences, Plymouth MN）や別の好適なプログラムなどの市販のソフトウェアを用いて、長さが約18～30個のヌクレオチド、GC含有率が約50%であって、約68～72の温度でハイブリダイゼーション複合体を形成するように設計することができる。

【0039】

本発明の別の実施態様では、好適な宿主細胞において、PSEQ若しくはその構造的或いは機能的断片の発現を誘導する組み換えDNA分子に、NSEQをクローニングすることができる。遺伝子コードには固有の縮重があるため、実質的に同一或いは機能的に等価のアミノ酸配列をコードする別のDNA配列を作製して、これを用いてNSEQによってコードされるポリペプチドを発現させることができる。限定するものではないが、遺伝子産物のクローニング、プロセッシング及び/または発現の改変を含む様々な目的のために、当分野で周知の技術を用いて本発明のヌクレオチド配列を改変することができる。ランダムな断片化によるDNAシャッフリング、並びに遺伝子断片や合成オリゴヌクレオチドのPCR増幅で、ヌクレオチド配列を操作することができる。例えば、オリゴヌクレオチド仲介性の特定部位突然変異誘発を用いて、新規の制限部位を創出したり、グリコシル化パターンやコードンの読み枠を変えたり、スプライスバリエントを生成するなどの変異を導くことができる。

【0040】

生物学的に活性なタンパク質、NSEQ、またはそれらの断片を発現させるために、特定の宿主において、挿入されたコーディング配列の転写及び翻訳の調節に必

要な要素を含む好適な発現ベクターの中に挿入することができる。これらの要素には、エンハンサー、構成的及び誘導性のプロモーター、5'及び3'非翻訳領域などの調節配列を含む。当分野で周知の方法を用いてこのような発現ベクターを作製する。これらの方法には、in vitro組み換えDNA技術、合成技術、及びin vivo遺伝子組み換えが含まれる（例えば、Sambrook, 前出: and Ausubel, 前出、を参照）。

【0041】

様々な発現ベクター/宿主細胞系を用いてNSEQを発現させることができる。これらには限定するものではないが、組み換えバクテリオファージ、プラスミド、またはコスミドDNA発現ベクターで形質転換された細菌などの微生物や、酵母発現ベクターで形質転換された酵母、バクロウィルスベクターで感染された昆虫細胞系、ウィルスや細菌発現ベクターで形質転換された植物細胞系、動物細胞系が含まれる。哺乳動物系において長期に渡って組み換えタンパク質を産生させるために、細胞系の安定した発現が選択される。例えば、同一或いは別のベクター上に選択可能なマーカー遺伝子や可視マーカー遺伝子及びウィルス起源の複製要素及び/または内因性の発現要素を含み得る発現ベクターを用いて、NSEQを細胞系に導入することができる。本発明は、用いられるベクターや宿主細胞によって制限されるものではない。

【0042】

一般に、PSEQを発現するNSEQを含む宿主細胞は、当分野で周知の様々な方法によって同定することが可能である。これらの方法には、限定するものではないが、DNA-DNA若しくはDNA-RNAハイブリダイゼーション、PCR増幅、核酸やタンパク質配列の検出及び/または定量のための膜及び溶液またはチップ系の技術を含む免疫アッセイ技術及びタンパク質バイオアッセイが含まれる。特異的なポリクローナル若しくはモノクローナル抗体のいずれかを用いるPSEQの発現の検出・定量を行う免疫学的な方法は当分野で周知である。このような技術の例には、酵素結合免疫吸着アッセイ（ELISA）及びラジオ免疫アッセイ（RIA）、蛍光活性化細胞ソーティング（FACS）が含まれる。

【0043】

発現及び細胞培養からタンパク質を回収するのに好適な条件の下で、NSEQで形質転換された宿主細胞を培養することができる。遺伝子組み換え細胞によって産生されるタンパク質は、用いられる配列及び/またはベクターによって、分泌されたり細胞内に維持されたりする。当業者には明らかなように、NSEQを含む発現ベクターは、原核細胞膜若しくは真核細胞膜からタンパク質を分泌させるシグナル配列を含むように設計することもできる。

【0044】

更に、宿主細胞系は、挿入した配列の発現を調節する能力または発現したタンパク質を好適な形にプロセッシングする能力から選択することができる。ポリペプチドのこのような改変には、限定するものではないが、アセチル化及びカルボキシル化及びグリコシル化、リン酸化、脂質化、アシル化が含まれる。タンパク質の「prepro」型を切断する翻訳後プロセッシングを用いて、タンパク質のターゲティング、折り畳み及び/または活性を明確にすることができる。翻訳後の活性のための特定の細胞機構及び特徴的な機構を有する様々な宿主細胞（例えば、CHO及びLeLa、MDCK、HEK293、WI38）は、American Type Culture Collection (Manassas VA)から入手可能であり、確実に発現したタンパク質の適正な修飾やプロセッシングなされるように選択することができる。

【0045】

本発明の別の実施例では、天然の或いは改変した、または組み換え核酸配列を異種配列に結合すると、前記した任意の宿主系で異種のタンパク質部分を含む融合タンパク質が翻訳される。このような異種のタンパク質部分によって、市販のアフィニティマトリックスを用いる融合タンパク質の生成が容易になる。このようなタンパク質部分には、限定するものではないが、グルタチオンSトランスフェラーゼ、マルトース結合タンパク質、チオレドキシン、カルモジュリン結合ペプチド、6-His、FLAG、c-myc、ヘマグルチニン (hemagglutinin) 及びモノクローナル抗体エピトープが含まれる。

【0046】

別の実施例では、当分野で周知の化学的若しくは酵素的方法によって全て或いは一部の核酸配列を合成する (Caruthers 他 (1980) Nucleic Acids Symp. Ser.

(7) 2 15-233; Ausubel, 前出)。例えば、ペプチドの合成は、様々な固相技術 (Roberge 他 (1995) Science 269:202-204) を用いて行うことができ、ABI 431 Aペプチドシンセサイザー (PE Biosystems) などの機械を用いれば自動的に合成することもできる。所望に応じて、アミノ酸配列を合成中に改変し、かつ/または他のタンパク質の配列を結合させて変異タンパク質を作ることができる。

【0047】

別の実施例では、本発明は、SEQ ID NO:8のアミノ酸配列若しくはその断片を含む実質的に生成されたポリペプチド (PSEQ) を提供する。

【0048】

(スクリーニング、診断、治療)

このポリヌクレオチド配列を用いて、アルツハイマー病、ハンチントン病、精神分裂症、てんかん、及びそれらの合併症などの海馬に関連する疾患に対する治療薬分子の選択及び評価、並びに診断及び予防、治療を行うことができる。

。

【0049】

このポリヌクレオチド配列を用いて、特定の結合親和性を調べるためにライブラリーの分子のスクリーニングを行うことができる。このアッセイを用いて、DNA分子、RNA分子、PNA、ペプチド、リボザイム、抗体、アゴニスト、アンタゴニスト、免疫グロブリン、インヒビター、転写因子を含むタンパク質、エンハンサー、リプレッサー、及び生物系のポリヌクレオチド配列の活性を調節する薬剤等のライブラリーをスクリーニングすることが可能である。このアッセイには、分子のライブラリーを準備するステップと、特異的結合を許容するのに好適な条件の下で、このポリヌクレオチド配列若しくはその断片を分子のライブラリーと結合させるステップと、特定の結合を検出して、このポリヌクレオチド配列と特異的に結合する少なくとも1つの分子を同定するステップとを含む。

【0050】

同様に、このポリペプチド若しくはその一部を用いて、任意のスクリーニングアッセイで分子のライブラリーをスクリーニングすることができる。このようなスクリーニングに用いられるこのポリペプチドの一部が、溶液中に遊離した状態

であるか、生物若しくは非生物の基板（例えば細胞表面上）に固定された状態であるか、または細胞内に存在し得る。このポリペプチドと分子との特異的な結合を測定することができる。このアッセイを用いて、このポリペプチドに特異的に結合するDNA分子、RNA分子、PNA、ペプチド、リボザイム、抗体、アゴニスト、アンタゴニスト、免疫グロブリン、インヒビター、タンパク質、薬剤等のライブラリーをスクリーニングすることが可能である。微量の検査化合物を用いる極微量アッセイを利用するハイスループット型の方法は、酵素阻害若しくは受容体結合に対して極めて多くの分子をスクリーニングすることができる。この方法は、Burbaum 他による USPN 5,876,946に記載されており、引用することをもって本明細書の一部とする。

【0051】

好適な一実施例では、このポリヌクレオチド配列を診断目的に用いて、遺伝子の発現の有無及び過剰な発現を測定する。このポリヌクレオチドは、少なくとも18個のヌクレオチドの長さであって、相補的なRNA及びDNA分子、分岐核酸、及び/またはペプチド核酸（PNA）から成り得る。変更例では、このポリヌクレオチドを用いて、NSEQの発現が疾患とが相関性を有するサンプルにおける遺伝子の発現を検出して定量する。別の実施例では、NSEQを用いて、疾患に関連した遺伝子多型を検出することができる。これらの多型をcDNA転写産物において検出することが可能である。

【0052】

プローブの特異性は、ユニークな領域または調節領域から、或いは保存されたモチーフから作製されているかどうかによって決まる。診断のハイブリダイゼーション若しくは増幅におけるプローブの特異性及び厳密性（最大、高い、中程度、低い）の双方によって、このプローブが、自然発生の配列のみ、或いは完全に相補的な配列、またhアレル変異配列若しくは関連する配列までを同定するかどうかが決まる。関連する配列を検出するべく設計されたプローブは、PSEQをコードする任意の核酸配列と少なくとも70%の配列同一性を有する。

【0053】

ハイブリダイゼーションプローブの作製方法には、ベクターの中に核酸配列を

クローニングしてmRNAプローブを作製することが含まれる。市販されている当技術分野で周知のこのようなベクターを用いて、好適なRNAポリメラーゼ及び標識されたヌクレオチドを加えてRNAプローブを合成することができる。ハイブリダイゼーションプローブには、限定するものではないが、 ^{32}P 若しくは ^{35}S などの放射性核種、アビチン/ビオチン結合系によってプローブに結合されたアルカリホスファターゼなどの酵素標識を含む様々なレポーター群によって標識されたヌクレオチドを含めることが可能である。標識したポリヌクレオチド配列を、患者からのサンプルを利用するノーザン分析やサザン分析、ドットプロット、または他の膜系の技術や、PCR技術や、マイクロアレイに用いて、変異PSEQ発現を検出することができる。

【0054】

標準的な方法でNSEQを標識し、ハイブリダイゼーション複合体の形成及び検出に好適な条件の下で患者からのサンプルに加えることができる。インキュベーションの後、サンプルを洗浄し、ハイブリッド複合体の形成に関連するシグナルを定量し、標準値と比較する。所定の疾患に感染していない任意のコントロールサンプルから標準値を求める。患者のサンプル内のシグナルの量が標準値と異なる場合は、その発現値の変化が疾患の存在を示す。患者のサンプル内に形成されたハイブリダイゼーション複合体を標準値と比較する質的かつ量的方法は当技術分野では周知である。

【0055】

このようなアッセイはまた、動物実験や臨床試験における特定の治療効果の評価、または患者の治療のモニタリングに利用することができる。疾患の存在が確認されて治療が始まると、ハイブリダイゼーション或いは増幅アッセイを定期的に行って、患者の発現レベルが健康な患者の発現レベルに近づき始めたかどうかを調べる。連続的なアッセイによって得られたデータから、数日から数年に渡る期間における治療効果を確認することができる。

【0056】

このポリヌクレオチドを、海馬に関連した様々な疾患の診断に用いることができる。これらの疾患には、限定するものではないが、アルツハイマー病、ハンチ

ントン病、精神分裂病、てんかんが含まれる。

【0057】

このポリヌクレオチドをマイクロアレイにおける標的として用いることもできる。マイクロアレイを用いて、非常に多くの遺伝子の発現パターンを同時にモニタリングし、スプライスバリエーション及び変異、多型を同定することができる。発現パターンの分析から得られた情報を用いて、遺伝子機能の決定、疾患における遺伝子の原理の理解、疾患の診断、疾患の治療に用いられる治療薬の活性の開発及びモニタリングに使用することができる。また、マイクロアレイを用いて、ゲノムレベルで遺伝子多様性即ち特定の集団を特徴付け得る一塩基多型 (SNP) を検出することができる。

【0058】

更なる別法では、ポリヌクレオチドを、自然発生のゲノム配列のマッピングに有用なハイブリダイゼーションプローブの作製に用いることもできる。蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーション (FISH) は、Heinz-Ulrich 他 (In: Meyers, 他, pp 965-968) に記載されているような遺伝子マップデータや他の物理的な染色体マッピング技術と関連し得る。

【0059】

別の実施例では、PSEQに特異的に結合する抗体結合部位を含む抗体若しくはその断片を、PSEQの発現の低下或いは過剰な発現によって特徴付けられる疾患の診断に用いることができる。ELISA及びRIA、FACSを含むPSEQを測定する様々なプロトコルは、当技術分野では周知であり、発現レベルの変化或いは異常を診断する基準となるものを提供する。PSEQの発現の標準値は、複合体形成に好適な条件下で、健康な患者好ましくはヒトから採取されたサンプルとPSEQに対する抗体とを結合させて決定した。形成された複合体の収量は、様々な方法好ましくは光度測定法によって定量される。病変サンプルに発現したPSEQの量を標準値と比較する。標準値と患者の値との偏差によって、疾患の診断やモニタリングの指標が得られる。別法では、PSEQと特異的に結合可能な中和抗体がこのタンパク質と結合するために検査化合物と競合する、競合薬剤スクリーニングアッセイを用いることもできる。抗体を用いて、PSEQと1以上の抗原決定基を共有する任意のペプチ

ドの存在を検出することができる。一実施態様では、本発明の抗PSEQ抗体を用いて、海馬に関連する疾患の治療或いはモニタリング、治療の評価をすることができる。

【0060】

別の実施態様では、NSEQ或いはその相補配列を用いて、治療目的で、mRNAやタンパク質を発現させる、或いは逆にmRNAの転写や翻訳を遮断することができる。発現ベクターは、レトロウイルス或いはアデノウイルス、ヘルペス或いはワクシニアウイルス、細菌性プラスミドなどを用いて作製することができる。これらのベクターを用いて、ヌクレオチド配列を特定の標的器官や組織、細胞集団に輸送することができる。当業者に周知の方法を用いて、核酸配列或いはその相補配列を発現するベクターを作製することができる（例えば、Maulik 他（1997）*Molecular Biotechnology, Therapeutic Applications and Strategies*, Wiley-Liss, New York NY.を参照）。別法では、NSEQ或いはその相補配列を、体細胞或いは幹細胞遺伝子治療に用いることができる。ベクターを *in vivo* 及び *in vitro*、*ex vivo* で導入することが可能である。*ex vivo* での治療のために、ベクターを患者から採取された幹細胞の中に導入し、得られた組み換え細胞をクローニングして増殖させ、同じ患者に自己移植する。トランスフェクション或いはリポソーム注入、ポリカチオンアミノポリマーによるNSEQの輸送は、当技術分野で周知の方法で達成することができる（例えば、Goldman 他（1997）*Nature Biotechnology* 15:462-466を参照）。更に、内因性のNSEQの発現を、不活性の遺伝子配列をNSEQのコーディング領域或いは別の好適な標的領域に挿入する相同組み換え法を用いて不活性化することができる（例えば、Thomas 他（1987）*Cell* 51:503-512を参照）。

【0061】

NSEQを含むベクターで細胞或いは組織を形質転換して、喪失したタンパク質を発現させたり、機能を持たないタンパク質と置換したりすることができる。同様に、NSEQの相補配列を発現するように作製されたベクターで細胞を形質転換してPSEQの過剰な発現をダウンレギュレートすることもできる。相補的配列即ちアンチセンス配列は、転写開始部位好ましくはATGの概ね - 10 位から + 10 位のヌ

クレオチドのオリゴヌクレオチドを含むのが好ましい。同様に、トリプレックス法(三重らせん塩基対)を用いて阻害することもできる。このトリプレックス法は、ポリメラーゼ或いは転写因子、調節分子が結合するのに必要な二重らせんの巻き戻し能を阻害するため、PSEQの過剰な発現の阻害に有用である。三重らせんDNAを用いた近年の治療の進歩が文献に記載されている(例えば、Gee 他 In: Huber and Carr(1994) *Molecular and Immunologic Approaches*. Futura Publishing, Mt. Kisco NY, pp 163-177を参照)。

【0062】

RNA酵素分子であるリボザイムはmRNAの切断の触媒に用いることができ、本発明のポリヌクレオチド配列を含むmRNAなどある種のmRNAのレベルを低下させることができる(例えば、Rossi (1994) *Current Biology* 4:469-471を参照)。リボザイムは、特定の切断部位でmRNAを切断し得る。別法では、リボザイムは、標的mRNAと相補的な塩基対を形成するフランキング領域によって指定された位置でmRNAを切断し得る。リボザイムの作製及び生産は当技術分野では周知であり、Meyers(前出)に記載されている。

【0063】

RNA分子を改変して、細胞内の安定性を高めて半減期を長くすることが可能である。可能な改変には、限定するものではないが、分子の5'及び/または3'末端におけるフランキング配列の付加、分子の背骨となるホスホジエステル結合の代わりにホスホロチオネート若しくは2'0メチルを用いて背骨を形成することが含まれる。別法では、内在性のエンドヌクレアーゼによって容易には認識されないアデニン及びシチジン、グアニン、チミン、ウリジンの類似改変型や、アセチル-及びメチル-、チオ-のみならず、イノシンやqueosine、ワイプトシンなどの従来のものでない塩基が含まれる。

【0064】

更に、PSEQに特異的に結合するアンタゴニストや抗体を、海馬に関連した疾患の治療或いは予防のために患者に投与することが可能である。アンタゴニストや抗体及びそれらの断片を直接用いてタンパク質の活性を阻害したり、間接的に用いてPSEQを発現する細胞や組織に治療薬を送達する。抗体やアンタゴニストのPS

EQ結合部位を含む免疫複合体及び治療薬を、疾患の治療または予防のために患者に投与することも可能である。この治療薬には、限定するものではないが、アブリン、リシン、ドキソルビシン、ダウノルビシン、タキソール、臭化エチジウム、マイトマイシン、エトポシド、tenoposide、ビンクリスチン、ビンブラスチン、コルヒチン、ジヒドロキシアントラシンジオン(dihydroxy anthracin dione)、アクチノマイシンD、ジフテリア毒素、シュードモナスエキソトキシンA及び40、放射性同位元素並びに糖質コルチコイドからなる一群から選択された細胞傷害剤を用いることが可能である。

【0065】

PSEQの抗体は、当技術分野で周知の方法で生産することがある。このような抗体には、限定するものではないが、ポリクローナル抗体及びモノクローナル抗体、キメラ抗体、一本鎖抗体、Fab断片、Fab発現ライブラリーによって作製された断片が含まれる。二量体の形成を阻害するような中和抗体は、治療において特に有用である。PSEQのモノクローナル抗体は、培地における連続培養によって抗体分子を産生する任意の方法で生産することができる。これらの技術には、限定するものではないが、ハイブリドーマ及びヒトB細胞ハイブリドーマ技術、EBVハイブリドーマ技術が含まれる。更に、キメラ抗体の作製のために開発された技術を使用することもできる(例えば、Pound (1998) *Immunochemical Protocols, Methods Mol Biol, Vol 80*を参照)。別法では、開示された一本鎖抗体の作製技術を用いることもできる。PSEQに対して特異的に結合する部位を含む抗体断片を作製することもできる。様々なイムノアッセイを用いて、目的の特異性を有する抗体を同定することが可能である。確立された特異性を有するポリクローナル或いはモノクローナル抗体の一方を用いる競合的な結合アッセイ或いは免疫放射線アッセイの様々なプロトコルは当技術分野では周知である。

【0066】

更に、PSEQの発現や寿命の低下或いは活性の低下に関連した疾患の治療または予防のために、PSEQのアゴニストを患者に投与することも可能である。

【0067】

本発明の別の実施態様は、上記した任意の治療のために、医薬品組成物や滅菌

組成物を医薬的に容認できる担体と共に投与することに関連する。このような医薬品組成物は、PSEQ或いは抗体、本ポリペプチドの擬似化合物(mimetic)或いはアゴニスト、アンタゴニスト、インヒビターからなり得る。この組成物は単独で投与するか、或いは少なくとも1つの別の薬剤と共に投与することが可能である。この別の薬剤は、限定するものではないが、食塩水及び緩衝食塩水、ブドウ糖、水を含む任意の無菌で生体適合性の医薬用担体に混入することができる安定化剤などである。この組成物は単独で、或いは他の薬剤やホルモンと共に患者に投与することが可能である。

【0068】

本発明に用いられる医薬品組成物は、様々な経路を用いて投与することが可能である。この経路には、経口、静脈内、筋肉内、動脈内、骨髄内、クモ膜下、心室内、経皮、皮下、腹腔内、鼻腔内、腸内、局所、舌下、または直腸が含まれるがこれらに限定されるものではない。

【0069】

活性処方成分に加えて、これらの医薬品組成物には、活性化合物を医薬的に使用可能な薬剤にするのを容易にする、医薬品添加物及び補助剤を含む好適な薬学的に許容できる担体が含まれ得る。製剤及び投与についての詳しい技術については、最新版のRemington's Pharmaceutical Sciences (Maack Publishing, PA)に記載されている。

【0070】

治療に効果的な薬用量はどのような組成物であっても、初めに細胞培養アッセイか、或いはマウスやラット、ウサギ、イヌ、ブタなどの動物モデルかの一方で評価可能である。また動物モデルを用いて、好適な濃度範囲や投与経路を決定することができる。このような情報を基に、ヒトに有効な薬用量及び投与経路を決定することができる。

【0071】

医学的に有効な薬用量とは、症状や容態を回復させる活性処方成分の量を指す。薬用有効度及び毒性は、 ED_{50} (服用に対して集団の50%に医学的效果がある) また LD_{50} (服用に対して集団の50%に致命的である) 統計を計算して比較す

るなどして、細胞培養または動物実験における標準的な調剤方法によって決定することができる。上記した全ての医薬品組成物を、限定するものではないが、そのような治療が必要なイヌ及びネコ、ウシ、ウマ、ウサギ、サル、最適なヒトを含む任意の被検体に投与することができる。

【0072】

(実施例)

本発明は、記載した特定の装置及び機械、物質、方法に限定されるものではないことを理解されたい。特定の実施例について説明したが、同等の実施例を用いて本発明を具現することも可能である。本発明の範囲は、前記請求の範囲によってのみ限定されるものであって、記載した実施例によって限定されるものではない。以下に記載の実施例は、本発明を例示するためのものであって本発明を限定するものではない。例示目的で、ラット成体海馬cDNAライブラリー、RAHINOT01を記載する。

【0073】

1 cDNAライブラリーの作製

ラット海馬cDNAライブラリーであるRAHINOT01は、10匹のオスのSDラット成体(Pharmakon, Waverly PA)から採取した海馬組織から作製した。このラットは、標準的な実験用ケージで飼育、飼料PMI-certified Rodent Diet #5002 (Harlan Teklad, Madison WI)を与えた。組織採取時のラットの健康状態は明らかに良好であった。ラットにCO₂を吸引させて麻酔し、心臓穿刺を行った。

【0074】

この凍結組織をPOLYTRONホモジナイザー (PT-3000; Brinkmann Instruments, Westbury NY) を用いて、TRIZOL試薬 (組織1g / 10ml ; Life Technologies) においてホモジナイズして溶解した。ホモジナイズした後、ホモジネートにクロロホルムを加え (クロロホルムとホモジネートの割合は1:5)、溶解物を遠心分離した。水層を除去してからRNAをイソプロパノールで沈殿させた。沈殿したRNAをDEPC処理水で再懸濁した。

【0075】

メッセンジャーRNA (mRNA) を、OLIGOTEXキット (QIAGEN, Valencia CA) を用い

て単離してcDNAライブラリーを作製した。このmRNAは、SUPERSCRIP Tプラスミドシステム (Life Technologies) の推奨プロトコルに従って処理した。このSUPERSCRIPTプラスミドシステムは、mRNAのポリA尾部における第一鎖cDNAの合成を開始するように設計されたNotIアダプタープライマーを含む。このアダプタープライマーは、d(T)残基及び制限エンドヌクレアーゼ認識部位を含む。3つのloc-do cプライマー (Biosource International, Camarillo CA) を合成した。それぞれのプライマーは、ポリT部分の後の1つの非チミン塩基を除いて同じNotIオリゴd(T)アダプタープライマーを有する。この導入された塩基が、クローニングされたポリA尾部の長さを短くしている。これらのプライマーを、SMART SYSTEM HPLC アニオン交換カラム (Mini PC 3.2/3, Amersham Pharmacia Biotech (APB), Piscataway NJ) を用いて精製し、等モル溶液の中に混合する。SUPERSCRIP T逆転写酵素 (Life Technologies) を用いてcDNAを合成し、EcoRIアダプターを結合した後、この作製物をNotI (New England Biolabs, Beverly MA) で消化した。このcDNAをSEPHAROSE CL-4Bカラム (APB) 上で分画し、400 bpを超えるcDNAをpINCYプラスミド (Incyte Pharmaceuticals) のNotI及びEcoRI部位に結合した。この組み換えプラスミドを、コンピテントDH5 細胞 (Life Technologies) またはELECTROM AX DH 10B細胞 (Life Technologies) の中に導入して形質転換した。

【0076】

2 cDNAクローンの単離及び配列決定

DNAを以下のプロトコルを用いて単離した。1つの細菌コロニーを、滅菌した楊枝を用いて384ウェルプレート (Genetix Ltd, Christchurch, United Kingdom) の各ウェルに移した。ウェルには、25 mg/lのカルボニシリン及び0.4%グリセロール (v/v) と共に滅菌Terrific Broth (Life Technologies) が65 µl含めた。プレートをカバーし、用いる前に37 °CのThermodyneインキュベーター (Thermodyne, Newtown Square PA) に8 ~ 10時間置いた。プラスミドDNAは細胞から放出され、以下のようにダイレクトリンクPCR法 (Rao, V.B. (1994) Anal. Biochem. 216:1-14) を用いて増幅した。ダイレクトリンクPCR溶液は、30 mlのNUCLEIX PLUS PCRヌクレオチドミックス (Amersham Pharmacia Biosech, Piscataway NJ) 及び300 µlのTaq DNAポリメラーゼ (Amersham Pharmacia Biotech) 、6

μlのPfuポリメラーゼ (Stratagene, La Jolla CA) を含んでいた。5 μlのPCR溶液を、HYDRA 96-ウェルマイクロディスペンサーシステム (Robbins Scientific, Sunnyvale CA) を用いて384個のウェルのそれぞれに加えた。プレートを1000 rpmで20秒間遠心分離にかけ、使用時まで冷蔵した。384ピンのピンツール (V&P Scientific mc, San Diego CA) を用いて細菌細胞をインキュベーションプレートからPCR溶液を含むプレートに移した。このPCR溶液において、0.1%のTween 20によって細胞が溶解され、プラスミドDNAが放出される。溶解の後、サイクルシーラー (cycle sealer) で覆い、プレートを最大500 rpmで遠心分離にかけ、プログラムdPCR30を用いる384ウェルDNA ENGINE TETRADサーマルサイクラー (MJ Research, Watertown MA) で以下のパラメーター、即ち、ステップ(1) 95 で1分間；ステップ(2) 94 で30秒間；ステップ(3) 55 で30秒間；ステップ(4) 72 で2分間；ステップ(5) ステップ2、3、及び4を29回反復；ステップ(6) 72 で10秒間；及びステップ(7) 4で保存、というパラメーターで熱サイクルにかけた。

【0077】

各ウェルにおけるDNAの濃度の決定は、100 μlのPICOGREEN定量試薬 (Molecular Probes, Eugene OR) (10 mM TrisHCLに溶解した0.25%試薬 (pH 7.5) 及び1 mM EDTA試液；1xTE v/v) 及び0.5 μlの非希釈PCR産物を、不透明な蛍光定量プレート (Coming Costar, Acton MA) の各ウェルに分注し、DNAが定量用試薬と結合できるようにして行った。プレートをFluoroscan II (Labsystems Oy, Helsinki, Finland) でスキャンして、サンプルの蛍光発光を測定し、DNAの濃度を定量した。

【0078】

HYDRAマイクロディスペンサー (Robbins Scientific, Sunnyvale CA) 或いはMICROLAB 2200システム (Hamilton, Reno NV) の何れか一方をDNA ENGINE サーマルサイクラー (MJ Research) と組み合わせて用いてcDNAを調製し、このcDNAの配列を、ABI 377シーケンシングシステム (PE Biosystems) を用いて、Sanger, F. 及びAR. Coulson (J. Mol. Biol. (1975) 94:441-448) の方法で決定した。大部分の単離物は、標準的なABIプロトコル及びABIキット (PE Biosystems) に従

って配列決定した。0.25x ~ 1.0xの濃度の溶液を用いた。或いは、Amersham Pharmacia Biotech製の溶液及び色素を用いてcDNAを配列決定してもよい。

【0079】

3 比較による核酸配列の発現の分析

核酸配列NSEQは、転写イメージプロフィールを形成するZOOSEQデータベースにおける電子サブトラクションを利用して、ラット組織で初めに同定された。標的組織はラット成体の海馬であり、バックグラウンド組織はラット胎児の海馬である。2つのラット組織の転写イメージを以下の設定、即ち、ストリンジェンシーが50以上；積スコアが100以下；最大の結果をALLと表示する、という設定で比較した。標的組織には存在するがバックグラウンド組織には存在しないラットクローンを記録した。加えて、バックグラウンド組織には存在するが標的組織には存在しないラットクローンを記録した。その結果には、注釈の付いたクローンと注釈の付かないクローンの両方が含まれた。海馬組織に関連する注釈のあるクローン及び注釈のないクローンを選択した。Phrap (P. Green, University of Washington)若しくはGCG 断片構築システム(Genetics Computer Group (GCG), University of Washington)を用いて、選択したクローンをクラスター化して配列を構築した。得られたラットのコンティグであるSEQ ID NO:9 - 15を、Expected: 10; expected2: 0.15; Karlin and Altschul sum statistics; greedy spanningと検索パラメーターを設定したBLASTを用いて、LIFESEQデータベース(Incyte Pharmaceuticals)において検索し、相同なヒト核酸配列を同定した。前述のPhrap若しくはGCG 断片構築システムを用いて、相同なヒト核酸配列をクラスター化して構築した。

【0080】

6 海馬遺伝子及びそれらによってコードされたタンパク質に対する相同性検索

ポリヌクレオチド配列SEQ ID NO:1 - 7及びポリペプチド配列SEQ ID NO:8をGenBank及びSwissProtなどから得たデータベースにおいて検索した。既に同定されて注釈がつけられた配列を含むこれらのデータベースにおいて、BLAST (Altschul, 前出)を用いて類似領域を検索した。BLASTによって一致配列を探索し、ヌク

レオチド配列に対して $10^{-2.5}$ 以下の確率閾値及びポリペプチド配列に対して 10^{-8} 以下の確率閾値を満たす配列のみを報告した。

【0081】

ポリペプチド配列についても、MOTIFS及びSPSCAN、BLIMPS、HMMに基づいたプロトコルを用いて、既知のモチーフパターンに対して解析した。MOTIFS (Genetics Computer Group, Madison WI)によって、Prosite Dictionary of Protein Sites and Patterns (Bairoch, 前出)によって、Prosite Dictionary of Protein Sites and Patterns (Bairoch, 前出)で定義されたものに一致するパターンに対してポリペプチド配列を検索し、見つかった配列パターン及び対応する文献の要約を表示する。SPSCAN (Genetics Computer Group)によって、重み付けマトリックス法 (Nielsen 他 (1997) Prot Eng 10:1-6) を用いて、潜在的なシグナルペプチド配列に対して検索する。スコアが5以上のヒットは考慮に入れた。重み付けマトリックス解析アルゴリズムを用いて、BLIMPSによって、BLOCKS (PROSITEデータベース (Henikoff, 前出; Bairoch, 前出) から編集された、短いアミノ酸セグメント或いはアミノ酸3個~60個の長さのブロックからなるデータベース) に含まれるポリペプチド配列と前記ポリペプチド配列との間の配列類似性、並びにPRINTS (SwissProt及びGenBank、PIR、NRL-3D (Attwood, 他 (1997) J. Chem Inf Comput Sci 37:417-424) などから得た非重複配列に基づいたタンパク質フィンガープリントデータベース) のポリペプチド配列と前記ポリペプチド配列との間の配列類似性を検索する。本発明のために、BLIMPS検索によって、カットオフスコアが1000以上でかつカットオフ確率値が 1.0×10^{-3} を満たしたものを報告した。確率法に基づいたHMMを基にしたプロトコルを用いて、タンパク質配列の遺伝子ファミリー (Eddy, 前出; Sonnhammer, 前出) のコンセンサス一次構造を検索した。本発明に用いるためにカットオフスコアが10~50ビットの500以上の既知のタンパク質ファミリーを選択した。

【0082】

7 プローブの標識化及びハイブリダイゼーション分析

以下に示す方法の1つによって、ポリヌクレオチド配列を生物材料から単離し、標準的な核酸ハイブリダイゼーションプロトコルに好適な基板に固定する。標的核酸の混合液を、1x TAE緩衝液において、0.7%アガロースゲルを用いた電

気泳動法によって分画し、20xクエン酸ナトリウム(SSC)を用いて毛管輸送によってナイロン膜に移す。別法では、標的核酸を個別にベクターに結合させ、細菌宿主細胞に導入してライブラリーを作製する。以下の方法の1つに従って、標的核酸をプロット上に並べる。第1の方法では、個々のクローンを含む細菌細胞を機械的に選んでナイロンメンブレンに並べる。このメンブレンをカルベニシリンを含むLB寒天細菌増殖培地に置き、37℃で16時間インキュベートする。細菌コロニーをプロティナーゼKで変性、中和、消化する。ナイロンメンブレンをSTRATALINKER UVクロスリンカー(Stratagene, La Jolla CA)でUV照射してDNAをそのメンブレンに架橋させる。

【0083】

第2の方法では、挿入物に近接するベクター配列に相補的なプライマーを用いて、PCRを30回実施し、標的核酸を細菌ベクターから増幅する。増幅した標的核酸をSEPHACRYL-400 (Amersham Pharmacia Biotech)を用いて精製する。精製した標的核酸を、0.05%のアミノプロピルシラン(Sigma-Aldrich, St Louis MO)のコーティングが施され、110℃で硬化されたガラス製の顕微鏡スライド上に機械的に並べる。ガラススライドのアレイ(マイクロアレイ)を、STRATALINKER UVクロスリンカー(Stratagene)でUV照射する。

【0084】

cDNAプローブ配列は、mRNA鋳型から作製される。5 µgのmRNAを1 µgのランダムプライマー(Life Technologies)と混合し、70℃で10分間インキュベートしてから凍結乾燥する。この凍結乾燥したサンプルを、dNTP混合物及び[³²P]dCTP、ジチオスレイトール、MMLV逆転写酵素(Stratagene)を含む50 µlの1x第一鎖緩衝液(cDNA Synthesis system; Life Technologies)に再懸濁し、42℃で1~2時間インキュベートする。インキュベーション後、プローブを42 µlの蒸留水で希釈して95℃で3分間加熱し、その後氷上で冷却する。プローブのmRNAをアルカリ分解によって除去する。このプローブを中和し、PROBEQUANT G-50 MicroColumn (Amersham Pharmacia Biotech)を用いて変性したmRNA及び組み込まれなかったヌクレオチドを除去する。プローブを放射標識ヌクレオチド[³²P]dCTPの代わりにCy3-dCTP或いはCy5-dCTP蛍光ヌクレオチド(Amersham Pharmacia Bio

tech)で標識することもできる。

【0085】

ハイブリダイゼーションは、0.5Mリン酸ナトリウム(pH7.2)及び7%SDS、1 mM EDTAを含むハイブリダイゼーション緩衝液において65℃で実施する。プロットをハイブリダイゼーション緩衝液において少なくとも2時間65℃でインキュベートした後、この緩衝液をプローブ配列を含む新しい緩衝液10 mlと取り替える。65℃で18時間インキュベートした後、ハイブリダイゼーション緩衝液を除去し、最大で40 mMのリン酸ナトリウム及び1%SDS、1 mM EDTA、65℃の条件に徐々にストリンジェンシーを増しながら、連続的にプロットを洗浄する。メンブレン上にハイブリダイズした放射標識プローブによって生成されるシグナルを検出するために、プロットをPHOSPHORIMAGERカセット(Molecular Dynamics)に曝露し、その画像をIMAGEQUANTデータ解析ソフトウェア(APB)を用いて解析する。マイクロアレイにハイブリダイズした蛍光プローブが生成するシグナルを検出するために、このプロットを共焦点レーザー顕微鏡検査によって分析し、GEMTOOLS遺伝子発現解析ソフトウェア(Incyte Pharmaceuticals)を用いて画像を修正し解析する。

8 特異的抗体の生産

ポリアクリルアミドゲル電気泳動法或いはその他の精製技術によって実質的に精製したSEQ ID NO:8或いはその一部を用い、Pound (前出)に記載した標準プロトコルに従ってウサギを免疫して抗体を生産する。

【0086】

別法では、アミノ酸配列をLASERGENEソフトウェア(DNASTAR, Madison WI)を用いて解析し、免疫原性の高い領域を決定し、対応するオリゴペプチドを合成し、これを利用して当業者に周知の方法で抗体を産生する。C末端付近や隣接する親水性領域内などの好適なエピトープの選択方法は、当分野で周知である。通常は、約15残基の長さのオリゴペプチドを、Fmocケミストリーを用いるApplied BiosystemsのABI 431Aペプチドシンセサイザー(PE Biosystems)で合成し、N-マレイミドベンゾイル-N-ヒドロキシスクシンイミドエステル(Ausubel, 前出)と反応にさせてキーホールリンペットヘモシニアン(KLH Sigma-Aldrich

)に結合させ、免疫原性を高める。オリゴペプチド-KLH複合体を含むフロイントの完全アジュバントでウサギを免疫する。得られた抗血清の抗ペプチド活性を検査するために、例えばこのペプチドをプラスチックに結合し、1%BSAでブロックし、ウサギ抗血清と反応させ、洗浄し、さらに放射性ヨウ素標識ヤギ抗ウサギIgGと反応させる。

【0087】

7 本核酸配列若しくはタンパク質と特異的に結合する分子のスクリーニング

本ポリヌクレオチド配列若しくはその断片、または本ポリペプチド配列若しくはその断片を、³²P-dCTP、Cy3-dCTP、Cy5-dCTP (APB)、またはBIODIPYやFITC (Molecular Probes)でそれぞれ標識する。予め好適な基板上に配列した、例えば、DNA分子及びRNA分子、PNA、ペプチド、タンパク質、アゴニスト、アンタゴニスト、抗体、免疫グロブリン、インヒビター、薬剤などの候補分子のライブラリーを、標識したポリヌクレオチド配列若しくはポリペプチド配列の存在下でインキュベートする。ポリヌクレオチド配列若しくはポリペプチドに好適な条件の下で適正な時間インキュベートした後、基板を洗浄し、特異的な結合若しくは複合の形成を示唆する標識が保持された基板の上の全ての部分をアッセイし、結合している分子を同定する。様々な濃度のポリヌクレオチド配列若しくはポリペプチドで得られたデータを用いて、標識したポリヌクレオチド配列若しくはポリペプチドと候補分子との親和性を計算する。

【0088】

(表の簡単な説明)

配列表は、ラット成体の海馬で発現した遺伝子の具体的な配列SEQ ID NO:9-15と、ポリヌクレオチド配列SEQ ID NO:1-7を含む相同なヒトの配列と、ポリペプチド配列SEQ ID NO:8とを示す。それぞれの配列は、配列識別番号 (SEQ ID NO) 及び配列が初めに同定されたインサイトクローン番号によって識別することができる。

【0089】

表1は、ラット成体の海馬では発現するが胎児ラットの家馬では発現しない核酸配列のインサイトクローン番号と、そのヒト核酸相同体のインサイトクロー

ーン番号及びSEQ ID NOと、そのヒト核酸配列のユニークな領域の位置と、ラットの配列と対応するヒトの配列との間の配列同一性と、前記ヒトの配列が優性に発現する組織を示す。

【表1】

表1

ラットクローン	SEQ ID NO:	ヒトクローン	ユニークな断片	同一性	発現プロフィール
700122146	1	239240	1178-1288	49.7%	神経(55%), 内分泌(10%)
700244771	2	350293	719-829	45.2%	神経(67%)
700244870	3	244771	1223-1333	63.7%	神経(63%), 生腫(16%)
700025020	4	5308642	717-827	39.2%	造血/免疫(22%), 神経(13%), 消化系(12%)
700251541	5	2289256	230-340	46.1%	神経(50%), 内分泌(38%)
700280514	6	1941247	384-494	76.4%	神経(100%)
700024124	7	3864594	636-686	51.0%	神経(55%), 生腫(16%), 造血/免疫(10%)

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> INCYTE PHARMACEUTICALS, INC.
 KASER, Matthew, R.
 LAL, Preeti
 YUE, Henry
 TANG, Tom, Y.
 BAUGHN, Mariah, R.
 AZIMZAI, Yalda

<120> MOLECULES EXPRESSED IN HIPPOCAMPUS

<130> PB-0012 PCT

<140> To Be Assigned

<141> Herewith

<150> 09/313,300

<151> 1999-05-17

<160> 15

<170> PERL Program

<210> 1

<211> 1581

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<223> Incyte ID No.: 239240

<400> 1

```

ggcggaggag ggcgcgcggc ggagcccccg acgcgaccat gtcggagggtg ctgccctacg 60
gcgacgagaa gctgagcccc tacggcgacg gcggcgacgt gggccagatc ttctcctgcc 120
gcctgcagga caccaacaac ttcttcggcg ccgggcagaa caagcggccg cccaagctgg 180
gccagatcgg ccggagcaag cgggttggtt ttgaagatga taggatgat gacgtgctga 240
aaaatatgac cgacaaggca cctcctggtg tctaactccc ccaaagacaa tgagttaagg 300
gagagaataa gaacggcggg aacagttatt ggcaaaaagc atgaaaagag aaagcacttt 360
gaaatttatt actagcttgc taccacagat gaaatcaaca acctgtatct ggtatcaggc 420
cgggagacag atgaggcgag aggaggagga ggaggaggag aaggctctgg gctcctctgc 480
aaaaataaaa ataaaaaaat aaataaaaat ttaaaaaata taaaaattca ctatatacac 540
atataaagaa ataaaaagaa gtctcagttg cagctatttg tcaaaaattaa tatccatttc 600
tttttatata cggtgaatat tgcgcaatta tagatctgga ttttgaacca cttaatgaag 660
cggcaacacc aggtgttttg aggtgttggc attctctcgt gatttggctg tccccaatgt 720
ttacattatt taatcttgca aaaatggttc tgtgcacttg gatgtgaaat gctgtccagt 780
tttatttttt ttatgttght atccttggat gtacaaaaaa ttcagaaaat gatctctgta 840
gatattctgt tttattttgg tcactcttag aagttatcag gaatgtgttt aaaacaagaa 900
gagaactttt ctaaggaatg atacatagaa aagattttat tttaaaatga gttgtaagc 960
ttgtgtttct ttgtgtctgc aagctatctg cccaagttaa tgcaaatgga cacatttttt 1020
atgtcagaaa aacacacaca cacacacaca cacacacaca cacacacaca cacacacgaa 1080
aaacaaagaa aaaaaatgctt gagctttttc taacttcccc ttgcagctctg ttgtgtgagc 1140
agcctgttta tttctctaata attatgtcag ttattctct ttaatggact gtaaaaaaat 1200
gtaatcacaa gagtgccaaa tatcttgaaa tgccaaaagg cattttagtt tcttttctct 1260
gtgctctgag tccacgtaca ggaatgcttg gagtgtcttt tctgttattt atagggatct 1320
tcttaaggca caccagctgc ctgttttgca tggatatttg aaaaatgctt cttgcgtgag 1380
gaaatctttt accatttttt gtttgcaact ttggacctca agaggtttcc cttcccttcc 1440
cogttccctc ttttcttaat tcaatattct gtatgttgca ccttgaacca gcacacaggg 1500
ctatttctcc aatgtacaat aaaagaattg ttctgtgtgc tcaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1560
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa a

```

<210> 2
 <211> 1910
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> misc_feature
 <223> Incyte ID No.: 350293

<400> 2
 agcagcagggt gcctaagtc tccctggcac tggcaggcct tacctcacat tgctaaatta 60
 aagcaatgca attcctcttg ggtaagagga attcctcctt ctttactaac tgatcccag 120
 caaggaaata aatgttagg ctttaaaaat ccctactttg tcataacaga ctatatctta 180
 aaactatatt tgagcgaac ctgtcattgc gtctaatttc aaatatacag aatctcctta 240
 agagctgttg ccttattttt ttgtaaagcc tctctgacat caaatgggga gaaatgggtgg 300
 caccctcaga caccctgaaa ctacacacca tttcttcctt gctcagcttc tgctcaggag 360
 ttctgtgagc tatgggaagg ccattgggtt tatttgctac ttttactttc atcttctct 420
 gctgtagagc cattaatgt tattgtcata tgctgctggg gaggtaaagg tgggtccggg 480
 tgccctccca ggggttagag gatgttcaaa gggccgattt cagcaggagt tcagagggct 540
 tatgatgaat ggtgagagat ttgacaacca ccagagcaca tgtgctctga ccctctctg 600
 ggcattggtt cctgctggta ccggggcgtt cagaccttca aatagggttc tttcaaaaga 660
 gctttcaggc acttattgag aattaatggt taaacagaca taatagccta gatgaactcc 720
 caagagatct attaaatctt gtgggctgaa taaatatctc gtgcaggact gtgcaacagt 780
 tagcccagag catctgctt gtgggcatcc acctcccagg tgagggcagt gggagctgg 840
 cccgacggca gccagaactt gtttctcacc tcccaccagc aacccccac ccaactctgg 900
 gccccaggca cacgaagcac aagtctcagg ggaccattcc cacattgggg gatcctgagg 960
 gagcccata cgcctcttg catacaactg tccactagga ggcacgcca gtgtgggaga 1020
 gatgtatggt cttgccttcc acctgtaaaa actgcacata tgcaagccat ttgcaactctg 1080
 gaactgcatg ccgtgaaaac tctaatggt gtggaactta gtttgaattt gaaatcacgc 1140
 cgcattcaca aagggacagg cccaggcccg acctcaggtc atccgcccgc tggctgcaga 1200
 gcatcctcgg gagccaaggc gaggcccgtg gagcctgagc tttgtgtagc tcgagctttg 1260
 tgtagctcgt gcacttatta tgcaccacct ccttcagtc accactctc tctctccgc 1320
 atctcattt atactgattg cacaccccc gctcaaaaca caatgtcctt attatgatga 1380
 ccattctgta gtggtacatt ccattcctat ttaaggtaag cccaaagccc acttttggat 1440
 tttctcgact gtccgagaaa agttgtgtaa ggcctgcgt tcttctgggt ttggctagat 1500
 agggttgtgt cctctatgg aatggagagt gatgtgggca aggggtgtcat tttctcgcac 1560
 aatacaactc actgaggatg cttctgtaga agtgagaaac acgatgagta cattcagaat 1620
 tacaataact cactctcact ggttaacttc tcatgataga tttgtatgat caatacgggt 1680
 ctatttttat gtcaactgaa cactgtaggg taccttccag tctttttcaa gattgttaaa 1740
 ttgagacaag taattgaata atttgtccta tttttatttt aaaaaaagtg aatggactga 1800
 aatgttaaat gtgaatgtac atttcttaat tgcaactttt ctactgagtg tttgcactat 1860
 actttctgga atcttattta acaaaaataa agggaaaaaa ttgcttgact 1910

<210> 3
 <211> 1942
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> unsure
 <222> 357, 514, 515, 545, 547, (554)...(582)
 <223> a or g or c or t, unknown, or other

<220>
 <221> misc_feature
 <223> Incyte ID No.: 244771

<400> 3

```

cgtcaccgcc acttgccgca tccgcaagat ctctctggac cagctcgggt gcagggcctc 60
tgcgggaagc cctectagac ctctgcggt tctcctctaa catggccgac tcggaaaacc 120
aggggcctgc ggagcctagg ccagggcggc gcagcggcgg aggcagcggc agaggaggta 180
atggcggaag gcggtgcgca ggttggagac tgtgacagcg cggctggtga cctgacagc 240
gcggtcgttc agatggctga ggagccccag acccctgcag agaatgccc aaagccgaaa 300
aatgacttta tcgagagcct gcctaattcg gtgaaatgcc gagtctgccc ctcaaanagc 360
tgcagaagcg atgcgataag atagaagcca aatttgataa ggaatttcag gctctggaaa 420
aaaagtataa tgacatctat aagcccctac tcgccaagat ccaagagctc accggcgaga 480
tggaggggtg tgcatggacc ttggaggggg aggnngagga ggaagagaag tacgaggatg 540
acgagnggga gggnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nncagaggct gcccgggggg 600
ccaaacatga cgatgccca cccgagatgc ctgatgacgc caagaagtaa ggggggcaga 660
gatggatgaa gagaaagccc acgaaagaaa aagcctggtt ttgttttcc cagaatatcg 720
atggacttaa aaaggctcag gtttttgacc aaaatacaat gtgaatttat tctgacattc 780
ctaaaataga ttaaattaaa gcaattagat cctggccagc tcgattcaaa ttgactttc 840
attttgaa caataaat atcaaaaggt gttaaagaaa actgaattaa acccaaaatt 900
atgttttcat ggtctcttct ctgaggattg aggtttacaa aggggtgttag cagatgcaaa 960
gtaaaagacg tcactttgaa acccattcat cacacagcat acgctacaca tggaacacc 1020
aagccatgat ttgaacagtt ctcagtgtt aattcttaaa tttctttact catgacattt 1080
cggcagtgca gagaaggcag aaccaagaa aaacgtcacc tttgagactt tgcttttgta 1140
acgcagacat cagctttaca ctccacagga gattgatggc attgaggaag attgcaatgg 1200
agatcatgac actactgtta ataaggccag gaaaactgcc atttcaagtt ctgaaaaatg 1260
ttttgagtag ttgaatttag agaacaaca tggttccaag aaggaggggtg taaaacctgt 1320
aaaatactgt caacatatgt attcattagt tacaatctca tgtttgtgtt ttcttagtac 1380
tgtctattta caaacacgta aaaaataccc caaatatggt taagtattaa atcactttac 1440
ctagcgtttt agaaatatta atttacttga agagatgtag aatgtagcaa attatgtaa 1500
gcattgtgat ccagcgttat gtactttgcg ccttgtgacg tctttctgtc atgtagctt 1560
taggtgttag ctgtgaaaat catcagaact cttcactgaa gctaattgtt ggaaaaata 1620
tataactgaa gaaccaatcc aagtgtgtgc cctaccctcc agctcagaag tagaaaggg 1680
ttaagtttgc ttgtatttag tgtgccttca ttattttgct atgtaaatgt gacataatta 1740
ttataaaatg tgcataatc aaattttact gcttggagac agatgcatac agtaaggatt 1800
tttaggaaga atatatataa tgtaaagact cttagcttct gtgtgggttt tgaattatgt 1860
gtgagccagt gatctataaa gaaacataag cttaaagtgt tttatcactg tgggtgtaat 1920
aaaacagtat tttcaaaaaa ta 1942

```

```

<210> 4
<211> 1544
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No.: 5308642

```

```

<400> 4
gatttctatt actagttttt ctaagctatt tacagagtgt ttgtagcttt catttgcagc 60
attatgttcc cacaattct gtactcagca tatakagtat agtttatctg ctctatttct 120
gtcttataga aatcatgaat gtggtctgca gacattgatg aagaaaatct gttggttaatt 180
gatacatggg ctaaagcacc agaggtttaa ttggaagttt atgttcacac actgaaaact 240
tagttttttt gttggtagat ccatgtgcat gctagaattt gggacaggca ctatttgcatt 300
aaagtattaa agtcaatttt taaactaagc aaaggtaac gttgtaacgg tggggcatct 360
gtgaaaaaga tgtccctttc ataatatatg caatatattc cagatgtttt gagagattac 420
agaagaggag gcctgcttca cttgcagata agtttattat aattctccag aaatgtgcag 480
gatgtgcatt agcaaatgac actgtacttt tcactccagc ctgggtgaca gagcaagact 540
cccgctctgg ggccttaaaa aaaaaaaaaa gctgtatctc aatgaatctg tgtaattggg 600
ccagatgtg ggtttgctca gtattagtag acaaggcttt tgttcagacg attaggtgcc 660
taactggcaa atgccttagt ttcttaaaac gtattttctg atgtggcttt acatttcaaa 720
agtgaacttg attcaacctg agaaaactga ttaaaaaatt agtttaaatt tgccagcagg 780
gaagtataat aattatggga agagtgtctt aagcctaata ttaaatcagt tttgttaagg 840
ggaaaactca atagttctgt tacttaggct gttagatcca agttgatttt tgtgtctaca 900
gctaaatttt gtttacaatt aggcattttt ttaatatagg atttagaaac caagggatg 960

```

```

tgttttaaaa ttacactttt tcttaacctg tctagctgtc ggaaaaggta acagaagatg 1020
gaactcgaaa tcccaatgaa aaacctaccc agcaaagaag catagctttt agctctaata 1080
attctgtagc aaagccaata caaaaatcag ctaaagctgc cacagaagag gcatcttcaa 1140
gatcaccaaa aatagatcag aaaaaaagtc catatggact gtggatacct atctaaaaga 1200
agaaaactga tggctaagtt tgcataaaaa ctgcacttta ttgcaagtta gtgtttctag 1260
cattatccca tccctttgag ccattcaggg gtacttgtgc atttaaaaac caacacaaaa 1320
agatgtaaat acttaacact caaatattaa cattttaggt ttctcttgca gatatgagag 1380
atagcacaga tggaccaaaag gttatgcaca ggtgggagtc ttttgtatat agttgtaaat 1440
attgtcttgg ttatgtaaaa atgaaatttt ttagacacag taattgaact gtattcctgt 1500
tttgtatatt taataaattt cttgttttca aaaaaaaaaa aaaa 1544

```

```

<210> 5
<211> 893
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> unsure
<222> 367
<223> a or g or c or t, unknown, or other

```

```

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No.: 2289256

```

```

<400> 5
ataaaaaatg ggaagaaatg taaaaaggaa gaaaggaaga gaggtaatat attaaggaat 60
aaatacatgc atgcagattt aagacagagc catgctagaa caggaatgaa aggcgtgtgtg 120
aaccaagcag accgcttaat tggcaccagt gctgctggta tggccaatca cctactcaac 180
taaggaaacgg ctcaaagcat acacatggga gggaggagtg gggccacaga gagagggccc 240
attagttgca gattacgatg tatccagtta ggtgcacctg ccttcgagaa gtgtaaaaat 300
aagtatttac atagaaagaa agactgaatg gatgcacggt gaatgcatga atgattgaac 360
gacaganaag atttgcatlg accgatgagg agggcattgt agacagggat gagggtcatt 420
gatcctgggt gcagatctcc aaaaggattg ccagaaggaa ggaggagtg tggaaagaa 480
acaataggtt gggaaaaaat gaaaatagga aaaaaggaag tgaaagagat aataaataat 540
tagatcaaat aagttgatga aaggggactg gtttagcaca agccatccac attaattcaa 600
acctgtggct ctgaagtttg ttttttaaat gaccacaagt gtaagactga atgaaagaat 660
aaatgcgtgc attccatagg atgcaagaaa aggagtgagg aatgggaaaa ttggaagaac 720
gagaggggga gagatgtaag aaaagaaagg aaaagtgaag taggcatatg aaagaaaagg 780
cacttcttgg acaagcactg aaatataatg agacagtttt acccattaaa tataataaac 840
agtaaacggt gaggttcac aataaaagca cagatacctg aatagaggag tga 893

```

```

<210> 6
<211> 703
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No.: 1941247

```

```

<400> 6
agcggcgcgc cttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 60
ttttttttga gagttgaaaa caagattgac gtaacccttt attgcaaatt ctaaagtaaa 120
aagatgtaca gtacaaagta aaattgaaat ttcatactat aaacttccaa tccacttaca 180

```

```

cattctcatt tetcaagcat ttctgccatt tccgcataaa cagaacaggg aacaagtcca 240
ggagggtgagg gaaggagata cagcaagggg aaaaaattgt ctggaataat cacaaacccc 300
agaagcaagt gaaggaaag acattttctc gacctgctgt cctgggtgatg agaagcgggg 360
gtggttggag cagtgcagtt taaaatggct ctcagaatag cagcatttat ggtaccattt 420
cagcttcctt aagtccaata atactttgcc cttccctagc gcctttgcct ctgtatctca 480
aaacgcttta caaacattt agttaaagcc tcacaacacc cctgtgaggt aggtcagtat 540
tattatcccc attttacaga tggggaaact gaggcacaga gaggttaagt gacttgccca 600
aggccacaca gcgagccagc ggtcaagcta ggggacagac acagttotgg tcccttttct 660
ggaaccactg gaccacactc ccccttaacc tatatacatt ctt 703

```

```

<210> 7
<211> 829
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No.: 3864594

```

```

<400> 7
ccaggcacct gacgcctctt tcccctcaag gtgccagggc cgggcccgaac tacatttccc 60
aggaggctcc ggggcccagg gcaaacagcg ccgtgctgac tacatttccc agacagcctt 120
gcggcggccc gggccttaaa ggtccattt ccagcggccc ctccgctgcg agaccgcagc 180
cctctctctg agtctcagag ccgcaagaca ccacgactcc cagaggacct tggctcgggc 240
aagaaagact acaccttcca gaggcctctg cggcgcgcgc acaggaagcg gcggcgcagc 300
cgagtgtcct tgcgcgtgga tccgagcgcac catgggtggcc cgggtgtggt cgctgatgag 360
gttccctcatc aagggaagtg tggctggggg cgcctgttac ctggtgtacg accaggagct 420
gctggggccc agcacaaga gccaggcagc cctacagaag gctggggagg tgggtccccc 480
cgccatgtac cagttcagcc agtacgtgtg tcagcagaca gccctgcaga taccocagct 540
cccagccctt ccaaagattt actttcccat ccgtgactcc tggaatgcag gcatcatgac 600
ggtgatgtca gctctgtcgg tggccccctc caaggcccgc gagtactcca aggaggctg 660
ggagtatgtg aaggcgcgca ccaagtagcg agtcagcagg ggccgcctgc cccggccaga 720
acgggcaggg ctgccactga cctgaagact ccggactggg accccactcc gagggcagct 780
cccgcccttg ccggcccatt aaaggacttc agaagtgtaa aaaaaaaaa 829

```

```

<210> 8
<211> 118
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No.: 3864594

```

```

<400> 8
Met Val Ala Arg Val Trp Ser Leu Met Arg Phe Leu Ile Lys Gly
 1 5 10 15
Ser Val Ala Gly Gly Ala Val Tyr Leu Val Tyr Asp Gln Glu Leu
 20 25 30
Leu Gly Pro Ser Asp Lys Ser Gln Ala Ala Leu Gln Lys Ala Gly
 35 40 45
Glu Val Val Pro Pro Ala Met Tyr Gln Phe Ser Gln Tyr Val Cys
 50 55 60
Gln Gln Thr Gly Leu Gln Ile Pro Gln Leu Pro Ala Pro Pro Lys
 65 70 75
Ile Tyr Phe Pro Ile Arg Asp Ser Trp Asn Ala Gly Ile Met Thr
 80 85 90
Val Met Ser Ala Leu Ser Val Ala Pro Ser Lys Ala Arg Glu Tyr

```

95 100 105
 Ser Lys Glu Gly Trp Glu Tyr Val Lys Ala Arg Thr Lys
 110 115

<210> 9
 <211> 1045
 <212> DNA
 <213> Rattus norvegicus

<220>
 <221> unsure
 <222> (871)...(899)
 <223> a or g or c or t, unknown, or other

<220>
 <221> misc_feature
 <223> Incyte ID No.: 700122146

<400> 9
 aataaaaataa aaaataaaaa tcactatata cacacatata aaagaaaaaa gtgtcagttg 60
 cagctacttg tcgaaattaa tacctgtttc tttttatcta tggtaaatat cgtgcaatta 120
 tagatctgga ttttgaacca ctccctgaaa gcagcaccag agtactcgaa ggtgcttggtg 180
 ttctctgctg atttggetgt ttccaatggt tacattattt aatcttgcaa aaatgatcct 240
 gtgcacttgg atgtgacatg ctgtctagtc cggtttcato tttttttta atgttgttta 300
 tttttggatg tacaaaagaa aaattggggg gaggggggtga tctctgtaga tactcttgta 360
 ctttgaagtt accggaatg gaacgggtct taagcagaaa agtaactttt ccaaggaaca 420
 gatgcttgcg aaggccccct tecttgtctt attctecaga gacaactgaa atttagcttc 480
 tttgttgacg caaagetett tgcccagggtg aacactgacc accgegggtt ttctatgtca 540
 gaaagaagaa gaaaacaaaa acatgctcga gctttttcta acctccccct gggggtctgt 600
 tgtgcaacc cctctttctt caatatcgtg tcactttatt ctctttaatg gactgtaaca 660
 aacaacaaca acaatgtaat cacgagagtg ccaaatatct tgaaacgcca aaaggcattt 720
 tggtttcctt ttctcccctg tgctctgagt ctctgtaact gaacgcttgg agtgtctttt 780
 ctgttattta taggggttct cttaaggtct tcccagctg cctgttttgc atggtatttg 840
 caaaaaaaaa aatgcctctt gcgtgaggaa nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnng 900
 caactttgga cctcaagagg tcccaccctc agtcccagtt cctttctttc ttaattcttt 960
 attctgtatg ctgcacctg aaccagcaca cagggtctatt tctccaatgt acaataaaga 1020
 acttccatgt gtctcctttc aaaaa 1045

<210> 10
 <211> 1238
 <212> DNA
 <213> Rattus norvegicus

<220>
 <221> unsure
 <222> (786)...(810)
 <223> a or g or c or t, unknown, or other

<220>
 <221> misc_feature
 <223> Incyte ID No.: 700244771

<400> 10
 cccaaacctt tccagccact tgctgagaat cagcatttct acagagatgc gctctgagac 60
 tgactccaga aatctcttag acttcataag catgtaggat ggctgcaag aacatttgca 120
 ggccactaga tctgcctggg gaggggggtg tgteccccctg ctccattaca ctgcaatggg 180
 aagtgggect gacagcagcc agaacttggt tetcacctcc caccagcaac ctccactcag 240
 tccc aaacc caggcacatg aagcacaagt ctgaggggac cgttcccatg ctgtggggag 300
 cccaaggaag cccccagcat ctcttgcata caccactggc agtgtgggca caactggcca 360

```

ccaggagcac acatgtctgg ggaggagggg cctgctctgt tgccttcacc cctgttaaaa 420
ttgagtatat gcaagccatt tgcactatgg aattgcatgc catgaaatc ctaattgtgt 480
gcacottagt ttgaatttga cactatgtag catgcacaaa agaattggaag ggcttgggct 540
tgtccccaag tcacctctcc tgcctattgg gagcacaacg tcaccctcag ccaatcccag 600
gttttgggga gctgggtggtg ctccagcact taactgtcca gtgtctccct cccccaccat 660
gctcccactt cagctgaatg etcaccagtt tccacaaaacg gaaatgtcgt tatgggtcact 720
gtcttggcag taattctatc tggattttaa gtaagcccaa agccctcttc tggagtctt 780
tacttnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn ggcattgtaac cacctgtgtc ctgtgtttat 840
ccaagaaagc tttgagtccc ttagcgggtg caccgacaaa ggggggcact ttatcccaca 900
tgataaactt accagatgtg tccgtagcta tgagaactca atgatcatat tcacaataac 960
tcaatatcac tgggtaacct ctcacaatag atttgtataa ccaatcggg tctattttta 1020
tgtcaactct gtggagcgcc ttccagtctt tttcaagggt gttaaaatcg agacgagtaa 1080
ttgaataatt tgcctatctt ttatttataa agtgaatgga ctgaaatggt aatgtggaatg 1140
tacatttctt aactgcaact tttctactga gtgtttgcac tatactctct ggggtcttat 1200
ttaacaaaaa taaaggagaa aaattgcttg actaaaaa 1238

```

<210> 11

<211> 1141

<212> DNA

<213> *Rattus norvegicus*

<220>

<221> unsure

<222> 2, 13, 35, 38, 39, 41, 42, 43, 47, 1069, 1073, 1074

<221> unsure

<222> (1076)...(1080), 1082, 1083, 1086, 1087, 1089, 1095

<221> unsure

<222> 1097, 1098, 1100, 1103, 1106, 1110, 1114, 1115, 1122

<221> unsure

<222> 1126, 1128, 1130, 1131, 1133, 1140

<223> a o r g o r c o r t, unknown, or other

<220>

<221> misc_feature

<223> Incyte ID No.: 700244870

<400> 11

```

gnttgggttt ttntaacggc ctaattaaac gtatnggnng nnntggnggg cttctgtgag 60
aaccagactt gagactgatg aaaggttgtc agtttagatgg gaattaaagt gcgtcacacg 120
ttgaaatcca ttcatacacac tacaccttaa caccoaagct aagacagaac tcttctcaat 180
gcttaattct tcagtttctt tacatttccc agcgcagagg aagaggaacc caagaacgac 240
gtcatcttta agacttttgc ttttgcaaac ccagacatca gctttacact ccagaggaga 300
caaggcatgg aggaaggctg gactgacagc atttactggt tatgtggcta gaaaaactgc 360
catttcaagt tgtgaaaaat gttttgaata tttgaattta cagaaagaac acggttccaa 420
aaataagggg gtattccatg tataaatattg tcaacacgtg ttcactctgta atgggtctcat 480
gttatctggt ttcttggtag tgtttgttta caaaatcgtta aaaattaccc caaatgtttt 540
aagtattaaa ttcccttata gcattttaga aatataattt acttgaagag atgtagaatg 600
tagcaattct gtaaagccat gtgtatccag tgttgcctag tttgacttgt gaagtctttt 660
gtctgtagct ttagcaagta gcgtgaaaac catcagaact cctcaatgaa gctaattgtt 720
ggaaaaaagt atatacttga agaaccaacc caagtgtgta tccccaaccc cagctcagaa 780
ataggaagga ttttaagttg cttgtattag ctgtgccttc attatthtgc tatgtaaatg 840
tgacttatta aatgggtgcat aatcaaattt tattgcttga ggacaaaaat ggcataaagg 900
gaagactttt gggaaaagac atttaagtga aagcctttag cttctttgtg ggttttgaac 960
tatctgtgaa tcaatgttct gtaaagaaac acaaacgtaa agttgtttac cactgtgggtg 1020
ttaacaaaac agtattttca aaaataaaaa aaacttgtaa ttctgaaana aannannnnn 1080
tnnaannana tttgngnntn atnganaaan ttanngagag anggtntntn ngnggggctn 1140
g 1141

```

<210> 12

<211> 1573
 <212> DNA
 <213> Rattus norvegicus

<220>
 <221> misc_feature
 <223> Incyte ID No.: 700025020

<400> 12
 gtacaccatt atgttcccaa aagtctgtgc tcagcataca gtatagtta tctgctttat 60
 ttctgtctta tagaaatcat gaatgtggtc tccagacaat gatgaagaaa atctgttgg 120
 aatggatcat gggttcaagt gtcagaatth acgtttacag aataaagctt agtctttgtt 180
 gaaggttagtc catgtgcatg cttagagtttt gggctagggg ctatgtgtgt aaggcagttt 240
 gacagctcag cctagaagca ctgtcatggg ggggcatcgg tgaattagac atccctcaca 300
 taatatatgc aatatattcc agatgttttg agagattaca gaagaagagg cctggcctca 360
 cttgcagata agtttattac aattctccag aactacagag gatgtgcact ggcacctcgc 420
 atgttattta taggttaatt tttcatgtgt gaaacottga tcttaagatt ttgggctggg 480
 atgtaactca gttttagag agcctgtcga ggggtcagta aactggtggg ttagttccca 540
 gcactgataa ctgggtttag taccaccatac ctgtgatccc cagcagttgg gagactgtcc 600
 ttggcagatc aggggataga tacaagagat gtggtctcag aaaaccactt tatagaaatg 660
 taaggttaaa aagataacag aataatggag atagtttgtc tgttgcagag atctcagggg 720
 ctgtatagtg ttgctcagg caagtgccca agaggggccc cttgatgaat gaattacaaa 780
 tgcttcagtt ctttgacaaa cattttttat tgtacttact cagaatgagt tgtatctaca 840
 acaggaaatc ggtattcatg gggaaactgt tctcctaagt caatcttctt aagtggaaaa 900
 cagattttgt gattagtgc ttaactgtga caatagggtg aatttggtag gtgtatctac 960
 agctacattt gtgtacactt gggcttttta tacagtattc aaaaaactaa ggctgtgttc 1020
 aaaattctct tctctcttag cattcagaaa agcagactga agtgggaact aaaaatgcca 1080
 gtgagaaatc tgctgtgca cagagaaaca tagcgttcag ctctaataat tctgtagcaa 1140
 agcctctaga gaaaacaacg aaagctgctg ttgaagagac gtcctcagga tcaccaaaaa 1200
 tagataagaa aaaaagtctt tatggactgt ggatacctgt ctaaaggaaa actaaggggt 1260
 tgcttaaaac tgcactttac tgaggggttc gtgtccagca tcagctcacc tgcctgagta 1320
 atctcagcag taaatgtgat tgaaatccat tacagaaaga ggcttaatgg tgccgtgttc 1380
 atgggtgagg tttctcttga agatgtgagg atacagatga cccagagaat tgcatacagg 1440
 tggggatctt gtacatacct gtaagtattg tatagtatcg cttatataca aagggtgaatt 1500
 tttataaaga cacagttgca aactgtattt tgtatatttg ttaataaact ttttgtcttg 1560
 atttttatgg aac 1573

<210> 13
 <211> 438
 <212> DNA
 <213> Rattus norvegicus

<220>
 <221> misc_feature
 <223> Incyte ID No.: 700251541

<400> 13
 gaccaagaga cctttcaggc ttcaagatat cagggagggc ttcaatgggg cagtggaggg 60
 gaggccatt aatagcagat tatgatgtct ccaattagat gcacctgcc tctggaagtg 120
 tggagaccag tattgaaatg gaaagaaaga ctgaaatggaa gcccccgag agtagaatga 180
 gagagtagaa tgaatggatg agaaaaaaga tttgcattca ctctgggggg aggggtgctg 240
 ggagccccag ggtcacctga tctcccgga atgaaagggc gggcgagggg gtgatagaaa 300
 gtgacaataa ggtgggggag agatgaaaag gggcgcagaa gataataagt gagacaatta 360
 agtctaggag aggggcttgt ttaacacaac tcattccat attaattcaaaa ttgagggccc 420
 agggatgggc cggagctg 438

<210> 14
 <211> 313
 <212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<220>

<221> misc_feature

<223> Incyte ID No.: 700280514

<400> 14

```
tactgaccta cctcacaggg gtgtttgtgag gctttaacta gatgttttgt aaagcgttct 60
gagatacaga gacaaaggcg ccaggggaagg gcaaagcatt ctttgactt gaggaagagg 120
aactagtacc ataaacgctg ctattctgag agccatttta aactgcaactg ctccaccccc 180
cgcttctcat caccaggaca gcaggtcgag aaatgtttt ccttgcaactt gcttctgggg 240
tttgtgattc ttctaatttt ccccttgcct gtatctccct ccttaacccc tccactcgtt 300
ccctgttctg ttt 313
```

<210> 15

<211> 804

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<220>

<221> misc_feature

<223> Incyte ID No.: 700024124

<400> 15

```
ctcagggact caattctcgg cgcgggcgcg gggggaatct taccaggget cttgtotgtc 60
gttctctcag actacacttc ccagaagcct tcgcggecca gacctccttt ggtcttctgc 120
ctaatacatt tcccagaagg aattgcggca gctacggacc ccgatgtacg gagtctaagg 180
ctattgcccg tcccggagtc cattgcggct gacagtgacc actacatttc ccaagagttt 240
cagcagcgcac accatccgga agcggtgggc gaattgcgtg tcttgcgcg gcgagtgaag 300
tgagagaccg accatggtgg ctcgagtgtg gtcgctaatag aggttcctca tcaaggggaag 360
tgtggctgga ggagcagtct acctgttcta tgaccaggag ctgctggggc ctagtgacaa 420
gagcgaggtc gtcttggcgg aaggccgagg aagttgtgcc accagcaatg taccagttca 480
gccaatatgt gtgccagcag acgggtctgg agatgtcaca gctccagcc cctccaaaga 540
ttaactttcc gaacttccgt gattcctgga actcaggcat catctcggtc atggcagcct 600
tgtccgtggc cccctccaag gctcgagaat actccagggg gggctggggag tatgtcaaag 660
aacacaccaa gtaatggatg ccaccttgc cccagcatt atggggagtca agaccaagat 720
gccacagaca tcccagcggg gacctcactc tttgcaaagc ttccagcatt gctggcccaa 780
taaaggacat gggatggtca aaaa 804
```

【図面の簡単な説明】

【図1A】

核酸配列SEQ ID NO:7及びそれをコードしたアミノ酸配列SEQ ID NO:8を示す。
このアライメントは、MACDNASIS PROソフトウェア (Hitachi Software Engineering, South San Francisco CA) を用いて作成した。

【図1B】

核酸配列SEQ ID NO:7及びそれをコードしたアミノ酸配列SEQ ID NO:8を示す。
このアライメントは、MACDNASIS PROソフトウェア (Hitachi Software Engineering, South San Francisco CA) を用いて作成した。

【図1C】

核酸配列SEQ ID NO:7及びそれをコードしたアミノ酸配列SEQ ID NO:8を示す。
このアライメントは、MACDNASIS PROソフトウェア (Hitachi Software Engineering, South San Francisco CA) を用いて作成した。

【图 1 A】

5' CCAG GCA CCT GAC GCC TCT TTC CCC TCA CGG TGC CAG GGC CGG GAA CTA CAT 55
 10 19 28 37 46

TTC CCA GGA GGC TCC GCG GCC AGG TGC AAA CAG CGC CGT GCT GAC TAC ATT TCC 109
 64 73 82 91 100

CAG ACA GCC TTG CGG CGG CCC GGG CCT TAA AGC GTC CAT TTC CCA GCG GCC CTC 163
 118 127 136 145 154

CGC TGC GAG ACC GCA GCC CTT CTC TGG AGT CTC AGA GCC GCA AGA CAC CAC GAC 217
 172 181 190 199 208

TCC CAG AGG ACC TTG CGT CGG GCA AGA AAG ACT ACA CCT TCC AGA GGC CTC TGC 271
 226 235 244 253 262

GGC GCC GCG ACA GGA AGC GGC GGC CGA GCC GAG TGT CCT TGC GCG TGG ATC CGA 325
 280 289 298 307 316

【圖 1 C】

604	ATG	ACG	GTG	ATG	TCA	GCT	CTG	TCG	GTG	GCC	CCC	TCC	AAG	GCC	CGC	GAG	TAC	TCC	649
	M	T	V	M	S	A	L	S	V	A	P	S	K	A	R	E	Y	S	
613	604	613	622	631	640	649													
658	AAG	GAG	GCC	TGG	GAG	TAT	GTG	AAG	GCG	CGC	ACC	AAG	TAG	CGA	GTC	AGC	AGG	GGC	703
	K	E	G	W	E	Y	V	K	A	R	T	K							
667	658	667	676	685	694	703													
712	CGC	CTG	CCC	CGG	CCA	GAA	CGG	GCA	GGG	CTG	CCA	CTG	ACC	TGA	AGA	CTC	CGG	ACT	757
721	712	721	730	739	748	757													
766	GGG	ACC	CCA	CTC	CGA	GGG	CAG	CTC	CCG	GCC	TTC	CCG	GCC	CAA	TAA	AGG	ACT	TCA	811
775	766	775	784	793	802	811													
820	GAA	GTG	TAA	AAA	AAA	AAA	3'												

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PC/US 00/13046

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 C12N15/12 C07K14/47		
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, WPI Data, PAJ, BIOSIS, CHEM ABS Data, EMBASE		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category ¹	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 99 06423 A (ENDRESS GREGORY A ; HUMAN GENOME SCIENCES INC (US); FENG PING (US);) 11 February 1999 (1999-02-11) *SEQ ID NO:25*	2,3,5-8
X	WO 96 12810 A (UNIV EDINBURGH ; LATHE RICHARD (GB); ROSE KENNETH ANDREW (GB); STAP) 2 May 1996 (1996-05-02) abstract	1
X	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 2000, no. 02, 29 February 2000 (2000-02-29) & JP 11 318461 A (SHIOSAKA SADA0; IGAKU SEIBUTSUGAKU KENKYUSHO:KK), 24 November 1999 (1999-11-24) abstract	1
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C.		<input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.
¹ 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. "&" document member of the same patent family
Date of the actual completion of the international search 20 November 2000		Date of mailing of the international search report 19. 02. 01
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.O. Box 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo.nl Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Mata-Vicente, M

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 International application No.
 PCT/US 00/13046
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:

2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:

3. 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:

see additional sheet

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.

2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.

3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Claim 1 completely, Claims 2, 3, 5-10, 13-15, 17 partially.

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

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. Claims: 1 - completely; (2, 3, 5-10, 13-15, 17) - partially

Polynucleotide consisting of SEQ ID NO:1 and derivatives thereof; vector comprising said polynucleotide, host cell transformed with that vector and method for producing a protein involving the culture of said host cell; methods for screening of modulators of the above-mentioned polynucleotide; and methods of diagnosis and treatment involving the same.

2. Claims: (2, 3, 5-10, 13-15, 17) - partially

Idem as in subject 1, but related to SEQ ID NO:2.

3. Claims: (2, 3, 5-10, 13-15, 17) - partially

Idem as in subject 1, but related to SEQ ID NO:3.

4. Claims: (2, 3, 5-10, 13-15, 17) - partially

Idem as in subject 1, but related to SEQ ID NO:4.

5. Claims: (2, 3, 5-10, 13-15, 17) - partially

Idem as in subject 1, but related to SEQ ID NO:5.

6. Claims: (2, 3, 5-10, 13-15, 17) - partially

Idem as in subject 1, but related to SEQ ID NO:6.

7. Claims: (4, 11, 12, 16, 18) - completely; (2, 3, 5-10, 13-15, 17) - partially

Polynucleotide consisting of SEQ ID NO:7 and polypeptide of SEQ ID NO:8, and derivatives thereof; vector comprising said polynucleotide, host cell transformed with that vector and method for producing a protein involving the culture of said host cell; methods for screening of modulators of the polynucleotide and the polypeptide mentioned above; and methods of diagnosis and treatment involving the same.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No.

PCT/US 00/13046

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9906423 A	11-02-1999	AU 8763498 A EP 1003763 A	22-02-1999 31-05-2000
WO 9612810 A	02-05-1996	AU 711903 B AU 3670395 A CA 2203105 A EP 0795017 A JP 10512739 T NZ 294019 A US 5976850 A	21-10-1999 15-05-1996 02-05-1996 17-09-1997 08-12-1998 28-05-1999 02-11-1999
JP 11318461 A	24-11-1999	NONE	

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	45/00	A 6 1 P 25/08	4 C 0 8 4
	48/00		4 C 0 8 5
A 6 1 P	25/08		4 C 0 8 6
	25/18	C 0 7 K 14/47	4 H 0 4 5
	25/28	C 1 2 N 1/15	
C 0 7 K	14/47		
C 1 2 N	1/15		
	1/19		
	1/21	C 1 2 P 21/02	C
	5/10	C 1 2 Q 1/68	A
C 1 2 P	21/02	G 0 1 N 33/15	Z
C 1 2 Q	1/68		Z
G 0 1 N	33/15		D
	33/50		M
	33/53		
	33/566		
		C 1 2 N 15/00	Z N A A
			A
		A 6 1 K 37/02	

(81)指定国 E P (A T , B E , C H , C Y ,
 D E , D K , E S , F I , F R , G B , G R , I E , I
 T , L U , M C , N L , P T , S E) , O A (B F , B J
 , C F , C G , C I , C M , G A , G N , G W , M L ,
 M R , N E , S N , T D , T G) , A P (G H , G M , K
 E , L S , M W , S D , S L , S Z , T Z , U G , Z W
) , E A (A M , A Z , B Y , K G , K Z , M D , R U ,
 T J , T M) , A E , A L , A M , A T , A U , A Z ,
 B A , B B , B G , B R , B Y , C A , C H , C N , C
 U , C Z , D E , D K , E E , E S , F I , G B , G D
 , G E , G H , G M , H R , H U , I D , I L , I N ,
 I S , J P , K E , K G , K P , K R , K Z , L C , L
 K , L R , L S , L T , L U , L V , M D , M G , M K
 , M N , M W , M X , N O , N Z , P L , P T , R O ,
 R U , S D , S E , S G , S I , S K , S L , T J , T
 M , T R , T T , U A , U G , U S , U Z , V N , Y U
 , Z A , Z W

(72)発明者 ユエ、ヘンリー
 アメリカ合衆国カリフォルニア州94087・
 サニーベイル・ルイスアベニュー 826

(72)発明者 タング、ワイ・トム
 アメリカ合衆国カリフォルニア州95118・
 サンノゼ・ランウィックコート 4230

(72)発明者 ボーグン、マライア・アール
 アメリカ合衆国カリフォルニア州94577・
 サンレアンドロ・サンティアゴロード
 14244

(72)発明者 アジムザイ、ヤルダ
アメリカ合衆国カリフォルニア州94545・
ハイワード・ロックスプリングスドライブ
2045

F ターム(参考) 2G045 AA25 AA40 DA12 DA13 DA14
DA36 FB02 FB03
4B024 AA01 AA11 CA04 CA09 GA11
HA12 HA17
4B063 QA18 QA19 QQ02 QQ43 QR56
QS34
4B064 AG01 CA19 CC24 DA01 DA13
4B065 AB01 BA02 CA24 CA44 CA46
4C084 AA02 AA06 AA07 AA13 AA17
BA01 BA08 BA22 BA23 MA01
NA14 ZA032 ZA062 ZA152
ZA162 ZA182
4C085 AA13 AA14 CC32 EE01 GG01
4C086 AA01 AA02 AA03 AA04 EA16
MA01 MA04 NA14 ZA02 ZA06
ZA15 ZA16 ZA18
4H045 AA10 AA20 AA30 BA09 CA40
EA28 EA50 FA74

专利名称(译)	分子在海马中表达		
公开(公告)号	JP2002543833A	公开(公告)日	2002-12-24
申请号	JP2000618442	申请日	2000-05-10
[标]申请(专利权)人(译)	洞察Genomics公司		
申请(专利权)人(译)	洞察基因组公司		
[标]发明人	カイザーマシューアール ラルプリーティ ユエヘンリー タングワイトム ボーグンマライアアール アジムザイヤルダ		
发明人	カイザー、マシュー・アール ラル、プリーティ ユエ、ヘンリー タング、ワイ・トム ボーグン、マライア・アール アジムザイ、ヤルダ		
IPC分类号	G01N33/50 A61K31/711 A61K38/00 A61K39/395 A61K45/00 A61K48/00 A61P25/08 A61P25/18 A61P25/28 C07K14/47 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C12N15/09 C12P21/02 C12Q1/68 G01N33/15 G01N33/53 G01N33/566		
CPC分类号	A61K38/00 A61K48/00 A61P25/08 A61P25/18 A61P25/28 C07K14/47 Y10S435/803 Y10S436/808 Y10S436/811 Y10T436/143333		
FI分类号	A61K31/711 A61K39/395.D A61K39/395.N A61K45/00 A61K48/00 A61P25/08 A61P25/18 A61P25/28 C07K14/47 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12P21/02.C C12Q1/68.A G01N33/15.Z G01N33/50.Z G01N33/53.D G01N33/53.M G01N33/566 C12N15/00.ZNA.A C12N5/00.A A61K37/02		
F-TERM分类号	2G045/AA25 2G045/AA40 2G045/DA12 2G045/DA13 2G045/DA14 2G045/DA36 2G045/FB02 2G045 /FB03 4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/CA04 4B024/CA09 4B024/GA11 4B024/HA12 4B024/HA17 4B063/QA18 4B063/QA19 4B063/QQ02 4B063/QQ43 4B063/QR56 4B063/QS34 4B064/AG01 4B064 /CA19 4B064/CC24 4B064/DA01 4B064/DA13 4B065/AB01 4B065/BA02 4B065/CA24 4B065/CA44 4B065/CA46 4C084/AA02 4C084/AA06 4C084/AA07 4C084/AA13 4C084/AA17 4C084/BA01 4C084 /BA08 4C084/BA22 4C084/BA23 4C084/MA01 4C084/NA14 4C084/ZA032 4C084/ZA062 4C084 /ZA152 4C084/ZA162 4C084/ZA182 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/CC32 4C085/EE01 4C085 /GG01 4C086/AA01 4C086/AA02 4C086/AA03 4C086/AA04 4C086/EA16 4C086/MA01 4C086/MA04 4C086/NA14 4C086/ZA02 4C086/ZA06 4C086/ZA15 4C086/ZA16 4C086/ZA18 4H045/AA10 4H045 /AA20 4H045/AA30 4H045/BA09 4H045/CA40 4H045/EA28 4H045/EA50 4H045/FA74		
优先权	09/313300 1999-05-17 US		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明提供了发育受到调节的新型海马基因和由这些基因编码的多肽。本发明还提供表达载体和宿主细胞，抗体。此外，本发明提供了用于诊断，治疗或预防海马相关疾病的方法。

ワークシートID No.	シート名	シート種別	属性	ワークシート	
70022146	1	23840	1176-100	49.7%	権限(53), 所属(10)
70024671	2	19083	719-029	45.2%	権限(67)
70024680	3	24471	1223-133	61.7%	権限(51), 権限(54)
70025020	4	520642	711-027	39.2%	組織権(22), 権限(18), 権限(13)
70025541	5	220256	230-340	46.1%	権限(50), 所属(10)
70026014	6	194247	304-094	76.4%	権限(10)
70026124	7	306454	636-66	51.0%	権限(57), 権限(54), 組織権(13)