

(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2003 - 510027

(P2003 - 510027A)

(43)公表日 平成15年3月18日(2003.3.18)

(51) Int. Cl. ⁷	識別記号	F I	テ-マコード* (参考)
C 1 2 N 15/09	ZNA	C 0 7 K 14/705	2 G 0 4 5
C 0 7 K 14/705		16/28	4 B 0 2 4
16/28		19/00	4 B 0 6 3
19/00		C 1 2 N 1/15	4 B 0 6 4
C 1 2 N 1/15		1/19	4 B 0 6 5
審査請求 未請求 予備審査請求 (全 50数) 最終頁に続く			

(21)出願番号	特願2001 - 517571(P2001 - 517571)	(71)出願人	メルク パテント ゲゼルシャフト ミッ ト ベシュレンクテル ハフトング MERCK PATENT GESEL LSCHAFT MIT BESCHR AENKTER HAFTUNG ドイツ連邦共和国 デー - 64293 ダルムシ ュタット フランクフルター シュトラー セ 250
(86)(22)出願日	平成12年8月2日(2000.8.2)	(72)発明者	デュッケル、 クラウス ドイツ連邦共和国 64291 ダルムシュタッ ト エッテスターシュトラーセ 5
(85)翻訳文提出日	平成14年2月18日(2002.2.18)	(74)代理人	弁理士 金田 暢之 (外 2 名)
(86)国際出願番号	PCT/EP00/07454		
(87)国際公開番号	W001/012673		
(87)国際公開日	平成13年2月22日(2001.2.22)		
(31)優先権主張番号	99116093.8		
(32)優先日	平成11年8月17日(1999.8.17)		
(33)優先権主張国	欧州特許庁(EP)		
			最終頁に続く

(54)【発明の名称】 P G P C R - 3 ポリペプチドおよびそのDNA配列

(57)【要約】

P G P C R - 3 ポリペプチドおよびそのポリヌクレオチ
ドならびにそのようなポリペプチドを組換え技術によっ
て製造するための方法が開示される。 P G P C R - 3 ポ
リペプチドおよびそのポリヌクレオチドを診断アッセイ
において用いるための方法もまた開示される。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 (a) SEQ ID NO: 1の配列を含むポリヌクレオチドによってコードされる単離されたポリペプチド、

(b) SEQ ID NO: 2のポリペプチド配列に対して少なくとも95%の同一性を有するポリペプチド配列を含む単離されたポリペプチド、

(c) SEQ ID NO: 2のポリペプチド配列に対して少なくとも95%の同一性を有する単離されたポリペプチド、

(d) SEQ ID NO: 2のポリペプチド配列、および

(e) (a) ~ (d) のポリペプチドの断片および変異体からなる群の1つから選択される単離されたポリペプチド。

【請求項2】 SEQ ID NO: 2のポリペプチド配列を含む、請求項1に記載の単離されたポリペプチド。

【請求項3】 SEQ ID NO: 2のポリペプチド配列である、請求項1に記載の単離されたポリペプチド。

【請求項4】 (a) SEQ ID NO: 1のポリヌクレオチド配列に対して少なくとも95%の同一性を有するポリヌクレオチド配列を含む単離されたポリヌクレオチド、

(b) SEQ ID NO: 1のポリヌクレオチドに対して少なくとも95%の同一性を有する単離されたポリヌクレオチド、

(c) SEQ ID NO: 2のポリペプチド配列に対して少なくとも95%の同一性を有す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を含む単離されたポリヌクレオチド、

(d) SEQ ID NO: 2のポリペプチド配列に対して少なくとも95%の同一性を有す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を有する単離されたポリヌクレオチド、

(e) SEQ ID NO: 1の配列または少なくとも15個のヌクレオチドを有するその断片を有する標識されたプローブを用いてストリンジェントなハイブリダイゼーション条件のもとでライブラリーをスクリーニングすることによって得られる少なくとも100ヌクレオチドのヌクレオチド配列を有する単離され

たポリヌクレオチド、および

(f)(a)～(e)のポリヌクレオチドのRNA等価体であるポリヌクレオチド

からなる群の1つから選択される単離されたポリヌクレオチド、あるいは前記単離されたポリヌクレオチドに対して相補的なポリヌクレオチド配列、ならびに上記のポリヌクレオチドの変異体および断片であるポリヌクレオチド、または上記のポリヌクレオチドに対してその全長にわたって相補的なポリヌクレオチド。

【請求項5】 (a)SEQ ID NO:1のポリヌクレオチドを含む単離されたポリヌクレオチド、

(b)SEQ ID NO:1の単離されたポリヌクレオチド、

(c)SEQ ID NO:2のポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列を含む単離されたポリヌクレオチド、および

(d)SEQ ID NO:2のポリペプチドをコードする単離されたポリヌクレオチド

からなる群から選択される、請求項4に記載の単離されたポリヌクレオチド。

【請求項6】 前記発現ベクターが適合性宿主細胞に存在するときに請求項1に記載のポリペプチドを産生し得るポリヌクレオチドを含む発現システム。

【請求項7】 請求項6に記載の発現ベクターを含む組換え宿主細胞、または請求項1に記載のポリペプチドを発現するその膜。

【請求項8】 請求項1に記載のポリペプチドを製造する方法であって、請求項7に記載の宿主細胞を前記ポリペプチドの産生に十分な条件のもとで培養し、前記ポリペプチドを培養培地から回収するステップを含む方法。

【請求項9】 免疫グロブリンのFc領域と請求項1に記載のいずれか1つのポリペプチドとからなる融合タンパク質。

【請求項10】 請求項1から3のいずれか一項に記載されるポリペプチドに対して免疫特異的な抗体。

【請求項11】 請求項1に記載のポリペプチドの機能またはレベルを刺激または阻害する化合物を同定するためのスクリーニング方法であって、

(a)前記ポリペプチド(または前記ポリペプチドを発現する細胞もしくは膜

）またはその融合タンパク質に対する候補化合物の結合を、前記候補化合物に直接的または間接的に結合している標識によって定量的または定性的に測定または検出すること、

（b）前記ポリペプチド（または前記ポリペプチドを発現する細胞もしくは膜）またはその融合タンパク質に対する候補化合物の結合の競合を、標識された競合剤の存在下で測定すること、

（c）前記ポリペプチドの活性化または阻害により発生するシグナルを前記候補化合物が生じさせるかどうかを、前記ポリペプチドを発現する細胞または細胞膜に適した検出システムを使用して試験すること、

（d）候補化合物を、請求項1に記載のポリペプチドを含有する溶液と混合して混合物を作製し、混合物中の前記ポリペプチドの活性を測定し、その後、候補化合物を含有しないコントロール混合物に対して混合物の活性を比較すること、または

（e）前記ポリペプチドをコードするmRNAまたは前記ポリペプチドの細胞における産生に対する候補化合物の作用を、例えばELISAアッセイを使用して検出すること、および

（f）生物学または化学の標準的な技術に従って前記化合物を製造することからなる群から選択される方法を含む方法。

【発明の詳細な説明】**【0001】****(発明の分野)**

本発明は、新しく同定されたポリペプチド、およびそのようなポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、診断におけるそれらの使用、および治療において潜在的に有用なアゴニスト、アンタゴニストであり得る化合物を同定する際におけるそれらの使用、ならびにそのようなポリペプチドおよびポリヌクレオチドの製造に関する。このポリペプチドは、以降、PGPCR-3と呼ぶことがある。PGPCR-3は、Gタンパク質が結合した受容体のクラスに属する。

【0002】**(発明の背景)**

薬物発見プロセスは、現在、「機能的ゲノミクス」（すなわち、ゲノムまたは遺伝子に基づく高処理能生物学）を採用する中で根本的な変革にさらされている。遺伝子および遺伝子産物を治療標的として同定する手段としてのこの手法は、「ポジショナルクローニング」に基づくより初期の手法に迅速に取って代わりつつある。表現型、すなわち、生物学的機能または遺伝子疾患が同定され、その後、その原因遺伝子とその遺伝地図の位置に基づいて突き止められる。

【0003】

機能的ゲノミクスは、高処理能のDNA配列決定技術に、またそして今や利用可能な多くの分子生物学データベースから潜在的に注目される遺伝子配列を同定するためのバイオインフォマティクスの様々なツールを重用する。さらなる遺伝子およびその関連するポリペプチド/タンパク質を薬物発見の標的として同定し特徴付けることが引き続き求められている。

【0004】

多くの医学的に重要な生物学的プロセスが、Gタンパク質および/または二次メッセンジャー（例えば、cAMP）が係わるシグナル伝達経路に関与する様々なタンパク質によって媒介されているという理論が十分に確立されている（Leffkowitz、Nature、1991、351：353～354）。本明細書中では、これらのタンパク質は、Gタンパク質とともに経路に関与するタンパ

ク質、またはPPGタンパク質と呼ぶ。これらのタンパク質のいくつかの例には、アドレナミン作動剤 (adrenergic agent) およびドーパミンに対する受容体などのGPC受容体 (Kobilka, B. K. 他、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、1987、84:46~50; Kobilka, B. K. 他、Science、1987、238:650~656; Bunzow, J. R. 他、Nature、1988、336:783~787)、Gタンパク質自身、エフェクタータンパク質 (effector protein)、例えば、ホスホリパーゼC、アデニルシクラーゼ、ホスホジエステラーゼ、ならびにアクチュエータータンパク質 (actuator protein)、例えば、プロテインキナーゼAやプロテインキナーゼC (Simon, M. I. 他、Science、1991、252:802~8) が含まれる。

【0005】

例えば、シグナル伝達の1つの形態において、ホルモンが結合することの作用は、細胞内における酵素アデニル酸シクラーゼの活性化である。ホルモンによる酵素の活性化は、ヌクレオチドGTPの存在に依存している。GTPもまたホルモンの結合に影響を及ぼす。Gタンパク質は、ホルモン受容体をアデニル酸シクラーゼに連結する。Gタンパク質は、ホルモン受容体によって活性化されたときにGTPを結合型GDPに変えることが示された。その後、GTPを輸送する形成物が、活性化されたアデニル酸シクラーゼに結合する。Gタンパク質自身によって触媒されるGTPのGDPへの加水分解により、Gタンパク質は元の不活性形態に戻る。したがって、Gタンパク質は、受容体からエフェクターへのシグナルを中継する中間体として、またシグナルの継続時間を制御する時計として二重の役割を果たしている。

【0006】

Gタンパク質結合受容体 (G-protein coupled receptor) の膜タンパク質遺伝子スーパーファミリーは、7個の推定的な膜貫通ドメインを有するものとして特徴付けられている。これらのドメインは、細胞外ループまたは細胞質ループによってつながれた膜貫通 α -ヘリックスを表していると考えられる。Gタンパク質結合受容体には、ホルモン、ウイルス、増殖因子および神経の受容体などの幅広

い生物学的に活性な受容体が含まれる。

【0007】

Gタンパク質結合受容体（これは、それ以外には7TM受容体として知られている）は、少なくとも8個の互いに異なる親水性ループをつなぐ約20～30個のアミノ酸からなるこれらの7個の保存された疎水性領域を含むものとして特徴付けられている。Gタンパク質ファミリーの結合受容体には、神経病的異常および神経学的異常を処置するために使用されている神経遮断薬に結合するドーパミン受容体が含まれる。このファミリーの他のメンバーの例には、カルシトニン、アドレナリン作動性、エンドセリン、cAMP、アデノシン、ムスカリン作動性、アセチルコリン、セロトニン、ヒスタミン、トロンビン、キニン、卵胞刺激ホルモン、オプシン類、内皮細胞分化遺伝子-1、ロドプシン類、オドラントおよびサイトメガロウイルスの受容体が含まれるが、これらに限定されない。

【0008】

ほとんどのGタンパク質結合受容体は、機能的なタンパク質構造を安定化させていると考えられるジスルフィド結合を形成する1個の保存されたシステイン残基を最初の2つの細胞外ループのそれぞれに有する。7個の膜貫通領域は、TM1、TM2、TM3、TM4、TM5、TM6およびTM7と呼ばれる。TM3がシグナル伝達に関わっている。

【0009】

システイン残基のリン酸化および脂質化（パルミチル化（palmitoylation）またはファルネシル化（farnesylation））は、一部のGタンパク質結合受容体のシグナル伝達に影響を及ぼし得る。ほとんどのGタンパク質結合受容体は、潜在的なリン酸化部位を3番目の細胞質ループ内および/またはカルボキシ端内に含有する。β-アドレナリン受容体などのいくつかのGタンパク質結合受容体の場合、プロテインキナーゼAおよび/または特異的な受容体キナーゼによるリン酸化は受容体の脱感作を媒介する。

【0010】

一部の受容体について、Gタンパク質結合受容体のリガンド結合部位は、数個のGタンパク質結合受容体膜貫通ドメインによって形成され、かつGタンパク質

結合受容体の疎水性残基によって囲まれている親水性ソケットを含むと考えられている。Gタンパク質結合受容体のそれぞれの膜貫通ヘリックスの親水性側は、内側を向いて、極性のリガンド結合部位を形成していると主張されている。TM3は、TM3のアスパラギン酸残基などのリガンド結合部位を有するものとしていくつかのGタンパク質結合受容体に含まれている。TM5の複数個のセリン、TM6の1個のアスパラギンおよびTM6またはTM7の複数個のフェニルアラニンまたはチロシンもまたリガンド結合に関わっている。

【0011】

Gタンパク質結合受容体は、様々な細胞内酵素、イオンチャネルおよび輸送因子に対してヘテロ三量体Gタンパク質によって細胞内で結合し得る（Johnson他、Endoc. Rev. 1989、10：317～331を参照のこと）。種々のGタンパク質の α -サブユニットは特定のエフェクターを優先的に刺激して、細胞内の様々な生物学的機能を調節する。Gタンパク質結合受容体の細胞質側残基のリン酸化が、一部のGタンパク質結合受容体のGタンパク質共役を調節するための重要な機構として同定されている。Gタンパク質結合受容体は、哺乳動物宿主において多数の部位に見出されている。

【0012】

この15年間にわたって、7番目の膜貫通型（7TM）受容体を標的とするほぼ350の治療剤が市場に導入され、成功している。

【0013】

（発明の概要）

本発明はPGPCR-3に関し、詳細にはPGPCR-3ポリペプチドおよびPGPCR-3ポリヌクレオチド、組換え体およびその製造法に関する。そのようなポリペプチドおよびポリヌクレオチドは、細菌感染症、真菌感染症、原生動物感染症およびウイルス感染症などの感染症、特にHIV-1またはHIV-2によって引き起こされる感染症；痛み；ガン；糖尿病；肥満；食欲不振；過食症；喘息；パーキンソン病；急性心不全；低血圧；高血圧；尿うっ滞；骨粗鬆症；狭心症；心筋梗塞；発作；潰瘍；喘息；アレルギー；良性の前立腺肥大；片頭痛；嘔吐；不安、精神分裂症、躁鬱病、鬱病、譫妄、痴呆および重症な精神遅延を

含む精神病的および神経学的な異常；ならびにハンチントン病（Huntington's disease）またはジル・ドラツレット症候群（Gilles de la Tourette's syndrome）などのジスキネジー（これらに限定されない）を含むある種の疾患（以降、「本発明の疾患」と呼ばれる）を処置する方法に関連して注目されている。さらなる態様において、本発明は、本発明によって提供される材料を使用してアゴニストおよびアンタゴニスト（例えば、阻害剤）を同定するための方法、ならびに同定された化合物を用いて、PGPCR-3の不均衡に関連する状態を処置するための方法に関する。さらにさらなる態様において、本発明は、PGPCR-3の不適切な活性およびレベルに関連する疾患を検出するための診断アッセイに関する。

【0014】

（発明の説明）

第1の態様において、本発明はPGPCR-3ポリペプチドに関する。そのようなポリペプチドには下記が含まれる。

【0015】

（a）SEQ ID NO：1の配列を含むポリヌクレオチドによってコードされる単離されたポリペプチド、

（b）SEQ ID NO：2のポリペプチド配列に対して少なくとも95%、96%、97%、98%または99%の同一性を有するポリペプチド配列を含む単離されたポリペプチド、

（c）SEQ ID NO：2のポリペプチド配列を含む単離されたポリペプチド、

（d）SEQ ID NO：2のポリペプチド配列に対して少なくとも95%、96%、97%、98%または99%の同一性を有する単離されたポリペプチド、

（e）SEQ ID NO：2のポリペプチド配列、および

（f）SEQ ID NO：2のポリペプチド配列と比較して、0.95、0.96、0.97、0.98または0.99の同一性指標を有するポリペプチド配列を有するか、または含む単離されたポリペプチド、

(g)(a)～(f)のポリペプチドの断片および変異体。

【0016】

本発明のポリペプチドは、Gタンパク質結合受容体ファミリーのポリペプチドのメンバーであると考えられる。

【0017】

PGPCR-3の生物学的性質を、これ以降、「PGPCR-3の生物学的活性またはPGPCR-3活性」と呼ぶ。好ましくは、本発明のポリペプチドは、PGPCR-3の生物学的活性の少なくとも1つを示す。

【0018】

本発明のポリペプチドには、すべての対立遺伝子形態およびスプライス変異体を含む上記ポリペプチドの変異体もまた含まれる。そのようなポリペプチドは、挿入、欠失、および保存的または非保存的であり得る置換、またはそれらの任意の組合せによって基準ポリペプチドとは異なる。特に好ましい変異体は、いくつかのアミノ酸、例えば、50～30個、30～20個、20～10個、10～5個、5～3個、3～2個、2～1個、または1個のアミノ酸が、任意の組み合わせで挿入、置換または欠失されている変異体である。

【0019】

本発明のポリペプチドの好ましい断片には、SEQ ID NO:2のアミノ酸配列に由来する少なくとも30個、50個または100個の連続したアミノ酸を有するアミノ酸配列を含む単離されたポリペプチド、あるいはSEQ ID NO:2のアミノ酸配列から、少なくとも30個、50個または100個の連続したアミノ酸が末端削除または欠失しているアミノ酸配列を含む単離されたポリペプチドが含まれる。好ましい断片は、PGPCR-3の生物学的活性を媒介する生物学的に活性な断片である。これには、類似する活性または改善された活性を有するか、あるいは望ましくない活性が低下している断片が含まれる。また、動物（特に、ヒト）において抗原性または免疫原性であるそのような断片も好ましい。

【0020】

本発明のポリペプチドの断片は、対応する全長型ポリペプチドをペプチド合成

によって製造するために用いることができる。したがって、これらの変異体は、本発明の全長型ポリペプチドを製造するための中間体として用いることができる。本発明のポリペプチドは、「成熟型」タンパク質の形態であってもよく、あるいは前駆体または融合タンパク質などのより大きなタンパク質の一部であってもよい。分泌配列またはリーダー配列、プロ配列、精製を助ける配列（例えば、多数のヒスチジン残基）、あるいは組換え産生時の安定性に必要なさらなる配列を含有するさらなるアミノ酸配列を含むことは、多くの場合、好都合である。

【0021】

本発明のポリペプチドは、任意の好適な方法によって、例えば、天然に存在する提供源から、発現システム（下記参照）を含む遺伝子操作された宿主細胞から単離することによって、あるいは例えば、自動化されたペプチド合成機を使用する化学合成によって、あるいはそのような方法の組合せによって調製することができる。そのようなポリペプチドを調製するための手段はこの分野では十分に理解されている。

【0022】

さらなる態様において、本発明はPGPCR-3ポリヌクレオチドに関する。そのようなポリヌクレオチドには下記が含まれる。

【0023】

(a) SEQ ID NO: 1のポリヌクレオチド配列に対する同一性が少なくとも95%、96%、97%、98%または99%であるポリヌクレオチド配列を含む単離されたポリヌクレオチド、

(b) SEQ ID NO: 1のポリヌクレオチドを含む単離されたポリヌクレオチド、

(c) SEQ ID NO: 1のポリヌクレオチドに対する同一性が少なくとも95%、96%、97%、98%または99%である単離されたポリヌクレオチド、

(d) SEQ ID NO: 1の単離されたポリヌクレオチド、

(e) SEQ ID NO: 2のポリペプチド配列に対する同一性が少なくとも95%、96%、97%、98%または99%であ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を含む単離されたポリヌクレオチド、

(f) SEQ ID NO: 2のポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列を含む単離されたポリヌクレオチド、

(g) SEQ ID NO: 2のポリペプチド配列に対する同一性が少なくとも95%、96%、97%、98%または99%であ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を有する単離されたポリヌクレオチド、

(h) SEQ ID NO: 2のポリペプチドをコードする単離されたポリヌクレオチド、

(i) SEQ ID NO: 1のポリヌクレオチド配列と比較した場合、0.95、0.96、0.97、0.98または0.99の同一性指標を有するポリヌクレオチド配列を有するか、または含む単離されたポリヌクレオチド、

(j) SEQ ID NO: 2のポリペプチド配列と比較した場合、0.95、0.96、0.97、0.98または0.99の同一性指標を有す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を有するか、または含む単離されたポリヌクレオチド、および

上記に記載されるポリヌクレオチドの断片および変異体であるポリヌクレオチド、あるいは上記に記載されるポリヌクレオチドに対してその全長にわたって相補的であるポリヌクレオチド。

【0024】

本発明のポリヌクレオチドの好ましい断片には、SEQ ID NO: 1の配列に由来する少なくとも15個、30個、50個または100個の連続したヌクレオチドを有するヌクレオチド配列を含む単離されたポリヌクレオチド、あるいはSEQ ID NO: 1の配列から、少なくとも30個、50個または100個の連続したヌクレオチドが末端削除または欠失している配列を含む単離されたポリヌクレオチドが含まれる。

【0025】

本発明のポリヌクレオチドの好ましい変異体には、スプライス変異体、対立遺伝子変異体、および1つまたは複数の単一ヌクレオチド多形性(SNP: single nucleotide polymorphisms)を有するポリヌクレオチドを含む多形性が含まれ

る。

【0026】

本発明のポリヌクレオチドには、SEQ ID NO: 2のアミノ酸配列を含み、かついくつものアミノ酸残基、例えば、50～30個、30～20個、20～10個、10～5個、5～3個、3～2個、2～1個、または1個のアミノ酸残基が、任意の組合せで置換、欠失または付加されているポリペプチド変異体をコードするポリヌクレオチドもまた含まれる。

【0027】

さらなる態様において、本発明は、本発明のDNA配列のRNA転写物であるポリヌクレオチドを提供する。したがって、下記のRNAポリヌクレオチドが提供される。

【0028】

(a) SEQ ID NO: 2のポリペプチドをコードするDNA配列のRNA転写物を含むもの、

(b) SEQ ID NO: 2のポリペプチドをコードするDNA配列のRNA転写物、

(c) SEQ ID NO: 1のDNA配列のRNA転写物を含むもの、または

(d) SEQ ID NO: 1のDNA配列のRNA転写物、
ならびにそれらに対して相補的であるRNAポリヌクレオチド。

【0029】

SEQ ID NO: 1のポリヌクレオチド配列は、SEQ ID NO: 2のポリペプチドをコードするcDNA配列である。SEQ ID NO: 2のポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列は、SEQ ID NO: 1の配列をコードするポリペプチドと同一で有り得るか、あるいは遺伝暗号の重複性(縮重性)の結果としてSEQ ID NO: 2のポリペプチドを同様にコードする、SEQ ID NO: 1とは異なる配列であり得る。SEQ ID NO: 2のポリペプチドは、gi-4009515(Pang, L. 他、J. Neurochem. 71(6)、2252～2259、1998)との相同性および/

または構造的類似性を有するGタンパク質結合受容体ファミリーの他のタンパク質との関連性を有する。

【0030】

本発明の好ましいポリペプチドおよびポリヌクレオチドは、特に、これらと相同的なポリペプチドおよびポリヌクレオチドと類似する生物学的な機能/性質を有することが予想される。さらに、本発明の好ましいポリペプチドおよびポリヌクレオチドは少なくとも1つのPGPCR-3活性を有する。

【0031】

本発明のポリヌクレオチドは、ヒトの脳、腎臓、血液、肺、結腸、リンパ節、肝臓または胎盤の細胞におけるmRNAに由来するcDNAライブラリーから標準的なクローニング技術およびスクリーニング技術を使用して得ることができる（例えば、Sambrook他、Molecular Cloning: A Laboratory Manual、第2版、Cold Spring Harbor Laboratory Press、Cold Spring Harbor、N.Y.（1989）を参照のこと）。本発明のポリヌクレオチドはまた、ゲノムDNAライブラリーなどの天然の供給源から得ることができ、あるいはよく知られている技術および市販の技術を使用して合成することができる。

【0032】

本発明のポリヌクレオチドが本発明のポリペプチドの組換え製造に使用される場合、ポリヌクレオチドは、成熟型ポリペプチド自身のコード配列、あるいはリーダー配列もしくは分泌配列、プレタンパク質配列もしくはプロタンパク質配列もしくはプレプロタンパク質配列、または他の融合ペプチド部分をコードするコード配列などの他のコード配列と読み枠を合わせた成熟型ポリペプチドのコード配列を含むことができる。例えば、融合ポリペプチドの精製を容易にするマーカー配列をコードさせることができる。本発明のこの態様のいくつかの好ましい実施形態において、マーカー配列は、pQEベクター（Qiagen, Inc.）において提供され、そしてGentz他、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、（1989）86：821～824に記載されているようなヘキサヒスチジンペプチドであるか、あるいはHAタグである。ポリヌクレオチドはま

た、転写される非翻訳配列、スプライシングシグナルおよびポリアデニル化シグナル、リボソーム結合部位、ならびにmRNAを安定化させる配列などの5'非コード配列および3'非コード配列を含有し得る。

【0033】

SEQ ID NO: 1のポリヌクレオチド配列に対して同一であるか、または十分な同一性を有するポリヌクレオチドは、cDNAおよびゲノムDNAに対するハイブリダイゼーションプローブとして、あるいは核酸増幅反応（例えば、PCR）に対するプライマーとして使用することができる。そのようなプローブおよびプライマーは、本発明のポリペプチドをコードする全長型cDNAおよびゲノムクローンを単離するために、そしてSEQ ID NO: 1に対する大きな配列類似性（典型的には、少なくとも95%の同一性）を有する他の遺伝子（ヒト供給源に由来するパラログ（paralog）ならびにヒト以外の種に由来するオルソログ（ortholog）およびパラログをコードする遺伝子を含む）のcDNAおよびゲノムクローンを単離するために使用することができる。好ましいプローブおよびプライマーは、一般に、少なくとも15ヌクレオチド、好ましくは少なくとも30ヌクレオチドを含み、そして少なくとも100ヌクレオチドまでとはいかなくても、少なくとも50ヌクレオチドを有し得る。特に好ましいプローブは、30～50個のヌクレオチドを有する。特に好ましいプライマーは、20～25個のヌクレオチドを有する。

【0034】

本発明のポリペプチドをコードするポリヌクレオチド（ヒト以外の種に由来する相同体（homolog）を含む）は、SEQ ID NO: 1または好ましくは少なくとも15ヌクレオチドのその断片を有する標識されたプローブを用いてストリンジентなハイブリダイゼーション条件のもとでライブラリーをスクリーニングするステップと、前記ポリヌクレオチド配列を含有する全長型cDNAクローンおよびゲノムクローンを単離するステップとを含む方法によって得ることができる。そのようなハイブリダイゼーション技術は当業者には十分に知られている。好ましいストリンジентなハイブリダイゼーション条件には、50%ホルムアミド、5×SSC（150mMのNaCl、15mMのクエン酸三ナトリウム

ム)、50 mMのリン酸ナトリウム(pH 7.6)、5×デンハルト溶液、10%のデキストラン硫酸および20マイクログラム/mlの変性させた剪断サケ精子DNAを含む溶液において42℃で一晩インキュベートし、その後、0.1×SSCにおいて約65℃でフィルターを洗浄することが含まれる。したがって、本発明はまた、SEQ ID NO: 1の配列または好ましくは少なくとも15ヌクレオチドのその断片を有する標識されたプローブを用いてストリンジেন্টなハイブリダイゼーション条件のもとでライブラリーをスクリーニングすることによって得られる単離されたポリヌクレオチド、好ましくは少なくとも100ヌクレオチドのヌクレオチド配列を有する単離されたポリヌクレオチドをも含む。

【0035】

多くの場合に、ポリペプチドをコードする領域が5'末端に至るまで必ずしも完全に伸長していない点で、単離されたcDNA配列が不完全であることを当業者なら理解するであろう。これは、逆転写酵素の「処理能」(重合化反応のときに酵素がテンプレートに結合したままにする能力の大きさ)が本来的に低く、第1鎖cDNA合成の際にmRNAテンプレートからのDNAコピーを完成させることができないことの結果である。

【0036】

全長型cDNAを得るために、あるいは短いcDNAを伸長させるために利用することができ、かつ当業者に十分に知られている方法がいくつかある。例えば、cDNA端の迅速増幅(RACE)法に基づく方法がある(例えば、Frohman他、Proc. Nat. Acad. Sci. USA、85、8998~9002、1988を参照のこと)。例えば、Marathon(商標)技術(Clontech Laboratories Inc.)によって例示されるこの技術の近年の改変により、より長いcDNAに対する探索が著しく単純化されている。Marathon(商標)技術において、cDNAが、選ばれた組織から抽出されたmRNAの両端に「アダプター」配列が連結されたものから調製される。その後、核酸増幅(PCR)が、遺伝子特異的オリゴヌクレオチドプライマーおよびアダプター特異的オリゴヌクレオチドプライマーの組合せを使用してcDNAの「失われている」5'端を増幅するために行われる。その後、PCR

反応が、「ネスティッド (nested)」プライマー、すなわち、増幅産物の内部にアニーリングするように設計されたプライマー（典型的には、アダプター配列においてさらに3'側にアニーリングするアダプター特異的プライマー、および既知の遺伝子配列においてさらに5'側にアニーリングする遺伝子特異的プライマー）を使用して繰り返される。その後、この反応の生成物がDNA配列決定によって分析され得る。全長型のcDNAは、完全な配列を得るために、既存のcDNAに生成物を直接結合させること、あるいは5'プライマーの設計のための新しい配列情報を使用して別の全長PCRを行うことのいずれかによって構築され得る。

【0037】

本発明の組換えポリペプチドは、発現システムを含む遺伝子操作された宿主細胞からこの分野で十分に知られている方法によって調製することができる。したがって、さらなる態様において、本発明は、本発明のポリヌクレオチド（1つまたは複数）を含む発現システム、そのような発現システムで遺伝子操作されている宿主細胞、および組換え技術による本発明のポリペプチドの製造に関する。無細胞翻訳システムもまた、本発明のDNA構築物に由来するRNAを使用してそのようなタンパク質を製造するために用いることができる。

【0038】

組換え製造のために、宿主細胞は、本発明のポリヌクレオチドに対する発現システムまたはその一部を取り込むように遺伝子操作され得る。ポリヌクレオチドは、Davis他、Basic Methods in Molecular Biology (1986) および Sambrook 他 (同上) などの多くの標準的な実験室マニュアルに記載されている方法によって宿主細胞に導入することができる。ポリヌクレオチドを宿主細胞に導入する好ましい方法には、例えば、リン酸カルシウムトランスフェクション、DEAE-デキストラン媒介トランスフェクション、トランスベクション (transfection)、マイクロインジェクション、カチオン性脂質媒介トランスフェクション、エレクトロポレーション、形質導入 (transduction)、スクレイプ負荷 (scrape loading)、弾道学的導入 (ballistic introduction) または感染が含まれる。

【0039】

適切な宿主の代表的な例には、ストレプトコッカス属細菌、スタフィロコッカス属細菌、大腸菌、ストレプトミセス属細菌および枯草菌などの細菌の細胞；酵母およびアスペルギルス属のカビなどの真菌の細胞；ショウジョウバエ (*Drosophila*) S2細胞および *Spodoptera Sf9* 細胞などの昆虫細胞；CHO細胞、COS細胞、HeLa細胞、C127細胞、3T3細胞、BHK細胞、HEK293細胞およびBowesメラノーマ細胞などの動物細胞；ならびに植物細胞が含まれる。

【0040】

非常に様々な発現システムを使用することができる。例えば、染色体、エピソームおよびウイルスに由来するシステム、例えば、細菌プラスミドに由来するベクター、バクテリオファージに由来するベクター、トランスポゾンに由来するベクター、酵母エピソームに由来するベクター、挿入エレメントに由来するベクター、酵母染色体エレメントに由来するベクター、バキュロウイルス、パポバウイルス (SV40 など)、ワクシニアウイルス、アデノウイルス、鶏痘ウイルス、偽狂犬病ウイルスおよびレトロウイルスなどのウイルスに由来するベクター、ならびに、プラスミドおよびバクテリオファージの遺伝子エレメントに由来するベクターなどのそれらの組合せに由来するベクター (コスミドおよびファージミドなど) を使用することができる。これらの発現システムは、発現を生じさせるだけでなく、発現を調節する制御領域を含有することができる。一般に、宿主においてポリペプチドを産生させるためにポリヌクレオチドを維持し、または伝搬させ、または発現させることができるシステムまたはベクターはどれも使用することができる。適切なポリヌクレオチド配列を、例えば、Sambrook他 (同上) に示されている技術などの様々なよく知られている日常的な技術のいずれかによって発現システムに挿入することができる。適切な分泌シグナルを、小胞体 (endoplasmic reticulum) の内腔、ペリプラズムのスペースまたは細胞外環境に翻訳されたタンパク質を分泌させるために、所望するポリペプチドに組み込むことができる。これらのシグナルは、ポリペプチドに対して内因性であってもよく、あるいは異種のシグナルであってもよい。

【0041】

本発明のポリペプチドをスクリーニングアッセイにおける使用のために発現させる場合、ポリペプチドを細胞表面に産生させることが一般には好ましい。この場合、細胞を、スクリーニングアッセイにおいて使用される前に収集することができる。ポリペプチドが培地に分泌される場合には、ポリペプチドの回収および精製を行うために培地を回収することができる。細胞内に産生される場合には、ポリペプチドを回収する前に細胞を最初に溶解しなければならない。

【0042】

本発明のポリペプチドは、硫酸アンモニウム沈殿またはエタノール沈殿、酸抽出、アニオン交換クロマトグラフィーまたはカチオン交換クロマトグラフィー、ホスホセルロースクロマトグラフィー、疎水性相互作用クロマトグラフィー、アフィニティークロマトグラフィー、ヒドロキシルアパタイトクロマトグラフィーおよびレクチンクロマトグラフィーを含む十分に知られている方法によって組換え細胞培養物から回収および精製することができる。最も好ましくは、高速液体クロマトグラフィーが精製のために用いられる。ポリペプチドが細胞内合成、単離および/または精製の際に変性した場合には、タンパク質をリフォールディングさせるために十分に知られている技術を用いて、活性な立体配座を再生させることができる。

【0043】

本発明のポリヌクレオチドは、関連する遺伝子における変異を検出することによって診断試薬として使用することができる。cDNA配列またはゲノム配列におけるSEQ ID NO: 1のポリヌクレオチドによって特徴付けられ、機能不全に関連している遺伝子の変異形態を検出することにより、その遺伝子の少なすぎる発現、過剰発現あるいは変化した空間的または時間的な発現から生じる疾患の診断またはそのような疾患に対する感受性の診断の一助になり得るか、または規定し得る診断ツールが提供される。遺伝子に変異を有する個体は、この分野で十分に知られている様々な技術によってDNAレベルで検出され得る。

【0044】

診断に必要な核酸は、被験体の細胞から、例えば、血液、尿、唾液、組織生検

体または解剖体などから得ることができる。ゲノムDNAは、検出のために直接使用することができ、あるいは分析前にPCR（好ましくはRT-PCR）または他の増幅技術を使用することによって酵素的に増幅することができる。RNAまたはcDNAもまた同様な様式で 사용할 ことができる。欠失および挿入は、正常な遺伝子型と比較した増幅産物のサイズにおける変化によって検出することができる。点変異は、増幅されたDNAをPGPCR-3の標識されたヌクレオチド配列にハイブリダイゼーションさせることによって同定することができる。完全に一致する配列は、RNase消化によって、あるいは融解温度における差によってミスマッチした二重鎖から区別することができる。DNA配列の違いはまた、変性剤の存在下または非存在下でのゲル中におけるDNA断片の電気泳動移動度の変化によって、あるいは直接的なDNA配列決定によって検出することができる（例えば、Myers他、Science（1985）230：1242を参照のこと）。特定の位置における配列の変化もまた、RNase保護またはS1保護などのヌクレアーゼ保護アッセイあるいは化学的な切断方法によって明らかにされ得る（Cotton他、Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A（1985）85：4397～4401を参照のこと）。

【0045】

PGPCR-3のポリヌクレオチド配列またはその断片を含むオリゴヌクレオチドプローブのアレイを、例えば、遺伝子変異の効率的なスクリーニングを行うために構築することができる。そのようなアレイは、好ましくは、高密度のアレイまたはグリッド（grid）である。アレイ技術法は十分に知られており、そして一般的な適用性を有し、遺伝子発現、遺伝子連鎖および遺伝子変動性を含む分子遺伝学における様々な問題を検討するために使用することができる（例えば、M. Chee他、Science、274、610～613（1996）およびそれに引用されている他の参考文献を参照のこと）。

【0046】

異常に低下しているか、または異常に増大しているポリペプチドまたはmRNAの発現レベルの検出もまた、本発明の疾患に対する被験体の感受性を診断または測定するために使用することができる。低下または増大した発現は、ポリヌク

レオチドを定量することに関してこの分野で十分に知られている方法のいずれかを使用して、例えば、核酸増幅（例えば、PCR、RT-PCR）、RNAase保護、ノーザンブロットおよび他のハイブリダイゼーション法などを使用してRNAレベルで測定することができる。宿主に由来するサンプルにおける本発明のポリペプチドなどのタンパク質のレベルを決定するために使用され得るアッセイ技術は当業者には十分に知られている。そのようなアッセイ方法には、ラジオイムノアッセイ、競合的結合アッセイ、ウエスタンブロット分析およびELISAアッセイが含まれる。

【0047】

したがって、別の態様において、本発明は、下記を含む診断キットに関する。

【0048】

(a) 本発明のポリヌクレオチド、好ましくは、SEQ ID NO: 1のヌクレオチド配列またはその断片またはそのRNA転写物；

(b) (a) のヌクレオチド配列に対して相補的なヌクレオチド配列；

(c) 本発明のポリペプチド、好ましくは、SEQ ID NO: 2のポリペプチドまたはその断片；あるいは

(d) 本発明のポリペプチドに対する抗体、好ましくは、SEQ ID NO: 2のポリペプチドに対する抗体。

【0049】

任意のそのようなキットにおいて、(a)、(b)、(c)または(d)は実質的な成分を含み得ることが理解される。そのようなキットは、疾患または疾患に対する感受性、中でも特に本発明の疾患を診断する際に有用である。

【0050】

本発明のポリヌクレオチド配列は染色体局在化研究に有益である。配列は、個々のヒト染色体における特定の位置に対して特異的に標的化され、かつ特定の位置とハイブリダイズし得る。関連する配列を染色体に本発明に従ってマッピングすることは、そのような配列を遺伝子関連疾患と関連させる際の重要な最初のステップである。配列が正確な染色体位置にマッピングされると、染色体上における配列の物理的な位置を遺伝地図データと関連させることができる。そのような

データは、例えば、V. McKusick、「Mendelian Inheritance in Man」において見出される（これはJohns Hopkins大学Welch Medical Libraryからオンラインで得ることができる）。遺伝子と、同じ染色体領域にマッピングされている疾患との関係が、その後、連鎖分析（物理的に隣り合う遺伝子の同時遺伝）によって同定される。ゲノム配列（遺伝子断片など）に関する正確なヒト染色体局在化を放射ハイブリッド（RH：Radiation Hybrid）マッピングを使用して決定することができる（Walter, M. Spillet, D., Thomas, P., Weissenbach, J. および Goodfellow, P. (1994), 「A method for constructing radiation hybrid maps of whole genomes」、Nature Genetics 7、22～28）。多数のRHパネルをResearch Genetics (Huntsville, AL, 米国) から得ることができる。例えば、GeneBridge4 RHパネル (Hum Mol Genet, 1996 Mar; 5(3): 339～46, 「A radiation hybrid map of the human genome」。Gyapay G., Schmitt K., Fizames C., Jones H., Vega-Czarny N., Spillet D., Muelet D., Prud'Homme JF, Dib C., Auffray C., Morissette J., Weissenbach, J., Goodfellow, P. N.）。このパネルを使用して遺伝子の染色体位置を決定するために、93回のPCRが、RH DNAについて目的とする遺伝子から設計されたプライマーを使用して行われる。これらのDNAはそれぞれが、ハムスターのバックグラウンド（ヒト/ハムスターのハイブリッド細胞株）に維持されたランダムなヒトゲノム断片を含有する。これらのPCRにより、目的とする遺伝子のPCR産物の存在または非存在を示す93個のスコアが得られる。これらのスコアは、知られている位置のゲノム配列に由来するPCR産物を使用して作製されたスコアと比較される。この比較は、<http://www.genome.wi.mit.edu/> において行われる。本発明の遺伝子はヒト第4染色体（D4S4

12-D4S1601)にマッピングされる。

【0051】

本発明のポリヌクレオチド配列はまた、組織発現研究に対する有益なツールである。そのような研究により、本発明のポリヌクレオチドの発現パターンの決定が可能になり、これにより、コードされたポリペプチドの組織内の発現パターンに関する指標が、それらをコードするmRNAを検出することによってもたらされ得る。使用される技術は、この分野では十分に知られており、cDNAマイクロアレイハイブリダイゼーション(Schena他、Science、270、467~470、1995およびShalon他、Genome Res、6、639~645、1996)などの、グリッドに配置されたクローンに対するin situハイブリダイゼーション技術、およびPCRなどのヌクレオチド増幅技術を含む。好ましい方法は、Perkin Elmerから得られるTAQMAN(商標)技術を使用する。これらの研究から得られる結果は、生物におけるポリペプチドの正常な機能の指標を提供する。さらに、mRNAの正常な発現パターンと、同じ遺伝子の別の形態(例えば、潜在的または調節的な変異をコードするポリペプチドにおける変化を有する形態)によってコードされるmRNAの発現パターンとの比較研究は、本発明のポリペプチドの役割に対する有益な洞察を提供し得るか、または疾患におけるその不適切な発現の役割に対する有益な洞察を提供し得る。そのような不適切な発現は、時間的、空間的または単に量的な性質であり得る。

【0052】

本発明のポリペプチドは、ヒトの脳、腎臓、血液、肺、結腸、リンパ節、肝臓または胎盤において発現している。

【0053】

本発明のさらなる態様は抗体に関する。本発明のポリペプチドまたはその断片あるいはそれらを発現する細胞は、本発明のポリペプチドに対して免疫特異的である抗体を産生させるための免疫原として使用することができる。用語「免疫特異的」は、抗体が、先行技術における他の関連するポリペプチドに対するその親和性よりも実質的に大きな親和性を本発明のポリペプチドに対して有することを

意味する。

【0054】

本発明のポリペプチドに対して生じる抗体は、日常的なプロトコルを使用して、ポリペプチドまたはエピトープ含有断片または細胞を動物（好ましくは、非ヒト動物）に投与することによって得ることができる。モノクローナル抗体を調製するために、連続的な細胞株培養物によって産生される抗体を提供する技術はどれも使用することができる。例には、ハイブリドーマ技術（Kohler, G. およびMilstein, C., Nature (1975)、256:495~497）、トリオーマ技術、ヒトB細胞ハイブリドーマ技術（Kozbor 他、Immunology Today (1983)、4:73）、およびEBVハイブリドーマ技術（Cole 他、Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy、77~96、Alan R. Liss, Inc., 1985）が含まれる。

【0055】

米国特許第4,946,778号に記載されている抗体などの単鎖抗体を製造するための技術もまた、本発明のポリペプチドに対する単鎖抗体を製造するために適応させることができる。また、トランスジェニックマウス、または他の哺乳動物を含む他の生物を使用して、ヒト化抗体を発現させることができる。

【0056】

上記に記載された抗体は、ポリペプチドを発現するクローンを単離または同定するために、あるいはアフィニティークロマトグラフィーによってポリペプチドを精製するために用いることができる。本発明のポリペプチドに対する抗体はまた、特に本発明の疾患を処置するために用いることができる。

【0057】

本発明のポリペプチドおよびポリヌクレオチドはまたワクチンとして使用することができる。したがって、さらなる態様において、本発明は、哺乳動物における免疫学的応答を誘導するための方法に関する。この方法は、抗体応答および/またはT細胞免疫応答（例えば、サイトカイン産生T細胞または細胞傷害性T細胞を含む）を生じさせて、前記動物を疾患から、その疾患が個体において既に確

立されているか否かに関わらず保護するために適切な本発明のポリペプチドを哺乳動物に接種することを含む。哺乳動物における免疫学的応答はまた、本発明の疾患から前記動物を保護する抗体を産生させるそのような免疫学的応答を誘導するために、ポリヌクレオチドの発現を行わせ、かつポリペプチドをコードするベクターによって本発明のポリペプチドを *in vivo* で送達することを含む方法によって誘導され得る。そのようなベクターを投与する1つの方法は、粒子またはそれ以外のものにおけるコーティング物として所望する細胞にベクターを促進することによる。そのような核酸ベクターは、DNA、RNA、修飾型核酸またはDNA/RNAハイブリッドを含むことができる。使用する場合、ワクチン、ポリペプチドまたは核酸ベクターは、通常、ワクチン配合物（組成物）として提供される。配合物はさらに、好適なキャリアを含むことができる。ポリペプチドは胃において分解され得るので、ポリペプチドは、好ましくは非経口的に投与される（例えば、皮下注射、筋肉内注射、静脈内注射または皮内注射）。非経口投与に好適な配合物には、抗酸化剤、緩衝剤、静菌剤、および配合物を接種者の血液と等張性にする溶質を含有し得る水性および非水性の無菌注射液；ならびに懸濁剤または増粘剤を含み得る水性および非水性の無菌懸濁剤が含まれる。配合物は、単位用量容器または多回用量容器で、例えば、密封されたアンプルおよびバイアルで提供することができ、そして使用直前に無菌の液体キャリアを添加することだけを必要とする凍結乾燥状態で保存することができる。ワクチン配合物はまた、この分野で知られている水中油型システムおよび他のシステムなどの、配合物の免疫原性を増強するアジュバントシステムを含むことができる。投薬量はワクチンの比活性に依存し、日常的な実験によって容易に決定することができる。

【0058】

本発明のポリペプチドは、1つまたは複数の疾患状態、特に、本明細書中前記に記載された本発明の疾患に関連する1つまたは複数の生物学的機能を有する。したがって、ポリペプチドの機能またはレベルを刺激または阻害する化合物を同定することは有用である。したがって、さらなる態様において、本発明は、ポリペプチドの機能またはレベルを刺激または阻害する化合物を同定するための化合

物のスクリーニング方法を提供する。そのような方法により、本明細書中前記に記載されているように本発明のそのような疾患に対する治療目的および予防目的のために用いることができるアゴニストまたはアンタゴニストが同定される。化合物は、様々な供給源から、例えば、細胞、無細胞調製物、化学ライブラリー、化学化合物のコレクション、および天然産物の混合物から同定することができる。そのようにして同定されたそのようなアゴニストまたはアンタゴニストは、天然または修飾された基質、リガンド、受容体、酵素などであり、場合により、ポリペプチド；その構造的または機能的な模倣体（Coligan他、Current Protocols in Immunology 1(2):5章(1991)を参照のこと）あるいは小分子であり得る。

【0059】

スクリーニング方法では、ポリペプチドに対する候補化合物の結合、あるいはポリペプチドまたはその融合タンパク質を含有する細胞または膜に対する候補化合物の結合が、候補化合物に直接的または間接的に結合している標識によって簡単に測定され得る。あるいは、スクリーニング方法は、標識された競合剤（例えば、アゴニストまたはアンタゴニスト）に対抗する候補化合物のポリペプチドに対する競合的な結合を（定性的または定量的に）測定または検出することを含み得る。さらに、これらのスクリーニング方法では、ポリペプチドの活性化または阻害によって発生するシグナルを候補化合物が生じさせるかどうかを、ポリペプチドを含有する細胞に適切な検出システムを使用して調べることができる。活性化の阻害は、一般には既知のアゴニストの存在下でアッセイされ、そして候補化合物が存在することによるアゴニストによる活性化に対する作用が観測される。さらに、スクリーニング方法は、候補化合物を、本発明のポリペプチドを含有する溶液と混合して、混合物を形成させるステップ、混合物におけるPGPCR-3活性を測定するステップ、および混合物のPGPCR-3活性を、候補化合物を含有しないコントロール混合物と比較するステップを単純に含み得る。

【0060】

本発明のポリペプチドは、従来の低い能力のスクリーニング方法において、そしてまた高処理能スクリーニング（HTS）形式において用いることができる。

そのようなHTS形式には、96ウエルマイクロタイタープレートおよびより最近には384ウエルマイクロタイタープレートがよく確立された使用だけでなく、Schullek他、Anal Biochem.、246、20~29(1997)によって記載されているナノウエル法などの最近現れた方法もまた含まれる。

【0061】

本明細書中前記に記載されているように、Fc部分およびPGPCR-3ポリペプチドから作製される融合タンパク質などの融合タンパク質もまた、本発明のポリペプチドに対するアンタゴニストを同定するための高処理能スクリーニングアッセイのために使用することができる(D. Bennett他、J Mol Recognition、8:52~58(1995); K. Johanson他、J Biol Chem、270(16):9459~9471(1995)を参照のこと)。

【0062】

1つのスクリーニング技術には、受容体の活性化によって引き起こされる細胞外pHの変化または細胞内カルシウムの変化を測定するシステムにおいて、本発明の受容体を発現する細胞(例えば、トランスフェクションされたCHO細胞)を使用することが含まれる。この技術では、化合物を、本発明の受容体ポリペプチドを発現する細胞と接触させることができる。その後、二次メッセンジャーの応答、例えば、シグナル伝達、pH変化またはカルシウムレベルの変化が測定され、潜在的な化合物が受容体を活性化するかどうか、または潜在的な化合物が受容体を阻害するかどうか決定される。

【0063】

別の方法は、受容体により媒介されるcAMP蓄積および/またはアデニル酸シクラーゼ蓄積の阻害または刺激を測定することによって受容体阻害剤についてスクリーニングすることを伴う。そのような方法は、真核生物細胞を本発明の受容体でトランスフェクションして、受容体を細胞表面に発現させることを伴う。その後、細胞は、潜在的なアンタゴニストに本発明の受容体の存在下でさらされる。その後、cAMPの蓄積量が測定される。潜在的なアンタゴニストが受容体

に結合する場合、したがって受容体の結合を阻害する場合、受容体により媒介される c A M P のレベルまたはアデニル酸シクラーゼの活性が低下または増大する。

【0064】

本発明の受容体に対するアゴニストまたはアンタゴニストを検出する別の方法は、米国特許第5,482,835号に記載されているような、酵母に基づく技術である。

【0065】

(スクリーニング技術)

本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、および本発明のポリペプチドに対する抗体はまた、mRNAおよびポリペプチドの産生に対する添加された化合物の細胞内における作用を検出するためのスクリーニング方法を組み立てるために使用することができる。例えば、E L I S A アッセイを、この分野で知られている標準的な方法によってモノクローナル抗体およびポリクローナル抗体を使用してポリペプチドの分泌レベルまたは細胞結合レベルを測定するために構築することができる。これは、好適に操作された細胞または組織からのポリペプチドの産生を阻害し得る薬剤または増強し得る薬剤（これらはそれぞれアンタゴニストまたはアゴニストとも呼ばれる）を発見するために使用することができる。

【0066】

本発明のポリペプチドは、受容体が存在する場合には、この分野で知られている標準的な受容体結合技術によって膜結合型受容体または可溶性受容体を同定するために使用することができる。これらには、ポリペプチドが放射性同位体（例えば、 ^{125}I ）で標識され、化学修飾され（例えば、ビオチン化され）、あるいは検出または精製に好適なペプチド配列に融合させられ、そして推定される受容体の供給源（細胞、細胞膜、細胞上清、組織抽出物、体液）とインキュベーションされるリガンド結合アッセイおよび架橋アッセイが含まれるが、これらに限定されない。他の方法には、表面プラズモン共鳴および分光測定法などの生物物理学的技術が含まれる。これらのスクリーニング方法はまた、ポリペプチドのその受容体に対する結合と競合するポリペプチドのアゴニストおよびアンタゴニスト

を、それらが存在する場合に同定するために使用することができる。そのようなアッセイを行うための標準的な方法はこの分野では十分に理解されている。

【0067】

本発明のポリペプチドのアンタゴニストの例には、リガンド、基質、受容体、酵素などに密接に関連する抗体、または特定の場合にはオリゴヌクレオチドまたはタンパク質、場合により、ポリペプチド、例えば、リガンド、基質、受容体、酵素などの断片、あるいは本発明のポリペプチドに結合するが、応答を誘発せず、その結果、ポリペプチドの活性が妨げられる小分子が含まれる。

【0068】

スクリーニング方法はまた、トランスジェニック技術およびP G P C R - 3 遺伝子の使用を含み得る。トランスジェニック動物を構築する技術は十分に確立されている。例えば、P G P C R - 3 遺伝子を、受精した卵母細胞の雌性前核へのマイクロインジェクションによって、移植前または移植後の胚へのレトロウイルス移入によって、またはエレクトロポレーションなどで遺伝子操作された胚性幹細胞の宿主胚盤胞への注入によって導入することができる。特に有用なトランスジェニック動物は、動物の遺伝子はその動物のゲノム内においてヒトの等価体によって置き換えられているいわゆる「ノックイン」動物である。ノックイントランスジェニック動物は、標的の有効性を確認するために、薬物発見プロセスにおいて有用である。この場合、化合物はヒトの標的に対して特異的である。他の有用なトランスジェニック動物は、細胞内の内因性DNA配列によってコードされる、本発明のポリペプチドの動物オルソログの発現が部分的または完全に無効にされているいわゆる「ノックアウト」動物である。遺伝子のノックアウトは、特定の細胞または組織に対して標的化され得るか、あるいは技術の限界の結果として特定の細胞または組織でのみに生じ得るか、あるいは動物内のすべての細胞または実質的にすべての細胞において生じ得る。トランスジェニック動物の技術はまた、導入された遺伝子が、本発明のポリペプチドを大量に得るために発現せられる動物全体の発現 - クローニングシステムを提供する。

【0069】

上記に記載された方法において使用されるスクリーニングキットは、本発明の

さらなる態様をなす。そのようなスクリーニングキットは下記のものを含む。

【0070】

- (a) 本発明のポリペプチド；
- (b) 本発明のポリペプチドを発現する組換え細胞；
- (c) 本発明のポリペプチドを発現する細胞膜；または
- (d) 本発明のポリペプチドに対する抗体。

【0071】

そのようなポリペプチドは、好ましくはSEQ ID NO：2のポリペプチドである。

【0072】

任意のそのようなキットにおいて、(a)、(b)、(c)または(d)は実質的な成分を含み得ることが理解される。

【0073】

(用語集)

下記の定義は、本明細書中前記において頻繁に使用されているいくつかの用語の理解を容易にするために提供される。

【0074】

本明細書中に記載されている「抗体」は、ポリクローナル抗体およびモノクローナル抗体、キメラ抗体、単鎖抗体、およびヒト化抗体、ならびにFab断片を包含し、Fab発現ライブラリーまたは他の免疫グロブリン発現ライブラリーの生成物を包含する。

【0075】

「単離(された)」は、その自然の状態から「ヒトの手によって」変化していることを意味する。すなわち、自然界に存在する場合、その本来の環境から変化しているか、または取り出されているか、またはその両方であることを意味する。例えば、生きた生物に自然に存在するポリヌクレオチドまたはポリペプチドは「単離」されていないが、その自然状態の共存物質から分離された同じポリヌクレオチドまたはポリペプチドは、この用語が本明細書中で用いられているように「単離」されている。さらに、形質転換、遺伝子操作によって、または任意の他

の組換え方法によって生物に導入されているポリヌクレオチドまたはポリペプチドは、そのような生物が生存または非生存であるとしても、前記生物内に依然として存在している場合でさえ、「単離」されている。

【0076】

「ポリヌクレオチド」は、一般には、任意のポリリボヌクレオチド(RNA)またはポリデオキシリボヌクレオチド(DNA)をいうが、これらは、非修飾型または修飾型のRNAまたはDNAであってもよい。「ポリヌクレオチド」には、一本鎖DNAおよび二本鎖DNA；一本鎖領域および二本鎖領域が混在するDNA；一本鎖RNAおよび二本鎖RNA；ならびに一本鎖領域および二本鎖領域が混在するRNA；一本鎖またはより典型的には二本鎖であるか、または一本鎖領域および二本鎖領域が混在するDNAおよびRNAを含むハイブリッド分子；が含まれるが、これらに限定されない。さらに、「ポリヌクレオチド」は、RNAまたはDNA、あるいはRNAとDNAとの両方を含む三重鎖領域をもいう。用語「ポリヌクレオチド」はまた、1つまたは複数の修飾された塩基を含有するDNAまたはRNA、および安定性または他の理由のために修飾された骨格を有するDNAまたはRNAを含む。「修飾(された)」塩基には、例えば、トリチル化された塩基、およびイノシンなどの非通常型の塩基が含まれる。様々な修飾をDNAおよびRNAに対して行うことができ、したがって、「ポリヌクレオチド」は、自然界に典型的に見出されるようなポリヌクレオチの化学的、酵素的または代謝的に修飾された形態、ならびにウイルスおよび細胞に特徴的なDNAおよびRNAの化学的形態を包含する。「ポリヌクレオチド」はまた、オリゴヌクレオチドと多くの場合には呼ばれる比較的短いポリヌクレオチドを包含する。

【0077】

「ポリペプチド」は、ペプチド結合または修飾されたペプチド結合(すなわち、ペプチド等配電子体(isoster))によって互いに連結された2つ以上のアミノ酸を含む任意のポリペプチドをいう。「ポリペプチド」は、ペプチド、オリゴペプチドまたはオリゴマーと広く呼ばれる短い鎖、ならびに一般にはタンパク質と呼ばれるそれよりも長い鎖の両方をいう。ポリペプチドは、遺伝子によってコードされる20個のアミノ酸とは異なるアミノ酸を含有することができる。「ポ

リペプチド」は、翻訳後プロセッシングなどの自然のプロセスあるいはこの分野で十分に知られている化学的な修飾技術のいずれかによって修飾されたアミノ酸配列を含む。そのような修飾は、基本的な教本に、そしてより詳細な専門書ならびに数多くの研究文献に十分に記載されている。修飾は、ペプチド骨格、アミノ酸側鎖およびアミノ末端またはカルボキシル末端を含むポリペプチド内の任意のところに存在させることができる。同じタイプの修飾が所与ポリペプチド内のいくつかの部位に同じ程度または異なる程度で存在し得ることが理解される。また、所与のポリペプチドは多くのタイプの修飾を含有することができる。ポリペプチドは、ユビキチン化の結果として分枝状であってもよく、分枝を伴う環状、または分枝を伴わない環状であってもよい。環状ポリペプチド、分枝状ポリペプチドおよび分枝した環状ポリペプチドは、翻訳後の自然のプロセスに由来し得るか、あるいは合成的方法によって作製することができる。修飾には、アセチル化、アシル化、ADP-リボシル化、アミド化、ビオチン化、フラビンの共有結合、ヘム成分の共有結合、ヌクレオチドまたはヌクレオチド誘導体の共有結合、脂質または脂質誘導体の共有結合、ホスホチジルイノシトールの共有結合、架橋、環化、ジスルフィド結合の形成、脱メチル化、共有結合架橋の形成、シスチンの形成、ピログルタミン酸 (pyroglutamate) の形成、ホルミル化、 γ -カルボキシル化、グリコシル化、GPIアンカー形成、ヒドロキシル化、ヨウ素化、メチル化、ミリストイル化 (myristoylation)、酸化、タンパク質分解プロセッシング、リン酸化、プレニル化 (prenylation)、ラセミ化、セレノイル化 (selenoylation)、硫酸化、アルギニル化などのアミノ酸のタンパク質への転移RNA媒介付加、ならびユビキチン化 (ubiquitination) が含まれる (例えば、Proteins - Structure and Molecular Properties、第2版、T.E. Creighton、W.H. Freeman and Company、New York、1993; Wold, F., 「Post-translational Protein Modifications: Perspectives and Prospects」、1~12、Post-translational Covalent Modification of Proteins、B.C. Johnson編、Academic P

ress、New York、1983；Seifter他、「Analysis for protein modifications and nonprotein cofactors」、Meth Enzymol、182、626～646、1990；Rattan他、「Protein Synthesis: Post-translational Modifications and Aging」、Ann NY Acad Sci、663、48～62、1992を参照のこと）。

【0078】

ポリペプチド配列の「断片」は、基準配列よりも短い、基準ポリペプチドと同じ生物学的な機能または活性を本質的に保持しているポリペプチド配列をいう。ポリヌクレオチド配列の「断片」は、SEQ ID NO：1の基準配列よりも短いポリヌクレオチド配列をいう。

【0079】

「変異体」は、基準のポリヌクレオチドまたはポリペプチドとは異なるが、その本質的な性質を保持しているポリヌクレオチドまたはポリペプチドをいう。ポリヌクレオチドの典型的な変異体は、ヌクレオチド配列が基準ポリヌクレオチドとは異なる。変異体のヌクレオチド配列における変化は、基準ポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドのアミノ酸配列を変化させることがあり、あるいは変化させないことがある。ヌクレオチドの変化は、下記に議論されているように、基準配列によってコードされるポリペプチドにおけるアミノ酸の置換、付加、欠失、融合および末端欠失をもたらす得る。ポリペプチドの典型的な変異体は、アミノ酸配列が基準ポリヌクレオチドとは異なる。一般に、変化は、基準ポリペプチドおよび変異体の配列が全体的に非常に類似し、そして多くの領域において同一であるように制限される。変異体ポリペプチドおよび基準ポリペプチドは、アミノ酸配列が、1つまたは複数の置換、挿入、欠失の任意の組合せによって異なり得る。置換または挿入されるアミノ酸残基は、遺伝暗号によってコードされるアミノ酸残基であってもよく、あるいは遺伝暗号によってコードされるアミノ酸残基でなくてもよい。典型的な保存的置換には、Gly、Ala；Val、Ile、Leu；Asp、Glu；Asn、Gln；Ser、Thr；Ly

s、A r g ;ならびにP h eおよびT y rが含まれる。ポリヌクレオチドまたはポリペプチドの変異体は、対立遺伝子などの自然に存在するものであってもよく、あるいは自然に存在することが知られていない変異体であってもよい。ポリヌクレオチドおよびポリペプチドの天然に存在しない変異体は、変異誘発技術によって、あるいは直接的な合成によって作製することができる。また、1つまたは複数の翻訳後修飾（例えば、グリコシル化、リン酸化、メチル化、A D P リボシル化など）を有するポリペプチドもまた変異体として含まれる。実施形態には、N末端アミノ酸のメチル化、セリンおよびトレオニンのリン酸化、ならびにC末端グリシンの修飾が含まれる。

【0080】

「対立遺伝子」は、ゲノム内の所与遺伝子座に存在する遺伝子の2つ以上の代わりの形態の1つをいう。

【0081】

「多形性」は、集団内のゲノムにおける所与の位置でのヌクレオチド配列（関連する場合にはコードされるポリペプチド配列）の変化をいう。

【0082】

「単一ヌクレオチド多形性」(S N P)は、集団内においてゲノム内の1つのヌクレオチド位置におけるヌクレオチド変動性が存在することをいう。S N Pは、遺伝子内に、あるいはゲノムの遺伝子間領域内に存在し得る。S N Pは、対立遺伝子特異的増幅(A S A : allele specific amplification)を使用してアッセイすることができる。このプロセスには、少なくとも3つのプライマーが必要である。共通プライマーが、アッセイされる多形性に対する逆相補で使用される。この共通プライマーは、多形性塩基から50 b pから1500 b pの間であり得る。それ以外の2つ（またはそれ以上）のプライマーは、最後の3'塩基が、多形性を構成する2つ（またはそれ以上）の対立遺伝子の1つと一致するように固定されていない点を除いて互いに同一である。その後、2回（またはそれ以上）のP C R反応がサンプルD N Aについて行われる。このとき、それぞれのP C Rには共通プライマーおよび1つの対立遺伝子特異的プライマーが使用される。

【0083】

本明細書中で使用されている「スプライス変異体」は、同じゲノムDNA配列から最初に転写されたRNA分子から産生され、しかし選択的なRNAスプライシングを受けているcDNA分子をいう。選択的なRNAスプライシングは、一般にはイントロンを除くために一次RNA転写物がスプライシングを受けたときに生じる。その結果、それぞれが異なるアミノ酸配列をコードし得る2つ以上のmRNA分子がもたらされる。スプライス変異体の用語はまた、上記のcDNA分子によってコードされるタンパク質をも示す。

【0084】

「同一性」は、配列を比較することによって決定される、2つ以上のポリペプチド配列または2つ以上のポリヌクレオチド配列の間における関係を反映している。一般に、同一性は、比較されている配列の長さにわたって2つのポリヌクレオチド配列または2つのポリペプチド配列のそれぞれのヌクレオチド毎またはアミノ酸毎の正確な一致をいう。

【0085】

「%同一性」 - 正確な一致が存在しない配列の場合に、「%同一性」が決定され得る。一般に、比較される2つの配列は、最大の相関が配列間に得られるようにアラインメントされる。これには、アラインメントの程度を高めるために「ギャップ」をいずれか一方の配列または両方の配列に挿入することが含まれ得る。%同一性は、比較されている配列のそれぞれの長さ全体にわたって決定され得る（いわゆる全体的なアラインメント）。これは、同じ長さまたは非常に類似する長さの配列の場合には特に好適である、あるいは、より短い規定された長さにわたって決定され得る（いわゆる局所的アラインメント）。これは、長さが等しくない配列の場合にはより好適である。

【0086】

「類似性」は、2つのポリペプチド配列の間における関係のより精巧なさらなる尺度である。一般に、「類似性」は、（同一性に関して）比較されている配列のそれぞれに由来する残基の残基対の間における正確な一致だけでなく、正確な一致が存在しない場合には、進化的な基準に基づいて、1つの残基がそれ以外の残基に対する確からしい置換体であるかどうかをも考慮して、残基毎に基づく2

つのポリペプチド鎖のアミノ酸間の比較を意味する。この可能性は、2つの配列の「%類似性」がその後に決定され得る関連した「スコア」を有する。

【0087】

2つ以上の配列の同一性および類似性を比較するための方法はこの分野では十分に知られている。したがって、例えば、ウイスコンシン配列分析パッケージのバージョン9.1 (Devereux J. 他、Nucleic Acids Res、12、387~395、1984; Genetic Computer Group (Madison、Wisconsin、米国) から入手可能) において利用できるプログラム、例えば、BESTFITプログラムおよびGAPプログラムを使用して、2つのポリヌクレオチド間の%同一性ならびに2つのポリペプチド配列間の%同一性および%類似性を決定することができる。BESTFITは、SmithおよびWatermanの「局所的相同性」アルゴリズム (J Mol Biol、147、195~197、1981、Advances in Applied Mathematics、2、482~489、1981) を使用して、2つの配列間における類似性の最も良い1つの領域を見出す。BESTFITは、長さが類似していない2つのポリヌクレオチド配列または2つのポリペプチド配列を比較することに対してより適している。このプログラムは、短い方の配列が長い方の配列の一部を表すことを仮定している。比較において、GAPは、NeddllemanおよびWunschのアルゴリズム (J Mol Biol、48、443~453、1970) に従って2つの配列をアラインメントし、これにより「最大の類似性」が見出される。GAPは、ほぼ同じの長さである配列を比較することに対してより適しており、そしてアラインメントが長さ全体にわたって予想される。好ましくは、それぞれのプログラムにおいて使用される「ギャップ加重」および「長さ加重」のパラメーターは、それぞれ、ポリヌクレオチド配列の場合には50および3であり、ポリペプチド配列の場合には12および4である。好ましくは、%同一性および類似性は、比較されている2つの配列が最適にアラインメントされたときに決定される。

【0088】

配列間の同一性および/または類似性を決定するための他のプログラムもまた

この分野では知られている：例えば、BLASTファミリーのプログラム (Altschul SF他、J Mol Biol、215、403~410、1990；Altschul SF他、Nucleic Acids Res.、25：389~3402、1997；National Center for Biotechnology Information (NCBI) (Bethesda、Maryland、米国) から入手可能であり、www.ncbi.nlm.nih.govにおけるNCBIのホームページからアクセス可能である)、およびFASTA (Pearson WR、Methods in Enzymology、183、63~99、1990；Pearson WRおよびLipman DJ、Proc. Nat. Acad. Sci. USA、85、2444~2448、1988；ウイスコンシン配列分析パッケージの一部として入手可能)。

【0089】

好ましくは、BLOSUM62アミノ酸置換行列 (Henikoff SおよびHenikoff J G、Proc. Nat. Acad. Sci. USA、89、10915~10919、1992) が、比較前にヌクレオチド配列がアミノ酸配列に最初に翻訳される場合を含むポリペプチド配列比較において使用される。

【0090】

好ましくは、プログラムBESTFITが、基準ポリヌクレオチド配列またはポリペプチド配列に関する質問ポリヌクレオチド配列またはポリペプチド配列の%同一性を決定するために使用される。この場合、質問配列および基準配列は最適にアラインメントされており、プログラムのパラメーターは、本明細書中前記に記載されているように設定省略時の既定値に設定されている。

【0091】

「同一性指標」は、候補配列 (ポリヌクレオチドまたはポリペプチド) を基準配列と比較するために使用され得る配列関連性の尺度である。したがって、例えば、基準ポリヌクレオチド配列と比較したときに、例えば0.95の同一性指標を有する候補ポリヌクレオチド配列は、候補ポリヌクレオチド配列が基準配列の

各100ヌクレオチドあたり平均して5個までの違いを含み得ることを除いて基準配列と同一である。そのような違いは、少なくとも1つのヌクレオチドの欠失、トランジションおよびトランスバージョンを含む置換、または挿入からなる群から選択される。これらの違いは、基準ポリヌクレオチド配列の5'末端位置または3'末端位置に、あるいはこれらの末端位置の間の任意のところに、基準配列内のヌクレオチド間に個々に、あるいは基準配列内において1つまたは2つ以上の連続した群で点在して存在し得る。すなわち、基準ポリヌクレオチド配列と比較したときに0.95の同一性指標を有するポリヌクレオチド配列を得るためには、本明細書中前記に記載されているように、基準配列において100個毎に平均して5個までのヌクレオチドの欠失、置換または挿入がその任意の組合せで存在していてもよい。同じことが、同一性指標の他の値、例えば、0.96、0.97、0.98および0.99について必要に応じて変更して適用される。

【0092】

同様に、ポリペプチドの場合、基準ポリペプチド配列と比較したときに、例えば、0.95の同一性指標を有する候補ポリペプチド配列は、基準配列の各100アミノ酸あたり平均して5個までの違いをポリペプチド配列が含み得ることを除いて基準配列と同一である。そのような違いは、少なくとも1つのアミノ酸の欠失、保存的置換および非保存的置換を含む置換、または挿入からなる群から選択される。これらの違いは、基準ポリペプチド配列のアミノ末端位置またはカルボキシ末端位置に、あるいはこれらの末端位置の間の任意のところに、基準配列内のアミノ酸間に個々に、あるいは基準配列内において1つまたは2つ以上の群で点在して存在し得る。すなわち、基準ポリペプチド配列と比較したときに0.95の同一性指標を有するポリペプチド配列を得るためには、本明細書中前記に記載されているように、基準配列において100個毎に平均して5個までのアミノ酸の欠失、置換または挿入がその任意の組合せで存在していてもよい。同じことが、同一性指標の他の値、例えば、0.96、0.97、0.98および0.99について必要に応じて変更して適用される。

【0093】

ヌクレオチドまたはアミノ酸の相違数と同一性指標との関係は下記の式で表す

ことができる。

【0094】

$$n_a \times x_a - (x_a \cdot I)$$

式中、

n_a はヌクレオチドまたはアミノ酸の相違数であり、

x_a はSEQ ID NO: 1またはSEQ ID NO: 2におけるヌクレオチドまたはアミノ酸のそれぞれの総数であり、

I は同一性指標であり、

「 $\cdot$ 」は乗算演算子の記号であり、

この場合、 x_a と I との非整数の積は最も近い整数に切り捨てられ、その後、その値が x_a から引かれる。

【0095】

「ホモログ」は、基準配列に対する大きな程度の配列関連性を有するポリヌクレオチド配列またはポリペプチド配列を示すためにこの分野で使用されている包括的な用語である。そのような関連性は、本明細書中前記に定義されているように2つの配列間の同一性および/または類似性の程度を決定することによって定量化され得る。この包括的な用語には、「オルソログ」および「パラログ」の用語が含まれる。「オルソログ」は、別の種におけるポリヌクレオチドまたはポリペプチドの機能的等価体であるポリヌクレオチドまたはポリペプチドをいう。「パラログ」は、機能的に類似している同じ種におけるポリヌクレオチドまたはポリペプチドをいう。

【0096】

「融合タンパク質」は、2つの関連しない融合された遺伝子またはその断片によってコードされるタンパク質をいう。例が、米国特許第5541087号、同第5726044号に開示されている。Fc-PGPCR-3の場合、融合タンパク質の一部として免疫グロブリンのFc領域を用いることは、Fc-PGPCR-3またはPGPCR-3の断片を機能的に発現させて、治療に使用されたときのそのような融合タンパク質の薬物動態学的性質を改善するために、そして二量体のPGPCR-3を形成させるためには好都合である。Fc-PGPCR-

3のDNA構築物は、5'から3'の方向で、分泌カセット（すなわち、哺乳動物細胞からの細胞外への輸送を引き起こすシグナル配列）、融合パートナーとして免疫グロブリンFc領域断片をコードするDNA、およびFc-PGPCR-3またはその断片をコードするDNAを含む。使用に応じて、機能的なFc側を変異させ、一方、融合タンパク質の残りの部分を変化させないままにすることによって固有的な機能的性質（補体結合、Fc受容体結合）を変化させ得るか、あるいは発現後にFc部分を完全に除き得ることは望ましい。

【0097】

特許および特許出願（これらに限定されない）を含む、本明細書中に引用されているすべての刊行物および参考文献は、個々の刊行物または参考文献のそれぞれが、完全に示されているように本明細書中に参考として組み込まれることが明示的かつ個々に示されているかのように、その全体が参考として本明細書中に組み込まれる。本出願が優先権を主張するすべての特許出願もまた、刊行物および参考文献に関して上記に記載されている様式でその全体が参考として本明細書中に組み込まれる。

【0098】

（実施例）

実施例1

哺乳動物細胞での発現

本発明の受容体は、ヒト胚性腎臓293（HEK293）細胞または接着性dhfrCHO細胞のいずれかで発現させられる。受容体の発現を最大にするために、典型的には、5'および3'の非翻訳領域（UTR）のすべてが、pCDNベクターまたはpCDNA3ベクターへの挿入前に受容体cDNAから除かれる。細胞はリポフェクチンによって個々の受容体cDNAでトランスフェクションされ、400mg/mlのG418の存在下で選択される。3週間の選択を行った後、さらなる分析のために、個々のクローンを選び、拡大培養する。ベクター単独でトランスフェクションされたHEK293細胞またはCHO細胞は陰性コントロールとして役立つ。個々の受容体を安定的に発現する細胞株を単離するために、約24個のクローンが典型的には選択され、ノーザンブロット分析によ

て分析される。受容体のmRNAが、一般には、分析されたG418耐性クローンの約50%において検出され得る。

【0099】

実施例2

結合アッセイおよび機能的アッセイのためのリガンドバンク

600を超える推定的な受容体リガンドのバンクをスクリーニングのために組み立てた。このバンクは、ヒトの7膜貫通型(7TM)受容体を介して作用することが知られている伝達物質、ホルモンおよびケモカイン；ヒトの7TM受容体に対する推定的なアゴニストであり得る天然に存在する化合物；哺乳動物の対応体が未だ同定されていない非哺乳動物の生物学的に活性なペプチドに対する推定的なアゴニストであり得る天然に存在する化合物；ならびに天然には見出されていないが、未知の天然リガンドによって7TM受容体を活性化する化合物を含む。このバンクは、機能的な(すなわち、カルシウム、cAMP、微量生理機能測定計(microphysiometer)、卵母細胞電気生理学(oocyte electrophysiology)など、下記参照)アッセイおよび結合アッセイの両方を使用して既知のリガンドに対する受容体を最初にスクリーニングするために使用される。

【0100】

実施例3

リガンド結合アッセイ

リガンド結合アッセイは、受容体の薬理学を確認するための直接的な方法を提供し、高処理能様式に適合し得る。受容体に対する精製されたりガンドは、結合研究のために高比活性(50~2000Ci/mmol)に放射能標識される。その後、放射能標識プロセスによりその受容体に対するリガンドの活性が低下していないことが測定される。緩衝液、イオン、pH、およびヌクレオチドなどの他の調節因子に関するアッセイ条件が、膜および細胞全体の両方の受容体源について使用可能なシグナル対ノイズ比を確立するために最適化される。これらのアッセイの場合、特異的な受容体結合は、(結合した総放射能)-(過剰な未標識の競合リガンドの存在下で測定された放射能)として定義される。可能な場合には、2つ以上の競合リガンドを使用して、残存する非特異的な結合が規定される

。

【0101】

実施例4

アフリカツメガエル (*Xenopus*) 卵母細胞における機能的アッセイ

本発明の受容体 cDNA をコードする線状化プラスミドテンプレートから得られたキャップ化 RNA 転写物を、標準的な手法に従って RNA ポリメラーゼを用いて *in vitro* で合成する。*in vitro* 転写物を 0.2 mg/ml の最終濃度で水に懸濁する。卵巣葉がメスの成体カエルから取り出される。第 V 期の脱卵胞化 (defolliculated) 卵母細胞を得て、RNA 転写物 (10 ng / 卵母細胞) を、顕微注入装置を使用して 50 nl ボールスで注入する。2つの電極電圧クランプを使用して、アゴニスト曝露に応答する個々のアフリカツメガエル卵母細胞からの電流を測定する。記録は、 Ca^{2+} を含まない Barth 培地において室温で行われる。アフリカツメガエルの系は、既知のリガンドおよび組織 / 細胞抽出物をリガンドの活性化についてスクリーニングするために使用することができる。

【0102】

実施例5

微量生理機能測定アッセイ

種々の二次メッセンジャーシステムの活性化は、少量の酸を細胞から噴出させる。生成された酸は、主として、細胞内のシグナル変換プロセスにエネルギーを供給するために必要とされる増大した代謝活性の結果である。細胞周囲の培地における pH 変化は非常に小さいが、CYTOSENSOR 微量生理機能測定計 (Molecular Devices Ltd., Menlo Park, CA) によって検出可能である。従って、CYTOSENSOR は、本発明の G タンパク質結合受容体などのエネルギー利用の細胞内シグナル変換経路に共役している受容体の活性化を検出することができる。

【0103】

実施例6

抽出物 / 細胞上清のスクリーニング

今のところ同族の活性化リガンド（アゴニスト）が依然として存在していない哺乳動物受容体が非常に多く存在する。したがって、これらの受容体に対する活性なリガンドが、今日までに同定されたりガンドバンクに含まれていない場合がある。したがって、本発明の7 T M受容体はまた、天然のリガンドを同定するために、（カルシウム、c A M P、微量生理機能測定計、卵母細胞電気生理学などの機能的スクリーニングを使用して）組織抽出物に対して機能的にスクリーニングされる。陽性の機能的応答をもたらす抽出物は、活性化リガンドが単離および同定されるまで順次分画化することができる。

【0104】

実施例7

カルシウムおよびc A M Pの機能的アッセイ

H E K 2 9 3細胞において発現する7 T M受容体は、P L Cおよびカルシウム動員の活性化ならびに/またはc A M Pの刺激もしくは阻害に機能的に共役していることが示されている。受容体でトランスフェクションされた細胞またはベクターコントロール細胞におけるH E K 2 9 3細胞内のベースのカルシウムレベルは、100 n M ~ 200 n Mの正常な範囲にあることが認められた。組換え受容体を発現するH E K 2 9 3細胞にf u r a 2を1日負荷して、> 150個の選択されたりガンドまたは組織/細胞抽出物について、アゴニストにより誘導されるカルシウム動員について評価される。同様に、組換え受容体を発現するH E K 2 9 3細胞が、標準的なc A M P定量アッセイを使用してc A M P産生の刺激または阻害について評価される。カルシウムの過渡現象またはc A M P変動を示すアゴニストがベクターコントロール細胞において試験され、その応答が、受容体を発現するトランスフェクションされた細胞に対して特徴的であるかどうかが決定的される。

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> Merck Patent GmbH

5 <120> Novel G-Protein coupled receptor

<130> PGPCR-3KDWS

<140>

10 <141>

<160> 2

<170> PatentIn Ver. 2.1

15 <210> 1

<211> 1092

<212> DNA

<213> Homo sapiens

20 <220>

<221> CDS

<222> (1)..(1092)

25 <400> 1

atg ggc ccc ggc gag gcg ctg ctg gcg ggt ctc ctg gtg atg gta ctg 48

Met Gly Pro Gly Glu Ala Leu Leu Ala Gly Leu Leu Val Met Val Leu

1 5 10 15

30 gcc gtg gcg ctg cta tcc aac gca ctg gtg ctg ctt tgt tgc gcc tac 96

Ala Val Ala Leu Leu Ser Asn Ala Leu Val Leu Leu Cys Cys Ala Tyr

20 25 30

35 agc gct gag ctc cgc act cga gcc tca ggc gtc ctc ctg gtg aat ctg 144

Ser Ala Glu Leu Arg Thr Arg Ala Ser Gly Val Leu Leu Val Asn Leu

35 40 45

40 tct ctg ggc cac ctg ctg ctg gcg gcg ctg gac atg ccc ttc acg ctg 192

Ser Leu Gly His Leu Leu Leu Ala Ala Leu Asp Met Pro Phe Thr Leu

50 55 60

45 ctc ggt gtg atg cgc ggg cgg aca ccg tcg gcg ccc gcc gca tgc caa 240

Leu Gly Val Met Arg Gly Arg Thr Pro Ser Ala Pro Gly Ala Cys Gln

65 70 75 80

50 gtc att ggc ttc ctg gac acc ttc ctg gcg tcc aac gcg gcg ctg agc 288

Val Ile Gly Phe Leu Asp Thr Phe Leu Ala Ser Asn Ala Ala Leu Ser

85 90 95

55 gtg gcg gcg ctg agc gca gac cag tgg ctg gca gtg gcc ttc cca ctg 336

Val Ala Ala Leu Ser Ala Asp Gln Trp Leu Ala Val Gly Phe Pro Leu

100 105 110

60 cgc tac gcc gga cgc ctg cga ccg cgc tat gcc gcc ctg ctg ctg gcc 384

Arg Tyr Ala Gly Arg Leu Arg Pro Arg Tyr Ala Gly Leu Leu Leu Gly

115 120 125

70 tgt gcc tgg gga cag tcg ctg gcc ttc tca gcc gct gca ctt gcc tgc 432

Cys Ala Trp Gly Gln Ser Leu Ala Phe Ser Gly Ala Ala Leu Gly Cys

130 135 140

	tcg tgg ctt ggc tac agc agc gcc ttc gcg tcc tgt tcg ctg cgc ctg	480
	Ser Trp Leu Gly Tyr Ser Ser Ala Phe Ala Ser Cys Ser Leu Arg Leu	
	145 150 155 160	
5	ccg ccc gag cct gag cgt ccg cgc ttc gca gcc ttc acc gcc acg ctg	528
	Pro Pro Glu Pro Glu Arg Pro Arg Phe Ala Ala Phe Thr Ala Thr Leu	
	165 170 175	
10	cat gcc gtg ggc ttc gtg ctg ccg ctg gcg gtg ctg tgc ctg acc tcg	576
	His Ala Val Gly Phe Val Leu Pro Leu Ala Val Leu Cys Leu Thr Ser	
	180 185 190	
	ctc cag gtg cac cgg gtg gca cgc aga cac tgc cag cgc atg gac acc	624
	Leu Gln Val His Arg Val Ala Arg Arg His Cys Gln Arg Met Asp Thr	
15	195 200 205	
	gtc acc atg aag gcg ctg gcg ctg ctg gcc gac ctg cac ccc agt gtg	672
	Val Thr Met Lys Ala Leu Ala Leu Leu Ala Asp Leu His Pro Ser Val	
	210 215 220	
20	cgg cag cgc tgc ctg atc cag cag aag cgg cgc cgc cac cgc gcc acc	720
	Arg Gln Arg Cys Leu Ile Gln Gln Lys Arg Arg Arg His Arg Ala Thr	
	225 230 235 240	
25	agg aag att ggc att gct att gcg acc ttc ctg atc tgc ttt gcc ccg	768
	Arg Lys Ile Gly Ile Ala Ile Ala Thr Phe Leu Ile Cys Phe Ala Pro	
	245 250 255	
	tat gtc atg acc agg ctg gcg gag ctg gtg ccc ttc gtc acc gtg aac	816
30	Tyr Val Met Thr Arg Leu Ala Glu Leu Val Pro Phe Val Thr Val Asn	
	260 265 270	
	gcc cag tgg ggc atc ctg agc aag tgc ctg acc tac agc aag gcg gtg	864
	Ala Gln Trp Gly Ile Leu Ser Lys Cys Leu Thr Tyr Ser Lys Ala Val	
35	275 280 285	
	gcc gac ccg ttc acg tac tct ctg ctg cgc cgg ccg ttc cgc caa gtc	912
	Ala Asp Pro Phe Thr Tyr Ser Leu Leu Arg Arg Pro Phe Arg Gln Val	
	290 295 300	
40	ctg gcc ggc atg gtg cac cgg ctg ctg aag aga acc ccg cgc cca gca	960
	Leu Ala Gly Met Val His Arg Leu Leu Lys Arg Thr Pro Arg Pro Ala	
	305 310 315 320	
45	tcc acc cat gac agc tct ctg gat gtg gcc gcc atg gtg cac cag ctg	1008
	Ser Thr His Asp Ser Ser Leu Asp Val Ala Gly Met Val His Gln Leu	
	325 330 335	
	ctg aag aga acc ccg cgc cca gcg tcc acc cac aac gcc tct gtg gac	1056
50	Leu Lys Arg Thr Pro Arg Pro Ala Ser Thr His Asn Gly Ser Val Asp	
	340 345 350	
	aca gag aat gat tcc tgc ctg cag cag aca cac tga	1092
55	Thr Glu Asn Asp Ser Cys Leu Gln Gln Thr His	
	355 360	

```

<210> 2
<211> 363
<212> PRT
5 <213> Homo sapiens

<400> 2
Met Gly Pro Gly Glu Ala Leu Leu Ala Gly Leu Leu Val Met Val Leu
1 5 10 15
10 Ala Val Ala Leu Leu Ser Asn Ala Leu Val Leu Leu Cys Cys Ala Tyr
20 25 30
Ser Ala Glu Leu Arg Thr Arg Ala Ser Gly Val Leu Leu Val Asn Leu
35 40 45
15 Ser Leu Gly His Leu Leu Leu Ala Ala Leu Asp Met Pro Phe Thr Leu
50 55 60
Leu Gly Val Met Arg Gly Arg Thr Pro Ser Ala Pro Gly Ala Cys Gln
65 70 75 80
Val Ile Gly Phe Leu Asp Thr Phe Leu Ala Ser Asn Ala Ala Leu Ser
85 90 95
20 Val Ala Ala Leu Ser Ala Asp Gln Trp Leu Ala Val Gly Phe Pro Leu
100 105 110
Arg Tyr Ala Gly Arg Leu Arg Pro Arg Tyr Ala Gly Leu Leu Leu Gly
115 120 125
Cys Ala Trp Gly Gln Ser Leu Ala Phe Ser Gly Ala Ala Leu Gly Cys
25 130 135 140
Ser Trp Leu Gly Tyr Ser Ser Ala Phe Ala Ser Cys Ser Leu Arg Leu
145 150 155 160
Pro Pro Glu Pro Glu Arg Pro Arg Phe Ala Ala Phe Thr Ala Thr Leu
165 170 175
30 His Ala Val Gly Phe Val Leu Pro Leu Ala Val Leu Cys Leu Thr Ser
180 185 190
Leu Gln Val His Arg Val Ala Arg Arg His Cys Gln Arg Met Asp Thr
195 200 205
Val Thr Met Lys Ala Leu Ala Leu Leu Ala Asp Leu His Pro Ser Val
210 215 220
35 Arg Gln Arg Cys Leu Ile Gln Gln Lys Arg Arg Arg His Arg Ala Thr
225 230 235 240
Arg Lys Ile Gly Ile Ala Ile Ala Thr Phe Leu Ile Cys Phe Ala Pro
245 250 255
40 Tyr Val Met Thr Arg Leu Ala Glu Leu Val Pro Phe Val Thr Val Asn
260 265 270
Ala Gln Trp Gly Ile Leu Ser Lys Cys Leu Thr Tyr Ser Lys Ala Val
275 280 285
Ala Asp Pro Phe Thr Tyr Ser Leu Leu Arg Arg Pro Phe Arg Gln Val
45 290 295 300
Leu Ala Gly Met Val His Arg Leu Leu Lys Arg Thr Pro Arg Pro Ala
305 310 315 320
Ser Thr His Asp Ser Ser Leu Asp Val Ala Gly Met Val His Gln Leu
325 330 335
50 Leu Lys Arg Thr Pro Arg Pro Ala Ser Thr His Asn Gly Ser Val Asp
340 345 350
Thr Glu Asn Asp Ser Cys Leu Gln Gln Thr His
355 360

```

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inter. Application No. PCT/EP 00/07454	
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 C07K14/72 C12N15/12 C07K16/28 G01N33/53 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 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, PAJ, WPI Data, BIOSIS	
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT	
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages Relevant to claim No.
X	EMBL database, Heidelberg, Germany 23-03-99 AC = AC007104. Homo sapiens chromosome 4, 16 unordered pieces. HTG XP002150856 abstract
A	WD 99 37679 A (ROBISON KEITH ; GLUCKSMANN M ALEXANDRA (US); MILLENNIUM PHARMACEUTI) 29 July 1999 (1999-07-29) abstract page 1, line 1 -page 3, line 22 page 9, line 20-26 page 29, line 1 -page 49, line 30 SEQ.ID.N.1 --- -/--
☒ Further documents are listed in the continuation of box C.	
☒ 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. '&' document member of the same patent family	
Date of the actual completion of the international search 15 December 2000	Date of mailing of the international search report 28/12/2000
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer Mateo Rosell, A.M.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 00/07454

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9937679	A	29-07-1999	US 5945307 A	31-08-1999
			AU 2236999 A	09-08-1999
			EP 1056777 A	06-12-2000
WO 9803548	A	29-01-1998	AU 3711597 A	10-02-1998
			CA 2260745 A	29-01-1998
			EP 0912610 A	06-05-1999

フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テマコード [*] (参考)	
C 1 2 N	1/19	C 1 2 N	1/21	4 C 0 8 4
	1/21	C 1 2 P	21/02	C 4 C 0 8 5
	5/10	C 1 2 Q	1/02	4 H 0 4 5
C 1 2 P	21/02	G 0 1 N	33/15	Z
C 1 2 Q	1/02		33/50	Z
G 0 1 N	33/15	A 6 1 K	39/00	H
	33/50		39/395	D
// A 6 1 K	38/00			N
	39/00		45/00	
	39/395	A 6 1 P	3/04	
			3/10	
	45/00		9/02	
A 6 1 P	3/04		9/10	
	3/10		9/12	
	9/02		11/06	
	9/10		13/08	
	9/12		19/10	
	11/06		25/06	
	13/08		25/16	
	19/10		25/18	
	25/06		25/22	
	25/16		25/24	
	25/18		25/28	
	25/22		31/04	
	25/24		31/10	
	25/28		31/18	
	31/04		35/00	
	31/10		37/08	
	31/18	C 1 2 N	15/00	Z N A A
	35/00		5/00	A
	37/08	A 6 1 K	37/02	
(71)出願人	Frankfurter Str. 250 , D - 64293 Darmstadt , Fed eral Republic of Ge rmany			
(72)発明者	デュッセル、 クラウス ドイツ連邦共和国 64291 ダルムシュタ ット エッテスターシュトラッセ 5			

F ターム(参考) 2G045 AA40 BA11 BB50 DA12 DA13
DA14 DA36 FB02
4B024 AA01 AA11 BA63 CA04 CA12
DA02 DA03 GA13 HA14 HA17
4B063 QA18 QQ08 QR77 QX04 QX07
4B064 AG20 CA19 CC24 DA01 DA13
4B065 AA90X AA91X AA93Y AB01
BA01 CA24 CA44 CA46
4C084 AA02 AA06 AA07 AA17 BA01
BA02 DC50 NA14 ZA02 ZA08
ZA18 ZA36 ZA38 ZA40 ZA42
ZA43 ZA59 ZA68 ZA70 ZA81
ZA83 ZA97 ZB13 ZB26 ZB32
ZB33 ZB35 ZC35 ZC55
4C085 AA03 AA13 AA14 BB11 DD62
DD63 EE01
4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 BA10
BA41 CA40 DA50 DA75 EA20
EA50 FA74

专利名称(译)	PGPCR-3多肽及其DNA序列		
公开(公告)号	JP2003510027A	公开(公告)日	2003-03-18
申请号	JP2001517571	申请日	2000-08-02
申请(专利权)人(译)	默克专利GESELLSCHAFT手套Beshurenkuteru Hafutongu		
[标]发明人	デュッケルクラウス		
发明人	デュッケル、 クラウス		
IPC分类号	G01N33/50 A61K38/00 A61K39/00 A61K39/395 A61K45/00 A61P3/04 A61P3/10 A61P9/02 A61P9/10 A61P9/12 A61P11/06 A61P13/08 A61P19/10 A61P25/06 A61P25/16 A61P25/18 A61P25/22 A61P25/24 A61P25/28 A61P31/04 A61P31/10 A61P31/18 A61P35/00 A61P37/08 C07K14/705 C07K14/72 C07K16/28 C07K19/00 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C12N5/09 C12N5/12 C12P21/02 C12Q1/02 G01N33/15 G01N33/53		
CPC分类号	A61P3/10 A61P11/06 A61P13/08 A61P19/10 A61P25/06 A61P25/16 A61P25/18 A61P25/22 A61P25/24 A61P25/28 A61P31/04 A61P31/10 A61P31/18 A61P35/00 C07K14/723 C07K2319/00		
FI分类号	C07K14/705 C07K16/28 C07K19/00 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12P21/02.C C12Q1/02 G01N33/15.Z G01N33/50.Z A61K39/00.H A61K39/395.D A61K39/395.N A61K45/00 A61P3/04 A61P3/10 A61P9/02 A61P9/10 A61P9/12 A61P11/06 A61P13/08 A61P19/10 A61P25/06 A61P25/16 A61P25/18 A61P25/22 A61P25/24 A61P25/28 A61P31/04 A61P31/10 A61P31/18 A61P35/00 A61P37/08 C12N15/00.ZNA. A C12N5/00.A A61K37/02		
F-TERM分类号	2G045/AA40 2G045/BA11 2G045/BB50 2G045/DA12 2G045/DA13 2G045/DA14 2G045/DA36 2G045/FB02 4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/BA63 4B024/CA04 4B024/CA12 4B024/DA02 4B024/DA03 4B024/GA13 4B024/HA14 4B024/HA17 4B063/QA18 4B063/QQ08 4B063/QR77 4B063/QX04 4B063/QX07 4B064/AG20 4B064/CA19 4B064/CC24 4B064/DA01 4B064/DA13 4B065/AA90X 4B065/AA91X 4B065/AA93Y 4B065/AB01 4B065/BA01 4B065/CA24 4B065/CA44 4B065/CA46 4C084/AA02 4C084/AA06 4C084/AA07 4C084/AA17 4C084/BA01 4C084/BA02 4C084/DC50 4C084/NA14 4C084/ZA02 4C084/ZA08 4C084/ZA18 4C084/ZA36 4C084/ZA38 4C084/ZA40 4C084/ZA42 4C084/ZA43 4C084/ZA59 4C084/ZA68 4C084/ZA70 4C084/ZA81 4C084/ZA83 4C084/ZA97 4C084/ZB13 4C084/ZB26 4C084/ZB32 4C084/ZB33 4C084/ZB35 4C084/ZC35 4C084/ZC55 4C085/AA03 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/BB11 4C085/DD62 4C085/DD63 4C085/EE01 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/BA41 4H045/CA40 4H045/DA50 4H045/DA75 4H045/EA20 4H045/EA50 4H045/FA74		
优先权	1999116093 1999-08-17 EP		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

公开了PGPCR-3多肽及其多核苷酸以及通过重组技术生产这种多肽的方法。 还公开了在诊断测定中使用PGPCR-3多肽及其多核苷酸的方法。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		Inv. no. Application No. PCT/EP 00/07454
CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC C07K14/00 C12N15/12 C07K16/28 G01N33/53		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
D. FIELDS SEARCHED IPC 7 C12N		
Documents searched other than patent 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) EPD-internal, STRAND, PAJ, WPI Data, BIOSIS		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Reference to claim no.
X	EMBL database, Heidelberg, Germany 23-03-99 AC = AC007104. Homo sapiens chromosome 4, 16 unordered pieces, HTS XP002160856 abstract	1-5
A	WD 99 37679 A (ROBISON KEITH ; GLUCKSMANN M ALEXANDRA (US); MILLENNIUM PHARMACEUTICAL) 29 July 1999 (1999-07-29) abstract page 1, line 1 -page 3, line 22 page 9, line 20-26 page 29, line 1 -page 49, line 30 SEQ.ID.N.1	1-11
☒ Further documents are listed in the continuation of box C.		
☒ Patent family members are listed in annex.		
* General categories of cited documents: "A" document relating to the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "L" document relating to the prior art which is of particular relevance "R" document relating to the prior art which is of particular relevance "Y" document relating to the prior art which is of particular relevance "U" document relating to the prior art which is of particular relevance "W" document relating to the prior art which is of particular relevance "X" document relating to the prior art which is of particular relevance "Z" document relating to the prior art which is of particular relevance		
Date of the international search report: 15 December 2000		
Date of mailing of the international search report: 28/12/2000		
Name and mailing address of the ISA: European Patent Office, P.O. Box 2911, 6000 Luxembourg Fax: (+352) 4601-2045 Te: (+352) 4601-2046		
Authorized officer: Matteo Roselli, A.M.		