

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開2002 - 171981

(P2002 - 171981A)

(43)公開日 平成14年6月18日(2002.6.18)

(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	4 B 0 2 4
C 0 7 K 14/705		16/28	4 B 0 6 4
16/28		C 1 2 P 21/08	4 C 0 8 5
C 1 2 N 15/01		G 0 1 N 33/53	D 4 H 0 4 5
C 1 2 P 21/08		A 6 1 K 39/395	D
審査請求 未請求 請求項の数 8 O L (全 12数) 最終頁に続く			

(21)出願番号 特願2000 - 369125(P2000 - 369125)

(22)出願日 平成12年12月4日(2000.12.4)

(71)出願人 000253503

麒麟麦酒株式会社

東京都中央区新川二丁目10番1号

(72)発明者 渡会 浩志

群馬県高崎市宮原町3番地 麒麟麦酒株式会
社医薬探索研究所内

(72)発明者 山口 泰範

群馬県高崎市宮原町3番地 麒麟麦酒株式会
社医薬探索研究所内

(74)代理人 100091096

弁理士 平木 祐輔 (外 1 名)

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 新規樹状細胞膜分子及びその用途

(57)【要約】 (修正有)

【課題】 ヒト樹状細胞 (D C) の成熟化に伴い発現が
顕著に上昇する膜分子の提供。

【解決手段】 特定のアミノ酸配列を有するヒト樹状細
胞膜分子及びその変異体、それらをコードする D N A、
並びに、膜分子又は変異体を用いて樹状細胞を分離又は
検出する方法。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 配列番号 1 に示されるアミノ酸配列を有するヒト樹状細胞膜分子、あるいは該アミノ酸配列において1個もしくは複数のアミノ酸残基の欠失、置換、挿入および/または付加を含む、免疫応答を制御し得るその変異体。

【請求項 2】 請求項 1 に記載のヒト樹状細胞膜分子または変異体をコードする DNA。

【請求項 3】 配列番号 2 に示される塩基配列を有することを特徴とする、請求項 2 に記載の DNA。

【請求項 4】 請求項 1 に記載のヒト樹状細胞膜分子もしくはその変異体またはそれらの断片と特異的に免疫結合する抗体。

【請求項 5】 前記ヒト樹状細胞膜分子の細胞外領域を認識することを特徴とする、請求項 4 に記載の抗体。

【請求項 6】 ポリクローナル抗体またはモノクローナル抗体であることを特徴とする、請求項 4 または 5 に記載の抗体。

【請求項 7】 請求項 4 ~ 6 のいずれか一項に記載の抗体を用いてヒトまたは他の動物由来の成熟樹状細胞を分離する方法。

【請求項 8】 請求項 4 ~ 6 のいずれか一項に記載の抗体を用いて成熟樹状細胞を検出する方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、ヒト樹状細胞 (Dendritic Cell; 以下 DC ともいう)、特に成熟樹状細胞に発現する膜分子、該膜分子をコードする DNA、該膜分子に対する抗体、並びに該抗体を用いた成熟 DC 分離法および成熟 DC 検出法に関する。

【0002】

【従来の技術】自己免疫疾患の発症には 遺伝的背景、組織炎症反応のため遊離された本来免疫系にさらされることのなかった自己抗原の曝露や、ウイルス・細菌などの炎症反応から派生する局所環境、すなわち活性化された T 細胞の認識ペプチドの相同性によるいわゆる交差反応性 T 細胞の活性化などからくる局所環境の変化、さらには 細胞膜上での副刺激分子 (costimulatory molecule) の異常発現によるトレランスの破綻が起こり誘導された自己反応性 T 細胞の存在、などからなる要素が関わっていると想定される。

【0003】正常組織の刺激を受けていない抗原提示細胞は、自己抗原を提示していたとしても副刺激分子の発現が制御されているため、T 細胞はアナジーに陥っており活性化されず自己寛容が維持されている。しかし、免疫異常状態においては過剰あるいは継続する副刺激分子の発現異常により自己反応性 T 細胞の活性化が生じた結果、自己免疫疾患が生じるのではないかという可能性が示唆されている。特に CD28/CD152 と CD80/CD86 間で生じるシグナルは T 細胞活性化のコントロールに重要かつ

ニークな働きをしており、このシグナルを調節することによる免疫治療がマウス実験モデルにおいて試行され、実際ヒトに対する治験も行なわれ始めている。

【0004】樹状細胞 (DC) は、生体内では骨髄に存在する CD34 陽性細胞を前駆細胞として分化・成熟し、抗原提示細胞 (APC) として、免疫応答の誘導、維持、拡大、調節において重要な役割を担っていることが知られている。1990 年代に入って、DC を前駆細胞からサイトカインで分化・誘導できるようになり、大量の DC を扱うようになって分子・細胞・生体レベルにおいて DC の免疫応答における役割の重要性が明らかになってくると共に、免疫制御の標的として注目されるようになった。

【0005】これまでの生物学的研究成果から、ヒト単球 (Monocyte; Mo ともいう) を GM-CSF 及び IL-4 存在下で培養することにより DC (monocyte-derived DC; mo-DC ともいう) を誘導することが可能であることが明らかとなっている [J. Leucocyte Biol., 59 巻、208-218 頁 (1996 年)]。この in vitro 分化誘導系は人工的な部分があるものの、実際に DC としての機能を有することが明らかとなってきた。DC の重要な機能は、抗原の細胞内への取り込み作用 (食作用) 及びその抗原の情報を T 細胞に伝えて T 細胞を刺激活性化することである。また、DC は分化の段階によって未成熟 DC (Immature DC) と成熟 DC (Mature DC) の二つに分別することができる。未成熟 DC 内に取りこまれた抗原は細胞内でプロセッシングを受け、抗原由来のペプチドとして DC 表面の MHC クラス II 分子上に提示される。CD4 陽性の抗原特異的ヘルパー T 細胞は、抗原受容体で抗原由来のペプチドと MHC クラス II 分子の複合体を認識し、共刺激分子からの刺激なども加わり、感作、活性化される。また、DC により MHC クラス I 分子を介して CD8 陽性の細胞傷害性 T 細胞 (CTL) も刺激、活性化される。食作用は未成熟 mo-DC で強く、成熟 mo-DC では弱くなる。T 細胞への抗原提示能は、それに関連する CD40、CD80、CD86、MHC クラス I 分子、MHC クラス II 分子の発現の程度と一致して、未成熟 mo-DC では弱く、成熟 mo-DC になると強くなる。

【0006】ところで、抗原取込能から抗原提示能という機能変化に伴って細胞表面上に提示される膜分子の変化が起こることは想像に難くないが、この成熟化 (maturation) の過程でどのような事象が起こっているかを考えた場合に、細胞膜表面上に新たに発現した分子の発現はすべて mRNA の発現から起こるとは限らないという事実が存在する。例えば未熟な (Immature) 段階から発現が見られる HLA-DR が成熟化に伴って mRNA 及びタンパク質の発現量の変化をほとんど伴わずに細胞内から細胞膜表面上に移動 (translocation) するということが知られている。また、実際の mRNA の発現量とタンパク質の発現量を比較した場合にほとんど相関がない場合や、mRNA は発現しているのにタンパク質として翻訳されていない場合も存在する [Biochem. Biophys. Res. Commun., 231

巻、1-6頁（1997年）]。これまで遺伝子側からは増幅可能なこと、大量に解析することが可能なこと、ハンドリングが容易なこと、数々の手法が編み出せることなどから精力的に解析がなされてきたが、実際に発現しているタンパク質の変化を追うことができれば、そのような変化は細胞内の事象をよりよく反映しており現実に近いものということができるというのも事実である。

【0007】DCに関しては、上述の知見に加えて、DCにいくつかのサブセットが存在することも明らかになっているが、そのようなサブセットは成熟、未成熟で機能が異なることが知られている。しかしサブセット間でのそのような機能の違いが何に起因するのか、その答えは得られていない。少なくとも細胞内シグナリングに関与すると考えられる膜分子、特にDCの成熟化に伴って発現する膜分子、の解明が待たれるところである。

【0008】前述のように、生体内に存在する強力なAPCであるDCは活性化刺激に伴い成熟化すると、B7ファミリーに属するCD80/CD86を高発現することが知られている。自己免疫疾患との関わりについては、例えば慢性関節リウマチの関節液や乾癬の病巣部組織内、アレルギー性接触性皮膚炎の皮膚組織に存在するDCはCD80/CD86が異常発現になっていることが知られている。

【0009】CD28は、ナイーブT細胞の活性化を強力に増強させる特徴を有する。このCD28によるシグナルの存在によりIL-2の産生及びIL-2レセプターの発現が増強され、増殖反応が亢進し、結果的にT細胞の様々なエフェクター機能が増強されることになる。CD28シグナルはIL-2だけでなくIL-4、IL-5、IL-13、IFN-gamma、TNF-alpha、GM-CSFなど様々なサイトカイン産生も増強させる。またCD40リガンドのようなT細胞活性化抗原やIL-8、RANTESなどのケモカイン発現にも関与している。CD80あるいはCD86のCD28への結合がCD4陽性T細胞のTh1あるいはTh2への分化誘導に関与していることを示す多くの報告がある。しかし、CD80はTh1、CD86はTh2といったような一面的なものではなく、ナイーブCD4陽性T細胞の分化方向の決定は、CD28およびCD152シグナル以外にも抗原あるいはAPCそのものから規定されてくる様々な因子によって影響を受けると考えられる。しかしながら、CD28シグナルが特にナイーブT細胞のTh2分化・活性化において他の分子の機能によって代償されない重要な役割を担っていることが、CD28ノックアウトマウスにおけるTh2サイトカイン依存性の免疫グロブリンであるIgG1、IgG2bの選択的産生障害 [Science、261巻、609-612頁（1993年）] や DO11-10TCRトランスジェニックマウスCD4陽性T細胞とCD80/CD86ダブルノックアウトマウス由来APCによる抗原刺激によるTh2分化の選択的阻害 [J. Immunol.、161巻、2762-2771頁（1998年）] などの結果から裏付けられている。また、CD28シグナルのもうひとつの重要な役割として、bcl-xLのようなサバイバル因子の発現を増強させ、抗原刺激を受けた後のT細胞のアポトーシ

スを抑制することが挙げられる。

【0010】CD28が恒常的にT細胞に発現しているにもかかわらず、組織細胞においてCD80/CD86の発現が制御されているために、たとえ自己抗原に反応するT細胞が存在しても過剰な免疫反応が起こらないような仕組みになっている。このトレランス誘導システムが破綻した場合には、自己免疫疾患やアレルギー疾患等の様々な疾患が引き起こされる可能性を秘めている。脾臓beta細胞にCD80あるいはCD86を強制発現させただけでは脾臓への炎症性リンパ球浸潤は認められるが、自己免疫性糖尿病であるインスリン依存性糖尿病(IDDM)の発症には至らず、主要組織適合抗原(MHC)クラスII分子、TNF-alpha、あるいは自己抗原としてのウイルスタンパク質をCD80とともに発現させてはじめてbeta細胞の破綻を伴うIDDMを発症させることができる。このことはCD28-CD80/CD86シグナルに加え、T細胞レセプター(TCR)シグナルの強化を促すような環境下に置かれてはじめて自己免疫疾患が発症する可能性が示唆されている。

【0011】いくつかのヒト臓器特異的自己免疫疾患においてCD80/CD86の発現がDCやマクロファージのようなプロフェッショナルAPCにおける発現が報告されている。このように正常組織のAPCにおいては制御下にあるCD80/CD86が、疾患局所においては異常発現している例が数多く見つかってきており、自己免疫疾患との関連が示唆されている。

【0012】現在、自己免疫疾患の治療は副作用の多い非特異的な免疫抑制剤が中心である。副刺激(costimulation)阻害では、抗原特異的な抑制及び投与終了後における持続効果があり、投与期間短縮による副作用の軽減や感染症防御免疫反応の維持が期待できる。免疫系細胞の相互作用や機能が明らかになっていくのにしたがってより効果的な治療が行なわれることが期待される。活性化T細胞に発現がみられるCD28ファミリーの分子としてICOS(inducible T cell co-stimulator)やPD-1が見つかってきている。これらはそれぞれB7ファミリーに属するB7-H2、B7-H1がそのリガンドであることが明らかとなり、複数のB7ファミリーとCD28ファミリーを介したAPCによるT細胞副刺激(costimulation)の作用の差異の解明が待たれるところである。

【0013】

【発明が解決しようとする課題】本発明者らは、DCの機能発現に重要となるDCの成熟化に着目し、DCの成熟によって発現量が上昇する膜分子の同定を中心とした探索研究を、プロテオミクス(Proteomics)によるDCの成熟により発現が調節される膜分子の網羅的同定を基に実施してきた。プロテオミクスとは、タンパク質について、遺伝子のゲノミクス(Genomics)に対応した言葉であり、タンパク質の大規模研究を行うものである。タンパク質の発現量、翻訳後の修飾や相互作用などの性質を研究し、例えば正常細胞とがん細胞において発現タンパ

ク質レベルで何が起きているか、細胞内ネットワークやプロセスなどの全体的な生物学的情報を得るものである。

【0014】DCに特異的に存在する膜分子が同定されるならば、該膜分子に対する抗体の作製や、医療分野での該抗体の利用が可能となるだろう。本発明の目的は、強力なAPCである成熟DC上に発現している本分子を標的としてDCの機能制御による自己免疫疾患等を制御することである。また、該分子は成熟DCなどのAPCに発現し、T細胞活性化に関わる分子と予想されることから、該分子を

【0015】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、DCの成熟化により発現が調節される膜分子を探索研究した結果、未成熟DCと成熟DCとの間で、成熟DC特異的に発現がみられる新規膜分子を同定し、この分子がDCの成熟化に伴い、そのタンパク質レベルでの発現が顕著に上昇することを今回見出した。この膜分子は従来知られているB7ファミリーに属する4種の分子(B7-1, B7-2, B7-H1, B7-H2)と相同性を有していることが明らかとなった。これまで知られているB7ファミリーに属する4種の分子間の相同性はアミノ酸一致で25%前後であり、本膜分子と最も相同性の高い分子はB7-H1(B7-homologue 1)で39%であった。また本膜分子はB7ファミリーに特徴的な2つのイムノグロブリン(Ig)ドメインからなることが推定されており、立体構造の保持に必須のS-S結合に関わるCys残基の位置が保存されていた。これらのことから本膜分子は、新規の副刺激分子であることが予想された。

【0016】最近の研究成果から1) DCは不均一な細胞集団でありいくつかのサブセットが存在すること[Stem Cells, 15巻、409-419頁(1997年)]、2) DCサブセットはT細胞活性化において異なる機能(アポトーシス誘導、T細胞のTh1, Th2への分化誘導など)を持つこと[Science, 283巻、1183-1186頁(1999年)]、3) DCを介して免疫応答を制御することが可能であること(DC療法、DC特異的な薬剤、抗体、サイトカインなど)、が明らかになってきた。

【0017】ヒトDCサブセットとしては大別して、ミエロイド系DCとリンパ球系DCとがある。ミエロイド系DCには2つの分化経路が存在することが示されており[J. Exp. Med., 184巻、695-706頁(1996年)]、CD34陽性の造血幹細胞をGM-CSFとTNF- α で培養する系ではCD14陽性CD1a陰性およびCD14陰性CD1a陽性の前駆細胞が出現し、前者からは真皮(dermal)DC、後者からは表皮ランゲルハンス細胞に分化することが知られている。本発明者らが用いたmo-DCは生体内では前者由来のDCと類似しており、ミエロイド系DCに属すると考えられている。一方、ヒトリンパ球系DCは、形質細胞様のCD4陽性T細胞がIL-3存在下で未熟なDC(CD11c陰性、CD14陰性)へと分

化し、IL-3とCD40リガンドの刺激によりDCとして機能的に成熟することが知られている[J. Exp. Med., 185巻、1101-1111頁(1997年)]。また、mo-DCはCD40リガンドあるいはエンドトキシンによる刺激によりナイーブT細胞をTh1に分化・誘導する機能を有する所謂DC1に分化するという報告がある[Science, 283巻、1183-1186頁(1999年)]。このように本発明者らが用いたmo-DCは少なくともDC1に分化し得る一群であることがわかる。また、末梢血には少なくとも2つのDCサブセットが存在しており、系統マーカー(CD3、CD19、CD56、CD14)陰性、HLA-DR陽性、CD11c陽性と系統マーカー(CD3、CD19、CD56、CD14)陰性、HLA-DR陽性、CD11c陰性、CD123強陽性の表現型を示す。それらDCは成熟後、前者はDC1、後者はナイーブT細胞をTh2に分化・誘導する機能を有する所謂DC2であることが知られている[Blood, 95巻、2484-2490頁(2000年)]。

【0018】このように、本膜分子はmo-DCのmaturationに伴い発現が顕著に上昇していることなどの知見から、T細胞活性化に関連する分子であることが考えられ、免疫応答を制御するための標的分子としても期待される。一方、抗原をパルスした自己の末梢血DCを用いた癌ワクチンのパイロットスタディも行なわれており[Nature Med., 2巻、52-58頁(1996年)]、本膜分子の成熟DCでの発現の特異性を利用して、特異的抗体を用いてパルス後のDCの成熟化を確認することができる。また、その際の成熟DCと未成熟DCとの分離、成熟DCの検出などにも有用である。上記の知見に基き本発明を要約すると以下ようになる。

【0019】(1) 配列番号1に示されるアミノ酸配列を有するヒト樹状細胞膜分子、あるいは該アミノ酸配列において1個もしくは複数のアミノ酸残基の欠失、置換、挿入および/または付加を含む、免疫応答を制御し得るその変異体。

(2) 上記(1)に記載のヒト樹状細胞膜分子またはその変異体をコードするDNA。

【0020】(3) 配列番号2に示される塩基配列を有することを特徴とする、上記(2)に記載のDNA。

(4) 上記(1)に記載のヒト樹状細胞膜分子もしくはその変異体またはそれらの断片と特異的に免疫結合する抗体。

(5) 前記ヒト樹状細胞膜分子の細胞外領域を認識することを特徴とする、上記(4)に記載の抗体。

【0021】(6) ポリクローナル抗体またはモノクローナル抗体であることを特徴とする、上記(4)または(5)に記載の抗体。

(7) 上記(4)~(6)のいずれかに記載の抗体を用いてヒトまたは他の動物由来の成熟樹状細胞を分離する方法。

(8) 上記(4)~(6)のいずれかに記載の抗体を用いて成熟樹状細胞を検出する方法。

【0022】本明細書中で使用する本発明の抗体に関する「特異的に免疫結合する」という用語は、本発明の抗体が本膜分子のみが有するエピトープと免疫学的に交差反応し、B7ファミリーなどの他のタンパク質と交差反応しないことを意味する。このようなエピトープは、例えば本発明の膜分子のアミノ酸配列と他のタンパク質のアミノ酸配列とを整列比較することによって、本質的に異なる配列部分（連続する少なくとも5アミノ酸、好ましくは少なくとも8アミノ酸、さらに好ましくは少なくとも15アミノ酸）を選択することによって決定できる。

【0023】本明細書中で使用する「相同性」という用語は、2つ以上のアミノ酸配列または塩基配列間での配列の同一性または類似性を意味し、配列は例えば対角線図形法や頻度分布法などを含む慣用的方法で比較する。本明細書中で使用する「免疫応答を制御し得る」という用語は、本発明の天然型膜分子と同じかまたは実質的に同じT細胞活性化能を有していてもよいし、あるいは、T細胞の活性化を抑制もしくは阻害する能力を有していてもよいことを意味する。

【0024】

【発明の実施の形態】以下に本発明をさらに詳細に説明する。

新規膜分子及びそれをコードするDNA

上述したように、本発明は、本膜分子がDCにおいて成熟に伴って成熟DC特異的に発現がみられるという知見に基いている。

【0025】本発明のヒト樹状細胞膜分子は、ヒト単球から分化誘導したmo-DCをリボポリサッカライドで刺激し、その可否に基づいて成熟DCを得たのち、細胞膜を調製し、その可溶性タンパク質についてコンカナバリンAセファロースクロマトグラフィー、小麦胚アグルチニンセファロースクロマトグラフィー、SDS-ポリアクリルアミド電気泳動などの手法を用いて膜タンパク質を分画し、LC/MS（特にThermoquest社製LCQ）による微量分析にかけて同定された（後述の実施例1～5参照）。さらにLC/MS法で同定された複数の部分アミノ酸配列に基づくプライマーを合成し、成熟DC由来cDNAライブラリーを鋳型にしてポリメラーゼ連鎖反応（PCR）を行ない本発明の膜分子の遺伝子断片を増幅し取得し、この遺伝子断片をプローブとしてコロニーハイブリダイゼーションにより本発明の膜分子の遺伝子を含むクローンを選抜し、その塩基配列（配列番号2）およびアミノ酸配列（配列番号1）を決定した（後述の実施例6参照）。

【0026】本発明の新規膜分子はハイドロパシープロット解析[J. Exp. Med., 157巻、105-132頁（1982年）]の結果、273アミノ酸残基からなり、具体的には24残基のシグナル配列、196残基の細胞外領域、23残基の膜貫通領域、30残基の細胞内領域を有していると予測さ

れる。さらにホモロジー検索およびモチーフ検索により、細胞外領域は5ヶ所のアスパラギン結合型糖鎖結合部位、4ヶ所のIgドメイン形成に必要なCys残基をもつ4つのイムノグロブリン（Ig）スーパーファミリーに属する構造を有している。細胞外のIgドメインはN末端からVset、Csetという構造であり、このVset-Csetという単位で最も相同性の高いヒト既知分子はB7-H1であり、相同性はアミノ酸一致で39%である。細胞外のVset-Csetという単位はB7ファミリーに共通する構造であり、新規のB7ファミリーに属する新規分子であることが判明した。アミノ酸レベルでの相同性が39%であるというのは、B7ファミリーに属する既知の分子間での相同性がアミノ酸一致で約25%であることを考慮すると、本発明の膜分子はB7ファミリーに属することが強く示唆される。さらにホモロジー検索の結果、本発明の膜分子にはプロテインキナーゼCをリン酸化しうる部位が存在することが判明した。具体的には、配列番号1の253位のセリン残基、257位のスレオニン残基、265位のスレオニン残基がリン酸化に関与しうる。

【0027】本発明の膜分子は、遺伝子クローニングおよびDNA組換え技術を利用することによって、大量合成が可能である。そのための一般的な技術として、例えばSambrookら、Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd Ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989)やAusubelら、Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing Associates and WileyInterscience, N.Y. (1989)に記載されるような標準技術を使用できる。

【0028】上記標準技術によりヒト成熟DCからmRNAを取り出しcDNAライブラリーを作製する。配列番号2に記載された配列に基づき合成した特異的プローブを用いて該ライブラリーをスクリーニングし目的のcDNAを得ることができる。あるいは、配列番号2の配列に基づいて目的分子の塩基配列を含む配列を増幅するためのセンス及びアンチセンスプライマーを合成し、該cDNAライブラリーを鋳型にしてPCRを行い、目的のcDNAを増幅することができる。PCRは自動サーマルサイクラー（automated thermal cycler）を用いて実施するのがよく、その反応は、耐熱性ポリメラーゼ（Taqなど）、鋳型DNAおよびプライマーの存在下、DNAの変性（例えば94、15～30秒）、プライマーのアニーリング（例えば55、30秒～1分）、および4種類の基質（dNTP）の共存下での伸長反応（例えば72、30秒～10分）を1サイクルとして約25～40サイクル実施し、さらに70～75で5～15分加熱することによって行なうことができる。プライマーのサイズは通常少なくとも15ヌクレオチドである。

【0029】本発明の膜分子をコードするcDNAは、適当な転写／翻訳調節配列を含む発現ベクター（例えばプラスミド、ファージ、コスミド、ウイルスなど）に組み込まれて、適当な宿主細胞（真核または原核細胞）の形

質転換またはトランスフェクションまたは形質導入に使用することができる。

【0030】転写／翻訳調節配列には、使用する宿主ベクター系に応じて選択されたプロモータおよびエンハンサを含めることができる。プロモータとして、細菌系では例えばPL、PR、Ptrp、Placなど、酵母系では例えばPH05、GAP、ADH、AOX1プロモータなど、動物細胞ではSV40初期プロモータ、レトロウイルスプロモータ、ヒートショックプロモータなどを挙げることができる。

【0031】宿主細胞にはエシェリヒア属、バチルス属、シュドモナス属などの原核細胞、サッカロマイセス属、ピチア属などの酵母類、ヒト胎児腎臓細胞、ヒト白血球細胞、アフリカミドリザル腎臓細胞、チャイニーズハムスター卵巣細胞（CHO細胞）などの動物細胞が挙げられる。その他、昆虫細胞や植物細胞も使用可能である。

【0032】発現ベクターは、宿主に応じて種々のベクターが市販または寄託されており、あるいは文献等の刊行物に記載されており、それらを使用できる。たとえば細菌用としてpQE（キアゲン社）、pBluescript II SK+（ストラタジーン社）、pET（ノバジェン社）などである。ベクターによって宿主細胞を形質転換またはトランスフェクションする方法として、例えばカルシウムイオンを用いる方法、エレクトロポレーション法、プロトプラスト法、マイクロインジェクション法などが挙げられる。

【0033】形質転換またはトランスフェクトされた宿主細胞は適当な培養培地中で培養されて目的遺伝子を発現させ、産生した本発明の膜分子を培地中から、または宿主細胞中から回収する。細胞から回収する場合には培養終了後、細胞を遠心分離等により分離し、水溶性緩衝液に懸濁し、超音波処理、フレンチプレス、ダイノミルなどによる細胞を破碎し、無細胞抽出液を得る。膜分子の単離精製は界面活性剤存在下タンパク質の精製に用いられる一般的な方法、例えばゲル濾過、イオン交換クロマトグラフィー、アフィニティクロマトグラフィー、疎水性クロマトグラフィーなどのクロマトグラフィー、HPLC、電気泳動法、脱塩法、有機溶媒沈殿法などを任意に組み合わせて行うことができる。

【0034】変異体

本発明はまた配列番号1に示されるアミノ酸配列を有するヒト樹状細胞膜分子に加えて、該アミノ酸配列において1個もしくは複数のアミノ酸残基の欠失、置換、挿入および／または付加を含む、免疫応答を制御し得るその変異体も提供する。本発明の変異体は、配列番号1に記載のアミノ酸配列、好ましくはその細胞外領域のアミノ酸配列と好ましくは80%以上、特に90%以上、より好ましくは95%以上、最も好ましくは98%以上の相同性を有するのがよい。

【0035】天然型膜分子と高い相同性（好ましくは80

%以上）を有しかつT細胞の活性化を制御する能力を有している限り、いかなる変異体も本発明の範囲内である。このような変異体は例えば、部位特異的突然変異法、PCR法などを用いて天然型膜分子に対して所望の改変（欠失・置換・挿入および／または付加）を導入することによって製造し得る（上記のSambrookら、およびAusubelら参照）。そのような改変として、例えば保存的アミノ酸間の置換、例えば酸性アミノ酸（アスパラギン酸とグルタミン酸）間、塩基性アミノ酸（リシンとアルギニン）間、疎水性アミノ酸（ロイシン、イソロイシン、バリン）間の置換が挙げられる。

【0036】本発明の変異体を天然源等から得る場合には、配列番号2に示される塩基配列に基づいてプローブを作製し、中度または高度のストリンジェント条件化でのハイブリダイゼーションの後、高ストリンジェント条件下で洗浄することによって目的の変異体をコードする遺伝子を取りだし、これを適当なベクターに組み込み、発現させることによって目的の変異体を得ることができる。高ストリンジェント条件の例は0.5M NaHPO₄, 7% SDS, 1mM EDTA, 65 °Cでのハイブリダイゼーション、その後の0.1×SSC/0.1% SDS, 68 °Cでの洗浄である（上記のAusubelら参照）。ハイブリダイゼーション条件は温度、イオン強度、プライマー長などを適宜選択することによって決定できるが、通常、温度が高いほど、またイオン強度が低いほどストリンジェンシーが高まる。したがって当業者は適するハイブリダイゼーション条件を選択可能である。本発明には、配列番号2に示される塩基配列と好ましくは80%以上、特に90%以上、より好ましくは95%以上、最も好ましくは98%の相同性を有する、上記変異体をコードするDNAも包含される。

【0037】抗体

B7ファミリーの性質から推測して成熟DC、活性化マクロファージ、活性化単球等にも本膜分子の発現が見られることが予想される。この知見を利用することにより活性化抗原提示細胞（APC）を特異的に認識する本膜分子に対する抗体を得ることができる。

【0038】上記の特性を有するいずれの抗体も本発明に包含されるが、目的の抗体を得るための抗原エピトープは、本膜分子のアミノ酸配列（配列番号1）において抗原性の高い領域、表在性がある領域、二次構造をとらない可能性のある領域、他のタンパク質（特にB7ファミリーの他のタンパク質）と相同性がないか又は低い領域から選択されうる。ここで抗原性の高い領域は、Parkerらの方法（Biochemistry, 25巻 5425-5432、1986年）によって推定可能である。表在性がある領域は、例えばハイドロパシーインデックスを計算しプロットすることによって推定可能である。二次構造をとらない可能性のある領域は、例えば、ChouとFasmanの方法[Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol. 47巻 45-148、1978年]によって推定可能である。さ

らに、特にB7ファミリーの他のタンパク質と相同性がないか又は低い領域は、本膜分子のアミノ酸配列と他のタンパク質のアミノ酸配列との相同性比較によって推定可能である。

【0039】上記の手法で推定された本膜分子の部分アミノ酸配列を基に、ペプチド合成法を利用することによって該アミノ酸配列からなるペプチドを合成することができる。目的のペプチドは、例えば、R.B. Merrifield (Science 232:341-347, 1986)によって開発された固相ペプチド合成に基いた市販のペプチド合成機を使用して合

成し、保護基を脱離後、イオン交換クロマトグラフィー、ゲル濾過クロマトグラフィー、逆相クロマトグラフィー等を単独もしくは組合わせた方法により精製する。得られた精製ペプチドはキーホールリンペットヘモシアニン (KLH) やアルブミンなどのキャリアタンパク質と結合し免疫原として使用することができる。

【0040】さらに、遺伝子組換え本膜分子を免疫原として本膜分子に対するポリクローナル抗体あるいはモノクローナル抗体を公知の手法により作製することもできる。

この場合、本膜分子、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、または他のタンパク質に関して用いられる「組換え」という用語は、これらのタンパク質が宿主細胞内で組換えDNAによって生産されたものであることを意味する。宿主細胞としては、原核生物（例えば大腸菌のような細菌）及び真核生物（例えば酵母、CHO細胞、昆虫細胞等）のいずれも使用され得る。

【0041】本発明の「抗体」はペプチド抗体、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体いずれでもよい。「抗体」は、マウスまたは他の適した宿主動物を免疫に用いられたタンパク質に特異的に結合するであろう抗体を産生するか、産生するであろうリンパ球を引き出すために、皮下、腹腔内、または筋肉内の経路によって、抗原あるいは抗原発現細胞により免疫化することによって得られる。さらに宿主動物としてはヒト抗体遺伝子のレパートリーを有するトランスジェニック動物に抗原または抗原発現細胞を投与し、所望のヒト抗体を取得しても良い [Proc Natl Acad Sci U S A., 97巻、722-727頁 (2000年)、国際公開公報W096/33735、W097/07671、W097/13852、W098/37757参照]。そのかわりに、リンパ球をin vitroで免疫化しても良い。宿主動物から得られた血清から、抗原に結合する画分を集め、精製することにより、ポリクローナル抗体を取得することができる。また、ハイブリドーマ細胞を形成するために、ポリエチレングリコールのような適当な融合試薬を用いて、リンパ球を骨髓腫細胞と融合させることにより、モノクローナル抗体を作製することができる (Goding, Monoclonal Antibodies: Principals and Practice, 59-103, Academic press, 1986)。例えば本発明のモノクローナル抗体は、ハイブリドーマ法 (Nature, 256巻495ページ1975年)を用いて

も、組換えDNA法 (Cabillyら、米国特許 第4816567号)を用いても作製することができる。

【0042】抗原タンパク質は本膜分子タンパク質の全てまたは部分配列をコードするDNAを、大腸菌や酵母、昆虫細胞、動物細胞などで発現させることにより調製することができる。遺伝子組換え本膜分子は、アフィニティークロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、ゲル濾過クロマトグラフィー、逆相クロマトグラフィー等を単独もしくは組合わせた方法により精製し、この精製標品を免疫原として用いる。また、本発明の抗体は、無傷の抗体であってもよいし、あるいは(Fab')₂やFabなどの抗体断片であってもよい。

【0043】また、定常領域をヒトの定常領域に置き換えたキメラ抗体 (例えばマウス-ヒトキメラ抗体; Cabillyら、米国特許4816567及びMorrisonら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:6851 (1984))、定常領域および超可変領域 (または、Complementary-determining region; CDR)を除く全ての可変領域をヒトの配列に置き換えたヒト化抗体 (Carterら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:4285 (1992)及びCarterら、BioTechnology, 10:163 (1992))も本発明の抗体に含まれる。

【0044】また、このようにして得られた本発明の抗体に対する抗体、すなわち抗イディオタイプ抗体もまた本発明に含まれる。このようにして得られた本膜分子に対する各種抗体は、その特徴を生かすことができる様々な用途で使用可能である。本膜分子が成熟DCに特異的に発現が見られる分子であることを利用して、本抗体を蛍光性物質 (ローダミン、フルオレサミンなど)で標識し、周知のFACSを用いて末梢血から目的のDCを検出・分離したり、mo-DCのin vitroでの分化を確認することができる。さらに、本膜分子はDCの成熟化に伴って発現量が顕著に上昇するタンパク質であることから、本抗体を用いてFACSにより未成熟DCと成熟DCを分離することもできる。本膜分子の検出に関しては、FACSでの検出にとどまるものではない。例えばウェスタンブロッティングにおいて本抗体を1次抗体として作用させることにより検出可能であることが予想されるし、タンパク質レベルでの発現確認を行うことができる。また本抗体を固相 (ポリスチレンビーズ、マイクロタイターウェル表面、ラテックスビーズなど)に結合して不均一系で、あるいは均一系で、免疫学的反応を行なって相同な膜分子を検出・定量 (蛍光抗体法、ELISA、ラジオイムノアッセイなどの方法使用)することができる。この場合、免疫学的反応は競合反応であってもよいし非競合反応であってもよい。また2つ以上の抗体 (モノクローンまたはポリクローン)を用いるサンドイッチ法による反応も使用できる。上記における検出、定量のためには、当業界で公知のいずれの免疫学的手法も用いることができる。

【0045】その他、本膜分子の機能を評価する用途にも使用可能である。成熟DCは強力な抗原提示細胞であ

り、MHCクラスII分子を介したCD4陽性のT細胞を刺激活性化及びMHCクラスI分子を介したCD8陽性細胞障害性T細胞を刺激活性化することが知られている。これら機能を制御し得るか否かを確認するために、アロジェニックMLR (Mixed Leucocyte Reaction) での機能を抑制しうるか否かの確認、抗原特異的にCTLを誘導した場合にその機能を抑制しうるか否かの確認、さらにDCの抗原提示に関わる分子が否かの確認等のin vitroでのアッセイにも使用可能である。

【0046】本発明の抗体はさらに、in vivoで免疫応答を制御するために使用することもできる。本膜分子は、前述したとおり、副刺激分子であると予想され、T細胞活性化に直接あるいは間接的に関わる膜分子であると予想される。このため、本発明の抗体が本膜分子と細胞上のリガンドとの結合を阻害する抗体であればT細胞活性化を抑制することが期待される。このように本膜分子の機能制御可能な抗体を作用させることでDCの機能さらにはT細胞の機能を制御することにより免疫応答を制御し得ることが期待される。さらには本膜分子および本膜分子のリガンドの可溶化型分子（すなわち、細胞外領域に相当する分子）およびこれら分子に対する抗体にも免疫応答を制御する活性が期待される。

【0047】本発明の抗体類または本膜分子の可溶化型分子を用いて本膜分子のリガンドを取得することも可能である。可溶化型本膜分子リガンドは直接本膜分子に作用し、DC上の本膜分子を介したシグナルを制御し得るし、リガンドを発現した細胞のリガンドを介したシグナルをブロックし得る。また本膜分子のリガンドと本膜分子の相互作用をモジュレートできる低分子物質や本膜分子のリガンド及び本膜分子に関わる細胞内シグナル経路をモジュレートする低分子物質もシグナルの制御に有用である。

【0048】本発明の抗体類または本膜分子の可溶化型分子、本膜分子のリガンドの可溶化型分子、上記低分子を治療に用いる場合には、例えば癌、自己免疫疾患、臓器移植、感染症、アレルギーなどの疾患の治療に適用可能である。投与方法および投与剤型は特に制限されないが、静脈、動脈内投与、筋内投与、経口投与、座剤投与などであり、薬学的に許容可能な賦形剤、例えば湿潤剤、崩壊剤、香味剤、乳化剤、保存剤など、や希釈剤と組合わせて経口用または非経口用に処方することができるが、好ましくは非経口投与である。投与は1日あたり1回かまたは数回に分けて行い、投与量は患者の重篤度、年齢、性別、体重などの条件に応じて決定され、副作用を併発しない範囲である。

【0049】

【実施例】以下に本発明の実施例を記載するが、本発明はこれらの実施例によって限定されないものとする。

実施例1 DCの細胞膜の調製

細胞膜タンパク質の場合、元々発現量が低いこと、また

ハンドリングが難しいことが挙げられる。これを解決する手段の一つとして、より純度の高い細胞膜を取得する方法を確立することが必要である。細胞膜表面をコートし、これを均一に破碎することで、比重の重くなった細胞膜を密度勾配遠心により取得する方法で純度の高い細胞膜を調製した [J. Biol. Chem., 258巻、10062-10072頁 (1983年)]。

【0050】ターゲットとしている膜分子の発現量の少なさとハンドリングの難しさから、大量のヒトDCを集めるためにアフエーシス産物（単核球画分）から単球を分離してmo-DCを大量調製した。LPS（リボポリサッカライド）刺激あり、なしを同数の細胞で実施し、同数（ 5×10^6 細胞）の未成熟DCと成熟DCを得た。

【0051】

実施例2 タンパク質の高感度検出とin gel digestion

Mannら [Anal. Chem., 68巻、850-858頁 (1996年)] の手法に従って銀染色によりタンパク質を検出した。酵素消化法についてはトリプシンを用いたin gel digestion法 [Anal. Chem., 224巻、451-455頁 (1995年)] により行い、以下で使用する分析サンプルとした。

【0052】実施例3 膜タンパク質の画分

実施例1で得られた細胞膜より界面活性剤を用いて細胞膜タンパク質を可溶化した後、コンカナバリンAセファロースにアプライし、界面活性剤含有緩衝液にて洗浄した。これら素通り画分をConA FTと称した。吸着画分はメチル- α -D-グルコピラノシドと界面活性剤を含有した緩衝液で溶出した (ConA EL)。ConA FTは小麦胚アグルチニンセファロースに再度アプライし、界面活性剤含有緩衝液にて洗浄した。これら素通り画分をWGA FTと称した。吸着画分はN-アセチルグルコサミンと界面活性剤を含有した緩衝液で溶出した (WGA EL)。ConA EL、WGA EL、WGA FTを分子同定サンプルとした。これら画分をSDS-PAGEにて展開した後、実施例2の手法によりタンパク質を検出し、短冊状に切ったゲルをin gel digestionして分析サンプルとした。

【0053】実施例4 LC/MSによる微量分析

LC/MS (Thermoquest社製LCQ) を用いて、実施例3で得たサンプルを分析した。95%溶液A (0.1%ギ酸) および5%溶液B (0.08%ギ酸、80%アセトニトリル) で平衡化したPepMap逆相カラム (内径0.075mm × 長さ150mm) (LCパッキング社製) にか、180ナノリットル/分の流速で、5分洗浄後、67.5分かけて溶液Bの比率を50%まで直線的に上げるにより順次溶出しMSに導入した。MSに導入されたサンプルは次の繰り返しサイクルでデータ取得を行い、その配列情報を得ることとした。1. Full MS Scan : m/z=0~2000のレンジでの親イオンの分子量の観測。2. Zoom MS Scan : Full MS Scanで同定された親イオンの価数の観測。3. MS/MS Scan : Zoom MS Scanで測定された分子にHeガスをあてた場合に生じる娘イオンの観測。理論的なb,yシリーズとどれだけの本数がど

れだけの強度でマッチングするかをスコア化してランクをつける同定法 (SEQUESTアルゴリズム) により同定した [アメリカン・ソサイアティ・フォー・マス・スペクトロメトリー、5巻、976-989頁 (1994年)]。

【0054】実施例5 本膜分子の同定

実施例4の手法により同定された分子のうち、成熟DCのみから新規分子である本膜分子が同定された。同定対象となったフラグメントは $m/z=732.3$ の2価イオンであり、そのMS/MSのパターンは本膜分子の部分アミノ酸配列 (13残基) TPEGLYQVTSVLR (配列番号3) に非常に良

く帰属された。この部分配列のnon-redundant DNA databaseに対するホモロジーサーチの結果、これら部分配列を有する塩基配列は他に存在しないことが明らかとなった。

【0055】実施例6 本膜分子の遺伝子クローニング

実施例5で同定された部分アミノ酸配列をヒトESTデータベースに対してサーチを実施したところ、NCBIのpublic databaseのSequence ID: AK001872が部分長cDNAであることが判明した。そこで、AK001872に存在する塩基配列をもとにプライマーを合成し、成熟DC cDNAライブラリを鋳型としてRT-PCRを実施した。プライマーはそれぞれ21merで、センスプライマー5'-CAATGCATAATCATCTATGGGG-3' (配列番号4) とアンチセンスプライマー5'-TCAGATAGCACTGTTCACCTTC-3' (配列番号5) を用いた。この結果、約520bpの本膜分子の遺伝子断片を取得した。この遺伝子断片をプローブとしてコロニーハイブリダイゼーションにより本膜分子の遺伝子を含むクローンを選別し、塩基配列を決定した。推定open reading frame構造を配列番号2に、推定されるアミノ酸配列を配列番号1に示す。

【0056】本膜分子の推定アミノ酸配列の一次構造についてKyteとDoolittleの方法 (J. Exp. Med., 157巻、105-132頁、1982年) に従い、ハイドロパシープロット解析を行なった (図1)。その結果、本膜分子はN末端にシグナル配列を有するI型の細胞膜貫通タンパク質であることが明らかとなった。本膜分子は273アミノ酸残基からなり、ハイドロパシープロット解析結果から24残基のシグナル配列および196残基の細胞外領域、23残基の膜貫通領域、30残基の細胞内領域を有していると予想される。さらにホモロジー検索並びにモチーフ

*型糖鎖付加部位、4ヶ所のイムノグロブリン (Ig) ドメイン形成に必要なシステイン残基を持つ4つのイムノグロブリンスーパーファミリーに属する構造を有していた。また、この細胞外のIgドメインはN末端側からV set、C setという構造であることが類推された。またこのV set - C setという単位で最も相同性の高いヒト既知分子はB7-H1 (B7-homologue1) でアミノ酸一致で39%であった。細胞外のV set - C setという単位はB7ファミリーに共通する構造であり、新規のB7ファミリーに属する新規分子と考えられた。

【0057】実施例7 本膜分子に対するペプチド抗体の設計とペプチド合成並びにペプチド抗体作製

本膜分子に対する特異的ペプチド抗体を作製するために本膜分子の推定アミノ酸配列から設計を行なった。まず、Parkerの法則 (前述) に従い抗原性の高い部分を選択し、これらの中からChouとFasmanの方法 (前述) に基づき表在性がある部分、2次構造を取らない可能性のある部分、さらに糖鎖付加が予想されない部分、システイン残基を含まない部分について、シングルペプチドを合成した。選んだ領域は、以下のアミノ酸位置からなる配列: NTHVRELTLASIDLQSQMEPR (配列番号6) (配列番号1の196~216位に相当する。) であった。この配列のC末端にさらにCys残基を加えたシングルペプチドを合成した。このシングルペプチドを精製し、0.2mg/mlの濃度で1mg/mlのキーホールリンペットヘモシアニン (KLH) に対してCysを介してコンジュゲートした。このKLH-結合ペプチド (100 µg) を免疫原として8回繰り返しウサギに免疫し、ペプチド抗体を作製した。

【0058】

【発明の効果】本発明により、DCを他の血球系細胞から選択的に高い純度で分離することができるのみならず、成熟DCと未成熟DCとの分離も可能とすることから、DC療法への該細胞の供給を可能とする。分離されたDCは、抗原をパルスしたのち、再び患者に戻すことにより癌ワクチンとして利用するなどの用途が期待される。また、本膜分子に対する抗体、あるいは本膜分子の可溶性型分子を用いてDCとT細胞との相互作用を阻害することで免疫応答を制御し得ることも期待される。

【0059】

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> Kirin Brewery Company, Limited
 <120> New Dendritic Cell Membrane Molecule and Its Use
 <130> P00-0942
 <140>
 <141>
 <160> 6
 <170> PatentIn Ver. 2.0
 <210> 1

<211> 274

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Met Ile Phe Leu Leu Leu Met Leu Ser Leu

Glu Leu Gln Leu His Gln

1 5 10 15

Ile Ala Ala Leu Phe Thr Val Thr Val Pro

Lys Glu Leu Tyr Ile Ile

20 25 30

Glu His Gly Ser Asn Val Thr Leu Glu Cys

Asn Phe Asp Thr Gly Ser

35 40 45

His Val Asn Leu Gly Ala Ile Thr Ala Ser

Leu Gln Lys Val Glu Asn

50 55 60

Asp Thr Ser Pro His Arg Glu Arg Ala Thr

Leu Leu Glu Glu Gln Leu

65 70 75 80

Pro Leu Gly Lys Ala Ser Phe His Ile Pro

Gln Val Gln Val Arg Asp

85 90 95

Glu Gly Gln Tyr Gln Cys Ile Ile Ile Tyr

Gly Val Ala Trp Asp Tyr

100 105 110

Lys Tyr Leu Thr Leu Lys Val Lys Ala Ser

Tyr Arg Lys Ile Asn Thr

115 120 125

His Ile Leu Lys Val Pro Glu Thr Asp Glu

Val Glu Leu Thr Cys Gln

130 135 140

Ala Thr Gly Tyr Pro Leu Ala Glu Val Ser

Trp Pro Asn Val Ser Val

145 150 155 1

60

Pro Ala Asn Thr Ser His Ser Arg Thr Pro

Glu Gly Leu Tyr Gln Val

165 170 175

Thr Ser Val Leu Arg Leu Lys Pro Pro Pro

Gly Arg Asn Phe Ser Cys

180 185 190

Val Phe Trp Asn Thr His Val Arg Glu Leu

Thr Leu Ala Ser Ile Asp

195 200 205

Leu Gln Ser Gln Met Glu Pro Arg Thr His

Pro Thr Trp Leu Leu His

210 215 220

Ile Phe Ile Pro Ser Cys Ile Ile Ala Phe

Ile Phe Ile Ala Thr Val

225 230 235 2

40

cccctagga aggcctcgtt ccacatacct caag
 tccaag tgagggacga aggacgtac 300
 caatgcataa tcatttatgg ggtcgcctgg gact
 acaagt acctgactct gaaagtcaaa 360
 gcttcctaca ggaaaataaa cactcacatc ctaa
 aggttc cagaaacaga tgaggtagag 420
 ctacactgcc aggctacagg ttatcctctg gcag
 aagtat cctggccaaa cgtcagcggt 480
 cctgccaaca ccagccactc caggaccct gaag
 gcctct accaggtcac cagtgttctg 540
 cgcctaaagc cccccctgg cagaaacttc agct
 gtgtgt tctggaatac tcacgtgagg 600
 gaacttactt tggccagcat tgacattcaa agtc
 agatgg aaccaggac ccatccaact 660
 tggctgcttc acattttcat cccctcctgc atca
 ttgctt tcattttcat agccacagt 720
 atagccctaa gaaaacaact ctgtcaaaag ctgt
 attctt caaaagacac aacaaaaga 780
 cctgtcacca caacaaagag ggaagtgaac agtg
 ctatc 819

<210> 3

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 3

Thr Pro Glu Gly Leu Tyr Gln Val Thr Ser
 Val Leu Arg

1

5

10

<210> 4

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of the Arti-
 ficial Sequence: Sense primer

<400> 4

caatgcataa tcatttatgg gg

22

<210> 5

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of the Arti-

18

【配列表フリーテキスト】Sequence: Antisense primer

配列番号4 - 人工配列の説明: センスプライマー

配列番号5 - 人工配列の説明: アンチセンスプライマー

【図面の簡単な説明】 21

【図1】本膜分子の推定アミノ酸配列の一次構造について

<211> 21

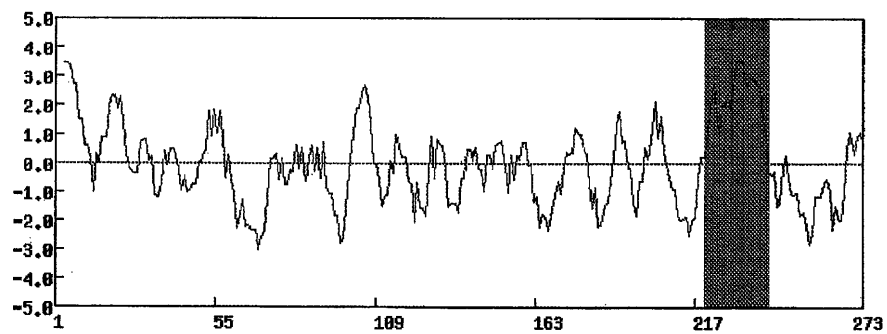
<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

てKyteとDoolittleの方法(ジャーナル・オブ・エクス
 ペリメンタル・メディシン、157巻、105-132
 頁、1982年)に従って行ったハイドロパシープロッ
 トを示す。

【図1】



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)	
G 0 1 N	33/53	A 6 1 K	39/395	N
// A 6 1 K	39/395	A 6 1 P	35/00	
			37/00	
A 6 1 P	35/00	C 0 7 K	7/08	
	37/00	C 1 2 N	15/00	Z N A A
C 0 7 K	7/08			X

F タ-ム(参考) 4B024 AA01 AA11 BA80 CA04 CA20
 4B064 AG27 CA10 CA20 DA01 DA13
 4C085 AA03 AA14
 4H045 AA10 AA11 AA30 BA10 BA17
 CA40 DA76 DA86 EA20 EA50
 FA71 FA72 FA74

专利名称(译)	新型树突细胞膜分子及其用途		
公开(公告)号	JP2002171981A	公开(公告)日	2002-06-18
申请号	JP2000369125	申请日	2000-12-04
[标]申请(专利权)人(译)	麒麟麦酒株式会社		
申请(专利权)人(译)	麒麟麦酒株式会社		
[标]发明人	渡会浩志 山口泰範		
发明人	渡会 浩志 山口 泰範		
IPC分类号	G01N33/53 A61K39/395 A61P35/00 A61P37/00 C07K7/08 C07K14/705 C07K16/28 C12N15/01 C12N15/09 C12P21/08		
FI分类号	C07K14/705 C07K16/28 C12P21/08 G01N33/53.D A61K39/395.D A61K39/395.N A61P35/00 A61P37/00 C07K7/08 C12N15/00.ZNA.A C12N15/00.X C12N15/00.A C12N15/00.AZN.A C12N15/01.Z		
F-TERM分类号	4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/BA80 4B024/CA04 4B024/CA20 4B064/AG27 4B064/CA10 4B064/CA20 4B064/DA01 4B064/DA13 4C085/AA03 4C085/AA14 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/BA17 4H045/CA40 4H045/DA76 4H045/DA86 4H045/EA20 4H045/EA50 4H045/FA71 4H045/FA72 4H045/FA74		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

(带更正) 解决的问题: 提供一种膜分子, 其表达随着人树突状细胞 (DC) 的成熟而显著增加。A1具有特定氨基酸序列及其变体的人树突细胞膜分子, 编码它们的DNA以及使用该膜分子或变体分离或检测树突细胞的方法。

