

(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 - 531618**

(P2003 - 531618A)

(43)公表日 平成15年10月28日(2003.10.28)

(51) Int.Cl <sup>7</sup>	識別記号	F I	テ-マコード* (参考)
C 1 2 N 15/09	ZNA	C 0 7 K 16/18	2 G 0 4 5
C 0 7 K 16/18		16/40	4 B 0 2 4
16/40		19/00	4 B 0 5 0
19/00		C 1 2 N 1/15	4 B 0 6 3
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 61数) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2001 - 580378(P2001 - 580378)

(86)(22)出願日 平成13年4月27日(2001.4.27)

(85)翻訳文提出日 平成14年10月29日(2002.10.29)

(86)国際出願番号 PCT/EP01/04784

(87)国際公開番号 W001/083771

(87)国際公開日 平成13年11月8日(2001.11.8)

(31)優先権主張番号 00109318.6

(32)優先日 平成12年4月29日(2000.4.29)

(33)優先権主張国 欧州特許庁(EP)

(71)出願人 メルク パテント ゲゼルシャフト ミツト  
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

(72)発明者 ブラント、 ズィルケ  
ドイツ連邦共和国 64283 ダルムシュタ  
ット アデルンクシュトラーセ 35

(74)代理人 弁理士 金田 暢之 (外2名)

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 新規ヒト・ホスホリパーゼC・デルタ5

(57)【要約】

ホスホリパーゼC・デルタ5 ( P L C D 5 ) のポリペプチドおよびポリヌクレオチド、ならびにかかる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。また、診断アッセイにおいて、該ホスホリパーゼC・デルタ5 ( P L C D 5 ) のポリペプチドおよびポリヌクレオチドを使用する方法も開示される。

**【特許請求の範囲】**

【請求項1】 (a) 配列番号：1もしくは配列番号：3または配列番号：5の配列を含んでなるポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド；

(b) 配列番号：2もしくは配列番号：4または配列番号：6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んでなるポリペプチド；

(c) 配列番号：2もしくは配列番号：4または配列番号：6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；

(d) 配列番号：2もしくは配列番号：4または配列番号：6のポリペプチド配列、および

(e) (a)～(d)に記載のかかるポリペプチドのフラグメントおよび変異体からなる群から選択されるポリペプチド。

【請求項2】 配列番号：2もしくは配列番号：4または配列番号：6のポリペプチド配列を含んでなる、請求項1に記載のポリペプチド。

【請求項3】 配列番号：2もしくは配列番号：4または配列番号：6のポリペプチド配列である、請求項1に記載のポリペプチド。

【請求項4】 (a) 配列番号：1もしくは配列番号：3または配列番号：5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んでなるポリヌクレオチド；

(b) 配列番号：1もしくは配列番号：3または配列番号：5のポリヌクレオチドに対して、少なくとも95%の同一性を有するポリヌクレオチド；

(c) 配列番号：2もしくは配列番号：4または配列番号：6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んでなるポリヌクレオチド；

(d) 配列番号：2もしくは配列番号：4または配列番号：6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ポリヌクレオチド、

(e) 配列番号：1もしくは配列番号：3または配列番号：5の配列または少

なくとも15塩基長を有するそのフラグメントを有する、標識されたプローブを用いて、厳格なハイブリダイゼーション条件下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塩基長の塩基配列を有するポリヌクレオチド；

(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；

または前記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、および前記ポリヌクレオチドの変異体またはフラグメントであるか、あるいは前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であるポリヌクレオチド

からなる群から選択されるポリヌクレオチド。

【請求項5】 (a)配列番号：1もしくは配列番号：3または配列番号：5のポリヌクレオチドを含んでなるポリヌクレオチド；

(b)配列番号：1もしくは配列番号：3または配列番号：5のポリヌクレオチド；

(c)配列番号：2もしくは配列番号：4または配列番号：6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んでなるポリヌクレオチド、および

(d)配列番号：2もしくは配列番号：4または配列番号：6のポリペプチドをコードするポリヌクレオチド

からなる群から選択される、請求項4に記載のポリヌクレオチド。

【請求項6】 該発現ベクターが適合性宿主細胞に存在する際、請求項1に記載のポリペプチドの生産が可能なポリヌクレオチドを含んでなる発現システム。

【請求項7】 請求項1に記載されるポリペプチドを発現している、請求項6に記載される発現ベクターを含んでなる組換え宿主細胞またはその膜。

【請求項8】 請求項1に記載のポリペプチドを製造するための方法であって、請求項7に記載される宿主細胞を前記ポリペプチドの産生に十分な条件下で培養して、該培養培地から該ポリペプチドを回収する工程を含んでなる方法。

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

【請求項10】 請求項1～3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に記載されるポリペプチドの機能または濃度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) 該ポリペプチド(または該ポリペプチドを発現している細胞もしくは膜)あるいはその融合タンパク質に対する、候補化合物の結合を、該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) 標識された競合剤の存在下で、該ポリペプチド(または該ポリペプチドを発現している細胞あるいは膜)あるい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測定すること；

(c) 該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、該候補化合物がもたらすか否かを、該ポリペプチドを発現している細胞または細胞膜に適合している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に記載されるポリペプチドを含有する溶液に混合して、混合物を作製し、該混合物中の該ポリペプチドの活性を測定し、そして、何らの候補化合物をも含有しないコントロールの混合物に対して、該混合物の活性を比較すること、または

(e) 細胞中における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、

からなる群から選択される方法と、

(f) 生物工学的または化学的な標準的な手法に従って、前記化合物を製造すること

とを含んでなる方法。

**【発明の詳細な説明】****【0001】****(発明の分野)**

本発明は、以降、時に、「ホスホリパーゼC・デルタ5 (PLCD5)」と称する、新たに同定されたポリペプチド、およびかかるポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、診断ならびに、治療において潜在的に有用なアゴニスト、アンタゴニストとなりえる化合物の同定におけるそれらの使用、ならびに、かかるポリヌクレオチドの製造に関する。

**【0002】****(発明の背景)**

医薬探索プロセスは、現在、「機能的ゲノミクス」、すなわち、ハイ・スループットな、ゲノムまたは遺伝子に基づく生物学を取り込むことで、根本的な革新を経験しつつある。治療の標的として、遺伝子および遺伝子産物を同定する手段として、この方法は、急速に、「ポジショナル・クローニング」に基づく従前の方法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的疾患を同定し、その後、その遺伝子地図の位置に基づいて、その原因となる遺伝子の探知がなされる。

**【0003】**

機能的ゲノミクスは、ハイ・スループットなDNA配列決定技術、および現に利用可能な多くの分子生物学データベースから、潜在的な重要性を有す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に、大きく頼っている。医薬探索の標的として、さらなる遺伝子およびその関連するポリペプチド/タンパク質を同定し、その特定を行うことが引き続き求められている。

**【0004】**

治療されうる疾患は、重い静脈血栓症、不安定な狭心症、PTCA（経皮経管的冠動脈造影）、血栓塞栓症の発作、播種性血管内（血液）凝固、動脈硬化、てんかん、鬱病、神経変性疾患、卒中、発作、慢性関節リウマチ及び免疫疾患を含む。

**【0005】**

## (発明の概要)

本発明は、ホスホリパーゼC・デルタ5 (PLCD5)、特に、ホスホリパーゼC・デルタ5 (PLCD5) ポリペプチド、ホスホリパーゼC・デルタ5 (PLCD5) ポリヌクレオチド、およびそれらのスプライス変異体、組換え体およびその製造方法に関する。かかるポリペプチドおよびポリヌクレオチドは、それらに限定はされないものの、(発明の背景)に示されている、特定の疾患(以降、「本発明の疾患」と称する)を含む、それらの治療する方法に関連して、注目されている。さらなる形態において、本発明は、本発明により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、ならびにその同定された化合物を用いて、ホスホリパーゼC・デルタ5 (PLCD5)の不均衡に関連する症状を治療するための方法に関する。さらに他の形態において、本発明は、不適当なホスホリパーゼC・デルタ5 (PLCD5)の活性および濃度に付随する疾患を検出するための診断アッセイにも関する。

## 【0006】

## (発明の説明)

第1の形態において、本発明はホスホリパーゼC・デルタ5 (PLCD5) ポリペプチドに関する。かかるポリペプチドには、

(a) 配列番号：1もしくは配列番号：3または配列番号：5の配列を含んでなる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) 配列番号：2もしくは配列番号：4または配列番号：6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んでなる単離されたポリペプチド；

(c) 配列番号：2もしくは配列番号：4または配列番号：6のポリペプチド配列を含んでなる単離されたポリペプチド；

(d) 配列番号：2もしくは配列番号：4または配列番号：6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) 配列番号：2もしくは配列番号：4または配列番号：6のポリペプチド

配列；ならびに

(f) 配列番号：2もしくは配列番号：4または配列番号：6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、または含んでなる単離されたポリペプチド；

(g) (a) ~ (f) に記載のかかるポリペプチドのフラグメントおよび変異体が含まれる。

#### 【0007】

本発明のポリペプチドは、ホスファチジルイノシトール特異的ホスホリパーゼC (PLC) ファミリーのポリペプチドの一員であると考えられる。従って、それらは、分泌型、おそらくは膜結合型 (GPIアンカー型) の信号伝達タンパク質の新しいクラスを構成するため、注目されている。ホスホリパーゼCはホスファチジルイノシトール4,5-ビスホスフェート (PIP<sub>2</sub>) を加水分解し、その生成物はイノシトール1,4,5-トリホスフェート (IP<sub>3</sub>) であり、それは筋小胞体からカルシウム、及び1,2-ジアシルグリセロールを放出し、タンパク質キナーゼCを活性化する。

#### 【0008】

該ホスホリパーゼC・デルタ5 (PLCD5) の生物学的性質を、以降、「ホスホリパーゼC・デルタ5 (PLCD5) の生物学的活性」、または「ホスホリパーゼC・デルタ5 (PLCD5) 活性」と称する。好ましくは、本発明のポリペプチドは、少なくとも1つのホスホリパーゼC・デルタ5 (PLCD5) の生物学的活性を示す。

#### 【0009】

本発明のポリペプチドには、全ての対立遺伝子形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。かかるポリペプチドは、挿入、欠失、ならびに保存的または非保存的であってもよい置換、あるいはそれらの任意の組合せによって、基準のポリペプチドから変異している。特に好ましい変異体は、幾つかの、例えば、50~30、30~20、20~10、10~5、5

～3、3～2、2～1、または1個のアミノ酸が、任意の組合せで、挿入、置換または欠失されているものである。

#### 【0010】

本発明のポリペプチドの好ましいフラグメントには、配列番号：2もしくは配列番号：4または配列番号：6のアミノ酸配列に由来する、少なくとも30、50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んでなるポリペプチド、あるいは配列番号：2もしくは配列番号：4または配列番号：6のアミノ酸配列から、少なくとも30、50または100の連続したアミノ酸が末端から除去または欠失しているアミノ酸配列を含んでなるポリペプチドが含まれる。好ましいフラグメントは、ホスホリパーゼC・デルタ5（PLCD5）の生物学的活性をもたらす、生物学的に活性なフラグメントであり、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の低下したものも含まれる。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、それらのフラグメントも好ましい。

#### 【0011】

本発明のポリペプチドのフラグメントは、対応する完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；従って、これらの変異体は、本発明の完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。分泌またはリーダー配列、プロ配列、精製に役立つ配列、例えば、反復するヒスチジン残基、あるいは組換え生産の間の安定性に利する付加配列が含まれる、付加的なアミノ酸配列を含むことは、しばしば、有益である。

#### 【0012】

本発明のポリペプチドは、何れかの好適な方法、例えば、天然に存在する提供源や、発現システム（下記参照）を含んでなる遺伝子操作された宿主細胞からの単離、または、例えば、自動化されたペプチド合成機を使用した化学合成によって、あるいは、かかる方法の組合せによって、調製することができる。かかるポリペプチドを調製するための手段は、当該分野では十分に理解されている。

## 【0013】

さらなる形態において、本発明は、ホスホリパーゼC・デルタ5 (PLCD5) ポリヌクレオチドに関する。かかるポリヌクレオチドには、

(a) 配列番号：1もしくは配列番号：3または配列番号：5のポリヌクレオチド配列に対して、少なくとも95%、96%、97%、98%または99%の同一性を有するポリヌクレオチド配列を含んでなるポリヌクレオチド；

(b) 配列番号：1もしくは配列番号：3または配列番号：5のポリヌクレオチドを含んでなるポリヌクレオチド；

(c) 配列番号：1もしくは配列番号：3または配列番号：5のポリヌクレオチドに対して、少なくとも95%、96%、97%、98%または99%の同一性を有するポリヌクレオチド；

(d) 配列番号：1もしくは配列番号：3または配列番号：5のポリヌクレオチド；

(e) 配列番号：2もしくは配列番号：4または配列番号：6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コードするポリヌクレオチド配列を含んでなるポリヌクレオチド；

(f) 配列番号：2もしくは配列番号：4または配列番号：6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んでなるポリヌクレオチド；

(g) 配列番号：2もしくは配列番号：4または配列番号：6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コードするポリヌクレオチド配列を有するポリヌクレオチド；

(h) 配列番号：2もしくは配列番号：4または配列番号：6のポリペプチドをコードするポリヌクレオチド；

(i) 配列番号：1もしくは配列番号：3または配列番号：5のポリヌクレオ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ヌクレオチド配列を有するか、または含んでなるポリヌクレオチド；

(j) 配列番号：2もしくは配列番号：4または配列番号：6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コードするポリヌクレオチド配列を有するか、または含んでなるポリヌクレオチド；ならびに

上記のポリヌクレオチドのフラグメントおよび変異体である、またはその全長にわたって、上記のポリヌクレオチドに対して相補的であるポリヌクレオチドが含まれる。

#### 【0014】

本発明のポリヌクレオチドの好ましいフラグメントには、配列番号：1もしくは配列番号：3または配列番号：5の配列に由来する、少なくとも15、30、50または100の連続した塩基を有する塩基配列を含んでなるポリヌクレオチド、あるいは配列番号：1もしくは配列番号：3または配列番号：5の配列から、少なくとも30、50または100個の連続した塩基が末端から削除または欠失している配列を含んでなるポリヌクレオチドが含まれる。

#### 【0015】

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塩基多型(SNP)を有するポリヌクレオチドを含む多型体が含まれる。

#### 【0016】

本発明のポリヌクレオチドには、配列番号：2もしくは配列番号：4または配列番号：6のアミノ酸配列を含んでなり、かつ幾つかの、例えば、50~30、30~20、20~10、10~5、5~3、3~2、2~1、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。

#### 【0017】

さらなる形態において、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。従って、

(a) 配列番号：2もしくは配列番号：4または配列番号：6のポリペプチドをコードするDNA配列のRNA転写物を含んでなる；

(b) 配列番号：2もしくは配列番号：4または配列番号：6のポリペプチドをコードするDNA配列のRNA転写物である；

(c) 配列番号：1もしくは配列番号：3または配列番号：5のDNA配列のRNA転写物を含んでなる；あるいは

(d) 配列番号：1もしくは配列番号：3または配列番号：5のDNA配列のRNA転写物であるRNAポリヌクレオチド；

ならびにそれらに対して相補的であるRNAポリヌクレオチドが提供される。

#### 【0018】

配列番号：1もしくは配列番号：3または配列番号：5のポリヌクレオチド配列は、*R. norvegicus* ホスホリパーゼCデルタ4 (PRF: 2206431A)、Rhee SG及びLee SB (1996) *J Bio Chem*, 271(1), 25-31、との相同性を示す。配列番号：1もしくは配列番号：3または配列番号：5のポリヌクレオチド配列は、配列番号：2もしくは配列番号：4または配列番号：6のポリペプチドをコードするcDNA配列である。配列番号：2もしくは配列番号：4または配列番号：6のポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列は、配列番号：1もしくは配列番号：4または配列番号：6の配列をコードするポリペプチドと同一であってもよく、あるいは遺伝子暗号の縮退（縮重性）の結果によって、同じく配列番号：2もしくは配列番号：4または配列番号：6のポリペプチドをコードする、配列番号：1もしくは配列番号：3または配列番号：5以外の配列であってもよい。配列番号：2もしくは配列番号：4または配列番号：6のポリペプチドは、*R. norvegicus* ホスホリパーゼCデルタ4 (PRF: 2206431A)、Rhee SG及びLee SB (1996) *J Bio Chem*, 271(1), 25-31、との相同性および/または構造的類似性を有する、ホスファチジルイノシトール特異的ホスホリパーゼC (PLC) ファミリーの他のタンパク質と類縁している。

#### 【0019】

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、それらの相

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期待される。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つのホスホリパーゼC・デルタ5 (PLCD5) 活性を有する。

#### 【0020】

本発明のポリヌクレオチドは、ヒトの心臓の細胞中の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取得することができる(例えば、Sambrook他、Molecular Cloning: A Laboratory Manual、第2版、Cold Spring Harbor Laboratory Press、Cold Spring Harbor、N.Y.(1989)参照)。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取得することもでき、あるいは、周知の、市販の手法を使用して合成することもできる。

#### 【0021】

本発明のポリヌクレオチドを、本発明のポリペプチドの組換え製造に使用する際には、該ポリヌクレオチドは、成熟型ポリペプチドのコード配列、それ自体、あるいはリーダーまたは分泌配列、プレ-、もしくはプロ-またはプレプロ-タンパク質配列、あるいは、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、マーカー配列がコードされていてもよい。本発明のこの形態の幾つかの好ましい実施態様において、該マーカー配列は、pQEベクター(Qiagen, Inc.)中に提供され、そしてGentz et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, (1989) 86: 821~824に記載されている、ヘキサ・ヒスチジン・ペプチド、あるいはHAタグである。該ポリヌクレオチドはまた、転写される非翻訳の配列、スプライシングならびにポリアデニレーション・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、非コードの5'ならびに3'配列を含んでもよい。

## 【0022】

配列番号：1もしくは配列番号：3または配列番号：5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）用のプライマーとして、利用することができる。かかる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完全長型cDNAおよびゲノム・クローンを単離するために、ならびに、配列番号：1もしくは配列番号：3または配列番号：5に対して、高い配列類似性、典型的には、少なくとも95%の同一性を有する他の遺伝子（ヒトの供給源に由来するパラログ、ならびにヒト以外の種に由来するオルソログ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してもよい。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塩基、好ましくは少なくとも30塩基を含み、そして少なくとも100塩基ではなくとも、少なくとも50塩基を有してもよい。特に好ましいプローブは、30～50塩基を有するであろう。特に好ましいプライマーは、20～25塩基を有するであろう。

## 【0023】

ヒト以外の種に由来するホモログをも含む、本発明のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドは、配列番号：1もしくは配列番号：3または配列番号：5の配列、またはそのフラグメントを有する、好ましくは少なくとも15塩基の標識されたプローブを用いて、厳格なハイブリダイゼーション条件下で、ライブラリーをスクリーニングする過程；および前記ポリヌクレオチド配列を含有する完全長型cDNAクローンおよびゲノム・クローンを単離する過程を含んでなる工程によって取得してもよい。かかるハイブリダイゼーション技術は、当業者には周知である。好ましい厳格なハイブリダイゼーション条件は、50%ホルムアミド、5×SSC（150mMのNaCl、15mMのクエン酸三ナトリウム）、50mMのリン酸ナトリウム（pH7.6）、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を含んでなる溶液中で、42℃、一晩インキュベーションし、その後、0.1

×SSC中で、約65にてフィルターを洗浄することが含まれる。従って、本発明にはまた配列番号：1もしくは配列番号：3または配列番号：5の配列、またはそのフラグメントを有する、好ましくは少なくとも15塩基の標識されたプローブを用いて、厳格なハイブリダイゼーション条件下で、ライブラリーをスクリーニングすることによって取得される、単離されたポリヌクレオチド、好ましくは少なくとも100塩基の塩基配列を有するポリヌクレオチドも含まれる。

#### 【0024】

当業者は、多くの場合において、該ポリペプチドをコードする領域は、5'末端に至るまで完全には伸長していない点で、単離されたcDNA配列は不完全であることもあることを理解している。これは、第1鎖のcDNA合成の際に、mRNAテンプレートのDNAコピーを完成させることができない、逆転写酵素、すなわち、本来、低い「プロセシング能」（ポリメリゼーション反応の間、テンプレートに結合した状態を維持する酵素の能力の指標）を有する酵素の結果である。

#### 【0025】

完全長型cDNAを取得する、あるいは短いcDNAを伸長させるために利用でき、かつ当業者に周知の方法がいくつかあり、例えば、cDNA端の迅速な増幅(RACE)方法に基づく方法がある(例えば、Frohman et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 85, 8998~9002, 1988参照)。例えば、Marathon(商標)法(Clontech Laboratories Inc.)で例示される、この技術の最近の改良は、より長いcDNAの探索を著しく簡単としている。Marathon(商標)法では、選択された組織から抽出されたmRNAと、その両端に連結された「アダプター」配列とから、cDNAが調製される。その後、遺伝子特異的なならびにアダプター特異的な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、核酸増幅(PCR)を実施する。その後、「ネスティッド(入れこ型)」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なプライマー

、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なプライマー)を使用して、PCR反応を繰り返す。そして、この反応の生成物をDNA配列決定によって分析することができ、また、完全な配列を与えるように、既存のcDNAに該生成物を直接結合させる、あるいは、5'プライマーの設計のために新しい配列情報を利用して、別途に完全長のPCRを実施することのいずれかによって、完全長型のcDNAを構築することができる。

#### 【0026】

本発明の組換えポリペプチドは、発現システムを含んでなる遺伝子操作された宿主細胞から、当該分野で周知の製法によって調製することができる。従って、さらなる形態において、本発明は、本発明のポリヌクレオチドの1つまたは複数を含んでなる発現システム、かかる発現システムで遺伝子操作されている宿主細胞、ならびに、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、かかるタンパク質を製造するために使用することができる。

#### 【0027】

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、遺伝子操作することができる。ポリヌクレオチドは、Davis et al., Basic Methods in Molecular Biology (1986)およびSambrook et al. (前述)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中に導入することができる。ポリヌクレオチドを宿主細胞中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、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、トランスダクション、スクレイプ負荷、バリスティック導入または感染が含まれる。

#### 【0028】

適当な宿主の代表的な例には、ストレプトコッカス属、スタフィロコッカス属、大腸菌、ストレプトミセス属ならびに枯草菌細胞などの細菌細胞；酵母細胞や

アスペルギルス属細胞などの真菌細胞；ショウジョウバエ (*Drosophila*) S2細胞や *Spodoptera Sf9* 細胞などの昆虫細胞；CHO、COS、HeLa、C127、3T3、BHK、HEK293ならびにBowesメラノーマ細胞などの動物細胞；および植物細胞が含まれる。

【0029】

非常に多様な発現システムを使用することができ、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、バクテリオファージ、トランスポゾン、酵母エピソーム、挿入エレメント、酵母染色体エレメント、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、偽狂犬病ウイルスや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、コスミドやファージミドなどの、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から誘導されたものなどの、それらの組合せに由来するベクターを使用することができる。該発現システムは、発現を生じさせるとともに、調節をする制御領域を含有してもよい。一般に、宿主内において、ポリペプチドを生産するためのポリヌクレオチドを維持、増殖、または発現させることが可能である、システムまたはベクターはいず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は、例えば、Sambrook et al. (前述) 中に示されているものなどの、周知で慣用の手法種々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。適当な分泌シグナルを、小胞体の内腔、ペリプラズム腔または細胞外環境への翻訳タンパク質の分泌を可能にするために、所望するポリヌクレオチドに組み込むことができる。これらのシグナルは、該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。

【0030】

スクリーニング・アッセイにおいて使用するために、本発明のポリペプチドを発現させる際には、該ポリペプチドは細胞の表面で産生されることが、一般に好ましい。この場合、スクリーニング・アッセイにおいて使用するに先立ち、細胞を集菌してもよい。該ポリペプチドが培地内に分泌される場合には、該ポリペプチドの回収および精製を行うため、培地を回収することができる。細胞内で産生

される場合には、ポリペプチドを回収する前に、細胞を予め溶解しなければならない。

#### 【0031】

本発明のポリペプチドは、硫酸アンモニウムまたはエタノール沈澱、酸抽出、アニオンまたはカチオン交換クロマトグラフィ、ホスホセルロース・クロマトグラフィ、疎水性相互作用クロマトグラフィ、アフィニティー・クロマトグラフィ、ヒドロキシルアパタイト・クロマトグラフィおよびレクチン・クロマトグラフィを含む、周知の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、ハイ・パフォーマンス・液体クロマトグラフィが精製のために使用される。該ポリペプチドが、細胞内合成、単離および/または精製の間に変性する際には、周知のタンパク質のリフォールディング方法を、活性な立体配座を再生させるために使用することができる。

#### 【0032】

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の検出を通して、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いて、配列番号：1もしくは配列番号：3または配列番号：5のポリヌクレオチドによって特定され、また、機能不全に関連している、変異体型遺伝子の検出は、その遺伝子の過少な発現、過剰発現、あるいは変更された空間的または時間的な発現に起因する、疾患または疾患に対する感受性の診断に付加、あるいは、確定させることができる診断ツールを提供する。遺伝子に変異を有する個体は、当該分野で周知な様々な手法によって、DNAレベルで検出することができる。

#### 【0033】

診断に供する核酸は、対象の細胞、例えば、血液、尿、唾液、組織生検または剖検試料などから得ることができる。ゲノムDNAを、直接、検出のために使用してもよく、あるいは、分析に先立ち、PCR、好ましくはRT-PCR、または他の増幅技術を使用して、酵素的に増幅してもよい。RNAまたはcDNAもまた、同様な手順で使用することができる。欠失および挿入は、正常な遺伝子型と比較して、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、標識されたホスホリパーゼC・デルタ5 (PLCD

5) の塩基配列に対して、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、ミスマッチした二重鎖と、RNase消化、あるいは融解温度における差によって、弁別することができる。DNA配列の相違はまた、変性剤の存在下または非存在下での、ゲルにおけるDNAフラグメント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してもよい(例えば、Myers et al., Science, (1985) 230: 1242参照)。特定の位置における配列の変化もまた、RNaseならびに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、明らかにすることもできる(Cotton et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, (1985) 85: 4397~4401参照)。

#### 【0034】

ホスホリパーゼC・デルタ5(PLCD5)のポリヌクレオチド配列またはそのフラグメントを含んでなる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。かかるアレイは、好ましくは、高密度のアレイまたは格子状である。アレイ化技術の方法は、周知であり、一般的な適用性を有しており、また、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解明するために使用することができ、例えば、M. Chee et al., 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する。

#### 【0035】

異常に、低下または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検出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、例えば、核酸増幅、例えば、PCR、RT-PCR、RNase保護、ノーザン・プロットおよび他のハイブリダイゼーション法などの、当該分野で周知の、ポリヌクレオチドの定量方法のいずれかを使用して、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レベルを決定す

るために使用することができるアッセイ手法は、当業者には周知である。かかるアッセイ方法には、放射免疫アッセイ、競合的結合アッセイ、ウエスタン・ブロット分析およびE L I S Aアッセイが含まれる。

【0036】

したがって、別の形態において、本発明は、

( a ) 本発明のポリヌクレオチド、好ましくは配列番号：1もしくは配列番号：4または配列番号：6のヌクレオチド配列またはそのフラグメントもしくはそのRNA転写物；

( b ) ( a ) の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、好ましくは配列番号：2もしくは配列番号：4または配列番号：6のポリペプチドまたはそのフラグメント；あるいは

( d ) 本発明のポリペプチド、好ましくは配列番号：2もしくは配列番号：4または配列番号：6のポリペプチドに対する抗体を含んでなる診断キットに関する。

【0037】

かかるキットの何れにおいても、( a )、( b )、( c ) または( d ) は、実質的な成分を構成することができることは理解される。かかるキットは、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。

【0038】

本発明のポリヌクレオチド配列は、染色体局在化の研究に有益である。該配列は、個々のヒト染色体上の特定位置に対して、特異的に標的化されており、そして、ハイブリダイゼーションすることができる。本発明に従って、関連する配列を染色体にマッピングすることは、それらの配列を遺伝子関連疾患と関連させる上での、重要な最初の過程である。一度、配列を正確な染色体位置にマッピングされると、染色体上における該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。かかるデータは、例えば、V . M c K u s i c k、ヒトにおけるメンデル遺伝( J o h n s H o p k i n s 大学 W e l c h M e d i c a l L i b r a r y を通してオンラインで利用可能である) 中に見出される。同じ染色体領域にマッピングされている、遺伝子と疾患と間の関係は、その後、

連鎖解析（物理的に隣り合う遺伝子の同時遺伝）を通して、同定される。ゲノム配列（遺伝子フラグメントなど）に関する、正確なヒト染色体上の局在化は、放射ハイブリッド（RH）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)、ゲノム全体の放射ハイブリッド・マップを構築するための方法、Nature Genetics、7、22~28）。多数のRHパネルを、Research Genetics (Huntsville, AL, 米国) から、例えば、GeneBridge 4 RHパネル (Hum. Mol. Genet., 1996, Mar; 5(3): 339~46、ヒトゲノムの放射ハイブリッド・マップ。Gyapay G., Schmitt K., Fizames C., Jones H., Vega-Czarny N., Spillet D., Muselet D., Prud'Homme J.F., Dib C., Auffray C., Morissette J., Weissenbach, J. および Goodfellow, P.N.) を入手可能である。このパネルを使用して遺伝子の染色体上の位置を決定するためには、RH DNA上の関心のある遺伝子から設計されたプライマーを使用して、93回のPCRが行われる。これらのDNAのそれぞれは、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）中に維持された、ランダムなヒト・ゲノム・フラグメントを含んでいる。このようなPCRは、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のスコアをもたらす。これらのスコアは、既知の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、ヒト染色体2q34 - 2q35, Interval D2s164 - D2s163にマッピングされている。

#### 【0039】

本発明のポリヌクレオチド配列はまた、組織発現の研究に対する有益なツールである。かかる研究は、それらをコードするmRNAを検出することによって、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を与える、本発

明のポリヌクレオチドの発現パターンの決定を可能とする。使用される技術は、当該分野では周知であり、また、cDNAマイクロアレイ・ハイブリダイゼーション(Schene et al., Science, 270, 467~470、1995およびShalon et al., Genome Res., 6, 639~645、1996)などの、格子上に配列されたクローンに対する系内・ハイブリダイゼーション技術、ならびにPCRなどの塩基増幅技術を含む。好ましい方法は、Perkin Elmerから入手可能なTAQMAN(商標)法を使用する。これらの研究による結果は、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。加えて、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もの)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、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見識を提供することができる。かかる不適切な発現は、時間的、空間的または単に量的な性質のものであってもよい。

#### 【0040】

本発明のポリペプチドは、心臓、脳、肺および網膜において発現される。

#### 【0041】

本発明のさらなる形態は、抗体に関する。本発明のポリペプチドまたはそのフラグメント、あるいはそれらを発現している細胞は、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作製するための免疫原として、使用することができる。「免疫特異的」の用語は、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れらの親和性よりも、本発明のポリペプチドに対して、実質的により大きな親和性を有することを意味する。

#### 【0042】

本発明のポリペプチドに対して生成される抗体は、慣用的なプロトコルを使用して、該ポリペプチドまたはエピトープ保持したフラグメント、あるいは細胞を、動物、好ましくは、非ヒト動物に、投与することによって取得することができる。モノクローナル抗体の調製には、継代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のいずれをも、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 et al., Immunology Today (1983)、4:73)、およびEBV-ハイブリドーマ技術 (Cole et al., Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, 77~96, Alan R. Liss, Inc., 1985) が含まれる。

#### 【0043】

米国特許第4,946,778号に記載されているものなどの、一本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一本鎖抗体を製造する上で応用することができる。また、トランスジェニック・マウスあるいは他の哺乳動物を含む他の生物を、ヒト化抗体を発現させるために使用してもよい。

#### 【0044】

上記抗体は、該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・クロマトグラフィによって該ポリペプチドを精製するために使用してもよい。本発明のポリペプチドに対する抗体は、また、中でも、本発明の疾患を治療するために使用することができる。

#### 【0045】

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。従って、さらなる形態において、本発明は、その疾患が個体において既に慢性化しているか否かに関わらず、前記動物を疾患から保護するために、抗体および/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)を生じさせるに適する、本発明のポリペプチドを哺乳動物に接種することを含んでなる、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。哺乳動物における免疫学的応答はまた、本発明にかかる疾患から前記動物を保護するための抗体を産生するような、かかる免疫学的応答を誘導するために、*in vivo*で、該ポリヌクレオチドの発現を支配し、かつ該ポリペプチドをコードしているベクターによって、本発明のポリペプチドを送達することを含んでなる方法によって誘導してもよい。該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の上へのコーティング物として、所望する細胞中へのそれを促進することによる。かかる核酸ベクターは、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。用途によって、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。該配合物はさらに、適合する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ることもあるため、それは、好ましくは非経口的に投与される（例えば、皮下、筋肉内、静脈内、あるいは皮内注射）。非経口投与に好適な配合物には、抗酸化剤、緩衝剤、静菌剤、ならびに配合物を接種者の血液と等張性にする溶質を含んでもよい、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んでもよい、水性および非水性の無菌懸濁剤が含まれる。該配合物は、単位用量または多回用量容器、例えば、密封されたアンプルならびにバイアルに入れて提供することができ、また、使用直前に無菌の液体キャリアを添加するだけでよい、凍結乾燥状態で保存することができる。該ワクチン配合物はまた、水中油型システムや当該分野で既知のその他のシステムなどの、配合物の免疫原性を増強するためのアジュバント・システムを含むことができる。投与量は、該ワクチンの比活性に依存し、型どおりの実験によって容易に決定することができる。

#### 【0046】

本発明のポリペプチドは、1つまたはそれ以上の疾患状態、特に、既に記載した本発明の疾患に関連している、1つまたはそれ以上の生物学的機能を有する。従って、該ポリペプチドの機能または濃度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。従って、さらなる形態において、本発明は、該ポリペプチドの機能または濃度を刺激または阻害する化合物を同定するために、化合物をスクリーニングする方法を提供する。かかる方法は、上に記載したような本発明の疾患に対する治療および予防目的のために使用することができる、アゴニストまたはアンタゴニストを同定する。化合物は、様々な供給源、例えば、細胞、無細胞調製物、化学的ライブラリー、化学化合物のコレクション、および天然産物混合物から同定することができる。このように同定される、かかるアゴニストまたはアンタゴニストは、場合によっては、ポリペプチド自体の、天然または修飾

された基質、リガンド、受容体、酵素など；その構造的または機能的な模倣体（Coligan et al., Current Protocols in Immunology, 1(2):5章(1991)参照）あるいは小分子であってもよい。

#### 【0047】

該スクリーニング方法は、候補化合物に直接的または間接的に連結されている標識を利用して、該ポリペプチド、あるいは該ポリペプチドまたはその融合タンパク質を表出している細胞または膜に対する候補化合物の結合を単に測定することでもよい。代わりに、該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）に対して、候補化合物のポリペプチドに対する競合的な結合の（定性的または定量的に）測定または検出を含んでもよい。さらに、これらのスクリーニング方法では、該ポリペプチドを表出している細胞に適する検出システムを使用して、候補化合物がポリペプチドの活性化または阻害によって誘起されるシグナルをもたらすか否かを調べることもよい。活性化の阻害剤は、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、候補化合物の存在による、アゴニストによる活性化に対する作用を観測する。さらに、該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、混合体を形成させる工程、混合物におけるホスホリパーゼC・デルタ5（PLCD5）活性を測定する工程、および混合物のホスホリパーゼC・デルタ5（PLCD5）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工程を単に含んでなることでもよい。

#### 【0048】

本発明のポリペプチドは、従来の低い容量のスクリーニング方法、そして、また、ハイ・スループットなスクリーニング（HTS）形態においても、使用することができる。かかるHTS形態には、十分に確立された、96-、また、最近では、384-ウエル・マイクロ・タイター・プレートの使用のみでなく、Schullek et al., Anal. Biochem., 246, 20~29(1997)に記載されている、ナノウエル法などの開発途上の方法もまた含まれる。

## 【0049】

既に記載したような、Fc部分およびホスホリパーゼC・デルタ5 (PLCD5) ポリペプチドから作製されるものなどの、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、ハイ・スループットなスクリーニング・アッセイのために使用することができる (D. Bennett et al., J. Mol. Recognition, 8:52~58 (1995); ならびに K. Johanson et al., J. Biol. Chem., 270(16):9459~9471 (1995) 参照)。

## 【0050】

## 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、および該ポリペプチドに対する抗体はまた、細胞内における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影響を検出するためのスクリーニング方法を形成するために使用することができる。例えば、当該分野で公知の標準的な方法によって、モノクローナル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または細胞結合している濃度を測定するために、ELISAアッセイを構築することができる。これは、適当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または増強することができる薬剤 (また、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。

## 【0051】

本発明のポリペプチドは、当該分野で公知の標準的な受容体結合手法を通して、存在する場合には、膜結合型または可溶性の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、それに限定されないものの、ポリペプチドを、放射性同位体 (例えば、 $^{125}\text{I}$ ) で標識、化学修飾 (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と融合して、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する、リガンド結合ならびにクロスリンク・アッセイが含まれる。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、存在する場合には、ポリペプチドのその

受容体に対する結合と競合する、該ポリペプチドのアゴニストおよびアンタゴニストを同定するために使用することができる。かかるアッセイを行うための標準的な方法は、当該分野では十分に理解されている。

#### 【0052】

本発明のポリペプチドのアンタゴニストの例には、抗体、あるいは、ある場合には、該ポリペプチド自体のリガンド、基質、受容体、酵素などに密接に関連するオリゴヌクレオチドまたはタンパク質、場合により、例えば、該リガンド、基質、受容体、酵素などのフラグメント；あるいは本発明のポリペプチドに結合するものの、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。

#### 【0053】

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ホスホリパーゼC・デルタ5 (PLCD5) 遺伝子の使用を含んでもよい。トランスジェニック動物を構築する手法は十分に確立されている。例えば、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、移植前または移植後の胚へのレトロウイルス移入、エレクトロポレーションなどによって、遺伝子操作された胚性幹細胞の宿主胚盤胞への注入を通して、ホスホリパーゼC・デルタ5 (PLCD5) 遺伝子を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、その動物のゲノム内において、動物の遺伝子がヒトの等価体によって置き換えられている、所謂「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、医薬探索のプロセスにおいて、化合物はヒトの標的に対して特異的であるという、標的の妥当性検証用に有用である。他の有用なトランスジェニック動物は、内因性DNA配列によってコードされている、本発明のポリペプチドに対する動物オルソログの発現が細胞内で部分的または完全に無効とされている、所謂「ノック・アウト」動物である。遺伝子のノック・アウトは、技術の限界の結果として、特異的な細胞または組織を対象とする、特定の細胞または組織においてのみ起きていてもよく、あるいは、動物内の全て、または実質的に全ての細胞において生じてもよい。トランスジェニック動物の手法はまた、導入された遺伝子が、本発明のポリペプチドを大量に供するために発現さ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。

【0054】

上記の方法において使用されるスクリーニング・キットは、本発明のさらなる形態をなす。かかるスクリーニング・キットは、

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

を含んでなり、好ましくは、前記のポリペプチドは、配列番号：2もしくは配列番号：4または配列番号：6のものである。

【0055】

かかるキット何れの中においても、(a)、(b)、(c)または(d)は、実質的な構成要素を構成することは理解される。

【0056】

(用語集)

下記の定義は、本明細書中で既に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。

【0057】

本明細書中に用いられる「抗体」は、ポリクローナルおよびモノクローナル抗体、キメラ、一本鎖、ならびにヒト化抗体、同様に、Fabフラグメントをも包含し、Fabまたは他の免疫グロブリンの発現ライブラリー生成物をも包含する。

【0058】

「単離(された)」は、その天然の状態から、「ヒトの手によって」変化していること、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、または移動されているか、あるいは、その両方であることを意味する。例えば、生きた生物中に天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」されてはいないが、その天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、この用語の本明細書中での用法に従うと、「単離」され

ている。さらに、形質転換、遺伝子操作、または何らかの他の組換え方法によって、生物中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、その生物が生存または非生存かのいずれでも、前記生物中に依然として存在している場合でさえ、「単離」されている。

#### 【0059】

「ポリヌクレオチド」は、一般には、非改変型または改変型のRNAあるいはDNAであってもよい、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)を指す。「ポリヌクレオチド」には、限定ではないものの、一本鎖および二本鎖のDNA、一本鎖と二本鎖の領域の混合物であるDNA、一本鎖および二本鎖のRNA、ならびに一本鎖と二本鎖の領域の混合物であるRNA、一本鎖、または、より典型的には、二本鎖の、あるいは、一本鎖と二本鎖の領域の混合物であってもよい、DNAおよびRNAを含んでなるハイブリッド分子が含まれる。加えて、「ポリヌクレオチド」は、RNAまたはDNA、あるいはRNAとDNAとの両方を含んでなる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、ならびに、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、従って、「ポリヌクレオチド」は、ウイルスおよび細胞に特徴的なDNAおよびRNAの化学的形態と同様に、自然界に典型的に見出されるような、ポリヌクレオチドの化学的、酵素的または代謝的に修飾された形態をも包含する。「ポリヌクレオチド」はまた、しばしばオリゴヌクレオチドと称される、比較的短いポリヌクレオチドをも包含する。

#### 【0060】

「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)によって互いに連結された2つ以上のアミノ酸を含んでなるポリペプチドのいずれをも指す。「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、より長い鎖の双方ともをいう。ポリペプチドは、遺伝子によってコー

ドされる20種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」には、翻訳後プロセッシングなどの天然のプロセス、あるいは当該分野で周知の化学的な修飾方法のいずれかによって、修飾がなされたアミノ酸配列が含まれる。かかる修飾は、基本的な教本、およびより詳細な専門書、ならびに数多くの研究文献中に、広く記載されている。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、ポリペプチド内のいずれの位置に生じさせることもできる。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てもよいことが理解される。また、所与のポリペプチドは、多くのタイプの修飾を含んでもよい。ポリペプチドは、ユビキチン化の結果として分枝がなされてもよく、また、分枝を有する、または有していない、環状であってもよい。環状、分枝状および分枝した環状のポリペプチドは、翻訳に続く天然のプロセスに起因しても、あるいは合成的方法によって作製されてもよい。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、クロス・リンク形成、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、システインの形成、ピログルタミン酸の形成、ホルミル化、 $\gamma$ -カルボキシル化、グリコシル化、GPI・アンカー形成、ヒドロキシ化、ヨウ素化、メチル化、ミリストイル化、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、ラセミ化、セレノイル化、硫酸化、アルギニル化などのアミノ酸のタンパク質へのトランスファー・RNA媒介付加、ならびユビキチン化が含まれる(例えば、Proteins - Structures and Molecular Properties、第2版、T. E. Creighton、W. H. Freeman and Company、New York、1993; World, F.、翻訳後のタンパク質修飾: 全体像および展望、1~12、Post-translational Covalent Modification of Proteins、B. C. Johnson編、Academic Press、New York、1983; Seifter et al.、「タンパク質修飾および非タンパク質補

助因子の分析」、Meth. Enzymol.、182、626~646、1990; Rattan et al.、「タンパク質合成：翻訳後修飾およびエーシング」、Ann. NY Acad. Sci.、663、48~62、1992参照)。

#### 【0061】

ポリペプチド配列の「フラグメント」は、基準の配列よりも短いものの、基準となるポリペプチドと同一の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「フラグメント」は、配列番号：1もしくは配列番号：3または配列番号：5の基準配列よりも短いポリヌクレオチド配列をいう。

#### 【0062】

「変異体」は、基準となるポリヌクレオチドまたはポリペプチドとは異なるものの、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、基準となるポリヌクレオチドに対して、塩基配列に相違がある。変異体の塩基配列における変異は、基準となる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ても、させなくてもよい。ヌクレオチドの変化は、下記に説明するように、基準の配列によってコードされるポリペプチド中における、アミノ酸の置換、付加、欠失、融合および末端の短縮化を引き起こしてもよい。ポリペプチドの典型的な変異体は、基準となるポリペプチドに対して、アミノ酸配列に相違がある。一般に、改変は、基準となるポリペプチドおよび変異体の配列が全体的には非常に類似し、そして多くの領域において同一となるように制限される。変異体ならびに基準となるポリペプチドは、アミノ酸配列において、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相違してもよい。置換または挿入されるアミノ酸残基は、遺伝子コードによってコードされるアミノ酸残基であっても、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; Lys、Arg; ならびにPheおよびTyr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、対立遺伝子などの天然に存在するものであってもよく、あるい

は天然では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は存在しない変異体は、変異誘発方法によって、あるいは直接合成によって作製することもできる。また、1つまたは複数の翻訳後の修飾、例えば、グリコシル化、リン酸化、メチル化、ADP-リボシル化などを有するポリペプチドも、また変異体には含まれる。実施態様には、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。

#### 【0063】

「対立遺伝子」は、ゲノム中の所与の遺伝子座に存在する遺伝子の、2つまたはそれ以上の選択的な形態の1つをいう。

#### 【0064】

「多型」は、集団内における、ゲノムにおける所与の位置における塩基配列（仮に関連する場合には、コードされるポリペプチド配列）の変動をいう。

#### 【0065】

「単一塩基多型」(SNP)は、集団内においてゲノム内の1つの塩基位置における、塩基変動の発生をいう。SNPは、遺伝子内で、あるいはゲノムの遺伝子間領域内で起こってもよい。SNPは、対立遺伝子特異的増幅(ASA)を使用してアッセイすることができる。該プロセスには、少なくとも3つのプライマーが必要とされる。共通プライマーが、アッセイされる多型に対して、逆方向に相補となるように使用される。この共通プライマーは、多型な塩基から50bpから1500bpの間で隔たったものとできる。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、多型を構成する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変化している点を除いて、互いに同一である。そして、それぞれ、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を使用して、2つ（またはそれ以上）のPCR反応を、サンプルDNAについて行う。

#### 【0066】

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配列から一旦転写され、ただし、択一的なRNAスプライシングを受けている、RN

A分子から作製されたcDNA分子をいう。択一的な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る際に生じ、それぞれ、異なるアミノ酸配列をコードしてもよい、1つ以上のmRNA分子の産生を引き起こす。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いう。

【0067】

「同一性」は、その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相互関係を反映している。一般に、同一性は、対比がなされている配列の長さにならって、2つのポリヌクレオチド配列、あるいは2つのポリペプチド配列の、それぞれ塩基毎またはアミノ酸毎の厳密な一致をいう。

【0068】

「%同一性」 - 正確な一致が存在しない配列については、「%同一性」を決定することができる。一般に、対比すべき2つの配列を、配列間で最大の相関を与え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を含んでもよい。%同一性は、比較されている配列のそれぞれの全長にならって、決定してもよく（所謂、全体的なアラインメント）、同じ長さまたは非常に類似する長さの配列に対して、特に適している；あるいは、より短い、限定された長さにならって、決定してもよく（所謂、局所的なアラインメント）、不ぞろいな長さの配列において、より好適である。

【0069】

「類似性」は、2つのポリペプチド配列の間における関係に対する、より精巧な、さらなる尺度である。一般に、「類似性」は、残基毎に基づき、（同一性に関してと、同様に）比較されている配列それぞれからの、相互に対をなす残基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も、進化的な基準に基づいて、1つの残基は、他方に対する適当な置換であるかどうかをも考慮する、2つのポリペプチド鎖のアミノ酸間での比較を意味する。この蓋然性は、付随した「スコア」を有し、2つの配列の「%類似性」は、それに基づき決定す

ることができる。

【0070】

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、当該分野では周知となっている。従って、例えば、ウイスコンシン配列分析パッケージバージョン9.1 (Devereux J. et al., *Nucleic Acids Res.*, 12, 387~395, 1984; Genetic Computer Group, Madison, Wisconsin, 米国)中の利用可能なプログラム、例えば、BESTFIT およびGAP プログラムを、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%類似性を決定するために使用してもよい。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の比較に対してより適しており、該プログラムは、より短い配列は、より長いものの一部を表すことを仮定している。一方、GAPは、NeddlemanおよびWunschのアルゴリズム (J. Mol. Biol., 48, 443~453, 1970) に従って、「最大の類似性」を見出しつつ、2つの配列をアラインメントする。GAPは、ほぼ同じの長さであり、また、アラインメントが長さ全体にわたって期待される配列の比較に対してより適している。好ましくは、比較されるものを、最適にアラインメントするための、各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に対しては、50および3であり、ポリペプチド配列に対しては、12および4である。好ましくは、比較されている2つの配列を最適にアラインメントした上で、%同一性および類似性を決定する。

【0071】

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、当該分野では知られており、例えば、BLASTファミリーのプログラム (A

ltschul S.F. et al., J.Mol.Biol., 215、403~410、1990; Altschul S.F. et al., Nucleic Acids Res., 25:389~3402、1997; National Center for Biotechnology Information (NCBI) (Bethesda, Maryland, 米国) から入手することができ、またwww.ncbi.nlm.nih.govの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 W.R.およびLipman D.J., Proc.Nat.Acad.Sci.USA. 85、2444~2448、1988; ウィスコンシン配列分析パッケージの一部として入手可能である)。

#### 【0072】

好ましくは、BLOSUM62 アミノ酸置換行列 (Henikoff S and Henikoff JG, Proc.Nat.Acad.Sci.USA, 89、10915~10919、1992) を、比較の前に、ヌクレオチド配列をアミノ酸配列に予め翻訳する場合をも含み、ポリペプチド配列の比較において使用する。

#### 【0073】

好ましくは、プログラム BESTFITが、基準とするポリヌクレオチドまたはポリペプチド配列に関して、検討するポリヌクレオチド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、前に記載したように、検討と基準とする配列とは、最適にアラインメントされ、また、プログラムのパラメーターは、暫定の値に設定されている。

#### 【0074】

「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) と基準の配列とを比較するために使用することができる、配列関連性の尺度である。すなわち、例えば、基準とするポリヌクレオチド配列と比較して、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、該候補ポリヌクレオチド配列は、基準の配列の各100塩基あたり平均して5個までの相違を含んでもよい

点を除いて、基準の配列と同一である。かかる相違は、少なくとも1つの塩基欠失、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。これらの相違は、基準となるポリヌクレオチド配列の5'または3'末端部位に、あるいはこれら末端部位の間の任意な位置で、基準配列内の塩基間に個々に、あるいは基準配列内において1つまたは複数の連続した群中で点在して、起こってもよい。換言すると、基準となるポリヌクレオチド配列と比較した際、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、既に記載したように、基準配列内の塩基100個毎に、平均して5個までが、任意の組合せで、欠失、置換または挿入されていてもよい。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についても、必要に応じて変更して適用される。

#### 【0075】

同様に、ポリペプチドの場合には、基準の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、基準の配列の各100アミノ酸あたり、平均して5個までの違いを該ポリペプチド配列が含んでもよいことを除いて、基準の配列と同一である。かかる相違は、少なくとも1つのアミノ酸の欠失、保存的ならびに非保存的な置換を含む置換、または挿入からなる群から選択される。これらの相違は、基準となるポリペプチド配列のアミノ末端またはカルボキシ末端部位に、あるいはこれら末端部位間の任意の位置に、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つまたは複数の連続した群中に点在して、起こってもよい。換言すると、基準のポリペプチド配列と比較した際、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、既に記載したように、基準配列内のアミノ酸の100個毎に、平均して5個まで、任意の組合せで、欠失、置換または挿入がなされてもよい。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についても、必要に応じて変更して適用される。

#### 【0076】

塩基またはアミノ酸の相違数と同一性指標との関係は、下記の式で表記でき、

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

式中、

$n_a$  は、塩基またはアミノ酸の相違数であり、

$x_a$  は、配列番号：1, 2, 3 あるいは配列番号：4 における塩基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、

・ は、乗算演算子に対する記号であり、

その際、 $x_a$  と I との非整数の積は、 $x_a$  から減ずるに先立ち、最も近い整数に切り捨てられる。

#### 【0077】

「ホモログ」は、基準の配列に対して、高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、当該分野で使用されている一般的な用語である。かかる関連性は、既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、定量化することもできる。この総称的な用語には、「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、別の種中における、該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、同じ種内にあるポリヌクレオチドまたはポリペプチドをいう。

#### 【0078】

「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フラグメントによってコードされるタンパク質をいう。その例が、米国特許第5541087号、米国特許第5726044号に開示されている。Fc-PLCD5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領域の使用は、治療に使用する際のかかる融合タンパク質の薬物動態学的性質を改善するため、ならびに、二量体型のPLCD5を形成させるために、Fc-PLCD5または該PLCD5の断片の機能的発現を行う上で好都合である。Fc-PLCD5のDNA構築物は、5'から3'の方向に、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誘起するシグナル配列、融合パートナーとして、免疫グロブリンのFc領域フラグメントをコードするDNA、およびPLCD5をコ

ードするDNAまたはその断片を含んでなる。ある用途では、融合タンパク質の残部には手を触れることなく、機能的なFc側を変異させ、その固有的な機能的性質（補体結合、Fc受容体結合）を変える、あるいは発現後にFc部分を完全に除くことを可能とすることが望ましい。

#### 【0079】

特許および特許出願に限らず、これらを含む、本明細書中で引用されている刊行物および参考文献の全ては、十分に述べているように、個々の刊行物または参考文献を、参照して組み込むために、明示的かつ個別的に示唆されているように、その全部を、参照することで、本明細書中に組み込まれる。本出願が優先権を主張する特許出願はいずれも、先に刊行物および参考文献に関して記載したと同様に、その全部を、参照することで、本明細書中に組み込まれる。

#### 【0080】

（さらなる実施例）

##### 全長遺伝子のクローニング

マラソン・ヒト骨格筋cDNA（Lot No. : 8110450）（clontech Laboratories GmbH, Heidelberg Germany製）が逆配向性で遺伝子特異的プライマーNo. 1（配列番号：7）及びNo. 2（配列番号：8）を用いて、PCRに使用された。PCRの条件は、94 で1.30分、94 で30秒及び68 で1分を5サイクル、94 で30秒及び66 で1分を5サイクル、94 で30秒及び64 で1分を32サイクル行い、続いて追加のステップとしてアドバンテージ・ポリメラーゼ（clontech）を用いて72 で3分間、である。cDNA増幅物はクローンされ配列決定された。

#### 【0081】

組織分布：

標準化されたヒトcDNAのセットを用いて、短い遺伝子フラグメントを増強し、PLCD5の組織分布を調べた。この目的のためにclontech Multiple tissue cDNA Panel I（clontech Laboratories GmbH, Heidelberg Germany

)を逆配向性の2つのPLCD5遺伝子特異的プライマーNo.3(配列番号:9)及びNo.3(配列番号:10)と共に使用した。clontech社から購入したアドバンティジ・ポリメラーゼ混合物を用いて、762塩基長のPCRフラグメントをゲル・フォトにおいて増幅した。PCRの条件は、94で30秒、さらに94で30秒、61で1分、68で3分を30サイクルであり、アドバンティジ・ポリメラーゼを使用した。G3PDH特異的プライマー5(配列番号:11)をプライマー5(配列番号:12)を混合して、ポジティブコントロールとして提供し、その結果、1.09kbの生成物を得た。ネガティブコントロールPCRはPCR鑄型として滅菌水を使用した結果、PCR生成物を得ることができなかった。

【図面の簡単な説明】

【図1】

複数の組織のcDNAパネルの1.1%アガロース・ゲルである。ヒト組織及びコントロールを示す。ゲル上にはそれぞれ20μlのPCR反応が行われた。

【配列表】

## SEQUENCE LISTING

□  
 5 <110> Merck Patent GmbH  
 □  
 □  
 <120> Human phospholipase PLCD5  
 10 □  
 □  
 <130> PLCD5SBWS  
 □  
 15 □  
 <140>  
 □  
 <141>  
 20 □  
 □  
 <160> 12  
 □  
 25 □  
 <170> PatentIn Ver. 2.1  
 <210> 1  
 30 <211> 2289  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 35 <221> CDS  
 <222> (1)..(2289)  
 <220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: Primer 1  
 40 <400> 1  
 atg gcg tcc ctg ctg caa gac cag ctg acc act gat cag gac ttg ctg 48  
 Met Ala Ser Leu Leu Gln Asp Gln Leu Thr Thr Asp Gln Asp Leu Leu  
 1 5 10 15  
 45 ctg atg cag gaa ggc atg ccg atg cgc aag gtg agg tcc aaa agc tgg 96  
 Leu Met Gln Glu Gly Met Pro Met Arg Lys Val Arg Ser Lys Ser Trp  
 20 25 30  
 50 aag aag cta aga tac ttc aga ctt cag aat gac ggc atg aca gtc tgg 144  
 Lys Lys Leu Arg Tyr Phe Arg Leu Gln Asn Asp Gly Met Thr Val Trp  
 35 40 45  
 cat gca cgg cag gcc agg ggc agt gcc aag ccc agc ttc tca atc tct 192  
 55 His Ala Arg Gln Ala Arg Gly Ser Ala Lys Pro Ser Phe Ser Ile Ser  
 50 55 60  
 gat gtg gag aca ata cgt aat ggc cat gat tcc gag ttg ctg cgt agc 240  
 Asp Val Glu Thr Ile Arg Asn Gly His Asp Ser Glu Leu Leu Arg Ser  
 60 65 70 75 80

	ctg gca gag gag ctc ccc ctg gag cag ggc ttc acc att gtc ttc cat	288
	Leu Ala Glu Glu Leu Pro Leu Glu Gln Gly Phe Thr Ile Val Phe His	
	85 90 95	
5	ggc cgc cgc tcc aac ctg gac ctg atg gcc aac agt gtt gag gag gcc	336
	Gly Arg Arg Ser Asn Leu Asp Leu Met Ala Asn Ser Val Glu Glu Ala	
	100 105 110	
10	cag ata tgg atg cga ggg ctc cag ctg ttg gtg gat ctt gtc acc agc	384
	Gln Ile Trp Met Arg Gly Leu Gln Leu Leu Val Asp Leu Val Thr Ser	
	115 120 125	
15	atg gac cat cag gag cgc ctg gac caa tgg ctg agc gat tgg ttt caa	432
	Met Asp His Gln Glu Arg Leu Asp Gln Trp Leu Ser Asp Trp Phe Gln	
	130 135 140	
20	cgt gga gac aaa aat cag gat ggt aag atg agt ttc caa gaa gtt cag	480
	Arg Gly Asp Lys Asn Gln Asp Gly Lys Met Ser Phe Gln Glu Val Gln	
	145 150 155 160	
25	cgg tta ttg cac cta atg aat gtg gaa atg gac caa gaa tat gcc ttc	528
	Arg Leu Leu His Leu Met Asn Val Glu Met Asp Gln Glu Tyr Ala Phe	
	165 170 175	
30	agt ctt ttt cag gca gca gac acg tcc cag tct gga acc ctg gaa gga	576
	Ser Leu Phe Gln Ala Ala Asp Thr Ser Gln Ser Gly Thr Leu Glu Gly	
	180 185 190	
35	gaa gaa ttc gta cag ttc tat aag gca ttg act aaa cgt gct gag gtg	624
	Glu Glu Phe Val Gln Phe Tyr Lys Ala Leu Thr Lys Arg Ala Glu Val	
	195 200 205	
40	cag gaa ctg ttt gaa agt ttt tca gct gat ggg cag aag ctg act ctg	672
	Gln Glu Leu Phe Glu Ser Phe Ser Ala Asp Gly Gln Lys Leu Thr Leu	
	210 215 220	
45	ctg gaa ttt ttg gat ttc ctc caa gag gag cag aag gag aga gac tgc	720
	Leu Glu Phe Leu Asp Phe Leu Gln Glu Glu Gln Lys Glu Arg Asp Cys	
	225 230 235 240	
50	acc tct gag ctt gct ctg gaa ctc att gac cgc tat gaa cct tca gac	768
	Thr Ser Glu Leu Ala Leu Glu Leu Ile Asp Arg Tyr Glu Pro Ser Asp	
	245 250 255	
55	agt ggc aaa ctg cgg cat gtg ctg agt atg gat ggc ttc ctc agc tac	816
	Ser Gly Lys Leu Arg His Val Leu Ser Met Asp Gly Phe Leu Ser Tyr	
	260 265 270	
60	ctc tgc tct aag gat gga gac atc ttc aac cca gcc tgc ctc ccc atc	864
	Leu Cys Ser Lys Asp Gly Asp Ile Phe Asn Pro Ala Cys Leu Pro Ile	
	275 280 285	
65	tat cag gat atg act caa ccc ctg aac cac tac ttc atc tgc tct tct	912
	Tyr Gln Asp Met Thr Gln Pro Leu Asn His Tyr Phe Ile Cys Ser Ser	
	290 295 300	
70	cat aac acc tac cta gtg ggg gac cag ctt tgt ggc cag agc agc gtc	960
	His Asn Thr Tyr Leu Val Gly Asp Gln Leu Cys Gly Gln Ser Ser Val	
	305 310 315 320	

	gag gga tat ata cgg gcc ctg aag cgg ggg tgc cgc tgc gtg gag gtg	1008
	Glu Gly Tyr Ile Arg Ala Leu Lys Arg Gly Cys Arg Cys Val Glu Val	
	325 330 335	
5	gat gta tgg gat gga cct agc ggg gaa cct gtc gtt tac cac gga cac	1056
	Asp Val Trp Asp Gly Pro Ser Gly Glu Pro Val Val Tyr His Gly His	
	340 345 350	
10	acc ctg acc tcc cgc atc ctg ttc aaa gat gtc gtg gcc aca gta gca	1104
	Thr Leu Thr Ser Arg Ile Leu Phe Lys Asp Val Val Ala Thr Val Ala	
	355 360 365	
15	cag tat gcc ttc cag aca tca gac tac cca gtc atc ttg tcc ctg gag	1152
	Gln Tyr Ala Phe Gln Thr Ser Asp Tyr Pro Val Ile Leu Ser Leu Glu	
	370 375 380	
20	acc cac tgc agc tgg gag cag cag cag acc atg gcc cgt cat ctg act	1200
	Thr His Cys Ser Trp Glu Gln Gln Gln Thr Met Ala Arg His Leu Thr	
	385 390 395 400	
25	gag atc ctg ggg gag cag ctg ctg agc acc acc ttg gat ggg gtg ctg	1248
	Glu Ile Leu Gly Glu Gln Leu Leu Ser Thr Thr Leu Asp Gly Val Leu	
	405 410 415	
30	ccc act cag ctg ccc tcc cct gag gag ctt cgg agg aag atc ctg gtg	1296
	Pro Thr Gln Leu Pro Ser Pro Glu Glu Leu Arg Arg Lys Ile Leu Val	
	420 425 430	
35	aag ggg aag aag tta aca ctt gag gaa gac ctg gaa tat gag gaa gag	1344
	Lys Gly Lys Lys Leu Thr Leu Glu Glu Asp Leu Glu Tyr Glu Glu Glu	
	435 440 445	
40	gaa gca gaa cct gag ttg gaa gag tca gaa ttg gcg ctg gag tcc cag	1392
	Glu Ala Glu Pro Glu Leu Glu Glu Ser Glu Leu Ala Leu Glu Ser Gln	
	450 455 460	
45	ttt gag act gag cct gag ccc cag gag cag aac ctt cag aat aag gac	1440
	Phe Glu Thr Glu Pro Glu Pro Gln Glu Gln Asn Leu Gln Asn Lys Asp	
	465 470 475 480	
50	aaa aag aag aaa tcc aag ccc atc ttg tgt cca gcc ctc tct tcc ctg	1488
	Lys Lys Lys Lys Ser Lys Pro Ile Leu Cys Pro Ala Leu Ser Ser Leu	
	485 490 495	
55	gtt atc tac ttg aag tct gtc tca ttc cgc agc ttc aca cat tca aag	1536
	Val Ile Tyr Leu Lys Ser Val Ser Phe Arg Ser Phe Thr His Ser Lys	
	500 505 510	
60	gag cac tac cac ttc tac gag ata tca tct ttc tct gaa acc aag gcc	1584
	Glu His Tyr His Phe Tyr Glu Ile Ser Ser Phe Ser Glu Thr Lys Ala	
	515 520 525	
65	aag cgc ctc atc aag gag gct ggc aat gag ttt gtg cag cac aat act	1632
	Lys Arg Leu Ile Lys Glu Ala Gly Asn Glu Phe Val Gln His Asn Thr	
	530 535 540	
70	tgg cag tta agc cgt gtg tat ccc agc ggc ctg agg aca gac tct tcc	1680
	Trp Gln Leu Ser Arg Val Tyr Pro Ser Gly Leu Arg Thr Asp Ser Ser	
	545 550 555 560	

	aac tac aac ccc cag gaa ctc tgg aat gca ggc tgc cag atg gtg gcc	1728
	Asn Tyr Asn Pro Gln Glu Leu Trp Asn Ala Gly Cys Gln Met Val Ala	
	565 570 575	
5	atg aat atg cag act gca ggg ctt gaa atg gac atc tgt gat ggg cat	1776
	Met Asn Met Gln Thr Ala Gly Leu Glu Met Asp Ile Cys Asp Gly His	
	580 585 590	
10	ttc cgc cag aat ggc ggc tgt ggc tat gtg ctg aag cca gac ttc ctg	1824
	Phe Arg Gln Asn Gly Gly Cys Gly Tyr Val Leu Lys Pro Asp Phe Leu	
	595 600 605	
15	cgt gat atc cag agt tct ttc cac cct gag aag ccc atc agc cct ttc	1872
	Arg Asp Ile Gln Ser Ser Phe His Pro Glu Lys Pro Ile Ser Pro Phe	
	610 615 620	
20	aaa gcc cag act ctc tta atc cag gtg atc agc ggt cag caa ctc ccc	1920
	Lys Ala Gln Thr Leu Leu Ile Gln Val Ile Ser Gly Gln Gln Leu Pro	
	625 630 635 640	
	aaa gtg gac aag acc aaa gag ggg tcc att gtg gat cca ctg gtg aaa	1968
	Lys Val Asp Lys Thr Lys Glu Gly Ser Ile Val Asp Pro Leu Val Lys	
	645 650 655	
25	gtg cag atc ttt ggc gtt cgt cta gac aca gca cgg cag gag acc aac	2016
	Val Gln Ile Phe Gly Val Arg Leu Asp Thr Ala Arg Gln Glu Thr Asn	
	660 665 670	
30	tat gtg gag aac aat ggt ttt aat cca tac tgg ggg cag aca cta tgt	2064
	Tyr Val Glu Asn Asn Gly Phe Asn Pro Tyr Trp Gly Gln Thr Leu Cys	
	675 680 685	
35	ttc cgg gtg ctg gtg cct gaa ctt gcc atg ctg cgt ttt gtg gta atg	2112
	Phe Arg Val Leu Val Pro Glu Leu Ala Met Leu Arg Phe Val Val Met	
	690 695 700	
40	gat tat gac tgg aaa tcc cga aat gac ttt att ggt cag tac acc ctg	2160
	Asp Tyr Asp Trp Lys Ser Arg Asn Asp Phe Ile Gly Gln Tyr Thr Leu	
	705 710 715 720	
	cct tgg acc tgc atg caa caa ggt tac cgc cac att cac ctg ctg tcc	2208
	Pro Trp Thr Cys Met Gln Gln Gly Tyr Arg His Ile His Leu Leu Ser	
	725 730 735	
45	aaa gat ggc atc agc ctc cgc cca gct tcc atc ttt gtg tat atc tgc	2256
	Lys Asp Gly Ile Ser Leu Arg Pro Ala Ser Ile Phe Val Tyr Ile Cys	
	740 745 750	
50	atc cag gaa ggc ctg gag ggg gat gag tcc tga	2289
	Ile Gln Glu Gly Leu Glu Gly Asp Glu Ser	
	755 760	
55	<210> 2	
	<211> 762	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<223> Description of Artificial Sequence: Primer 1	
60		

<400> 2

	Met	Ala	Ser	Leu	Leu	Gln	Asp	Gln	Leu	Thr	Thr	Asp	Gln	Asp	Leu	Leu
	1				5					10					15	
5	Leu	Met	Gln	Glu	Gly	Met	Pro	Met	Arg	Lys	Val	Arg	Ser	Lys	Ser	Trp
			20						25					30		
	Lys	Lys	Leu	Arg	Tyr	Phe	Arg	Leu	Gln	Asn	Asp	Gly	Met	Thr	Val	Trp
			35					40					45			
	His	Ala	Arg	Gln	Ala	Arg	Gly	Ser	Ala	Lys	Pro	Ser	Phe	Ser	Ile	Ser
		50				55						60				
10	Asp	Val	Glu	Thr	Ile	Arg	Asn	Gly	His	Asp	Ser	Glu	Leu	Leu	Arg	Ser
	65				70					75					80	
	Leu	Ala	Glu	Glu	Leu	Pro	Leu	Glu	Gln	Gly	Phe	Thr	Ile	Val	Phe	His
					85					90					95	
	Gly	Arg	Arg	Ser	Asn	Leu	Asp	Leu	Met	Ala	Asn	Ser	Val	Glu	Glu	Ala
				100					105					110		
15	Gln	Ile	Trp	Met	Arg	Gly	Leu	Gln	Leu	Leu	Val	Asp	Leu	Val	Thr	Ser
			115						120					125		
	Met	Asp	His	Gln	Glu	Arg	Leu	Asp	Gln	Trp	Leu	Ser	Asp	Trp	Phe	Gln
		130					135						140			
20	Arg	Gly	Asp	Lys	Asn	Gln	Asp	Gly	Lys	Met	Ser	Phe	Gln	Glu	Val	Gln
	145				150							155				160
	Arg	Leu	Leu	His	Leu	Met	Asn	Val	Glu	Met	Asp	Gln	Glu	Tyr	Ala	Phe
				165						170					175	
	Ser	Leu	Phe	Gln	Ala	Ala	Asp	Thr	Ser	Gln	Ser	Gly	Thr	Leu	Glu	Gly
			180						185					190		
25	Glu	Glu	Phe	Val	Gln	Phe	Tyr	Lys	Ala	Leu	Thr	Lys	Arg	Ala	Glu	Val
			195					200					205			
	Gln	Glu	Leu	Phe	Glu	Ser	Phe	Ser	Ala	Asp	Gly	Gln	Lys	Leu	Thr	Leu
			210				215						220			
30	Leu	Glu	Phe	Leu	Asp	Phe	Leu	Gln	Glu	Glu	Gln	Lys	Glu	Arg	Asp	Cys
	225					230							235			240
	Thr	Ser	Glu	Leu	Ala	Leu	Glu	Leu	Ile	Asp	Arg	Tyr	Glu	Pro	Ser	Asp
				245						250					255	
	Ser	Gly	Lys	Leu	Arg	His	Val	Leu	Ser	Met	Asp	Gly	Phe	Leu	Ser	Tyr
			260						265					270		
35	Leu	Cys	Ser	Lys	Asp	Gly	Asp	Ile	Phe	Asn	Pro	Ala	Cys	Leu	Pro	Ile
			275					280					285			
	Tyr	Gln	Asp	Met	Thr	Gln	Pro	Leu	Asn	His	Tyr	Phe	Ile	Cys	Ser	Ser
			290				295						300			
40	His	Asn	Thr	Tyr	Leu	Val	Gly	Asp	Gln	Leu	Cys	Gly	Gln	Ser	Ser	Val
	305					310						315				320
	Glu	Gly	Tyr	Ile	Arg	Ala	Leu	Lys	Arg	Gly	Cys	Arg	Cys	Val	Glu	Val
				325						330					335	
	Asp	Val	Trp	Asp	Gly	Pro	Ser	Gly	Glu	Pro	Val	Val	Tyr	His	Gly	His
			340						345					350		
45	Thr	Leu	Thr	Ser	Arg	Ile	Leu	Phe	Lys	Asp	Val	Val	Ala	Thr	Val	Ala
			355					360						365		
	Gln	Tyr	Ala	Phe	Gln	Thr	Ser	Asp	Tyr	Pro	Val	Ile	Leu	Ser	Leu	Glu
			370				375						380			
50	Thr	His	Cys	Ser	Trp	Glu	Gln	Gln	Gln	Thr	Met	Ala	Arg	His	Leu	Thr
	385						390					395				400
	Glu	Ile	Leu	Gly	Glu	Gln	Leu	Leu	Ser	Thr	Thr	Leu	Asp	Gly	Val	Leu
				405						410					415	
	Pro	Thr	Gln	Leu	Pro	Ser	Pro	Glu	Glu	Leu	Arg	Arg	Lys	Ile	Leu	Val
			420						425					430		
55	Lys	Gly	Lys	Lys	Leu	Thr	Leu	Glu	Glu	Asp	Leu	Glu	Tyr	Glu	Glu	Glu
			435					440					445			
	Glu	Ala	Glu	Pro	Glu	Leu	Glu	Glu	Ser	Glu	Leu	Ala	Leu	Glu	Ser	Gln
			450				455						460			
60	Phe	Glu	Thr	Glu	Pro	Glu	Pro	Gln	Glu	Gln	Asn	Leu	Gln	Asn	Lys	Asp
	465					470					475				480	

Lys Lys Lys Lys Ser Lys Pro Ile Leu Cys Pro Ala Leu Ser Ser Leu  
 485 490 495  
 Val Ile Tyr Leu Lys Ser Val Ser Phe Arg Ser Phe Thr His Ser Lys  
 500 505 510  
 5 Glu His Tyr His Phe Tyr Glu Ile Ser Ser Phe Ser Glu Thr Lys Ala  
 515 520 525  
 Lys Arg Leu Ile Lys Glu Ala Gly Asn Glu Phe Val Gln His Asn Thr  
 530 535 540  
 10 Trp Gln Leu Ser Arg Val Tyr Pro Ser Gly Leu Arg Thr Asp Ser Ser  
 545 550 555 560  
 Asn Tyr Asn Pro Gln Glu Leu Trp Asn Ala Gly Cys Gln Met Val Ala  
 565 570 575  
 Met Asn Met Gln Thr Ala Gly Leu Glu Met Asp Ile Cys Asp Gly His  
 580 585 590  
 15 Phe Arg Gln Asn Gly Gly Cys Gly Tyr Val Leu Lys Pro Asp Phe Leu  
 595 600 605  
 Arg Asp Ile Gln Ser Ser Phe His Pro Glu Lys Pro Ile Ser Pro Phe  
 610 615 620  
 20 Lys Ala Gln Thr Leu Leu Ile Gln Val Ile Ser Gly Gln Gln Leu Pro  
 625 630 635 640  
 Lys Val Asp Lys Thr Lys Glu Gly Ser Ile Val Asp Pro Leu Val Lys  
 645 650 655  
 Val Gln Ile Phe Gly Val Arg Leu Asp Thr Ala Arg Gln Glu Thr Asn  
 660 665 670  
 25 Tyr Val Glu Asn Asn Gly Phe Asn Pro Tyr Trp Gly Gln Thr Leu Cys  
 675 680 685  
 Phe Arg Val Leu Val Pro Glu Leu Ala Met Leu Arg Phe Val Val Met  
 690 695 700  
 30 Asp Tyr Asp Trp Lys Ser Arg Asn Asp Phe Ile Gly Gln Tyr Thr Leu  
 705 710 715 720  
 Pro Trp Thr Cys Met Gln Gln Gly Tyr Arg His Ile His Leu Leu Ser  
 725 730 735  
 Lys Asp Gly Ile Ser Leu Arg Pro Ala Ser Ile Phe Val Tyr Ile Cys  
 740 745 750  
 35 Ile Gln Glu Gly Leu Glu Gly Asp Glu Ser  
 755 760

40 <210> 3  
 <211> 2540  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

45 <220>  
 <221> CDS  
 <222> (59)..(2416)

<400> 3  
 50 cctttgctct tccttgctcc tttaggtgat ctggtgccag ctggtggaac agtgggtg 58  
 atg gcg tcc ctg ctg caa gac cag ctg acc act gat cag gac ttg ctg 106  
 Met Ala Ser Leu Leu Gln Asp Gln Leu Thr Thr Asp Gln Asp Leu Leu  
 1 5 10 15  
 55 ctg atg cag gaa ggc atg ccg atg cgc aag gtg agg tcc aaa agc tgg 154  
 Leu Met Gln Glu Gly Met Pro Met Arg Lys Val Arg Ser Lys Ser Trp  
 20 25 30

60

	aag aag cta aga tac ttc aga ctt cag aat gac ggc atg aca gtc tgg	202
	Lys Lys Leu Arg Tyr Phe Arg Leu Gln Asn Asp Gly Met Thr Val Trp	
	35 40 45	
5	cat gca cgg cag gcc agg ggc agt gcc aag ccc agc ttc tca atc tct	250
	His Ala Arg Gln Ala Arg Gly Ser Ala Lys Pro Ser Phe Ser Ile Ser	
	50 55 60	
10	gat gtg gag aca ata cgt aat ggc cat gat tcc gag ttg ctg cgt agc	298
	Asp Val Glu Thr Ile Arg Asn Gly His Asp Ser Glu Leu Leu Arg Ser	
	65 70 75 80	
15	ctg gca gag gag ctc ccc ctg gag cag ggc ttc acc att gtc ttc cat	346
	Leu Ala Glu Glu Leu Pro Leu Glu Gln Gly Phe Thr Ile Val Phe His	
	85 90 95	
20	ggc cgc cgc tcc aac ctg gac ctg atg gcc aac agt gtt gag gag gcc	394
	Gly Arg Arg Ser Asn Leu Asp Leu Met Ala Asn Ser Val Glu Glu Ala	
	100 105 110	
25	cag ata tgg atg cga ggg ctc cag ctg ttg gtg gat ctt gtc acc agc	442
	Gln Ile Trp Met Arg Gly Leu Gln Leu Leu Val Asp Leu Val Thr Ser	
	115 120 125	
30	atg gac cat cag gag cgc ctg gac cac gat tgg ttt caa cgt gga gac	490
	Met Asp His Gln Glu Arg Leu Asp His Asp Trp Phe Gln Arg Gly Asp	
	130 135 140	
35	aaa aat cag gat ggt aag atg agt ttc caa gaa gtt cag cgg tta ttg	538
	Lys Asn Gln Asp Gly Lys Met Ser Phe Gln Glu Val Gln Arg Leu Leu	
	145 150 155 160	
40	cac cta atg aat gtg gaa atg gac caa gaa tat gcc ttc agt ctt ttt	586
	His Leu Met Asn Val Glu Met Asp Gln Glu Tyr Ala Phe Ser Leu Phe	
	165 170 175	
45	cag gca gca gac acg tcc cag tct gga acc ctg gaa gga gaa gaa ttc	634
	Gln Ala Ala Asp Thr Ser Gln Ser Gly Thr Leu Glu Gly Glu Glu Phe	
	180 185 190	
50	gta cag ttc tat aag gca ttg act aaa cgt gct gag gtg cag gaa ctg	682
	Val Gln Phe Tyr Lys Ala Leu Thr Lys Arg Ala Glu Val Gln Glu Leu	
	195 200 205	
55	ttt gaa agt ttt tca gct gat ggg cag aag ctg act ctg ctg gaa ttt	730
	Phe Glu Ser Phe Ser Ala Asp Gly Gln Lys Leu Thr Leu Leu Glu Phe	
	210 215 220	
60	ttg gat ttc ctc caa gag gag cag aag gag aga gac tgc acc tct gag	778
	Leu Asp Phe Leu Gln Glu Glu Gln Lys Glu Arg Asp Cys Thr Ser Glu	
	225 230 235 240	
65	ctt gct ctg gaa ctc att gac cgc tat gaa cct tca gac agt ggc aaa	826
	Leu Ala Leu Glu Leu Ile Asp Arg Tyr Glu Pro Ser Asp Ser Gly Lys	
	245 250 255	
70	ctg cgg cat gtg ctg agt atg gat ggc ttc ctc agc tac ctc tgc tct	874
	Leu Arg His Val Leu Ser Met Asp Gly Phe Leu Ser Tyr Leu Cys Ser	
	260 265 270	

	aag gat gga gac atc ttc aac cca gcc tgc ctc ccc atc tat cag gat	922
	Lys Asp Gly Asp Ile Phe Asn Pro Ala Cys Leu Pro Ile Tyr Gln Asp	
	275 280 285	
5	atg act caa ccc ctg aac cac tac ttc atc tgc tct tct cat aac acc	970
	Met Thr Gln Pro Leu Asn His Tyr Phe Ile Cys Ser Ser His Asn Thr	
	290 295 300	
10	tac cta gtg ggg gac cag ctt tgt ggc cag agc agc gtc gag gga tat	1018
	Tyr Leu Val Gly Asp Gln Leu Cys Gly Gln Ser Ser Val Glu Gly Tyr	
	305 310 315	
15	ata cgg gcc ctg aag cgg ggg tgc cgc tgc gtg gag gtg gat gta tgg	1066
	Ile Arg Ala Leu Lys Arg Gly Cys Arg Cys Val Glu Val Asp Val Trp	
	325 330 335	
20	gat gga cct agc ggg gaa cct gtc gtt tac cac gga cac acc ctg acc	1114
	Asp Gly Pro Ser Gly Glu Pro Val Val Tyr His Gly His Thr Leu Thr	
	340 345 350	
25	tcc cgc atc ctg ttc aaa gat gtc gtg gcc aca gta gca cag tat gcc	1162
	Ser Arg Ile Leu Phe Lys Asp Val Val Ala Thr Val Ala Gln Tyr Ala	
	355 360 365	
30	ttc cag aca tca gac tac cca gtc atc ttg tcc ctg gag acc cac tgc	1210
	Phe Gln Thr Ser Asp Tyr Pro Val Ile Leu Ser Leu Glu Thr His Cys	
	370 375 380	
35	agc tgg gag cag cag cag acc atg gcc cgt cat ctg act gag atc ctg	1258
	Ser Trp Glu Gln Gln Gln Thr Met Ala Arg His Leu Thr Glu Ile Leu	
	385 390 395 400	
40	ggg gag cag ctg ctg agc acc acc ttg gat ggg gtg ctg ccc act cag	1306
	Gly Glu Gln Leu Ser Thr Thr Leu Asp Gly Val Leu Pro Thr Gln	
	405 410 415	
45	ctg ccc tgg cct gag ctt cgg agg aag atc ctg gtg aag ggg aag aag	1354
	Leu Pro Ser Pro Glu Leu Arg Arg Lys Ile Leu Val Lys Gly Lys Lys	
	420 425 430	
50	tta aca ctt gag gaa gac ctg gaa tat gag gaa gag gaa gca gaa cct	1402
	Leu Thr Leu Glu Glu Asp Leu Glu Tyr Glu Glu Glu Glu Ala Glu Pro	
	435 440 445	
55	gag ttg gaa gag tca gaa ttg gcg ctg gag tcc cag ttt gag act gag	1450
	Glu Leu Glu Glu Ser Glu Leu Ala Leu Glu Ser Gln Phe Glu Thr Glu	
	450 455 460	
60	cct gag ccc cag gag cag aac ctt cag aat aag gac aaa aag aag aaa	1498
	Pro Glu Pro Gln Glu Gln Asn Leu Gln Asn Lys Asp Lys Lys Lys Lys	
	465 470 475 480	
65	tcc aag ccc atc ttg tgt cca gcc ctc tct tcc ctg gtt atc tac ttg	1546
	Ser Lys Pro Ile Leu Cys Pro Ala Leu Ser Ser Leu Val Ile Tyr Leu	
	485 490 495	
70	aag tct gtc tca ttc cgc agc ttc aca cat tca aag gag cac tac cac	1594
	Lys Ser Val Ser Phe Arg Ser Phe Thr His Ser Lys Glu His Tyr His	
	500 505 510	

	ttc tac gag ata tca tct ttc tct gaa acc aag gcc aag cgc ctc atc	1642
	Phe Tyr Glu Ile Ser Ser Phe Ser Glu Thr Lys Ala Lys Arg Leu Ile	
	515 520 525	
5	aag gag gct ggc aat gag ttt gtg cag cac aat act tgg cag tta agc	1690
	Lys Glu Ala Gly Asn Glu Phe Val Gln His Asn Thr Trp Gln Leu Ser	
	530 535 540	
10	cgt gtg tat ccc agc ggc ctg agg aca gac tct tcc aac tac tac aac	1738
	Arg Val Tyr Pro Ser Gly Leu Arg Thr Asp Ser Ser Asn Tyr Tyr Asn	
	545 550 555 560	
15	ccc cag gaa ctc tgg aat gca ggc tgc cag atg gtg gcc atg aat atg	1786
	Pro Gln Glu Leu Trp Asn Ala Gly Cys Gln Met Val Ala Met Asn Met	
	565 570 575	
20	cag act gca ggg ctt gaa atg gac atc tgt gat ggg cat ttc cgc cag	1834
	Gln Thr Ala Gly Leu Glu Met Asp Ile Cys Asp Gly His Phe Arg Gln	
	580 585 590	
25	aat ggc ggc tgt ggc tat gtg ctg aag cca gac ttc ctg cgt gat atc	1882
	Asn Gly Gly Cys Gly Tyr Val Leu Lys Pro Asp Phe Leu Arg Asp Ile	
	595 600 605	
30	cag agt tct ttc cac cct gag aag ccc atc agc cct ttc aaa gcc cag	1930
	Gln Ser Ser Phe His Pro Glu Lys Pro Ile Ser Pro Phe Lys Ala Gln	
	610 615 620	
35	act ctc tta aac cag gtg atc agc gtt cag caa ctc ccc aaa gtg gac	1978
	Thr Leu Leu Asn Gln Val Ile Ser Val Gln Gln Leu Pro Lys Val Asp	
	625 630 635 640	
40	aag acc aaa gag ggg tcc att gtg gat cca ctg gtg aaa gtg cag atc	2026
	Lys Thr Lys Glu Gly Ser Ile Val Asp Pro Leu Val Lys Val Gln Ile	
	645 650 655	
45	ttt ggc gtt cgt cta gac aca gca cgg cag gag acc aac tat gtg gag	2074
	Phe Gly Val Arg Leu Asp Thr Ala Arg Gln Glu Thr Asn Tyr Val Glu	
	660 665 670	
50	aac aat ggt ttt aat cca tac tgg ggg cag aca cta tgt ttc cgg gtg	2122
	Asn Asn Gly Phe Asn Pro Tyr Trp Gly Gln Thr Leu Cys Phe Arg Val	
	675 680 685	
55	ctg gtg cct gaa ctt gcc atg ctg cgt ttt gtg gta atg gat tat gac	2170
	Leu Val Pro Glu Leu Ala Met Leu Arg Phe Val Val Met Asp Tyr Asp	
	690 695 700	
60	tgg aaa tcc cga aat gac ttt att ggt cag tac acc ctg cct tgg acc	2218
	Trp Lys Ser Arg Asn Asp Phe Ile Gly Gln Tyr Thr Leu Pro Trp Thr	
	705 710 715 720	
65	tgc atg caa caa ggt gag cca gcc cct ttg gcc cct ggc caa tac ccc	2266
	Cys Met Gln Gln Gly Glu Pro Ala Pro Leu Ala Pro Gly Gln Tyr Pro	
	725 730 735	
70	agc tct ggc tgc ctt cct aat gct gtc ctc ctg ccc ctt cca ggt tac	2314
	Ser Ser Gly Cys Leu Pro Asn Ala Val Leu Leu Pro Leu Pro Gly Tyr	
	740 745 750	

```

cgc cac att cac ctg ctg tcc aaa gat ggc atc agc ctc cgc cca gct 2362
Arg His Ile His Leu Leu Ser Lys Asp Gly Ile Ser Leu Arg Pro Ala
      755                760                765

5  tcc atc ttt gtg tat atc tgc atc cag gaa ggc ctg gag ggg gat gag 2410
   Ser Ile Phe Val Tyr Ile Cys Ile Gln Glu Gly Leu Glu Gly Asp Glu
     770                775                780

10 tcc tga ggtgggcatt tcacgggaag ggttggtgtg ctggccttag acggggagaa 2466
   Ser
   785

acatctggaa ggatgctcga gagaacaaat ggaggtggtg aaaatcaagc tttgattgt 2526

15 gcattcctag gcac 2540

<210> 4
<211> 785
20 <212> PRT
   <213> Homo sapiens

<400> 4
25 Met Ala Ser Leu Leu Gln Asp Gln Leu Thr Thr Asp Gln Asp Leu Leu
   1      5      10
   Leu Met Gln Glu Gly Met Pro Met Arg Lys Val Arg Ser Lys Ser Trp
     20      25
   Lys Lys Leu Arg Tyr Phe Arg Leu Gln Asn Asp Gly Met Thr Val Trp
     35      40      45
30 His Ala Arg Gln Ala Arg Gly Ser Ala Lys Pro Ser Phe Ser Ile Ser
   50      55      60
   Asp Val Glu Thr Ile Arg Asn Gly His Asp Ser Glu Leu Leu Arg Ser
     65      70      75      80
   Leu Ala Glu Glu Leu Pro Leu Glu Gln Gly Phe Thr Ile Val Phe His
     85      90      95
35 Gly Arg Arg Ser Asn Leu Asp Leu Met Ala Asn Ser Val Glu Glu Ala
   100      105      110
   Gln Ile Trp Met Arg Gly Leu Gln Leu Leu Val Asp Leu Val Thr Ser
     115      120      125
40 Met Asp His Gln Glu Arg Leu Asp His Asp Trp Phe Gln Arg Gly Asp
   130      135      140
   Lys Asn Gln Asp Gly Lys Met Ser Phe Gln Glu Val Gln Arg Leu Leu
     145      150      155      160
   His Leu Met Asn Val Glu Met Asp Gln Glu Tyr Ala Phe Ser Leu Phe
     165      170      175
45 Gln Ala Ala Asp Thr Ser Gln Ser Gly Thr Leu Glu Gly Glu Glu Phe
   180      185      190
   Val Gln Phe Tyr Lys Ala Leu Thr Lys Arg Ala Glu Val Gln Glu Leu
     195      200      205
50 Phe Glu Ser Phe Ser Ala Asp Gly Gln Lys Leu Thr Leu Leu Glu Phe
   210      215      220
   Leu Asp Phe Leu Gln Glu Gln Lys Glu Arg Asp Cys Thr Ser Glu
     225      230      235      240
   Leu Ala Leu Glu Leu Ile Asp Arg Tyr Glu Pro Ser Asp Ser Gly Lys
     245      250      255
55 Leu Arg His Val Leu Ser Met Asp Gly Phe Leu Ser Tyr Leu Cys Ser
   260      265      270
   Lys Asp Gly Asp Ile Phe Asn Pro Ala Cys Leu Pro Ile Tyr Gln Asp
     275      280      285
60 Met Thr Gln Pro Leu Asn His Tyr Phe Ile Cys Ser Ser His Asn Thr
   290                295                300

```

	Tyr	Leu	Val	Gly	Asp	Gln	Leu	Cys	Gly	Gln	Ser	Ser	Val	Glu	Gly	Tyr
	305					310					315					320
	Ile	Arg	Ala	Leu	Lys	Arg	Gly	Cys	Arg	Cys	Val	Glu	Val	Asp	Val	Trp
					325					330					335	
5	Asp	Gly	Pro	Ser	Gly	Glu	Pro	Val	Val	Tyr	His	Gly	His	Thr	Leu	Thr
					340				345					350		
	Ser	Arg	Ile	Leu	Phe	Lys	Asp	Val	Val	Ala	Thr	Val	Ala	Gln	Tyr	Ala
					355			360					365			
10	Phe	Gln	Thr	Ser	Asp	Tyr	Pro	Val	Ile	Leu	Ser	Leu	Glu	Thr	His	Cys
					370			375					380			
	Ser	Trp	Glu	Gln	Gln	Gln	Thr	Met	Ala	Arg	His	Leu	Thr	Glu	Ile	Leu
	385					390					395				400	
	Gly	Glu	Gln	Leu	Leu	Ser	Thr	Thr	Leu	Asp	Gly	Val	Leu	Pro	Thr	Gln
					405					410					415	
15	Leu	Pro	Ser	Pro	Glu	Leu	Arg	Arg	Lys	Ile	Leu	Val	Lys	Gly	Lys	Lys
					420				425					430		
	Leu	Thr	Leu	Glu	Glu	Asp	Leu	Glu	Tyr	Glu	Glu	Glu	Glu	Ala	Glu	Pro
					435			440					445			
20	Glu	Leu	Glu	Glu	Ser	Glu	Leu	Ala	Leu	Glu	Ser	Gln	Phe	Glu	Thr	Glu
		450				455						460				
	Pro	Glu	Pro	Gln	Glu	Gln	Asn	Leu	Gln	Asn	Lys	Asp	Lys	Lys	Lys	Lys
	465				470						475					480
	Ser	Lys	Pro	Ile	Leu	Cys	Pro	Ala	Leu	Ser	Ser	Leu	Val	Ile	Tyr	Leu
					485					490					495	
25	Lys	Ser	Val	Ser	Phe	Arg	Ser	Phe	Thr	His	Ser	Lys	Glu	His	Tyr	His
					500				505					510		
	Phe	Tyr	Glu	Ile	Ser	Ser	Phe	Ser	Glu	Thr	Lys	Ala	Lys	Arg	Leu	Ile
					515			520					525			
30	Lys	Glu	Ala	Gly	Asn	Glu	Phe	Val	Gln	His	Asn	Thr	Trp	Gln	Leu	Ser
		530				535						540				
	Arg	Val	Tyr	Pro	Ser	Gly	Leu	Arg	Thr	Asp	Ser	Ser	Asn	Tyr	Tyr	Asn
	545					550				555						560
	Pro	Gln	Glu	Leu	Trp	Asn	Ala	Gly	Cys	Gln	Met	Val	Ala	Met	Asn	Met
					565					570					575	
35	Gln	Thr	Ala	Gly	Leu	Glu	Met	Asp	Ile	Cys	Asp	Gly	His	Phe	Arg	Gln
					580				585					590		
	Asn	Gly	Gly	Cys	Gly	Tyr	Val	Leu	Lys	Pro	Asp	Phe	Leu	Arg	Asp	Ile
					595			600					605			
40	Gln	Ser	Ser	Phe	His	Pro	Glu	Lys	Pro	Ile	Ser	Pro	Phe	Lys	Ala	Gln
					610			615					620			
	Thr	Leu	Leu	Asn	Gln	Val	Ile	Ser	Val	Gln	Gln	Leu	Pro	Lys	Val	Asp
					625			630				635				640
	Lys	Thr	Lys	Glu	Gly	Ser	Ile	Val	Asp	Pro	Leu	Val	Lys	Val	Gln	Ile
					645					650					655	
45	Phe	Gly	Val	Arg	Leu	Asp	Thr	Ala	Arg	Gln	Glu	Thr	Asn	Tyr	Val	Glu
					660				665					670		
	Asn	Asn	Gly	Phe	Asn	Pro	Tyr	Trp	Gly	Gln	Thr	Leu	Cys	Phe	Arg	Val
					675			680					685			
50	Leu	Val	Pro	Glu	Leu	Ala	Met	Leu	Arg	Phe	Val	Val	Met	Asp	Tyr	Asp
					690			695					700			
	Trp	Lys	Ser	Arg	Asn	Asp	Phe	Ile	Gly	Gln	Tyr	Thr	Leu	Pro	Trp	Thr
					705			710				715				720
	Cys	Met	Gln	Gln	Gly	Glu	Pro	Ala	Pro	Leu	Ala	Pro	Gly	Gln	Tyr	Pro
					725					730					735	
55	Ser	Ser	Gly	Cys	Leu	Pro	Asn	Ala	Val	Leu	Leu	Pro	Leu	Pro	Gly	Tyr
					740				745					750		
	Arg	His	Ile	His	Leu	Leu	Ser	Lys	Asp	Gly	Ile	Ser	Leu	Arg	Pro	Ala
					755			760					765			
60	Ser	Ile	Phe	Val	Tyr	Ile	Cys	Ile	Gln	Gln	Gly	Leu	Glu	Gly	Asp	Glu
					770			775					780			

```

Ser
785

5
<210> 5
<211> 2462
<212> DNA
<213> Homo sapiens
10
<220>
<221> CDS
<222> (59)..(2338)
15
<400> 5
cctttgctct tccttgcctc ttaggtgat ctggtgccag ctggtggaac agtgggtg 58

atg gcg tcc ctg ctg caa gac cag ctg acc act gat cag gac ttg ctg 106
Met Ala Ser Leu Leu Gln Asp Gln Leu Thr Thr Asp Gln Asp Leu Leu
20 1 5 10 15

ctg atg cag gaa ggc atg ccg atg cgc aag gtg agg tcc aaa agc tgg 154
Leu Met Gln Glu Gly Met Pro Met Arg Lys Val Arg Ser Lys Ser Trp
20 25 30

25
aag aag cta aga tac ttc aga ctt cag aat gac ggc atg aca gtc tgg 202
Lys Lys Leu Arg Tyr Phe Arg Leu Gln Asn Asp Gly Met Thr Val Trp
35 40 45

30
cat gca cgg cag gcc agg ggc agt gcc aag ccc agc ttc tca atc tct 250
His Ala Arg Gln Ala Arg Gly Ser Ala Lys Pro Ser Phe Ser Ile Ser
50 55 60

gat gtg gag aca ata cgt aat ggc cat gat tcc gag ttg ctg cgt agc 298
Asp Val Glu Thr Ile Arg Asn Gly His Asp Ser Glu Leu Leu Arg Ser
65 70 75 80

ctg gca gag gag ctc ccc ctg gag cag ggc ttc acc att gtc ttc cat 346
Leu Ala Glu Glu Leu Pro Leu Glu Gln Gly Phe Thr Ile Val Phe His
85 90 95

ggc cgc cgc tcc aac ctg gac ctg atg gcc aac agt gtt gag gag gcc 394
Gly Arg Arg Ser Asn Leu Asp Leu Met Ala Asn Ser Val Glu Glu Ala
100 105 110

45
cag ata tgg atg cga ggg ctc cag ctg ttg gtg gat ctt gtc acc agc 442
Gln Ile Trp Met Arg Gly Leu Gln Leu Leu Val Asp Leu Val Thr Ser
115 120 125

50
atg gac cat cag gag cgc ctg gac cac gat tgg ttt caa cgt gga gac 490
Met Asp His Gln Glu Arg Leu Asp His Asp Trp Phe Gln Arg Gly Asp
130 135 140

aaa aat cag gat ggt aag atg agt ttc caa gaa gtt cag cgg tta ttg 538
Lys Asn Gln Asp Gly Lys Met Ser Phe Gln Glu Val Gln Arg Leu Leu
145 150 155 160

cac cta atg aat gtg gaa atg gac caa gaa tat gcc ttc agt ctt ttt 586
His Leu Met Asn Val Glu Met Asp Gln Glu Tyr Ala Phe Ser Leu Phe
165 170 175

```

	cag gca gca gac acg tcc cag tct gga acc ctg gaa gga gaa gaa ttc	634
	Gln Ala Ala Asp Thr Ser Gln Ser Gly Thr Leu Glu Gly Glu Glu Phe	
	180 185 190	
5	gta cag ttc tat aag gca ttg act aaa cgt gct gag gtg cag gaa ctg	682
	Val Gln Phe Tyr Lys Ala Leu Thr Lys Arg Ala Glu Val Gln Glu Leu	
	195 200 205	
10	ttt gaa agt ttt tca gct gat ggg cag aag ctg act ctg ctg gaa ttt	730
	Phe Glu Ser Phe Ser Ala Asp Gly Gln Lys Leu Thr Leu Leu Glu Phe	
	210 215 220	
15	ttg gat ttc ctc caa gag gag cag aag gag aga gac tgc acc tct gag	778
	Leu Asp Phe Leu Gln Glu Glu Gln Lys Glu Arg Asp Cys Thr Ser Glu	
	225 230 235 240	
20	ctt gct ctg gaa ctc att gac cgc tat gaa cct tca gac agt ggc aaa	826
	Leu Ala Leu Glu Leu Ile Asp Arg Tyr Glu Pro Ser Asp Ser Gly Lys	
	245 250 255	
25	ctg cgg cat gtg ctg agt atg gat ggc ttc ctc agc tac ctc tgc tct	874
	Leu Arg His Val Leu Ser Met Asp Gly Phe Leu Ser Tyr Leu Cys Ser	
	260 265 270	
30	aag gat gga gac atc ttc aac cca gcc tgc ctc ccc atc tat cag gat	922
	Lys Asp Gly Asp Ile Phe Asn Pro Ala Cys Leu Pro Ile Tyr Gln Asp	
	275 280 285	
35	atg act caa ccc ctg aac cac tac ttc atc tgc tct tct cat aac acc	970
	Met Thr Gln Pro Leu Asn His Tyr Phe Ile Cys Ser Ser His Asn Thr	
	290 295 300	
40	tac cta gtg ggg gac cag ctt tgt ggc cag agc agc gtc gag gga tat	1018
	Tyr Leu Val Gly Asp Gln Leu Cys Gly Gln Ser Ser Val Glu Gly Tyr	
	305 310 315 320	
45	ata cgg gcc ctg aag cgg ggg tgc cgc tgc gtg gag gtg gat gta tgg	1066
	Ile Arg Ala Leu Lys Arg Gly Cys Arg Cys Val Glu Val Asp Val Trp	
	325 330 335	
50	gat gga cct agc ggg gaa cct gtc gtt tac cac gga cac acc ctg acc	1114
	Asp Gly Pro Ser Gly Glu Pro Val Val Tyr His Gly His Thr Leu Thr	
	340 345 350	
55	tcc cgc atc ctg ttc aaa gat gtc gtg gcc aca gta gca cag tat gcc	1162
	Ser Arg Ile Leu Phe Lys Asp Val Val Ala Thr Val Ala Gln Tyr Ala	
	355 360 365	
60	ttc cag aca tca gac tac cca gtc atc ttg tcc ctg gag acc cac tgc	1210
	Phe Gln Thr Ser Asp Tyr Pro Val Ile Leu Ser Leu Glu Thr His Cys	
	370 375 380	
65	agc tgg gag cag cag cag acc atg gcc cgt cat ctg act gag atc ctg	1258
	Ser Trp Glu Gln Gln Gln Thr Met Ala Arg His Leu Thr Glu Ile Leu	
	385 390 395 400	
70	ggg gag cag ctg ctg agc acc acc ttg gat ggg gtg ctg ccc act cag	1306
	Gly Glu Gln Leu Leu Ser Thr Thr Leu Asp Gly Val Leu Pro Thr Gln	
	405 410 415	

	ctg ccc tcg cct gag ctt cgg agg aag atc ctg gtg aag ggg aag aag	1354
	Leu Pro Ser Pro Glu Leu Arg Arg Lys Ile Leu Val Lys Gly Lys Lys	
	420 425 430	
5	tta aca ctt gag gaa gac ctg gaa tat gag gaa gag gaa gca gaa cct	1402
	Leu Thr Leu Glu Glu Asp Leu Glu Tyr Glu Glu Glu Glu Ala Glu Pro	
	435 440 445	
10	gag ttg gaa gag tca gaa ttg gcg ctg gag tcc cag ttt gag act gag	1450
	Glu Leu Glu Glu Ser Glu Leu Ala Leu Glu Ser Gln Phe Glu Thr Glu	
	450 455 460	
15	cct gag ccc cag gag cag aac ctt cag aat aag gac aaa aag aag aaa	1498
	Pro Glu Pro Gln Glu Gln Asn Leu Gln Asn Lys Asp Lys Lys Lys Lys	
	465 470 475 480	
20	tcc aag ccc atc ttg tgt cca gcc ctc tct tcc ctg gtt atc tac ttg	1546
	Ser Lys Pro Ile Leu Cys Pro Ala Leu Ser Ser Leu Val Ile Tyr Leu	
	485 490 495	
25	aag tct gtc tca ttc cgc agc ttc aca cat tca aag gag cac tac cac	1594
	Lys Ser Val Ser Phe Arg Ser Phe Thr His Ser Lys Glu His Tyr His	
	500 505 510	
30	ttc tac gag ata tca tct ttc tct gaa acc aag gcc aag cgc ctc atc	1642
	Phe Tyr Glu Ile Ser Ser Phe Ser Glu Thr Lys Ala Lys Arg Leu Ile	
	515 520 525	
35	aag gag gct ggc aat gag ttt gtg cag cac aat act tgg cag tta agc	1690
	Lys Glu Ala Gly Asn Glu Phe Val Gln His Asn Thr Trp Gln Leu Ser	
	530 535 540	
40	cgt gtg tat ccc agc ggc ctg agg aca gac tct tcc aac tac tac aac	1738
	Arg Val Tyr Pro Ser Gly Leu Arg Thr Asp Ser Ser Asn Tyr Tyr Asn	
	545 550 555 560	
45	ccc cag gaa ctc tgg aat gca gcc tgc cag atg gtg gcc atg aat atg	1786
	Pro Gln Glu Leu Trp Asn Ala Gly Cys Gln Met Val Ala Met Asn Met	
	565 570 575	
50	cag act gca ggg ctt gaa atg gac atc tgt gat ggg cat ttc cgc cag	1834
	Gln Thr Ala Gly Leu Glu Met Asp Ile Cys Asp Gly His Phe Arg Gln	
	580 585 590	
55	aat ggc ggc tgt ggc tat gtg ctg aag cca gac ttc ctg cgt gat atc	1882
	Asn Gly Gly Cys Gly Tyr Val Leu Lys Pro Asp Phe Leu Arg Asp Ile	
	595 600 605	
60	cag agt tct ttc cac cct gag aag ccc atc agc cct ttc aaa gcc cag	1930
	Gln Ser Ser Phe His Pro Glu Lys Pro Ile Ser Pro Phe Lys Ala Gln	
	610 615 620	
65	act ctc tta aac cag gtg atc agc gtt cag caa ctc ccc aaa gtg gac	1978
	Thr Leu Leu Asn Gln Val Ile Ser Val Gln Gln Leu Pro Lys Val Asp	
	625 630 635 640	
70	aag acc aaa gag ggg tcc att gtg gat cca ctg gtg aaa gtg cag atc	2026
	Lys Thr Lys Glu Gly Ser Ile Val Asp Pro Leu Val Lys Val Gln Ile	
	645 650 655	

	ttt ggc gtt cgt cta gac aca gca cgg cag gag acc aac tat gtg gag	2074
	Phe Gly Val Arg Leu Asp Thr Ala Arg Gln Glu Thr Asn Tyr Val Glu	
	660 665 670	
5	aac aat ggt ttt aat cca tac tgg ggg cag aca cta tgt ttc cgg gtg	2122
	Asn Asn Gly Phe Asn Pro Tyr Trp Gly Gln Thr Leu Cys Phe Arg Val	
	675 680 685	
10	ctg gtg cct gaa ctt gcc atg ctg cgt ttt gtg gta atg gat tat gac	2170
	Leu Val Pro Glu Leu Ala Met Leu Arg Phe Val Val Met Asp Tyr Asp	
	690 695 700	
15	tgg aaa tcc cga aat gac ttt att ggt cag tac acc ctg cct tgg acc	2218
	Trp Lys Ser Arg Asn Asp Phe Ile Gly Gln Tyr Thr Leu Pro Trp Thr	
	705 710 715 720	
20	tgc atg caa caa ggt tac cgc cac att cac ctg ctg tcc aaa gat ggc	2266
	Cys Met Gln Gln Gly Tyr Arg His Ile His Leu Leu Ser Lys Asp Gly	
	725 730 735	
25	ggc ctg gag ggg gat gag tcc tga ggtgggcatt tcacgggaag ggttggtgtg	2368
	Gly Leu Glu Gly Asp Glu Ser	
	755 760	
30	ctggcttttag acggggagaa acatctggaa ggatgctcga gagaacaaat ggaggtggtg	2428
	aaaatcaagc tttggattgt gcattcctag gcac	2462
35	<210> 6	
	<211> 759	
	<212> PRT	
	<213> Homo sapiens	
40	<400> 6	
	Met Ala Ser Leu Leu Gln Asp Gln Leu Thr Thr Asp Gln Asp Leu Leu	
	1 5 10 15	
	Leu Met Gln Glu Gly Met Pro Met Arg Lys Val Arg Ser Lys Ser Trp	
	20 25 30	
45	Lys Lys Leu Arg Tyr Phe Arg Leu Gln Asn Asp Gly Met Thr Val Trp	
	35 40 45	
	His Ala Arg Gln Ala Arg Gly Ser Ala Lys Pro Ser Phe Ser Ile Ser	
	50 55 60	
	Asp Val Glu Thr Ile Arg Asn Gly His Asp Ser Glu Leu Leu Arg Ser	
	65 70 75 80	
50	Leu Ala Glu Glu Leu Pro Leu Glu Gln Gly Phe Thr Ile Val Phe His	
	85 90 95	
	Gly Arg Arg Ser Asn Leu Asp Leu Met Ala Asn Ser Val Glu Glu Ala	
	100 105 110	
55	Gln Ile Trp Met Arg Gly Leu Gln Leu Leu Val Asp Leu Val Thr Ser	
	115 120 125	
	Met Asp His Gln Glu Arg Leu Asp His Asp Trp Phe Gln Arg Gly Asp	
	130 135 140	
	Lys Asn Gln Asp Gly Lys Met Ser Phe Gln Glu Val Gln Arg Leu Leu	
	145 150 155 160	
60	His Leu Met Asn Val Glu Met Asp Gln Glu Tyr Ala Phe Ser Leu Phe	
	165 170 175	

	Gln	Ala	Ala	Asp	Thr	Ser	Gln	Ser	Gly	Thr	Leu	Glu	Gly	Glu	Glu	Phe
				180					185					190		
	Val	Gln	Phe	Tyr	Lys	Ala	Leu	Thr	Lys	Arg	Ala	Glu	Val	Gln	Glu	Leu
			195					200					205			
5	Phe	Glu	Ser	Phe	Ser	Ala	Asp	Gly	Gln	Lys	Leu	Thr	Leu	Leu	Glu	Phe
		210					215					220				
	Leu	Asp	Phe	Leu	Gln	Glu	Glu	Gln	Lys	Glu	Arg	Asp	Cys	Thr	Ser	Glu
		225				230					235					240
10	Leu	Ala	Leu	Glu	Leu	Ile	Asp	Arg	Tyr	Glu	Pro	Ser	Asp	Ser	Gly	Lys
					245					250						255
	Leu	Arg	His	Val	Leu	Ser	Met	Asp	Gly	Phe	Leu	Ser	Tyr	Leu	Cys	Ser
				260					265					270		
	Lys	Asp	Gly	Asp	Ile	Phe	Asn	Pro	Ala	Cys	Leu	Pro	Ile	Tyr	Gln	Asp
			275					280						285		
15	Met	Thr	Gln	Pro	Leu	Asn	His	Tyr	Phe	Ile	Cys	Ser	Ser	His	Asn	Thr
		290				295						300				
	Tyr	Leu	Val	Gly	Asp	Gln	Leu	Cys	Gly	Gln	Ser	Ser	Val	Glu	Gly	Tyr
		305				310					315					320
20	Ile	Arg	Ala	Leu	Lys	Arg	Gly	Cys	Arg	Cys	Val	Glu	Val	Asp	Val	Trp
					325					330						335
	Asp	Gly	Pro	Ser	Gly	Glu	Pro	Val	Val	Tyr	His	Gly	His	Thr	Leu	Thr
					340				345					350		
	Ser	Arg	Ile	Leu	Phe	Lys	Asp	Val	Val	Ala	Thr	Val	Ala	Gln	Tyr	Ala
			355					360					365			
25	Phe	Gln	Thr	Ser	Asp	Tyr	Pro	Val	Ile	Leu	Ser	Leu	Glu	Thr	His	Cys
		370					375					380				
	Ser	Trp	Glu	Gln	Gln	Gln	Thr	Met	Ala	Arg	His	Leu	Thr	Glu	Ile	Leu
						390					395					400
30	Gly	Glu	Gln	Leu	Leu	Ser	Thr	Thr	Leu	Asp	Gly	Val	Leu	Pro	Thr	Gln
					405					410						415
	Leu	Pro	Ser	Pro	Glu	Leu	Arg	Arg	Lys	Ile	Leu	Val	Lys	Gly	Lys	Lys
				420					425					430		
	Leu	Thr	Leu	Glu	Glu	Asp	Leu	Glu	Tyr	Glu	Glu	Glu	Glu	Ala	Glu	Pro
				435				440					445			
35	Glu	Leu	Glu	Glu	Ser	Glu	Leu	Ala	Leu	Glu	Ser	Gln	Phe	Glu	Thr	Glu
		450					455					460				
	Pro	Glu	Pro	Gln	Glu	Gln	Asn	Leu	Gln	Asn	Lys	Asp	Lys	Lys	Lys	Lys
		465				470					475					480
40	Ser	Lys	Pro	Ile	Leu	Cys	Pro	Ala	Leu	Ser	Ser	Leu	Val	Ile	Tyr	Leu
					485					490						495
	Lys	Ser	Val	Ser	Phe	Arg	Ser	Phe	Thr	His	Ser	Lys	Glu	His	Tyr	His
					500				505					510		
	Phe	Tyr	Glu	Ile	Ser	Ser	Phe	Ser	Glu	Thr	Lys	Ala	Lys	Arg	Leu	Ile
			515					520					525			
45	Lys	Glu	Ala	Gly	Asn	Glu	Phe	Val	Gln	His	Asn	Thr	Trp	Gln	Leu	Ser
		530					535						540			
	Arg	Val	Tyr	Pro	Ser	Gly	Leu	Arg	Thr	Asp	Ser	Ser	Asn	Tyr	Tyr	Asn
					550					555						560
50	Pro	Gln	Glu	Leu	Trp	Asn	Ala	Gly	Cys	Gln	Met	Val	Ala	Met	Asn	Met
					565					570						575
	Gln	Thr	Ala	Gly	Leu	Glu	Met	Asp	Ile	Cys	Asp	Gly	His	Phe	Arg	Gln
				580					585					590		
	Asn	Gly	Gly	Cys	Gly	Tyr	Val	Leu	Lys	Pro	Asp	Phe	Leu	Arg	Asp	Ile
				595				600					605			
55	Gln	Ser	Ser	Phe	His	Pro	Glu	Lys	Pro	Ile	Ser	Pro	Phe	Lys	Ala	Gln
				610			615						620			
	Thr	Leu	Leu	Asn	Gln	Val	Ile	Ser	Val	Gln	Gln	Leu	Pro	Lys	Val	Asp
					625		630					635				640
60	Lys	Thr	Lys	Glu	Gly	Ser	Ile	Val	Asp	Pro	Leu	Val	Lys	Val	Gln	Ile
					645					650						655



<220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: Primer 4  
  
 <400> 10  
 5 ctcaccccc tccaggcctt c 21  
  
 <210> 11  
 <211> 24  
 10 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
  
 <220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: Primer 5  
 15  
 <400> 11  
 ggtcttactc cttggaggcc atgt 24  
  
 20 <210> 12  
 <211> 27  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
  
 25 <220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: Primer 6  
  
 <400> 12  
 30 ccacccctaat acgactcact atagggc 27

【図1】

Kb ラダー

心臓

脳

胎盤

肺

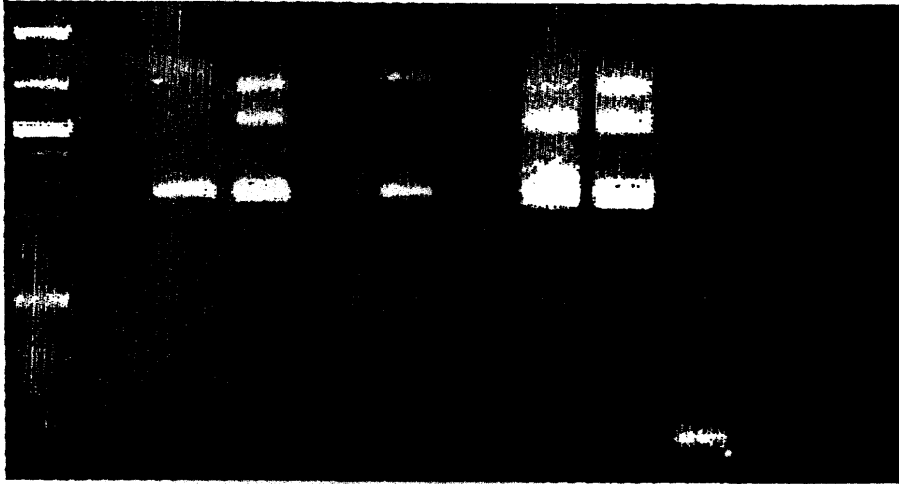
肝臓

骨格筋

腎臓

脾臓

コントロール



762bp

## 【國際調查報告】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

		Ints. onal Application No PCT/EP 01/04784
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
IPC 7	C12N15/55 C12P21/00	C12N9/16 C07K16/40
	C12N9/20 G01N33/573	C12N15/63 C12N5/10
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)		
SEQUENCE SEARCH, EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	LEE ET AL.: "Molecular cloning, splice variants, expression, and purification of phospholipase C-delta4" THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, vol. 271, no. 1, 5 January 1996 (1996-01-05), pages 25-31, XP002180350 cited in the application abstract; figure 1	1,4
A	-& DATABASE EM-RO 'Online! EMBL; 17 November 1994 (1994-11-17) LEE ET AL.: "Rattus norvegicus phospholipase C delta-4 mRNA, complete cds." retrieved from EBI, accession no. RN16655 Database accession no. U16655 XP002180352 the whole document	1
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.		
° Special categories of cited documents:		
*A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance *E* earlier document but published on or after the international filing date *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		*T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art *&* document member of the same patent family
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
17 October 2001		31/10/2001
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 Ceder, O

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

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PCT/EP 01/04784

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	LIU ET AL.: "A new phospholipase C delta4 is induced at S-phase of the cell cycle and appears in the nucleus" THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, vol. 271, no. 1, 5 January 1996 (1996-01-05), pages 355-360, XP002180351 abstract; figure 1 -----	1,4
X	DATABASE EM_EST 'Online! EMBL; 11 January 1999 (1999-01-11) HILLIER ET AL.: "WashU-NCI human EST project" retrieved from EBI, accession no. AI366170 Database accession no. AI366170 XP002180353 the whole document -----	4
X	DATABASE EM_EST 'Online! EMBL; 14 January 1997 (1997-01-14) HILLIER ET AL.: "The WashU-Merck EST project" retrieved from EBI, accession no. HSAA41263 Database accession no. AA047627 XP002180354 the whole document -----	4
P,X	DATABASE EM_HUM 'Online! EMBL; 16 April 2001 (2001-04-16) STRAUSBERG, R: "Homo sapiens, clone MGC:12837 IMAGE:4124286, mRNA, complete cds." retrieved from EBI, accession no. BC006355 Database accession no. BC006355 XP002180355 the whole document -----	1-5
T	-& DATABASE SWALL 'Online! 1 June 2001 (2001-06-01) STRAUSBER, R: "Unknown protein" retrieved from EBI, accession no. Q9BRC7 Database accession no. Q9BRC7 XP002180356 the whole document -----	1-5
A	EP 0 731 164 A (SHIONOGI & CO ;HIRANO NAOTO (JP)) 11 September 1996 (1996-09-11) abstract page 3, line 9 - line 25 -----	1-10

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International Application No  
PCT/EP 01/04784

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 0731164 A	11-09-1996	EP 0731164 A1	11-09-1996
		US 6060302 A	09-05-2000
		WO 9508624 A1	30-03-1995

---

## フロントページの続き

(51)Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	テ-マコ-ト'(参考)	
C 1 2 N	1/19	C 1 2 N	1/21	4 H 0 4 5
	1/21		9/16	D
	5/10	C 1 2 Q	1/68	A
	9/16	G 0 1 N	33/15	Z
C 1 2 Q	1/68		33/50	Z
G 0 1 N	33/15		33/53	D
	33/50			M
	33/53		33/58	Z
		C 1 2 N	15/00	Z N A A
	33/58		5/00	A
(71)出願人	Frankfurter Str. 250, D - 64293 Darmstadt, Fed eral Republic of Ge rmany			
(72)発明者	ブラント、 ズィルケ ドイツ連邦共和国 64283 ダルムシュタ ット アデルンクシュトラ-セ 35			
(72)発明者	デュッカー、 クラウス ドイツ連邦共和国 64291 ダルムシュタ ット エッテステルシュトラ-セ 5			
(72)発明者	グライツ、 ヨハネス ドイツ連邦共和国 64293 ダルムシュタ ット リービクシュトラ-セ 26			
F タ-ム(参考)	2G045 AA34 AA35 DA13 DA36 FB02 FB07 4B024 AA01 AA11 BA11 CA04 DA02 DA05 DA06 DA11 DA12 EA02 EA04 GA11 HA12 4B050 CC03 DD07 LL01 LL03 4B063 QA19 QA20 QQ08 QQ13 QQ32 QQ53 QR08 QR42 QR56 QS25 QS33 QS34 QX02 4B065 AA01X AA57X AA72X AA90X AA93Y AB01 BA02 CA27 CA44 CA46 4H045 AA11 AA30 BA10 BA41 CA40 DA75 EA24 EA50 FA72 FA74			

专利名称(译)	新的人类·磷脂酶C·δ5		
公开(公告)号	<a href="#">JP2003531618A</a>	公开(公告)日	2003-10-28
申请号	JP2001580378	申请日	2001-04-27
申请(专利权)人(译)	默克专利GESELLSCHAFT手套Beshurenkuteru Hafutongu		
[标]发明人	ブラントズイルケ デュッカークラウス グライツヨハネス		
发明人	ブラント、ズイルケ デュッカー、クラウス グライツ、ヨハネス		
IPC分类号	G01N33/50 C07K16/18 C07K16/40 C07K19/00 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C12N9/16 C12N9/20 C12N15/09 C12N15/55 C12N15/63 C12P21/00 C12Q1/68 G01N33/15 G01N33/53 G01N33/573 G01N33/58		
CPC分类号	C12N9/16 C07K2319/00		
FI分类号	C07K16/18 C07K16/40 C07K19/00 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N9/16.D C12Q1/68.A G01N33/15.Z G01N33/50.Z G01N33/53.D G01N33/53.M G01N33/58.Z C12N15/00.ZNA.A C12N5/00.A		
F-TERM分类号	2G045/AA34 2G045/AA35 2G045/DA13 2G045/DA36 2G045/FB02 2G045/FB07 4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/BA11 4B024/CA04 4B024/DA02 4B024/DA05 4B024/DA06 4B024/DA11 4B024/DA12 4B024/EA02 4B024/EA04 4B024/GA11 4B024/HA12 4B050/CC03 4B050/DD07 4B050/LL01 4B050/LL03 4B063/QA19 4B063/QA20 4B063/QQ08 4B063/QQ13 4B063/QQ32 4B063/QQ53 4B063/QR08 4B063/QR42 4B063/QR56 4B063/QS25 4B063/QS33 4B063/QS34 4B063/QX02 4B065/AA01X 4B065/AA57X 4B065/AA72X 4B065/AA90X 4B065/AA93Y 4B065/AB01 4B065/BA02 4B065/CA27 4B065/CA44 4B065/CA46 4H045/AA11 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/BA41 4H045/CA40 4H045/DA75 4H045/EA24 4H045/EA50 4H045/FA72 4H045/FA74		
优先权	2000109318 2000-04-29 EP		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		

#### 摘要(译)

公开了磷脂酶C.delta5 ( PLCD5 ) 多肽和多核苷酸，以及重组产生这种多肽的方法。还公开了在诊断测定中使用磷脂酶C5 ( PLCD5 ) 多肽和多核苷酸的方法。