(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)特許出願公表番号
特表2007-536892
(P2007-536892A)
(43)公表日　平成19年12月20日(2007.12.20)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
C12N 15/09	(2006.01)	C12N	15/00	ZNAA	2G045
A01K 67/027	(2006.01)	A01K	67/027		4B024
C07K 14/47	(2006.01)	C07K	14/47		4B063
C12N 1/15	(2006.01)	C12N	1/15		4B065
C12N 1/19	(2006.01)	C12N	1/19		4C084

審査請求 有　予備審査請求 未請求　（全 121 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2006-506210 (P2006-506210)
(86)(22)出願日　平成16年4月30日 (2004.4.30)
(85)翻訳文提出日　平成17年12月28日 (2005.12.28)
(86)国際出願番号　PCT/GB2004/001890
(87)国際公開番号　WO2004/096856
(87)国際公開日　平成16年11月11日 (2004.11.11)
(31)優先権主張番号　0309916.5
(32)優先日　平成15年4月30日 (2003.4.30)
(33)優先権主張国　英国(GB)

(71)出願人　504238862
アレス　トレイディング　ソシエテ　アノニム
スイス　ツェーハー１１７０　オーボンヌ　ゾーヌ　アンデュストリエル　ド　ルーリエッタ
(74)代理人　100082005
弁理士　熊倉　禎男
(74)代理人　100084009
弁理士　小川　信夫
(74)代理人　100084663
弁理士　箱田　篤
(74)代理人　100093300
弁理士　浅井　賢治

最終頁に続く

(54)【発明の名称】分泌タンパク質ファミリー

(57)【要約】
本発明は、SECFAM3ファミリーと名付けられた新規な分泌タンパク質のファミリーに関しており、そのファミリーのメンバーとしては、Ｃ型フォンビルブラント因子(vWFC)含有ドメインを含む分泌タンパク質として本発明で同定された新規なヒトタンパク質INSP123、INSP124及びINSP125が挙げられ、また疾患の診断、予防及び治療における前記タンパク質及びそのコード遺伝子由来の核酸配列の使用に関する。

【特許請求の範囲】
【請求項１】
SECFAM3ファミリーのメンバーを同定する方法であって、
翻訳された核酸配列又はポリペプチド配列のデータベースを検索して、以下の配列プロファイルにマッチングするポリペプチド配列を同定することを含む前記方法：

		A	R	N	D	C	Q	E	G	H	I	L	K	M	F	P	S	T	W	Y	V
1	M	-2	-2	-3	-4	-2	-1	-3	-4	-3	0	2	-2	8	0	-3	-2	-2	-2	-2	0
2	A	3	-1	-3	-3	-1	-1	-2	-2	-3	0	0	1	2	1	-2	-1	-1	-3	-1	1
3	L	1	-2	-2	-3	-2	-2	-2	-2	2	0	2	-2	0	-2	0	1	-1	-3	-2	2
4	H	-1	-1	1	-1	-3	-1	-1	3	6	-3	-1	-1	-2	-2	-2	2	-1	-3	-1	-3
5	I	0	-2	-3	-3	-2	0	0	-3	-3	3	2	-2	0	-1	-3	-2	-1	-3	-2	2
6	H	0	-2	-1	-2	-2	-1	-1	-3	7	0	0	-2	-1	-2	0	0	-1	-3	0	2
7	E	0	-2	-2	-1	-2	-1	2	-3	-1	0	1	-1	2	2	-3	0	-1	-2	2	0
8	A	2	-2	-1	-2	3	-2	-2	2	-2	-2	-2	-2	-2	-3	-2	3	1	-3	-3	-2
9	C	0	-3	-2	-3	7	-2	-3	-3	-3	0	-1	-2	3	3	-3	0	-1	-2	-1	0
10	I	-1	-2	-2	-2	-2	-2	0	0	-2	3	2	-2	0	0	-3	0	0	-2	3	0
11	L	-2	0	-3	-4	-2	-2	-3	-4	-3	0	4	-2	3	3	-4	-2	-2	-2	0	0
12	L	0	0	-3	-4	-2	-2	-3	-3	-3	0	3	-2	0	-1	1	-2	-1	-3	-2	1
13	L	-1	-2	-2	-2	-2	-2	0	-3	-3	0	3	-2	0	1	-3	1	1	-3	-1	1
14	V	0	0	-3	-3	4	0	-2	-3	-3	0	0	-2	2	-2	-3	-2	-1	-3	-2	4
15	I	-1	0	-2	-3	4	-2	-2	-3	2	2	1	-2	0	-1	-3	0	0	4	-1	0
16	P	0	0	-2	-2	-2	-2	-2	-3	4	-1	0	-2	-1	2	3	0	-1	-2	0	0
17	G	0	-3	-2	-3	-2	-2	-3	2	-3	1	0	-3	3	3	-3	-1	-2	-2	0	1
18	L	1	-3	-3	-4	-1	-2	-3	-3	-3	0	4	-2	0	-1	-3	-2	-1	-3	-2	2
19	V	2	-1	-1	-2	-2	3	-1	-2	-2	0	-1	-1	-1	-3	-2	1	1	-3	-2	2
20	T	-1	-2	-2	-3	4	-2	-2	-3	-3	0	3	-2	0	-2	-3	1	3	-3	-2	0
21	S	0	-2	-1	-2	4	-2	-2	1	-3	-1	1	-2	2	-2	0	2	-1	-3	-3	-1
22	A	3	-2	-2	-2	-1	-2	-2	-1	-2	-1	0	-2	-1	1	2	2	-1	-3	-2	0
23	A	2	-2	-3	-2	5	0	0	-2	-3	-1	0	-2	-1	-3	2	-1	-1	-3	-2	1
24	I	1	1	-2	-2	-2	-1	-2	-2	-2	2	0	-1	-1	-1	-2	2	-1	-3	1	1
25	S	-1	-1	2	-1	-2	1	-1	-2	4	2	-1	-1	-1	-2	-2	3	-1	-4	-1	-1
26	H	0	-2	3	-1	-3	-1	-1	-2	5	-2	-2	-1	-2	0	3	0	-1	-3	-1	0
27	E	-1	-1	0	1	-3	0	5	-2	-1	-3	-3	0	-2	-3	-1	1	2	-3	-2	-2
28	D	1	-2	0	4	-2	-1	0	-1	-2	-2	0	-1	-1	-2	-1	2	0	-4	-3	-2
29	Y	-2	-1	-2	-2	-3	2	-1	-3	0	0	-1	-1	-1	0	3	-1	-2	0	5	0
30	P	0	-1	-1	-1	-2	-1	-1	0	5	-3	-3	-1	-2	-3	4	0	0	-3	-1	-2
31	A	3	-2	-2	-2	-1	-1	-2	-1	-3	0	2	-1	0	-2	0	0	0	-3	-2	0
32	D	-2	-1	0	5	-3	0	2	-2	-1	-2	-3	2	-2	-3	-1	0	-1	-4	-3	0
33	E	0	-1	-2	0	-2	0	3	-3	-1	0	0	-1	0	3	-2	-1	-1	-2	0	0
34	G	1	-2	0	-1	-2	-1	-2	4	-2	-2	-2	-2	0	-2	-2	1	1	-2	-3	0
35	D	0	2	0	2	-2	0	0	-2	-1	-2	0	0	-1	-3	2	-1	-1	-3	-2	-2
36	Q	0	3	0	-1	-2	3	0	-2	-1	-2	-2	0	-1	-3	-1	1	3	-3	-2	-2
37	I	0	-2	-3	-2	-1	-2	-2	-2	-3	1	0	-2	0	-2	4	-1	-1	-3	-2	2
38	S	-1	-1	0	1	-2	0	2	-2	-1	2	-1	1	-1	-2	-2	2	-1	-3	-2	0
39	S	3	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-2	-1	0	-1	-1	-2	2	3	0	-3	-2	-1
40	N	0	-2	2	-1	-3	-1	1	3	-1	0	0	-1	-1	-3	1	-1	-1	-3	-2	0
41	D	1	-2	-1	3	-2	0	2	-2	-2	-1	0	-1	-1	0	-2	0	-1	-3	-2	-1
42	N	-1	-1	2	1	-3	0	3	0	-1	-2	0	0	-1	-2	-2	1	-1	-3	-2	-2
43	L	1	-3	-3	-3	4	-2	-3	-3	-1	0	1	-3	0	3	-3	-2	-2	0	5	0
44	I	1	-1	-1	0	-2	0	2	-2	-2	1	-1	1	-1	-2	-2	2	-1	-4	-2	0

45	F	-2	-3	-2	1	-2	-2	-2	-3	-1	2	0	-3	0	4	-3	-2	-2	-1	4	1
46	D	1	-2	-1	2	-2	-1	0	0	-2	-3	-3	-1	-2	-3	4	1	-1	-4	-3	-2
47	D	0	-2	0	5	-3	-1	0	1	-2	-3	-4	-1	-3	-3	2	1	-1	-4	-3	-3
48	Y	-2	3	-1	-2	-3	2	-1	-3	0	-2	-2	0	-1	0	-3	-2	-2	0	6	-2
49	R	-2	4	0	-2	-4	2	0	-2	5	-4	-3	0	-2	-3	2	-1	-2	-3	-1	-3
50	G	-1	-2	0	2	-3	-1	1	4	-2	-2	-3	-1	-2	-3	-2	1	-1	-3	-3	0
51	K	-1	2	1	-1	-3	0	0	1	-1	-3	-3	4	-2	-3	-2	1	-1	-3	-3	-3
52	G	-1	-2	-1	2	4	-2	-1	3	-2	-2	-3	-2	-2	0	-2	0	2	-2	-2	-2
53	C	-1	-4	-4	-4	10	-4	-4	-4	-3	-1	-1	-4	-1	2	-4	-2	-2	-2	-1	-1
54	V	-1	-2	-1	0	-2	-1	1	-2	-2	0	0	-1	3	-2	-2	1	0	-3	-2	3
55	D	0	-2	0	6	-3	0	1	-1	-1	-3	-4	-1	-3	-3	-1	0	-1	-4	-3	-3
56	D	-2	-1	3	4	-4	0	2	2	-1	-4	-4	-1	-3	-4	-2	0	-1	-4	-3	-3
57	S	0	-1	2	2	-3	1	0	2	-1	-3	-3	-1	-2	-3	-2	3	0	-3	-3	-3
58	G	0	1	0	-1	-3	-1	-2	5	-2	-4	-4	-1	-3	-3	-2	1	-2	-3	-3	-3
59	F	-1	-4	-4	-4	-2	-3	-3	-4	-2	3	0	-3	0	5	-4	-2	-1	-1	0	3
60	V	-1	-3	-3	-2	-2	-1	1	-3	-1	0	0	-2	0	3	-3	-2	-1	-1	4	3
61	Y	-2	-2	-2	-3	-2	-2	-2	-3	0	-1	-1	-2	-1	4	-3	0	-2	0	7	-2
62	K	1	-1	-2	-2	-2	-1	-1	0	-3	0	-1	1	-1	-2	2	-1	-1	-4	-2	3
63	L	-1	-3	-2	-3	-2	-3	-3	4	-3	4	1	-3	0	-1	-3	-1	-2	-3	-2	0
64	G	-1	-1	0	0	-4	0	3	5	-1	-4	-4	-1	-3	-4	-2	0	-2	-3	-3	-3
65	E	-2	-1	-1	0	-3	3	3	-3	-1	-2	-1	0	3	-1	-2	-1	-2	7	-1	-2
66	R	-2	2	-2	-3	-2	0	-1	-3	0	1	-1	1	-1	3	-3	-2	-2	-1	4	0
67	F	-2	-3	-3	-3	-2	-3	-3	-3	-1	-1	-1	-3	-1	6	-4	-2	1	6	3	-1
68	F	0	1	-2	-3	-2	-1	-2	-2	-1	-1	1	-1	0	2	-3	0	0	-1	2	-1
69	P	-2	-2	-1	2	-4	0	2	-2	-2	-4	-4	-1	-3	-4	6	-1	-1	-4	-3	-3
70	G	0	-2	0	-1	-2	-1	-1	5	-2	-4	-4	-1	-2	-3	-2	3	-1	-3	-3	-3
71	H	-2	-2	0	5	-3	-1	0	-2	4	-3	-4	-1	-3	-3	3	0	-1	-4	-2	-3
72	S	-1	-1	0	-1	-2	-1	-1	-2	5	-3	-3	-1	-2	-3	4	3	1	-3	-1	-2
73	N	2	-2	2	-2	8	-2	-2	-2	-2	-2	-2	-2	-2	-3	-3	0	0	-3	-2	-1
74	C	-1	-2	-1	-1	8	-1	3	-3	-2	-2	-2	-1	-2	-3	-2	0	2	-3	-2	-1
75	P	-1	2	-2	-2	-3	3	0	-3	-2	-2	0	0	-1	-3	5	-1	-1	-3	-2	-2
76	C	0	-4	-4	-4	10	-4	-5	-4	-4	-1	-1	-4	-1	-2	-4	-1	-1	-2	-2	-1
77	V	-1	-2	-2	-1	-2	-1	2	-3	-2	0	2	-1	0	-1	-2	-1	0	-3	-2	3
78	C	0	-4	-4	-4	10	-4	-5	-4	-4	-1	-1	-4	-1	-2	-4	-1	-1	-2	-2	-1
79	A	2	-1	-1	-1	-1	1	-1	-2	-2	-2	-2	-1	-1	-3	-1	0	4	-3	-2	-1
80	L	1	-1	-1	0	-2	0	2	-2	-2	-1	0	-1	-1	-2	-2	1	1	-3	-2	-1
81	D	-2	-2	0	5	-4	0	4	-2	-1	-3	-4	-1	-3	-3	-2	0	1	-4	-3	-3
82	G	0	-3	0	-2	-4	-3	-3	7	-3	-5	-5	-3	-4	-4	-3	0	-3	-3	-4	-4
83	P	-1	-2	-2	-1	-3	-1	-1	-2	-2	-3	-3	-1	-2	-4	7	1	-1	-4	-3	-3
84	V	0	-2	-2	-3	-2	1	-1	-3	-3	1	1	-2	0	-2	-2	0	-1	-3	-2	4
85	C	0	-3	-3	-3	10	-3	-4	-3	-3	-2	-2	-3	-2	-3	-3	0	-1	-3	-3	-2
86	D	1	-2	-1	3	4	-1	-1	-2	-2	-1	-2	-2	0	0	-2	1	0	-3	-2	0
87	Q	-1	3	-1	-2	-3	4	0	-3	-1	-2	-2	2	-1	-3	-2	-1	-1	-3	-2	0
88	P	-1	-2	-1	-2	-2	-2	-2	-3	-3	-2	-2	-2	-2	-4	6	0	4	-4	-3	-1
89	E	-2	2	0	2	-4	0	5	-2	-1	-4	-3	1	-2	-4	-2	-1	-2	-4	-3	-3
90	C	0	-4	-4	-4	10	-4	-5	-4	-4	-2	-2	-4	-2	-3	-4	-2	-2	-3	-3	-2
91	P	-1	-2	-2	-2	-3	-2	-2	-3	-3	-1	-2	-2	-2	-3	6	-1	2	-4	-3	0
92	K	0	3	0	0	-3	0	3	-2	-1	-3	-3	3	-2	-3	-2	0	-1	-3	-2	-2
93	I	-1	-3	-3	-4	-1	-2	-3	-4	-3	3	3	-2	0	-1	-3	-2	1	-3	-2	1
94	H	-1	-1	0	-1	4	-1	-1	-2	7	-3	-3	-1	-2	-2	2	1	-1	-3	0	-3

95	P	0	-2	-2	-1	-3	-1	1	-2	-2	-3	-3	-1	-2	-4	7	-1	-1	-4	-3	-2
96	K	1	3	-1	-2	-2	0	0	-2	0	-2	-2	2	-1	-1	-2	1	-1	-2	2	-2
97	C	0	-3	-3	-3	10	-3	-4	-3	-3	-2	-2	-3	-2	-3	2	-1	-1	-3	-3	-2
98	T	-1	-3	-2	-3	-1	-2	-3	-4	-3	4	0	-3	1	-1	-3	-1	3	-3	-2	2
99	K	-2	1	0	-1	-4	0	2	-2	7	-3	-3	2	-2	-2	-2	-1	-2	-3	0	-3
100	V	-1	-3	-3	-3	-1	-3	-3	-4	-3	3	0	-3	0	-1	-3	-2	-1	-3	-1	5
101	E	1	-1	0	3	-2	0	2	-1	-1	-3	-3	1	-2	-3	-1	2	0	-4	-3	-2
102	H	-2	2	1	-1	-3	0	-1	-2	7	-3	-2	0	-2	-1	-2	-1	1	-2	3	-2
103	N	-1	0	3	-1	-2	0	0	-1	4	-2	-2	1	-2	0	-2	1	0	-1	4	-2
104	G	-1	-1	0	2	-3	4	2	2	-1	-4	-3	0	-2	-3	-2	0	-1	-3	-2	-3
105	C	0	-3	-3	-3	10	-3	-5	-3	-3	-1	-1	-3	-1	-2	-3	-1	-1	-2	-2	-1
106	C	0	-3	-3	-3	10	-3	-5	-3	-3	-1	-1	-3	-1	-2	-3	-1	-1	-2	-2	-1
107	P	-1	-3	-3	-2	-3	-2	-2	-3	-3	-1	-2	-2	-2	-4	7	-2	-1	-4	-3	0
108	E	-1	2	0	2	-3	4	2	-2	-1	-2	-1	0	-1	-3	-2	-1	-1	-3	-2	0
109	C	0	-3	-3	-3	10	-3	-5	-3	-3	-1	-1	-3	-1	-2	-3	-1	-1	-2	-2	-1
110	K	-1	0	0	0	-3	0	3	-2	-1	-1	-2	3	-1	-3	-2	1	-1	-3	-2	1
111	E	2	2	-1	0	-3	0	4	-2	-1	-3	-2	2	-2	-3	-2	0	-1	-3	-2	-2
112	V	-1	1	-1	-1	-3	-1	1	1	-2	1	-1	1	-1	-2	-2	-1	-1	-3	-2	2
113	K	0	0	0	-1	-3	0	0	4	-2	-4	-3	4	-2	-3	-2	1	-1	-3	-3	-3
114	N	-2	0	6	0	-3	0	0	0	0	-3	-3	2	-2	-3	-2	0	0	-4	-2	-3
115	F	-1	-3	-3	-3	-2	-2	-2	-3	0	0	0	-2	0	4	-3	-2	-1	0	6	1
116	C	0	-3	-3	-3	10	-3	-5	-3	-3	-1	-1	-3	-1	-2	-3	-1	-1	-2	-2	-1
117	E	-1	-1	0	3	-3	0	4	-2	-1	-2	0	0	-2	-3	-2	0	1	-3	-3	-2
118	Y	-2	-2	-2	-2	-3	-1	1	-3	0	-1	-1	-2	-1	5	-3	-2	-2	0	6	-2
119	H	-2	5	2	-2	-3	0	-1	-2	4	-2	-1	0	3	-2	-2	-1	-1	-3	-1	-2
120	G	-1	-2	2	-1	-3	-2	-2	6	-2	-4	-4	-2	-3	-3	-2	0	-2	-3	-3	-3
121	K	-1	4	-1	-2	-3	0	0	-3	-1	-1	-2	5	-1	-3	-2	-1	-1	-3	-2	0
122	N	-1	-2	2	-2	-2	-2	-2	-2	-2	2	0	-2	0	-2	-2	0	4	-3	-2	1
123	Y	-2	-3	-3	-3	-2	-2	-3	-3	0	-1	-1	-3	-1	4	-4	-2	-2	1	8	-1
124	K	0	1	0	-1	-3	2	2	-2	4	-3	-2	2	-1	-1	-2	-1	-2	-2	3	-2
125	I	-1	-2	2	-2	-2	-2	-2	-2	-2	2	1	-2	0	-1	-2	0	1	-3	-2	2
126	L	-1	-2	2	-2	-2	-2	-2	3	-2	0	3	-2	0	-1	-3	-1	-1	-3	-2	-1
127	E	-1	0	0	1	-4	3	6	-2	0	-3	-3	0	-2	-3	-1	0	-1	-3	-2	-2
128	E	-1	-1	2	0	-3	0	4	-2	0	-3	-3	0	-2	-1	-2	0	1	-2	3	-2
129	F	-2	-3	-3	-3	-2	-3	-3	-3	-1	0	0	-3	0	7	-5	-2	-2	0	2	-1
130	K	-1	1	2	-1	-3	2	0	-2	-1	-1	0	2	1	-2	-2	-1	-1	-3	-2	0
131	P	-1	-3	-3	-3	-2	-2	-2	-3	-3	1	2	-2	0	-2	3	-2	0	-3	-2	3
132	S	0	0	1	2	2	-1	0	-1	-1	-3	-3	-1	-2	-3	1	4	1	-4	-3	-2
133	P	-1	-2	-2	-1	-3	-1	1	-3	-2	-2	-3	-1	-2	-4	7	-1	-1	-4	-3	0
134	C	0	-3	-3	-3	10	-3	-4	-3	-3	-1	-1	-3	-1	-2	-3	-1	0	-2	-2	-1
135	E	-1	1	-1	0	-3	0	5	-3	-1	-1	1	0	-1	-2	-2	-1	-1	-3	-2	-1
136	W	-1	2	-1	-2	-3	2	0	-2	3	-2	0	1	-1	-2	-2	1	-1	4	-1	-2
137	C	0	0	-3	-3	10	-3	-4	-3	-3	0	-1	-3	-1	-2	-3	-1	0	-3	-2	-1
138	R	-1	4	-1	-2	-2	0	-1	-3	-1	2	-1	2	-1	-1	-2	-1	1	-2	1	0
139	C	0	-4	-4	-4	10	-4	-5	-4	-4	-1	-1	-4	-1	-2	-4	-1	-1	-2	-2	-1
140	E	-1	-1	0	2	-3	0	5	-3	-1	-2	0	0	-1	-3	-2	0	1	-3	-2	-2
141	P	1	-2	1	-2	-2	-1	-1	-2	-2	0	0	-1	-1	-2	2	1	1	-3	-2	0
142	S	-1	-1	4	2	-3	1	0	2	-1	-3	-3	-1	-2	-3	-2	2	-1	-4	-3	-3
143	N	-1	1	2	-1	-3	-1	-1	4	-1	-4	-4	1	-2	-3	-2	1	-1	-3	-3	-3
144	E	-1	0	-1	0	-3	0	4	-3	-1	1	-1	0	-1	-2	-2	-1	1	-3	-2	1

145	V	3	-2	-3	-3	-1	-2	-2	-2	-3	0	0	-2	0	-2	-2	-1	-1	-3	-2	3
146	H	-2	1	-2	-3	-2	-1	-2	-3	3	0	2	-1	0	2	-3	-2	-2	-1	4	-1
147	C	-1	0	-3	-3	10	-3	-3	-3	-3	-2	-2	-2	-2	-3	1	-1	-1	-3	-3	-2
148	V	0	-2	-1	-2	-1	-1	-2	-2	-3	0	1	-1	0	-2	-2	2	3	-3	-2	2
149	V	-1	-3	-3	-3	1	-2	-2	-3	-3	2	0	-2	0	-2	2	-2	-1	-4	-2	5
150	A	3	-2	-2	-2	2	-1	-1	-1	-2	0	-1	-1	-1	-2	-2	2	0	-3	-2	2
151	D	1	-2	0	5	-2	1	0	0	-2	-3	-3	-1	-2	-3	-2	1	-1	-4	-3	-2
152	C	-1	-3	-3	-3	10	-3	-4	0	-3	-2	-2	-3	-1	1	-4	-1	-2	-2	-1	-2
153	A	2	-2	-2	-2	-2	-1	0	-2	-2	-1	0	-1	-1	1	4	-1	-1	-3	-1	-1
154	V	2	-1	-2	-1	-2	4	1	-2	-2	-1	-2	0	-1	-3	3	-1	-1	-3	-2	0
155	P	-1	-2	-1	1	-2	-2	-1	-2	-2	1	0	-2	-1	-2	4	0	2	-4	-3	0
156	E	-2	1	-1	0	-4	0	3	-3	2	-3	-3	1	-2	2	3	-1	-2	-3	-1	-3
157	C	-1	-3	-3	-3	9	1	-3	-3	-3	-2	-1	-3	-1	-2	-3	-2	-2	5	-2	-2
158	V	-1	0	-2	-3	-2	0	-2	-3	-3	2	0	-2	0	1	-2	-2	1	-2	-1	4
159	N	-2	1	4	4	-3	0	0	-1	0	-3	-3	-1	-2	-1	-2	0	-1	3	3	-3
160	P	-1	-2	-2	-1	-3	-1	-1	-2	-2	-1	-3	1	-2	-4	7	0	-1	-4	-3	-2
161	V	-1	-3	-3	-3	-2	0	0	-4	-3	4	0	-2	0	2	-3	-2	-1	-2	0	3
162	Y	-2	1	-1	-3	-3	-1	-1	-3	4	-2	0	-1	-1	0	-3	0	-2	0	6	-2
163	E	-1	-1	-1	0	-3	3	4	-3	-1	-2	-1	0	-1	-3	3	0	0	-3	-2	-2
164	P	-1	-1	-2	-1	-3	0	1	-3	-1	-2	-1	0	-2	-2	5	-1	-1	-2	2	-2
165	E	-1	-2	1	2	-3	-1	1	3	-1	-3	-3	-1	-3	-1	-2	0	-1	-2	2	-3
166	Q	-2	0	-1	-1	-3	4	2	-3	3	-3	0	2	-1	-2	-2	-1	-2	5	0	-2
167	C	0	-3	-3	-4	9	-3	-4	-4	-3	0	0	-3	-1	-2	-3	-2	-1	-2	-2	0
168	C	0	-3	-3	-3	9	-3	-3	-3	-3	0	-1	-3	-1	-2	-3	0	-1	-3	-2	1
169	P	0	-2	-3	-2	-3	-1	-2	-2	-3	-2	0	-1	-1	-3	7	-1	-1	-4	-3	-1
170	V	-1	-2	-2	-2	-2	-1	1	-3	-2	3	0	1	0	-2	-2	-2	-1	-3	-2	4
171	C	-1	-2	-3	-3	9	-2	-3	-3	-3	-1	0	1	-1	-2	-3	-1	-1	-3	-2	-1
172	K	-1	1	0	-1	-3	0	0	-2	-1	-3	-2	6	-1	-3	-1	0	-1	-3	-2	-2
173	N	2	-1	3	2	-2	-1	0	2	-1	-3	-3	-1	-2	-3	-2	1	-1	-4	-3	-2
174	G	0	-1	0	-1	-3	-2	-2	5	-2	-4	-3	0	-3	-3	-2	0	-2	-2	-3	-3
175	P	-1	-2	1	-1	-3	-1	0	-2	-2	-3	-3	-1	-2	-4	6	-1	-1	-4	-3	-2
176	N	-1	-1	5	0	-3	-1	-1	-1	0	-3	-3	-1	-2	-2	-2	1	0	6	-1	-3
177	C	-1	-2	-2	-2	8	-2	-2	-3	3	-2	-2	-2	-2	-2	1	-1	0	-3	-1	-2
178	F	-2	-2	-1	-2	-3	-2	-2	1	4	-2	-2	0	-1	4	0	-1	-2	0	3	-2
179	A	2	-2	-2	-3	-1	-2	-2	2	-3	0	1	-2	0	0	-2	-1	-1	-3	-1	1
180	G	0	-1	0	0	-2	-1	1	3	-2	-2	0	-1	-1	-2	1	1	1	-3	-2	-1
181	T	0	-2	-1	-1	-1	-1	-1	-2	-2	1	-1	-1	-1	-2	1	0	5	-3	-2	0
182	T	1	-1	0	-1	-1	2	0	-1	-2	-1	0	-1	0	-2	-1	1	3	-3	-2	-1
183	I	1	-3	-2	-3	-1	-2	-2	-2	-3	3	0	-2	0	-1	-2	0	0	-3	-1	3
184	I	-1	-3	-3	-3	-2	-3	-3	1	-3	5	0	-3	0	2	-3	-2	-1	-2	0	1
185	P	-1	-2	-2	-1	-3	0	1	-2	-2	-2	0	-1	-1	-3	6	-1	-1	-4	-3	-2
186	A	4	1	-2	-2	0	-1	-1	0	-2	-1	-1	0	-1	-2	-1	0	0	-3	-2	0
187	G	0	-2	0	-1	-3	-2	-2	6	-2	-2	-3	-2	-2	-3	-2	0	-2	-2	-3	0
188	I	-1	2	-1	0	-3	0	3	-3	-1	2	-1	0	-1	-2	1	-1	-1	-3	-2	0
189	E	-1	-1	-1	0	-3	0	4	-2	-1	0	-2	0	-1	-3	3	-1	-1	-3	-2	-1
190	V	0	0	-1	1	-2	-1	-1	-2	-2	0	0	-1	0	-2	-2	-1	2	-3	-2	3
191	K	-1	0	-1	-1	-3	0	1	-2	-1	-2	-2	4	-1	-2	-2	-1	-1	7	-1	0
192	V	0	-1	-1	-2	-2	1	0	-3	-2	0	0	1	0	-2	-2	-1	2	-3	-1	3
193	D	-2	-2	0	6	-3	0	1	-1	-1	-3	-4	-1	-3	-3	-1	0	1	-4	-3	-3
194	E	1	-1	-1	1	-2	0	4	-2	-1	-1	-2	0	-1	-2	-1	0	-1	-3	-2	1

195	C	0	-3	-3	-3	10	-3	-4	-3	-3	-1	-1	-3	-1	-2	-3	-1	-1	-2	-2	-1
196	N	-1	-1	3	-1	-2	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	2	-2	0	4	-2	0	-1
197	I	-1	-1	-2	-3	5	-2	-2	-3	-3	4	0	1	0	-1	-3	-1	-1	-3	-1	1
198	C	0	-3	-2	-3	9	-3	-3	-3	-3	-1	-1	-3	-1	-2	-3	-1	1	-2	-2	-1
199	H	-2	2	0	-2	-3	0	0	-2	7	-3	-2	0	-2	0	-2	-1	-2	-1	3	-3
200	C	0	-3	-3	-3	10	-3	-4	-3	-3	-1	-1	-3	-1	-2	-3	-1	-1	-2	-2	-1
201	H	-1	0	0	-1	-2	0	0	-2	7	-2	-2	-1	-2	-1	-2	0	3	-2	0	-2
202	N	-2	-1	4	3	-3	0	0	-1	0	-2	-2	-1	-2	0	-2	0	-1	-1	4	-2
203	G	0	-1	0	0	-3	0	3	5	-1	-4	-4	-1	-3	-3	-2	0	-2	-2	-3	-3
204	D	-1	0	0	4	-3	3	3	-2	0	-3	-3	0	-2	-3	-1	0	-1	-3	-2	-2
205	W	-1	-2	0	3	-3	-1	0	3	-2	-3	-3	-2	-2	-1	-2	-1	-2	8	0	-3
206	W	-2	-3	-2	-3	-2	-2	-3	3	-2	-3	-3	-3	-1	0	-3	-2	-2	11	0	-3
207	K	-1	3	0	-2	-3	0	0	-2	0	-2	-2	3	-1	0	-2	-1	-1	-1	4	-2
208	P	-1	-1	-1	-1	-2	3	0	-3	-1	-1	1	0	0	-2	4	-1	-1	-3	-2	-1
209	A	5	-1	-2	-2	0	-1	-1	0	-2	-1	-1	-1	-1	-2	-1	0	0	-3	-2	0
210	Q	-1	0	-1	-1	-2	3	0	-2	-1	-1	0	0	4	-1	-1	0	2	-2	-1	0
211	C	0	-3	-3	-3	10	-3	-4	-3	-3	-1	-1	-3	-1	-2	-3	-1	-1	-2	-2	-1
212	S	0	-1	0	0	-1	0	0	-1	-1	-2	-2	0	-1	-2	-1	4	3	-3	-2	-1
213	K	-1	5	0	-2	-3	0	0	-2	0	-3	-2	4	-1	-3	-2	-1	-1	-3	-2	-3
214	R	-1	3	0	-2	-2	0	-1	-3	6	-1	1	0	0	-1	-2	-1	-1	-2	0	-1
215	E	-1	0	0	1	-4	1	5	-2	0	-3	-3	3	-2	-3	-1	0	-1	-3	-2	-2
216	C	0	-2	3	-1	9	-2	-2	-2	-1	-1	-1	-2	-1	-2	-3	0	-1	-3	-2	-1
217	Q	-1	2	-1	-1	6	3	0	-2	-1	-2	-2	1	-1	-3	-2	0	-1	-2	-2	-2
218	G	-1	0	3	0	-3	3	0	3	0	-3	-3	0	-1	-3	-2	0	-1	-3	-2	-3
219	K	-1	0	0	-2	-2	0	0	-2	5	0	0	3	3	-1	-2	-1	-1	-2	0	0
220	Q	-1	0	0	0	-3	4	4	-2	0	-3	-2	0	-1	-3	-1	0	-1	-2	-1	-2
221	T	0	-1	0	-1	-2	-1	-1	4	-2	-2	-2	-1	-2	-2	-1	0	4	-2	-2	-1
222	V	0	-2	-2	-3	-1	-1	-2	-3	-2	2	1	-1	4	0	-2	-1	0	-2	-1	3

（ここで、NCBIが指定するデフォルトパラメーター[Blosum 62 マトリックス；ギャップオープンペナルティー＝11及びギャップ伸長ペナルティー＝１]を用いて、前記プロファイルを検索プログラムBLASTにクエリー配列として入力した場合、SECFAM3ファミリーのメンバーは10^{-2}以下のE-valueを有する）。

【請求項２】

E-valueが10^{-5}以下、10^{-10}以下、10^{-50}以下、最も好ましくは10^{-70}以下である、請求項１記載の方法。

【請求項３】

翻訳された核酸配列のデータベースが、cDNA、EST、mRNA、全体ゲノム又は部分ゲノムのデータベースから派生する、請求項１又は２記載の方法。

【請求項４】

データベースがESTデータベースである、請求項１～３のいずれか１項記載の方法。

【請求項５】

データベースが、ヒト配列データベースである、請求項１～４のいずれか１項記載の方法。

【請求項６】

以下の(i)～(iii)のいずれかの単離ポリペプチド：

(i)NCBIが指定するデフォルトパラメーター[Blosum 62 マトリックス；ギャップオープンペナルティー＝11及びギャップ伸長ペナルティー＝１]を用いて、以下のプロファイルを検索プログラムBLASTにクエリー配列として入力した場合、10^{-2}以下のE-valueを有するポリペプチド配列を含む、単離ポリペプチド：

A	R	N	D	C	Q	E	G	H	I	L	K	M	F	P	S	T	W	Y	V

1	M	-2	-2	-3	-4	-2	-1	-3	-4	-3	0	2	-2	8	0	-3	-2	-2	-2	-2	0
2	A	3	-1	-3	-3	-1	-1	-2	-2	-3	0	0	1	2	1	-2	-1	-1	-3	-1	1
3	L	1	-2	-2	-3	-2	-2	-2	-2	2	0	2	-2	0	-2	0	1	-1	-3	-2	2
4	H	-1	-1	1	-1	-3	-1	-1	3	6	-3	-1	-1	-2	-2	-2	2	-1	-3	-1	-3
5	I	0	-2	-3	-3	-2	0	0	-3	-3	3	2	-2	0	-1	-3	-2	-1	-3	-2	2
6	H	0	-2	-1	-2	-2	-1	-1	-3	7	0	0	-2	-1	-2	0	0	-1	-3	0	2
7	E	0	-2	-2	-1	-2	-1	2	-3	-1	0	1	-1	2	2	-3	0	-1	-2	2	0
8	A	2	-2	-1	-2	3	-2	-2	2	-2	-2	-2	-2	-2	-3	-2	3	1	-3	-3	-2
9	C	0	-3	-2	-3	7	-2	-3	-3	-3	0	-1	-2	3	3	-3	0	-1	-2	-1	0
10	I	-1	-2	-2	-2	-2	-2	0	0	-2	3	2	-2	0	0	-3	0	0	-2	3	0
11	L	-2	0	-3	-4	-2	-2	-3	-4	-3	0	4	-2	3	3	-4	-2	-2	-2	0	0
12	L	0	0	-3	-4	-2	-2	-3	-3	-3	0	3	-2	0	-1	1	-2	-1	-3	-2	1
13	L	-1	-2	-2	-2	-2	-2	0	-3	-3	0	3	-2	0	1	-3	1	1	-3	-1	1
14	V	0	0	-3	-3	4	0	-2	-3	-3	0	0	-2	2	-2	-3	-2	-1	-3	-2	4
15	I	-1	0	-2	-3	4	-2	-2	-3	2	2	1	-2	0	-1	-3	0	0	4	-1	0
16	P	0	0	-2	-2	-2	-2	-2	-3	4	-1	0	-2	-1	2	3	0	-1	-2	0	0
17	G	0	-3	-2	-3	-2	-2	-3	2	-3	1	0	-3	3	3	-3	-1	-2	-2	0	1
18	L	1	-3	-3	-4	-1	-2	-3	-3	-3	0	4	-2	0	-1	-3	-2	-1	-3	-2	2
19	V	2	-1	-1	-2	-2	3	-1	-2	-2	0	-1	-1	-1	-3	-2	1	1	-3	-2	2
20	T	-1	-2	-2	-3	4	-2	-2	-3	-3	0	3	-2	0	-2	-3	1	3	-3	-2	0
21	S	0	-2	-1	-2	4	-2	-2	1	-3	-1	1	-2	2	-2	0	2	-1	-3	-3	-1
22	A	3	-2	-2	-2	-1	-2	-2	-1	-2	-1	0	-2	-1	1	2	2	-1	-3	-2	0
23	A	2	-2	-3	-2	5	0	0	-2	-3	-1	0	-2	-1	-3	2	-1	-1	-3	-2	1
24	I	1	1	-2	-2	-2	-1	-2	-2	-2	2	0	-1	-1	-1	-2	2	-1	-3	1	1
25	S	-1	-1	2	-1	-2	1	-1	-2	4	2	-1	-1	-1	-2	-2	3	-1	-4	-1	-1
26	H	0	-2	3	-1	-3	-1	-1	-2	5	-2	-2	-1	-2	0	3	0	-1	-3	-1	0
27	E	-1	-1	0	1	-3	0	5	-2	-1	-3	-3	0	-2	-3	-1	1	2	-3	-2	-2
28	D	1	-2	0	4	-2	-1	0	-1	-2	-2	0	-1	-1	-2	-1	2	0	-4	-3	-2
29	Y	-2	-1	-2	-2	-3	2	-1	-3	0	0	-1	-1	-1	0	3	-1	-2	0	5	0
30	P	0	-1	-1	-1	-2	-1	-1	0	5	-3	-3	-1	-2	-3	4	0	0	-3	-1	-2
31	A	3	-2	-2	-2	-1	-1	-2	-1	-3	0	2	-1	0	-2	0	0	0	-3	-2	0
32	D	-2	-1	0	5	-3	0	2	-2	-1	-2	-3	2	-2	-3	-1	0	-1	-4	-3	0
33	E	0	-1	-2	0	-2	0	3	-3	-1	0	0	-1	0	3	-2	-1	-1	-2	0	0
34	G	1	-2	0	-1	-2	-1	-2	4	-2	-2	-2	-2	0	-2	-2	1	1	-2	-3	0
35	D	0	2	0	2	-2	0	0	-2	-1	-2	0	0	-1	-3	2	-1	-1	-3	-2	-2
36	Q	0	3	0	-1	-2	3	0	-2	-1	-2	-2	0	-1	-3	-1	1	3	-3	-2	-2
37	I	0	-2	-3	-2	-1	-2	-2	-2	-3	1	0	-2	0	-2	4	-1	-1	-3	-2	2
38	S	-1	-1	0	1	-2	0	2	-2	-1	2	-1	1	-1	-2	-2	2	-1	-3	-2	0
39	S	3	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-2	-1	0	-1	-1	-2	2	3	0	-3	-2	-1
40	N	0	-2	2	-1	-3	-1	1	3	-1	0	0	-1	-1	-3	1	-1	-1	-3	-2	0
41	D	1	-2	-1	3	-2	0	2	-2	-2	-1	0	-1	-1	0	-2	0	-1	-3	-2	-1
42	N	-1	-1	2	1	-3	0	3	0	-1	-2	0	0	-1	-2	-2	1	-1	-3	-2	-2
43	L	1	-3	-3	-3	4	-2	-3	-3	-1	0	1	-3	0	3	-3	-2	-2	0	5	0
44	I	1	-1	-1	0	-2	0	2	-2	-2	1	-1	1	-1	-2	-2	2	-1	-4	-2	0
45	F	-2	-3	-2	1	-2	-2	-2	-3	-1	2	0	-3	0	4	-3	-2	-2	-1	4	1
46	D	1	-2	-1	2	-2	-1	0	0	-2	-3	-3	-1	-2	-3	4	1	-1	-4	-3	-2
47	D	0	-2	0	5	-3	-1	0	1	-2	-3	-4	-1	-3	-3	2	1	-1	-4	-3	-3
48	Y	-2	3	-1	-2	-3	2	-1	-3	0	-2	-2	0	-1	0	-3	-2	-2	0	6	-2
49	R	-2	4	0	-2	-4	2	0	-2	5	-4	-3	0	-2	-3	2	-1	-2	-3	-1	-3
50	G	-1	-2	0	2	-3	-1	1	4	-2	-2	-3	-1	-2	-3	-2	1	-1	-3	-3	0

51	K	-1	2	1	-1	-3	0	0	1	-1	-3	-3	4	-2	-3	-2	1	-1	-3	-3	-3
52	G	-1	-2	-1	2	4	-2	-1	3	-2	-2	-3	-2	-2	0	-2	0	2	-2	-2	-2
53	C	-1	-4	-4	-4	10	-4	-4	-4	-3	-1	-1	-4	-1	2	-4	-2	-2	-2	-1	-1
54	V	-1	-2	-1	0	-2	-1	1	-2	-2	0	0	-1	3	-2	-2	1	0	-3	-2	3
55	D	0	-2	0	6	-3	0	1	-1	-1	-3	-4	-1	-3	-3	-1	0	-1	-4	-3	-3
56	D	-2	-1	3	4	-4	0	2	2	-1	-4	-4	-1	-3	-4	-2	0	-1	-4	-3	-3
57	S	0	-1	2	2	-3	1	0	2	-1	-3	-3	-1	-2	-3	-2	3	0	-3	-3	-3
58	G	0	1	0	-1	-3	-1	-2	5	-2	-4	-4	-1	-3	-3	-2	1	-2	-3	-3	-3
59	F	-1	-4	-4	-4	-2	-3	-3	-4	-2	3	0	-3	0	5	-4	-2	-1	-1	0	3
60	V	-1	-3	-3	-2	-2	-1	1	-3	-1	0	0	-2	0	3	-3	-2	-1	-1	4	3
61	Y	-2	-2	-2	-3	-2	-2	-2	-3	0	-1	-1	-2	-1	4	-3	0	-2	0	7	-2
62	K	1	-1	-2	-2	-2	-1	-1	0	-3	0	-1	1	-1	-2	2	-1	-1	-4	-2	3
63	L	-1	-3	-2	-3	-2	-3	-3	4	-3	4	1	-3	0	-1	-3	-1	-2	-3	-2	0
64	G	-1	-1	0	0	-4	0	3	5	-1	-4	-4	-1	-3	-4	-2	0	-2	-3	-3	-3
65	E	-2	-1	-1	0	-3	3	3	-3	-1	-2	-1	0	3	-1	-2	-1	-2	7	-1	-2
66	R	-2	2	-2	-3	-2	0	-1	-3	0	1	-1	1	-1	3	-3	-2	-2	-1	4	0
67	F	-2	-3	-3	-3	-2	-3	-3	-3	-1	-1	-1	-3	-1	6	-4	-2	1	6	3	-1
68	F	0	1	-2	-3	-2	-1	-2	-2	-1	-1	1	-1	0	2	-3	0	0	-1	2	-1
69	P	-2	-2	-1	2	-4	0	2	-2	-2	-4	-4	-1	-3	-4	6	-1	-1	-4	-3	-3
70	G	0	-2	0	-1	-2	-1	-1	5	-2	-4	-4	-1	-2	-3	-2	3	-1	-3	-3	-3
71	H	-2	-2	0	5	-3	-1	0	-2	4	-3	-4	-1	-3	-3	3	0	-1	-4	-2	-3
72	S	-1	-1	0	-1	-2	-1	-1	-2	5	-3	-3	-1	-2	-3	4	3	1	-3	-1	-2
73	N	2	-2	2	-2	8	-2	-2	-2	-2	-2	-2	-2	-2	-3	-3	0	0	-3	-2	-1
74	C	-1	-2	-1	-1	8	-1	3	-3	-2	-2	-2	-1	-2	-3	-2	0	2	-3	-2	-1
75	P	-1	2	-2	-2	-3	3	0	-3	-2	-2	0	0	-1	-3	5	-1	-1	-3	-2	-2
76	C	0	-4	-4	-4	10	-4	-5	-4	-4	-1	-1	-4	-1	-2	-4	-1	-1	-2	-2	-1
77	V	-1	-2	-2	-1	-2	-1	2	-3	-2	0	2	-1	0	-1	-2	-1	0	-3	-2	3
78	C	0	-4	-4	-4	10	-4	-5	-4	-4	-1	-1	-4	-1	-2	-4	-1	-1	-2	-2	-1
79	A	2	-1	-1	-1	-1	1	-1	-2	-2	-2	-2	-1	-1	-3	-1	0	4	-3	-2	-1
80	L	1	-1	-1	0	-2	0	2	-2	-2	-1	0	-1	-1	-2	-2	1	1	-3	-2	-1
81	D	-2	-2	0	5	-4	0	4	-2	-1	-3	-4	-1	-3	-3	-2	0	1	-4	-3	-3
82	G	0	-3	0	-2	-4	-3	-3	7	-3	-5	-5	-3	-4	-4	-3	0	-3	-3	-4	-4
83	P	-1	-2	-2	-1	-3	-1	-1	-2	-2	-3	-3	-1	-2	-4	7	1	-1	-4	-3	-3
84	V	0	-2	-2	-3	-2	1	-1	-3	-3	1	1	-2	0	-2	-2	0	-1	-3	-2	4
85	C	0	-3	-3	-3	10	-3	-4	-3	-3	-2	-2	-3	-2	-3	-3	0	-1	-3	-3	-2
86	D	1	-2	-1	3	4	-1	-1	-2	-2	-1	-2	-2	0	0	-2	1	0	-3	-2	0
87	Q	-1	3	-1	-2	-3	4	0	-3	-1	-2	-2	2	-1	-3	-2	-1	-1	-3	-2	0
88	P	-1	-2	-1	-2	-2	-2	-2	-3	-3	-2	-2	-2	-2	-4	6	0	4	-4	-3	-1
89	E	-2	2	0	2	-4	0	5	-2	-1	-4	-3	1	-2	-4	-2	-1	-2	-4	-3	-3
90	C	0	-4	-4	-4	10	-4	-5	-4	-4	-2	-2	-4	-2	-3	-4	-2	-2	-3	-3	-2
91	P	-1	-2	-2	-2	-3	-2	-2	-3	-3	-1	-2	-2	-2	-3	6	-1	2	-4	-3	0
92	K	0	3	0	0	-3	0	3	-2	-1	-3	-3	3	-2	-3	-2	0	-1	-3	-2	-2
93	I	-1	-3	-3	-4	-1	-2	-3	-4	-3	3	3	-2	0	-1	-3	-2	1	-3	-2	1
94	H	-1	-1	0	-1	4	-1	-1	-2	7	-3	-3	-1	-2	-2	2	1	-1	-3	0	-3
95	P	0	-2	-2	-1	-3	-1	1	-2	-2	-3	-3	-1	-2	-4	7	-1	-1	-4	-3	-2
96	K	1	3	-1	-2	-2	0	0	-2	0	-2	-2	2	-1	-1	-2	1	-1	-2	2	-2
97	C	0	-3	-3	-3	10	-3	-4	-3	-3	-2	-2	-3	-2	-3	2	-1	-1	-3	-3	-2
98	T	-1	-3	-2	-3	-1	-2	-3	-4	-3	4	0	-3	1	-1	-3	-1	3	-3	-2	2
99	K	-2	1	0	-1	-4	0	2	-2	7	-3	-3	2	-2	-2	-2	-1	-2	-3	0	-3
100	V	-1	-3	-3	-3	-1	-3	-3	-4	-3	3	0	-3	0	-1	-3	-2	-1	-3	-1	5

101	E	1	-1	0	3	-2	0	2	-1	-1	-3	-3	1	-2	-3	-1	2	0	-4	-3	-2
102	H	-2	2	1	-1	-3	0	-1	-2	7	-3	-2	0	-2	-1	-2	-1	1	-2	3	-2
103	N	-1	0	3	-1	-2	0	0	-1	4	-2	-2	1	-2	0	-2	1	0	-1	4	-2
104	G	-1	-1	0	2	-3	4	2	2	-1	-4	-3	0	-2	-3	-2	0	-1	-3	-2	-3
105	C	0	-3	-3	-3	10	-3	-5	-3	-3	-1	-1	-3	-1	-2	-3	-1	-1	-2	-2	-1
106	C	0	-3	-3	-3	10	-3	-5	-3	-3	-1	-1	-3	-1	-2	-3	-1	-1	-2	-2	-1
107	P	-1	-3	-3	-2	-3	-2	-2	-3	-3	-1	-2	-2	-2	-4	7	-2	-1	-4	-3	0
108	E	-1	2	0	2	-3	4	2	-2	-1	-2	-1	0	-1	-3	-2	-1	-1	-3	-2	0
109	C	0	-3	-3	-3	10	-3	-5	-3	-3	-1	-1	-3	-1	-2	-3	-1	-1	-2	-2	-1
110	K	-1	0	0	0	-3	0	3	-2	-1	-1	-2	3	-1	-3	-2	1	-1	-3	-2	1
111	E	2	2	-1	0	-3	0	4	-2	-1	-3	-2	2	-2	-3	-2	0	-1	-3	-2	-2
112	V	-1	1	-1	-1	-3	-1	1	1	-2	1	-1	1	-1	-2	-2	-1	-1	-3	-2	2
113	K	0	0	0	-1	-3	0	0	4	-2	-4	-3	4	-2	-3	-2	1	-1	-3	-3	-3
114	N	-2	0	6	0	-3	0	0	0	0	-3	-3	2	-2	-3	-2	0	0	-4	-2	-3
115	F	-1	-3	-3	-3	-2	-2	-2	-3	0	0	0	-2	0	4	-3	-2	-1	0	6	1
116	C	0	-3	-3	-3	10	-3	-5	-3	-3	-1	-1	-3	-1	-2	-3	-1	-1	-2	-2	-1
117	E	-1	-1	0	3	-3	0	4	-2	-1	-2	0	0	-2	-3	-2	0	1	-3	-3	-2
118	Y	-2	-2	-2	-2	-3	-1	1	-3	0	-1	-1	-2	-1	5	-3	-2	-2	0	6	-2
119	H	-2	5	2	-2	-3	0	-1	-2	4	-2	-1	0	3	-2	-2	-1	-1	-3	-1	-2
120	G	-1	-2	2	-1	-3	-2	-2	6	-2	-4	-4	-2	-3	-3	-2	0	-2	-3	-3	-3
121	K	-1	4	-1	-2	-3	0	0	-3	-1	-1	-2	5	-1	-3	-2	-1	-1	-3	-2	0
122	N	-1	-2	2	-2	-2	-2	-2	-2	-2	2	0	-2	0	-2	-2	0	4	-3	-2	1
123	Y	-2	-3	-3	-3	-2	-2	-3	-3	0	-1	-1	-3	-1	4	-4	-2	-2	1	8	-1
124	K	0	1	0	-1	-3	2	2	-2	4	-3	-2	2	-1	-1	-2	-1	-2	-2	3	-2
125	I	-1	-2	2	-2	-2	-2	-2	-2	-2	2	1	-2	0	-1	-2	0	1	-3	-2	2
126	L	-1	-2	2	-2	-2	-2	-2	3	-2	0	3	-2	0	-1	-3	-1	-1	-3	-2	-1
127	E	-1	0	0	1	-4	3	6	-2	0	-3	-3	0	-2	-3	-1	0	-1	-3	-2	-2
128	E	-1	-1	2	0	-3	0	4	-2	0	-3	-3	0	-2	-1	-2	0	1	-2	3	-2
129	F	-2	-3	-3	-3	-2	-3	-3	-3	-1	0	0	-3	0	7	-5	-2	-2	0	2	-1
130	K	-1	1	2	-1	-3	2	0	-2	-1	-1	0	2	1	-2	-2	-1	-1	-3	-2	0
131	P	-1	-3	-3	-3	-2	-2	-2	-3	-3	1	2	-2	0	-2	3	-2	0	-3	-2	3
132	S	0	0	1	2	2	-1	0	-1	-1	-3	-3	-1	-2	-3	1	4	1	-4	-3	-2
133	P	-1	-2	-2	-1	-3	-1	1	-3	-2	-2	-3	-1	-2	-4	7	-1	-1	-4	-3	0
134	C	0	-3	-3	-3	10	-3	-4	-3	-3	-1	-1	-3	-1	-2	-3	-1	0	-2	-2	-1
135	E	-1	1	-1	0	-3	0	5	-3	-1	-1	1	0	-1	-2	-2	-1	-1	-3	-2	-1
136	W	-1	2	-1	-2	-3	2	0	-2	3	-2	0	1	-1	-2	-2	1	-1	4	-1	-2
137	C	0	0	-3	-3	10	-3	-4	-3	-3	0	-1	-3	-1	-2	-3	-1	0	-3	-2	-1
138	R	-1	4	-1	-2	-2	0	-1	-3	-1	2	-1	2	-1	-1	-2	-1	1	-2	1	0
139	C	0	-4	-4	-4	10	-4	-5	-4	-4	-1	-1	-4	-1	-2	-4	-1	-1	-2	-2	-1
140	E	-1	-1	0	2	-3	0	5	-3	-1	-2	0	0	-1	-3	-2	0	1	-3	-2	-2
141	P	1	-2	1	-2	-2	-1	-1	-2	-2	0	0	-1	-1	-2	2	1	1	-3	-2	0
142	S	-1	-1	4	2	-3	1	0	2	-1	-3	-3	-1	-2	-3	-2	2	-1	-4	-3	-3
143	N	-1	1	2	-1	-3	-1	-1	4	-1	-4	-4	1	-2	-3	-2	1	-1	-3	-3	-3
144	E	-1	0	-1	0	-3	0	4	-3	-1	1	-1	0	-1	-2	-2	-1	1	-3	-2	1
145	V	3	-2	-3	-3	-1	-2	-2	-2	-3	0	0	-2	0	-2	-2	-1	-1	-3	-2	3
146	H	-2	1	-2	-3	-2	-1	-2	-3	3	0	2	-1	0	2	-3	-2	-2	-1	4	-1
147	C	-1	0	-3	-3	10	-3	-3	-3	-3	-2	-2	-2	-2	-3	1	-1	-1	-3	-3	-2
148	V	0	-2	-1	-2	-1	-1	-2	-2	-3	0	1	-1	0	-2	-2	2	3	-3	-2	2
149	V	-1	-3	-3	-3	1	-2	-2	-3	-3	2	0	-2	0	-2	2	-2	-1	-4	-2	5
150	A	3	-2	-2	-2	2	-1	-1	-1	-2	0	-1	-1	-1	-2	-2	2	0	-3	-2	2

151	D	1	-2	0	5	-2	1	0	0	-2	-3	-3	-1	-2	-3	-2	1	-1	-4	-3	-2
152	C	-1	-3	-3	-3	10	-3	-4	0	-3	-2	-2	-3	-1	1	-4	-1	-2	-2	-1	-2
153	A	2	-2	-2	-2	-2	-1	0	-2	-2	-1	0	-1	-1	1	4	-1	-1	-3	-1	-1
154	V	2	-1	-2	-1	-2	4	1	-2	-2	-1	-2	0	-1	-3	3	-1	-1	-3	-2	0
155	P	-1	-2	-1	1	-2	-2	-1	-2	-2	1	0	-2	-1	-2	4	0	2	-4	-3	0
156	E	-2	1	-1	0	-4	0	3	-3	2	-3	-3	1	-2	2	3	-1	-2	-3	-1	-3
157	C	-1	-3	-3	-3	9	1	-3	-3	-3	-2	-1	-3	-1	-2	-3	-2	-2	5	-2	-2
158	V	-1	0	-2	-3	-2	0	-2	-3	-3	2	0	-2	0	1	-2	-2	1	-2	-1	4
159	N	-2	1	4	4	-3	0	0	-1	0	-3	-3	-1	-2	-1	-2	0	-1	3	3	-3
160	P	-1	-2	-2	-1	-3	-1	-1	-2	-2	-1	-3	1	-2	-4	7	0	-1	-4	-3	-2
161	V	-1	-3	-3	-3	-2	0	0	-4	-3	4	0	-2	0	2	-3	-2	-1	-2	0	3
162	Y	-2	1	-1	-3	-3	-1	-1	-3	4	-2	0	-1	-1	0	-3	0	-2	0	6	-2
163	E	-1	-1	-1	0	-3	3	4	-3	-1	-2	-1	0	-1	-3	3	0	0	-3	-2	-2
164	P	-1	-1	-2	-1	-3	0	1	-3	-1	-2	-1	0	-2	-2	5	-1	-1	-2	2	-2
165	E	-1	-2	1	2	-3	-1	1	3	-1	-3	-3	-1	-3	-1	-2	0	-1	-2	2	-3
166	Q	-2	0	-1	-1	-3	4	2	-3	3	-3	0	2	-1	-2	-2	-1	-2	5	0	-2
167	C	0	-3	-3	-4	9	-3	-4	-4	-3	0	0	-3	-1	-2	-3	-2	-1	-2	-2	0
168	C	0	-3	-3	-3	9	-3	-3	-3	-3	0	-1	-3	-1	-2	-3	0	-1	-3	-2	1
169	P	0	-2	-3	-2	-3	-1	-2	-2	-3	-2	0	-1	-1	-3	7	-1	-1	-4	-3	-1
170	V	-1	-2	-2	-2	-2	-1	1	-3	-2	3	0	1	0	-2	-2	-2	-1	-3	-2	4
171	C	-1	-2	-3	-3	9	-2	-3	-3	-3	-1	0	1	-1	-2	-3	-1	-1	-3	-2	-1
172	K	-1	1	0	-1	-3	0	0	-2	-1	-3	-2	6	-1	-3	-1	0	-1	-3	-2	-2
173	N	2	-1	3	2	-2	-1	0	2	-1	-3	-3	-1	-2	-3	-2	1	-1	-4	-3	-2
174	G	0	-1	0	-1	-3	-2	-2	5	-2	-4	-3	0	-3	-3	-2	0	-2	-2	-3	-3
175	P	-1	-2	1	-1	-3	-1	0	-2	-2	-3	-3	-1	-2	-4	6	-1	-1	-4	-3	-2
176	N	-1	-1	5	0	-3	-1	-1	-1	0	-3	-3	-1	-2	-2	-2	1	0	6	-1	-3
177	C	-1	-2	-2	-2	8	-2	-2	-3	3	-2	-2	-2	-2	-2	1	-1	0	-3	-1	-2
178	F	-2	-2	-1	-2	-3	-2	-2	1	4	-2	-2	0	-1	4	0	-1	-2	0	3	-2
179	A	2	-2	-2	-3	-1	-2	-2	2	-3	0	1	-2	0	0	-2	-1	-1	-3	-1	1
180	G	0	-1	0	0	-2	-1	1	3	-2	-2	0	-1	-1	-2	1	1	1	-3	-2	-1
181	T	0	-2	-1	-1	-1	-1	-1	-2	-2	1	-1	-1	-1	-2	1	0	5	-3	-2	0
182	T	1	-1	0	-1	-1	2	0	-1	-2	-1	0	-1	0	-2	-1	1	3	-3	-2	-1
183	I	1	-3	-2	-3	-1	-2	-2	-2	-3	3	0	-2	0	-1	-2	0	0	-3	-1	3
184	I	-1	-3	-3	-3	-2	-3	-3	1	-3	5	0	-3	0	2	-3	-2	-1	-2	0	1
185	P	-1	-2	-2	-1	-3	0	1	-2	-2	-2	0	-1	-1	-3	6	-1	-1	-4	-3	-2
186	A	4	1	-2	-2	0	-1	-1	0	-2	-1	-1	0	-1	-2	-1	0	0	-3	-2	0
187	G	0	-2	0	-1	-3	-2	-2	6	-2	-2	-3	-2	-2	-3	-2	0	-2	-2	-3	0
188	I	-1	2	-1	0	-3	0	3	-3	-1	2	-1	0	-1	-2	1	-1	-1	-3	-2	0
189	E	-1	-1	-1	0	-3	0	4	-2	-1	0	-2	0	-1	-3	3	-1	-1	-3	-2	-1
190	V	0	0	-1	1	-2	-1	-1	-2	-2	0	0	-1	0	-2	-2	-1	2	-3	-2	3
191	K	-1	0	-1	-1	-3	0	1	-2	-1	-2	-2	4	-1	-2	-2	-1	-1	7	-1	0
192	V	0	-1	-1	-2	-2	1	0	-3	-2	0	0	1	0	-2	-2	-1	2	-3	-1	3
193	D	-2	-2	0	6	-3	0	1	-1	-1	-3	-4	-1	-3	-3	-1	0	1	-4	-3	-3
194	E	1	-1	-1	1	-2	0	4	-2	-1	-1	-2	0	-1	-2	-1	0	-1	-3	-2	1
195	C	0	-3	-3	-3	10	-3	-4	-3	-3	-1	-1	-3	-1	-2	-3	-1	-1	-2	-2	-1
196	N	-1	-1	3	-1	-2	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	2	-2	0	4	-2	0	-1
197	I	-1	-1	-2	-3	5	-2	-2	-3	-3	4	0	1	0	-1	-3	-1	-1	-3	-1	1
198	C	0	-3	-2	-3	9	-3	-3	-3	-3	-1	-1	-3	-1	-2	-3	-1	1	-2	-2	-1
199	H	-2	2	0	-2	-3	0	0	-2	7	-3	-2	0	-2	0	-2	-1	-2	-1	3	-3
200	C	0	-3	-3	-3	10	-3	-4	-3	-3	-1	-1	-3	-1	-2	-3	-1	-1	-2	-2	-1

201	H	-1	0	0	-1	-2	0	0	-2	7	-2	-2	-1	-2	-1	-2	0	3	-2	0	-2
202	N	-2	-1	4	3	-3	0	0	-1	0	-2	-2	-1	-2	0	-2	0	-1	-1	4	-2
203	G	0	-1	0	0	-3	0	3	5	-1	-4	-4	-1	-3	-3	-2	0	-2	-2	-3	-3
204	D	-1	0	0	4	-3	3	3	-2	0	-3	-3	0	-2	-3	-1	0	-1	-3	-2	-2
205	W	-1	-2	0	3	-3	-1	0	3	-2	-3	-3	-2	-2	-1	-2	-1	-2	8	0	-3
206	W	-2	-3	-2	-3	-2	-2	-3	3	-2	-3	-3	-3	-1	0	-3	-2	-2	11	0	-3
207	K	-1	3	0	-2	-3	0	0	-2	0	-2	-2	3	-1	0	-2	-1	-1	-1	4	-2
208	P	-1	-1	-1	-1	-2	3	0	-3	-1	-1	1	0	0	-2	4	-1	-1	-3	-2	-1
209	A	5	-1	-2	-2	0	-1	-1	0	-2	-1	-1	-1	-1	-2	-1	0	0	-3	-2	0
210	Q	-1	0	-1	-1	-2	3	0	-2	-1	-1	0	0	4	-1	-1	0	2	-2	-1	0
211	C	0	-3	-3	-3	10	-3	-4	-3	-3	-1	-1	-3	-1	-2	-3	-1	-1	-2	-2	-1
212	S	0	-1	0	0	-1	0	0	-1	-1	-2	-2	0	-1	-2	-1	4	3	-3	-2	-1
213	K	-1	5	0	-2	-3	0	0	-2	0	-3	-2	4	-1	-3	-2	-1	-1	-3	-2	-3
214	R	-1	3	0	-2	-2	0	-1	-3	6	-1	1	0	0	-1	-2	-1	-1	-2	0	-1
215	E	-1	0	0	1	-4	1	5	-2	0	-3	-3	3	-2	-3	-1	0	-1	-3	-2	-2
216	C	0	-2	3	-1	9	-2	-2	-2	-1	-1	-1	-2	-1	-2	-3	0	-1	-3	-2	-1
217	Q	-1	2	-1	-1	6	3	0	-2	-1	-2	-2	1	-1	-3	-2	0	-1	-2	-2	-2
218	G	-1	0	3	0	-3	3	0	3	0	-3	-3	0	-1	-3	-2	0	-1	-3	-2	-3
219	K	-1	0	0	-2	-2	0	0	-2	5	0	0	3	3	-1	-2	-1	-1	-2	0	0
220	Q	-1	0	0	0	-3	4	4	-2	0	-3	-2	0	-1	-3	-1	0	-1	-2	-1	-2
221	T	0	-1	0	-1	-2	-1	-1	4	-2	-2	-2	-1	-2	-2	-1	0	4	-2	-2	-1
222	V	0	-2	-2	-3	-1	-1	-2	-3	-2	2	1	-1	4	0	-2	-1	0	-2	-1	3

(ii)vWFCドメイン含有タンパク質ファミリーのメンバーであるか又は(i)のポリペプチドと共通の抗原決定基を有する、(i)のフラグメント；又は

(iii)(i)又は(ii)の機能的等価物。

【請求項７】

NCBIが指定するデフォルトパラメーター[Blosum 62 マトリックス；ギャップオープンペナルティー＝11及びギャップ伸長ペナルティー＝１]を用いて、下記プロファイルを検索プログラムBLASTにクエリー配列として入力した場合、10^{-2}以下のE-valueを有するポリペプチドからなる、請求項６記載のポリペプチド。

	A	R	N	D	C	Q	E	G	H	I	L	K	M	F	P	S	T	W	Y	V
1 M	-2	-2	-3	-4	-2	-1	-3	-4	-3	0	2	-2	8	0	-3	-2	-2	-2	-2	0
2 A	3	-1	-3	-3	-1	-1	-2	-2	-3	0	0	1	2	1	-2	-1	-1	-3	-1	1
3 L	1	-2	-2	-3	-2	-2	-2	-2	2	0	2	-2	0	-2	0	1	-1	-3	-2	2
4 H	-1	-1	1	-1	-3	-1	-1	3	6	-3	-1	-1	-2	-2	-2	2	-1	-3	-1	-3
5 I	0	-2	-3	-3	-2	0	0	-3	-3	3	2	-2	0	-1	-3	-2	-1	-3	-2	2
6 H	0	-2	-1	-2	-2	-1	-1	-3	7	0	0	-2	-1	-2	0	0	-1	-3	0	2
7 E	0	-2	-2	-1	-2	-1	2	-3	-1	0	1	-1	2	2	-3	0	-1	-2	2	0
8 A	2	-2	-1	-2	3	-2	-2	2	-2	-2	-2	-2	-2	-2	-3	-2	3	1	-3	-3	-2
9 C	0	-3	-2	-3	7	-2	-3	-3	-3	0	-1	-2	3	3	-3	0	-1	-2	-1	0
10 I	-1	-2	-2	-2	-2	-2	0	0	-2	3	2	-2	0	0	-3	0	0	-2	3	0
11 L	-2	0	-3	-4	-2	-2	-3	-4	-3	0	4	-2	3	3	-4	-2	-2	-2	0	0
12 L	0	0	-3	-4	-2	-2	-3	-3	-3	0	3	-2	0	-1	1	-2	-1	-3	-2	1
13 L	-1	-2	-2	-2	-2	-2	0	-3	-3	0	3	-2	0	1	-3	1	1	-3	-1	1
14 V	0	0	-3	-3	4	0	-2	-3	-3	0	0	-2	2	-2	-3	-2	-1	-3	-2	4
15 I	-1	0	-2	-3	4	-2	-2	-3	2	2	1	-2	0	-1	-3	0	0	4	-1	0
16 P	0	0	-2	-2	-2	-2	-2	-3	4	-1	0	-2	-1	2	3	0	-1	-2	0	0
17 G	0	-3	-2	-3	-2	-2	-3	2	-3	1	0	-3	3	3	-3	-1	-2	-2	0	1
18 L	1	-3	-3	-4	-1	-2	-3	-3	-3	0	4	-2	0	-1	-3	-2	-1	-3	-2	2
19 V	2	-1	-1	-2	-2	3	-1	-2	-2	0	-1	-1	-1	-3	-2	1	1	-3	-2	2

20	T	-1	-2	-2	-3	4	-2	-2	-3	-3	0	3	-2	0	-2	-3	1	3	-3	-2	0
21	S	0	-2	-1	-2	4	-2	-2	1	-3	-1	1	-2	2	-2	0	2	-1	-3	-3	-1
22	A	3	-2	-2	-2	-1	-2	-2	-1	-2	-1	0	-2	-1	1	2	2	-1	-3	-2	0
23	A	2	-2	-3	-2	5	0	0	-2	-3	-1	0	-2	-1	-3	2	-1	-1	-3	-2	1
24	I	1	1	-2	-2	-2	-1	-2	-2	-2	2	0	-1	-1	-1	-2	2	-1	-3	1	1
25	S	-1	-1	2	-1	-2	1	-1	-2	4	2	-1	-1	-1	-2	-2	3	-1	-4	-1	-1
26	H	0	-2	3	-1	-3	-1	-1	-2	5	-2	-2	-1	-2	0	3	0	-1	-3	-1	0
27	E	-1	-1	0	1	-3	0	5	-2	-1	-3	-3	0	-2	-3	-1	1	2	-3	-2	-2
28	D	1	-2	0	4	-2	-1	0	-1	-2	-2	0	-1	-1	-2	-1	2	0	-4	-3	-2
29	Y	-2	-1	-2	-2	-3	2	-1	-3	0	0	-1	-1	-1	0	3	-1	-2	0	5	0
30	P	0	-1	-1	-1	-2	-1	-1	0	5	-3	-3	-1	-2	-3	4	0	0	-3	-1	-2
31	A	3	-2	-2	-2	-1	-1	-2	-1	-3	0	2	-1	0	-2	0	0	0	-3	-2	0
32	D	-2	-1	0	5	-3	0	2	-2	-1	-2	-3	2	-2	-3	-1	0	-1	-4	-3	0
33	E	0	-1	-2	0	-2	0	3	-3	-1	0	0	-1	0	3	-2	-1	-1	-2	0	0
34	G	1	-2	0	-1	-2	-1	-2	4	-2	-2	-2	-2	0	-2	-2	1	1	-2	-3	0
35	D	0	2	0	2	-2	0	0	-2	-1	-2	0	0	-1	-3	2	-1	-1	-3	-2	-2
36	Q	0	3	0	-1	-2	3	0	-2	-1	-2	-2	0	-1	-3	-1	1	3	-3	-2	-2
37	I	0	-2	-3	-2	-1	-2	-2	-2	-3	1	0	-2	0	-2	4	-1	-1	-3	-2	2
38	S	-1	-1	0	1	-2	0	2	-2	-1	2	-1	1	-1	-2	-2	2	-1	-3	-2	0
39	S	3	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-2	-1	0	-1	-1	-2	2	3	0	-3	-2	-1
40	N	0	-2	2	-1	-3	-1	1	3	-1	0	0	-1	-1	-3	1	-1	-1	-3	-2	0
41	D	1	-2	-1	3	-2	0	2	-2	-2	-1	0	-1	-1	0	-2	0	-1	-3	-2	-1
42	N	-1	-1	2	1	-3	0	3	0	-1	-2	0	0	-1	-2	-2	1	-1	-3	-2	-2
43	L	1	-3	-3	-3	4	-2	-3	-3	-1	0	1	-3	0	3	-3	-2	-2	0	5	0
44	I	1	-1	-1	0	-2	0	2	-2	-2	1	-1	1	-1	-2	-2	2	-1	-4	-2	0
45	F	-2	-3	-2	1	-2	-2	-2	-3	-1	2	0	-3	0	4	-3	-2	-2	-1	4	1
46	D	1	-2	-1	2	-2	-1	0	0	-2	-3	-3	-1	-2	-3	4	1	-1	-4	-3	-2
47	D	0	-2	0	5	-3	-1	0	1	-2	-3	-4	-1	-3	-3	2	1	-1	-4	-3	-3
48	Y	-2	3	-1	-2	-3	2	-1	-3	0	-2	-2	0	-1	0	-3	-2	-2	0	6	-2
49	R	-2	4	0	-2	-4	2	0	-2	5	-4	-3	0	-2	-3	2	-1	-2	-3	-1	-3
50	G	-1	-2	0	2	-3	-1	1	4	-2	-2	-3	-1	-2	-3	-2	1	-1	-3	-3	0
51	K	-1	2	1	-1	-3	0	0	1	-1	-3	-3	4	-2	-3	-2	1	-1	-3	-3	-3
52	G	-1	-2	-1	2	4	-2	-1	3	-2	-2	-3	-2	-2	0	-2	0	2	-2	-2	-2
53	C	-1	-4	-4	-4	10	-4	-4	-4	-3	-1	-1	-4	-1	2	-4	-2	-2	-2	-1	-1
54	V	-1	-2	-1	0	-2	-1	1	-2	-2	0	0	-1	3	-2	-2	1	0	-3	-2	3
55	D	0	-2	0	6	-3	0	1	-1	-1	-3	-4	-1	-3	-3	-1	0	-1	-4	-3	-3
56	D	-2	-1	3	4	-4	0	2	2	-1	-4	-4	-1	-3	-4	-2	0	-1	-4	-3	-3
57	S	0	-1	2	2	-3	1	0	2	-1	-3	-3	-1	-2	-3	-2	3	0	-3	-3	-3
58	G	0	1	0	-1	-3	-1	-2	5	-2	-4	-4	-1	-3	-3	-2	1	-2	-3	-3	-3
59	F	-1	-4	-4	-4	-2	-3	-3	-4	-2	3	0	-3	0	5	-4	-2	-1	-1	0	3
60	V	-1	-3	-3	-2	-2	-1	1	-3	-1	0	0	-2	0	3	-3	-2	-1	-1	4	3
61	Y	-2	-2	-2	-3	-2	-2	-2	-3	0	-1	-1	-2	-1	4	-3	0	-2	0	7	-2
62	K	1	-1	-2	-2	-2	-1	-1	0	-3	0	-1	1	-1	-2	2	-1	-1	-4	-2	3
63	L	-1	-3	-2	-3	-2	-3	-3	4	-3	4	1	-3	0	-1	-3	-1	-2	-3	-2	0
64	G	-1	-1	0	0	-4	0	3	5	-1	-4	-4	-1	-3	-4	-2	0	-2	-3	-3	-3
65	E	-2	-1	-1	0	-3	3	3	-3	-1	-2	-1	0	3	-1	-2	-1	-2	7	-1	-2
66	R	-2	2	-2	-3	-2	0	-1	-3	0	1	-1	1	-1	3	-3	-2	-2	-1	4	0
67	F	-2	-3	-3	-3	-2	-3	-3	-3	-1	-1	-1	-3	-1	6	-4	-2	1	6	3	-1
68	F	0	1	-2	-3	-2	-1	-2	-2	-1	-1	1	-1	0	2	-3	0	0	-1	2	-1
69	P	-2	-2	-1	2	-4	0	2	-2	-2	-4	-4	-1	-3	-4	6	-1	-1	-4	-3	-3

70	G	0	-2	0	-1	-2	-1	-1	5	-2	-4	-4	-1	-2	-3	-2	3	-1	-3	-3	-3
71	H	-2	-2	0	5	-3	-1	0	-2	4	-3	-4	-1	-3	-3	3	0	-1	-4	-2	-3
72	S	-1	-1	0	-1	-2	-1	-1	-2	5	-3	-3	-1	-2	-3	4	3	1	-3	-1	-2
73	N	2	-2	2	-2	8	-2	-2	-2	-2	-2	-2	-2	-2	-3	-3	0	0	-3	-2	-1
74	C	-1	-2	-1	-1	8	-1	3	-3	-2	-2	-2	-1	-2	-3	-2	0	2	-3	-2	-1
75	P	-1	2	-2	-2	-3	3	0	-3	-2	-2	0	0	-1	-3	5	-1	-1	-3	-2	-2
76	C	0	-4	-4	-4	10	-4	-5	-4	-4	-1	-1	-4	-1	-2	-4	-1	-1	-2	-2	-1
77	V	-1	-2	-2	-1	-2	-1	2	-3	-2	0	2	-1	0	-1	-2	-1	0	-3	-2	3
78	C	0	-4	-4	-4	10	-4	-5	-4	-4	-1	-1	-4	-1	-2	-4	-1	-1	-2	-2	-1
79	A	2	-1	-1	-1	-1	1	-1	-2	-2	-2	-2	-1	-1	-3	-1	0	4	-3	-2	-1
80	L	1	-1	-1	0	-2	0	2	-2	-2	-1	0	-1	-1	-2	-2	1	1	-3	-2	-1
81	D	-2	-2	0	5	-4	0	4	-2	-1	-3	-4	-1	-3	-3	-2	0	1	-4	-3	-3
82	G	0	-3	0	-2	-4	-3	-3	7	-3	-5	-5	-3	-4	-4	-3	0	-3	-3	-4	-4
83	P	-1	-2	-2	-1	-3	-1	-1	-2	-2	-3	-3	-1	-2	-4	7	1	-1	-4	-3	-3
84	V	0	-2	-2	-3	-2	1	-1	-3	-3	1	1	-2	0	-2	-2	0	-1	-3	-2	4
85	C	0	-3	-3	-3	10	-3	-4	-3	-3	-2	-2	-3	-2	-3	-3	0	-1	-3	-3	-2
86	D	1	-2	-1	3	4	-1	-1	-2	-2	-1	-2	-2	0	0	-2	1	0	-3	-2	0
87	Q	-1	3	-1	-2	-3	4	0	-3	-1	-2	-2	2	-1	-3	-2	-1	-1	-3	-2	0
88	P	-1	-2	-1	-2	-2	-2	-2	-3	-3	-2	-2	-2	-2	-4	6	0	4	-4	-3	-1
89	E	-2	2	0	2	-4	0	5	-2	-1	-4	-3	1	-2	-4	-2	-1	-2	-4	-3	-3
90	C	0	-4	-4	-4	10	-4	-5	-4	-4	-2	-2	-4	-2	-3	-4	-2	-2	-3	-3	-2
91	P	-1	-2	-2	-2	-3	-2	-2	-3	-3	-1	-2	-2	-2	-3	6	-1	2	-4	-3	0
92	K	0	3	0	0	-3	0	3	-2	-1	-3	-3	3	-2	-3	-2	0	-1	-3	-2	-2
93	I	-1	-3	-3	-4	-1	-2	-3	-4	-3	3	3	-2	0	-1	-3	-2	1	-3	-2	1
94	H	-1	-1	0	-1	4	-1	-1	-2	7	-3	-3	-1	-2	-2	2	1	-1	-3	0	-3
95	P	0	-2	-2	-1	-3	-1	1	-2	-2	-3	-3	-1	-2	-4	7	-1	-1	-4	-3	-2
96	K	1	3	-1	-2	-2	0	0	-2	0	-2	-2	2	-1	-1	-2	1	-1	-2	2	-2
97	C	0	-3	-3	-3	10	-3	-4	-3	-3	-2	-2	-3	-2	-3	2	-1	-1	-3	-3	-2
98	T	-1	-3	-2	-3	-1	-2	-3	-4	-3	4	0	-3	1	-1	-3	-1	3	-3	-2	2
99	K	-2	1	0	-1	-4	0	2	-2	7	-3	-3	2	-2	-2	-2	-1	-2	-3	0	-3
100	V	-1	-3	-3	-3	-1	-3	-3	-4	-3	3	0	-3	0	-1	-3	-2	-1	-3	-1	5
101	E	1	-1	0	3	-2	0	2	-1	-1	-3	-3	1	-2	-3	-1	2	0	-4	-3	-2
102	H	-2	2	1	-1	-3	0	-1	-2	7	-3	-2	0	-2	-1	-2	-1	1	-2	3	-2
103	N	-1	0	3	-1	-2	0	0	-1	4	-2	-2	1	-2	0	-2	1	0	-1	4	-2
104	G	-1	-1	0	2	-3	4	2	2	-1	-4	-3	0	-2	-3	-2	0	-1	-3	-2	-3
105	C	0	-3	-3	-3	10	-3	-5	-3	-3	-1	-1	-3	-1	-2	-3	-1	-1	-2	-2	-1
106	C	0	-3	-3	-3	10	-3	-5	-3	-3	-1	-1	-3	-1	-2	-3	-1	-1	-2	-2	-1
107	P	-1	-3	-3	-2	-3	-2	-2	-3	-3	-1	-2	-2	-2	-4	7	-2	-1	-4	-3	0
108	E	-1	2	0	2	-3	4	2	-2	-1	-2	-1	0	-1	-3	-2	-1	-1	-3	-2	0
109	C	0	-3	-3	-3	10	-3	-5	-3	-3	-1	-1	-3	-1	-2	-3	-1	-1	-2	-2	-1
110	K	-1	0	0	0	-3	0	3	-2	-1	-1	-2	3	-1	-3	-2	1	-1	-3	-2	1
111	E	2	2	-1	0	-3	0	4	-2	-1	-3	-2	2	-2	-3	-2	0	-1	-3	-2	-2
112	V	-1	1	-1	-1	-3	-1	1	1	-2	1	-1	1	-1	-2	-2	-1	-1	-3	-2	2
113	K	0	0	0	-1	-3	0	0	4	-2	-4	-3	4	-2	-3	-2	1	-1	-3	-3	-3
114	N	-2	0	6	0	-3	0	0	0	0	-3	-3	2	-2	-3	-2	0	0	-4	-2	-3
115	F	-1	-3	-3	-3	-2	-2	-2	-3	0	0	0	-2	0	4	-3	-2	-1	0	6	1
116	C	0	-3	-3	-3	10	-3	-5	-3	-3	-1	-1	-3	-1	-2	-3	-1	-1	-2	-2	-1
117	E	-1	-1	0	3	-3	0	4	-2	-1	-2	0	0	-2	-3	-2	0	1	-3	-3	-2
118	Y	-2	-2	-2	-2	-3	-1	1	-3	0	-1	-1	-2	-1	5	-3	-2	-2	0	6	-2
119	H	-2	5	2	-2	-3	0	-1	-2	4	-2	-1	0	3	-2	-2	-1	-1	-3	-1	-2

120	G	-1	-2	2	-1	-3	-2	-2	6	-2	-4	-4	-2	-3	-3	-2	0	-2	-3	-3	-3
121	K	-1	4	-1	-2	-3	0	0	-3	-1	-1	-2	5	-1	-3	-2	-1	-1	-3	-2	0
122	N	-1	-2	2	-2	-2	-2	-2	-2	-2	2	0	-2	0	-2	-2	0	4	-3	-2	1
123	Y	-2	-3	-3	-3	-2	-2	-3	-3	0	-1	-1	-3	-1	4	-4	-2	-2	1	8	-1
124	K	0	1	0	-1	-3	2	2	-2	4	-3	-2	2	-1	-1	-2	-1	-2	-2	3	-2
125	I	-1	-2	2	-2	-2	-2	-2	-2	-2	2	1	-2	0	-1	-2	0	1	-3	-2	2
126	L	-1	-2	2	-2	-2	-2	-2	3	-2	0	3	-2	0	-1	-3	-1	-1	-3	-2	-1
127	E	-1	0	0	1	-4	3	6	-2	0	-3	-3	0	-2	-3	-1	0	-1	-3	-2	-2
128	E	-1	-1	2	0	-3	0	4	-2	0	-3	-3	0	-2	-1	-2	0	1	-2	3	-2
129	F	-2	-3	-3	-3	-2	-3	-3	-3	-1	0	0	-3	0	7	-5	-2	-2	0	2	-1
130	K	-1	1	2	-1	-3	2	0	-2	-1	-1	0	2	1	-2	-2	-1	-1	-3	-2	0
131	P	-1	-3	-3	-3	-2	-2	-2	-3	-3	1	2	-2	0	-2	3	-2	0	-3	-2	3
132	S	0	0	1	2	2	-1	0	-1	-1	-3	-3	-1	-2	-3	1	4	1	-4	-3	-2
133	P	-1	-2	-2	-1	-3	-1	1	-3	-2	-2	-3	-1	-2	-4	7	-1	-1	-4	-3	0
134	C	0	-3	-3	-3	10	-3	-4	-3	-3	-1	-1	-3	-1	-2	-3	-1	0	-2	-2	-1
135	E	-1	1	-1	0	-3	0	5	-3	-1	-1	1	0	-1	-2	-2	-1	-1	-3	-2	-1
136	W	-1	2	-1	-2	-3	2	0	-2	3	-2	0	1	-1	-2	-2	1	-1	4	-1	-2
137	C	0	0	-3	-3	10	-3	-4	-3	-3	0	-1	-3	-1	-2	-3	-1	0	-3	-2	-1
138	R	-1	4	-1	-2	-2	0	-1	-3	-1	2	-1	2	-1	-1	-2	-1	1	-2	1	0
139	C	0	-4	-4	-4	10	-4	-5	-4	-4	-1	-1	-4	-1	-2	-4	-1	-1	-2	-2	-1
140	E	-1	-1	0	2	-3	0	5	-3	-1	-2	0	0	-1	-3	-2	0	1	-3	-2	-2
141	P	1	-2	1	-2	-2	-1	-1	-2	-2	0	0	-1	-1	-2	2	1	1	-3	-2	0
142	S	-1	-1	4	2	-3	1	0	2	-1	-3	-3	-1	-2	-3	-2	2	-1	-4	-3	-3
143	N	-1	1	2	-1	-3	-1	-1	4	-1	-4	-4	1	-2	-3	-2	1	-1	-3	-3	-3
144	E	-1	0	-1	0	-3	0	4	-3	-1	1	-1	0	-1	-2	-2	-1	1	-3	-2	1
145	V	3	-2	-3	-3	-1	-2	-2	-2	-3	0	0	-2	0	-2	-2	-1	-1	-3	-2	3
146	H	-2	1	-2	-3	-2	-1	-2	-3	3	0	2	-1	0	2	-3	-2	-2	-1	4	-1
147	C	-1	0	-3	-3	10	-3	-3	-3	-3	-2	-2	-2	-2	-3	1	-1	-1	-3	-3	-2
148	V	0	-2	-1	-2	-1	-1	-2	-2	-3	0	1	-1	0	-2	-2	2	3	-3	-2	2
149	V	-1	-3	-3	-3	1	-2	-2	-3	-3	2	0	-2	0	-2	2	-2	-1	-4	-2	5
150	A	3	-2	-2	-2	2	-1	-1	-1	-2	0	-1	-1	-1	-2	-2	2	0	-3	-2	2
151	D	1	-2	0	5	-2	1	0	0	-2	-3	-3	-1	-2	-3	-2	1	-1	-4	-3	-2
152	C	-1	-3	-3	-3	10	-3	-4	0	-3	-2	-2	-3	-1	1	-4	-1	-2	-2	-1	-2
153	A	2	-2	-2	-2	-2	-1	0	-2	-2	-1	0	-1	-1	1	4	-1	-1	-3	-1	-1
154	V	2	-1	-2	-1	-2	4	1	-2	-2	-1	-2	0	-1	-3	3	-1	-1	-3	-2	0
155	P	-1	-2	-1	1	-2	-2	-1	-2	-2	1	0	-2	-1	-2	4	0	2	-4	-3	0
156	E	-2	1	-1	0	-4	0	3	-3	2	-3	-3	1	-2	2	3	-1	-2	-3	-1	-3
157	C	-1	-3	-3	-3	9	1	-3	-3	-3	-2	-1	-3	-1	-2	-3	-2	-2	5	-2	-2
158	V	-1	0	-2	-3	-2	0	-2	-3	-3	2	0	-2	0	1	-2	-2	1	-2	-1	4
159	N	-2	1	4	4	-3	0	0	-1	0	-3	-3	-1	-2	-1	-2	0	-1	3	3	-3
160	P	-1	-2	-2	-1	-3	-1	-1	-2	-2	-1	-3	1	-2	-4	7	0	-1	-4	-3	-2
161	V	-1	-3	-3	-3	-2	0	0	-4	-3	4	0	-2	0	2	-3	-2	-1	-2	0	3
162	Y	-2	1	-1	-3	-3	-1	-1	-3	4	-2	0	-1	-1	0	-3	0	-2	0	6	-2
163	E	-1	-1	-1	0	-3	3	4	-3	-1	-2	-1	0	-1	-3	3	0	0	-3	-2	-2
164	P	-1	-1	-2	-1	-3	0	1	-3	-1	-2	-1	0	-2	-2	5	-1	-1	-2	2	-2
165	E	-1	-2	1	2	-3	-1	1	3	-1	-3	-3	-1	-3	-1	-2	0	-1	-2	2	-3
166	Q	-2	0	-1	-1	-3	4	2	-3	3	-3	0	2	-1	-2	-2	-1	-2	5	0	-2
167	C	0	-3	-3	-4	9	-3	-4	-4	-3	0	0	-3	-1	-2	-3	-2	-1	-2	-2	0
168	C	0	-3	-3	-3	9	-3	-3	-3	-3	0	-1	-3	-1	-2	-3	0	-1	-3	-2	1
169	P	0	-2	-3	-2	-3	-1	-2	-2	-3	-2	0	-1	-1	-3	7	-1	-1	-4	-3	-1

170	V	-1	-2	-2	-2	-2	-1	1	-3	-2	3	0	1	0	-2	-2	-2	-1	-3	-2	4
171	C	-1	-2	-3	-3	9	-2	-3	-3	-3	-1	0	1	-1	-2	-3	-1	-1	-3	-2	-1
172	K	-1	1	0	-1	-3	0	0	-2	-1	-3	-2	6	-1	-3	-1	0	-1	-3	-2	-2
173	N	2	-1	3	2	-2	-1	0	2	-1	-3	-3	-1	-2	-3	-2	1	-1	-4	-3	-2
174	G	0	-1	0	-1	-3	-2	-2	5	-2	-4	-3	0	-3	-3	-2	0	-2	-2	-3	-3
175	P	-1	-2	1	-1	-3	-1	0	-2	-2	-3	-3	-1	-2	-4	6	-1	-1	-4	-3	-2
176	N	-1	-1	5	0	-3	-1	-1	-1	0	-3	-3	-1	-2	-2	-2	1	0	6	-1	-3
177	C	-1	-2	-2	-2	8	-2	-2	-3	3	-2	-2	-2	-2	-2	1	-1	0	-3	-1	-2
178	F	-2	-2	-1	-2	-3	-2	-2	1	4	-2	-2	0	-1	4	0	-1	-2	0	3	-2
179	A	2	-2	-2	-3	-1	-2	-2	2	-3	0	1	-2	0	0	-2	-1	-1	-3	-1	1
180	G	0	-1	0	0	-2	-1	1	3	-2	-2	0	-1	-1	-2	1	1	1	-3	-2	-1
181	T	0	-2	-1	-1	-1	-1	-1	-2	-2	1	-1	-1	-1	-2	1	0	5	-3	-2	0
182	T	1	-1	0	-1	-1	2	0	-1	-2	-1	0	-1	0	-2	-1	1	3	-3	-2	-1
183	I	1	-3	-2	-3	-1	-2	-2	-2	-3	3	0	-2	0	-1	-2	0	0	-3	-1	3
184	I	-1	-3	-3	-3	-2	-3	-3	1	-3	5	0	-3	0	2	-3	-2	-1	-2	0	1
185	P	-1	-2	-2	-1	-3	0	1	-2	-2	-2	0	-1	-1	-3	6	-1	-1	-4	-3	-2
186	A	4	1	-2	-2	0	-1	-1	0	-2	-1	-1	0	-1	-2	-1	0	0	-3	-2	0
187	G	0	-2	0	-1	-3	-2	-2	6	-2	-2	-3	-2	-2	-3	-2	0	-2	-2	-3	0
188	I	-1	2	-1	0	-3	0	3	-3	-1	2	-1	0	-1	-2	1	-1	-1	-3	-2	0
189	E	-1	-1	-1	0	-3	0	4	-2	-1	0	-2	0	-1	-3	3	-1	-1	-3	-2	-1
190	V	0	0	-1	1	-2	-1	-1	-2	-2	0	0	-1	0	-2	-2	-1	2	-3	-2	3
191	K	-1	0	-1	-1	-3	0	1	-2	-1	-2	-2	4	-1	-2	-2	-1	-1	7	-1	0
192	V	0	-1	-1	-2	-2	1	0	-3	-2	0	0	1	0	-2	-2	-1	2	-3	-1	3
193	D	-2	-2	0	6	-3	0	1	-1	-1	-3	-4	-1	-3	-3	-1	0	1	-4	-3	-3
194	E	1	-1	-1	1	-2	0	4	-2	-1	-1	-2	0	-1	-2	-1	0	-1	-3	-2	1
195	C	0	-3	-3	-3	10	-3	-4	-3	-3	-1	-1	-3	-1	-2	-3	-1	-1	-2	-2	-1
196	N	-1	-1	3	-1	-2	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	2	-2	0	4	-2	0	-1
197	I	-1	-1	-2	-3	5	-2	-2	-3	-3	4	0	1	0	-1	-3	-1	-1	-3	-1	1
198	C	0	-3	-2	-3	9	-3	-3	-3	-3	-1	-1	-3	-1	-2	-3	-1	1	-2	-2	-1
199	H	-2	2	0	-2	-3	0	0	-2	7	-3	-2	0	-2	0	-2	-1	-2	-1	3	-3
200	C	0	-3	-3	-3	10	-3	-4	-3	-3	-1	-1	-3	-1	-2	-3	-1	-1	-2	-2	-1
201	H	-1	0	0	-1	-2	0	0	-2	7	-2	-2	-1	-2	-1	-2	0	3	-2	0	-2
202	N	-2	-1	4	3	-3	0	0	-1	0	-2	-2	-1	-2	0	-2	0	-1	-1	4	-2
203	G	0	-1	0	0	-3	0	3	5	-1	-4	-4	-1	-3	-3	-2	0	-2	-2	-3	-3
204	D	-1	0	0	4	-3	3	3	-2	0	-3	-3	0	-2	-3	-1	0	-1	-3	-2	-2
205	W	-1	-2	0	3	-3	-1	0	3	-2	-3	-3	-2	-2	-1	-2	-1	-2	8	0	-3
206	W	-2	-3	-2	-3	-2	-2	-3	3	-2	-3	-3	-3	-1	0	-3	-2	-2	11	0	-3
207	K	-1	3	0	-2	-3	0	0	-2	0	-2	-2	3	-1	0	-2	-1	-1	-1	4	-2
208	P	-1	-1	-1	-1	-2	3	0	-3	-1	-1	1	0	0	-2	4	-1	-1	-3	-2	-1
209	A	5	-1	-2	-2	0	-1	-1	0	-2	-1	-1	-1	-1	-2	-1	0	0	-3	-2	0
210	Q	-1	0	-1	-1	-2	3	0	-2	-1	-1	0	0	4	-1	-1	0	2	-2	-1	0
211	C	0	-3	-3	-3	10	-3	-4	-3	-3	-1	-1	-3	-1	-2	-3	-1	-1	-2	-2	-1
212	S	0	-1	0	0	-1	0	0	-1	-1	-2	-2	0	-1	-2	-1	4	3	-3	-2	-1
213	K	-1	5	0	-2	-3	0	0	-2	0	-3	-2	4	-1	-3	-2	-1	-1	-3	-2	-3
214	R	-1	3	0	-2	-2	0	-1	-3	6	-1	1	0	0	-1	-2	-1	-1	-2	0	-1
215	E	-1	0	0	1	-4	1	5	-2	0	-3	-3	3	-2	-3	-1	0	-1	-3	-2	-2
216	C	0	-2	3	-1	9	-2	-2	-2	-1	-1	-1	-2	-1	-2	-3	0	-1	-3	-2	-1
217	Q	-1	2	-1	-1	6	3	0	-2	-1	-2	-2	1	-1	-3	-2	0	-1	-2	-2	-2
218	G	-1	0	3	0	-3	3	0	3	0	-3	-3	0	-1	-3	-2	0	-1	-3	-2	-3
219	K	-1	0	0	-2	-2	0	0	-2	5	0	0	3	3	-1	-2	-1	-1	-2	0	0

220 Q -1 0 0 0 -3 4 4 -2 0 -3 -2 0 -1 -3 -1 0 -1 -2 -1 -2
221 T 0 -1 0 -1 -2 -1 -1 4 -2 -2 -2 -1 -2 -2 -1 0 4 -2 -2 -1
222 V 0 -2 -2 -3 -1 -1 -2 -3 -2 2 1 -1 4 0 -2 -1 0 -2 -1 3

【請求項８】

ポリペプチドが、10^{-2}の最大閾値E-value、より好ましくは10^{-5}以下、10^{-10}以下、10^{-50}以下の最小閾値E-value、最も好ましくは10^{-70}以下の最小閾値E-valueを有する、請求項６又は７記載のポリペプチド。

【請求項９】

以下の(i)～(iii)のいずれかの単離ポリペプチド：

(i)以下のコンセンサスアミノ酸配列

[GTDFC](0,1)-[CF](0,1)-[VMSED](0,1)-[DEA](0,1)-[DENG](0,1)-[SQNDG](0,1)-[SGR](0,1)-[FIV](0,1)-[VYFE](0,1)-[YFS](0,1)-[KVAGP](0,1)-[LIG](0,1)-[GE](0,1)-[EWQM](0,1)-[RKYFQVI](0,1)-[FYWT](0,1)-[FALYRTS](0,1)-[PED](0,1)-[GS](0,1)-[HPDS](0,1)-[STHP](0,1)-[CNAT](0,1)-[CTE](0,1)-[PQRL](0,1)-C(0,1)-[VELT](0,1)-C(0,1)-[TAQ](0,1)-[ELATSD](0,1)-[EDT]-G-[PS]-[VLAQS]-[CS]-[DAMSTFCV]-[QRKV]-R(0,1)-[PT]-[ERDK]-C-[PTV]-[KERSA]-[LIVT]-[HPSC]-[PAE]-[KRASY]-[CP]-[TIVM]-[HKRE]-[VI]-[DESAKP]-[HTNRYG]-[NSTYHK](0,1)-[PA](0,1)-[TG](0,1)-[QGDES]-C-C-[PV]-[EQRDLV]-C

を満足するポリペプチドを含む、単離ポリペプチド；

(ii)vWFCドメイン含有タンパク質ファミリーのメンバーであるか又は(i)のポリペプチドと共通の抗原決定基を有する、(i)のフラグメント；又は

(iii)(i)又は(ii)の機能的等価物。

【請求項１０】

以下のコンセンサスアミノ酸配列

[GTDFC](0,1)-[CF](0,1)-[VMSED](0,1)-[DEA](0,1)-[DENG](0,1)-[SQNDG](0,1)-[SGR](0,1)-[FIV](0,1)-[VYFE](0,1)-[YFS](0,1)-[KVAGP](0,1)-[LIG](0,1)-[GE](0,1)-[EWQM](0,1)-[RKYFQVI](0,1)-[FYWT](0,1)-[FALYRTS](0,1)-[PED](0,1)-[GS](0,1)-[HPDS](0,1)-[STHP](0,1)-[CNAT](0,1)-[CTE](0,1)-[PQRL](0,1)-C(0,1)-[VELT](0,1)-C(0,1)-[TAQ](0,1)-[ELATSD](0,1)-[EDT]-G-[PS]-[VLAQS]-[CS]-[DAMSTFCV]-[QRKV]-R(0,1)-[PT]-[ERDK]-C-[PTV]-[KERSA]-[LIVT]-[HPSC]-[PAE]-[KRASY]-[CP]-[TIVM]-[HKRE]-[VI]-[DESAKP]-[HTNRYG]-[NSTYHK](0,1)-[PA](0,1)-[TG](0,1)-[QGDES]-C-C-[PV]-[EQRDLV]-C

を満足するポリペプチドから成る、請求項９記載の単離ポリペプチド。

【請求項１１】

以下の(i)～(iii)のいずれかのポリペプチド：

(i)配列番号２、配列番号４、配列番号39、配列番号41、配列番号43及び／又は配列番号45で示されるアミノ酸配列を含む、ポリペプチド；

(ii)vWFCドメイン含有タンパク質ファミリーのメンバーであるか又は(i)のポリペプチドと共通の抗原決定基を有する、(i)のフラグメント；又は

(iii)(i)又は(ii)の機能的等価物。

【請求項１２】

以下の(i)～(iii)のいずれかである、請求項１１記載のポリペプチド：

(i)配列番号２、配列番号４、配列番号39、配列番号41、配列番号43又は配列番号45で示されるアミノ酸配列から成る、ポリペプチド；

(ii)vWFCドメイン含有タンパク質ファミリーのメンバーであるか又は(i)のポリペプチドと共通の抗原決定基を有する、(i)のフラグメント；又は

(iii)(i)又は(ii)の機能的等価物。

【請求項１３】

以下の(i)～(iii)のいずれかのポリペプチド：

(i)配列番号６、配列番号８、配列番号10、配列番号12、配列番号14、配列番号16、配列番号47、配列番号49、配列番号51及び／又は配列番号53で示されるアミノ酸配列を含む、ポリペプチド；

(ii)vWFCドメイン含有タンパク質ファミリーのメンバーであるか又は(i)のポリペプチドと共通の抗原決定基を有する、(i)のフラグメント；又は
(iii)(i)又は(ii)の機能的等価物。
【請求項１４】
以下の(i)～(iii)のいずれかである、請求項１３記載のポリペプチド：
(i)配列番号６、配列番号８、配列番号10、配列番号12、配列番号14、配列番号16、配列番号47、配列番号49、配列番号51又は配列番号53で示されるアミノ酸配列から成る、ポリペプチド；
(ii)vWFCドメイン含有タンパク質ファミリーのメンバーであるか又は(i)のポリペプチドと共通の抗原決定基を有する、(i)のフラグメント；又は
(iii)(i)又は(ii)の機能的等価物。
【請求項１５】
以下の(i)～(iii)のいずれかのポリペプチド：
(i)配列番号18、配列番号20、配列番号22、配列番号24、配列番号26、配列番号28、配列番号30、配列番号55、配列番号57、配列番号59及び／又は配列番号61で示されるアミノ酸配列を含む、ポリペプチド；
(ii)vWFCドメイン含有タンパク質ファミリーのメンバーであるか又は(i)のポリペプチドと共通の抗原決定基を有する、(i)のフラグメント；又は
(iii)(i)又は(ii)の機能的等価物。
【請求項１６】
以下の(i)～(iii)のいずれかである、請求項１５記載のポリペプチド：
(i)配列番号18、配列番号20、配列番号22、配列番号24、配列番号26、配列番号28、配列番号30、配列番号55、配列番号57、配列番号59又は配列番号61で示されるアミノ酸配列から成る、ポリペプチド；
(ii)vWFCドメイン含有タンパク質ファミリーのメンバーであるか又は(i)のポリペプチドと共通の抗原決定基を有する、(i)のフラグメント；又は
(iii)(i)又は(ii)の機能的等価物。
【請求項１７】
請求項６～１６のいずれか１項の(iii)に記載の機能的等価物であるポリペプチドであって、
配列番号２、配列番号４、配列番号６、配列番号８、配列番号10、配列番号12、配列番号14、配列番号16、配列番号18、配列番号20、配列番号22、配列番号24、配列番号26、配列番号28、配列番号30、配列番号39、配列番号41、配列番号43、配列番号45、配列番号47、配列番号49、配列番号51、配列番号53、配列番号55、配列番号57、配列番号59又は配列番号61で示されるアミノ酸配列に相同的であり且つvWFCドメイン含有タンパク質ファミリーのメンバーであることを特徴とする、前記ポリペプチド。
【請求項１８】
請求項６～１７のいずれか１項に記載のフラグメント又は機能的等価物であるポリペプチドであって、
配列番号２、配列番号４、配列番号６、配列番号８、配列番号10、配列番号12、配列番号14、配列番号16、配列番号18、配列番号20、配列番号22、配列番号24、配列番号26、配列番号28、配列番号30、配列番号39、配列番号41、配列番号43、配列番号45、配列番号47若しくは配列番号49で示されるアミノ酸配列又はそれらの活性なフラグメントと、80％を超える配列同一性、好ましくは85％、90％、95％、98％若しくは99％を超える配列同一性を有する、前記ポリペプチド。
【請求項１９】
請求項６～１８のいずれか１項に記載の機能的等価物であるポリペプチドであって、
配列番号２、配列番号４、配列番号６、配列番号８、配列番号10、配列番号12、配列番号14、配列番号16、配列番号18、配列番号20、配列番号22、配列番号24、配列番号26、配列番号28、配列番号30、配列番号39、配列番号41、配列番号43、配列番号45、配列番号47

、配列番号49、配列番号51、配列番号53、配列番号55、配列番号57、配列番号59又は配列番号61で示されるアミノ酸配列を有するポリペプチドと有意な構造的相同性を示す、前記ポリペプチド。

【請求項２０】

請求項６～１６及び１８のいずれか１項に記載のフラグメントであるポリペプチドであって、

請求項６～１６のいずれか１項に記載の(i)のポリペプチドと共通の抗原決定基を有し、

配列番号２、配列番号４、配列番号６、配列番号８、配列番号10、配列番号12、配列番号14、配列番号16、配列番号18、配列番号20、配列番号22、配列番号24、配列番号26、配列番号28、配列番号30、配列番号39、配列番号41、配列番号43、配列番号45、配列番号47、配列番号49、配列番号51、配列番号53、配列番号55、配列番号57、配列番号59又は配列番号61で示されるアミノ酸配列に由来する７以上のアミノ酸残基から成る、前記ポリペプチド。

【請求項２１】

請求項１～２０のいずれか１項に記載のポリペプチドをコードしている、精製核酸分子。

【請求項２２】

配列番号１、配列番号３、配列番号５、配列番号７、配列番号９、配列番号11、配列番号13、配列番号15、配列番号17、配列番号19、配列番号21、配列番号23、配列番号25、配列番号27、配列番号29、配列番号38、配列番号40、配列番号42、配列番号44、配列番号46、配列番号48、配列番号50、配列番号52、配列番号54、配列番号56、配列番号58及び／又は配列番号60で示される核酸配列を含むか、又は前記核酸配列の余剰的等価物若しくはフラグメントである、請求項２１記載の精製核酸分子。

【請求項２３】

配列番号１、配列番号３、配列番号５、配列番号７、配列番号９、配列番号11、配列番号13、配列番号15、配列番号17、配列番号19、配列番号21、配列番号23、配列番号25、配列番号27、配列番号29、配列番号38、配列番号40、配列番号42、配列番号44、配列番号46、配列番号48、配列番号50、配列番号52、配列番号54、配列番号56、配列番号58及び／又は配列番号60で示される核酸配列から成るか、又は前記核酸配列の余剰的等価物若しくはフラグメントである、請求項２１記載の精製核酸分子。

【請求項２４】

高ストリンジェンシー条件下で、請求項２１～２３のいずれか１項に記載の核酸分子とハイブリダイズする、精製核酸分子。

【請求項２５】

請求項２１～２４のいずれか１項に記載の核酸分子を含む、ベクター。

【請求項２６】

請求項２５に記載のベクターで形質転換されている、宿主細胞。

【請求項２７】

vWFCドメイン含有タンパク質ファミリーである請求項６～２０のいずれか１項に記載のポリペプチドに特異的に結合する、リガンド。

【請求項２８】

抗体である、請求項２７記載のリガンド。

【請求項２９】

請求項６～２０のいずれか１項に記載のポリペプチドの発現レベル又は活性レベルを増加又は減少させる化合物。

【請求項３０】

請求項６～２０のいずれか１項に記載のポリペプチドに、前記ポリペプチドの生物学的作用のいずれをも誘導することなく結合する、請求項２９記載の化合物。

【請求項３１】

天然の又は改変されている、基質、リガンド、酵素、受容体、構造的模倣体又は機能的模倣体である、請求項３０記載の化合物。
【請求項３２】
疾患の治療又は診断に使用するための、請求項６～２０のいずれか１項に記載のポリペプチド、請求項２１～２４のいずれか１項に記載の核酸分子、請求項２５記載のベクター、請求項２７若しくは２８記載のリガンド、又は請求項２９～３１のいずれか１項に記載の化合物。
【請求項３３】
患者の疾患を診断する方法であって、
患者由来の組織において、請求項６～２０のいずれか１項に記載のポリペプチドをコードする天然遺伝子の発現レベルを評価すること、又は請求項６～２０のいずれか１項に記載のポリペプチドの活性を評価すること；及び
前記発現又は活性のレベルを対照レベルと比較すること；
を含み、このとき前記対照レベルと異なるレベルは疾患を示唆している、前記方法。
【請求項３４】
in vitroで実施される、請求項３３記載の方法。
【請求項３５】
（ａ）請求項２７又は２８記載のリガンドを、リガンド-ポリペプチド複合体の形成に適する条件下で、生物学的サンプルと接触させる工程；及び
（ｂ）前記複合体を検出する工程；
を含む請求項３３又は３４記載の方法。
【請求項３６】
（ａ）患者由来の組織サンプルと核酸プローブとを、請求項２１～２４のいずれか１項に記載の核酸分子と前記プローブとの間でハイブリッド複合体の形成を可能にするストリンジェントな条件下で接触させる工程；
（ｂ）対照サンプルを、工程（ａ）で用いるのと同じ条件下で前記プローブと接触させる工程；及び
（ｃ）前記サンプルのハイブリッド複合体の存在を検出する工程；
を含み、このとき対照サンプルのハイブリッド複合体のレベルと異なる患者サンプルのハイブリッド複合体のレベルの検出は疾患を示唆している、請求項３３又は３４記載の方法。
【請求項３７】
（ａ）患者の組織由来の核酸サンプルと核酸プライマーとを、請求項２１～２４のいずれか１項に記載の核酸分子と前記プライマーとの間でハイブリッド複合体の形成を可能にするストリンジェントな条件下で接触させる工程；
（ｂ）対照サンプルを、工程（ａ）で用いるのと同じ条件下で前記プライマーと接触させる工程；
（ｃ）前記サンプルの核酸を増幅させる工程；及び、
（ｄ）患者サンプル及び対照サンプルの両サンプルから、増幅核酸レベルを検出する工程；
を含み、このとき対照サンプルの増幅核酸レベルと有意に異なる患者サンプルの増幅核酸レベルの検出が疾患を示唆している、請求項３３又は３４記載の方法。
【請求項３８】
（ａ）疾患について検査される患者から、組織サンプルを入手する工程；
（ｂ）前記組織サンプルから、請求項２１～２４のいずれか１項に記載の核酸分子を単離する工程；及び、
（ｃ）疾患に附随する変異の存在を、前記疾患の指標として前記核酸分子中で検出することによって、前記疾患について患者を診断する工程；
を含む請求項３３又は３４記載の方法。
【請求項３９】

核酸分子を増幅して増幅産物を生成すること及び前記増幅産物中の変異の有無を検出することをさらに含む、請求項３８記載の方法。

【請求項４０】

核酸分子をその核酸分子にハイブリダイズする核酸プローブとストリンジェントな条件下で接触させて、前記核酸プローブ鎖の疾患に附随する変異に対応する任意の部分でハイブリダイズしていない部分を有するハイブリッド二本鎖分子を形成させること；及び

疾患に附随する変異の有無の指標として、前記プローブ鎖のハイブリダイズしていない部分の有無を検出すること；

によって、前記患者における変異の有無を検出する、請求項３８又は３９記載の方法。

【請求項４１】

疾患が、新生物、メラノーマ、肺腫瘍、結腸直腸腫瘍、乳房腫瘍、膵臓腫瘍、頭頚部腫瘍及び他の固形腫瘍を含む細胞増殖性疾患；白血病、非ホジキンリンパ腫、白血球減少症、血小板減少症、脈管形成障害、カポジ肉腫などの骨髄増殖性疾患；アレルギー、炎症性腸疾患、関節炎、乾癬及び呼吸器管炎症、喘息、及び臓器移植拒絶反応を含む自己免疫／炎症性疾患；高血圧症、浮腫、狭心症、アテローム性動脈硬化症、血栓症、敗血症、ショック、再灌流傷害、及び虚血症を含む心臓血管障害；中枢神経系疾患、アルツハイマー病、脳損傷、筋萎縮性側索硬化症、及び疼痛を含む神経障害；骨関節炎を含む軟骨及び骨格発生に関連する障害などの発達障害；糖尿病、骨粗しょう症、及び肥満症を含む代謝障害；AIDS及び腎疾患；ウイルス感染症、細菌感染症、真菌感染症及び寄生虫感染症を含む感染症並びに他の病的状態；

を含むが、これらに限定されない、請求項３３～４０のいずれか１項に記載の方法。

【請求項４２】

疾患が、リンパ球抗原が関係する疾患である、請求項３３～４０のいずれか１項に記載の方法。

【請求項４３】

vWFCドメイン含有タンパク質としての、請求項６～２０のいずれか１項に記載のポリペプチドの使用。

【請求項４４】

請求項６～２０のいずれか１項に記載のポリペプチド、請求項２１～２４のいずれか１項に記載の核酸分子、請求項２５記載のベクター、請求項２６記載の宿主細胞、請求項２７若しくは２８記載のリガンド、又は請求項２９～３１のいずれか１項に記載の化合物を含む、医薬組成物。

【請求項４５】

請求項６～２０のいずれか１項に記載のポリペプチド又は請求項２１～２４のいずれか１項に記載の核酸分子を含む、ワクチン組成物。

【請求項４６】

新生物、メラノーマ、肺腫瘍、結腸直腸腫瘍、乳房腫瘍、膵臓腫瘍、頭頚部腫瘍及び他の固形腫瘍を含む細胞増殖性疾患；白血病、非ホジキンリンパ腫、白血球減少症、血小板減少症、脈管形成障害、カポジ肉腫などの骨髄増殖性疾患；アレルギー、炎症性腸疾患、関節炎、乾癬及び呼吸器管炎症、喘息、及び臓器移植拒絶反応を含む自己免疫／炎症性疾患；高血圧症、浮腫、狭心症、アテローム性動脈硬化症、血栓症、敗血症、ショック、再灌流傷害、及び虚血症を含む心臓血管障害；中枢神経系疾患、アルツハイマー病、脳損傷、筋萎縮性側索硬化症、及び疼痛を含む神経障害；骨関節炎を含む軟骨及び骨格発生に関連する障害などの発達障害；糖尿病、骨粗しょう症、及び肥満症を含む代謝障害；AIDS及び腎疾患；ウイルス感染症、細菌感染症、真菌感染症及び寄生虫感染症を含む感染症並びに他の病的状態が挙げられるが、これらに限定されない疾患の治療用医薬品の製造に使用するための、請求項６～２０のいずれか１項に記載のポリペプチド、請求項２１～２４のいずれか１項に記載の核酸分子、請求項２５記載のベクター、請求項２６記載の宿主細胞、請求項２７若しくは２８記載のリガンド、請求項２９～３１のいずれか１項に記載の化合物、又は請求項４４記載の医薬組成物。

【請求項４７】
リンパ球抗原が関係する疾患の治療用医薬品の製造に使用するための、請求項６～２０のいずれか１項に記載のポリペプチド、請求項２１～２４のいずれか１項に記載の核酸分子、請求項２５記載のベクター、請求項２６記載の宿主細胞、請求項２７若しくは２８記載のリガンド、請求項２９～３１のいずれか１項に記載の化合物、又は請求項４４記載の医薬組成物。
【請求項４８】
請求項６～２０のいずれか１項に記載のポリペプチド、請求項２１～２４のいずれか１項に記載の核酸分子、請求項２５記載のベクター、請求項２６記載の宿主細胞、請求項２７若しくは２８記載のリガンド、請求項２９～３１のいずれか１項に記載の化合物、又は請求項４４記載の医薬組成物を患者に投与することを含む、患者の疾患を治療する方法。
【請求項４９】
罹病患者における天然遺伝子の発現又はポリペプチドの活性が健常な対象者における発現又は活性のレベルと比較した場合に低い疾患に対し、前記患者に投与されるポリペプチド、核酸分子、ベクター、リガンド、化合物又は組成物がアゴニストである、請求項４８記載の方法。
【請求項５０】
罹病患者における天然遺伝子の発現又はポリペプチドの活性が健常な対象者における発現又は活性のレベルと比較した場合に高い疾患に対し、前記患者に投与されるポリペプチド、核酸分子、ベクター、リガンド、化合物又は組成物がアンタゴニストである、請求項４８記載の方法。
【請求項５１】
患者において疾患の治療をモニターする方法であって、
請求項６～２０のいずれか１項に記載のポリペプチドの発現若しくは活性のレベル又は請求項２１～２４のいずれか１項に記載の核酸分子の発現レベルを、一定期間にわたって前記患者に由来する組織でモニターすることを含み、
前記期間にわたる発現又は活性のレベルが対照レベルに向かって変化することは、前記疾患の緩解の指標である、前記方法。
【請求項５２】
疾患の治療及び／又は診断に有効な化合物を同定する方法であって、
請求項６～２０のいずれか１項に記載のポリペプチド又は請求項２１～２４のいずれか１項に記載の核酸分子を、前記ポリペプチド又は前記核酸分子に対し結合親和性を有すると疑われる１又は２以上の化合物と接触させること；及び
前記ポリペプチド又は前記核酸分子と特異的に結合する化合物を選択すること；
を含む前記方法。
【請求項５３】
ストリンジェントな条件下で、請求項２１～２４のいずれか１項に記載の核酸分子とハイブリダイズする核酸プローブを含む、第１の容器；
前記核酸分子を増幅するのに有用なプライマーを含む、第２の容器；及び、
疾患の診断を容易にするための、前記プローブ及びプライマーの使用説明書；
を含む、疾患の診断に有用なキット。
【請求項５４】
ハイブリダイズしないRNAを消化するための薬剤を保有する第３の容器をさらに含む、請求項５３記載のキット。
【請求項５５】
核酸分子のアレイを含むキットであって、
前記核酸分子の少なくとも１つが請求項２１～２４のいずれか１項に記載の核酸分子である前記キット。
【請求項５６】
請求項６～２０のいずれか１項に記載のポリペプチドと結合する、１又は２以上の抗体

；及び
前記抗体と前記ポリペプチドとの間の結合反応を検出するのに有用な試薬；
を含むキット。
【請求項５７】
請求項６～２０のいずれか１項に記載のポリペプチドを、より高いレベル若しくはより低いレベルで発現するように又は発現しないように形質転換されている、トランスジェニック非ヒト動物又はノックアウト非ヒト動物。
【請求項５８】
請求項５７記載のトランスジェニック非ヒト動物を候補化合物と接触させること、及び前記動物の疾患に対する前記化合物の作用を決定することによる、疾患の治療に有効な化合物をスクリーニングする方法。
【請求項５９】
IVFで使用するため又は避妊薬として使用するための、請求項６～２０のいずれか１項に記載のポリペプチド、請求項２１～２４のいずれか１項に記載の核酸分子、請求項２５記載のベクター、請求項２６記載の宿主細胞、請求項２７若しくは２８記載のリガンド、請求項２９～３１のいずれか１項に記載の化合物又は請求項４４記載の医薬組成物。
【請求項６０】
避妊薬の製造で使用するための、請求項６～２０のいずれか１項に記載のポリペプチド、請求項２１～２４のいずれか１項に記載の核酸分子、請求項２５記載のベクター、請求項２６記載の宿主細胞、請求項２７若しくは２８記載のリガンド、請求項２９～３１のいずれか１項に記載の化合物又は請求項４４記載の医薬組成物。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本発明は、SECFAM3ファミリーと名付けられた新規なタンパク質のファミリーに関し、前記ファミリーのメンバーとしては、Ｃ型フォンビルブラント因子(vWFC)ドメインを含有し、長さが50～60アミノ酸で且つ10個の保存されたシステイン残基を含む分泌タンパク質として本発明で同定された新規なタンパク質INSP123、INSP124及びINSP125が挙げられる。また本発明は、疾患の診断、予防及び治療における前記タンパク質及びそのコード遺伝子由来の核酸配列の使用に関する。
本明細書で引用される全ての刊行物、特許文献及び特許出願文献は、参照により完全に本明細書に含まれるものとする。
【背景技術】
【０００２】
薬剤の発見過程において、機能ゲノム学の時代の到来にあわせて根幹的な革命が現在進行している。“機能ゲノム学”という用語は、対象のタンパク質配列に機能を帰属させるためにバイオインフォマティクスツールを利用するアプローチに用いられる。そのようなツールは、配列データの生成速度が前記タンパク質配列に機能を割り当てる研究室の能力をはるかに超えることから、ますます必要性を増している。
バイオインフォマティクスツールの潜在能力及び精度が高まっているために、前記ツールは通常の生化学的特徴付け技術と急速に置き換えられつつある。実際、本発明の同定に用いた高度なバイオインフォマティクスツールは、今や、高い信頼性をもった結果を出力する能力を有する。
配列データが利用可能になるにつれ、種々の研究機関及び企業組織がそれらを調査し、重要な発見が絶え間なく達成され続けている。しかしながら、研究及び薬剤発見のための標的として、更なる遺伝子及びそれらがコードするポリペプチドを同定し特徴付ける必要性は引き続き存在している。
【０００３】
（序論）
（分泌タンパク質）

細胞が細胞外タンパク質を作って分泌する能力は、多くの生物学的過程の中心である。酵素、増殖因子、細胞外基質タンパク質及びシグナル伝達分子は、全て細胞によって分泌されている。このような分泌は、分泌小胞と形質膜との融合を介している。全部ではないが、ほとんどの場合、タンパク質は、シグナルペプチドによって、小胞体に方向付けられて分泌小胞内へと移動させられる。シグナルペプチドは、細胞質から分泌小胞のような膜結合区画へのポリペプチド鎖輸送に影響を与える、シス作用性配列である。分泌小胞を標的とするポリペプチドは、細胞外基質へと分泌されるか、又は形質膜に保持される。形質膜に保持されているポリペプチドは、１又は２以上の膜貫通ドメインを有するであろう。細胞の機能において中心的な役割を果たしている分泌タンパク質の例は、サイトカイン、ホルモン、細胞外基質タンパク質（接着分子）、プロテアーゼ、増殖因子及び分化因子である。

【０００４】

（Ｃ型フォンビルブラントドメイン含有タンパク質）

Ｃ型フォンビルブラント因子(vWFC)ドメインは、長さが約56アミノ酸の領域内の保存されている空間パターンの10個のシステインによって特徴づけられる。このようなドメインは、コーディン(Chordin)、トロンボスポンディン(Thrombospondin)、IIA型プロコラーゲン及びベントロプチン(Ventroptin)を含む、大きな細胞外マルチドメインタンパク質に共通の特徴である。前記ドメインは、SOG（短原腸形成）のような発生の調節に関連するより小さなタンパク質でも見出される。vWFCドメインは、フォンビルブラント因子タンパク質において最初に特徴づけられた。このタンパク質は、創傷部位で血液凝固VIII因子との非共有結合複合体の形成を通じて血小板-血管上皮細胞の相互作用に関与することによって、血管損傷の部位での血液凝固に重要であることが示された。この場合、vWFCドメインはタンパク質オリゴマー形成事象に関与すると考えられていた。このドメインが他の複合体形成タンパク質でも見出されるという事実は、複合体形成の間のタンパク質-タンパク質相互作用における役割の可能性を示している。

発生過程におけるvWFCドメインの役割もクローズアップされている。Sandell LJらは文献(2002, J Musculoskel. Interact 2(6):521-523)で、コーディン及びIIA型コラーゲンの両タンパク質が、そのvWFCドメインを介して骨形成タンパク質(BMP)に拮抗的に結合すると述べている。この拮抗的結合は、骨格が発生する間の軟骨及び骨の発生に調節的役割を果たしうる。BMPが、骨関節炎のような過剰な軟骨及び骨の成長の病気に一役買っていることも示唆されている。従って、vWFCドメインを含有する治療用タンパク質はこのような病気の進行を制御するのに役立ち得る。

【０００５】

従って、これらドメインについての知識を増やすことは、上述するような病的状態及び関連する病的状態につながる根本的経路の理解を高めるうえで、またそのような疾患を治療するためのより効率的な遺伝子及び／又は薬物療法を開発するうえで、非常に重要である。

本明細書では、分泌タンパク質リガンドの全く新規なファミリーの同定について詳述する。分泌タンパク質リガンドの定義は、特定の細胞から分泌されて、同族(cognate)受容体及び下流のシグナル伝達経路の活性を変調することによって（Danファミリーで例示されるようなリガンド拮抗作用を含む）、同じ細胞又は別の細胞に表現型の応答を誘導するタンパク質である。既知の分泌タンパク質リガンドファミリーの例は、糖タンパクホルモンファミリーである。

卵胞刺激ホルモン(FSH)は、糖タンパクホルモンファミリーのメンバーである。男性では、FSHは、下垂体前葉の細胞によって分泌され、血流に入って、次に精巣のセルトリ細胞上の同族受容体に結合して、精子形成過程を調節する。女性では、FSHが卵巣の莢膜細胞上、ストローマ細胞上及び顆粒膜細胞上の受容体に結合して排卵を調節する。FSH欠損症は、男性と女性の両者の不妊症問題につながり得る。タンパク質治療薬の形態でFSHを投与することでFSHのレベルを回復する方法は、FSHが引き起こす不妊症と闘うのに使用できる。FSHは、GONAL-fTM(Serono)として入手可能である。

この例に対する類推によって、新規な分泌型リガンドタンパク質ファミリーの同定が、新規なリガンド-受容体経路の描写を可能にし、また決定的には、リガンド結合の表現型結末を解明することを可能にすると思われ得る。ヒト疾患が前記新規な分泌型リガンドタンパク質ファミリーのいずれかのメンバーの機能不全の結末であると同定される場合は、当該メンバーをタンパク質治療薬として投与して、前記疾患と闘うことができる。

【発明の開示】

【０００６】

本発明は、INSP123ポリペプチド、INSP124ポリペプチド及びINSP125ポリペプチドが分泌タンパク質、より具体的にはvWFCドメイン含有分泌タンパク質であるという発見に基づく。INSP123、INSP124及びINSP125は共に、本発明においてSECFAM3タンパク質ファミリーとして同定されたタンパク質ファミリーの一部を形成する。INSP123、INSP124及びINSP125は、結合相手に対する異なる親和性など、異なった機能を有するスプライスバリアントであると予測される。

【０００７】

（タンパク質のSECFAM3ファミリーのアノテーション）

本発明のタンパク質群は、公的に利用可能な関連するアノテーションを持たず、シグナルペプチドの形態で分泌タンパク質の強いサイン(signature)を含み、また、他の動物種由来のオーソログによって支持される類似のタンパク質と共にクラスタリングされ得る。さらなる検討により、２つのヒト遺伝子を含む今まで特徴付けられていないタンパク質ファミリーの構築が可能となり、そのファミリーは、脊椎動物オーソログ及び脊索動物オーソログを含めて、現在のところ、全部で22個の配列を含む。本明細書では、この関連配列のクラスターを“SECFAM3ファミリー”と呼ぶ。

これら22個の配列は全て、可変的構成(variable composition)の強いシグナルペプチド領域を示し、配列の残りの部分は高度の類似性を示している。

【０００８】

本発明の第１観点の一態様では、SECFAM3ファミリーのメンバーの同定方法が提供され、その方法は、翻訳された核酸配列又はポリペプチド配列のデータベースを検索して、以下の配列プロファイルにマッチングするポリペプチド配列を同定することを含む。

	A	R	N	D	C	Q	E	G	H	I	L	K	M	F	P	S	T	W	Y	V
1 M	-2	-2	-3	-4	-2	-1	-3	-4	-3	0	2	-2	8	0	-3	-2	-2	-2	-2	0
2 A	3	-1	-3	-3	-1	-1	-2	-2	-3	0	0	1	2	1	-2	-1	-1	-3	-1	1
3 L	1	-2	-2	-3	-2	-2	-2	-2	2	0	2	-2	0	-2	0	1	-1	-3	-2	2
4 H	-1	-1	1	-1	-3	-1	-1	3	6	-3	-1	-1	-2	-2	-2	2	-1	-3	-1	-3
5 I	0	-2	-3	-3	-2	0	0	-3	-3	3	2	-2	0	-1	-3	-2	-1	-3	-2	2
6 H	0	-2	-1	-2	-2	-1	-1	-3	7	0	0	-2	-1	-2	0	0	-1	-3	0	2
7 E	0	-2	-2	-1	-2	-1	2	-3	-1	0	1	-1	2	2	-3	0	-1	-2	2	0
8 A	2	-2	-1	-2	3	-2	-2	2	-2	-2	-2	-2	-2	-3	-2	3	1	-3	-3	-2
9 C	0	-3	-2	-3	7	-2	-3	-3	-3	0	-1	-2	3	3	-3	0	-1	-2	-1	0
10 I	-1	-2	-2	-2	-2	-2	0	0	-2	3	2	-2	0	0	-3	0	0	-2	3	0
11 L	-2	0	-3	-4	-2	-2	-3	-4	-3	0	4	-2	3	3	-4	-2	-2	-2	0	0
12 L	0	0	-3	-4	-2	-2	-3	-3	-3	0	3	-2	0	-1	1	-2	-1	-3	-2	1
13 L	-1	-2	-2	-2	-2	-2	0	-3	-3	0	3	-2	0	1	-3	1	1	-3	-1	1
14 V	0	0	-3	-3	4	0	-2	-3	-3	0	0	-2	2	-2	-3	-2	-1	-3	-2	4
15 I	-1	0	-2	-3	4	-2	-2	-3	2	2	1	-2	0	-1	-3	0	0	4	-1	0
16 P	0	0	-2	-2	-2	-2	-2	-3	4	-1	0	-2	-1	2	3	0	-1	-2	0	0
17 G	0	-3	-2	-3	-2	-2	-3	2	-3	1	0	-3	3	3	-3	-1	-2	-2	0	1
18 L	1	-3	-3	-4	-1	-2	-3	-3	-3	0	4	-2	0	-1	-3	-2	-1	-3	-2	2
19 V	2	-1	-1	-2	-2	3	-1	-2	-2	0	-1	-1	-1	-3	-2	1	1	-3	-2	2
20 T	-1	-2	-2	-3	4	-2	-2	-3	-3	0	3	-2	0	-2	-3	1	3	-3	-2	0
21 S	0	-2	-1	-2	4	-2	-2	1	-3	-1	1	-2	2	-2	0	2	-1	-3	-3	-1

22	A	3	-2	-2	-2	-1	-2	-2	-1	-2	-1	0	-2	-1	1	2	2	-1	-3	-2	0
23	A	2	-2	-3	-2	5	0	0	-2	-3	-1	0	-2	-1	-3	2	-1	-1	-3	-2	1
24	I	1	1	-2	-2	-2	-1	-2	-2	-2	2	0	-1	-1	-1	-2	2	-1	-3	1	1
25	S	-1	-1	2	-1	-2	1	-1	-2	4	2	-1	-1	-1	-2	-2	3	-1	-4	-1	-1
26	H	0	-2	3	-1	-3	-1	-1	-2	5	-2	-2	-1	-2	0	3	0	-1	-3	-1	0
27	E	-1	-1	0	1	-3	0	5	-2	-1	-3	-3	0	-2	-3	-1	1	2	-3	-2	-2
28	D	1	-2	0	4	-2	-1	0	-1	-2	-2	0	-1	-1	-2	-1	2	0	-4	-3	-2
29	Y	-2	-1	-2	-2	-3	2	-1	-3	0	0	-1	-1	-1	0	3	-1	-2	0	5	0
30	P	0	-1	-1	-1	-2	-1	-1	0	5	-3	-3	-1	-2	-3	4	0	0	-3	-1	-2
31	A	3	-2	-2	-2	-1	-1	-2	-1	-3	0	2	-1	0	-2	0	0	0	-3	-2	0
32	D	-2	-1	0	5	-3	0	2	-2	-1	-2	-3	2	-2	-3	-1	0	-1	-4	-3	0
33	E	0	-1	-2	0	-2	0	3	-3	-1	0	0	-1	0	3	-2	-1	-1	-2	0	0
34	G	1	-2	0	-1	-2	-1	-2	4	-2	-2	-2	-2	0	-2	-2	1	1	-2	-3	0
35	D	0	2	0	2	-2	0	0	-2	-1	-2	0	0	-1	-3	2	-1	-1	-3	-2	-2
36	Q	0	3	0	-1	-2	3	0	-2	-1	-2	-2	0	-1	-3	-1	1	3	-3	-2	-2
37	I	0	-2	-3	-2	-1	-2	-2	-2	-3	1	0	-2	0	-2	4	-1	-1	-3	-2	2
38	S	-1	-1	0	1	-2	0	2	-2	-1	2	-1	1	-1	-2	-2	2	-1	-3	-2	0
39	S	3	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-2	-1	0	-1	-1	-2	2	3	0	-3	-2	-1
40	N	0	-2	2	-1	-3	-1	1	3	-1	0	0	-1	-1	-3	1	-1	-1	-3	-2	0
41	D	1	-2	-1	3	-2	0	2	-2	-2	-1	0	-1	-1	0	-2	0	-1	-3	-2	-1
42	N	-1	-1	2	1	-3	0	3	0	-1	-2	0	0	-1	-2	-2	1	-1	-3	-2	-2
43	L	1	-3	-3	-3	4	-2	-3	-3	-1	0	1	-3	0	3	-3	-2	-2	0	5	0
44	I	1	-1	-1	0	-2	0	2	-2	-2	1	-1	1	-1	-2	-2	2	-1	-4	-2	0
45	F	-2	-3	-2	1	-2	-2	-2	-3	-1	2	0	-3	0	4	-3	-2	-2	-1	4	1
46	D	1	-2	-1	2	-2	-1	0	0	-2	-3	-3	-1	-2	-3	4	1	-1	-4	-3	-2
47	D	0	-2	0	5	-3	-1	0	1	-2	-3	-4	-1	-3	-3	2	1	-1	-4	-3	-3
48	Y	-2	3	-1	-2	-3	2	-1	-3	0	-2	-2	0	-1	0	-3	-2	-2	0	6	-2
49	R	-2	4	0	-2	-4	2	0	-2	5	-4	-3	0	-2	-3	2	-1	-2	-3	-1	-3
50	G	-1	-2	0	2	-3	-1	1	4	-2	-2	-3	-1	-2	-3	-2	1	-1	-3	-3	0
51	K	-1	2	1	-1	-3	0	0	1	-1	-3	-3	4	-2	-3	-2	1	-1	-3	-3	-3
52	G	-1	-2	-1	2	4	-2	-1	3	-2	-2	-3	-2	-2	0	-2	0	2	-2	-2	-2
53	C	-1	-4	-4	-4	10	-4	-4	-4	-3	-1	-1	-4	-1	2	-4	-2	-2	-2	-1	-1
54	V	-1	-2	-1	0	-2	-1	1	-2	-2	0	0	-1	3	-2	-2	1	0	-3	-2	3
55	D	0	-2	0	6	-3	0	1	-1	-1	-3	-4	-1	-3	-3	-1	0	-1	-4	-3	-3
56	D	-2	-1	3	4	-4	0	2	2	-1	-4	-4	-1	-3	-4	-2	0	-1	-4	-3	-3
57	S	0	-1	2	2	-3	1	0	2	-1	-3	-3	-1	-2	-3	-2	3	0	-3	-3	-3
58	G	0	1	0	-1	-3	-1	-2	5	-2	-4	-4	-1	-3	-3	-2	1	-2	-3	-3	-3
59	F	-1	-4	-4	-4	-2	-3	-3	-4	-2	3	0	-3	0	5	-4	-2	-1	-1	0	3
60	V	-1	-3	-3	-2	-2	-1	1	-3	-1	0	0	-2	0	3	-3	-2	-1	-1	4	3
61	Y	-2	-2	-2	-3	-2	-2	-2	-3	0	-1	-1	-2	-1	4	-3	0	-2	0	7	-2
62	K	1	-1	-2	-2	-2	-1	-1	0	-3	0	-1	1	-1	-2	2	-1	-1	-4	-2	3
63	L	-1	-3	-2	-3	-2	-3	-3	4	-3	4	1	-3	0	-1	-3	-1	-2	-3	-2	0
64	G	-1	-1	0	0	-4	0	3	5	-1	-4	-4	-1	-3	-4	-2	0	-2	-3	-3	-3
65	E	-2	-1	-1	0	-3	3	3	-3	-1	-2	-1	0	3	-1	-2	-1	-2	7	-1	-2
66	R	-2	2	-2	-3	-2	0	-1	-3	0	1	-1	1	-1	3	-3	-2	-2	-1	4	0
67	F	-2	-3	-3	-3	-2	-3	-3	-3	-1	-1	-1	-3	-1	6	-4	-2	1	6	3	-1
68	F	0	1	-2	-3	-2	-1	-2	-2	-1	-1	1	-1	0	2	-3	0	0	-1	2	-1
69	P	-2	-2	-1	2	-4	0	2	-2	-2	-4	-4	-1	-3	-4	6	-1	-1	-4	-3	-3
70	G	0	-2	0	-1	-2	-1	-1	5	-2	-4	-4	-1	-2	-3	-2	3	-1	-3	-3	-3
71	H	-2	-2	0	5	-3	-1	0	-2	4	-3	-4	-1	-3	-3	3	0	-1	-4	-2	-3

72	S	-1	-1	0	-1	-2	-1	-1	-2	5	-3	-3	-1	-2	-3	4	3	1	-3	-1	-2
73	N	2	-2	2	-2	8	-2	-2	-2	-2	-2	-2	-2	-2	-3	-3	0	0	-3	-2	-1
74	C	-1	-2	-1	-1	8	-1	3	-3	-2	-2	-2	-1	-2	-3	-2	0	2	-3	-2	-1
75	P	-1	2	-2	-2	-3	3	0	-3	-2	-2	0	0	-1	-3	5	-1	-1	-3	-2	-2
76	C	0	-4	-4	-4	10	-4	-5	-4	-4	-1	-1	-4	-1	-2	-4	-1	-1	-2	-2	-1
77	V	-1	-2	-2	-1	-2	-1	2	-3	-2	0	2	-1	0	-1	-2	-1	0	-3	-2	3
78	C	0	-4	-4	-4	10	-4	-5	-4	-4	-1	-1	-4	-1	-2	-4	-1	-1	-2	-2	-1
79	A	2	-1	-1	-1	-1	1	-1	-2	-2	-2	-2	-1	-1	-3	-1	0	4	-3	-2	-1
80	L	1	-1	-1	0	-2	0	2	-2	-2	-1	0	-1	-1	-2	-2	1	1	-3	-2	-1
81	D	-2	-2	0	5	-4	0	4	-2	-1	-3	-4	-1	-3	-3	-2	0	1	-4	-3	-3
82	G	0	-3	0	-2	-4	-3	-3	7	-3	-5	-5	-3	-4	-4	-3	0	-3	-3	-4	-4
83	P	-1	-2	-2	-1	-3	-1	-1	-2	-2	-3	-3	-1	-2	-4	7	1	-1	-4	-3	-3
84	V	0	-2	-2	-3	-2	1	-1	-3	-3	1	1	-2	0	-2	-2	0	-1	-3	-2	4
85	C	0	-3	-3	-3	10	-3	-4	-3	-3	-2	-2	-3	-2	-3	-3	0	-1	-3	-3	-2
86	D	1	-2	-1	3	4	-1	-1	-2	-2	-1	-2	-2	0	0	-2	1	0	-3	-2	0
87	Q	-1	3	-1	-2	-3	4	0	-3	-1	-2	-2	2	-1	-3	-2	-1	-1	-3	-2	0
88	P	-1	-2	-1	-2	-2	-2	-2	-3	-3	-2	-2	-2	-2	-4	6	0	4	-4	-3	-1
89	E	-2	2	0	2	-4	0	5	-2	-1	-4	-3	1	-2	-4	-2	-1	-2	-4	-3	-3
90	C	0	-4	-4	-4	10	-4	-5	-4	-4	-2	-2	-4	-2	-3	-4	-2	-2	-3	-3	-2
91	P	-1	-2	-2	-2	-3	-2	-2	-3	-3	-1	-2	-2	-2	-3	6	-1	2	-4	-3	0
92	K	0	3	0	0	-3	0	3	-2	-1	-3	-3	3	-2	-3	-2	0	-1	-3	-2	-2
93	I	-1	-3	-3	-4	-1	-2	-3	-4	-3	3	3	-2	0	-1	-3	-2	1	-3	-2	1
94	H	-1	-1	0	-1	4	-1	-1	-2	7	-3	-3	-1	-2	-2	2	1	-1	-3	0	-3
95	P	0	-2	-2	-1	-3	-1	1	-2	-2	-3	-3	-1	-2	-4	7	-1	-1	-4	-3	-2
96	K	1	3	-1	-2	-2	0	0	-2	0	-2	-2	2	-1	-1	-2	1	-1	-2	2	-2
97	C	0	-3	-3	-3	10	-3	-4	-3	-3	-2	-2	-3	-2	-3	2	-1	-1	-3	-3	-2
98	T	-1	-3	-2	-3	-1	-2	-3	-4	-3	4	0	-3	1	-1	-3	-1	3	-3	-2	2
99	K	-2	1	0	-1	-4	0	2	-2	7	-3	-3	2	-2	-2	-2	-1	-2	-3	0	-3
100	V	-1	-3	-3	-3	-1	-3	-3	-4	-3	3	0	-3	0	-1	-3	-2	-1	-3	-1	5
101	E	1	-1	0	3	-2	0	2	-1	-1	-3	-3	1	-2	-3	-1	2	0	-4	-3	-2
102	H	-2	2	1	-1	-3	0	-1	-2	7	-3	-2	0	-2	-1	-2	-1	1	-2	3	-2
103	N	-1	0	3	-1	-2	0	0	-1	4	-2	-2	1	-2	0	-2	1	0	-1	4	-2
104	G	-1	-1	0	2	-3	4	2	2	-1	-4	-3	0	-2	-3	-2	0	-1	-3	-2	-3
105	C	0	-3	-3	-3	10	-3	-5	-3	-3	-1	-1	-3	-1	-2	-3	-1	-1	-2	-2	-1
106	C	0	-3	-3	-3	10	-3	-5	-3	-3	-1	-1	-3	-1	-2	-3	-1	-1	-2	-2	-1
107	P	-1	-3	-3	-2	-3	-2	-2	-3	-3	-1	-2	-2	-2	-4	7	-2	-1	-4	-3	0
108	E	-1	2	0	2	-3	4	2	-2	-1	-2	-1	0	-1	-3	-2	-1	-1	-3	-2	0
109	C	0	-3	-3	-3	10	-3	-5	-3	-3	-1	-1	-3	-1	-2	-3	-1	-1	-2	-2	-1
110	K	-1	0	0	0	-3	0	3	-2	-1	-1	-2	3	-1	-3	-2	1	-1	-3	-2	1
111	E	2	2	-1	0	-3	0	4	-2	-1	-3	-2	2	-2	-3	-2	0	-1	-3	-2	-2
112	V	-1	1	-1	-1	-3	-1	1	1	-2	1	-1	1	-1	-2	-2	-1	-1	-3	-2	2
113	K	0	0	0	-1	-3	0	0	4	-2	-4	-3	4	-2	-3	-2	1	-1	-3	-3	-3
114	N	-2	0	6	0	-3	0	0	0	0	-3	-3	2	-2	-3	-2	0	0	-4	-2	-3
115	F	-1	-3	-3	-3	-2	-2	-2	-3	0	0	0	-2	0	4	-3	-2	-1	0	6	1
116	C	0	-3	-3	-3	10	-3	-5	-3	-3	-1	-1	-3	-1	-2	-3	-1	-1	-2	-2	-1
117	E	-1	-1	0	3	-3	0	4	-2	-1	-2	0	0	-2	-3	-2	0	1	-3	-3	-2
118	Y	-2	-2	-2	-2	-3	-1	1	-3	0	-1	-1	-2	-1	5	-3	-2	-2	0	6	-2
119	H	-2	5	2	-2	-3	0	-1	-2	4	-2	-1	0	3	-2	-2	-1	-1	-3	-1	-2
120	G	-1	-2	2	-1	-3	-2	-2	6	-2	-4	-4	-2	-3	-3	-2	0	-2	-3	-3	-3
121	K	-1	4	-1	-2	-3	0	0	-3	-1	-1	-2	5	-1	-3	-2	-1	-1	-3	-2	0

122	N	-1	-2	2	-2	-2	-2	-2	-2	-2	2	0	-2	0	-2	-2	0	4	-3	-2	1
123	Y	-2	-3	-3	-3	-2	-2	-3	-3	0	-1	-1	-3	-1	4	-4	-2	-2	1	8	-1
124	K	0	1	0	-1	-3	2	2	-2	4	-3	-2	2	-1	-1	-2	-1	-2	-2	3	-2
125	I	-1	-2	2	-2	-2	-2	-2	-2	-2	2	1	-2	0	-1	-2	0	1	-3	-2	2
126	L	-1	-2	2	-2	-2	-2	-2	3	-2	0	3	-2	0	-1	-3	-1	-1	-3	-2	-1
127	E	-1	0	0	1	-4	3	6	-2	0	-3	-3	0	-2	-3	-1	0	-1	-3	-2	-2
128	E	-1	-1	2	0	-3	0	4	-2	0	-3	-3	0	-2	-1	-2	0	1	-2	3	-2
129	F	-2	-3	-3	-3	-2	-3	-3	-3	-1	0	0	-3	0	7	-5	-2	-2	0	2	-1
130	K	-1	1	2	-1	-3	2	0	-2	-1	-1	0	2	1	-2	-2	-1	-1	-3	-2	0
131	P	-1	-3	-3	-3	-2	-2	-2	-3	-3	1	2	-2	0	-2	3	-2	0	-3	-2	3
132	S	0	0	1	2	2	-1	0	-1	-1	-3	-3	-1	-2	-3	1	4	1	-4	-3	-2
133	P	-1	-2	-2	-1	-3	-1	1	-3	-2	-2	-3	-1	-2	-4	7	-1	-1	-4	-3	0
134	C	0	-3	-3	-3	10	-3	-4	-3	-3	-1	-1	-3	-1	-2	-3	-1	0	-2	-2	-1
135	E	-1	1	-1	0	-3	0	5	-3	-1	-1	1	0	-1	-2	-2	-1	-1	-3	-2	-1
136	W	-1	2	-1	-2	-3	2	0	-2	3	-2	0	1	-1	-2	-2	1	-1	4	-1	-2
137	C	0	0	-3	-3	10	-3	-4	-3	-3	0	-1	-3	-1	-2	-3	-1	0	-3	-2	-1
138	R	-1	4	-1	-2	-2	0	-1	-3	-1	2	-1	2	-1	-1	-2	-1	1	-2	1	0
139	C	0	-4	-4	-4	10	-4	-5	-4	-4	-1	-1	-4	-1	-2	-4	-1	-1	-2	-2	-1
140	E	-1	-1	0	2	-3	0	5	-3	-1	-2	0	0	-1	-3	-2	0	1	-3	-2	-2
141	P	1	-2	1	-2	-2	-1	-1	-2	-2	0	0	-1	-1	-2	2	1	1	-3	-2	0
142	S	-1	-1	4	2	-3	1	0	2	-1	-3	-3	-1	-2	-3	-2	2	-1	-4	-3	-3
143	N	-1	1	2	-1	-3	-1	-1	4	-1	-4	-4	1	-2	-3	-2	1	-1	-3	-3	-3
144	E	-1	0	-1	0	-3	0	4	-3	-1	1	-1	0	-1	-2	-2	-1	1	-3	-2	1
145	V	3	-2	-3	-3	-1	-2	-2	-2	-3	0	0	-2	0	-2	-2	-1	-1	-3	-2	3
146	H	-2	1	-2	-3	-2	-1	-2	-3	3	0	2	-1	0	2	-3	-2	-2	-1	4	-1
147	C	-1	0	-3	-3	10	-3	-3	-3	-3	-2	-2	-2	-2	-3	1	-1	-1	-3	-3	-2
148	V	0	-2	-1	-2	-1	-1	-2	-2	-3	0	1	-1	0	-2	-2	2	3	-3	-2	2
149	V	-1	-3	-3	-3	1	-2	-2	-3	-3	2	0	-2	0	-2	2	-2	-1	-4	-2	5
150	A	3	-2	-2	-2	2	-1	-1	-1	-2	0	-1	-1	-1	-2	-2	2	0	-3	-2	2
151	D	1	-2	0	5	-2	1	0	0	-2	-3	-3	-1	-2	-3	-2	1	-1	-4	-3	-2
152	C	-1	-3	-3	-3	10	-3	-4	0	-3	-2	-2	-3	-1	1	-4	-1	-2	-2	-1	-2
153	A	2	-2	-2	-2	-2	-1	0	-2	-2	-1	0	-1	-1	1	4	-1	-1	-3	-1	-1
154	V	2	-1	-2	-1	-2	4	1	-2	-2	-1	-2	0	-1	-3	3	-1	-1	-3	-2	0
155	P	-1	-2	-1	1	-2	-2	-1	-2	-2	1	0	-2	-1	-2	4	0	2	-4	-3	0
156	E	-2	1	-1	0	-4	0	3	-3	2	-3	-3	1	-2	2	3	-1	-2	-3	-1	-3
157	C	-1	-3	-3	-3	9	1	-3	-3	-3	-2	-1	-3	-1	-2	-3	-2	-2	5	-2	-2
158	V	-1	0	-2	-3	-2	0	-2	-3	-3	2	0	-2	0	1	-2	-2	1	-2	-1	4
159	N	-2	1	4	4	-3	0	0	-1	0	-3	-3	-1	-2	-1	-2	0	-1	3	3	-3
160	P	-1	-2	-2	-1	-3	-1	-1	-2	-2	-1	-3	1	-2	-4	7	0	-1	-4	-3	-2
161	V	-1	-3	-3	-3	-2	0	0	-4	-3	4	0	-2	0	2	-3	-2	-1	-2	0	3
162	Y	-2	1	-1	-3	-3	-1	-1	-3	4	-2	0	-1	-1	0	-3	0	-2	0	6	-2
163	E	-1	-1	-1	0	-3	3	4	-3	-1	-2	-1	0	-1	-3	3	0	0	-3	-2	-2
164	P	-1	-1	-2	-1	-3	0	1	-3	-1	-2	-1	0	-2	-2	5	-1	-1	-2	2	-2
165	E	-1	-2	1	2	-3	-1	1	3	-1	-3	-3	-1	-3	-1	-2	0	-1	-2	2	-3
166	Q	-2	0	-1	-1	-3	4	2	-3	3	-3	0	2	-1	-2	-2	-1	-2	5	0	-2
167	C	0	-3	-3	-4	9	-3	-4	-4	-3	0	0	-3	-1	-2	-3	-2	-1	-2	-2	0
168	C	0	-3	-3	-3	9	-3	-3	-3	-3	0	-1	-3	-1	-2	-3	0	-1	-3	-2	1
169	P	0	-2	-3	-2	-3	-1	-2	-2	-3	-2	0	-1	-1	-3	7	-1	-1	-4	-3	-1
170	V	-1	-2	-2	-2	-2	-1	1	-3	-2	3	0	1	0	-2	-2	-2	-1	-3	-2	4
171	C	-1	-2	-3	-3	9	-2	-3	-3	-3	-1	0	1	-1	-2	-3	-1	-1	-3	-2	-1

172	K	-1	1	0	-1	-3	0	0	-2	-1	-3	-2	6	-1	-3	-1	0	-1	-3	-2	-2
173	N	2	-1	3	2	-2	-1	0	2	-1	-3	-3	-1	-2	-3	-2	1	-1	-4	-3	-2
174	G	0	-1	0	-1	-3	-2	-2	5	-2	-4	-3	0	-3	-3	-2	0	-2	-2	-3	-3
175	P	-1	-2	1	-1	-3	-1	0	-2	-2	-3	-3	-1	-2	-4	6	-1	-1	-4	-3	-2
176	N	-1	-1	5	0	-3	-1	-1	-1	0	-3	-3	-1	-2	-2	-2	1	0	6	-1	-3
177	C	-1	-2	-2	-2	8	-2	-2	-3	3	-2	-2	-2	-2	-2	1	-1	0	-3	-1	-2
178	F	-2	-2	-1	-2	-3	-2	-2	1	4	-2	-2	0	-1	4	0	-1	-2	0	3	-2
179	A	2	-2	-2	-3	-1	-2	-2	2	-3	0	1	-2	0	0	-2	-1	-1	-3	-1	1
180	G	0	-1	0	0	-2	-1	1	3	-2	-2	0	-1	-1	-2	1	1	1	-3	-2	-1
181	T	0	-2	-1	-1	-1	-1	-1	-2	-2	1	-1	-1	-1	-2	1	0	5	-3	-2	0
182	T	1	-1	0	-1	-1	2	0	-1	-2	-1	0	-1	0	-2	-1	1	3	-3	-2	-1
183	I	1	-3	-2	-3	-1	-2	-2	-2	-3	3	0	-2	0	-1	-2	0	0	-3	-1	3
184	I	-1	-3	-3	-3	-2	-3	-3	1	-3	5	0	-3	0	2	-3	-2	-1	-2	0	1
185	P	-1	-2	-2	-1	-3	0	1	-2	-2	-2	0	-1	-1	-3	6	-1	-1	-4	-3	-2
186	A	4	1	-2	-2	0	-1	-1	0	-2	-1	-1	0	-1	-2	-1	0	0	-3	-2	0
187	G	0	-2	0	-1	-3	-2	-2	6	-2	-2	-3	-2	-2	-3	-2	0	-2	-2	-3	0
188	I	-1	2	-1	0	-3	0	3	-3	-1	2	-1	0	-1	-2	1	-1	-1	-3	-2	0
189	E	-1	-1	-1	0	-3	0	4	-2	-1	0	-2	0	-1	-3	3	-1	-1	-3	-2	-1
190	V	0	0	-1	1	-2	-1	-1	-2	-2	0	0	-1	0	-2	-2	-1	2	-3	-2	3
191	K	-1	0	-1	-1	-3	0	1	-2	-1	-2	-2	4	-1	-2	-2	-1	-1	7	-1	0
192	V	0	-1	-1	-2	-2	1	0	-3	-2	0	0	1	0	-2	-2	-1	2	-3	-1	3
193	D	-2	-2	0	6	-3	0	1	-1	-1	-3	-4	-1	-3	-3	-1	0	1	-4	-3	-3
194	E	1	-1	-1	1	-2	0	4	-2	-1	-1	-2	0	-1	-2	-1	0	-1	-3	-2	1
195	C	0	-3	-3	-3	10	-3	-4	-3	-3	-1	-1	-3	-1	-2	-3	-1	-1	-2	-2	-1
196	N	-1	-1	3	-1	-2	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	2	-2	0	4	-2	0	-1
197	I	-1	-1	-2	-3	5	-2	-2	-3	-3	4	0	1	0	-1	-3	-1	-1	-3	-1	1
198	C	0	-3	-2	-3	9	-3	-3	-3	-3	-1	-1	-3	-1	-2	-3	-1	1	-2	-2	-1
199	H	-2	2	0	-2	-3	0	0	-2	7	-3	-2	0	-2	0	-2	-1	-2	-1	3	-3
200	C	0	-3	-3	-3	10	-3	-4	-3	-3	-1	-1	-3	-1	-2	-3	-1	-1	-2	-2	-1
201	H	-1	0	0	-1	-2	0	0	-2	7	-2	-2	-1	-2	-1	-2	0	3	-2	0	-2
202	N	-2	-1	4	3	-3	0	0	-1	0	-2	-2	-1	-2	0	-2	0	-1	-1	4	-2
203	G	0	-1	0	0	-3	0	3	5	-1	-4	-4	-1	-3	-3	-2	0	-2	-2	-3	-3
204	D	-1	0	0	4	-3	3	3	-2	0	-3	-3	0	-2	-3	-1	0	-1	-3	-2	-2
205	W	-1	-2	0	3	-3	-1	0	3	-2	-3	-3	-2	-2	-1	-2	-1	-2	8	0	-3
206	W	-2	-3	-2	-3	-2	-2	-3	3	-2	-3	-3	-3	-1	0	-3	-2	-2	11	0	-3
207	K	-1	3	0	-2	-3	0	0	-2	0	-2	-2	3	-1	0	-2	-1	-1	-1	4	-2
208	P	-1	-1	-1	-1	-2	3	0	-3	-1	-1	1	0	0	-2	4	-1	-1	-3	-2	-1
209	A	5	-1	-2	-2	0	-1	-1	0	-2	-1	-1	-1	-1	-2	-1	0	0	-3	-2	0
210	Q	-1	0	-1	-1	-2	3	0	-2	-1	-1	0	0	4	-1	-1	0	2	-2	-1	0
211	C	0	-3	-3	-3	10	-3	-4	-3	-3	-1	-1	-3	-1	-2	-3	-1	-1	-2	-2	-1
212	S	0	-1	0	0	-1	0	0	-1	-1	-2	-2	0	-1	-2	-1	4	3	-3	-2	-1
213	K	-1	5	0	-2	-3	0	0	-2	0	-3	-2	4	-1	-3	-2	-1	-1	-3	-2	-3
214	R	-1	3	0	-2	-2	0	-1	-3	6	-1	1	0	0	-1	-2	-1	-1	-2	0	-1
215	E	-1	0	0	1	-4	1	5	-2	0	-3	-3	3	-2	-3	-1	0	-1	-3	-2	-2
216	C	0	-2	3	-1	9	-2	-2	-2	-1	-1	-1	-2	-1	-2	-3	0	-1	-3	-2	-1
217	Q	-1	2	-1	-1	6	3	0	-2	-1	-2	-2	1	-1	-3	-2	0	-1	-2	-2	-2
218	G	-1	0	3	0	-3	3	0	3	0	-3	-3	0	-1	-3	-2	0	-1	-3	-2	-3
219	K	-1	0	0	-2	-2	0	0	-2	5	0	0	3	3	-1	-2	-1	-1	-2	0	0
220	Q	-1	0	0	0	-3	4	4	-2	0	-3	-2	0	-1	-3	-1	0	-1	-2	-1	-2
221	T	0	-1	0	-1	-2	-1	-1	4	-2	-2	-2	-1	-2	-2	-1	0	4	-2	-2	-1

222 V 0 -2 -2 -3 -1 -1 -2 -3 -2 2 1 -1 4 0 -2 -1 0 -2 -1 3

（ここで、NCBI(国立生物工学情報センター(the National Center for Biotechnology Information); http://www.ncbi.nlm.nih.gov/)によって指定されたデフォルトパラメーター[Blosum 62 マトリックス;ギャップオープンペナルティ=11及びギャップ伸長ペナルティ=1]を用い、このプロファイルを検索プログラムBLASTにクエリー配列として入力した場合、SECFAM3ファミリーのメンバーは、10^{-2}以下のE-value(E値)を有するものである。）

【０００９】

従って、“SECFAM3ファミリーのメンバー”は、上記パラメーターを用い、BLASTでクエリー配列として使用した場合、10^{-2}という最大閾値(threshold)E-valueを有する上記プロファイルを満足するポリペプチド配列と解釈すべきである。好ましくは、そのようなポリペプチド配列は、10^{-5}以下、10^{-10}以下、10^{-50}以下、最も好ましくは10^{-70}以下の最小閾値E-valueを有する。例えば、このファミリーのメンバーINSP124（配列番号12）は、本発明の第１観点のプロファイルと比較して、生成するE-valueがe^{-143}である。E-valueは、データベース内でランダムに見出される更に良いか又は同等に良いマッチングの予測数を表し、或いはマッチングがランダムに起こる可能性として説明することもできる。従って、全てのヒットは、そのE-valueによって格付けされ、そのようなE-valueは、順に、各配列位置に利用できる候補の数（アミノ酸の場合は20）、配列又はマッチング領域の長さ、及び検索するデータベースの大きさに依存する。従って、SECFAM3ファミリーのメンバーのような短い配列は、２つのより長い配列間の比較可能なマッチングよりも大きいE-valueを有する傾向がある。

【００１０】

上記プロファイルは、シグナル配列及びvWFCドメインの存在を考慮している。このプロファイルは、vWFCドメインに比べて、シグナルペプチド領域（アミノ酸１～23）のアミノ酸配列のより高度な可変性を許容する。この文脈における“可変性”は、アミノ酸配列間の類似性及び同一性の度合いに関係する。この可変性は、本発明で同定されるSECFAM3ファミリーの22個のメンバーにより見い出だされる状況を反映している。15個のメンバー間のvWFC様ドメインで共有される高度の類似性は、vWFC様ドメインが分子の重要な機能に関与している可能性があることも示唆している。このドメインがそれほど重要でなかった場合、メンバー間の保存の度合いはそれほど高くないだろう。

検索される翻訳された核酸配列データベースとして、限定するものではないが、cDNAs、ESTs、mRNAs、全体的ゲノム又は部分的ゲノムのデータベースから派生している、翻訳された核酸配列データベースが挙げられる。

【００１１】

本発明の第２観点では以下の(i)～(iii)のいずれかの単離ポリペプチドが提供される：

(i)NCBI(the National Center for Biotechnology Information; http://www.ncbi.nlm.nih.gov/)によって指定されたデフォルトパラメーター[Blosum 62 マトリックス；ギャップオープンペナルティー＝11及びギャップ伸長ペナルティー＝１]を用い、以下のプロファイルを検索プログラムBLASTにクエリー配列として入力した場合、10^{-2}以下のE-valueを有するポリペプチド配列を含むか又は前記ポリペプチド配列から成る、単離ポリペプチド：

	A	R	N	D	C	Q	E	G	H	I	L	K	M	F	P	S	T	W	Y	V
1 M	-2	-2	-3	-4	-2	-1	-3	-4	-3	0	2	-2	8	0	-3	-2	-2	-2	-2	0
2 A	3	-1	-3	-3	-1	-1	-2	-2	-3	0	0	1	2	1	-2	-1	-1	-3	-1	1
3 L	1	-2	-2	-3	-2	-2	-2	-2	2	0	2	-2	0	-2	0	1	-1	-3	-2	2
4 H	-1	-1	1	-1	-3	-1	-1	3	6	-3	-1	-1	-2	-2	-2	2	-1	-3	-1	-3
5 I	0	-2	-3	-3	-2	0	0	-3	-3	3	2	-2	0	-1	-3	-2	-1	-3	-2	2
6 H	0	-2	-1	-2	-2	-1	-1	-3	7	0	0	-2	-1	-2	0	0	-1	-3	0	2
7 E	0	-2	-2	-1	-2	-1	2	-3	-1	0	1	-1	2	2	-3	0	-1	-2	2	0
8 A	2	-2	-1	-2	3	-2	-2	2	-2	-2	-2	-2	-2	-3	-2	3	1	-3	-3	-2
9 C	0	-3	-2	-3	7	-2	-3	-3	-3	0	-1	-2	3	3	-3	0	-1	-2	-1	0

10	I	-1	-2	-2	-2	-2	-2	0	0	-2	3	2	-2	0	0	-3	0	0	-2	3	0
11	L	-2	0	-3	-4	-2	-2	-3	-4	-3	0	4	-2	3	3	-4	-2	-2	-2	0	0
12	L	0	0	-3	-4	-2	-2	-3	-3	-3	0	3	-2	0	-1	1	-2	-1	-3	-2	1
13	L	-1	-2	-2	-2	-2	-2	0	-3	-3	0	3	-2	0	1	-3	1	1	-3	-1	1
14	V	0	0	-3	-3	4	0	-2	-3	-3	0	0	-2	2	-2	-3	-2	-1	-3	-2	4
15	I	-1	0	-2	-3	4	-2	-2	-3	2	2	1	-2	0	-1	-3	0	0	4	-1	0
16	P	0	0	-2	-2	-2	-2	-2	-3	4	-1	0	-2	-1	2	3	0	-1	-2	0	0
17	G	0	-3	-2	-3	-2	-2	-3	2	-3	1	0	-3	3	3	-3	-1	-2	-2	0	1
18	L	1	-3	-3	-4	-1	-2	-3	-3	-3	0	4	-2	0	-1	-3	-2	-1	-3	-2	2
19	V	2	-1	-1	-2	-2	3	-1	-2	-2	0	-1	-1	-1	-3	-2	1	1	-3	-2	2
20	T	-1	-2	-2	-3	4	-2	-2	-3	-3	0	3	-2	0	-2	-3	1	3	-3	-2	0
21	S	0	-2	-1	-2	4	-2	-2	1	-3	-1	1	-2	2	-2	0	2	-1	-3	-3	-1
22	A	3	-2	-2	-2	-1	-2	-2	-1	-2	-1	0	-2	-1	1	2	2	-1	-3	-2	0
23	A	2	-2	-3	-2	5	0	0	-2	-3	-1	0	-2	-1	-3	2	-1	-1	-3	-2	1
24	I	1	1	-2	-2	-2	-1	-2	-2	-2	2	0	-1	-1	-1	-2	2	-1	-3	1	1
25	S	-1	-1	2	-1	-2	1	-1	-2	4	2	-1	-1	-1	-2	-2	3	-1	-4	-1	-1
26	H	0	-2	3	-1	-3	-1	-1	-2	5	-2	-2	-1	-2	0	3	0	-1	-3	-1	0
27	E	-1	-1	0	1	-3	0	5	-2	-1	-3	-3	0	-2	-3	-1	1	2	-3	-2	-2
28	D	1	-2	0	4	-2	-1	0	-1	-2	-2	0	-1	-1	-2	-1	2	0	-4	-3	-2
29	Y	-2	-1	-2	-2	-3	2	-1	-3	0	0	-1	-1	-1	0	3	-1	-2	0	5	0
30	P	0	-1	-1	-1	-2	-1	-1	0	5	-3	-3	-1	-2	-3	4	0	0	-3	-1	-2
31	A	3	-2	-2	-2	-1	-1	-2	-1	-3	0	2	-1	0	-2	0	0	0	-3	-2	0
32	D	-2	-1	0	5	-3	0	2	-2	-1	-2	-3	2	-2	-3	-1	0	-1	-4	-3	0
33	E	0	-1	-2	0	-2	0	3	-3	-1	0	0	-1	0	3	-2	-1	-1	-2	0	0
34	G	1	-2	0	-1	-2	-1	-2	4	-2	-2	-2	-2	0	-2	-2	1	1	-2	-3	0
35	D	0	2	0	2	-2	0	0	-2	-1	-2	0	0	-1	-3	2	-1	-1	-3	-2	-2
36	Q	0	3	0	-1	-2	3	0	-2	-1	-2	-2	0	-1	-3	-1	1	3	-3	-2	-2
37	I	0	-2	-3	-2	-1	-2	-2	-2	-3	1	0	-2	0	-2	4	-1	-1	-3	-2	2
38	S	-1	-1	0	1	-2	0	2	-2	-1	2	-1	1	-1	-2	-2	2	-1	-3	-2	0
39	S	3	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-2	-1	0	-1	-1	-2	2	3	0	-3	-2	-1
40	N	0	-2	2	-1	-3	-1	1	3	-1	0	0	-1	-1	-3	1	-1	-1	-3	-2	0
41	D	1	-2	-1	3	-2	0	2	-2	-2	-1	0	-1	-1	0	-2	0	-1	-3	-2	-1
42	N	-1	-1	2	1	-3	0	3	0	-1	-2	0	0	-1	-2	-2	1	-1	-3	-2	-2
43	L	1	-3	-3	-3	4	-2	-3	-3	-1	0	1	-3	0	3	-3	-2	-2	0	5	0
44	I	1	-1	-1	0	-2	0	2	-2	-2	1	-1	1	-1	-2	-2	2	-1	-4	-2	0
45	F	-2	-3	-2	1	-2	-2	-2	-3	-1	2	0	-3	0	4	-3	-2	-2	-1	4	1
46	D	1	-2	-1	2	-2	-1	0	0	-2	-3	-3	-1	-2	-3	4	1	-1	-4	-3	-2
47	D	0	-2	0	5	-3	-1	0	1	-2	-3	-4	-1	-3	-3	2	1	-1	-4	-3	-3
48	Y	-2	3	-1	-2	-3	2	-1	-3	0	-2	-2	0	-1	0	-3	-2	-2	0	6	-2
49	R	-2	4	0	-2	-4	2	0	-2	5	-4	-3	0	-2	-3	2	-1	-2	-3	-1	-3
50	G	-1	-2	0	2	-3	-1	1	4	-2	-2	-3	-1	-2	-3	-2	1	-1	-3	-3	0
51	K	-1	2	1	-1	-3	0	0	1	-1	-3	-3	4	-2	-3	-2	1	-1	-3	-3	-3
52	G	-1	-2	-1	2	4	-2	-1	3	-2	-2	-3	-2	-2	0	-2	0	2	-2	-2	-2
53	C	-1	-4	-4	-4	10	-4	-4	-4	-3	-1	-1	-4	-1	2	-4	-2	-2	-2	-1	-1
54	V	-1	-2	-1	0	-2	-1	1	-2	-2	0	0	-1	3	-2	-2	1	0	-3	-2	3
55	D	0	-2	0	6	-3	0	1	-1	-1	-3	-4	-1	-3	-3	-1	0	-1	-4	-3	-3
56	D	-2	-1	3	4	-4	0	2	2	-1	-4	-4	-1	-3	-4	-2	0	-1	-4	-3	-3
57	S	0	-1	2	2	-3	1	0	2	-1	-3	-3	-1	-2	-3	-2	3	0	-3	-3	-3
58	G	0	1	0	-1	-3	-1	-2	5	-2	-4	-4	-1	-3	-3	-2	1	-2	-3	-3	-3
59	F	-1	-4	-4	-4	-2	-3	-3	-4	-2	3	0	-3	0	5	-4	-2	-1	-1	0	3

60	V	-1	-3	-3	-2	-2	-1	1	-3	-1	0	0	-2	0	3	-3	-2	-1	-1	4	3
61	Y	-2	-2	-2	-3	-2	-2	-2	-3	0	-1	-1	-2	-1	4	-3	0	-2	0	7	-2
62	K	1	-1	-2	-2	-2	-1	-1	0	-3	0	-1	1	-1	-2	2	-1	-1	-4	-2	3
63	L	-1	-3	-2	-3	-2	-3	-3	4	-3	4	1	-3	0	-1	-3	-1	-2	-3	-2	0
64	G	-1	-1	0	0	-4	0	3	5	-1	-4	-4	-1	-3	-4	-2	0	-2	-3	-3	-3
65	E	-2	-1	-1	0	-3	3	3	-3	-1	-2	-1	0	3	-1	-2	-1	-2	7	-1	-2
66	R	-2	2	-2	-3	-2	0	-1	-3	0	1	-1	1	-1	3	-3	-2	-2	-1	4	0
67	F	-2	-3	-3	-3	-2	-3	-3	-3	-1	-1	-1	-3	-1	6	-4	-2	1	6	3	-1
68	F	0	1	-2	-3	-2	-1	-2	-2	-1	-1	1	-1	0	2	-3	0	0	-1	2	-1
69	P	-2	-2	-1	2	-4	0	2	-2	-2	-4	-4	-1	-3	-4	6	-1	-1	-4	-3	-3
70	G	0	-2	0	-1	-2	-1	-1	5	-2	-4	-4	-1	-2	-3	-2	3	-1	-3	-3	-3
71	H	-2	-2	0	5	-3	-1	0	-2	4	-3	-4	-1	-3	-3	3	0	-1	-4	-2	-3
72	S	-1	-1	0	-1	-2	-1	-1	-2	5	-3	-3	-1	-2	-3	4	3	1	-3	-1	-2
73	N	2	-2	2	-2	8	-2	-2	-2	-2	-2	-2	-2	-2	-3	-3	0	0	-3	-2	-1
74	C	-1	-2	-1	-1	8	-1	3	-3	-2	-2	-2	-1	-2	-3	-2	0	2	-3	-2	-1
75	P	-1	2	-2	-2	-3	3	0	-3	-2	-2	0	0	-1	-3	5	-1	-1	-3	-2	-2
76	C	0	-4	-4	-4	10	-4	-5	-4	-4	-1	-1	-4	-1	-2	-4	-1	-1	-2	-2	-1
77	V	-1	-2	-2	-1	-2	-1	2	-3	-2	0	2	-1	0	-1	-2	-1	0	-3	-2	3
78	C	0	-4	-4	-4	10	-4	-5	-4	-4	-1	-1	-4	-1	-2	-4	-1	-1	-2	-2	-1
79	A	2	-1	-1	-1	-1	1	-1	-2	-2	-2	-2	-1	-1	-3	-1	0	4	-3	-2	-1
80	L	1	-1	-1	0	-2	0	2	-2	-2	-1	0	-1	-1	-2	-2	1	1	-3	-2	-1
81	D	-2	-2	0	5	-4	0	4	-2	-1	-3	-4	-1	-3	-3	-2	0	1	-4	-3	-3
82	G	0	-3	0	-2	-4	-3	-3	7	-3	-5	-5	-3	-4	-4	-3	0	-3	-3	-4	-4
83	P	-1	-2	-2	-1	-3	-1	-1	-2	-2	-3	-3	-1	-2	-4	7	1	-1	-4	-3	-3
84	V	0	-2	-2	-3	-2	1	-1	-3	-3	1	1	-2	0	-2	-2	0	-1	-3	-2	4
85	C	0	-3	-3	-3	10	-3	-4	-3	-3	-2	-2	-3	-2	-3	-3	0	-1	-3	-3	-2
86	D	1	-2	-1	3	4	-1	-1	-2	-2	-1	-2	-2	0	0	-2	1	0	-3	-2	0
87	Q	-1	3	-1	-2	-3	4	0	-3	-1	-2	-2	2	-1	-3	-2	-1	-1	-3	-2	0
88	P	-1	-2	-1	-2	-2	-2	-2	-3	-3	-2	-2	-2	-2	-4	6	0	4	-4	-3	-1
89	E	-2	2	0	2	-4	0	5	-2	-1	-4	-3	1	-2	-4	-2	-1	-2	-4	-3	-3
90	C	0	-4	-4	-4	10	-4	-5	-4	-4	-2	-2	-4	-2	-3	-4	-2	-2	-3	-3	-2
91	P	-1	-2	-2	-2	-3	-2	-2	-3	-3	-1	-2	-2	-2	-3	6	-1	2	-4	-3	0
92	K	0	3	0	0	-3	0	3	-2	-1	-3	-3	3	-2	-3	-2	0	-1	-3	-2	-2
93	I	-1	-3	-3	-4	-1	-2	-3	-4	-3	3	3	-2	0	-1	-3	-2	1	-3	-2	1
94	H	-1	-1	0	-1	4	-1	-1	-2	7	-3	-3	-1	-2	-2	2	1	-1	-3	0	-3
95	P	0	-2	-2	-1	-3	-1	1	-2	-2	-3	-3	-1	-2	-4	7	-1	-1	-4	-3	-2
96	K	1	3	-1	-2	-2	0	0	-2	0	-2	-2	2	-1	-1	-2	1	-1	-2	2	-2
97	C	0	-3	-3	-3	10	-3	-4	-3	-3	-2	-2	-3	-2	-3	2	-1	-1	-3	-3	-2
98	T	-1	-3	-2	-3	-1	-2	-3	-4	-3	4	0	-3	1	-1	-3	-1	3	-3	-2	2
99	K	-2	1	0	-1	-4	0	2	-2	7	-3	-3	2	-2	-2	-2	-1	-2	-3	0	-3
100	V	-1	-3	-3	-3	-1	-3	-3	-4	-3	3	0	-3	0	-1	-3	-2	-1	-3	-1	5
101	E	1	-1	0	3	-2	0	2	-1	-1	-3	-3	1	-2	-3	-1	2	0	-4	-3	-2
102	H	-2	2	1	-1	-3	0	-1	-2	7	-3	-2	0	-2	-1	-2	-1	1	-2	3	-2
103	N	-1	0	3	-1	-2	0	0	-1	4	-2	-2	1	-2	0	-2	1	0	-1	4	-2
104	G	-1	-1	0	2	-3	4	2	2	-1	-4	-3	0	-2	-3	-2	0	-1	-3	-2	-3
105	C	0	-3	-3	-3	10	-3	-5	-3	-3	-1	-1	-3	-1	-2	-3	-1	-1	-2	-2	-1
106	C	0	-3	-3	-3	10	-3	-5	-3	-3	-1	-1	-3	-1	-2	-3	-1	-1	-2	-2	-1
107	P	-1	-3	-3	-2	-3	-2	-2	-3	-3	-1	-2	-2	-2	-4	7	-2	-1	-4	-3	0
108	E	-1	2	0	2	-3	4	2	-2	-1	-2	-1	0	-1	-3	-2	-1	-1	-3	-2	0
109	C	0	-3	-3	-3	10	-3	-5	-3	-3	-1	-1	-3	-1	-2	-3	-1	-1	-2	-2	-1

110	K	-1	0	0	0	-3	0	3	-2	-1	-1	-2	3	-1	-3	-2	1	-1	-3	-2	1
111	E	2	2	-1	0	-3	0	4	-2	-1	-3	-2	2	-2	-3	-2	0	-1	-3	-2	-2
112	V	-1	1	-1	-1	-3	-1	1	1	-2	1	-1	1	-1	-2	-2	-1	-1	-3	-2	2
113	K	0	0	0	-1	-3	0	0	4	-2	-4	-3	4	-2	-3	-2	1	-1	-3	-3	-3
114	N	-2	0	6	0	-3	0	0	0	0	-3	-3	2	-2	-3	-2	0	0	-4	-2	-3
115	F	-1	-3	-3	-3	-2	-2	-2	-3	0	0	0	-2	0	4	-3	-2	-1	0	6	1
116	C	0	-3	-3	-3	10	-3	-5	-3	-3	-1	-1	-3	-1	-2	-3	-1	-1	-2	-2	-1
117	E	-1	-1	0	3	-3	0	4	-2	-1	-2	0	0	-2	-3	-2	0	1	-3	-3	-2
118	Y	-2	-2	-2	-2	-3	-1	1	-3	0	-1	-1	-2	-1	5	-3	-2	-2	0	6	-2
119	H	-2	5	2	-2	-3	0	-1	-2	4	-2	-1	0	3	-2	-2	-1	-1	-3	-1	-2
120	G	-1	-2	2	-1	-3	-2	-2	6	-2	-4	-4	-2	-3	-3	-2	0	-2	-3	-3	-3
121	K	-1	4	-1	-2	-3	0	0	-3	-1	-1	-2	5	-1	-3	-2	-1	-1	-3	-2	0
122	N	-1	-2	2	-2	-2	-2	-2	-2	-2	2	0	-2	0	-2	-2	0	4	-3	-2	1
123	Y	-2	-3	-3	-3	-2	-2	-3	-3	0	-1	-1	-3	-1	4	-4	-2	-2	1	8	-1
124	K	0	1	0	-1	-3	2	2	-2	4	-3	-2	2	-1	-1	-2	-1	-2	-2	3	-2
125	I	-1	-2	2	-2	-2	-2	-2	-2	-2	2	1	-2	0	-1	-2	0	1	-3	-2	2
126	L	-1	-2	2	-2	-2	-2	-2	3	-2	0	3	-2	0	-1	-3	-1	-1	-3	-2	-1
127	E	-1	0	0	1	-4	3	6	-2	0	-3	-3	0	-2	-3	-1	0	-1	-3	-2	-2
128	E	-1	-1	2	0	-3	0	4	-2	0	-3	-3	0	-2	-1	-2	0	1	-2	3	-2
129	F	-2	-3	-3	-3	-2	-3	-3	-3	-1	0	0	-3	0	7	-5	-2	-2	0	2	-1
130	K	-1	1	2	-1	-3	2	0	-2	-1	-1	0	2	1	-2	-2	-1	-1	-3	-2	0
131	P	-1	-3	-3	-3	-2	-2	-2	-3	-3	1	2	-2	0	-2	3	-2	0	-3	-2	3
132	S	0	0	1	2	2	-1	0	-1	-1	-3	-3	-1	-2	-3	1	4	1	-4	-3	-2
133	P	-1	-2	-2	-1	-3	-1	1	-3	-2	-2	-3	-1	-2	-4	7	-1	-1	-4	-3	0
134	C	0	-3	-3	-3	10	-3	-4	-3	-3	-1	-1	-3	-1	-2	-3	-1	0	-2	-2	-1
135	E	-1	1	-1	0	-3	0	5	-3	-1	-1	1	0	-1	-2	-2	-1	-1	-3	-2	-1
136	W	-1	2	-1	-2	-3	2	0	-2	3	-2	0	1	-1	-2	-2	1	-1	4	-1	-2
137	C	0	0	-3	-3	10	-3	-4	-3	-3	0	-1	-3	-1	-2	-3	-1	0	-3	-2	-1
138	R	-1	4	-1	-2	-2	0	-1	-3	-1	2	-1	2	-1	-1	-2	-1	1	-2	1	0
139	C	0	-4	-4	-4	10	-4	-5	-4	-4	-1	-1	-4	-1	-2	-4	-1	-1	-2	-2	-1
140	E	-1	-1	0	2	-3	0	5	-3	-1	-2	0	0	-1	-3	-2	0	1	-3	-2	-2
141	P	1	-2	1	-2	-2	-1	-1	-2	-2	0	0	-1	-1	-2	2	1	1	-3	-2	0
142	S	-1	-1	4	2	-3	1	0	2	-1	-3	-3	-1	-2	-3	-2	2	-1	-4	-3	-3
143	N	-1	1	2	-1	-3	-1	-1	4	-1	-4	-4	1	-2	-3	-2	1	-1	-3	-3	-3
144	E	-1	0	-1	0	-3	0	4	-3	-1	1	-1	0	-1	-2	-2	-1	1	-3	-2	1
145	V	3	-2	-3	-3	-1	-2	-2	-2	-3	0	0	-2	0	-2	-2	-1	-1	-3	-2	3
146	H	-2	1	-2	-3	-2	-1	-2	-3	3	0	2	-1	0	2	-3	-2	-2	-1	4	-1
147	C	-1	0	-3	-3	10	-3	-3	-3	-3	-2	-2	-2	-2	-3	1	-1	-1	-3	-3	-2
148	V	0	-2	-1	-2	-1	-1	-2	-2	-3	0	1	-1	0	-2	-2	2	3	-3	-2	2
149	V	-1	-3	-3	-3	1	-2	-2	-3	-3	2	0	-2	0	-2	2	-2	-1	-4	-2	5
150	A	3	-2	-2	-2	2	-1	-1	-1	-2	0	-1	-1	-1	-2	-2	2	0	-3	-2	2
151	D	1	-2	0	5	-2	1	0	0	-2	-3	-3	-1	-2	-3	-2	1	-1	-4	-3	-2
152	C	-1	-3	-3	-3	10	-3	-4	0	-3	-2	-2	-3	-1	1	-4	-1	-2	-2	-1	-2
153	A	2	-2	-2	-2	-2	-1	0	-2	-2	-1	0	-1	-1	1	4	-1	-1	-3	-1	-1
154	V	2	-1	-2	-1	-2	4	1	-2	-2	-1	-2	0	-1	-3	3	-1	-1	-3	-2	0
155	P	-1	-2	-1	1	-2	-2	-1	-2	-2	1	0	-2	-1	-2	4	0	2	-4	-3	0
156	E	-2	1	-1	0	-4	0	3	-3	2	-3	-3	1	-2	2	3	-1	-2	-3	-1	-3
157	C	-1	-3	-3	-3	9	1	-3	-3	-3	-2	-1	-3	-1	-2	-3	-2	-2	5	-2	-2
158	V	-1	0	-2	-3	-2	0	-2	-3	-3	2	0	-2	0	1	-2	-2	1	-2	-1	4
159	N	-2	1	4	4	-3	0	0	-1	0	-3	-3	-1	-2	-1	-2	0	-1	3	3	-3

160	P	-1	-2	-2	-1	-3	-1	-1	-2	-2	-1	-3	1	-2	-4	7	0	-1	-4	-3	-2
161	V	-1	-3	-3	-3	-2	0	0	-4	-3	4	0	-2	0	2	-3	-2	-1	-2	0	3
162	Y	-2	1	-1	-3	-3	-1	-1	-3	4	-2	0	-1	-1	0	-3	0	-2	0	6	-2
163	E	-1	-1	-1	0	-3	3	4	-3	-1	-2	-1	0	-1	-3	3	0	0	-3	-2	-2
164	P	-1	-1	-2	-1	-3	0	1	-3	-1	-2	-1	0	-2	-2	5	-1	-1	-2	2	-2
165	E	-1	-2	1	2	-3	-1	1	3	-1	-3	-3	-1	-3	-1	-2	0	-1	-2	2	-3
166	Q	-2	0	-1	-1	-3	4	2	-3	3	-3	0	2	-1	-2	-2	-1	-2	5	0	-2
167	C	0	-3	-3	-4	9	-3	-4	-4	-3	0	0	-3	-1	-2	-3	-2	-1	-2	-2	0
168	C	0	-3	-3	-3	9	-3	-3	-3	-3	0	-1	-3	-1	-2	-3	0	-1	-3	-2	1
169	P	0	-2	-3	-2	-3	-1	-2	-2	-3	-2	0	-1	-1	-3	7	-1	-1	-4	-3	-1
170	V	-1	-2	-2	-2	-2	-1	1	-3	-2	3	0	1	0	-2	-2	-2	-1	-3	-2	4
171	C	-1	-2	-3	-3	9	-2	-3	-3	-3	-1	0	1	-1	-2	-3	-1	-1	-3	-2	-1
172	K	-1	1	0	-1	-3	0	0	-2	-1	-3	-2	6	-1	-3	-1	0	-1	-3	-2	-2
173	N	2	-1	3	2	-2	-1	0	2	-1	-3	-3	-1	-2	-3	-2	1	-1	-4	-3	-2
174	G	0	-1	0	-1	-3	-2	-2	5	-2	-4	-3	0	-3	-3	-2	0	-2	-2	-3	-3
175	P	-1	-2	1	-1	-3	-1	0	-2	-2	-3	-3	-1	-2	-4	6	-1	-1	-4	-3	-2
176	N	-1	-1	5	0	-3	-1	-1	-1	0	-3	-3	-1	-2	-2	-2	1	0	6	-1	-3
177	C	-1	-2	-2	-2	8	-2	-2	-3	3	-2	-2	-2	-2	-2	1	-1	0	-3	-1	-2
178	F	-2	-2	-1	-2	-3	-2	-2	1	4	-2	-2	0	-1	4	0	-1	-2	0	3	-2
179	A	2	-2	-2	-3	-1	-2	-2	2	-3	0	1	-2	0	0	-2	-1	-1	-3	-1	1
180	G	0	-1	0	0	-2	-1	1	3	-2	-2	0	-1	-1	-2	1	1	1	-3	-2	-1
181	T	0	-2	-1	-1	-1	-1	-1	-2	-2	1	-1	-1	-1	-2	1	0	5	-3	-2	0
182	T	1	-1	0	-1	-1	2	0	-1	-2	-1	0	-1	0	-2	-1	1	3	-3	-2	-1
183	I	1	-3	-2	-3	-1	-2	-2	-2	-3	3	0	-2	0	-1	-2	0	0	-3	-1	3
184	I	-1	-3	-3	-3	-2	-3	-3	1	-3	5	0	-3	0	2	-3	-2	-1	-2	0	1
185	P	-1	-2	-2	-1	-3	0	1	-2	-2	-2	0	-1	-1	-3	6	-1	-1	-4	-3	-2
186	A	4	1	-2	-2	0	-1	-1	0	-2	-1	-1	0	-1	-2	-1	0	0	-3	-2	0
187	G	0	-2	0	-1	-3	-2	-2	6	-2	-2	-3	-2	-2	-3	-2	0	-2	-2	-3	0
188	I	-1	2	-1	0	-3	0	3	-3	-1	2	-1	0	-1	-2	1	-1	-1	-3	-2	0
189	E	-1	-1	-1	0	-3	0	4	-2	-1	0	-2	0	-1	-3	3	-1	-1	-3	-2	-1
190	V	0	0	-1	1	-2	-1	-1	-2	-2	0	0	-1	0	-2	-2	-1	2	-3	-2	3
191	K	-1	0	-1	-1	-3	0	1	-2	-1	-2	-2	4	-1	-2	-2	-1	-1	7	-1	0
192	V	0	-1	-1	-2	-2	1	0	-3	-2	0	0	1	0	-2	-2	-1	2	-3	-1	3
193	D	-2	-2	0	6	-3	0	1	-1	-1	-3	-4	-1	-3	-3	-1	0	1	-4	-3	-3
194	E	1	-1	-1	1	-2	0	4	-2	-1	-1	-2	0	-1	-2	-1	0	-1	-3	-2	1
195	C	0	-3	-3	-3	10	-3	-4	-3	-3	-1	-1	-3	-1	-2	-3	-1	-1	-2	-2	-1
196	N	-1	-1	3	-1	-2	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	2	-2	0	4	-2	0	-1
197	I	-1	-1	-2	-3	5	-2	-2	-3	-3	4	0	1	0	-1	-3	-1	-1	-3	-1	1
198	C	0	-3	-2	-3	9	-3	-3	-3	-3	-1	-1	-3	-1	-2	-3	-1	1	-2	-2	-1
199	H	-2	2	0	-2	-3	0	0	-2	7	-3	-2	0	-2	0	-2	-1	-2	-1	3	-3
200	C	0	-3	-3	-3	10	-3	-4	-3	-3	-1	-1	-3	-1	-2	-3	-1	-1	-2	-2	-1
201	H	-1	0	0	-1	-2	0	0	-2	7	-2	-2	-1	-2	-1	-2	0	3	-2	0	-2
202	N	-2	-1	4	3	-3	0	0	-1	0	-2	-2	-1	-2	0	-2	0	-1	-1	4	-2
203	G	0	-1	0	0	-3	0	3	5	-1	-4	-4	-1	-3	-3	-2	0	-2	-2	-3	-3
204	D	-1	0	0	4	-3	3	3	-2	0	-3	-3	0	-2	-3	-1	0	-1	-3	-2	-2
205	W	-1	-2	0	3	-3	-1	0	3	-2	-3	-3	-2	-2	-1	-2	-1	-2	8	0	-3
206	W	-2	-3	-2	-3	-2	-2	-3	3	-2	-3	-3	-3	-1	0	-3	-2	-2	11	0	-3
207	K	-1	3	0	-2	-3	0	0	-2	0	-2	-2	3	-1	0	-2	-1	-1	-1	4	-2
208	P	-1	-1	-1	-1	-2	3	0	-3	-1	-1	1	0	0	-2	4	-1	-1	-3	-2	-1
209	A	5	-1	-2	-2	0	-1	-1	0	-2	-1	-1	-1	-1	-2	-1	0	0	-3	-2	0

```
210 Q   -1  0 -1 -1 -2  3  0 -2 -1 -1  0  0  4 -1 -1  0  2 -2 -1  0
211 C    0 -3 -3 -3 10 -3 -4 -3 -3 -1 -1 -3 -1 -2 -3 -1 -1 -2 -2 -1
212 S    0 -1  0  0 -1  0  0 -1 -1 -2 -2  0 -1 -2 -1  4  3 -3 -2 -1
213 K   -1  5  0 -2 -3  0  0 -2  0 -3 -2  4 -1 -3 -2 -1 -1 -3 -2 -3
214 R   -1  3  0 -2 -2  0 -1 -3  6 -1  1  0  0 -1 -2 -1 -1 -2  0 -1
215 E   -1  0  0  1 -4  1  5 -2  0 -3 -3  3 -2 -3 -1  0 -1 -3 -2 -2
216 C    0 -2  3 -1  9 -2 -2 -2 -1 -1 -1 -2 -1 -2 -3  0 -1 -3 -2 -1
217 Q   -1  2 -1 -1  6  3  0 -2 -1 -2 -2  1 -1 -3 -2  0 -1 -2 -2 -2
218 G   -1  0  3  0 -3  3  0  3  0 -3 -3  0 -1 -3 -2  0 -1 -3 -2 -3
219 K   -1  0  0 -2 -2  0  0 -2  5  0  0  3  3 -1 -2 -1 -1 -2  0  0
220 Q   -1  0  0  0 -3  4  4 -2  0 -3 -2  0 -1 -3 -1  0 -1 -2 -1 -2
221 T    0 -1  0 -1 -2 -1 -1  4 -2 -2 -2 -1 -2 -2 -1  0  4 -2 -2 -1
222 V    0 -2 -2 -3 -1 -1 -2 -3 -2  2  1 -1  4  0 -2 -1  0 -2 -1  3
```

(ii)vWFCドメイン含有タンパク質ファミリーのメンバーであるか、又は(i)のポリペプチドと共通の抗原決定基を有する、(i)のフラグメント；又は

(iii)(i)又は(ii)の機能的等価物。

【００１２】

好ましくは、本発明のポリペプチドは、vWFCドメイン含有分泌タンパク質ファミリーのメンバーである。好ましくは、上記検定において、ポリペプチドは10^{-2}の最大閾値E-valueを与える。さらに好ましくは、ポリペプチド配列は10^{-5}以下、10^{-10}以下、10^{-50}以下、最も好ましくは10^{-70}以下の最小閾値E-valueを有する。閾値を下げると、よりストリンジェントなフィルターとして作用して、一般的なバックグラウンドポリペプチド配列からシグナルペプチドとvWFCドメインとを含むポリペプチドを分離する。

【００１３】

本発明の第２観点の第３態様では、以下の(i)～(iii)のいずれかの単離ポリペプチドが提供される：

(i)以下のコンセンサスアミノ酸配列を満足するポリペプチドを含む単離ポリペプチド

```
[GTDFC](0,1)-[CF](0,1)-[VMSED](0,1)-[DEA](0,1)-[DENG](0,1)-[SQNDG](0,1)-[SGR](0,
1)-[FIV](0,1)-[VYFE](0,1)-[YFS](0,1)-[KVAGP](0,1)-[LIG](0,1)-[GE](0,1)-[EWQM](0,
1)-[RKYFQVI](0,1)-[FYWT](0,1)-[FALYRTS](0,1)-[PED](0,1)-[GS](0,1)-[HPDS](0,1)-[S
THP](0,1)-[CNAT](0,1)-[CTE](0,1)-[PQRL](0,1)-C(0,1)-[VELT](0,1)-C(0,1)-[TAQ](0,1
)-[ELATSD](0,1)-[EDT]-G-[PS]-[VLAQS]-[CS]-[DAMSTFCV]-[QRKV]-R(0,1)-[PT]-[ERDK]-C
-[PTV]-[KERSA]-[LIVT]-[HPSC]-[PAE]-[KRASY]-[CP]-[TIVM]-[HKRE]-[VI]-[DESAKP]-[HTN
RYG]-[NSTYHK](0,1)-[PA](0,1)-[TG](0,1)-[QGDES]-C-C-[PV]-[EQRDLV]-C;
```

(ii)vWFCドメイン含有タンパク質ファミリーのメンバーであるか、又は(i)のポリペプチドと共通の抗原決定基を有する、(i)のフラグメント；又は

(iii)(i)又は(ii)の機能的等価物。

好ましくは、本発明のポリペプチドは、vWFCドメイン含有分泌タンパク質ファミリーのメンバーである。本発明の本態様で示される配列は、INSP124（配列番号12）のアミノ酸位置54～171由来の高い同一性領域を包含する（該アラインメントのアミノ酸155～279、図１参照）。

【００１４】

本発明の第４態様では、以下のコンセンサスアミノ酸配列：

```
[GTDFC](0,1)-[CF](0,1)-[VMSED](0,1)-[DEA](0,1)-[DENG](0,1)-[SQNDG](0,1)-[SGR](0,
1)-[FIV](0,1)-[VYFE](0,1)-[YFS](0,1)-[KVAGP](0,1)-[LIG](0,1)-[GE](0,1)-[EWQM](0,
1)-[RKYFQVI](0,1)-[FYWT](0,1)-[FALYRTS](0,1)-[PED](0,1)-[GS](0,1)-[HPDS](0,1)-[S
THP](0,1)-[CNAT](0,1)-[CTE](0,1)-[PQRL](0,1)-C(0,1)-[VELT](0,1)-C(0,1)-[TAQ](0,1
)-[ELATSD](0,1)-[EDT]-G-[PS]-[VLAQS]-[CS]-[DAMSTFCV]-[QRKV]-R(0,1)-[PT]-[ERDK]-C
-[PTV]-[KERSA]-[LIVT]-[HPSC]-[PAE]-[KRASY]-[CP]-[TIVM]-[HKRE]-[VI]-[DESAKP]-[HTN
RYG]-[NSTYHK](0,1)-[PA](0,1)-[TG](0,1)-[QGDES]-C-C-[PV]-[EQRDLV]-C-[KERSV]-[EKRA
```

]-[VIRKEG]-[KGS]-[NK]-[FYV]-C-[EDLT]-[YFE]-[HRNM]-[GN]-[KRV]-[NTVLI]-[YF]-[KQHREAY]-[ILVTSN]-[LGN]-[EQ]-[ENYT]-F-P(0,1)-S(0,1)-[KRVMLQN]-[PVLIT]-[SNTCRDP]-[PVE](0,1)-[CT](0,1)-[ELR](0,1)-[WRHKQSL](0,1)-[CTIR](0,1)-[RTYIK](0,1)-C-[EDTL]-[PAVLSNT](0,1)-[SNQDG](0,1)-[GNRKS](0,1)-[EIVTR]-[VAL]-[RHLYF](0,1)-[CRP]-[TSVL](0,1)-[VICP]-[ASVC]-Q(0,1)-A(0,1)-C(0,1)-[DAPQGS]-[CQGF]-[APTFLE](0,1)-[QVAPE]-[TPSLID]-[EPRHKF]-[CWQ]-[VQTFI]-[NDQRY]-[PLKS]-[VILEF]-[YLSHR]-[EQTSP]-[PKLYE]-[DEGIYN]-[QSWKHE]-[CAL]-[CV]-[PL]-[VIKES]-[CK]；
を満足するポリペプチドを含むか又は前記ポリペプチドから成る、ポリペプチドが提供される。

【００１５】

本発明の第２観点の第５態様では、以下のコンセンサスアミノ酸配列：
GTDFC](0,1)-[CF](0,1)-[VMSED](0,1)-[DEA](0,1)-[DENG](0,1)-[SQNDG](0,1)-[SGR](0,1)-[FIV](0,1)-[VYFE](0,1)-[YFS](0,1)-[KVAGP](0,1)-[LIG](0,1)-[GE](0,1)-[EWQM](0,1)-[RKYFQVI](0,1)-[FYWT](0,1)-[FALYRTS](0,1)-[PED](0,1)-[GS](0,1)-[HPDS](0,1)-[STHP](0,1)-[CNAT](0,1)-[CTE](0,1)-[PQRL](0,1)-C(0,1)-[VELT](0,1)-C(0,1)-[TAQ](0,1)-[ELATSD](0,1)-[EDT]-G-[PS]-[VLAQS]-[CS]-[DAMSTFCV]-[QRKV]-R(0,1)-[PT]-[ERDK]-C-[PTV]-[KERSA]-[LIVT]-[HPSC]-[PAE]-[KRASY]-[CP]-[TIVM]-[HKRE]-[VI]-[DESAKP]-[HTNRYG]-[NSTYHK](0,1)-[PA](0,1)-[TG](0,1)-[QGDES]-C-C-[PV]-[EQRDLV]-C；
を満足するポリペプチドから成る単離ポリペプチドが提供される。

【００１６】

本発明の第２観点の第６態様では、本発明の第２観点の第３態様の単離ポリペプチドであって、本発明の第２観点の第３～第５態様のコンセンサスアミノ酸配列のアミノ酸位置２、23、25、27、34、40、47、57、58及び61の10個のシステイン残基のうち１個以上、好ましくは全てを含む単離ポリペプチドが提供される。さらなる態様では、単離ポリペプチドは、本発明の第２観点の第４態様のコンセンサスアミノ酸配列のアミノ酸位置68、88、91、93、101、109、114、124、125及び128の10個のシステイン残基のうち１個以上、好ましくは全てを含む。なおさらなる態様では、単離ポリペプチドは、本発明の第２観点の第４態様のコンセンサスアミノ酸配列のアミノ酸位置２、23、25、27、34、40、47、57、58、61、68、88、91、93、101、109、114、124、125及び128のシステイン残基のうち１個以上、好ましくは全てを含む。

【００１７】

本発明の第２観点の第３～第５態様のアミノ酸配列は、PROSITE（タンパク質部位及びパターン）表記法で書かれ、アミノ酸は１文字コードにより表されている(Bairoch, A., Bucher, P., and Hofmann, K., (1997). "PROSITEデータベース：1997." Nucl. Acids Res. 25, 217-221)。簡単には、下記式：

A(1)-x(i1,j1)-A2-x(i2,j2)-....A{p-1}-x(i{p-1},j{p-1})-Ap

を含むペプチドは以下の様式で解釈される。

A(K)は、１個のアミノ酸、例えばＣ、又は１セットの可能なアミノ酸、例えば[ILVF]のいずれかを特定している成分である。成分A(K)は、完全に１個のアミノ酸（例えばＣ又はＬ）を特定する場合、同一(identity)成分であり、或いはそれが１個より多くを特定する場合（例えば、[ILVF]又は[FWY]）、あいまい(ambiguous)成分である。i(k)、j(k)は、全てのkについてi(k)≦j(k)であるような整数である。部分x(ik,jk)は、任意のアミノ酸ikとjkとの間のパターンマッチングのワイルドカード領域を特定する。ワイルドカード領域x(ik,jk)は、jkがikより大きい場合（例えばx(2,3)）、“フレキシブル(flexible)”である。このような領域のフレキシビリティー(flexibility)は、jk-ik.br>である。例えば、x(2,3)のフレキシビリティーは１である。j(k)がi(k)に等しい場合、例えばx(2,2)（x(2)と書ける）の場合、ワイルドカード領域は固定される。もしあれば、あるパターンのフレキシビリティーという結果は、そうでなければ１つであると定義される該パターンにおけるフレキシブルなワイルドカード領域のフレキシビリティーの結果である。

例えば、C-x(2)-Hは２成分(CとH)と１の固定ワイルドカード領域とを有するパターンで

ある。それは、Cの後いずれかの２個の任意アミノ酸、次いでHを含有するいずれかの配列にマッチングする。アミノ酸配列ChgHyw及びliChgHlywは、該式内に含まれるだろう。C-x(2,3)-Hは、２成分(CとH)及び１個のフレキシブルなワイルドカード領域を有するパターンである。それは、aaChgHywk及びliChgaHlywのようなCの後いずれかの２又は３個の任意アミノ酸、次いでHを含有するいずれかの配列にマッチングする。C-x(2,3)-[ILV]は、２成分(Cと[ILV])及び１個のフレキシブルなワイルドカード領域を有するパターンである。それは、Cの後いずれかの２又は３個の任意アミノ酸、次いでI、L又はVを含有するいずれかの配列にマッチングする。

【００１８】

このような理論によって拘泥されたくないが、本発明の上述した態様のポリペプチドは、全てシグナルペプチド配列を所有する。従って、シグナルペプチドを欠いている上記ポリペプチドの成熟型は、本発明のさらなる観点を形成する。

本発明の第３観点の一態様では、以下の(i)～(iii)のいずれかのポリペプチドが提供される：

(i)配列番号２、配列番号４、配列番号39、配列番号41、配列番号43及び／又は配列番号45で示されるアミノ酸配列を含むポリペプチド；

(ii)vWFCドメイン含有タンパク質ファミリーのメンバーであり、又は(i)のポリペプチドと共通の抗原決定基を有する、(i)のフラグメント；又は

(iii)(i)又は(ii)の機能的等価物。

本発明のこの第３観点の第２態様によって、

配列番号２、配列番号４、配列番号39、配列番号41、配列番号43及び／又は配列番号45で示されるアミノ酸配列から成るポリペプチドが提供される。

【００１９】

これ以降、配列番号２で示される配列を有するポリペプチドを“INSP123ポリペプチド”と呼ぶ。

少数のESTデータ（その大部分は、げっ歯類のEST由来）は、INSP123配列が脳のcDNAテンプレート又は神経組織内で見出されるであろうということを示唆している。

このような理論に拘泥されたくないが、INSP123ポリペプチドの最初の23アミノ酸がシグナルペプチドを形成すると想定される。シグナル配列を有するINSP123完全長ポリペプチド配列とシグナル配列のないINSP123完全長ポリペプチド配列が、それぞれ配列番号２と配列番号４で示される。これ以降、配列番号４で示される配列を有するポリペプチドを、“INSP123成熟ポリペプチド”と呼ぶ。

或いは、このような理論に拘泥されたくないが、INSP123クローン化ポリペプチドの最初の22アミノ酸がシグナルペプチドを形成すると想定される。シグナル配列を有するINSP123クローン化完全長ポリペプチド配列とシグナル配列のないINSP123クローン化完全長ポリペプチド配列が、それぞれ配列番号39と配列番号41で示される。これ以降、配列番号39で示される配列を有するポリペプチドを“INSP123クローン化ポリペプチド”と呼ぶ。これ以降、配列番号41で示される配列を有するポリペプチドを“INSP123クローン化成熟ポリペプチド１”と呼ぶ。

或いは、かつ好ましくは、このような理論に拘泥されたくないが、INSP123クローン化ポリペプチドの最初の21アミノ酸がシグナルペプチドを形成すると想定される。シグナル配列を有するINSP123クローン化完全長ポリペプチド配列とシグナル配列のないINSP123クローン化完全長ポリペプチド配列が、それぞれ配列番号39と配列番号43で示される。これ以降、配列番号39で示される配列を有するポリペプチドを“INSP123クローン化ポリペプチド”と呼ぶ。これ以降、配列番号43で示される配列を有するポリペプチドを“INSP123クローン化成熟ポリペプチド２”と呼ぶ。

或いは、かつ好ましくは、このような理論に拘泥されたくないが、INSP123クローン化ポリペプチドの最初の31アミノ酸がシグナルペプチドを形成すると想定される。シグナル配列を有するINSP123クローン化完全長ポリペプチド配列とシグナル配列のないINSP123クローン化完全長ポリペプチド配列が、それぞれ配列番号39と配列番号45で示される。これ

以降、配列番号39で示される配列を有するポリペプチドを“INSP123クローン化ポリペプチド”と呼ぶ。これ以降、配列番号45で示される配列を有するポリペプチドを“INSP123クローン化成熟ポリペプチド３”と呼ぶ。

好ましくは、本発明の第３観点の第２態様の抗原決定基、フラグメント又は機能的等価物は、配列番号２のアミノ酸位置53、74、76、78、85、90、97、105、106及び107の10個のシステイン残基のうちの１個以上を含む。さらに好ましくは、これらシステイン残基の１個以上が、生理的条件下でジスルフィド結合の形成に関与する。本発明のこの観点では、“生理的条件”は、天然又は野生型の形態のポリペプチドが見出されるであろう天然の環境を意味する。ジスルフィド結合の形成は、多くの場合、タンパク質の正確なコンホメーション、ひいてはその機能に欠くことができない。従って、このようなシステイン残基が保存されることが重要である。

【００２０】

本発明の第３観点の第３態様では、以下の(i)～(iii)のいずれかのポリペプチドが提供される：

(i)配列番号６、配列番号８、配列番号10、配列番号12、配列番号14、配列番号16、配列番号47、配列番号49、配列番号51及び／又は配列番号53で示されるアミノ酸配列を含むポリペプチド；

(ii)vWFCドメイン含有タンパク質ファミリーのメンバーであるか、又は(i)のポリペプチドと共通の抗原決定基を有する、(i)のフラグメント；又は

(iii)(i)又は(ii)の機能的等価物。

【００２１】

好ましくは、本発明の第３観点のポリペプチドは、配列番号12、配列番号16、配列番号47、配列番号49、配列番号51及び／又は配列番号53で示されるアミノ酸配列から成る。

好ましくは、本発明の第３観点の第４態様の抗原決定基、フラグメント又は機能的等価物は、配列番号12のアミノ酸位置53、74、76、78、85、90、97、105、106及び109の10個のシステイン残基のうち１個以上を含む。さらに好ましくは、これらシステイン残基の１個以上が、生理的条件下でジスルフィド結合の形成に関与する。なおさらに好ましくは、前記抗原決定基、フラグメント又は機能的等価物は、アミノ酸位置116、134、137、139、147、152、157、167、168及び171の10個のシステイン残基のうち１個以上を更に含む。

これ以降、配列番号６で示される配列を有するポリペプチドを“INSP124エクソン１ポリペプチド”と呼ぶ。これ以降、配列番号８で示される配列を有するポリペプチドを“INSP124エクソン２ポリペプチド”と呼ぶ。これ以降、配列番号10で示される配列を有するポリペプチドを“INSP124エクソン３ポリペプチド”と呼ぶ。

これ以降、配列番号12で示される配列を有するポリペプチドを“INSP124ポリペプチド”と呼ぶ。

INSP124は、ニューラリン(Neuralin)としても知られるベントロプチン(Ventroptin)、すなわち網膜内で二重勾配(double gradient)パターンで発現されるBMP-4（骨形成タンパク質4）アンタゴニストに類似していることが予測される。BMPは、特異的受容体を通じてシグナル伝達する多機能性分泌タンパク質である。BMPは軟骨形成で重要な役割を有することが、成体動物で異所性軟骨形成を誘導するBMPの能力により推論される（Chimal-Monroy J et al., Dev Biol. 2003 May 15;257(2):292-301）。

ベントロプチンはコーディンファミリーのメンバーであり、BMP2及びBMP4に拮抗することが知られている（Takahashi H et al., Development. 2003 Nov;130(21):5203-15）。ベントロプチンの誤発現は、網膜内の複数の組織分布的(topographic)遺伝子の発現パターンと、網膜の軸索の両軸に沿った視蓋への突出とを変化させた。従って、組織分布的網膜視蓋の突出は、２つの軸に沿った二重勾配分子ベントロプチンによって特定されると思われる（Sakuta H et al., Science. 2001 Jul 6;293(5527):111-5）。器官形成の間、ベントロプチンは、後根神経節、腸、骨格の硬化性軟骨及び発育毛包などの多数の組織において、広範な発現パターンを示す（Coffinier C et al., Mech Dev. 2001 Jan;100(1):119-22）。

【００２２】
ベントロプチンに構造的に最も相同性な新規なコーディン様タンパク質であるCHL2が、最近同定された。クセノプス(Xenopus)胚に注入すると、CHL2のRNAは第二頸椎を誘導した。CHL2は、発育中の関節と退化した関節との両方のヒアリン軟骨において、関節軟骨細胞の発生(又は再生)及び成熟に負の役割を果たし得ることが想定される（Nakayama N. et al., (2004) Jan;131(1):229-40）。
少数のESTデータ（その大部分が、げっ歯類EST由来である）は、INSP124配列が神経組織で見出されることを示唆している。
このような理論に拘泥されたくないが、INSP124エクソン１ポリペプチドの最初の23アミノ酸がシグナルペプチドを形成すると想定される。シグナル配列のないINSP124エクソン１ポリペプチド配列及びシグナル配列のないINSP124完全長ポリペプチド配列は、それぞれ配列番号14及び配列番号16で示される。これ以降、配列番号14で示される配列を有するポリペプチドを“INSP124エクソン１成熟ポリペプチド”と呼ぶ。これ以降、配列番号16で示される配列を有するポリペプチドを“INSP124成熟ポリペプチド”と呼ぶ。
或いは、このような理論に拘泥されたくないが、INSP124クローン化ポリペプチドの最初の22アミノ酸がシグナルペプチドを形成すると想定される。シグナル配列を有するINSP124クローン化完全長ポリペプチド配列及びシグナル配列のないINSP124クローン化完全長ポリペプチド配列は、それぞれ配列番号47及び配列番号49で示される。これ以降、配列番号47で示される配列を有するポリペプチドを“INSP124クローン化ポリペプチド”と呼ぶ。これ以降、配列番号49で示される配列を有するポリペプチドを“INSP124クローン化成熟ポリペプチド１”と呼ぶ。
【００２３】
或いは、かつ好ましくは、このような理論に拘泥されたくないが、INSP124クローン化ポリペプチドの最初の21アミノ酸がシグナルペプチドを形成すると想定される。シグナル配列を有するINSP124クローン化完全長ポリペプチド配列及びシグナル配列のないINSP124クローン化完全長ポリペプチド配列は、それぞれ配列番号47及び配列番号51で示される。これ以降、配列番号47で示される配列を有するポリペプチドを“INSP124クローン化ポリペプチド”と呼ぶ。これ以降、配列番号51で示される配列を有するポリペプチドを“INSP124クローン化成熟ポリペプチド２”と呼ぶ。
或いは、かつ好ましくは、このような理論に拘泥されたくないが、INSP124クローン化ポリペプチドの最初の31アミノ酸がシグナルペプチドを形成すると想定される。シグナル配列を有するINSP124クローン化完全長ポリペプチド配列及びシグナル配列のないINSP124クローン化完全長ポリペプチド配列は、それぞれ配列番号47及び配列番号53で示される。これ以降、配列番号47で示される配列を有するポリペプチドを“INSP124クローン化ポリペプチド”と呼ぶ。これ以降、配列番号53で示される配列を有するポリペプチドを“INSP124クローン化成熟ポリペプチド３”と呼ぶ。
本明細書で用いられる用語“INSP124エクソンポリペプチド”は、INSP124エクソン１ポリペプチド、INSP124エクソン２ポリペプチド、INSP124エクソン１成熟ポリペプチド、INSP124エクソン３ポリペプチド、INSP124ポリペプチド、INSP124成熟ポリペプチド１、INSP124成熟ポリペプチド２又はINSP124成熟ポリペプチド３を含むポリペプチド、並びにINSP124エクソン１ポリペプチド、INSP124エクソン１成熟ポリペプチド、INSP124エクソン２ポリペプチド、INSP124エクソン３ポリペプチド、INSP124ポリペプチド又はINSP124成熟ポリペプチドから成るポリペプチドを含む。
【００２４】
本発明の第３観点の第５態様では、以下の(i)～(iii)のいずれかのポリペプチドが提供される：
(i)配列番号18、配列番号20、配列番号22、配列番号24、配列番号26、配列番号28、配列番号30、配列番号55、配列番号57、配列番号59及び／又は配列番号61で示されるアミノ酸配列を含むポリペプチド；
(ii)vWFCドメイン含有タンパク質ファミリーのメンバーであるか、又は(i)のポリペプ

チドと共通の抗原決定基を有する、(i)のフラグメント；又は
(iii)(i)又は(ii)の機能的等価物。
本発明の第３観点の第６態様では、配列番号18、配列番号20、配列番号22、配列番号24、配列番号26、配列番号28、配列番号30、配列番号47、配列番号49、配列番号51及び／又は配列番号53で示されるアミノ酸配列から成るポリペプチドが提供される。
好ましくは、本発明の第３観点の第６態様の抗原決定基、フラグメント又は機能的等価物は、配列番号26のアミノ酸位置69、82、90、92、100、105、110、120、121及び124の10個のシステイン残基のうち１個以上を含む。さらに好ましくは、これらシステイン残基の１個以上が、生理的条件下でジスルフィド結合の形成に関与する。ジスルフィド結合の形成は、多くの場合、タンパク質の正確なコンホメーション、ひいてはその機能に欠くことができない。従って、このようなシステイン残基が保存されることが重要である。
【００２５】
これ以降、配列番号18で示される配列を有するポリペプチドを“INSP125エクソン１ポリペプチド”と呼ぶ。これ以降、配列番号20で示される配列を有するポリペプチドを“INSP125エクソン２ポリペプチド”と呼ぶ。これ以降、配列番号22で示される配列を有するポリペプチドを“INSP125エクソン３ポリペプチド”と呼ぶ。これ以降、配列番号24で示される配列を有するポリペプチドを“INSP125エクソン４ポリペプチド”と呼ぶ。
これ以降、配列番号26で示される配列を有するポリペプチドを“INSP125ポリペプチド”と呼ぶ。
少数のESTデータ（その大部分が、げっ歯類EST由来である）は、INSP125配列が神経組織で見出されることを示唆している。
このような理論に拘泥されたくないが、INSP125エクソン１ポリペプチドの最初の23アミノ酸がシグナルペプチドを形成すると想定される。シグナル配列のないINSP125エクソン１ポリペプチド配列及びシグナル配列のないINSP125完全長ポリペプチド配列は、それぞれ配列番28及び配列番号30で示される。これ以降、配列番号28で示される配列を有するポリペプチドを“INSP124エクソン１成熟ポリペプチド”と呼ぶ。これ以降、配列番号30で示される配列を有するポリペプチドを“INSP125成熟ポリペプチド”と呼ぶ。
或いは、このような理論に拘泥されたくないが、INSP125クローン化ポリペプチドの最初の22アミノ酸がシグナルペプチドを形成すると想定される。シグナル配列を有するINSP125クローン化完全長ポリペプチド配列及びシグナル配列のないINSP125クローン化完全長ポリペプチド配列は、それぞれ配列番号55及び配列番号57で示される。これ以降、配列番号55で示される配列を有するポリペプチドを“INSP125クローン化ポリペプチド”と呼ぶ。これ以降、配列番号57で示される配列を有するポリペプチドを“INSP125クローン化成熟ポリペプチド１”と呼ぶ。
【００２６】
或いは、かつ好ましくは、このような理論に拘泥されたくないが、INSP125クローン化ポリペプチドの最初の21アミノ酸がシグナルペプチドを形成すると想定される。シグナル配列を有するINSP125クローン化完全長ポリペプチド配列及びシグナル配列のないINSP125クローン化完全長ポリペプチド配列は、それぞれ配列番号55及び配列番号59で示される。これ以降、配列番号55で示される配列を有するポリペプチドを“INSP125クローン化ポリペプチド”と呼ぶ。これ以降、配列番号59で示される配列を有するポリペプチドを“INSP125クローン化成熟ポリペプチド２”と呼ぶ。
或いは、かつ好ましくは、このような理論に拘泥されたくないが、INSP125クローン化ポリペプチドの最初の31アミノ酸がシグナルペプチドを形成すると想定される。シグナル配列を有するINSP125クローン化完全長ポリペプチド配列及びシグナル配列のないINSP125クローン化完全長ポリペプチド配列は、それぞれ配列番号55及び配列番号61で示される。これ以降、配列番号55で示される配列を有するポリペプチドを“INSP125クローン化ポリペプチド”と呼ぶ。これ以降、配列番号61で示される配列を有するポリペプチドを“INSP125クローン化成熟ポリペプチド３”と呼ぶ。
本明細書では、用語“INSP125エクソンポリペプチド”は、INSP125エクソン１ポリペプ

チド、INSP125エクソン１成熟ポリペプチド、INSP125エクソン２ポリペプチド、INSP125エクソン３ポリペプチド、INSP125エクソン４ポリペプチド、INSP125ポリペプチド、INSP125成熟ポリペプチド１、INSP125成熟ポリペプチド２又はINSP125成熟ポリペプチド３を含むポリペプチド、並びにINSP125エクソン１ポリペプチド、INSP125エクソン１成熟ポリペプチド、INSP125エクソン２ポリペプチド、INSP125エクソン３ポリペプチド、INSP125エクソン４ポリペプチド、INSP125ポリペプチド又はINSP125成熟ポリペプチドから成るポリペプチドを含む。

【００２７】

本発明の第１観点で既に説明したように、vWFCドメインは軟骨及び骨格の発育に関係する疾患のような発生過程に関連する疾患を含む広い部門にわたる疾患で重要な役割を果たすことが分かっているので、vWFCドメインを含む新規タンパク質の同定は有用である。

第４観点では、本発明は、本発明の第２又は第３観点のポリペプチドをコードする精製核酸分子を提供する。

好ましくは、精製核酸分子は、配列番号１(INSP123ポリペプチドをコードする)、配列番号３(INSP123成熟ポリペプチドをコードする)、配列番号５(INSP124エクソン１ポリペプチドをコードする)、配列番号７(INSP124エクソン２ポリペプチドをコードする)、配列番号９(INSP124エクソン３ポリペプチドをコードする)、配列番号11(INSP124ポリペプチドをコードする)、配列番号13(INSP124成熟ポリペプチドをコードする)、配列番号15(INSP124エクソン１成熟ポリペプチドをコードする)、配列番号17(INSP125エクソン１ポリペプチドをコードする)、配列番号19(INSP125エクソン２ポリペプチドをコードする)、配列番号21(INSP125エクソン３ポリペプチドをコードする)、配列番号23(INSP125エクソン４ポリペプチドをコードする)、配列番号25(INSP125ポリペプチドをコードする)、配列番号27(INSP125エクソン１成熟ポリペプチドをコードする)、配列番号29(INSP125成熟ポリペプチドをコードする)、配列番号38(INSP123クローン化ポリペプチドをコードする)、配列番号40(INSP123クローン化成熟ポリペプチド１をコードする)、配列番号42(INSP123クローン化成熟ポリペプチド２をコードする)、配列番号44(INSP123クローン化成熟ポリペプチド３をコードする)、配列番号46(INSP124クローン化ポリペプチドをコードする)、配列番号48(INSP124クローン化成熟ポリペプチド１をコードする)、配列番号50(INSP124クローン化成熟ポリペプチド２をコードする)、配列番号52(INSP124クローン化成熟ポリペプチド３をコードする)、配列番号54(INSP125クローン化ポリペプチドをコードする)、配列番号56(INSP125クローン化成熟ポリペプチド１をコードする)、配列番号58(INSP125クローン化成熟ポリペプチド２をコードする)、及び／又は配列番号60(INSP125クローン化成熟ポリペプチドをコードする)で示される核酸配列を含むか、或いはこれら配列のいずれか１つの余剰的(redundant)等価物又はフラグメントである。

【００２８】

本発明はさらに、配列番号１(INSP123ポリペプチドをコードする)、配列番号３(INSP123成熟ポリペプチドをコードする)、配列番号５(INSP124エクソン１ポリペプチドをコードする)、配列番号７(INSP124エクソン２ポリペプチドをコードする)、配列番号９(INSP124エクソン３ポリペプチドをコードする)、配列番号11(INSP124ポリペプチドをコードする)、配列番号13(INSP124成熟ポリペプチドをコードする)、配列番号15(INSP124エクソン１成熟ポリペプチドをコードする)、配列番号17(INSP125エクソン１ポリペプチドをコードする)、配列番号19(INSP125エクソン２ポリペプチドをコードする)、配列番号21(INSP125エクソン３ポリペプチドをコードする)、配列番号23(INSP125エクソン４ポリペプチドをコードする)、配列番号25(INSP125ポリペプチドをコードする)、配列番号27(INSP125エクソン１成熟ポリペプチドをコードする)、配列番号29(INSP125成熟ポリペプチドをコードする)、配列番号38(INSP123クローン化ポリペプチドをコードする)、配列番号40(INSP123クローン化成熟ポリペプチド１をコードする)、配列番号42(INSP123クローン化成熟ポリペプチド２をコードする)、配列番号44(INSP123クローン化成熟ポリペプチド３をコードする)、配列番号46(INSP124クローン化ポリペプチドをコードする)、配列番号48(INSP124クローン化成熟ポリペプチド１をコードする)、配列番号50(INSP124クローン化成熟ポリ

ペプチド２をコードする)、配列番号52(INSP124クローン化成熟ポリペプチド３をコードする)、配列番号54(INSP125クローン化ポリペプチドをコードする)、配列番号56(INSP125クローン化成熟ポリペプチド１をコードする)、配列番号58(INSP125クローン化成熟ポリペプチド２をコードする)、及び／又は配列番号60(INSP125クローン化成熟ポリペプチド３をコードする)で示される核酸分子から成るか、或いはこれら配列のいずれか１つの余剰的等価物又はフラグメントである、精製核酸分子を提供する。

【００２９】

本発明のこの観点の一態様によると、精製核酸分子は、INSP123ポリペプチドの開始位置(配列番号２のアミノ酸１～23)、INSP124エクソン１ポリペプチドの開始位置(配列番号６のアミノ酸１～23)、INSP124ポリペプチドの開始位置(配列番号12のアミノ酸１～23)、INSP125エクソン１ポリペプチドの開始位置(配列番号18のアミノ酸１～23)又はINSP125ポリペプチドの開始位置(配列番号26のアミノ酸１～23)にあるシグナルペプチドを除外する。この態様によると、精製核酸分子は好ましくは、配列番号１のヌクレオチド70～417(配列番号３で示され、INSP123成熟ポリペプチドをコードする)、配列番号５のヌクレオチド70～390(配列番号13で示され、INSP124エクソン１成熟ポリペプチドをコードする)、配列番号11のヌクレオチド70～669(配列番号15で示され、INSP124成熟ポリペプチドをコードする)、配列番号17のヌクレオチド70～100(配列番号27で示され、INSP125エクソン１成熟ポリペプチドをコードする)又は配列番号25のヌクレオチド70～528(配列番号29で示され、INSP125成熟ポリペプチドをコードする)を含む。

或いは、本発明のこの観点の第２態様によると、精製核酸分子はINSP123ポリペプチドの開始位置(配列番号39のアミノ酸１～22)、INSP124ポリペプチドの開始位置(配列番号43のアミノ酸１～22)又はINSP125ポリペプチドの開始位置(配列番号47のアミノ酸１～22)にあるシグナル配列を除外する。この態様によると、精製核酸分子は好ましくは、配列番号38のヌクレオチド67～414(配列番号40で示され、INSP123クローン化成熟ポリペプチド１をコードする)、配列番号46のヌクレオチド67～666(配列番号48で示され、INSP124クローン化成熟ポリペプチド１をコードする)、又は配列番号54のヌクレオチド67～525(配列番号56で示され、INSP125クローン化成熟ポリペプチド１をコードする)を含む。

【００３０】

或いは、かつ好ましくは、本発明のこの観点の第３態様によると、精製核酸分子は、INSP123ポリペプチドの開始位置(配列番号39のアミノ酸１～21)、INSP124ポリペプチドの開始位置(配列番号47のアミノ酸１～21)又はINSP125ポリペプチドの開始位置(配列番号55のアミノ酸１～21)にあるシグナルペプチドを除外する。この態様によると、精製核酸分子は好ましくは、配列番号38のヌクレオチド64～414(配列番号42で示され、INSP123クローン化成熟ポリペプチド２をコードする)、配列番号46のヌクレオチド44～666(配列番号50で示され、INSP124クローン化成熟ポリペプチド２をコードする)、又は配列番号54のヌクレオチド64～525(配列番号58で示され、INSP125クローン化成熟ポリペプチド２をコードする)を含む。

或いは、かつ好ましくは、本発明のこの観点の第４態様によると、精製核酸分子はINSP123ポリペプチドの開始位置(配列番号39のアミノ酸１～31)、INSP124ポリペプチドの開始位置(配列番号47の１～31のアミノ酸)又はINSP125ポリペプチドの開始位置(配列番号55のアミノ酸１～31)にあるシグナルペプチドを除外する。この観点によると、精製核酸分子は好ましくは、配列番号38のヌクレオチド94～414(配列番号44で示され、INSP123クローン化成熟ポリペプチド３をコードする)、配列番号46のヌクレオチド94～666(配列番号52で示され、INSP124クローン化成熟ポリペプチド３をコードする)、又は配列番号54のヌクレオチド94～525(配列番号60で示され、INSP125クローン化成熟ポリペプチド３をコードする)を含む。

【００３１】

本発明はさらに、配列番号１のヌクレオチド70～417(配列番号３で示され、INSP123成熟ポリペプチドをコードする)、配列番号５のヌクレオチド70～390(配列番号13で示され、INSP124エクソン１成熟ポリペプチドをコードする)、配列番号11のヌクレオチド70～66

9(配列番号15で示され、INSP124成熟ポリペプチドをコードする)、配列番号17のヌクレオチド70～100(配列番号27で示され、INSP125エクソン１成熟ポリペプチドをコードする)、配列番号25のヌクレオチド70～528(配列番号29で示され、INSP125成熟ポリペプチドをコードする)、配列番号38のヌクレオチド67～414(配列番号40で示され、INSP123クローン化成熟ポリペプチド１をコードする)、配列番号38のヌクレオチド64～414(配列番号42で示され、INSP123クローン化成熟ポリペプチド２をコードする)、配列番号38のヌクレオチド94～414(配列番号44で示され、INSP123クローン化成熟ポリペプチド３をコードする)、配列番号46のヌクレオチド67～666(配列番号48で示され、INSP124クローン化成熟ポリペプチド１をコードする)、配列番号46のヌクレオチド44～666(配列番号50で示され、INSP124クローン化成熟ポリペプチド２をコードする)、配列番号46のヌクレオチド94～666(配列番号52で示され、INSP124クローン化成熟ポリペプチド３をコードする)、配列番号54のヌクレオチド67～525(配列番号56で示され、INSP125クローン化成熟ポリペプチド１をコードする)、配列番号54のヌクレオチド64～525(配列番号58で示され、INSP125クローン化成熟ポリペプチド２をコードする)、又は配列番号54のヌクレオチド94～525(配列番号60で示され、INSP125クローン化成熟ポリペプチド３をコードする)から成る精製核酸分子を提供する。

【００３２】

第５観点では、本発明は、高ストリンジェンシー条件下で本発明の第４観点の核酸分子とハイブリダイズする精製核酸分子を提供する。

第６観点では、本発明は、本発明の第４又は第５観点の核酸分子を含む、発現ベクターなどのベクターを提供する。好ましいベクターとして、pCR4-TOPO-INSP123(図９)、pDONR(図10)、pEAK12d(図11)、pDEST12.2(図12)、pENTR-INSP123-6HIS(図13)、pEAK12d-INSP123-6HIS(図14)、pDEST12.2-INSP123-6HIS(図15)、pCR4-BluntII-TOPO-INSP124(図19)、pDONR 221(図20)、pEAK12d(図21)、pDEST12.2(図22)、pENTR_INSP124-6HIS(図23)、pEAK12d_INSP124-6HIS(図24)、pDEST12.2_INSP124-6HIS(図25)、pCR4-TOPO-INSP125(図29)、pDONR 221(図30)、pEAK12d(図31)、pDEST12.2(図32)、pENTR_INSP125-6HIS(図33)、pEAK12d_INSP125-6HIS(図34)及びpDEST12.2_INSP125-6HIS(図35)などの発現ベクター類が挙げられる。

【００３３】

第７観点では、本発明は、本発明の第６観点のベクターで形質転換された宿主細胞を提供する。

第８観点では、本発明は、本発明の第２又は第３観点のvWFCドメイン含有タンパク質ファミリーのメンバーに特異的に結合するリガンドを提供する。

第９観点では、本発明は、本発明の第２又は第３観点のポリペプチドをコードする天然遺伝子の発現を変化させるのに、又は本発明の第２又は第３観点のポリペプチドの活性を調節するのに有効な化合物を提供する。

本発明の第９観点の化合物は、遺伝子の発現レベル又はポリペプチドの活性を増加（アゴニスト作用）又は低下（アンタゴニスト作用）させ得る。

重要なことには、INSP123、INSP124及びINSP125ポリペプチドの機能を同定することによって、疾患の治療及び／又は診断に有効な化合物を同定し得るスクリーニング方法の設計が可能となる。本発明の第８及び第９観点のリガンド及び化合物は、そのような方法を用いて同定され得る。これらの方法は、本発明の側面として包含される。

【００３４】

第10観点では、本発明は、vWFCドメイン含有タンパク質ファミリーのメンバーが関係している疾患の治療又は診断で使用するため、本発明の第２若しくは第３観点のポリペプチド、又は本発明の第４若しくは第５観点の核酸分子、又は本発明の第６観点のベクター、又は本発明の第７観点の宿主細胞、又は本発明の第８観点のリガンド、又は本発明の第９観点の化合物を提供する。このような疾患には、新生物、メラノーマ、肺腫瘍、結腸直腸腫瘍、乳房腫瘍、膵臓腫瘍、頭頚部腫瘍及び他の固形腫瘍を含む細胞増殖性疾患；白血病、非ホジキンリンパ腫、白血球減少症、血小板減少症、脈管形成障害、カポジ肉腫などの

骨髄増殖性疾患；アレルギー、炎症性腸疾患、関節炎、乾癬及び呼吸器管炎症、喘息、及び臓器移植拒絶反応を含む自己免疫／炎症性疾患；高血圧症、浮腫、狭心症、アテローム性動脈硬化症、血栓症、敗血症、ショック、再灌流傷害、及び虚血症を含む心臓血管障害；中枢神経系疾患、アルツハイマー病、脳損傷、筋萎縮性側索硬化症、及び疼痛を含む神経障害；骨関節炎を含む軟骨及び骨格発生に関連する障害などの発達障害；糖尿病、骨粗しょう症、及び肥満症を含む代謝障害；AIDS及び腎疾患；ウイルス感染症、細菌感染症、真菌感染症及び寄生虫感染症を含む感染症及び他の病的状態が挙げられる。好ましくは、これら疾患はvWFCドメイン含有タンパク質が関係している疾患である。これら分子は、このような疾患の治療用薬物の製造でも使用し得る。これら分子は、避妊又は不妊症を含む生殖障害の治療のためにも使用することができる。

【００３５】

本発明の第11観点では、本発明は、患者の疾患を診断する方法であって、前記患者由来の組織で、本発明の第２若しくは第３観点のポリペプチドをコードする天然遺伝子の発現レベル又は本発明の第２若しくは第３観点のポリペプチドの活性レベルを評価する工程、及び前記発現又は活性のレベルを対照レベルと比較する工程を含む方法を提供し、この場合前記対照レベルと異なるレベルは疾患の指標である。このような方法は、好ましくはin vitroで実施されるであろう。同様な方法は、患者における疾患の治療上の処置のモニタリングに使用され得る。この場合、時間の経過にしたがってポリペプチド又は核酸分子の発現若しくは活性のレベルが対照レベルに向かって変化することは、疾患の緩解を示している。

本発明の第２若しくは第３観点のポリペプチドを検出する好ましい方法は、以下の工程を含む：（ａ）本発明の第８観点のリガンド（例えば抗体）と生物学的サンプルとを、リガンド-ポリペプチド複合体の形成に適した条件下で接触させる工程；及び（ｂ）前記複合体を検出する工程。

当業者には明らかなように、短いプローブによる核酸ハイブリダイゼーション法、点変異分析、ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）増幅、及び抗体を用いて異常なタンパク質レベルを検出する方法のような、本発明の第11観点の該方法のいくつかの異なる方法がある。同様な方法を短期又は長期ベースで用いて、患者における疾患の治療上の処置をモニターすることを可能にすることができる。本発明は、これら疾患の診断方法に有用なキットをも提供する。

【００３６】

第12観点では、本発明は、vWFCドメイン含有タンパク質としての本発明の第２又は第３観点のポリペプチドの使用を提供する。vWFCドメイン含有タンパク質としての本発明のポリペプチドの好適な使用として、細胞の成長、代謝若しくは分化のレギュレーターとしての使用、受容体／リガンド対の一部としての使用及び生理的若しくは病的状態の診断マーカーとしての使用が挙げられる。

第13観点では、本発明は、薬学的に許容し得る担体と共に、本発明の第２若しくは第３観点のポリペプチド、又は本発明の第４若しくは第５観点の核酸分子、又は本発明の第６観点のベクター、又は本発明の第７観点の宿主細胞、又は本発明の第８観点のリガンド、又は本発明の第９観点の化合物を含む医薬組成物を提供する。

第14観点では、本発明は、疾患の診断又は治療用薬物の製造で使用するための、本発明の第２若しくは第３観点のポリペプチド、又は本発明の第４若しくは第５観点の核酸分子、又は本発明の第６観点のベクター、又は本発明の第７観点の宿主細胞、又は本発明の第８観点のリガンド、又は本発明の第９観点の化合物を提供する。

第15観点では、本発明は、患者の疾患の治療方法であって、前記患者に、本発明の第２若しくは第３観点のポリペプチド、又は本発明の第４若しくは第５観点の核酸分子、又は本発明の第６観点のベクター、又は本発明の第７観点の宿主細胞、又は本発明の第８観点のリガンド、又は本発明の第９観点の化合物を投与することを含む方法を提供する。

【００３７】

本発明の第２若しくは第３観点のポリペプチドをコードする天然遺伝子の発現、又は本

発明の第２若しくは第３観点のポリペプチドの活性が、健常な対象者の発現又は活性レベルと比較したとき罹患対象者で低い疾患については、患者に投与されるポリペプチド、核酸分子、リガンド又は化合物がアゴニストであるべきである。逆に、天然遺伝子の発現又はポリペプチドの活性が、健常な対象者の発現又は活性レベルと比較したとき罹患対象者で高い疾患については、患者に投与されるポリペプチド、核酸分子、リガンド又は化合物がアンタゴニストであるべきである。このようなアンタゴニストの例として、アンチセンス核酸分子、リボザイム及びリガンド（例えば抗体）が挙げられる。

第16観点では、本発明は、本発明の第２若しくは第３観点のポリペプチドを高レベルで、又は低レベルで発現させるために、又は全く発現させないように形質転換したトランスジェニック又は遺伝子ノックアウト非ヒト動物を提供する。このようなトランスジェニック動物は、疾患の研究用モデルとして非常に有用であり、このような疾患の治療又は診断に有効な化合物の同定用スクリーニング方法で用いることもできる。

【００３８】

本発明を利用するために用いることができる標準的な技術及び方法の要旨については後述する。この発明は、記載される特定の方法論、プロトコル、細胞株、ベクター及び試薬に限定されないことは理解されるだろう。本明細書で用いられる専門用語は単に特定の態様を説明するためのものであり、この用語によって本発明の範囲を限定しようとするものではないことも理解されるだろう。本発明の範囲は添付の請求の範囲の用語によってのみ限定される。

この明細書では、ヌクレオチド及びアミノ酸についての標準的な略語が用いられる。

本発明の実施は、別に指定しない限り、分子生物学、微生物学、組換えDNA技術及び免疫学の通常の技術を利用する。このような技術は当業者の理解の範囲内である。

【００３９】

このような技術は文献で完全に説明されている。特に適切な解説書の例として以下のものが挙げられる：Sambrook Molecular Cloning; A Laboratory Manual, Second Edition (1989); DNA Cloning, Volumes I and II (D.N Glover ed. 1985); Oligonucleotide Synthesis (M.J. Gait ed. 1984); Nucleic Acid Hybridization (B.D. Hames & S.J. Higgins eds. 1984); Transcription and Translation (B.D. Hames & S.J. Higgins eds. 1984); Animal Cell Culture (R.I. Freshney ed. 1986); Immobilized Cells and Enzymes (IRL Press, 1986); B. Perbal, A Practical Guide to Molecular Cloning (1984); the Methods in Enzymology series (Academic Press, Inc.), especially volumes 154 & 155; Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells (J.H. Miller and M.P. Calos eds. 1987, Cold Spring Harbor Laboratory); Immunochemical Methods in Cell and Molecular Biology (Mayer and Walker, eds. 1987, Academic Press, London); Scopes, (1987) Protein Purification: Principles and Practice, Second Edition (Springer Verlag, N.Y.); and Handbook of Experimental Immunology, Volumes I-IV (D.M. Weir and C. C. Blackwell eds. 1986)。

【００４０】

本明細書において用いる“ポリペプチド”という用語は、ペプチド結合又は改変ペプチド結合によって互いに結合した２以上のアミノ酸を含むいずれかのペプチド又はタンパク質を包含する。前記改変ペプチド結合によるものは、すなわちペプチドイソスターである。この用語は、短鎖（ペプチド及びオリゴペプチド）及び長鎖（タンパク質）の両方を指す。

本発明のポリペプチドは成熟タンパク質の形態を有するものでもよく、またプレ-、プロ-又はプレプロ-タンパク質であってプレ-、プロ-又はプレプロ-部分の切断によって活性化されて活性な成熟ポリペプチドを生じるタンパク質でもよい。そのようなポリペプチドでは、プレ-、プロ-又はプレプロ-配列がリーダー配列若しくは分泌配列であっても、又は成熟ポリペプチド配列の精製のために用いられる配列であってもよい。

本発明の第２若しくは第３観点のポリペプチドは、融合タンパク質の一部分を形成することができる。例えば、１以上の付加アミノ酸配列を含むことが有利なことが多い。前記

付加アミノ酸配列は、分泌若しくはリーダー配列、プロ-配列、精製に役立つ配列、又は例えば組換え生産の間により高いタンパク質安定性を付与する配列を含んでもよい。代わりに、又は前記に加えて、前記成熟ポリペプチドを別の化合物、例えば前記ポリペプチドの半減期を増加させるような化合物（例えばポリエチレングリコール）と融合させることができる。

【００４１】

ポリペプチドは、天然のプロセス（例えば翻訳後プロセッシング）によって、又は本技術分野で周知の化学的改変技術によって改変された、20個の遺伝子コードアミノ酸以外のアミノ酸を含んでいてもよい。本発明のポリペプチドに一般的に存在する公知の改変には、グリコシル化、脂質付加、硫化、γ-カルボキシル化（例えばグルタミン酸残基の）、ヒドロキシル化及びADP-リボシル化がある。他の可能な改変には、アセチル化、アシル化、アミド化、フラビンの共有結合付加、ヘム部分の共有結合付加、ヌクレオチド又はヌクレオチド誘導体の共有結合付加、脂質誘導体の共有結合付加、ホスファチジルイノシトールの共有結合付加、架橋、環状化、ジスルフィド結合形成、脱メチル化、共有結合架橋の形成、システィンの形成、ピログルタメートの形成、ホルミル化、GPIアンカー形成、ヨード化、メチル化、ミリストイル化、酸化、タンパク分解性プロセッシング、リン酸化、プレニル化、ラセミ化、セレノイル化、タンパク質へのトランスファーRNA媒介性アミノ酸付加（例えばアルギニル化）、及びユビキチン結合が含まれる。

改変は、ペプチド骨格、アミノ酸側鎖及びアミノ末端又はカルボキシル末端を含むポリペプチド内のいずれの場所に存在してもよい。実際、共有結合改変によるポリペプチドのアミノ末端若しくはカルボキシル末端又はその両端の閉塞(blockage)は、天然に存在するポリペプチド及び合成ポリペプチドで一般的であり、そのような改変は本発明のポリペプチドにも存在し得る。

【００４２】

ポリペプチドで起こる改変は、多くの場合ポリペプチドが生成される方法の関数であろう。組換えによって生成されるポリペプチドについて、改変の性質及び程度は大部分が、特定の宿主細胞の翻訳後改変能力及び問題のポリペプチドのアミノ酸配列に存在している改変シグナルによって決定されるであろう。例えば、グリコシル化パターンは、異なる種類の宿主細胞間で変動する。

本発明のポリペプチドは、任意の適切な様式で調製することができる。そのようなポリペプチドには、単離された天然に存在するポリペプチド（例えば、細胞培養物から精製される）、組換え的に生成されたポリペプチド（融合タンパク質を含む）、合成的に生成されたポリペプチド又はこれら方法の組合せによって生成されたポリペプチドが含まれる。

本発明の第３観点の機能的に等価なポリペプチドは、INSP123、INSP124及びINSP125ポリペプチドと相同なポリペプチドであり得る。本明細書で用いる用語として、２個のポリペプチドは、前記ポリペプチドの一方の配列が他方のポリペプチドの配列に対して充分に高度の同一性又は類似性を有する場合、“相同である”と言われる。“同一性”とは、アラインメントを施した配列のどの特定の場所においても、アミノ酸残基が前記配列間で同一であることを示す。“類似性”は、アラインメントを施した配列のいずれの特定の場所においても、アミノ酸残基が前記配列間で類似の種類であることを示す。同一性及び類似性の度合いは、容易に計算できる（Computational Molecular Biology, Lesk, A.M., ed., Oxford University Press, New York, 1988; Biocomputing. Informatics and Genome Projects, Smith, D.W., ed., Academic Press, New York, 1993; Computer Analysis of Sequence Data, Part 1, Griffin, A.M., and Griffin, H.G., eds., Humana Press, New Jersey, 1994; Sequence Analysis in Molecular Biology, von Heinje, G., Academic Press, 1987; and Sequence Analysis Primer, Gribskov, M. and Devereux, J., eds., M Stockton Press, New York, 1991）。

【００４３】

従って、相同なポリペプチドには、INSP123、INSP124及びINSP125ポリペプチドの天然の生物学的変種（例えば前記ポリペプチドが由来した種における対立形質変種又は地理的

変種）及び変異体（例えばアミノ酸置換、挿入又は欠失を含む変異体）が含まれる。前記変異体は、１個又は２個以上のアミノ酸残基が保存的又は非保存的アミノ酸残基（好ましくは保存的アミノ酸残基）で置換されているポリペプチドを含んでもよく、さらにそのような置換アミノ酸残基は遺伝コードでコードされたものでもそうでなくてもよい。典型的な前記の置換は、Ala、Val、Leu及びIle間で；SerとThr間で；酸性残基AspとGlu間で；AsnとGln間で；塩基性残基LysとArg間で；又は芳香族残基PheとTyr間で生じる。特に好ましいものは、いくつか（すなわち5から10、1から5、1から3、1から2、又はちょうど1個）のアミノ酸が任意の組合せで置換、欠失又は付加された変種である。とりわけ好ましいものは、タンパク質の特性及び活性を変化させないサイレント置換、付加及び欠失である。また、その際とりわけ好ましいものは、保存的置換である。前記変異体にはまた、１個又は２個以上のアミノ酸残基が置換基を含むポリペプチドも含まれる。

【００４４】

典型的には、２個のポリペプチド間で30％を超える同一性が、機能的等価物の指標であると考えられる。好ましくは、本発明の第２若しくは第３観点の機能的に等価なポリペプチドは、INSP123、INSP124若しくはINSP125ポリペプチド又はそれらの活性なフラグメントと、80％を超える程度の配列同一性を有する。より好ましいポリペプチドは、それぞれ85％、90％、95％、98％又は99％を超える程度の同一性を有する。

本発明の第２若しくは第３観点の機能的に等価なポリペプチドはまた、構造的アラインメントの１又は２以上の技術を用いて同定されたポリペプチドであってもよい。例えば、バイオペンジウム(Biopedium^{TM})検索データベースの作製に用いられる検索ツールの一角を構成するインファーマティカ=ゲノムスレッダー（Inpharmatica Genome Threader）技術を用いて（PCT特許出願WO 01/69507参照）、INSP123、INSP124及びINSP125ポリペプチドと比較して低い配列同一性しかもたないが、INSP123、INSP124及びINSP125ポリペプチド配列と有意な構造的相同性を共有するという理由からvWFCドメイン含有タンパク質ファミリーのメンバーであると予測される、現在のところ機能が未知なポリペプチドを同定することができる。“有意な構造的相同性”とは、インファーマティカ=ゲノムスレッダーが、２つのタンパク質は少なくとも10％以上の確実性を有して構造的相同性を共有すると予測することを意味する。

本発明の第２若しくは第３観点のポリペプチドはまた、INSP123、INSP124及びINSP125ポリペプチドのフラグメント並びにINSP123、INSP124及びINSP125ポリペプチドの機能的等価物のフラグメントを含むが、ただし、これらフラグメントがvWFC含有タンパク質ファミリーのメンバーであるか、又はINSP123、INSP124及びINSP125ポリペプチドと共通の抗原決定基を有することを条件とする。

【００４５】

本明細書において用いる、“フラグメント”という用語は、INSP123、INSP124、及びINSP125ポリペプチド又はその機能的等価物の１つのいずれかのアミノ酸配列の一部（全体ではないが）と同じアミノ酸配列を有するポリペプチドを指す。前記フラグメントは、前記配列に由来する少なくともｎ個の連続するアミノ酸を含むべきであり、さらに個々の配列に応じてｎは、好ましくは７又はそれより大きい（例えば8、10、12、14、16、18、20又はそれより大きい）。小さなフラグメントは、抗原決定基を構成することができる。

完全長INSP123、INSP124及びINSP125ポリペプチドのフラグメントは、INSP123、INSP124及びINSP125ポリペプチド配列内のそれぞれ２、３又は４個の隣接するエクソン配列の組合せから成り得る。

このようなフラグメントは、“独立的存在(free-standing)”（すなわち、他のアミノ酸若しくはポリペプチドの一部でもなく、他のアミノ酸若しくはポリペプチドの一部に融合されているのでもない）であってもよく、又はより大きなポリペプチドに含まれて、前記ポリペプチドの一部分又は領域を形成してもよい。より大きなポリペプチド内に含まれている場合、本発明のフラグメントは、最も好ましくは連続するただ１つの領域を形成する。例えばある種の好ましい態様は、前記フラグメントのアミノ末端に融合したプレ-及び／又はプロ-ポリペプチド領域を有するフラグメント、及び／又は前記フラグメントの

カルボキシル末端に融合した付加的領域を有するフラグメントに関する。しかし、いくつかのフラグメントがただ１つのより大きなポリペプチド内に含まれていてもよい。

本発明のポリペプチド又はその免疫原性フラグメント（少なくとも１つの抗原決定基を含む）を用いて、例えばポリクローナル又はモノクローナル抗体といった、前記ポリペプチドに免疫特異的なリガンドを作製することができる。そのような抗体を用いて、本発明のポリペプチドを発現しているクローンを単離若しくは同定するか、又はアフィニティークロマトグラフィーで本発明のポリペプチドを精製することができる。前記抗体はまた、当業者には明らかなように、他の用途のうち診断的又は治療的補助としても用いることができる。

【００４６】

“タンパク質”という用語は、限定するものではないが、酵素として作用する当該ポリペプチドを含むタイプのポリペプチドを意味する。好ましくは、本発明のタンパク質又はポリペプチドはリガンドとして作用する。この文脈におけるリガンドは、受容体のような別の分子に結合する分子を意味する。リガンドは酵素の補足因子であり得る。“免疫特異的”という用語は、抗体が、従来技術における他の関連ポリペプチドに対する親和性よりも、本発明のポリペプチドに対して実質的に強い親和性を有することを意味する。本明細書で用いる“抗体”という用語は、完全な分子だけでなく問題の抗原決定基と結合することができるそのフラグメント、例えばFab、$F(ab')_2$及びFvも指す。従って、そのような抗体は、本発明の第２又は第３観点のポリペプチドと結合する。

【００４７】

ポリクローナル抗体が所望される場合、選択される哺乳類（例えばマウス、ウサギ、ヤギ又はウマ）を本発明の第２又は第３観点のポリペプチドで免疫し得る。動物を免疫するために用いられるポリペプチドは、組換えDNA技術によって誘導してもよく、又は化学的に合成してもよい。所望する場合には、前記ポリペプチドを担体タンパク質と結合させることができる。前記ポリペプチドと化学的に結合させ得る一般的に用いられる担体として、ウシ血清アルブミン、チログロブリン及びキーホールリンペットヘモシアニンが挙げられる。次に、前記担体結合ポリペプチドを用いて動物を免疫する。免疫した動物から血清を採集し、既知手順（例えばイムノアフィニティークロマトグラフィー）で処理する。

当業者は、本発明の第２又は第３観点のポリペプチドに対するモノクローナル抗体も容易に生成できる。ハイブリドーマ技術を用いてモノクローナル抗体を作製する一般的な方法論は周知である（例えば以下を参照されたい：G. Kohler & C. Milstein, Nature 256：495－497(1975)； Kozbor et al., Immunology Today 4：72(1983)； Cole et al., 77－96 “Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy”, Alan R. Liss, Inc. (1985)）。

【００４８】

本発明の第２又は第３観点のポリペプチドに対して産生されたモノクローナル抗体のパネル(panels)を種々の特性、すなわちアイソタイプ、エピトープ、親和性などについてスクリーニングすることができる。モノクローナル抗体は、それらを産生させる個々のポリペプチドの精製に特に有用である。あるいは、問題のモノクローナル抗体をコードする遺伝子を、例えば当該技術分野で知られるPCR技術によってハイブリドーマから単離し、さらにクローン化し、適切なベクターで発現させることができる。

また、非ヒト可変領域がヒト定常領域と結合又は融合されているキメラ抗体（例えば以下を参照されたい：Liu et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 84：3439 (1987)）も有用であり得る。

抗体は、例えばヒト化により、改変して個体での免疫原性を減少させることができる（例えば以下を参照されたい：Jones et al., Nature,321：522(1986)； Verhoeyen et al., Science, 239：1534(1988)； Kabat et al., J. Immunol., 147：1709(1991)； Queen et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 86：10029(1989)； Gorman et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 88：34181(1991)； Hodgson et al., Bio/Technology 9：421(1991)；及びHodgson et al., Bio/Technology, 9, 421 (1991)）。本明細書で用いられる“ヒト化抗体”という用語は、非ヒトドナー抗体の重鎖及び／又は軽鎖の可変ドメイン中のCDR

アミノ酸及び選択した他のアミノ酸がヒト抗体の等価なアミノ酸に代えて置換されている抗体分子を指す。従って、ヒト化抗体はヒトの抗体とよく似ているが、ドナー抗体の結合能力を有する。

【００４９】

また別の選択肢では、前記抗体が、２つの異なる抗原結合ドメインを有し、その各ドメインは異なるエピトープに向けられている“二重特異性”抗体であってもよい。

ファージディスプレー技術を用いて、本発明のポリペプチドに対する結合活性を有する抗体をコードしている遺伝子を、関連する抗体の保有についてスクリーニングされたヒト由来のリンパ球のPCR増幅V-遺伝子レパートリー、又は未感作ライブラリーのいずれかから選択することができる（McCafferty, J. et al., (1990), Nature 348, 552-554; Marks, J. et al., (1992) Biotechnology 10, 779-783）。これら抗体の親和性は、鎖のシャッフリングによって改善することもできる（Clackson, T. et al., (1991) Nature 352, 624-628）。

上記技術によって生成された抗体は、ポリクローナルであれモノクローナルであれ、免疫アッセイ、ラジオイムノアッセイ（RIA）又は酵素結合免疫吸着アッセイ（ELISA）で試薬として用いることができるという点で、更なる有用性を有する。これらの用途では、これら抗体を、分析的に検出可能な試薬（例えば放射性同位元素、蛍光分子又は酵素）で標識することができる。

本発明の第４及び第５観点の好ましい核酸分子は、配列番号２、配列番号４、配列番号６、配列番号８、配列番号10、配列番号12、配列番号14、配列番号16、配列番号18、配列番号20、配列番号22、配列番号24、配列番号26、配列番号28、配列番号30、配列番号39、配列番号41、配列番号43、配列番号45、配列番号47、配列番号49、配列番号51、配列番号53、配列番号55、配列番号57、配列番号59及び配列番号61に記載のポリペプチド配列並びに機能的に等価なポリペプチドをコードするものである。これら核酸分子は、本明細書に記載される方法及び用途で用いることができる。本発明の核酸分子は、好ましくは本明細書で開示される配列に由来する少なくともｎ個の連続するヌクレオチドを含み、この場合、前記個々の配列に応じてｎは10又はそれより大きい（例えば12、14、15、18、20、25、30、35、40又はそれより大きい）。

【００５０】

本発明の核酸分子は、上述した核酸分子に相補的な配列も含む（例えばアンチセンス又はプローブとしての目的のため）。

本発明の核酸分子は、RNA（例えばmRNA）、又はDNA（例えばcDNA、合成DNA又はゲノムDNAを含む）の形態でよい。そのような核酸分子は、クローニングによって、化学合成によって、又はそれらの組合せによって得ることができる。前記核酸分子は、固相ホスホルアミダイト化学合成のような技術を用いる化学合成によって、ゲノム若しくはcDNAライブラリーから、又は生物体からの分離によって調製することができる。RNA分子は、一般的にはDNA配列のin vitro又はin vivo転写によって生成し得る。

核酸分子は、二本鎖でも一本鎖でもよい。一本鎖DNAは、コード鎖（センス鎖としても知られる）でも、非コード鎖（アンチセンス鎖とも称される）でもよい。

“核酸分子”という用語には、DNA及びRNAの類似体（例えば改変骨格を含むもの）、並びにペプチド核酸（PNA）も含まれる。本明細書で用いられる“PNA”という用語は、アンチセンス分子又は抗遺伝子作用因子を指し、長さが少なくとも５ヌクレオチドであってアミノ酸残基のペプチド骨格に結合されたオリゴヌクレオチドを含む。前記ペプチド骨格は好ましくはリジンで終わり、前記末端リジンは当該組成物に可溶性を付与する。PNAは、PEG化されて細胞内での寿命が延長されてもよい｛細胞内では、PNAは優先的に相補性一本鎖DNA及びRNAと結合して転写物の伸長を停止させる（Nielsen, P.E. et al. (1993) Anticancer Drug Des. 8:53-63）｝。

【００５１】

この発明のポリペプチドをコードする核酸分子は、本明細書で開示される１又は２以上の核酸分子のコード配列と同一であり得る。

これらの分子はまた、遺伝コードの縮退の結果として、ポリペプチド配列番号２、配列番号４、配列番号６、配列番号８、配列番号10、配列番号12、配列番号14、配列番号16、配列番号18、配列番号20、配列番号22、配列番号24、配列番号26、配列番号28、配列番号30、配列番号39、配列番号41、配列番号43、配列番号45、配列番号47、配列番号49、配列番号51、配列番号53、配列番号55、配列番号57、配列番号59及び/又は配列番号61をコードする配列と異なる配列を有してもよい。そのような核酸分子には、それ自体で成熟なポリペプチドのコード配列；成熟ポリペプチドと付加的なコード配列（例えばリーダー配列又は分泌配列をコードするもの）とのコード配列、例えばプロ-、プレ-又はプレプロ-ポリペプチド配列をコードするもの；前述の付加的なコード配列を伴って、又は伴わないで、さらに、転写（終止シグナルを含む）、リボソーム結合及びmRNA安定性において役割を果たす転写非翻訳配列などの付加的な非コード配列（非コード5’及び3’配列を含む）を伴う成熟ポリペプチドのコード配列が含まれるが、これらに限定するものではない。前記核酸分子は、更なる機能性を提供するアミノ酸のような付加アミノ酸をコードする付加配列を含むこともできる。

【００５２】

本発明の第４及び第５観点の核酸分子は、本発明の第２又は第３観点のポリペプチド及びフラグメントのフラグメント又は機能的等価物をもコードし得る。そのような核酸分子は、天然に存在する変種（例えば天然に存在する対立形質変種）であっても、又は前記分子は天然に存在することが知られていない変種であってもよい。このような天然に存在しない核酸分子の変種は、突然変異誘導技術（核酸分子、細胞又は生物に対して適用される技術を含む）によって生じさせ得る。

このような変種の中では、特にヌクレオチドの置換、欠失又は挿入によって前述の核酸分子と異なる変種が挙げられる。置換、欠失又は挿入には、１又は２以上のヌクレオチドが関与し得る。変種は、コード領域若しくは非コード領域又はその両方において変化していてもよい。コード領域における変化は、保存的又は非保存的なアミノ酸置換、欠失又は挿入を引き起こし得る。

本発明の核酸分子はまた、多様な理由で、当技術分野で一般的に知られている方法を用いて操作することができ、前記方法としては、遺伝子産物（ポリペプチド）のクローニング、プロセッシング及び／又は発現の改変が挙げられる。ランダムフラグメント化によるDNAシャッフリング並びに遺伝子フラグメント及び合成オリゴヌクレオチドのPCRリアッセンブリーは、ヌクレオチド配列の操作で使用し得る技術に含まれる。部位特異的突然変異誘導を用いて、新規な制限部位の挿入、グリコシル化パターンの変更、コドンの優先性の変化、スプライシング変種の生成、変異の導入などを行うことができる。

【００５３】

本発明の第２又は第３観点のポリペプチドをコードする核酸分子は、複合(combined)核酸分子が融合タンパク質をコードするように、異種配列に連結されてもよい。このような複合核酸分子は本発明の第４又は第５観点に包含される。例えば、本発明のポリペプチドの活性の阻害物質についてペプチドライブラリーをスクリーニングするために、前記のような複合核酸分子を用いて、市販の抗体により認識され得る融合タンパク質を発現させることは有用だろう。融合タンパク質はまた、本発明のポリペプチド配列と異種タンパク質配列との間に位置する切断部位を含むように操作し、それによって前記ポリペプチドを異種タンパク質から切り離して精製することができるようにしてもよい。

本発明の核酸分子には、本発明のポリペプチドをコードする核酸分子と部分的に相補的であり、従ってそのコード核酸分子とハイブリダイズする（ハイブリダイゼーション）アンチセンス分子も含まれる。そのようなアンチセンス分子（例えばオリゴヌクレオチド）は、当業者にはよく知られるように、本発明のポリペプチドをコードする標的核酸を認識し、その標的核酸と特異的に結合してその転写を妨げるように設計することができる（例えば以下の文献を参照されたい：Cohen, J.S., Trends in Pharm. Sci., 10, 435 (1989), Okano, J. Neurochem. 56, 560 (1991); O'Connor, J. Neurochem 56, 560 (1991); Lee et al., Nucleic Acids Res 6, 3073 (1979); Cooney et al., Science 241, 456 (198

8); Dervan et al., Science 251, 1360 (1991))。

【００５４】

本明細書で用いられる“ハイブリダイゼーション”という用語は、２つの核酸分子が水素結合によって互いに会合することを指す。典型的には、１つの分子が固形支持体に固定され、他方は溶液中で遊離しているであろう。次に、水素結合に適した条件下、２つの分子を互いに接触して置くことができる。この結合に影響する因子には以下が含まれる：溶媒の種類及び体積；反応温度；ハイブリダイゼーションの時間；撹拌；液相分子の固形支持体への非特異的結合を妨害する薬剤（デンハルト試薬、又はBLOTTO）；分子の濃度；分子の結合速度を増加させる化合物の使用（硫酸デキストラン又はポリエチレングリコール）；及びハイブリダイゼーションに続く洗滌条件のストリンジェンシー（Sambrook et al.（上掲書）を参照されたい）。

完全に相補的な分子と標的分子とのハイブリダイゼーションの阻害は、当業者に知られるハイブリダイゼーションアッセイを用いて調べることができる（例えばSambrook et al.（上掲書）を参照されたい）。従って、文献（Wahl, G.M. and S.L. Berger (1987; Methods Enzymol. 152:399-407)及びKimmel, A.R. (1987; Methods Enzymol. 152:507-511）で教示されるように、実質的に相同な分子は、種々のストリンジェンシー条件下、完全に相同な分子の標的分子への結合で競合し、かつその結合を阻害するだろう。

“ストリンジェンシー”とは、異なる分子の会合よりも非常に類似した分子の会合に適したハイブリダイゼーション反応の条件を指す。高ストリンジェンシーのハイブリダイゼーション条件は、以下を含む溶液（50％のホルムアミド、5倍のSSC（150mM NaCl、15mMクエン酸三ナトリウム）、50mMリン酸ナトリウム（pH7.6）、5倍のデンハルト溶液、10％の硫酸デキストラン、及び20μg/mLの変性せん断サケ精子DNA）中で42℃にて一晩インキュベーションし、続いてフィルターを約65℃にて0.1倍のSSC中で洗滌すると定義される。低ストリンジェンシー条件は、35℃にて実施されるハイブリダイゼーション反応を含む（Sambrook et al.（上掲書）を参照されたい）。好ましくは、ハイブリダイゼーションに用いられる条件が高ストリンジェンシー条件である。

【００５５】

本発明のこの観点の好ましい態様は、INSP123、INSP124又はINSP125ポリペプチドをコードする核酸分子の全長にわたって少なくとも70％同一である核酸分子、並びにそのような核酸分子と実質的に相補的な核酸分子である。好ましくは、本発明のこの観点の核酸分子は、このようなコード配列の全長にわたって少なくとも80％同一な領域を含むか、又はそれらと相補的な核酸分子である。これに関しては、そのような核酸配列の全長にわたって少なくとも90％、好ましくは少なくとも95％、さらに好ましくは少なくとも98％、99％又はそれ以上に同一な核酸分子が特に好ましい。この観点の好ましい態様は、INSP123、INSP124及びINSP125ポリペプチドと同じ生物学的機能又は活性を実質的に保持するポリペプチドをコードしている核酸分子である。

本発明はまた、以下の工程を含む、本発明の核酸分子を検出する方法を提供する：（ａ）二重鎖を形成するハイブリダイゼーション条件下で、本発明の核酸プローブを生物学的サンプルと接触させる工程；及び（ｂ）形成された前記の二重鎖を全て検出する工程。

【００５６】

本発明に従って利用し得るアッセイに関連して下記でさらに考察するように、上述の核酸分子をRNA、cDNA又はゲノムDNAに対するハイブリダイゼーションプローブとして用いてINSP123、INSP124及びINSP125ポリペプチドをコードする完全長cDNA及びゲノムクローンを単離し、さらにこのポリペプチドをコードする遺伝子と高い配列類似性を有する相同遺伝子又はオーソログ遺伝子のcDNA又はゲノムクローンを単離することができる。

これに関しては、当技術分野で既知の他の技術のうち、特に以下の技術を利用することができる。これらの技術は、例示として下記で考察される。DNAのシークエンシング及び解析の方法は周知であって、当技術分野では一般的に利用可能であり、本明細書で考察される本発明の態様の多くを実施するために実際に用いることができる。そのような方法では、DNAポリメラーゼＩのクレノウフラグメント、シークエナーゼ（US Biochemical Corp

., Cleaveland, OH）、Taqポリメラーゼ（Perkin Elmer）、耐熱性T7ポリメラーゼ（Amersham, Chicago, IL）、又はポリメラーゼと校正エキソヌクレアーゼの組合せ（例えば市販（Gibco/BRL, Gaithersburg, MD）のELONGASE増幅システムで見出されるようなもの）のような酵素を利用することができる。好ましくは、シークエンシング過程は、例えばハミルトンマイクロラブ（Hamilton Micro Lab）2200（Hamilton, Reno, NV）、ペルティエサーマルサイクラー（Peltier Thermal Cycler）PTC200（MJ Research, Watertown, MA）、ABIカタリスト並びに373及び377DNAシークエンサー（Perkin Elmer）のような機器を用いて自動化することができる。

【００５７】

INSP123、INSP124及びINSP125ポリペプチドの機能と等価な機能を有するポリペプチドをコードする核酸分子を単離する方法の１つは、当技術分野で知られている標準的な手法を用い、天然のプローブ又は人工的に設計したプローブによりゲノムライブラリー又はcDNAライブラリーを探索することである（例えば以下の文献を参照されたい：“Current Protocols in Molecular Biology”, Ausubel et al.(eds). Greene Publishing Association and John Wiley Interscience, New York, 1989, 1992）。特に有用なプローブは、適切なコード遺伝子（配列番号１、配列番号３、配列番号５、配列番号７、配列番号９、配列番号11、配列番号13、配列番号15、配列番号17、配列番号19、配列番号21、配列番号23、配列番号25、配列番号27、配列番号29、配列番号38、配列番号40、配列番号42、配列番号44、配列番号46、配列番号48、配列番号50、配列番号52、配列番号54、配列番号56、配列番号58及び配列番号60）に由来する核酸配列にマッチングするか、又は前記配列と相補的であって、少なくとも15、好ましくは少なくとも30、さらに好ましくは少なくとも50個の連続する塩基を含むプローブである。このようなプローブは、分析的に検出可能な試薬で標識して、前記プローブの識別を容易にすることができる。有用な試薬には、放射性同位元素、蛍光色素、及び検出可能な生成物の形成を触媒し得る酵素が含まれるが、ただしこれらに限定されない。これらプローブを用いて、当業者は、ヒト、哺乳類又は他の動物供給源から対象のタンパク質をコードするゲノムDNA、cDNA又はRNAポリヌクレオチドの相補的なコピーを単離し、関連配列、例えば前記のファミリー、タイプ及び／又はサブタイプに属するまた別のメンバーについて前記供給源をスクリーニングすることができるであろう。

【００５８】

多くの場合、単離されるcDNA配列は不完全で、ポリペプチドをコードする領域は短く（通常は5’末端で）切断されているであろう。完全長cDNAを得るために、又は短いcDNAを伸長させるために、いくつかの方法が利用可能である。そのような配列は、部分的なヌクレオチド配列を用い、かつ上流の配列（例えばプロモーター及び調節エレメント）を検出するための当技術分野で公知の種々の方法を利用して伸長させることができる。例えば、使用する１つの方法は、cDNA末端の迅速増幅法（RACE；例えば以下を参照されたい：Frohman et al., PNAS USA 85, 8998-9002, 1988）に基づく。この技術の最近の改変（例えばマラソン（Marathon）（商標）技術（Clontech Laboratories Inc.）により例示される）は、より長いcDNAの検索を顕著に単純化した。“制限部位”PCRと称されるわずかに異なる技術では、普遍的プライマーを用いて、既知の遺伝子座に近接する未知の核酸配列が検索される（Sarkar, G. (1993) PCR Methods Applic. 2：318－322）。既知の領域に基づく多様なプライマーを用いて配列を増幅又は伸長するため、逆PCRも使用し得る（Triglia, T. et al. (1988) Nucleic Acids Res. 16：8186）。使用し得る別の方法は捕捉PCRで、この方法は、ヒト及び酵母の人工染色体DNAにおける既知配列に近接しているDNAフラグメントのPCR増幅を含む（Lagerstrom, M. et al. (1991) PCR Methods Applic. 1：111－119）。未知配列を検索するために使用し得る別の方法は、パーカーの方法である（Parker, J.D. et al.(1991) Nucleic Acids Res. 19：3055－3060）。さらに、ゲノムDNAを少しずつ移動して調べるためにPCR、入れ子プライマー、及びプロモーターファインダー（PromoterFinder™）ライブラリー（Clontech, Palo Alto, CA）を使用し得る。この方法ではライブラリーのスクリーニングが不要で、イントロン／エクソン結合部の発見に有用で

ある。

【００５９】

完全長cDNAをスクリーニングする場合、より大きなcDNAを包含するようにサイズ選択したライブラリーを用いることが好ましい。さらにまた、遺伝子の5’領域を含む配列をより多く含むという点で、ランダムプライムされた(random-primed)ライブラリーが好ましい。ランダムプライムされたライブラリーの使用は、オリゴd(T)ライブラリーが完全長cDNAを生成しない状況で特に好ましいだろう。ゲノムライブラリーは、5’非転写調節領域に配列を伸長させるために有用だろう。

本発明のある態様では、染色体上の位置特定のために、本発明の核酸分子を用いることができる。この技術では、核酸分子は個々のヒト染色体上の特定の位置に対して特異的に標的化され、個々のヒト染色体上の特定の位置とハイブリダイズすることができる。本発明の関連配列の染色体上へのマッピングは、遺伝子関連疾患に関する当該配列の相関性確認において重要な工程である。いったん染色体の正確な位置に配列がマッピングされたら、前記配列の染色体上の物理的な位置を遺伝子地図データと相関させることができる。そのようなデータは、例えば以下で見出すことができる：V. McKusick, Mendelian Inheritance in Man（ジョーンズホプキンス大学、ウェルチ医学図書館を通じてオンラインで利用可能である）。同じ染色体領域にマッピングされた遺伝子と疾患との関係を、次に連鎖解析（物理的に近接する遺伝子の同時遺伝(coinheritance)）によって同定する。これにより、ポジショナルクローニング又は他の遺伝子発見技術を用いて疾患遺伝子を検索する研究者に貴重な情報が提供される。いったん疾患又は症候群の位置が遺伝連鎖によって特定のゲノム領域で大まかに限局されたら、前記領域にマッピングされるいずれの配列も、更なる解析のための関連遺伝子又は調節遺伝子となることができる。前記核酸分子はまた、正常な個体、キャリア個体又は罹患個体間で転座、逆位などによる染色体位置上の相違を検出するために用いることができる。

【００６０】

本発明の核酸分子はまた、組織分布同定(tissue localisation)のために貴重である。そのような技術は、ポリペプチドをコードするmRNAの検出によって、組織中の前記ポリペプチドの発現パターンの決定を可能にする。これらの技術には、in situハイブリダイゼーション技術及びヌクレオチド増幅技術（例えばPCR）が含まれる。これらの研究から得られる結果は、生物内での前記ポリペプチドの正常な機能を示唆する。さらに、変異遺伝子によってコードされるmRNAの発現パターンと正常mRNA発現パターンとの比較研究によって、変異ポリペプチドの疾患における役割に対する貴重な洞察が提供される。そのような不適切な発現は時間的、位置的又は量的性質を有する場合もある。

【００６１】

本発明のベクターは本発明の核酸分子を含み、クローニングベクターでも発現ベクターでもよい。本発明のベクターで形質転換、トランスフェクト又は形質導入し得る本発明の宿主細胞は、原核細胞でも真核細胞でもよい。

本発明のポリペプチドは、宿主細胞内に含まれるベクター中の前記ポリペプチドをコードする核酸分子の発現によって、組換え形態で調製することができる。このような発現方法は当業者によく知られており、多くは以下の文献でより詳細に記述されている：Sambrook et al.（上掲書）及びFernandez & Hoeffler（1998, eds. “Gene expression systems. Using nature for the art of expression”, Academic Press, San Diego, London, Boston, New York, Sydney, Tokyo, Toronto）。

【００６２】

一般的には、要求される宿主でポリペプチドを生成させるために、核酸分子の維持、増殖又は発現に適したいずれの系又はベクターも用いることができる。周知であり日常的である種々の技術のいずれによっても（例えば前掲書（Sambrook et al.）に記載されたようなもの）、適切なヌクレオチド配列を発現系に挿入することができる。一般的には、コード遺伝子は制御エレメント（例えばプロモーター、リボソーム結合部位（細菌での発現の場合）、及び場合によってオペレーター）の制御下に置かれ、それによって所望のポリ

ペプチドをコードするDNA配列を形質転換宿主細胞でRNAに転写させることができる。

適切な発現系の例には、例えば染色体系、エピソーム系及びウイルス由来系、例えば以下に由来するベクターが含まれる：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、ウイルス、例えばバキュロウイルス、パポーバウイルス（例えばSV40）、ワクシニアウイルス、アデノウイルス、鶏痘ウイルス、仮性狂犬病ウイルス及びレトロウイルス、又は上記の組合せ、例えばプラスミドとバクテリオファージの遺伝子エレメントに由来するもの（例えばコスミド及びファージミドを含む）。ヒト人工染色体（HAC）もまた、プラスミドに包含させ発現させるよりも大きいDNAフラグメントを送達するのに用いることができる。ベクターpCR4-TOPO-INSP123(図9)、pDONR(図10)、pEAK12d(図11)、pDEST12.2(図12)、pENTR-INSP123-6HIS(図13)、pEAK12d-INSP123-6HIS(図14)、pDEST12.2-INSP123-6HIS(図15)、pCR4-BluntII-TOPO-INSP124(図19)、pDONR 221(図20)、pEAK12d(図21)、pDEST12.2(図22)、pENTR_INSP124-6HIS(図23)、pEAK12d_INSP124-6HIS(図24)、pDEST12.2_INSP124-6HIS(図25)、pCR4-TOPO-INSP125(図29)、pDONR 221(図30)、pEAK12d(図31)、pDEST12.2(図32)、pENTR_INSP125-6HIS(図33)、pEAK12d_INSP125-6HIS(図34)及びpDEST12.2_INSP125-6HIS(図35)は、本発明で使用するために適したベクターの好ましい例である。

【００６３】

特に適切な発現系には、組換えバクテリオファージ、プラスミド又はコスミドDNA発現ベクターで形質転換された微生物（例えば細菌）；酵母発現ベクターで形質転換された酵母；ウイルス発現ベクター（例えばバキュロウイルス）を感染させた昆虫細胞系；ウイルス発現ベクター（例えばカリフラワーモザイクウイルス、CaMV；タバコモザイクウイルス、TMV）又は細菌発現ベクター（例えばTi又はpBR322プラスミド）で形質転換された植物細胞系；又は動物細胞系が含まれる。無細胞翻訳系もまた、本発明のポリペプチドの生成に用いることができる。

本発明のポリペプチドをコードする核酸分子の宿主細胞への導入は、多くの標準的な実験室マニュアル（例えば、Davis et al., Basic Methods in Molecular Biology (1986)及び上掲書（Sambrook et al.））に記載された方法によって達成できる。特に適切な方法には、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、トランスフェクション、マイクロインジェクション、陽イオン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、擦過ローディング（scrape loading）、弾道導入又は感染が含まれる（以下を参照されたい：Sambrook et al., 1989[上掲書]；Ausubel et al., 1991[上掲書]；Spector, Goldman & Leinwald, 1998）。真核細胞では、発現系は、その系の要求に応じて一過性（例えば、エピソーム性）又は永続的（染色体組込み）であり得る。

【００６４】

コード核酸分子は、所望であれば、例えば翻訳ポリペプチドの小胞体内腔、細胞膜周辺腔又は細胞外環境への分泌のために、シグナルペプチド又はリーダー配列のような制御配列をコードする配列を含んでいても、又は含んでいなくてもよい。これらのシグナルは前記ポリペプチドにとって内因性であってもよく、又は異種シグナルであってもよい。リーダー配列は、翻訳後プロセッシングで細菌宿主によって取り除くことができる。

制御配列に加え、宿主細胞の増殖に関連して前記ポリペプチドの発現の調節を可能にする調節配列を付加することが望ましい場合がある。調節配列の例は、化学的又は物理的刺激（調節化合物の存在を含む）又は種々の温度若しくは代謝条件に応答して遺伝子の発現を増加させたり低下させたりする配列である。調節配列は、ベクターの非翻訳領域、例えばエンハンサー、プロモーター並びに5’及び3’非翻訳領域である。これらは、宿主細胞タンパク質と相互作用して、転写及び翻訳を実行する。そのような調節配列は、その強度及び特異性を変化させることができる。利用するベクター系及び宿主によって、いずれかの数の適切な転写及び翻訳エレメント（構成性及び誘導性プロモーターを含む）を用いることができる。例えば、細菌系でクローニングするときは、誘導性プロモーター、例えばBluescriptファージミド（Stratagene, La Jolla, CA）又はpSportl（商標）プラスミド

（Gibco BRL）などのハイブリッドlacZプロモーターを用いることができる。バキュロウイルスポリヘドリン(polyhedrin)プロモーターは、昆虫細胞で用いることができる。植物細胞ゲノムに由来するプロモーター若しくはエンハンサー（例えば熱ショック、RUBISCO及び貯蔵タンパク質遺伝子）又は植物ウイルスに由来するプロモーター若しくはエンハンサー（例えばウイルスプロモーター又はリーダー配列）をベクターにクローニングすることができる。哺乳類細胞系では、哺乳類遺伝子由来又は哺乳類ウイルス由来のプロモーターが好ましい。配列の複数のコピーを含む細胞株の作製が必要な場合、適切な選択可能マーカーとともに、SV40又はEBVをベースとするベクターを使用することができる。

【００６５】

発現ベクターは、特定の核酸コード配列が適切な調節配列とともにベクター内に配置されるように構築される。前記コード配列の調節配列に関する位置及び向きは、前記コード配列が調節配列の“制御”下で転写されるような位置及び向きである（すなわち制御配列にてDNA分子と結合するRNAポリメラーゼは、前記コード配列を転写する）。前記配列を適切な向きで制御配列に付属させることができるように（すなわちリーディングフレームを維持するために）、前記配列を改変する必要がある場合もある。

制御配列及び他の調節配列は、ベクターへの挿入の前に核酸コード配列に連結させることができる。あるいは、制御配列及び適切な制限部位を既に含む発現ベクターへ、コード配列を直接クローニングすることができる。

組換えポリペプチドの長期的かつ高収量の生成のためには、安定な発現が好ましい。例えば、対象のポリペプチドを安定して発現する細胞株は、ウイルスの複製起点及び／又は内因性発現エレメント並びに選択可能マーカー遺伝子を同じ又は別個のベクター上に含み得る発現ベクターを用いて形質転換させることができる。ベクターの導入に続き、選択培地に切り替える前に細胞を栄養(enriched)培地で１～２日間増殖させることができる。選択可能マーカーの目的は、選択に対する耐性を付与することで、選択可能マーカーの存在によって、導入された配列をうまく発現する細胞の増殖及び回収が可能になる。安定して形質転換された細胞の耐性クローンは、細胞の種類に適した組織培養技術を用いて増殖させることができる。

【００６６】

発現のための宿主として利用可能な哺乳類細胞株は当技術分野で公知であり、米国菌培養収集所（American Type Culture Collection, ATCC）から入手可能な多くの不死化細胞株が含まれる。そのような細胞株には、例えばチャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞、HeLa細胞、ベイビーハムスター腎（BHK）細胞、サル腎（COS）細胞、C127細胞、3T3細胞、BHK細胞、HEK293細胞、ボウズ（Bowes）メラノーマ細胞及びヒト肝細胞癌（例えばHepG2）細胞及び他の多数の細胞株が挙げられるが、これだけに限られない。

バキュロウイルス系では、バキュロウイルス／昆虫細胞発現系のための材料は、特にインビトロジェン（Invitrogen, San Diego, CA）からキットの形態で（“MaxBac”キット）商業的に入手可能である。これら技術は一般的に当業者に知られており、文献に完全に記載されている（Summers & Smith, Texas Agricultural Experiment Station Bulletin No.1555(1987)）。この系での使用に特に適切な宿主細胞には、昆虫細胞、例えばドロソフィラ(Drosophila)S2細胞及びスポドプテラ(Spodoptera)Sf9細胞が含まれる。

当技術分野で公知である多くの植物細胞培養及び完全植物(whole plant)遺伝子発現系が存在する。適切な植物細胞遺伝子発現系の例には、米国特許第5,693,506号、5,659,122号及び5,608,143号に記載されるものが含まれる。植物細胞培養における遺伝子発現の更なる例は、文献に記載されている（Zenk (1991) Phytochemistry 30：3861－3863）。

特に、プロトプラストを単離し、これを培養して完全再生植物を形成することが可能な植物は全て利用することができ、それによって導入遺伝子を含む完全植物を回収できる。特に、サトウキビ、サトウダイコン、綿花、果実及び他の樹木、マメ類及び野菜の主要な種の全てを含む（ただしこれらに限定されない）全ての植物は、培養細胞又は培養組織から再生させることができる。

【００６７】

特に好ましい細菌宿主細胞の例には、連鎖球菌、ブドウ球菌、大腸菌（E. coli）、ストレプトマイセス及びバチルス・ズブチリス（Bacillus subtilis）細胞が含まれる。

真菌での発現に特に適切な宿主細胞の例には、酵母細胞（例えばS.セレビシエ(cerevisiae)）及びアスペルギルス細胞が含まれる。

形質転換細胞株の回収に使用し得る多くの選択系が当技術分野で公知である。そのような例としては、単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ（Wigler, M. et al.(1977) Cell 11：223－32）及びアデニンホスホリボシルトランスフェラーゼ（Lowy, I. et al.(1980) Cell 22：817－23）の遺伝子が挙げられ、これらはそれぞれtk^-又は$aprt^{\pm}$細胞で用いることができる。

さらにまた、抗代謝物質耐性、抗生物質耐性又は除草剤耐性を選択基準として用いてもよい。例えばジヒドロ葉酸レダクターゼ（DHFR）はメトトレキセートに対する耐性を付与し（Wigler, M. et al.(1980) Proc. Natl. Acad. Sci. 77：3567-70）、nptはアミノグリコシド系ネオマイシン及びG-418に対する耐性を付与し（Colbere-Garapin, F. et al.(1981) J. Mol. Biol. 150：1-14）、さらにals又はpatはそれぞれクロロスルフロン(chlorsulfuron)及びホスフィノトリシン(phosphinotricin)アセチルトランスフェラーゼに対する耐性を付与する。さらに別の選択可能遺伝子が報告されており、それらの例は当業者には明白であろう。

【００６８】

マーカー遺伝子発現の有無は対象の遺伝子も存在することを示唆するが、対象の遺伝子の存在及び発現を確認する必要があり得る。例えば、関連配列がマーカー遺伝子配列内に挿入されている場合、マーカー遺伝子機能が存在しないことによって、適切な配列を含む形質転換細胞を識別することができる。あるいは、マーカー遺伝子は、単一のプロモーターの制御下で、本発明のポリペプチドをコードする配列とともに直列に配置され得る。通常、誘導又は選択に応答するマーカー遺伝子の発現は、直列遺伝子の発現をも示している。

あるいは、本発明のポリペプチドをコードする核酸配列を含み、前記ポリペプチドを発現する宿主細胞は、当業者に知られている多様な手法で同定することができる。前記手法には、DNA-DNA又はDNA-RNAハイブリダイゼーション及びタンパク質バイオアッセイ、例えば蛍光活性化細胞ソーティング（FACS）又はイムノアッセイ技術（例えば酵素結合免疫吸着アッセイ（ELISA）及び放射性イムノアッセイ（RIA））が含まれ（ただしこれらに限定されない）、核酸又はタンパク質の検出及び／又は定量のためにメンブレン、溶液又はチップをベースとする技術が含まれる（例えば以下を参照されたい：Hampton, R. et al.(1990) Serological Methods, A Laboratory Manual, APS Press, St Paul, MN；及びMaddox, D.E. et al.(1983) J. Exp. Med. 158：1211-1216）。

【００６９】

多種多様な標識及び結合技術が当業者に知られており、種々の核酸及びアミノ酸アッセイで用いることができる。本発明のポリペプチドをコードする核酸分子に関連する配列を検出するための標識ハイブリダイゼーションプローブ又はPCRプローブの作製手段には、標識したポリヌクレオチドを用いるオリゴ標識、ニックトランスレーション、末端標識又はPCR増幅が含まれる。あるいは、本発明のポリペプチドをコードする配列をベクターにクローニングしてmRNAプローブを作製することができる。そのようなベクターは当技術分野で公知であって、商業的に入手可能であり、適切なRNAポリメラーゼ（例えばT7、T3又はSP6）及び標識ヌクレオチドを添加することによりin vitroでRNAプローブを合成するために使用し得る。これら手法は、商業的に入手可能な種々のキット（Pharmacia & Upjohn (Kalamazoo, MI)； Promega (Madison, WI)；及びU.S. Biochemical Corp. (Cleaveland, OH)）を用いて実施することができる。

検出を容易にするために使用し得る適切なレポーター分子又は標識には、放射性核種、酵素及び蛍光、化学発光又は色素生産性物質、並びに基質、コファクター、阻害剤、磁性粒子などが挙げられる。

【００７０】

本発明の核酸分子は、トランスジェニック動物（特にげっ歯類動物）の作製にも用いることができる。そのようなトランスジェニック動物は、本発明の別のさらなる観点を構成する。そのような作製は、体細胞の改変によって局部的に、又は遺伝性改変を導入する生殖細胞系列療法によって実施することができる。前記のようなトランスジェニック動物は、本発明のポリペプチドのモジュレーターとして有効な薬剤分子のための動物モデルを作製するために特に有用であり得る。

ポリペプチドは、周知の方法によって組換え細胞培養物から回収し精製することができる。前記周知の方法には、硫安又はエタノール沈澱、酸性抽出、陰イオン又は陽イオン交換クロマトグラフィー、ホスホセルロースクロマトグラフィー、疎水性相互作用クロマトグラフィー、アフィニティークロマトグラフィー、ヒドロキシルアパタイトクロマトグラフィー及びレクチンクロマトグラフィーが含まれる。高性能液体クロマトグラフィーは、精製に特に有用である。単離及び又は精製の間にポリペプチドが変性した場合には、タンパク質のリフォールディングの周知の技術を用いて活性なコンフォメーションを再生することができる。

【００７１】

所望の場合には、可溶性タンパク質の精製を容易にするポリペプチドドメインをコードするヌクレオチド配列に本発明のポリペプチドをコードする配列を連結させることにより特殊化したベクター構築物も、タンパク質の精製を容易にするために用いることができる。そのような精製促進ドメインの例には、金属キレートペプチド（例えば固定化金属上での精製を可能にするヒスチジン-トリプトファンモジュール、固定化免疫グロブリン上での精製を可能にするプロテインＡドメイン、及びFLAGS伸長／アフィニティー精製システム（Immunex Corp., Seattle, WA）で用いられるドメイン）が含まれる。切断可能なリンカー配列（例えばXA因子又はエンテロキナーゼ（Invitrogen, San Diego, CA）に特異的なもの）を精製ドメインと本発明のポリペプチドとの間に包含させて、精製を容易にすることに用いてもよい。そのような発現ベクターの１つは、チオレドキシン又はエンテロキナーゼ切断部位に先行するいくつかのヒスチジン残基と融合させた本発明のポリペプチドを含む融合タンパク質の発現を提供する。ヒスチジン残基は、IMAC（固定金属イオンアフィニティークロマトグラフィー；Porath, J. et al.(1992) Prot. Exp. Purif. 3：263-281）により精製を容易にし、一方、チオレドキシン又はエンテロキナーゼ切断部位は、融合タンパク質からポリペプチドを精製するための手段を提供する。融合タンパク質を含むベクターについての考察は以下で提供される：Kroll, D.J. et al.(1993; DNA Cell Biol. 12：441-453）。

【００７２】

スクリーニングアッセイで使用するためにポリペプチドを発現させる場合は、前記ポリペプチドを発現する宿主細胞の表面で前記ポリペプチドを生成させることが一般には好ましい。この場合、スクリーニングアッセイで使用する前に、例えば蛍光活性化細胞ソーティング（FACS）又はイムノアフィニティー技術のような技術を用いて宿主細胞を収穫することができる。ポリペプチドが培養液中に分泌される場合は、前記培養液を回収して発現されたポリペプチドを回収及び精製することができる。ポリペプチドが細胞内で生成される場合、ポリペプチドを回収する前に、先ず初めに細胞を溶解させねばならない。

本発明のポリペプチドを用いて、種々の薬剤スクリーニング技術のいずれかで化合物ライブラリーをスクリーニングすることができる。そのような化合物は、本発明のポリペプチドの遺伝子発現レベル又は活性レベルを活性化させる（アゴニスト作用）か、又は阻害する（アンタゴニスト作用）ことができ、本発明のさらなる観点を形成し得る。好ましい化合物は、本発明の第２又は第３観点のポリペプチドをコードする天然遺伝子の発現を変化させるために有効であるか、又は本発明の第２又は第３観点のポリペプチドの活性を調節するために有効である。

アゴニスト化合物又はアンタゴニスト化合物は、例えば細胞、無細胞調製物、化学物質ライブラリー又は天然産物混合物から単離することができる。これらのアゴニスト又はアンタゴニストは、天然の又は改変された、基質、リガンド、酵素、受容体、構造的模倣物

質若しくは機能的模倣物質であってよい。このようなスクリーニング技術の適切な精査のため、以下を参照されたい：Coligan et al., Current Protocols in Immunology 1(2)：Chapter 5 (1991)。

【００７３】

優良なアンタゴニストである可能性が高い化合物は、本発明のポリペプチドと結合し、結合しているときに前記ポリペプチドの生物学的作用を誘導しない分子である。強力なアンタゴニストには、本発明のポリペプチドと結合し、それによって本発明のポリペプチドの活性を阻害又は消滅させる小型有機分子、ペプチド、ポリペプチド及び抗体が含まれる。このようなやり方で、前記ポリペプチドと正常な細胞の結合分子との結合が阻害され、その結果前記ポリペプチドの正常な生物学的活性が阻害され得る。

このようなスクリーニング技術で用いられる本発明のポリペプチドは、溶液中で遊離していても、固形支持体に固定されていても、細胞表面上に保持されていても、又は細胞内に位置していてもよい。一般に、このようなスクリーニング手順は、前記のポリペプチドを発現している適切な細胞又は細胞膜を用いることを含み、前記細胞又は細胞膜を被検化合物と接触させて、結合又は機能的応答の刺激若しくは阻害を観察する。続いて前記被検化合物と接触させた細胞の機能的応答を、前記被検化合物と接触させなかった対照細胞と比較する。このようなアッセイによって、前記ポリペプチドの活性化によって生じるシグナルを被検化合物がもたらすか否かを、適切な検出系を用いて評価することができる。活性化の阻害剤は、一般的には既知のアゴニストの存在下でアッセイされ、被検化合物の存在下でのアゴニストによる活性化の影響が観察される。

【００７４】

本発明のポリペプチドのアゴニスト又はアンタゴニスト化合物を同定する好ましい方法は、以下の工程を含む：

（ａ）本発明の第２又は第３観点のポリペプチドをその表面に発現している細胞を、前記ポリペプチドとの結合を許容する条件下で、スクリーニングされる化合物と接触させる工程であって、前記ポリペプチドは、前記化合物とポリペプチドとの結合に応答して検出可能なシグナルを提供することができる第２成分と結合されており；さらに

（ｂ）前記化合物と前記ポリペプチドとの相互作用によって生じるシグナルのレベルを測定することにより、前記化合物が前記ポリペプチドと結合しこれを活性化するか又は阻害するかを決定する工程。

本発明のポリペプチドのアゴニスト又はアンタゴニストを同定するさらに好ましい方法は、以下の工程を含む：

（ａ）前記ポリペプチドをその表面に発現している細胞を、前記ポリペプチドとの結合を許容する条件下で、スクリーニングされる化合物と接触させる工程であって、前記ポリペプチドは、前記化合物とポリペプチドとの結合に応答して検出可能なシグナルを提供することができる第２成分と結合されており；さらに

（ｂ）前記化合物と前記ポリペプチドとの相互作用によって生じるシグナルレベルを前記化合物が存在しないときのシグナルレベルと比較することにより、前記化合物が前記ポリペプチドと結合しこれを活性化するか又は阻害するかを決定する工程。

さらに好ましい態様では、上述の一般的な方法が、前記ポリペプチドに対する標識又は非標識リガンドの存在下でアゴニスト又はアンタゴニストの同定を行う工程をさらに含み得る。

【００７５】

本発明のポリペプチドのアゴニスト又はアンタゴニストを同定する方法の別の態様は、以下の工程を含む：

受容体などのリガンドと、本発明のポリペプチドをその表面に有する細胞との結合又は前記ポリペプチドを含む細胞膜との結合の阻害を、前記ポリペプチドとの結合を許容する条件下で候補化合物を存在させて決定する工程、及び前記ポリペプチドに結合したリガンドの量を決定する工程。リガンドの結合の減少をひき起こし得る化合物は、アゴニスト又はアンタゴニストであるとみなされる。好ましくは、前記リガンドが標識されている。

より詳しくは、アンタゴニスト又はアゴニスト化合物をポリペプチドについてスクリーニングする方法は、以下の工程を含む：

（ａ）本発明のポリペプチドをその表面に発現している全細胞又は本発明のポリペプチドを含む細胞膜と、標識リガンドとをインキュベートする工程；

（ｂ）前記全細胞又は細胞膜と結合している標識リガンドの量を測定する工程；

（ｃ）工程（ａ）の標識リガンド及び前記全細胞又は細胞膜の混合物に候補化合物を添加し、前記混合物を平衡化させる工程；

（ｄ）工程（ｃ）の後で前記全細胞又は細胞膜と結合している標識リガンドの量を測定する工程；さらに

（ｅ）工程（ｂ）及び工程（ｄ）の結合している標識リガンドの相違を比較する工程であって、それにより工程（ｄ）で結合の減少をひき起こす化合物はアゴニスト又はアンタゴニストであるとみなす前記工程。

【００７６】

本発明のINSP123、INSP124及びINSP125ポリペプチドは、細胞の成長と分化を調節しうる。従って、器官培養アッセイのような細胞の成長と分化の研究を可能にするシステムで、又はアガロース培養内のコロニーアッセイシステムで、INSP123、INSP124及びINSP125ポリペプチドの生物学的活性を調べることができる。種々のアッセイで細胞増殖の刺激又は阻害を測定することができる。

例えば、細胞成長阻害を観察するため、固体又は液体培地を使用することができる。固体培地では、形成されるコロニーの大きさを比較することによって、成長阻害を受けている細胞を容易に対象細胞群から選択することができる。液体培地では、培養液の濁度又はDNA内の標識チミジンの取込みを測定することによって成長阻害をスクリーニングすることができる。典型的に、新しく合成されたDNA中へのヌクレオシド類似体の取込みを用いて細胞集団内の増殖（すなわち、活発な細胞成長）を測定しうる。例えば、ブロモデオキシウリジン(BrdU)をDNA標識試薬として用い、かつ抗-BrdUマウスモノクロナール抗体を検出試薬として利用することができる。この抗体は、ブロモデオキシウリジンを取り込んだDNAを含有する細胞とだけ結合する。このアッセイとともに、免疫蛍光法、免疫組織化学的方法、ELISA及び比色法を含む多くの検出法を使用することができる。ブロモデオキシウリジン(BrdU)と抗-BrdUマウスモノクロナール抗体を含むキットはBoehringer Mannheim (Indianapolis, IN)から商業的に入手可能である。

【００７７】

細胞分化に及ぼすINSP123、INSP124及びINSP125ポリペプチドの作用は、幹細胞又は胚細胞を種々の量のINSP123、INSP124及びINSP125ポリペプチドと接触させ、かつ幹細胞又は胚細胞の分化に及ぼす作用を観察することによって測定することができる。組織特異的抗体及び顕微鏡検査法を用いて、その結果の細胞を同定することができる。

上述したアッセイにおいてINSP123、INSP124及びINSP125ポリペプチドが用量依存様式で免疫及び／又は神経系細胞の増殖と分化を調節することも分かりうる。従って、INSP123、INSP124及びINSP125ポリペプチドの“機能的等価物”は、上述したアッセイにおいて用量依存様式で、活性を調節する同じ成長と分化のいずれかを示すポリペプチドを含む。用量依存的活性の度合いは、INSP123、INSP124及びINSP125ポリペプチドの度合いと同一である必要はないが、好ましくは、“機能的等価物”は、与えられた活性アッセイにおいて、INSP123、INSP124及びINSP125ポリペプチドと比べて実質的に同様の用量依存性を示す。

上述のある態様では、単純な結合アッセイを用いてもよく、この場合、被検化合物のポリペプチド保持表面への付着を、直接的又は間接的に被検化合物と結合させた標識手段によって検出するか、又は標識競合物質との競合を含むアッセイで検出する。別の態様では、競合薬剤スクリーニングアッセイを用いることができ、この場合、ポリペプチドと特異的に結合しうる中和抗体が、結合について被検化合物と競合する。この様式では、前記抗体を用いて、前記ポリペプチドに対し特異的な結合親和性を保有するいずれの被検化合物の存在も検出することができる。

添加した被検化合物が前記ポリペプチドをコードするmRNAの細胞内産生に及ぼす作用を検出するアッセイを設計することもできる。例えば、当技術分野で公知の標準的な方法によりモノクローナル又はポリクローナル抗体を用いてポリペプチドの分泌レベル又は細胞結合レベルを測定するELISAを構築することができ、このELISAを用いて、適切に操作した細胞又は組織からのポリペプチド生成を阻害又は増強し得る化合物について検索することができる。次いで、前記ポリペプチドと被検化合物との結合複合体の形成を測定することができる。

【００７８】

使用し得る別の薬剤スクリーニング技術は、対象のポリペプチドに対して適切な結合親和性を有する化合物の高速大量処理スクリーニングを提供する（国際特許出願WO84/03564を参照されたい）。この方法では、多数の異なる小型の被検化合物を固体基質上で合成し、次に本発明のポリペプチドと反応させて洗浄しうる。ポリペプチドを固定する１つの方法は、非中和抗体を使用することである。そして、当技術分野で周知の方法を用いて、結合したポリペプチドを検出することができる。前述の薬剤スクリーニング技術で使用するため、精製ポリペプチドをプレート上に直接塗布することもできる。

本発明のポリペプチドを用いて、当技術分野で公知の標準的な受容体結合技術により膜結合受容体又は可溶性受容体を同定しうる。前記標準的な技術は、例えばリガンド結合アッセイ及び架橋アッセイであり、そのようなアッセイでは、ポリペプチドが放射性同位体で標識されているか、化学的に改変されているか、又はその検出若しくは精製を容易にするペプチド配列と融合されており、推定上の受容体供給源（例えば細胞の組成物、細胞膜、細胞上清、組織抽出物又は体液）とインキュベートされる。結合の有効性は、生物物理的技術、例えば表面プラズモン共鳴及び分光法を用いて測定することができる。結合アッセイは、受容体の精製及びクローニングのために用いることができるが、ポリペプチドとその受容体との結合と競合する前記ポリペプチドのアゴニスト及びアンタゴニストを同定するためにも用いることができる。スクリーニングアッセイを実施する標準的方法は、当技術分野ではよく理解されている。

【００７９】

本発明は、上述したアゴニスト、アンタゴニスト、リガンド、受容体、基質、酵素を同定するための方法で有用なスクリーニングキットをも包含する。

本発明は、上述した方法で発見されたアゴニスト、アンタゴニスト、リガンド、受容体、基質及び酵素、並びに本発明のポリペプチドの活性又は抗原性を調節する他の化合物を包含する。

本発明は、本発明のポリペプチド、核酸、リガンド又は化合物を適切な医薬担体と組合せて含む医薬組成物を提供する。これら組成物は、詳細に後述するように、治療用若しくは診断用試薬として、ワクチンとして、又は他の免疫原性組成物として適切であり得る。

本明細書で使用する用語法により、ポリペプチド、核酸、リガンド又は化合物[Ｘ]を含む組成物は、組成物中のＸ＋Ｙの合計の少なくとも85質量％がＸである場合に不純物（ここではＹ）が“実質的にない”。好ましくは、Ｘが組成物中のＸ＋Ｙの合計の少なくとも約90質量％、より好ましくは少なくとも約95質量％、98質量％又は99質量％を構成する。

【００８０】

本医薬組成物は、好ましくは治療的に有効な量の本発明のポリペプチド、核酸分子、リガンド、又は化合物を含むべきである。本明細書で用いられる“治療的に有効な量”という用語は、標的疾患又は症状を治療、緩和若しくは予防するために、又は検出可能な治療効果若しくは予防効果を示すために必要な治療薬剤の量を指す。いずれの化合物についても、治療的に有効な用量は、最初に細胞培養アッセイ（例えば新生物細胞培養アッセイ）又は動物モデル（通常はマウス、ウサギ、イヌ又はブタ）のどちらかで見積もることができる。動物モデルは、適切な濃度範囲及び投与経路の決定にも用いることができる。次にそのような情報を用いて、ヒトで有用な投与用量及び投与経路を決定することができる。

ヒト対象者に対する正確な有効量は、疾患状態の重篤度、対象者の全身の健康状態、対象者の年齢、体重及び性別、食事、投与時間及び投与回数、併用薬剤、反応感受性及び治

療に対する許容性／応答性によって決まるだろう。この量は、日常的検査により決定することができ、それは臨床医の判断の範囲内である。一般には、有効用量は、0.01mg/kgから50mg/kg、好ましくは0.05mg/kgから10mg/kgであろう。本組成物は、患者に個別に投与してもよく、又は他の薬剤、医薬品又はホルモンと一緒に投与してもよい。

【００８１】

医薬組成物は、治療薬の投与のために医薬的に許容できる担体を含むこともできる。そのような担体には、抗体及び他のポリペプチド、遺伝子並びに他の治療薬剤（例えばリポソーム）が含まれるが、ただし担体がそれ自体で前記組成物を受ける個体に有害な抗体の産生を誘導せず、かつ不都合な毒性をもたらすことなく投与しうることを条件とする。適切な担体は、大型でゆっくりと代謝される巨大分子、例えばタンパク質、多糖類、ポリ乳酸、ポリグリコール酸、重合アミノ酸、アミノ酸コポリマー及び不活性ウイルス粒子であり得る。

医薬組成物に、医薬的に許容できる塩、例えば鉱酸塩（塩酸塩、臭化水素酸塩、リン酸塩、硫酸塩などのような）；及び有機酸の塩（酢酸塩、プロピオン酸塩、マロン酸塩、安息香酸塩などのような）を用いることができる。医薬的に許容できる担体についての綿密な考察は、以下のテキストで利用可能である：Remington’s Pharmaceutical Sciences (Mack Pub. Co., N.J. 1991)。

治療用組成物中の医薬的に許容できる担体は、さらに液体、例えば水、生理食塩水、グリセロール及びエタノールを含むことができる。さらに、湿潤剤、乳化剤、pH緩衝物質などのような助剤が、前記組成物中に存在していてもよい。そのような担体は、患者が摂取できるように、前記医薬組成物を錠剤、丸剤、糖衣錠、カプセル剤、液剤、ゲル剤、シロップ剤、スラリー、懸濁剤などとして製剤化することを可能にする。

【００８２】

いったん製剤化したら、本発明の組成物を直接対象者に投与することができる。治療される対象者は動物であり、特にヒト対象者を治療することができる。

この発明で用いられる医薬組成物は、多数の経路（経口、静脈内、筋肉内、動脈内、骨髄内、硬膜下腔内、心室内、経皮的アプリケーション（例えばWO98/20734を参照）、皮下、腹腔内、鼻内、腸内、局所、舌下、膣内又は直腸的手段が挙げられるが、ただしこれらに限定されない）によって投与できる。遺伝子銃又はハイポスプレーもまた、本発明の医薬組成物の投与に用いることができる。典型的には、本治療用組成物は、注射用物質（液体溶液又は懸濁液のいずれか）として調製できる。注射に先立ち液体ビヒクルで溶液又は懸濁液とするのに適する固体を調製することもできる。

本組成物の直接送達は、一般に、皮下、腹腔内、静脈内又は筋肉内注射することによって達成され、或いは組織の間隙腔に送達されるであろう。前記組成物はまた、病巣に投与してもよい。投薬治療は、単回投与スケジュールでも複数回投与スケジュールでもよい。

本発明のポリペプチドの活性が特定の疾患状態において過剰である場合には、いくつかのアプローチが利用可能である。あるアプローチは、医薬的に許容できる担体とともに上記のような阻害化合物（アンタゴニスト）を、前記ポリペプチドの機能を阻害するのに有効な量で対象者に投与することを含む。前記ポリペプチドの機能の阻害は、例えばリガンド、基質、酵素、受容体の結合を遮断することによって、又は第二のシグナルを阻害することによって成され、それによって異常な症状が緩和される。好ましくは、前記アンタゴニストが抗体である。最も好ましくは、前述したように、そのような抗体が、その免疫原性を最少にするキメラ抗体及び／又はヒト化抗体である。

【００８３】

別のアプローチでは、問題のリガンド、基質、酵素、受容体に対する結合親和性を保持する該ポリペプチドの可溶形態を投与することができる。典型的には、前記ポリペプチドは、関連部分を保持するフラグメントの形態で投与することができる。

また別のアプローチでは、前記ポリペプチドをコードする遺伝子の発現は、内部で生成される又は別々に投与されるアンチセンス核酸分子（上述したような）の使用といった発現遮断技術を用いて阻害することができる。遺伝子発現の改変は、ポリペプチドをコード

する遺伝子の制御領域、5’領域又は調節領域（シグナル配列、プロモーター、エンハンサー及びイントロン）に対して相補的な配列又はアンチセンス分子（DNA、RNA又はPNA）を設計することによって達成できる。同様に、阻害は“三重らせん”塩基対方法論を用いて達成することができる。三重らせん対形成は、ポリメラーゼ、転写因子又は調節分子の結合のために二重らせんが充分に開く能力を阻害することから有用である。三重らせんDNAを用いる近年の治療上の進歩は文献に記載されている（Gee, J.E. et al.(1994)：Huber, B.E. & B.I. Carr, Molecular and Immunologic Approaches, Futura Publishing Co., Mt. Kisco, NY）。相補的配列又はアンチセンス分子を設計し、転写物がリボソームと結合するのを妨げてmRNAの翻訳を遮断することもできる。そのようなオリゴヌクレオチドを投与してもよく、又は該オリゴヌクレオチドはin vivo発現によりin situ生成しうる。

【００８４】

さらに、本発明のポリペプチドの発現は、そのコードmRNA配列に特異的なリボザイムを用いることによって妨げることができる。リボザイムは、天然又は合成であり得る触媒的活性型のRNAである（例えば以下を参照されたい：Usman, N. et al., Curr. Opin. Struct. Biol.(1996) 6(4)：527－533）。合成リボザイムを設計して、選択した位置でmRNAを特異的に切断し、それによってmRNAの機能的ポリペプチドへの翻訳を妨げることができる。リボザイムは、通常RNA分子で見出されるような、天然のリボースリン酸骨格及び天然の塩基を用いて合成され得る。或いは、リボザイムは、非天然の骨格（例えば2’-O-メチルRNA）を用いて合成されて、リボヌクレアーゼ分解から保護されてもよく、また改変塩基を含んでいてもよい。

RNA分子は、細胞内安定性及び半減期を増加させるように改変されてもよい。可能な改変には、RNA分子の5’及び／又は3’末端へのフランキング配列の付加、又は分子の骨格内でホスホジエステル結合に代わるホスホロチオエート若しくは2’-O-メチルの使用が含まれるが、ただしこれらに限られない。この概念は、PNAの生成にも受け継がれ、内因性エンドヌクレアーゼによって容易には認識されない、イノシン、ケオシン(queosine)及びブトシン(butosine)などの慣用的でない塩基並びにアセチル化-、メチル化-、チオ化-及び同様な改変形態のアデニン、シチジン、グアニン、チミン及びウリジンの包含によって、全てのPNA分子に拡張され得る。

【００８５】

本発明のポリペプチド及びその活性の不充分な発現に関連する異常な状態を治療するためには、いくつかのアプローチも利用可能である。あるアプローチは、前記ポリペプチドを活性化する化合物（すなわち上述したようなアゴニスト）の治療的に有効な量を対象者に投与し、異常な状態を緩和することを含む。あるいは、本ポリペプチドの治療量を適切な医薬担体と組合せて投与し、関連性のあるポリペプチド生理学的バランスを回復させることができる。

遺伝子治療を用い、対象者の関連細胞によって本ポリペプチドの内因性産生を行わせることができる。遺伝子治療は、欠陥のある遺伝子を、修正した治療用遺伝子と置き換えることによって、前記ポリペプチドの不適切な生成を永久的に治療することに用いられる。

本発明の遺伝子治療は、in vivo又はex vivoで実施することができる。ex vivo遺伝子治療は、患者の細胞の単離と精製、治療用遺伝子の導入、及び遺伝的に改変した細胞を患者に戻して導入することを必要とする。対照的に、in vivo遺伝子治療は、患者の細胞の単離と精製を必要としない。

【００８６】

治療用遺伝子は、患者に投与するために、典型的には“パッケージング”されている。遺伝子デリバリービヒクルは、リポソームのような非ウイルス性、又は、例えばBerkner, K.L., Curr. Top. Microbiol. Immunol., 158：39－66 (1992)に記載されているアデノウイルスのような複製欠損ウイルス若しくはMuzyczka, N., Curr. Top. Microbiol. Immunol., 158：97－129 (1992)及び米国特許第5,252,479号に記載されているアデノ付随ウイルス（AAV）ベクターであり得る。例えば、本発明のポリペプチドをコードする核酸分子は、複製欠損レトロウイルスベクターで発現させるために操作することができる。次に、

この発現構築物を単離し、前記ポリペプチドをコードするRNAを含有するレトロウイルスプラスミドベクターで形質導入したパッケージ細胞に導入し得る。その結果、前記パッケージ細胞は、対象の遺伝子を含有する感染性ウイルス粒子を産生しうるようになる。これらのプロデューサー細胞は、細胞をin vivo操作するため及びポリペプチドをin vivo発現させるために、対象者に投与することができる（以下を参照されたい：Gene Therapy and Other Molecular Genetic-based Therapeutic Approaches, Chapter 20（及びその中で引用された文献），“Human Molecular Genetics” (1996) T. Strachan & A.P. Read, BIOS Scientific Publishers Ltd.）。

【００８７】

別のアプローチは“裸のDNA”の投与であり、この場合、治療用遺伝子が血流又は筋肉組織内に直接注射される。

本発明のポリペプチド又は核酸分子が疾患をひき起こす原因物質である場合には、本発明は、前記疾患をひき起こす原因物質に対する抗体を生成するワクチンとして用いることができる前記ポリペプチド又は核酸分子を提供する。

本発明のワクチンは、予防的（すなわち、感染を防ぐ）であっても治療的（すなわち、感染後の疾患を治療する）であってもよい。そのようなワクチンは、免疫性を付与する抗原、免疫原、ポリペプチド、タンパク質又は核酸を、通常は上述した医薬的に許容できる担体と組合せて含む。前記担体には、組成物を投与される個体に対して有害な抗体の産生をそれ自体で誘導しない担体のいずれもが含まれる。さらに、これらの担体は免疫刺激剤（“アジュバント”）として機能してもよい。さらにまた、前記抗原又は免疫原は、細菌の類毒素（例えばジフテリア、破傷風、コレラ、H.ピロリ菌（pyroli）由来の類毒素）及び他の病原体と結合されてもよい。

ポリペプチドは胃で分解されるので、ポリペプチドを含むワクチンは、好ましくは非経口的に（例えば皮下、筋肉内、静脈内又は皮内注射）投与される。非経口投与に適した製剤として、水性及び非水性の無菌注射溶液、並びに水性及び非水性の無菌懸濁液が挙げられる。前記無菌注射溶液は、抗酸化剤、緩衝剤、静菌剤、及び製剤をレシピエントの血液に対して等張にする溶質を含んでいてもよく、前記無菌懸濁液は、懸濁剤又は増粘剤を含んでもよい。

【００８８】

本発明のワクチン製剤は、単位用量又は複数単位用量の容器で提供されてもよい。例えば、密封されたアンプル及びバイアルでの提供は、使用直前に無菌液状担体を添加することのみを必要とする凍結乾燥状態で保存することができる。投与量はワクチンの比活性に依存し、慣例的な検査によって容易に決定することができる。

【００８９】

本発明はまた、診断薬としての本発明の核酸分子の使用に関する。本発明の核酸分子により特徴付けられ、機能不全に付随する遺伝子の変異型の検出は、前記遺伝子の過小発現、過剰発現又は位置的若しくは時間的発現の変化から生じる疾患の診断、又はそのような疾患に対する感受性の診断を規定するか又はそれら診断に付け加えることができる診断ツールを提供する。前記遺伝子に変異を保有する個体は、種々の技術によってDNAレベルで検出することができる。

診断のための核酸分子は、対象者の細胞、例えば血液、尿、唾液、組織生検又は剖検材料から入手できる。ゲノムDNAを直接検出に用いてもよいし、又はPCR、リガーゼ連鎖反応（LCR）、鎖置換増幅（SDA）若しくは他の増幅技術を分析に先立って用いることによって、ゲノムDNAを酵素的に増幅してもよい（以下の文献を参照されたい：Saiki et al., Nature 324：163－166(1986)； Bej, et al., Crit. Rev. Biochem. Molec. Biol., 26：301－334(1991)； Birkenmeyer et al., J. Virol. Meth., 35：117－126(1991)； Van Brunt, J., Bio/Technology, 8：291－294(1990)）。

【００９０】

ある態様では、本発明のこの観点は、本発明のポリペプチドをコードする天然遺伝子の発現レベルを評価すること、及び前記発現レベルを対照のレベルと比較することを含む、

患者における疾患を診断する方法を提供する。この場合、前記対照レベルと異なるレベルは疾患を示唆する。前記方法は、以下の工程を含み得る：

ａ）本発明の核酸分子と核酸プローブとの間でハイブリッド複合体の形成を可能にするストリンジェントな条件下で、患者由来の組織サンプルを前記核酸プローブと接触させる工程；

ｂ）工程ａ）で用いた条件と同じ条件下で、対照サンプルを前記プローブと接触させる工程；及び、

ｃ）前記サンプル中のハイブリッド複合体の存在を検出する工程；

この場合、対照サンプル中のハイブリッド複合体レベルと異なるハイブリッド複合体レベルが患者サンプルで検出されることは、疾患を示唆する。

本発明のさらなる観点は、以下の工程を含む診断方法を含む：

ａ）疾患について検査される患者から、組織サンプルを入手する工程；

ｂ）前記組織サンプルから、本発明の核酸分子を単離する工程；及び、

ｃ）疾患に付随する前記核酸分子における変異の存在を検出することによって、患者を疾患について診断する工程。

【００９１】

上記方法における核酸分子の検出を補助するため、増幅工程、例えばPCRの使用を含み得る。

正常な遺伝子型と比較して、増幅産物におけるサイズの変化によって、欠失及び挿入を検出することができる。点変異は、増幅DNAを本発明の標識RNAとハイブリダイズさせるか、或いは本発明の標識アンチセンスDNA配列とハイブリダイズさせることによって同定することができる。完全にマッチングした配列は、RNase消化によって、又は溶融温度における差異を評価することによって、ミスマッチを有する二重鎖と区別することができる。DNAを、ストリンジェントな条件下で前記DNAとハイブリダイズする核酸プローブと接触させてハイブリッド二本鎖分子を形成させること（前記ハイブリッド二本鎖分子は、疾患に付随する変異に対応するいずれかの部分で前記核酸プローブ鎖のハイブリダイズしていない部分を有する）、及び、前記プローブ鎖のハイブリダイズしていない部分の有無を前記DNA鎖の対応部分における疾患付随変異の有無を示すものとして検出することによって、患者における変異の有無を検出することができる。

このような診断は特に出生前検査で有用であり、新生児検査でもなお有用である。

【００９２】

参照(reference)遺伝子と“変異”遺伝子との間の点変異及び他の配列的相違は、他の周知の技術、例えば直接DNAシークエンシング又は一本鎖構造多型性（Orita et al., Genomics, 5：874－879(1989)）によって同定できる。例えば、シークエンシングプライマーは二本鎖PCR産物又は改変PCRによって作製された一本鎖テンプレート分子とともに用いることができる。配列決定は、放射能標識ヌクレオチドを用いる通常の方法によって、又は蛍光タグを用いる自動シークエンシング法によって実施される。クローン化DNAセグメントを、特異的DNAセグメントを検出するためのプローブとして用いることもできる。この方法の感受性は、PCRと併用したとき極めて増強される。さらに、点変異及び他の配列の変動（例えば多型性）は、例えば、対立遺伝子特異的オリゴヌクレオチドをただ１つのヌクレオチドが異なる配列のPCR増幅に用いることによって、上記のように検出することができる。

DNA配列の相違はまた、変性剤の存在下又は非存在下でのゲル内のDNAフラグメントの電気泳動移動度における変化によって、又は直接DNAシークエンシング（例えば、Myers et al., Science (1985) 230：1242）によっても検出することができる。特定の位置における配列の変化はまた、RNase及びS1保護のようなヌクレアーゼ保護アッセイによって、又は化学的切断法（Cotton et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1985) 85：4397-4401を参照）によっても明らかにすることができる。

【００９３】

ミクロ欠失、異数性、転座、逆位のような変異は、通常のゲル電気泳動及びDNAシーク

エンシングに加え、in situ分析によっても検出できる（例えば以下を参照されたい：Keller et al., DNA Probes, 2nd Ed., Stockton Press, New York, N.Y., USA(1993)）。すなわち、細胞内のDNA又はRNA配列は、それらを単離及び／又はメンブレン上に固定する必要なしに、変異について分析することができる。蛍光in situハイブリダイゼーション（FISH）は、現在のところ最も一般的に用いられている方法で、FISHに関する多数の概論が存在する（例えば以下を参照されたい：Trachuck et al., Science, 250, 559-562(1990)；及びTrask et al., Trends, Genet., 7, 149-154(1991)）。

本発明の別の態様では、本発明の核酸分子を含むオリゴヌクレオチドプローブのアレイを構築して、遺伝的変種、変異及び多型性の効率的スクリーニングを実施することができる。アレイ技術方法はよく知られていて一般的な応用性を有しており、遺伝子発現、遺伝連鎖及び遺伝的可変性を含む分子遺伝学における種々の疑問に取り組むのに用いることができる（例えば以下を参照されたい：M. Chee et al., Science (1996) , Vol 274, pp610-613）。

【００９４】

ある態様では、以下の文献に記載されている方法に従ってアレイを調製かつ使用する（PCT出願WO95/11995（Chee et al.）；D.J. Lockhart et al.(1996) Nat. Biotech. 14：1675－1680；M. Schena et al.(1996) Proc. Natl. Acad. Sci. 93：10614－10619）。オリゴヌクレオチド対は、２から100万個を超える範囲にわたり得る。前記オリゴマーは、光誘導化学法を用いて基板上の指定領域で合成される。基板は、紙、ナイロン又は他の種類のメンブレン、フィルター、チップ、ガラススライド若しくは他の適切な固形支持体のいずれであってもよい。別の観点では、オリゴヌクレオチドは、PCT特許出願WO95/25116（Baldeschweiler et al.）に記載されているように、化学的結合方法及びインクジェット適用装置を用いることによって基板表面上で合成することができる。別の観点では、ドット（又はスロット）ブロットに類似する“格子化（gridded）”アレイを、真空系、熱結合方法、ＵＶ結合方法、機械的又は化学的結合方法を用いて基板表面にcDNAフラグメント又はオリゴヌクレオチドを配置すること及び連結させることに使用し得る。上述したようなアレイは、手動で、又は利用可能な装置（スロットブロット又はドットブロット装置）、材料（適切な固形支持体すべて）及び機械（ロボット機器を含む）を用いて作製することができ、8、24、96、384、1536又は6144個のオリゴヌクレオチド、又は２から100万個を超える範囲の他のいずれの数をも含むことができる（このことは、アレイ自体を商業的に入手可能な計測器の有効利用に向くものとしている）。

【００９５】

上記で考察した方法に加え、対象者に由来するサンプルから、ポリペプチド又はmRNAの異常な増加又は低下のレベルを決定することを含む方法によって、疾患を診断することができる。発現低下又は発現増加は、例えば、核酸増幅、一例を挙げるとPCR、RT-PCR、RNase保護、ノーザンブロット法及び他のハイブリダイゼーション方法のようなポリヌクレオチドの定量のために当技術分野で周知の方法のいずれかを用いて、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で本発明のポリペプチドレベルを決定することに使用しうるアッセイ技術は当業者によく知られており、また上記でいくらか詳細に考察されている（ラジオイムノアッセイ、競合結合アッセイ、ウェスタンブロット分析及びELISAアッセイを含む）。本発明のこの観点では、以下の工程を含む診断方法が提供される：（ａ）上記のようなリガンドを、リガンド-ポリペプチド複合体の形成に適する条件下で、生物学的サンプルと接触させる工程；及び（ｂ）前記複合体を検出する工程。

ELISA、RIA及びFACSのようなポリペプチドレベルを測定するためのプロトコルは、ポリペプチド発現の変化レベル又は異常レベルを診断するための基礎をさらに提供することができる。ポリペプチド発現の正常値又は標準値は、正常な哺乳類対象体（好ましくはヒト）から得られた体液又は細胞抽出物を、複合体形成に適した条件下で、前記ポリペプチドに対する抗体と混合することによって確立される。標準的な複合体形成量は、種々の方法、例えば分光測定法によって定量することができる。

【００９６】
本発明のポリペプチドと特異的に結合する抗体は、前記ポリペプチドの発現によって特徴付けられる症状又は疾患の診断のために、又は本発明のポリペプチド、核酸分子、リガンド及び他の化合物を用いて治療されている患者をモニターするアッセイにおいて用いることができる。診断目的に有用な抗体は、治療薬として上述したのと同じ様式で調製することができる。前記ポリペプチドについての診断アッセイは、前記抗体及び標識を用いてヒトの体液又は細胞若しくは組織の抽出物中のポリペプチドを検出する方法を含む。前記抗体は改変して、又は改変せずに用いることができ、さらにそれらをレポーター分子と共有結合又は非共有結合によって結合させることによって標識することができる。当技術分野で公知の多種多様なレポーター分子を用いることができ、それらのいくつかは上述されている。
生検組織由来の、対象者、対照及び疾患サンプルで発現されているポリペプチドの量を標準値と比較する。標準値と対象者の値との間の偏差は疾患診断のためのパラメーターを確立する。診断アッセイを用いて、ポリペプチド発現の有無及び過剰を識別し、治療上の処置の間のポリペプチドレベルの調節をモニターすることができる。そのようなアッセイはまた、動物実験、臨床試験又は個々の患者の治療モニタリングにおける特定の治療上の処置方法の有効性を評価することに用いることができる。
【００９７】
本発明の診断キットは、以下を含み得る：
（ａ）本発明の核酸分子；
（ｂ）本発明のポリペプチド；又は
（ｃ）本発明のリガンド。
本発明のある観点では、診断キットが、ストリンジェントな条件下で本発明の核酸分子とハイブリダイズする核酸プローブを含む第１容器；前記核酸分子を増幅させるために有用なプライマーを含む第２容器；及び、疾患の診断を容易にするための前記プローブ及びプライマーの使用説明書を含み得る。前記キットは、ハイブリダイズしていないRNAを消化するための薬剤を保持している第３容器をさらに含みうる。
本発明の別の観点では、診断キットが核酸分子のアレイを含んでもよく、前記核酸分子の少なくとも１つが本発明の核酸分子であってもよい。
本発明のポリペプチドを検出するために、診断キットは、本発明のポリペプチドと結合する１又は２以上の抗体；及び、前記抗体と前記ポリペプチドとの間の結合反応の検出に有用な試薬；を含み得る。
【００９８】
そのようなキットは、vWFCドメイン含有タンパク質ファミリーのメンバーが関係している疾患又は疾患に対する感受性の診断に役立つであろう。そのような疾患には、新生物、メラノーマ、肺腫瘍、結腸直腸腫瘍、乳房腫瘍、膵臓腫瘍、頭頚部腫瘍及び他の固形腫瘍を含む細胞増殖性疾患；白血病、非ホジキンリンパ腫、白血球減少症、血小板減少症、脈管形成障害、カポジ肉腫などの骨髄増殖性疾患；アレルギー、炎症性腸疾患、関節炎、乾癬及び呼吸器管炎症、喘息、及び臓器移植拒絶反応を含む自己免疫／炎症性疾患；高血圧症、浮腫、狭心症、アテローム性動脈硬化症、血栓症、敗血症、ショック、再灌流傷害、及び虚血症を含む心臓血管障害；中枢神経系疾患、アルツハイマー病、脳損傷、筋萎縮性側索硬化症、及び疼痛を含む神経障害；骨関節炎を含む軟骨及び骨格発生に関連する障害などの発達障害；糖尿病、骨粗しょう症、及び肥満症を含む代謝障害；AIDS及び腎疾患；ウイルス感染症、細菌感染症、真菌感染症及び寄生虫感染症を含む感染症及び他の病的状態が挙げられる。好ましくは、これら疾患は、リンパ球抗原が関係している疾患である。このようなキットは、不妊症を含む生殖障害の検出のためにも使用することができる。
【００９９】
以下、本発明の種々の観点及び態様について、特にINSP123、INSP124及びINSP125ポリペプチドに関連する実施例によってさらに詳述する。
本発明の範囲を逸脱することなく細部の改変を為しうることは、理解されるだろう。

【０１００】
（実施例）
〔実施例１－SECFAM3ファミリーメンバーの選択及びアラインメント〕
INSP123、INSP124及びINSP125は公的に利用可能なアノテーションを持たず、シグナルペプチドの形態の分泌タンパク質の強いサインを含み、かつ他の動物種由来のオーソログなどの類似するタンパク質とクラスタリングされ得る。
さらなる検討が、22個の配列（２個のヒト遺伝子(及びそのアイソフォーム)とその脊椎動物オーソログ及び脊索動物オーソログ）から成る、特徴付けされていないタンパク質のファミリーの構築を可能にした。これら22のファミリーメンバーのリストを下表１に示す。

【０１０１】

【表１】

アラインメントの識別子	配列アクセッション番号
1_[マカク(MACAQUE)]	BAB60802.1[成体脳](138aa)
2_INSP123	ENSG00000174453 (遺伝子予測集団)(138aa)
3_[ラット(RAT)]	インファーマティカ予測物(配列番号30)(131aa)
4_[マウス(MOUSE)]	インファーマティカ予測物(配列番号28)(131aa)
5_[マウス]	XP_194760.2(324aa)
6_[ヒト(HUMAN)]	AAY96732(ダーウェント(Derwent)配列：“ネル(nell)相同体”)NCBIに等価物なし(325aa)
7_[ラット]	インファーマティカ予測物(配列番号31)(324aa)
8_[ニワトリ(CHIKEN)]	BU281449.1(EST：フレーム+1で翻訳)[成体脳－小脳又は大脳でない](183aa)
9_[ニワトリ]	BU361615.1(EST：フレーム+2で翻訳)[成体大脳](209aa)
10_[ゼブラフィッシュ(ZEBRAFISH)]	BM156647.1(EST：フレーム+3で翻訳)[成体オス全身](190aa)
11_[マウス]	W41229.1(EST：フレーム+3で翻訳)[受胎後19.5日の胎児全身](86aa)
12_[サケ(SALMON)]	CA039900.1(EST：フレーム+2で翻訳)[脾臓](153aa)
13_[カエル(FROG)]	AL635358.1(EST：フレーム+2で翻訳)[ヌルラ(nurula)胚期](100aa)
14_[ユウレイボヤ(Ciona intestinalis)]	BW255450.1(EST：フレーム+1で翻訳)[分裂胚全体](182aa)
15_[ユウレイボヤ]	AV674424.1(EST：フレーム+2で翻訳)[下肢芽期、全体](139aa)
16_[ニワトリ]	BG711876.1(EST：フレーム+1で翻訳)[正常(normalized)肝臓](134aa)
17_[フグ(FUGU)]	インファーマティカ予測物(配列番号34)(131aa)
18_[フグ]	インファーマティカ予測物(配列番号33)(247aa)
19_[フグ]	インファーマティカ予測物(配列番号32)(223aa)
20_[マウス]	インファーマティカ予測物(配列番号29)(222aa)
21_INSP124	インファーマティカ予測物(配列番号5～16)(222aa)
22_INSP125	インファーマティカ予測物(配列番号17～27)(175aa)

表１：SECFAM3ファミリーの全配列(ペプチド長付き、可能な場合は組織分布情報を含む)

【０１０２】

これら配列はClustalWツール(Thompson, J.D., Higgins, D.G., Gibson T.J. Nucleic Acids Res 1994 Nov 11;22(22):4673-80)を用いてアラインメントした(図１)。このアラインメントから、配列の類似性と差異点を明らかにすることができる。各タンパク質は、シグナルペプチドの形態の分泌タンパク質の強いサインと、少なくとも１つのvWFCドメインとを共有する。

ヒト配列のうち、INSP123(配列番号２)、INSP124(配列番号６)及びINSP125(配列番号26)は、公共又は特許のデータベース（例えば、NCBI、DDBJ及びダーウェント(Derwent)）には示されていない新規な予測物である。これら３つのタンパク質のいずれかをコードするヒトcDNAはまだ同定されていない。しかし、マカク及びマウスのcDNA配列への厳密な相同性が、開示した３つのINSP配列がマカク及びマウスの配列のヒト等価物であるという証拠

を強く支持する。
【０１０３】
〔実施例２－INSP123、INSP124及びINSP125ポリペプチドの存在を支持する証拠〕
マカク(カニクイザル(Macaca fascicularis))のcDNA：
AB063096.1(cDNA配列)、BAB60802.1(タンパク質配列)。完全挿入配列cDNAクローン。(成体オスの脳(右側頭葉)。)
長さ＝138aa。
INSP123(配列番号２)：99% ID、クエリー 1-138aa、標的 1-138aa、e＝7e-84。
同じ長さで、１つのアミノ酸が異なる。
INSP124：100% ID、クエリー 1-130aa、標的 1-130aa、e＝3e-79。
INSP125：全体で63% ID。100% IDの２つの領域に分割(クエリー 1-33aa、標的 1-33aa、及びクエリー 34-83aa、標的 81-130aa)
マウス(ハツカネズミ(Mus musculus))：
AK083856.1(ハツカネズミの12日目の胚脊髄神経節cDNA、RIKEN full-length enriched library、クローン：D130026K08産物：仮説上のフォンビルブラント因子、Ｃ型リピート含有タンパク質、完全挿入配列。)[注記：この配列にフレームシフトを導入したエキストラＧヌクレオチド(G 873)は、当該領域のゲノムDNAによって支持されなかった。修正した場合、上の翻訳されたマカクcDNAに対する配列類似性、及びシグナルペプチドの復元(restoration)も、この修正の妥当性についてのサポートを加える。]
修正した配列の翻訳についての統計データを以下に示す。
長さ＝131aa。
INSP123：99% ID、クエリー 1-131aa、標的 1-131aa、e＝4e-79。
同じ長さで、１つのアミノ酸が異なる。
INSP124：99% ID、クエリー 1-130aa、標的 1-130aa、e＝1e-78。
INSP125：全体で63% ID。100% IDの２つの領域に分割(クエリー 1-33aa、標的 1-33、及びクエリー 34-83aa、標的 81-130aa)。
AK080585.1(ハツカネズミの10日目の新生児皮質cDNA、RIKEN full-length enriched library、産物：仮説上のフォンビルブラント因子、Ｃ型リピート含有タンパク質、完全挿入配列)。翻訳された産物の統計データを以下に示す。
長さ＝175aa。
INSP123：全体で63% ID。100% IDであり且つ両者の間にスプライスアウトされた領域を有する、２つの領域に分割(クエリー1-33、標的1-33、及びクエリー81-130aa、標的34-83aa)。
INSP124:全体で77% ID。それぞれ100% ID及び98% IDの２つの領域に分割(クエリー 1-33aa、標的 1-33aa、及びクエリー 81-222aa、標的 34-175aa)。
INSP125：98% ID、クエリー 1-175aa、標的 1-175aa、e＝e-122。(同じ長さで２つのアミノ酸が保存的に置換されている。)
【０１０４】
〔実施例３－シグナルペプチド配列の同定〕
SignalPプログラム(http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/)を用いて潜在的シグナルペプチド領域と、INSP123～125ポリペプチドの切断部位を同定した。これら３つのポリペプチドは同一の開始配列を共有するので、３つのアイソタイプについてSignalP結果は同一だった。すなわちINSP123(配列番号２)、INSP124(配列番号12)及びINSP125(配列番号26)のSignalP結果は全て、切断部位が位置23と位置24との間である可能性が最も高いことを示す(図２)。
【０１０５】
〔実施例４－SECFAM3ファミリー内にvWFCドメインが存在することの証拠〕
SECFAM3ファミリーの各配列を、タンパク質ドメインプロファイルと比較した。この方法は、SECFAM3アラインメントの位置221～281aaで（vWFC）ドメインを強調表示した（図１）。アラインメント範囲155～214aaにわたる同じドメイン型への弱いヒットは、このフ

ァミリーのより長いタンパク質には２つのvWFCドメイン、より短いメンバー（INSP123のような）には１つのvWFCドメインがあることを示した。INSP124の２つの予測されたvWFCドメインを抽出し、種々のタンパク質に由来する50を超える特徴付けられているvWFCドメインのプロファイルに対してアラインメントを行った（図４）。これら領域内にはいくつかの非システイン残基と共に10のシステインパターンが保存されており、両ドメインがその配列レベルで事実上vWFCドメイン様であることを疑いの余地なく確証した。システインパターンが保存されているという事実を考えると、これらドメインの構造は、おそらく既知のvWFCドメインに似た形状を呈すると思われる。これ以降、この２つのvWFCドメインをアラインメントに登場する順序に基づいて“ドメイン１”及び“ドメイン２”と区別する。

【０１０６】

〔実施例５－INSP123、INSP124及びINSP125のスプライシングパターン〕

INSP123は、ドメイン１だけ(配列番号２の53～109aa)を含み、INSP124は両ドメイン(配列番号12の53～109aaと116～171aa)を含む。アイソフォームINSP125(配列番号26)は、アラインメントの位置136から182の間にスプライシングされた領域があることを特徴とする(図１及び３)。これは、ドメイン１をvWFCドメインとして最も非機能的にならしめるであろう、ドメイン１の最初の４つのシステインを効率的に消去する。しかし、ドメイン２は、このスプライシング事象によって崩されることなく、結果として、このタンパク質でみとめられる単一のvWFCドメインを表す(配列番号26の69～124aa)。

本発明のポリペプチドのスプライスバリアントは、結合相手に対する異なる親和性のような異なった生物学的機能を有すると予測される。

【０１０７】

〔実施例６－SECFAM3ファミリーのプロファイル〕

図５は、SECFAM3ファミリーの位置特異的スコアマトリックス、すなわちプロファイルを示す。このプロファイルは、このファミリーのユニークなサインを表す。まず配列のマルチプルアラインメントを作成することによって、プロファイルを生成した。テンプレート配列（この場合はINSP124）を選択して、プロファイルアラウンドを構築した。可能な20個の各種類のアミノ酸の頻度を、該テンプレート配列の残基によって占有されている、該ファミリーのマルチプル配列アラインメントの各縦列について評価した。ファミリーアラインメントの各位置における各アミノ酸残基の種類のスコアを、BLOSUM62位置独立バックグラウンドマトリックス(Henikoff & Henikoff, 1992. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:10915-9)に基づき、頻度スコアと、この種類の残基による優性残基の置換がみとめられる可能性とに基づいて計算した。このマトリックスは、ファミリーアラインメントブロックの大きなデータセット(BLOcks SUbstitution Matrix)に基づいており、このデータセットではアミノ酸置換頻度を62%以上の同一性でクラスタリングされたアラインメントに基づいて評価している。この場合、これらの因子をプールして、SECFAM3アラインメントの各位置における各アミノ酸の種類について、対数ベースのスコアを与えた。最高の正のスコアは、当該位置で見出される可能性が最も高いアミノ酸を表す。このプロファイルを用いてクエリー配列のアラインメントスコアを見出すことができる。各位置において、当該アミノ酸についての対応する値が抽出され、クエリー配列の各アミノ酸の該スコア全ての合計が当該配列のアラインメントスコアを構成する。この値が特定の閾値を超える場合、そのクエリー配列はこのファミリーに有意に関連しうる。このように、プロファイルは、ファミリーについて高感度な統計的基準を形成する。INSP124のINSP124それ自体に対するBLASTPはe-143という最小E-valueを与える。

【０１０８】

〔実施例７－SECFAM3ファミリーについてPROSITE形式で生成したコンセンサス配列〕

図６は、SECFAM3ファミリーのタンパク質の第１ドメインを表すコンセンサス配列を示す。このドメインはvWFCドメインであると予測される。第２ドメインもvWFCドメインと注釈付けられる。

【０１０９】

〔実施例８－INSP123のクローニング〕

〔ヒトcDNAテンプレートの調製〕

製造業者のプロトコルに従い、Superscript II RNase H$^-$逆転写酵素(Invitrogen)を用いて、種々の正常ヒト組織総RNAサンプルから第１鎖cDNAを調製した。オリゴ$(dT)_{15}$プライマー(1μl、500μg/mlで)(Promega)、2μgのヒト総RNA、1μlの10mM dNTPミックス(dATP、dGTP、dCTP及びdTTPそれぞれ10mM、中性pH)と滅菌蒸留水で最終体積12μlにして1.5mlのエッペンドルフチューブ内で混ぜてから、65℃で５分間加熱して、氷上で冷却した。チューブの内容物を軽い遠心分離で収集し、4μlの5×第１鎖緩衝液(First-Strand Buffer)、2μlの0.1M DTT、及び1μlのRnaseOUT組換えリボヌクレアーゼインヒビター(40ユニット/μl,Invitrogen)を加えた。チューブの内容物を穏やかに混合し、42℃で2分間インキュベートし；次に1μl(200ユニット)のSuperscript II酵素を添加し、ピペッティングで穏やかに混ぜた。混合物を42℃で50分間インキュベートしてから70℃で15分間加熱して不活化した。該cDNAに相補的なRNAを除去するために、1μl(2ユニット)の大腸菌RNase H(Invitrogen)を加え、反応混合物を37℃で20分間インキュベートした。最後の21μlの反応混合物に179μlの滅菌水を添加して希釈し、総体積200μlを得た。INSP123の増幅用テンプレートとして用いたヒトcDNAサンプルは、脳に由来していた。

〔cDNAライブラリー〕

ヒトcDNAライブラリー(バクテリオファージラムダ(λ)ベクター中)をClontechから購入し、或いはλGT10ベクターで自家調製した。バクテリオファージλDNAは、製造業者の説明書に従って、Wizard Lambda Preps DNA精製システム(Promega, Corporation, Madison WI)を用いて感染させた大腸菌宿主株の小規模培養物から調製した。INSP123の増幅用テンプレートとして用いたヒトcDNAライブラリーサンプルは、胎児脳、成人脳、及び混合脳-肺-精巣ライブラリーに由来していた。

【０１１０】

〔PCR用の遺伝子特異的クローニングプライマー〕

プライマーデザイナーソフトウェア(Primer Designer Software)(Scientific & Educational Software, PO Box 72045, Durham, NC 27722-2045, USA)を用いて仮想的cDNAの完全コード配列を増幅するための18～25塩基の長さを有する１対のPCRプライマーを設計した。PCRプライマーは、55±10℃に近いＴｍと40～60％のGC含量を有するように最適化した。標的配列(INSP123)に対して高い選択性を有し、且つ特異的プライミングが僅かな又は全くないプライマーを選んだ。

〔種々のヒトcDNAテンプレート及びファージライブラリーcDNAに由来するINSP123のPCR増幅〕

遺伝子特異的クローニングプライマー(INSP123-CP1及びINSP123-CP2、図７、図８及び表２)を設計して、INSP123予測物の全414bpコード配列を網羅する482bpのcDNAフラグメントを増幅した。INSP123予測物を用いた公的なEST配列データベースへの質問(interrogation)は、該配列が脳cDNAテンプレートで発現されうることを示唆した。そこで、PCRテンプレートとしてセクション1.2で列挙した脳由来のヒトcDNAサンプル及びファージライブラリーcDNAサンプルと共に、遺伝子特異的クローニングプライマーINSP123-CP1及びINSP123-CP2を使用した。1×AmpliTaq^{TM}緩衝液、200μMのdNTPs、50pmolesの各クローニングプライマー、2.5ユニットのAmpliTaq^{TM}(Perkin Elmer)及び100ngのcDNAテンプレートを含有する最終体積50μlで、MJ Research DNA Engineを用い、以下のようにプログラムしてPCRを行った：94℃で2分；40サイクル（94℃で1分、53℃で1分、及び72℃で1分）；次いで72℃で7分を1サイクル及び4℃で保持サイクル。

各増幅物の反応混合物(50μl)を1×TAE緩衝液(Invitrogen)中0.8％アガロースゲル上で解析すると、脳-肺-精巣cDNAライブラリーに対応するサンプルでは、単一のPCR産物がおよそ予測される分子量で移動することが分かった。このPCR産物をWizard PCR Preps DNA精製システム(Promega)を用いて精製した。このPCR産物を50μlの水で溶出させ、直接サブクローニングした。

【０１１１】

【表２】
表２
INSP123クローニングプライマー及びシークエンシングプライマー

プライマー	配列(5’－3’)
INSP123-CP1	TAG GAG CAC ATC CAG AAG TC
INSP123-CP2	GTA CTA AGC ACG TGG TAT GA
INSP123-EX1	AA GCA GGC TTC GCC ACC ATG GCT CTT CAT ATT CAT GA
INSP123-EX2	[GTG ATG GTG ATG GTG] ATA AAT ATG GAG GGT AAC GC
GCP フォワード	G GGG ACA AGT TTG TAC AAA AAA GCA GGC TTC GCC ACC
GCP リバース	GGG GAC CAC TTT GTA CAA GAA AGC TGG GTT “TCA” [ATG GTG ATG GTG ATG GTG]
pEAK12F	GCC AGC TTG GCA CTT GAT GT
pEAK12R	GAT GGA GGT GGA CGT GTC AG
21M13	TGT AAA ACG ACG GCC AGT
M13REV	CAG GAA ACA GCT ATG ACC
T7	TAA TAC GAC TCA CTA TAG G
T3	ATT AAC CCT CAC TAA AGG

下線付き配列＝コザック配列
“” 付き配列＝終止コドン
[] 内配列　＝Hisタグ

【０１１２】
〔PCR産物のサブクローニング〕
Invitrogen社から購入したTAクローニングキットを用い、製造業者が指定した条件で、PCR産物をトポイソメラーゼＩ改変クローニングベクター(pCR4-TOPO)にサブクローニングした。簡単に言うと、脳-肺-精巣cDNAライブラリー増幅から得たゲル精製PCR産物4μlを、15分間室温で1μlのTOPOベクター及び1μlの塩溶液とインキュベートした。反応混合物で以下のように大腸菌株TOP10(Invitrogen)を形質転換させた：50μlアリコートのOne Shot TOP10細胞を氷上で解凍し、2μlのTOPO反応混合物を添加した。混合物を15分間氷上でインキュベートしてから、正確に30秒間42℃でインキュベートして熱ショックを与えた。サンプルを氷上に戻し、250μlの温かい(室温)SOC培地を加えた。サンプルを1時間、37℃で、振とうさせながら(220rpm)インキュベートした。この形質転換混合物を、アンピシリン(100μg/ml)を含有するL-ブロス(LB)プレート上に蒔いて、37℃で一晩インキュベートした。
〔コロニーPCR〕
滅菌つまようじを用いて50μlの滅菌水中にコロニーを接種した。10μlアリコートの接種材料を、1×AmpliTaq™緩衝液、200μM dNTPs、20pmolesのT7プライマー、20pmolesのT3プライマー、1ユニットのAmpliTaq™(Perkin Elmer)を含有する総反応体積20μlでMJ Research DNA Engineを用いてPCRに供した。サイクル条件は以下のとおりだった：94℃で2分；30サイクル（94℃で30秒、48℃で30秒及び72℃で1分）。さらなる解析まで、サンプルを4℃で維持した(保持サイクル)。
PCR反応産物を1×TAE緩衝液中1%アガロースゲル上で解析した。予想したPCR産物の大きさ(482bpのcDNA＋105bp(マルチクローニングサイト、すなわちMCSによる))が得られたコロニーを、アンピシリン(100μg/ml)を含有する5mlのL-ブロス(LB)内、220rpmで振とうしながら37℃で一晩増殖させた。
【０１１３】
〔プラスミドDNA調製及びシークエンシング〕

Qiaprep Turbo 9600ロボットシステム(Qiagen)又はWizard Plus SVミニプレップキット(Promegaカタログ番号1460)を用い、製造業者の説明書に従って5mlの培養物からミニプレッププラスミドDNAを調製した。100μlの滅菌水にプラスミドDNAを溶出させた。DNA濃度をエッペンドルフBO光度計又はSpectramax 190光度計(Molecular Devices)で測定した。BigDye Terminatorシステム(Applied Biosystemsカタログ番号4390246)を用い、製造業者の説明書に従って、T7プライマー及びT3プライマーによるDNAシークエンシングにプラスミドDNA(100～200ng)を供した。プライマー配列は表２に示される。Dye-Exカラム(Qiagen)又はMontage SEQ 96クリーアッププレート(Milliporeカタログ番号LSKS09624)でシークエンシング反応物を精製してから、Applied Biosystems 3700シークエンサーで解析した。

配列解析によって、予測INSP123配列に100%マッチングしているクローンが同定された。このクローン化cDNAフラグメントの配列は図８に示される。クローン化PCR産物(pCR4-TOPO-INSP123)(プラスミドID 14352)のプラスミドマップは図９に示される。

【０１１４】

〔実施例９－INSP123の哺乳類細胞発現ベクターの構築〕

プラスミド14352をPCRテンプレートとして用い、Gateway^{TM}クローニング方法論(Invitrogen)によって、6HISタグをコードする3’配列を有するINSP123のORF配列を含有するpEAK12d(図11)及びpDEST12.2(図12)発現クローンを作製した。

【０１１５】

〔インフレーム6HISタグ配列に融合したゲートウェイ(Gateway)適合性INSP123のORFの作製〕

ゲートウェイクローニングプロセスの第１段階は２工程のPCR反応を含み、このPCR反応は、attB1組換え部位及びコザック配列が5’末端で隣接し、かつインフレーム6ヒスチジン(6HIS)タグ、終止コドン及びattB2組換え部位をコードする配列が3’末端で隣接するINSP123のORF(ゲートウェイ適合性cDNA)を生成する。第１PCR反応物(50μlの最終体積)は、次のものを含む：1μl(40ng)のプラスミド14352、1.5μlのdNTPs(10mM)、10μlの10×Pfxポリメラーゼ緩衝液、1μlの$MgSO_4$(50mM)、0.5μlの各遺伝子特異的プライマー(100μM)(INSP123-EX1及びINSP123-EX2)、及び0.5μlのPlatinum Pfx DNAポリメラーゼ(Invitrogen)。95℃で2分間の最初の変性工程の後、12サイクル(94℃で15秒；55℃で30秒及び68℃で2分)；及び4℃の保持サイクルによってPCR反応を行った。増幅産物を1×TAE緩衝液(Invitrogen)中0.8%アガロースゲル上で可視化し、Wizard PCRプレップDNA精製システム(Promega)を用い、製造業者の説明書に従って、予測した分子量(447bp)で移動する産物をゲルから精製し、50μlの滅菌水に回収した。

第２PCR反応物(50μlの最終体積)は、10μlの精製第１PCR産物、1.5μlのdNTPs(10mM)、5μlの10×Pfxポリメラーゼ緩衝液、1μlの$MgSO_4$(50mM)、0.5μlの各ゲートウェイ変換プライマー(100μM)(GCPフォワード及びGCPリバース)及び0.5μlのPlatinum Pfx DNAポリメラーゼを含有した。第２PCR反応の条件は次のとおりだった：95℃で1分；4サイクル(94℃で15秒；50℃で30秒及び68℃で2分)；25サイクル(94℃で15秒；55℃で30秒及び68℃で2分)；次いで4℃の保持サイクル。Wizard PCRプレップDNA精製システム(Promega)を用い、製造業者の説明書に従ってPCR産物をゲル精製した。

【０１１６】

〔ゲートウェイエントリーベクターpDONR221並びに発現ベクターpEAK12d及びpDEST12.2へのゲートウェイ適合性INSP123のORFのサブクローニング〕

ゲートウェイクローニングプロセスの第２段階は、次のようなゲートウェイ改変PCR産物のゲートウェイエントリーベクターpDONR221(Invitrogen,図10)へのサブクローニングを含む：第２PCR反応に由来する5μlの精製産物を、1.5μlのpDONR221ベクター(0.1μg/μl)、2μlのBP緩衝液及び1.5μlのBPクロナーゼ(clonase)酵素混合物(Invitrogen)と10μlの最終体積にて、室温で1時間インキュベートした。プロテイナーゼKを1μl(2μg/μl)添加して反応を終わらせ、37℃でさらに10分間インキュベートした。この反応のアリコート(1μl)を用いて、大腸菌DH10B細胞を次のようにエレクトロポレーションで形質転換

させた：25μl分量のDH10Bエレクトロコンピテント細胞(Invitrogen)を氷上で解凍し、1μlのBP反応混合物を加えた。冷却した0.1cmのエレクトロポレーションキュベットに混合物を移し、BioRad Gene-Pulser™を用い、製造業者が推奨するプロトコロルに従って細胞をエレクトロポレーションした。エレクトロポレーション直後、予め室温に温めたSOC培地(0.5ml)を加えた。混合物を15mlのスナップ-キャップチューブに移し、振とうさせながら(220rpm)37℃で1時間インキュベートした。カナマイシン(40μg/ml)を含むL-ブロス(LB)プレート上に、形質転換混合物のアリコート(10μl及び50μl)を蒔いて、37℃で一晩インキュベートした。

得られた６つのコロニー由来の5mlの培養物からQiaprep Turbo 9600ロボットシステム(Qiagen)を用いてプラスミドミニプレップDNAを調製した。BigDyeTerminatorシステム(Applied Biosystemsカタログ番号4390246)を用い、製造業者の説明書に従って、プラスミドDNA(150～200ng)を21M13及びM13Revプライマーによる DNAシークエンシングに供した。プライマー配列は表２に示される。シークエンシング反応をDye-Exカラム(Qiagen)又はMontage SEQ 96クリーンアッププレート(Milliporeカタログ番号LSKS09624)で精製してからApplied Biosystems 3700シークエンサーで解析した。

【０１１７】

正しい配列(pENTR_INSP123_6HIS、プラスミドID 14595、図13)を含む１つのクローンからのプラスミド溶出液(2μl又は約150ng)を、1.5μlのpEAK12dベクター又はpDEST12.2ベクターのどちらか(図11及び12)(0.1μg/μl)、2μlのLR緩衝液及び1.5μlのLRクロナーゼ(Invitrogen)を最終体積10μlで含む組換え反応物に用いた。混合物をRT(室温)で1時間インキュベートし、プロテイナーゼK(2μg)を添加して反応を終わらせ、37℃さらに10分間インキュベートした。この反応のアリコート(1μl)を用いて大腸菌DH10B細胞をエレクトロポレーションで次のように形質転換させた：25μlアリコートのDH10Bエレクトロコンピテント細胞(Invitrogen)を氷上で解凍し、1μlのLR反応混合物を加えた。その混合物を、冷却した0.1cmのエレクトロポレーションキュベットに移し、BioRad Gene-Pulser™を用い、製造業者が推奨するプロトコルに従って、前記細胞にエレクトロポレーションした。エレクトロポレーション後直ちに、予め室温まで温めたSOC培地(0.5ml)を添加した。混合物を15mlのスナップ-キャップチューブに移し、振とうさせながら(220rpm)37℃で1時間インキュベートした。アンピシリン(100μg/ml)を含むL-ブロス(LB)プレート上に、形質転換混合物のアリコート(10μl及び50μl)を蒔いて、37℃で一晩インキュベートした。

Qiaprep Turbo 9600ロボットシステム(Qiagen)で各ベクターにサブクローニングされて得られた６つのコロニーに由来する5ml培養物から、プラスミドミニプレップDNAを調製した。pEAK12dベクターのプラスミドDNA(200～500ng)に、上述するpEAK12F及びpEAK12Rプライマーを用いたDNAシークエンシングを行った。pDEST12.2ベクターのプラスミドDNA(200～500ng)に、上述する21M13及びM13Revプライマーを用いたDNAシークエンシングを行った。プライマー配列は表２に示される。

配列検証した各クローン(pEAK12d_INSP123_6HIS、プラスミド番号14602(図８)、及びpDEST12.2_INSP123_6HIS、プラスミド番号14606(図９))の500mlの培養物１つから、Sambrook J.ら(1989)によって記載された方法(Molecular Cloning, a Laboratory Manual, 2nd edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press)でCsCl勾配精製マキシ-プレップ(maxi-prep)DNAを調製し、プラスミドDNAを滅菌水(又は10mM Tris-HCl pH 8.5)中1μg/μlの濃度に再懸濁して、－20℃で保存した。

【０１１８】

〔実施例10－エクソンアセンブリーによるINSP124のクローニング〕

INSP124は、完全長SECFAM3ファミリーの、３つのコードエクソンにコードされている222アミノ酸(666bp)の新規な分泌タンパク質の予測物である(図16及び17)。

INSP124タンパク質を作製するために：

－PCRにより、プラスミドID14352(INSP124のスプライスバリアントであるINSP123を含む)からエクソン１を増幅した。

－PCRにより、ゲノムDNAからエクソン２及びエクソン３を増幅した(図17)。

－ゲル精製したエクソンを混合し、新たなPCR反応を行ってリアセンブリーDNAを増幅した。

－INSP124コード配列に対応する完全長PCR産物(図18)を、Invitrogen Gateway™方法論を用いて、pCR-BluntII-TOPOクローニングベクター(Invitrogen)にサブクローニングして、引き続きpDONR 201(ゲートウェイエントリーベクター)並びに発現ベクターpEAK12d及びpDEST12.2.にサブクローニングした。

【０１１９】

〔INSP124をコードするエクソンのプラスミドDNA又はゲノムDNAからのPCR増幅〕

INSP124のエクソン１、エクソン２及びエクソン３を増幅するためにPCRプライマーを設計した(表３)。エクソン１用リバースプライマー(INSP124-e1R)は、その5’末端にINSP124のエクソン２との18bpのオーバーラップを有する。エクソン２用フォワードプライマー(INSP124-e2F)は、その5’末端にINSP124のエクソン１との19bpのオーバーラップを有する。エクソン２用リバースプライマー(INSP124-e2R)は、その5’末端にINS124のエクソン３との19bpのオーバーラップを有する。エクソン３のフォワードプライマー(INSP124-e3F)は、その5’末端にINSP124のエクソン２との18bpのオーバーラップを有する。

INSP124のエクソン１を作製するため、最終体積50μlでPCR反応を行った。そのPCR反応物は、100ngのプラスミド番号14352のDNA、1×AmpliTaq™緩衝液、200μMのdNTPs、50pmolesのINSP124-e1F、50pmolesのINSP124-e1R及び2.5ユニットのAmpliTaq™(Perkin Elmer)を含有し、MJ Research DNA Engineを用い、次のようにプログラムして行った：94℃で2分；30サイクル(94℃で30秒、63℃で30秒及び72℃で1分)；次いで72℃で7分を1サイクル及び4℃で保持サイクル。

【０１２０】

INSP124のエクソン２を作製するため、最終体積50μlでPCR反応を行った。そのPCR反応物は、1μlのゲノムDNA(0.1μg/μl(Novagen Inc.)、1×AmpliTaq™緩衝液、200μMのdNTPs、50pmolesのINSP124-e2F、50pmolesのINSP124-e2R、及び2.5ユニットのAmpliTaq™(Perkin Elmer)を含んでいた。INSP124のエクソン３を作製するため、最終体積50μlでPCR反応を行った。PCR反応物は、1μlのゲノムDNA(0.1μg/μl(Novagen Inc.)、1×AmpliTaq™緩衝液、200μMのdNTPs、50pmolesのINSP124-e3F、50pmolesのINSP124-e3R、及び2.5ユニットのAmpliTaq™(Perkin Elmer)を含んでいた。エクソン２及びエクソン３を作製するためのPCRサイクルは、次のようにプログラムしたMJ Research DNA Engineを用いた：94℃で2分；30サイクル(94℃で30秒、65℃で30秒、及び72℃で40秒)；次いで72℃で5分を1サイクル及び4℃で保持サイクル。

反応生成物を1.8%アガロースゲル(1×TAE)上で解析し、Wizard PCRプレップDNA精製システム(Promega)を用いて正しい大きさのPCR産物(エクソン１、２及び３についてそれぞれ439bp、168bp、171bp)をゲル精製し、50μlの水に溶出した。10μlの各精製PCR産物を1.8%アガロースゲル上で可視化して、濃度を評価した。

【０１２１】
【表３】
表３－INSP124のクローニング用及びシークエンシング用プライマー

プライマー	配列(5’－3’)
GCPフォワード	G GGG ACA AGT TTG TAC AAA AAA GCA GGC TTC GCC ACC
GCPリバース	GGG GAC CAC TTT GTA CAA GAA AGC TGG GTT “TCA” [ATG GTG ATG GTG ATG GTG]
INSP124-e1F	GGA GCA CAT CCA GAA GTC TTT GAA GAG G
INSP124-e1R	[“CCA TTC ACA TGG AGA GGG”] CTT AAA TTC CTC CAA GAT TTT G
INSP124-e2F	[“AAT CTT GGA GGA ATT TAA GCC”] CTC TCC ATG TGA ATG GTG
INSP124-e2R	[“CCT GCA AAG CAG TTT GGA C”] CA TTT TTG CAG ACA GGA CAA C
INSP124-e3F	[“GTC CTG TCT GCA AAA ATG”] GTC CAA ACT GCT TTG CAG GAA C
INSP124-e3R	TGT CCT ACA CAG TCT GCT TGC CTT GGC ATT CAC
INSP124-EX1	AA GCA GGC TTC GCC ACC ATG GCT CTT CAT ATT CAT GA
INSP124-EX2	[GTG ATG GTG ATG GTG] CAC AGT CTG CTT GCC TTG GC
pEAK12-F	GCC AGC TTG GCA CTT GAT GT
pEAK12-R	GAT GGA GGT GGA CGT GTC AG
pENTR-F	TCG CGT TAA CGC TAG CAT GGA TCT C
pENTR-R	GTA ACA TCA GAG ATT TTG AGA CAC
T7	TAA TAC GAC TCA CTA TAG GG
SP6	ATT TAG GTG ACA CTA TAG

下線付き配列＝コザック配列
“” 付き配列＝終止コドン
[] 内配列 ＝Hisタグ
“” 付きかつ [] 内配列 ＝隣接エクソンとのオーバーラップ

【０１２２】
〔INSP124のORFを作製するためのエクソン１、エクソン２及びエクソン３のアセンブリー〕
３μｌのゲル精製エクソン1、５μｌのゲル精製エクソン２、５μｌのゲル精製エクソン３、１.５μｌの10mM dNTPs、１μｌの$MgSO_4$、1.5μｌのINSP124-e1F(10μM)、1.5μｌのINSP124-e3R(10μM)、５μｌの10×Platinum Pfx^{TM}緩衝液、及び0.5μｌのPlatinum Pfx^{TM}DNAポリメラーゼ(5U/μl)(Invitrogen)を含有する50μｌのPCR反応物でエクソン１、エクソン２及びエクソン３のアセンブリーを行った。反応条件は次のとおりだった：94℃で4分；10サイクル(94℃で30秒、48℃で30秒及び68℃で1分）；25サイクル(94℃で30秒、52℃で30秒及び68℃で1分)；68℃で10分のさらなる伸長サイクル；及び4℃の保持サイクル。反応産物を0.8%アガロースゲル(1×TAE)上で解析した。Wizard PCRプレップDNA精製システム(Promega)を用いて正しい大きさ(704bp)のPCR産物をゲル精製し、50μｌの水に溶出させ、直接サブクローニングした。
【０１２３】

〔PCR産物のサブクローニング〕

Invitrogen社から購入したトポイソメラーゼＩ改変クローニングベクター(pCR-BluntII-TOPO)に、製造業者が指定した条件を用いて、PCR産物をサブクローニングした。要するに、4μlのゲル精製PCR産物を、1μlのTOPOベクター及び1μlの塩溶液と室温で15分間インキュベートした。反応混合物で大腸菌株TOP10(Invitrogen)を次のように形質転換させた：1μlアリコートのOne Shot TOP10細胞を氷上で解凍し、2μlのTOPO反応物を加えた。混合物を15分間氷上でインキュベートしてから、42℃で正確に30秒間インキュベートして熱ショックを与えた。サンプルを氷上に戻し、250μlの温かい(室温)SOC培地を加えた。サンプルを振とうさせながら(220rpm)1時間、37℃でインキュベートした。カナマイシン(40μg/ml)を含むL-ブロス(LB)プレート上に形質転換混合物を蒔いて、37℃で一晩インキュベートした。

【０１２４】

〔コロニーPCR〕

滅菌つまようじを用いて50μlの滅菌水中にコロニーを接種した。10μlアリコートの接種材料を、1×AmpliTaq™緩衝液、200μM dNTPs、20pmolesのT7プライマー、20pmolesのSP6プライマー、1ユニットのAmpliTaq™(Perkin Elmer)を含有する総反応体積20μlにて、MJ Research DNA Engineを用いたPCRに供した。サイクル条件は次のとおりだった：94℃で2分；30サイクル（94℃で30秒、48℃で30秒及び72℃で1分）。サンプルを4℃で維持した(保持サイクル)後、さらに解析した。

PCR反応産物を1×TAE緩衝液中1%アガロースゲル上で解析した。予想したPCR産物の大きさ(704bpのcDNA＋486bp(マルチクローニングサイト、すなわちMCSによる))が得られたコロニーを、カナマイシン(40μg/ml)を含有する5mlのL-ブロス(LB)内、220rpmで振とうさせながら37℃で一晩増殖させた。

【０１２５】

〔プラスミドDNA調製及びシークエンシング〕

Qiaprep Turbo 9600ロボットシステム(Qiagen)又はWizard Plus SVミニプレップキット(Promegaカタログ番号1460)を用い、製造業者の説明書に従って、5mlの培養物からミニプレッププラスミドDNAを調製した。100μlの滅菌水にプラスミドDNAを溶出させた。DNA濃度をエッペンドルフBO光度計又はSpectramax 190光度計(Molecular Devices)で測定した。BigDye Terminatorシステム(Applied Biosystemsカタログ番号4390246)を用い、製造業者の説明書に従って、プラスミドDNA(200～500ng)をT7プライマー及びSP6プライマーによるDNAシークエンシングに供した。プライマー配列は表３に示される。Dye-Exカラム(Qiagen)又はMontage SEQ 96クリーンアッププレート(Milliporeカタログ番号LSKS09624)でシークエンシング反応物を精製してから、Applied Biosystems 3700シークエンサーで解析した。

配列解析により、予測したINSP124配列に100%マッチングしているクローンが同定された。このクローン化cDNAフラグメントの配列は図３に示される。クローン化PCR産物(pCR-BluntII-TOPO-INSP124)(プラスミドID 14649)のプラスミドマップは図19に示される。

【０１２６】

〔実施例11－INSP124用の哺乳類細胞発現ベクターの構築〕

Gateway™クローニング方法論(Invitrogen)で、プラスミド14649をPCRテンプレートとして用いて、6HISタグをコードする3’配列を有するINSP124のORF配列を含むpEAK12d(図21)及びpDEST12.2(図22)発現クローンを作製した。

〔インフレーム6HISタグ配列に融合したゲートウェイ(Gateway)適合性INSP124のORFの作製〕

ゲートウェイクローニングプロセスの第１段階は２工程PCR反応を含み、この２工程PCR反応は、attB1組換え部位及びコザック配列が5’末端で隣接し、かつインフレーム6ヒスチジン(6HIS)タグ、終止コドン及びattB2組換え部位をコードする配列が3’末端で隣接しているINSP124のORFを作製する(ゲートウェイ適合性cDNA)。第１PCR反応物(最終体積50μl中)は次の成分を含む：1μl(40ng)のプラスミド14649、1.5μlのdNTPs(10mM)、10μlの1

0×Pfxポリメラーゼ緩衝液、1μlの$MgSO_4$(50mM)、0.5μlの各遺伝子特異的プライマー(100μM)(INSP124-EX1及びINSP124-EX2)、及び0.5μlのPlatinum Pfx DNAポリメラーゼ(Invitrogen)。PCR反応は、95℃で2分の最初の変性工程、次いで12サイクル(94℃で15秒；55℃で30秒及び68℃で2分)；及び4℃の保持サイクルを用いて行った。増幅産物を1×TAE緩衝液(Invitrogen)中0.8%アガロースゲル上で可視化し、予測した分子量(666bp)で移動する産物を、Wizard PCR Preps DNA精製システム(Promega)を用い、製造業者の説明書に従ってゲルから精製し、50μlの滅菌水中に回収した。

第２PCR反応物(最終体積50μl中)は、10μlの精製第１PCR産物、1.5μlのdNTPs(10mM)、5μlの10×Pfxポリメラーゼ緩衝液、1μlの$MgSO_4$(50mM)、0.5μlの各ゲートウェイ変換プライマー(100μM)(GCPフォワード及びGCPリバース)及び0.5μlのPlatinum Pfx DNAポリメラーゼを含んでいた。第２PCR反応の条件は次のとおりだった：95℃で1分；4サイクル(94℃で15秒；50℃で30秒及び68℃で2分)；25サイクル(94℃で15秒；55℃で30秒及び68℃で2分)；次いで4℃で保持サイクル。Wizard PCRプレップDNA精製システム(Promega)を用い、製造業者の説明書に従って、PCR産物をゲル精製した。

【０１２７】

〔ゲートウェイ適合性INSP124のORFのゲートウェイエントリーベクターpDONR221並びに発現ベクターpEAK12d及びpDEST12.2へのサブクローニング〕

ゲートウェイクローニングプロセスの第２段階は、次のようにゲートウェイ改変PCR産物のゲートウェイエントリーベクターpDONR221(Invitrogen、図20)へのサブクローニングを含む：第２PCR由来の5μlの精製産物を、1.5μlのpDONR221ベクター(0.1μg/μl)、2μlのBP緩衝液及び1.5μlのBPクロナーゼ酵素ミックス(Invitrogen)と最終体積10μlで室温にて1時間インキュベートした。プロテイナーゼKを1μl(2μg/μl)添加して反応を終わらせ、37℃でさらに10分間インキュベートした。この反応のアリコート(1μl)を用いて、次のようにエレクトロポレーションにより大腸菌DH10B細胞を形質転換させた：25μlアリコートのDH10Bエレクトロコンピテント細胞(Invitrogen)を氷上で解凍し、1μlのBP反応ミックスを加えた。その混合物を、冷却した0.1cmのエレクトロポレーションキュベットに移して、BioRad Gene-Pulser™を用い、製造業者が推奨するプロトコロルに従って細胞をエレクトロポレーションした。エレクトロポレーション後直ちに、予め室温まで温めたSOC培地(0.5ml)を添加した。混合物を15mlのスナップ-キャップチューブに移し、振とうさせながら(220rpm)、1時間、37℃でインキュベートした。この形質転換混合物のアリコート(10μl及び50μl)を、カナマイシン(40μg/ml)を含むL-ブロス(LB)プレート上に蒔いて、37℃で一晩インキュベートした。

得られた６つのコロニーに由来する5ml培養物から、Qiaprep Turbo 9600ロボットシステム(Qiagen)を用いてプラスミドミニプレップDNAを調製した。BigDyeTerminatorシステム(Applied Biosystemsカタログ番号4390246)を用い、製造業者の説明書に従って、プラスミドDNA(150～200ng)を21M13及びM13Revプライマーによる DNAシークエンシングに供した。プライマー配列は表２に示される。シークエンシング反応物は、Dye-Exカラム(Qiagen)又はMontage SEQ 96クリーンアッププレート(Milliporeカタログ番号LSKS09624)で精製してからApplied Biosystems 3700シークエンサーで解析した。

【０１２８】

次に、正しい配列(pENTR_INSP124-6HIS, プラスミドID 14690, 図23)を含むクローンの１つに由来するプラスミド溶出液(2μl又は約150ng)を、1.5μlのpEAK12dベクター又はpDEST12.2ベクターのどちらか(図21&22)(0.1μg/μl)、2μlのLR緩衝液及び1.5μlのLRクロナーゼ(Invitrogen)を含む最終体積10μlの組換え反応物で用いた。混合物をRTで1時間インキュベートし、プロテイナーゼK(2μg)を添加して反応を終わらせ、37℃でさらに10分間インキュベートした。この反応物のアリコート(1μl)を用いて、次のようにエレクトロポレーションで大腸菌DH10B細胞を形質転換させた：25μlアリコートのDH10Bエレクトロコンピテント細胞(Invitrogen)を氷上で解凍し、1μlのLR反応ミックスを添加した。その混合物を、冷却した0.1cmのエレクトロポレーションキュベットに移して、BioRad Gene-Pulser™を用い、製造業者が推奨するプロトコロルに従って細胞をエレクトロポレーシ

ョンした。エレクトロポレーション後直ちに、予め室温まで温めたSOC培地(0.5ml)を添加した。混合物を15mlのスナップ-キャップチューブに移し、振とうさせながら(220rpm)37℃で1時間インキュベートした。アンピシリン(100μg/ml)を含むL-ブロス(LB)プレート上に前記形質転換混合物のアリコート(10μl及び50μl)を蒔いて、37℃で一晩インキュベートした。

各ベクターでサブクローニングされて得られた６つのコロニーの5ml培養物から、Qiaprep Turbo 9600ロボットシステム(Qiagen)を用いてプラスミドミニプレップDNAを調製した。pEAK12dベクターのプラスミドDNA(200～500ng)は、上述するpEAK12F及びpEAK12Rプライマーによる DNAシークエンシングに供した。pDEST12.2ベクターのプラスミドDNA(200～500ng)は、上述する21M13及びM13Revプライマーによる DNAシークエンシングに供した。プライマー配列は表３に示される。

配列検証した各クローン(pEAK12d_INSP124-6HIS, プラスミドID番号14697, 図24、及びpDEST12.2_INSP124-6HIS, プラスミドID番号14698, 図25)の500mlの培養物１つから、Sambrook J.ら(1989)によって記載された方法(Molecular Cloning, a Laboratory Manual, 2nd edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press)を用いてCsCl勾配精製マキシ-プレップDNAを調製した。プラスミドDNAを滅菌水(又は10mM Tris-HCl pH8.5)に1μg/μlの濃度に再懸濁して、－20℃で保存した。

【０１２９】

〔実施例12－エクソンアセンブリーによるINSP125のクローニング〕

INSP125は、完全長SECFAM3ファミリーの、175アミノ酸(525bp)の新規な分泌タンパク質の予測物である(図26)。この予測されたINSP125コード配列は、47個のアミノ酸(141bp)欠失を含むことを除き、予測INSP124コード配列と同一だった。INSP124予測物は、先にクローニングしていた(pCR-BluntII-TOPO-INSP124, プラスミドID 14649)。

INSP125タンパク質を生成するために：

－PCRで、プラスミドpCR-BluntII-TOPO-INSP124(プラスミドID 14649)からINSP125エクソン１を増幅した。

－PCRでプラスミドID 14649から単一産物としてエクソン２～４を増幅した。

－ゲル精製したエクソンを混合し、新たなPCR反応を行ってリアセンブリーDNAを増幅した。

－INSP125コード配列に対応する完全長PCR産物(図28)を、Invitrogen Gateway™方法論を用いて、pCR4-TOPOクローニングベクター(Invitrogen)にサブクローニングし、引き続きpDONR 201(ゲートウェイエントリーベクター)並びに発現ベクターpEAK12d及びpDEST12.2にサブクローニングした。

【０１３０】

〔INSP125をコードするエクソンのプラスミドID 14649からのPCR増幅〕

INSP125のエクソン１及びエクソン２～４を増幅するためのPCRプライマーを設計した(表４)。エクソン１用リバースプライマー(INSP125-e1R)は、その5’末端にINSP125のエクソン２との19bpのオーバーラップを有する。エクソン２用フォワードプライマー(INSP125-e2F)は、その5’末端にINSP125のエクソン１との18bpのオーバーラップを有する。コード配列の5’末端と3’末端はINSP124と同じなので、フォワードプライマー及びリバースプライマーとしてプライマーINSP124-e1F及びINSP124-e3Rを用いてエクソンフラグメントを増幅し、最終的に全体的なINSP125コード配列を増幅した。

INSP125のエクソン１を作製するため、100ngのプラスミドID 14649 DNA、1.5μlの10mM dNTPs、1μlの$MgSO_4$、1.5μlのINSP124-e1F(10μM)、1.5μlのINSP125-e1R(10μM)、5μlの10×Platinum Pfx™緩衝液、及び0.5μlのPlatinum Pfx™ DNAポリメラーゼ(5U/μl)(Invitrogen)を含有する最終体積50μlでPCR反応を行った。反応条件は次のとおりだった：94℃で2分；30サイクル(94℃で15秒、61℃で30秒及び68℃で1分；68℃で7分のさらなる伸長サイクル；及び4℃の保持サイクル。期待される産物のサイズは150bpだった。

INSP125のエクソン２～４を作製するため、使用した増幅プライマーがINSP125-e2F及びINSP124-e3Rであること以外は、上記エクソン１の作製と全く同様にPCR反応を行った。期

待される産物サイズは450bpだった。

反応産物を1.5%アガロースゲル(1×TAE)上に装填し、Qiagen MinElute DNA精製システム(Qiagen)を用い、製造業者の説明書に従って、正しいサイズ(150bp及び450bp)の産物をゲル精製し、10μlのEB緩衝液(10mM Tris.Cl, pH 8.5)に溶出させた。

【０１３１】

【表４】

表４－INSP125のクローニング用及びシークエンシング用プライマー

プライマー	配列(5’－3’)
GCPフォワード	G GGG ACA AGT TTG TAC AAA AAA GCA GGC TTC GCC ACC
GCPリバース	GGG GAC CAC TTT GTA CAA GAA AGC TGG GTT “TCA” [ATG GTG ATG GTG ATG GTG]
INSP124-e1F	GGA GCA CAT CCA GAA GTC TTT GAA GAG G
INSP125-e1R	[“TGG TCG CAA ACA GGT CCA T”] CT TCA TCA GCA GGA TAG TC
INSP125-e2F	[“ACT ATC CTG CTG ATG AAG”] ATG GAC CTG TTT GCG ACC AAC C
INSP124-e3R	TGT CCT ACA CAG TCT GCT TGC CTT GGC ATT CAC
INSP125-EX1	AA GCA GGC TTC GCC ACC ATG GCT CTT CAT ATT CAT GA
INSP125-EX2	[GTG ATG GTG ATG GTG] CAC AGT CTG CTT GCC TTG GC
pEAK12-F	GCC AGC TTG GCA CTT GAT GT
pEAK12-R	GAT GGA GGT GGA CGT GTC AG
pENTR-F	TCG CGT TAA CGC TAG CAT GGA TCT C
pENTR-R	GTA ACA TCA GAG ATT TTG AGA CAC
T7	TAA TAC GAC TCA CTA TAG GG
T3	CTC CCT TTA GTG AGG GTA ATT

下線付き配列＝コザック配列

“” 付き配列＝終止コドン

[] 内配列 ＝Hisタグ

“” 付きかつ [] 内配列 ＝隣接エクソンとのオーバーラップ

【０１３２】

〔INSP125のORFを作製するためのエクソン１、２～４のアセンブリー〕

1μlのゲル精製エクソン１、1μlのゲル精製エクソン２～４産物、1μlの10mM dNTPs、2μlの$MgSO_4$、1μlのINSP124-e1F(10μM)、1μlのINSP124-e3R(10μM)、5μlの10×Platinum Taq HiFi緩衝液、及び0.5μlのPlatinum Taq HiFi DNAポリメラーゼ(5U/μl)(Invitrogen)を含有する50μlのPCR反応物でエクソン１及びエクソン２～４のアセンブリーを行った。反応条件は次のとおりだった：94℃で2分；10サイクル(94℃で30秒、48℃で30秒及び68℃で1分；25サイクル(94℃で30秒、52℃で30秒及び68℃で1分；68℃で7分のさらなる伸長サイクル；及び4℃の保持サイクル。反応産物を1%アガロースゲルゲル(1×TAE)上で解析した。正しいサイズ(563bp)のPCR産物をWizard PCR Preps DNA精製システム(Promega)でゲル精製し、50μlの水に溶出させて直接サブクローニングした。

【０１３３】

〔PCR産物のサブクローニング〕

Invitrogen社から購入したトポイソメラーゼＩ改変クローニングベクター(pCR4-TOPO)に、製造業者が指定した条件で、PCR産物をサブクローニングした。要するに、4μlのゲ

ル精製PCR産物を、1μlのTOPOベクター及び1μlの塩溶液と共に室温で15分間インキュベートした。反応混合物で大腸菌株TOP10(Invitrogen)を次のように形質転換させた：50μlアリコートのOne Shot TOP10細胞を氷上で解凍し、2μlのTOPO反応物を加えた。その混合物を15分間氷上でインキュベートしてから、42℃で正確に30秒間加熱して熱ショックを与えた。サンプルを氷上に戻し、250μlの温かい(室温)SOC培地を添加した。サンプルを振とうさせながら(220rpm)37℃で1時間インキュベートした。アンピシリン(100μg/ml)を含むL-ブロス(LB)プレート上にこの形質転換混合物を蒔いて、37℃で一晩インキュベートした。

〔コロニーPCR〕

滅菌つまようじでコロニーを50μlの滅菌水中に接種した。次いで、MJ Research DNA Engineを用い、10μlアリコートの接種材料を、1×AmpliTaq™緩衝液、200μM dNTPs、20pmolesのT7プライマー、20pmolesのT3プライマー、1ユニットのAmpliTaq™(Perkin Elmer)を含む総反応体積20μlでPCRに供した。サイクル条件は次のとおりだった：94℃で2分；30サイクル(94℃で30秒、48℃で30秒及び72℃で1分)。サンプルを4℃で維持した(保持サイクル)後、さらに解析した。

PCR反応産物を1×TAE緩衝液中1%アガロースゲル上で解析した。期待したPCR産物の大きさ(563bpのcDNA＋105bp(複数のクローニング部位若しくはMCSのため))が得られたコロニーを、アンピシリン(100μg/ml)を含有する5mlのL-ブロス(LB)内、220rpmで振とうさせながら37℃で一晩増殖させた。

【０１３４】

〔プラスミドDNA調製及びシークエンシング〕

Qiaprep Turbo 9600ロボットシステム(Qiagen)又はWizard Plus SVミニプレップキット(Promegaカタログ番号1460)を用い、製造業者の説明書に従って、5ml培養物からミニプレッププラスミドDNAを調製した。100μlの滅菌水にプラスミドDNAを溶出させた。DNA濃度をエッペンドルフBO光度計又はSpectramax 190光度計(Molecular Devices)で測定した。BigDye Terminatorシステム(Applied Biosystemsカタログ番号4390246)を用い、製造業者の説明書に従ってT7プライマー及びT3プライマーによるDNAシークエンシングにプラスミドDNA(100～200ng)を供した。プライマー配列は表２に示される。Dye-Exカラム(Qiagen)又はMontage SEQ 96クリーアッププレート(Milliporeカタログ番号LSKS09624)でシークエンシング反応物を精製してから、Applied Biosystems 3700シークエンサーで解析した。

配列解析によって、予測したINSP125配列に100%マッチングしているクローンが同定された。このクローン化cDNAフラグメントの配列は図３に示される。クローン化PCR産物(pCR4-TOPO-INSP125)(プラスミドID 14681)のプラスミドマップは図29に示される。

【０１３５】

〔実施例13－INSP125の哺乳類細胞発現ベクターの構築〕

プラスミド14681をPCRテンプレートとして用いて、Gateway™クローニング方法論(Invitrogen)によって、6HISタグをコードする3’配列を有するINSP125のORF配列を含有するpEAK12d(図31)及びpDEST12.2(図32)発現クローンを作製した。

【０１３６】

〔インフレーム6HISタグ配列に融合したゲートウェイ適合性INSP125のORFの作製〕

ゲートウェイクローニングプロセスの第１段階は２工程PCR反応を含み、このPCR反応は、attB1組換え部位及びコザック配列が5’末端に隣接し、かつインフレーム6ヒスチジン(6HIS)タグ、終止コドン及びattB2組換え部位をコードする配列が3’末端に隣接するINSP125のORF(ゲートウェイ適合性cDNA)を作製する。第１PCR反応物(50μlの最終体積)は以下を含む：1μl(40ng)のプラスミド14681、1.5μlのdNTPs(10mM)、10μlの10×Pfxポリメラーゼ緩衝液、1μlの$MgSO_4$(50mM)、0.5μlの各遺伝子特異的プライマー(100μM)(INSP125-EX1及びINSP125-EX2)、及び0.5μlのPlatinum Pfx DNAポリメラーゼ(Invitrogen)。95℃で2分の最初の変性工程後、12サイクル(94℃で15秒；55℃で30秒及び68℃で2分)；及び4℃の保持サイクルによってPCR反応を行った。増幅産物を1×TAE緩衝液(Invitrogen)中0.8%アガロースゲル上で可視化し、Wizard PCRプレップDNA精製システム(Promega)を用い、

製造業者の説明書に従って、予測した分子量(593bp)で移動する産物をゲルから精製し、50μlの滅菌水に回収した。

第２PCR反応物(50μlの最終体積)は、10μlの精製第１PCR産物、1.5μlのdNTPs(10mM)、5μlの10×Pfxポリメラーゼ緩衝液、1μlの$MgSO_4$(50mM)、0.5μlの各ゲートウェイ変換プライマー(100μM)(GCPフォワード及びGCPリバース)及び0.5μlのPlatinum Pfx DNAポリメラーゼを含有した。第２PCR反応の条件は次のとおりだった：95℃で1分；4サイクル(94℃で15秒；50℃で30秒及び68℃で2分)；25サイクル(94℃で15秒；55℃で30秒及び68℃で2分)；次いで4℃の保持サイクル。Wizard PCRプレップDNA精製システム(Promega)を用い、製造業者の説明書に従って、PCR産物をゲル精製した。

【０１３７】

〔ゲートウェイエントリーベクターpDONR221並びに発現ベクターpEAK12d及びpDEST12.2へのゲートウェイ適合性INSP125のORFのサブクローニング〕

ゲートウェイクローニングプロセスの第２段階は、以下のようなゲートウェイ改変PCR産物のゲートウェイエントリーベクターpDONR221(Invitrogen,図30)へのサブクローニングを含む：第２PCR反応由来の5μlの精製産物を、10μlの最終体積で1.5μlのpDONR221ベクター(0.1μg/μl)、2μlのBP緩衝液及び1.5μlのBPクロナーゼ(clonase)酵素混合物(Invitrogen)と室温で1時間インキュベートした。プロテイナーゼKを1μl(2μg/μl)添加して反応を終わらせ、37℃でさらに10分間インキュベートした。この反応のアリコート(1μl)を用いて、大腸菌DH10B細胞を次のようにエレクトロポレーションで形質転換させた：25μlアリコートのDH10Bエレクトロコンピテント細胞(Invitrogen)を氷上で解凍し、1μlのBP反応混合物を加えた。その混合物を、冷却した0.1cmのエレクトロポレーションキュベットに移し、BioRad Gene-Pulser™を用い、製造業者が推奨するプロトコロルに従って細胞をエレクトロポレーションした。エレクトロポレーション後直ちに、予め室温まで温めたSOC培地(0.5ml)を加えた。混合物を15mlのスナップ-キャップチューブに移し、振とうさせながら(220rpm)37℃で1時間インキュベートした。カナマイシン(40μg/ml)を含むL-ブロス(LB)プレート上に、形質転換混合物のアリコート(10μl及び50μl)を蒔いて、37℃で一晩インキュベートした。

得られた６つのコロニー由来の5ml培養物から、Qiaprep Turbo 9600ロボットシステム(Qiagen)を用いてプラスミドミニプレップDNAを調製した。BigDyeTerminatorシステム(Applied Biosystemsカタログ番号4390246)を用い、製造業者の説明書に従って、プラスミドDNA(150～200ng)を21M13及びM13Revプライマーによる DNAシークエンシングに供した。プライマー配列は表４に示される。シークエンシング反応物は、Dye-Exカラム(Qiagen)又はMontage SEQ 96クリーンアッププレート(Milliporeカタログ番号LSKS09624)で精製してから、Applied Biosystems 3700シークエンサーで解析した。

【０１３８】

正しい配列(pENTR_INSP125_6HIS、プラスミドID 14876、図33)を含むクローンの１つに由来するプラスミド溶出液(2μl又は約150ng)を、1.5μlのpEAK12dベクター又はpDEST12.2ベクターのどちらか(図31及び32)(0.1μg/μl)、2μlのLR緩衝液及び1.5μlのLRクロナーゼ(Invitrogen)を含む最終体積10μlの組換え反応物で用いた。混合物をRTで1時間インキュベートし、プロテイナーゼK(2μg)を添加して反応を終わらせ、37℃さらに10分間インキュベートした。この反応のアリコート(1μl)を用いて大腸菌DH10B細胞をエレクトロポレーションで次のように形質転換させた：25μlアリコートのDH10Bエレクトロコンピテント細胞(Invitrogen)を氷上で解凍し、1μlのLR反応混合物を加えた。その混合物を、冷却した0.1cmのエレクトロポレーションキュベットに移し、BioRad Gene-Pulser™を用い、製造業者が推奨するプロトコルに従って細胞をエレクトロポレーションした。エレクトロポレーション後直ちに、予め室温まで温めたSOC培地(0.5ml)を添加した。混合物を15mlのスナップ-キャップチューブに移し、振とうさせながら(220rpm)37℃で1時間インキュベートした。アンピシリン(100μg/ml)を含むL-ブロス(LB)プレート上に、形質転換混合物のアリコート(10μl及び50μl)を蒔いて、37℃で一晩インキュベートした。

【０１３９】

Qiaprep Turbo 9600ロボットシステム(Qiagen)を用いて、各ベクターにサブクローニングされて得られた６つのコロニー由来の5ml培養物から、プラスミドミニプレップDNAを調製した。pEAK12dベクターのプラスミドDNA(200～500ng)は、上述するpEAK12F及びpEAK12Rプライマーによる DNAシークエンシングに供した。pDEST12.2ベクターのプラスミドDNA(200～500ng)は、上述する21M13及びM13Revプライマーによる DNAシークエンシングに供した。プライマー配列は表４に示される。

配列検証した各クローン(pEAK12d_INSP125_6HIS、プラスミドID番号14882(図34)、及びpDEST12.2_INSP123_6HIS、プラスミドID 14886(図35))の500mlの培養物１つから、Sambrook J.ら(1989)によって記載された方法(Molecular Cloning, a Laboratory Manual, 2nd edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press)でCsCl勾配精製マキシ-プレップ(maxi-prep)DNAを調製し、プラスミドDNAを滅菌水(又は10mM Tris-HCl pH 8.5)中1μg/μlの濃度に再懸濁して、－20℃で保存した。

INSP125について5’シークエンシングを行って正しい成熟ポリペプチド配列を決定した。このシークエンシングにより、INSP125の２つの成熟型、すなわち、AAISEで始まる一方の主要な型(配列番号59)と、DEDGPVで始まるもう一方の型(配列番号61)が得られた。この結果は図36に示される。

【０１４０】

〔実施例14－INSP123、INSP124及びINSP125の発現と精製〕

さらに実験を行い、本明細書で開示したヌクレオチド配列及びアミノ酸配列に基づいて、INSP123、INSP124及びINSP125ポリペプチドのin vivoの組織分布及び発現レベルを決定した。

INSP123、INSP124及びINSP125の転写物の存在は、種々のヒト組織由来cDNAのPCRで調査することができる。INSP123、INSP124及びINSP125の転写物は、被検サンプル内では非常に低レベルで存在するかもしれない。そうすると、RNA調製物中の少量のゲノムコンタミネーションが誤った正の結果を与えるであろうことから、種々のヒト組織内における転写物の存在を確立するための実験の設計には極度の注意が必要である。従って、全てのRNAは、逆転写に使う前にDNaseで処理すべきである。さらに、各組織では、逆転写が行われなかった対照反応（-ve RTコントロール）を設定することができる。

例えば、各組織由来の1μgの総RNAを用いて、Multiscript逆転写酵素(ABI)及びランダムヘキサマープライマー(random hexamer primers)でcDNAを生成することができる。各組織について、逆転写酵素を除き全ての成分が添加される対照反応(-ve RTコントロール)を設定する。各組織について、逆転写されたRNAサンプルと負の(minus)RTコントロールについてPCR反応を設定する。本明細書で提供される配列情報に基づき、INSP123、INSP124及びINSP125-特異的プライマーを容易に設計することができる。逆転写されたサンプル中に正しい分子量の産物が存在することと共に負のRTコントロール中に産物が存在しないことは、当該組織中に転写物が存在することの証拠と解釈しうる。上述する作製されたもののみならず、いずれの適切なcDNAライブラリーもINSP123、INSP124及びINSP125転写物のスクリーニングのために使用することができる。

INSP123、INSP124及びINSP125ポリペプチドの組織分布パターンは、それらポリペプチドの機能に関係する更に有用な情報を提供するだろう。

【０１４１】

また、pCR4-TOPO-INSP123(図9)、pDONR(図10)、pEAK12d(図11)、pDEST12.2(図12)、pENTR-INSP123-6HIS(図13)、pEAK12d-INSP123-6HIS(図14)、pDEST12.2-INSP123-6HIS(図15)、pCR4-BluntII-TOPO-INSP124(図19)、pDONR 221(図20)、pEAK12d(図21)、pDEST12.2(図22)、pENTR_INSP124-6HIS(図23)、pEAK12d_INSP124-6HIS(図24)、pDEST12.2_INSP124-6HIS(図25)、pCR4-TOPO-INSP125(図29)、pDONR 221(図30)、pEAK12d(図31)、pDEST12.2(図32)、pENTR_INSP125-6HIS(図33)、pEAK12d_INSP125-6HIS(図34)及びpDEST12.2_INSP125-6HIS(図35)発現ベクターを用いてさらに実験を行うことができる。これらベクターによる哺乳類細胞株のトランスフェクションは、INSP123、INSP124及びINSP125タンパク質の高レベルの発現を可能にできるので、INSP123、INSP124及びINSP125ポリペプチドの機能的特徴

の継続的調査を可能にできる。以下の材料及び方法は、このような実験に好適なものの一例である。

【０１４２】

（細胞培養）

エプスタイン-バーウイルス核抗原を発現するヒト胎児腎臓293細胞(HEK293-EBNA,Invitrogen)を、Ex細胞VPRO無血清培地(シードストック、維持培地、JRH)中懸濁状態で維持する。トランスフェクションの16～20時間前（-1日目）に、細胞を２つのT225フラスコに接種する(１つのフラスコにつき50ml、DMEM/F12(1:1)、2%FBS接種培地(JRH)を2×10^5細胞/mlの密度で含有する)。次の日(トランスフェクション0日目)、JetPEITM試薬(2μl/μgのプラスミドDNA、ポリプラス(PolyPlus)-トランスフェクション)を用いてトランスフェクションを行う。各フラスコで、プラスミドDNAをGFP(蛍光レポーター遺伝子)DNAとコトランスフェクションする。次に、トランスフェクション混合物を２つのT225フラスコに加え、37℃(5%CO_2)で6日間インキュベートする。トランスフェクション陽性の確認は、1日目と6日目での定性蛍光試験(Axiovert 10 Zeiss)で行うことができる。

6日目(収穫日)に２つのフラスコの上清をプールし、遠心分離し(例えば4℃で400g)、ユニークな識別子を付けたポットに入れる。１のアリコート(500μl)を6His-タグ付きタンパク質のQC用に保持する(内部バイオプロセッシングQC)。

トランスフェクション試薬としてPolysciencesのポリエチレンイミンを用いた、照合番号BP/PEI/HH/02/04“懸濁細胞のPEIトランスフェクション”と呼ばれるプロトコルに従うことで、スケールアップバッチを実現することができる。

【０１４３】

（精製プロセス）

C末端6Hisタグを有する組換えタンパク質を含有する培地サンプルを、冷緩衝液A(50mM NaH_2PO_4；600mM NaCl；8.7%(w/v)グリセロール,pH7.5)で希釈する。このサンプルを無菌フィルター(Millipore)でろ過し、4℃で無菌の四角培地ボトル(Nalgene)内で維持する。

自動サンプル装填装置(Labomatic)に連結したVISIONワークステーション(Applied Biosystems)で、4℃にて精製を行う。精製手順は以下の２つの連続工程を含む：Niイオンで荷電されているPoros 20MC(Applied Biosystems)カラム(4.6×50mm, 0.83mL）上の金属アフィニティークロマトグラフィー、次いでSephadex G-25ミデイアム(Amersham Pharmacia)カラム(1.0×10cm)上のゲルろ過。

最初のクロマトグラフィー工程では、金属アフィニティーカラムを30カラム容積のEDTA溶液(100mMのEDTA；1MのNaCl；pH8.0)で再生させ、15カラム容積の100mMの$NiSO_4$溶液で洗滌してNiイオンを再荷電し、10カラム容積の緩衝液Aで洗滌後、7カラム容積の緩衝液B(50mMのNaH_2PO_4；600mMのNaCl；8.7%(w/v)グリセロール；400mMのイミダゾール；pH7.5)で洗浄し、最後に15mMのイミダゾールを含む15カラム容積の緩衝液Aで平衡化する。Labomaticサンプル装填装置でサンプルを200mlのサンプルループに移し、引き続きNi金属アフィニティーカラム上に流速10ml/分で充填する。カラムを12カラム容積の緩衝液Aで洗滌後、20mMイミダゾールを含む28カラム容積の緩衝液Aで洗滌する。20mMイミダゾール洗滌の間に、緩く付着していた混入タンパク質がカラムから溶出する。組換えHisタグ付きタンパク質は流速2ml/分で10カラム容積の緩衝液Bで最後に溶出し、この溶出タンパク質を収集する。

【０１４４】

第２クロマトグラフィー工程では、Sephadex G-25ゲルろ過カラムを2mlの緩衝液D(1.137MのNaCl；2.7mMのKCl；1.5mMのKH_2PO_4；8mMのNa_2HPO_4；pH7.2)で再生し、引き続き4カラム容積の緩衝液C(137mMのNaCl；2.7mMのKCl；1.5mMのKH_2PO_4；8mMのNa_2HPO_4；20%(w/v)グリセロール；pH7.4)で平衡化する。Niカラムから溶出したピーク画分は、VISIONに組み込まれたサンプル装填装置で自動的にSephadex G-25カラム上に装填され、2ml/分の流速の緩衝液Cでタンパク質が溶出される。この画分を無菌遠心分離フィルター(Millipore)でろ過し、凍結して－80℃で保存した。アリコートサンプルを抗His抗体でSDS-PAGE(4～12%NuPAGEゲル；Novex)ウェスタンブロットによって分析する。NuPAGEゲルは、0.1%のク

ーマシーブルーR250染色液(30％メタノール、10％酢酸)中、室温で1時間染色し、引き続きバックグラウンドが除かれてタンパク質のバンドが鮮明に見えるようになるまで、20％メタノール、7.5%酢酸中で脱染してもよい。

電気泳動後、タンパク質をゲルからニトロセルロースメンブレンへ電気的に移動させる。このメンブレンを緩衝液E(137mMのNaCl；2.7mMのKCl；1.5mMのKH_2PO_4；8mMのNa_2HPO_4；0.1％Tween20、pH7.4)中の5％粉乳で室温にて1時間ブロッキングし、引き続き緩衝液E中の2.5％粉乳中で２種のウサギポリクローナル抗His抗体の混合物(G-18及びH-15、各々0.2μg/ml；Santa Cruz)と4℃で一晩インキュベートする。室温でさらに1時間インキュベーションした後、メンブレンを緩衝液Eで洗滌してから(3×10分)、2.5％粉乳を含む緩衝液Eで1/3000に希釈したHRP結合抗ウサギ二次抗体(DAKO,HRP0399)と室温で2時間インキュベートする。緩衝液Eで洗滌(3×10分)後、メンブレンをECLキット(Amersham Pharmacia)で1分間処理する。引き続きメンブレンをハイパーフィルム(Hyperfilm)(Amersham Pharmacia)に露出し、このフィルムを現像してウェスタンブロット画像を視覚的に分析する。

クーマシー染色で検出可能なタンパク質バンドを示したサンプルでは、標準物質としてウシ血清アルブミンを用い、BCAタンパク質アッセイキット(Pierce)でタンパク質濃度を決定することができる。

さらに、細胞系内におけるポリペプチドの過剰発現又は発現のノックダウンを利用して宿主細胞ゲノムの転写活性化に及ぼす効果を決定することができる。ウエスタンブロット法と組み合わせた免疫沈降法及び質量分析と組み合わせた免疫沈降法により、INSP123、INSP124及びINSP125ポリペプチドの二量体化パートナー、コアクチベーター及びコリプレッサーを同定することができる。

【０１４５】

〔実施例15－Ｃ型フォンビルブラント因子を含有する分泌タンパク質の生物学的活性と類似する生物学的活性を検出するためのアッセイ〕

〔１．希突起膠細胞をベースとするアッセイ〕

希突起膠細胞はCNS内におけるミエリン形成の原因である。多発性硬化症では、攻撃される最初の細胞が希突起膠細胞であり、その欠損が主な行動機能障害につながる。炎症を抑制することに加え、MSで起こる傷害の不完全な再ミエリン形成を向上させることがMSの治療戦略として提案されている。神経と同様、成熟希突起膠細胞は分裂しないが、前駆体から新しい希突起膠細胞が発生しうる。成体の脳では、また胚であってさえも、これらの前駆細胞は非常に少なく、前駆細胞の数はHTSに不充分である。

Oli-neuは、t-neu腫瘍遺伝子による希突起膠細胞前駆体の不死化によって得られるマウス細胞株である。これらはよく研究されており、若い希突起膠細胞の生物学を研究するための代表的な細胞株として受け入れられている。

これらの細胞は、２種類のアッセイで使用することができる。

【０１４６】

一方は、希突起膠細胞の増殖を刺激する因子を同定するためのもの、他方は、希突起膠細胞の分化を促進する因子を見出すためのものである。両事象とも再生を助け、また脱髄疾患を修復するという展望における手がかりである。

別の見込みある細胞株は、ヒト細胞株のMO3-13である。MO3-13は、横紋筋肉腫(rabdomyosarcoma)細胞とヒト成人希突起膠細胞の融合から生じる。しかし、MO3-13細胞は、希突起膠細胞に分化する能力が低く、その増殖速度は増殖アッセイを可能にするには不充分である。それにもかかわらず、MO3-13細胞は希突起膠細胞の確かな特徴を示し、その形態学は核転位の研究に充分に適合されている。従って、３つの転写因子、それぞれNF-κB、Stat-1及びStat-2の核転位に基づくアッセイでこの細胞株を使用することができる。Jak/Stats転写経路は、IFNα、IFNβ、IFNγ、サイトカイン(例えば、IL-2、IL-6；IL-5)又はホルモン(例えば、GH、TPO、EPO)などの多数の因子で活性化される複雑な経路である。その反応の特異性は、活性化されるStatの組合せに依存する。例えば、IFN-βがStat1、Stat2及びStat3の核転位を活性化し、その一方でIFN-γがStat1だけを活性化することは、注目に値する。同様に、多くのサイトカイン及び成長因子がNF-κB転位を誘導した。これらの

アッセイでは、その目標は、与えられたタンパク質の活性化経路の図式を得ることである。

【０１４７】

〔２．星状膠細胞をベースとするアッセイ〕

星状膠細胞の生物学は非常に複雑であるが、２つの一般的な状態が認知されている。静止期と呼ばれる一の状態では、星状膠細胞がグルタミン酸を汲み上げ、高エネルギーの基層(energetic substratum)を神経細胞及び希突起膠細胞に供給することで神経細胞の代謝レベルと興奮レベルを調節する。活性化状態では、星状膠細胞が、ケモカイン及びサイトカイン並びに酸化窒素を生成する。最初の状態は正常な健康状態とみなされ、二番目の状態は炎症、脳卒中又は
神経変性疾患の際に生じる。この活性化状態が持続する場合は、病理状態とみなすべきである。

多くの因子及び多くの経路が星状膠細胞の活性化を調節することが分かっている。星状膠細胞の活性化を調節する新しい因子を同定するため、星細胞腫起源のヒト細胞株であるU373細胞を使用することができる。NF-κB、c-Jun及びStatsは星状膠細胞活性化で中心的役割を果たすことが分かっているシグナル伝達分子である。

NF-κB、c-Jun及びStat1、Stat2及びStat3の核転位に基づく一連のスクリーニングを行うことができる。これら経路の原型的アクチベーターは、IL-1b、IFN-β又はIFN-γである。このようなアッセイの目標は、CNS疾患の治療で治療薬として使用できるタンパク質を同定することである。

【０１４８】

〔３．神経細胞をベースとするアッセイ〕

神経細胞は非常に複雑かつ多様な細胞であるが、その全てに共通する２つのことがある。第１に神経細胞は分裂終了細胞であるということ、第２に神経細胞は他の細胞に神経を分布しているということである。神経細胞の生存は、神経を分布された標的細胞によって生成される場合が多い、栄養に関する因子の存在につながる。多くの神経変性疾患では、標的の神経分布の損失が細胞体萎縮及びアポトーシス細胞死をもたらす。従って、神経変性疾患の治療では、標的の不足を補充する栄養因子の同定が非常に重要である。

この観点では、ラットPC12細胞のサブクローンであるNS1細胞を用いて生存アッセイを行うことができる。これら細胞は何年間も使用されており、これら細胞について多くの神経生物学の知識が、初代神経細胞について確かめられる以前に獲得されており、そのような知識には、神経細胞の生存と分化に関与する経路(MEK、PI3K、CREB)を含む。対照的に、マウス神経芽細胞腫であるN2A細胞は、古典的な神経栄養因子に応答するのではなく、Jun-キナーゼインヒビターに応答して、血清欠乏によって誘発されるアポトーシスを阻害する。従って、これら２つの細胞株に関するアッセイは、異なる種類の“生存促進”タンパク質を見つけるのに役立つだろう。

前記アッセイでは増殖と分化の両方とも促進する因子が同定されるであろうことに注意することが重要である。特異的に神経細胞の分化を促進する因子を同定するため、神経突起の成長に基づくNS1分化アッセイを使用することができる。神経変性疾患における軸索又は樹状突起の発芽を促進することは２つの理由で有利だろう。第１に、変性している神経細胞が標的細胞との接触を再成長及び再確立するのを助けるだろう。第２に、健康な線維からのいわゆる側枝の発芽を可能にし、パーキンソン又はADのような神経変性の末期を遅延させる補償現象を可能にするだろう。

【０１４９】

〔４．内皮細胞をベースとするアッセイ〕

脳と血管との間の血液脳関門(blood brain barrier)(BBB)は、皮質脊髄液と血清組成物との間の差異の原因である。BBBは、内皮細胞と星状膠細胞との緊密な接触に起因する。BBBは、脳内における白血球の浸透を妨害することによって免疫寛容状態を維持し、かつ同じ細胞内シグナル伝達経路を使った２つの並行な内分泌系の発生を許容する。しかし、多くの疾患又は外傷では、BBB統合性が変えられ、血清タンパク質のみならず白血球も脳に

入り、神経炎症を誘導する。BBBのin vitroモデルは容易でないが、ヒト胚性臍帯内皮細胞(HUVEC)のような初代内皮細胞の培養は、BBB生物学のある観点を模倣することができた。例えば、細胞内カルシウム放出を刺激するタンパク質でBBB漏出を誘導することができた。BBB統合性を調節するタンパク質を同定するという観点では、HUVECについて、トロンビンを用いるか又はトロンビンを用いない、カルシウム動員アッセイを行うことができる。

【０１５０】

（SEQFAM3配列のリスト）

配列番号１(INSP123ヌクレオチド配列．ただ１つのエクソン)

```
  1  ATGGCTCTTC ATATTCATGA AGCTTGCATA CTTCTGTTGG TCATCCCTGG ATTGGTCACC
 61  TCTGCTGCTA TCAGTCATGA AGACTATCCT GCTGATGAAG GTGACCAGAT CTCCAGTAAT
121  GACAATCTGA TCTTTGATGA CTATCGAGGG AAAGGGTGTG TCGATGACAG CGGCTTTGTA
181  TACAAGTTGG GAGAACGATT TTTCCCTGGG CATTCCAACT GTCCATGTGT CTGTGCTCTA
241  GATGGACCTG TTTGCGACCA ACCAGAATGC CCTAAAATTC ACCCAAAGTG TACTAAAGTG
301  GAACACAATG GATGCTGTCC TGAGTGCAAA GAAGTAAAAA ACTTCTGTGA ATATCACGGG
361  AAAAATTACA AAATCTTGGA GGAATTTAAG GTATGCGTTA CCCTCCATAT TTATTGA
```

配列番号 ２(INSP123タンパク質配列．ただ１つのエクソン)

```
  1  MALHIHEACI LLLVIPGLVT SAAISHEDYP ADEGDQISSN DNLIFDDYRG KGCVDDSGFV
 61  YKLGERFFPG HSNCPCVCAL DGPVCDQPEC PKIHPKCTKV EHNGCCPECK EVKNFCEYHG
121  KNYKILEEFK VCVTLHIY
```

【０１５１】

配列番号 ３(INSP123成熟タンパク質のCDS - シグナルペプチドは23:24aaにて切断されている)

```
  1  ATCAGTCATG AAGACTATCC TGCTGATGAA GGTGACCAGA TCTCCAGTAA TGACAATCTG
 61  ATCTTTGATG ACTATCGAGG GAAAGGGTGT GTCGATGACA GCGGCTTTGT ATACAAGTTG
121  GGAGAACGAT TTTTCCCTGG GCATTCCAAC TGTCCATGTG TCTGTGCTCT AGATGGACCT
181  GTTTGCGACC AACCAGAATG CCCTAAAATT CACCCAAAGT GTACTAAAGT GGAACACAAT
241  GGATGCTGTC CTGAGTGCAA AGAAGTAAAA AACTTCTGTG AATATCACGG GAAAAATTAC
301  AAAATCTTGG AGGAATTTAA GGTATGCGTT ACCCTCCATA TTTATTGA
```

配列番号 ４(INSP123成熟タンパク質配列 - シグナルペプチドは23:24aaにて切断されている)

```
  1  ISHEDYPADE GDQISSNDNL IFDDYRGKGC VDDSGFVYKL GERFFPGHSN CPCVCALDGP
 61  VCDQPECPKI HPKCTKVEHN GCCPECKEVK NFCEYHGKNY KILEEFKVCV TLHIY
```

【０１５２】

配列番号 ５(INSP124ヌクレオチド配列，エクソン１)

```
  1  ATGGCTCTTC ATATTCATGA AGCTTGCATA CTTCTGTTGG TCATCCCTGG ATTGGTCACC
 61  TCTGCTGCTA TCAGTCATGA AGACTATCCT GCTGATGAAG GTGACCAGAT CTCCAGTAAT
121  GACAATCTGA TCTTTGATGA CTATCGAGGG AAAGGGTGTG TCGATGACAG CGGCTTTGTA
181  TACAAGTTGG GAGAACGATT TTTCCCTGGG CATTCCAACT GTCCATGTGT CTGTGCTCTA
241  GATGGACCTG TTTGCGACCA ACCAGAATGC CCTAAAATTC ACCCAAAGTG TACTAAAGTG
301  GAACACAATG GATGCTGTCC TGAGTGCAAA GAAGTAAAAA ACTTCTGTGA ATATCACGGG
361  AAAAATTACA AAATCTTGGA GGAATTTAAG
```

配列番号 ６(INSP124タンパク質配列，エクソン１)

```
  1  MALHIHEACI LLLVIPGLVT SAAISHEDYP ADEGDQISSN DNLIFDDYRG KGCVDDSGFV
 61  YKLGERFFPG HSNCPCVCAL DGPVCDQPEC PKIHPKCTKV EHNGCCPECK EVKNFCEYHG
121  KNYKILEEFK
```

【０１５３】

配列番号 7 (INSP124ヌクレオチド配列, エクソン２)
```
  1  CCCTCTCCAT GTGAATGGTG TCGCTGTGAG CCCAGCAATG AAGTTCACTG TGTTGTAGCA
 61  GACTGCGCAG TTCCTGAGTG TGTCAACCCA GTCTATGAAC CAGAACAATG TTGTCCTGTC
121  TGCAAAAATG
```

配列番号 8 (INSP124タンパク質配列, エクソン２)
```
  1  PSPCEWCRCE PSNEVHCVVA DCAVPECVNP VYEPEQCCPV CKNG
```
【０１５４】
配列番号 9 (INSP124ヌクレオチド配列, エクソン３)
```
  1  GTCCAAACTG CTTTGCAGGA ACGACGATAA TTCCAGCTGG CATTGAAGTG AAAGTGGACG
 61  AATGTAACAT CTGTCATTGT CACAACGGGG ACTGGTGGAA GCCTGCTCAG TGTTCGAAAC
121  GTGAATGCCA AGGCAAGCAG ACTGTGTAG
```

配列番号 10 (INSP124タンパク質配列, エクソン３)
```
  1  PNCFAGTTII PAGIEVKVDE CNICHCHNGD WWKPAQCSKR ECQGKQTV
```
【０１５５】
配列番号 11 (INSP124 全コード配列)
```
  1  ATGGCTCTTC ATATTCATGA AGCTTGCATA CTTCTGTTGG TCATCCCTGG ATTGGTCACC
 61  TCTGCTGCTA TCAGTCATGA AGACTATCCT GCTGATGAAG GTGACCAGAT CTCCAGTAAT
121  GACAATCTGA TCTTTGATGA CTATCGAGGG AAAGGGTGTG TCGATGACAG CGGCTTTGTA
181  TACAAGTTGG GAGAACGATT TTTCCCTGGG CATTCCAACT GTCCATGTGT CTGTGCTCTA
241  GATGGACCTG TTTGCGACCA ACCAGAATGC CCTAAAATTC ACCCAAAGTG TACTAAAGTG
301  GAACACAATG GATGCTGTCC TGAGTGCAAA GAAGTAAAAA ACTTCTGTGA ATATCACGGG
361  AAAAATTACA AAATCTTGGA GGAATTTAAG CCCTCTCCAT GTGAATGGTG TCGCTGTGAG
421  CCCAGCAATG AAGTTCACTG TGTTGTAGCA GACTGCGCAG TTCCTGAGTG TGTCAACCCA
481  GTCTATGAAC CAGAACAATG TTGTCCTGTC TGCAAAAATG GTCCAAACTG CTTTGCAGGA
541  ACGACGATAA TTCCAGCTGG CATTGAAGTG AAAGTGGACG AATGTAACAT CTGTCATTGT
601  CACAACGGGG ACTGGTGGAA GCCTGCTCAG TGTTCGAAAC GTGAATGCCA AGGCAAGCAG
661  ACTGTGTAG
```

配列番号 12 (INSP124 全タンパク質配列)
```
  1  MALHIHEACI LLLVIPGLVT SAAISHEDYP ADEGDQISSN DNLIFDDYRG KGCVDDSGFV
 61  YKLGERFFPG HSNCPCVCAL DGPVCDQPEC PKIHPKCTKV EHNGCCPECK EVKNFCEYHG
121  KNYKILEEFK PSPCEWCRCE PSNEVHCVVA DCAVPECVNP VYEPEQCCPV CKNGPNCFAG
181  TTIIPAGIEV KVDECNICHC HNGDWWKPAQ CSKRECQGKQ TV
```
【０１５６】
配列番号 13 (INSP124成熟タンパク質のエクソン１のCDS - シグナルペプチドは23:24aaにて切断されている)
```
  1  ATCAGTCATG AAGACTATCC TGCTGATGAA GGTGACCAGA TCTCCAGTAA TGACAATCTG
 61  ATCTTTGATG ACTATCGAGG GAAAGGGTGT GTCGATGACA GCGGCTTTGT ATACAAGTTG
121  GGAGAACGAT TTTTCCCTGG GCATTCCAAC TGTCCATGTG TCTGTGCTCT AGATGGACCT
181  GTTTGCGACC AACCAGAATG CCCTAAAATT CACCCAAAGT GTACTAAAGT GGAACACAAT
241  GGATGCTGTC CTGAGTGCAA AGAAGTAAAA AACTTCTGTG AATATCACGG GAAAAATTAC
301  AAAATCTTGG AGGAATTTAA G
```

配列番号 14 (INSP124成熟タンパク質配列のエクソン１ - シグナルペプチドは23:24aaにて切断されている)
```
  1  ISHEDYPADE GDQISSNDNL IFDDYRGKGC VDDSGFVYKL GERFFPGHSN CPCVCALDGP
 61  VCDQPECPKI HPKCTKVEHN GCCPECKEVK NFCEYHGKNY KILEEFK
```
【０１５７】

配列番号 15 (INSP124成熟タンパク質の完全CDS - シグナルペプチドは23:24aaにて切断されている)

```
  1  ATCAGTCATG AAGACTATCC TGCTGATGAA GGTGACCAGA TCTCCAGTAA TGACAATCTG
 61  ATCTTTGATG ACTATCGAGG GAAAGGGTGT GTCGATGACA GCGGCTTTGT ATACAAGTTG
121  GGAGAACGAT TTTTCCCTGG GCATTCCAAC TGTCCATGTG TCTGTGCTCT AGATGGACCT
181  GTTTGCGACC AACCAGAATG CCCTAAAATT CACCCAAAGT GTACTAAAGT GGAACACAAT
241  GGATGCTGTC CTGAGTGCAA AGAAGTAAAA AACTTCTGTG AATATCACGG GAAAAATTAC
301  AAAATCTTGG AGGAATTTAA GCCCTCTCCA TGTGAATGGT GTCGCTGTGA GCCCAGCAAT
361  GAAGTTCACT GTGTTGTAGC AGACTGCGCA GTTCCTGAGT GTGTCAACCC AGTCTATGAA
421  CCAGAACAAT GTTGTCCTGT CTGCAAAAAT GGTCCAAACT GCTTTGCAGG AACGACGATA
481  ATTCCAGCTG GCATTGAAGT GAAAGTGGAC GAATGTAACA TCTGTCATTG TCACAACGGG
541  GACTGGTGGA AGCCTGCTCA GTGTTCGAAA CGTGAATGCC AAGGCAAGCA GACTGTGTAG
```

配列番号 16 (INSP124成熟タンパク質の完全配列 - シグナルペプチドは23:24aaにて切断されている)

```
  1  ISHEDYPADE GDQISSNDNL IFDDYRGKGC VDDSGFVYKL GERFFPGHSN CPCVCALDGP
 61  VCDQPECPKI HPKCTKVEHN GCCPECKEVK NFCEYHGKNY KILEEFKPSP CEWCRCEPSN
121  EVHCVVADCA VPECVNPVYE PEQCCPVCKN GPNCFAGTTI IPAGIEVKVD ECNICHCHNG
181  DWWKPAQCSK RECQGKQTV
```

【０１５８】

配列番号 17 (INSP125ヌクレオチド配列, エクソン１)

```
  1  ATGGCTCTTC ATATTCATGA AGCTTGCATA CTTCTGTTGG TCATCCCTGG ATTGGTCACC
 61  TCTGCTGCTA TCAGTCATGA AGACTATCCT GCTGATGAAG
```

配列番号 18 (INSP125 タンパク質配列, エクソン１)

```
  1  MALHIHEACI LLLVIPGLVT SAAISHEDYP ADED
```

【０１５９】

配列番号 19 (INSP125 ヌクレオチド配列, エクソン２)

```
  1  ATGGACCTGT TTGCGACCAA CCAGAATGCC CTAAAATTCA CCCAAAGTGT ACTAAAGTGG
 61  AACACAATGG ATGCTGTCCT GAGTGCAAAG AAGTAAAAAA CTTCTGTGAA TATCACGGGA
121  AAAATTACAA AATCTTGGAG GAATTTAAG
```

配列番号 20 (INSP125タンパク質配列, エクソン２)

```
  1  GPVCDQPECP KIHPKCTKVE HNGCCPECKE VKNFCEYHGK NYKILEEFK
```

【０１６０】

配列番号 21 (INSP125 ヌクレオチド配列, エクソン３)

```
  1  CCCTCTCCAT GTGAATGGTG TCGCTGTGAG CCCAGCAATG AAGTTCACTG TGTTGTAGCA
 61  GACTGCGCAG TTCCTGAGTG TGTCAACCCA GTCTATGAAC CAGAACAATG TTGTCCTGTC
121  TGCAAAAATG
```

配列番号 22 (INSP125タンパク質配列, エクソン３)

```
  1  PSPCEWCRCE PSNEVHCVVA DCAVPECVNP VYEPEQCCPV CKNG
```

【０１６１】

配列番号 23 (INSP125ヌクレオチド配列, エクソン４)

```
  1  GTCCAAACTG CTTTGCAGGA ACGACGATAA TTCCAGCTGG CATTGAAGTG AAAGTGGACG
 61  AATGTAACAT CTGTCATTGT CACAACGGGG ACTGGTGGAA GCCTGCTCAG TGTTCGAAAC
121  GTGAATGCCA AGGCAAGCAG ACTGTGTAG
```

配列番号 24 (INSP125タンパク質配列, エクソン４)

```
  1  PNCFAGTTII PAGIEVKVDE CNICHCHNGD WWKPAQCSKR ECQGKQTV
```

【０１６２】
配列番号 25 (INSP125 全コード配列)
```
  1  ATGGCTCTTC ATATTCATGA AGCTTGCATA CTTCTGTTGG TCATCCCTGG ATTGGTCACC
 61  TCTGCTGCTA TCAGTCATGA AGACTATCCT GCTGATGAAG ATGGACCTGT TTGCGACCAA
121  CCAGAATGCC CTAAAATTCA CCCAAAGTGT ACTAAAGTGG AACACAATGG ATGCTGTCCT
181  GAGTGCAAAG AAGTAAAAAA CTTCTGTGAA TATCACGGGA AAAATTACAA AATCTTGGAG
241  GAATTTAAGC CCTCTCCATG TGAATGGTGT CGCTGTGAGC CCAGCAATGA AGTTCACTGT
301  GTTGTAGCAG ACTGCGCAGT TCCTGAGTGT GTCAACCCAG TCTATGAACC AGAACAATGT
361  TGTCCTGTCT GCAAAAATGG TCCAAACTGC TTTGCAGGAA CGACGATAAT TCCAGCTGGC
421  ATTGAAGTGA AAGTGGACGA ATGTAACATC TGTCATTGTC ACAACGGGGA CTGGTGGAAG
481  CCTGCTCAGT GTTCGAAACG TGAATGCCAA GGCAAGCAGA CTGTGTAG
```

配列番号 26 (INSP125 全タンパク質配列)
```
  1  MALHIHEACI LLLVIPGLVT SAAISHEDYP ADEDGPVCDQ PECPKIHPKC TKVEHNGCCP
 61  ECKEVKNFCE YHGKNYKILE EFKPSPCEWC RCEPSNEVHC VVADCAVPEC VNPVYEPEQC
121  CPVCKNGPNC FAGTTIIPAG IEVKVDECNI CHCHNGDWWK PAQCSKRECQ GKQTV
```
【０１６３】
配列番号 27 (INSP125成熟タンパク質のエクソン１のCDS - シグナルペプチドは23:24aaにて切断されている)
```
  1  ATCAGTCATG AAGACTATCC TGCTGATGAA G
```

配列番号 28 (INSP125成熟タンパク質のエクソン１ - シグナルペプチドは23:24aaにて切断されている)
```
  1  IPGLVTSAAI SHEDYPADE
```
【０１６４】
配列番号 29 (INSP125成熟タンパク質のCDS - シグナルペプチドは23:24aaにて切断されている)
```
  1  ATCAGTCATG AAGACTATCC TGCTGATGAA GATGGACCTG TTTGCGACCA ACCAGAATGC
 61  CCTAAAATTC ACCCAAAGTG TACTAAAGTG GAACACAATG GATGCTGTCC TGAGTGCAAA
121  GAAGTAAAAA ACTTCTGTGA ATATCACGGG AAAAATTACA AAATCTTGGA GGAATTTAAG
181  CCCTCTCCAT GTGAATGGTG TCGCTGTGAG CCCAGCAATG AAGTTCACTG TGTTGTAGCA
241  GACTGCGCAG TTCCTGAGTG TGTCAACCCA GTCTATGAAC CAGAACAATG TTGTCCTGTC
301  TGCAAAAATG GTCCAAACTG CTTTGCAGGA ACGACGATAA TTCCAGCTGG CATTGAAGTG
361  AAAGTGGACG AATGTAACAT CTGTCATTGT CACAACGGGG ACTGGTGGAA GCCTGCTCAG
421  TGTTCGAAAC GTGAATGCCA AGGCAAGCAG ACTGTGTAG
```

配列番号 30 (INSP125成熟タンパク質配列 - シグナルペプチドは23:24aaにて切断されている)
```
  1  ISHEDYPADE DGPVCDQPEC PKIHPKCTKV EHNGCCPECK EVKNFCEYHG KNYKILEEFK
 61  PSPCEWCRCE PSNEVHCVVA DCAVPECVNP VYEPEQCCPV CKNGPNCFAG TTIIPAGIEV
121  KVDECNICHC HNGDWWKPAQ CSKRECQGKQ TV
```
【０１６５】
配列番号 31 (マウス第1染色体上のインファーマティカ遺伝子予測物)
```
  1  MALHIHEACI LLLVIPGLVT SAAISHEDYP ADEGDQASSN DNLIFDDYRG KGCVDDSGFV
 61  YKLGERFFPG HSNCPCVCAL DGPVCDQPEC PKIHPKCTKV EHNGCCPECK EVKNFCEYHG
121  KNYKILEEFK V
```

配列番号 32 (マウス第1染色体上のオーソログのインファーマティカ遺伝子予測物)
```
  1  MALHIHEACI LLLVIPGLVT SAAISHEDYP ADEGDQASSN DNLIFDDYRG KGCVDDSGFV
 61  YKLGERFFPG HSNCPCVCAL DGPVCDQPEC PKIHPKCTKV EHNGCCPECK EVKNFCEYHG
```

121 KNYKILEEFK PSPCEWCRCE PSNEVHCVVA DCAVPECVNP IYEPEQCCPV CKNGPNCFAG
181 TTIIPAGIEV KVDDCNICHC HNGDWWKPAQ CSKRECQGKQ TV

【０１６６】

配列番号 33 (ラット第9染色体上のオーソログのインファーマティカ遺伝子予測物)

1 MALHIHEACI LLLVIPGLVT PAAISHEDYP ADEGDQASSN DNLIFDDYRG KGCVDDSGFV
61 YKLGERFFPG HSNCPCVCAL DGPVCDQPEC PKIHPKCTKV EHNGCCPECK EVKNFCEYHG
121 KNYKILEEFK V

配列番号 34 (ラット第14染色体上のオーソログのインファーマティカ遺伝子予測物)

1 MPSSSAMAVG ALSSSLLVTC CLMVALCSPS IPLEKLAQAP EQPGQEKREH ASRDSPGRVS
61 ELGRASRDEG SSARDWKSKG SRALSGREAW SKQKQAWAAQ SGSAKAADWQ VRPRGDTPQG
121 EPPAAAQEAI SLELMPTPEL PEEYAYPDYR GKGCVDESGF VYAIGEKFAP GPSACPCLCT
181 EEGPLCAQPE CPRLHPRCIH VDTSQCCPQC KERKNYCEFR GKTYQTLEEF VVSPCERCRC
241 EANGEVLCTV SACPQTECVD PVYEPDQCCP ICKNGPNCFA ETAVIPAGRE VKTDECTICH
301 CTYEEGTWRI ERQAMCTRHE CRQM

【０１６７】

配列番号 35 (フグ gDNA scaffold_631 オーソログのインファーマティカ遺伝子予測物)

1 MVVSESLSMT RRVRTAALAL LVCAHAVSGF SVAGQQESTC EENGGIYFVG EWYFLDSDHC
61 TQCECTAEGP VCFRTECTSL PAACIHVSHY PTDCCPRCEK IGCEYRGVVY ELGQNFQPTE
121 CEQCTCDSDG IARCLVADCA PPPCVNPVYQ PGKCCPECKD GPNCYVTASR TQVIPAGEPT
181 WVDACTKCRC HDGQDAGYWE GNRLATCSRL KNCNHEGMLP RSK

配列番号 36 (フグgDNA scaffold_889 オーソログのインファーマティカ遺伝子予測物)

1 MLHSVAMTAE FLFVLVILTS SAQSHPIVTL PASREHSERV LSPAGQDNHS DKQAAEAYGV
61 LEERDSLGPN RTASSPDRPN WNEQSSLNRI DEAPTSDVTL SLDAIDEYAY PDYRGKGCMD
121 ESGFVFAIGE QFTPGPSTCP CLCTDEGPLC TKPECPKVHP RCIKVDTSQC CPLCREKKNY
181 CDFRGKLYAS LEEFKVSPCE KCRCEPSGEV LCTVAACPQT ECVDPEYEPD QCCPICKSGE
241 WTPFPEL

【０１６８】

配列番号 37 (フグgDNA scaffold_1933 オーソログのインファーマティカ遺伝子予測物)

1 MAPLLPATFV LLLALRAVTP AAVSNPEDYA ADEAERSAAD SIIFDDYRGK GCVDDSGFVY
61 KLGERFYPGH SNCPCVCTED GPVCDQPECP RLHPKCTKVE HNGCCPECKE VKNFCEYRGK
121 TYKILEEFKV R

配列番号 38 (INSP123クローン化ヌクレオチド配列)

1 atggctcttc atattcatga agcttgcata cttctgttgg tcatccctgg attggtcacc
61 tctgctgcta tcagtcatga agactatcct gctgatgaag gtgaccagat ctccagtaat
121 gacaatctga tctttgatga ctatcgaggg aaagggtgtg tcgatgacag cggctttgta
181 tacaagttgg gagaacgatt tttccctggg cattccaact gtccatgtgt ctgtgctcta
241 gatggacctg tttgcgacca accagaatgc cctaaaattc acccaaagtg tactaaagtg
301 gaacacaatg gatgctgtcc tgagtgcaaa gaagtaaaaa acttctgtga atatcacggg
361 aaaaattaca aaatcttgga ggaatttaag gtatgcgtta ccctccatat ttat

【０１６９】

配列番号 39 (INSP123クローン化ポリペプチド配列)

1 malhiheaci lllvipglvt saaishedyp adegdqissn dnlifddyrg kgcvddsgfv
61 yklgerffpg hsncpcvcal dgpvcdqpec pkihpkctkv ehngccpeck evknfceyhg
121 knykileefk vcvtlhiy

配列番号 40 (INSP123クローン化成熟ヌクレオチド配列 1)

1 gctatcagtc atgaagacta tcctgctgat gaaggtgacc agatctccag taatgacaat

```
 61    ctgatctttg atgactatcg agggaaaggg tgtgtcgatg acagcggctt tgtatacaag
121    ttgggagaac gatttttccc tgggcattcc aactgtccat gtgtctgtgc tctagatgga
181    cctgtttgcg accaaccaga atgccctaaa attcacccaa agtgtactaa agtggaacac
241    aatggatgct gtcctgagtg caaagaagta aaaaacttct gtgaatatca cgggaaaaat
301    tacaaaatct tggaggaatt taaggtatgc gttaccctcc atatttat
```

【０１７０】

配列番号 41 (INSP123クローン化成熟ポリペプチド配列 1)

```
  1    aishedypad egdqissndn lifddyrgkg cvddsgfvyk lgerffpghs ncpcvcaldg
 61    pvcdqpecpk ihpkctkveh ngccpeckev knfceyhgkn ykileefkvc vtlhiy
```

配列番号 42 (INSP123クローン化成熟ヌクレオチド配列 2)

```
  1    gctgctatca gtcatgaaga ctatcctgct gatgaaggtg accagatctc cagtaatgac
 61    aatctgatct ttgatgacta tcgagggaaa gggtgtgtcg atgacagcgg ctttgtatac
121    aagttgggag aacgattttt ccctgggcat tccaactgtc catgtgtctg tgctctagat
181    ggacctgttt gcgaccaacc agaatgccct aaaattcacc caaagtgtac taaagtggaa
241    cacaatggat gctgtcctga gtgcaaagaa gtaaaaaact tctgtgaata tcacgggaaa
301    aattacaaaa tcttggagga atttaaggta tgcgttaccc tccatattta t
```

【０１７１】

配列番号 43 (INSP123クローン化成熟ポリペプチド配列 2)

```
  1   aaishedypa degdqissnd nlifddyrgk gcvddsgfvy klgerffpgh sncpcvcald
 61   gpvcdqpecp kihpkctkve hngccpecke vknfceyhgk nykileefkv cvtlhiy
```

配列番号 44 (INSP123クローン化成熟ヌクレオチド配列 3)

```
  1    gatgaaggtg accagatctc cagtaatgac aatctgatct ttgatgacta tcgagggaaa
 61    gggtgtgtcg atgacagcgg ctttgtatac aagttgggag aacgattttt ccctgggcat
121    tccaactgtc catgtgtctg tgctctagat ggacctgttt gcgaccaacc agaatgccct
181    aaaattcacc caaagtgtac taaagtggaa cacaatggat gctgtcctga gtgcaaagaa
241    gtaaaaaact tctgtgaata tcacgggaaa aattacaaaa tcttggagga atttaaggta
301    tgcgttaccc tccatattta t
```

【０１７２】

配列番号 45 (INSP123クローン化成熟ポリペプチド配列 3)

```
  1    degdqissnd nlifddyrgk gcvddsgfvy klgerffpgh sncpcvcald gpvcdqpecp
 61    kihpkctkve hngccpecke vknfceyhgk nykileefkv cvtlhiy
```

配列番号 46 (INSP124クローン化ヌクレオチド配列)

```
  1    atggctcttc atattcatga agcttgcata cttctgttgg tcatccctgg attggtcacc
 61    tctgctgcta tcagtcatga agactatcct gctgatgaag gtgaccagat ctccagtaat
121    gacaatctga tctttgatga ctatcgaggg aaagggtgtg tcgatgacag cggctttgta
181    tacaagttgg gagaacgatt tttccctggg cattccaact gtccatgtgt ctgtgctcta
241    gatggacctg tttgcgacca accagaatgc cctaaaattc acccaaagtg tactaaagtg
301    gaacacaatg gatgctgtcc tgagtgcaaa gaagtaaaaa acttctgtga atatcacggg
361    aaaaattaca aaatcttgga ggaatttaag ccctctccat gtgaatggtg tcgctgtgag
421    cccagcaatg aagttcactg tgttgtagca gactgcgcag ttcctgagtg tgtcaaccca
481    gtctatgaac cagaacaatg ttgtcctgtc tgcaaaaatg gtccaaactg ctttgcagga
541    acgacgataa ttccagctgg cattgaagtg aaagtggacg aatgtaacat ctgtcattgt
601    cacaacgggg actggtggaa gcctgctcag tgttcgaaac gtgaatgcca aggcaagcag
661    actgtg
```

【０１７３】

配列番号 47 (INSP124クローン化ポリペプチド配列)

```
  1    malhiheaci lllvipglvt saaishedyp adegdqissn dnlifddyrg kgcvddsgfv
```

```
 61    yklgerffpg hsncpcvcal dgpvcdqpec pkihpkctkv ehngccpeck evknfceyhg
121    knykileefk pspcewcrce psnevhcvva dcavpecvnp vyepeqccpv ckngpncfag
181    ttiipagiev kvdecnichc hngdwwkpaq cskrecqgkq tv
```

配列番号 48 (INSP124クローン化成熟ヌクレオチド配列 1)

```
  1    gctatcagtc atgaagacta tcctgctgat gaaggtgacc agatctccag taatgacaat
 61    ctgatctttg atgactatcg agggaaaggg tgtgtcgatg acagcggctt tgtatacaag
121    ttgggagaac gatttttccc tgggcattcc aactgtccat gtgtctgtgc tctagatgga
181    cctgtttgcg accaaccaga atgccctaaa attcacccaa agtgtactaa agtggaacac
241    aatggatgct gtcctgagtg caaagaagta aaaaacttct gtgaatatca cgggaaaaat
301    tacaaaatct tggaggaatt taagccctct ccatgtgaat ggtgtcgctg tgagcccagc
361    aatgaagttc actgtgttgt agcagactgc gcagttcctg agtgtgtcaa cccagtctat
421    gaaccagaac aatgttgtcc tgtctgcaaa aatggtccaa actgctttgc aggaacgacg
481    ataattccag ctggcattga agtgaaagtg gacgaatgta acatctgtca ttgtcacaac
541    ggggactggt ggaagcctgc tcagtgttcg aaacgtgaat gccaaggcaa gcagactgtg
```

【０１７４】

配列番号 49 (INSP124クローン化成熟ポリペプチド配列 1)

```
  1    aishedypad egdqissndn lifddyrgkg cvddsgfvyk lgerffpghs ncpcvcaldg
 61    pvcdqpecpk ihpkctkveh ngccpeckev knfceyhgkn ykileefkps pcewcrceps
121    nevhcvvadc avpecvnpvy epeqccpvck ngpncfagtt iipagievkv decnichchn
181    gdwwkpaqcs krecqgkqtv
```

配列番号 50 (INSP124クローン化成熟ヌクレオチド配列 2)

```
  1    gctgctatca gtcatgaaga ctatcctgct gatgaaggtg accagatctc cagtaatgac
 61    aatctgatct ttgatgacta tcgagggaaa gggtgtgtcg atgacagcgg ctttgtatac
121    aagttgggag aacgattttt ccctgggcat tccaactgtc catgtgtctg tgctctagat
181    ggacctgttt gcgaccaacc agaatgccct aaaattcacc caaagtgtac taaagtggaa
241    cacaatggat gctgtcctga gtgcaaagaa gtaaaaaact tctgtgaata tcacgggaaa
301    aattacaaaa tcttggagga atttaagccc tctccatgtg aatggtgtcg ctgtgagccc
361    agcaatgaag ttcactgtgt tgtagcagac tgcgcagttc ctgagtgtgt caacccagtc
421    tatgaaccag aacaatgttg tcctgtctgc aaaaatggtc caaactgctt tgcaggaacg
481    acgataattc cagctggcat tgaagtgaaa gtggacgaat gtaacatctg tcattgtcac
541    aacggggact ggtggaagcc tgctcagtgt tcgaaacgtg aatgccaagg caagcagact
601    gtg
```

【０１７５】

配列番号 51 (INSP124クローン化成熟ポリペプチド配列 2)

```
  1    aaishedypa degdqissnd nlifddyrgk gcvddsgfvy klgerffpgh sncpcvcald
 61    gpvcdqpecp kihpkctkve hngccpecke vknfceyhgk nykileefkp spcewcrcep
121    snevhcvvad cavpecvnpv yepeqccpvc kngpncfagt tiipagievk vdecnichch
181    ngdwwkpaqc skrecqgkqt v
```

配列番号 52 (INSP124クローン化成熟ヌクレオチド配列 3)

```
  1    gatgaaggtg accagatctc cagtaatgac aatctgatct ttgatgacta tcgagggaaa
 61    gggtgtgtcg atgacagcgg ctttgtatac aagttgggag aacgattttt ccctgggcat
121    tccaactgtc catgtgtctg tgctctagat ggacctgttt gcgaccaacc agaatgccct
181    aaaattcacc caaagtgtac taaagtggaa cacaatggat gctgtcctga gtgcaaagaa
241    gtaaaaaact tctgtgaata tcacgggaaa aattacaaaa tcttggagga atttaagccc
301    tctccatgtg aatggtgtcg ctgtgagccc agcaatgaag ttcactgtgt tgtagcagac
361    tgcgcagttc ctgagtgtgt caacccagtc tatgaaccag aacaatgttg tcctgtctgc
421    aaaaatggtc caaactgctt tgcaggaacg acgataattc cagctggcat tgaagtgaaa
```

481 gtggacgaat gtaacatctg tcattgtcac aacggggact ggtggaagcc tgctcagtgt
541 tcgaaacgtg aatgccaagg caagcagact gtg

【０１７６】

配列番号 53 (INSP124クローン化成熟ポリペプチド配列 3)

1 degdqissnd nlifddyrgk gcvddsgfvy klgerffpgh sncpcvcald gpvcdqpecp
61 kihpkctkve hngccpecke vknfceyhgk nykileefkp spcewcrcep snevhcvvad
121 cavpecvnpv yepeqccpvc kngpncfagt tiipagievk vdecnichch ngdwwkpaqc
181 skrecqgkqt v

配列番号 54 (INSP125クローン化ヌクレオチド配列)

1 atggctcttc atattcatga agcttgcata cttctgttgg tcatccctgg attggtcacc
61 tctgctgcta tcagtcatga agactatcct gctgatgaag atggacctgt ttgcgaccaa
121 ccagaatgcc ctaaaattca cccaaagtgt actaaagtgg aacacaatgg atgctgtcct
181 gagtgcaaag aagtaaaaaa cttctgtgaa tatcacggga aaaattacaa aatcttggag
241 gaatttaagc cctctccatg tgaatggtgt cgctgtgagc ccagcaatga agttcactgt
301 gttgtagcag actgcgcagt tcctgagtgt gtcaacccag tctatgaacc agaacaatgt
361 tgtcctgtct gcaaaaatgg tccaaactgc tttgcaggaa cgacgataat tccagctggc
421 attgaagtga aagtggacga atgtaacatc tgtcattgtc acaacgggga ctggtggaag
481 cctgctcagt gttcgaaacg tgaatgccaa ggcaagcaga ctgtg

【０１７７】

配列番号 55 (INSP125クローン化ポリペプチド配列)

1 malhiheaci lllvipglvt saaishedyp adedgpvcdq pecpkihpkc tkvehngccp
61 eckevknfce yhgknykile efkpspcewc rcepsnevhc vvadcavpec vnpvyepeqc
121 cpvckngpnc fagttiipag ievkvdecni chchngdwwk paqcskrecq gkqtv

配列番号 56 (INSP125クローン化成熟ヌクレオチド配列 1)

1 gctatcagtc atgaagacta tcctgctgat gaagatggac ctgtttgcga ccaaccagaa
61 tgccctaaaa ttcacccaaa gtgtactaaa gtggaacaca atggatgctg tcctgagtgc
121 aaagaagtaa aaaacttctg tgaatatcac gggaaaaatt acaaaatctt ggaggaattt
181 aagccctctc catgtgaatg gtgtcgctgt gagcccagca atgaagttca ctgtgttgta
241 gcagactgcg cagttcctga gtgtgtcaac ccagtctatg aaccagaaca atgttgtcct
301 gtctgcaaaa atggtccaaa ctgctttgca ggaacgacga taattccagc tggcattgaa
361 gtgaaagtgg acgaatgtaa catctgtcat tgtcacaacg gggactggtg gaagcctgct
421 cagtgttcga aacgtgaatg ccaaggcaag cagactgtg

【０１７８】

配列番号 57 (INSP125クローン化成熟ポリペプチド配列 1)

1 aishedypad edgpvcdqpe cpkihpkctk vehngccpec kevknfceyh gknykileef
61 kpspcewcrc epsnevhcvv adcavpecvn pvyepeqccp vckngpncfa gttiipagie
121 vkvdecnich chngdwwkpa qcskrecqgk qtv

配列番号 58 (INSP125クローン化成熟ヌクレオチド配列 2)

1 gctgctatca gtcatgaaga ctatcctgct gatgaagatg gacctgtttg cgaccaacca
61 gaatgcccta aaattcaccc aaagtgtact aaagtggaac acaatggatg ctgtcctgag
121 tgcaaagaag taaaaaactt ctgtgaatat cacgggaaaa attacaaaat cttggaggaa
181 tttaagccct ctccatgtga atggtgtcgc tgtgagccca gcaatgaagt tcactgtgtt
241 gtagcagact gcgcagttcc tgagtgtgtc aacccagtct atgaaccaga acaatgttgt
301 cctgtctgca aaaatggtcc aaactgcttt gcaggaacga cgataattcc agctggcatt
361 gaagtgaaag tggacgaatg taacatctgt cattgtcaca acggggactg gtggaagcct
421 gctcagtgtt cgaaacgtga atgccaaggc aagcagactg tg

【０１７９】

配列番号 59 (INSP125クローン化成熟ポリペプチド配列 2)
```
  1    aaishedypa dedgpvcdqp ecpkihpkct kvehngccpe ckevknfcey hgknykilee
 61    fkpspcewcr cepsnevhcv vadcavpecv npvyepeqcc pvckngpncf agttiipagi
121    evkvdecnic hchngdwwkp aqcskrecqg kqtv
```

配列番号 60 (INSP125クローン化成熟ヌクレオチド配列 3)
```
  1    gatgaagatg gacctgtttg cgaccaacca gaatgcccta aaattcaccc aaagtgtact
 61    aaagtggaac acaatggatg ctgtcctgag tgcaaagaag taaaaaactt ctgtgaatat
121    cacgggaaaa attacaaaat cttggaggaa tttaagccct ctccatgtga atggtgtcgc
181    tgtgagccca gcaatgaagt tcactgtgtt gtagcagact gcgcagttcc tgagtgtgtc
241    aacccagtct atgaaccaga acaatgttgt cctgtctgca aaaatggtcc aaactgcttt
301    gcaggaacga cgataattcc agctggcatt gaagtgaaag tggacgaatg taacatctgt
361    cattgtcaca acggggactg gtggaagcct gctcagtgtt cgaaacgtga atgccaaggc
421    aagcagactg tg
```

【０１８０】

配列番号 61 (INSP125クローン化成熟ポリペプチド配列 3)
```
  1    dedgpvcdqp ecpkihpkct kvehngccpe ckevknfcey hgknykilee fkpspcewcr
 61    cepsnevhcv vadcavpecv npvyepeqcc pvckngpncf agttiipagi evkvdecnic
121    hchngdwwkp aqcskrecqg kqtv
```

【図面の簡単な説明】

【０１８１】

【図１】SECFAM3ファミリーのアラインメントを示す。Ｃ型フォンビルブラント因子（vWFC）ドメイン１は該アラインメントの領域155～214aaにわたり、vWFCドメイン２は領域221～281aaにわたる。INSP123、INSP124及びINSP125には“Id”縦列内に灰色で影を付けてある。該アラインメント内の配列番号14及び15、標識した脊索動物は、ユウレイボヤ種由来の翻訳されたEST配列を示す。

【図２】INSP123、INSP124及びINSP125は、３つのアイソフォーム全てに共通するシグナルペプチドの予測に基づいて、全て分泌タンパク質であると予測された。

【図３】INSP123、INSP124及びINSP125遺伝子のコードエクソンについて予測したスプライシングパターンを示す。INSP123とINSP125はマウス及びマカクのcDNA配列に基づき、INSP124はＣ型フォンビルブラント因子の両ドメインを組み込んでいる予測された可能なスプライシングパターンである。このスプライシングが配列レベルで有する効果は図１で確かめられ得る。

【図４】種々のタンパク質に由来する特徴づけられたＣ型フォンビルブラント因子ドメインに対する、予測されるINSP124のドメイン１及びドメイン２（強調表示）のアラインメントを示し、影が濃いほど配列保存性が高いことを表す。

【図５】INSP124に基づくファミリーの位置特異的確率マトリックスプロファイルを示す。

【図６】INSP124のアミノ酸53～171（配列番号12）に基づくPROSITE形式のファミリーコンセンサス配列を示す。記号表： -(ハイフン) ＝各アラインメント位置間のスペーサー；Ｇ＝100%保存されたＧ残基；[VI]＝そのアラインメント位置でＶ又はＩのどちらか；P(0,1)＝そのアラインメント位置で一度見出されたか又は全く見出されないＰ残基を表す。

【図７】INSP123予測物のヌクレオチド配列（翻訳付き）を示す。

【図８】プライマーINSP123-CP1及びINSP123-CP2を用いてクローニングされたINSP123 PCR産物のヌクレオチド配列（翻訳付き）を示す。

【図９】pCR4-TOPO-INSP123のマップを示す。

【図１０】pDONR 221のマップを示す。

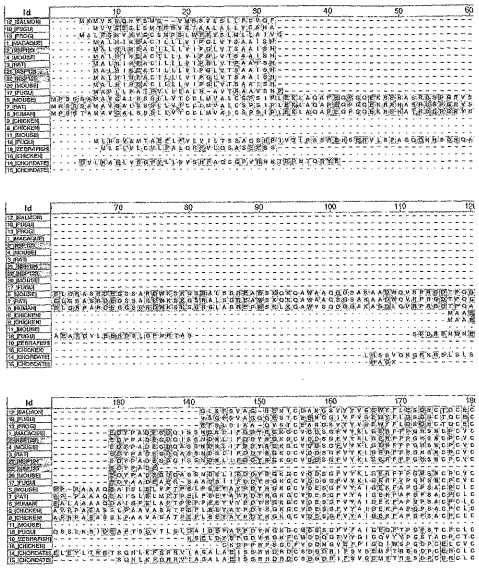
【図１１】発現ベクターpEAK12dのマップを示す。

【図１２】発現ベクターpDEST12.2のマップを示す。

【図１３】pENTR-INSP123-6HISのマップを示す。
【図１４】pEAK12d-INSP123-6HISのマップを示す。
【図１５】pDEST12.2-INSP123-6HISのマップを示す。
【図１６】INSP124予測物のヌクレオチド配列（コード配列の翻訳付き）を示す。
【図１７】INSP124をコードするエクソンのゲノムDNA中の構成及びPCRプライマーの位置を示す。
【図１８】クローン化INSP124産物のヌクレオチド配列（ORFの翻訳付き）を示す。
【図１９】pCR-BluntII-TOPO-INSP124のマップを示す。
【図２０】pDONR 221のマップを示す。
【図２１】発現ベクターpEAK12dのマップを示す。
【図２２】発現ベクターpDEST12.2のマップを示す。
【図２３】pENTR_INSP124-6HISのマップを示す。
【図２４】pEAK12d_INSP124-6HISのマップを示す。
【図２５】pDEST12.2_INSP124-6HISのマップを示す。
【図２６】INSP125予測物のヌクレオチド配列（コード配列の翻訳付き）を示す。
【図２７】INSP125をコードするエクソンのゲノムDNA中の構成とPCRプライマーの位置を示す。
【図２８】クローン化INSP125産物のヌクレオチド配列（ORFの翻訳付き）を示す。
【図２９】pCR4-TOPO-INSP125のマップを示す。
【図３０】pDONR 221のマップを示す。
【図３１】発現ベクターpEAK12dのマップを示す。
【図３２】発現ベクターpDEST12.2のマップを示す。
【図３３】pENTR_INSP125-6HISのマップを示す。
【図３４】pEAK12d_INSP125-6HISのマップを示す。
【図３５】pDEST12.2_INSP125-6HISのマップを示す。
【図３６】INSP125-6HISのN末端のシークエンシング結果を示す。

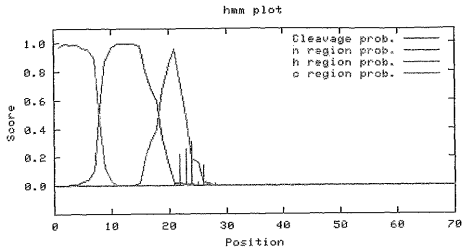
【図１】

Figure 1



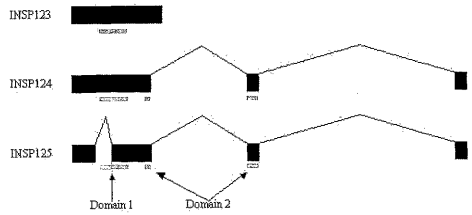
【図２】

Figure 2



【図３】

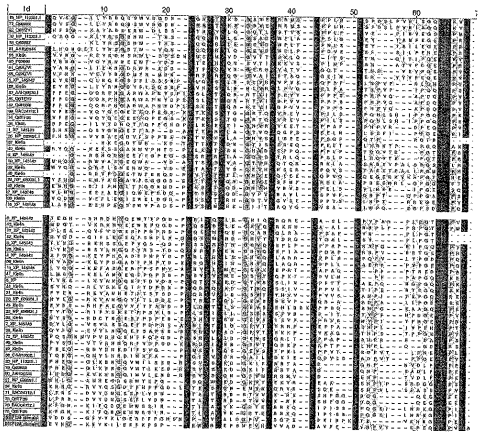
Figure 3



【図４】

Figure 4

Alignment of predicted VWFC domains against profile (alignment) of recognised VWFC domains.



【図５】

Figure 5

>21_INSP124/1-344
222 20

		A	R	N	D	C	Q	E	G	H	I	L	K	M	F	P	S	T	W	Y	V
1	M	-2	-2	-3	-4	-2	-1	-3	-4	-3	0	2	-2	8	0	-3	-2	-2	-2	-2	0
2	A	3	-1	-3	-3	-1	-1	-2	-2	-3	0	0	1	2	1	-2	-1	-1	-3	-1	1
3	L	1	-2	-2	-3	-2	-2	-2	-2	2	0	2	-2	0	-2	0	1	-1	-3	-2	2
4	H	-1	-1	1	-1	-3	-1	-1	3	6	-3	-1	-1	-2	-2	-2	2	-1	-3	-1	-3
5	I	0	-2	-3	-3	-2	0	0	-3	-3	3	2	-2	0	-1	-3	-2	-1	-3	-2	2
6	H	0	-2	-1	-2	-2	-1	-1	-3	7	0	0	-2	-1	-2	0	0	-1	-3	0	2
7	E	0	-2	-2	-1	-2	-1	2	-3	-1	0	1	-1	2	2	-3	0	-2	-2	2	0
8	A	2	-2	-1	-2	3	-2	-2	2	-2	-2	-2	-2	-2	-3	-2	3	1	-3	-3	-2
9	C	0	-3	-2	-3	7	-2	-3	-3	-3	0	-1	-2	3	3	-3	0	-1	-2	-1	0
10	I	-1	-2	-2	-2	-2	-2	0	0	-2	3	2	-2	0	0	-3	0	0	-2	3	0
11	L	-2	0	-3	-4	-2	-2	-3	-4	-3	0	4	-2	3	3	-4	-2	-2	-2	0	0
12	L	0	0	-3	-4	-2	-2	-3	-3	-3	0	3	-2	0	-1	1	-2	-1	-3	-2	1
13	L	-1	-2	-2	-2	-2	-2	0	-3	-3	0	3	-2	0	1	-3	1	1	-3	-1	1
14	V	0	0	-3	-3	4	0	-2	-3	-3	0	0	-2	2	-2	-3	-2	-1	-3	-2	4
15	I	-1	0	-2	-3	4	-2	-2	-3	2	1	-2	0	-1	-3	0	0	4	-1	0	0
16	P	0	0	-2	-2	-2	-2	-2	-3	4	-1	0	-2	-1	2	3	0	-1	-2	0	0
17	G	0	-3	-2	-3	-2	-2	-3	2	-3	1	0	-3	3	3	-3	-1	-2	-2	0	1
18	L	1	-3	-3	-4	-1	-2	-3	-3	-3	0	4	-2	0	-1	-3	-2	-1	-3	-2	2
19	V	2	-1	-1	-2	-2	3	-1	-2	-2	0	-1	-1	-1	-3	-2	1	1	-3	-2	2
20	T	-1	-2	-2	-3	4	-2	-2	-3	-3	0	3	-2	0	-2	-3	1	3	-3	-2	0
21	S	0	-2	-1	-2	4	-2	-2	1	-3	-1	1	-2	2	-2	0	-1	-3	0	0	-1
22	A	3	-2	-2	-2	-1	-2	-2	-1	-2	-2	0	-2	-1	1	2	2	-1	-3	-2	0
23	A	2	-2	-3	-2	5	0	0	-2	-3	-1	0	-2	-1	-3	2	-1	-1	-3	-2	1
24	I	1	1	-2	-2	-2	-1	-2	-2	-2	2	0	-3	-1	-1	-2	2	-1	-3	1	1
25	S	-1	-1	2	-1	-2	1	-1	-2	4	2	-1	-1	-1	-2	-2	3	-1	-4	-1	-1
26	H	0	-2	3	-1	-3	-1	-1	-2	5	-2	-2	-1	-2	0	3	0	-1	-3	-1	0
27	E	-1	-1	0	1	-3	0	5	-2	-1	-3	-3	0	-2	-3	-1	1	2	-3	-2	-2
28	D	1	-2	0	4	-2	-1	0	-1	-2	-2	0	-1	-1	-3	-2	1	2	0	-4	-3
29	Y	-2	-1	-2	-2	-3	2	-1	-3	0	0	-1	-1	-1	0	3	-1	-2	0	5	0
30	P	0	-1	-1	-1	-2	-1	-1	0	5	-3	-3	-1	-2	-3	4	0	0	-3	-1	-2
31	A	3	-2	-2	-2	-1	-1	-2	-1	-3	0	2	-1	0	-2	0	0	0	-3	-2	0
32	D	-2	-1	0	5	-3	0	2	-2	-1	-2	-3	2	-2	-3	-1	0	-1	-4	-3	0
33	E	0	-1	-2	0	-2	0	3	-3	-1	0	0	-1	0	3	-2	-1	-1	-2	0	0
34	G	1	-2	0	-1	-2	-1	-2	4	-2	-2	-2	-2	0	-2	-2	1	1	-2	-3	0
35	D	0	2	0	2	-2	0	0	-2	-1	-2	0	0	-1	-3	2	-1	-1	-3	-2	-2
36	Q	0	3	0	-1	-2	3	0	-2	-1	-2	-2	0	-1	-3	-1	1	3	-3	-2	-2
37	I	0	-2	-3	-2	-1	-2	-2	-2	-3	1	0	-2	0	-2	4	-1	-1	-3	-2	2
38	S	-1	-1	0	1	-2	0	2	-2	-1	-2	-1	1	-1	-2	-2	2	-1	-3	-2	0
39	S	3	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-2	-1	0	-1	-1	-2	2	3	0	-3	-2	-1
40	N	0	-2	2	-1	-3	-1	1	3	-1	0	0	-1	-1	-3	1	-1	-1	-3	-2	0
41	D	1	-2	-1	3	-2	0	2	-2	-2	-1	0	-1	-1	0	-2	0	-1	-3	-2	-1
42	W	-1	-1	2	1	-3	0	3	0	-1	-2	0	0	-1	-2	-2	1	-1	-3	-2	-2
43	L	1	-3	-3	-3	4	-2	-3	-3	-1	0	1	-3	0	3	-3	-2	-2	0	5	0
44	I	1	-1	-1	0	-2	0	2	-2	-2	1	-1	1	-1	-2	-2	2	-1	-4	-2	0
45	F	-2	-3	-2	1	-2	-2	-2	-3	-1	2	0	-3	0	4	-3	-2	-2	-1	4	1
46	D	1	-2	-1	2	-2	-1	0	0	-2	-3	-3	-1	-2	-3	4	1	-1	-4	-3	-2
47	D	0	-2	0	5	-3	-1	0	1	-2	-3	-4	-1	-3	-3	2	1	-1	-4	-3	-3
48	Y	-2	3	-1	-2	-3	2	-1	-3	0	-2	-2	0	-1	0	-3	-2	-2	0	6	-2
49	R	-2	4	0	-2	-4	2	0	-2	5	-4	-3	0	-2	-3	2	-1	-2	-3	-1	-3
50	G	-1	-2	0	2	-3	-1	1	4	-2	-2	-3	-1	-2	-3	-2	1	-1	-3	-3	0
51	K	-1	2	1	-1	-3	0	0	1	-1	-3	-3	4	-2	-3	-2	1	-1	-3	-3	-3
52	G	-1	-2	-1	2	4	-2	-1	3	-2	-2	-3	-2	-2	0	-2	0	2	-2	-2	-2
53	C	-1	-4	-4	-4	10	-4	-4	-4	-3	-1	-1	-4	-1	2	-4	-2	-2	-2	-1	-1
54	V	-1	-2	-1	0	-2	-1	1	-2	-2	0	0	-1	3	-2	-2	1	0	-3	-2	3
55	D	0	-2	0	6	-3	0	1	-1	-1	-3	-4	-1	-3	-3	-1	0	-1	-4	-3	-3
56	D	-2	-1	3	4	-4	0	2	2	-1	-4	-4	-1	-3	-4	-2	0	-1	-4	-3	-3
57	S	0	-1	2	2	-3	1	0	2	-1	-3	-3	-1	-2	-3	-2	3	0	-3	-3	-3
58	G	0	1	0	-1	-3	-1	-2	5	-2	-4	-4	-1	-3	-3	-2	1	-2	-3	-3	-3
59	F	-1	-4	-4	-4	-2	-3	-3	-4	-2	3	0	-3	0	5	-4	-2	-1	-1	0	3
60	V	-1	-3	-3	-2	-2	-1	1	-3	-1	0	0	-2	0	3	-3	-2	-1	-1	4	3
61	Y	-2	-2	-2	-3	-2	-2	-2	-3	0	-1	-1	-2	-1	4	-3	0	-2	0	7	-2
62	K	1	-1	-2	-2	-2	-1	-1	0	-3	0	-1	1	-1	-2	2	-1	-1	-4	-2	3
63	L	-1	-3	-2	-3	-2	-3	-3	4	-3	4	3	-3	0	-1	-3	-1	-2	-3	-2	0
64	G	-1	-1	0	0	-4	0	3	5	-1	-4	-4	-1	-3	-4	-2	0	-2	-3	-3	-3
65	E	-2	-1	-1	0	-3	3	3	-3	-1	-2	-1	0	3	-1	-2	-1	-2	7	-1	-2
66	K	-2	2	-2	-3	-2	0	-1	-3	0	1	-1	1	-1	3	-3	-2	-2	-1	4	0
67	F	-2	-3	-3	-3	-2	-3	-3	-3	-1	-1	-1	-3	-1	6	-4	-2	1	6	3	-1
68	F	0	1	-2	-3	-2	-1	-2	-2	-1	-1	1	-1	0	2	-3	0	0	-1	2	-1
69	P	-2	-2	-1	2	-4	0	2	-2	-2	-4	-4	-3	-3	-4	6	-1	-1	-4	-3	-3
70	G	0	-2	0	-1	-2	-1	-1	5	-2	-4	-4	-1	-2	-3	-2	3	-1	-3	-3	-3
71	H	-2	-2	0	5	-3	-1	0	-2	4	-3	-4	-1	-3	-3	3	0	-1	-4	-2	-3
72	E	-1	-1	0	-1	-2	-1	-1	-2	5	-3	-3	-1	-2	-3	4	3	1	-3	-1	-2
73	N	2	-2	2	-2	8	-2	-2	-2	-2	-2	-2	-3	-3	0	0	-3	-2	-1		
74	C	-1	-2	-1	-1	8	-1	3	-3	-2	-2	-3	-2	-3	-2	0	2	-3	-2	-1	
75	P	-1	2	-2	-2	-3	3	0	-3	-2	-2	0	0	-2	-3	5	-1	-1	-3	-2	-2
76	C	0	-4	-4	-4	10	-4	-5	-4	-4	-1	-1	-4	-1	-2	-4	-1	-1	-2	-2	-1
77	V	-1	-2	-2	-1	-2	-1	2	-3	-2	0	2	-1	0	-1	-2	-1	0	-3	-2	3
78	C	0	-4	-4	-4	10	-4	-5	-4	-4	-1	-1	-4	-1	-2	-4	-1	-1	-2	-2	-1
79	A	2	-1	-1	-1	-1	1	-1	-2	-2	-2	-2	-1	-1	-3	-1	0	4	-3	-2	-1
80	L	1	-1	-1	0	-2	0	2	-2	-2	-1	0	-1	-1	-2	-2	1	1	-3	-2	-1
81	D	-2	-2	0	5	-4	0	4	-2	-1	-3	-4	-2	0	1	-4	0	-3	-3		
82	G	0	-3	0	-2	-4	-3	-3	7	-3	-5	-5	-3	-4	-4	-3	0	-3	-3	-4	-4
83	P	-1	-2	-2	-1	-3	-1	-1	-2	-2	-3	-3	-2	-2	-4	7	1	-1	-4	-3	-3
84	V	0	-2	-2	-3	-2	1	-1	-3	-3	1	1	-2	0	-2	-2	0	-1	-3	-2	4
85	C	0	-3	-3	-3	10	-3	-4	-3	-3	-2	-2	-2	-2	-3	-3	0	-1	-3	-3	-2
86	D	1	-2	-1	3	4	-1	-1	-2	-2	-3	-2	-2	0	0	-2	1	0	-3	-2	0
87	Q	-1	3	-1	-2	-3	4	0	-3	-1	-2	-2	2	-1	-3	-2	-1	-1	-3	-2	0
88	P	-1	-2	-1	-2	-2	-2	-3	-3	-2	-2	-2	-2	-4	6	0	4	-4	-3	-1	
89	E	-2	2	0	2	-4	0	5	-2	-1	-4	-3	1	-2	-4	-2	-1	-2	-4	-3	-3
90	C	0	-4	-4	-4	10	-4	-5	-4	-4	-2	-2	-4	-2	-3	-4	-2	-2	-1	-3	-2
91	P	-1	-2	-2	-2	-3	-2	-2	-3	-3	-1	-2	-2	-2	-3	6	-1	2	-4	-3	0
92	K	0	3	0	0	-3	0	3	-2	-1	-3	-3	3	-2	-3	-2	0	-1	-3	-2	-2
93	I	-1	-3	-3	-4	-1	-2	-3	-4	-3	3	3	-2	0	-1	-3	-2	1	-3	-2	1
94	H	-1	-1	0	-1	4	-1	-1	-2	7	-3	-3	-1	-2	-2	2	1	-1	-3	0	-3
95	P	0	-2	-2	-1	-3	-1	1	-2	-2	-3	-3	-1	-2	-4	7	-1	-1	-4	-3	-2
96	K	1	3	-1	-2	-2	0	0	-2	0	-2	-2	2	-1	-1	-2	1	-1	-2	2	-2
97	C	0	-3	-3	-3	10	-3	-4	-3	-3	-2	-2	-3	-2	-3	-1	-1	-3	-3	-2	
98	T	-1	-3	-2	-3	-1	-2	-3	-4	-3	4	0	-3	1	-1	-3	-1	3	-3	-2	2
99	K	-2	1	0	-1	-4	0	2	-2	7	-3	-3	2	-2	-2	-2	-1	-2	-3	0	-3
100	V	-1	-3	-3	-3	-1	-3	-3	-4	-3	3	0	-3	0	-1	-3	-2	-1	-3	-1	5
101	E	1	-1	0	3	-2	0	2	-1	-1	-3	-3	1	-2	-3	-1	2	0	-4	-3	-2
102	H	-2	2	1	-1	-3	0	-1	-2	7	-3	-2	0	-2	-1	-2	-1	1	-2	3	-2
103	N	-1	0	3	-1	-2	0	0	-1	4	-2	-2	1	-2	0	-2	1	0	-1	4	-2
104	G	-1	-1	0	2	-3	4	2	2	-1	-4	-3	0	-2	-3	-2	0	-1	-3	-2	-3
105	C	0	-3	-3	-3	10	-3	-5	-3	-3	-1	-1	-3	-1	-2	-3	-1	-1	-2	-2	-1
106	C	0	-3	-3	-3	10	-3	-5	-3	-3	-1	-1	-3	-1	-2	-3	-1	-1	-2	-2	-1
107	P	-1	-3	-3	-2	-3	-2	-2	-3	-3	-1	-2	-2	-4	7	-2	-1	-1	-3	-3	0
108	E	-1	2	0	2	-3	4	2	-2	-1	-2	-1	0	-1	-3	-2	-1	-1	-3	-2	0
109	C	0	-3	-3	-3	10	-3	-5	-3	-3	-1	-1	-3	-1	-2	-3	-1	-1	-2	-2	-1
110	K	-1	0	0	0	-3	0	3	-2	-1	-3	-2	3	-1	-3	-2	1	-1	-3	-2	1
111	E	2	2	-1	0	-3	0	4	-2	-1	-3	-2	2	-2	-3	-2	0	-1	-3	-2	-2
112	V	-1	1	-1	-1	-3	-1	1	-2	3	-1	1	-1	-2	-2	-1	-1	-3	-3	-2	2
113	K	0	0	0	-1	-3	0	0	4	-2	-4	-3	0	-2	-3	-2	1	-1	-3	-3	-3
114	N	-2	0	6	0	-3	0	0	0	0	-3	-3	2	-2	-3	-2	0	0	-4	-2	-3
115	F	-1	-3	-3	-3	-2	-2	-3	0	0	0	-2	0	4	-3	-2	-3	0	6	1	
116	C	0	-3	-3	-3	10	-3	-5	-3	-3	-1	-1	-3	-1	-2	-3	-1	-1	-2	-2	-1
117	E	-1	-1	0	3	-3	0	4	-2	-1	-2	0	0	-2	-3	-2	0	1	-3	-3	-2
118	Y	-2	-2	-2	-2	-3	-1	1	-3	0	-1	-1	-2	-1	5	-3	-2	-2	0	6	-2
119	H	-2	5	2	-2	-3	0	-1	-2	4	-2	-1	0	3	-2	-2	-1	-1	-3	-1	-2
120	G	-1	-2	2	-1	-3	-2	-2	6	-2	-4	-4	-2	-3	-3	-2	0	-2	-3	-3	
121	K	-1	4	-1	-2	-3	0	0	-3	-1	-1	-2	5	-1	-3	-2	-1	-1	-3	-2	0
122	N	-1	-2	2	-2	-2	-2	-2	-2	2	0	-2	0	-2	-2	0	4	-3	-2	1	
123	Y	-2	-3	-3	-3	-2	-2	-3	-3	0	-1	-1	-3	-1	4	-4	-2	-2	1	8	-1
124	K	0	1	0	-1	-3	2	2	-2	4	-3	-2	2	-1	-1	-2	-1	-2	-2	3	-2
125	I	-1	-2	2	-2	-2	-2	-2	-2	2	1	-2	0	-1	-2	0	1	-3	-2	2	
126	L	-1	-2	2	-2	-2	-2	3	-2	0	3	-2	0	-1	-3	-1	-1	-3	-2	-1	
127	E	-1	0	0	1	-4	3	6	-2	0	-3	-3	0	-2	-3	-1	0	-1	-3	-2	-2
128	E	-1	-1	2	0	-3	0	4	-2	0	-3	-3	0	-2	-1	-2	0	1	-2	3	-2
129	F	-2	-3	-3	-2	-3	-3	-3	-1	0	0	-3	0	7	-5	-2	-2	0	2	-1	
130	K	-1	1	2	-1	-3	2	0	-2	-1	-1	0	2	1	-2	-2	-1	-1	-3	-2	0
131	P	-1	-3	-3	-3	-2	-2	-2	-3	-3	1	2	-2	0	-2	3	-2	0	-3	-2	3
132	S	0	0	1	2	2	-1	0	-1	-1	-3	-3	-1	-2	-3	1	4	1	-4	-3	-2
133	P	-1	-2	-2	-1	-3	-1	1	-3	-2	-2	-3	-1	-2	-4	7	-1	-1	-4	-3	0
134	C	0	-3	-3	-3	10	-3	-4	-3	-3	-1	-2	-3	-1	-2	-3	-1	0	-2	-2	-1
135	E	-1	1	-1	0	-3	0	5	-3	-1	-1	1	0	-1	-2	-2	-1	-1	-3	-2	-1
136	W	-1	2	-1	-2	-3	2	0	-2	3	-2	0	1	-1	-2	-2	1	-1	4	-1	-2
137	C	0	0	-3	-3	10	-3	-4	-3	-3	0	-1	-3	-1	-2	-3	-1	0	-3	-2	-1
138	R	-1	4	-1	-2	-2	0	-1	-3	-1	2	-1	2	-1	-1	-2	-1	1	-2	1	0
139	C	0	-4	-4	-4	10	-4	-5	-4	-4	-1	-1	-4	-1	-2	-4	-1	-1	-2	-2	-1
140	E	-1	-1	0	2	-3	0	5	-3	-1	-2	0	0	-1	-3	-2	0	1	-3	-2	-2
141	P	1	-2	1	-2	-2	-1	-1	-2	-2	0	0	-1	-1	-2	2	1	1	-3	-2	0
142	S	-1	-1	4	2	-3	1	0	2	-1	-3	-3	-1	-2	-3	-2	2	-1	-4	-3	-3
143	N	-1	1	2	-1	-3	-1	-1	4	-1	-4	-4	1	-2	-3	-2	1	-1	-3	-3	-3
144	E	-1	0	-1	0	-3	0	4	-3	-1	1	-1	0	-1	-2	-2	-1	1	-3	-2	1
145	V	3	-2	-3	-3	-1	-2	-2	-2	-3	0	0	-2	0	-2	-2	-1	-1	-3	-2	3
146	H	-2	1	-2	-3	-2	-1	-2	-3	3	0	2	-1	0	2	-3	-2	-2	-1	4	-1
147	C	-1	0	-3	-3	10	-3	-3	-3	-2	-2	-2	-2	-3	1	-1	-1	-3	-3	-2	
148	V	0	-2	-1	-2	-1	-1	-2	-2	-3	0	1	-1	0	-2	-2	2	3	-3	-2	2
149	V	-1	-3	-3	-3	1	-2	-2	-3	-3	2	0	-2	0	-2	2	-2	-1	-4	-2	5
150	A	3	-2	-2	-2	2	-1	-1	-1	-2	0	-1	-1	-1	-2	-2	2	0	-3	-2	2
151	D	1	-2	0	5	-2	1	0	0	-2	-3	-3	-1	-2	-3	-2	1	-1	-4	-3	-2
152	C	-1	-3	-3	-3	10	-3	-4	0	-3	-2	-2	-3	-1	1	-4	-1	-2	-2	-1	-2
153	A	2	-2	-2	-2	-2	-1	0	-2	-2	-1	0	-1	-1	1	4	-1	-1	-3	-1	-1
154	V	2	-1	-2	-1	-2	4	1	-2	-2	-1	-2	0	-1	-3	3	-1	-1	-3	-2	0
155	P	-1	-2	-1	1	-2	-2	-1	-2	-2	1	0	-2	-1	-2	4	0	2	-4	-3	0
156	E	-2	1	-1	0	-4	0	5	-3	2	-3	-3	1	-2	2	3	-1	-2	-3	-1	-3
157	C	-1	-3	-3	-3	9	1	-3	-3	-3	-2	-1	-3	-1	-2	-3	-2	-2	5	-2	-2
158	V	-1	0	-2	-3	-2	0	-2	-3	-3	2	0	-2	0	1	-2	-2	1	-2	-1	4
159	N	-2	1	4	4	-3	0	0	-1	0	-3	-3	-1	-2	-1	-2	0	-1	3	3	-3
160	P	-1	-2	-2	-1	-3	-1	-1	-2	-2	-1	-3	1	-2	-4	7	0	-1	-4	-3	-2
161	V	-1	-3	-3	-3	-2	0	0	-4	-3	4	0	-2	0	2	-3	-2	-1	-2	0	3
162	Y	-2	1	-1	-3	-3	-1	-1	-3	4	-2	0	-1	-1	0	-3	0	-2	0	6	-2
163	K	-1	-1	-1	0	-3	3	4	-3	-1	-2	-1	0	-1	-3	3	0	0	-3	-2	-2
164	P	-1	-1	-2	-1	-3	0	1	-3	-1	-2	-1	0	-2	-2	5	-1	-1	-2	2	-2
165	E	-1	-2	1	2	-3	-1	1	3	-1	-3	-3	-1	-3	-1	-2	0	-1	-2	2	-3
166	Q	-2	0	-1	-1	-3	4	2	-3	3	-3	0	2	-1	-2	-2	-1	-2	5	0	-2
167	C	0	-3	-3	-4	9	-3	-4	-4	-3	0	0	-3	-1	-2	-3	-2	-1	-2	-2	0
168	C	0	-3	-3	-3	9	-3	-3	-3	-3	0	-1	-3	-1	-2	-3	0	-2	-3	-3	-3
169	P	0	-2	-3	-2	-3	-1	-2	-2	-3	-2	0	-1	-1	-3	7	-1	-1	-4	-3	-1
170	V	-1	-2	-2	-2	-2	-1	1	-3	-2	3	0	1	0	-2	-2	-2	-1	-3	-2	4
171	C	-1	-2	-3	-3	9	-2	-3	-3	-3	-1	0	1	-1	-2	-3	-1	-1	-3	-2	-1
172	K	-1	1	0	-1	-3	0	0	-2	-1	-3	-2	6	-1	-3	-1	0	-1	-3	-2	-2
173	N	2	-1	3	2	-2	-1	0	2	-1	-3	-3	-1	-2	-3	-2	1	-1	-4	-3	-2
174	G	0	-1	0	-1	-3	-2	-2	5	-2	-4	-3	0	-3	-3	-2	0	-2	-2	-3	-3
175	F	-1	-2	1	-1	-3	-1	0	-2	-2	-3	-3	-1	-2	-4	6	-1	-1	-4	-3	-2
176	N	-1	-1	5	0	-3	-1	-1	-1	0	-3	-3	-1	-2	-2	-2	1	0	6	-1	-3
177	C	-1	-2	-2	-2	8	-2	-2	-3	3	-2	-2	-2	-2	-2	1	-1	0	-3	-1	-2
178	F	-2	-2	-1	-2	-3	-2	-2	1	4	-2	-2	0	-1	4	0	-1	-2	0	3	-2
179	A	2	-2	-2	-3	-1	-2	-2	2	-3	0	1	-2	0	0	-2	-1	-1	-3	-1	1
180	G	0	-1	0	0	-2	-1	1	3	-2	-2	0	-1	-1	-2	1	1	1	-3	-2	-1
181	T	0	-2	-

```
190 V    0  0 -1  1 -2 -1 -1 -2 -2  0  0 -1  0 -2 -2 -1  2 -3 -2  3
191 K   -1  0 -1 -1 -3  0  1 -2 -1 -2 -2  4 -1 -2 -2 -1 -1  7 -1  0
192 V    0 -1 -1 -2 -2  1  0 -3 -2  0  0  1  0 -2 -2 -1  2 -3 -1  3
193 D   -2 -2  0  6 -3  0  1 -1 -1 -3 -4 -1 -3 -3 -1  0  1 -4 -3 -3
194 E    1 -1 -1  1 -2  0  4 -2 -1 -1 -2  0 -1 -2 -1  0 -1 -3 -2  1
195 C    0 -3 -3 -3 10 -3 -4 -3 -3 -1 -1 -3 -1 -2 -3 -1 -1 -2 -2 -1
196 N   -1 -1  3 -1 -2 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1  2 -2  0  4 -2  0 -1
197 I   -1 -1 -2 -3  5 -2 -2 -3 -3  4  0  1  0 -1 -3 -1 -1 -3 -1  1
198 C    0 -3 -2 -3  9 -3 -3 -3 -1 -1 -3 -1 -2 -3 -1  1 -2 -2 -1
199 H   -2  2  0 -2 -3  0  0 -2  7 -3 -2  0 -2  0 -2 -1 -2 -1  3 -3
200 C    0 -3 -3 -3 10 -3 -4 -3 -3 -1 -1 -3 -1 -2 -3 -1 -1 -2 -2 -1
201 H   -1  0  0 -1 -2  0  0 -2  7 -2 -2 -1 -2 -1 -2  0  3 -2  0 -2
202 W   -2 -1  4  3 -3  0  0 -1  0 -2 -2 -1 -2  0 -2  0 -1 -1  4 -2
203 G    0 -1  0  0 -3  0  3  5 -2 -4 -4 -1 -3 -3 -2  0 -2 -2 -3 -3
204 D   -1  0  0  4 -3  3  3 -2  0 -3 -3  0 -2 -3 -1  0 -1 -3 -2 -2
205 W   -1 -2  0  3 -3 -1  0  3 -2 -3 -3 -2 -2 -1 -2 -1 -2  8  0 -3
206 W   -2 -3 -2 -3 -2 -2 -3  3 -2 -3 -3 -3 -1  0 -3 -2 -2 11  0 -3
207 K   -1  3  0 -2 -3  0  0 -2  0 -2 -2  3 -1  0 -2 -1 -1 -1  4 -2
208 P   -1 -1 -1 -1 -2  3  0 -3 -1 -1  1  0  0 -2  4 -1 -1 -3 -2 -1
209 A    5 -1 -2 -2  0 -1 -1  0 -2 -1 -1 -1 -1 -2 -1  0  0 -3 -2  0
210 Q   -1  0 -1 -1 -2  3  0 -2 -1 -1  0  0  4 -1 -1  0  2 -2 -1  0
211 C    0 -3 -3 -3 10 -3 -4 -3 -3 -1 -1 -3 -1 -2 -3 -1 -1 -2 -2 -1
212 S    0 -1  0  0 -1  0  0 -1 -1 -2 -2  0 -1 -2 -1  4  3 -3 -2 -1
213 K   -1  5  0 -2 -3  0  0 -2  0 -3 -2  4 -1 -3 -2 -1 -1 -3 -2 -3
214 R   -1  3  0 -2 -2  0 -1 -3  6 -1  1  0  0 -1 -2 -1 -1 -2  0 -1
215 E   -1  0  0  1 -4  1  5 -2  0 -3 -3  3 -2 -3 -1  0 -1 -3 -2 -2
216 C    0 -2  3 -1  9 -2 -2 -2 -1 -1 -1 -2 -1 -2 -3  0 -1 -3 -2 -1
217 Q   -1  2 -1 -1  6  3  0 -2 -1 -2 -2  1 -1 -3 -2  0 -1 -2 -2 -2
218 G   -1  0  3  0 -3  3  0  3  0 -3 -3  0 -1 -3 -2  0 -1 -3 -2 -3
219 K   -1  0  0 -2 -2  0  0 -2  5  0  0  3  3 -1 -2 -1 -1 -2  0  0
220 Q   -1  0  0  0 -3  4  4 -2  0 -3 -2  0 -1 -3 -1  0 -1 -2 -1 -2
221 T    0 -1  0 -1 -2 -1 -1  4 -2 -2 -2 -1 -2 -2 -1  0  4 -2 -2 -1
222 V    0 -2 -2 -3 -1 -1 -2 -3 -2  2  1 -1  4  0 -2 -1  0 -2 -1  3
```

【図６】

Figure 6

[GTDFC]{0,1}-[CF]{0,1}-[VMSED]{0,1}-[DEA]{0,1}-[DENG]{0,1}-[SQNDG]{0,1}-[SGR]{0,1}-[FIV]{0,1}-[VYPE]{0,1}-[YFS]{0,1}-[KVAGP]{0,1}-[LIG]{0,1}-[GE]{0,1}-[EWQM]{0,1}-[RKYFQVI]{0,1}-[FYWT]{0,1}-[FALYRTS]{0,1}-[PED]{0,1}-[GS]{0,1}-[HPDS]{0,1}-[STHP]{0,1}-[CNAT]{0,1}-[CPE]{0,1}-[PQRL]{0,1}-C{0,1}-[VELT]{0,1}-C{0,1}-[TAQ]{0,1}-[ELATSD]{0,1}-[EDT]-G-[PS]-[VLAQS]-[CS]-[DAMSTFCV]-{QRKV}-R{0,1}-[PT]-[ERDK]-C-[PTV]-[KERSA]-[LIVT]-{HPSC}-[PAE]-[KRASY]-[CP]-[TIVM]-[HKRE]-[VI]-[DESAKP]-[HTNRYG]-[NSTYHK]{0,1}-[PA]{0,1}-[TG]{0,1}-[QGDES]-C-C-[PV]-[EQRDLV]-C

【図７】

Figure 7

Nucleotide sequence of INSP123 prediction with translation

```
1   gatttcgacs gagctgggct cagaagccag ttgttggcgc tgtccgtggt gctgaggaat
   61   tcccggctgc cggcagaatg agctccaaat cagcaatctg caaactgctc ttactgatgc
  121   agaaacccag ctaaagttgc tcctttcctt cacatccaca gttagtattt tccggtgtgt
  181   aagaggggat tcaagcaaca cactgtggac gatggtgatg gtattgccag cggagtgggc
  241   tttaagctac agcatgctgt tgctgtttgt gatcctcaga gcctagccaa atcacctcta
  301   ctgccgtagc aaacactgtg taagtgaact catgtgtgga ggaggcgtaa tcagccggga
  361   aatttcatag aaggatctaa gaaastgcta aaaataagtt caacatgatt ctgctactgg
  421   ggtctggatt tctacaggac cagctttgct tcttgctttg aattctgaag acaggtccaa
  481   agcaaatttc ttatatgtgt ctgctgtgtt tctttctgga agggcgggag actgcttctt
  541   tactgtgttt tgaaatggga ggtagagaga atggattgcc tttaattcat gcctaaaaaa
  601   tgtattcttt gggtaattaa agaggaactg ctttcttaaa acatacctga cottttagtt
  661   catttgggc tgtgacccct accaccacca ttaacctcca gagtgattag cctcccctc
  721    ttgtattccc atggaaggag ctgagtatat ttaatattag gagcacatcc agaagtcttt
                                                    INSP123-CP1
  781   gaagagggg atggctcttc atattcatga agcttgcata cttctgttgg tcatccctgg
                m  a  l  h  i  h  e  a  c  i  l  l  l  v  i  p

  841   attggtcacc tctgctgcta tcagtcatga agactatcct gctgatgaag gtgaccagat
        g  l  v  t  s  a  a  i  s  h  e  d  y  p  a  d  e  g  d  q

  901   ctccagtaat gacaatctga tctttgatga ctatcgaggg aaagggtgtg tcgatgacag
        i  s  s  n  d  n  l  i  f  d  d  y  r  g  k  g  c  v  d  d

  961   cggctttgta tacaagttgg gagaacgatt tttccctggg cattccaact gtccatgtgt
        s  g  f  v  y  k  l  g  e  x  f  f  p  g  h  s  n  c  p  c

 1021   ctgtgctcta gatggacctg tttgcgacca accagaatgc cctaaaattc acccaaagtg
        v  c  a  l  d  g  p  v  c  d  q  p  e  c  p  k  i  h  p  k

 1081   tsctaaagtg gaacacaatg gatgctgtcc tgagtgcaaa gaagtaaaaa acttctgtga
        c  t  k  v  e  h  n  g  c  c  p  e  c  k  e  v  k  n  f  c

 1141   atatcacggg aaaaattaca aaatcttgga ggaatttaag gtatgcgtta ccctccatat
        e  y  h  g  k  n  y  k  i  l  e  e  f  k  v  c  v  t  l  h

 1201   ttattgaaat atcaactttt cataccacgt gcttagtaca ttgctacatt aaagtcagag
        i  y
                                  <-- INSP123-CP2

 1261   ttggaaaaat gtactttaaa atttccctttt aaattataca atttgattct aattaccata
 1321   agtagcacca tggtccaacaa atggccaact ggtttgttga tcatatttgt taagttgcac
 1381   aataacctt attttttttc ccagaagtat ttgggccata cctaacacct tttatttttg
 1441   cccttaaaca tttcttctct gttattacaa aatatgtttt ctgatgggaa caattttgtg
 1501   tatagtgtat gtgtctccta aattaatttt ttaattgtgt cagttttgtg tgttgcttat
 1561   tagcctgtat ttgaagtcat ttaacaatat agtctagaat tatttgttta ttgtgtggaa
 1621   aagctacaga gatatacttc ttagctgtgg tcctcatatt aagaaaatgc attgggccta
 1681   cttgtggtca agcaagatcc ccattctgtt ctctgctcgc tggatttttt gctttcagga
 1741   ttccacagag aactgaattt ttatcacaat ccatgtaaag agtagtaaaa aagactgtaa
```

Position and sense of PCR primers ⟶

【図８】

Figure 8

Nucleotide sequence with translation of INSP123 PCR product cloned using primers INSP123-CP1 and INSP123-CP2

```
  1   taggagcaca tccagaagtc tttgaagagg gggatggctc ttcatattca tgaagcttgc
                 INSP123-CP1 -->                  m  a  l  h  i  h  e  a  c

 61   atacttctgt tggtcatccc tggattggtc acctctgctg ctatcagtca tgaagactat
        i  l  l  l  v  i  p  g  l  v  t  s  a  a  i  s  h  e  d  y

121   cctgctgatg aaggtgacca gatcctccagt aatgacaatc tgatctttga tgactatcga
        p  a  d  e  g  d  q  i  s  s  n  d  n  l  i  f  d  d  y  r

181   gggaaagggt gtgtcgatga cagcggcttt gtatacaagt tgggagaacg atttttccct
        g  k  g  c  v  d  d  s  g  f  v  y  k  l  g  e  r  f  f  p

241   ggqcatttcc actgtccatg tgtctgtgct ctagatggac ctgtttgcga ccaaccagaa
        g  h  s  n  c  p  c  v  c  a  l  d  g  p  v  c  d  q  p  e

301   tgccctaaaa ttcacccaaa gtgtactaaa gtggaacaca atggatgctg tcctgagtgc
        c  p  k  i  h  p  k  c  t  k  v  e  h  n  g  c  c  p  e  c

361   aaagaagtaa aaaacttctg tgaatatcac gggaaaaatt acaaaatctt ggaggaattt
        k  e  v  k  n  f  c  e  y  h  g  k  n  y  k  i  l  e  e  f

421   aaggtatgcg ttaccctcca tatttattga aatatcaact tttcatacca cgtgcttagt
        k  v  c  v  t  l  h  i  y                  <-- INSP123-CP2

481   ac
      ‾‾

Position and sense of PCR primers ⟶
```

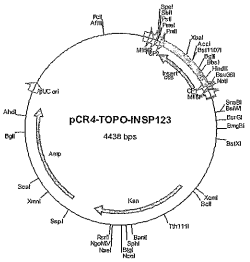
【図９】

Figure 9

Map of pCR4-TOPO-INSP123

Molecule: pCR4-TOPO-INSP123, 4438 bps DNA Circular

Type	Start	End	Name	Description
MARKER	205		M13R	M13 rev priming site
MARKER	243		T3	T3 priming site
MARKER	295		CP2	CP2 priming site
GENE	743	330 C	cds	INSP123 cds
REGION	775	295 C	Insert	INSP123-CP1/CP2 PCR product
MARKER	775	C	CP1	CP1 priming site
MARKER	828	C	T7	T7 priming site
MARKER	836	C	M13F	M13 for priming site
GENE	1640	2434	Kan	Kanamycin resistance gene ORF
GENE	2636	3498	Amp	Ampicillin resistance gene ORF
MARKER	3643		pUC ori	pUC origin



【図１０】

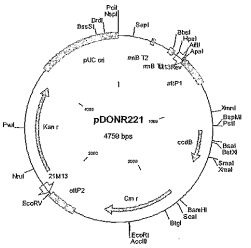
Figure 10

Map of pDONR 221

Molecule: pDONR221, 4759 bps DNA Circular
File Name: 13578[1].cm5

Description:

Type	Start	End	Name	Description
REGION	295	268 C	rrnB T2	transcription termination sequence
REGION	470	427 C	rrnB T1	transcription termination sequence
MARKER	536		M13Rev	M13 Forward primer. 536 to 553 bp.
REGION	570	801	attP1	
GENE	1197	1502	ccdB	
GENE	1844	2503	Cm r	Chloramphenicol resistance gene
REGION	2751	2982	attP2	
MARKER	3040 bp.	C	21M13	M13 Reverse primer. 3040 to 3023
GENE	3153	3962	Kan r	
REGION	4083	4756	pUC ori	



【図１１】

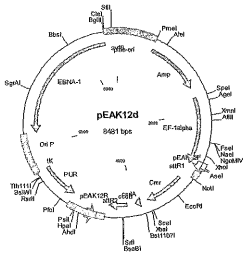
Figure 11

Map of Expression vector pEAK12d

Molecule: pEAK12d, 8481 bps DNA Circular
File Name: 11345[1].cm5

Description: Mammalian cell expression vector

Type	Start	End	Name	Description
REGION	2	595	pmb-ori	
GENE	596	1519	Amp	
GENE	1690	2796	EF-1alpha	
MARKER	2775		pEAK12F	20-mer Forward primer. 2775 to 2794
REGION	2851	2975	attR1	
GENE	3089	3747	Cmr	Chloramphenicol resistance gene
GENE	3867	3951	ccdA	
GENE	4089	4394	ccdB	
REGION	4440	4564	attR2	
REGION	4565	5002	'A	poly A/splice
MARKER	4661	C	pEAK12R	20-mer Reverse primer. Complement.
GENE	5621	5003 C	PUR	PUROMYCIN
REGION	5733	5622 C	tK	tK promoter
REGION	5734	6228	Ori P	
GENE	8281	6229 C	EBNA-1	
REGION	8283	8481	sv40	



【図１２】

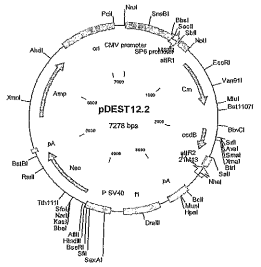
Figure 12

Map of Expression vector pDEST12.2

Molecule: pDEST12.2, 7278 bps DNA Circular
File Name: 11045[1].cm5

Description: Eukaryoic expression vector

Type	Start	End	Name	Description
REGION	15	608	CMV promoter	
MARKER	648		M13R	Forward primer. 648 to 665 bp.
REGION	687	706	SP6 promoter	
REGION	730	854	attR1	
GENE	963	1622	Cm	
GENE	1964	2269	ccdB	
REGION	2310	2434	attR2	
GENE	2484	2464 C	T7	T7 promoter
MARKER	2512	C	21M13	Reverse primer. 2512 to 2495 bp.
REGION	2784	3050	pA	SV40 polyadenylation signal
REGION	3176	3631	f1	f1 intergenic region
REGION	3791	4099	P SV40	SV40 ori & early promoter
GENE	4158	4952	Neo	
REGION	5016	5064	pA	synthetic poly adenylation signal
GENE	5475	6335	Amp	
REGION	6480	7153	ori	pUC ori



【図１３】

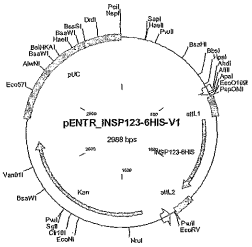
Figure 13

Map of pENTR_INSP123-6HIS

Molecule: pENTR_INSP123-6HIS-V1, 2988 bps DNA Circular
File Name: 14595[1].cm5

Description: Ligation of INSP123-6HIS into pdonr221

Type	Start	End	Name	Description
MARKER	536			21M13 Forward primer
REGION	568	670	attL1	
GENE	677	1108	INSP123-6HIS	
REGION	1112	1213	attL2	
MARKER	1269	C		M13 Reverse primer
GENE	1382	2191	Kan	Kanamycin resistance gene
REGION	2312	2985	pUC	pUC origin

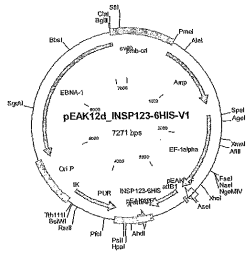


【図１４】

Figure 14

Map of pEAK12d_INSP123-6HIS

```
Molecule:       pEAK12d_INSP123-6HIS-V1,  7271 bps DNA Circular
File Name:      14602[1].cm5

Description:    Ligation of INSP123-6HIS into pEAK12d

Type      Start     End   Name          Description

REGION        2     595   pmb-ori
GENE        596    1519   Amp
GENE       1690    2796   EF-1alpha
MARKER     2775           pEAK12F       20-mer Forward primer. 2775 to 2794
REGION     2856    2860   attB1
GENE       2889    3320   INSP123-6HIS
REGION     3325    3349   attB2
REGION     3355    3792   'A            poly A/splice
MARKER     3451       C   pEAK12R       20-mer Reverse primer. Complement.
GENE       4411    3793 C PUR           PUROMYCIN
REGION     4523    4412 C tK            tK promoter
REGION     4524    5018   Ori P
GENE       7071    5019 C EBNA-1
REGION     7073    7271   sv40
```

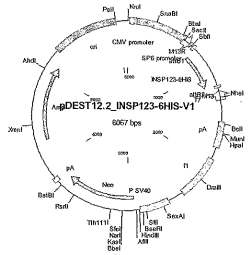


【図１５】

Figure 15

Map of pDEST12.2_ INSP123-6HIS

```
Molecule:       pDEST12.2_INSP123-6HIS-V1,  6067 bps DNA Circular
File Name:      14606[1].cm5

Description:    Ligation of INSP123-6HIS into pDEST12.2

Type      Start     End   Name          Description

REGION       15     608   CMV promoter
MARKER      648           M13R          Forward primer. 648 to 665 bp.
REGION      687     706   SP6 promoter
REGION      730     754   attB1
GENE        763    1194   INSP123-6HIS
REGION     1199    1223   attB2
GENE       1273    1253 C T7            T7 promoter
MARKER     1301         C M13           Reverse primer.
REGION     1573    1839   pA            SV40 polyadenylation signal
REGION     1965    2420   f1            f1 intergenic region
REGION     2580    2888   P SV40        SV40 ori & early promoter
GENE       2947    3741   Neo
REGION     3805    3853   pA            synthetic poly adenylation signal
GENE       4264    5124   Amp
REGION     5269    5942   ori           pUC ori
```



【図１６】

Figure 16

Nucleotide sequence of INSP124 prediction with translation of the coding sequence

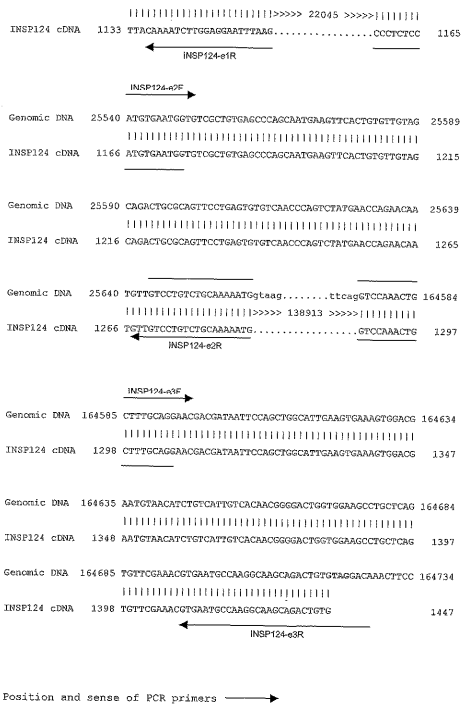
```
   1  agaagccagt tgttggcgct gtccgtggtg ctgaggaatt cccggctgcc ggcagaatga
  61  gctccaaatc agcaatctgc aaactgctct tactgatgca gaaacccagc taaagttgct
 121  cctttccttc acatccacag ttagtatttt ccggtgtgta agaggggatt caagcaacac
 181  actgtggacg atggtgatgg tattgccagc ggagtgggct ttaagctaca gcatgctgtt
 241  gctgtttgtg atcctcagag cctagccaaa tcacctctac tgccgtagca aacactgtgt
 301  aagtgaactc atgtgtggag gaggcgtaat cagccgggaa atttcataga aggatctaag
 361  aaaatgctaa aaataagttc aacatgattc tgctactggg gtctggattt ctacaggacc
 421  agctttgctt cttgctttga attctgaaga caggtccaaa gcaaatttct tatatgtgtc
 481  tgctgtgttt ctttctggaa gggcgggaga ctgcttcttt actgtgtttt gaaatgggag
 541  gtagagagaa tggattgcct ttaattcatg cctaaaaaat gtattctttg ggtaattaaa
 601  gaggaactgc tttcttaaaa catacctgac cttttagttc attttgggct gtgacccctа
 661  ccaccaccat taacctccag agtgaagcct accctcttg tattcccatg gaaggagctg
 721  agtatattta atattaggag cacatccaga agtctttgaa gagggggatg gctcttcata
                                                        m  a  l  h

 781  ttcatgaagc ttgcatactt ctgttggtca tccctggatt ggtcacctct gctgctatca
       i  h  e  a  c  i  l  l  l  v  i  p  g  l  v  t  s  a  a  i

 841  gtcatgaaga ctatcctgct gatgaaggtg accagatctc cagtaatgac aatctgatct
       s  h  e  d  y  p  a  d  e  g  d  q  i  s  s  n  d  n  l  i

 901  ttgatgacta tcgagggaaa gggtgtgtcg atgacagcgg ctttgtatac aagttgggag
       f  d  d  y  r  g  k  g  c  v  d  d  s  g  f  v  y  k  l  g

 961  aacgattttt ccctgggcat tccaactgtc catgtgtctg tgctctagat ggacctgttt
       e  r  f  f  p  g  h  s  n  c  p  c  v  c  a  l  d  g  p  v

1021  gcgaccaacc agaatgccct aaaattcacc caaagtgtac taaagtggaa cacaatggat
       c  d  q  p  e  c  p  k  i  h  p  k  c  t  k  v  e  h  n  g

1081  gctgtcctga gtgcaaagaa gtaaaaaact tctgtgaata tcacgggaaa aattacaaaa
       c  c  p  e  c  k  e  v  k  n  f  c  e  y  h  g  k  n  y  k

1141  tcttggagga atttaagccc tctccatgtg aatggtgtcg ctgtgagccc agcaatgaag
       i  l  e  e  f  k  p  s  p  c  e  w  c  r  c  e  p  s  n  e

1201  ttcactgtgt tgtagcagac tgcgcagttc ctgagtgtgt caacccagtc tatgaaccag
       v  h  c  v  v  a  d  c  a  v  p  e  c  v  n  p  v  y  e  p

1261  aacaatgttg tcctgtctgc aaaaatggtc caaactgctt tgcaggaacg acgataattc
       e  q  c  c  p  v  c  k  n  g  p  n  c  f  a  g  t  t  i  i

1321  cagctggcat tgaagtgaaa gtggacgaat gtaacatctg tcattgtcac aacggggact
       p  a  g  i  e  v  k  v  d  e  c  n  i  c  h  c  h  n  g  d

1381  ggtggaagcc tgctcagtgt tcgaaacgtg aatgccaagg caagcagact gtgtaggaca
       w  w  k  p  a  g  c  s  k  r  e  c  q  g  k  q  t  v

1441  aacttccacc caatgatgag ttcttaggaa aggatgctat ggcttcaaca ctgcacatgt
1501  ttaacacaaa acaaaacaaa caaactcctg ccagctacaa cagggtcacc agcaaaactt
1561  tctagggttg acaaaagtga atattttcct aagaggaaat ttcttttctct cttgctatat
1621  aaaatatata tagtatatag ctatctaaat cgcttttgta tttaccaatg cttgatggt
```

【図１７】

Figure 17

INSP124 coding exon organization in genomic DNA and position of PCR primers

```
                                        INSP124-n1F
                                        ---------->
Genomic DNA    3062 ATTAGGAGCACATCCAGAAGCTCTTTGAAGAGGGGGATGGCTCTTCATATT   3111
                                                    ||||||||||||||||
INSP124 cDNA                                        ATGGCTCTTCATATT    782

Genomic DNA    3112 CATGAAGCTTGCATACTTCTGTTGGTCATCCCTGGATTGGTCACCTCTGC   3161
                    ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
INSP124 cDNA    783 CATGAAGCTTGCATACTTCTGTTGGTCATCCCTGGATTGGTCACCTCTGC    832

Genomic DNA    3162 TGCTATCAGTCATGAAGACTATCCTGCTGATGAAGGTGACCAGATCTCCA   3211
                    ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
INSP124 cDNA    833 TGCTATCAGTCATGAAGACTATCCTGCTGATGAAGGTGACCAGATCTCCA    882

Genomic DNA    3212 GTAATGACAATCTGATCTTTGATGACTATCGAGGGAAAGGGTGTGTCGAT   3261
                    ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
INSP124 cDNA    883 GTAATGACAATCTGATCTTTGATGACTATCGAGGGAAAGGGTGTGTCGAT    932

Genomic DNA    3262 GACAGCGGCTTTGTATACAAGTTGGGAGAACGATTTTTCCCTGGGCATTC   3311
                    ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
INSP124 cDNA    933 GACAGCGGCTTTGTATACAAGTTGGGAGAACGATTTTTCCCTGGGCATTC    982

Genomic DNA    3312 CAACTGTCCATGTGTCTGTGCTCTAGATGGACCTGTTTGCGACCAACCAG   3361
                    ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
INSP124 cDNA    983 CAACTGTCCATGTGTCTGTGCTCTAGATGGACCTGTTTGCGACCAACCAG   1032

Genomic DNA    3362 AATGCCCTAAAATTCACCCAAAGTGTACTAAAGTGGAACACAATGGATGC   3411
                    ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
INSP124 cDNA   1033 AATGCCCTAAAATTCACCCAAAGTGTACTAAAGTGGAACACAATGGATGC   1082

Genomic DNA    3412 TGTCCTGAGTGCAAAGAAGTAAAAAACTTCTGTGAATATCACGGGAAAAA   3461
                    ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
INSP124 cDNA   1083 TGTCCTGAGTGCAAAGAAGTAAAAAACTTCTGTGAATATCACGGGAAAAA   1132

                    ____________________                ________
Genomic DNA    3462 TTACAAAATCTTGGAGGAATTTAAGgtatg.......cctagCCCTCTCC  25539
```



【図１８】

Figure 18

Nucleotide sequence of cloned INSP124 product with translation of the ORF

```
  1  ggagcacatc cagaagtctt tgaagagggg gatggctctt catattcatg aagcttgcat
                                        m  a  l  h  i  h  e  a  c

 61  acttctgttg gtcatccctg gattggtcac ctctgctgct atcagtcatg aagactatcc
     i  l  l  l  v  i  p  g  l  v  t  s  a  a  i  s  h  e  d  y

121  tgctgatgaa ggtgaccaga tctccagtaa tgacaatctg atctttgatg actatcgagg
     p  a  d  e  g  d  q  i  s  s  n  d  n  l  i  f  d  d  y  r

181  gaaagggtgt gtcgatgaca gcggctttgt atacaagttg ggagaacgat ttttccctgg
     g  k  g  c  v  d  d  s  g  f  v  y  k  l  g  e  r  f  f  p

241  gcattccaac tgtccatgtg tctgtgctct agatggacct gtttgcgacc aaccagaatg
     g  h  s  n  c  p  c  v  c  a  l  d  g  p  v  c  d  q  p  e

301  ccctaaaatt cacccaaagt gtactaaagt ggaacacaat ggatgctgtc ctgagtgcaa
     c  p  k  i  h  p  k  c  t  k  v  e  h  n  g  c  c  p  e  c

361  agaagtaaaa aacttctgtg aatatcacgg gaaaaattac aaaatcttgg aggaatttaa
     k  e  v  k  n  f  c  e  y  h  g  k  n  y  k  i  l  e  e  f

421  gccctctcca tgtgaatggt gtcgctgtga gcccagcaat gaagttcact gtgttgtagc
     k  p  s  p  c  e  w  c  r  c  e  p  s  n  e  v  h  c  v  v

481  agactgcgca gttcctgagt gtgtcaaccc agtctatgaa ccagaacaat gttgtcctgt
     a  d  c  a  v  p  e  c  v  n  p  v  y  e  p  e  q  c  c  p

541  ctgcaaaaat ggtccaaact gctttgcagg aacgacgata attccagctg gcattgaagt
     v  c  k  n  g  p  n  c  f  a  g  t  t  i  i  p  a  g  i  e

601  gaaagtggac gaatgtaaca tctgtcattg tcacaacggg gactggtgga agcctgctca
     v  k  v  d  e  c  n  i  c  h  c  h  n  g  d  w  w  k  p  a

661  gtgttcgaaa cgtgaatgcc aaggcaagca gactgtgtag gaca
     q  c  s  k  r  e  c  q  g  k  q  t  v
```

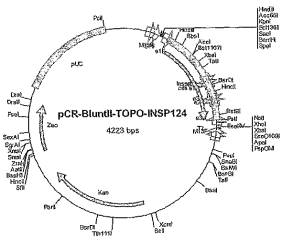
【図１９】

Figure 19

Map of pCR-BluntII-TOPO-INSP124

Molecule: pCR-BluntII-TOPO-INSP124, 4223 bps DNA Circular

Type	Start	End	Name	Description
MARKER	205		M13R	M13 Rev priming site
MARKER	239		SP6	SP6 priming site
MARKER	337		e1F	INSP124-e1F priming site
REGION	337	1040	Insert	INSP124 assembly PCR product
GENE	368	1033	cds	INSP124 cds
MARKER	739		e2F	INSP124-e2F priming site
MARKER	775	C	e1R	INSP124-e1R priming site
MARKER	870		e3F	INSP124-e3F priming site
MARKER	906	C	e2R	INSP124-e2R priming site
MARKER	1040	C	e3R	INSP124-e3R priming site
MARKER	1128	C	T7	T7 priming site
MARKER	1152	C	M13F	M13 For (-20) priming site
GENE	1941	2735	Kan	Kanamycin resistance ORF
GENE	2942	3316	Zeo	Zeocin resistance ORF
REGION	3428	4101	pUC	pCU origin



【図２０】

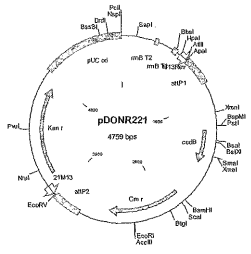
Figure 20

Map of pDONR 221

Molecule: pDONR221, 4759 bps DNA Circular
File Name: 13578[1].cm5

Description:

Type	Start	End	Name	Description
REGION	295	268 C	rrnB T2	transcription termination sequence
REGION	470	427 C	rrnB T1	transcription termination sequence
MARKER	536		M13Rev	M13 Forward primer. 536 to 553 bp.
REGION	570	801	attP1	
GENE	1197	1502	ccdB	
GENE	1844	2503	Cm r	Chloramphenicol resistance gene
REGION	2751	2982	attP2	
MARKER	3040	C	21M13	M13 Reverse primer. 3040 to 3023 bp.
GENE	3153	3962	Kan r	
REGION	4083	4756	pUC ori	



【図２１】

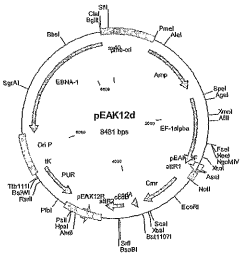
Figure 21

Map of Expression vector pEAK12d

Molecule: pEAK12d, 8481 bps DNA Circular
File Name: 11345[1].cm5

Description: Mammalian cell expression vector

Type	Start	End	Name	Description
REGION	2	595	pmb-ori	
GENE	596	1519	Amp	
GENE	1690	2796	EF-1alpha	
MARKER	2775		pEAK12F	20-mer Forward primer. 2775 to 2794
REGION	2851	2975	attR1	
GENE	3089	3747	Cmr	Chloramphenicol resistance gene
GENE	3867	3951	ccdA	
GENE	4089	4394	ccdB	
REGION	4440	4564	attR2	
REGION	4565	5002	'A	poly A/splice
MARKER	4661	C	pEAK12R	20-mer Reverse primer. Complement.
GENE	5621	5003 C	PUR	PUROMYCIN
REGION	5733	5622 C	tK	tK promoter
REGION	5734	6228	Ori P	
GENE	8281	6229 C	EBNA-1	
REGION	8283	8481	sv40	



【図２２】

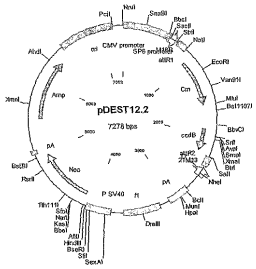
Figure 22

Map of Expression vector pDEST12.2

Molecule: pDEST12.2, 7278 bps DNA Circular
File Name: 11045[1].cm5

Description: Eukaryoric expression vector

Type	Start	End	Name	Description
REGION	15	608	CMV promoter	
MARKER	648		M13R	Forward primer. 648 to 665 bp.
REGION	687	706	SP6 promoter	
REGION	730	854	attR1	
GENE	963	1622	Cm	
GENE	1964	2269	ccdB	
REGION	2310	2434	attR2	
GENE	2484	2464 C	T7	T7 promoter
MARKER	2512	C	21M13	Reverse primer. 2512 to 2495 bp.
REGION	2784	3050	pA	SV40 polyadenylation signal
REGION	3176	3631	f1	f1 intergenic region
REGION	3791	4099	P SV40	SV40 ori & early promoter
GENE	4158	4952	Neo	
REGION	5016	5064	pA	synthetic poly adenylation signal
GENE	5475	6335	Amp	
REGION	6490	7153	ori	pUC ori



【図２３】

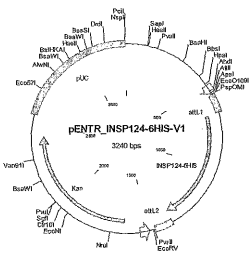
Figure 23

Map of pENTR_INSP124-6HIS

Molecule: pENTR_INSP124-6HIS-V1, 3240 bps DNA Circular
File Name: 14690[1].cm5

Description: Ligation of INSP124-6HIS into pdonr221

Type	Start	End	Name	Description
MARKER	536			21M13 Forward primer
REGION	568	670	attL1	
GENE	677	1360	INSP124-6HIS	INSP124 C-term 6HIS
REGION	1364	1465	attL2	
MARKER	1521	C		M13 Reverse primer
GENE	1634	2443	Kan	Kanamycin resistance gene
REGION	2564	3237	pUC	pUC origin



【図２４】

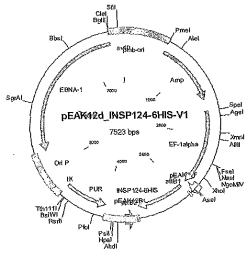
Figure 24

Map of pEAK12d_INSP124-6HIS

Molecule: pEAK12d_INSP124-6HIS-V1, 7523 bps DNA Circular
File Name: 14697[1].cm5

Description: Ligation of INSP124-6HIS into pEAK12d

Type	Start	End	Name	Description
REGION	2	595	pmb-ori	
GENE	596	1519	Amp	
GENE	1690	2796	EF-1alpha	
MARKER	2775		pEAK12F	20-mer Forward primer. 2775 to 2794
REGION	2856	2880	attB1	
GENE	2889	3572	INSP124-6HIS	
REGION	3577	3601	attB2	
REGION	3607	4044	'A	poly A/splice
MARKER	3703	C	pEAK12R	20-mer Reverse primer. Complement.
GENE	4663	4045 C	PUR	PUROMYCIN
REGION	4775	4664 C	tK	tK promoter
REGION	4776	5270	Ori P	
GENE	7323	5271 C	EBNA-1	
REGION	7325	7523	sv40	

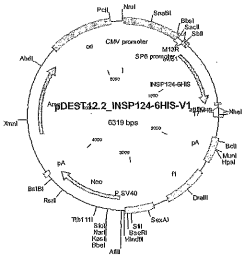


【図２５】

Figure 25

Map of pDEST12.2_ INSP124-6HIS

```
Molecule:       pDEST12.2_INSP124-6HIS-V1,  6319 bps DNA Circular
File Name:      14698[1].cm5

Description:    Ligation of INSP124-6HIS into pDEST12.2

Type      Start     End    Name          Description

REGION       15     608   CMV promoter
MARKER      648           M13R          Forward primer. 648 to 665 bp.
REGION      687     706   SP6 promoter
REGION      730     754   attB1
GENE        763    1446   INSP124-6HIS
REGION     1451    1475   attB2
GENE       1525    1505 C T7            T7 promoter
MARKER     1553         C M13           Reverse primer.
REGION     1825    2091   pA            SV40 polyadenylation signal
REGION     2217    2672   f1            f1 intergenic region
REGION     2832    3140   P SV40        SV40 ori & early promoter
GENE       3199    3993   Neo
REGION     4057    4105   pA            synthetic poly adenylation signal
GENE       4516    5376   Amp
REGION     5521    6194   ori           pUC ori
```



【図２６】

Figure 26

Nucleotide sequence of INSP125 prediction with translation of the coding sequence

```
   1  caacacactg tggacgatgg tgatggtatt gccagcggag tgggctttaa gctacagcat
                                        m  a  l  h  i  h  e  a  c  i
 421  cttctgttgg tcatccctgg attggtcacc tctgctgcta tcagtcatga agactatcct
       l  l  l  v  i  p  g  l  v  t  s  a  a  i  s  h  e  d  y  p
 481  gctgatgaag atggacctgt ttgcgaccaa ccagaatgcc ctaaaattca cccaaagtgt
       a  d  e  d  g  p  v  c  d  q  p  e  c  p  k  i  h  p  k  c
 541  actaaagtgg aacacaatgg atgctgtcct gagtgcaaag aagtaaaaaa cttctgtgaa
       t  k  v  e  h  n  g  c  c  p  e  c  k  e  v  k  n  f  c  e
 601  tatcacggga aaaattacaa aatcttggag gaatttaagc cctctccatg tgaatggtgt
       y  h  g  k  n  y  k  i  l  e  e  f  k  p  s  p  c  e  w  c
 661  cgctgtgagc ccagcaatga agttcactgt gttgtagcag actgcgcagt tcctgagtgt
       r  c  e  p  s  n  e  v  h  c  v  v  a  d  c  a  v  p  e  c
 721  gtcaacccag tctatgaacc agaacaatgt tgtcctgtct gcaaaaatgg tccaaactgc
       v  n  p  v  y  e  p  e  q  c  c  p  v  c  k  n  g  p  n  c
 781  tttgcaggaa cgacgataat tccagctggc attgaagtga aagtggacga atgtaacatc
       f  a  g  t  t  i  i  p  a  g  i  e  v  k  v  d  e  c  n  i
 841  tgtcattgtc acaacgggga ctggtggaag cctgctcagt gttcgaaacg tgaatgccaa
       c  h  c  h  n  g  d  w  w  k  p  a  q  c  s  k  r  e  c  q
 901  ggcaagcaga ctgtgtagga caaacttcca cccaatgatg agttcttagg aaaggatgct
       g  k  q  t  v
 961  atggcttcaa cactgcacat gtttaacaca aaacaaaaca aacaaactcc tgccagctac
1021  aacagggtca ccagcaaaac tttctagggt tgacaaaagt gaatattttc ctaagaggaa
1081  atttctttct ctcttgctat ataaaatata tatagtatat agctatctaa atcgcttttg
1141  tatttaccaa tgcttgatgg t
```

【図２７】

Figure 27

INSP125 coding exon organization in genomic DNA and position of PCR primers

```
Genomic DNA   2850 CTCTTGTATTCCCATGGAAGGAGCTGAGTATATTTAATATTAGGAGCACA   2899

                   INSP124-e1F
Genomic DNA   2900 TCCAGAAGTCTTTGAAGAGGGGATGGCTCTTCATATTCATGAAGCTTGC   2949
                                                  ||||||||||||||||||||||||||||
INSP125 cDNA                                      ATGGCTCTTCATATTCATGAAGCTTGC    417

Genomic DNA   2950 ATACTTCTGTTGGTCATCCCTGGATTGGTCACCTCTGCTGCTATCAGTCA   2999
                   ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
INSP125 cDNA   418 ATACTTCTGTTGGTCATCCCTGGATTGGTCACCTCTGCTGCTATCAGTCA    467

Genomic DNA   3000 TGAAGACTATCCTGCTGATGAAGgtgac.....tctagATGGACCTGTTT   3175
                   ||||||||||||||||||||||>>>>> 141 >>>>>||||||||||||||
INSP125 cDNA   468 TGAAGACTATCCTGCTGATGAAG..............ATGGACCTGTTT    502
                                  INSP125-e1R
                   INSP125-e2F
Genomic DNA   3176 GCGACCAACCAGAATGCCCTAAAATTCACCCAAAGTGTACTAAAGTGGAA   3225
                   ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
INSP125 cDNA   503 GCGACCAACCAGAATGCCCTAAAATTCACCCAAAGTGTACTAAAGTGGAA    552

Genomic DNA   3226 CACAATGGATGCTGTCCTGAGTGCAAAGAAGTAAAAAACTTCTGTGAATA   3275
                   ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
INSP125 cDNA   553 CACAATGGATGCTGTCCTGAGTGCAAAGAAGTAAAAAACTTCTGTGAATA    602

Genomic DNA   3276 TCACGGGAAAAATTACAAAATCTTGGAGGAATTTAAGgtatg.......c   3312
                   ||||||||||||||||||||||||||||||||||||>>>>> 22045 >
INSP125 cDNA   603 TCACGGGAAAAATTACAAAATCTTGGAGGAATTTAAG.............    639

Genomic DNA   3312 ctagCCCTCTCCATGTGAATGGTGTCGCTGTGAGCCCAGCAATGAAGTTC  25403
                   >>>>|||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
INSP125 cDNA   639 ....CCCTCTCCATGTGAATGGTGTCGCTGTGAGCCCAGCAATGAAGTTC    685

Genomic DNA  25404 ACTGTGTTGTAGCAGACTGCGCAGTTCCTGAGTGTGTCAACCCAGTCTAT  25453
                   ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
INSP125 cDNA   686 ACTGTGTTGTAGCAGACTGCGCAGTTCCTGAGTGTGTCAACCCAGTCTAT    735

Genomic DNA   25454 GAACCAGAACAATGTTGTCCTGTCTGCAAAAATGgtaag.....ttc  25487
                   ||||||||||||||||||||||||||||||||||||>>>>> 138913 >>>
INSP125 cDNA   736 GAACCAGAACAATGTTGTCCTGTCTGCAAAAATG.................    769

Genomic DNA   25487 agGTCCAAACTGCTTTGCAGGAACGACGATAATTCCAGCTGGCATTGAAG 164448
                   >>|||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
INSP125 cDNA   769 ..GTCCAAACTGCTTTGCAGGAACGACGATAATTCCAGCTGGCATTGAAG    817

Genomic DNA  164449 TGAAAGTGGACGAATGTAACATCTGTCATTGTCACAACGGGGACTGGTGG 164498
                   ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
INSP125 cDNA   818 TGAAAGTGGACGAATGTAACATCTGTCATTGTCACAACGGGGACTGGTGG    867

Genomic DNA  164499 AAGCCTGCTCAGTGTTCGAAACGTGAATGCCAAGGCAAGCAGACTGTGTA 164548
                   ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
INSP125 cDNA   868 AAGCCTGCTCAGTGTTCGAAACGTGAATGCCAAGGCAAGCAGACTGTG      917
                                                  INSP124-e3R
Genomic DNA  164549 GGACAAACTTCCACCCAATGATGAGTTCTTAGGAAAGGATGCTATGGCTT 164598

Position and sense of PCR primers ——→
```

【図２８】

Figure 28

Nucleotide sequence of cloned INSP125 product with translation of the ORF

```
   1  ggagcacatc cagaagtctt tgaagagggg gatggctctt catattcatg aagcttgcat
                                        m  a  l  h  i  h  e  a  c
  61  acttctgttg gtcatccctg gattggtcac ctctgctgct atcagtcatg aagactatcc
       i  l  l  l  v  i  p  g  l  v  t  s  a  a  i  s  h  e  d  y
 121  tgctgatgaa gatggacctg tttgcgacca accagaatgc cctaaaattc acccaaagtg
       p  a  d  e  d  g  p  v  c  d  q  p  e  c  p  k  i  h  p  k
 181  tactaaagtg gaacacaatg gatgctgtcc tgagtgcaaa gaagtaaaaa acttctgtga
       c  t  k  v  e  h  n  g  c  c  p  e  c  k  e  v  k  n  f  c
 241  atatcacggg aaaaattaca aaatcttgga ggaatttaag ccctctccat gtgaatggtg
       e  y  h  g  k  n  y  k  i  l  e  e  f  k  p  s  p  c  e  w
 301  tcgctgtgag cccagcaatg aagttcactg tgttgtagca gactgcgcag ttcctgagtg
       c  r  c  e  p  s  n  e  v  h  c  v  v  a  d  c  a  v  p  e
 361  tgtcaaccca gtctatgaac cagaacaatg ttgtcctgtc tgcaaaaatg gtccaaactg
       c  v  n  p  v  y  e  p  e  q  c  c  p  v  c  k  n  g  p  n
 421  ctttgcagga acgacgataa ttccagctgg cattgaagtg aaagtggacg aatgtaacat
       c  f  a  g  t  t  i  i  p  a  g  i  e  v  k  v  d  e  c  n
 481  ctgtcattgt cacaacgggg actggtggaa gcctgctcag tgttcgaaac gtgaatgcca
       i  c  h  c  h  n  g  d  w  w  k  p  a  q  c  s  k  r  e  c
 541  aggcaagcag actgtgtagg aca
       q  g  k  q  t  v
```

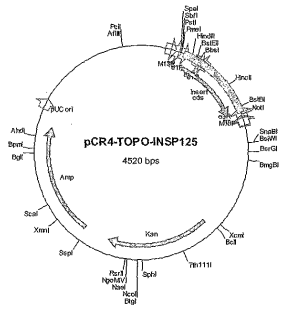
【図２９】

Figure 29

Map of pCR4-TOPO-INSP125

Molecule: pCR4-TOPO-INSP125, 4520 bps DNA Circular

Type	Start	End	Name	Description
MARKER	205		M13R	M13 rev priming site
MARKER	243		T3	T3 priming site
REGION	295	857	Insert	INSP125 assembly PCR product
MARKER	295		e1F	INSP124-e1F priming site
GENE	326	850	cds	INSP125 predicted cds
MARKER	408		e2F	INSP125-e2F priming site
MARKER	444	C	e1R	INSP125-e1R priming site
MARKER	857	C	e3R	INSP124-e3R priming site
MARKER	910	C	T7	T7 priming site
MARKER	918	C	M13F	M13 for priming site
GENE	1722	2516	Kan	Kanamycin resistance gene ORF
GENE	2720	3580	Amp	Ampicillin resistance gene ORF
MARKER	3725		pUC ori	pUC origin



【図３０】

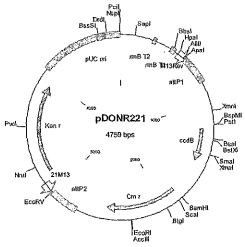
Figure 30

Map of pDONR 221

Molecule: pDONR221, 4759 bps DNA Circular
File Name: 13578[1].cm5

Description:

Type	Start	End	Name	Description
REGION	295	268 C	rrnB T2	transcription termination sequence
REGION	470	427 C	rrnB T1	transcription termination sequence
MARKER	536		M13Rev	M13 Forward primer. 536 to 553 bp.
REGION	570	801	attP1	
GENE	1197	1502	ccdB	
GENE	1844	2503	Cm r	Chloramphenicol resistance gene
REGION	2751	2982	attP2	
MARKER	3040	C	21M13	M13 Reverse primer. 3040 to 3023 bp.
GENE	3153	3962	Kan r	
REGION	4083	4756	pUC ori	



【図３１】

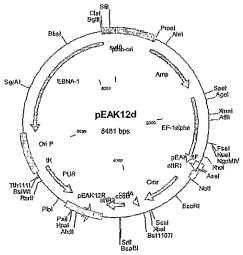
Figure 31

Map of Expression vector pEAK12d

Molecule: pEAK12d, 8481 bps DNA Circular
File Name: 11345[1].cm5

Description: Mammalian cell expression vector

Type	Start	End	Name	Description
REGION	2	595	pmb-ori	
GENE	596	1519	Amp	
GENE	1690	2796	EF-1alpha	
MARKER	2775		pEAK12F	20-mer Forward primer. 2775 to 2794
REGION	2851	2975	attR1	
GENE	3089	3747	Cmr	Chloramphenicol resistance gene
GENE	3867	3951	ccdA	
GENE	4089	4394	ccdB	
REGION	4440	4564	attR2	
REGION	4565	5002	'A	poly A/splice
MARKER	4661	C	pEAK12R	20-mer Reverse primer. Complement.
GENE	5621	5003 C	PUR	PUROMYCIN
REGION	5733	5622 C	tK	tK promoter
REGION	5734	6228	Ori P	
GENE	8281	6229 C	EBNA-1	
REGION	8283	8481	sv40	



【図３２】

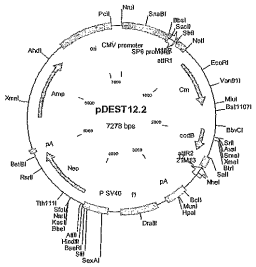
Figure 32

Map of Expression vector pDEST12.2

Molecule: pDEST12.2, 7278 bps DNA Circular
File Name: 11045[1].cm5

Description: Eukaryoric expression vector

Type	Start	End	Name	Description
REGION	15	608	CMV promoter	
MARKER	648		M13R	Forward primer. 648 to 665 bp.
REGION	687	706	SP6 promoter	
REGION	730	854	attR1	
GENE	963	1622	Cm	
GENE	1964	2269	ccdB	
REGION	2310	2434	attR2	
GENE	2484	2464 C	T7	T7 promoter
MARKER	2512	C	21M13	Reverse primer. 2512 to 2495 bp.
REGION	2784	3050	pA	SV40 polyadenylation signal
REGION	3176	3631	f1	f1 intergenic region
REGION	3791	4099	P SV40	SV40 ori & early promoter
GENE	4158	4952	Neo	
REGION	5016	5064	pA	synthetic poly adenylation signal
GENE	5475	6335	Amp	
REGION	6480	7153	ori	pUC ori



【図３３】

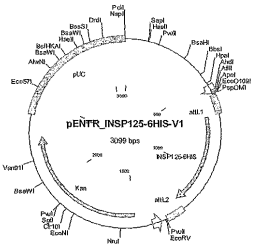
Figure 33

Map of pENTR_INSP125-6HIS

Molecule: pENTR_INSP125-6HIS-V1, 3099 bps DNA Circular
File Name: 14876[1].cm5, dated 23 Feb 2004

Description: Ligation of INSP125-6HIS into pdonr221

Type	Start	End	Name	Description
MARKER	536			21M13 Forward primer
REGION	568	670	attL1	
GENE	677	1219	INSP125-6HIS	
REGION	1223	1324	attL2	
MARKER	1380	C		M13 Reverse primer
GENE	1493	2302	Kan	Kanamycin resistance gene
REGION	2423	3096	pUC	pUC origin



【図３４】

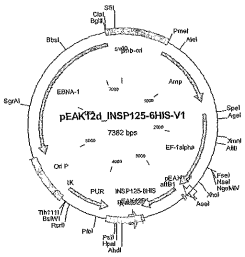
Figure 34

Map of pEAK12d_INSP125-6HIS

Molecule: pEAK12d_INSP125-6HIS-V1, 7382 bps DNA Circular
File Name: 14882[1].cm5

Description: Ligation of INSP125-6HIS into pEAK12d

Type	Start	End	Name	Description
REGION	2	595	pmb-ori	
GENE	596	1519	Amp	
GENE	1690	2796	EF-1alpha	
MARKER	2775		pEAK12F	20-mer Forward primer. 2775 to 2794
REGION	2856	2880	attB1	
GENE	2889	3431	INSP125-6HIS	
REGION	3436	3460	attB2	
REGION	3466	3903	'A	poly A/splice
MARKER	3562	C	pEAK12R	20-mer Reverse primer. Complement.
GENE	4522	3904 C	PUR	PUROMYCIN
REGION	4634	4523 C	tK	tK promoter
REGION	4635	5129	Ori P	
GENE	7182	5130 C	EBNA-1	
REGION	7184	7382	sv40	



【図３５】

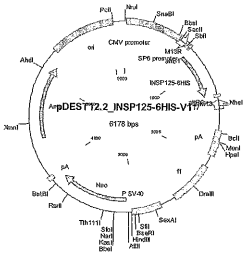
Figure 35

Map of pDEST12.2_ INSP125-6HIS

Molecule: pDEST12.2_INSP125-6HIS-V1, 6178 bps DNA Circular
File Name: 14886[2].cm5

Description: Ligation of INSP125-6HIS into pDEST12.2

Type	Start	End	Name	Description
REGION	15	608	CMV promoter	
MARKER	648		M13R	Forward primer. 648 to 665 bp.
REGION	687	706	SP6 promoter	
REGION	730	754	attB1	
GENE	763	1305	INSP125-6HIS	
REGION	1310	1334	attB2	
GENE	1384	1364 C	T7	T7 promoter
MARKER	1412	C	21M13	Reverse primer.
REGION	1684	1950	pA	SV40 polyadenylation signal
REGION	2076	2531	f1	f1 intergenic region
REGION	2691	2999	P SV40	SV40 ori & early promoter
GENE	3058	3852	Neo	
REGION	3916	3964	pA	synthetic poly adenylation signal
GENE	4375	5235	Amp	
REGION	5380	6053	ori	pUC ori



【図３５】

Figure 35

N-terminal sequencing results for INSP125-6HIS

Sequencing results

60% **AAISHEDYPA** INSP125 N-terminus (+ Ala from signal sequence)
40% **DEDGPV(C)DQP** N-terminus -10

INSP125-6HIS / Plasmid 14882

MALHIHEACI LLLVIPGLVT SAAISHEDYP ADEDGPVCDQ PECPKIHPKC
TKVEHNGCCP ECKEVKNFCE YHGKNYKILE EFKPSPCEWC RCEPSNEVHC
VVADCAVPEC VNPVYEPEQC CPVCKNGPNC FAGTTIIPAG IEVKVDECNI
CHCHNGDWWK PAQCSKRECQ GKQTVHHHHH H

Predicted Mature sequence for AS901179 (14882/F1/P1)

AISHEDYPAD EDGPVCDQPE CPKIHPKCTK VEHNGCCPEC KEVKNFCEYH
GKNYKILEEF KPSPCEWCRC EPSNEVHCVV ADCAVPECVN PVYEPEQCCP
VCKNGPNCFA GTTIIPAGIE VKVDECNICH CHNGDWWKPA QCSKRECQGK
QTVHHHHHH

【配列表】
2007536892000001.xml
【手続補正書】
【提出日】平成19年4月27日(2007.4.27)
【手続補正１】
【補正対象書類名】特許請求の範囲
【補正対象項目名】全文
【補正方法】変更
【補正の内容】
【特許請求の範囲】
【請求項１】
(i)NCBIが指定するデフォルトパラメーター[Blosum 62 マトリックス；ギャップオープンペナルティー＝11及びギャップ伸長ペナルティー＝１]を用いて、以下のプロファイルを検索プログラムBLASTにクエリー配列として入力した場合、10^{-2}以下のE-valueを有するポリペプチド配列を含むか；又は、

		A	R	N	D	C	Q	E	G	H	I	L	K	M	F	P	S	T	W	Y	V
1	M	-2	-2	-3	-4	-2	-1	-3	-4	-3	0	2	-2	8	0	-3	-2	-2	-2	-2	0
2	A	3	-1	-3	-3	-1	-1	-2	-2	-3	0	0	1	2	1	-2	-1	-1	-3	-1	1
3	L	1	-2	-2	-3	-2	-2	-2	-2	2	0	2	-2	0	-2	0	1	-1	-3	-2	2
4	H	-1	-1	1	-1	-3	-1	-1	3	6	-3	-1	-1	-2	-2	-2	2	-1	-3	-1	-3
5	I	0	-2	-3	-3	-2	0	0	-3	-3	3	2	-2	0	-1	-3	-2	-1	-3	-2	2
6	H	0	-2	-1	-2	-2	-1	-1	-3	7	0	0	-2	-1	-2	0	0	-1	-3	0	2
7	E	0	-2	-2	-1	-2	-1	2	-3	-1	0	1	-1	2	2	-3	0	-1	-2	2	0
8	A	2	-2	-1	-2	3	-2	-2	2	-2	-2	-2	-2	-2	-3	-2	3	1	-3	-3	-2
9	C	0	-3	-2	-3	7	-2	-3	-3	-3	0	-1	-2	3	3	-3	0	-1	-2	-1	0
10	I	-1	-2	-2	-2	-2	-2	0	0	-2	3	2	-2	0	0	-3	0	0	-2	3	0
11	L	-2	0	-3	-4	-2	-2	-3	-4	-3	0	4	-2	3	3	-4	-2	-2	-2	0	0
12	L	0	0	-3	-4	-2	-2	-3	-3	-3	0	3	-2	0	-1	1	-2	-1	-3	-2	1
13	L	-1	-2	-2	-2	-2	-2	0	-3	-3	0	3	-2	0	1	-3	1	1	-3	-1	1
14	V	0	0	-3	-3	4	0	-2	-3	-3	0	0	-2	2	-2	-3	-2	-1	-3	-2	4
15	I	-1	0	-2	-3	4	-2	-2	-3	2	2	1	-2	0	-1	-3	0	0	4	-1	0
16	P	0	0	-2	-2	-2	-2	-2	-3	4	-1	0	-2	-1	2	3	0	-1	-2	0	0
17	G	0	-3	-2	-3	-2	-2	-3	2	-3	1	0	-3	3	3	-3	-1	-2	-2	0	1
18	L	1	-3	-3	-4	-1	-2	-3	-3	-3	0	4	-2	0	-1	-3	-2	-1	-3	-2	2
19	V	2	-1	-1	-2	-2	3	-1	-2	-2	0	-1	-1	-1	-3	-2	1	1	-3	-2	2
20	T	-1	-2	-2	-3	4	-2	-2	-3	-3	0	3	-2	0	-2	-3	1	3	-3	-2	0
21	S	0	-2	-1	-2	4	-2	-2	1	-3	-1	1	-2	2	-2	0	2	-1	-3	-3	-1
22	A	3	-2	-2	-2	-1	-2	-2	-1	-2	-1	0	-2	-1	1	2	2	-1	-3	-2	0
23	A	2	-2	-3	-2	5	0	0	-2	-3	-1	0	-2	-1	-3	2	-1	-1	-3	-2	1
24	I	1	1	-2	-2	-2	-1	-2	-2	-2	2	0	-1	-1	-1	-2	2	-1	-3	1	1
25	S	-1	-1	2	-1	-2	1	-1	-2	4	2	-1	-1	-1	-2	-2	3	-1	-4	-1	-1
26	H	0	-2	3	-1	-3	-1	-1	-2	5	-2	-2	-1	-2	0	3	0	-1	-3	-1	0
27	E	-1	-1	0	1	-3	0	5	-2	-1	-3	-3	0	-2	-3	-1	1	2	-3	-2	-2
28	D	1	-2	0	4	-2	-1	0	-1	-2	-2	0	-1	-1	-2	-1	2	0	-4	-3	-2
29	Y	-2	-1	-2	-2	-3	2	-1	-3	0	0	-1	-1	-1	0	3	-1	-2	0	5	0
30	P	0	-1	-1	-1	-2	-1	-1	0	5	-3	-3	-1	-2	-3	4	0	0	-3	-1	-2
31	A	3	-2	-2	-2	-1	-1	-2	-1	-3	0	2	-1	0	-2	0	0	0	-3	-2	0
32	D	-2	-1	0	5	-3	0	2	-2	-1	-2	-3	2	-2	-3	-1	0	-1	-4	-3	0
33	E	0	-1	-2	0	-2	0	3	-3	-1	0	0	-1	0	3	-2	-1	-1	-2	0	0
34	G	1	-2	0	-1	-2	-1	-2	4	-2	-2	-2	-2	0	-2	-2	1	1	-2	-3	0

35	D	0	2	0	2	-2	0	0	-2	-1	-2	0	0	-1	-3	2	-1	-1	-3	-2	-2
36	Q	0	3	0	-1	-2	3	0	-2	-1	-2	-2	0	-1	-3	-1	1	3	-3	-2	-2
37	I	0	-2	-3	-2	-1	-2	-2	-2	-3	1	0	-2	0	-2	4	-1	-1	-3	-2	2
38	S	-1	-1	0	1	-2	0	2	-2	-1	2	-1	1	-1	-2	-2	2	-1	-3	-2	0
39	S	3	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-2	-1	0	-1	-1	-2	2	3	0	-3	-2	-1
40	N	0	-2	2	-1	-3	-1	1	3	-1	0	0	-1	-1	-3	1	-1	-1	-3	-2	0
41	D	1	-2	-1	3	-2	0	2	-2	-2	-1	0	-1	-1	0	-2	0	-1	-3	-2	-1
42	N	-1	-1	2	1	-3	0	3	0	-1	-2	0	0	-1	-2	-2	1	-1	-3	-2	-2
43	L	1	-3	-3	-3	4	-2	-3	-3	-1	0	1	-3	0	3	-3	-2	-2	0	5	0
44	I	1	-1	-1	0	-2	0	2	-2	-2	1	-1	1	-1	-2	-2	2	-1	-4	-2	0
45	F	-2	-3	-2	1	-2	-2	-2	-3	-1	2	0	-3	0	4	-3	-2	-2	-1	4	1
46	D	1	-2	-1	2	-2	-1	0	0	-2	-3	-3	-1	-2	-3	4	1	-1	-4	-3	-2
47	D	0	-2	0	5	-3	-1	0	1	-2	-3	-4	-1	-3	-3	2	1	-1	-4	-3	-3
48	Y	-2	3	-1	-2	-3	2	-1	-3	0	-2	-2	0	-1	0	-3	-2	-2	0	6	-2
49	R	-2	4	0	-2	-4	2	0	-2	5	-4	-3	0	-2	-3	2	-1	-2	-3	-1	-3
50	G	-1	-2	0	2	-3	-1	1	4	-2	-2	-3	-1	-2	-3	-2	1	-1	-3	-3	0
51	K	-1	2	1	-1	-3	0	0	1	-1	-3	-3	4	-2	-3	-2	1	-1	-3	-3	-3
52	G	-1	-2	-1	2	4	-2	-1	3	-2	-2	-3	-2	-2	0	-2	0	2	-2	-2	-2
53	C	-1	-4	-4	-4	10	-4	-4	-4	-3	-1	-1	-4	-1	2	-4	-2	-2	-2	-1	-1
54	V	-1	-2	-1	0	-2	-1	1	-2	-2	0	0	-1	3	-2	-2	1	0	-3	-2	3
55	D	0	-2	0	6	-3	0	1	-1	-1	-3	-4	-1	-3	-3	-1	0	-1	-4	-3	-3
56	D	-2	-1	3	4	-4	0	2	2	-1	-4	-4	-1	-3	-4	-2	0	-1	-4	-3	-3
57	S	0	-1	2	2	-3	1	0	2	-1	-3	-3	-1	-2	-3	-2	3	0	-3	-3	-3
58	G	0	1	0	-1	-3	-1	-2	5	-2	-4	-4	-1	-3	-3	-2	1	-2	-3	-3	-3
59	F	-1	-4	-4	-4	-2	-3	-3	-4	-2	3	0	-3	0	5	-4	-2	-1	-1	0	3
60	V	-1	-3	-3	-2	-2	-1	1	-3	-1	0	0	-2	0	3	-3	-2	-1	-1	4	3
61	Y	-2	-2	-2	-3	-2	-2	-2	-3	0	-1	-1	-2	-1	4	-3	0	-2	0	7	-2
62	K	1	-1	-2	-2	-2	-1	-1	0	-3	0	-1	1	-1	-2	2	-1	-1	-4	-2	3
63	L	-1	-3	-2	-3	-2	-3	-3	4	-3	4	1	-3	0	-1	-3	-1	-2	-3	-2	0
64	G	-1	-1	0	0	-4	0	3	5	-1	-4	-4	-1	-3	-4	-2	0	-2	-3	-3	-3
65	E	-2	-1	-1	0	-3	3	3	-3	-1	-2	-1	0	3	-1	-2	-1	-2	7	-1	-2
66	R	-2	2	-2	-3	-2	0	-1	-3	0	1	-1	1	-1	3	-3	-2	-2	-1	4	0
67	F	-2	-3	-3	-3	-2	-3	-3	-3	-1	-1	-1	-3	-1	6	-4	-2	1	6	3	-1
68	F	0	1	-2	-3	-2	-1	-2	-2	-1	-1	1	-1	0	2	-3	0	0	-1	2	-1
69	P	-2	-2	-1	2	-4	0	2	-2	-2	-4	-4	-1	-3	-4	6	-1	-1	-4	-3	-3
70	G	0	-2	0	-1	-2	-1	-1	5	-2	-4	-4	-1	-2	-3	-2	3	-1	-3	-3	-3
71	H	-2	-2	0	5	-3	-1	0	-2	4	-3	-4	-1	-3	-3	3	0	-1	-4	-2	-3
72	S	-1	-1	0	-1	-2	-1	-1	-2	5	-3	-3	-1	-2	-3	4	3	1	-3	-1	-2
73	N	2	-2	2	-2	8	-2	-2	-2	-2	-2	-2	-2	-2	-3	-3	0	0	-3	-2	-1
74	C	-1	-2	-1	-1	8	-1	3	-3	-2	-2	-2	-1	-2	-3	-2	0	2	-3	-2	-1
75	P	-1	2	-2	-2	-3	3	0	-3	-2	-2	0	0	-1	-3	5	-1	-1	-3	-2	-2
76	C	0	-4	-4	-4	10	-4	-5	-4	-4	-1	-1	-4	-1	-2	-4	-1	-1	-2	-2	-1
77	V	-1	-2	-2	-1	-2	-1	2	-3	-2	0	2	-1	0	-1	-2	-1	0	-3	-2	3
78	C	0	-4	-4	-4	10	-4	-5	-4	-4	-1	-1	-4	-1	-2	-4	-1	-1	-2	-2	-1
79	A	2	-1	-1	-1	-1	1	-1	-2	-2	-2	-2	-1	-1	-3	-1	0	4	-3	-2	-1
80	L	1	-1	-1	0	-2	0	2	-2	-2	-1	0	-1	-1	-2	-2	1	1	-3	-2	-1
81	D	-2	-2	0	5	-4	0	4	-2	-1	-3	-4	-1	-3	-3	-2	0	1	-4	-3	-3
82	G	0	-3	0	-2	-4	-3	-3	7	-3	-5	-5	-3	-4	-4	-3	0	-3	-3	-4	-4
83	P	-1	-2	-2	-1	-3	-1	-1	-2	-2	-3	-3	-1	-2	-4	7	1	-1	-4	-3	-3
84	V	0	-2	-2	-3	-2	1	-1	-3	-3	1	1	-2	0	-2	-2	0	-1	-3	-2	4

85	C	0	-3	-3	-3	10	-3	-4	-3	-3	-2	-2	-3	-2	-3	-3	0	-1	-3	-3	-2
86	D	1	-2	-1	3	4	-1	-1	-2	-2	-1	-2	-2	0	0	-2	1	0	-3	-2	0
87	Q	-1	3	-1	-2	-3	4	0	-3	-1	-2	-2	2	-1	-3	-2	-1	-1	-3	-2	0
88	P	-1	-2	-1	-2	-2	-2	-2	-3	-3	-2	-2	-2	-2	-4	6	0	4	-4	-3	-1
89	E	-2	2	0	2	-4	0	5	-2	-1	-4	-3	1	-2	-4	-2	-1	-2	-4	-3	-3
90	C	0	-4	-4	-4	10	-4	-5	-4	-4	-2	-2	-4	-2	-3	-4	-2	-2	-3	-3	-2
91	P	-1	-2	-2	-2	-3	-2	-2	-3	-3	-1	-2	-2	-2	-3	6	-1	2	-4	-3	0
92	K	0	3	0	0	-3	0	3	-2	-1	-3	-3	3	-2	-3	-2	0	-1	-3	-2	-2
93	I	-1	-3	-3	-4	-1	-2	-3	-4	-3	3	3	-2	0	-1	-3	-2	1	-3	-2	1
94	H	-1	-1	0	-1	4	-1	-1	-2	7	-3	-3	-1	-2	-2	2	1	-1	-3	0	-3
95	P	0	-2	-2	-1	-3	-1	1	-2	-2	-3	-3	-1	-2	-4	7	-1	-1	-4	-3	-2
96	K	1	3	-1	-2	-2	0	0	-2	0	-2	-2	2	-1	-1	-2	1	-1	-2	2	-2
97	C	0	-3	-3	-3	10	-3	-4	-3	-3	-2	-2	-3	-2	-3	2	-1	-1	-3	-3	-2
98	T	-1	-3	-2	-3	-1	-2	-3	-4	-3	4	0	-3	1	-1	-3	-1	3	-3	-2	2
99	K	-2	1	0	-1	-4	0	2	-2	7	-3	-3	2	-2	-2	-2	-1	-2	-3	0	-3
100	V	-1	-3	-3	-3	-1	-3	-3	-4	-3	3	0	-3	0	-1	-3	-2	-1	-3	-1	5
101	E	1	-1	0	3	-2	0	2	-1	-1	-3	-3	1	-2	-3	-1	2	0	-4	-3	-2
102	H	-2	2	1	-1	-3	0	-1	-2	7	-3	-2	0	-2	-1	-2	-1	1	-2	3	-2
103	N	-1	0	3	-1	-2	0	0	-1	4	-2	-2	1	-2	0	-2	1	0	-1	4	-2
104	G	-1	-1	0	2	-3	4	2	2	-1	-4	-3	0	-2	-3	-2	0	-1	-3	-2	-3
105	C	0	-3	-3	-3	10	-3	-5	-3	-3	-1	-1	-3	-1	-2	-3	-1	-1	-2	-2	-1
106	C	0	-3	-3	-3	10	-3	-5	-3	-3	-1	-1	-3	-1	-2	-3	-1	-1	-2	-2	-1
107	P	-1	-3	-3	-2	-3	-2	-2	-3	-3	-1	-2	-2	-2	-4	7	-2	-1	-4	-3	0
108	E	-1	2	0	2	-3	4	2	-2	-1	-2	-1	0	-1	-3	-2	-1	-1	-3	-2	0
109	C	0	-3	-3	-3	10	-3	-5	-3	-3	-1	-1	-3	-1	-2	-3	-1	-1	-2	-2	-1
110	K	-1	0	0	0	-3	0	3	-2	-1	-1	-2	3	-1	-3	-2	1	-1	-3	-2	1
111	E	2	2	-1	0	-3	0	4	-2	-1	-3	-2	2	-2	-3	-2	0	-1	-3	-2	-2
112	V	-1	1	-1	-1	-3	-1	1	1	-2	1	-1	1	-1	-2	-2	-1	-1	-3	-2	2
113	K	0	0	0	-1	-3	0	0	4	-2	-4	-3	4	-2	-3	-2	1	-1	-3	-3	-3
114	N	-2	0	6	0	-3	0	0	0	0	-3	-3	2	-2	-3	-2	0	0	-4	-2	-3
115	F	-1	-3	-3	-3	-2	-2	-2	-3	0	0	0	-2	0	4	-3	-2	-1	0	6	1
116	C	0	-3	-3	-3	10	-3	-5	-3	-3	-1	-1	-3	-1	-2	-3	-1	-1	-2	-2	-1
117	E	-1	-1	0	3	-3	0	4	-2	-1	-2	0	0	-2	-3	-2	0	1	-3	-3	-2
118	Y	-2	-2	-2	-2	-3	-1	1	-3	0	-1	-1	-2	-1	5	-3	-2	-2	0	6	-2
119	H	-2	5	2	-2	-3	0	-1	-2	4	-2	-1	0	3	-2	-2	-1	-1	-3	-1	-2
120	G	-1	-2	2	-1	-3	-2	-2	6	-2	-4	-4	-2	-3	-3	-2	0	-2	-3	-3	-3
121	K	-1	4	-1	-2	-3	0	0	-3	-1	-1	-2	5	-1	-3	-2	-1	-1	-3	-2	0
122	N	-1	-2	2	-2	-2	-2	-2	-2	-2	2	0	-2	0	-2	-2	0	4	-3	-2	1
123	Y	-2	-3	-3	-3	-2	-2	-3	-3	0	-1	-1	-3	-1	4	-4	-2	-2	1	8	-1
124	K	0	1	0	-1	-3	2	2	-2	4	-3	-2	2	-1	-1	-2	-1	-2	-2	3	-2
125	I	-1	-2	2	-2	-2	-2	-2	-2	-2	2	1	-2	0	-1	-2	0	1	-3	-2	2
126	L	-1	-2	2	-2	-2	-2	-2	3	-2	0	3	-2	0	-1	-3	-1	-1	-3	-2	-1
127	E	-1	0	0	1	-4	3	6	-2	0	-3	-3	0	-2	-3	-1	0	-1	-3	-2	-2
128	E	-1	-1	2	0	-3	0	4	-2	0	-3	-3	0	-2	-1	-2	0	1	-2	3	-2
129	F	-2	-3	-3	-3	-2	-3	-3	-3	-1	0	0	-3	0	7	-5	-2	-2	0	2	-1
130	K	-1	1	2	-1	-3	2	0	-2	-1	-1	0	2	1	-2	-2	-1	-1	-3	-2	0
131	P	-1	-3	-3	-3	-2	-2	-2	-3	-3	1	2	-2	0	-2	3	-2	0	-3	-2	3
132	S	0	0	1	2	2	-1	0	-1	-1	-3	-3	-1	-2	-3	1	4	1	-4	-3	-2
133	P	-1	-2	-2	-1	-3	-1	1	-3	-2	-2	-3	-1	-2	-4	7	-1	-1	-4	-3	0
134	C	0	-3	-3	-3	10	-3	-4	-3	-3	-1	-1	-3	-1	-2	-3	-1	0	-2	-2	-1

135	E	-1	1	-1	0	-3	0	5	-3	-1	-1	1	0	-1	-2	-2	-1	-1	-3	-2	-1
136	W	-1	2	-1	-2	-3	2	0	-2	3	-2	0	1	-1	-2	-2	1	-1	4	-1	-2
137	C	0	0	-3	-3	10	-3	-4	-3	-3	0	-1	-3	-1	-2	-3	-1	0	-3	-2	-1
138	R	-1	4	-1	-2	-2	0	-1	-3	-1	2	-1	2	-1	-1	-2	-1	1	-2	1	0
139	C	0	-4	-4	-4	10	-4	-5	-4	-4	-1	-1	-4	-1	-2	-4	-1	-1	-2	-2	-1
140	E	-1	-1	0	2	-3	0	5	-3	-1	-2	0	0	-1	-3	-2	0	1	-3	-2	-2
141	P	1	-2	1	-2	-2	-1	-1	-2	-2	0	0	-1	-1	-2	2	1	1	-3	-2	0
142	S	-1	-1	4	2	-3	1	0	2	-1	-3	-3	-1	-2	-3	-2	2	-1	-4	-3	-3
143	N	-1	1	2	-1	-3	-1	-1	4	-1	-4	-4	1	-2	-3	-2	1	-1	-3	-3	-3
144	E	-1	0	-1	0	-3	0	4	-3	-1	1	-1	0	-1	-2	-2	-1	1	-3	-2	1
145	V	3	-2	-3	-3	-1	-2	-2	-2	-3	0	0	-2	0	-2	-2	-1	-1	-3	-2	3
146	H	-2	1	-2	-3	-2	-1	-2	-3	3	0	2	-1	0	2	-3	-2	-2	-1	4	-1
147	C	-1	0	-3	-3	10	-3	-3	-3	-3	-2	-2	-2	-2	-3	1	-1	-1	-3	-3	-2
148	V	0	-2	-1	-2	-1	-1	-2	-2	-3	0	1	-1	0	-2	-2	2	3	-3	-2	2
149	V	-1	-3	-3	-3	1	-2	-2	-3	-3	2	0	-2	0	-2	2	-2	-1	-4	-2	5
150	A	3	-2	-2	-2	2	-1	-1	-1	-2	0	-1	-1	-1	-2	-2	2	0	-3	-2	2
151	D	1	-2	0	5	-2	1	0	0	-2	-3	-3	-1	-2	-3	-2	1	-1	-4	-3	-2
152	C	-1	-3	-3	-3	10	-3	-4	0	-3	-2	-2	-3	-1	1	-4	-1	-2	-2	-1	-2
153	A	2	-2	-2	-2	-2	-1	0	-2	-2	-1	0	-1	-1	1	4	-1	-1	-3	-1	-1
154	V	2	-1	-2	-1	-2	4	1	-2	-2	-1	-2	0	-1	-3	3	-1	-1	-3	-2	0
155	P	-1	-2	-1	1	-2	-2	-1	-2	-2	1	0	-2	-1	-2	4	0	2	-4	-3	0
156	E	-2	1	-1	0	-4	0	3	-3	2	-3	-3	1	-2	2	3	-1	-2	-3	-1	-3
157	C	-1	-3	-3	-3	9	1	-3	-3	-3	-2	-1	-3	-1	-2	-3	-2	-2	5	-2	-2
158	V	-1	0	-2	-3	-2	0	-2	-3	-3	2	0	-2	0	1	-2	-2	1	-2	-1	4
159	N	-2	1	4	4	-3	0	0	-1	0	-3	-3	-1	-2	-1	-2	0	-1	3	3	-3
160	P	-1	-2	-2	-1	-3	-1	-1	-2	-2	-1	-3	1	-2	-4	7	0	-1	-4	-3	-2
161	V	-1	-3	-3	-3	-2	0	0	-4	-3	4	0	-2	0	2	-3	-2	-1	-2	0	3
162	Y	-2	1	-1	-3	-3	-1	-1	-3	4	-2	0	-1	-1	0	-3	0	-2	0	6	-2
163	E	-1	-1	-1	0	-3	3	4	-3	-1	-2	-1	0	-1	-3	3	0	0	-3	-2	-2
164	P	-1	-1	-2	-1	-3	0	1	-3	-1	-2	-1	0	-2	-2	5	-1	-1	-2	2	-2
165	E	-1	-2	1	2	-3	-1	1	3	-1	-3	-3	-1	-3	-1	-2	0	-1	-2	2	-3
166	Q	-2	0	-1	-1	-3	4	2	-3	3	-3	0	2	-1	-2	-2	-1	-2	5	0	-2
167	C	0	-3	-3	-4	9	-3	-4	-4	-3	0	0	-3	-1	-2	-3	-2	-1	-2	-2	0
168	C	0	-3	-3	-3	9	-3	-3	-3	-3	0	-1	-3	-1	-2	-3	0	-1	-3	-2	1
169	P	0	-2	-3	-2	-3	-1	-2	-2	-3	-2	0	-1	-1	-3	7	-1	-1	-4	-3	-1
170	V	-1	-2	-2	-2	-2	-1	1	-3	-2	3	0	1	0	-2	-2	-2	-1	-3	-2	4
171	C	-1	-2	-3	-3	9	-2	-3	-3	-3	-1	0	1	-1	-2	-3	-1	-1	-3	-2	-1
172	K	-1	1	0	-1	-3	0	0	-2	-1	-3	-2	6	-1	-3	-1	0	-1	-3	-2	-2
173	N	2	-1	3	2	-2	-1	0	2	-1	-3	-3	-1	-2	-3	-2	1	-1	-4	-3	-2
174	G	0	-1	0	-1	-3	-2	-2	5	-2	-4	-3	0	-3	-3	-2	0	-2	-2	-3	-3
175	P	-1	-2	1	-1	-3	-1	0	-2	-2	-3	-3	-1	-2	-4	6	-1	-1	-4	-3	-2
176	N	-1	-1	5	0	-3	-1	-1	-1	0	-3	-3	-1	-2	-2	-2	1	0	6	-1	-3
177	C	-1	-2	-2	-2	8	-2	-2	-3	3	-2	-2	-2	-2	-2	1	-1	0	-3	-1	-2
178	F	-2	-2	-1	-2	-3	-2	-2	1	4	-2	-2	0	-1	4	0	-1	-2	0	3	-2
179	A	2	-2	-2	-3	-1	-2	-2	2	-3	0	1	-2	0	0	-2	-1	-1	-3	-1	1
180	G	0	-1	0	0	-2	-1	1	3	-2	-2	0	-1	-1	-2	1	1	1	-3	-2	-1
181	T	0	-2	-1	-1	-1	-1	-1	-2	-2	1	-1	-1	-1	-2	1	0	5	-3	-2	0
182	T	1	-1	0	-1	-1	2	0	-1	-2	-1	0	-1	0	-2	-1	1	3	-3	-2	-1
183	I	1	-3	-2	-3	-1	-2	-2	-2	-3	3	0	-2	0	-1	-2	0	0	-3	-1	3
184	I	-1	-3	-3	-3	-2	-3	-3	1	-3	5	0	-3	0	2	-3	-2	-1	-2	0	1

185	P	-1	-2	-2	-1	-3	0	1	-2	-2	-2	0	-1	-1	-3	6	-1	-1	-4	-3	-2
186	A	4	1	-2	-2	0	-1	-1	0	-2	-1	-1	0	-1	-2	-1	0	0	-3	-2	0
187	G	0	-2	0	-1	-3	-2	-2	6	-2	-2	-3	-2	-2	-3	-2	0	-2	-2	-3	0
188	I	-1	2	-1	0	-3	0	3	-3	-1	2	-1	0	-1	-2	1	-1	-1	-3	-2	0
189	E	-1	-1	-1	0	-3	0	4	-2	-1	0	-2	0	-1	-3	3	-1	-1	-3	-2	-1
190	V	0	0	-1	1	-2	-1	-1	-2	-2	0	0	-1	0	-2	-2	-1	2	-3	-2	3
191	K	-1	0	-1	-1	-3	0	1	-2	-1	-2	-2	4	-1	-2	-2	-1	-1	7	-1	0
192	V	0	-1	-1	-2	-2	1	0	-3	-2	0	0	1	0	-2	-2	-1	2	-3	-1	3
193	D	-2	-2	0	6	-3	0	1	-1	-1	-3	-4	-1	-3	-3	-1	0	1	-4	-3	-3
194	E	1	-1	-1	1	-2	0	4	-2	-1	-1	-2	0	-1	-2	-1	0	-1	-3	-2	1
195	C	0	-3	-3	-3	10	-3	-4	-3	-3	-1	-1	-3	-1	-2	-3	-1	-1	-2	-2	-1
196	N	-1	-1	3	-1	-2	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	2	-2	0	4	-2	0	-1
197	I	-1	-1	-2	-3	5	-2	-2	-3	-3	4	0	1	0	-1	-3	-1	-1	-3	-1	1
198	C	0	-3	-2	-3	9	-3	-3	-3	-3	-1	-1	-3	-1	-2	-3	-1	1	-2	-2	-1
199	H	-2	2	0	-2	-3	0	0	-2	7	-3	-2	0	-2	0	-2	-1	-2	-1	3	-3
200	C	0	-3	-3	-3	10	-3	-4	-3	-3	-1	-1	-3	-1	-2	-3	-1	-1	-2	-2	-1
201	H	-1	0	0	-1	-2	0	0	-2	7	-2	-2	-1	-2	-1	-2	0	3	-2	0	-2
202	N	-2	-1	4	3	-3	0	0	-1	0	-2	-2	-1	-2	0	-2	0	-1	-1	4	-2
203	G	0	-1	0	0	-3	0	3	5	-1	-4	-4	-1	-3	-3	-2	0	-2	-2	-3	-3
204	D	-1	0	0	4	-3	3	3	-2	0	-3	-3	0	-2	-3	-1	0	-1	-3	-2	-2
205	W	-1	-2	0	3	-3	-1	0	3	-2	-3	-3	-2	-2	-1	-2	-1	-2	8	0	-3
206	W	-2	-3	-2	-3	-2	-2	-3	3	-2	-3	-3	-3	-1	0	-3	-2	-2	11	0	-3
207	K	-1	3	0	-2	-3	0	0	-2	0	-2	-2	3	-1	0	-2	-1	-1	-1	4	-2
208	P	-1	-1	-1	-1	-2	3	0	-3	-1	-1	1	0	0	-2	4	-1	-1	-3	-2	-1
209	A	5	-1	-2	-2	0	-1	-1	0	-2	-1	-1	-1	-1	-2	-1	0	0	-3	-2	0
210	Q	-1	0	-1	-1	-2	3	0	-2	-1	-1	0	0	4	-1	-1	0	2	-2	-1	0
211	C	0	-3	-3	-3	10	-3	-4	-3	-3	-1	-1	-3	-1	-2	-3	-1	-1	-2	-2	-1
212	S	0	-1	0	0	-1	0	0	-1	-1	-2	-2	0	-1	-2	-1	4	3	-3	-2	-1
213	K	-1	5	0	-2	-3	0	0	-2	0	-3	-2	4	-1	-3	-2	-1	-1	-3	-2	-3
214	R	-1	3	0	-2	-2	0	-1	-3	6	-1	1	0	0	-1	-2	-1	-1	-2	0	-1
215	E	-1	0	0	1	-4	1	5	-2	0	-3	-3	3	-2	-3	-1	0	-1	-3	-2	-2
216	C	0	-2	3	-1	9	-2	-2	-2	-1	-1	-1	-2	-1	-2	-3	0	-1	-3	-2	-1
217	Q	-1	2	-1	-1	6	3	0	-2	-1	-2	-2	1	-1	-3	-2	0	-1	-2	-2	-2
218	G	-1	0	3	0	-3	3	0	3	0	-3	-3	0	-1	-3	-2	0	-1	-3	-2	-3
219	K	-1	0	0	-2	-2	0	0	-2	5	0	0	3	3	-1	-2	-1	-1	-2	0	0
220	Q	-1	0	0	0	-3	4	4	-2	0	-3	-2	0	-1	-3	-1	0	-1	-2	-1	-2
221	T	0	-1	0	-1	-2	-1	-1	4	-2	-2	-2	-1	-2	-2	-1	0	4	-2	-2	-1
222	V	0	-2	-2	-3	-1	-1	-2	-3	-2	2	1	-1	4	0	-2	-1	0	-2	-1	3

(ii)vWFCドメイン含有タンパク質ファミリーのメンバーであるか又は(i)のポリペプチドと共通の抗原決定基を有する、(i)のフラグメントである；

単離されたvWFCドメイン含有ポリペプチド。

【請求項２】

以下のコンセンサスアミノ酸配列

[GTDFC](0,1)-[CF](0,1)-[VMSED](0,1)-[DEA](0,1)-[DENG](0,1)-[SQNDG](0,1)-[SGR](0,1)-[FIV](0,1)-[VYFE](0,1)-[YFS](0,1)-[KVAGP](0,1)-[LIG](0,1)-[GE](0,1)-[EWQM](0,1)-[RKYFQVI](0,1)-[FYWT](0,1)-[FALYRTS](0,1)-[PED](0,1)-[GS](0,1)-[HPDS](0,1)-[STHP](0,1)-[CNAT](0,1)-[CTE](0,1)-[PQRL](0,1)-C(0,1)-[VELT](0,1)-C(0,1)-[TAQ](0,1)-[ELATSD](0,1)-[EDT]-G-[PS]-[VLAQS]-[CS]-[DAMSTFCV]-[QRKV]-R(0,1)-[PT]-[ERDK]-C-[PTV]-[KERSA]-[LIVT]-[HPSC]-[PAE]-[KRASY]-[CP]-[TIVM]-[HKRE]-[VI]-[DESAKP]-[HTNRYG]-[NSTYHK](0,1)-[PA](0,1)-[TG](0,1)-[QGDES]-C-C-[PV]-[EQRDLV]-C

を満足するポリペプチドを含むか又は前記ポリペプチドからなる、請求項１記載のポリペプチド。
【請求項３】
以下の(i)～(iv)のいずれかである、請求項１又は２記載のポリペプチド：
(i)配列番号２、配列番号４、配列番号39、配列番号41、配列番号43及び／又は配列番号45で示されるアミノ酸配列を含むか又は前記アミノ酸配列からなる、ポリペプチド；
(ii)配列番号６、配列番号８、配列番号10、配列番号12、配列番号14、配列番号16、配列番号47、配列番号49、配列番号51及び／又は配列番号53で示されるアミノ酸配列を含むか又は前記アミノ酸配列からなる、ポリペプチド；
(iii)配列番号18、配列番号20、配列番号22、配列番号24、配列番号26、配列番号28、配列番号30、配列番号55、配列番号57、配列番号59及び／又は配列番号61で示されるアミノ酸配列を含むか又は前記アミノ酸配列からなる、ポリペプチド；
(iv)vWFCドメイン含有タンパク質ファミリーのメンバーであって、(i)～(iii)のいずれかで示されるアミノ酸配列に由来する７以上のアミノ酸残基からなるか、又は(i)～(iii)のいずれかのポリペプチドと共通の抗原決定基を有する、(i)～(iii)のいずれかのフラグメント。
【請求項４】
請求項１～３のいずれか１項に記載のポリペプチドをコードしている、精製核酸分子。
【請求項５】
配列番号１、配列番号３、配列番号５、配列番号７、配列番号９、配列番号11、配列番号13、配列番号15、配列番号17、配列番号19、配列番号21、配列番号23、配列番号25、配列番号27、配列番号29、配列番号38、配列番号40、配列番号42、配列番号44、配列番号46、配列番号48、配列番号50、配列番号52、配列番号54、配列番号56、配列番号58及び／又は配列番号60で示される核酸配列を含むか、又は前記核酸配列の余剰的等価物若しくはフラグメントである、請求項４記載の精製核酸分子。
【請求項６】
高ストリンジェンシー条件下で、請求項４又は５記載の核酸分子とハイブリダイズする、精製核酸分子。
【請求項７】
請求項４～６のいずれか１項に記載の核酸分子を含む、ベクター。
【請求項８】
請求項７に記載のベクターで形質転換されている、宿主細胞。
【請求項９】
vWFCドメインに特異的に結合する、抗体。
【請求項１０】
疾患の治療又は診断に使用するための、請求項１～３のいずれか１項に記載のポリペプチド。
【請求項１１】
疾患の治療又は診断に使用するための、請求項４～６のいずれか１項に記載の核酸分子。
【請求項１２】
疾患の治療又は診断に使用するための、請求項７記載のベクター。
【請求項１３】
疾患の治療又は診断に使用するための、請求項９記載の抗体。
【請求項１４】
vWFCドメイン含有タンパク質としての、請求項１～３のいずれか１項に記載のポリペプチドの使用。
【請求項１５】
請求項１～３のいずれか１項に記載のポリペプチドを含む、医薬組成物。
【請求項１６】

請求項４～６のいずれか１項に記載の核酸分子を含む、医薬組成物。
【請求項１７】
請求項７記載のベクターを含む、医薬組成物。
【請求項１８】
請求項９記載の抗体を含む、医薬組成物。
【請求項１９】
請求項１～３のいずれか１項に記載のポリペプチドを含む、ワクチン組成物。
【請求項２０】
請求項４～６のいずれか１項に記載の核酸分子を含む、ワクチン組成物。
【請求項２１】
細胞増殖性疾患、自己免疫／炎症性疾患、心臓血管障害、神経障害、発達障害、代謝障害、感染症及び他の病的状態の治療用医薬品の製造における、請求項１～３のいずれか１項に記載のポリペプチドの使用。
【請求項２２】
細胞増殖性疾患、自己免疫／炎症性疾患、心臓血管障害、神経障害、発達障害、代謝障害、感染症及び他の病的状態の治療用医薬品の製造における、請求項４～６のいずれか１項に記載の核酸分子の使用。
【請求項２３】
細胞増殖性疾患、自己免疫／炎症性疾患、心臓血管障害、神経障害、発達障害、代謝障害、感染症及び他の病的状態の治療用医薬品の製造における、請求項７記載のベクターの使用。
【請求項２４】
細胞増殖性疾患、自己免疫／炎症性疾患、心臓血管障害、神経障害、発達障害、代謝障害、感染症及び他の病的状態の治療用医薬品の製造における、請求項９記載の抗体の使用。
【請求項２５】
細胞増殖性疾患、自己免疫／炎症性疾患、心臓血管障害、神経障害、発達障害、代謝障害、感染症及び他の病的状態の治療用医薬品の製造における、請求項１７記載の医薬組成物の使用。
【請求項２６】
疾患の治療及び／又は診断に有効な化合物を同定する方法であって、
請求項１～３のいずれか１項に記載のポリペプチドを、前記ポリペプチドに対し結合親和性を有すると疑われる１又は２以上の化合物と接触させること；及び
前記ポリペプチドと特異的に結合する化合物を選択すること；
を含む前記方法。
【請求項２７】
疾患の治療及び／又は診断に有効な化合物を同定する方法であって、
請求項４～６のいずれか１項に記載の核酸分子を、前記核酸分子に対し結合親和性を有すると疑われる１又は２以上の化合物と接触させること；及び
前記核酸分子と特異的に結合する化合物を選択すること；
を含む前記方法。
【請求項２８】
ストリンジェントな条件下で、請求項４～６のいずれか１項に記載の核酸分子とハイブリダイズする核酸プローブを含む、第１の容器；
前記核酸分子を増幅するのに有用なプライマーを含む、第２の容器；及び、
疾患の診断を容易にするための、前記プローブ及びプライマーの使用説明書；
を含む、疾患の診断に有用なキット。
【請求項２９】
疾患が細胞増殖性疾患、自己免疫／炎症性疾患、心臓血管障害、神経障害、発達障害、代謝障害、感染症及び他の病的状態である、請求項２８記載のキット。

【請求項３０】
請求項１～３のいずれか１項に記載のポリペプチドと結合する、１又は２以上の抗体；及び
前記抗体と前記ポリペプチドとの間の結合反応を検出するのに有用な試薬；
を含むキット。
【請求項３１】
請求項１～３のいずれか１項に記載のポリペプチドを、より高いレベル若しくはより低いレベルで発現するように又は発現しないように形質転換されている、トランスジェニック非ヒト動物又はノックアウト非ヒト動物。

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/GB2004/001890

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7. C07K14/755 C12Q1/68

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 7 C07K C12Q

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)
EPO-Internal, Sequence Search, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DATABASE EMBL 29 August 2002 (2002-08-29), XP002293662 retrieved from EBI Database accession no. AC131755	22,24-26
Y	abstract	6-12, 17-21, 23,27, 28,32-60
Y	DATABASE EMBL 19 December 2002 (2002-12-19), XP002293661 retrieved from EBI Database accession no. AK083856 abstract	6-12, 17-28, 32-60

-/--

[X] Further documents are listed in the continuation of box C. [ ] Patent family members are listed in annex.

° Special categories of cited documents :

'A' document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
'E' earlier document but published on or after the international filing date
'L' document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
'O' document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
'P' document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

'T' later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
'X' document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
'Y' document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
'&' document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
26 August 2004	11. 01. 05

Name and mailing address of the ISA	Authorized officer
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	Heder, A

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (January 2004)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/GB2004/001890

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
	& DATABASE UNIPROT 1 March 2003 (2003-03-01), XP002293660 retrieved from EBI Database accession no. Q8BNE9 abstract	
Y	DATABASE EMBL 13 June 2001 (2001-06-13), XP002293658 retrieved from EBI Database accession no. AB063096 abstract & DATABASE UNIPROT 1 December 2001 (2001-12-01), XP002293659 retrieved from EBI Database accession no. Q95K75 abstract	6-12, 17-28, 32-60
A	SADLER J E: "BIOCHEMISTRY AND GENETICS OF VON WILLEBRAND FACTOR" ANNUAL REVIEW OF BIOCHEMISTRY, PALTO ALTO, CA, US, vol. 67, 1998, pages 395-424, XP001121065 ISSN: 0066-4154	

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (January 2004)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/GB2004/001890

Box II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

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

1. [X] Claims Nos.: 1-5, 29-31
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210

2. [X] Claims Nos.: 29-31
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:

see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210

3. [ ] Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

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

see additional sheet

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

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

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

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

1-12, 17-60 (all partially)

Remark on Protest

[ ] The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.

[ ] No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/ GB2004/ 001890

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

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

Invention 1: claims 1-12, 17-60 (all partially)

Polypeptide comprising or consisting of SEQ ID NO: 2, homologues and fragments thereof, nucleic acid coding therefor, vector containing said nucleic acid, host cell containing said vector, ligands, activators and inhibitors of said polypeptide, uses thereof, and methods for identifying said polypeptides.

Inventions 2-6: claims 1-12, 17-60 (all partially)

Polypeptides comprising or consisting of SEQ ID NO: 4, 39, 41, 43, or 45, homologues and fragments thereof, nucleic acid coding therefor, vector containing said nucleic acid, host cell containing said vector, ligands, activators and inhibitors of said polypeptide, uses thereof, and methods for identifying said polypeptides.

Inventions 7-16: claims 1-10, 13, 14, 17-60 (all partially)

Polypeptides comprising or consisting of SEQ ID NO: 6, 8, 10, 12, 14, 16, 47, 49, 51, or 53, homologues and fragments thereof, nucleic acid coding therefor, vector containing said nucleic acid, host cell containing said vector, ligands, activators and inhibitors of said polypeptide, uses thereof, and methods for identifying said polypeptides.

Inventions 17-27: claims 1-10, 15-60 (all partially)

Polypeptides comprising or consisting of SEQ ID NO: 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 55, 57, 59, or 61, homologues and fragments thereof, nucleic acid coding therefor, vector containing said nucleic acid, host cell containing said vector, ligands, activators and inhibitors of said polypeptide, uses thereof, and methods for identifying said polypeptides.

Invention 28: claims 1-10, 27-60 (all partially)

Multiple potential inventions relating to polypeptides being members of the vWFC domain containing protein family, homologues and fragments thereof, ligands, activators and inhibitors of said polypeptide, uses thereof, and methods for identifying said polypeptides.

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Continuation of Box II.1

Although claims 33, 38-42, 51 are directed to a diagnostic method practised on the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.

Although claims 43, 48, 52, and 58 are directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.

Continuation of Box II.1

Claims Nos.: 1-5, 29-31

Claims 1-5 relate to a method of deriving the sequence of a protein (SEQ ID NO: 2) from a sequence matrix. The mental acts of the method are carried out with the aid of the computer programme, BLAST. Despite the use of a computer programme, the method of claims 1-5 is a method of performing purely mental acts in the sense of Rule 39.1(iii) PCT. Consequently, claims 1-5 have been excluded from the international search pursuant to Article 17(2)(a)(i) PCT.

Continuation of Box II.2

Claims Nos.: 29-31

Present claims 29-31 relate to an extremely large number of possible compounds. Support within the meaning of Article 6 PCT and/or disclosure within the meaning of Article 5 PCT is to be found, however, for no such compounds. In the present case, the claims so lack support, and the application so lacks disclosure, that a meaningful search over the whole of the claimed scope is impossible. Consequently, the search has excluded claims 29-31, and claims 32, 44, 46-50, 59, and 60 insofar as they relate to claims 29-31.

The applicant's attention is drawn to the fact that claims relating to inventions in respect of which no international search report has been established need not be the subject of an international preliminary examination (Rule 66.1(e) PCT). The applicant is advised that the EPO policy when acting as an International Preliminary Examining Authority is normally not to carry out a preliminary examination on matter which has not been searched. This is the case irrespective of whether or not the claims are amended following receipt of the search report or during any Chapter II procedure. If the application proceeds into the regional phase before the EPO, the applicant is reminded that a search may be carried out during examination before the EPO (see EPO Guideline C-VI, 8.5), should the problems which led to the Article 17(2) declaration be

International Application No. PCT/GB2004/001890

overcome.

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		FI			テーマコード（参考）
C12N 1/21	***(2006.01)***	Ｃ１２Ｎ	1/21		４Ｃ０８５
C12N 5/10	***(2006.01)***	Ｃ１２Ｎ	5/00	Ａ	４Ｃ０８７
C07K 16/18	***(2006.01)***	Ｃ０７Ｋ	16/18		４Ｈ０４５
C12Q 1/68	***(2006.01)***	Ｃ１２Ｑ	1/68	Ａ	
A61K 38/00	***(2006.01)***	Ａ６１Ｋ	37/02		
A61K 48/00	***(2006.01)***	Ａ６１Ｋ	48/00		
A61K 35/76	***(2006.01)***	Ａ６１Ｋ	35/76		
A61K 45/00	***(2006.01)***	Ａ６１Ｋ	45/00		
A61K 39/395	***(2006.01)***	Ａ６１Ｋ	39/395	Ｄ	
A61K 35/12	***(2006.01)***	Ａ６１Ｋ	35/12		
A61K 39/00	***(2006.01)***	Ａ６１Ｋ	39/00	Ｈ	
A61P 35/00	***(2006.01)***	Ａ６１Ｐ	35/00		
A61P 35/02	***(2006.01)***	Ａ６１Ｐ	35/02		
A61P 7/00	***(2006.01)***	Ａ６１Ｐ	7/00		
A61P 37/08	***(2006.01)***	Ａ６１Ｐ	37/08		
A61P 1/00	***(2006.01)***	Ａ６１Ｐ	1/00		
A61P 19/02	***(2006.01)***	Ａ６１Ｐ	19/02		
A61P 17/06	***(2006.01)***	Ａ６１Ｐ	17/06		
A61P 11/00	***(2006.01)***	Ａ６１Ｐ	11/00		
A61P 11/06	***(2006.01)***	Ａ６１Ｐ	11/06		
A61P 37/06	***(2006.01)***	Ａ６１Ｐ	37/06		
A61P 9/12	***(2006.01)***	Ａ６１Ｐ	9/12		
A61P 7/10	***(2006.01)***	Ａ６１Ｐ	7/10		
A61P 9/10	***(2006.01)***	Ａ６１Ｐ	9/10		
A61P 7/02	***(2006.01)***	Ａ６１Ｐ	9/10	１０１	
A61P 25/00	***(2006.01)***	Ａ６１Ｐ	7/02		
A61P 29/00	***(2006.01)***	Ａ６１Ｐ	25/00		
A61P 25/28	***(2006.01)***	Ａ６１Ｐ	29/00		
A61P 21/00	***(2006.01)***	Ａ６１Ｐ	25/28		
A61P 19/00	***(2006.01)***	Ａ６１Ｐ	21/00		
A61P 3/10	***(2006.01)***	Ａ６１Ｐ	19/00		
A61P 19/10	***(2006.01)***	Ａ６１Ｐ	3/10		
A61P 3/04	***(2006.01)***	Ａ６１Ｐ	19/10		
A61P 31/18	***(2006.01)***	Ａ６１Ｐ	3/04		
A61P 31/12	***(2006.01)***	Ａ６１Ｐ	31/18		
A61P 13/12	***(2006.01)***	Ａ６１Ｐ	31/12		
A61P 31/04	***(2006.01)***	Ａ６１Ｐ	13/12		
A61P 31/10	***(2006.01)***	Ａ６１Ｐ	31/04		
A61P 33/00	***(2006.01)***	Ａ６１Ｐ	31/10		
A61P 15/18	***(2006.01)***	Ａ６１Ｐ	33/00		
G06F 19/00	***(2006.01)***	Ａ６１Ｐ	15/18		
G01N 33/574	***(2006.01)***	Ｇ０６Ｆ	19/00	６００	
G01N 33/53	***(2006.01)***	Ｇ０１Ｎ	33/574	Ａ	
G01N 33/50	***(2006.01)***	Ｇ０１Ｎ	33/53	Ｍ	
G01N 33/15	***(2006.01)***	Ｇ０１Ｎ	33/50	Ｚ	
G01N 37/00	***(2006.01)***	Ｇ０１Ｎ	33/15	Ｚ	
		Ｇ０１Ｎ	37/00	１０２	

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LS,MW,MZ,NA,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HU,IE,IT,LU,MC,NL,PL,PT,RO,SE,SI,SK,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KP,KR,KZ,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LV,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MZ,NA,NI,NO,NZ,OM,PG,PH,PL,PT,RO,RU,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SY,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,YU,ZA,ZM,ZW

(74)代理人 100114007
弁理士 平山 孝二
(72)発明者 ミカロヴィッチ ディヴィッド
イギリス ダブリュー１ティー ２エヌユー ロンドン シャーロット ストリート ６０ インファーマティカ リミテッド内
(72)発明者 マッケンドリック イアン
イギリス ダブリュー１ティー ２エヌユー ロンドン シャーロット ストリート ６０ インファーマティカ リミテッド内
(72)発明者 フェイガン リチャード ジョセフ
イギリス ダブリュー１ティー ２エヌユー ロンドン シャーロット ストリート ６０ インファーマティカ リミテッド内
(72)発明者 パワー クリスティン
フランス エフ－０１７１０ トワリー リュー ド ジョンクイェ １０
(72)発明者 ヨーク メラニー
スイス ツェーハー１２３２ コンフィニョン シュマン ド ヴィョネックス ２０ア

Ｆターム(参考) 2G045 AA25 AA26 CB01 CB02 DA13 DA14 DA36 FB02 FB03
4B024 AA01 AA11 CA01 CA09 CA11 DA01 DA02 DA05 DA06 DA11 EA04 GA11 HA08 HA12
4B063 QA01 QA18 QA19 QQ02 QQ08 QQ42 QQ52 QR08 QR32 QR35 QR42 QR55 QR62 QR72 QR77 QS03 QS25 QS28 QS34 QS36 QX01
4B065 AA01X AA57X AA87X AA90Y AB01 AC20 BA02 CA44
4C084 AA02 AA03 AA13 AA17 BA01 BA02 BA20 BA21 BA22 BA23 CA53 NA14 ZA02 ZA16 ZA36 ZA40 ZA42 ZA45 ZA51 ZA59 ZA66 ZA70 ZA81 ZA86 ZA89 ZA96 ZA97 ZB08 ZB11 ZB13 ZB26 ZB27 ZB33 ZB35 ZB37 ZC35 ZC55
4C085 AA13
4C087 AA01 AA02 BB65 BC83 CA12 NA14 ZA02 ZA16 ZA36 ZA40 ZA42 ZA45 ZA51 ZA59 ZA66 ZA70 ZA81 ZA86 ZA89 ZA96 ZA97 ZB08 ZB11 ZB13 ZB26 ZB27 ZB33 ZB35 ZB37 ZC35 ZC55
4H045 AA10 AA30 BA09 CA40 EA20 FA74

专利名称(译)	分泌蛋白家族		
公开(公告)号	JP2007536892A	公开(公告)日	2007-12-20
申请号	JP2006506210	申请日	2004-04-30
[标]申请(专利权)人(译)	阿雷斯贸易股份有限公司		
申请(专利权)人(译)	战神托盘资金兴业ANONYME		
[标]发明人	ミカロヴィッチディヴィッド マッケンドリックイアン フェイガンリチャードジョセフ パワークリスティン ヨークメラニー		
发明人	ミカロヴィッチ ディヴィッド マッケンドリック イアン フェイガン リチャード ジョセフ パワー クリスティン ヨーク メラニー		
IPC分类号	C12N15/09 A01K67/027 C07K14/47 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C07K16/18 C12Q1/68 A61K38/00 A61K48/00 A61K35/76 A61K45/00 A61K39/395 A61K35/12 A61K39/00 A61P35/00 A61P35/02 A61P7/00 A61P37/08 A61P1/00 A61P19/02 A61P17/06 A61P11/00 A61P11/06 A61P37/06 A61P9/12 A61P7/10 A61P9/10 A61P7/02 A61P25/00 A61P29/00 A61P25/28 A61P21/00 A61P19/00 A61P3/10 A61P19/10 A61P3/04 A61P31/18 A61P31/12 A61P13/12 A61P31/04 A61P31/10 A61P33/00 A61P15/18 G06F19/00 G01N33/574 G01N33/53 G01N33/50 G01N33/15 G01N37/00		
CPC分类号	A61K38/00 A61P1/00 A61P11/00 A61P11/06 A61P13/12 A61P15/18 A61P17/06 A61P19/00 A61P19/02 A61P19/10 A61P21/00 A61P25/00 A61P25/28 A61P29/00 C07K14/47 Y02A90/26 Y10T436/143333		
FI分类号	C12N15/00.ZNA.A A01K67/027 C07K14/47 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/00.A C07K16/18 C12Q1/68.A A61K37/02 A61K48/00 A61K35/76 A61K45/00 A61K39/395.D A61K35/12 A61K39/00.H A61P35/00 A61P35/02 A61P7/00 A61P37/08 A61P1/00 A61P19/02 A61P17/06 A61P11/00 A61P11/06 A61P37/06 A61P9/12 A61P7/10 A61P9/10 A61P9/10.101 A61P7/02 A61P25/00 A61P29/00 A61P25/28 A61P21/00 A61P19/00 A61P3/10 A61P19/10 A61P3/04 A61P31/18 A61P31/12 A61P13/12 A61P31/04 A61P31/10 A61P33/00 A61P15/18 G06F19/00.600 G01N33/574.A G01N33/53.M G01N33/50.Z G01N33/15.Z G01N37/00.102		
F-TERM分类号	2G045/AA25 2G045/AA26 2G045/CB01 2G045/CB02 2G045/DA13 2G045/DA14 2G045/DA36 2G045/FB02 2G045/FB03 4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/CA01 4B024/CA09 4B024/CA11 4B024/DA01 4B024/DA02 4B024/DA05 4B024/DA06 4B024/DA11 4B024/EA04 4B024/GA11 4B024/HA08 4B024/HA12 4B063/QA01 4B063/QA18 4B063/QA19 4B063/QQ02 4B063/QQ08 4B063/QQ42 4B063/QQ52 4B063/QR08 4B063/QR32 4B063/QR35 4B063/QR42 4B063/QR55 4B063/QR62 4B063/QR72 4B063/QR77 4B063/QS03 4B063/QS25 4B063/QS28 4B063/QS34 4B063/QS36 4B063/QX01 4B065/AA01X 4B065/AA57X 4B065/AA87X 4B065/AA90Y 4B065/AB01 4B065/AC20 4B065/BA02 4B065/CA44 4C084/AA02 4C084/AA03 4C084/AA13 4C084/AA17 4C084/BA01 4C084/BA02 4C084/BA20 4C084/BA21 4C084/BA22 4C084/BA23 4C084/CA53 4C084/NA14 4C084/ZA02 4C084/ZA16 4C084/ZA36 4C084/ZA40 4C084/ZA42 4C084/ZA45 4C084/ZA51 4C084/ZA59 4C084/ZA66 4C084/ZA70 4C084/ZA81 4C084/ZA86 4C084/ZA89 4C084/ZA96 4C084/ZA97 4C084/ZB08 4C084/ZB11 4C084/ZB13 4C084/ZB26 4C084/ZB27 4C084/ZB33 4C084/ZB35 4C084/ZB37 4C084/ZC35 4C084/ZC55 4C085/AA13 4C087/AA01 4C087/AA02 4C087/BB65 4C087/BC83 4C087/CA12 4C087/NA14 4C087/ZA02 4C087/ZA16 4C087/ZA36 4C087/ZA40 4C087/ZA42 4C087/ZA45 4C087/ZA51 4C087/ZA59 4C087/ZA66 4C087/ZA70 4C087/ZA81 4C087/ZA86 4C087/ZA89 4C087/ZA96 4C087/ZA97 4C087/ZB08		

	4C087/ZB11 4C087/ZB13 4C087/ZB26 4C087/ZB27 4C087/ZB33 4C087/ZB35 4C087/ZB37 4C087/ZC35 4C087/ZC55 4H045/AA10 4H045/AA30 4H045/BA09 4H045/CA40 4H045/EA20 4H045/FA74
代理人(译)	小川伸男
优先权	2003009916 2003-04-30 GB
外部链接	Espacenet

摘要(译)

本发明涉及新型分泌蛋白家族，命名为SECFAM 3家族，并且家族成员包括含有C型血管性血友病因子（vWF）含有结构域的分泌蛋白和于使用在本发明INSP123鉴定的新型的人类蛋白质，INSP124和INSP125提及，也疾病，预防和蛋白质及其编码基因从在治疗中的核酸序列的诊断。

【表１】

アライメントの識別子	配列アクセッション番号
1_[マカク(MACAQUE)]	BAB60802.1[成体脳](138aa)
2_INSP123	ENSG00000174453（遺伝子予測集団)(138aa)
3_[ラット(RAT)]	インファーマティカ予測物(配列番号30)(131aa)
4_[マウス(MOUSE)]	インファーマティカ予測物(配列番号28)(131aa)
5_[マウス]	XP_194760.2(324aa)
6_[ヒト(HUMAN)]	AAY96732(ダーウェント(Derwent)配列：“ネル(nell1)相同体”)NCBIに等価物なし(325aa)
7_[ラット]	インファーマティカ予測物(配列番号31)(324aa)
8_[ニワトリ(CHIKEN)]	BU281449.1(EST：フレーム+1で翻訳)[成体脳一小脳又は大脳でない](183aa)
9_[ニワトリ]	BU361615.1(EST：フレーム+2で翻訳)[成体大脳](209aa)
10_[ゼブラフィッシュ(ZEBRAFISH)]	BM156647.1(EST：フレーム+3で翻訳)[成体オス全身](190aa)
11_[マウス]	W41229.1(EST：フレーム+3で翻訳)[受胎後19.5日の胎児全身](86aa)
12_[サケ(SALMON)]	CA039900.1(EST：フレーム+2で翻訳)[脾臓](153aa)
13_[カエル(FROG)]	AL635358.1(EST：フレーム+2で翻訳)[ヌルラ(nurula)胚期](100aa)
14_[ユウレイボヤ(Ciona intestinalis)]	BW255450.1(EST：フレーム+1で翻訳)[分裂胚全体](182aa)
15_[ユウレイボヤ]	AV674424.1(EST：フレーム+2で翻訳)[下肢芽期、全体](139aa)
16_[ニワトリ]	BG711876.1(EST：フレーム+1で翻訳)[正常(normalized)肝臓](134aa)
17_[フグ(FUGU)]	インファーマティカ予測物(配列番号34)(131aa)
18_[フグ]	インファーマティカ予測物(配列番号33)(247aa)
19_[フグ]	インファーマティカ予測物(配列番号32)(223aa)
20_[マウス]	インファーマティカ予測物(配列番号29)(222aa)
21_INSP124	インファーマティカ予測物(配列番号5～16)(222aa)
22_INSP125	インファーマティカ予測物(配列番号17～27)(175aa)

表１：SECFAM3ファミリーの全配列(ペプチド長付き、可能な場合は組織分布情報を