

(19)日本国特許庁 ( J P )

(12) 公表特許公報 ( A ) (11)特許出願公表番号

特表2002 - 540792

(P2002 - 540792A)

(43)公表日 平成14年12月3日(2002.12.3)

(51) Int.Cl <sup>7</sup>	識別記号	F I	テ-マコード* (参考)
C 1 2 N 15/09	ZNA	A 6 1 K 45/00	2 G 0 4 5
A 6 1 K 38/00		A 6 1 P 1/04	4 B 0 2 4
45/00		1/16	4 B 0 6 3
A 6 1 P 1/04		5/38	4 B 0 6 4
1/16		7/02	4 B 0 6 5

審査請求 未請求 予備審査請求 (全145数) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2000 - 609573(P2000 - 609573)

(86)(22)出願日 平成12年4月6日(2000.4.6)

(85)翻訳文提出日 平成13年10月3日(2001.10.3)

(86)国際出願番号 PCT/US00/09353

(87)国際公開番号 W000/60082

(87)国際公開日 平成12年10月12日(2000.10.12)

(31)優先権主張番号 60/128,193

(32)優先日 平成11年4月7日(1999.4.7)

(33)優先権主張国 米国(US)

(31)優先権主張番号 60/144,701

(32)優先日 平成11年7月20日(1999.7.20)

(33)優先権主張国 米国(US)

(71)出願人 インサイト・ファーマスーティカルズ・インコーポレイテッド

INCYTE PHARMACEUTICALS INC.

アメリカ合衆国カリフォルニア州94304・パロアルト・ポータードライブ 3160

(72)発明者 ラル、ブリーティ

アメリカ合衆国カリフォルニア州95054・サンタクララ・ラスドライブ 2382

(72)発明者 ユエ、ヘンリー

アメリカ合衆国カリフォルニア州94087・サニーベイル・ルイスアベニュー 826

(74)代理人 弁理士 大島 陽一

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 小胞関連タンパク質

(57)【要約】

本発明は、ヒト小胞関連分子 (VEAS) と、VEAS を同定及びコードするポリヌクレオチドとを提供する。本発明はまた、発現ベクター及び宿主細胞、抗体、アゴニスト、アンタゴニストを提供する。更に、本発明は、VEASの発現に関連する疾患の診断または治療方法、予防方法を提供する。

**【特許請求の範囲】**

**【請求項1】** 単離されたポリペプチドであって、

a) SEQ ID NO:1乃至SEQ ID NO:5及びSEQ ID NO:7乃至SEQ ID NO:19 (SEQ ID NO:1 - 5及び7 - 19) からなる一群から選択されたアミノ酸配列と、

b) SEQ ID NO:1 - 5及び7 - 19からなる一群から選択されたアミノ酸配列と少なくとも90%の配列同一性を有する自然発生のアミノ酸配列と、

c) SEQ ID NO:1 - 5及び7 - 19からなる一群から選択されたアミノ酸配列の生物学的に活性な断片と、

d) SEQ ID NO:1 - 5及び7 - 19からなる一群から選択されたアミノ酸配列の免疫原性断片とで構成される一群から選択されたアミノ酸配列を含むことを特徴とする単離されたポリペプチド。

**【請求項2】** SEQ ID NO:1 - 5及び7 - 19からなる一群から選択された請求項1の単離されたポリペプチド。

**【請求項3】** 請求項1のポリペプチドをコードする単離されたポリヌクレオチド。

**【請求項4】** SEQ ID NO:20 - 24及び26 - 38からなる一群から選択された請求項3の単離されたポリヌクレオチド。

**【請求項5】** 請求項3のポリヌクレオチドに機能的に結合されたプロモーター配列を含む組換えポリヌクレオチド。

**【請求項6】** 請求項5の組換えポリヌクレオチドで形質転換された細胞。

**【請求項7】** 請求項5の組換えポリヌクレオチドを含む遺伝子組換え生物。

**【請求項8】** 請求項1のポリペプチドを作製する方法であって、

a) 前記ポリペプチドの発現に好適な条件の下で、請求項1のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドに機能的に結合されたプロモーター配列を含む組換えポリヌクレオチドで形質転換された細胞を培養するステップと、

b) そのように発現したポリペプチドを回収するステップとを含むことを特徴とする請求項1のポリペプチドの作製方法。

【請求項9】 請求項1のポリペプチドに特異的に結合する単離された抗体。

【請求項10】 単離されたポリヌクレオチドであって、

a) SEQ ID NO:20 - 24及び26 - 38からなる一群から選択されたポリヌクレオチド配列と、

b) SEQ ID NO:20 - 24及び26 - 38からなる一群から選択されたポリヌクレオチド配列と少なくとも70%の配列同一性を有する自然発生のポリヌクレオチド配列と、

c) 前記a)に相補的なポリヌクレオチド配列と、

d) 前記b)に相補的なポリヌクレオチド配列と、

e) 前記a) - d)のRNA等価物とで構成される一群から選択されたポリヌクレオチド配列を含む単離されたポリヌクレオチド。

【請求項11】 請求項10のポリヌクレオチドの少なくとも60個の連続するヌクレオチドを含む単離されたポリヌクレオチド。

【請求項12】 請求項10のポリヌクレオチド配列を有するサンプル内の標的ポリヌクレオチドを検出する方法であって、

a) 前記サンプル内の前記標的ポリヌクレオチドと相補的な配列を含む少なくとも16個の連続するヌクレオチドを含むプローブと前記サンプルとをハイブリダイズするステップであって、前記プローブと前記標的ポリヌクレオチドとによってハイブリダイゼーション複合体が形成される条件の下で、前記プローブが前記標的ポリヌクレオチドと特異的にハイブリダイズする、該ステップと、

b) 前記ハイブリダイゼーション複合体の存在の有無を検出し、存在する場合には随意選択でその量を測定するステップとを含むことを特徴とする標的ポリヌクレオチドの検出方法。

【請求項13】 前記プローブが少なくとも30個の連続するヌクレオチドを含むことを特徴とする請求項12に記載の方法。

【請求項14】 前記プローブが少なくとも60個の連続するヌクレオチドを含むことを特徴とする請求項12に記載の方法。

【請求項15】 有効量の請求項1のポリペプチド及び医薬的に容認でき

る賦形剤を含む医薬品組成物。

【請求項16】 機能的VEAS（小胞関連分子である精製されたポリペプチド）の発現の低下に関連する疾患やその症状の治療方法であって、請求項15の医薬品組成物をそのような治療が必要な患者に投与することを含むことを特徴とする治療方法。

【請求項17】 請求項1のポリペプチドのアゴニストとして効果的な化合物をスクリーニングする方法であって、

a) 請求項1のポリペプチドを含むサンプルを化合物に曝露するステップと、  
b) 前記サンプルのアゴニスト活性を検出するステップとを含むことを特徴とするスクリーニング方法。

【請求項18】 請求項17のスクリーニング方法によって同定されたアゴニスト化合物及び医薬的に容認できる賦形剤を含む医薬品組成物。

【請求項19】 機能的VEASの発現の低下に関連する疾患やその症状の治療方法であって、請求項18の医薬品組成物をそのような治療が必要な患者に投与することを含むことを特徴とする治療方法。

【請求項20】 請求項1のポリペプチドのアンタゴニストとして効果的な化合物をスクリーニングする方法であって、

a) 請求項1のポリペプチドを含むサンプルを化合物に曝露するステップと、  
b) 前記サンプルのアンタゴニスト活性を検出するステップとを含むことを特徴とするスクリーニング方法。

【請求項21】 請求項20のスクリーニング方法によって同定されたアンタゴニスト化合物及び医薬的に容認できる賦形剤を含む医薬品組成物。

【請求項22】 機能的VEASの過剰な発現に関連する疾患やその症状の治療方法であって、請求項21の医薬品組成物をそのような治療が必要な患者に投与することを含むことを特徴とする治療方法。

【請求項23】 請求項4の配列を含む標的ポリヌクレオチドの発現を効果的に変える化合物をスクリーニングする方法であって、

a) 前記標的ポリヌクレオチドを含むサンプルを化合物に曝露するステップと

b) 前記標的ポリヌクレオチドの発現の変化を検出するステップとを含むことを特徴とするスクリーニング方法。

**【発明の詳細な説明】****【0001】****(発明の技術分野)**

本発明は、小胞関連分子の核酸配列及びアミノ酸配列、並びにこれらの配列を用いた輸送障害及び自己免疫異常/炎症異常、癌の診断及び治療、予防に関連する。

**【0002】****(発明の背景)**

真核細胞は脂質二重層によって囲まれ、機能的に異なった膜結合区画に分かれている。膜によって、サイトゾルと細胞外環境と各細胞内器官の小胞体内腔(ルーメン)空間とが別々に保たれている。脂質膜は殆どの極性分子に対して高い不透過性を有するため、必須栄養素及び代謝廃棄物、細胞シグナル伝達分子、高分子、タンパク質の脂質膜を通過する輸送や細胞小器官間の輸送は、様々な輸送関連分子によって仲介される。

**【0003】**

内在性膜タンパク質及び分泌タンパク質、細胞小器官のルーメンに運ばれるタンパク質は小胞体(ER)内で合成され、ゴルジ体に運ばれて翻訳後プロセッシング及びソーティングされた後、特定の細胞外及び細胞内部の目的部位に輸送される。物質はエンドサイトーシスによって、細胞外環境から内部に取り込まれる。エンドサイトーシスとは、ニューロン信号及び代謝信号、増殖信号の伝達や多数の必須栄養素の取り込み、侵入生物に対する防御に必須のプロセスである。このタンパク質分子の細胞内及び細胞外の移動が小胞輸送と定義される。この小胞輸送は、ドナー細胞小器官の膜から出芽した特定の小胞の中にタンパク質分子がパッケージ化されて標的膜と融合することにより達成される(Rothman, J.E and Wieland, F.T. (1996) Science 272:227-234)。

**【0004】**

物質が分泌経路及びエンドサイトーシス経路に沿って通過する幾つかの段階では、輸送小胞を形成する必要がある。詳細には、小胞は、移行型小胞体(tER)及びゴルジシスターネ(Golgi cisternae)の縁、トランスゴルジ網(TGN)の表

面、細胞膜 (PM)、エンドソームの管状伸長部で形成される。ドナー細胞小器官から膜のある領域が出芽して小胞が形成される。膜結合小胞は輸送されるタンパク質を含み、蛋白様の被覆で覆われている。この蛋白様の被覆成分はサイトゾルから補充される。小胞の形成は、ドナー細胞小器官から小胞が出芽して始まる。初めの出芽プロセス及び被覆プロセスは、サイトゾルras様GTP結合タンパク質及びADPリボシル化因子 (Arf)、アダプタータンパク質 (AP) によって制御される。Arf及びAP双方の異なったアイソフォームが、異なった出芽部位に関与する。例えば、Arf 1及びArf 2、Arf 5がゴルジ出芽、Arf 4がエンドソーム出芽、Arf 6が細胞膜出芽に必要である。コートタンパク質の異なった2つのクラスも同定された。クラスリンの被覆がTGN及びPM由来の小胞で形成され、コートマーの被覆がER及びゴルジ由来の小胞で形成される (Melman, I. (1996) *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 12:575-625)。

#### 【0005】

小胞の形成は、ドナー膜内でアダプタータンパク質 (AP) がカーゴタンパク質 (cargo protein) と相互作用し、クラスリンが出芽部位に補充されて始まる。APは、2つの長鎖 (若しくは、 $\alpha$ 、 $\beta$  と  $\gamma$ ) と中鎖 ( $\mu$ )、短鎖 ( $\delta$ ) からなるヘテロ4量体複合体である。クラスリンは、アダプチンサブユニットのC末端付属ドメインを介してAPに結合する (Le Bourgne, R. and Hoflack, B. (1998) *Curr. Opin. Cell. Biol.* 10:499-503)。AP-1が、TGN及びエンドソームからエンドソーム/リソソーム系の区画へのタンパク質ソーティングにおいて機能する。AP-2が細胞膜におけるクラスリン仲介性エンドサイトーシスにおいて機能し、AP-3がエンドソーム及び/またはTGNに付随し、リソソーム及びリソソーム関連細胞小器官に輸送するために内在性膜タンパク質を補充する。近年単離されたAP-4複合体がTGN或いは近接区画に局在し、後ゴルジ区画 (post-Golgi compartment) の中で起こると考えられているソーティングにおいて重要な役割を果たし得る (DeL'Angelica, E. C. et al. (1999) *J. Biol. Chem.* 274:7278-7285)。サイトゾルGTP結合Arfもまた、小胞が形成される時にその小胞の中に取り込まれる。別のGTP結合タンパク質ダイナミンは、形成される小胞の首部の回りに環状複合体 (ring complex) を形成し、ドナー膜から小胞が遊離するのに必要な機械

化学力を提供する。次に、被覆小胞複合体がサイトゾルを通過して輸送される。輸送プロセス中に、Arf結合GTPがGDPに加水分解され、輸送小胞から被覆が解離する(West, MA. et al. (1997) J. Cell Biol. 138:1239-1254)。

#### 【0006】

コートタンパク質(COP)被覆はER及びゴルジ体上に形成される。COP被覆は、ゴルジ体から小胞体への逆輸送に關与するCOP Iと、ERからゴルジ体への順方向輸送に關与するCOP IIとに細分される。COP被覆は、GTP結合タンパク質(Arf若しくはSar)及びコートプロトマー(コートマー)の2つの主要成分からなる。コートマーは、及び、'、'、'、'、'-COPの7つのタンパク質からなる等分子複合体である。コートマー複合体は、内在性膜タンパク質の細胞質尾部に含まれるdilysineモチーフに結合する。これらには、ERの膜タンパク質のdilysine含有回収モチーフ及びp24ファミリーメンバーの2塩基/ジフェニルアミン・モチーフが含まれる。I型膜タンパク質のp24ファミリーは、COP I小胞の主要な膜タンパク質を表す(Harter, C. and Wieland, F.T. (1998) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95:11649-11654)。

#### 【0007】

小胞は同型若しくは異型融合されうる。小胞の好適なターゲッティング及び融合に必要な分子には、小胞膜や標的膜のタンパク質及びサイトゾルから補充されたタンパク質が含まれる。ドナー区画から小胞が出芽する際に、内在性膜タンパク質VAMP(小胞関連膜タンパク質)が小胞に取り込まれる。小胞の被覆が解離した直後に、プレニル化GTP結合タンパク質Rabが小胞膜の中に挿入される。Rabタンパク質のアミノ酸配列から、Rasスーパーファミリーメンバーに特有な高度に保存されたGTP結合ドメインが明らかになった。小胞膜において、GTP結合ドメインがVAMPと相互作用する。小胞が標的膜に到達すると、標的膜のGTPアーゼ活性化タンパク質(GAP)がRabタンパク質をGDP結合型に変換する。サイトゾルタンパク質であるグアニンヌクレオチド解離因子(GDI)が、小胞膜からGDP結合Rabを解離させる。幾つかのRabアイソフォームが同定され、細胞内の特定の区画と關与することが明らかになった。例えば、Rab 4及びRab 5、Rab 11が初期エンドソームに關与し、Rab 7及びRab 9が後期エンドソームに關与する。これらの相違

によって、小胞とそれらの標的膜との関連の選択が可能となる(Novick, P., and Zerial, M. (1997) *Cur. Opin. Cell Biol.* 9:496-504)。

#### 【0008】

輸送小胞と標的膜とのドッキングには、小胞SNAP受容体(v-SNARE)及び標的膜SNAP受容体(t-SNARE)とある別の膜タンパク質及びサイトゾルタンパク質との複合体の形成を伴う。これらのタンパク質とは別の多くのタンパク質が同定されたが、ドッキング複合体におけるこれらのタンパク質の正確な機能については分かっていない(Tellam, J.T. et al. (1995) *J. Biol. Chem.* 270:5857-63; Hata, Y. and Sudhof, T.C. (1995) *J. Biol. Chem.* 270:13022-28)。N-エチルマレイミド感受性因子(NSF)及び可溶性NSF付着タンパク質( $\sigma$ -SNAP及び  $\alpha$ -SNAP)の2つのタンパク質は、酵母からヒトまでに保存され、殆どの細胞内膜融合反応において機能する。Sec 1が、膜融合を含む分泌経路における多くの異なった段階で機能する酵母タンパク質のファミリーを表す。近年、Munc-18と呼ぶSec 1の哺乳動物相同体が同定された(Katagiri, H. 他 (1995) *J. Biol. Chem.* 270:4963-66; Hat 他、前出)。

#### 【0009】

SNARE複合体は3つのSNARE分子を含み、内1つは小胞膜、残り2つは標的膜のSNARE分子である。それらが1つになって、4つのヘリックスコイルドコイルの棒状複合体を形成する。3つ全てのSNAREの膜固着ドメインが棒状複合体の一端から突き出ている。この複合体は、ミクソウイルス及びインフルエンザ、フィロウイルス(Ebola)、HIVレトロウイルス、SIVレトロウイルスなどのエンベロープウイルスに特有の融合タンパク質によって形成された棒状構造に類似している(Skehel, J.J., and Wiley, D.C. (1998) *Cell* 95:871-874)。膜融合に十分なSNARE複合体が存在することから、この複合体に参与するタンパク質が融合を制御すると報告された(Weber, T. et al. (1998) *Cell* 92:759-772)。例えば制御されたエキソサイトーシスを示すニューロンでは、ドッキングした小胞は、カルシウムの流入を誘発する脱分極までシナプス前膜と融合しない(Bennett, M.K., and Scheller, R.H. (1994) *Annu. Rev. Biochem.* 63:63-100)。シナプス小胞の内在性膜タンパク質であるシナプトタグミンは、ドッキング複合体のt-SNAREシ

ンタキシンと関連する。シナプトタグミンが負に荷電したリン脂質を有する複合体のカルシウムと結合することによって、サイトゾルSNAPタンパク質がシンタキシンからシナプトタグミンを変位させて融合が可能となる。従って、シナプトタグミンはニューロンの融合における負のレギュレータである(Littleton, J.T. et al. (1993) Cell 74:1125-1134)。シナプス小胞の最も豊富な膜タンパク質は、4つの膜貫通ドメインを有する38 kDaのタンパク質、糖タンパク質シナプトフィジンであることが分かった。シナプトフィジンの機能は未知であるが、そのカルシウム結合能力やチロシンリン酸化、並びに神経組織における広範な分布から、神経分泌において役割を果たしている可能性があると思われる(Bennett, 前出)。

#### 【0010】

脂質及び膜関連タンパク質などの異なった細胞膜成分を含む頂部や側底部それぞれに分極化される正確なタンパク質の輸送は、上皮細胞の正しい機能にとって特に重要である。ある種のタンパク質は、細胞の種類や成長状態によって頂部に分類されたり側底部に分類されたりする。例えば、細胞が高密度で培養された場合は、腎臓陰イオン交換体(kAE1)が頂部から側底部に再度ターゲティングされる。タンパク質kanadaptinは、kAE1の細胞質ドメインに結合するタンパク質として単離された。また、膜ではなく小胞にkAE1と共に局在化することから、kanadaptinの機能がkAE1含有小胞を側底標的膜に誘導することを示唆している(Chen, J. et al. (1998) J. Biol. Chem. 273:1038-1043)。

#### 【0011】

多数のヒトの疾患や異常症の病因は、タンパク質の細胞小器官や細胞表面への輸送障害に起因しうる。膜結合受容体やイオンチャネルの輸送障害は、嚢胞性線維症(嚢胞性線維症膜コンダクタンス制御因子; CFTR)及びグルコース ガラクトース吸収不全症候群( $\text{Na}^+$  / グルコース共輸送体)、高コレステロール血症(低密度リポ蛋白(LDL)受容体)、各型の糖尿病(インスリン受容体)に関連する。異常なホルモン分泌は、尿崩症(バソプレシン)、高血糖症及び低血糖症(インスリン、グルカゴン)、グレーブス病及び甲状腺腫(甲状腺ホルモン)、クッシング病及び副腎機能不全(副腎皮質刺激ホルモン; ACTH)に関係する。

## 【0012】

癌細胞は、過剰な量のホルモンや他の生物学的に活性なペプチドを分泌する。腫瘍細胞によって過剰に分泌される生物学的に活性なペプチドに関連する疾患には、膵島細胞腫から分泌されるインスリンの増大による空腹時低血糖症と、副腎髄質及び交感神経性傍神経節の褐色細胞腫から分泌されるエピネフリン及びノルエピネフリンの増大による高血圧症と、腸の腫瘍から分泌される過剰な量の血管作動性物質（セロトニン、ブラジキニン、ヒスタミン、プロスタグランジン、及びポリペプチドホルモン）による腹部痙攣及び下痢、弁膜性心疾患を含むカルチノイド症候群とが含まれる。生物学的に活性なペプチド（腫瘍から分泌されるとは推定されないペプチド）の異所性合成及び分泌には、肺癌及び膵臓癌におけるACTH及びバソプレシンと、肺癌及び膀胱癌における副甲状腺ホルモンと、肺癌及び乳癌におけるカルシトニンと、延髄甲状腺癌における甲状腺刺激ホルモンとが含まれる。

## 【0013】

様々なヒトの病原体は、それ自体に都合がいいように宿主細胞のタンパク質輸送経路を変更してしまう。例えば、HIVタンパク質Nefは、クラスリン被覆小孔を介してHIVタンパク質Nef自身のエンドサイトーシスを促進してCD4分子の細胞表面の発現をダウンレギュレートする。Nefのこの機能は、感染細胞からHIVを体中に行き渡らせるのに重要である。近年同定された4つの延長したコイルドコイルドメインを有するヒトタンパク質Nef関連因子1 (Naf1) がNefと関連することがわかった。Naf1が過剰に発現するとCD4の細胞表面における発現が増大するが、この効果はNefによって抑制されうる (Fukushi, M. et al. (1999) FEBS Lett. 442:83-88)。

## 【0014】

新規の各小胞関連分子及びそれらをコードするポリヌクレオチドの発見により、輸送障害及び自己免疫/炎症の異常、癌の診断及び治療、予防に有用な新規の組成物を提供することで当分野のニーズに答えることができる。

## 【0015】

(発明の要約)

本発明は、総称して「VEAS」、個別にはそれぞれ「VEAS-1」及び「VEAS-2」、「VEAS-3」、「VEAS-4」、「VEAS-5」、「VEAS-6」、「VEAS-7」、「VEAS-8」、「VEAS-9」、「VEAS-10」、「VEAS-11」、「VEAS-12」、「VEAS-13」、「VEAS-14」、「VEAS-15」、「VEAS-16」、「VEAS-17」、「VEAS-18」、「VEAS-19」と呼ぶ小胞関連分子である精製されたポリペプチドを提供する。本発明の一実施態様では、a) SEQ ID NO:1 - 19からなる一群から選択されたアミノ酸配列、b) SEQ ID NO:1 - 19からなる一群から選択されたアミノ酸配列と90%以上の配列同一性を有する自然発生のアミノ酸配列、c) SEQ ID NO:1 - 19からなる一群から選択されたアミノ酸配列の生物学的に活性な断片、またはd) SEQ ID NO:1 - 19からなる一群から選択されたアミノ酸配列の免疫原性断片を含む単離されたポリペプチドを提供する。別法では、SEQ ID NO:1 - 19のアミノ酸配列を含む単離されたポリペプチドを提供する。

#### 【0016】

更に本発明は、a) SEQ ID NO:1 - 19からなる一群から選択されたアミノ酸配列、b) SEQ ID NO:1 - 19からなる一群から選択されたアミノ酸配列と90%以上の配列同一性を有する自然発生のアミノ酸配列、c) SEQ ID NO:1 - 19からなる一群から選択されたアミノ酸配列の生物学的に活性な断片、またはd) SEQ ID NO:1 - 19からなる一群から選択されたアミノ酸配列の免疫原性断片を含むポリペプチドをコードする単離されたポリヌクレオチドを提供する。別法では、このポリヌクレオチドは、SEQ ID NO:20 - 38からなる一群から選択される。

#### 【0017】

更に、本発明は、a) SEQ ID NO:1 - 19からなる一群から選択されたアミノ酸配列、b) SEQ ID NO:1 - 19からなる一群から選択されたアミノ酸配列と90%以上の配列同一性を有する自然発生のアミノ酸配列、c) SEQ ID NO:1 - 19からなる一群から選択されたアミノ酸配列の生物学的に活性な断片、またはd) SEQ ID NO:1 - 19からなる一群から選択されたアミノ酸配列の免疫原性断片を含むポリペプチドをコードするポリヌクレオチドと機能的に結合されたプロモーター配列を含む組換えポリヌクレオチドを提供する。別法では、本発明は、この組換えポリヌクレオチドで形質転換された細胞を提供する。更なる別法では、本発明は、この組

換えポリヌクレオチドを含む遺伝子組換え生物を提供する。

【0018】

また、本発明は、a) SEQ ID NO:1 - 19からなる一群から選択されたアミノ酸配列、b) SEQ ID NO:1 - 19からなる一群から選択されたアミノ酸配列と90%以上の配列同一性を有する自然発生のアミノ酸配列、c) SEQ ID NO:1 - 19からなる一群から選択されたアミノ酸配列の生物学的に活性な断片、またはd) SEQ ID NO:1 - 19からなる一群から選択されたアミノ酸配列の免疫原性断片を含むポリペプチドの製造方法を提供する。この方法は、a) このポリペプチドの発現に好適な条件の下で、このポリペプチドをコードするポリヌクレオチドと機能的に結合されたプロモーター配列を含む組換えポリヌクレオチドで形質転換された細胞を培養するステップと、b) このように発現したポリペプチドを回収するステップとを含む。

【0019】

更に、本発明は、a) SEQ ID NO:1 - 19からなる一群から選択されたアミノ酸配列、b) SEQ ID NO:1 - 19からなる一群から選択されたアミノ酸配列と90%以上の配列同一性を有する自然発生のアミノ酸配列、c) SEQ ID NO:1 - 19からなる一群から選択されたアミノ酸配列の生物学的に活性な断片、またはd) SEQ ID NO:1 - 19からなる一群から選択されたアミノ酸配列の免疫原性断片を含むポリペプチドに特異的に結合する単離された抗体を提供する。

【0020】

更に、本発明は、a) SEQ ID NO:20 - 38からなる一群から選択されたポリヌクレオチド配列、b) SEQ ID NO:20 - 38からなる一群から選択されたポリヌクレオチド配列と90%以上の配列同一性を有する自然発生のポリヌクレオチド配列、c) 前記a) に相補的なポリヌクレオチド配列、またはd) 前記b) に相補的なポリヌクレオチド配列を含む単離されたポリヌクレオチドを提供する。別法では、このポリヌクレオチドは、少なくとも60個の連続するヌクレオチドを含む。

【0021】

更に、本発明は、a) SEQ ID NO:20 - 38からなる一群から選択されたポリヌクレオチド配列、b) SEQ ID NO:20 - 38からなる一群から選択されたポリヌクレオ

チドと90%以上の配列同一性を有する自然発生のポリヌクレオチド配列、c) 前記a) に相補的なポリヌクレオチド配列、またはd) 前記b) に相補的なポリヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド配列を有するサンプル中の標的ポリヌクレオチドを検出する方法を提供する。この方法は、a) 前記サンプル内の標的ポリヌクレオチドと相補的な配列を含む少なくとも16個の連続するヌクレオチドを含むプローブと前記サンプルをハイブリダイズさせるステップであって、前記プローブと前記標的ポリヌクレオチドとでハイブリダイゼーション複合体が形成される条件の下、前記プローブが前記標的ポリヌクレオチドに特異的にハイブリダイズする、該ステップと、b) 前記ハイブリダイゼーション複合体の存在の有無を検出し、存在する場合には随意選択でその量を測定するステップとを含む。別法では、前記プローブは、少なくとも30個の連続するヌクレオチドを含む。更なる別法では、前記プローブは、少なくとも60個の連続するヌクレオチドを含む。

#### 【0022】

更に、本発明は、a) SEQ ID NO:1 - 19からなる一群から選択されたアミノ酸配列、b) SEQ ID NO:1 - 19からなる一群から選択されたアミノ酸配列と90%以上の配列同一性を有する自然発生のアミノ酸配列、c) SEQ ID NO:1 - 19からなる一群から選択されたアミノ酸配列の生物学的に活性な断片、またはd) SEQ ID NO:1 - 19からなる一群から選択されたアミノ酸配列の免疫原性断片を含むポリペプチド有効量と好適な医薬用賦形剤とを含む医薬品組成物を提供する。更に、本発明は、患者にこの医薬品組成物を投与することを含む、機能的VEASの発現の低下に関連した疾患やその症状の治療方法を提供する。

#### 【0023】

更に、本発明は、a) SEQ ID NO:1 - 19からなる一群から選択されたアミノ酸配列、b) SEQ ID NO:1 - 19からなる一群から選択されたアミノ酸配列と90%以上の配列同一性を有する自然発生のアミノ酸配列、c) SEQ ID NO:1 - 19からなる一群から選択されたアミノ酸配列の生物学的に活性な断片、またはd) SEQ ID NO:1 - 19からなる一群から選択されたアミノ酸配列の免疫原性断片を含むポリペプチドのアゴニストとして効果的な化合物をスクリーニングする方法を提供する。こ

の方法は、a) 前記ポリペプチドを含むサンプルを化合物に曝露するステップと、b) 前記サンプルのアゴニスト活性を検出するステップとを含む。別法では、本発明は、前記方法によって同定されたアゴニスト化合物と好適な医薬用賦形剤とを含む医薬品組成物を提供する。更なる別法では、本発明は、この医薬品組成物の患者への投与を含む、機能的VEASの発現の低下に関連した疾患やその症状の治療方法を提供する。

#### 【0024】

更に、本発明は、a) SEQ ID NO:1 - 19からなる一群から選択されたアミノ酸配列、b) SEQ ID NO:1 - 19からなる一群から選択されたアミノ酸配列と90%以上の配列同一性を有する自然発生のアミノ酸配列、c) SEQ ID NO:1 - 19からなる一群から選択されたアミノ酸配列の生物学的に活性な断片、またはd) SEQ ID NO:1 - 19からなる一群から選択されたアミノ酸配列の免疫原性断片含むポリペプチドのアンタゴニストとして効果的な化合物をスクリーニングする方法を提供する。この方法は、a) 前記ポリペプチドを含むサンプルを化合物に曝露するステップと、b) 前記サンプルのアンタゴニスト活性を検出するステップとを含む。別法では、本発明は、前記方法によって同定されたアンタゴニスト化合物と好適な医薬用賦形剤とを含む医薬品組成物を提供する。更なる別法では、本発明は、この医薬品組成物の患者への投与を含む、機能的VEASの過剰な発現に関連した疾患やその症状の治療方法を提供する。

#### 【0025】

更に本発明は、SEQ ID NO:20 - 38からなる一群から選択された配列を含む標的ポリヌクレオチドの発現を変えるのに効果的な化合物をスクリーニングする方法であって、a) 前記標的ポリヌクレオチドを含むサンプルを化合物に曝露するステップと、b) 前記標的ポリヌクレオチドの発現の変化を検出するステップとを含む、該スクリーニング方法を提供する。

#### 【0026】

(本発明の記載について)

本発明のタンパク質及び核酸配列、方法について説明する前に、本発明は、ここに開示した特定の装置及び材料、方法に限定されず、その実施形態を変更でき

ることを理解されたい。また、ここで用いられる用語は、特定の実施例のみを説明する目的で用いられたものであり、後述の請求の範囲によってのみ限定され、本発明の範囲を限定することを意図したものではないということも理解されたい。

【0027】

本明細書及び請求の範囲において単数形を表す「或る」、「その（この等）」は、文脈で明確に示していない場合は複数形を含むことに注意されたい。従って、例えば「或る宿主細胞」は複数の宿主細胞を含み、その「抗体」は複数の抗体は含まれ、当業者には周知の等価物なども含まれる。

【0028】

本明細書で用いた全ての科学技術用語は、別の方法で定義されていない限り、本発明の属する技術分野の一般的な技術者が普通に解釈する意味と同じである。本明細書で記述したものと類似、或いは同等の全ての装置及び材料、方法は本発明の実施及びテストに使用できるが、好適な装置及び材料、方法をここに記す。本明細書に記載の全ての文献は、本発明に関連して使用する可能性のある文献に記載された細胞系、プロトコル、試薬、ベクターを記述し開示するために引用した。従来の発明を引用したからと言って、本発明の新規性が損なわれると解釈されるものではない。

【0029】

（定義）

用語「VEAS」は、天然、合成、半合成或いは組換え体など全ての種（特にウシ、ヒツジ、ブタ、マウス、ウマ及びヒトを含む哺乳動物）から得られる実質的に精製されたVEASのアミノ酸配列を指す。

【0030】

用語「アゴニスト」は、VEASの生物学的活性を強化したり、模倣する分子を指す。このアゴニストは、VEASに直接相互作用するか、或いはVEASが関与する生物学的経路の成分と作用して、VEASの活性を調節するタンパク質、核酸、糖質、小分子、任意の他の化合物や組成物を含み得る。

【0031】

用語「アレル変異配列」は、VEASをコードする遺伝子の別の形を指す。アレル変異配列は、核酸配列における少なくとも1つの変異によって生じ、変異mRNA若しくは変異ポリペプチドになり、これらの構造や機能は変わる場合もあれば変わらない場合もある。ある遺伝子は、自然発生型のアレル変異配列が存在しないもの、1つ或いは多数存在するものがある。一般にアレル変異配列を生じる変異は、ヌクレオチドの自然な欠失、付加、或いは置換による。これらの各変異は、単独或いは他の変異と同時に起こり、所定の配列内で一回或いはそれ以上生じる。

#### 【0032】

VEASをコードする「変異」核酸配列は、様々なヌクレオチドの欠失、挿入、或いは置換が起こっても、VEASと同じポリペプチド或いはVEASの機能特性の少なくとも1つを備えるポリペプチドを指す。この定義には、VEASをコードするポリヌクレオチド配列の正常な染色体の遺伝子座ではない位置でのアレル変異配列との不適當或いは予期しないハイブリダイゼーション、並びにVEASをコードするポリヌクレオチドの特定のオリゴヌクレオチドプローブを用いて容易に検出可能な或いは検出困難な多形性を含む。コードされたタンパク質も変異され得り、サイレント変化を生じVEASと機能的に等価となるアミノ酸残基の欠失、挿入、或いは置換を含み得る。意図的なアミノ酸置換は、生物学的或いは免疫学的にVEASの活性が保持される範囲で、残基の極性、電荷、溶解度、疎水性、親水性、及び/または両親媒性についての類似性に基づいて成され得る。例えば、負に荷電したアミノ酸にはアスパラギン酸及びグルタミン酸が含まれ、正に荷電したアミノ酸にはリシン及びアルギニンが含まれ得る。類似の親水性の値をもち極性非荷電側鎖を有するアミノ酸には、アスパラギン、グルタミン、セリン、トレオニンが含まれ得る。類似の親水性の値をもち非荷電側鎖を有するアミノ酸には、ロイシン、イソロイシン、バリン、グリシン、アラニン、フェニルアラニン及びチロシンが含まれ得る。

#### 【0033】

用語「アミノ酸」及び「アミノ酸配列」は、オリゴペプチド、ペプチド、ポリペプチド、タンパク質配列、或いはそれらの任意の断片を指し、天然の分子及び合成分子を含む。「アミノ酸配列」が自然発生のタンパク質分子である場合、「

「アミノ酸配列」及び類似の用語は、アミノ酸配列を、記載したタンパク質分子に関連する完全で元のままのアミノ酸配列に限定するものではない。

【0034】

用語「増幅」は、核酸配列の複製物を作製することに関連する。一般に増幅は、この技術分野で周知のポリメラーゼ連鎖反応（PCR）技術によって行われる。

【0035】

用語「アンタゴニスト」は、VEASの生物学的活性を阻害或いは減弱する分子である。アンタゴニストは、VEASに直接相互作用するか、或いはVEASが関与する生物学的経路の成分と作用して、VEASの活性を調節する抗体、核酸、糖質、小分子、任意の他の化合物や組成物などのタンパク質を含み得る。

【0036】

用語「抗体」は、抗原決定基と結合可能なFab及びF(ab')<sub>2</sub>、及びそれらの断片、Fv断片などの無傷の分子を指す。VEASポリペプチドと結合する抗体は、抗体を免疫する小ペプチドを含む無傷の分子またはその断片を用いて産生可能である。動物（例えば、マウス、ラット、若しくはウサギ）を免疫化するのに使用されるポリペプチド或いはオリゴペプチドは、RNAの翻訳から、或いは化学的に合成可能であり、必要に応じて担体タンパク質と結合させることも可能である。ペプチドと化学的に結合した一般に用いられる担体は、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ニアン（KLH）を含む。次ぎに、この結合したペプチドを用いて動物を免疫化する。

【0037】

用語「抗原決定基」は、特定の抗体と接触する分子の領域（即ちエピトープ）を指す。タンパク質或いはタンパク質の断片が、宿主動物を免疫化するのに用いられるとき、このタンパク質の種々の領域は、抗原決定基（タンパク質上の特定の領域或いは三次元構造体）に特異的に結合する抗体の産生を誘発し得る。抗原決定基は、抗体と結合するために無傷の抗原（即ち、免疫応答を引き出すために用いられる免疫原）と競合し得る。

【0038】

本明細書において「アンチセンス」は、特定の核酸配列のセンス鎖と塩基対を

形成し得る任意の組成物を指す。アンチセンス成分には、DNAと、RNAと、ペプチド核酸（PNA）と、ホスホロチオネートやメチルホスホネート、ベンジルホスホネート（benzylphosphonate）などの変更された背骨連結（backbone linkage）を有するオリゴヌクレオチドと、2'-メトキシエチル糖または2'-メトキシエトキシ糖などの変更された糖を有するオリゴヌクレオチドと、5-メチルシトシンまたは2'-deoxyuracil、7-deaza-2'-deoxyguanosineなどの変更された塩基を有するオリゴヌクレオチドを含み得る。アンチセンス分子は、化学合成や転写を含む任意の方法で作製することができる。相補的アンチセンス分子は、一度細胞に導入されると、細胞によって作られた自然発生の核酸配列と塩基対となって二重鎖を形成し、転写や翻訳を阻害する。「負」または「マイナス」という表現はアンチセンス鎖であり、「正」または「プラス」という表現はセンス鎖である。

#### 【0039】

用語「生物学的に活性」は、自然発生分子の構造的、調節的、或いは生化学的な機能を有するタンパク質を指す。同様に、用語「免疫学的に活性」は、天然或いは組換え体のVEAS、合成のVEASまたはそれらの任意のオリゴペプチドが、適当な動物或いは細胞の特定の免疫応答を誘発して特定の抗体と結合する能力を指す。

#### 【0040】

用語「相補的」及び「相補性」は、ポリヌクレオチド同士が自然に結合して塩基対を形成することを指す。例えば、配列「5' A - G - T 3'」が相補的な配列「3' T - C - A 5'」と結合する。2つの一本鎖分子間の相補性は、幾つかの核酸のみが結合する部分的な場合、或いは一本鎖間に完全な相補性が存在して完全な相補性となる場合もあり得る。核酸鎖間の相補性の程度は、核酸鎖間のハイブリダイゼーションの効率及び強度に大きな影響を与える。このことは、核酸鎖間の結合に左右される増幅反応、並びにペプチド核酸（PNA）分子の設計若しくは使用において特に重要である。

#### 【0041】

「所定のポリヌクレオチド配列を含む組成物」または「所定のアミノ酸配列を含む組成物」は広い意味で、所定のヌクレオチド配列若しくはアミノ酸配列を含

む任意の組成物を指す。この組成物は、乾燥した製剤或いは水溶液を含み得る。VEAS若しくはVEASの断片をコードするポリヌクレオチド配列を含む組成物は、ハイブリダイゼーションプローブとして使用され得る。このプローブは、凍結乾燥状態で保存可能であり、糖質などの安定化剤と結合させることが可能である。ハイブリダイゼーションにおいて、プローブは、塩（例えば、NaCl）及び界面活性剤（例えば、SDS：ドデシル硫酸ナトリウム）、その他の物質（例えば、デンハート液、乾燥ミルク、サケ精子DNAなど）を含む水溶液に展開され得る。

#### 【0042】

「コンセンサス配列」は、不要な塩基を分離するためにシーケンシングされた核酸配列であって、XL-PCR™（Perkin Elmer, Norwalk, CT）を用いて5'及び/または3'の方向に伸長されてシーケンシングされた核酸配列、或いはGELVIEW断片構築システム（GCG, Madison, WI）などのフラグメントの構築のためのコンピュータプログラムを用いて1つ或いはそれ以上のインサイト社クローン、及び場合によっては、1つ以上のパブリックのドメインESTの重複によって構築された核酸配列を指す。伸長及び重複の両方によって構築されるコンセンサス配列もある。

#### 【0043】

用語「保存的なアミノ酸置換」は、元のタンパク質の特性を殆ど変えない置換を指す。即ち、置換によってそのタンパク質の構造や機能が大きくは変わらず、そのタンパク質の構造、特にその機能が保存される。以下に、あるタンパク質の元のアミノ酸が別のアミノ酸に置換される保存的なアミノ酸置換を示す。

元の残基	保存的な置換
Ala	Gly, Set
Arg	His, Lys
Asn	Asp, Gln, His
Asp	Asn, Glu
Cys	Ala, Ser
Gln	Asn, Glu, His
Glu	Asp, Gln, His

Gly	Ala
His	Asn, Arg, Gln, Glu
Ile	Leu, Val
Leu	Ile, Val
Lys	Arg, Gln, Glu
Met	Leu, Ile
Phe	His, Met, Leu, Trp, Tyr
Ser	Cys, Thr
Thr	Ser, Val
Trp	Phe, Tyr
Tyr	His, Phe, Trp
Val	Ile, Leu, Thr

一般に、保存されたアミノ酸置換の場合は、a) 置換された領域のポリペプチドの骨格構造、例えば、シートやヘリックス高次構造、b) 置換された部位の分子の電荷または疎水性、及び/または、c) 側鎖の大半が維持される。

【0044】

用語「欠失」は、1個以上のアミノ酸残基が欠如するアミノ酸配列の変化、或いは1個以上のヌクレオチドが欠如する核酸配列の変化を指す。

【0045】

用語「誘導体」は、化学修飾されたポリヌクレオチドまたはポリペプチドを指す。ポリヌクレオチド配列の化学修飾には、例えば、アルキル基、アシル基、ヒドロキシル基、或いはアミノ基による水素の置換がある。誘導体ポリヌクレオチドは、自然分子（未修飾の分子）の生物学的或いは免疫学的機能の少なくとも1つを維持するポリペプチドをコードする。誘導体ポリペプチドとは、もとのポリペプチドの生物学的機能、或いは免疫学的機能の少なくとも1つを維持する、グリコシル化、ポリエチレングリコール化、或いは任意の同様のプロセスによって修飾されたポリペプチドのことである。

【0046】

用語「断片」は、VEASまたはVEASをコードするポリヌクレオチドの固有の部分

であって、その親配列 (parent sequence) と同一であるがその配列より長さが短いものを指す。「断片」の最大の長さは、親配列から1つのヌクレオチド/アミノ酸残基を差し引いた長さである。例えば、ある断片は、5~1000個の連続するヌクレオチド或いはアミノ酸残基を含む。プローブ、プライマー、抗原、治療用分子、またはその他の目的に用いる断片は、少なくとも5、10、15、16、20、25、30、40、50、60、75、100、150、250若しくは500個の連続するヌクレオチド或いはアミノ酸残基の長さである。断片は、優先的に分子の特定の領域から選択される場合もある。例えば、ポリペプチド断片は、所定の配列に示された最初の250若しくは500のアミノ酸(或いは、ポリペプチドの最初の25%または50%)から選択された連続するアミノ酸の所定の長さを含み得る。これらの長さは一例であり、配列表及び表、図面を含む明細書に記載の任意の長さが、本発明の実施例に含まれ得る。

#### 【0047】

SEQ ID NO:20 - 38のある断片は、例えば、同じゲノム内の他の配列とは異なる、SEQ ID NO:20 - 38を明確に同定する固有のポリヌクレオチド配列の領域を含む。SEQ ID NO:20 - 38のある断片は、例えば、ハイブリダイゼーションや増幅技術、またはSEQ ID NO:20 - 38を関連ポリヌクレオチド配列から区別する類似の方法に有用である。ある断片と一致するSEQ ID NO:20 - 38の正確な断片の長さや領域は、その断片の目的に基づいて当分野で一般的な技術によって日常的に測定できる。

#### 【0048】

SEQ ID NO:1 - 19のある断片は、SEQ ID NO:20 - 38のある断片によってコードされる。SEQ ID NO:1 - 19のある断片は、特異的にSEQ ID NO:1 - 19を同定する固有のアミノ酸配列の領域を含む。例えば、SEQ ID NO:1 - 19のある断片は、特異的にSEQ ID NO:1 - 19を認識する抗体の作製用の免疫原性ペプチドとして有用である。ある断片と一致するSEQ ID NO:1 - 19の正確な断片の長さや領域は、その断片の目的に基づいて当分野で一般的な技術によって日常的に測定できる。

#### 【0049】

用語「類似性」は相補性の程度を表す。これには、部分的類似性と完全な類似

性とがある。用語「同一性」を「類似性」とも言える。同一の配列と標的の核酸とのハイブリダイゼーションが少なくとも部分的に阻止される部分的に相補的な配列は、「実質的に類似」と呼ばれる。完全に相補的な配列と標的の配列とのハイブリダイゼーションの阻止は、緩いストリンジェントな条件の下、ハイブリダイゼーションアッセイ（サザンブロットニング或いはノーザンブロットニング法、溶液ハイブリダイゼーション等）を用いて検査される。実質的に類似の配列或いはハイブリダイゼーションプローブは、緩いストリンジェントな条件の下、完全に類似（同一）の配列と標的の配列との結合に対して競合して抑制する。これは、緩いストリンジェントな条件の下では非特異的な結合が許容されるということではなく、緩いストリンジェントな条件では、2つの配列の互いへの結合が特異的（即ち、選択的）に相互作用しなければならない。部分的な相補性ともいえない（例えば、30%未満の類似性或いは同一性）第2の標的配列を用いて、非特異的結合が存在しないことの検査が可能である。非特異的結合が存在しない場合は、実質的に類似配列或いはプローブが第2の非相補的標的配列とハイブリダイズしない。

#### 【0050】

ポリヌクレオチド配列についての用語「パーセントの同一性」又は「%の同一性」とは、標準化されたアルゴリズムを用いてアラインメントされる、2つ以上のポリヌクレオチド配列間の一致する残基の百分率のことである。このようなアルゴリズムは、標準化され再現できる方法で、2つの配列間のアラインメントを最適化するべく、配列にギャップを挿入して、より意味をもつ2つの配列間の比較を行うことができる。

#### 【0051】

ポリヌクレオチド配列間の同一性のパーセントは、MEGALIGN version 3.12e配列アラインメントプログラムに組込まれるCLUSTAL Vアルゴリズムのデフォルトパラメータを用いて決定可能である。このプログラムはLASERGENEソフトウェアパッケージの一部であり、分子生物学分析プログラム一式（DNASTAR, Madison WI）である。このCLUSTAL Vは、Higgins, D.G. 及び P.M. Sharp (1989) CABIOS 5:151-153、Higgins, D.G. 他 (1992) CABIOS 8:189-191に記載されている。ポ

リヌクレオチド配列の対のアライメントの場合、デフォルトパラメーターは、Ktuple=2、gap penalty=5、window=4、「diagonals saved」=4と設定する。「重み付けされた」残基重み付け表が、デフォルトとして選択された。同一性のパーセントは、アラインメントされたポリヌクレオチド配列の対の「類似性のパーセント」としてCLUSTAL Vによって報告される。

#### 【0052】

別法では、一般に用いられ、無料で入手可能な配列比較アルゴリズム一式が、NCBI、Bethesda、MD、及びインターネット (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>) などから入手できるNational Center for Biotechnology Information (NCBI) Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) (Altschul, S.F. 他 (1990) J. Mol. Biol. 215:403-410)によって得られる。このBLASTソフトウェア一式には、既知のポリヌクレオチド配列と様々なデータベースの別のポリヌクレオチド配列とのアラインメントに用いられる「blastn」を含む、様々な配列分析プログラムが含まれる。「BLAST 2 Sequences」と呼ばれるツールが入手可能であり、2つのヌクレオチド配列の対を直接比較するために用いられる。「BLAST 2 Sequences」は、<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gorf/b12.html>にアクセスして、対話形式で利用ができる。「BLAST 2 Sequences」ツールは、blastn 及び blastp (以下に記載)の両方に用いることができる。BLASTプログラムは、一般的には、デフォルトを設定するギャップ及び他のパラメーターと共に用いられる。例えば、2つのヌクレオチド配列を比較する場合、ある者は、デフォルトパラメータに設定された「BLAST 2 Sequences」ツールVersion 2.0.12 (April-21-2000)でblastnを使用するであろう。そのようなデフォルトパラメータは、例えば、以下のようになる。

Matrix: BLOSUM62

Reward for match: 1

Penalty for mismatch: -2

Open Gap: 5 及び Extension Gap: 2 penalties

Gap x drop-off: 50

Expect: 10

Word Size: 11

Filter: on

同一性のパーセントは、例えば、特定の配列番号で決められた、所定の配列の全長に対して測定してもよいし、それより短い長さに対して、例えば、ある大きな所定の配列から得られた断片、例えば、連続する少なくとも、20または30、40、50、70、100、200のヌクレオチドの断片の長さに対して測定してもよい。このような長さは単なる例であり、配列表及び表、図面を含む明細書に記載の配列の任意の長さの断片を用いて、同一性のパーセントが測定される長さを示すことができる。

#### 【0053】

高い同一性を示さない核酸配列でも、遺伝子コードの縮重によって類似のアミノ酸配列をコードし得る。縮重を利用して核酸配列を変え、それぞれが実質的に同じタンパク質をコードする様々な核酸配列を作製できることを理解されたい。

#### 【0054】

ポリペプチド配列に用いられる用語「パーセントの同一性」又は「%の同一性」とは、標準化されたアルゴリズムを用いてアラインメントされる2つ以上のポリペプチド配列間の一致する残基の百分率のことである。ポリペプチド配列アラインメントの方法は周知である。アラインメント方法の中には、保存的なアミノ酸置換を考慮したものもある。詳細に上述したこのような保存的な置換は、一般に、置換部位の電荷や疎水性が保存され、ポリペプチドの構造（従って機能も）が保存される。

#### 【0055】

ポリペプチド配列間の同一性のパーセントは、MEGALIGN バージョン3.12e配列アラインメントプログラム（上記）に組込まれるCLUSTAL Vアルゴリズムのデフォルトパラメータを用いて決定可能である。CLUSTAL Vを用いる対方式のポリペプチド配列のアライメントの場合、デフォルトパラメーターは、Ktuple=1、gap penalty=3、window=5、及び「diagonals saved」=5と設定する。PAM250マトリクスが、デフォルトの残基重み付け表として選択される。ポリヌクレオチドアラインメントと同様に、アラインメントされたポリペプチド配列の対の同一性のパー

セントは、「類似性のパーセント」としてCLUSTAL Vによって報告される。

【0056】

別法では、NCBI BLASTソフトウェア一式が用いられる。例えば、2つのポリペプチド配列を対で比較をする場合、ある者は、デフォルトパラメータで設定された「BLAST 2 Sequences」ツールVersion 2.0.12 (April-21-2000)でblastpを使用するであろう。そのようなデフォルトパラメータは、例えば、以下のようにする。

Matrix: BLOSUM62

Open Gap: 11 及び Extension Gap: 1 penalties

Gap x drop-off: 50

Expect: 10

Word Size: 3

Filter: on

同一性のパーセントは、例えば、特定の配列番号で決められた、所定のポリペプチド配列の全長に対して測定してもよいし、それより短い長さに対して、例えば、ある大きな所定のポリペプチド配列から得られた断片、例えば、連続する少なくとも15、20または30、40、50、70、150の残基の断片の長さに対して測定してもよい。このような長さは単なる例であり、配列表及び表、図面を含む明細書に記載の配列の任意の長さの断片を用いて、同一性のパーセントが測定される長さを示すことができる。

【0057】

「ヒト人工染色体 (HAC)」は、約6 kb (キロベース) ~ 10 MbのサイズのDNA配列を含み得り、安定した有糸分裂染色体の分離及び維持に必要な全ての要素を含む直鎖状の小染色体である。

【0058】

用語「ヒト化抗体」は、もとの結合能力を保持しつつよりヒトの抗体に似せるために、非抗原結合領域のアミノ酸配列が変えられた抗体分子を指す。

【0059】

「ハイブリダイゼーション」とは、所定のハイブリダイゼーション条件の下で

、ある一本鎖ポリヌクレオチドがある相補的な一本鎖と塩基対を形成するアニーリングのプロセスである。特異的なハイブリダイゼーションとは、2つの核酸配列が高い同一性を有することを意味する。アニーリングが許容される条件の下で、特異的なハイブリダイゼーション複合体が形成され、洗浄過程の後もハイブリダイズしたままである。洗浄過程は、ハイブリダイゼーションプロセスの厳密性即ちストリンジェント (stringency) の決定において特に重要であり、よりストリンジェントな条件では、非特異的な結合、即ち完全には一致しない核酸鎖間の対の結合が減少する。核酸配列間のアニーリングが許容される条件は、当業者によって日常的に決定され、ハイブリダイゼーションの間は一定であるが、洗浄過程は、目的のストリンジェントにするためにその最中に条件の変更が可能であり、ハイブリダイゼーション特異性が得られる。アニーリングが許容される条件は、例えば、温度が68℃で、約6×SSC、約1% (w/v) のSDS、並びに約100 µg/mlのせん断して変性したサケ精子DNAが含まれる。

#### 【0060】

一般に、ハイブリダイゼーションのストリンジェントは、洗浄過程を行う際の温度によっても左右される。この洗浄温度は通常、所定のイオン強度とpHにおける特定の配列の熱融点 ( $T_m$ ) より約5～20℃低く選択される。この $T_m$ は、(所定のイオン強度とpHの下) 標的の配列の50%が完全に一致するプローブとハイブリダイズする温度である。 $T_m$ を計算する式及び核酸のハイブリダイゼーションの条件は、周知であり、Sambrook, J. 他による、1989, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 第2版の1-3巻, Cold Spring Harbor Press, Plainview NY; 特に2巻の9章に記載されている。

#### 【0061】

本発明のポリヌクレオチド間の高いストリンジェントなハイブリダイゼーションでは、約0.2×SSC及び約1%のSDSの存在の下、約68℃で1時間の洗浄過程を含む。別法では、65℃、60℃、55℃、42℃の温度で行う。SSCの濃度は、約0.1%のSDSが存在の下、約0.1～2×SSCの範囲である。通常は、遮断剤を用いて非特異的なハイブリダイゼーションを阻止する。このような遮断剤には、例えば、約100～200 µg/mlの変性したサケ精子DNAが含まれ

る。約35～50%v/vの濃度のホルムアミドなどの有機溶剤が、例えば、RNAとDNAのハイブリダイゼーションなどの特定の場合に用いることができる。これらの洗浄条件の有用な改変は、当業者には周知である。特に高いストリンジェントな条件でのハイブリダイゼーションは、ヌクレオチド間の進化における類似性を示唆し得る。このような類似性は、それらのヌクレオチド及びコードされたポリペプチドが類似の役割を果たしていることを強く示唆する。

#### 【0062】

用語「ハイブリダイゼーション複合体」は、相補的な塩基間の水素結合によって、形成された2つの核酸配列の複合体を指す。ハイブリダイゼーション複合体は溶液中（例えば、 $C_0t$ または $R_0t$ 分析）で形成されるか、或いは溶液中の1つの核酸配列と固体の支持物（例えば、紙、膜、フィルター、チップ、ピン、或いはスライドガラス、または細胞及びその核酸を固定する任意の適当な基板）に固定されたもう一つの核酸配列とで形成され得る。

#### 【0063】

用語「挿入」或いは「付加」は、1個以上のアミノ酸残基或いはヌクレオチドがそれぞれ追加されるアミノ酸配列或いは核酸配列の変化を指す。

#### 【0064】

「免疫応答」は、炎症性疾患及び外傷、免疫異常、感染症、遺伝病などに関連する症状を指す。これらの症状は、細胞系及び全身防衛系に影響を及ぼすサイトカイン及びケモカイン、別の情報伝達分子などの様々な因子の発現という特徴をもつ。

#### 【0065】

用語「マイクロアレイ」は、基板上に配列されたそれぞれ異なったポリヌクレオチドの配列を指す。

#### 【0066】

マイクロアレイの文脈に用いられる用語「要素」或いは「アレイ要素」は、基板の表面に配列されたハイブリダイズ可能なポリヌクレオチドを指す。

#### 【0067】

用語「変調」は、VEASの活性の変化を指す。例えば、変調によって、VEASのタ

ンパク質活性、或いは結合特性、またはその他の生物学的特性、機能的特性或いは免疫学的特性の変化が起こる。

【0068】

用語「核酸」及び「核酸配列」は、ヌクレオチド、オリゴヌクレオチド、ポリヌクレオチド、或いはそれらの断片を指す。また、一本鎖若しくは二本鎖であって、センス鎖或いはアンチセンス鎖であるゲノム起源若しくは合成起源のDNA或いはRNA、ペプチド核酸（PNA）、任意のDNA様物質、及びRNA様物質を指す。

【0069】

「機能的に結合した」は、第1の核酸配列と第2の核酸配列が機能的な関係にある状態を指す。例えば、プロモーターがコード配列の転写または発現に影響を与える場合、そのプロモーターはそのコード配列に機能的に結合している。一般に、機能的に結合したDNA配列は、同じ読み枠内で2つのタンパク質をコードする領域が結合する必要がある場合は、非常に近接或いは連続する。

【0070】

「ペプチド核酸（PNA）」は、末端がリシンで終わるアミノ酸残基のペプチド骨格に結合した、少なくとも約5ヌクレオチドの長さのオリゴヌクレオチドを含む、アンチセンス分子又は抗遺伝子剤を指す。この末端のリシンにより、この組成物が溶解性となる。PNAは、相補的な一本鎖DNAやRNAに優先的に結合して転写物の伸長を止め、ポリエチレングリコール化して細胞における寿命を延ばし得る。

【0071】

「プローブ」とは、同一配列或いはアレル核酸配列、関連する核酸配列の検出に用いる、VEASやそれらの相補配列、またはそれらの断片をコードする核酸配列のことである。プローブは、検出可能な標識またはレポーター分子が結合され単離されたオリゴヌクレオチドやポリヌクレオチドである。典型的な標識には、放射性アイソトープ及びリガンド、化学発光試薬、酵素がある。「プライマー」とは、相補的な塩基対を形成して標的のポリヌクレオチドにアニーリング可能な、通常はDNAオリゴヌクレオチドである短い核酸である。プライマーがポリヌクレ

オチドにアニーリングした後、あるDNAポリメラーゼ酵素によって、標的のDNA一本鎖に沿って伸長される。プライマーの組は、例えば、PCR法における核酸配列の増幅（及び同定）に用いることができる。

#### 【0072】

本発明に用いられるプローブ及びプライマーは、既知の配列の少なくとも15の連続するヌクレオチドを含む。特異性を高めるために、より長いプローブ及びプライマーが用いることも可能である。例えば、開示した核酸配列の連続する少なくとも20または25、30、40、50、60、70、80、90、100、150のヌクレオチドを含む。プローブ及びプライマーは、上記した例より相当長いものも用いることができ、本明細書の表及び図面、配列表に示された任意の長さのヌクレオチドも用いることができることを理解されたい。

#### 【0073】

プローブ及びプライマーの準備及び使用方法については、例えば、Sambrook, J.他による、1989年、名称「Molecular Cloning: A Laboratory Manual」、第2版の1-3巻(Cold Spring Harbor Press, Plainview NY)、またはAusubel, F.M.他による、1987年、名称「Current Protocols in Molecular Biology」(Greene Pubi. Assoc. & Wiley-Intersciences, New York NY)、並びに Innis他による、1990年、名称「PCR Protocols, A Guide to Methods and Applications」(Academic Press, San Diego CA.)を参照されたい。PCR用のプライマーの組は、例えば、Primer (Version 0.5, 1991, Whitehead Institute for Biomedical Research, Cambridge MA)などのそのような目的のためのコンピュータプログラムを用いて、ある既知の配列から引き出すことができる。

#### 【0074】

プライマーとして用いるオリゴヌクレオチドは、当分野で周知のプライマー選択用のコンピュータプログラムで選択される。例えば、OLIGO 4.06ソフトウェアは、それぞれが最大100ヌクレオチドまでのPCR用のプライマーの対の選択、及び32,000塩基までの入力ポリヌクレオチド配列から最大5,000ヌクレオチドまでの大きなポリヌクレオチド及びオリゴヌクレオチドの分析に有用である。類似のプライマー選択用プログラムには、能力を拡大する追加の機能が含

まれている。例えば、PrimOUプライマー選択プログラム (Genome Center at University of Texas South West Medical Center, Dallas TXより入手可能) は、メガベース配列から特定のプライマーを選択できるため、ゲノムワイドスコープ (genome-wide scope) におけるプライマーの設計に有用である。Primer3プライマー選択プログラム (Whitehead Institute/MIT Center for Genome Research, Cambridge MAより入手可能) によって、ユーザーは、プライマー結合部位として避けたい配列を指定できる「非プライミングライブラリ (mispriming library)」を入力できる。また、Primer3は、特にマイクロアレイのオリゴヌクレオチドの選択に有用である (後の方の2つのプライマー選択プログラムのソースコードは、それぞれのソースから得ることができ、ユーザーのニーズを満たすように変更することもできる)。PrimerGenプログラム (UK Human Genome Mapping Project Resource Centre, Cambridge UK より入手可能) は、多数の配列アラインメントに基づいてプライマーを設計するため、アラインメントされた核酸配列の最も保存された領域或いは最も保存されていない領域のどちらかとハイブリダイズするプライマーを選択することができる。従って、このプログラムは、固有及び保存されたオリゴヌクレオチドやポリヌクレオチドの断片の同定に有用である。上記した任意の選択方法で同定されたオリゴヌクレオチドやポリヌクレオチドの断片は、例えば、PCR法やシーケンシングプライマー、マイクロアレイ要素、或いはサンプルの核酸の完全或いは部分的に相補的なポリヌクレオチドを同定する特定のプローブなどの、ハイブリダイゼーション技術に有用である。オリゴヌクレオチドの選択方法は、上記した方法に制限されるものではない。

#### 【0075】

本明細書における「組換え核酸」は天然の配列ではなく、2つ以上の配列の離れたセグメントを人工的に組み合わせた配列である。この人工の組み合わせは、化学合成によって作られる場合も多いが、前出のSambrook に記載されたような遺伝子工学の技術を用いて核酸の離れたセグメントを人工的に操作する方がより一般的である。この「組換え核酸」には、単に核酸の一部の追加または置換、欠失によって変更された核酸も含む。組換え核酸は、あるプロモーター配列に機能的に結合した核酸配列を含む場合もある。このような組換え核酸は、例えば、ある

細胞を形質転換するのに用いられるベクターの一部であり得る。

【0076】

別法では、このような組換え核酸は、この組換え核酸を発現する哺乳動物のワクチン接種に用いると、その哺乳動物の防衛的な免疫応答を誘発する、ワクシニアウイルスに基づいたウイルスベクターの一部であり得る。

【0077】

本明細書において、DNA配列に対する「RNA等価物」とは、基準となるDNA配列と同じ直鎖の核酸配列から構成されるが、窒素性塩基のチミンがウラシルに置換され、糖鎖の背骨がデオキシリボースではなくリボースからなる。

【0078】

用語「サンプル」は、その最も広い意味で用いられている。VEASをコードする核酸若しくはその断片、VEAS自体を含むと推定されるサンプルには、体液と、細胞からの抽出物や細胞から単離された染色体や細胞内小器官、膜と、細胞と、溶液中に存在する又は基板に固定されたゲノムDNA、RNA、cDNAと、組織又は組織プリント等も含まれ得る。

【0079】

用語「特異的結合」及び「特異的に結合する」は、タンパク質若しくはペプチドと、アゴニスト、抗体、アンタゴニスト、小分子、若しくは任意の天然若しくは合成の結合組成物との間の相互作用を指す。この相互作用は、結合する分子によって認識される、例えば、抗原決定基つまりエピトープなどのタンパク質の特定の構造の存在によって左右される。例えば、抗体がエピトープ「A」に対して特異的である場合、結合していない標識した「A」及び抗体を含む反応液に、エピトープAを含むポリペプチド或いは結合していない無標識の「A」が存在すると、抗体と結合する標識Aの量が減少する。

【0080】

用語「実質的に精製された」は、自然の環境から取り除かれてから、単離或いは分離された核酸配列或いはアミノ酸配列であって、自然に結合している組成物が少なくとも約60%以上除去されたものであり、好ましくは約75%以上の除去、最も好ましくは90%以上除去されたものを指す。

## 【0081】

「置換」とは、一つ以上のアミノ酸またはヌクレオチドをそれぞれ別のアミノ酸またはヌクレオチドに置き換えることである。

## 【0082】

用語「基板」は、任意の好適な固体或いは半固体の支持物を指し、膜及びフィルター、チップ、スライド、ウエハ、ファイバー、磁気または非磁気ビード、ゲル、チューブ、プレート、ポリマー、微小粒子、毛細管が含まれる。この基板には、壁または塹壕、ピン、チャンネル、細孔などの様々な表面形態があり、そこにポリヌクレオチドやポリペプチドが結合する。

## 【0083】

「形質転換」とは、外来DNAが入り込み受容体細胞を変化させるプロセスのことである。形質転換は、当分野で周知の種々の方法により、自然或いは人工の条件の下で起こり得り、原核宿主細胞若しくは真核宿主細胞の中に外来核酸配列を挿入する任意の周知の方法によって行うことができる。この形質転換の方法は、形質転換される宿主細胞のタイプによって選択される。この方法には、ウイルス感染、電気穿孔法（エレクトロポレーション）、リポフェクション、及び微粒子照射が含まれるが、これらに限定されるものではない。「形質転換された」細胞には、導入されたDNAが自律的に複製するプラスミドとして或いは宿主染色体の一部として複製可能である安定的に形質転換された細胞が含まれる。さらに、限られた時間に一時的に導入DNA若しくは導入RNAを発現する細胞も含まれる。

## 【0084】

本明細書における「遺伝子組換え生物」とは、当分野で周知の遺伝子組換え技術などを用いて、人間が生物の1つ以上の細胞に異種の核酸を導入した任意の生物であり、動物及び植物を含むが、これらに限定されるものではない。微量注入や組換えウイルスに感染させるなどの慎重な遺伝子操作によって、細胞の前駆体に直接或いは間接的に異種核酸を細胞に導入する。「遺伝子操作」とは、典型的な交雑育種や*in vitro*での受精ではなく、組換えDNA分子を導入することである。本発明に従った遺伝子組換え生物には、細菌及びラン藻類、菌類、植物、動物が含まれる。本発明の単離されたDNAは、当分野で周知の、例えば、感染、形質

移入、形質転換、トランス接合 (transconjugation) などの方法によって、宿主に導入することができる。本発明のDNAをそのような生物に導入する技術は周知であり、前出のSambrook他 (1989) に記載されている。

#### 【0085】

特定の核酸配列の「変異配列」とは、デフォルトパラメーター設定の「BLAST 2 Sequences」ツールVersion 2.0.9 (May-07-1999)を用いるblastnによって、ある核酸配列のある長さに対する該特定の核酸配列の同一性が、少なくとも40%と決定された核酸配列のことである。このような核酸の対は、ある長さにおいて、例えば、少なくとも50%または60%、70%、80%、85%、90%、95%、98%、或いはそれ以上の同一性を示し得る。ある変異配列は、例えば、「アレル」変異配列(上述)または「スプライス」変異配列、「種」変異配列、「多型」変異配列と表すことができる。スプライス変異配列は基準分子と同一性が極めて高い可能性があるが、mRNAプロセッシング中のエキソンの択一的スプライシングによってポリヌクレオチドの数が多くなったり、少なくなったりする。対応するポリペプチドは、基準分子に存在する追加の機能ドメインを有したり、基準分子に存在するドメインが欠落したりし得る。種変異配列は、種によって異なるポリヌクレオチド配列である。得られるポリペプチドは、互いに高いアミノ酸同一性を有する。多型変異配列は、所定の種と種における特定の遺伝子のポリヌクレオチド配列が異なる。多型変異配列はまた、ポリヌクレオチド配列の1つのヌクレオチドが異なる「1ヌクレオチド多型」(SNP)も含み得る。SNPの存在は、例えば、或る集団(population)、病態、病態の特徴を表し得る。

#### 【0086】

特定のポリペプチド配列の「変異体」とは、デフォルトパラメーター設定の「BLAST 2 Sequences」ツールVersion 2.0.9 (May-07-1999)を用いるblastpによって、ある核酸配列のある長さに対する該特定のポリペプチド配列の同一性が、少なくとも40%と決定されたポリペプチド配列のことである。このようなポリペプチドの対は、ある長さにおいて、例えば、少なくとも50%または60%、70%、80%、85%、90%、95%、98%、或いはそれ以上の同一性を示し得る。

## 【0087】

(発明)

本発明は、新規のヒト小胞関連分子 (VEAS) 及びVEASをコードするポリヌクレオチドの発見に基づいた、輸送障害及び自己免疫 / 炎症の異常、癌の診断、治療、及び予防におけるそれらの組成物の使用に関する。

## 【0088】

表1は、VEASをコードする完全長のヌクレオチド配列の構築に用いたインサイト社クローンを示す。列1及び列2はそれぞれ、ポリペプチド配列及びヌクレオチド配列の配列番号 (SEQ ID NO) を示す。列3は、各VEASをコードする核酸が同定されたIncyteクローンのクローンIDを示し、列4は、それらのクローンが単離されたcDNAライブラリを示す。列5は、Incyteクローン及びそれらに対応するcDNAライブラリを示す。cDNAライブラリが示されていないインサイト社クローンは、プールされたcDNAライブラリに由来する。列5のインサイト社クローンは、各VEASのコンセンサスヌクレオチド配列の構築に用いられ、ハイブリダイゼーション技術における断片として有用である。

## 【0089】

表2の各列は、本発明の各ポリペプチドの様々な特性を示す。列1は配列番号 (SEQ ID NO)、列2は各ポリペプチドにおけるアミノ酸残基の数、列3は潜在的なリン酸化部位、列4は潜在的なグリコシル化部位、列5はシグネチャ (signature) 配列及びモチーフを有するアミノ酸残基、列6は、BLAST分析によって同定された相同配列を示す。列7は、分析方法、場合によってはその分析方法が適用できる検索可能なデータベースを示す。列7の分析方法は、配列相同性及びタンパク質モチーフによって各ポリペプチドを特長つけるために用いられた。

## 【0090】

表3の列は、VEASをコードするヌクレオチド配列に関連した組織特異性及び疾患、異常症、症状を示している。表3の列1は、ヌクレオチドの配列番号 (SEQ ID NO) を示している。列2は、列1のヌクレオチド配列の断片を示している。これらの断片は、例えば、SEQ ID NO:20 - 38を同定し、SEQ ID NO:20 - 38と関連するポリヌクレオチド配列とを区別する、ハイブリダイゼーション若しくは増幅

の技術において有用である。これらの断片によってコードされるポリペプチドは、例えば、免疫原性ペプチドとして有用である。列3は、VEASを発現する組織名、及びVEASを発現する全組織におけるその割合を示す。列4は、VEASを発現する組織に関連する疾患若しくは異常症、症状、並びにVEASを発現する全組織におけるそれらの割合を示す。列5は、各cDNAライブラリのサブクローニングに用いたベクターを示す。

#### 【0091】

表4の各列は、VEASをコードするcDNAのクローンが単離されたcDNAライブラリの作製に用いられた組織についての説明である。列1は、ヌクレオチドのSEQ ID NOを示し、列2はそれらのクローンが単離されたcDNAライブラリを示し、列3は列2のcDNAライブラリに関連する組織の由来及び詳細を示す。

#### 【0092】

SEQ ID NO:38は、第6染色体の73.9~78.8センチモルガンの区間内及び第10染色体の17.3~36.3センチモルガンの区間内にマップされる。第6染色体の73.9~78.8センチモルガンの区間内には、 $\beta$ -グルタミルシステインシンテターゼ欠損による溶血性貧血に関連する遺伝子が含まれる。

#### 【0093】

本発明はまた、VEASの変異体も含む。好適なVEASの変異体は、VEASの機能的或いは構造的特徴の少なくともどちらか一方を有し、かつVEASアミノ酸配列に対して少なくとも約80%のアミノ酸配列同一性、或いは少なくとも約90%のアミノ酸配列同一性、更には少なくとも約95%のアミノ酸配列同一性を有する。

#### 【0094】

本発明はまた、VEASをコードするポリヌクレオチドを提供する。特定の実施例において、本発明は、VEASをコードするSEQ ID NO:20-38からなる一群から選択された配列を含むポリヌクレオチド配列を提供する。配列表に示したSEQ ID NO:20-38のポリヌクレオチド配列は、窒素系塩基のチミンがウラシルに置換され、糖鎖の背骨がデオキシリボースではなくリボースからなるRNA配列等価物を含む。

#### 【0095】

本発明はまた、VEASをコードするポリヌクレオチド配列の変異配列を含む。詳細には、このようなポリヌクレオチド配列の変異配列は、VEASをコードするポリヌクレオチド配列と少なくとも80%のポリヌクレオチド配列同一性、或いは少なくとも85%のポリヌクレオチド配列同一性、更には少なくとも95%ものポリヌクレオチド配列同一性を有する。本発明の特定の実施形態は、SEQ ID NO:20-38からなる一群から選択された核酸配列と少なくとも80%のポリヌクレオチド配列同一性、或いは少なくとも85%のポリヌクレオチド配列同一性、更には少なくとも95%ものポリヌクレオチド配列同一性を有するSEQ ID NO:20-38からなる一群から選択された配列を含むポリヌクレオチド配列の変異配列を提供する。上記したポリヌクレオチド変異配列は何れも、VEASの機能的或いは構造的特徴の少なくとも1つを有するアミノ酸配列をコードする。

#### 【0096】

遺伝暗号の縮重により作り出され得るVEASをコードする種々のポリヌクレオチド配列には、既知の自然発生する任意の遺伝子のポリヌクレオチド配列と最小の類似性しか有しないものも含まれることを、当業者は理解するであろう。したがって本発明には、可能なコドン選択に基づいた組み合わせの選択によって作り出され得る可能なポリヌクレオチド配列の変異の全てが含まれ得る。これらの組み合わせは、自然発生のVEASのポリヌクレオチド配列に適用される標準的なトリプレット遺伝暗号を基に作られ、全ての変異が明確に開示されていると考慮する。

#### 【0097】

VEASをコードするヌクレオチド配列及びその変異配列は一般に、好適に選択されたストリンジェントな条件の下で、自然発生のVEASのヌクレオチド配列とハイブリダイズ可能であるが、非自然発生のコドンを含めるなどの実質的に異なった使い方のコドンを有するVEAS或いはその誘導体をコードするヌクレオチド配列を作ることは有利となり得る。特定のコドンが宿主によって利用される頻度に基づいてコドンを選択して、ペプチドの発現が特定の真核細胞又は原核宿主に発生する割合を高めることが可能である。コードされたアミノ酸配列を変えないで、VEAS及びその誘導体をコードするヌクレオチド配列を実質的に変更する別の理由は、自然発生の配列から作られる転写物より例えば長い半減期など好ましい特性を

備えるRNA転写物を作ることにある。

【0098】

本発明はまた、VEAS及びその誘導体をコードするDNA配列又はそれらの断片を完全に合成化学によって作り出すことも含む。作製後にこの合成配列を、当分野で良く知られた試薬を用いて、種々の入手可能な発現ベクター及び細胞系の何れの中にも挿入可能である。更に、合成化学を用いて、VEASまたはその任意の断片をコードする配列の中に突然変異を導入することも可能である。

【0099】

更に本発明には、種々のストリンジェント条件の下で、請求項に記載されたポリヌクレオチド配列、特に、SEQ ID NO:20 - 38及びそれらの断片とハイブリダイズ可能なポリヌクレオチド配列が含まれる(例えば、Wahl, G.M.及びS.L. Berger (1987) *Methods Enzymol.* 152:399-407; and Kimmel, A.R. (1987) *Methods Enzymol.* 152:507-511.を参照)。アニーリング及び洗浄条件を含むハイブリダイゼーションの条件は、「定義」に記載されている。

【0100】

当分野で周知のDNAのシーケンシング方法を用いて、本発明の何れの実施例も実行可能である。この方法には、例えばDNAポリメラーゼIのクレノウ断片、SEQUENASE (US Biochemical, Cleveland OH)、Taqポリメラーゼ (Perkin Elmer)、熱安定性T7ポリメラーゼ (Amersham, Pharmacia Biotech Piscataway NJ)、或いはELONGASE増幅システム(Life Technologies, Gaithersburg MD)にみられるような校正エキソヌクレアーゼとポリメラーゼとの組み合わせなどの酵素が用いられる。好ましくは、MICROLAB2200液体転移システム (Hamilton, Reno, NV)、PTC200 Thermal Cycler200 (MJ Research, Watertown MA) 及びABI CATALYST 800 (Perkin-Elmer) などの装置を用いて配列の準備を自動化する。次に、ABI 373或いは377 DNAシーケンシングシステム(Perkin-Elmer)、MEGABACE 1000 DNAシーケンシングシステム(Molecular Dynamics, Sunnyvale CA)または当分野で周知の他の方法を用いてシーケンシングを行う。得られた配列を当分野で周知の様々なアルゴリズムを用いて分析する(例えば、Ausubel, F.M. (1997) *Short Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, New York NY, unit 7.7;

Meyers, R.A. (1995) *Molecular Biology and Biotechnology*, Wiley VCH, New York NY, pp. 856-853.を参照)。

#### 【0101】

当分野で周知のPCR法をベースにした種々の方法で、部分的なヌクレオチド配列を利用して、VEASをコードする核酸配列を伸長し、プロモーターや調節要素などの上流にある配列を検出する。例えば制限部位PCR法を利用する1つの方法では、一般的なプライマー及びネスト化プライマーを用いてクローニングベクター内のゲノムDNAから未知の配列を増幅する(例えば、Sarkar, G. (1993) *PCR Methods Applic* 2:318-322を参照)。逆PCR法を用いる別法では、広範な方向に伸長して環状化した鋳型から未知の配列を増幅するプライマーを用いる。この鋳型は、既知のゲノム遺伝子座及びその周辺の配列を含む制限断片に由来する(例えば、Triglia, T.等(1988) *Nucleic Acids Res* 16:8186を参照)。キャプチャPCR法を用いる第3の方法は、ヒト及び酵母菌人工染色体DNAの既知の配列に隣接するDNA断片のPCR増幅を含む(例えば、Lagerstrom, M.他(1991) *PCR Methods Applic* 1:111-119を参照)。この方法では、多数の制限酵素による消化及びライゲーションを用いて、PCRを行う前に未知の配列の領域の中に組換え二本鎖配列を挿入することが可能である。また、当分野で周知の別の方法を用いて未知の配列を得ることも可能である。(例えば、Parker, J.D. 他(1991) *Nucleic Acids Res.* 19:3055-3060を参照)。更に、PCR、ネスト化プライマー、PROMOTERFINDERライブラリ(Clontech, Palo Alto CA)を用いれば、ゲノムDNA内の歩行が可能である。この方法ではライブラリをスクリーニングする必要がなく、イントロン/エキソン接合部を探すのに有用である。全てのPCR法をベースにした方法では、プライマーは、市販のOLIGO 4.06 Primer Analysis software(National Biosciences, Plymouth MN) 或いは別の好適なプログラムなどを用いて、長さが22~30ヌクレオチド、GC含有率が50%以上、約68~72の温度で鋳型に対してアニーリングするよう設計される。

#### 【0102】

完全長のcDNAをスクリーニングする場合は、大きなcDNAを含むようにサイズが選択されたライブラリを用いるのが好ましい。更に、オリゴd(T)ライブラリが完

全な長さのcDNAを産生できない場合は、遺伝子の5'領域を有する配列を含むものが多いたランダムに初回抗原刺激を受けたライブラリが有用である。ゲノムライブラリは、5'非転写調節領域への配列の伸長に有用であろう。

#### 【0103】

市販のキャピラリー電気泳動システムを用いて、シーケンシングまたはPCR産物のヌクレオチド配列のサイズの分析、または確認が可能である。詳しくは、キャピラリーシーケンシングには、電気泳動による分離のための流動性ポリマー、及び4つの異なったヌクレオチドに特異的なレーザーで活性化される蛍光色素、放出された波長の検出に利用するCCDカメラを使用することが可能である。出力/光強度は、適切なソフトウェア（例えば、GENOTYPER及びSEQUENCE NAVIGATOR、Perkin-Elmer）を用いて電気信号に変換され、サンプルのローディングからコンピュータ分析までのプロセス及び電子データ表示がコンピュータ制御可能である。キャピラリー電気泳動法は、特定のサンプルに少量しか存在しない場合もあるDNAの小片のシーケンシングに特に適している。

#### 【0104】

本発明の別の実施例では、VEASをコードするポリヌクレオチド配列またはその断片を組換えDNA分子にクローニングして、適切な宿主細胞内にVEAS、その断片または機能的等価物を発現させることが可能である。遺伝暗号固有の縮重により、実質的に同じ或いは機能的に等価のアミノ酸配列をコードする別のDNA配列が作られ得り、これらの配列をVEASのクローン化及び発現に利用可能である。

#### 【0105】

種々の目的でVEASをコードする配列を変えるために、当分野で一般的に知られている方法を用いて、本発明のヌクレオチド配列を組換えることができる。この目的には、遺伝子産物のクローン化、プロセッシング及び/または発現の調節が含まれるが、これらに限定されるものではない。ランダムな断片によるDNAの混合や遺伝子断片と合成オリゴヌクレオチドのPCR再組み立てを用いて、ヌクレオチド配列の組換えが可能である。例えば、オリゴヌクレオチド媒介性定方向突然変異誘発を利用して、新しい制限部位を生成する突然変異の導入、グリコシル化パターンの変更、コドン優先の変更、スプライスバリエーションの作製等が可能であ

る。

#### 【0106】

本発明のヌクレオチドを、MOLECULARBREEDING (Maxygen Inc., Santa Clara CA; 米国特許第5,837,458号; Chang, C.-C. 他 (1999) Nat. Biotechnol. 17:793-797; Christians, F.C. 他 (1999) Nat. Biotechnol. 17:259-264; Cramer, A. 他 (1996) Nat. Biotechnol. 14:315-319)などのDNAシャフリング技術を用いてシャフリングして、VEASの生物学的または酵素的な活性、或いは他の分子や化合物と結合する能力などのVEASの生物学的特性を変更或いは改良することができる。DNAシャフリングは、PCR法による遺伝子断片の組換えで遺伝子変異体のライブラリを作製するプロセスである。次に、このライブラリを、目的の特性を有する遺伝子変異体を同定するために選択或いはスクリーニングする。これらの好ましい変異体をプールし、DNAシャフリング及び選択/スクリーニングを繰り返す。従って、人工的な育種及び急速な分子の進化によって多様な遺伝子が作られる。例えば、ランダムな位置に変異がある1つの遺伝子の断片を、目的の特性が最適化するまで、組換え及びスクリーニング、シャフリングを実施することもできる。別法では、所定の遺伝子の断片を、同じ或いは異なった種の同じ遺伝子ファミリーの相同な遺伝子の断片で組換え、それによってプロトコルに従った調節可能な方法で、多数の自然発生遺伝子の遺伝子多様性を最大にすることができる。

#### 【0107】

別の実施例によれば、VEASをコードする配列は、当分野で周知の化学的方法を用いて、全体或いは一部が合成可能である(例えば、Caruthers, M.H.等(1980) Nucl. Acids Res. Symp. Ser 7:215-223; 及びHorn, T.他(1980) Nucl. Acids Res. Symp. Ser.225-232を参照)。別法として、化学的方法を用いてVEAS自体またはその断片を合成することが可能である。例えば、ペプチド合成は種々の固相技術を用いて実行可能である(例えば、Roberge, J.Y.等(1995) Science 269:202-204を参照)。また、合成の自動化は例えばABI 431Aペプチドシンセサイザ(Perkin Elmer)を用いて達成し得る。更にVEASのアミノ酸配列または任意のその一部は、直接的な合成の際の変更、及び/または化学的方法を用いた他のタンパク質または任意のその一部からの配列との組み合わせにより、変異体ポリペプ

チドを作ることが可能である。

【0108】

このペプチドは、分離用高速液体クロマトグラフィー(例えば、Chiez, R.M. 及び F.Z. Regnier (1990)Methods Enzymol. 182:392-421を参照)を用いて実質的に精製可能である。合成されたペプチドの組成は、アミノ酸分析或いはシーケンシングにより確認することができる(例えば、Creighton. T. (1983) Proteins, Structures and Molecular Properties, WH Freeman, New York, NYを参照)

。

【0109】

生物学的に活性なVEASを発現させるために、VEASをコードするヌクレオチド配列またはその誘導体を好適な発現ベクターに挿入する。この発現ベクターは、好適な宿主に挿入されたコーディング配列の転写及び翻訳の調節に必要な要素を含む。これらの要素には、ベクター及びVEASをコードするポリヌクレオチド配列におけるエンハンサー、構成型及び発現誘導型のプロモーター、5'及び3'の非翻訳領域などの調節配列が含まれる。このような要素は、その長さ及び特異性が様々である。特定の開始シグナルによって、VEASをコードする配列のより効果的な翻訳を達成することが可能である。このようなシグナルには、ATG開始コドン及びコザック配列などの近傍の配列が含まれる。VEASをコードする配列及びその開始コドン、上流の調節配列が好適な発現ベクターに挿入された場合は、更なる転写調節シグナルや翻訳調節シグナルは必要なくなるであろう。しかしながら、コーディング配列或いはその断片のみが挿入された場合は、インフレームのATG開始コドンを含む外来性の翻訳調節シグナルが発現ベクターに含まれなければならない。外来性の翻訳要素及び開始コドンは、自然及び合成の様々なものから得ることが可能である。用いられる特定の宿主細胞系に好適なエンハンサーを含めることで発現の効率を高めることが可能である。(例えば、Scharf, D. 他 (1994) Results Probl. Cell Differ. 201 - 18-162.を参照)。

【0110】

当業者に周知の方法を用いて、VEASをコードする配列、好適な転写及び翻訳調節要素を含む発現ベクターを作製することが可能である。これらの方法には、in\_\_\_\_\_

in vitro組換えDNA技術、合成技術、及びin vivo遺伝子組換え技術が含まれる。(例えば、Sambrook, J. 他. (1989) Molecular Cloning. A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Press, Plainview NY, 4章及び8章, 及び16-17章; 及び Ausubel, F.M. 他. (1995) Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, New York NY, ch. 9章及び13章1-4章を参照)。

#### 【0111】

種々の発現ベクター/宿主系を利用して、VEASをコードする配列の保持及び発現が可能である。これらには、限定するものではないが、組換えバクテリオファージ、プラスミド、またはコスミドDNA発現ベクターで形質転換された細菌などの微生物や、酵母菌発現ベクターで形質転換された酵母菌や、ウイルス発現ベクター(例えば、バキュロウイルス)に感染した昆虫細胞系や、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)または細菌発現ベクター(例えば、TiまたはpBR322プラスミド)で形質転換された植物細胞系や、動物細胞系などが含まれる。本発明は使用される宿主細胞によって限定されるものではない。

#### 【0112】

細菌系では、多数のクローニングベクター及び発現ベクターが、VEASをコードするポリヌクレオチド配列の使用目的に応じて選択可能である。例えば、VEASをコードするポリヌクレオチド配列の日常的なクローニング、サブクローニング、増殖には、PBLUESCRIPT(Stratagene, La Jolla CA)またはpSPORT1プラスミド(GIBCO BRL)などの多機能の大腸菌ベクターを用いることができる。ベクターの多数のクローニング部位にVEASをコードする配列をライゲーションするとlacZ遺伝子が破壊され、組換え分子を含む形質転換された細菌の同定のための比色スクリーニング法が可能となる。更に、これらのベクターを用いて、クローニングされた配列のin vitroでの転写、ジデオキシンスクリーニング、ヘルパーファージによる一本鎖の救出、入れ子状態の欠失を作り出すことが可能である。(例えば、Van Heeke, G.及びS.M. Schuster (1989) J. Biol. Chem. 264:5503-5509.を参照)。例えば、抗体の産生のためなどに多量のVEASが必要な場合は、VEASの発現をハイレベルで誘導するベクターが使用できる。例えば、強力に発現を誘発す

るT5またはT7バクテリオファージプロモーターを含むベクターを使用できる。

【0113】

VEASの発現に酵母の発現系の使用が可能である。因子やアルコールオキシダーゼやPGHプロモーターなどの構成型或いは誘導型のプロモーターを含む多種のベクターが、酵母菌サッカロミセス - セレビジエまたは*Pichia pastoris*に使用可能である。更に、このようなベクターは、発現したタンパク質の分泌か細胞内への保持のどちらかを誘導し、安定した増殖のために宿主ゲノムの中に外来配列を組み込む。(例えば、上記のAusubel.; 及びBitter, G.A. 他 (1987) *Methods Enzymol.* 153:51-794; Scorer, C. A. 他 (1994) *Bio/Technology* 121 - 181-184. を参照)

植物系もVEASの発現に使用可能である。VEASをコードする配列の転写は、例えば、CaMV由来の35S及び19Sプロモーターなどのウイルスプロモーターが単独で、或いはTMV (Takamatsu, N. 等 (1987) *EMBO J* 6:307-311) 由来のオメガリーダー配列と組み合わせて促進される。これらの作製物は、直接のDNA形質転換或いは病原体を介したトランスフェクションによって、植物細胞の中に導入可能である。(例えば、*The McGraw Hill Yearbook of Science and Technology* (1992) McGraw Hill NY, pp.191-196を参照)。

【0114】

哺乳動物細胞では、多種のウイルスベースの発現系が利用され得る。アデノウイルスが発現ベクターとして用いられる場合、後発プロモーター及び3連リーダー配列からなるアデノウイルス転写物 / 翻訳複合体にVEASをコードする配列を結合し得る。ウイルスのゲノムの非必須のE 1またはE 3領域への挿入により、感染した宿主細胞にVEASを発現する生ウイルスを得ることが可能である (Logan, J. 及びShenk, T. (1984) *Proc. Natl. Acad. Sci.* 81:3655-3659を参照)。さらに、ラウス肉腫ウイルス (RSV) エンハンサーなどの転写エンハンサーを用いて、哺乳動物宿主細胞における発現を増大させることが可能である。タンパク質を高レベルで発現させるために、SV40またはEBVを基にしたベクターを用いることが可能である。

【0115】

ヒト人工染色体 (HAC) を用いて、プラスミドで発現しそれに含まれているものより大きなDNAの断片を供給可能である。治療のために約 6 kb ~ 10 MbのHACs を作製し、従来の輸送方法 (リポソーム、ポリカチオンアミノポリマー、またはベシクル) で供給する。(例えば、Harrington, J.J. 他 (1997) Nat Genet.15:345-355.を参照)。

#### 【0116】

哺乳動物系の組換えタンパク質の長期にわたる産生のためには、株化細胞におけるVEASの安定した発現が望ましい。例えば、発現ベクターを用いて、VEASをコードする配列を株化細胞に形質転換することが可能である。このような発現ベクターは、ウイルス起源の複製及び/または内在性の発現要素や、同じ或いは別のベクターの上の選択マーカー遺伝子を含む。ベクターの導入の後、細胞を選択培地に移す前に、強化培地で約 1 ~ 2 日の間増殖させる。選択マーカーの目的は選択的な媒介物に対する抵抗性を与えるとともに、その存在により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となる。安定的に形質転換された細胞の耐性クローンは、その細胞型に好適な組織培養技術を用いて増殖可能である。

#### 【0117】

任意の数の選択系を用いて、形質転換された細胞系を回収することが可能である。選択系には、以下のものに限定はしないが、単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ遺伝子及びアデニンホスホリボシルトランスフェラーゼ遺伝子が含まれ、それぞれtk<sup>r</sup>又はapr<sup>r</sup>細胞において使用される。(例えば、Wigler, M. 他 (1977) Cell 11:223-232; 及びLowy, I. 他(1980) Cell 22:817-823を参照)。また代謝拮抗物質、抗生物質或いは除草剤への耐性を選択のベースとして用いることができる。例えばdhfrはメトトレキセートに対する耐性を与え、neoはアミノグリコシッドネオマイシン及びG-418に対する耐性を与え、als或いはpatはクロルスルフロン (cVEASsulfuron)、ホスフィノトリシンアセチルトランスフェラーゼ (phosphinotricin acetyltransferase) に対する耐性を与える(例えば、Wigler, M. 他. (1980) Proc. Natl. Acad. Sci. 77:3567-3570; Colbere-Garapin, F. 他(1981) J. Mol. Biol. 150:1-14を参照)。さらに選択に利用できる遺伝子

、例えば、代謝のために細胞が必要なものを変える trpB及びhisDが文献に記載されている（例えば、Hartman, S.C.及びR.C. Mulligan (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. 85:8047-51を参照）。アミノシアニン、緑色蛍光タンパク質（GFP；Clontech）、グルクロニダーゼ及びその基質GUS、ルシフェラーゼ及びその基質ルシフェリンなどの可視マーカーが用いられる。緑色蛍光タンパク質（GFP）（Clontech, Palo Alto, CA）も使用できる。これらのマーカーを用いて、トランスフォーマントを特定するだけでなく、特定のベクター系に起因する一過性或いは安定したタンパク質発現を定量することが可能である（例えば、Rhodes, C.A.他（1995）Methods Mol. Biol. 55:121-131を参照）。

#### 【0118】

マーカー遺伝子の発現の存在／不在によって目的の遺伝子の存在が示されても、その遺伝子の存在及び発現の確認が必要な場合もある。例えば、VEASをコードする配列がマーカー遺伝子配列の中に挿入された場合、VEASをコードする配列を含む形質転換された細胞は、マーカー遺伝子機能の欠落により特定可能である。または、1つのプロモーターの制御下でマーカー遺伝子がVEASをコードする配列と一列に配置することも可能である。誘導または選択に応答したマーカー遺伝子の発現は、通常タンデム遺伝子の発現も示す。

#### 【0119】

一般に、VEASをコードする核酸配列を含み、VEASを発現する宿主細胞は、当業者に周知の種々の方法を用いて特定することが可能である。これらの方法には、DNA - DNA或いはDNA - RNAハイブリダイゼーションや、PCR法、核酸或いはタンパク質の検出及び／または数量化のための膜系、溶液ベース、或いはチップベースの技術を含むタンパク質生物学的試験法または免疫学的アッセイが含まれるが、これらに限定されるものではない。

#### 【0120】

特異的なポリクローナル抗体またはモノクローナル抗体のどちらかを用いるVEASの発現の検出及び計測のための免疫学的方法は、当分野で周知である。このような技法には、酵素に結合したイムノソルベントアッセイ（ELISA）、ラジオイムノアッセイ（RIA）、蛍光標示式細胞分取器（FACS）などがある。VEAS上の

2つの非干渉エピトープに反応するモノクローナル抗体を用いた、2部位のモノクローナルベースイムノアッセイ (two-site, monoclonal-based immunoassay) が好ましいが、競合の結合アッセイも用いることもできる。これらのアッセイ及びその他のアッセイは、当分野では十分に知られている。(例えば、Hampton, R. 他.(1990) Serological Methods, a Laboratory Manual. APS Press, St Paul, MN, Sect. IV; Coligan, J. E. 他 Current Protocols in Immunology, Greene Pub. Associates and Wiley-Interscience, New York, NY; 及び Pound, J.D. (1990) Immunochemical Protocols, Humana Press, Totowa NJ)。

#### 【0121】

種々の標識技術及び結合技術が当業者には周知であり、様々な核酸アッセイおよびアミノ酸アッセイに用いられ得る。VEASをコードするポリヌクレオチドに関連する配列を検出するための、標識されたハイブリダイゼーションプローブ或いはPCRプローブを生成する方法には、オリゴ標識化、ニックトランスレーション、末端標識化、または標識されたヌクレオチドを用いるPCR増幅が含まれる。別法として、VEASをコードする配列、またはその任意の断片をmRNAプローブを生成するためのベクターにクローニングすることも可能である。当分野では周知であり市販されているこのようなベクターを、T7, T3, またはSP6などの好適なRNAポリメラーゼ及び標識されたヌクレオチドの追加によって、*in vitro*でのRNAプローブの合成に用いることができる。これらの方法は、例えば、Amersham Pharmacia Biotech及びPromega (Madison WI)、U.S. Biochemical Corp (Cleveland OH) が市販する種々のキットを用いて行うことができる。容易な検出のために用い得る好適なレポーター分子或いは標識には、基質、コファクター、インヒビター、磁気粒子、及び放射性核種、酵素、蛍光剤、化学発光剤、色素産生剤などが含まれる。

#### 【0122】

VEASをコードするヌクレオチド配列で形質転換された宿主細胞は、細胞培地でのこのタンパク質の発現及び回収に好適な条件の下で培養される。形質転換された細胞から産生されたタンパク質が分泌されるか細胞内に留まるかは、使用されるその配列及び/またはそのベクターによる。VEASをコードするポリヌクレオチ

ドを含む発現ベクターは、原核細胞膜及び真核細胞膜を透過するVEASの分泌を誘導するシグナル配列を含むように設計できることは、当業者には理解されよう。

#### 【0123】

更に、挿入した配列の発現調節能力または発現したタンパク質を所望の形にプロセッシングする能力によって宿主細胞株が選択される。このようなポリペプチドの修飾には、アセチル化、カルボキシル化、グリコシル化、リン酸化、脂質化 (lipidation)、及びアシル化が含まれるが、これらに限定されるものではない。タンパク質の「prepro」または「pro」形を切断する翻訳後のプロセッシングを利用して、標的タンパク質、折りたたみ及び/または活性を特定することが可能である。翻訳後の活性のための特定の細胞装置及び特徴のある機構をもつ種類の宿主細胞 (例えば、CHO、HeLa、MDCK、MEK293、WI38) がAmerican Type Culture Collection (ATCC; Bethesda, MD) より入手可能であり、外来のタンパク質の正しい修飾及びプロセッシングを確実にするために選択される。

#### 【0124】

本発明の別の実施例では、VEASをコードする自然或いは変更された、または組換えの核酸配列を上記した任意の宿主系の融合タンパク質の翻訳となる異種配列に結合させる。例えば、市販の抗体によって認識できる異種部分を含むキメラVEASタンパク質が、VEASの活性のインヒビターに対するペプチドライブラリのスクリーニングを促進し得る。また、異種タンパク質部分及び異種ペプチド部分が、市販の親和性基質を用いて融合タンパク質の精製を促進し得る。このような部分には、グルタチオンSトランスフェラーゼ (GST)、マルトース結合タンパク質 (MBP)、チオレドキシン (Trx)、カルモジュリン結合ペプチド (CBP)、6-His、FLAG、c-mc、赤血球凝集素 (HA) が含まれるが、これらに限定されるものではない。GST及びMBP、Trx、CBP、6-Hisによって、固定されたグルタチオン、マルトース、フェニルアルシン酸化物 (phenylarsine oxide)、カルモジュリン、金属キレート樹脂のそれぞれで同族の融合タンパク質の精製が可能となる。FLAG、c-mc、及び赤血球凝集素 (HA) によって、これらのエピトープ標識を特異的に認識する市販のモノクローナル抗体及びポリクローナル抗体を用いた融合タンパク質の免疫親和性の精製ができる。また、VEASをコードする配列と異種タンパ

ク質配列との間にあるタンパク質分解切断部位を融合タンパク質が含むように遺伝子操作すると、VEASが精製の後に異種部分から切断され得る。融合タンパク質の発現と精製の方法は、Ausubel. (1995、前出 ch 10). に記載されている。市販されている様々なキットを用いて、融合タンパク質の発現及び精製を促進できる。

#### 【0125】

本発明の別の実施例では、TNTウサギ網状赤血球可溶化液またはコムギ胚芽抽出系(Promega)を用いてin vitroで放射能標識したVEASの合成が可能である。これらの系は、T7またはT3、SP6プロモーターと機能的に結合したタンパク質をコードする配列の転写と翻訳をつなげる。翻訳は、例えば、<sup>35</sup>Sメチオニンである放射能標識されたアミノ酸前駆体の存在の下で起こる。

#### 【0126】

VEASの断片は、組換え生成物だけでなく固相技術を用いて直接的なペプチド合成によって作製され得る(例えば、前出のCreighton, pp. 55-60.を参照)。タンパク質の合成は、手動或いは自動で行われ得る。自動合成は、例えばABI 431Aペプチドシンセサイザ(Perkin Elmer)を用いて行うことが可能である。VEASの種々の断片は別々に合成して、次ぎに結合させて完全長分子を作製する。

#### 【0127】

(治療)

VEASのある領域と小胞関連分子のある領域との間に、例えば配列及びモチーフの文脈における化学的及び構造的類似性が存在する。更に、VEASの発現は、神経組織及び癌、炎症/外傷、免疫応答に密接に関連する。従って、VEASは、輸送障害及び自己免疫/炎症の異常、癌においてある役割を果たすと考えられる。VEASの発現若しくは活性の増大に関連する疾患の治療においては、VEASの発現または活性を低下させることが望ましい。また、VEASの発現または活性の低下に関連する疾患の治療においては、VEASの発現または活性を増大させることが望ましい。

#### 【0128】

従って、一実施例において、VEASの発現または活性の低下に関連した疾患の治療または予防のために、患者にVEASまたはその断片や誘導体を投与することが可

能である。限定するものではないが、このような疾患の例には輸送障害含まれ、その中には運動不能症、筋萎縮性側索硬化症、毛細血管拡張性運動失調、ベッカー筋ジストロフィー、顔面麻痺、シャルコー マリー ツース病、糖尿病、尿崩症、糖尿病性ニューロパシー、デュシェンヌ型筋ジストロフィー、高カリウム血性周期性四肢麻痺、正常カリウム血性周期性四肢麻痺、パーキンソン病、悪性高熱、多剤耐性、重症筋無力症、筋緊張性異栄養症、緊張病、錐体外路性終末欠陥症候群、ジストニー、末梢神経疾患、脳性腫瘍、前立腺癌と、口峡炎、徐脈型不整脈、頻拍性型不整脈、高血圧症、遺伝性QT延長症候群、心筋炎、心筋症、ネマリニンミオパシーラネマリニン筋障害、中心核ミオパシー、脂質ミオパシー、ミトコンドリアミオパシー、甲状腺中毒性ミオパシー、エタノールミオパシー、皮膚筋炎、封入体筋炎、感染性節炎、及び多発性筋炎などの輸送に関連した心臓病と、アルツハイマー病、健忘症、双極性障害、痴呆、うつ病、てんかん、トゥレット病、妄想性精神病、及び分裂病などの輸送に関連した神経障害と、神経線維腫症、帯状疱疹後神経痛、3叉神経ニューロパシー、サルコイドーシス、鎌状赤血球性貧血、ウィルソン病、白内障、不妊症、肺動脈狭窄症、常染色体性感音性難聴、高ノ低血糖症、グレーブス病、甲状腺腫、クッシング病と、潰瘍性大腸炎や胃潰瘍、十二指腸潰瘍を含む胃腸疾患と、後天性免疫不全症候群(AIDS)を含む小胞輸送障害に関連した別の症状と、枯草熱や喘息、じんま疹を含むアレルギーと、自己免疫性溶血性貧血、増殖性糸球体腎炎、炎症性腸疾患、多発性硬化症、重症筋無力症、リウマチ様変形性関節症、硬皮、チェディアック 東症候群、シェーグレン症候群、全身性エリテマトーデス、トキシックショック症候群、外傷性組織損傷、ウイルス感染、細菌感染、真菌感染、蠕虫感染、原虫感染、シスチン尿症、第2アミノ酸性尿症(dibasicaminoaciduria)、高シスチン尿症、リシン尿症、ハートナップ病、トリプトファン吸収不良症、メチオニン吸収不良症、ヒスチジン尿症、イミノグリシン尿症、ジカルボキシルアミノ酸性尿症(dicarboxylicaminoaciduria)、シスチン蓄積症、renal glycosuria、低尿酸血症、家族性低リン酸血症性くる病、先天性塩化物過剰症(congenital chloridorrhea)、遠位尿細管性アシドーシス、メンケス病、ウィルソン病、致命的下痢症、若年性悪性貧血、葉酸吸収不良症、副腎白質ジストロトフィ、遺伝性ミオグロビン尿

症、ツェルヴェーガー症候群が含まれ、また免疫異常症も含まれ、その中には後天性免疫不全症候群（AIDS）及び副腎機能不全、成人呼吸窮迫症候群、アレルギー、強直性脊椎炎、アミロイド症、貧血、喘息、アテローム性動脈硬化症、自己免疫性溶血性貧血、自己免疫性甲状腺炎、自己免疫性多腺性内分泌カンジダ性外胚葉ジストロフィ（APECED）、気管支炎、胆嚢炎、接触皮膚炎、クローン病、アトピー性皮膚炎、皮膚筋炎、糖尿病、肺気腫、リンパ球毒素性一時性リンパ球減少症、赤芽球症、結節性紅斑、萎縮性胃炎、糸球体腎炎、グッドパスチャー症候群、痛風、グレーブス病、橋本甲状腺炎、過好酸球増加症、過敏性大腸症候群、多発性硬化症、重症筋無力症、心筋又は心膜炎症、骨関節炎、骨粗しょう症、膵炎、多発性筋炎、乾癬、ライター症候群、リウマチ様関節炎、強皮症、シェーグレン症候群、全身性アナフィラキシー、全身性エリテマトーデス、全身性硬化症、血小板減少症、潰瘍性大腸炎、ウェルナー症候群、癌合併症、血液透析、体外循環と、ウイルス感染症及び細菌感染症、真菌感染症、寄生虫感染症、原虫感染症、蠕虫の感染症、外傷が含まれ、また癌が含まれ、その中には腺癌、白血病、リンパ腫、黒色腫、骨髄腫、肉腫、奇形癌などがあり、詳しくは副腎、膀胱、骨、骨髄、脳、乳房、頸部、胆嚢、神経節、消化管、心臓、腎臓、肝臓、肺、筋肉、卵巣、膵臓、副甲状腺、陰茎、前立腺、唾液腺、皮膚、脾臓、精巣、胸腺、甲状腺、及び子宮の癌が含まれる。

#### 【0129】

別の実施例では、限定するものではないが上に列記した疾患を含むVEASの発現または活性の低下に関連した疾患の治療または予防のために、VEASまたはその断片や誘導体を発現し得るベクターを患者に投与することも可能である。

#### 【0130】

更に別の実施例では、限定するものではないが上に列記した疾患を含むVEASの発現または活性の低下に関連した疾患の治療または予防のために、実質的に精製されたVEASを含む医薬品組成物を好適な医薬用担体と共に患者に投与することも可能である。

#### 【0131】

更に別の実施例では、限定するものではないが上に列記した疾患を含むVEASの

発現または活性の低下に関連した疾患の治療または予防のために、VEASの活性を調節するアゴニストを患者に投与することも可能である。

#### 【0132】

更なる実施例では、VEASの発現または活性の増大に関連した疾患の治療または予防のために、患者にVEASのアンタゴニストを投与することが可能である。限定するものではないが、このような疾患の例には、上記した輸送障害及び自己免疫/炎症の異常、癌が含まれる。一実施態様では、VEASと特異的に結合する抗体が直接アンタゴニストとして、或いはVEASを発現する細胞または組織に薬剤を運ぶターゲティング或いは運搬機構として間接的に用いられ得る。

#### 【0133】

別の実施例では、限定するものではないが上に列記した疾患を含むVEASの発現または活性の増大に関連した疾患の治療または予防のために、VEASをコードするポリヌクレオチドの相補配列を発現するベクターを患者に投与することも可能である。

#### 【0134】

別の実施例では、本発明の任意のタンパク質、アンタゴニスト、抗体、アゴニスト、相補的な配列、ベクターを別の好適な治療薬と組み合わせて投与することもできる。当業者は、従来の医薬原理にしたがって併用療法で用いる好適な治療薬を選択可能である。治療薬との組み合わせにより、上に列記した種々の疾患の治療または予防に相乗効果をもたらし得る。この方法を用いて少ない量の各薬剤で医薬効果をあげることが可能であり、広範囲な副作用の可能性を低減し得る。

#### 【0135】

VEASのアンタゴニストは、当分野で一般的な方法を用いて製造することが可能である。詳しくは、精製されたVEASを用いて抗体を作ったり、治療薬のライブラリをスクリーニングしてVEASと特異的に結合するものを同定が可能である。VEASの抗体も、当分野で一般的な方法を用いて製造することが可能である。このような抗体には、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、キメラ抗体、一本鎖、Fabフラグメント、及びFab発現ライブラリによって作られたフラグメントが含まれる。但し、これらに限定されるものではない。治療用には、中和抗体（即ち、

二量体の形成を阻害するもの)が特に好ましい。

#### 【0136】

抗体の産生のためには、ヤギ、ウサギ、ラット、マウス、ヒト及びその他のものを含む種々の宿主が、VEASまたは任意の断片、または免疫原性の特性を備えるそのオリゴペプチドの注入によって免疫化され得る。宿主の種に応じて、種々のアジュバントを用いて免疫応答を高めることもできる。このようなアジュバントにはフロイントアジュバント、水酸化アルミニウムなどのミネラルゲルアジュバント、リゾレシチン、プルロニックポリオール、ポリアニオン、ペプチド、油性乳剤、キーホールリンペットヘモシニアン、及びジニトロフェノールなどの界面活性剤が含まれるが、これらに限定されるものではない。ヒトに用いられるアジュバントの中では、BCG (bacilli Calmette-Guerin) 及びCorynebacterium parvum が特に好ましい。

#### 【0137】

VEASに対する抗体を誘発するために用いられるオリゴペプチド、ペプチド、または断片は、少なくとも約5個のアミノ酸からなり、一般的には約10個以上のアミノ酸からなるものが好ましい。これらのオリゴペプチド或いはペプチド、またはそれらの断片は、天然のタンパク質のアミノ酸配列の一部と同一であることが望ましく、小さな自然発生の分子の全アミノ酸配列も含む。VEASアミノ酸の短いストレッチは、KLHなどの別のタンパク質の配列と融合し、キメラ分子に対する抗体が産生され得る。

#### 【0138】

VEASに対するモノクローナル抗体は、培地内の連続した細胞株によって、抗体分子を産生する任意の技術を用いて作製することが可能である。これらの技術には、ハイブリドーマ技術、ヒトB細胞ハイブリドーマ技術、及びEBV-ハイブリドーマ技術が含まれるが、これらに限定されるものではない(例えば、Kohler, G. 等. (1975) Nature 256:495-497; Kozbor, D. 等. (1985) J. Immunol. Methods 81-8-42; Cote, R.J. 等. (1983) Proc. Natl. Acad. Sci. 80:2026-2030; Cole, S.P. 等. (1984) Mol. Cell Biol. 62:109-120を参照)。

#### 【0139】

更に、「キメラ抗体」作製のために発達したヒト抗体遺伝子にマウス抗体遺伝子をスプライシングするなどの技術が、好適な抗原特異性及び生物学的活性を備える分子を得るために用いられる（例えば、Morrison, S.L.他. (1984) Proc. Natl. Acad. Sci. 81 - 4851 - 4855; Neuberger, M.S.他. (1984) Nature 312:604 - 608; Takeda, S.等. (1985) Nature 314:452,454を参照）。別法では、当分野で周知の方法を用いて、一本鎖抗体の産生のための記載された技術を適用して、VEAS特異性一本鎖抗体を生成する。関連する特異性を備えるが別のイディオタイプの組成の抗体は、ランダムな組み合わせの免疫グロブリンライブラリから鎖混合によって生成することもできる（例えば、Burton D.R. (1991) Proc. Natl. Acad. Sci. 88:11120-3を参照）。

#### 【0140】

抗体は、リンパ球集団の中の *in vivo* 産生を誘発することによって、または免疫グロブリンライブラリのスクリーニング又は文献に示されているような、高度に特異的な結合試薬のパネルをスクリーニングすることによって、産生することもできる（例えば、Orlandi, R. 他. (1989) Proc. Natl. Acad. Sci. 86: 3833 - 3837; Winter, G. 他. (1991) Nature 349:293-299を参照）。

#### 【0141】

VEASに対する特異的な結合部位を含む抗体も産生することができる。例えば、このような断片には、抗体分子のペプシン消化によって生成されるF(ab')に断片と、F(ab')に断片のジスルフィド架橋を減じることによって生成されるFab断片が含まれるが、これらに限定されるものではない。別法では、Fab発現ライブラリを作製することによって、所望の特異性とモノクローナルFab断片の迅速且つ容易な同定が可能となる（例えば、Huse, W.D. 等. (1989) Science 254:1275-1281を参照）。

#### 【0142】

種々のイムノアッセイを用いてスクリーニングし、所望の特異性を有する抗体を同定する。隔離された特異性を有するポリクローナル抗体またはモノクローナル抗体の何れかを用いる競合的な結合、または免疫放射線活性のための数々のプロトコルが、当分野では周知である。通常このようなイムノアッセイには、VEAS

とその特異性抗体との間の複合体調整の計測が含まれる。二つの非干渉性VEASエピトープに対して反応性のモノクローナル抗体を用いる、2部位モノクローナルベースのイムノアッセイが一般に利用されるが、競合的結合アッセイも利用することができる(Pound、前出)。

#### 【0143】

ラジオイムノアッセイ技術と共にScatchard分析などの様々な方法を用いて、VEASに対する抗体の親和性を評価する。親和性を結合定数 $K_a$ で表すが、この $K_a$ は、平衡状態の下でVEAS抗体複合体のモル濃度を遊離抗体と遊離抗原のモル濃度で除して得られる値である。多数のVEASエピトープに対して親和性が不均一なポリクローナル抗体医薬の $K_a$ は、VEASに対する抗体の平均親和性または結合活性を表す。特定のVEASエピトープに単一特異的なモノクローナル抗体医薬の $K_a$ は、親和性の真の測定値を表す。 $K_a$ 値が $10^9 \sim 10^{12} \text{ L/mol}$ の高親和性抗体医薬は、VEAS抗体複合体が激しい操作に耐えなければならないイムノアッセイに用いるのが好ましい。 $K_a$ 値が $10^6 \sim 10^7 \text{ L/mol}$ の低親和性抗体医薬は、VEASが抗体から最終的に活性化状態で解離する必要がある免疫精製(immunopurification)及び類似の処理に用いるのが好ましい。(Catty, D. (1988) *Antibodies, Volume I: A Practical Approach*. IRL Press, Washington, DC; Liddell, J. E. and Cryer, A. (1991) *A Practical Guide to Monoclonal Antibodies*, John Wiley & Sons, New York NY)。

#### 【0144】

ある下流での適用におけるこのような医薬品の品質及び適性を調べるために、ポリクローナル抗体医薬の抗体価及び結合活性を更に評価する。例えば、少なくとも $1 \sim 2 \text{ mg/ml}$ の特異的な抗体、好ましくは $5 \sim 10 \text{ mg/ml}$ の特異的な抗体を含むポリクローナル抗体医薬は一般に、VEAS抗体複合体を沈殿させなければならない処理に用いられる。様々な適用例における抗体の特異性及び抗体価、結合活性、抗体の品質や使用法の指針は一般に入手可能である。(例えば、Catty, 前出, 及びColigan 他、前出を参照)。

#### 【0145】

本発明の別の実施例では、VEASをコードするポリヌクレオチド、またはその任

意の断片または相補配列が、治療目的で使用することができる。ある実施形態では、VEASをコードするポリヌクレオチドの相補配列がmRNAの転写を阻止するのに好適である場合、これを使用することができる。特に細胞は、VEASをコードするポリヌクレオチドと相補的な配列で形質転換することもできる。したがって、相補的分子または断片は、VEASの活性の調節、または遺伝子機能の調節のために使用することができる。このような技術は当分野では周知であり、センスまたはアンチセンスオリゴヌクレオチドまたは大きな断片が、VEASをコードする配列の制御領域から、またはコード領域に沿ったさまざまな位置から設計可能である。

#### 【0146】

レトロウイルス、アデノウイルス、ヘルペス又はワクシニア、又は様々な細菌性プラスミド由来の発現ベクターを用いて、ヌクレオチド配列を標的の器官、組織又は細胞集団に運ぶこともできる。当業者に周知の方法を用いてVEASをコードするポリヌクレオチドと相補的な核酸配列を発現するベクターを作製することができる(例えば、前出のSambrook 他、及び前出のAusubel 他によるものを参照)。

#### 【0147】

VEASをコードする遺伝子は、VEASをコードするポリヌクレオチド又はその断片を高いレベルで発現する発現ベクターで、細胞又は組織を形質転換することによって止めることができる。このような作製物を用いて翻訳できないセンス又はアンチセンス配列を細胞の中に導入することができる。DNAの中に組み入れられない場合でも、このようなベクターは内在性のヌクレアーゼによって機能が損なわれるまでmRNA分子を転写し続ける。非複製ベクターでも一過性の発現を一ヶ月以上に亘って続け、好適な複製要素がベクター系の一部である場合はさらに長く持続し得る。

#### 【0148】

上記した通り、遺伝子の発現は、VEASをコードする遺伝子の制御5'または調節領域に対する相補的な配列またはアンチセンス分子(DNA或いはRNA、PNA)を設計することによって調節することができる。例えば開始部位から約-10から約+10までの転写開始部位に由来するオリゴヌクレオチドを用いることが可能である。同様に、「三重らせん」と塩基対合法を用いて阻止することができる。

三重らせん構造は、二重らせんがポリメラーゼ、転写因子、または調節分子の結合のために十分に広がるのを阻止するため有用である。三重式DNAを用いる最近の治療の進歩は文献に記載されている（例えば、Gee, J.E. 等. (1994) In: Huber, B.E. 及び B.I. Carr, *Molecular and Immunological Approaches*, Futura Publishing Co., Mt. Kisco, NYを参照）。相補的な配列またはアンチセンス分子もまた、転写物がリボソームに結合するのを阻止することによってmRNAの翻訳を阻止するように設計できる。

#### 【0149】

酵素性RNA分子であるリボザイムは、RNAの特異的切断を触媒するために用いることができる。リボザイム作用の機構には、相補的な標的RNAへのリボザイム分子の配列特異性ハイブリダイゼーションが含まれ、ヌクレオチド鎖切断が続く。例えば、VEASをコードする配列のヌクレオチド鎖切断を、特異的且つ効果的に触媒する組換え型のハンマーヘッド型リボザイム分子が含まれる。

#### 【0150】

任意の潜在的RNA標的内の特異的なリボザイム切断部位が、後続の配列GUA、GUU、及びGUCを含むリボザイム切断部位に対して、標的分子をスキャンニングすることによって初めに同定される。一度同定されると、切断部位を含む標的遺伝子の領域に対応する15個から20個のリボヌクレオチドの短いRNA配列を、オリゴヌクレオチドの機能を不全にする二次的な構造の特徴について評価することが可能である。候補標的の適合性も、リボヌクレアーゼ保護アッセイを用いて、相補的なオリゴヌクレオチドとのハイブリダイゼーションの容易性をテストすることによって評価することが可能である。

#### 【0151】

本発明の相補的なリボ核酸分子及びリボザイムは、当分野で周知の方法を用いて、核酸分子の合成のために作製することができる。これらの方法には、固相ホスホラミダイト化合物などのオリゴヌクレオチドを化学的に合成する方法が含まれる。別法では、RNA分子がin vitro及びin vivoでVEASをコードするDNA配列の転写によって生成され得る、このようなDNA配列はT7またはSP6等の好適なRNAポリメラーゼプロモータを用いて、種々のベクターの中に組み入れることが可能で

ある。別法では、相補的なRNAを構成的または誘導的に合成するこれらのcDNA作製物は、細胞株、細胞、または組織の中に導入することができる。

#### 【0152】

RNA分子を修飾することによって、細胞内の安定性を高め、半減期を長くすることができる。可能な修飾には、分子の5'及び/または3'端部でのフランキング配列の追加、または分子のバックボーン内でのホスホジエステラーゼ結合よりむしろホスホロチオネート又は2' Oメチルの使用が含まれる、がこれらに限定されるものではない。PNAの生成に固有のこの概念は、内在性のエンドヌクレアーゼによって容易には認識されないアデニン、シチジン、グアニン、チミン、及びウリジンのアセチル -、メチル -、チオ -、及び同様の修飾形態だけでなく、イノシン、キューエオシン (queosine)、及びワイプトシン (wybutosine) などの従来のものでない塩基を含めることによって、これらの分子の全体に拡大することができる。

#### 【0153】

ベクターを細胞又は組織に導入する多数の方法が利用でき、*in vivo*、*in vitro*、及び*ex vivo*での使用に等しく適している。*ex vivo*での治療の場合、患者から採取された肝細胞の中にベクターを導入して、自家移植で同じ患者に戻すためにクローニング増殖される。トランスフェクション、リボソーム注入またはポリカチオンアミノポリマーによる運搬は、当分野で周知の方法を用いて実行することができる (例えば、Goldman, C.K. 他. (1997) *Nature Biotechnology* 15:462-66:を参照)。

#### 【0154】

上記したいかなる治療方法も、例えば、ヒト、イヌ、ネコ、ウシ、ウマ、ウサギ及びサルなどの哺乳動物を含む、治療が必要な全ての被験者に適用できる。

#### 【0155】

本発明の別の実施例は、上記した全ての治療効果のために、医学上認められる担体と共に医薬品或いは無菌組成物の投与に関連する。このような医薬品組成物は、VEAS、VEASの抗体、擬態、アゴニスト、アンタゴニスト、又はVEASのインヒビターなどからなる。この組成物は、単体で、或いは安定剤などの1種類以上の

別の薬剤と共に、無菌の生体適合性医薬品担体に投与することができる。このような医薬品担体には、生理食塩水、緩衝食塩水、ブドウ糖、及び水などが含まれるがこれらに限定されるものではない。この組成物は、単独或いは薬物又はホルモンなどの別の薬剤と共に投与することができる。

#### 【0156】

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

#### 【0157】

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

#### 【0158】

経口投与用の医薬品組成物が、経口投与に好適な投与量において当分野で周知の薬学的に許容される担体を用いて、製剤することができる。このような担体により、医薬品組成物が患者が摂取するために、錠剤、丸薬、糖衣剤、カプセル、液体、ゲル状、シロップ剤、泥状物、懸濁液として製剤される。

#### 【0159】

経口用に用いられる医薬品は、活性化合物と固体の薬品添加物とを混合し、得られた顆粒の混合物を処理して、(所望に応じてすりつぶした後)タブレット或いは糖衣錠コア(dragee cores)にする。好適な医薬品添加物とは、ラクトース、スクロース、マンニトール、又はソルビトールを含む糖類、トウモロコシ、小麦、米、ジャガイモ、又はその他の植物からのでんぷん、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、又はカルボキシメチルセルロースナトリウムなどのセルロース、アラビアゴム及びトラガカントゴムを含むゴム、ゼラチン及びコラーゲンなどのタンパク質などの炭水化物又はタンパク質賦形剤である。

必要に応じて、例えば、架橋結合したポリビニルピロリドン、かんてん、アルギン酸、またはその塩であるアルギン酸ナトリウムなどの崩壊剤または可溶化剤が加えられる。

#### 【0160】

糖衣錠コアは、濃縮糖溶剤などの好適なコーティングと共に用いられる。このような濃縮糖溶剤には、アラビアゴム、タルク、ポリビニルピロリドン、カーボポルゲル (carbopol gel)、ポリエチレングリコール、及び/または二酸化チタン、ラッカー溶剤、及び好適な有機溶媒または混合溶剤などが含まれ得る。染料または色素が、製品の識別又は活性化合物の量、即ち薬用量を示すため、錠剤または糖衣錠に加えられる。

#### 【0161】

経口用に用いられる医薬品製剤には、ゼラチンから作られたプッシュ-フィット型のカプセル、グリセロールまたはソルビトールなどのコーティングとゼラチンからなる封入されたカプセルが含まれる。プッシュ-フィット型のカプセルには、ラクトース又はスターチなどの賦形剤や結合材、タルク又はステアリン酸マグネシウムなどの潤滑剤、所望に応じて安定剤と混合された活性処方成分が含まれる。ソフトカプセルでは、活性化合物が、安定剤と共に或いは安定剤なしで、脂肪油、溶液、またはポリエチレングリコール溶液などの好適な溶液に溶解或いは懸濁され得る。

#### 【0162】

非経口投与用に好適な医薬品剤が、水溶液で製剤されるが、ハンス液、リンガー液、生理緩衝食塩水などの生理学的に適合性のある緩衝剤が好ましい。水性懸濁注射液は、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ソルビトール、又はデキストランなどの懸濁液の粘性を高める物質を含み得る。更に、活性化合物の懸濁液は、好適な油性注入懸濁液として製剤され得る。好適な親水性溶液または媒体には、ごま油などの脂肪油、オレイン酸エチル、トリグリセリド又はリボソームなどの合成脂肪酸が含まれる。非脂質ポリカチオンアミノポリマーが、運搬目的で使用される。随意選択により、懸濁液は高濃度の溶液が可能となるよう化合物の溶解性を高める好適な安定剤または薬剤を含み得る。

## 【0163】

局部または鼻腔投与のために、特定の障壁に浸透する好適な浸透剤が製剤に用いられる。このような浸透剤は当業者には周知である。

## 【0164】

本発明の医薬品組成物は、当分野で周知の方法、例えば従来の混合、溶解、顆粒化、糖衣化、溶離(levigating)、乳化、カプセル化、封入、または凍結乾燥処理を用いて製造され得る。

## 【0165】

医薬品組成物は塩類として製剤され、限定されないが、塩酸、硫酸、酢酸、乳酸、酒石酸、リンゴ酸、コハク酸等の多くの酸と共に形成可能である。塩分は対応する遊離塩基系よりも、水溶剤または他のプロトン溶剤に溶けやすい。別の薬剤の形態には、1 mM~50 mMヒスチジン、0.1%~2%スクロース、及び2%~7%マンニトールの幾つか或いは全てを含み、pHの範囲が4.5~5.5であり、使用前に緩衝剤と結合する凍結乾燥粉末を用いることができる。

## 【0166】

医薬品組成物が調合された後、それらは適当な箱に詰められ、指定した症状の薬としてラベルが貼られる。VEASの投与のため、このようなラベルには、量、頻度、及び投与の方法が含まれるであろう。

## 【0167】

本発明に用いる好適な医薬品組成物には、目的を達成するため、効果的な量の活性処方成分を含む組成物が含まれる。当業者は、自身の能力で十分に効果的な服用量を決めることができる。

## 【0168】

どのような組成物であっても、治療に効果的な薬用量は、初めは、例えば腫瘍細胞の腫瘍細胞アッセイで、或いは動物モデルのどちらかで推定することができる。通常、動物モデルには、マウス、ウサギ、イヌ、又はブタなどが用いられる。動物モデルはまた、好適な濃縮範囲及び投与の経路を決めるのに用いることができる。このような治療をもとに、ヒトへの有益な薬用量及び投与経路を決定することができる。

## 【0169】

医学的に効果的な薬用量は、症状や容態を回復させる、たとえばVEAS又はその断片、VEASの抗体、VEASのアゴニストまたはアンタゴニスト、インヒビターなどの活性処方成分の量に関連する。薬用有効度及び毒性は、たとえば、ED<sub>50</sub>（服用に対して集団の50%に医薬的效果がある）またはLD<sub>50</sub>（服用に対して集団の50%に致命的である）統計を計算するなど、細胞培養または動物実験における標準的な薬剤手法によって決定することができる。毒性効果と治療効果との薬用量比は治療指数であり、LD<sub>50</sub>/ED<sub>50</sub>と示すことができる。高い治療指数を示す医薬品組成物が望ましい。細胞培養アッセイ及び動物実験から得られたデータが、ヒトへの適用のために、薬用量の範囲を調剤するのに用いられる。このような組成物が含まれる薬用量は、毒性を殆ど或いは全く含まず、ED<sub>50</sub>を含む血中濃度の範囲であることが望ましい。薬用量は、用いられる投与形態及び患者の感受性、投与の経路によって、この範囲内で様々である。

## 【0170】

正確な薬用量は、治療が必要な患者に関する要素を考慮して、実務者によって決められるであろう。薬用量及び投与は、効果的なレベルの活性成分を与えるため或いは所望の効果を維持するために調節される。薬用量の要素として考慮されるものには、疾患の重症度、患者の一般的な健康状態、年齢、体重、及び患者の性別、投与の時間及び頻度、併用する薬剤、反応感受性、及び治療に対する応答が含まれる。作用器官が長い医薬品組成物は、三日か四日に一度、一週間に一度、二週間に一度、特定の製剤の半減期及びクリアランス率によって左右され、投与され得る。

## 【0171】

通常薬用量は投与の経路によって異なるが、約0.1~100,000 µgまでの最大約1グラムまでである。特定の薬用量及び運搬の方法に関するガイダンスは文献に記載されており、一般に当分野の実務者はそれを利用することができる。当業者は、タンパク質またはインヒビターとは異なったヌクレオチドの製剤を利用するであろう。同様に、ポリヌクレオチド又はポリペプチドの運搬は、特定の細胞、状態、位置などに対して特異的であろう。

## 【0172】

## (診断)

別の実施例では、VEASに特異的に結合する抗体が、VEASの発現によって特徴付けられる疾患の診断、またはVEASやVEASのアゴニストまたはアンタゴニスト、インヒビターで治療を受けている患者をモニターするためのアッセイに用いられる。診断に有用な抗体は、治療のところで記載した方法と同じ方法で製剤される。VEASの診断アッセイには、抗体及び標識を用いてヒトの体液或いは細胞や組織から採取されたものからVEASを検出する方法が含まれる。これらの抗体は、修飾をして或いはしないで使用され、レポーター分子の共有結合性或いは非共有結合性の接着によって標識化され得る。当分野で周知の種々のレポーター分子が用いられるが、その内の幾つかは上記した。

## 【0173】

VEASを測定するためのELISA, RIA, 及びFACSを含む種々のプロトコルは、当分野では周知であり、変わった或いは異常なレベルのVEASの発現を診断する元となるものを提供する。正常或いは標準的なVEASの発現の値は、複合体の形成に適した条件の下、正常な哺乳動物、例えばヒトなどの被験者から採取した体液または細胞とVEASに対する抗体とを結合させることによって決定する。標準的な複合体形成の量は、測光法 (photometric) などの種々の方法で定量され得る。被験者のVEASの発現の量、制御及び疾患、生検組織からのサンプルが基準値と比較される。基準値と被験者との間の偏差が、診断の指標となる。

## 【0174】

別の実施例によれば、VEASをコードするポリヌクレオチドを診断のために用いることもできる。用いられるポリヌクレオチドには、オリゴヌクレオチド配列、相補的なRNA及びDNA分子、及びPNAが含まれる。このポリヌクレオチドを用いて、疾患と相関し得るVEASを発現する生検組織における遺伝子の発現を検出し定量する。この診断アッセイを用いて、VEASの存在の有無、更に過剰な発現を調べ、治療中のVEAS値の調節を監視する。

## 【0175】

ある実施形態では、VEASまたは近縁の分子をコードする遺伝子配列を含むポリ

ヌクレオチド配列を検出可能なPCRプローブを用いたハイブリダイゼーションによって、VEASをコードする核酸配列を同定することが可能である。例えば5'調節領域である高度に特異的な領域か、例えば保存されたモチーフであるやや特異性の低い領域から作られているかのプローブの特異性と、ハイブリダイゼーション或いは増幅のストリンジェントは、プローブがVEASをコードする自然界の配列のみを同定するかどうか、或いはアレルや関連配列コードする自然界の配列のみを同定するかどうかによって決まるであろう。

#### 【0176】

プローブはまた、関連する配列の検出に利用され、VEASをコードする任意の配列と少なくとも50%の配列同一性を有し得る。目的の本発明のハイブリダイゼーションプローブには、DNAあるいはRNAが可能であり、SEQ ID NO:20-38の配列、或いはVEAS遺伝子のプロモーター、エンハンサー、イントロンを含むゲノム配列に由来し得る。

#### 【0177】

VEASをコードするDNAに対して特異的なハイブリダイゼーションプローブの作製方法には、VEAS及びVEAS誘導体をコードするポリヌクレオチド配列をmRNAプローブの作製のためのベクターにクローニングする方法がある。このようなベクターは市販されており、当業者には周知であり、好適なRNAポリメラーゼ及び好適な標識されたヌクレオチドを加えることによって、*in vitro*でRNAプローブを合成するために用いられる。ハイブリダイゼーションプローブは、例えば<sup>32</sup>P或いは<sup>35</sup>Sなどの放射性核種、或いはアビジン/ビオチン (biotin) 結合系によってプローブに結合されたアルカリホスファターゼなどの酵素標識等の種々のレポーターの集団によって標識され得る。

#### 【0178】

VEASをコードするポリヌクレオチド配列を用いて、VEASの発現に関連する疾患を診断することが可能である。限定するものではないが、このような疾患の例には輸送障害含まれ、その中には運動不能症、筋萎縮性側索硬化症、毛細血管拡張性運動失調、ベッカー筋ジストロフィー、顔面麻痺、シャルコー マリー ツー ス病、糖尿病、尿崩症、糖尿病性ニューロパシー、デュシェンヌ型筋ジストロフ

イー、高カリウム血性周期性四肢麻痺、正常カリウム血性周期性四肢麻痺、パーキンソン病、悪性高熱、多剤耐性、重症筋無力症、筋緊張性異栄養症、緊張病、錐体外路性終末欠陥症候群、ジストニー、末梢神経疾患、脳性腫瘍、前立腺癌と、口峽炎、徐脈型不整脈、頻拍性型不整脈、高血圧症、遺伝性QT延長症候群、心筋炎、心筋症、ネマリンミオパシーラネマリン筋障害、中心核ミオパシー、脂質ミオパシー、ミトコンドリアミオパシー、甲状腺中毒性ミオパシー、エタノールミオパシー、皮膚筋炎、封入体筋炎、感染性筋炎、及び多発性筋炎などの輸送に関連した心臓病と、アルツハイマー病、健忘症、双極性障害、痴呆、うつ病、てんかん、トゥーレット病、妄想性精神病、及び分裂病などの輸送に関連した神経障害と、神経線維腫症、帯状疱疹後神経痛、3叉神経ニューロパシー、サルコイドーシス、鎌状赤血球性貧血、ウィルソン病、白内障、不妊症、肺動脈狭窄症、常染色体性感音性難聴、高/低血糖症、グレーブス病、甲状腺腫、クッシング病と、潰瘍性大腸炎や胃潰瘍、十二指腸潰瘍を含む胃腸疾患と、後天性免疫不全症候群(AIDS)を含む小胞輸送障害に関連した別の症状と、枯草熱や喘息、じんま疹を含むアレルギーと、自己免疫性溶血性貧血、増殖性糸球体腎炎、炎症性腸疾患、多発性硬化症、重症筋無力症、リウマチ様変形性関節症、硬皮、チェディアック 東症候群、シェーグレン症候群、全身性エリテマトーデス、トキシックショック症候群、外傷性組織損傷、ウイルス感染、細菌感染、真菌感染、蠕虫感染、原虫感染、シスチン尿症、第2アミノ酸性尿症(dibasicaminoaciduria)、高シスチン尿症、リシン尿症、ハートナップ病、トリプトファン吸収不良症、メチオニン吸収不良症、ヒスチジン尿症、イミノグリシン尿症、ジカルボキシルアミノ酸性尿症(dicarboxylicaminoaciduria)、シスチン蓄積症、renal glycosuria、低尿酸血症、家族性低リン酸血症性くる病、先天性塩化物過剰症(congenital chloridorrhea)、遠位尿細管性アシドーシス、メンケス病、ウィルソン病、致命的下痢症、若年性悪性貧血、葉酸吸収不良症、副腎白質ジストロトフィ、遺伝性ミオグロビン尿症、ツェルヴェーガー症候群が含まれ、また免疫異常症も含まれ、その中には後天性免疫不全症候群(AIDS)及び副腎機能不全、成人呼吸窮迫症候群、アレルギー、強直性脊椎炎、アミロイド症、貧血、喘息、アテローム性動脈硬化症、自己免疫性溶血性貧血、自己免疫性甲状腺炎、自己免疫性多腺性

内分泌カンジダ性外胚葉ジストロフィ (APECED)、気管支炎、胆嚢炎、接触皮膚炎、クローン病、アトピー性皮膚炎、皮膚筋炎、糖尿病、肺気腫、リンパ球毒素性一時性リンパ球減少症、赤芽球症、結節性紅斑、萎縮性胃炎、糸球体腎炎、グッドパスチャー症候群、痛風、グレーブス病、橋本甲状腺炎、過好酸球増加症、過敏性大腸症候群、多発性硬化症、重症筋無力症、心筋又は心膜炎症、骨関節炎、骨粗しょう症、膵炎、多発性筋炎、乾癬、ライター症候群、リウマチ様関節炎、強皮症、シェーグレン症候群、全身性アナフィラキシー、全身性エリテマトーデス、全身性硬化症、血小板減少症、潰瘍性大腸炎、ウェルナー症候群、癌合併症、血液透析、体外循環と、ウイルス感染症及び細菌感染症、真菌感染症、寄生虫感染症、原虫感染症、蠕虫の感染症、外傷が含まれ、また癌が含まれ、その中には腺癌、白血病、リンパ腫、黒色腫、骨髄腫、肉腫、奇形癌などがあり、詳しくは副腎、膀胱、骨、骨髄、脳、乳房、頸部、胆嚢、神経節、消化管、心臓、腎臓、肝臓、肺、筋肉、卵巣、膵臓、副甲状腺、陰茎、前立腺、唾液腺、皮膚、脾臓、精巣、胸腺、甲状腺、及び子宮の癌が含まれる。VEASをコードするポリヌクレオチド配列は、サザーン法やノーザン法、ドットプロット法、或いはその他の膜系の技術、PCR法、ディップスティック (dipstick)、ピン (pin)、ELISA式アッセイ、及び変異VEASの発現を検出するために患者から採取した体液或いは組織を利用するマイクロアレイに使用することが可能である。このような質的或いは量的方法は、当分野では周知である。

#### 【0179】

ある実施態様では、VEASをコードするヌクレオチド配列は、関連する疾患、特に上記した疾患を検出するアッセイにおいて有用であろう。VEASをコードするヌクレオチド配列は、標準的な方法で標識化され、ハイブリダイゼーション複合体の形成に好適な条件の下、患者から採取した体液或いは組織のサンプルに加えることができるであろう。好適な培養期間の後、サンプルを洗浄し、シグナルを定量して基準値と比較する。患者のサンプルのシグナルの量が、制御サンプルと比べて著しく変わっている場合は、サンプル内のVEASをコードするヌクレオチド配列の変異レベルにより、関連する疾患の存在が明らかになる。このようなアッセイを用いて、動物実験、臨床試験、或いは個人の患者の治療を監視における、特

定の治療効果を推定することが可能である。

#### 【0180】

VEASの発現に関連する疾患の診断の基準となるものを提供するために、正常あるいは標準的な発現の概要が確立される。これは、ハイブリダイゼーション或いは増幅に好適な条件の下、動物或いはヒトの何れかの正常な被験者から抽出された体液或いは細胞と、VEASをコードする配列或いはその断片とを結合させることにより達成され得る。標準的なハイブリダイゼーションは、正常な被験者から得た値と周知の量の実質的に精製されたポリヌクレオチドが用いられる実験からの値とを比較することによって定量可能である。正常なサンプルから得た標準的な値を、疾患の症状を示す被験者から得た値と比較可能である。基準値と被験者の値との偏差を用いて罹患しているかどうかを決定する。

#### 【0181】

疾患の存在が確定され、治療プロトコルが開始されると、ハイブリダイゼーションアッセイを通常ベースで繰り返して、被験者における発現のレベルが正常な患者に示される値に近づき始めたかどうかを推定することが可能である。繰り返し行ったアッセイの結果を、数日から数ヶ月の期間の治療の効果を見るのに用いることができる。

#### 【0182】

癌では、個体からの生体組織における異常な量の転写物が、疾患の発生の素因を示し、また実際に臨床的症状が出る前に疾患を検出する方法を提供することが可能である。この種のより明確な診断により、医療の専門家が予防方法或いは積極的な治療法を早くから利用して、癌の発生または進行を防ぐことが可能となる。

#### 【0183】

VEASをコードする配列から設計されたオリゴヌクレオチドのさらなる診断への利用には、PCRの利用が含まれ得る。このようなオリゴマーは、化学的な合成、酵素を用いた生成、或いは*in vitro*で生成され得る。オリゴマーは、好ましくはVEASをコードするポリヌクレオチドの断片、或いはVEASをコードするポリヌクレオチドと相補的なポリヌクレオチドの断片を含み、最適な条件の下、特定の遺伝

子や条件を識別するために利用される。また、オリゴマーは、やや緩いストリンジェントな条件の下、近縁のDNA或いはRNA配列の検出及び/または定量のため用いることが可能である。

#### 【0184】

VEASの発現を定量するために用いられ得る方法には、ヌクレオチドの放射標識或いはビオチン標識、調節核酸の相互増幅 (coamplification)、及び標準的な曲線に結果が加えられたものが含まれる (例えば、Melby, P.C.等(1993) J. Immunol. Methods, 159:235-44 ; Duplaa, C.等(1993) Anal. Biochem. 229-236を参照)。多数のサンプルの定量速度は、目的のオリゴマーが種々の希釈液に含まれ、分光光度法或いは非色応答によって定量が迅速なハイスループット型のアッセイを用いることで加速された。

#### 【0185】

別の実施例では、本明細書で記載した任意のポリヌクレオチド配列由来のオリゴヌクレオチドまたはそれより長い断片を、マイクロアレイにおける標的として用いる。マイクロアレイを用いて、同時に極めて多くの遺伝子の発現レベルを監視し、遺伝子の変異、突然変異及び多形性を識別する。この情報は、遺伝子機能の決定、疾患の遺伝的根拠の解釈、疾患の診断、及び治療薬剤の活性の監視及び開発に有用である。

#### 【0186】

当分野で周知の方法でマイクロアレイを準備して使用し、分析する。(例えば、Brennan, T.M. 他 (1995) 米国特許第5,474,796号; Schena, M. 他 (1996) Proc. Natl. Acad. Sci. 93:10614-10619; Baldeschweiler 他(1995) PCT出願番号W095/251116; Shalon, D.他 (1995) PCT出願番号W095/35505; Heller, R.A. 他(1997) Proc. Natl. Acad. Sci. 94:2150-2155; 及び Heller, M.J. 他 (1997) 米国特許第5,605,662号を参照)

本発明の別の実施例ではまた、VEASをコードする核酸配列を用いて、自然発生のゲノム配列をマッピングするのに有用なハイブリダイゼーションプローブを生成することが可能である。この配列は、以下のものに対してマッピングされる。特定の染色体、染色体の特定領域または人工生成の染色体、例えば、ヒト人工染

色体 (HAC)、酵母人工染色体 (YAC)、細菌人工染色体 (BAC)、細菌 P1 生成物或いは単一染色体 cDNA ライブラリである。(例えば、Harrington, 1.3. 他 (1997) Nat Genet. 15:345-355; Price, C.M. (1993) Blood Rev. 5 - 87-134, 及び Trask, B.J. (1991) Trends Genet. 7:149-154 を参照)

in situ 蛍光ハイブリダイゼーション (FISH) は、他の物理的染色体マッピング技術及び遺伝マップデータと相関するであろう (例えば、Heinz-Ulrich, 他による (1995) in Meyers, 前出, pp. 965-968. を参照)。遺伝子マップデータの例は、種々の科学誌あるいは Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) のワールドワイドウェブのサイトで見付けることができる。物理的な染色体マップ上の VEAS をコードする遺伝子の位置と特定の疾患との相関性、或いは特定の疾患に対する素因が、このような疾患と関係する DNA の領域を決定するのに役立つ。本発明のヌクレオチド配列を用いて、正常者と、保有者、及び感染した者との遺伝子配列における違いを検出することもある。

#### 【0187】

染色体標本の in situ ハイブリダイゼーション、及び確定した染色体マーカーを用いた結合分析などの物理的マッピング技術を用いて、遺伝子マップを拡張することもできる。マウスなどの別の哺乳動物の染色体上での遺伝子の配置により、たとえ特定のヒト染色体の数或いはアームが分かっていなくても、関連するマーカーが明らかになることが多い。新規の配列を、物理的なマッピングによって、染色体アームに割り付けることもできる。このことは、位置クローニング或いは別の遺伝子発見技術を用いて遺伝的疾患の研究をしている研究者にとって、価値ある情報である。疾患或いは症候群の位置が、例えば血管拡張性失調症の 11q22-23 などの特定の遺伝子領域に遺伝子結合によって大まかに決定されると、その領域に対するどの配列マッピングも、さらなる調査のための関連する遺伝子或いは調節遺伝子を表す (例えば、Gatti, R.A. 他による (1988) Nature 336:577-580 を参照)。また、目的の本発明のヌクレオチド配列を用いて、正常者、保有者、即ち感染者の間の、転位置、反転などによる染色体位置の違いを検出することもある。

#### 【0188】

本発明の別の実施例では、VEAS、その触媒作用断片或いは免疫原断片またはそのオリゴペプチドを、種々の任意の薬剤スクリーニング技術における化合物のライブラリのスクリーニングに用いることができる。このようなスクリーニングに用いる断片は、溶液に遊離、固体支持物に固定、細胞の表面上に保持、或いは細胞内に存在する。VEASと検査する薬剤との結合による複合体の形成を測定してもよい。

#### 【0189】

薬剤スクリーニングに用いる別の方法は、目的のタンパク質に対して、好適な結合親和性を有する化合物のスクリーニング処理能力を高めるために用いられる（例えば、Geysen, 他による(1984) PCT出願番号 W084/03564を参照）。この方法では、相当な数の異なる小さな試験用化合物が、プラスチックピン或いは他の基板の上に合成される。試験用化合物は、VEAS、或いはその断片と反応してから洗浄される。次に、結合されたVEASが、当分野で周知の方法で検出される。精製されたVEASはまた、前記した薬剤をスクリーニングする技術に用いられるプレート上で直接被覆することもできる。別法では、非中和抗体を用いて、ペプチドを捕らえ、固体支持物に固定することもできる。

#### 【0190】

別の実施例では、VEASと結合可能な中和抗体がVEASと結合するため試験用化合物と特に競合する、競合的薬剤スクリーニングアッセイを用いることができる。この方法では、抗体が、VEASと1つ以上の抗原決定因子を共有するどのペプチドの存在も検出する。

#### 【0191】

別の実施例では、発展途上の分子生物学技術にVEASをコードするヌクレオチド配列を用いて、限定はされないが、現在知られているトリプレット暗号及び特異的な塩基対相互作用などのヌクレオチド配列の特性に依存する新しい技術を提供することができる。

#### 【0192】

当分野の技術者であれば、更なる説明がなくても前述の説明だけで最大限に本発明を利用できるであろう。したがって、以下に記載する特定の好適な実施例は

、例示目的であって本発明を限定するものではない。

【0193】

前述した及び以下に記載した全ての特許出願、特許、刊行物、特に米国特許出願通し番号60/128,193及び60/144,701に言及することをもって本明細書の一部とする。

【0194】

(実施例)

1 cDNAライブラリの作製

RNAは、Clontech社から購入、或いは表4に列記した組織から単離した。まず、この組織の一部をホモジナイズしてグアニジニウムイソチオシアネート溶液に溶解する一方、この組織の別の一部をホモジナイズしてフェノールに溶解するか、或いはTRIZOL (Life Technologies)、グアニジニウムイソチオシアネート及びフェノールの单相溶液などの好適な変性剤の混合液に溶解した。この溶解物を塩化セシウムにおいて遠心分離またはクロロホルムで抽出した。イソプロパノール或いは酢酸ナトリウムのどちらかとエタノール、或いは別の方法でこの溶解物からRNAを沈殿させた。

【0195】

RNAの純度を高めるためにRNAのフェノールによる抽出及び沈殿を必要な回数繰り返した。場合によっては、DNA分解酵素でRNAを処理する。殆どのライブラリでは、オリゴd(T)連結常磁性粒子(Promega)またはOLIGOTEXラテックス粒子(QIAGEN, Valencia CA)、OLIGOTEX mRNA精製キット(QIAGEN)を用いてポリ(A+) RNAを単離した。別法では、POLY(A)PURE mRNA精製キット(Ambion, Austin TX)などの別のRNA単離キットを用いて組織溶解物から直接単離した。

【0196】

ある場合には、Stratagene社にRNAを提供し、Stratagene社が対応するcDNAライブラリを作製した。そうでない場合は、UNIZAPベクターシステム(Stratagene)またはSUPERSRIPT プラスミドシステム(Life Technologies)を用いて当分野で周知の推奨方法または類似の方法でcDNAを合成してcDNAライブラリを作製した。(例えば、Ausubel, 1997, 前出, ユニット5.1-6.6を参照)。逆転写は、オリゴd(T)

またはランダムプライマーを用いて開始した。合成オリゴヌクレオチドアダプターを二本鎖cDNAに結合させてから、好適な1つの制限酵素或いは複数の制限酵素でcDNAを消化した。殆どのライブラリでは、SEPHACRYL S 1000または SEPHAROSE CL2B、SEPHAROSE CL4Bカラムクロマトグラフィー(Amersham Pharmacia Biotech)、アガロースゲル電気泳動法によってcDNAの大きさ(300~1000bp)を選択した。PBLUESCRIPTプラスミド(Stratagene)またはpSPORT1プラスミド(Life Technologies)、pcDNA2.1プラスミド(Invitrogen Carlsbad CA)、pINCYプラスミド(Incyte Pharmaceuticals, Palo Alto CA)などの好適なプラスミドのポリリンカーの適合性制限酵素部位にcDNAを結合させた。この組換えプラスミドを、Stratagene社のXL1-Blue、XL1-BlueMRF、SOLR、またはLife Technologies社のDH5 またはDH10B、ELECTROMAX DH 10Bを含むコンピテント大腸菌細胞に導入し組み込んだ。

#### 【0197】

### 2 cDNAクローンの単離

UNIZAPベクターシステム(Stratagene)或いは細胞溶解を利用して、in vivo切除によって宿主細胞からプラスミドを回収した。MagicまたはWIZARD Minipreps DNA精製システム(Promega)、及びAGTC Miniprep精製キット(Edge Biosystems, Gaithersburg MD)、QIAGEN社のQIAWELL 8 Plasmid、QIAWELL 8 Plus Plasmid、QIAWELL 8 Ultra Plasmid 精製システム、REAL Prep 96プラスミドキットの内の少なくとも1つを用いてプラスミドを精製した。沈殿させた後、0.1mlの蒸留水に再懸濁して、凍結乾燥して或いは凍結乾燥しないで4℃で保管した。

#### 【0198】

別法では、ハイスループットの直接結合PCR法によって宿主細胞溶解物からプラスミドDNAを増幅した。(Rao, V.B. (1994) Anal. Biochem. 216:1-14)。宿主細胞の溶解及び熱サイクリング過程を単一反応混合液で行った。サンプルを処理してから384-ウェルプレートに移して保管し、増幅したプラスミドDNAの濃度をPICOGREEN色素(Molecular Probes, Eugene OR)及びFluoroskan II蛍光スキャナー(Labsystems Oy, Helsinki, Finland)を用いて蛍光定量的に測定した。

#### 【0199】

### 3 シークエンシング及び分析

cDNAのシーケンシング反応は、標準的な方法で、或いはABI CATALYST 800 (Perkin-Elmer) thermal cyclerまたはPTC-200 thermal cycler (MJ Research)とHYDRAマイクロディスペンサー(Robbins Scientific) またはMICROLAB 2200 (Hamilton) 液体転移システムとの組み合わせなどのハイスループット装置で行った。cDNAのシーケンシング反応の準備には、Amersham Pharmacia Biotech社の試薬、またはABI PRISM BIGDYE Terminator cycle sequencing ready reactionキット(Perkin-Elmer)などのABIシーケンシングキットに含まれる試薬を用いた。cDNAのシーケンシング反応の電気泳動的な分離及び標識したポリヌクレオチドの検出には、MEGABACE 1000 DNAシーケンシングシステム(Molecular Dynamics)、標準ABIプロトコル及び塩基対呼び出しソフトウェアを用いるABI PRISM 373または377シーケンシングシステム(Perkin-Elmer)、当分野で周知のその他の配列解析システムを用いた。cDNA配列の読み枠は、標準的な方法(Ausubel, 1997, 前出, unit 7.7)を用いて決定した。cDNA配列の幾つかを選択して、本実施例の6に記載した方法で配列を伸長した。

#### 【0200】

cDNAのシーケンシングから得たポリヌクレオチド配列の構築及び解析は、当分野の技術者に周知のアルゴリズムを利用したソフトウェアを組合せて行った。表5は、利用したツール、ソフトウェア、アルゴリズム、それらの説明、引用文献、閾値パラメーターの概要を示す。表5の列1は用いたツール及びプログラム、アルゴリズム、列2はそれらの簡単な説明、列3は引用することで本明細書の一部とした引用文献、列4の記載部分は2つの配列の一致度の評価に用いたスコア及び確率値、他のパラメータを示す(確率値が高ければ高いほど配列間の相同性が高くなる)。配列の解析には、MACDNASIS PROソフトウェア(Hitachi Software Engineering, S. San Francisco CA)及びLASERGENEソフトウェア(DNASTAR)を用いた。

#### 【0201】

ポリヌクレオチド配列の確証は、BLAST及び動的計画法、ジヌクレオチド最近接分析に基づいたプログラム及びアルゴリズムを用いて、ベクター及びリンカー、ポリA配列を取り除き、あいまいな塩基対をマスクすることで行った。次に、

BLAST及びFASTA、BLIMPSに基づいたプログラムを用いて、公共のデータベースであるGenBankの霊長類及びげっ歯類、哺乳類、脊椎動物、真核生物のデータベースやBLOCKS、PRINTS、DOMO、PRODOM及びPFAMなどのデータベースから選択した配列に対してこれらの配列を問合わせて注釈を得た。Phred及びPhrap、Consedに基づいたプログラムを用いて完全長のポリヌクレオチド配列の中にこれらの配列を構築して、BLAST及びFASTA、BLIMPSに基づいたプログラムでオープンリーディングフレームのためにスクリーニングした。完全長のポリヌクレオチド配列を翻訳して対応する完全長のアミノ酸配列を引き出し、GenBankデータベース(上記)及びSwissProt、BLOCKS、PRINTS、DOMO、PRODOM及びPrositeなどのデータベース、またはPFAMなどの隠れマルコフモデル(HMM)に基づいたタンパク質ファミリーデータベースに対して問い合わせてこれらの完全長の配列を分析した。HMMは、確率を利用して遺伝子ファミリーのコンセンサス一次構造を解析する(例えば、Edy, S.R. (1996) *Curr. Opin. Struct. Biol.* 6:361-365を参照)。

#### 【0202】

完全長のポリヌクレオチド配列及びアミノ酸配列の構築及び分析に用いる上記のプログラムは、SEQ ID NO:20 - 38からのポリヌクレオチド配列の断片の同定にも使用できる。約20 ~ 4000個までのヌクレオチドの断片はハイブリダイゼーション及び増幅に有用であり、上記の発明で説明した。

#### 【0203】

#### 4 ノーザン分析

ノーザン分析は、遺伝子の転写物の存在を検出するために用いられる実験用技術であり、特定の細胞種或いは組織からのRNAが結合されている膜への標識されたヌクレオチド配列のハイブリダイゼーションを伴う(例えば、Sambrook, 前出, 7章; 及び Ausubel, F.M. 他, 前出, 4章及び16章を参照)。

#### 【0204】

BLASTに用いる類似のコンピュータ技術を用いて、GenBank或いはLIFESEQ (Incyte Pharmaceuticals) のようなヌクレオチドデータベース内の同一或いは関連する分子を検索する。この分析は多くの膜系ハイブリダイゼーションより非常に速度が速い。さらにコンピュータ検索の感度を変更して、任意の特定の一致が、

厳密な一致或いは相同的一致の何れかとして分類されるかを確定することができる。検索の基準は、

$$(\% \text{配列同一性} \times \% \text{最大BLASTスコア}) / 100$$

として定義される積スコアである。積スコアは、2つの配列間の類似度及び配列一致の長さの両方を考慮する。例えば、積スコア40の場合、その一致は1~2%誤差の範囲内で正確であり、70ではその一致は正確であろう。類似分子は通常、15~40の範囲の積スコアを示す分子を選択することにより同定されるが、それより低いスコアでも関連した分子が同定される場合もある。

#### 【0205】

ノーザン分析の結果は、VEASをコードする転写物が発生したライブラリの分布割合として報告される。分析には、器官/組織及び疾患によるcDNAライブラリの分類も含まれる。器官/組織のカテゴリーには、心血管、皮膚、発生、内分泌、胃腸、造血/免疫、筋骨格、神経、生殖、泌尿器が含まれる。疾患のカテゴリーには、癌、炎症、外傷、細胞増殖、神経、貯留(pooled)が含まれる。カテゴリー別に、目的の配列を発現するライブラリの数を数えて、それを全ての範囲のライブラリの数で除した。各組織に特異的に発現する割合(パーセント)と各疾患で発現する割合を表3に示した。

#### 【0206】

##### 5 VEASをコードするポリヌクレオチドの染色体マッピング

SEQ ID NO:35 - 38を構築するために用いたcDNA配列を、BLAST及びSmith-Watermanアルゴリズムのインプリテーションを使って、インサイト社LIFESEQデータベース及び公共のドメインデータベースの配列と比較した。SEQ ID NO:35 - 38と一致するこれらのデータベースの配列を、Phrap(表5)などの構築アルゴリズムを使用して、連続及び重複した配列のクラスターに組み入れた。Stanford Human Genome Center (SHGC)、Whitehead Institute for Genome Research (WIGR)及びGenethonなどの公共の情報源から入手できる放射線ハイブリッド(radiation hybrid)及び遺伝子マッピングのデータを用いて、クラスター化した配列がすでにマッピングされているかを調べる。クラスターにマッピングされた配列が含まれている場合は、そのクラスターの全ての配列(特定のSEQ ID NOを含む)をそ

のマップ位置に割り当てた。

#### 【0207】

SEQ ID NO:38の遺伝子マップ位置は、特定のヒト染色体の区間即ち範囲として本明細書の(発明)の部分に記載した。SEQ ID NO:38に対する2つ以上のマップ一が報告されていることから、SEQ ID NO:38に類似しているが同一ではない初めにマップされた配列が、それらの対応するクラスターの中に構築された。センチモルガンで示したマップ位置の範囲は、染色体のp腕(p-arm)の末端から測定した(センチモルガン(cM)は、同一染色体上の遺伝子間の乗換え率に基づいた距離を表す単位である。平均すると、1cMはヒトの染色体の1メガベースに概ね等しいが、組換え率の高い部分と低い部分があるため、大きく変化し得る)。距離cMは、配列がそれぞれのクラスターに含まれている放射線ハイブリッドマーカの境界を検出できるGenethonによってマッピングされた遺伝子マーカーに基づいている。ヒトゲノムマップ及びNCBI 'GeneMap'99" WWWサイト(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genemap/>)などの公共の情報源を利用して、先に同定されている疾患遺伝子が上記した区間内或いはその近傍にマップされるかを決定可能である。

#### 【0208】

##### 6 VEASをコードするポリヌクレオチドの伸長

SEQ ID NO:20 - 38の完全長の核酸配列は、完全長分子の好適な断片から設計したオリゴヌクレオチドプライマーを用いてその完全長分子の好適な断片を伸長して作製した。一方のプライマーは既知の断片の5'の伸長を開始するために合成し、他方のプライマーは既知の断片の3'の伸長を開始するために合成した。開始プライマーは、OLIGO 4.06ソフトウェア(National Biosciences)或いは他の適切なプログラムを用いて、約22個から約30個のヌクレオチドの長さで約50%以上のGC含量を有し、かつ約68~72の温度で標的配列にアニールするように設計した。ヘアピン構造及びプライマー-プライマー二量体が生じないようにヌクレオチドを伸長した。

#### 【0209】

選択されたヒトcDNAライブラリを用いてこの配列を伸長した。2段階以上の伸

長が必要な場合、若しくは望ましい場合は、追加或いはネスト化プライマーの組を設計する。

【0210】

当分野で既知の方法を利用したPCR法で高い忠実度で増幅した。PCRはPTC-200 thermal cycler (MJ Research, Inc.)用いて96ウェルブロックプレートで行った。反応混合液は、鋳型DNA及び200 nmolの各プライマー、 $Mg^{2+}$ と $(NH_4)_2SO_4$ と -メルカプトエタノールを含むバッファー、Taq DNAポリメラーゼ(Amersham Pharmacia Biotech)、ELONGASE酵素(Life Technologies)、Pfu DNAポリメラーゼ(Stratagene)を含む。プライマーの組、PCI AとPCI Bに対して以下のパラメーターで増幅を行った。

ステップ1	94	で3分間
ステップ2	94	で15秒
ステップ3	60	で1分間
ステップ4	68	で2分間
ステップ5	ステップ2、3、及び4を20回繰り返す	
ステップ6	68	で5分間
ステップ7	4	で保管

別法では、プライマーの組、T7とSK+に対して以下のパラメーターで増幅を行った。

ステップ1	94	で3分間
ステップ2	94	で15秒
ステップ3	57	で1分間
ステップ4	68	で2分間
ステップ5	ステップ2、3、及び4を20回繰り返す	
ステップ6	68	で5分間
ステップ7	4	で保管。

【0211】

各ウェルのDNA濃度は、1X TE及び0.5 µlの希釈していないPCR産物に溶解した100 µlのPICOGREEN定量試薬(0.25% (v/v) PICOGREEN; Molecular Probes, Eugen

e OR)を不透明な蛍光光度計プレート(Coming Costar, Acton MA)の各ウェルに分配してDNAが試薬と結合できるようにして測定する。このプレートをFluoroskan II (Labsystems Oy, Helsinki, Finland)でスキャンして、サンプルの蛍光を計測してDNAの濃度を定量化する。反応混合物の5~10 $\mu$ lのアリコットを1%のアガロースミニゲル上での電気泳動によって解析し、何れの反応物が配列を伸長することに成功したかを決定する。

#### 【0212】

伸長したヌクレオチドを脱塩及び濃縮してから384ウェルプレートに移し、CviJIコレラウィルスエンドヌクレアーゼ(Molecular Biology Research, Madison WI)で消化し、pUC 18ベクター(Amersham Pharmacia Biotech)に再連結する前に音波処理またはせん断を行った。ショットガンシーケンシングのために、消化したヌクレオチドを低濃度(0.6~0.8%)のアガロースゲル上に分離して断片を切断し、寒天をAgar ACE (Promega)で消化した。T4リガーゼ(New England Biolabs, Beverly MA)を用いて伸長したクローンをpUC 18ベクター(Amersham Pharmacia Biotech)に再連結し、Pfu DNAポリメラーゼ(Stratagene)で制限部位の延び出しを処理してコンピテント大腸菌細胞に形質移入した。形質移入した細胞を選択して抗生物質を含む培地に移し、それぞれのコロニーを切りとってLB/2Xカルベニシリン培養液の384ウェルプレートに37 $^{\circ}$ Cで一晩培養した。

#### 【0213】

細胞を溶解して、Taq DNAポリメラーゼ(Amersham Pharmacia Biotech)及びPfu DNAポリメラーゼ(Stratagene)を用いて以下の手順でDNAをPCR増幅した。

- |       |                     |      |
|-------|---------------------|------|
| ステップ1 | 94 $^{\circ}$ C     | で3分間 |
| ステップ2 | 94 $^{\circ}$ C     | で15秒 |
| ステップ3 | 60 $^{\circ}$ C     | で1分間 |
| ステップ4 | 72 $^{\circ}$ C     | で2分間 |
| ステップ5 | ステップ2、3、及び4を29回繰り返す |      |
| ステップ6 | 72 $^{\circ}$ C     | で5分間 |
| ステップ7 | 4 $^{\circ}$ C      | で保管。 |

上記したようにPICOGREEN試薬(Molecular Probes)でDNAを定量化した。DNA回収

率の悪いサンプルは、上記した条件で再び増幅した。サンプルを20%のジメチルサルホサイド (dimethylsulphoxide) (1:2, v/v)で希釈し、DYENAMIC DIRECTキット (Amersham Pharmacia Biotech)またはABI PRISM BIGDYE Terminator cycle sequencing ready reactionキット (Perkin-Elmer)を用いてシーケンシングした。

#### 【0214】

同様に上述の手順で、SEQ ID NO:20 - 38のヌクレオチド配列を利用し、この伸長のために設計したオリゴヌクレオチドと好適な遺伝子ライブラリを用いて5調節配列を得た。

#### 【0215】

##### 7 個々のハイブリダイゼーションプローブの標識及び使用

SEQ ID NO:20 - 38から導き出されたハイブリダイゼーションプローブを用いて、cDNA、mRNA、またはゲノムDNAをスクリーニングする。約20塩基対からなるオリゴヌクレオチドの標識について特に記すが、より大きなcDNAフラグメントの場合でも基本的に同じ手順を用いる。オリゴヌクレオチドを、OLIGO4.06ソフトウェア (National Bioscience) のような最新式のソフトウェアを用いてデザインし、50pmolの各オリゴマーと、250  $\mu$ Ciの[<sup>32</sup>P]アデノシン三リン酸 (Amersham, Chicago, IL) 及びT4ポリヌクレオチドキナーゼ (DuPont NEN, Boston MA) とを組み合わせて用いることにより標識する。標識されたオリゴヌクレオチドを、SEPHADEX G-25超精細排除デキストランビードカラム (Amersham Pharmacia Biotech) を用いて実質的に精製する。毎分10<sup>7</sup>カウントの標識されたプローブを含むアリコットを、次のエンドヌクレアーゼ、Ase I、Bgl II、Eco RI、Pst I、XbaI或いはPvu II (DuPont NEN) の1つを用いて切断したヒトゲノムDNAの典型的な膜ベースのハイブリダイゼーション解析において用いる。

#### 【0216】

各切断物からのDNAを、0.7%アガロースゲル上で分画して、ナイロン製メンブラン (Nytran Plus, Schleicher & Schuell, Durham NH) に転写する。ハイブリダイゼーションは40℃で16時間かけて行う。非特異的シグナルを取り除くため、例えば、最大0.1Mクエン酸ナトリウム食塩水及び0.5%ドデシル硫酸

ナトリウム の条件の下、プロットを順次室温にて洗浄する。ハイブリダイゼーションパターンをオートラジオグラフィー或いは別のイメージ化手段で視覚化して比較する。

【0217】

## 8 マイクロアレイ

化学結合方法及びインクジェット装置を用いて、基板の表面上でアレイ要素を合成することが可能である(例えば、上記Balteschweilerを参照)。ドットプロット法またはスロットプロット法に類似したアレイを利用し、要素を熱、UV、機械的または化学的結合方法を用いて基板の表面に配置し結合させる。典型的なアレイは、手作業または利用可能な方法や機械を用いて作製することができ、任意の適正な数の要素を含み得る。ハイブリダイゼーションの後、ハイブリダイズしていないプローブを取り除き、スキャナーを用いて蛍光のレベル及びパターンを決定する。スキャンした画像を分析して、マイクロアレイ上で要素にハイブリダイズする各プローブの相補性の程度及び相対的な量/発現レベルを調べることが可能である。

【0218】

完全長のcDNA、発現遺伝子配列断片(EST)、或いはそれらの断片が、マイクロアレイの要素となり得る。ハイブリダイゼーションに好適な断片を、LASERGEN Eソフトウェア(DNASTAR)などの当分野で周知のソフトウェアを用いて選択することが可能である。本発明の核酸配列の1つに対応する完全長のcDNA、EST、或いはそれらの断片、或いは本発明に関連するcDNAライブラリから任意に選択されたcDNAを、ガラススライドなどの好適な基板に整列する。cDNAは、例えばUV交差結合(UV cross-linking)を利用してスライドに固定してから、熱処理及び化学処理を施し、最後に乾燥させる(例えば、Schena, M. 他.(1995) Science 270:467-470; 及び Shalon, D. 他.(1996) Genome Res. 6:639-645を参照)。蛍光プローブを準備して、基板上の要素にハイブリダイゼーションするために用いる。上記した方法でこの基板を分析する。

【0219】

## 9 相補的ポリヌクレオチド

VEASをコードする配列或いはその任意の一部に対して相補的な配列は、自然発生のVEASの発現を低下させるため即ち阻害するために用いられる。約15～約30個の塩基対を含むオリゴヌクレオチドの使用について記すが、より小さな或いはより大きな配列の断片の場合でも本質的に同じ方法を用いることができる。Oligo4.06ソフトウェア(National Biosciences)及びVEASのコーディング配列を用いて、適切なオリゴヌクレオチドを設計する。転写を阻害するためには、最も独特な5'配列から相補的なオリゴヌクレオチドを設計し、これを用いてプロモーターがコーディング配列に結合するのを阻害する。翻訳を阻害するためには、相補的なオリゴヌクレオチドを設計して、リボソームがVEASをコードする転写物に結合するのを阻害する。

## 【0220】

### 1.0 VEASの発現

VEASの発現及び精製は、細菌若しくはウイルスを基にした発現系を用いて行うことができる。細菌でVEASが発現するために、抗生物質耐性及びcDNAの転写レベルを高める誘導性のプロモーターを含む好適なベクターにcDNAをサブクローニングする。このようなプロモーターには、lacオペレーター調節要素に関連するT5またはT7バクテリオファージプロモーター及びtrp-lac(tac)ハイブリッドプロモーターが含まれるが、これらに限定されるものではない。組換えベクターを、BL21(DE3)などの好適な細菌宿主に形質転換する。抗生物質耐性をもつ細菌が、イソプロピル β-Dチオガラクトピラノシド(IPTG)で誘発されるとVEASを発現する。真核細胞でのVEASの発現は、昆虫細胞株または哺乳動物細胞株に一般にバキュロウイルスとして知られているAutographica californica核多面性ウイルス(AcMNPV)を感染させて行う。バキュロウイルスの非必須ポリヘドリン遺伝子を、相同組換え或いは転移プラスミドの媒介を伴う細菌の媒介による遺伝子転移のどちらかによって、VEASをコードするcDNAと置換する。ウイルスの感染力は維持され、強いポリヘドリンプロモータによって高いレベルのcDNAの転写が行われる。組換えバキュロウイルスは、多くの場合はSpodoptera frugiperda (Sf9)昆虫細胞に感染に用いられるが、ヒト肝細胞の感染にも用いられることもある。後者の感染の場合は、バキュロウイルスの更なる遺伝的変更が必要になる。(例えば、Eng

elhard, E. K.他 (1994) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91:3224-3227; Sandig, V. 他 (1996) Hum. Gene Ther. 7:1937-1945.を参照)。

### 【0221】

殆どの発現系では、VEASが、例えばグルタチオンSトランスフェラーゼ(GST)、またはFLAGや6-Hisなどのペプチドエピトープ標識で合成された融合タンパク質となるため、未精製の細胞溶解物からの組換え融合タンパク質の親和性ベースの精製が素早く1回で行うことができる。Schistosoma japonicumからの26キログルトンの酵素GSTによって、タンパク質の活性及び抗原性を維持した状態で固定されたグルタチオンで融合タンパク質の精製が可能となる(Amersham Pharmacia Biotech)。精製の後、GST部分を特定の操作部位でVEASからタンパク質的に切断できる。アミノ酸8個のペプチドであるFLAGで、市販のモノクローナル及びポリクローナル抗FLAG抗体(Eastman Kodak)を用いた免疫親和性の精製が可能となる。6個の連続するヒスチジン残基のストレッチである6-Hisによって、金属キレート樹脂(QIAGEN)で精製が可能となる。タンパク質の発現及び精製の方法は、Ausubel (1995, 前出, ch 10, 16)に記載されている。これらの方法で精製したVEASを直接用いて以下のアッセイを行うことができる。

### 【0222】

#### 1.1 VEASの活性の実証

VEASの活性は、被覆小胞に含まれるVEASによって測定される。VEASは、COS7若しくはHeLa、CHOなどの哺乳動物細胞株をVEASをコードする真核生物発現ベクターで形質転換して発現させることが可能である。真核生物発現ベクターは市販されており、それらを細胞に導入する技術は当分野では周知である。多数のマーカ-遺伝子の任意の1つ、例えば ガラクトシダーゼを発現する少量の第2プラスミドをそれらの細胞に同時に形質転換して、外来DNAを取り込んで発現する細胞を速やかに同定できるようにする。形質転換の後、細胞株がVEAS及び ガラクトシダーゼを発現して蓄積するのに好適な条件にして、48~72時間インキュベートする。

### 【0223】

小胞形成を調べるために、形質転換された細胞を回収して細胞溶解産物をアッ

セイする。非ハイブリダイズ型GTP及びGTP S、並びにATP生成系を溶解産物に加え、その混合物を37℃で10分間インキュベートする。この条件の下で、90%を超える小胞の被覆が保たれている(Orci, L. et al. (1989) Cell 56:357-368)。輸送小胞をゴルジ膜から塩類で遊離させ、ショ糖勾配遠心し、画分を集めてSDS-PAGEにて分析する。クラスリン若しくはCOPコートマーと共にVEASが局在することは、小胞形成におけるVEASの活性を示している。小胞形成におけるVEASの寄与は、GTP Sを加える前にVEASに特異的な抗体と共に溶解産物をインキュベートすることによって確認できる。抗体がVEASに結合してその活性を阻害し、小胞形成が抑制される。

#### 【0224】

別法では、VEASの活性は、小胞輸送経路を変更する能力によって測定する。VEASで形質転換された細胞の小胞輸送を蛍光顕微鏡検査法によって検査する。小胞コートタンパク質に特異的な抗体及びトランスフェリンやマンノース6-リン酸受容体などの典型的な小胞輸送基質は市販されている。ERやゴルジ体、ペルオキシソーム、エンドソーム、リソソーム、細胞膜などの様々な細胞成分を検査する。VEASで形質転換された細胞の小胞の位置や数をコントロール細胞と比較し、その相違がVEASの活性の特徴を表す。

#### 【0225】

### 1.2 機能的アッセイ

VEASの機能は、哺乳動物細胞培養系において生理学的に高められたレベルでのVEASをコードする配列の発現によって評価する。cDNAを、cDNAを高いレベルで発現する強いプロモーターを含む哺乳動物発現ベクターにサブクローニングする。このようなベクターには、pCMV SPORT™ (Life Technologies.)及びpCR 3.1 (Invitrogen, Carlsbad, CA)が含まれ、どちらもサイトメガロウイルスプロモーターを含んでいる。5~10 µgの組換えベクターを、例えば内皮由来か造血由来のヒト細胞株にリポソーム製剤或いは電気穿孔法によって一時的に形質移入する。更に、標識タンパク質をコードする配列を含む1~2 µgのプラスミドを同時に形質移入する。標識タンパク質の発現により、形質移入された細胞と形質移入されていない細胞とを区別できる。また、標識タンパク質の発現によって、cDNA

の組換えベクターからの発現を正確に予想できる。このような標識タンパク質には、緑色蛍光タンパク質(GFP ; Clontech)、及びCD64またはCD64-GFP融合タンパク質が含まれる。レーザー光学に基づいた技術を利用した自動流動細胞計測法(FCM)を用いて、GFPまたはCD64-GFPを発現する形質移入された細胞を同定し、その細胞のアポトーシス状態や他の細胞特性を評価する。また、FCMで、先行した或いは同時の細胞死の現象を診断する蛍光分子の取り込みを検出して計量する。これらの現象には、プロピジウムヨウ化物でのDNAの染色によって計測される核DNA内容物の変化と、プロモデオキシウリジンの取り込み量の低下によって計測されるDNA合成の下方調節と、特異的な抗体との反応性によって計測される細胞表面及び細胞内のタンパク質の発現の変化と、蛍光複合アネキシンVタンパク質の細胞表面への結合によって計測される原形質膜組成の変化とが含まれる。流動細胞計測法は、Ormerod, M. G.による(1994) *Flow Cytometry Oxford, New York, NY.*に記載されている。

#### 【0226】

遺伝子発現におけるVEASの影響は、VEASをコードする配列とCD64またはCD64-GFPのどちらかが形質移入された高度に精製された細胞集団を用いて評価することができる。CD64またはCD64-GFPは形質転換された細胞表面で発現し、ヒト免疫グロブリンG(IgG)の保存された領域と結合する。形質転換された細胞と形質転換されない細胞とは、ヒトIgGかCD64に対する抗体のどちらかで被覆された磁気ビードを用いて分離することができる(DYNAL. Lake Success. NY)。mRNAは、当分野で周知の方法で細胞から精製することができる。VEAS及び目的の他の遺伝子をコードするmRNAの発現は、ノーザン分析やマイクロアレイ技術で分析することができる。

#### 【0227】

##### 1.3 VEASに特異的な抗体の作製

ポリアクリルアミドゲル電気泳動法(PAGE ; 例えば、Harrington, M.G. (1990) *Methods Enzymol.* 1816 - 3088-495を参照)または他の精製技術で実質的に精製されたVEASを用いて、標準的なプロトコルでウサギを免疫化して抗体を作り出す。

## 【0228】

別法では、VEASアミノ酸配列をLASERGENEソフトウェア(DNASTAR)を用いて解析して免疫原性の高い領域を決定し、対応するオリゴペプチドを合成してこれを用いて当業者に周知の方法で抗体を生産する。C末端付近の、或いは隣接する親水性領域内のエピトープなどの適切なエピトープの選択については、当分野で周知である(例えば、前出のAusubel, 1995, 11章を参照)。

## 【0229】

通常、約15残基の長さのオリゴペプチドを、Applied BiosystemsのABI 431Aペプチドシンセサイザ(Perkin-Elmer)を用いてfmoc法のケミストリにより合成し、N-マレイミドベンゾイル-N-ヒドロキシスクシンイミドエステル(MBS)を用いた反応によりKLH(Sigma-Aldrich, St. Louis MO)に結合させて、免疫原性を高める(例えば、前出のAusubel, 1995を参照)。フロイントの完全アジュバントにおいてオリゴペプチド-KLH複合体を用いてウサギを免疫化する。得られた抗血清の抗ペプチド活性及び抗VEAS活性を検査するには、ペプチドまたはVEASを基板に結合し、1%BSAを用いてブロックし、ウサギ抗血清と反応させて洗浄し、さらに放射性ヨウ素標識されたヤギ抗ウサギIgGと反応させる。

## 【0230】

1.4 特異的抗体を用いる自然発生VEASの精製

自然発生VEAS或いは組換えVEASを、VEASに特異的な抗体を用いるイムノアフィニティークロマトグラフィーにより実質的に精製する。イムノアフィニティークラムは、CNBr-活性化SEPHAROSE(Amersham Pharmacia Biotech)のような活性化クロマトグラフィー用レジンと抗VEAS抗体とを共有結合させることにより形成する。結合の後、そのレジンを製造者の使用説明書に従って、ブロックし洗浄する。

## 【0231】

VEASを含む培養液をイムノアフィニティークラムに通し、VEASを優先的に吸着できる条件で(例えば、界面活性剤の存在下において高イオン強度のバッファーで)そのカラムを洗浄する。そのカラムを、抗体とVEASとの結合を切るような条件で(例えば、pH2~3のバッファー、或いは高濃度の尿素またはチオシアン酸塩イオンのようなカオトロピックイオンで)溶出させ、VEASを回収する。

## 【0232】

1.5 VEASと相互作用する分子の同定

VEAS又は生物学的に活性なその断片を、<sup>125</sup>I ボルトンハンター試薬（例えば、Bolton A.E.及びW.M. Hunter (1973) Biochem. J. 133:529を参照）で標識する。マルチウェルプレートに予め配列しておいた候補の分子を、標識したVEASと共にインキュベートし、洗浄して、標識したVEAS複合体を有する全てのウェルをアッセイする。様々なVEAS濃度で得られたデータを用いて、候補分子と結合したVEASの数量及び親和性、会合についての値を計算する。

## 【0233】

別法では、VEASと相互作用する分子を、Fields, S.及びO. Song(1989, Nature 340:245-246)に記載の酵母2 - ハイブリッドシステム (yeast two-hybrid system) やMATCHMAKERシステム(Clontech)などの2 - ハイブリッドシステムに基づいた市販のキットを用いて分析する。

## 【0234】

当業者は、本発明の範囲及び精神から逸脱することなく本発明に記載した方法及びシステムの種々の改変を行うことができるであろう。特定の好適実施例に基づいて本発明を説明したが、本発明の範囲が、そのような特定の実施例に不当に制限されるべきではないことを理解されたい。実際に、分子生物学或いは関連する分野の専門家には明らかな、本明細書に記載の本発明の実施方法の様々な改変は、特許請求の範囲に含まれる。

## 【0235】

(表の簡単な説明)

表1は、VEASをコードする完全長の配列を作り出すために用いた、ポリペプチド配列及びヌクレオチド配列の配列番号(SEQ ID NO)、クローン識別番号、cDNAライブラリ、及びcDNA断片を示す。

## 【0236】

表2は、潜在モチーフ及び相同配列を含む各ポリペプチド配列の特徴、並びにVEASの解析に用いた方法、アルゴリズム、及び検索可能なデータベースを示す。

## 【0237】

表3は、各核酸配列の選択された断片と、ノーザン分析によって決定された各核酸配列の組織特異的発現パターンと、これらの組織に関連した疾患、異常症及び症状と、各DNAがクローニングされたベクターとを示す。

【0238】

表4は、VEASをコードするcDNAクローンを単離したcDNAライブラリの作製に用いた組織を示す。

【0239】

表5は、VEASの分析に用いたツール、プログラム、及びアルゴリズム、並びにその説明、引用文献、閾値パラメーターを示す。

【表1】

表 1 - 1

タンパク質 SEQ ID NO:	スクレオチド SEQ ID NO:	クローンID	ライブラリ	断片
1	20	665637	SCORNOT01	081198F1 (SYNORAB01); 665637H1 (SCORNOT01); 758691T6 (BRAITUT02); 4692726H1 (BRAENOT02)
2	21	745823	BRAITUT01	115845F1 (KIDNOT01); 745823H1 (BRAITUT01); 2584841F6 (BRAITUT22)
3	22	776854	COLNNOT05	776854H1, 776854R6 and 776854T6 (COLNNOT05); 3342008H1 (SPLNNOT09); 3420545X309D1 (UCMCNOT04); 5077144F6 (COLCTUT03)
4	23	1273556	TESTTUT02	078149F1 (SYNORAB01); 374719R6 (LUNGNOT02); 1237029F1 (LUNGFET03); 1273556H1 (TESTTUT02); 1803328F6 (SINTNOT13); 2685872H1 (LUNGNOT23); 3843874H1 (DENNOT01)
5	24	1505808	BRAITUT07	659082R6 (BRAINOT03); 1505808H1 (BRAITUT07); 4775166H1 (BRAQNOT01)
6	25	1814911	PROSNOT20	1702322F6 (BLADTUT05); 1747807F6 (STOMTUT02); 1814911H1 (PROSNOT20); 1876186F6 (LEUKNOT02); 1979383R6 (LUNGNOT03); 3497874H1 (PROSTUT13)
7	26	2087812	PANCNOT04	2087812H1 (PANCNOT04); 2773884F6 (PANCNOT15); 3535373T6 (KIDNOT25)
8	27	2149274	BRAINOT09	1522793H1 (BLADTUT04); 1631562F6 (COLNNOT19); 1755633F6 (LIVRTUT01); 2098374R6 (BRAITUT02); 2149274H1 (BRAINOT09); 2422887R6 (SCORNON02); 2452261F6 (ENDANOT01); 2511137X11F1 (CONUTUT01); 2517384H1 (LIVRTUT04); 3278280H1 (STOMFET02); 3458453H1 (293TF1T01); 3596844H1 (FIBENOT01); 3745870H1 (THYMNOT08); 3747945H1 (UTRSNOT18); 3805602H1 (BLADTUT03)

【表2】

表1-2

タンパク質 SEQ ID NO:	ヌクレオチド SEQ ID NO:	クローンID	ライブラリ	断片
9	28	2355124	LUNGNOT20	555023F1 (SCORNOT01); 1753596F6 (LIVRTUT01); 2355124F6 and 2355124H1 (LUNGNOT20); 2697365F6 (UTRSNOT12); 4190620H1 (BRAPDIT01); 4328830F6 (KIDNNOT32)
10	29	2366939	ADRENOT07	483554H1 (HNT2RAT01); 665136R6 (SCORNOT01); 2366939F6, 2366939H1 and 2367767X1F1 (ADRENOT07); 2457182F6 and 2457182T6 (ENDANOT01); 3534278H1 (KIDNNOT25); 3640393H1 (LUNGNOT30); 4997211H1 (MYEPTXT02); SAFCO1017F1
11	30	2483906	SMCANOT01	2483906F6 and 2483906H1 (SMCANOT01); 3589469H1 (293TF5T01)
12	31	2499488	ADRETUT05	077509R1 (SYNORAB01); 099726R6 (ADRENOT01); 975524H1 (MUSCNOT02); 1332009F1 (PANCNOT07); 1695290F6 (COLNNOT23); 1708568H1 (PROSNOT16); 2499488F6 and 2499488H1 (ADRETUT05); 3038012H1 (BRSTNOT16); 3591434F6 (293TF5T01); 4712957H1 (BRAIHCT01); 5372332H1 (BRAINOT22)
13	32	2559148	ADRETUT01	678875R6 (UTRSNOT02); 1395446F6 (THYRNOT03); 1669748F6 (BMARNOT03); 1821559H1 (GBLATUT01); 2197133F6 (SPENFET02); 2559148H1 (ADRETUT01); 3132150H1 (BLADNOT08); 3334672H1 (BRAIFET01); 4376567H1 (CONFNOT03)
14	33	3321481	PTHYNOT03	1556277X11C1 (BLADTUT04); 1998047R6 (BRSTTUT03); 3321481H1 (PTHYNOT03); SAFCO2175F1; SAFCO2744F1
15	34	3367918	CONNTUT04	3367918H1 (CONNTUT04); 284546X1 (CARDNOT01); 882035X33 (THYRNOT02); 4157516H1 (ADRENOT14)
16	35	1227327	COLNNOT01	1223664R1 (COLNTUT02); 1223664T1 (COLNTUT02); 1227327H1 (COLNNOT01); 1227327R6 (COLNNOT01); 1711230F6 (PROSNOT16); 1951035H1 (PITUNOT01); 1997538R6 (BRSTTUT03); 3231314H1 (COTRNOT01); 3282015H1 (STOMFET02); 4145153H1 (SINITUT04); 4347830F6 (LYMTXT01); 4414694H1 (MONOXT01); 4691853H1 (BRAENOT02)

【表3】

表1-3

タンパク質 SEQ ID NO.	ヌクレオチド SEQ ID NO.	クローンID	ライブラリ	断片
17	36	1416292	BRAINOT12	160083H1 (ADENINE01), 495694T6 (HWT2NOT01), 917398H1 (BRSTNOT04), 1416292H1 (BRAINOT12), 1485986F6 (CORPNOT02), 1698268F6 (BLADTUT05), 1812119T6 (PROSTUT12), 1950135R6 (FITUNOT01), 2968531H1 (HEAONOT02), 3769568H1 (BRSTNOT24), 4555506F6 (KERAUNT01)
18	37	2611704	LUNGNOT23	688077T6 (UTRSNOT02), 2611704H1 (LUNGNOT23), 4414279F6 (MONOXT01)
19	38	5136672	OVARDIT04	067284R1 (HUVESTB01), 1350538F1 (LATRTUT02), 3393953H1 (LUNGNOT28), 3684532H1 (HEAANT01), 4970666H1 (KIDEUNC10), 5136672H1 (OVARDIT04), SBIAI0538D1, SBIA05310D1, SBIA00959D1

【表4】

タンパク質 SEQ ID NO:	アミノ酸残基	潜在的リン酸化部位	潜在的グリコシル化部位	サイン(signature)配列	相同性配列	分析方法
1	144	T29 S48 T74 S99 T126	N72	クラスリン受容体複合サブユニット: M1-S142; F5-K18; F66-E116	アダプター関連 タンパク質複合体 AP-4, G4サブユニット (ハツカネズミ) g426605	HMMEP-PFAM BLIMPS-BLOCKS BLAST-GenBank
2	177	S109 S128	N60	ADPリボシル化因子ファミリー: G2-G160; R19-T42; P47-K86; M1-G29; I33-D67	ADPリボシル化因子ARE-2 (ハツカネズミ) g1565209	HMMEP-PFAM BLIMPS-PRINTS BLIMPS-BLOCKS BLAST-GenBank
3	408	S29 T54 T176 S205 S231 T268 T279 S333 S7 T65 T129 T139 T152 S156 S265 S304	N127 N174 N185	シグナルペプチド: M1-S29 芳香族アミノ酸パーミアゼ: A18-L37; L66-H85	軟体類派生の成長因子 (Aplysia californica) g4235110	SPSCAN HMMEP BLIMPS-PRINTS BLAST-GenBank
4	553	S130 S198 S286 T382 S465 S73 T146 S216 S272 S335 S449 T543 Y428	N71 N214 N308 N366 N411 N526	細胞付着配列: R466-M468 シグナルペプチド: M1-A32 膜貫通ドメイン: L275-I302	リンソームルノ エンドソームルノ 膜貫通タンパク質 (H. sapiens) g3378160	MOTIFS SPSCAN BLAST-GenBank HMMEP
5	179	T13 T22 S160		MAS20タンパク質移入受容体: EB1-R93	SNAP調整タンパク質 comp lexin I (ヒト) g2465469	BLIMPS-PRINTS BLIMPS-BLOCKS BLAST-GenBank

【表 5】

表2-2

タンパク質 SEQ ID NO:	アミノ酸残基	潜在的リン酸化部位	潜在的グリコシル化部位	サイン(signature)配列	相同性配列	分析方法
6	336	T278 S87 T218 T267 S171 S242 S261		シグナルペプチド: MI-S43	ペルオキシソームの 未相渡タンパク質 Pex16p (Yarrowia lipolytica) g1813611	SPSCAN BLAST-GenBank
7	240	S109 T231 S18 S21 T166 T235	N107 N156	emp24/gp25L/p24ファミリー タンパク質: P6-T233: M176-F227	推定T1/ST2受容体 結合タンパク質 (ハソカネズミ) g1223892	HMMER-PFAM BLIMPS-BLOCKS BLAST-GenBank
8	955	S5 S104 T368 T379 T470 T482 T597 S626 S636 T698 T938 S54 S85 T89 S163 T189 S258 S297 T379 S384 T470 T787 S819 T832 T935 T938 Y394 Y418 Y442	N760	Ig及びMHCタンパク質サイン: F127-H133 シグナルペプチド: MI-S25 (NSF) 付着タンパク質: G46-165	$\alpha$ -アアダプチン 被覆小胞タンパク質 g55729 (ドブネズミ)	MOTIFS SPSCAN BLIMPS-BLOCKS BLAST-GenBank
9	247	T35 S65 S213 T81 Y37 Y130 Y146	N200	シグナルペプチド: MI-S24	小胞輸送タンパク質 NIPSNAP2 (ヒト) g2769254	SPScan HMMER BLAST-GenBank

【表6】

表2-3

タンパク質 SEQ ID NO:	アミノ酸残基	潜在的リン酸化部位	潜在的グリコシル化部位	サイン(signature)配列	相同性配列	分析方法
10	532	T112 S26 S200 S279 S373 S432 T478 T527 T25 S60 S86 S107 S108 S271 S338		PKCカルシウム結合 (C2) ドメイン: G147-P162; S8-S99; V140-Q230; N53-D66	分泌小胞関連 タンパク質 copline III (ヒト) g5670328	MOTIFS HMMER-PFAM BLIMPS-PRINTS
11	154	T32 T22 S48 T144 T126 S127		クラスリン受容体複合小鎖: L57-F67; M1-Q142; E100- S127; I5-K18; Y66-E116	AP-1 クラスリン 受容体複合 のβサブユニット (ヒト) g3641680	MOTIFS HMMER-PFAM BLIMPS-PRINTS BLIMPS-BLOCKS BLAST-GenBank
12	684	S490 T70 S72 T94 S137 T159 S211 S219 S266 S325 T360 S437 S443 S498 S499 S536 S544 T562 S612 S613 S624 T674 S6 S11 T133 T192 T251 S396 S420 T468 T533 S552 T564 T667	N225 N351 N663		細胞骨格関連 細胞内輸送 タンパク質 Usa1 (酵母) g4778	BLAST-GenBank

【表7】

表2-4

タンパク質 SEQ ID NO:	アミノ酸残基	潜在的リン酸化部位	潜在的グリコシル化 部位	サイン(signature)配列	相同性配列	分析方法
13	576	T249 S18 T28 T79 T87 T105 S180 S181 S195 S220 S245 S256 S364 T399 S405 S420 S447 S5 S89 S245 T467	N16 N389	細胞付着配列: R232-D234 結合前駆体サイン: G554-N670	クラスリン被覆 関連タンパク質 エトリン (トフネズミ) g3249559	MOTIFS BLIMPS-BLOCKS BLIMPS-PRINTS BLAST-GenBank
14	425	S307 S28 S102 S247 S283 S291 S320 T71 S102 S139 T144 S158 T197 S268 S324 S333 S346 Y405	N76 N186 N230	クラスリン受容体複合中鎖: V157-E177; V6-T424; G13- F33; E100-D127; W159-G187; L235-G282; K304-P319; I344-E355; Y94-L131; V157- N186; D237-R270; Y405-R423	AP- $\mu$ 鎖 アミリン メンハ- $\mu$ 1b クラスリン関連 タンパク質 (ハツカネズミ) g4704421	MOTIFS HMMER-PFAM BLIMPS-PRINTS BLIMPS-BLOCKS BLAST-GenBank
15	167	T42 T84 S139 T84 Y94		ストマチンサイン: A110-E131	小胞関連 タンパク質 flotillin-1 g3599573 (ヒト)	BLIMPS-BLOCKS BLIMPS-PRINTS BLAST-GenBank
16	739	S154 S182 S208 S229 S321 T377 T404 S684 S725 T733 S111 S535 S637 S709		$\beta$ アダプチンサイン: E12-Q625	AP-4 受容体複合体 $\beta$ 4 サブユニット (ハツカネズミ) g5442364	BLAST-GenBank MOTIFS BLAST-DOMO BLAST-PRODOM

【表8】

表 2 - 5

タンパク質 SEQ ID NO:	アミノ酸残基	潜在的リン酸化部位	潜在的グリコシル化 部位	サイン(signature)配列	相同性配列	分析方法
17	742	T550 T698 S6 S41 S76 S141 S164 S258 S275 S412 T416 S493 T540 S658 S682 S689 T117 S128 S214 S267 T355 S366 S396 S463 S499 S709 Y333 Y410 Y719	N191 N653	ロインジツパー: L452-L473	カナダプチン (kanadaptin) (ハツカネズミ) g2661090	BLAST-GenBank MOTIFS
18	325	S16 S63 T77 S87 S175 S184 T195 S216 T8 S27 T28 S63 S319	N232	多段コイルドメイン: M33-M263	Naf1 $\beta$ プロテイン (ヒト) g3798821	BLAST-GenBank MOTIFS BLAST-PRODOM
19	299	T101 S285 S60 S191 S260	N271	GNS1/SUR4ファミリードメイン: G57-W88, Y238-Y254	VBW2 (v-SNARE ハイパス突然変異体) (酵母) g2654761	BLAST-GenBank MOTIFS BLIMPS-BLOCKS

【表9】

表 3-1

スクレオチド SEQ ID NO	有用な断片	発現組織 (割合)	疾患又は症状 (割合)	ペクター
2 0	242-301	神経 (0.316) 発達 (0.158) 胃腸 (0.158) 生殖 (0.158)	癌 (0.474) 炎症 (0.369) 細胞増殖 (0.211)	PSPORT1
2 1	529-579	生殖 (0.259) 造血/免疫 (0.185) 神経 (0.148) 胃腸 (0.111) 心血管 (0.111)	癌 (0.444) 炎症 (0.370) 細胞増殖 (0.111)	PSPORT1
2 2	1239-1292	造血/免疫 (0.333) 胃腸 (0.250)	癌 (0.500) 炎症 (0.500)	PSPORT1
2 3	755-796	造血/免疫 (0.246) 生殖 (0.246) 胃腸 (0.193) 心血管 (0.123)	炎症 (0.457) 癌 (0.421)	pINCY
2 4	69-113	神経 (1.000)	癌 (1.000)	pINCY
2 5	616-666	生殖 (0.302) 胃腸 (0.143) 神経 (0.127)	癌 (0.476) 炎症 (0.381) 細胞増殖 (0.159)	pINCY
2 6	405-467	造血/免疫 (0.111) 胃腸 (0.500) 神経 (0.200) 泌尿器 (0.200)	癌 (0.600) 炎症 (0.420) 発達 (0.100)	PSPORT1

【表 10】

表3-2

ポリヌクレオチド SEQ ID NO	有用な断片	発現組織 (割合)	疾患又は症状 (割合)	ペクター
27	2200-2253	生殖 (0.262) 神経 (0.220) 胃腸 (0.128)	癌 (0.475) 炎症 (0.248) 細胞増殖 (0.213)	pINCY
28	797-841	生殖 (0.277) 神経 (0.255) 心血管 (0.149)	癌 (0.617) 細胞増殖 (0.255) 炎症 (0.213)	pINCY
29	962-1003	神経 (0.235) 生殖 (0.176) 造血/免疫 (0.147) 胃腸 (0.132)	癌 (0.500) 炎症 (0.368) 細胞増殖 (0.221)	pINCY
30	555-578	生殖 (0.667) 泌尿器 (0.333)	癌 (0.667) 細胞増殖 (0.667)	pINCY
31	1154-1207	生殖 (0.350) 神経 (0.275) 心血管 (0.125) 発達 (0.100)	癌 (0.475) 細胞増殖 (0.225) 炎症 (0.200)	pINCY
32	973-1002	神経 (0.314) 生殖 (0.176) 心血管 (0.118)	癌 (0.549) 細胞増殖 (0.196) 炎症 (0.255)	PSPORT
33	215-230	生殖 (0.447) 胃腸 (0.170) 泌尿器 (0.106)	癌 (0.638) 炎症 (0.213) 細胞増殖 (0.191)	pINCY
34	852-896	造血/免疫 (0.334) 胃腸 (0.333) 筋骨格 (0.333)	癌 (0.667)	pINCY

【表11】

表3-3

ポリスクレオチド SEQ ID NO	有用な断片	発現組織 (割合)	疾患又は症状 (割合)	ペクター
35	661-705	神経 (0.234) 生殖 (0.213) 胃腸 (0.191)	癌 (0.404) 炎症/外傷 (0.298) 細胞増殖 (0.106)	PSPORT1
36	435-479	神経 (0.356) 生殖 (0.136) 泌尿器 (0.119)	癌 (0.424) 炎症/外傷 (0.271) 細胞増殖 (0.271)	pINCY
37	606-650 1083-1127	造血/免疫 (0.500) 心血管 (0.250) 胃腸 (0.125) 神経 (0.125)	炎症/外傷 (0.375) 癌 (0.286) 神経 (0.143)	pINCY
38	272-316	生殖 (0.300) 造血/免疫 (0.186) 神経 (0.157)	癌 (0.450) 炎症/外傷 (0.393) 細胞増殖 (0.129)	pINCY

【表12】

表4-1

スクレオサド SEQ ID NO	ライブラリ	ライブラリの説明
20	SCORNOT01	SCORNOT01 ライブラリは、呼吸停止で死亡した71歳の白人男性から採取した脊髄組織から単離したRNAを用いて作製した。患者の病歴には、心筋梗塞、壊疽及び末期腎臓病が含まれる。
21	BRAITUT01	BRAITUT01 ライブラリは、50歳の白人女性から前頭葉切除の際に採取した脳腫瘍組織から単離したRNAを用いて作製した。病理学的には、巣状壊死及び広汎性石灰化を伴う再発性のグレード3オリゴ星状細胞腫を示していた。患者の病歴には、言語障害及び癲癇が含まれる。患者の脳は、放射線照射もされており、総照射量は5,082であった。家族歴には、脳腫瘍が含まれる。
22	COLNNOT05	COLNNOT05 ライブラリは、40歳の白人男性のS状結腸組織から部分結腸切除の際に単離したRNAを用いて作製した。病理学的には、近位結腸及び盲腸を併発したクロロノンを示していた。上行結腸及び横行結腸は、線状潰瘍形成及び不連続病変を示していた。胃壁性炎症があったが、フィステルはなかった。
23	TESTTUT02	TESTTUT02 ライブラリは、31歳の白人男性から片側睾丸摘除の際に採取した睾丸腫瘍から単離したRNAを用いて作製した。病理学的には、胎児性癌を示していた。
24	BRAITUT07	BRAITUT07 ライブラリは、32歳の白人男性から脳髄膜損傷の切除の際に左前葉腫瘍から単離したRNAを用いて作製した。病理学的には、低グレード癒着性ニューロン新生物を示していた。家族歴には、アテローム硬化性冠状動脈疾患が含まれる。
25	PROSNOT20	PROSNOT20 ライブラリは、65歳の白人男性から根治的前立腺切除の際に採取した病変前立腺組織から単離したRNAを用いて作製した。病理学的には、腺線維筋腫性過形成を示していた。関連する腫瘍組織は、病理学的には腺癌を示していた。
26	PANCNOT04	PANCNOT04 ライブラリは、自動車事故で死亡した5歳の白人男児から採取した脾臓組織から単離したRNAを用いて作製した。

【表13】

スクレオチド SEQ ID NO	ライブラリ	ライブラリの説明
27	BRAINOT09	BRAINOT09 ライブラリは、妊娠 23 週目で死亡した白人男胎児から採取した脳組織から単離した RNA を用いて作製した。
28	LUNGNOT20	LUNGNOT20 ライブラリは、61 歳の白人男性から採取した右上葉肺組織から単離した RNA を用いて作製した。病理学的には、汎細葉性肺炎腫を示していた。患者の病歴には、狭心症及び胃潰瘍が含まれる。家族歴には、硬膜下出血、癌、アテローム性冠動脈疾患及び肺炎が含まれる。
29	ADRENOT07	ADRENOT07 ライブラリは、61 歳の白人女性から両側副腎摘出の際に採取した副腎組織から単離した RNA を用いて作製した。病理学的には、左右副腎の重大な異常は示していなかった。患者の病歴には、副腎の不特定の疾患が含まれる。
30	SMCANOT01	SMCANOT01 ライブラリは、心臓移植中の男性の外植心臓に由来する大動脈平滑筋細胞株から単離した RNA を用いて作製した。
31	ADRETUT05	ADRETUT05 ライブラリは、52 歳の白人女性から片側副腎摘出の際に採取した副腎腫瘍組織から単離した RNA を用いて作製した。病理学的には、好クローム性細胞腫を示していた。
32	ADRETUT01	ADRETUT01 ライブラリは、50 歳のトルコ人男性から片側副腎摘出の際に採取した右副腎腫瘍組織から単離した RNA を用いて作製した。病理学的には、転移性腎細胞癌を示していた。患者は、副腎皮質不全、切腫劇ヘルニア及び非アルコール性脂肪肝炎を示していた。患者の病歴には、腎細胞腫が含まれる。家族歴には、肝臓癌が含まれる。
33	PTHYNOT03	PTHYNOT03 ライブラリは、69 歳の白人女性から部分上皮小体摘出の際に採取した左上皮小体組織から単離した RNA を用いて作製した。病理学的には、過形成を示していた。患者は、原発性上皮小体機能亢進症を示していた。

【表 14】

表4-3

ヌクレオチド SEQ ID NO	ライブラリ	ライブラリの説明
34	CONNTUT04	CONNTUT04ライブラリは、35歳の白人男性から診査開腹の際に採取した腫瘍性脊髄組織から単離したRNAを用いて作製した。病理学的には、変性変化を伴う神経鞘腫を示していた。患者の病歴には、不安、抑うつ症、神経繊維腫症及び陰嚢の良性新生物が含まれる。家族歴には、脳癌、肝臓病及び多発性硬化症が含まれる。
35	COLNNOT01	COLNNOT01ライブラリは、75歳の白人男性から結腸半側切除の際に採取した結腸組織から単離したRNAを用いて作製した。
36	BRAINOT12	BRAINOT12ライブラリは、5歳の白人男児から大脳半球切除の際に右前葉から採取した脳組織から単離したRNAを用いて作製した。病理学的には、広汎性多小脳回症及び、軽度から中度の（優勢軟膜下及び皮質下）神経膠症を示し、慢性発作障害と矛盾がない。家族歴には、頸部新生物が含まれる。
37	LUNGNOT23	LUNGNOT23ライブラリは、58歳の白人男性から採取した左葉肺組織から単離したRNAを用いて作製した。関連腫瘍組織は、病理学的には転移性のグレード（4中の）3骨肉腫を示していた。患者の病歴には、軟部組織癌、肺の2次癌、前立腺癌及び出血を伴う急性十二指腸潰瘍が含まれる。家族歴には、前立腺癌、乳癌及び急性白血病が含まれる。
38	OVARDIT04	OVARDIT04ライブラリは、22歳の白人女性から左卵巢胆嚢切除の際に採取した病変左卵巢組織から単離したRNAを用いて作製した。病理学的には、線維組織及び毛髪が集合部分からなる左卵巢の成熟嚢胞性奇形腫（類皮嚢胞）を示していた。患者の病歴には、脾臓の被膜破裂、単核細胞症及びクワミジアが含まれる。

【表15】

【表 16】

プログラム名	説明	引用文献	パラメーター-閾値
ABI FACTURA	核酸配列においてベクター配列を除去して不明瞭な塩基をマスクする。	Perkin-Elmer Applied Biosystems, Foster City, CA.	
ABI/PARACEL FDF	Fast Data Finder は、アミノ酸又は核酸配列の比較や注釈付けに有用である。	Perkin-Elmer Applied Biosystems, Foster City, CA.	ミスマッチ<50%
ABI AutoAssembler	核酸配列を構築するプログラムである。	Perkin-Elmer Applied Biosystems, Foster City, CA.; Paracel inc., Pasadena, CA.	
BLAST	Basic Local Alignment Search Tool は、アミノ酸及び核酸配列の配列類似性検索に有用である。BLAST には、blastp 及び blastn, blastx, tblastn, tblastx の 5 つの機能がある。	Altschul, S.F.ら(1990) J. Mol. Biol. 215:403-410; Altschul, S.F.ら(1997)Nucleic Acids Res. 25: 3389-3402.	ESTs: 確率値=1.0E-8以下 完全長配列: 確率値=1.0E-10以下
FASTA	Pearson 及び Lipman アルゴリズムは、問合わせの配列と同種の配列のグループとの類似性を検索する。FASTA は、少なくとも 5 つの機能 fasta, tfasta, blastx, tblastx, 及び ssearch からなる。	Pearson, W.R.及び D.J. Lipman (1988) Proc.Natl. Acad. Sci. 85:2444-2448; Pearson, W.R.(1990) Methods Enzymol. 183: 63-98; Smith, T.F.及び M. S. Waterman (1981) Adv. Appl. Math. 2:482-489.	ESTs: fasta E 値=1.06E-6 Assembled ESTs: fasta 同一性=95%以上 一致長さ=200塩基以上 fastx E 値=1.0E-8以下 完全長配列: fastx スコア=100以上
BLIMPS	BLOCKS IMPROVED Searcher は配列を、BLOCKS 及び PRINTS データベースにおける配列と一致させて、遺伝子ファミリー及び配列相同性、構造的フィンガープリント領域を検索する。	Itenikoff, S 及び J.G. Henikoff, Nucl. Acid Res. 19:6565-72, 1991. J.G. Henikoff 及び S.Henikoff (1996) Methods Enzymol. 266:88-105; Artwood, T.K.ら(1997) J. Chem. Inf. Comput. Sci. 37: 417-424.	スコア=1000以上 スコア/強度=0.75以上 確率値=1.0E-3以下(適用可能な場合)
HMMER	PFAM 等の、タンパク質ファミリーコンセンサス配列の Hidden Markov Model に基づいたデータベースに対する問合せ配列を探すアルゴリズム	Krogh, A.ら(1994) J. Mol. Biol., 235:1501-1531; Sonnhammer, E.L.L.ら(1988) Nucleic Acids Res. 26:320-322.	個々のタンパク質ファミリーによって、スコア=(PFAM ヒットに) 10-50 ヒット

表5-2

プログラム名	説明	引用文献	パラメーター値
ProfileScan	Prosite で定義された配列パターンと一致するタンパク質配列における構造的及び配列モチーフを検索するアルゴリズムである。	Gribskov, M.ら(1988) CABIOS 4:61-66; Gribskov ら(1989) Methods Enzymol. 183:146-159; Bairoch, A.ら(1997) Nucleic Acids Res. 25:217-221.	標準化された質のスコアを特定の Prosite モチーフのための GCG 指定された「高い」値 通常、スコア=1.4-2.1
Phred	高い感度及び確率で自動の配列のトレースを検査する塩基呼び出しアルゴリズムである。	Ewing, B.ら(1998) Genome Res. 8:175-185; Ewing, B.及び P. Green (1998) Genome Res. 8:186-194.	
Phrap	Smith-Waterman アルゴリズムを効率的に利用したプログラムである SWAT や CrossMatch を含む Phrap Revised Assembly プログラムは、配列の相同性の検索及び DNA 配列の構築に有用である。	Smith, T.F.及び M. S. Waterman (1981) Adv. Appl. Math. 2:482-489; Smith, T.F.及び M.S. Waterman (1981) J. Mol. Biol. 147:195-197; 並びに Green, P., University of Washington, Seattle, WA.	スコア=120 以上 一致長さ=56 以上
Conscd	Phrap assemblies の編集及び観察用のグラフィックツールである。	Gordon, D.ら(1998) Genome Res. 8:195-202.	
SPSscan	分泌シグナルペプチドの存在するかどうかタンパク質配列をスクリーンするウエイトマトリックス分析プログラムである。	Nielson, H.ら(1997) Protein Engineering 10:1-6; Claverie, J.M. 及び S. Audic (1997) CABIOS 12:431-439.	スコア=3.5 以上
Motifs	Prosite で定義された配列と一致するパターンをアミノ酸配列に対して検索するプログラムである。	Bairoch ら、前出; Wisconsin Package Program Manual, version 9, page M51-59, Genetics Computer Group, Madison, WI.	

## 【配列表】

## SEQUENCE LISTING

<110> INCYTE PHARMACEUTICALS, INC.  
 LAL, Preeti  
 YUE, Henry  
 HILLMAN, Jennifer L.  
 BAUGHN, Mariah R.  
 TANG, Y. Tom  
 LU, Dyung Aina M.  
 AZIMZAI, Yalda

<120> VESICLE ASSOCIATED PROTEINS

<130> PF-0684 PCT

<140> To Be Assigned  
 <141> Herewith

<150> 60/128,193; 60/144,701  
 <151> 1999-04-07; 1999-07-20

<160> 38

<170> PERL Program

<210> 1  
 <211> 144  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 665637CD1

<400> 1  
 Met Ile Lys Phe Phe Leu Met Val Asn Lys Gln Gly Gln Thr Arg  
 1 5 10  
 Leu Ser Lys Tyr Tyr Glu His Val Asp Ile Asn Lys Arg Thr Leu  
 20 25 30  
 Leu Glu Thr Glu Val Ile Lys Ser Cys Leu Ser Arg Ser Asn Glu  
 35 40 45  
 Gln Cys Ser Phe Ile Glu Tyr Lys Asp Phe Lys Leu Ile Tyr Arg  
 50 55 60  
 Gln Tyr Ala Ala Leu Phe Ile Val Val Gly Val Asn Asp Thr Glu  
 65 70 75  
 Asn Glu Met Ala Ile Tyr Glu Phe Ile His Asn Phe Val Glu Val  
 80 85 90  
 Leu Asp Glu Tyr Phe Ser Arg Val Ser Glu Leu Asp Ile Met Phe  
 95 100 105  
 Asn Leu Asp Lys Val His Ile Ile Leu Asp Glu Met Val Leu Asn  
 110 115 120  
 Gly Cys Ile Val Glu Thr Asn Arg Ala Arg Ile Leu Ala Pro Leu  
 125 130 135  
 Leu Ile Leu Asp Lys Met Ser Glu Ser  
 140

<210> 2  
 <211> 177  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>

```

<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 745823CD1

<400> 2
Met Gly Asn Ile Phe Glu Lys Leu Phe Lys Ser Leu Leu Gly Lys
 1      5      10      15
Lys Lys Met Arg Ile Leu Ile Leu Ser Leu Asp Thr Ala Gly Lys
 20     25     30
Thr Thr Ile Leu Tyr Lys Leu Lys Leu Gly Glu Thr Val Pro Ala
 35     40     45
Val Pro Thr Val Gly Phe Cys Val Glu Thr Val Glu Tyr Lys Asn
 50     55     60
Asn Thr Phe Ala Val Trp Asp Val Gly Ser His Phe Lys Ile Arg
 65     70     75
Pro Leu Trp Gln His Phe Phe Gln Asn Thr Lys Gly Ala Arg Ser
 80     85     90
Pro Gly Ser Thr His Gln Gly Ser Leu Ala Ser Gly Val Leu Pro
 95    100    105
Ile Lys Cys Ser His Val Glu Phe Gly Met Trp Lys Gly Gly Arg
110    115    120
Ser His Pro Phe Leu Pro His Ser Ser Arg Cys Ala Gly Ser Gly
125    130    135
Gly Gln Leu Asp Ser Ile Leu Pro His Gln Ser Pro Ala Trp Gly
140    145    150
Pro Trp Gly Cys Lys Asp Leu Ser Ser Gly Phe Pro Ser Phe Leu
155    160    165
Thr Ser Ser Ile Leu Trp Lys Ser Ala Val Val Lys
170    175

```

```

<210> 3
<211> 408
<212> PRT
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 776854CD1

<400> 3
Met Leu Val Asp Gly Pro Ser Glu Arg Pro Ala Leu Cys Phe Leu
 1      5      10     15
Leu Leu Ala Val Ala Met Ser Phe Phe Gly Ser Ala Leu Ser Ile
 20     25     30
Asp Glu Thr Arg Ala His Leu Leu Leu Lys Glu Lys Met Met Arg
 35     40     45
Leu Gly Gly Arg Leu Val Leu Asn Thr Lys Glu Glu Leu Ala Asn
 50     55     60
Glu Arg Leu Met Thr Leu Lys Ile Ala Glu Met Lys Glu Ala Met
 65     70     75
Arg Thr Leu Ile Phe Pro Pro Ser Met His Phe Phe Gln Ala Lys
 80     85     90
His Leu Ile Glu Arg Ser Gln Val Phe Asn Ile Leu Arg Met Met
 95    100    105
Pro Lys Gly Ala Ala Leu His Leu His Asp Ile Gly Ile Val Thr
110    115    120
Met Asp Trp Leu Val Arg Asn Val Thr Tyr Arg Pro His Cys His
125    130    135
Ile Cys Phe Thr Pro Arg Gly Ile Met Gln Phe Arg Phe Ala His
140    145    150
Pro Thr Pro Arg Pro Ser Glu Lys Cys Ser Lys Trp Ile Leu Leu
155    160    165
Glu Asp Tyr Arg Lys Arg Val Gln Asn Val Thr Glu Phe Asp Asp
170    175    180
Ser Leu Leu Arg Asn Phe Thr Leu Val Thr Gln His Pro Glu Val
185    190    195

```

```

Ile Tyr Thr Asn Gln Asn Val Val Trp Ser Lys Phe Glu Thr Ile
200 205 210
Phe Phe Thr Ile Ser Gly Leu Ile His Tyr Ala Pro Val Phe Arg
215 220 225
Asp Tyr Val Phe Arg Ser Met Gln Glu Phe Tyr Glu Asp Asn Val
230 235 240
Leu Tyr Met Glu Ile Arg Ala Arg Leu Leu Pro Val Tyr Glu Leu
245 250 255
Ser Gly Glu His His Asp Glu Glu Trp Ser Val Lys Thr Tyr Gln
260 265 270
Glu Val Ala Gln Lys Phe Val Glu Thr His Pro Glu Phe Ile Gly
275 280 285
Ile Lys Ile Ile Tyr Ser Asp His Arg Ser Lys Asp Val Ala Val
290 295 300
Ile Ala Glu Ser Ile Arg Met Ala Met Gly Leu Arg Ile Lys Phe
305 310 315
Pro Thr Val Val Ala Gly Phe Asp Leu Val Gly His Glu Asp Thr
320 325 330
Gly His Ser Leu Arg Asp Tyr Lys Glu Ala Leu Met Ile Pro Ala
335 340 345
Lys Asp Gly Val Lys Leu Pro Tyr Phe Phe His Ala Gly Glu Thr
350 355 360
Asp Pro Lys Glu Asp Leu Gly Gly Gly Cys Ser His Gly Gly Arg
365 370 375
Asp Gln Glu Gly Ser Ser Leu Gln His Pro Thr Cys His Pro Arg
380 385 390
Lys Thr Lys Ala Gly Trp Arg Glu Trp Trp Ala Val Ser Phe Pro
395 400 405
Thr Gln Ala

```

```

<210> 4
<211> 553
<212> PRT
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 1273556CD1

```

```

<400> 4
Met Thr Arg Gly Gly Pro Gly Gly Arg Pro Gly Leu Pro Gln Pro
1 5 10 15
Pro Pro Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Pro Leu Leu Leu Val
20 25 30
Thr Ala Glu Pro Pro Lys Pro Ala Gly Val Tyr Tyr Ala Thr Ala
35 40 45
Tyr Trp Met Pro Ala Glu Lys Thr Val Gln Val Lys Asn Val Met
50 55 60
Asp Lys Asn Gly Asp Ala Tyr Gly Phe Tyr Asn Asn Ser Val Lys
65 70 75
Thr Thr Gly Trp Gly Ile Leu Glu Ile Arg Ala Gly Tyr Gly Ser
80 85 90
Gln Thr Leu Ser Asn Glu Ile Ile Met Phe Val Ala Gly Phe Leu
95 100 105
Glu Gly Tyr Leu Thr Ala Pro His Met Asn Asp His Tyr Thr Asn
110 115 120
Leu Tyr Pro Gln Leu Ile Thr Lys Pro Ser Ile Met Asp Lys Val
125 130 135
Gln Asp Phe Met Glu Lys Gln Asp Lys Trp Thr Arg Lys Asn Ile
140 145 150
Lys Glu Tyr Lys Thr Asp Ser Phe Trp Arg His Thr Gly Tyr Val
155 160 165
Met Ala Gln Ile Asp Gly Leu Tyr Val Gly Ala Lys Lys Arg Ala
170 175 180

```

Ile Leu Glu Gly Thr Lys Pro Met Thr Leu Phe Gln Ile Gln Phe  
 185 190 195  
 Leu Asn Ser Val Gly Asp Leu Leu Asp Leu Ile Pro Ser Leu Ser  
 200 205 210  
 Pro Thr Lys Asn Gly Ser Leu Lys Val Phe Lys Arg Trp Asp Met  
 215 220 225  
 Gly His Cys Ser Ala Leu Ile Lys Val Leu Pro Gly Phe Glu Asn  
 230 235 240  
 Ile Leu Phe Ala His Ser Ser Trp Tyr Thr Tyr Ala Ala Met Leu  
 245 250 255  
 Arg Ile Tyr Lys His Trp Asp Phe Asn Ile Ile Asp Lys Asp Thr  
 260 265 270  
 Ser Ser Ser Arg Leu Ser Phe Ser Ser Tyr Pro Gly Phe Leu Glu  
 275 280 285  
 Ser Leu Asp Asp Phe Tyr Ile Leu Ser Ser Gly Leu Ile Leu Leu  
 290 295 300  
 Gln Thr Thr Asn Ser Val Phe Asn Lys Thr Leu Leu Lys Gln Val  
 305 310 315  
 Ile Pro Glu Thr Leu Ser Trp Gln Arg Val Arg Val Ala Asn  
 320 325 330  
 Met Met Ala Asp Ser Gly Lys Arg Trp Ala Asp Ile Phe Ser Lys  
 335 340 345  
 Tyr Asn Ser Gly Thr Tyr Asn Asn Gln Tyr Met Val Leu Asp Leu  
 350 355 360  
 Lys Lys Val Lys Leu Asn His Ser Leu Asp Lys Gly Thr Leu Tyr  
 365 370 375  
 Ile Val Glu Gln Ile Pro Thr Tyr Val Glu Tyr Ser Glu Gln Thr  
 380 385 390  
 Asp Val Leu Arg Lys Gly Tyr Trp Pro Ser Tyr Asn Val Pro Phe  
 395 400 405  
 His Glu Lys Ile Tyr Asn Trp Ser Gly Tyr Pro Leu Leu Val Gln  
 410 415 420  
 Lys Leu Gly Leu Asp Tyr Ser Tyr Asp Leu Ala Pro Arg Ala Lys  
 425 430 435  
 Ile Phe Arg Arg Asp Gln Gly Lys Val Thr Asp Thr Ala Ser Met  
 440 445 450  
 Lys Tyr Ile Met Arg Tyr Asn Asn Tyr Lys Lys Asp Pro Tyr Ser  
 455 460 465  
 Arg Gly Asp Pro Cys Asn Thr Ile Cys Cys Arg Glu Asp Leu Asn  
 470 475 480  
 Ser Pro Asn Pro Ser Pro Gly Gly Cys Tyr Asp Thr Lys Val Ala  
 485 490 495  
 Asp Ile Tyr Leu Ala Ser Gln Tyr Thr Ser Tyr Ala Ile Ser Gly  
 500 505 510  
 Pro Thr Val Gln Gly Gly Leu Pro Val Phe Arg Trp Asp Arg Phe  
 515 520 525  
 Asn Lys Thr Leu His Gln Gly Met Pro Glu Val Tyr Asn Phe Asp  
 530 535 540  
 Phe Ile Thr Met Lys Pro Ile Leu Lys Leu Asp Ile Lys  
 545 550

<210> 5  
 <211> 179  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 1505808CD1

<400> 5  
 Met Asp Pro Ala Gly Pro Ser Ala Pro Arg Arg Trp Thr Ala Arg  
 1 5 10 15  
 Ser Pro Gly Arg Lys Asn Thr Arg Ser Arg Pro Tyr Leu Arg Val

```

                20                25                30
Ser Ser Asp Pro Trp Arg Ser His Cys Gly Ser Arg Ala Ile Ala
  35 40 45
Met Glu Phe Val Met Lys Gln Ala Leu Gly Gly Ala Thr Lys Asp
  50 55 60
Met Gly Lys Met Leu Gly Gly Asp Glu Glu Lys Asp Pro Asp Ala
  65 70 75
Ala Lys Lys Glu Glu Glu Arg Gln Glu Ala Leu Arg Gln Ala Glu
  80 85 90
Glu Glu Arg Lys Ala Lys Tyr Ala Lys Met Glu Ala Glu Arg Glu
  95 100 105
Ala Val Arg Gln Gly Ile Arg Asp Lys Tyr Gly Ile Lys Lys Lys
  110 115 120
Glu Glu Arg Glu Ala Glu Ala Gln Ala Ala Met Glu Ala Asn Ser
  125 130 135
Glu Gly Ser Leu Thr Arg Pro Lys Lys Ala Ile Pro Pro Gly Cys
  140 145 150
Gly Asp Glu Val Glu Glu Glu Asp Glu Ser Ile Leu Asp Thr Val
  155 160 165
Ile Lys Tyr Leu Pro Gly Pro Leu Gln Asp Met Leu Lys Lys
  170 175

```

```

<210> 6
<211> 336
<212> PRT
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 1814911CD1

```

```

<400> 6
Met Glu Lys Leu Arg Leu Leu Gly Leu Arg Tyr Gln Glu Tyr Val
  1 5 10 15
Thr Arg His Pro Ala Ala Thr Ala Gln Leu Glu Thr Ala Val Arg
  20 25 30
Gly Phe Ser Tyr Leu Leu Ala Gly Arg Phe Ala Asp Ser His Glu
  35 40 45
Leu Ser Glu Leu Val Tyr Ser Ala Ser Asn Leu Leu Val Leu Leu
  50 55 60
Asn Asp Gly Ile Leu Arg Lys Glu Leu Arg Lys Lys Leu Pro Val
  65 70 75
Ser Leu Ser Gln Gln Lys Leu Leu Thr Trp Leu Ser Val Leu Glu
  80 85 90
Cys Val Glu Val Phe Met Glu Met Gly Ala Ala Lys Val Trp Gly
  95 100 105
Glu Val Gly Arg Trp Leu Val Ile Ala Leu Ile Gln Leu Ala Lys
  110 115 120
Ala Val Leu Arg Met Leu Leu Leu Leu Trp Phe Lys Ala Gly Leu
  125 130 135
Gln Thr Ser Pro Pro Ile Val Pro Leu Asp Arg Glu Thr Gln Ala
  140 145 150
Gln Pro Pro Asp Gly Asp His Ser Pro Gly Asn His Glu Gln Ser
  155 160 165
Tyr Val Gly Lys Arg Ser Asn Arg Val Val Arg Thr Leu Gln Asn
  170 175 180
Thr Pro Ser Leu His Ser Arg His Trp Gly Ala Pro Gln Gln Arg
  185 190 195
Glu Gly Arg Gln Gln Gln His His Glu Glu Leu Ser Ala Thr Pro
  200 205 210
Thr Pro Leu Gly Leu Gln Glu Thr Ile Ala Glu Phe Leu Tyr Ile
  215 220 225
Ala Arg Pro Leu Leu His Leu Leu Ser Leu Gly Leu Trp Gly Gln
  230 235 240

```

```

Arg Ser Trp Lys Pro Trp Leu Leu Ala Gly Val Val Asp Val Thr
      245      250
Ser Leu Ser Leu Leu Ser Asp Arg Lys Gly Leu Thr Arg Arg Glu
      260      265
Arg Arg Glu Leu Arg Arg Arg Thr Ile Leu Leu Leu Tyr Tyr Leu
      275      280
Leu Arg Ser Pro Phe Tyr Asp Arg Phe Ser Glu Ala Arg Ile Leu
      290      295
Phe Leu Leu Gln Leu Leu Ala Asp His Val Pro Gly Val Gly Leu
      305      310
Val Thr Arg Pro Leu Met Asp Tyr Leu Pro Thr Trp Gln Lys Ile
      320      325
Tyr Phe Tyr Ser Trp Gly
      335

```

```

<210> 7
<211> 240
<212> PRT
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 2087812CD1

```

```

<400> 7
Met Ser Pro Leu Leu Phe Gly Ala Gly Leu Val Val Leu Asn Leu
  1      5      10
Val Thr Ser Ala Arg Ser Gln Lys Thr Glu Pro Leu Ser Gly Ser
      20      25
Gly Asp Gln Pro Leu Phe Arg Gly Ala Asp Arg Tyr Asp Phe Ala
      35      40
Ile Met Ile Pro Pro Gly Gly Thr Glu Cys Phe Trp Gln Phe Ala
      50      55
His Gln Thr Gly Tyr Phe Tyr Phe Ser Tyr Glu Val Gln Arg Thr
      65      70
Val Gly Met Ser His Asp Arg His Val Ala Ala Thr Ala His Asn
      80      85
Pro Gln Gly Phe Leu Ile Asp Thr Ser Gln Gly Val Arg Gly Gln
      95      100
Ile Asn Phe Ser Thr Gln Glu Thr Gly Phe Tyr Gln Leu Cys Leu
      110      115
Ser Asn Gln His Asn His Phe Gly Ser Val Gln Val Tyr Leu Asn
      125      130
Phe Gly Val Phe Tyr Glu Gly Pro Glu Thr Asp His Lys Gln Lys
      140      145
Glu Arg Lys Gln Leu Asn Asp Thr Leu Asp Ala Ile Glu Asp Gly
      155      160
Thr Gln Lys Val Gln Asn Asn Ile Phe His Met Trp Arg Tyr Tyr
      170      175
Asn Phe Ala Arg Met Arg Lys Met Ala Asp Phe Phe Leu Ile Gln
      185      190
Ser Asn Tyr Asn Tyr Val Asn Trp Trp Ser Thr Ala Gln Ser Leu
      200      205
Val Ile Ile Leu Ser Gly Ile Leu Gln Leu Tyr Phe Leu Lys Arg
      215      220
Leu Phe Asn Val Pro Thr Thr Thr Asp Thr Lys Lys Pro Arg Cys
      230      235

```

```

<210> 8
<211> 955
<212> PRT

```

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc\_feature

<223> Incyte ID No: 2149274CD1

<400> 8

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

Arg	Ile	Ala	Cys	Asp	Tyr	Val	Ser	Glu	Glu	Val	Trp	Tyr	Arg	Val
				455					460					465
Leu	Gln	Ile	Val	Thr	Asn	Arg	Asp	Asp	Val	Gln	Gly	Tyr	Ala	Ala
				470					475					480
Lys	Thr	Val	Phe	Glu	Ala	Leu	Gln	Ala	Pro	Ala	Cys	His	Glu	Asn
				485					490					495
Met	Val	Lys	Val	Gly	Gly	Tyr	Ile	Leu	Gly	Glu	Phe	Gly	Asn	Leu
				500					505					510
Ile	Ala	Gly	Asp	Pro	Arg	Ser	Ser	Pro	Pro	Val	Gln	Phe	Ser	Leu
				515					520					525
Leu	His	Ser	Lys	Phe	His	Leu	Cys	Ser	Val	Ala	Thr	Arg	Ala	Leu
				530					535					540
Leu	Leu	Ser	Thr	Tyr	Ile	Lys	Phe	Ile	Asn	Leu	Phe	Pro	Glu	Thr
				545					550					555
Lys	Ala	Thr	Ile	Gln	Gly	Val	Leu	Arg	Ala	Gly	Ser	Gln	Leu	Arg
				560					565					570
Asn	Ala	Asp	Val	Glu	Leu	Gln	Gln	Arg	Ala	Val	Glu	Tyr	Leu	Thr
				575					580					585
Leu	Ser	Ser	Val	Ala	Ser	Thr	Asp	Val	Leu	Ala	Thr	Val	Leu	Glu
				590					595					600
Glu	Met	Pro	Pro	Phe	Pro	Glu	Arg	Glu	Ser	Ser	Ile	Leu	Ala	Lys
				605					610					615
Leu	Lys	Arg	Lys	Lys	Gly	Pro	Gly	Ala	Gly	Ser	Ala	Leu	Asp	Asp
				620					625					630
Gly	Arg	Arg	Asp	Pro	Ser	Ser	Asn	Asp	Ile	Asn	Gly	Gly	Met	Glu
				635					640					645
Pro	Thr	Pro	Ser	Thr	Val	Ser	Thr	Pro	Ser	Pro	Ser	Ala	Asp	Leu
				650					655					660
Leu	Gly	Leu	Arg	Ala	Ala	Pro	Pro	Pro	Ala	Ala	Pro	Pro	Ala	Ser
				665					670					675
Ala	Gly	Ala	Gly	Asn	Leu	Leu	Val	Asp	Val	Phe	Asp	Gly	Pro	Ala
				680					685					690
Ala	Gln	Pro	Ser	Leu	Gly	Pro	Thr	Pro	Glu	Glu	Ala	Phe	Leu	Ser
				695					700					705
Pro	Gly	Pro	Glu	Asp	Ile	Gly	Pro	Pro	Ile	Pro	Glu	Ala	Asp	Glu
				710					715					720
Leu	Leu	Asn	Lys	Phe	Val	Cys	Lys	Asn	Asn	Gly	Val	Leu	Phe	Glu
				725					730					735
Asn	Gln	Leu	Leu	Gln	Ile	Gly	Val	Lys	Ser	Glu	Phe	Arg	Gln	Asn
				740					745					750
Leu	Gly	Arg	Met	Tyr	Leu	Phe	Tyr	Gly	Asn	Lys	Thr	Ser	Val	Gln
				755					760					765
Phe	Gln	Asn	Phe	Ser	Pro	Thr	Val	Val	His	Pro	Gly	Asp	Leu	Gln
				770					775					780
Thr	Gln	Leu	Ala	Val	Gln	Thr	Lys	Arg	Val	Ala	Ala	Gln	Val	Asp
				785					790					795
Gly	Gly	Ala	Gln	Val	Gln	Gln	Val	Leu	Asn	Ile	Glu	Cys	Leu	Arg
				800					805					810
Asp	Phe	Leu	Thr	Pro	Pro	Leu	Leu	Ser	Val	Arg	Phe	Arg	Tyr	Gly
				815					820					825
Gly	Ala	Pro	Gln	Ala	Leu	Thr	Leu	Lys	Leu	Pro	Val	Thr	Ile	Asn
				830					835					840
Lys	Phe	Phe	Gln	Pro	Thr	Glu	Met	Ala	Ala	Gln	Asp	Phe	Phe	Gln
				845					850					855
Arg	Trp	Lys	Gln	Leu	Ser	Leu	Pro	Gln	Gln	Glu	Ala	Gln	Lys	Ile
				860					865					870
Phe	Lys	Ala	Asn	His	Pro	Met	Asp	Ala	Glu	Val	Thr	Lys	Ala	Lys
				875					880					885
Leu	Leu	Gly	Phe	Gly	Ser	Ala	Leu	Leu	Asp	Asn	Val	Asp	Pro	Asn
				890					895					900
Pro	Glu	Asn	Phe	Val	Gly	Ala	Gly	Ile	Ile	Gln	Thr	Lys	Ala	Leu
				905					910					915
Gln	Val	Gly	Cys	Leu	Leu	Arg	Leu	Glu	Pro	Asn	Ala	Gln	Ala	Gln
				920					925					930
Met	Tyr	Arg	Leu	Thr	Leu	Arg	Thr	Ser	Lys	Glu	Pro	Val	Ser	Arg
				935					940					945
His	Leu	Cys	Glu	Leu	Leu	Ala	Gln	Gln	Phe					

950

955

```

<210> 9
<211> 247
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 2355124CD1

<400> 9
Met Leu Val Leu Arg Ser Gly Leu Thr Lys Ala Leu Ala Ser Arg
 1          5          10          15
Thr Leu Ala Pro Gln Val Cys Ser Ser Phe Ala Thr Gly Pro Arg
 20          25          30
Gln Tyr Asp Gly Thr Phe Tyr Glu Phe Arg Thr Tyr Tyr Leu Lys
 35          40          45
Pro Ser Asn Met Asn Ala Phe Met Glu Asn Leu Lys Lys Asn Ile
 50          55          60
His Leu Arg Thr Ser Tyr Ser Glu Leu Val Gly Phe Trp Ser Val
 65          70          75
Glu Phe Gly Gly Arg Thr Asn Lys Val Phe His Ile Trp Lys Tyr
 80          85          90
Asp Asn Phe Ala His Arg Thr Glu Val Gln Lys Ala Leu Ala Lys
 95          100         105
Asp Lys Glu Trp Gln Glu Gln Phe Leu Ile Pro Asn Leu Ala Leu
 110         115         120
Ile Asp Lys Gln Glu Ser Glu Ile Thr Tyr Leu Val Pro Trp Cys
 125         130         135
Lys Leu Glu Lys Pro Lys Glu Gly Val Tyr Glu Leu Ala Thr
 140         145         150
Phe Gln Met Lys Pro Gly Gly Pro Ala Leu Trp Gly Asp Ala Phe
 155         160         165
Lys Arg Ala Val His Ala His Val Asn Leu Gly Tyr Thr Lys Leu
 170         175         180
Val Gly Val Phe His Thr Glu Tyr Gly Ala Leu Asn Arg Val His
 185         190         195
Val Leu Trp Trp Asn Glu Ser Ala Asp Ser Arg Ala Ala Gly Arg
 200         205         210
His Lys Ser His Glu Asp Pro Arg Val Val Ala Ala Val Arg Glu
 215         220         225
Ser Val Asn Tyr Leu Val Ser Gln Gln Asn Met Leu Leu Ile Pro
 230         235         240
Thr Ser Phe Ser Pro Leu Lys
 245

```

```

<210> 10
<211> 532
<212> PRT
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 2366939CD1

```

```

<400> 10
Met Gly Pro Gln Tyr Cys Val Cys Lys Val Glu Leu Ser Val Ser
 1          5          10          15
Gly Gln Asn Leu Leu Asp Arg Asp Val Thr Ser Lys Ser Asp Pro
 20          25          30

```

Phe Cys Val Leu Phe Thr Glu Asn Asn Gly Arg Trp Ile Glu Tyr  
 35 40 45  
 Asp Arg Thr Glu Thr Ala Ile Asn Asn Leu Asn Pro Ala Phe Ser  
 50 55 60  
 Lys Lys Phe Val Leu Asp Tyr His Phe Glu Glu Val Gln Lys Leu  
 65 70 75  
 Lys Phe Ala Leu Phe Asp Gln Asp Lys Ser Ser Met Arg Leu Asp  
 80 85 90  
 Glu His Asp Phe Leu Gly Gln Phe Ser Cys Ser Leu Gly Thr Ile  
 95 100 105  
 Val Ser Ser Lys Lys Ile Thr Arg Pro Leu Leu Leu Asn Asp  
 110 115 120  
 Lys Pro Ala Gly Lys Gly Leu Ile Thr Ile Ala Ala Gln Glu Leu  
 125 130 135  
 Ser Asp Asn Arg Val Ile Thr Leu Ser Leu Ala Gly Arg Arg Leu  
 140 145 150  
 Asp Lys Lys Asp Leu Phe Gly Lys Ser Asp Pro Phe Leu Glu Phe  
 155 160 165  
 Tyr Lys Pro Gly Asp Asp Gly Lys Trp Met Leu Val His Arg Thr  
 170 175 180  
 Glu Val Ile Lys Tyr Thr Leu Asp Pro Val Trp Lys Pro Phe Thr  
 185 190 195  
 Val Pro Leu Val Ser Leu Cys Asp Gly Asp Met Glu Lys Pro Ile  
 200 205 210  
 Gln Val Met Cys Tyr Asp Tyr Asp Asn Asp Gly Gly His Asp Phe  
 215 220 225  
 Ile Gly Glu Phe Gln Thr Ser Val Ser Gln Met Cys Glu Ala Arg  
 230 235 240  
 Asp Ser Val Pro Leu Glu Phe Glu Cys Ile Asn Pro Lys Lys Gln  
 245 250 255  
 Arg Lys Lys Lys Asn Tyr Lys Asn Ser Gly Ile Ile Ile Leu Arg  
 260 265 270  
 Ser Cys Lys Ile Asn Arg Asp Tyr Ser Phe Leu Asp Tyr Ile Leu  
 275 280 285  
 Gly Gly Cys Gln Leu Met Phe Thr Val Gly Ile Asp Phe Thr Ala  
 290 295 300  
 Ser Asn Gly Asn Pro Leu Asp Pro Ser Ser Leu His Tyr Ile Asn  
 305 310 315  
 Pro Met Gly Thr Asn Glu Tyr Leu Ser Ala Ile Trp Ala Val Gly  
 320 325 330  
 Gln Ile Ile Gln Asp Tyr Asp Ser Asp Lys Met Phe Pro Ala Leu  
 335 340 345  
 Gly Phe Gly Ala Gln Leu Pro Pro Asp Trp Lys Val Ser His Glu  
 350 355 360  
 Phe Ala Ile Asn Phe Asn Pro Thr Asn Pro Phe Cys Ser Gly Val  
 365 370 375  
 Asp Gly Ile Ala Gln Ala Tyr Ser Ala Cys Leu Pro His Ile Arg  
 380 385 390  
 Phe Tyr Gly Pro Thr Asn Phe Ser Pro Ile Val Asn His Val Ala  
 395 400 405  
 Arg Phe Ala Ala Gln Ala Thr Gln Gln Arg Thr Ala Thr Gln Tyr  
 410 415 420  
 Phe Ile Leu Leu Ile Ile Thr Asp Gly Val Ile Ser Asp Met Glu  
 425 430 435  
 Glu Thr Arg His Ala Val Val Gln Ala Ser Lys Leu Pro Met Ser  
 440 445 450  
 Ile Ile Ile Val Gly Val Gly Asn Ala Asp Phe Ala Ala Met Glu  
 455 460 465  
 Phe Leu Asp Gly Asp Ser Arg Met Leu Arg Ser His Thr Gly Glu  
 470 475 480  
 Glu Ala Ala Arg Asp Ile Val Gln Phe Val Pro Phe Arg Glu Phe  
 485 490 495  
 Arg Asn Ala Ala Lys Glu Thr Leu Ala Lys Ala Val Leu Ala Glu  
 500 505 510  
 Leu Pro Gln Gln Val Val Gln Tyr Phe Lys His Lys Asn Leu Pro  
 515 520 525  
 Pro Thr Asn Ser Glu Pro Ala

530

<210> 11  
 <211> 154  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 2483906CD1

<400> 11  
 Met Ile His Phe Ile Leu Leu Phe Ser Arg Gln Gly Lys Leu Arg  
 1 5 10 15  
 Leu Gln Lys Trp Tyr Ile Thr Leu Pro Asp Lys Glu Arg Lys Lys  
 20 25 30  
 Ile Thr Arg Glu Ile Val Gln Ile Ile Leu Ser Arg Gly His Arg  
 35 40 45  
 Thr Ser Ser Phe Val Asp Trp Lys Glu Leu Lys Leu Val Tyr Lys  
 50 55 60  
 Arg Tyr Ala Ser Leu Tyr Phe Cys Cys Ala Ile Glu Asn Gln Asp  
 65 70 75  
 Asn Glu Leu Leu Thr Leu Glu Ile Val His Arg Tyr Val Glu Leu  
 80 85 90  
 Leu Asp Lys Tyr Phe Gly Asn Val Cys Glu Leu Asp Ile Ile Phe  
 95 100 105  
 Asn Phe Glu Lys Ala Tyr Phe Ile Leu Asp Glu Phe Ile Ile Gly  
 110 115 120  
 Gly Glu Ile Gln Glu Thr Ser Lys Lys Ile Ala Val Lys Ala Ile  
 125 130 135  
 Glu Asp Ser Asp Met Leu Gln Glu Thr Met Glu Glu Tyr Met Asn  
 140 145 150  
 Lys Pro Thr Phe

<210> 12  
 <211> 684  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 2499488CD1

<400> 12  
 Met Trp His Glu Thr Ser Asn Arg Ile Pro Ser Lys Arg Thr Val  
 1 5 10 15  
 Ser Phe Val Leu Ser Thr Gly Leu Tyr Pro Ile Ser Phe Gln Val  
 20 25 30  
 His Leu Val Arg Asp Gly Val Leu Thr Arg Phe Ser Val Ala Thr  
 35 40 45  
 Glu Tyr Gln Lys Asn Ala Gln Ile Glu Lys Leu Arg Ser Glu Ile  
 50 55 60  
 Val Val Leu Lys Glu Glu Leu Gln Leu Thr Arg Ser Glu Leu Glu  
 65 70 75  
 Ala Ala His His Ala Ser Ala Val Arg Phe Ser Lys Glu Tyr Glu  
 80 85 90  
 Met Gln Lys Thr Lys Glu Glu Asp Phe Leu Lys Leu Phe Asp Arg  
 95 100 105  
 Trp Lys Glu Glu Glu Lys Glu Lys Leu Val Asp Glu Met Glu Lys  
 110 115 120  
 Val Lys Glu Met Phe Met Lys Glu Phe Lys Glu Leu Thr Ser Lys



```

Pro Pro Pro Ala Lys Asn Glu Pro His Phe Ala His Val Leu Asn
635 640 645
Ala Trp Gly Ala Phe Asn Pro Lys Gly Pro Lys Gly Glu Gly Leu
650 655 660
Gln Glu Asn Glu Ser Ser Thr Leu Lys Ser Ser Leu Val Thr Val
665 670 675
Thr Asp Trp Ser Asp Thr Ser Asp Val
680

```

```

<210> 13
<211> 576
<212> PRT
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 2559148CD1

```

```

<400> 13
Met Ser Thr Ser Ser Leu Arg Arg Gln Met Lys Asn Ile Val His
1 5 10 15
Asn Tyr Ser Glu Ala Glu Ile Lys Val Arg Glu Ala Thr Ser Asn
20 25 30
Asp Pro Trp Gly Pro Ser Ser Ser Leu Met Ser Glu Ile Ala Asp
35 40 45
Leu Thr Tyr Asn Val Val Ala Phe Ser Glu Ile Met Ser Met Ile
50 55 60
Trp Lys Arg Leu Asn Asp His Gly Lys Asn Trp Arg His Val Tyr
65 70 75
Lys Ala Met Thr Leu Met Glu Tyr Leu Ile Lys Thr Gly Ser Glu
80 85 90
Arg Val Ser Gln Gln Cys Lys Glu Asn Met Tyr Ala Val Gln Thr
95 100 105
Leu Lys Asp Phe Gln Tyr Val Asp Arg Asp Gly Lys Asp Gln Gly
110 115 120
Val Asn Val Arg Glu Lys Ala Lys Gln Leu Val Ala Leu Leu Arg
125 130 135
Asp Glu Asp Arg Leu Arg Glu Glu Arg Ala His Ala Leu Lys Thr
140 145 150
Lys Glu Lys Leu Ala Gln Thr Ala Thr Ala Ser Ser Ala Ala Val
155 160 165
Gly Ser Gly Pro Pro Pro Glu Ala Glu Gln Ala Trp Pro Gln Ser
170 175 180
Ser Gly Glu Glu Glu Leu Gln Leu Gln Leu Ala Leu Ala Met Ser
185 190 195
Lys Glu Glu Ala Asp Gln Pro Pro Ser Cys Gly Pro Glu Asp Asp
200 205 210
Ala Gln Leu Gln Leu Ala Leu Ser Leu Ser Arg Glu Glu His Asp
215 220 225
Lys Glu Glu Arg Ile Arg Arg Gly Asp Asp Leu Arg Leu Gln Met
230 235 240
Ala Ile Glu Glu Ser Lys Arg Glu Thr Gly Gly Lys Glu Glu Ser
245 250 255
Ser Leu Met Asp Leu Ala Asp Val Phe Thr Ala Pro Ala Pro Ala
260 265 270
Pro Thr Thr Asp Pro Trp Gly Gly Pro Ala Pro Met Ala Ala Ala
275 280 285
Val Pro Thr Ala Ala Pro Thr Ser Asp Pro Trp Gly Gly Pro Pro
290 295 300
Val Pro Pro Ala Ala Asp Pro Trp Gly Gly Pro Ala Pro Thr Pro
305 310 315
Ala Ser Gly Asp Pro Trp Arg Pro Ala Ala Pro Ala Gly Pro Ser
320 325 330
Val Asp Pro Trp Gly Gly Thr Pro Ala Pro Ala Ala Gly Glu Gly

```

```

335          340          345
Pro Thr Pro Asp Pro Trp Gly Ser Ser Asp Gly Gly Val Pro Val
350          355          360
Ser Gly Pro Ser Ala Ser Asp Pro Trp Thr Pro Ala Pro Ala Phe
365          370          375
Ser Asp Pro Trp Gly Gly Ser Pro Ala Lys Pro Ser Thr Asn Gly
380          385          390
Thr Thr Ala Ala Gly Gly Phe Asp Thr Glu Pro Asp Glu Phe Ser
395          400          405
Asp Phe Asp Arg Leu Arg Thr Ala Leu Pro Thr Ser Gly Ser Ser
410          415          420
Ala Gly Glu Leu Glu Leu Leu Ala Gly Glu Val Pro Ala Arg Ser
425          430          435
Pro Gly Ala Phe Asp Met Ser Gly Val Arg Gly Ser Leu Ala Glu
440          445          450
Ala Val Gly Ser Pro Pro Pro Ala Ala Thr Pro Thr Pro Thr Pro
455          460          465
Pro Thr Arg Lys Thr Pro Glu Ser Phe Leu Gly Pro Asn Ala Ala
470          475          480
Leu Val Asp Leu Asp Ser Leu Val Ser Arg Pro Gly Pro Thr Pro
485          490          495
Pro Gly Ala Lys Ala Ser Asn Pro Phe Leu Pro Gly Gly Gly Pro
500          505          510
Ala Thr Gly Pro Ser Val Thr Asn Pro Phe Gln Pro Ala Pro Pro
515          520          525
Ala Thr Leu Thr Leu Asn Gln Leu Arg Leu Ser Pro Val Pro Pro
530          535          540
Val Pro Gly Ala Pro Pro Thr Tyr Ile Ser Pro Leu Gly Gly Gly
545          550          555
Pro Gly Leu Pro Pro Met Met Pro Pro Gly Pro Pro Ala Pro Asn
560          565          570
Thr Asn Pro Phe Leu Leu
575

```

```

<210> 14
<211> 425
<212> PRT
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 3321481CD1

```

```

<400> 14
Met Ser Ala Ser Ala Val Phe Ile Leu Asp Val Lys Gly Lys Pro
1          5          10          15
Leu Ile Ser Arg Asn Tyr Lys Gly Asp Val Ala Met Ser Lys Ile
20          25          30
Glu His Phe Met Pro Leu Leu Val Gln Arg Glu Glu Glu Gly Ala
35          40          45
Leu Ala Pro Leu Leu Ser His Gly Gln Val His Phe Leu Trp Ile
50          55          60
Lys His Ser Asn Leu Tyr Leu Val Ala Thr Thr Ser Lys Asn Ala
65          70          75
Asn Ala Ser Leu Val Tyr Ser Phe Leu Tyr Lys Thr Ile Glu Val
80          85          90
Phe Cys Glu Tyr Phe Lys Glu Leu Glu Glu Glu Ser Ile Arg Asp
95          100          105
Asn Phe Val Ile Val Tyr Glu Leu Leu Asp Glu Leu Met Asp Phe
110          115          120
Gly Phe Pro Gln Thr Thr Asp Ser Lys Ile Leu Gln Glu Tyr Ile
125          130          135
Thr Gln Gln Ser Asn Lys Leu Glu Thr Gly Lys Ser Arg Val Pro
140          145          150

```

```

Pro Thr Val Thr Asn Ala Val Ser Trp Arg Ser Glu Gly Ile Lys
155 160 165
Tyr Lys Lys Asn Glu Val Phe Ile Asp Val Ile Glu Ser Val Asn
170 175 180
Leu Leu Val Asn Ala Asn Gly Ser Val Leu Leu Ser Glu Ile Val
185 190 195
Gly Thr Ile Lys Leu Lys Val Phe Leu Ser Gly Met Pro Glu Leu
200 205 210
Arg Leu Gly Leu Asn Asp Arg Val Leu Phe Glu Leu Thr Gly Leu
215 220 225
Ser Gly Ser Lys Asn Lys Ser Val Glu Leu Glu Asp Val Lys Phe
230 235 240
His Gln Cys Val Arg Leu Ser Arg Phe Asp Asn Asp Arg Thr Ile
245 250 255
Ser Phe Ile Pro Pro Asp Gly Asp Phe Glu Leu Met Ser Tyr Arg
260 265 270
Leu Ser Thr Gln Val Lys Pro Leu Ile Trp Ile Glu Ser Val Ile
275 280 285
Glu Lys Phe Ser His Ser Arg Val Glu Ile Met Val Lys Ala Lys
290 295 300
Gly Gln Phe Lys Lys Gln Ser Val Ala Asn Gly Val Glu Ile Ser
305 310 315
Val Pro Val Pro Ser Asp Ala Asp Ser Pro Arg Phe Lys Thr Ser
320 325 330
Val Gly Ser Ala Lys Tyr Val Pro Glu Arg Asn Val Val Ile Trp
335 340 345
Ser Ile Lys Ser Phe Pro Gly Gly Lys Glu Tyr Leu Met Arg Ala
350 355 360
His Phe Gly Leu Pro Ser Val Glu Lys Glu Glu Val Glu Gly Arg
365 370 375
Pro Pro Ile Gly Val Lys Phe Glu Ile Pro Tyr Phe Thr Val Ser
380 385 390
Gly Ile Gln Val Arg Tyr Met Lys Ile Ile Glu Lys Ser Gly Tyr
395 400 405
Gln Ala Leu Pro Trp Val Arg Tyr Ile Thr Gln Ser Gly Asp Tyr
410 415 420
Gln Leu Arg Thr Ser
425

```

```

<210> 15
<211> 167
<212> PRT
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 3367918CD1

```

```

<400> 15
Met Leu Ser Trp Ala Trp Trp Gln Gly Ala Gly Asn Pro Val Leu
1 5 10 15
Gly Arg Leu Arg Gln Glu Asn His Leu Asn Pro Gly Gly Arg Gly
20 25 30
Cys Ser Glu Gln Lys Lys Lys Lys Lys Leu Thr Ser Leu Leu
35 40 45
Pro Thr Ile Leu Leu Ser Gln Glu Ile Tyr Lys Asp Arg Gln Lys
50 55 60
Phe Ser Glu Gln Val Phe Lys Val Ala Ser Ser Asp Leu Val Asn
65 70 75
Met Gly Ile Ser Val Val Ser Tyr Thr Leu Lys Asp Ile His Asp
80 85 90
Asp Gln Asp Tyr Leu His Ser Leu Gly Lys Ala Arg Thr Ala Gln
95 100 105
Val Gln Lys Asp Ala Arg Ile Gly Glu Ala Glu Ala Lys Arg Asp

```

110 115 120  
 Ala Gly Ile Arg Glu Ala Lys Ala Lys Gln Glu Lys Val Ser Ala  
 125 130 135  
 Gln Tyr Leu Ser Glu Ile Glu Met Ala Lys Ala Gln Arg Asp Tyr  
 140 145 150  
 Glu Leu Lys Lys Ala Ala Tyr Asp Ile Glu Val Asn Thr Pro Ser  
 155 160 165  
 Thr Gly

<210> 16  
 <211> 739  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 1227327CD1

<400> 16  
 Met Pro Tyr Leu Gly Ser Glu Asp Val Val Lys Glu Leu Lys Lys  
 1 5 10 15  
 Ala Leu Cys Asn Pro His Ile Gln Ala Asp Arg Leu Arg Tyr Arg  
 20 25 30  
 Asn Val Ile Gln Arg Val Ile Arg Tyr Met Thr Gln Gly Leu Asp  
 35 40 45  
 Met Ser Gly Val Phe Met Glu Met Val Lys Ala Ser Ala Thr Val  
 50 55 60  
 Asp Ile Val Gln Lys Lys Leu Val Tyr Leu Tyr Met Cys Thr Tyr  
 65 70 75  
 Ala Pro Leu Lys Pro Asp Leu Ala Leu Leu Ala Ile Asn Thr Leu  
 80 85 90  
 Cys Lys Asp Cys Ser Asp Pro Asn Pro Met Val Arg Gly Leu Ala  
 95 100 105  
 Leu Arg Ser Met Cys Ser Leu Arg Met Pro Gly Val Gln Glu Tyr  
 110 115 120  
 Ile Gln Gln Pro Ile Leu Asn Gly Leu Arg Asp Lys Ala Ser Tyr  
 125 130 135  
 Val Arg Arg Val Ala Val Leu Gly Cys Ala Lys Met His Asn Leu  
 140 145 150  
 His Gly Asp Ser Glu Val Asp Gly Ala Leu Val Asn Glu Leu Tyr  
 155 160 165  
 Ser Leu Leu Arg Asp Gln Asp Pro Ile Val Val Val Asn Cys Leu  
 170 175 180  
 Arg Ser Leu Glu Glu Ile Leu Lys Gln Glu Gly Gly Val Val Ile  
 185 190 195  
 Asn Lys Pro Ile Ala His His Leu Leu Asn Arg Met Ser Lys Leu  
 200 205 210  
 Asp Gln Trp Gly Gln Ala Glu Val Leu Asn Phe Leu Leu Arg Tyr  
 215 220 225  
 Gln Pro Arg Ser Glu Glu Glu Leu Phe Asp Ile Leu Asn Leu Leu  
 230 235 240  
 Asp Ser Phe Leu Lys Ser Ser Ser Pro Gly Val Val Met Gly Ala  
 245 250 255  
 Thr Lys Leu Phe Leu Ile Leu Ala Lys Met Phe Pro His Val Gln  
 260 265 270  
 Thr Asp Val Leu Val Arg Val Lys Gly Pro Leu Leu Ala Ala Cys  
 275 280 285  
 Ser Ser Glu Ser Arg Glu Leu Cys Phe Val Ala Leu Cys His Val  
 290 295 300  
 Arg Gln Ile Leu His Ser Leu Pro Gly His Phe Ser Ser His Tyr  
 305 310 315  
 Lys Lys Phe Phe Cys Ser Tyr Ser Glu Pro His Tyr Ile Lys Leu  
 320 325 330  
 Gln Lys Val Glu Val Leu Cys Glu Leu Val Asn Asp Glu Asn Val

				335					340				345	
Gln	Gln	Val	Leu	Glu	Glu	Leu	Arg	Gly	Tyr	Cys	Thr	Asp	Val	Ser
				350					355					360
Ala	Asp	Phe	Ala	Gln	Ala	Ala	Ile	Phe	Ala	Ile	Gly	Gly	Ile	Ala
				365					370					375
Arg	Thr	Tyr	Thr	Asp	Gln	Cys	Val	Gln	Ile	Leu	Thr	Glu	Leu	Leu
				380					385					390
Gly	Leu	Arg	Gln	Glu	His	Ile	Thr	Thr	Val	Val	Val	Gln	Thr	Phe
				395					400					405
Arg	Asp	Leu	Val	Trp	Leu	Cys	Pro	Gln	Cys	Thr	Glu	Ala	Val	Cys
				410					415					420
Gln	Ala	Leu	Pro	Gly	Cys	Glu	Glu	Asn	Ile	Gln	Asp	Ser	Glu	Gly
				425					430					435
Lys	Gln	Ala	Leu	Ile	Trp	Leu	Leu	Gly	Val	His	Gly	Glu	Arg	Ile
				440					445					450
Pro	Asn	Ala	Pro	Tyr	Val	Leu	Glu	Asp	Phe	Val	Glu	Asn	Val	Lys
				455					460					465
Ser	Glu	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Lys	Met	Glu	Leu	Leu	Thr	Ala	Leu
				470					475					480
Leu	Arg	Leu	Phe	Leu	Ser	Arg	Pro	Ala	Glu	Cys	Gln	Asp	Met	Leu
				485					490					495
Gly	Arg	Leu	Leu	Tyr	Tyr	Cys	Ile	Glu	Glu	Glu	Lys	Asp	Met	Ala
				500					505					510
Val	Arg	Asp	Arg	Gly	Leu	Phe	Tyr	Tyr	Arg	Leu	Leu	Leu	Val	Gly
				515					520					525
Ile	Asp	Glu	Val	Lys	Arg	Ile	Leu	Cys	Ser	Pro	Lys	Ser	Asp	Pro
				530					535					540
Thr	Leu	Gly	Leu	Leu	Glu	Asp	Pro	Ala	Glu	Arg	Pro	Val	Asn	Ser
				545					550					555
Trp	Ala	Ser	Asp	Phe	Asn	Thr	Leu	Val	Pro	Val	Tyr	Gly	Lys	Ala
				560					565					570
His	Trp	Ala	Thr	Ile	Ser	Lys	Cys	Gln	Gly	Ala	Glu	Arg	Cys	Asp
				575					580					585
Pro	Glu	Leu	Pro	Lys	Thr	Ser	Ser	Phe	Ala	Ala	Ser	Gly	Pro	Leu
				590					595					600
Ile	Pro	Glu	Glu	Asn	Lys	Glu	Arg	Val	Gln	Glu	Leu	Pro	Asp	Ser
				605					610					615
Gly	Ala	Leu	Met	Leu	Val	Pro	Asn	Arg	Gln	Leu	Thr	Ala	Asp	Tyr
				620					625					630
Phe	Glu	Lys	Thr	Trp	Leu	Ser	Leu	Lys	Val	Ala	His	Gln	Gln	Val
				635					640					645
Leu	Pro	Trp	Arg	Gly	Glu	Phe	His	Pro	Asp	Thr	Leu	Gln	Met	Ala
				650					655					660
Leu	Gln	Val	Val	Asn	Ile	Gln	Thr	Ile	Ala	Met	Ser	Arg	Ala	Gly
				665					670					675
Ser	Arg	Pro	Trp	Lys	Ala	Tyr	Leu	Ser	Ala	Gln	Asp	Asp	Thr	Gly
				680					685					690
Cys	Leu	Phe	Leu	Thr	Glu	Leu	Leu	Leu	Glu	Pro	Gly	Asn	Ser	Glu
				695					700					705
Met	Gln	Ile	Ser	Val	Lys	Gln	Asn	Glu	Ala	Arg	Thr	Glu	Thr	Leu
				710					715					720
Asn	Ser	Phe	Ile	Ser	Val	Leu	Glu	Thr	Val	Ile	Gly	Thr	Ile	Glu
				725					730					735
Glu	Ile	Lys	Ser											

<210> 17  
 <211> 742  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 1416292CD1

<400> 17  
Met Ala Asp Ile Leu Ser Gln Ser Glu Thr Leu Ala Ser Gln Asp  
1 5 10 15  
Leu Ser Gly Asp Phe Lys Lys Pro Ala Leu Pro Val Ser Pro Ala  
20 25 30  
Ala Arg Ser Lys Ala Pro Ala Ser Ser Ser Ser Asn Pro Glu Glu  
35 40 45  
Val Gln Lys Glu Gly Pro Thr Ala Leu Gln Asp Ser Asn Ser Gly  
50 55 60  
Glu Pro Asp Ile Pro Pro Pro Gln Pro Asp Cys Gly Asp Phe Arg  
65 70 75  
Ser Leu Gln Glu Glu Gln Ser Arg Pro Thr Thr Ala Val Ser Ser  
80 85 90  
Pro Gly Gly Pro Ala Arg Ala Pro Pro Tyr Gln Glu Pro Pro Trp  
95 100 105  
Gly Gly Pro Ala Thr Ala Pro Tyr Ser Leu Glu Thr Leu Lys Gly  
110 115 120  
Gly Thr Ile Leu Gly Thr Arg Ser Leu Lys Gly Thr Ser Tyr Cys  
125 130 135  
Leu Phe Gly Arg Leu Ser Gly Cys Asp Val Cys Leu Glu His Pro  
140 145 150  
Ser Val Ser Arg Tyr His Ala Val Leu Gln His Arg Ala Ser Gly  
155 160 165  
Pro Asp Gly Glu Cys Asp Ser Asn Gly Pro Gly Phe Tyr Leu Tyr  
170 175 180  
Asp Leu Gly Ser Thr His Gly Thr Phe Leu Asn Lys Thr Arg Ile  
185 190 195  
Pro Pro Arg Thr Tyr Cys Arg Val His Val Gly His Val Val Arg  
200 205 210  
Phe Gly Gly Ser Thr Arg Leu Phe Ile Leu Gln Gly Pro Glu Glu  
215 220 225  
Asp Arg Glu Ala Glu Ser Glu Leu Thr Val Thr Gln Leu Lys Glu  
230 235 240  
Leu Arg Lys Gln Gln Gln Ile Leu Leu Glu Lys Lys Met Leu Gly  
245 250 255  
Glu Asp Ser Asp Glu Glu Glu Glu Met Asp Thr Ser Glu Arg Lys  
260 265 270  
Ile Asn Ala Gly Ser Gln Asp Asp Glu Met Gly Cys Thr Trp Gly  
275 280 285  
Met Gly Glu Asp Ala Val Glu Asp Asp Ala Glu Glu Asn Pro Ile  
290 295 300  
Val Leu Glu Phe Gln Gln Glu Arg Glu Ala Phe Tyr Ile Lys Asp  
305 310 315  
Pro Lys Lys Ala Leu Gln Gly Phe Phe Asp Arg Glu Gly Glu Glu  
320 325 330  
Leu Glu Tyr Glu Phe Asp Glu Gln Gly His Ser Thr Trp Leu Cys  
335 340 345  
Arg Val Arg Leu Pro Val Asp Asp Ser Thr Gly Lys Gln Leu Val  
350 355 360  
Ala Glu Ala Ile His Ser Gly Lys Lys Lys Glu Ala Met Ile Gln  
365 370 375  
Cys Ser Leu Glu Ala Cys Arg Ile Leu Asp Thr Leu Gly Leu Leu  
380 385 390  
Arg Gln Glu Ala Val Ser Arg Lys Arg Lys Ala Lys Asn Trp Glu  
395 400 405  
Asp Glu Asp Phe Tyr Asp Ser Asp Asp Asp Thr Phe Leu Asp Arg  
410 415 420  
Thr Gly Leu Ile Glu Lys Lys Arg Leu Asn Arg Met Lys Lys Ala  
425 430 435  
Gly Lys Ile Asp Glu Lys Pro Glu Thr Phe Glu Ser Leu Val Ala  
440 445 450  
Lys Leu Asn Asp Ala Glu Arg Glu Leu Ser Glu Ile Ser Glu Arg  
455 460 465  
Leu Lys Ala Ser Ser Gln Val Leu Ser Glu Ser Pro Ser Gln Asp  
470 475 480  
Ser Leu Asp Ala Phe Met Ser Glu Met Lys Ser Gly Ser Thr Leu  
485 490 495

Asp Gly Val Ser Arg Lys Lys Leu His Leu Arg Thr Phe Glu Leu  
 500 505  
 Arg Lys Glu Gln Gln Arg Leu Lys Gly Leu Ile Lys Ile Val Lys  
 515 520  
 Pro Ala Glu Ile Pro Glu Leu Lys Lys Thr Glu Thr Gln Thr Thr  
 530 535  
 Gly Ala Glu Asn Lys Ala Lys Lys Leu Thr Leu Pro Leu Phe Gly  
 545 550  
 Ala Met Lys Gly Gly Ser Lys Phe Lys Leu Lys Thr Gly Thr Val  
 560 565  
 Gly Lys Leu Pro Pro Lys Arg Pro Glu Leu Pro Pro Thr Leu Met  
 575 580  
 Arg Met Lys Asp Glu Pro Glu Val Glu Glu Glu Glu Glu Glu  
 590 595  
 Glu Glu Glu Glu Lys Glu Lys Glu Glu His Glu Lys Lys Lys Leu  
 605 610  
 Glu Asp Gly Ser Leu Ser Arg Pro Gln Pro Glu Ile Glu Pro Glu  
 620 625  
 Ala Ala Val Gln Glu Met Arg Pro Pro Thr Asp Leu Thr His Phe  
 635 640  
 Lys Glu Thr Gln Thr His Glu Asn Met Ser Gln Leu Ser Glu Glu  
 650 655  
 Glu Gln Asn Lys Asp Tyr Gln Asp Cys Ser Lys Thr Thr Ser Leu  
 665 670  
 Cys Ala Gly Pro Ser Ala Ser Lys Asn Glu Tyr Glu Lys Ser Arg  
 680 685  
 Gly Glu Leu Lys Lys Lys Lys Thr Pro Gly Pro Gly Lys Leu Pro  
 695 700  
 Pro Thr Leu Ser Ser Lys Tyr Pro Glu Asp Asp Pro Asp Tyr Cys  
 710 715  
 Val Trp Val Pro Pro Glu Gly Gln Ser Gly Asp Gly Arg Thr His  
 725 730  
 Leu Asn Asp Lys Tyr Gly Tyr  
 740

<210> 18  
 <211> 325  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
  
 <220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 2611704CD1

<400> 18  
 Met Ala His Phe Val Gln Gly Thr Ser Arg Met Ile Ala Ala Glu  
 1 5 10 15  
 Ser Ser Thr Glu His Lys Glu Cys Ala Glu Pro Ser Thr Arg Lys  
 20 25 30  
 Asn Leu Met Asn Ser Leu Glu Gln Lys Ile Arg Cys Leu Glu Lys  
 35 40 45  
 Gln Arg Lys Glu Leu Leu Glu Val Asn Gln Gln Trp Asp Gln Gln  
 50 55 60  
 Phe Arg Ser Met Lys Glu Leu Tyr Glu Arg Lys Val Ala Glu Leu  
 65 70 75  
 Lys Thr Lys Leu Asp Ala Ala Glu Arg Phe Leu Ser Thr Arg Glu  
 80 85 90  
 Lys Asp Pro His Gln Arg Gln Arg Lys Asp Asp Arg Gln Arg Glu  
 95 100 105  
 Asp Asp Arg Gln Arg Asp Leu Thr Arg Asp Arg Leu Gln Arg Glu  
 110 115 120  
 Glu Lys Glu Lys Glu Arg Leu Asn Glu Glu Leu His Glu Leu Lys  
 125 130 135  
 Glu Glu Asn Lys Leu Leu Lys Gly Lys Asn Thr Leu Ala Asn Lys

```

140
Glu Lys Glu His Tyr Glu Cys Glu Ile Lys Arg Leu Asn Lys Ala 150
155
Leu Gln Asp Ala Leu Asn Ile Lys Cys Ser Phe Ser Glu Asp Cys 165
170
Leu Arg Lys Ser Arg Val Glu Phe Cys His Glu Glu Met Arg Thr 180
185
Glu Met Glu Val Leu Lys Gln Gln Val Gln Ile Tyr Glu Glu Asp 195
200
Phe Lys Lys Glu Arg Ser Asp Arg Glu Arg Leu Asn Gln Glu Lys 210
215
Glu Glu Leu Gln Gln Ile Asn Glu Thr Ser Gln Ser Gln Leu Asn 225
230
Arg Leu Asn Ser Gln Ile Lys Ala Cys Gln Met Glu Lys Glu Lys 240
245
Leu Glu Lys Gln Leu Lys Gln Met Tyr Cys Pro Pro Cys Asn Cys 255
260
Gly Leu Val Phe His Leu Gln Asp Pro Trp Val Pro Thr Gly Pro 270
275
Gly Ala Val Gln Lys Gln Arg Glu His Pro Pro Asp Tyr Gln Trp 285
290
Tyr Ala Leu Asp Gln Leu Pro Pro Asp Val Gln His Lys Ala Asn 300
305
Gly Leu Ser Ser Val Lys Lys Val His Pro 315
320
325

```

```

<210> 19
<211> 299
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 5136672CD1

```

```

<400> 19
Met Glu His Phe Asp Ala Ser Leu Ser Thr Tyr Phe Lys Ala Leu
1 5 10 15
Leu Gly Pro Arg Asp Thr Arg Val Lys Gly Trp Phe Leu Leu Asp
20 25 30
Asn Tyr Ile Pro Thr Phe Ile Cys Ser Val Ile Tyr Leu Leu Ile
35 40 45
Val Trp Leu Gly Pro Lys Tyr Met Arg Asn Lys Gln Pro Phe Ser
50 55 60
Cys Arg Gly Ile Leu Val Val Tyr Asn Leu Gly Leu Thr Leu Leu
65 70 75
Ser Leu Tyr Met Phe Cys Glu Leu Val Thr Gly Val Trp Glu Gly
80 85 90
Lys Tyr Asn Phe Phe Cys Gln Gly Thr Arg Thr Ala Gly Glu Ser
95 100 105
Asp Met Lys Ile Ile Arg Val Leu Trp Trp Tyr Tyr Phe Ser Lys
110 115 120
Leu Ile Glu Phe Met Asp Thr Phe Phe Phe Ile Leu Arg Lys Asn
125 130 135
Asn His Gln Ile Thr Val Leu His Val Tyr His His Ala Ser Met
140 145 150
Leu Asn Ile Trp Trp Phe Val Met Asn Trp Val Pro Cys Gly His
155 160 165
Ser Tyr Phe Gly Ala Thr Leu Asn Ser Phe Ile His Val Leu Met
170 175 180
Tyr Ser Tyr Tyr Gly Leu Ser Ser Val Pro Ser Met Arg Pro Tyr
185 190 195
Leu Trp Trp Lys Lys Tyr Ile Thr Gln Gly Gln Leu Leu Gln Phe
200 205 210

```

Val	Leu	Thr	Ile	Ile	Gln	Thr	Ser	Cys	Gly	Val	Ile	Trp	Pro	Cys
				215					220					225
Thr	Phe	Pro	Leu	Gly	Trp	Leu	Tyr	Phe	Gln	Ile	Gly	Tyr	Met	Ile
				230					235					240
Ser	Leu	Ile	Ala	Leu	Phe	Thr	Asn	Phe	Tyr	Ile	Gln	Thr	Tyr	Asn
				245					250					255
Lys	Lys	Gly	Ala	Ser	Arg	Arg	Lys	Asp	His	Leu	Lys	Asp	His	Gln
				260					265					270
Asn	Gly	Ser	Met	Ala	Ala	Val	Asn	Gly	His	Thr	Asn	Ser	Phe	Ser
				275					280					285
Pro	Leu	Glu	Asn	Asn	Val	Lys	Pro	Arg	Lys	Leu	Arg	Lys	Asp	
				290					295					

<210> 20  
 <211> 1050  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 665637CB1

<400> 20  
 aagccaaaat ggctgccccg aggaggcccc caccgcgtag ccagtgaagg ttggggagca 60  
 agcttatgcg gaaagagggg aggggggactc caggaaaagc cgttgagagg accatcacaa 120  
 cctgagcagc acagggtcca gttacagcca tcccttgcca taacttttga actgtatttg 180  
 gaaaaatact ggcaggaaa gaaaaatgat aaaatttttc ctcatggtga ataaacaagg 240  
 gcagactcga ctttctaagt actatgaaca tgtggatatt aataagcgta cacttctgga 300  
 aacagaagtc ataaagagct gtctctctcg atccaatgaa caatgctctt tcattgaata 360  
 taaggatttt aagctgatat atcggcagta tgcagctctc ttcattgtgg ttggagttaa 420  
 tgacactgag aacgagatgg ctatttatga attcattcat aactttgtgg aagttttaga 480  
 tgagtatttc agccgagtga gtgaattaga tataatgttt aatttggata aagtacacat 540  
 cattttggat gagatggtgt taaatggctg cattgtggaa actaacaggg caagaattct 600  
 tgccccctta ctaattcttg ataagatgtc agaaaagcga aaggaagtct ctccgagaca 660  
 atatggattt atcagaaatg cgagtaccgt ggaatacacc tcaacatggt aaccagagag 720  
 aatctggaag accacaatta caaatggggg tacccttcca aagacattat aaataggcat 780  
 tttccacagt tccataaaaag aaaacacaac tgtactttaa aatattgtaca aagaaaaaaa 840  
 tttctttaaa ctgagagaga agttttatgt tctaattgta aacatatctg tcgcacttta 900  
 aattctgttg agcacctaag gaacccttct tggcttatgc ttcttttga aattgaattc 960  
 aggaatagca ggatggtagt ggaagaaaag tatggcagtt ttccgctcagc caataaagtt 1020  
 ttaaaaattta aacacaaaaa aaaaaaaaaa 1050

<210> 21  
 <211> 916  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 745823CB1

<400> 21  
 gaacatggta ttgccagagc ttcattggcgt cagctacggc gctccctccc tcccaggccc 60  
 ttactcttct ttgcgttggc cagatatgtc gtcactcaca aaacttggag ctcatgtggt 120  
 caaaagctcc aggaggcggg ggggtattgg ttggttgctg ttccctgccc cacgcatgtc 180  
 gtggttttagc tgaactgagc tgaatccta aaggccggcg agtggcggtt gttgtaggta 240  
 gcggtacctt gagtggcaac agaattcgat taaattaca tgggaaacat ttttgaaaag 300  
 ctctttaaaa gtctacttgg gaaaaaaaaa atgctggattc ttatattgag tttggatata 360  
 gctggaaaaa ccaccatctt gtataaattg aagctggggg agactgtgoc tgccttccct 420  
 acagttaggtt tctgtgtgga gacagtagaa tataaaaaa acaccttgcg tgtctgggat 480  
 gttggcagcc acttcaaaaat cagacctctg tggcagcatt ttttccagaa cacaaaaggt 540  
 gccagaagcc caggaagcac acatcaaggc tcacttgcca gcgggggtgt gccataaaaa 600  
 tgtagtccag tggaaatttg aatgtggaaa ggaggttaga gtcaccttt cctcccccat 660

```

agcagcagggt gtgcaggctc tgggtggtoag ctggactcca tactccccca ccagtcacca 720
gectgggggac cgtggggctg caaggacctc agcagcgggt tcccaggttt cctgacttct 780
tccatctctct ggaaatcagc tgtggtaaa tagcctgaaa gccagtggtg caaccccatc 840
cccacaacct tcaccacctc tagcacctcc agtgataaag actaattgcc tatatacaac 900
ccttttttgt ttgaaa 916

```

```

<210> 22
<211> 1930
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 776854CB1

```

```

<400> 22
cttttccggt gctctgcaca gatgctgggg cactgagcaa acagccctca gtttctggag 60
ctgttccgag tcccgtggag tctccatctg agccctttcc tagtccaggc atcccgatgt 120
tgggtggatgg cccatctgag cggccagccc tgtgcttctt gctggtggct gtggcaatgt 180
ctttcttcgg ctcaactcta tccatagatg aaacacgggc gcatctgttg ttgaaagaaa 240
agatgatgcy gctcgggggg cggctgtgtg tgaacaccaa ggaggagctg gccaatgaga 300
ggctcatgac gctcaaaatc gctgagatga aggaggccat gaggacctg atattcccc 360
ccagcatgca cttttccag gccaaagcctc tcattgagag aagtcaagtg tttaatattc 420
taaggatgat gcaaaaaggg gctgccttgc acctccatga cattggcatc gtgactatgg 480
actggctggg gaggaaatgct acctacagcc ctcaactgcca catctgtttc accccaaggg 540
ggatcatgca gttcagattt gctcacccaa ctcccgtcc atcagaaaaa tgttccaagt 600
ggattctgct ggaggattat cgggaagcggg tgcagaacct cactgagttt gatgacagct 660
tgcagagaaa tttcactctg gtgaccagc acccggagggt gatttacaca aacaaaaatg 720
ttgtctggtc gaaatttgaa accatcttct tcaccatctc tgggtctcct cattacgcat 780
cagtgttcag agactatgct tcccgagca tgcaggagtt ctacgaggac aacgtgctct 840
acatggagat cagagccagg ctgctgcccg tgtatgagct cagtggagag caccatgacy 900
aagagtggtc agtgaagact taccaggaag tagctcagaa gtttgtggaa actcacctct 960
agtttattgg aatcaaaatc atttattcgg atcacagatc caaagatgtg gctgtcatcg 1020
cagaatccat ccgaatggcc atggggctcc gaatcaagtt ccccacgggtg gtggcagggt 1080
ttgacctggg ggggcatgag gacactggcc actccttggc tgactacaag gaagctctga 1140
tgatccccgc caaggatggc gttaaagctgc cttacttctt ccacgcccga gaaacagatc 1200
caaaggaaga ttgggagga ggctgttcac atggaggccg ggaccaggag ggcagctctc 1260
ttcagcatcc cacctgtcac cctcgggaaga ccaaggcggg gtggagagag tgggtggcag 1320
tttcatttcc caccaggtc taagctctgc tctatcacac cttctctcag agaaaaggac 1380
cttgtgcat aatctctttt tctgacatt tccagtcatt tttagatcaa ttttagatcaa 1440
agtcctgctc aggagagcag aagaattggt tgaggggggag ggggttgggc gagggtgttg 1500
ttaaccttga agagcttgtg gtctgtgttg ggaaaatcat acttatgtgt gtgaaataat 1560
tctggcccta caaaacattg cagcacagga cctaacaggt tccaagatgt atggtccttg 1620
gagatgattt tgccaggact tgggtatcta atacctaaaa gtaatgtcct tatttttatt 1680
tttttattt attttatggt attttttgag acggagtctc gctctgtact ccagcctgpc 1740
gacagagcaa gactgtgtct caaaaaacaa caacaacaac aacaaaaaac tccgtttttg 1800
tacttactgt gtgaacatcc ttggtcaatt tatagaagct attaagtttc aactttctca 1860
ttagaatgat aaattaataa attagatgat taatttaata aagccatctc atacctctct 1920
ttagcattga 1930

```

```

<210> 23
<211> 1809
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 1273556CB1

```

```

<400> 23
cgcagaggaa ggtcgcggcc gtggagcagat gaccgcggcc ggtccggggc ggcgccccgg 60
gctgccacag ccgcccgcgc ttctgctgct gctgctgctg ctgccgctgt tgttagtcac 120
cgcggagccg ccgaaacctg caggagtcta ctatgcaact gcatactgga tgctgtctga 180
aaagacagta caagtcaaaa atgtaatgga caagaatggg gacgcctatg gcttttcaa 240
taactctgtg aaaaccacag gctggggcat cctggagatc agagctggct atggctctca 300

```

```

aacctgagc aatgagatca tcatgtttgt ggctggcctt ttggagggtt acctcactgc 360
ccaacacatg aatgaccact acacaaaact ctaccacag ctgatcacga aaccttccat 420
catggataaa gtgcaggatt tttggagaaa gcaagataag tggaccgga aaaatatcaa 480
agaatacaag actgattcat tttggagaca tcagggtat gtgatggcac aaatagatgg 540
cctctatgta ggagcaaga agagggctat tttagaaggg acaaagccaa tgacctgtt 600
ccagattcag ttctgaata gtgttgaga tctattggat ctgattccot cactctctcc 660
cacaanaaac ggcagcctaa aggtttttta gagatgggac atgggacatt gctccgctct 720
tatcaaggtt ctctctggat ttgagaacat cctttttgt cactcaagct ggtacagta 780
tgagccatg ctcaggatat ataaacactg ggacttcaac atcatagata aagataccag 840
cagtagtctg ctctctttca gcagttaccg aggggtttttg gactctctgg atgattttta 900
cattcttagc agtggattga tattgctgca gaccacaac agtgtgttta ataaaacct 960
gctaaagcag gtaatacccg agactctctt gtcctggcaa agagtccgtg tggccaatat 1020
gatggcagat agtggcaaga ggtgggcaga catcttttca aaatacaact ctggcaacta 1080
taacaatcaa tacatggttc tggacctgaa gaaagtaaa ctgaaccaca gctttgcaa 1140
aggcactctg tacattgtgg agcaaatcc tacatatgta gaatattctg aacaaactga 1200
tgttctacgg aaaggatatt ggccctccta caatgttctt ttccatgaaa aaatctaca 1260
ctggagtggc tatccactgt tagttcagaa gctgggcttg gactactctt atgatttagc 1320
tcacagagcc aaaattttcc ggcgtgacca agggaaagtg actgatacgg catccatgaa 1380
atatatcatg cgatacaaca attataagaa ggatccttac agtagagggt acccctgtaa 1440
taccatctgc tgccgtgagg acctgaactc acctaaccca agtctggag gttgtatga 1500
cacaaggtg gcagatctt acctagcctc tcagtacaca tccatgcca taagtgttc 1560
cacagtacaa ggtggctctc ctgtttttcg ctgggacctg tcaacaaaa ctctacatca 1620
gggcatgcca gaggcttaca actttgattt tattaccatg aaaccaatct tgaacttga 1680
tataaatga aggagggaga tgacggacta gaagactgta aataagatac caaaggcact 1740
attttagcta tgtttttccc atcagaatta tgcaataaaa tatattaatt tgtcaaaaa 1800
aaaaaaaaa 1809

```

```

<210> 24
<211> 638
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 1505808CB1

```

```

<400> 24
tcaccgggag ccacatggac ccagccggcc cgagcggccc ccgcccgttg accgcccgt 60
ccccgggaag gaagaacact cgctcccggc catacttgog tgtgagttct gacctctgga 120
ggagccactg tggaaagcaga gcaatcgcca tggagtttgt gatgaagcag gctctaggag 180
gggcccacaa ggacatgggg aagatgctgg ggggtgacga ggagaaggac ccagacggcg 240
ccaagaagga ggaggagcgg caggaggcgc tgcgccaggc ggaggaggag cgcaaggcca 300
agtacgccaa gatggaggcg gaggcggagg cctgcccga gggcatccga gacaagtacg 360
gcatcaagaa gaaggaggag cgcgaggccg agcccaggc cgccatggag gccaaactccg 420
aggggagctt gacgcccggc aagaaggcca tcccggcggg ctgcccgggac gagggtggagg 480
aggaggacga gagcctctg gacaccgta tcaagtaact gcccgggocg ctgcaggaca 540
tgctcaagaa gtaccccgc gccggacagc gcccgcggg agccccggc cctcccctca 600
cagatctctc gggaggccc ctgagggagc agcagagc 638

```

```

<210> 25
<211> 1477
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 1814911CB1

```

```

<400> 25
gcggttcaag agatggggtg aagggtgggt caccggttct tcaagtctc agccttctgg 60
cccgcggaag ttaagcaacc aagaggcggg octaagaccg gaagcaggaa ggaggggcga 120
ggaagcaggc gcgccagcc tgtctacagg tcttctgtg ggtctgtcgg tgcccagggc 180
aggatggaga agtgcggct cctggcctc cgtaccagg agtacgtgac tctcaccgg 240
gcccaccgg cccagctgga gacagcagtg cggggcttca gttacctgct ggcaggtcga 300
ttgcgcgatt gcacagagct gtcagagctg gtgtactctg ccttaacct gcttctgctg 360

```

```

ctcaatgacg ggcctcctacg gaaggagctt cggaaaaagt tgcctgtgtc gctgtccag 420
cagaagctgc tgacatggct gagcgtgctg gagtgctggg aggtgttcat ggagatggga 480
gctgccaagg tgtggggatga agtggggcgc tggcttgtca tgcctccat ccagctggcc 540
aagctcttac tgcggatgct cctgctgctc tggttcaagg ctggcctcca gacttcaacc 600
cctatcgttc cactggacag agagaccag gcacagcccc cggatggtga ccacagccct 660
ggcaaccatg agcagctcta cgtggggaag cgggtcaaac ggggtgtgag aacctccag 720
aacacggcgt ccctgcactc caggcactgg ggagctcccc agcagcggga gggacggcag 780
cagcagcttc acgaggagct gactgogacc cccaccccc tggggctgca ggagaccatc 840
gcagagtttt tgtacattgc ccggccgctg ctgcaactgc tcagcctggg cctgtggggg 900
cagaggtcgt gaaaaccctg gctcttggct ggtgttgggg acgtgaccag cctgagcctc 960
ctgagtgaca gaaagggcct gacccggagg gagcggcggg agctgcggcg ccggaccatc 1020
ctgctgctct actacctgct ggcctctcct ttctacgacc gcttctccga ggccagggat 1080
ctcttctgct ccaggttgcg cggccgaccac gtccctggcg ttggcctggg cacaaggccg 1140
ctcatggatt acttggccac ttggcagaaa atctacttct acagtggggg ctgacagacc 1200
tcccggaaag aggggtgtgg gagggggtgg gcagggagcc cctcttccct aataaaactg 1260
actccggcag cgtcccagcg tggccctctc ccgtgcttac cggccaggcc ccacacacag 1320
ccctggctgc caccagcgtt cctcccagga cacccttgac tggctctcc tgtgacgatg 1380
ccactgcagc ccgcaccttg tcactgctgg gccaaagaag cttcactagg agtgggatcc 1440
aggctcctct cccacagaaa gcggtgactt cacctca 1477

```

```

<210> 26
<211> 1137
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 2087812CB1

```

```

<400> 26
ctccagaaag cggcatgtcc cctttgctct ttggggctgg gctggtcgtt ctgaatctag 60
tgactgtctc caggagccag aagacagaac ctctaagtgg ctctggggac cagccactct 120
tccgtggagc tgatcgatat gactttgcca tcatgatacc tccaggaggc acggaatgct 180
tttggcaatt tgcccaccag actggatact tctatttcag ttacgagggt cagcggacag 240
tggggatgtc acatgaccgg catgttctgt ccacggcaca taaccacag ggatttctca 300
tagcacctc ccagggtggt cggggccaga ttaacttctc tacccaagag acaggttttt 360
atcagctttg tctaagtaat cagcataatc acttcggttc tgtgcaagtg tacctcaact 420
ttgggtctct ctatgagggg cctgagactg atcacaaaca gaaggaaaaga aaacaactga 480
atgatactct ggatgcaatt gaggacggca cacaaaagggt gcagaacaat atctttcaca 540
tgtggcgata ctacaacttt gcccgatga ggaaaatggc tgacttttfc cttatccaat 600
caaaactataa ctacgtgaac tgytggctga cagcccagag ccttgttatt attctttctg 660
ggatcctgca actgtatttc ttgaagcgtc tottcaatgt tccaacaact acagatacaa 720
agaagccaag atgctaagct aaggtagcta tagcaccctg gctgttttct tctggggcct 780
agtcgaatca gctttgtaat gttatgggac aaaaatcaat tatctcatta atgttttagt 840
ctgctgcaca catctaaaaa agcaaaaatgg caataaaatc ataacagtga aaaagtctcg 900
aagaagtatg tattaaatgt ataaaggaaa atactgttca tcatatagca gtcccttagc 960
cttcaactgag tctacttaga ggtaacaga aaaccttaga aggaagatga gttgaaaaag 1020
gccacaatca agtttgctta catataaaag caggagtctg taatgtttta ttottaaga 1080
cttcacctct ggaacttaa ataaagcaata tattcagtaa agaatagtt gaattta 1137

```

```

<210> 27
<211> 3343
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 2149274CB1

```

```

<400> 27
cggctcggct ccttggcgtc gcctggggtc ctttccgccc ggtccccgct tgccagcccc 60
cgctgctctg tgcctgttcc ggccaggcct ggagccgaca ccaccgcat catgccggcc 120
gtgtccaagg gcgatgggat gcgggggctc ggggtgttca tctccgacat ccggaactgt 180
aagagcaaa aggcggaat taagagaatc aacaaggaac tggccaact ccgctccaag 240
ttcaaaggag acaaacgctt ggatggctac agtaagaaaa aatatgtgtg taaactgctt 300

```

```

ttcatcttcc  tgettgccca  tgacattgac  tttgggcaca  tggaggctgt  gaatctgttg  360
agttccaata  aatacacaga  gaagcaaaata  ggttacotgt  tcatttctgt  gctgggtgaac  420
tcgaactcgg  agctgatccg  cctcatcaac  aacgccatca  agaatgacct  ggccagccgc  480
aaccccacct  tcatgtgcct  ggcctcgcac  tgcatcgcca  acgtggggcag  ccgggagatg  540
ggcgaggcct  ttgocgctga  catccccccg  atcctggctg  ccggggacag  catggacagt  600
gtcaagcaga  gtgcggccct  gtgcctcctt  cgaactgtca  aggcctcgcc  tgacctggtg  660
cccattggcg  agtggacggc  gcgtgtggtg  caoctgctca  atgaccagca  catgggtgtg  720
gtcacggccg  ccgtcagcct  catcacctgt  ctctgcaaga  agaaccaga  tgacttcaag  780
acgtgcgtct  ctctggctgt  gtcggccctg  agccggatcg  tctcctctga  ctccaccgaa  840
ctccaggact  acacctacta  cttcgtccca  gcacctggc  tctcgggtgaa  gctcctgccc  900
ctgctgcagt  gctacccgcc  tccagaggat  gcggctgtaa  agggggcggc  ggtggaatgt  960
ctggagactg  tgctcaacaa  ggcccaggag  cccccaaaat  ccaagaaggt  gcagcattcc  1020
aacgccaaag  acgccatcct  cttcgagacc  atcagcctca  tcattccacta  tgacagttag  1080
cccaaccctc  ttgttcgggc  ctgcaaccag  ctggggccagt  tcctgcagca  ccgggagacc  1140
aacctgcgct  acctggccct  ggagagcatg  tgacgcctgg  ccagctccga  gttctcccat  1200
gaagccgtca  agacgcacat  tgacaccgtc  atcaatgccc  tcaagacgga  gcgggacgtc  1260
agcgtggcgc  agcggggcgc  tgacctcctc  tacgccatgt  gtgaccggag  caatggcaag  1320
cagatcgtgt  cggagatgct  gcggtacctg  gagacggcag  actacgccat  ccggaggag  1380
atcgtcttga  aggtggccat  cctggccgag  aagtacgccc  tggactacag  ctggtactgt  1440
gacaccatcc  tcaacctcat  ccgattgctg  tgcgaactag  tgagttagga  ggtgtgttac  1500
cgtgtgttac  agatcgtcac  caaccgtgat  gacgtccagg  gctatgccgc  caagaccgtc  1560
tttgaggcgc  tccagggccc  tgctgtctac  gagaacatgg  tgaaggttgg  cggctacatc  1620
cttggggagt  ttgggaacct  gattgctggg  gacccccgct  ccagcccccc  agtgcagttc  1680
tcctgtctcc  actccaagtt  ccatctgtgc  agcgtggcca  ccggggcgc  gctgctgtcc  1740
acctacatca  agttcatcaa  cctcttcccc  gagaccaagg  ccaccatcca  gggcgtcctg  1800
cgggcccggc  cccagctgcg  caatgctgac  gtggagctgc  agcagcgagc  cgtggagtac  1860
ctcaccctca  gctcagtggc  cagcaccgac  gtcctggcca  cgggtgctgga  ggagatgccg  1920
cccttccccg  agcgcgagtc  gtccatcctg  gccaaagtga  aacgcaagaa  gggggccagg  1980
gccggcagcg  ccctggacga  tggccggagg  gacccccagc  gcaaccacat  caacgggggc  2040
atggagccca  cccccagcac  tgtgtcgacg  ccctcgccct  ccgcccacct  cctggggctg  2100
cgggcagccc  cccccccggc  agcacccccg  gcttctgcag  gagcagggaa  ccttctggtg  2160
gacgtctctc  atggcccggc  cgcccagccc  agcctggggc  ccacccccga  ggaggccttc  2220
ctcagcccag  gtcctgagga  catcgccct  cccattccgg  aagccgatga  gttgctgaat  2280
aagtttgtgt  aagtaagaaa  cggggtcctg  ttcgagaacc  agctgtctga  gatcggagt  2340
aagtcagagt  tccgacagaa  cctgggcccg  atgtatctct  tctatggcaa  caagacctcg  2400
gtgcagttcc  agaatttctc  acccactgtg  gttcaccggg  gagacctcca  gactcagctg  2460
gctgtgcaga  ccaagcgggt  gggggcgcag  gtggacggcg  gcgocgaggt  gcagcaggtg  2520
ctcaaatcgc  agtgcctgcg  ggacttctct  acgccccgc  tgctgtccgt  gcgctccgg  2580
tacggtggcg  cccccaggc  cctcacctct  aagctcccag  tgacctcaa  caagtctctc  2640
cagcccaccg  agatggcggc  ccaggatttc  ttcagcgcct  ggaagcagct  gagectcctc  2700
caacaggagg  cgcagaaaaa  cttcaagccc  aaccacccca  tggacgcaga  agttactaag  2760
ggcaagcttc  tggggttttg  ctctgtctct  ctggacaatg  tggaccccaa  ccctgagaac  2820
ttcgtggggg  cggggatcat  ccagactaaa  gccctgcagg  tgggtgtct  gcttcggctg  2880
gagcccaatg  cggggcccca  gatgtaccgg  ctgacctgac  gcaccagcaa  ggagcccctc  2940
tcccctcacc  tgtgtgagct  gctggcacag  cagttctgag  ccctggactc  tgcccgggg  3000
gatgtggccg  gcaactggca  gccccttggg  ctgaggcagt  tttggtggat  gggggacctc  3060
cactggtgac  agagaagaca  ccagggtttg  ggggatgcct  gggacttccc  tccggccttt  3120
tgtattttta  tttttgttca  tctgtctctg  tttacattct  ggggggttag  ggggagctcc  3180
cctccctccc  tttccccccc  aagcacagag  gggagagggg  ccagggaggt  ggtgtctccc  3240
tcccctccca  ccccaccctg  ttgtagcccc  tccaccccc  tccccatcca  ggggctgtgt  3300
attattgtga  gcgaataaac  agagagaccg  taaaaaaaa  aaa  3343

```

```

<210> 28
<211> 1639
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 2355124CB1

```

```

<400> 28
cgccagtggt  ccaggagccg  cttttttcca  ctggggaaga  cttcagagaa  gtctacaaa  60
ggactcggct  ggtgctttt  ctcaagtccg  aagcccgcgc  atgctcgttc  tcagaagcgg  120
cctgaccaag  gcgcttgct  cacggacgct  cgcgcctcag  gtgtgttcat  cttttgttac  180
gggcccctaga  caatacgtg  gaacgtttta  tgaatttctg  acttattacc  ttaaaccttc  240

```

```

aaatatgaat gcgttcatgg aaaatcttaa gaaaaacatt catcttcgga cctcttactc 300
tgaattgggt ggattctgga gtgtagaatt tggaggcaga acgaataaag tgtttcatac 360
ttggaagtat gataatcttg ctcatcgaac tgaagttcag aaagccttgg ccaagataaa 420
ggaaatggcaa gaacaattcc tcattccaaa tttggctctc attgataaac aagagagtga 480
gattacttat ctggtaccat ggtgcaaatt agaaaaacct ccaaaagaag gactctatga 540
actggccact tttcagatga aacctgggtg gccagctctg tggggtgatg catttaaaag 600
ggcagttcat gctcatgtca atctaggcta cacaaaacta gttggagtgt tccacacaga 660
gtacgggaga ctcaacagag ttcattgtct ttggtggaat gagagtgcag atagtctgtc 720
agctgggaga cataagtccc atgaggatcc cagagtctgt gcagctgttc gggaaagtgt 780
caactaccta gtatctcagc agaatatgct tctgattcct acatcgtttt caccactgaa 840
atagttttct actgaaatac aaaacatttc attaaactgt ataggatctg tctgtcaatg 900
gtgcttaaat tctoccaaga ggttctcact tttatttgaa ggaggtgtta agttaatttg 960
ctatgtttct tgcattatga aggctacatc tgtgctttgt aagtaccact tcaaaaaata 1020
gttctgttta ctttctgcat ggtatttcag tgtctgtcat acattaaaaa tacttctcac 1080
tgttttaaga tcttgactct tcattttgtt cagaatagct cttctactgt attctgacaa 1140
ctctttgctt tatagcattt tgttgtactc aaatgataat ggtagcattt ccatgcttgt 1200
gacagcattt ttaagttatt aatatatttt atcaaccttt ccacatgtgc tgtttctctg 1260
gttttttttg gttgtttttt gaccagtaaa atttattttg taataccaaa taggatataa 1320
gaaaattaac gattttcttt actatggaaa accacattgt catttgtgac atcatctata 1380
ttaaataatg ttttcacatt agttatttgt cacttacttg gaaaatgatg ctgttagatg 1440
ctggattata aatctagaaa aagacttgtt ggtttatgtg ctgaaatgtc tttatttata 1500
attaatttta actactatct acttcatttc ggatcctgtt taacaaagat acttgagaca 1560
tccatttgtt ttaatgaaat ctgtatggat atggaaatgc ttgccctaata aaaagcctac 1620
atataaaaaa aaaaaaaaaa

```

```

<210> 29
<211> 2074
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 2366939CB1

```

```

<400> 29
ccccgcctgc cccaactcca gacatcatgt gctccccggt tgggggatcc agaagcttcc 60
agccagagga ctgccaggaa cgtcctgccca ccgccaccgg ctcccatggc ccacataccc 120
agctgggggt gcccccagcag cgggggycagc ccccatgggc ccccagttat gcgtgtgcaa 180
ggtggagctg tcagtgagtg gccagaacct actggaccgg gatgttaact ccaagtcgca 240
ccctctctgt gtctcttctta cagagaacaa tggcagatgg atcaggtacg acaggacaga 300
aacccgcgatc aacaacctca accccgcctt ctccaagaag ttcgtgcttg actaccactt 360
cgaggaggta cagaagctca agttcgcgct ctttgaccag gacaagtcca gtagcggctg 420
ggacgagcat gacttctctg gccagttctc ctgcagcctg ggcacgatcg tctccagcaa 480
gaagatcact aggcctctgc tgctgctgaa tgacaagcct gcggggaagg gcttgattac 540
gatecctgcc caggagctgt ccgacaaccg cgtcatcaca ctaagcctgg cgggcaggag 600
gctggacaag aaggacctct ttgggaagtc agaccctttt ctggagtttt ataagccagg 660
agacgatggc aagtggatgc tggteccacag gactgaggtg atcaagtaca cactggacct 720
tgtgtggaag ccattcacag tgcccttggg gtccctgtgt gatggggaca tggagaagcc 780
catccaggtc atgtgctacg actatgacaa tgacgggggc catgacttca tcggcgagtt 840
ccagacctca gtgtcacaga tgtgtgaggg tcgagacagc gtcccgttgg agttcagagt 900
catcaacccc aagaagcaga ggaagaagaa gaactataaa aactcgggca tcatcatctc 960
gagatcctgc aagataaacc gagactactc ctctcttgac tacatcctgg gaggtgcca 1020
gctcatgttc accgttggaa tagactttac agcctccaac gggaaatccc tcgaccttc 1080
ctctttgcac tatatcaacc ctatgggac caacgaaat ctgtcggcca tctgggctgt 1140
tgggcagatc attcaggact acgacagtga taagatgttt ccagctctgg gattcggggc 1200
ccagttaccg ccagactgga aggtctccca tgagtttgcc atcaacttca accccaccaa 1260
cccctctgtc tcaggtgtgg atggtattgc ccaggcgtac tcagcttgcc tgcccacat 1320
ccgctctctc ggctctacca atttctcccc catcgtcaac cacgtggccc ggtttgctgc 1380
ccaggccaca caacagcggg cggccaccga gtacttcac ctctcatca tcacggcagg 1440
ggtcatcagt gacatggagg agacacggca tgccgtggtg caggcttcca agctgcccac 1500
gtccatcacc atcgtggggc tgggcaatgc ggacttcgct gccatggagt tcttggatgg 1560
ggacagccgc atgtcgcct cccacacggg ggaggaggca gcccgcgata ttgtgcagtt 1620
cgttcccttt cgagagttcc gcaacgcagc aaaagagacc ttggccaaag ctgtgtctgc 1680
ggagctgccc caacaagtgt tgcagtattt caagcataaa aacctgcccc ccaccaactc 1740
ggagcccgcg tgagctccag tgcccagcag cagcatgtca gctgagcctc ctgcccctcc 1800
ccaggaacat gcacgctcac tctgcttctc tgtgggtggc ctttttttac cgatcccctt 1860

```

```

ttttatTTTT tacaaccgga cctccacccc caacttcttc cagcccagct gggcttccct 1920
tgttggagtc aactgttgat gcttccaggc caaactggct tccctctctc ctctccccac 1980
ctttgccatt ctttaagtatt gaatgtactt tgtataattt tagtggattt gttattgaga 2040
ataaaatTTT tacaatcata aaaaaaaaaa aaaa
                                                                                   2074

```

```

<210> 30
<211> 611
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 2483906CB1

```

```

<400> 30
atggtcctaag cgggggcct cacctgtcag ccgcaccggc tccagcgcct cctctctgcc 60
ctcgtcttct cagcgcctct tgctcgcaag gcgggggagg cgggggccc gccacgatga 120
tacatTTTcat attgctcttc agtcgacaag ggaaattacg gctacagaaa tggtagatca 180
ctctccctga taaagagagg aagaagatca cccgggaaat tgttcagatt attctctccc 240
gtggtcacag gacaagcagt tttgttgact ggaaggagct aaaacttgtt tataaaaggt 300
atgctagttt atatTTTTgc tgtgcaatag aaaatcagga caatgagctc ttgacgctag 360
agattgtgca tcgttacgtg gagctgctgg acaaattttt tggaaatgtc tgtgagctgg 420
atattatctt taatTTTTgaa aaggcttatt tcatcctgga cgagtttata ataggtgggg 480
aaattcagga aacatccaag aaaattgctg tcaaagccat tgaagactct gatatgttac 540
aggagacaat gyaagaatac atgaacaagc ctacatttta actggaaatc tacttgaaga 600
ctccagcact a
                                                                                   611

```

```

<210> 31
<211> 2871
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 2499488CB1

```

```

<400> 31
cactgggtca aagcaccctg tattattcct tgttaccatt attgctccct gaagagggct 60
ctcatgtatc tatgtaggat aatccaacct caacacagcg gctgaaagaa tctgctaaaa 120
aataattcag tgccccaaaa tacactgggc tccaaataaa ctaaagagca aaaattggct 180
catgtggcat gaaacaagta atcgtatccc aagtaagagg acagtttctt tctgtttatc 240
aacaggctg tacccataaa gtttccaggt acatttggtg agagatgggt ttttaacacg 300
atTTTctgtt gcaacagagt atcagaaaaa tgcacagatt gagaagctcc ggagtggagt 360
cgtcgtattg aaggaagagc tgcagctcac caggtctgag ctagaggctg cacaccatgc 420
cagtgcaagc agattctcca agaatatga aatgcagaaa acaaaagagg aagactTTTT 480
gaagttatTT gacaggtgga aagaagaaga aaaggagaaa ctagtTgatg aaatggaaaa 540
agtcaaggag atgtttatga aggaatttaa agaattaact tccaagaatt cagcattaga 600
atatcaactg tcagaaatcc agaagtccaa tatgcagatc aagtccaaca taggcacatt 660
aaaagatgca caccagttta aagaagacog ttctccatct ccccaggatt tccataatgt 720
catgcagctt cttgatagtc aggaagcaaa atggacagct cgagttcaag ctattcatca 780
agaacacaag aaagagaagg gtcggctcct gtcacatata gagaacttc gaacctcaat 840
gatagatgat ctaaagcaa gcaatgtttt ctataagaaa aggatagaag agctagggca 900
gagactccag gagcagaatg agctgattat aactcagaga cagcagatta aagactttac 960
ctgtaatcca ttaaacagta tcagtgaacc caaaggaaat cctttagcct ggcaggcttt 1020
tgaatctcag ccagctgctc cagctgtgcc tatgaatgcc ccagcctctc aacttttTga 1080
aactaaatca agtctgcaa tggtgcatga acaggcattc tctctgcaca tactggaacc 1140
aatagaagaa ctttcagagg aagaaaaagg aagggaaat gaacagaaat taaataacaa 1200
caaaatgcat ttaaggaaag ctttgaagag taactcctcc ctactaagg gactaagaac 1260
aatggtggag cagaacttga tggagaaact ggaaccttg gggattaatg cagatatacg 1320
tggcatttca agtgatcagt tgcataagat actaaaaagt gtggaatcag aaagacataa 1380
gcaagaaaga gaaatacct aacttctatca aattogagaa tctcttgaac atcaagtcag 1440
ctgtaaaatt gagggaaaag cactactctc ttcagatcag tgcagttttt ctcaaatgga 1500
taccctttca actggagaag tacccaaaat gatacaactt ccttccaaaa acagacaact 1560
gattagacaa aaagctgttt ctactgatag gacatctgtt ccaaaaatta agaaaaatgt 1620
catggaagat ccttttccca gaaagtcttc aactatttac acccctcctt ttagttcaga 1680

```

```

ggaggagcag gaggacgacg acctcatccg ggcatacgca tccccaggcc cacttccgtg 1740
gcccaccaca caaaacaagg gcagcttcgg gaagaacaca gtgaaaagtg acgcgggacgg 1800
gaccgagggg agcgaatcg aggacactga tgattctccc aagcccgcag gactcgcctg 1860
taaaacacct actgaaaag ttgaaaagat gtttccacat cgcataaatg tgaacaaacc 1920
agtcggtgga actaatgtcc ctgagatggt tatcaaaaaa gaagaattac aagaactaaa 1980
gtgtgcggat gtggaggatg aagactggga catatcatcc ctgagggag agatatcttt 2040
gggaaaaaaa tctgggaaag aacagaagga acctccacct gcgaaaaatg aaccacattt 2100
tgctcatgtg ctaaatgcct gggggcgatt taatcctaag gggccaaagg gtggaaggact 2160
tcaagaaaat gaatcaagca cattaaaaag cagcttagta actgtgactg attggagcga 2220
cacttcagat gtctaattcc acatgtcaga agattattcc agaagccagc agtatttcag 2280
tatcacagtg ttccagtaat ttgcctccat gattctagtg cttctgcctt accgtgtttc 2340
ccacagcaac acagagactg attcaagaa caatggtctc tttaatggca cccaatacag 2400
tattgaaaat cagatcatca acagtatttc gaagcatgta aagggtgtta agacttccgc 2460
tgctgcttaa aaataacatg tcattgaagt cataaaaagt tttttcttca gaaaggtaac 2520
ctagtgttaa gtgtattttt ttcaactaat ttttttagta atttttttta aacttacagc 2580
atgttttggg ttgaattact aaaactttta aaaatatatt tcttatgtat gctgtcgtat 2640
cgtaggcgtt tatattataa aattctgtta gtagtcttaa aattgaattg gtggaaccac 2700
taatccttaa aagttagtct ggttattttt catatagaag taagttaat ccgagtgtgg 2760
tggtgttcac ctttaatccc agctacttgg gaggctgagg tggggaggata acttgagcac 2820
aggagttaa gaccagcgtg gccaatatag caagactcca cccctccaca c 2871

```

```

<210> 32
<211> 2123
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 2559148CB1

```

```

<400> 32
cggggcccag atgcggtgac ctgccagcac ctgcccagc cttcgtccgg gactcgcacc 60
atctctccac gcactcggggc cctgtgcccc ttgctgtctg agcccggcac catgtcgacc 120
tcgtctctga ggccccagat gaagaacatc gtccacaact actcagaggc ggagatcaag 180
gttcgagagg ccacgagcaa tgacccctgg ggcccatcca gctccctcat gtcagagatt 240
gcccactca cctacaacgt tgtgccttc tgggagatca tgagcatgat ctggaagcgg 300
ctcaatgacc atggcaagaa ctggcgctac gtttacaagg ccatgacgct gatggagtac 360
ctcatcaaga ccggtctcga gcgctgtctg cagcagtgca aggagaacat gtacgcccgtg 420
cagacgctga aggacttcca gtactgtggc cgcgacggca aggaccaggg cgtgaacctg 480
cgtgagaaag ctaagcagct ggtggccctg ctgcgcgacg aggaccggct gcgggaagag 540
cgggcgccag cgtcaagac caaggaaaag ctggcacaga ccgccacggc ctcatcagca 600
gctgtgggct cagggcccc tcccggggcg gaggaggcgt ggccgcagag cagcggggag 660
aggagcttgc agtcccagct ggcccgtgcc atgagcaagg aggaggccga ccagcccccg 720
tccctgcccgc ccgaggacga ccccagctc cagctggccc ttagtttgag ccgagaagag 780
catgataagg aggagcggat ccgtcgcggg gatgacctgc ggtgcagat gccaatcgag 840
gagagcaaga gggagactgg gggcaaggag gactcgtccc tcatggacct tctgagctc 900
ttcacggccc cagctcctgc cccgaccaca gacccctggg ggggcccagc acccatgct 960
gctgcctcc ccacggctgc ccccacctcg gacccctggg gcggcccccc tgtccctcca 1020
gctgctgatc cctggggagg tccagcccc acgcccggct ctggggaccc ctggaggcct 1080
gctgcccctg caggaccctc agttgacctc tggggtggga ccccagcccc tgcagctggg 1140
gaggggcccc cgcctgatcc atggggaagt tccgatggtg ggttcccggg cagtggggcc 1200
tcagcctccg atccctggac accggcccgg gcttctcag atccctgggg agggtaacct 1260
gccaagcccc gcaccaatgg cacaacagca gccgggggat tgcacacgga gcccgacgag 1320
ttctctgact ttgaccgact ccgacgggca ctgccgacct cggggagcag cgcaggagag 1380
ctggagctgc tggcaggaga ggtgcccggc cgaagccctg gggcgtttga catgagtggg 1440
gtcaggggat ctctggctga ggctgtgggc agccccccac ctgcagccac accaactccc 1500
acgcccccca ccggaagac gccggagtca ttccctgggg ccaatgcagc cctcgtcgac 1560
ctggactcgc tggtagccg gccgggcccc acgcccctcg gaggcaaggc ctccaacccc 1620
ttctgcccag cgggaggccc agccactggc ccttccgtca ccaaccctt ccagcccggc 1680
cctcccgcga cgtcacccct gaaccagctc cgtctcagtc ctgtgcctcc cgtcccttga 1740
gcgccaccca cgtacatctc tccccttggc gggggccctg gctgcccccc catgatgccc 1800
ccggggcccc cggcccccaa cactaatccc ttctctctat aatccagggc ggaagggggc 1860
ctggctccat ccggctgccc cttccggctt ccttgggaga tcagtgttgt gactgcatgt 1920
gaaatggggg atccccacc ccagtgccct tccccttcc ggggcccact cacactacac 1980
cctcttctct tcccaccccc cctcccggga gagaaactgg acatggggcc tggggagggg 2040
agctggccag aggaggacc ctttcccctg gcattagaag ggggaggggt ggtcggggcc 2100

```

ctcaccatt cccctccct ccc

2123

<210> 33  
<211> 1973  
<212> DNA  
<213> Homo sapiens

<220>  
<221> misc\_feature  
<223> Incyte ID No: 3321481CB1

```

<400> 33
agccgacacc gccggtgccc acgctggagt gcagtggtgc gagctcggct cactgaaacc 60
tccttctctt ggggttcaagt gattttgtgt cctcagcctc tggagtagct gggatttcag 120
ccatcttcaa gttggccgac agcgtgtgct acctggccgc ctccccttta agacgcacac 180
acctgggctc tcacctgggc gcaggcgctt ccgcagaaga aggaagcggc gccgccatcg 240
cctcccggcg ctcccctccc gactcctaag tccttcggcc gccaccatgt ccgctcggc 300
tgtcttcatt ctggacgtta agggcaagcc attgatcagc cgcaactaca agggcgatgt 360
ggccatgagc aagattgagc acttcatgcc tttgctggta cagcgggagg aggaaggcgc 420
cctggccccc ctgctgagcc acggccaggt ccacttccta tggatcaaac acagcaacct 480
ctacttgggt gccaccacat cgaagaatgc caatgcctcc ctggtgtact ccttctctga 540
taagacaata gaggatttct gcgaataact caaggagctg gaggaggaga gcatccggga 600
caactttgtc atcgtctacy agttgtctga cgagctcatg gactttggct tcccgcagac 660
caccgacagc aagatcctgc aggagtacat cactcagcag agcaacaagc tggagacggg 720
caagtccagg gtgcccacca ctgtcaccaa cgtgtgtgct tggcgctccg aggtatcaaa 780
gtataagaag aacgaggtct tcattgatgt catagagtct gtcaacctgc tggtaaatgc 840
caacggcagc gtctctctga gcgaaatcgt cggtaaccat aagctcaagg tgtttctgtc 900
aggaatgcca gagctgcgcc tgggcctcaa tgaccgctg ctcttcgagc tcactggcct 960
ttcaggcagc aagaacaaat cagtagagct ggaggatgta aaattccacc agtgcgtgcg 1020
gctctctcgc tttgacaacg accgcacct ctctctcacc ccgctgatg gtgactttga 1080
gctcatgtca taccgcctca gcacccaggt caagccaact atctggattg agtctgtcat 1140
tgagaagttc tcccacagcc gcgtggagat catgggtcaag gccaaagggc agttaaagaa 1200
acagtcagtg gccaacggtg tggagatac tgtgcctgta ccagcagat ccgactcccc 1260
cagattcaag accagtggtg gcagcgccaa gtatgtgccc gagagaaaac tcgtgatttg 1320
gagtattaaag tcttcccccg ggggcaaggc gtacttgatg cgagcccact ttggcctccc 1380
cagtggtgaa aaggaagagg tggaggcgcg gcccccact ggggtcaagt ttgagatccc 1440
ctacttcacc gtctctggtg tccaggtccg atacatgaag atcattgaga aaagtgggta 1500
ccaggccctg ccttgggttc gctacatcac ccagagtgcc gattaccaac ttcgtaccag 1560
ctagaaggga gaagagatgg gggcttgaac acggggcttc ctacagccc cggatgcaga 1620
tttagagggg agggcaggtg cgggctgtgt gtgtctgtgt gagggcaggt cctggacttg 1680
gcagtttctt gctcccagca ccgcgccctt cctcacctct tccttattcc ataggctggg 1740
agagaaaact tctctgctt cctcgcctt ggagcttccc ccatccccct gattttatat 1800
gaagaaatag aagaggggct tgaagtcccc ctccgcagtg ccttcttgca attacctgcc 1860
ttagcgggtg ttgcccgtcc ctcttcaca gccgctgagc ccagaggtcc cgtcggcccc 1920
tcctctgaat tttaggatgt cattaanaag atgaatctaa aaaaaaaaaa aaa 1973

```

<210> 34  
<211> 1535  
<212> DNA  
<213> Homo sapiens

<220>  
<221> misc\_feature  
<223> Incyte ID No: 3367918CB1

```

<400> 34
gagagacgaa aggagggggg ggggtggaagg gagagggagg cgagcaaggg gaggagagga 60
gtgacggggg cgggggggga gtagagaatg gggaaagggg ggagggaaac ggaaggcgca 120
gaggtgagga agaagggttg ggggagggga aggggggagg aggcgcggaa ggagaggag 180
tgaggatgag acgagaagag cgggggtaga ggggagtgaa aggaatagtg ggcaagcagt 240
gagaaagaaga gggaaaggag ccacgaatgc aaggaggcga aggggggggtg tggcagagga 300
agggaaaacgt ggttgaaagaa gagaaaacca ggtggggggt gtgttcagg acagcgaagg 360
ggggggagga gggggggggg aagaagggga tttgtataag gagggggtag acagaggata 420
gataagagag ccggccatag gaccccaggc aatggtaggt ttgggagatg aggaacaggg 480
gtcaaggttg ggggaagaag aattggcaga ggcgtagggg ataataggcc cgaaggagta 540

```

```

atctcgggta ctggggaggg agagacagga gaatggcttg cgccttggag gcagaggttg 600
cagtgTaccg agatagcgcc actgcactca gtttggggga cagagtgaga acctatttat 660
taaaaaagaaa aacagggccag gggggtggct gacatatgta atccocagcac tttggggaggc 720
cgaggcaggt ggatcaccag aggtcggggag ttcaagatca gcctggccaa catggtgaaa 780
cctcattttt attaaaaata caaatgctta gctgggcgtg gtggcagggc gctggtaatc 840
ctgtacttgg gaggtcaggg caggagaatc acttgaaccc aggagcgaga ggttgcagtg 900
agcaaaaaaa aaaaaaaaaa aaacttacat ccttctccc caccatcctg ttatcacagg 960
agatctataa ggacagggcag aaattctcag aacaggtttt caaagtggcc tctcagacc 1020
tggTcaacat gggcatcagT gtggttagct acactctgaa ggacattcac gatgaccagg 1080
actatttgca ctctttgggg aaggctcgaa cagctcaagt ccaaaaagat gcacggattg 1140
gagaagcaga ggccaagaga gatgctggga tccgggaagc taaagccaag caggaaaagg 1200
tgtctgctca gtacctgagt gagatcgaga tggccaaggg acagagagat tacgaaactga 1260
agaaggccgc ctatgacatc gaggtcaaca ccccgagcac aggctgacct ggcctatcac 1320
cttcaggctg gatgTcaatg gcgtgatctc agctactgca acctctgcct cctgggttca 1380
agcgaTcttc ctacttggga ggctgaggca ggagaatcac ttgaacccag gaggcagagg 1440
ttgcagtgag ccaagatcac accactgcac tctagcctgg gcgacagtga gactccacct 1500
caaaaaaaag gaaaaaaaaa aaaaaaaaaa tcccg 1535

```

```

<210> 35
<211> 2453
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 1227327CB1

```

```

<400> 35
tgaagagcct agggTggggc tgcgggtgtc gcgaggggcg tggaaagtgtg tcagggccag 60
cgtgTcggcc ctacggaaagc cgagcctgag gcgagatctc gccttttTga ttttcaactga 120
ctcatatttc ctttactcag gctccacat caggacgaga aggagccctc gagttaccgt 180
gggagctgtg ggagctgccc tgtgactctt aggaagatgc cgtaccttgg ctccgaggca 240
gtggtgaagg agctgaagaa ggctctgtgc aatcctcaca ttcaagctga taggctgTgc 300
taccggaatg tcatccagcg agtgattagg tacatgactc aaggcttTga catgtctggt 360
gtttttatgg aaatggtgaa ggccagtgcc actgtagata ttgtccagaa gaagtTggtt 420
tatctgtaca tgtgcacata tgtccccctg aaaccagatc tggctctcct ggcocatcaat 480
acgctgtTca aagactgtcc agacccccat ccaatggTgc gagggtctggc gttacggagc 540
atgtgtagcc tcaggatgcc tggTgtgcag gagtataTat aacagcctat tctcaatggT 600
ctgcgggata aggtctcata tgtcaggaga gtggcagTcc ttggatgtgc caagatgat 660
aatcttcatg gagactctga agtagatggt gccctgTtaa atgaattata cagttTgctg 720
cgtgaccagg atccaattgt tcttTgaggt ctctagagga aattctgaaa 780
caggaaggag gcgttTgcat caataagccc attgtctacc atctcttaaa tcgaatgtca 840
aaactggacc aatggggcca ggctgaagta ttgaacttcc tgcTaccgta ccaaccccg 900
agtgaggaaG aactattTga cattctcaat ctgTtggata gtttctcaa gagcagTgc 960
ccaggTgtgg Tgatgggagc taccaaactt tttctgatct tggcaaaaat gtttccccac 1020
gtacaaaactg atgtccttgt gcgggtcaag ggaccttTgc tagctgcctg ttcttcagag 1080
agccgtgagc tctgtttTgt TgtctttTgt catgtacgcc agatcttTga tagtttTaca 1140
ggTcaactta gcagccacta caaaaagtTt tttTgctcct actcggagcc ccaactacatc 1200
aaactacaga aagtggaggT gctgtTgTaa ctggTgaaag atgagaatgt gcagcaggtg 1260
ctagaggagc ttcgaggTta ctgcacggat gtgtctgcgg actttTgaca ggtgcccac 1320
tttgccatag gtggcattgc caggacttac acagatcaat gtgttcagat tttaacagag 1380
ttgtcgggtc ttcgacaaga gcacattacc acagTgTgg Tgcagacttt ccgagacctg 1440
gtttggtTgt gTcctcagTg tactgaagct gtatgtcagg cctgcccgg ctgtgaagag 1500
aacattcaag atagtggagg gaagcaagca cttattTggc tacttggTgt ccatggggaa 1560
agaattccta atgctcctta tgtgttagag gactttTgtg agaatTgaa gtcggaaca 1620
tttccagctg ttaagatTga gctgtcact gctttTgctg gccTtttctc ctcccagact 1680
gctgagTgcc aggacatgct aggacgtTtg ttgtattact gcatagagga agaaaaagat 1740
atggctgtac gggaccgagg tctctcttat tatcgcctcc tcttagTtg catTgatgaa 1800
gttaagcggg tctgtgtag cctaaaatct gacctactc ttggactttt ggaggatccc 1860
gcagaaagac ctgtgaaTag ctgggctca gacttcaaca cactggTgcc agTgtatggc 1920
aaagcccact gggcaactat ctctaaatgc cagggggcag agcgtTgtga ccagagctt 1980
cctaaaactt catcctTtgc cgcactcagga ccttgatTc ctgaagagaa caaggagagg 2040
gtacaagaac tcctgatTc tggagccctc atgctagtcc ccaatcgcca gcttactgct 2100
gatTattttg agaaaaactg gcttagcctt aaagtTgctc atcagcaagt gttgcctTgg 2160
cggggagaaT tccatcctga caccctccag atggctcttc aagtatgTaa catccagacc 2220

```

```

atcgcaatga gtagggctgg gtctcggcca tggaaagcat acctcagtc tcaggatgat 2280
actggctgtc tgttcttaac agaactgcta ttggagcctg gaaactcaga aatgcagatc 2340
tctgtgaaac aaaaatgaagc aagaacggag acgctgaata gttttatttc tgtattagaa 2400
actgtgatgg gaacaattga agaaataaaa tcataacaga gaaaaaaaaa aaa 2453

```

```

<210> 36
<211> 2599
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 1416292CB1

```

```

<400> 36
cgaagttgca ccggttgagg atggetgaca ttctctctca gtcagagacc ctggcgctgc 60
aagacctcag tggggacttc aagaagccag ctctgccggg gtccccagcg gcgccggagta 120
aggccccggc cagcagttct tcaaacctcg aggaggtaga gaaggaaggg cccactgcgt 180
tgcaggactc caattctggg gagccccaca tccctcctcc tcagccggac tgcggtgatt 240
ttagggagtct acaggaggag cagtcgcgcc ccacgacagc ggtttctctc cctggcggtc 300
cagccccggc tccccctac caagagcctc catgggggtg ccctgccaca gccccctaca 360
gcttagagac cctgaaggcg gccactatcc ttggcacccg tagcttgaaa gggacgagtt 420
actgcctttt cgggaggctg tctggctcgg acgtgtgcct ggagcaccct tgcgtgtctc 480
ggtaccacgc agtgtctcag cacagggcgt ccggccctga cggagaatgc gacagcaacg 540
ggccgggctt ctacctctac gatctgggaa gcaccatgg cacttttctc acaaaaactc 600
gcatcccacc tcgcacctac tgtcagatcc acgttgggca tgttgtctgc tttggaggca 660
gcaccggctt cttatctcg cagggaccag aggaagaccg agaggcagaa tccgagttaa 720
cagtaacaca gttgaaggaa ttggcgaagc agcagcaaat attgttgag aagaagatgc 780
taggagaaga ctcagatgaa gaagaggaaa tggataccct tgaagggaag ataatgtctg 840
gtagccaaga tgatgagatg ggttgcacct ggggaatggg agaagatgca gttagggatg 900
atgctgaaag gaacctatt gtcttagagt ttcagcagga aagggaggcc ttttatataa 960
aggatcccaa aaaggctctc caaggctttt ttgaccgaga aggagaagaa ttagaatatg 1020
aatltgatga acagggacat agcacttggc tctgcagggt gagattacct gtggacgatt 1080
caactggaaa acaactggtg gctgaggcca ttcactcagg aaagaaaaaa gaagcaatga 1140
tccagtgtct attggaagct tgtcggattc ttgacacttt gggattgctt cggcagggaag 1200
cagtatctcg gaaaaggaaa gccaaagaact gggagaatga agacttttat gatagtgatg 1260
atgacacatt tcttgatagg actggcctga ttgagaagaa cgtctgtaac agaatgaaag 1320
aggctggcaa gattgatgag aagccagaga cctttgaaac attggttgca aaatgaaatg 1380
atgctgaaag gaaactttct gaaatctctg agagattgaa agcctcaagc caagttctat 1440
cagagtctcc atctcaggat tcttttagat cgttcatgtc agaaatgaaa tcaggcagta 1500
cattagatgg tgtgtcccgg aagaaaactc acctgagaac ttttgaactg aggaaagaac 1560
aacagagact taaagggtta ataaaaatg taaagccagc agagattcca gaactaaaaa 1620
agactgaaac tcagactaca ggtgcagaaa acaaagctaa aaagcttaca ttgcctctat 1680
ttggtgccat gaaaggagga agcaaatcca aattaaaaaac tggaaacagta gggaaagtac 1740
cccccaagcg tccagaactc cctccaactc taatgagaat gaaagatgag cctgaaagtg 1800
aagaggagga ggaagaggaa gaggaagaag agaaaagaaa ggaggagcat gaaaagaaaa 1860
aactggagga tgggaagcctc agtaggccac agccagagat agagccagaa gcagcagtcg 1920
aggaaatgag gcctcccaca gatctcacac attttaaaga aacccaaacc catgaaaaca 1980
tgtctcaact tagcgaggaa gaacagaata aagattatca agactgtagc aaaaccactt 2040
cattgtgcgc aggacctca gcatcaaaga atgaatatga gaaaagcaga ggtgaaatga 2100
agaaaaagaa aacacctggg ccaggcaaac ttccaccaac actttcttcc aaatctctg 2160
aagatgaccc agactactgt gtgtgggtcc cacctgaagg tcaaagtgga gatggcagaa 2220
cccatcttaa tgacaagtat ggctattgat tgcttcagaa tccccaaaga aaacctgtgt 2280
gacctgtgta catggaatat ttgggataat gtatcaaatt gaatggccag agaagtttag 2340
atgattattt gtaagatctg gtgactggct tttcgttctg tgttcttggc ttctaaatt 2400
tatctgccc fatgattctc atgcatttga tatttatgtt taaaagtgtt tatatatgta 2460
tgtaaaaagg gaacctatg ttttgagaat ttgtaaagtg agagacatga tctatataa 2520
ataagaagcc aaaaatgttc ctaatatattt attttatttt atttttttta agagacaggy 2580
tcttactctg tcacctagg 2599

```

```

<210> 37
<211> 1294
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

<220>  
<221> misc\_feature  
<223> Incyte ID No: 2611704CB1

<400> 37  
ttcctatcca cagtcacttc tgttcatttt taatgaaaac ctattgctgt tattttctat 60  
tatgagttaa cggatgatgt tgttttttaa attttgtata cttgctctca ccctaaaaata 120  
taccttaaga gacttttccc ctgtttttct ttctgcttcc caagactcca ggaaaaacag 180  
cttccatggc acatttttga cagggcacat ctagaatgat tgccgcagaa agttctacgg 240  
agcataaaga gtgtgctgaa ccatacaaaa gaaagaactt gatgaattct cttgaacaaa 300  
agataagggtg tttgaaaaaa caaagaaaag agtccttggg agttaaccag caatggggtc 360  
agcaattttag aagbatgaaa gaggttatat aaagaaaagg agcagagctg aagacgaaac 420  
tggacgcccg gaaaagattc ctacgacagc gggagaagga tccgcatcag agcgagagaa 480  
aggacgacag gcaaaagagag gacgacagc agcggcagct gaccggggac cggctgcagc 540  
gggaggagaa gaaaaaggaa cgcctaaatg aagaattaca tgaattgaaa gaagagaata 600  
aaccttttaa gggaaaaaat actcttgcga acaaggaaaa ggaacattac gaatgtgaaa 660  
taaaacgcct caataaggct cttcaggatg ccttgaatat caagtgttca ttttccgagg 720  
actgttttag gaagtctcga gtggaattct gccatgagga gatgagaaca gaaatgggag 780  
ttctgaagca gcagggtcaa atatacgaag aagacttcaa aaaggaacga tcggatcgag 840  
agagacttaa tcaagagaaa gaggagctac agcaaattaa tgaacttcc caatcccagt 900  
tgacaggct gaattcccag ataaaagctt gtacagatga gaaagaaaaa ctagaaaagc 960  
aattaaaaca gatgtattgc ccacctgta actgcccgtt ggttttccac ctgcaagac 1020  
catgggtacc aacaggccct ggagctgtgc agaagcaacg ggagcaccga ccagactatc 1080  
agtggatgct tcttgaccag ctcccgccag atgtacaaca caaggcaaat ggtttatcct 1140  
cagttaaagaa agtccatccg tagaagtaca cacacacaca catatatagt agtatatgt 1200  
taatagaata tatattctaa aatgtagaat gggatgaaaa ctgacctgtc aaaattttgt 1260  
aatcagagtc ccagaaccga aagagaaaaat gatc 1294

<210> 38  
<211> 2313  
<212> DNA  
<213> Homo sapiens

<220>  
<221> misc\_feature  
<223> Incyte ID No: 5136672CB1

<400> 38  
gactacgtag ccggcgccctt cctcttccca tgcgcccgggt cctagccacc ggtgtctect 60  
tctacatccg cctctgcgcc ggetgccacc cgcgctccct ccgcccggcg cgccttctgt 120  
ctgctcaaaag ctgctgcgcc cccttgggct aaaaggtttt caaatggaac attttgyatg 180  
atcacttagt acctatttca aggcattgct aggcctcga gatactagag taaaaggatg 240  
gtttctctctg gacaattata taccacatt tatctgctct gtcatatatt tactaatgt 300  
atggctggga ccaaaataca tgaggataaa acagccattc tcttgcggg ggattttagt 360  
gggtataaac cttggactca cactgctgtc tctgtatag ttctgtgagt tagtaacagg 420  
agtatgggaa ggcaaataca acttctctct tcagggcaca cgcacccag gagaatcaga 480  
tatgaagatt atccgtgtcc tctgttggta ctacttctcc aaactcatag aatttatgga 540  
cactttcttc ttcctcctgc gcaagaacaa ccaccagatc acggtcctgc acgtctacca 600  
ccatgctctg atgctgaaca tctgttgggt tgtgatgaac tgggtccctc ggggccactc 660  
ttattttggg gccacactta atagcttcat ccacgtctct atgtactctt actatggttt 720  
gtcctcagtc ccttccatgc ctccatcact ctggtggaag aagtacatca ctacggggca 780  
gctgcttcag tttgtgctga caatcatcca gaccagctgc ggggtctatc ggccgtgcac 840  
attccctctt ggttggttgt atttccagat tggatcatat atttccctga ttgtctctt 900  
cacaaaactt tacattcaga gaaaggggccc tcccgaagga aagaccactt 960  
gaaggaccac cagaatgggt ccattggctgc tgtgaatgga cacaccaaca gcttttcacc 1020  
cctggaaaaa aatgtgaagc caaggaagct ggggaaggat tgaagtcaaa gaattgaaac 1080  
cctccaaaac acgtcatctg atttgaagca caatatgagt tgtgccccaa tgctcgtaa 1140  
cagctgtctg aactagtctg gccacaata gtgtgattca tgtaggactt ctttcatcaa 1200  
ttcaaaaacc ctagaaaacg tatacagatt atataagtag ggataagatt tctaaccatt 1260  
ctgggctctc tgaccctctc gctagactgt ggaaggggag tattattata gtatacaaca 1320  
ctgctgttgc ctatttagtt ataacatgat aggtgctgaa ttgtgattca caatttaaaa 1380  
acactgtaat ccaactttt ttttttaact gtagatcatg catgtgattg taaatgtaaa 1440  
tttgtacaat gttgttatgg tagagaaaca cacatgcctt aaaatttaaa aagcagggcc 1500  
caaagcttat tagtttaaat tagggtatgt ttcaagttt tattaatttg taatagctct 1560  
gtttagaaaa aatcaaaagc catgatttat gaaactaatg tgacataatt tccagtgact 1620  
tgttgatgtg aaatcagaca cggcaccttc agttttgtac tattggcttt gaatcaagca 1680

ggctcaaatc tagtggaaaca gtcagtttaa ctttttaaca gatcttattt ttttattttg 1740  
agtgcacta ttaatgtaaa aagggggggg cttcacagca ctctgctatg aacttaaaata 1800  
tatattcttt gtcctcagaa ttttaggaag ggtgtagggt gactaggcca tttttaattt 1860  
ctgaagtgtt aagtgttttt atacagcaaa caaaaagtca attttgcctt ccaccagtgc 1920  
gagagaggat gtatactttt caagagagat gattgcctat ttaccgtttg acagagtccc 1980  
gtagatgagc aatggggaac tggttgccc ggtctaaatt tggattgatt tagtactgt 2040  
tatctgtttt gacacagatt tctttgtaaa atgtgcttag ttaccaaaaa ttaacaaagg 2100  
gggggaaagg accttagaac tttttaagtt aaatcaaat atagctacag cataagagaa 2160  
tcgagaaatt tgatagaggt aactttgtta atgtaaatct aatagtactt gtaattttct 2220  
tctgcttaga atctaaagat gtgttttagaa cctccttgtt aaaataatag actgctatct 2280  
ataaatcaca tctcacacat ttggggcagtt ggt 2313

## 【国際調査報告】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

		International Application No. P. /US 00/09353
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 C12N15/12 C07K14/47 C12Q1/68 G01N33/68 A61K38/17 A01K67/027 C07K16/18		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 C12N C07K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	E. C. DELL'ANGELICA ET AL: "AP-4, a novel protein complex related to Clathrin adaptators" JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY., vol. 274, no. 11, 12 March 1999 (1999-03-12), pages 7278-7285, XP002141980 AMERICAN SOCIETY OF BIOLOGICAL CHEMISTS, BALTIMORE, MD., US ISSN: 0021-9258 the whole document --- -/--	1-23
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.		
* Special categories of cited documents:		
*A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance *E* earlier document but published on or after the international filing date *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. *&* document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report	
5 July 2000	18. 10. 00	
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer LE CORNEC N.D.R.	

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PC US 00/09353

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>NCI-CGAP: "national cancer institute, cancer genome anatomy project (CGAP), tumor gene index"            EMBL DATABASE ENTRY AI139578, ACCESSION NUMBER AI139578,            25 September 1998 (1998-09-25),            XP002141981            "100% identity in 475bp overlap with sequence ID no.20. reverse orientation"            abstract            &amp; UNPUBLISHED.</p> <p style="text-align: center;">---</p>	10,11
A	<p>SIMPSON FIONA ET AL: "Characterization of the adaptor-related protein complex, AP-3."            JOURNAL OF CELL BIOLOGY,            vol. 137, no. 4, 1997, pages 835-845,            XP002141983            ISSN: 0021-9525</p> <p style="text-align: center;">---</p>	
A	<p>WANG XIAOLU ET AL: "Identification of two new mu-adaptin-related proteins, mu-ARP1 and mu-ARP2."            FEBS LETTERS,            vol. 402, no. 1, 1997, pages 57-61,            XP002141984            ISSN: 0014-5793</p> <p style="text-align: center;">---</p>	
P,X	<p>J. HIRST ET AL: "Characterization of a fourth adaptor-related protein Complex"            MOLECULAR BIOLOGY OF THE CELL,            vol. 10, no. 8, August 1999 (1999-08),            pages 2787-2802, XP002141985            the whole document</p> <p style="text-align: center;">---</p>	1-23
P,X	<p>J. HIRST ET AL: "Homo sapiens adaptor-related protein complex AP-4 sigma subunit mRNA, complete cds."            EMBL DATABASE ENTRY AF155159, ACCESSION NUMBER AF155159, 12 July 1999 (1999-07-12),            XP002141986            abstract</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	1-14

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/US 00/09353

**Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)**

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

1.  Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  
see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210
2.  Claims Nos.: 18, 19, 21, and 22 all partially  
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 II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)**

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

1.  As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.
2.  As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3.  As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4.  No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Claims 1-23 (partially)

**Remark on Protest**

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

## FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

## Continuation of Box I.1

Although claim 16 and claims 19 and 22 (as far as the agonist/antagonist concerns an antibody against the polypeptide) are directed to a method of treatment of the human/animal body (rule 13.1 IV PCT), the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.

## Continuation of Box I.2

Claims Nos.: 18, 19, 21, and 22 all partially

Claims 18 and 21 refer to a pharmaceutical composition comprising an agonist/antagonist of the polypeptides, claims 19 and 22 relate to method of treatment referring to an agonist/antagonist of the polypeptides without giving a true technical characterization. Moreover, no such compounds are defined in the application. In consequence, the scope of said claims is ambiguous and vague, and their subject matter is not sufficiently disclosed and supported.

No search can be carried out for such purely speculative claims whose wording is, in fact, a mere recitation of the results to be achieved.

A partial search has been carried out as far the antagonist/ agonist relates to an antibody against the polypeptides.

The applicant's attention is drawn to the fact that claims, or parts of 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.

## FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

## 1. Claims: 1-23 all partially

Nucleic acid represented by sequence ID no.20 encoding a polypeptide represented by the amino sequence ID no.1.  
Antibody against the polypeptide. Therapeutic uses.

## 2. Claims: 1-23 all partially

Nucleic acid represented by sequence ID no.21 encoding a polypeptide represented by the amino sequence ID no.2.  
Antibody against the polypeptide. Therapeutic uses.

## 3. Claims: 1-23 all partially

Nucleic acid represented by sequence ID no.22 encoding a polypeptide represented by the amino sequence ID no.3.  
Antibody against the polypeptide. Therapeutic uses.

## 4. Claims: 1-23 all partially

Nucleic acid represented by sequence ID no.23 encoding a polypeptide represented by the amino sequence ID no.4.  
Antibody against the polypeptide. Therapeutic uses.

## 5. Claims: 1-23 all partially

Nucleic acid represented by sequence ID no.24 encoding a polypeptide represented by the amino sequence ID no.5.  
Antibody against the polypeptide. Therapeutic uses.

## 6. Claims: 1-23 all partially

Nucleic acid represented by sequence ID no.25 encoding a polypeptide represented by the amino sequence ID no.6.  
Antibody against the polypeptide. Therapeutic uses.

## 7. Claims: 1-23 all partially

Nucleic acid represented by sequence ID no.26 encoding a polypeptide represented by the amino sequence ID no.7.  
Antibody against the polypeptide. Therapeutic uses.

## 8. Claims: 1-23 all partially

Nucleic acid represented by sequence ID no.27 encoding a

## FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

polypeptide represented by the amino sequence ID no.8.  
Antibody against the polypeptide. Therapeutic uses.

## 9. Claims: 1-23 all partially

Nucleic acid represented by sequence ID no.28 encoding a  
polypeptide represented by the amino sequence ID no.9.  
Antibody against the polypeptide. Therapeutic uses.

## 10. Claims: 1-23 all partially

Nucleic acid represented by sequence ID no.29 encoding a  
polypeptide represented by the amino sequence ID no.10.  
Antibody against the polypeptide. Therapeutic uses.

## 11. Claims: 1-23 all partially

Nucleic acid represented by sequence ID no.30 encoding a  
polypeptide represented by the amino sequence ID no.11.  
Antibody against the polypeptide. Therapeutic uses.

## 12. Claims: 1-23 all partially

Nucleic acid represented by sequence ID no.31 encoding a  
polypeptide represented by the amino sequence ID no.12.  
Antibody against the polypeptide. Therapeutic uses.

## 13. Claims: 1-23 all partially

Nucleic acid represented by sequence ID no.32 encoding a  
polypeptide represented by the amino sequence ID no.13.  
Antibody against the polypeptide. Therapeutic uses.

## 14. Claims: 1-23 all partially

Nucleic acid represented by sequence ID no.33 encoding a  
polypeptide represented by the amino sequence ID no.14.  
Antibody against the polypeptide. Therapeutic uses.

## 15. Claims: 1-23 all partially

Nucleic acid represented by sequence ID no.34 encoding a  
polypeptide represented by the amino sequence ID no.15.  
Antibody against the polypeptide. Therapeutic uses.

## 16. Claims: 1-23 all partially

## FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Nucleic acid represented by sequence ID no.35 encoding a polypeptide represented by the amino sequence ID no.16. Antibody against the polypeptide. Therapeutic uses.

## 17. Claims: 1-23 all partially

Nucleic acid represented by sequence ID no.36 encoding a polypeptide represented by the amino sequence ID no.17. Antibody against the polypeptide. Therapeutic uses.

## 18. Claims: 1-23 all partially

Nucleic acid represented by sequence ID no.37 encoding a polypeptide represented by the amino sequence ID no.18. Antibody against the polypeptide. Therapeutic uses.

## 19. Claims: 1-23 all partially

Nucleic acid represented by sequence ID no.38 encoding a polypeptide represented by the amino sequence ID no.19. Antibody against the polypeptide. Therapeutic uses.

## フロントページの続き

(51)Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	テ-マコ-ト' (参考)
A 6 1 P 5/38		A 6 1 P 7/12	4 C 0 8 4
7/02		9/06	4 H 0 4 5
7/12		9/10	
9/06		9/12	
9/10		11/00	
9/12		11/06	
11/00		13/12	
11/06		15/00	
13/12		17/06	
15/00		19/02	
17/06		19/10	
19/02		21/00	
19/10		21/04	
21/00		25/00	
21/04		25/02	
25/00		25/08	
25/02		25/14	
25/08		25/16	
25/14		25/24	
25/16		25/28	
25/24		29/00	
25/28		31/04	
29/00		31/10	
31/04		31/12	
31/10		31/18	
31/12		35/00	
31/18		35/02	
35/00		37/00	
35/02		37/06	
37/00		43/00	1 7 1
37/06		C 0 7 K 14/47	
43/00	1 7 1	16/18	
C 0 7 K 14/47		C 1 2 N 1/15	
16/18		1/19	
C 1 2 N 1/15		1/21	
1/19		C 1 2 P 21/02	C
1/21		C 1 2 Q 1/68	A
5/10		G 0 1 N 33/15	Z
C 1 2 P 21/02		33/50	Z
C 1 2 Q 1/68		33/53	D
G 0 1 N 33/15			M
33/50		33/566	
33/53		37/00	1 0 2
		C 1 2 N 15/00	Z N A A
33/566		5/00	A
37/00	1 0 2	A 6 1 K 37/02	

(81)指定国 EP(AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AP(GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, 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, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW

- (72)発明者 ヒルマン、ジェニファー・エル  
 アメリカ合衆国カリフォルニア州94040・  
 マウンテンビュー・#12・モンロードライ  
 ブ 230
- (72)発明者 ボーゲン、マライア・アール  
 アメリカ合衆国カリフォルニア州94577・  
 サンレアンドロ・サンティアゴロード  
 14244
- (72)発明者 タング、ワイ・トム  
 アメリカ合衆国カリフォルニア州95118・  
 サンノゼ・ランウィックコート 4230
- (72)発明者 リュ、デュング・アイナ・エム  
 アメリカ合衆国カリフォルニア州95136・  
 サンノゼ・パークベルモントプレイス 55
- (72)発明者 アジムザイ、ヤルダ  
 アメリカ合衆国カリフォルニア州94545・  
 ハイワード・ロックスプリングスドライブ  
 2045

Fターム(参考) 2G045 AA25 AA40 CB01 DA12 DA13  
DA14 DA36 DA77 FB02 FB03  
FB07  
4B024 AA01 AA11 CA01 CA09 FA02  
GA11 HA12  
4B063 QA01 QA18 QQ42 QQ79 QQ96  
QR32 QR48 QR55 QS32 QS33  
4B064 AG01 CA19 CC24 DA01 DA13  
4B065 AA93Y AB01 AC14 BA01  
CA24 CA44 CA45 CA46  
4C084 AA02 AA07 BA01 CA53 NA14  
ZA02 ZA06 ZA07 ZA16 ZA22  
ZA36 ZA42 ZA45 ZA55 ZA59  
ZA66 ZA68 ZA75 ZA81 ZA89  
ZA94 ZA97 ZB02 ZB11 ZB13  
ZB15 ZB26 ZB27 ZB33 ZB35  
ZB38 ZC08 ZC31 ZC35 ZC80  
4H045 AA10 AA11 BA10 CA40 DA76  
EA20 EA31 FA74

专利名称(译)	囊泡相关蛋白		
公开(公告)号	<a href="#">JP2002540792A</a>	公开(公告)日	2002-12-03
申请号	JP2000609573	申请日	2000-04-06
申请(专利权)人(译)	洞察制药公司		
[标]发明人	ラルプリーティ ユエヘンリー ヒルマンジェニファーエル ボーグンマライアール タングワイトム リュデユングアイナエム アジムザイヤルダ		
发明人	ラル、プリーティ ユエ、ヘンリー ヒルマン、ジェニファー・エル ボーグン、マライア・アール タング、ワイトム リュ、デユング・アイナ・エム アジムザイ、ヤルダ		
IPC分类号	G01N33/50 A61K38/00 A61K45/00 A61P1/04 A61P1/16 A61P5/38 A61P7/02 A61P7/12 A61P9/06 A61P9/10 A61P9/12 A61P11/00 A61P11/06 A61P13/12 A61P15/00 A61P17/06 A61P19/02 A61P19/10 A61P21/00 A61P21/04 A61P25/00 A61P25/02 A61P25/08 A61P25/14 A61P25/16 A61P25/24 A61P25 /28 A61P29/00 A61P31/04 A61P31/10 A61P31/12 A61P31/18 A61P35/00 A61P35/02 A61P37/00 A61P37/06 A61P43/00 C07K14/47 C07K14/705 C07K16/18 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C12N15/09 C12N15/12 C12P21/02 C12Q1/68 G01N33/15 G01N33/53 G01N33/566 G01N37/00		
CPC分类号	A01K2217/05 A61P1/04 A61P1/16 A61P11/00 A61P11/06 A61P13/12 A61P15/00 A61P17/06 A61P19 /02 A61P19/10 A61P21/00 A61P21/04 A61P25/00 A61P25/02 A61P25/08 A61P25/14 A61P25/16 A61P25/24 A61P25/28 A61P29/00 C07K14/705		
FI分类号	A61K45/00 A61P1/04 A61P1/16 A61P5/38 A61P7/02 A61P7/12 A61P9/06 A61P9/10 A61P9/12 A61P11 /00 A61P11/06 A61P13/12 A61P15/00 A61P17/06 A61P19/02 A61P19/10 A61P21/00 A61P21/04 A61P25/00 A61P25/02 A61P25/08 A61P25/14 A61P25/16 A61P25/24 A61P25/28 A61P29/00 A61P31 /04 A61P31/10 A61P31/12 A61P31/18 A61P35/00 A61P35/02 A61P37/00 A61P37/06 A61P43/00.171 C07K14/47 C07K16/18 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12P21/02.C C12Q1/68.A G01N33/15.Z G01N33/50.Z G01N33/53.D G01N33/53.M G01N33/566 G01N37/00.102 C12N15/00.ZNA.A C12N5/00. A A61K37/02		
F-TERM分类号	2G045/AA25 2G045/AA40 2G045/CB01 2G045/DA12 2G045/DA13 2G045/DA14 2G045/DA36 2G045 /DA77 2G045/FB02 2G045/FB03 2G045/FB07 4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/CA01 4B024/CA09 4B024/FA02 4B024/GA11 4B024/HA12 4B063/QA01 4B063/QA18 4B063/QQ42 4B063/QQ79 4B063 /QQ96 4B063/QR32 4B063/QR48 4B063/QR55 4B063/QS32 4B063/QS33 4B064/AG01 4B064/CA19 4B064/CC24 4B064/DA01 4B064/DA13 4B065/AA93Y 4B065/AB01 4B065/AC14 4B065/BA01 4B065 /CA24 4B065/CA44 4B065/CA45 4B065/CA46 4C084/AA02 4C084/AA07 4C084/BA01 4C084/CA53 4C084/NA14 4C084/ZA02 4C084/ZA06 4C084/ZA07 4C084/ZA16 4C084/ZA22 4C084/ZA36 4C084 /ZA42 4C084/ZA45 4C084/ZA55 4C084/ZA59 4C084/ZA66 4C084/ZA68 4C084/ZA75 4C084/ZA81 4C084/ZA89 4C084/ZA94 4C084/ZA97 4C084/ZB02 4C084/ZB11 4C084/ZB13 4C084/ZB15 4C084 /ZB26 4C084/ZB27 4C084/ZB33 4C084/ZB35 4C084/ZB38 4C084/ZC08 4C084/ZC31 4C084/ZC35 4C084/ZC80 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/BA10 4H045/CA40 4H045/DA76 4H045/EA20 4H045 /EA31 4H045/FA74		

摘要(译)

本发明提供了鉴定和编码VEAS的人囊泡相关分子 ( VEAS ) 和多核苷酸。 本发明还提供表达载体和宿主细胞，抗体，激动剂，拮抗剂。 此外，本发明提供了用于诊断或治疗与VEAS表达有关的疾病的方法和预防方法。

SEQ ID NO.	ヌクレオチド配列番号	クローニン	ライブラリ	番号
1	20	66537	SC300001	6811467 (SUNDB001); 6653741 (CC000001); 7593116 (BRAL0002); 6971261 (BRAL0002)
2	21	74923	BRAL0001	1158453 (CC000001); 7592301 (BRAL0001); 2586445 (BRAL0022)
3	22	71654	CC000005	7785541, 7165448 and 7165495 (CC000005); 3342084 (SFAL0009); 340543190 (CC000004); 30771445 (CC000003)
4	23	127356	TEST0002	0781467 (SUNDB001); 3441966 (LUN00002); 1273091 (LUN00003); 1273566 (TEST0002); 10031865 (SUNDB011); 24857241 (LUN00023); 3634744 (LUN00011)
5	24	150806	BRAL0007	6590268 (BRAL0003); 1508064 (BRAL0007); 4753664 (BRAL0001)
6	25	181431	PR300004	17023276 (BRAL0005); 17470795 (SUNDB02); 1814314 (PR300004); 14518466 (LUN00002); 19793336 (LUN00001); 34978441 (PR300003)
7	26	2091812	PRAL0004	21074241 (PRAL0004); 27710465 (PRAL0005); 53517176 (LUN00025)
8	27	214974	BRAL0009	13271941 (BRAL0004); 16156245 (CC000009); 135543176 (LUN00001); 20937166 (BRAL0002); 2149744 (BRAL0009); 24228795 (SUNDB02); 24524195 (BRAL0001); 2511914171 (CC000001); 2517384 (LUN0004); 27782044 (SUNDB02); 345845341 (SUNDB01); 35384441 (PRAL0001); 37480744 (BRAL0008); 37493454 (PRAL00018); 3065604 (BRAL0003)