

(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 - 541772

(P2002 - 541772A)

(43)公表日 平成14年12月10日(2002.12.10)

(51) Int.Cl ⁷	識別記号	F I	テ-マコード* (参考)
C 1 2 N 15/09	ZNA	A 6 1 K 39/00	H 2 G 0 4 5
A 6 1 K 38/00		45/00	4 B 0 2 4
39/00		A 6 1 P 1/00	4 B 0 6 3
45/00		3/00	4 B 0 6 4
A 6 1 P 1/00		3/06	4 B 0 6 5

審査請求 未請求 予備審査請求 (全127数) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2000 - 599780(P2000 - 599780)

(86)(22)出願日 平成12年2月18日(2000.2.18)

(85)翻訳文提出日 平成13年8月10日(2001.8.10)

(86)国際出願番号 PCT/US00/04160

(87)国際公開番号 W000/49043

(87)国際公開日 平成12年8月24日(2000.8.24)

(31)優先権主張番号 60/120,703

(32)優先日 平成11年2月19日(1999.2.19)

(33)優先権主張国 米国(US)

(31)優先権主張番号 60/142,762

(32)優先日 平成11年7月8日(1999.7.8)

(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 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

(74)代理人 弁理士 大島 陽一

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 ヒト脂質関連タンパク質

(57)【要約】

本発明は、ヒト脂質関連タンパク質 (LIPAP) と、LIPAP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、LIPAP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:2及びSEQ ID NO:3、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12からなる一群から選択されたアミノ酸配列と、

b) SEQ ID NO:2及びSEQ ID NO:3、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12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:2及びSEQ ID NO:3、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12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:2及びSEQ ID NO:3、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12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、からな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:2及びSEQ ID NO:3、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12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:13及びSEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24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】 a) SEQ ID NO:13及びSEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24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:13及びSEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24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90%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) a) - d)のRNA等価物と、からな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) 前記サンプル中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を検出する方法。

【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】 請求項15の医薬品組成物を患者に投与することを含む、機能的LIPAPの発現の低下に関連する疾患やその症状の治療方法。

【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】 請求項18の医薬品組成物を患者に投与することを含む、機能的LIPAPの発現の低下に関連する疾患やその症状の治療方法。

【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】 請求項21の医薬品組成物を患者に投与することを含む、機能的LIPAPの過剰な発現に関連する疾患やその症状の治療方法。

【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】****(技術分野)**

本発明は、ヒト脂質関連タンパク質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心血管疾患及び神経疾患、胃腸疾患、脂質代謝異常の診断及び治療、予防に関する。

【0002】**(発明の背景)**

脂質とは、クロロホルムやエーテルなどの非極性溶媒に溶ける水不溶性物質或いは油性物質、脂肪性物質である。中性脂肪(トリアシルグリセロール)は主な燃料であり、エネルギーとして貯蔵される。リン脂質及びスフィンゴ脂質、糖脂質、コレステロールなどの極性脂質は、細胞膜の重要な構成成分である。脂質とタンパク質は様々に会合する。糖脂質は、タンパク質を細胞及び細胞膜の内側に輸送する小胞を形成する。脂質とタンパク質の相互作用によって、細胞間のシグナル伝達及び細胞増殖などの様々なプロセスに関与するタンパク質及び糖脂質を特定の膜及び細胞内部位にターゲティングする。タンパク質は、生合成及び輸送、脂質の取り込みに関与する。更に、シグナル伝達及びタンパク質のターゲティングに関与する主なタンパク質によって、脂質由来の基が翻訳後に該タンパク質になる(Stryer, L. (1995) *Biochemistry*, W.H. Freeman and Co., New York NY, pp. 264-267, 934)。

【0003】

グリセロール背骨及び2つの脂肪酸鎖、リン酸化アルコールによって構成されるホスホグリセリド類は、リン脂質の主要なクラスの1つである。主なホスホグリセリド類には、ホスファチジルコリン及びホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルセリン、ホスファチジルイノシトール、ジホスファチジルグリセロールが含まれる。ホスホグリセリド合成に関与する多くの酵素は膜に関連する(Meyers, R.A. (1995) *Molecular Biology and Biotechnology*, VCH Publishers Inc., New York NY, pp. 494-501; Stryer, 前出, pp. 264-267)。酵素ホスファチジルセリンデカルボキシラーゼは、ピルビン酸補因子を用いて、ホスホチ

ジルセリンのホスホチジルエタノールアミンへの転換を触媒する。酵母ホスホチジルセリンデカルボキシラーゼの2つの形態は、それぞれミトコンドリア内側及びゴルジ/液胞膜に局在する。ミトコンドリア膜の内側に局在する哺乳動物酵素は、プロ酵素として作られ、後に 及び サブユニットに切断される (Voelker, D.R. (1997) *Biochim. Biophys. Acta* 1348:236-244)。

【0004】

一端にアルコールを有する4つの融合炭化水素環で構成されるコレステロールは、それが組み込まれる膜の流動性を緩和する。更に、コレステロールは、コルチゾル及びプロゲステロン、エストロゲン、テストステロンなどのホルモンの合成に用いられる。コレステロール由来の胆汁酸塩は、脂質の消化を促す。皮膚のコレステロールは障壁を形成して、水分が体内から過剰に蒸発するのを防ぐ。コレステロール生合性中間体由来のファルネシル基及びゲラニルゲラニル基は、転写後に、rasやタンパク質ターゲティングタンパク質rabなどのシグナル伝達タンパク質になる。これらの修飾はこれらのタンパク質の活性にとって重要である (Guyton, A.C. *Textbook of Medical Physiology* (1991) W.B. Saunders Company. Philadelphia PA, pp.760-763; Stryer, 前出, pp. 279-280, 691-702, 934)。

【0005】

哺乳動物は、*de novo*生合成及び食事からコレステロールを得る。哺乳動物においては、肝臓がコレステロール生合成の主な部位である。生合成は、メバロン酸経路として知られる一連の酵素的段階によって活性される。HMG-CoAレダクターゼによるヒドロキシメチルグリタリル-CoA (HMG-CoA) のメバロン酸への転換は律速段階である。HMG-CoAレダクターゼの強力なインヒビターである薬剤ロバスタチンは、血清中のコレステロール値を低下させるために患者に投与される。*de novo*生合成或いは食事によって得られるコレステロールは、リポタンパク質粒子の形態で体液に輸送される。これらの粒子はまた、トリアシルグリセロールを輸送する。これらの粒子は、極性脂質及びアポリポタンパク質のシェル (shell) によって囲まれた疎水性脂質のコアから成る。このタンパク質成分が、疎水性脂質の溶解に役立ち、また細胞ターゲティングシグナルを含む。リポタンバ

ク質には、カイロミクロン及びカイロミクロン残遺物、超低比重リポタンパク質 (VLDL)、中間体リポタンパク質(IDL)、低密度リポタンパク質(LDL)、高密度リポタンパク質(HDL)が含まれる (Meyers, 前出; Stryer, 前出, pp. 691-702)。血漿HDLの値と早発性虚血性心疾患のリスクとの間には強い逆相関性が存在する。ApoLは、膵臓に存在するHDLアポリポタンパク質である (Duchateau, P.N. et al. (1997) J. Biol. Chem. 272:25576-25582)。

【0006】

肝臓及び腸以外の大抵の細胞は、合成するのではなく血液からコレステロールを摂取する。細胞表面LDL受容体は、LDL粒子と結合し、エンドサイトーシスによって細胞内に取り込まれる (Meyers, 前出)。家族性高コレステロール血症の原因であるLDL受容体の欠損は、血漿コレステロールの値の増加につながり、最終的にはアテローム性動脈硬化症になる恐れがある (Stryer, 前出, pp. 691-702)。

【0007】

コレステロールの取り込み及び生合成に関与するタンパク質は、細胞内のコレステロール値に応じて厳重に調節される。ステロール調節要素結合タンパク質(SREBP)は、ステロール反応性転写因子である。コレステロール値が正常な状態では、SREBPは小胞体膜に存在する。コレステロールの値が低いと、タンパク質の細胞外ドメインが遊離する調節性のSREBPの切断が起こる。この切断ドメインは核に輸送され、そこでこのドメインが遺伝子上流にあるステロール調節要素(SRE)と結合して、LDL受容体遺伝子及びコレステロール合成酵素をコードする遺伝子の転写を活性化する (Yang, J. 他 (1995) J. Biol. Chem. 270:12152-12161)。コレステロールの取り込み及び生合成は、オキシステロール結合タンパク質(OSBP)によっても調節される。オキシステロールは、コレステロールの異化の際に形成される酸化産物であり、ステロイド生合成の調節に関与する。OSBPは、コレステロール合成をダウンレギュレートし、コレステロールのエステル化を刺激する様々なオキシステロールの高親和性細胞内受容体である (Lagace, T.A. 他 (1997) Biochem. J. 326:205-213)。

【0008】

copinは、膜輸送に作用すると考えられるリン脂質結合タンパク質である。copinは、脂質小胞凝集を促進する。copinは、膜活性に関連するC2ドメイン及び内在性タンパク質と細胞外タンパク質との相互作用を仲介するアネキシン型ドメインを含み、カルシウムの結合及び調節に関連する (Creutz, G.E. (1998) J. Biol. Chem. 273:1393-1402)。他のC2含有タンパク質には、小胞輸送に關与するタンパク質ファミリーであるシナプトタグミンが含まれる。脳脊髄液のシナプトタグミンの濃度が、アルツハイマー病発症初期の段階で低下していることが分かった (Gottfries, C.G.他 (1998) J. Neural Transm. 105:773-786)。

【0009】

脂質及びそれに関連するタンパク質は、ヒトの様々な疾患に關与する。長鎖脂肪酸の合成の増加が、乳房及び前立腺、卵巣、結腸、子宮内膜において見られる。血漿HDLの値と早発性虚血性心疾患との間の強い逆相関性が存在する。家族性高コレステロール血症の原因であるLDL受容体の欠損は、血漿コレステロール値の増加につながり、最終的にはアテローム性動脈硬化症になる恐れがある (Stryer, 前出, pp. 691-702)。動脈疾患であるアテローム性動脈硬化症は、動脈壁の内側における脂肪病巣の形成によって特徴づけられる。これらの病巣によって、動脈の柔軟性が損なわれ、血餅が形成される (Goyson, 前出)。オキシステロールは、ヒトアテローム斑に存在し、斑の発達に重要な役割を果たすと考えられている (Brown, A.J. (1999) Atherosclerosis 142:1-28)。脂肪症或いは脂肪肝は、肝臓におけるトリグリセリドの蓄積によって特徴づけられ、アルコール中毒及び糖尿病、肥満症、長期に渡る非経口栄養を含む様々な状態に関連して発症し得る。脂肪症は、肝臓の纖維症及び肝硬変につながる恐れがある。テイサックス病では、G_{M2}ガングリオシド(スフィンゴ脂質)が、酵素Nアセチルヘキソサミニダーゼの欠損によって中枢神経系のリソソームに蓄積する。患者は、早期死亡につながる神経系の変性を患っている (Fauci, A.S. 他 (1998) Harrison's Principles of Internal Medicine McGraw-Hill, New York NY p. 2171)。ニーマンピック病は、脂質代謝異常によって発症する。A型及びB型ニーマンピック病は、酵素スフィンゴミエリナーゼの欠損による中枢神経系のスフィンゴミエリン(スフィンゴ脂質)及びその他の脂質の蓄積によって起こり、神経変性及び

肺の疾患につながる。C型ニーマン ピック病は、コレステロール輸送の異常によって起こり、スフィンゴミエリン及びコレステロールがリソソームに蓄積され、二次的にスフィンゴミエリナーゼ活性が減少する。神経の症状は、例えば、大発作や失調、学習した言語の喪失、生後1、2年の顕性などである。推定上のコレステロール検知ドメインを含むNPCタンパク質における変異は、C型ニーマンピック病のマウスモデルにおいて見出された (Fauci, 前出, p. 2175; Loftus, S.K. 他 (1997) Science 277:232-235)。

【0010】

新規のヒト脂質関連タンパク質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、心血管疾患及び神経疾患、胃腸疾患、脂質代謝異常の診断及び治療、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。

【0011】

(発明の要約)

本発明は、総称して「LIPAP」、個別にはそれぞれ「LIPAP-1」及び「LIPAP-2」、「LIPAP-3」、「LIPAP-4」、「LIPAP-5」、「LIPAP-6」、「LIPAP-7」、「LIPAP-8」、「LIPAP-9」、「LIPAP-10」、「LIPAP-11」、「LIPAP-12」と呼ぶヒト脂質関連タンパク質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 - 12からなる一群から選択されたアミノ酸配列、b) SEQ ID NO:1 - 12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 - 12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 - 12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 - 12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。

【0012】

更に本発明は、a) SEQ ID NO:1 - 12からなる一群から選択されたアミノ酸配列、b) SEQ ID NO:1 - 12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 - 12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 - 12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:13 - 24からなる一群から選択される。

【0013】

更に、本発明は、a) SEQ ID NO:1 - 12からなる一群から選択されたアミノ酸配列、b) SEQ ID NO:1 - 12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 - 12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 - 12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。

【0014】

また、本発明は、a) SEQ ID NO:1 - 12からなる一群から選択されたアミノ酸配列、b) SEQ ID NO:1 - 12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 - 12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 - 12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。

【0015】

更に、本発明は、a) SEQ ID NO:1 - 12からなる一群から選択されたアミノ酸配列、b) SEQ ID NO:1 - 12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 - 12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 - 12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。

【0016】

更に、本発明は、a) SEQ ID NO:13 - 24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:13 - 24からなる一群から選択されたポリヌクレオチド酸配列と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。

【0017】

更に、本発明は、a) SEQ ID NO:13 - 24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:13 - 24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。

【0018】

更に、本発明は、a) SEQ ID NO:1 - 12からなる一群から選択されたアミノ酸配列、b) SEQ ID NO:1 - 12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 - 12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 - 12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LIPAP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。

【0019】

更に、本発明は、a) SEQ ID NO:1 - 12からなる一群から選択されたアミノ酸配列、b) SEQ ID NO:1 - 12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 - 12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 - 12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LIPAP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。

【0020】

更に、本発明は、a) SEQ ID NO:1 - 12からなる一群から選択されたアミノ酸配列、b) SEQ ID NO:1 - 12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 - 12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 - 12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LIPAP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。

【0021】

更に本発明は、SEQ ID NO:13 - 24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。

【0022】

(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。

【0023】

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。

【0024】

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。

【0025】

(定義)

用語「LIPAP」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LIPAPのアミノ酸配列を指す。

【0026】

用語「アゴニスト」は、LIPAP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、LIPAPに直接相互作用するか、或いはLIPAPが関与する生物学的経路の成分と作用して、LIPAP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。

【0027】

用語「アレル変異配列」は、LIPAP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。

【0028】

LIPAP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、LIPAPと同じポリペプチド或いはLIPAP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、LIPAP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LIPAP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LIPAP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LIPAP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。

【0029】

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。

【0030】

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。

【0031】

用語「アンタゴニスト」は、LIPAP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、LIPAPに直接相互作用するか、或いはLIPAPが関与する生物学的経路の成分と作用して、LIPAP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。

【0032】

用語「抗体」は、抗原決定基と結合可能なFab及びF(ab')₂、及びそれらの断片、Fv断片などの無傷の分子を指す。LIPAP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。

【0033】

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。

【0034】

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。

【0035】

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LIPAP、合成のLIPAP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。

【0036】

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。

【0037】

「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。LIPAP若しくはLIPAP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。

【0038】

「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'の方向に延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。延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。

【0039】

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, Ser
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。

【0040】

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。

【0041】

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。

【0042】

用語「断片」は、LIPAPまたはLIPAP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。

【0043】

SEQ ID NO:13 - 24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:13 - 24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:13 - 24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:13 - 24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:13 - 24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。

【0044】

SEQ ID NO:1 - 12のある断片は、SEQ ID NO:13 - 24のある断片によってコードされる。SEQ ID NO:1 - 12のある断片は、特異的にSEQ ID NO:1 - 12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 - 12のある断片は、特異的にSEQ ID NO:1 - 12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 - 12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。

【0045】

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（サザンブロッキング或いはノーザンブロッキング法、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。

【0046】

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。

【0047】

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、Kt uple=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。

【0048】

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 Sequen

ces」は、<http://WWW.ncbi.nlm.nih.gov/gorf/b12.html>にアクセスして、対話形式で利用できる。「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。

【0049】

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。

【0050】

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。

【0051】

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。

【0052】

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、以下のようになる。

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。

【0053】

「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。

【0054】

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。

【0055】

「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。

【0056】

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。

【0057】

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0.2x 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0.1~2x 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。

【0058】

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。

【0059】

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。

【0060】

「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。

【0061】

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。

【0062】

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。

【0063】

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

【0064】

用語「核酸」或いは「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。

【0065】

「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。

【0066】

「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。

【0067】

「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、LIPAP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一本鎖に沿って延長される。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。

【0068】

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。

【0069】

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。

【0070】

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。

【0071】

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。

【0072】

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、ワクチ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。

【0073】

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。

【0074】

用語「サンプル」は、その最も広い意味で用いられている。LIPAPをコードする核酸若しくはその断片、LIPAP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。

【0075】

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。

【0076】

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、最も好ましいは90%以上除去されたものを指す。

【0077】

「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。

【0078】

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。

【0079】

「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。

【0080】

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。

【0081】

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。

【0082】

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。

【0083】

(発明)

本発明は、新規のヒト脂質関連タンパク質(LIPAP)及びLIPAPをコードするポリヌクレオチドの発見に基づき、心血管疾患及び神経疾患、胃腸疾患、脂質代謝異常の診断、治療、及び予防におけるそれらの組成物の使用に関する。

【0084】

表1は、LIPAP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LIPAP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LIPAP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。

【0085】

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及び各ポリペプチドの識別点、列7は、分析方法、場合によってはその分析方法が利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から各ポリペプチドを特徴付けるために用いることが可能である。

【0086】

表3の列は、LIPAP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:13 - 24を同定し、SEQ ID NO:13 - 24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。これら断片によりコードされるポリヌクレオチドは、例えば、免疫原性ペプチドとして有用である。列3は、LIPAPを発現する組織名、及びLIPAPを発現する全組織におけるその割合を示す。列4は、LIPAP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LIPAP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。

【0087】

表4の各列は、LIPAP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。

【0088】

SEQ ID NO:21は、第11染色体の92.5から96.3センチモルガンまでの区間の染色体地図である。また、この区間には、癲癇に関連するGタンパク質結合

受容体をコードする遺伝子が含まれる。

【0089】

本発明はまた、LIPAPの変異体も含む。好適なLIPAPの変異体は、LIPAP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LIPAP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。

【0090】

本発明はまた、LIPAP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、LIPAPをコードするSEQ ID NO:13-24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:13-24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。

【0091】

本発明はまた、LIPAP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、LIPAP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90%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:13-24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90%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:13-24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、LIPAP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。

【0092】

遺伝暗号の縮重により作り出され得るLIPAP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LIPAP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。

【0093】

LIPAP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LIPAP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LIPAP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、LIPAP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。

【0094】

本発明はまた、LIPAP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、LIPAP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。

【0095】

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:13-24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。

【0096】

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)。

【0097】

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、LIPAP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。

【0098】

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。

【0099】

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。

【0100】

本発明の別の実施例では、LIPAP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LIPAP、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LIPAPのクローン化及び発現に利用可能である。

【0101】

種々の目的でLIPAP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。

【0102】

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、LIPAP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LIPAP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。

【0103】

別の実施例によれば、LIPAP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LIPAP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LIPAP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。

【0104】

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クエ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)

。

【0105】

生物学的に活性なLIPAPを発現させるために、LIPAP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LIPAP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、LIPAP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。LIPAP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)。

【0106】

当業者に周知の方法を用いて、LIPAP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 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)。

【0107】

種々の発現ベクター/宿主系を利用して、LIPAP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。

【0108】

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、LIPAP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、LIPAP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LIPAP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LIPAPが必要な場合は、LIPAP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。

【0109】

LIPAP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LIPAPの発現に使用可能である。LIPAPをコードする配列の転写は、例

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)。

【0110】

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LIPAP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LIPAP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。

【0111】

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)。

【0112】

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LIPAP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、LIPAP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。

【0113】

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^{-} 又は apr^{-} 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 (cLIPAsulfuron)、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)。アノトシアニン、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)。

【0114】

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、LIPAP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、LIPAP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LIPAP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DEM遺伝子の発現も示す。

【0115】

一般に、LIPAPをコードする核酸配列を含み、LIPAP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。

【0116】

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LIPAPの発現の検出及び計測のための免疫学的な方法は、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。LIPAP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)。

【0117】

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。LIPAP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、LIPAP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。

【0118】

LIPAP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。LIPAP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LIPAP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。

【0119】

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。

【0120】

本発明の別の実施例では、LIPAP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LIPAPタンパク質が、LIPAP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、LIPAP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、LIPAP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。

【0121】

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LIPAP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、³⁵S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。

【0122】

LIPAP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。LIPAP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。

【0123】

(治療)

LIPAPのある領域とヒト脂質関連タンパク質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、LIPAPの発現は、心血管組織及び胃腸組織、神経系の組織と密接に関連する。従って、LIPAPは、心血管疾患及び神経疾患、胃腸疾患、脂質代謝異常においてある役割を果たすと考えられる。LIPAP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、LIPAPの発現または活性を低下させることが望ましい。また、LIPAP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、LIPAPの発現または活性を増大させることが望ましい。

【0124】

従って、一実施例において、LIPAP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LIPAP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、心血管疾患が含まれ、その中には、動静脈瘤、アテローム硬化、高血圧、脈管炎、レイノー病、静脈奇形、動脈解離、静脈瘤、血栓静脈炎及び静脈血栓、血管の腫瘍、血栓崩壊の合併症、バルーン血管形成術(balloon angioplasty)、血管置換術、大動脈冠動脈バイパス術移植手術(coronary artery bypass graft surgery)などの血管疾患と、うっ血性心不全、虚血性心疾患、狭心症、心筋梗塞、高血圧性心疾患、変性弁膜性心疾患、石灰化大動脈弁狭窄症、先天性2尖大動脈弁、僧帽弁輪状石灰化(mitral annular calcification)、僧帽弁脱出、リウマチ熱、リウマチ性心疾患、感染性心内膜炎、非細菌性血栓性心内膜炎、全身性エリテマトー

デスの心内膜炎、カルチノイド心疾患、心筋症、心筋炎、心膜炎、腫瘍性心疾患、先天性心臓疾患、及び心臓移植の合併症などの心疾患と、先天性肺異常 (congenital lung anomalies)、肺拡張不全、肺うっ血及び肺水腫、肺動脈塞栓症、肺出血、肺梗塞、肺高血圧症、血管硬化症、閉塞性肺疾患、拘束性肺疾患 (restrictive pulmonary disease)、慢性閉塞性肺疾患、肺気腫、慢性気管支炎、気管支喘息、細気管支拡張症、細菌性肺炎、ウイルス性肺炎及びマイコプラズマ肺炎、肺膿瘍、肺結核、びまん性間質性疾患 (diffuse interstitial diseases)、塵肺症、サルコイド症、特発性肺繊維症 (idiopathic pulmonary fibrosis)、剥離性間質性肺炎、過敏症肺炎 (hypersensitivity pneumonitis)、肺好酸球増加閉塞性細気管支炎 器質性肺炎 (pulmonary eosinophilia bronchiolitis obliterans-organizing pneumonia)、びまん性肺出血症候群 (diffuse pulmonary hemorrhage syndromes)、グッドパスチャー症候群、特発性肺血鉄症、肺併発膠原血管病 (pulmonary involvement in collagen-vascular disorders)、肺胞たんぱく症、肺腫瘍、炎症性及び非炎症性胸水 (inflammatory and noninflammatory pleural effusions)、気胸症、胸膜腫瘍、薬物性肺病 (drug-induced lung disease)、放射線肺病 (radiation-induced lung disease) 及び肺移植の合併症などの肺疾患とが含まれ、また、神経疾患が含まれ、その中には、癲癇、虚血性脳血管障害、脳卒中、大脳新生物、アルツハイマー病、ピック病、ハンチントン病、痴呆、パーキンソン病及びその他の錐体外路障害、筋萎縮性側索硬化及びその他の運動ニューロン障害、進行性神経性筋萎縮症、色素性網膜炎、遺伝性運動失調、多発性硬化症及び他の脱髄疾患、細菌性及びウイルス性髄膜炎、脳膿瘍、硬膜下蓄膿症、硬膜外膿瘍、化膿性頭蓋内血栓性静脈炎、脊髄炎及び神経根炎、ウイルス性中枢神経系疾患と、クールー及びクロイツフェルト ヤコブ病、ゲルストマン症候群、Gerstmann-Straussler-Scheinker症候群を含むプリオン病と、致死性家族性不眠症、神経系性栄養病及び代謝病、神経線維腫症、結節硬化症、小脳網膜血管芽腫 (cerebelloretinal hemangioblastomatosis)、脳3叉神経血管症候群、中枢神経系性精神薄弱及び他の発生障害、脳性麻痺、神経骨格異常症、自律神経系障害、末梢神経疾患、皮膚筋炎及び多発性筋炎と、遺伝性、代謝性、内分泌性、及び中毒性ミオパシーと、重症筋無力症、周期性四肢麻痺と、気

分性及び不安性の障害、分裂病性疾患を含む精神病と、季節性障害（SAD）と、静座不能、健忘症、緊張病、糖尿病性ニューロパシー、錐体外路性終末欠陥症候群、ジストニー、分裂病性精神障害、帯状疱疹後神経痛、及びトゥレット病と、進行性核上麻痺、皮質基部変性（corticobasal degeneration）及び家族性の前頭側頭性健忘症とが含まれ、胃腸疾患も含まれ、その中には、嚥下障害、消化性食道炎、食道痙攣、食道狭窄、食道癌、消化不良、消化障害、胃炎、胃癌、食欲不振、悪心、嘔吐、胃不全麻痺、洞または幽門の浮腫、腹部アングナ、胸焼け、胃腸炎、イレウス、腸管感染、消化性潰瘍、胆石症、胆嚢炎、胆汁うっ滞、膵臓炎、膵臓癌、胆道疾患、肝炎、高ビリルビン血症、硬変症、肝臓の受動性うっ血、ヘパトーム、感染性大腸炎、潰瘍性大腸炎、潰瘍性直腸炎、クローン病、ホイップル病、マロリー ヴァイス症候群、結腸癌、結腸閉塞、過敏性腸症候群、短小腸症候群、下痢、便秘、胃腸出血、及び後天性免疫不全症候群（AIDS）腸症、黄疸、肝性脳症、肝腎症候群、肝炎、肝脂肪症、血色素症、ウィルソン病、 α -1-アンチトリプシン欠損症、ライ症候群、原発性硬化性胆管炎、肝梗塞、門脈循環閉塞及び血栓、小葉中心壊死、肝臓紫斑病、肝静脈血栓、肝静脈閉塞症、子癇前症、子癇、妊娠性急性肝脂肪、妊娠性肝臓内胆汁うっ滞と、結節性再生及び腺腫、癌腫を含む肝癌とが含まれ、また、脂質代謝異常も含まれ、その中には、脂肪肝、胆汁うっ滞、原発性胆汁性肝硬変、カルニチン欠乏症、カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ欠乏症（carnitine palmitoyltransferase deficiency）、ミオアデニレートデミナーゼ欠乏症（myoadenylate deaminase deficiency）、hypertriglyceridemia、ファブリー病などの脂質貯蔵病、ゴーシェ病、ニーマン ピック病、変染色性白質ジストロフィー、副腎性白質ジストロフィー、 G_{M2} にガングリオシドーシス、セロイドリポフスチン症、無リポ蛋白血症、タンジアー病、リポ蛋白過剰血症、糖尿病、脂肪異栄養症、脂肪腫症、急性皮下脂肪組織炎、播種性脂肪組織壊死症、有痛脂肪症、リポイド副腎過形成、リポイドネフローゼ、脂肪腫、アテローム性動脈硬化症、高コレステロール血症、高トリグリセリド血症を伴った高コレステロール血症、原発性低リポ蛋白血症（primary hypoalphalipoproteinemia）、低甲状腺症（hypothyroidism）、腎臓病、肝疾患、レシチン-コレステロールアシルトランスフェラーゼ欠乏症、脳髄黄色

腫症、シトステロール血症 (sitosterolemia)、低コレステロール血症、テイスックス病、サンドホフ病、高脂血症、脂肪過剰血症、脂質筋障害、肥満症が含まれる。

【 0 1 2 5 】

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LIPAP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、LIPAP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。

【 0 1 2 6 】

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LIPAP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LIPAP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。

【 0 1 2 7 】

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LIPAP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、LIPAP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。

【 0 1 2 8 】

更なる実施例では、LIPAP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LIPAP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、上記した心血管疾患及び神経疾患、胃腸疾患、脂質代謝異常が含まれる。一実施態様では、LIPAP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LIPAP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。

【 0 1 2 9 】

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LIPAP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、LIPAPをコードするポリヌクレオチドの相補体 (complement) 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。

【0130】

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す得る。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。

【0131】

LIPAP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LIPAP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LIPAPと特異的に結合するものを同定が可能である。LIPAP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。

【0132】

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、LIPAP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。

【0133】

LIPAP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。LIPAP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。

【0134】

LIPAP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)。

【0135】

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、LIPAP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)。

【0136】

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)。

【0137】

LIPAP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)。

【0138】

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、LIPAP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LIPAP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)。

【0139】

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、LIPAP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LIPAP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LIPAP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、LIPAP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LIPAP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、LIPAP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、LIPAP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, D C; Liddell, J. E. and Cryer, A. (1991) A Practical Guide to Monoclonal Antibodies, John Wiley & Sons, New York NY)。

【0140】

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1~2mg/mlの特異的な抗体、好ましくは5~10mg/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、LIPAP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)。

【0141】

本発明の別の実施例では、LIPAP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、LIPAP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、LIPAP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、LIPAP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、LIPAP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。

【0142】

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LIPAPをコード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)。

【0143】

LIPAPをコードする遺伝子は、LIPAP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。

【0144】

上記した通り、遺伝子の発現は、LIPAP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できる。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。

【0145】

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、LIPAP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。

【0146】

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。

【0147】

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LIPAP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。

【0148】

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。

【0149】

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）。

【0150】

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。

【0151】

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、LIPAP、LIPAPの抗体、擬態、アゴニスト、アンタゴニスト、又はLIPAP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。

【0152】

本発明に用いられる医薬品組成物は、任意の数の経路を用いて投与することもできる。この経路には、経口、静脈内、筋肉内、動脈内、骨髄内、クモ膜下腔内、心室内、経皮的、皮下、腹腔内、鼻腔内、腸内、異所性、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。

【0153】

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。

【0154】

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。

【0155】

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。

【0156】

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。

【0157】

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。

【0158】

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、ハンクス液、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。

【0159】

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。

【0160】

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。

【0161】

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。

【0162】

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。LIPAP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。

【0163】

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。

【0164】

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。

【0165】

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LIPAP又はその断片、LIPAPの抗体、LIPAP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_{50} （服用に対して集団の50%に医薬的效果がある）または LD_{50} （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_{50} / ED_{50} 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_{50} 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。

【0166】

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。

【0167】

通常の薬用量は投与の経路によって異なるが、約0.1~100,000 μ g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ドラ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。

【0168】

(診断)

別の実施例では、LIPAPに特異的に結合する抗体が、LIPAPの発現によって特徴付けられる疾患の診断、またはLIPAPやLIPAP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。LIPAP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LIPAP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。

【0169】

LIPAP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LIPAP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LIPAP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LIPAP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LIPAP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。

【 0 1 7 0 】

別の実施例によれば、LIPAP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LIPAP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、LIPAPの存在の有無、更に過剰な発現を調べ、治療中のLIPAP値の調節を監視する。

【 0 1 7 1 】

ある実施形態では、LIPAP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、LIPAP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エントは、プローブがLIPAP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。

【 0 1 7 2 】

プローブはまた、関連する配列の検出に利用され、LIPAP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:13 - 24の配列、或いはLIPAP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。

【0173】

LIPAP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、LIPAP及びLIPAP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 ^{32}P 或いは ^{35}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。

【0174】

LIPAPをコードするポリヌクレオチド配列を用いて、LIPAP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、心血管疾患が含まれ、その中には、動静脈瘤、アテローム硬化、高血圧、脈管炎、レイノー病、静脈奇形、動脈解離、静脈瘤、血栓静脈炎及び静脈血栓、血管の腫瘍、血栓崩壊の合併症、バルーン血管形成術 (balloon angioplasty)、血管置換術、大動脈冠動脈バイパス術移植手術 (coronary artery bypass graft surgery) などの血管疾患と、うっ血性心不全、虚血性心疾患、狭心症、心筋梗塞、高血圧性心疾患、変性弁膜性心疾患、石灰化大動脈弁狭窄症、先天性2尖大動脈弁、僧帽弁輪状石灰化 (mitral annular calcification)、僧帽弁脱出、リウマチ熱、リウマチ性心疾患、感染性心内膜炎、非細菌性血栓性心内膜炎、全身性エリテマトーデスの心内膜炎、カルチノイド心疾患、心筋症、心筋炎、心膜炎、腫瘍性心疾患、先天性心臓疾患、及び心臓移植の合併症などの心疾患と、先天性肺異常 (congenital lung anomalies)、肺拡張不全、肺うっ血及び肺水腫、肺動脈塞栓症、肺出血、肺梗塞、肺高血圧症、血管硬化症、閉塞性肺疾患、拘束性肺疾患 (restrictive pulmonary disease)、慢性閉塞性肺疾患、肺気腫、慢性気管支炎、気管支喘息、細気管支拡張症、細菌性肺炎、ウイルス性肺炎及びマイコプラズマ肺炎、肺膿瘍、肺結核、びまん性間質性疾患 (diffuse interstitial diseases)、塵肺症、サルコイド症、特発性肺繊維症 (idiopathic pulmon

ary fibrosis)、剥離性間質性肺炎、過敏症肺炎 (hypersensitivity pneumonitis)、肺好酸球増加閉塞性細気管支炎 器質性肺炎 (pulmonary eosinophilia bronchiolitis obliterans-organizing pneumonia)、びまん性肺出血症候群 (diffuse pulmonary hemorrhage syndromes)、グッドパスチャー症候群、特発性肺血鉄症、肺併発膠原血管病 (pulmonary involvement in collagen-vascular disorders)、肺胞たんぱく症、肺腫瘍、炎症性及び非炎症性胸水 (inflammatory and noninflammatory pleural effusions)、気胸症、胸膜腫瘍、薬物性肺病 (drug-induced lung disease)、放射線肺病 (radiation-induced lung disease) 及び肺移植の合併症などの肺疾患とが含まれ、また、神経疾患が含まれ、その中には、癲癇、虚血性脳血管障害、脳卒中、大脳新生物、アルツハイマー病、ピック病、ハンチントン病、痴呆、パーキンソン病及びその他の錐体外路障害、筋萎縮性側索硬化及びその他の運動ニューロン障害、進行性神経性筋萎縮症、色素性網膜炎、遺伝性運動失調、多発性硬化症及び他の脱髄疾患、細菌性及びウイルス性髄膜炎、脳膿瘍、硬膜下蓄膿症、硬膜外膿瘍、化膿性頭蓋内血栓性静脈炎、脊髄炎及び神経根炎、ウイルス性中枢神経系疾患と、クールー及びクロイツフェルトヤコブ病、ゲルストマン症候群、Gerstmann-Straussler-Scheinker症候群を含むプリオン病と、致死性家族性不眠症、神経系性栄養病及び代謝病、神経線維腫症、結節硬化症、小脳網膜血管芽腫 (cerebelloretinal hemangioblastomatosis)、脳3叉神経血管症候群、中枢神経系性精神薄弱及び他の発生障害、脳性麻痺、神経骨格異常症、自律神経系障害、末梢神経疾患、皮膚筋炎及び多発性筋炎と、遺伝性、代謝性、内分泌性、及び中毒性ミオパシーと、重症筋無力症、周期性四肢麻痺と、気分性及び不安性の障害、分裂病性疾患を含む精神病と、季節性障害 (SAD) と、静座不能、健忘症、緊張病、糖尿病性ニューロパシー、錐体外路性終末欠陥症候群、ジストニー、分裂病性精神障害、帯状疱疹後神経痛、及びトウレット病と、進行性核上麻痺、皮質基部変性 (corticobasal degeneration) 及び家族性の前頭側頭性健忘症とが含まれ、胃腸疾患も含まれ、その中には、嚥下障害、消化性食道炎、食道痙攣、食道狭窄、食道癌、消化不良、消化障害、胃炎、胃癌、食欲不振、悪心、嘔吐、胃不全麻痺、洞または幽門の浮腫、腹部アングナ、胸焼け、胃腸炎、イレウス、腸管感染、消化性潰瘍、胆石症、胆嚢炎、

胆汁うっ滞、膵臓炎、膵臓癌、胆道疾患、肝炎、高ビリルビン血症、硬変症、肝臓の受動性うっ血、ヘパトーム、感染性大腸炎、潰瘍性大腸炎、潰瘍性直腸炎、クローン病、ホイップル病、マロリー ヴァイス症候群、結腸癌、結腸閉塞、過敏性腸症候群、短小腸症候群、下痢、便秘、胃腸出血、及び後天性免疫不全症候群 (AIDS) 腸症、黄疸、肝性脳症、肝腎症候群、肝炎、肝脂肪症、血色素症、ウィルソン病、 α -1-アンチトリプシン欠損症、ライ症候群、原発性硬化性胆管炎、肝梗塞、門脈循環閉塞及び血栓、小葉中心壊死、肝臓紫斑病、肝静脈血栓、肝静脈閉塞症、子癇前症、子癇、妊娠性急性肝脂肪、妊娠性肝臓内胆汁うっ滞と、結節性再生及び腺腫、癌腫を含む肝癌とが含まれ、また、脂質代謝異常も含まれ、その中には、脂肪肝、胆汁うっ滞、原発性胆汁性肝硬変、カルニチン欠乏症、カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ欠乏症 (carnitine palmitoyltransferase deficiency)、ミオアデニレートデミナーゼ欠乏症 (myoadenylate deaminase deficiency)、hypertriglyceridemia、ファブリー病などの脂質貯蔵病、ゴーシェ病、ニーマン ピック病、変染色性白質ジストロフィー、副腎性白質ジストロフィー、 G_{M2} にガングリオシドーシス、セロイドリポフスチン症、無リポ蛋白血症、タンジアー病、リポ蛋白過剰血症、糖尿病、脂肪異栄養症、脂肪腫症、急性皮下脂肪組織炎、播種性脂肪組織壊死症、有痛脂肪症、リポイド副腎過形成、リポイドネフローゼ、脂肪腫、アテローム性動脈硬化症、高コレステロール血症、高トリグリセリド血症を伴った高コレステロール血症、原発性低リポ蛋白血症 (primary hypoalphalipoproteinemia)、低甲状腺症 (hypothyroidism)、腎臓病、肝疾患、レシチン-コレステロールアシルトランスフェラーゼ欠乏症、脳腱黄色腫症、シトステロール血症 (sitosterolemia)、低コレステロール血症、テイ サックス病、サンドホフ病、高脂血症、脂肪過剰血症、脂質筋障害、肥満症が含まれる。LIPAP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LIPAP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。

【0175】

ある実施態様では、LIPAP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。LIPAP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、制御サンプルと較べて著しく変わっている場合は、サンプル内のLIPAP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。

【0176】

LIPAP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、LIPAP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。

【0177】

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。

【0178】

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狀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。

【0179】

LIPAP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LIPAPをコードするポリヌクレオチドの断片、或いはLIPAP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。

【0180】

LIPAP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。

【0181】

別の実施例では、本明細書に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。

【0182】

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、LIPAP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LIPAP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。

【0183】

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。

【0184】

本発明の別の実施例では、LIPAP、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。LIPAP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。

【0185】

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、LIPAP、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LIPAPが、当分野で周知の方法で検出される。精製されたLIPAP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。

【0186】

別の実施例では、LIPAPと結合可能な中和抗体がLIPAP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、LIPAP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。

【0187】

別の実施例では、発展途上の分子生物学技術にLIPAP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。

【0188】

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。

【0189】

前出及び以下に記載した全ての特許出願、特許、刊行物、特に米国出願通し番号60/120,703及び60/142,762に言及することをもって本明細書の一部とする。

【0190】

(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単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。

【0191】

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。

【0192】

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SUPERScript 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)、pINCY (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DH 10B、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。

【0193】

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。

【0194】

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。

【0195】

3 シークエンシング及び分析

cDNAのシークエンシング反応は、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のシークエ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シークエンシングキットに含まれる試薬を用いた。cDNAのシークエ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シークエンシングシステム(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シークエンシングシステム(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延長した。

【0196】

cDNAのシークエ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。

【0197】

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ンした。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Hidden Markov Model (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、Eddy, S.R. (1996) *Curr. Opin. Struct. Biol.* 6:361-365を参照)。

【0198】

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:13-24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。

【0199】

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)。

【0200】

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。

【0201】

ノーザン分析の結果は、LIPAP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。

【0202】

5 LIPAP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:19 - 24を構築するために用いたcDNA配列を、BLAST及びSmith-Water

man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:19 - 24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 Genomese 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。

【0203】

SEQ ID NO:21の遺伝子マップ位置は、ヒト第11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。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。NCBI "GeneMap'99" ワールドワイドウェブサイト (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genemap/>) などの公共のヒト遺伝子マップ及び他の情報源を用いて、先に同定した疾患遺伝子マップが上記した範囲内或いはその近傍にあるかを決定できる。

【0204】

6 LIPAPをコードするポリヌクレオチドの延長

SEQ ID NO:13 - 24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延長して作製した。一方のプライマーは既知の断片の5'の延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'の延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延長した。

【0205】

選択されたヒトcDNAライブラリを用いてこの配列を延長した。2段階以上の延長が必要な場合、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。

【0206】

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.)を用いて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。

【0207】

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, Eugene 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 µl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延長することに成功したかを決定する。

【0208】

延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、Cvi I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)を用いて延長したクローンをpUC 18ベクター(Amersham Pharmacia Biotech)に再連結し、Pfu DNAポリメラーゼ(Stratagene)で制限部位の伸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 で一晩培養した。

【0209】

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 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 72 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 で5分間
 ステップ7 4 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。

【0210】

同様に上述の手順で、SEQ ID NO:13 - 24のヌクレオチド配列を利用し、この延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。

【0211】

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:13 - 24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、250µCiの[³²P]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10⁷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。

【0212】

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。

【0213】

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。

【0214】

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、Schna, M. 他. (1995) Science 270:467-470; 及び Shalou, 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。

【0215】

9 相補的ポリヌクレオチド

LIPAP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LIPAP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LIPAP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LIPAPをコードする転写物に結合するのを阻害する。

【0216】

10 LIPAPの発現

LIPAP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LIPAP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-Dチオガラクトピラノシド(IPTG)で誘発されるとLIPAPを発現する。真核細胞でのLIPAP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、LIPAP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、Engelhard, 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)。

【0217】

殆どの発現系では、LIPAP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キロダルトンの酵素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LIPAP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LIPAPを直接用いて以下のアッセイを行うことができる。

【0218】

1.1 LIPAP活性の実証

C4ステロール及びオキシステロール、アポリポタンパクE、リン脂質などの選択された候補脂質分子を、マルチウェルプレートのウェルに並べた。LIPAP若しくはその生物学的に活性な断片を¹²⁵Iボルトンハンター試薬で標識した(Bolton A.E. and W.M. Hunter (1973) Biochem. J. 133:529-539を参照)。選択された候補脂質分子を標識したLIPAPと共にインキュベートしてから洗浄した。標識LIP

AP複合体を含む全てのウェルをアッセイした。様々な濃度のLIPAPで得たデータを用いて、LIPAPと結合した候補分子の数及び親和性、会合の値を計算する。

【0219】

1.2 機能的アッセイ

LIPAP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LIPAP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。

【0220】

遺伝子発現におけるLIPAPの影響は、LIPAP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が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。LIPAP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。

【0221】

1.3 LIPAP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LIPAP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。

【0222】

別法では、LIPAP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産生させる。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)。

【0223】

通常、約15残基の長さのオリゴペプチドを、Applied Biosystemsのペプチドシンセサイザ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LIPAP活性を検査するには、ペプチドまたはLIPAP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。

【0224】

1.4 特異的抗体を用いる自然発生LIPAPの精製

自然発生LIPAP或いは組換えLIPAPを、LIPAP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LIPAP抗体とを共有結合させることにより構築する。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。

【0225】

LIPAPを含む培養液をイムノアフィニティークラムに通し、LIPAP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LIPAPとの結合を切るような条件で(例えば、pH 2~3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、LIPAPを回収する。

【0226】

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の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。

【0227】

(表の簡単な説明)

表1は、LIPAP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。

【0228】

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LIPAP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。

【0229】

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。

【0230】

表4は、LIPAP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。

【0231】

表5は、LIPAP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

ポリペプチド 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	13	167190	ADENINR01	161190HI (ADENINR01), 161190R6 (ADENINR01), 686052HI (UTRSNOT02), 1962050R6 (BRSTNOT04), 2318534HI (OVARNOT02), 2583728F6 (BRAITUT22), 3043537HI (HEAANOT01), 3684806T6 (HEAANOT01), 4047892HI (LUNGNOT35), 4335403F6 (KID:TMT01)
2	14	1292575	PGANNOT03	982431T2 (TONGTUT01), 996331R1 (KIDNTUT01), 1292575HI (PGANNOT03), 1478462F1 (CORPNOT02), 1478462T1 (CORPNOT02), 1731035F6 (BRSTTUT08), 1752672F6 (LIVRTUT01), 1752672T6 (LIVRTUT01), 2046050F6 (THP1T7T01), 3111288HI (BRSTNOT17), 5293851HI (COLENOT01)
3	15	2454393	ENDANOT01	548115F1 (BEPINOT01), 2454393HI (ENDANOT01), 3176463T6 (UTRSTUT04), 3742952HI (THYMNCT08), 4415344HI (MONOTXT01), SBIA004456D1, SBIA00571D1, SBIA03468D1, SBIA02429E1
4	16	2766980	BRSTNOT12	027244F1 (SPLNFET01), 084571HI (HYPONOR01), 150574F1 (FIBRANT01), 237612R1 (SINTNOT2), 269891X13 (HINT2NOT01), 416250R1 (BRSTNOT01), 1345369F6 (PROSNOT11), 2766980HI (BRSTNOT12), 2766980X305D1 (BRSTNOT12), 2806266HI (BLADTUT08), 4200618HI (BRAITUT29)
5	17	2768356	COLANOT02	1381442F6 (BRAITUT08), 2120949T6 (BRSTNOT07), 2768356HI (COLANOT02), 2796651F6 (NPOLNOT01)
6	18	5324145	FIBPFEN06	638172F1 (BRSTNOT03), 1440822F6 (THYRNCT01), 1559428F6 (SPLNNOT04), 2236370F6 (PANCUTUT02), 5324145HI (FIBPFEN06)
7	19	1004646	BRSTNOT03	1004646HI (BRSTNOT03), 1004646X312D1 (BRSTNOT03), SCHA04882V1, SBHA00389F1, SCIA00646V1
8	20	1802851	COLNNT27	1811146F6 (PROSTUT12), 2347065T6 (TESTTUT02), 2500280F6 (ADRETUT05), 3076454HI (BONEUNT01)

【表 2】

表 1 - 2

ポリペプチド 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	21	2764333	BRSTNOT12	661437R6 (BRAINOT01), 1551790R6 (PROSNOT06), 1800152T6 (COLNNOT27), 2123941F6 (BRSTNOT07), 2123941T6 (BRSTNOT07), 2185882H1 (PROSNOT26), 2764333H1 (BRSTNOT12), 2764333T6 (BRSTNOT12), 4616050H1 (BRAYDIT01)
10	22	2798021	NPOLNOT01	1311367F1 (COLNFET02), 1458887T6.com (COLNFET02), 2798021F6 (NPOLNOT01), 2798021H1 (NPOLNOT01), 2798021T6.com (NPOLNOT01), 2936035F6 (THYMFET02), 2936035T6.com (THYMFET02)
11	23	3335404	BRAIFET01	090725H1 (HYPCNOB01), 1440011F1 (THYVNOT03), 1593543F1 (BRAINOT14), 1593543T6 (BRAINOT14), 2552343T6 (LUNGTUT06), 2783819H1 (BRSTNOT13), 2885772F6 (SINJNOT02), 2885772T6 (SINJNOT02), 3335404H1 (BRAIFET01)
12	24	3735780	SMCCNOS01	551126H1 (BEPINOT01), 2808373H1 (BLADYTUT08), 3735780F6 (SMCCNOS01), 3735780H1 (SMCCNOS01), 3735780T6 (SMCCNOS01), 4760604T6 (BRAMNOT01)

【表 3】

表 2 - 1

SEQ ID NO:	アミノ酸残基数	潜在リン酸化部位	潜在グリコシル化部位	シグネチャ (signature) 配列	識別	解析方法及びデータベース
1	331	T9 T30 T40 S167 S175 T187 S300 S3 T240 T258 Y15 Y53			アポリポタンパク (g2425058)	BLAST
2	480	T12 S19 S70 S143 S385 T391 T38 T148 S316 S336	N18 N378 N472	オキシステロール結合タンパク質: D35-N472	オキシステロール結合 タンパク質 (g3551523)	MOTIFS PFAM BLOCKS BLAST
3	409	S188 S268 S348 T358 S238 S275 S328 S341	N164	ホスファチジルセリン シカルホキシラーゼ: H161-K174, Y257-P289, N325-H338, G388-F384	ホスファチジルセリン シカルホキシラーゼ (g191185)	BLIMPS-PRODOM BLAST
4	759	S55 T68 S225 S582 T19 T48 S85 S93 S132 S168 S230 S244 S266 S294 T318 S326 T337 S369 T389 S467 S514 S543 S563 S583 S617 S658 S686 S698 S709 T714 S741 S15 S89 S158 S184 S220 S248 S253 T525 S601 S604 S642 T662 Y229	N29 N59 N92 N251 N286 N706	LIMドメイン: R344-Q444	ステロール調節要素 結合タンパク2 (g841318)	MOTIFS ProfileScan PFAM BLOCKS BLAST
5	226	T77 S197 T207 S218 S82 S137 Y56 Y98 Y122	N205	オキシステロール結合タンパク質: D146-H189	オキシステロール結合 タンパク質	BLOCKS
6	500	S402 T14 S50 S52 T80 S242 T254 T403 T473 S46 T106 S244 S435 Y266	N78 N104 N433		G型ニーマン-ピック病関連 遺伝子産物 (g2251248)	BLAST

【表4】

表2-2

SEQ ID NO:	アミノ酸残基数	潜在リン酸化部位	潜在グリコシル化部位	シグネチャ (signature) 配列	識別	解析方法及びデータベース
7	272	S175 S211 T255 T224 T263	N5 N163 N189	シグネチャ (signature) 配列 膜貫通ステロール生成成 オキシステロイドクターゼ: Y48-1263	C4ステロールメチル オキシクターゼ (g116339)	MOTIFS BLAST-GenBank BLIMPS-PRODOM
8	282	S84 T140 S161 S218 T71 T95 T120 T149 S192	N126 N195 N213	シグナルペプチド: M1-G30 原核細胞膜リポタンパク付着部位: A44-C54 ロイシンシツパ-モチーフ: L17-L38 低密度リポタンパク受容体 ドメインクラスA: G52-191、G152-E164	アポリポタンパクE 受容体2 (g1834534)	MOTIFS BLAST-GenBank HMMER-PFAM sigrept BLIMPS-BLOCKS BLAST-PRODOM
9	437	T285 S291 S30 S82 S103 S295 T296 S395 S397 S424 T108 S251 Y267	N335 N393	オキシステロール結合タンパク質 シグネチャ: E134-A144、K18-P271	オキシステロール結合 タンパク質 (g189403)	MOTIFS BLAST-GenBank HMMER-PFAM BLIMPS-BLOCKS BLAST-DMO
10	427	T333 T199 T212 S224 T233 S281 S295 T29 S103 S128 S249 S292 Y151 Y339	N132 N293	ATP結合タンパク質モチーフ: D146-K372	脂肪症において抑制される CDV-1Rタンパク質	MOTIFS BLAST-GenBank BLAST-PRODOM
11	564	T280 T24 S42 S108 T119 S129 T149 S187 S251 S297 S428 S31 S216 T228 S356 S403 S490	N6 N106 N309 N458	C2 (プロテインキナーゼC) ドメイン: A166-F183 シナプトタグミンプロテイン キナーゼモチーフ: A166-S282	Copline I (リン脂質結合タンパク質) (g1791257)	MOTIFS BLAST-GenBank HMMER-PFAM BLAST-PRODOM

【表5】

表2-3

SEQ ID NO:	アミノ酸残基数	潜在リン酸化部位	潜在グリコシル化部位	シグネチャ (signature) 配列	識別	解析方法及びデータベース
12	297	S17 S114 T136 S16	N287	ミトコンドリア輸送タンパク質: E17-1297 クレーブス病輸送 タンパク質モチーフ: P137-T157	類似ヒト ADP/ATPキャリアー タンパク質 (g3879938)	MOTIFS BLAST-GenBank HMMER-PFAM BI,IMPS-PRINTS

【表6】

表3-1

ヌクレオチド SEQ ID NO	選択断片	発現組織 (割合)	疾患若しくは病状 (割合)	ベクター
13	433-477	生殖 (0.250) 胃腸 (0.183) 心血管 (0.144)	細胞増殖 (0.500) 炎症 (0.500)	PBLUESCRIPT
14	202-270	生殖 (0.250) 神経 (0.219) 胃腸 (0.141)	細胞増殖 (0.531) 炎症 (0.313)	pINCY
15	731-802	生殖 (0.235) 神経 (0.176) 胃腸 (0.153) 心血管 (0.129)	細胞増殖 (0.553) 炎症 (0.388)	PBLUESCRIPT
16	875-919 1544-1609	生殖 (0.296) 胃腸 (0.178) 神経 (0.118)	細胞増殖 (0.632) 炎症 (0.276)	pINCY
17	96-155	胃腸 (0.214) 造血/免疫 (0.214) 生殖 (0.214) 心血管 (0.143) 神経 (0.143)	細胞増殖 (0.643) 炎症 (0.357)	pINCY
18	1075-1257	造血/免疫 (0.256) 胃腸 (0.179) 生殖 (0.154) 心血管 (0.128)	細胞増殖 (0.513) 炎症 (0.436)	pINCY

【表7】

表3-2

ヌクレオチド SEQ ID NO	選択断片	発現組織 (割合)	疾患若しくは病状 (割合)	ペクター
19	281-325	生殖(0.250) 胃腸(0.250) 造血/免疫(0.125) 神経(0.125)	癌(0.313) 炎症/外傷(0.376) 細胞増殖(0.124)	PSPORT1
20	218-262	生殖(0.270) 神経(0.175) 胃腸(0.095)	癌(0.508) 細胞増殖(0.238) 炎症/外傷(0.238)	PINCY
21	279-326	神経(0.302) 生殖(0.281) 胃腸(0.146)	癌(0.427) 炎症/外傷(0.323) 細胞増殖(0.094)	PINCY
22	55-99	生殖(0.286) 神経(0.200) 心血管(0.114) 発達(0.114)	細胞増殖(0.286) 癌(0.286) 炎症/外傷(0.246)	PINCY
23	434-478	神経(0.318) 心血管(0.182) 胃腸(0.136)	癌(0.500) 細胞増殖(0.227) 炎症/外傷(0.272)	PINCY
24	219-263	神経(0.231) 心血管(0.231) 造血/免疫(0.154) 生殖(0.154)	癌(0.231) 細胞増殖(0.154) 炎症/外傷(0.154)	PINCY

【表8】

【表 9】

ヌクレオチド SEQ ID NO:	ライブラリ	ライブラリの説明
1 3	ADENINB01	このライブラリは、3歳の児童の炎症アデノイド組織から単離した RNA を用いて作製した。この RNA は Clontech から得た。
1 4	PGANNOT03	このライブラリは、診査開腹術の際に46歳の白人男性の腫腔内の部位から採取したパラガングリオン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、良性のバラガングリオーマを示し、莖膜に侵入していないグレード2の腎細胞癌（明細胞タイプ）に関連していた。
1 5	ENDANOT01	このライブラリは、ある男性の心臓移植の際に外植心臓から採取した大動脈内皮細胞組織から単離した RNA を用いて作製した。
1 6	BRSTNOT12	このライブラリは、32歳白人女性の両側乳房縮小術の際に採取した病変乳房組織から単離した RNA を用いて作製した。病理学的には、非増殖性線維嚢胞症を示していた。家族歴には、良性高血圧症及びびアテローム硬化性冠状動脈疾患が含まれていた。
1 7	COLANOT02	このライブラリは、25歳白人女性の大腸の多数区域切除の際に採取した病変上行結腸組織から単離した RNA を用いて作製した。病理学的には、2cmの付着回腸以外の結腸切除検体の全てが中程度から重度の活動性潰瘍性大腸炎を示していた。検体は、直腸近位からの連続関与を示し、著しい粘膜萎縮はあったが跳躍病変は見られなかった。検体には、顕微鏡的に密で優勢な粘膜炎症及び腺窩膿瘍がみられた。患者の病歴には、良性の大腸腫瘍があった。
1 8	FIBPFEN06	このノーマライズされた前立腺間質線維芽細胞組織ライブラリは、線維芽細胞ライブラリからの 1.56×10^7 個の独立したクローンから作製した。開始 RNA は、妊娠26週目で死亡した胎児（男児）から採取した前立腺間質の線維芽細胞から作製した。このライブラリは、Soares, 他 (1994) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91:9228-9232 及び Bonaldo, 他 (1996) Genome Research 6:791 の条件を用いて2回ノーマライズした。但し、ハイブリダイゼーションの条件に、かなり長い（48時間/回）アニーリングを用いた。

ライブラリの説明		ライブラリ	ライブラリの説明
ヌクレオチド SEQ ID NO:	1 9	BRSTNOT03	このライブラリは、54歳の白人女性の左右の根治的乳房切除術の際に採取した病変乳房組織から単離したRNAを用いて作製した。病理学報告では、関連腫瘍組織は、残留性の浸潤性グレード3の乳腺管の腺癌を示していた。既往症には、腎臓感染及び尖圭コンジロームがあった。家族歴には、良性の高血圧症、高脂血症、及び結腸の悪性腫瘍が含まれていた。
	2 0	COLNNOT27	このライブラリは、31歳の白人男性の全腹腔内結腸切除、虫垂切除術、及び永久的回腸造瘻術の際に採取された病変盲腸組織から単離したRNAを用いて作製した。病理学的には、盲腸から直腸までの結腸に渡る重度の活性なクローン病を示していた。
	2 1	BRSTNOT12	このライブラリは、32歳白人女性の両側乳房縮小術の際に採取した病変乳房組織から単離したRNAを用いて作製した。病理学的には、非増殖性線維囊胞症を示していた。家族歴には、良性高血圧症及びアテローム硬化性冠状動脈疾患が含まれていた。
	2 2	NPOLNOT01	このライブラリは、78歳の白人男性の鼻ポリープ切除術の際に採取された鼻ポリープ組織から単離したRNAを用いて作製した。病理学的には、鼻ポリープおよび著しい好酸球増加症を示していた。患者の病歴には、喘息および鼻ポリープがあった。
	2 3	BRAIFET01	このライブラリは、妊娠34週目に死産で生まれた左心形成不全の白人胎児(男児)から採取した脳組織から単離したRNAを用いて作製した。
	2 4	SMCCNOS01	この差引き冠状動脈平滑筋細胞ライブラリは、処置した冠状動脈平滑筋細胞ライブラリからの7.56×10e6個のクローンを用いて作製し、未処置の冠状動脈平滑筋細胞ライブラリからの6.12×10e6個のクローンで58時間差引きハイブリダイゼーションを2回行った。差引きハイブリダイゼーションのための開始ライブラリは、3歳の白人男児から採取した冠状動脈平滑筋細胞から単離したRNAを用いて作製した。この細胞を、それぞれ10 ng/mlのTNFα及びIL-1βから20時間処置した。差引き用のハイブリダイゼーションプロトコルは、同じドナーからの未処置の冠状動脈平滑筋細胞から単離したRNAで作製した類似のライブラリに由来する。差引きハイブリダイゼーションの条件は、Swroop, 他(1991) Nucleic Acids Res. 19:1954及びBonaldo 他(1996) Genome Research 6:791-806 を基にした。

【表 1 0】

【表 1 1】

研 5 - 1

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定の塩基をマスクするプログラム。	Perkin-Elmer Applied Biosystems, Foster City, CA.	
AB/PARACEL FDF	Fast Data Finderは、アミノ酸または核酸配列の比較及び注釈付け (annotation) に有用である。	Perkin-Elmer Applied Biosystems, Foster City, CA; Paracel Inc., Pasadena, CA.	不一致<50%
ABI AutoAssembler	核酸配列を構築するプログラム。	Perkin-Elmer Applied Biosystems, Foster City, 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り、blastp 及び blastn、blastx、tblastn、tblastx の 5 つの機能がある。	Altschul, S.F.他 (1990) J. Mol. Biol. 215:403-410; Altschul, S.F. 他 (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群との類似性を検索する。FASTA は、fasta 及び tfasta、fastx、tfastx、ssearch の少なくとも 5 つの機能を含む。	Pearson, W.R. and D.J. Lipman (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. 85:2444-2448; Pearson, W.R.(1990) Methods Enzymol. 183: 63-98; Smith, T.F. and M. S. Waterman (1981) Adv. Appl. Math. 2:482-489.	ESTs: fasta E 値=1.0E-6 構築された 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、BLOCKS 及び PRINTS、DOMO、PRODDM、PFAM データベースに対してある配列の配列一致性を調べ、遺伝子ファミリー及び配列相同性、構造的フインガープリント領域を検索する。	Henikoff, S and J.G. Henikoff, Nucl. Acid Res.,19:6565-72, 1991. J.C.I. Henikoff and S. Henikoff (1996) Methods Enzymol. 266:88-105; Artwood, T.K.他 (1997) J. Chem. Inf. Comput. Sci. 37: 417-424.	スコア=1000 以上 スコア/強度=0.75 以上 該当する場合、確率値=1.0E-3 以下
HMMER	PFAM などのタンパク質ファミリーコンセンサス配列の Hidden Markov model (HMM) に基づいたデータベースに対して問合せ配列を検索するアルゴリズム。	Krogh, A. 他 (1994) J. Mol. Biol., 235:1501-1531; Sonnhammer, E.L.L. 他 (1998) Nucleic Acids Res. 26:320-322.	スコア=10-50 ビット、各タンパク質ファミリーによって異なる。

【配列表】

表 5 - 2

プログラム名	説明	引用文献	パラメータ-閾値
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及び配列のモチーフを検索するアルゴリズム。	Gribbskov, M. 他 (1988) CABIOS 4:61-66; Gribbskov, 他 (1989) Methods Enzymol. 183:146-159; Bairoch, A. 他 (1997) Nucleic Acids Res. 25:217-221	ノーマライズされた質のスコア ≥ 特定の Prosite モチーフに対する GCG に特異的な "HIGH" 値 通常、スコア = 1.4-2.1
Phred	高い感度及び確率で自動配列決定機のトレースを調べる塩基読出しアルゴリズムである。	Ewing, B. 他 (1998) Genome Res. 8:175-185; Ewing, B. and P. Green (1998) Genome Res. 8:186-194.	
Phrap	Smith-Waterman アルゴリズムの効率的なインブリメンテーションに基づく SWAT や CrossMatch を含む Phrap's Revised Assembly プログラムであって、配列相同性の検索及び DNA 配列の構築に有用である。	Smith, T.F. and M. S. Waterman (1981) Adv. Appl. Math. 2:482-489; Smith, T.F. and M.S. Waterman (1981) J. Mol. Biol. 147:195-197; Green, P., University of Washington, Seattle, WA.	スコア = 120 以上 一致長さ = 56 以上
Consed	Phrap で構築したものの表示及び編集をするためのグラフィックツールである。	Gordon, D. 他 (1998) Genome Res. 8:195-202.	
SPScan	タンパク質配列をスキヤンして分泌シグナルペプチドの存在を調べる重み付けマトリクス解析プログラムである。	Nielson, H. 他 (1997) Protein Engineering 10: 1-6; Claverie, J.M. and 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したパターンについてアミノ酸配列を検索するプログラムである。	Bairoch 他、前出: Wisconsin Package Program Manual, version 9, page M51-59, Genetics Computer Group, Madison, WI.	

SEQUENCE LISTING

<110> INCYTE PHARMACEUTICALS, INC.
 TANG, Y. Tom
 HILLMAN, Jennifer L.
 YUE, Henry
 AZIMZAI, Yalda
 BAUGHN, Mariah R.
 TRAN, Bao

<120> HUMAN LIPID-ASSOCIATED PROTEINS

<130> PF-0676 PCT

<140> To Be Assigned
 <141> Herewith

<150> 60/120,703; 60/142,762
 <151> 1999-02-19; 1999-07-08

<160> 24

<170> PERL Program

<210> 1
 <211> 331
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> misc_feature
 <223> Incyte ID No: 161190CD1

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

				245					250					255
Ala	Gly	Thr	Thr	Arg	Ala	Val	Ser	Arg	Gly	Ala	Arg	Ile	Leu	Ser
				260					265					270
Ala	Thr	Thr	Ser	Gly	Ile	Phe	Leu	Ala	Leu	Asp	Val	Val	Asn	Leu
				275					280					285
Val	Tyr	Glu	Ser	Lys	His	Leu	His	Glu	Gly	Ala	Lys	Ser	Ala	Ser
				290					295					300
Ala	Glu	Glu	Leu	Arg	Arg	Gln	Ala	Gln	Glu	Leu	Glu	Glu	Asn	Leu
				305					310					315
Met	Glu	Leu	Thr	Gln	Ile	Tyr	Gln	Arg	Leu	Asn	Pro	Cys	His	Thr
				320					325					330
His														

<210> 2
 <211> 480
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> misc_feature
 <223> Incyte ID No: 1292575CD1

<400> 2

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

Lys Leu Asp Glu Asp Ser Gly Lys Ala Asp Ser Asp Val Ala Asp
 335 340 345
 Asp Val Pro Val Ala Gln Glu Thr Val Gln Val Ile Pro Gly Ser
 350 355 360
 Lys Leu Leu Trp Arg Ile Asn Thr Arg Pro Asn Ser Ala Gln
 365 370 375
 Met Tyr Asn Phe Thr Ser Phe Thr Val Ser Leu Asn Glu Leu Glu
 380 385 390
 Thr Gly Met Glu Lys Thr Leu Pro Pro Thr Asp Cys Arg Leu Arg
 395 400 405
 Pro Asp Ile Arg Gly Met Glu Asn Gly Asn Met Asp Leu Ala Ser
 410 415 420
 Gln Glu Lys Glu Arg Leu Glu Glu Lys Gln Arg Glu Ala Arg Arg
 425 430 435
 Glu Arg Ala Lys Glu Glu Ala Glu Trp Gln Thr Arg Trp Phe Tyr
 440 445 450
 Pro Gly Asn Asn Pro Tyr Thr Gly Thr Pro Asp Trp Leu Tyr Ala
 455 460 465
 Gly Asp Tyr Phe Glu Arg Asn Phe Ser Asp Cys Pro Asp Ile Tyr
 470 475 480

<210> 3

<211> 409

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<223> Incyte ID No: 2454393CD1

<400> 3

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

Asp Trp Thr Val Ser His Arg Arg His Phe Pro Gly Ser Leu Met
 275 280
 Ser Val Asn Pro Gly Met Ala Arg Trp Ile Lys Glu Leu Phe Cys
 290 295 300
 His Asn Glu Arg Val Val Leu Thr Gly Asp Trp Lys His Gly Phe
 305 310 315
 Phe Ser Leu Thr Ala Val Gly Ala Thr Asn Val Gly Ser Ile Arg
 320 325 330
 Ile Tyr Phe Asp Arg Asp Leu His Thr Asn Ser Pro Arg His Ser
 335 340 345
 Lys Gly Ser Tyr Asn Asp Phe Ser Phe Val Thr His Thr Asn Arg
 350 355 360
 Glu Gly Val Pro Met Arg Lys Gly Glu His Leu Gly Glu Phe Asn
 365 370 375
 Leu Gly Ser Thr Ile Val Leu Ile Phe Glu Ala Pro Lys Asp Phe
 380 385 390
 Asn Phe Gln Leu Lys Thr Gly Gln Lys Ile Arg Phe Gly Glu Ala
 395 400 405
 Leu Gly Ser Leu

<210> 4
 <211> 759
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> misc_feature
 <223> Incyte ID No: 2766980CD1

<400> 4
 Met Glu Ser Ser Pro Phe Asn Arg Arg Gln Trp Thr Ser Leu Ser
 1 5 10 15
 Leu Arg Val Thr Ala Lys Glu Leu Ser Leu Val Asn Lys Asn Lys
 20 25 30
 Ser Ser Ala Ile Val Glu Ile Phe Ser Lys Tyr Gln Lys Ala Ala
 35 40 45
 Glu Glu Thr Asn Met Glu Lys Lys Arg Ser Asn Thr Glu Asn Leu
 50 55 60
 Ser Gln His Phe Arg Lys Gly Thr Leu Thr Val Leu Lys Lys Lys
 65 70 75
 Trp Glu Asn Pro Gly Leu Gly Ala Glu Ser His Thr Asp Ser Leu
 80 85 90
 Arg Asn Ser Ser Thr Glu Ile Arg His Arg Ala Asp His Pro Pro
 95 100 105
 Ala Glu Val Thr Ser His Ala Ala Ser Gly Ala Lys Ala Asp Gln
 110 115 120
 Glu Glu Gln Ile His Pro Arg Ser Arg Leu Arg Ser Pro Pro Glu
 125 130 135
 Ala Leu Val Gln Gly Arg Tyr Pro His Ile Lys Asp Gly Glu Asp
 140 145 150
 Leu Lys Asp His Ser Thr Glu Ser Lys Lys Met Glu Asn Cys Leu
 155 160 165
 Gly Glu Ser Arg His Glu Val Glu Lys Ser Glu Ile Ser Glu Asn
 170 175 180
 Thr Asp Ala Ser Gly Lys Ile Glu Lys Tyr Asn Val Pro Leu Asn
 185 190 195
 Arg Leu Lys Met Met Phe Glu Lys Gly Glu Pro Thr Gln Thr Lys
 200 205 210
 Ile Leu Arg Ala Gln Ser Arg Ser Ala Ser Gly Arg Lys Ile Ser
 215 220 225
 Glu Asn Ser Tyr Ser Leu Asp Asp Leu Glu Ile Gly Pro Gly Gln
 230 235 240
 Leu Ser Ser Ser Thr Phe Asp Ser Glu Lys Asn Glu Ser Arg Arg
 245 250 255
 Asn Leu Glu Leu Pro Arg Leu Ser Glu Thr Ser Ile Lys Asp Arg
 260 265 270
 Met Ala Lys Tyr Gln Ala Ala Val Ser Lys Gln Ser Ser Ser Thr

				275					280					285
Asn	Tyr	Thr	Asn	Glu	Leu	Lys	Ala	Ser	Gly	Glu	Ile	Lys	Ile	
				290					295					300
His	Lys	Met	Glu	Gln	Lys	Glu	Asn	Val	Pro	Pro	Gly	Pro	Glu	Val
				305					310					315
Cys	Ile	Thr	His	Gln	Glu	Gly	Glu	Lys	Ile	Ser	Ala	Asn	Glu	Asn
				320					325					330
Ser	Leu	Ala	Val	Arg	Ser	Thr	Pro	Ala	Glu	Asp	Asp	Ser	Arg	Asp
				335					340					345
Ser	Gln	Val	Lys	Ser	Glu	Val	Gln	Gln	Pro	Val	His	Pro	Lys	Pro
				350					355					360
Leu	Ser	Pro	Asp	Ser	Arg	Ala	Ser	Ser	Leu	Ser	Glu	Ser	Ser	Pro
				365					370					375
Pro	Lys	Ala	Met	Lys	Lys	Phe	Gln	Ala	Pro	Ala	Arg	Glu	Thr	Cys
				380					385					390
Val	Glu	Cys	Gln	Lys	Thr	Val	Tyr	Pro	Met	Glu	Arg	Leu	Leu	Ala
				395					400					405
Asn	Gln	Gln	Val	Phe	His	Ile	Ser	Cys	Phe	Arg	Cys	Ser	Tyr	Cys
				410					415					420
Asn	Asn	Lys	Leu	Ser	Leu	Gly	Thr	Tyr	Ala	Ser	Leu	His	Gly	Arg
				425					430					435
Ile	Tyr	Cys	Lys	Pro	His	Phe	Asn	Gln	Leu	Phe	Lys	Ser	Lys	Gly
				440					445					450
Asn	Tyr	Asp	Glu	Gly	Phe	Gly	His	Arg	Pro	His	Lys	Asp	Leu	Trp
				455					460					465
Ala	Ser	Lys	Asn	Glu	Asn	Glu	Glu	Ile	Leu	Glu	Arg	Pro	Ala	Gln
				470					475					480
Leu	Ala	Asn	Ala	Arg	Glu	Thr	Pro	His	Ser	Pro	Gly	Val	Glu	Asp
				485					490					495
Ala	Pro	Ile	Ala	Lys	Val	Gly	Val	Leu	Ala	Ala	Ser	Met	Glu	Ala
				500					505					510
Lys	Ala	Ser	Ser	Gln	Gln	Glu	Lys	Glu	Asp	Lys	Pro	Ala	Glu	Thr
				515					520					525
Lys	Lys	Leu	Arg	Ile	Ala	Trp	Pro	Pro	Pro	Thr	Glu	Leu	Gly	Ser
				530					535					540
Ser	Gly	Ser	Ala	Leu	Glu	Glu	Gly	Ile	Lys	Met	Ser	Lys	Pro	Lys
				545					550					555
Trp	Pro	Pro	Glu	Asp	Glu	Ile	Ser	Lys	Pro	Glu	Val	Pro	Glu	Asp
				560					565					570
Val	Asp	Leu	Asp	Leu	Lys	Lys	Leu	Arg	Arg	Ser	Ser	Ser	Leu	Lys
				575					580					585
Glu	Arg	Ser	Arg	Pro	Phe	Thr	Val	Ala	Ala	Ser	Phe	Gln	Ser	Thr
				590					595					600
Ser	Val	Lys	Ser	Pro	Lys	Thr	Val	Ser	Pro	Pro	Ile	Arg	Lys	Gly
				605					610					615
Trp	Ser	Met	Ser	Glu	Gln	Ser	Glu	Glu	Ser	Val	Gly	Gly	Arg	Val
				620					625					630
Ala	Glu	Arg	Lys	Gln	Val	Glu	Asn	Ala	Lys	Ala	Ser	Lys	Lys	Asn
				635					640					645
Gly	Asn	Val	Gly	Lys	Thr	Thr	Trp	Gln	Asn	Lys	Glu	Ser	Lys	Gly
				650					655					660
Glu	Thr	Gly	Lys	Arg	Ser	Lys	Glu	Gly	His	Ser	Leu	Glu	Met	Glu
				665					670					675
Asn	Glu	Asn	Leu	Val	Glu	Asn	Gly	Ala	Asp	Ser	Asp	Glu	Asp	Asp
				680					685					690
Asn	Ser	Phe	Leu	Lys	Gln	Gln	Ser	Pro	Gln	Glu	Pro	Lys	Ser	Leu
				695					700					705
Asn	Trp	Ser	Ser	Phe	Val	Asp	Asn	Thr	Phe	Ala	Glu	Glu	Phe	Thr
				710					715					720
Thr	Gln	Asn	Gln	Lys	Ser	Gln	Asp	Val	Glu	Leu	Trp	Glu	Gly	Glu
				725					730					735
Val	Val	Lys	Glu	Leu	Ser	Val	Glu	Glu	Gln	Ile	Lys	Arg	Asn	Arg
				740					745					750
Tyr	Tyr	Asp	Glu	Asp	Glu	Asp	Glu	Glu						
				755										

<210> 5

<211> 226
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> misc_feature
 <223> Incyte ID No: 2768356CD1

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

<210> 6
 <211> 500
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> misc_feature
 <223> Incyte ID No: 5324145CD1

<400> 6
 Met Tyr Cys Pro Glu Ser Ala Val Ile Leu Leu Ser Thr Thr Val
 1 5 10 15
 Leu Glu Asn Val Leu Gln Pro Phe His Phe Arg Ala Gly Thr Met
 20 25 30
 Ser Lys Leu Pro Lys Phe Glu Ile Glu Leu Pro Ala Ala Pro Lys
 35 40 45
 Ser Thr Lys Pro Ser Leu Ser Glu Arg Asp Ile Ala Met Ala Thr
 50 55 60
 Ile Tyr Gly Gln Leu Tyr Val Leu Phe Leu Arg His His Ser Arg
 65 70 75
 Thr Ser Asn Ser Thr Gly Ala Glu Val Val Leu Tyr His Leu Pro
 80 85 90
 Arg Glu Gly Ala Cys Lys Lys Met His Ile Leu Lys Leu Asn Arg
 95 100 105
 Thr Gly Lys Phe Ala Leu Asn Val Val Asp Asn Leu Val Val Val
 110 115 120

```

His His Gln Asp Thr Glu Thr Ser Val Ile Phe Asp Ile Lys Leu
125 130
Arg Gly Glu Phe Asp Gly Ser Val Thr Phe His His Pro Val Leu
140 145
Pro Ala Arg Ser Ile Gln Pro Tyr Gln Ile Pro Ile Thr Gly Pro
155 160
Ala Ala Val Thr Ser Gln Ser Pro Val Pro Cys Lys Leu Tyr Ser
170 175
Ser Ser Trp Ile Val Phe Gln Pro Asp Ile Ile Ile Ser Ala Ser
185 190
Gln Gly Tyr Leu Trp Asn Leu Gln Val Lys Leu Glu Pro Ile Val
200 205
Asn Leu Leu Pro Asp Lys Gly Arg Leu Met Asp Phe Leu Leu Gln
215 220
Arg Lys Glu Cys Lys Met Val Ile Leu Ser Val Cys Ser Gln Met
230 235
Leu Ser Glu Ser Asp Arg Ala Ser Leu Pro Val Ile Ala Thr Val
245 250
Phe Asp Lys Leu Asn His Glu Tyr Lys Lys Tyr Leu Asp Ala Glu
260 265
Gln Ser Tyr Ala Met Ala Val Glu Ala Gly Gln Ser Arg Ser Ser
275 280
Pro Leu Leu Lys Arg Pro Val Arg Thr Gln Ala Val Leu Asp Gln
290 295
Ser Asp Val Tyr Thr His Val Leu Ser Ala Phe Val Glu Lys Lys
305 310
Glu Met Pro His Lys Phe Val Ile Ala Val Leu Met Glu Tyr Ile
320 325
Arg Ser Leu Asn Gln Phe Gln Ile Ala Val Gln His Tyr Leu His
335 340
Glu Leu Val Ile Lys Thr Leu Val Gln His Asn Leu Phe Tyr Met
350 355
Leu His Gln Phe Leu Gln Tyr His Val Leu Ser Asp Ser Lys Pro
365 370
Leu Ala Cys Leu Leu Leu Ser Leu Glu Ser Phe Tyr Pro Pro Ala
380 385
His Gln Leu Ser Leu Asp Met Leu Lys Arg Leu Ser Thr Ala Asn
395 400
Asp Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Ser Lys His Gln Val Leu Ala
410 415
Ala Leu Arg Phe Ile Arg Gly Ile Gly Gly His Asp Asn Ile Ser
425 430
Ala Arg Lys Phe Leu Asp Ala Ala Lys Gln Thr Glu Asp Asn Met
440 445
Leu Phe Tyr Thr Ile Phe Arg Phe Phe Glu Gln Arg Asn Gln Arg
455 460
Leu Arg Gly Ser Pro Asn Phe Thr Pro Gly Glu His Cys Glu Glu
470 475
His Val Ala Phe Phe Lys Gln Ile Phe Gly Asp Gln Ala Leu Met
485 490
Arg Pro Thr Thr Phe
500

```

```

<210> 7
<211> 272
<212> PRT
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 1004646CD1

```

```

<400> 7
Met Ser Cys His Asn Cys Ser Asp Pro Gln Val Leu Cys Ser Ser
1 5 10 15
Gly Gln Leu Phe Leu Gln Pro Leu Trp Asp His Leu Arg Ser Trp
20 25 30

```

```

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

```

```

<210> 8
<211> 282
<212> PRT
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 1802851CD1

```

```

<400> 8
Met Ser Gly Gly Trp Met Ala Gln Val Gly Ala Trp Arg Thr Gly
  1      5      10      15
Ala Leu Gly Leu Ala Leu Leu Leu Leu Leu Gly Leu Gly Leu Gly
      20      25      30
Leu Glu Ala Ala Ala Ser Pro Leu Ser Thr Pro Thr Ser Ala Gln
      35      40      45
Ala Ala Gly Pro Ser Ser Gly Ser Cys Pro Pro Thr Lys Phe Gln
      50      55      60
Cys Arg Thr Ser Gly Leu Cys Val Pro Leu Thr Trp Arg Cys Asp
      65      70      75
Arg Asp Leu Asp Cys Ser Asp Gly Ser Asp Glu Glu Glu Cys Arg
      80      85      90
Ile Glu Pro Cys Thr Gln Lys Gly Gln Cys Pro Pro Pro Pro Gly
      95     100     105
Leu Pro Cys Pro Cys Thr Gly Val Ser Asp Cys Ser Gly Gly Thr
      110     115     120
Asp Lys Lys Leu Arg Asn Cys Ser Arg Leu Ala Cys Leu Ala Gly
      125     130     135
Glu Leu Arg Cys Thr Leu Ser Asp Asp Cys Ile Pro Leu Thr Trp
      140     145     150
Arg Cys Asp Gly His Pro Asp Cys Pro Asp Ser Ser Asp Glu Leu
      155     160     165
Gly Cys Gly Thr Asn Glu Ile Leu Pro Glu Gly Asp Ala Thr Thr

```

```

170                               175                               180
Met Gly Pro Pro Val Thr Leu Glu Ser Val Thr Ser Leu Arg Asn
185                               190                               195
Ala Thr Thr Met Gly Pro Pro Val Thr Leu Glu Ser Val Pro Ser
200                               205                               210
Val Gly Asn Ala Thr Ser Ser Ser Ala Gly Asp Gln Ser Gly Ser
215                               220                               225
Pro Thr Ala Tyr Gly Val Ile Ala Ala Ala Val Leu Ser Ala
230                               235                               240
Ser Leu Val Thr Ala Thr Leu Leu Leu Leu Ser Trp Leu Arg Ala
245                               250                               255
Gln Glu Arg Leu Arg Pro Leu Gly Leu Leu Val Ala Met Lys Glu
260                               265                               270
Ser Leu Leu Leu Ser Glu Gln Lys Thr Ser Leu Pro
275                               280

```

```

<210> 9
<211> 437
<212> PRT
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 2764333CD1

```

```

<400> 9
Met Ser Glu Glu Lys Asp Cys Gly Gly Gly Asp Ala Leu Ser Asn
1                               5                               10                               15
Gly Ile Lys Lys His Arg Thr Ser Leu Pro Ser Pro Met Phe Ser
20                               25                               30
Arg Asn Asp Phe Ser Ile Trp Ser Ile Leu Arg Lys Cys Ile Gly
35                               40                               45
Met Glu Leu Ser Lys Ile Thr Met Pro Val Ile Phe Asn Glu Pro
50                               55                               60
Leu Ser Phe Leu Gln Arg Leu Thr Glu Tyr Met Glu His Thr Tyr
65                               70                               75
Leu Ile His Lys Ala Ser Ser Leu Ser Asp Pro Val Glu Arg Met
80                               85                               90
Gln Cys Val Ala Ala Phe Ala Val Ser Ala Val Ala Ser Gln Trp
95                               100                              105
Glu Arg Thr Gly Lys Pro Phe Asn Pro Leu Leu Gly Glu Thr Tyr
110                              115                              120
Glu Leu Val Arg Asp Asp Leu Gly Phe Arg Leu Ile Ser Glu Gln
125                              130                              135
Val Ser His His Pro Pro Ile Ser Ala Phe His Ala Glu Gly Leu
140                              145                              150
Asn Asn Asp Phe Ile Phe His Gly Ser Ile Tyr Pro Lys Leu Lys
155                              160                              165
Phe Trp Gly Lys Ser Val Glu Ala Glu Pro Lys Gly Thr Ile Thr
170                              175                              180
Leu Glu Leu Leu Glu His Asn Glu Ala Tyr Thr Trp Thr Asn Pro
185                              190                              195
Thr Cys Cys Val His Asn Ile Ile Val Gly Lys Leu Trp Ile Glu
200                              205                              210
Gln Tyr Gly Asn Val Glu Ile Ile Asn His Lys Thr Gly Asp Lys
215                              220                              225
Cys Val Leu Asn Phe Lys Pro Cys Gly Leu Phe Gly Lys Glu Leu
230                              235                              240
His Lys Val Glu Gly Tyr Ile Gln Asp Lys Ser Lys Lys Lys Leu
245                              250                              255
Cys Ala Leu Tyr Gly Lys Trp Thr Glu Cys Leu Tyr Ser Val Asp
260                              265                              270
Pro Ala Thr Phe Asp Ala Tyr Lys Lys Asn Asp Lys Lys Asn Thr
275                              280                              285
Glu Glu Lys Lys Asn Ser Lys Gln Met Ser Thr Ser Glu Glu Leu
290                              295                              300
Asp Glu Met Pro Val Pro Asp Ser Glu Ser Val Phe Ile Ile Pro

```

				305					310					315
Gly	Ser	Val	Leu	Leu	Trp	Arg	Ile	Ala	Pro	Arg	Pro	Pro	Asn	Ser
				320					325					330
Ala	Gln	Met	Tyr	Asn	Phe	Thr	Ser	Phe	Ala	Met	Val	Leu	Asn	Glu
				335					340					345
Val	Asp	Lys	Asp	Met	Glu	Ser	Val	Ile	Pro	Lys	Thr	Asp	Cys	Arg
				350					355					360
Leu	Arg	Pro	Asp	Ile	Arg	Ala	Met	Glu	Asn	Gly	Glu	Ile	Asp	Gln
				365					370					375
Ala	Ser	Glu	Glu	Lys	Lys	Arg	Leu	Glu	Glu	Lys	Gln	Arg	Ala	Ala
				380					385					390
Arg	Lys	Asn	Arg	Ser	Lys	Ser	Glu	Glu	Asp	Trp	Lys	Thr	Arg	Trp
				395					400					405
Phe	His	Gln	Gly	Pro	Asn	Pro	Tyr	Asn	Gly	Ala	Gln	Asp	Trp	Ile
				410					415					420
Tyr	Ser	Gly	Ser	Tyr	Trp	Asp	Arg	Asn	Tyr	Phe	Asn	Leu	Pro	Asp
				425					430					435
Ile	Tyr													

<210> 10
 <211> 427
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> misc_feature
 <223> Incyte ID No: 2798021CD1

<400> 10

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

Cys Ala Ala Gly Leu Glu Ser Asn Arg Ser Lys Leu Glu Gln Glu
 290 295 300
 Val Arg Arg Leu Arg Glu Glu Cys Leu Gln Glu Glu Ser Arg Tyr
 305 310 315
 His Tyr Thr Asn Cys Met Ile Lys Asn Leu Glu Val Gln Leu Arg
 320 325 330
 Arg Ala Thr Asp Glu Met Lys Ala Tyr Ile Ser Ser Asp Gln Gln
 335 340 345
 Glu Lys Arg Lys Ala Ile Arg Glu Gln Tyr Thr Lys Asn Thr Ala
 350 355 360
 Glu Gln Glu Asn Leu Gly Lys Lys Leu Arg Glu Lys Gln Lys Val
 365 370 375
 Ile Arg Glu Ser His Gly Pro Asn Met Lys Gln Ala Lys Met Trp
 380 385 390
 Arg Asp Leu Glu Gln Leu Met Glu Cys Lys Lys Gln Cys Phe Leu
 395 400 405
 Lys Gln Gln Ser Gln Thr Ser Ile Gly Gln Val Ile Gln Glu Gly
 410 415 420
 Gly Glu Asp Arg Leu Ile Leu
 425

<210> 11
 <211> 564
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> misc_feature
 <223> Incyte ID No: 3335404CD1

<400> 11
 Met Asp Ser Arg Tyr Asn Ser Thr Ala Gly Ile Gly Asp Leu Asn
 1 5 10 15
 Gln Leu Ser Ala Ala Ile Pro Ala Thr Arg Val Glu Val Ser Val
 20 25 30
 Ser Cys Arg Asn Leu Leu Asp Arg Asp Thr Phe Ser Lys Ser Asp
 35 40 45
 Pro Ile Cys Val Leu Tyr Val Gln Gly Val Gly Asn Lys Glu Trp
 50 55 60
 Arg Glu Phe Gly Arg Thr Glu Val Ile Asp Asn Thr Leu Asn Pro
 65 70 75
 Asp Phe Val Arg Lys Phe Ile Leu Asp Tyr Phe Phe Glu Glu Arg
 80 85 90
 Glu Asn Leu Arg Phe Asp Leu Tyr Asp Val Asp Ser Lys Ser Pro
 95 100 105
 Asn Leu Ser Lys His Asp Phe Leu Gly Gln Val Phe Cys Thr Leu
 110 115 120
 Gly Glu Ile Val Gly Ser Gln Gly Ser Arg Leu Glu Lys Pro Ile
 125 130 135
 Val Gly Ile Pro Gly Lys Lys Cys Gly Thr Ile Ile Leu Thr Ala
 140 145 150
 Glu Glu Leu Asn Cys Cys Arg Asp Ala Val Leu Met Gln Phe Cys
 155 160 165
 Ala Asn Lys Leu Asp Lys Lys Asp Phe Phe Gly Lys Ser Asp Pro
 170 175 180
 Phe Leu Val Phe Tyr Arg Ser Asn Glu Asp Gly Ser Phe Thr Ile
 185 190 195
 Cys His Lys Thr Glu Val Val Lys Asn Thr Leu Asn Pro Val Trp
 200 205 210
 Gln Ala Phe Lys Ile Ser Val Arg Ala Leu Cys Asn Gly Asp Tyr
 215 220 225
 Asp Arg Thr Ile Lys Val Glu Val Tyr Asp Trp Asp Arg Asp Gly
 230 235 240
 Ser His Asp Phe Ile Gly Glu Phe Thr Thr Ser Tyr Arg Glu Leu
 245 250 255
 Ser Arg Gly Gln Ser Gln Phe Asn Val Tyr Glu Val Val Asn Pro
 260 265 270

Lys Lys Lys Gly Lys Lys Lys Lys Tyr Thr Asn Ser Gly Thr Val
 275 280 285
 Thr Leu Leu Ser Phe Leu Val Glu Thr Glu Val Ser Phe Leu Asp
 290 295 300
 Tyr Ile Lys Gly Gly Thr Gln Ile Asn Phe Thr Val Ala Ile Asp
 305 310 315
 Phe Thr Ala Ser Asn Gly Asn Pro Ala Gln Pro Thr Ser Leu His
 320 325 330
 Tyr Met Asn Pro Tyr Gln Leu Asn Ala Tyr Gly Met Ala Leu Lys
 335 340 345
 Ala Val Gly Glu Ile Val Gln Asp Tyr Asp Ser Asp Lys Met Phe
 350 355 360
 Pro Ala Leu Gly Phe Gly Ala Lys Leu Pro Pro Asp Gly Arg Ile
 365 370 375
 Ser His Glu Phe Ala Leu Asn Gly Asn Pro Gln Asn Pro Tyr Cys
 380 385 390
 Asp Gly Ile Glu Gly Val Met Glu Ala Tyr Tyr Arg Ser Leu Lys
 395 400 405
 Ser Val Gln Leu Tyr Gly Pro Thr Asn Phe Ala Pro Val Ile Asn
 410 415 420
 His Val Ala Arg Tyr Ala Ser Ser Val Lys Asp Gly Ser Gln Tyr
 425 430 435
 Phe Val Leu Leu Ile Val Thr Asp Gly Val Ile Ser Asp Met Ala
 440 445 450
 Gln Thr Lys Glu Ser Ile Val Asn Ala Ser Lys Leu Pro Met Ser
 455 460 465
 Ile Ile Ile Val Gly Val Gly Pro Ala Glu Phe Asp Ala Met Val
 470 475 480
 Glu Leu Asp Gly Asp Asp Val Arg Val Ser Ser Arg Gly Lys Tyr
 485 490 495
 Ala Glu Arg Asp Ile Val Gln Phe Val Pro Phe Arg Asp Tyr Ile
 500 505 510
 Asp Arg Ser Gly Asn His Ile Leu Ser Met Ala Arg Leu Ala Lys
 515 520 525
 Asp Val Leu Ala Glu Ile Pro Glu Gln Phe Leu Ser Tyr Met Arg
 530 535 540
 Ala Arg Gly Ile Lys Pro Ser Pro Ala Pro Pro Pro Tyr Thr Pro
 545 550 555
 Pro Thr His Val Leu Gln Thr Gln Ile
 560

<210> 12
 <211> 297
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> misc_feature
 <223> Incyte ID No: 3735780CD1

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

Ser Gly Val Ala Ala Val Leu Ala Gly Thr Thr Glu Ala Ile Phe
 125 130 135
 Thr Pro Leu Glu Arg Val Gln Thr Leu Leu Gln Asp His Lys His
 140 145 150
 His Asp Lys Phe Thr Asn Thr Tyr Gln Ala Phe Lys Ala Leu Lys
 155 160 165
 Cys His Gly Ile Gly Glu Tyr Tyr Arg Gly Leu Val Pro Ile Leu
 170 175 180
 Phe Arg Asn Gly Leu Ser Asn Val Leu Phe Phe Gly Leu Arg Gly
 185 190 195
 Pro Ile Lys Glu His Leu Pro Thr Ala Thr Thr His Ser Ala His
 200 205 210
 Leu Val Asn Asp Phe Ile Cys Gly Gly Leu Leu Gly Ala Met Leu
 215 220 225
 Gly Phe Leu Phe Phe Pro Ile Asn Val Val Lys Thr Arg Ile Gln
 230 235 240
 Ser Gln Ile Gly Gly Glu Phe Gln Ser Phe Pro Lys Val Phe Gln
 245 250 255
 Lys Ile Trp Leu Glu Arg Asp Arg Lys Leu Ile Asn Leu Phe Arg
 260 265 270
 Gly Ala His Leu Asn Tyr His Arg Ser Leu Ile Ser Trp Gly Ile
 275 280 285
 Ile Asn Ala Thr Tyr Glu Phe Leu Leu Lys Val Ile
 290 295

<210> 13
 <211> 2174
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <220>
 <221> misc_feature
 <223> Incyte ID No: 161190CB1

<400> 13
 ggatccacac agctcagaac agctggatct tgctcacact ctttcaagag aagcttcctt 60
 ggacaaaagg accctgcctt ggtgtgagag tgagggcaga gggagctgga gcaagtagaa 120
 tttctctaaa taccagctgg ctggggccca ggagattaaa aaacaccggg ctagggttaa 180
 gaaaaaaaaac gaacccttcc agtcagggtca gtgactggag agctccaagg aaagtctctc 240
 agtgacctgg ctgctggcac catggactca gaaaagaaac gctttactga agaggccacc 300
 aaatacttcc gggagagagt cagcccagtg catctgcaaa tcttgctgac taacaatgaa 360
 gcctggaaga gattcgtgac tgcggctgaa ttgccaggg atgaggcaga tgctctctac 420
 gaagctctga agaagcttag aacatagca gctattgagg acgaatatgt gcagcagaaa 480
 gatgagcagt ttagggaatg gtttttgaaa gagtttcccc aagtcaagag gaagatccag 540
 gagtccatag aaaagcttcc tgcccttgca aatggtattg aagaggcca cagaggctgc 600
 accatctcca atgtggtgtc cagctccact ggcgctgct ctggcatcat gtccttgcct 660
 ggtcttgttt tggcaccatt tacagcaggg acgagtctgg cccttactgc agctgggta 720
 gggctgggag cagcgtctgc tgtgactggg atcaccacca gcatcgtgga gcactcatac 780
 acatcatcag cagaagctga agccagcagg ctgactgcaa ccagcattga ccgattgaag 840
 gtatttaagg aagttatgcg tgacatcaca cccaacttac tttcccttct taataattat 900
 tacgaagcca cacaaacat tgggagtgaa atccgtgcca tcaggcaagc cagagccagg 960
 gcccgactcc ctgtgaccac ctggcgaatc tcagctgga gtggagggtca agcagagaga 1020
 acgattgcag gcaccacccg ggcagtgagc agaggagccc ggatcctgag tgcgaccact 1080
 tcaggcatct tccttgcact ggatgtggtc aacctgtat acgagtcaaa gcacttgcat 1140
 gagggggcaa agtctgcatc tgctgaggag ctgaggcggc aggctcagga gctggaggag 1200
 aatctaattg agtccactca gatctatcag cgtctgaatc catgccatac ccaactgacc 1260
 cagaccagtg cagccagcag gggaggtgag ccatacacag gccacgacaa aatgcaggca 1320
 ttttattagg gggataaaga gggcaaggta aagtttatgg agctgagtgt tagtgacttt 1380
 ggcatttctg tagctgagca cagcagggga ggggttaatg cagatggcaa gtgcaccaag 1440
 gagaaggcag gaatgctgga gcctggaata agggaaagaga ggggactgga gagtgtgggg 1500
 aataggaaga agaaatttcc tttagactaa cgaatatatt ggggggagga atagagggga 1560
 ggtgtgcagg aaccagcaat gagaaggcca ggaaaagaaa gagctgaaaa tgcagaaagc 1620
 cgaagagtta gaacttttgg atacagcaga agaaacagcg gctccactac cgacctgccc 1680
 ccggttcgat gtccttccaa gaatgaagtc tttccctggt gatggctccc tgcctgtct 1740
 ttccagcatc cactctgtct tgcctctctg gaagtgtatc tcagtcagcc agtggcttct 1800
 tgatgatggc ggtggaggtg gtggtgtgtag tgtgatggat cccctttagg ttatttaggg 1860
 gtatatgtcc cctgcttgaa ccctgaaggc caggtaatga gccatggcca ttgtcccccag 1920

```

ctgaggacca ggtgtctcta aaaacccaaa catcctggag agtatgagag aacctaccaa 1980
gaaaaacagt ctcatctact atatacagca ggcaaaagaga cagaaaatta actgaaaagc 2040
agtttagaga ctgggggagg ccgatctct agagccatcc tgctgagtgc cctgtgtgta 2100
agtccctaata aactcaccta ctcacccaaa aaaaaaacga aaaactaaag aacaggagaa 2160
aaaaagggga gggc

```

```

<210> 14
<211> 2620
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 1292575CB1

```

```

<400> 14
agtgagctcg gccggcaacc gagggaccgg cgtccagatc ttcagtgtct attggatttt 60
tccaagagaa agtttgtaaa attccttaca ctgtagatgt ggatcagata cgatgattca 120
gtagaagagc acatgtcagg ggcagtgagg gctggctgct gaaggatgaa cggagaggaa 180
gaattctttg atgccgtcac aggcctttgat tctgataact cttctgggga attttcagag 240
gcaaatcaga aagtcacggg aatgattgac ttagacacca gcaaaaataa taggattggg 300
aaaactgggg agaggccctc tcaagagaac ggaattcaga aacacaggac atcctgccc 360
cccctggaga ggatgcagtc cgacttcagc gtgtggacca tctgaagaa gtgtgttggc 420
ctggagctgt ccaagatcac gatgccaatc gccttcaacg agcctctgag cttcttgca 480
cggatcacgg agtacatgga gcacgtgtac ctcattccaca gggcctcctg ccagccccag 540
cccctggaga ggatgcagtc tgtggctgct tttgctgttt cggctgtggc tccccagtg 600
gagaggaccg gcaaacatt taatccactc ttgggagaaa cgtatgaatt aatcagggaa 660
gatttaggat tcagatttat atcggaacag gtcagtccac acccccccat cagtgcgttc 720
cactcgggaag gtctcaacca tgacttctctg ttccatggct ccacttacc caagctcaag 780
ttctggggca aaagcgtgga ggcggagccc cgaggacca tcacctgga gctgtcaaa 840
cataatgaag cctacacctg gaccaacccc acctgctgcg tccacaacgt catcatcggg 900
aagctgtgga tagagcagta tgggacagtg gagattttaa accacagaac tggacataag 960
tgtgtgcttc actttaaac gtgtggatta tttgaaaag aacttcacaa ggtggaagga 1020
cacattcaag acaaaaaaca aaagaagctc tttatgatct atggcaaatg gacggaatgt 1080
ttgtggggca tagatcctgt ttcgtatgaa tccttcaaga agcaggagag gagaggtgac 1140
cacctgagaa agccaagct ggatgaagac tccgggaagg ctgacagcga cgtggctgac 1200
gacgtgcctg tggcccagga gaccgtgcag gtcattcctg gcagcaagct gctctggagg 1260
atcaacaccc gcccccacaa ctctgcccag atgtataatt tcaccagttt cactgtgagc 1320
ctcaacgagc tggagacagg catggagaag accctgccac ccacggactg ccgctgcgc 1380
cctgacatcc gcgcatgga gaatggcaac atggatctgg ccagccagga gaaggagcgg 1440
ctggaggaga agcagagaga agcacggagg gagcgggcca aggaggaggc agagtggcag 1500
acgaggtggt tctacccagg caataacccc tacactggga cccccgactg gttgtatgca 1560
ggggattact ttgagcggaa tttctccgac tggccagata tctactgagg gcctggagg 1620
cctggggcc cgggaccgga ggctgacgag gctggacttc ctgagtggc cactgtgagc 1680
ctcgtcacag cagaaaccaa cttttctaac gactgagttc gcggagatag catcatccct 1740
gatcaaggat gtaattctaa ttaactgttg attgccaaac atttcactct gctgtgccgt 1800
ctcttcataa agcttcactt gggatcatcg tcttcattaa ggtttcaaca gggaaattct 1860
tcacggcgcc cttttatgtg gcagaaatca gctggggctt gtttagcttc cagcacactc 1920
tcagtcatag catgtgtagc taaaggaagt aatgggaagg ggttcatggt ctctttataa 1980
tgcaaggcca aaaggttctg aaagcctttt aaactcgaac cagtggggga aagatggatc 2040
ttgaagctaa tcctgcagag agttttatag aggccagggg ttgccttcta aattatgata 2100
aaacagaagt gaagagtttc agagcatcag attgagtgaa aagttgtcag attctgtatt 2160
ttttaacaat cttcaataat gtaagatta cttttaaaat atttaagtta aaactacttg 2220
aatagtattt tgctgaagag caagatatgc ataatcacc ggttttatac tgtccaaaat 2280
gaagcatccc cgtgacaaac cagagtgggc agaagcatcg agagegtgac aggaaatccc 2340
aagactgctt ccgcctcaga ggcgtcccgg ctgcatctcg ctgccctggt gtcagtgagg 2400
cctggctgtc accgcacacc gcgtccgtgt ctccaggggg ttctttctt ctcacacgctc 2460
gcgtgtaccc atagcactct tgtgttctg tttttcccag tatgcatggt taaaatagaa 2520
gtgacaagaa tcacatccgg ttgtgtcctg tgggagggtc agaggcagaa tctacttaca 2580
gtggtgtaat taaagttatt taacccaaaa aaaaaaaaaa 2620

```

```

<210> 15
<211> 2426
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

<220>
 <221> misc_feature
 <223> Incyte ID No: 2454393CB1

<400> 15
 gaaacactag acatgatagc aattcagagct cgtacccttc gaggcacgct gagaaggagc 60
 agacaagatg gcgacgtccg tggggcaccg atgtctggga ttactgcacg gggtcgcgcc 120
 gtggcggagc agcctccatc cctgtgagat cactgcoctg agccaatccc tacagccctt 180
 acggaagctg ccttttagag cctttcgcac agatgccaga aaaatccaca ctgccctcgc 240
 ccgaaccatg ttcctgctgc gtcccctgcc cattctgttg gtgacaggcg gcggttatgc 300
 agggatcccg cagtatgaga agtacagggg gcgagagctg gagaagctgg gattggagat 360
 tccaccctaaa cttgctgggtc actgggaggt ggctttgtac aagtcagtg ccaacgcgctt 420
 gctgtcacgg gcctggggtc gcctcaatca ggtggagctg ccacactggc tgcgcaggcc 480
 cgtctacagc ctgtacatct ggacgtttgg ggtgaacatg aaagaggccg ctgctggagga 540
 cctgcatacgc taccccaacc tcagcgagtt cttccggcgc aagctgaagc cgcaggcccg 600
 cctgtctctg ggccctgcaca gcgtgattag cccatcggat ggaaggatcc tcaactttgg 660
 gcaggcgaag aactgtgagg tggagcaggt aaagggggtc acctactccc tggagtcggt 720
 cctgggcccc cgtatgtgca cagaggacct gcccttccca ccagccgctg cgtgtgactc 780
 cttcaagaac cagctggcca cccgggaagg gaatgagctc tatcactgtg tcatctacct 840
 ggccctggg gactaccact gcttccactc ccccaccgac tggactgtgt cccaccggcg 900
 ccactcccca ggctccctga tgtcagtgaa ccctggcatg gctcctggga tcaaaagact 960
 cttctgccat aacgagcggg tggctctgac gggggactgg aaacatggct tcttctcact 1020
 gatcagctgt gggggcacca acgtggctc cattcgcate tactttgacc gggacctgca 1080
 cacaaacagc ccaaggcaca gcaagggtc ctacaatgac ttcagcttcg tgacgcacac 1140
 caatagagag ggcgtcccca tgcgtaaggg cgagcacctg ggcgagttca acctgggctc 1200
 caccatcgtg ctcatcttcg aggcccccaa ggacttcaat ttccagctga aaacaggaca 1260
 gaaaatccgc tttggggaag cccctgggtc gctctagagt ctctttcctg attatggctg 1320
 ctaagggatc ttttccaaac agagtgaggg tcttttcaag agggaggccc atgaggccat 1380
 ccaggtaagg gcctgcctca gcgtggttg gactctgacc aggtaggact tgaatgattc 1440
 ggctaccacc tgttccagag gtgcagacaa gaggtggcga gagccccat catgcccctc 1500
 aacctatccc gttcctctcgt cctacaata aaaagtgcag gctggaatga totcagtcac 1560
 atttggatc ttttaaacac tgtatagacg gaagagcctg cattctctgac cgaaccttca 1620
 gttggtctcg gttgtcgttt tttcttctg ctcctccccc catcacctga gctgttttct 1680
 gttggccctc tttgtttttt ggccctaacg ctctctgctc acagggtgag gtacctcctt 1740
 ggcacagact gtggatgcct ctccccagc agagccacac agccttctg acaactgctt 1800
 tccgttccca cattcacctc atcctgctct ttagaaaaag cagtctttgt gcttgaggct 1860
 gaacgcatca ccoctggactc tgctagtgtc ttctgaggac actgatgaca ctgattaatg 1920
 atacagacct ttgcaggacc tgatgagtga cccttctgga gctggccagg tcctctgcag 1980
 caggtaagac caatcaatca ctgaacctgc ctcatggcac cagagtgaac agggcaggca 2040
 ggtagtaggc ccagctgggg aaatgggaga gttcctgtcc cctccacat atccctacat 2100
 gaaatatggg aaagtgtctg ctattgatcc agggctgtc ttggaggcag aggacccttg 2160
 gtggatagtt ggtcagtgcc tggaaaacct gtcccagttt atcaggaaac caggccctgg 2220
 gagccccagc tggcggggac agggccagat ttcattgtga cctggggat gctgtgaatt 2280
 tctcctgcag gagagacatc attgaaatct tccaactgta tcagtagcac agtatcttg 2340
 tatgaaaagt gggagacttc tgaacagtaa ttcatttaat tgcaaagcat tttgaaataa 2400
 aaaaaatcaa acttaaaaa aaaaaa 2426

<210> 16
 <211> 3705
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> misc_feature
 <223> Incyte ID No: 2766980CB1

<400> 16
 ggccgcagga gcagtaggtg ttagcagctt ggtcgcgaca ggtgcgctag gtagagcggc 60
 gggacctgtg acagggctgg tagcagcgca gaggaaaggc ggtcttttagc caggatatttc 120
 agtgtctgta gacaagatgg aatcatctcc atttaataga cggcaatgga cctcactatc 180
 attgagggta acagccaaag aactttctct tgtcaacaag aacaagtcac cggctattgt 240
 ggaaatattc tccaagtacc agaaagcagc tgaagaaaca aacatggaga agaagagaag 300
 taacaccgaa aatctctccc agcactttag aaaggggacc ctgactgtgt taaagaagaa 360
 gtgggagaac ccagggctgg gagcagagtc tcacacagac tctctacgga acagcagcac 420
 tgagattagg cacagagcag accatcctcc tgctgaagtg acaagccacg ctgcttctgg 480
 agccaaagct gaccaagaag aacaaatcca cccagatct agactcaggt cacctcctga 540
 agccctcgtt cagggtcgat atccccacat caaggacggt gaggatctta aagaccactc 600

```

aacagaaagt aaaaaaatgg aaaattgtct aggagaatcc aggcgatgaag tagaaaaatc 660
agaaatcagt gaaaacacag atgcttcggg caaaatagag aaatataatg ttccgctgaa 720
caggcctaag atgatgtttg agaaaggtga accaactcaa actaagattc tccgggcccc 780
aagccgaagt gcaagtgga ggaagatctc tgaaaacagc tattctctag atgacctgga 840
aataggcccc ggtcagttgt catctttctac atttgactcg gagaaaaatg agagtagacg 900
aaatctggaa cttccacgcc tctcagaaac ctctataaag gatcgaatgg ccaagtacca 960
ggcagctgtg tccaaacaaa gcagctcaac caactataca aatgagctga aagccagtgg 1020
tggcgaatc aaaattcata aaatggagca aaaggagaat gtgccccag gtccctgaggt 1080
ctgcatcacc catcaggaag gggaaaagat ttctgcaaat gagaatagcc tggcagtcgg 1140
ttccaccctt gccgaagatg actcccgtga ctcccaggtt aagagtgagg ttcaacagcc 1200
tgtccatccc aagccactaa gtccagatcc cagagctccc agtctttctg aaagtctccc 1260
tcccaaaagca atgaagaagt ttcaggcacc tgcaagagag acctgctgtg aatgtcagaa 1320
gacagtctat ccaatggagc gtctcttggc caaccagcag gtgtttcaca tcagctgctt 1380
ccgttgctcc tattgcaaca caaaactcag tctaggaaca tatgcatctt tacatggaag 1440
aatctattgt aagcctcact tcaatcaact cttaaactct aagggcaact atgatgaag 1500
ctttgggcac agaccacaca aggatctatg ggcaagcaaa aatgaaaacg aagagatttt 1560
ggagagacca gccagcttg caaatgcaag ggagaccctt cacagcccag gggtagaaga 1620
tgccccatt gctaagtggt gtgtcctggc tgcaagtatg gaagccaagg cctcctctca 1680
gcaggagaag gaagacaagc agctgaaac caagaagctg aggatcgcct gcccaccctc 1740
cactgaactt ggaagttcag gaagtgcctt ggaggaaggg atcaaaatgt caaagcccaa 1800
atggcctcct gaagacgaaa tcagcaagcc cgaagttcct gaggatgtcg atctagatct 1860
gaagaagcta agacgatctt ctctactgaa ggaagaagc cgcctatca ctgtagcagc 1920
ttcatttcaa agcacctctg tcaagagccc aaaaactgtg tccccacta tcaggaagg 1980
ctggagcatg tcagagcaga gtgaagagtc tgtgggtgga agagttgcag aaaggaaaca 2040
agtggaaaat gccaaagctt ctaagaagaa tgggaatgtg ggaaaaacaa cctggcaaaa 2100
caaagaatct aaaggagaga caggaagag aagtaaggaa ggtcatagtt tggagatgga 2160
gaatgagaat ctgtgagaaa atgggtgcaga ctccgatgaa gatgataaca gcttctcaa 2220
acaacaatct ccacaagaa ccaagtctct gaattggtcg agtttttagt acaacacctt 2280
tgctgaagaa ttcactactc agaatcagaa atcccaggat gtggaactct gggaggggaga 2340
agtggtcaaa gagctctctg tggagaagaa gataaagaga aatcggatt atgatgagga 2400
tgaggatgaa gagtgacaaa ttgcaatgat gctgggcctt aaattcatgt tagtgtttagc 2460
gagccactgc cttttgtcaa aatgtgatgc acataagcag gtatcccagc atgaaatgta 2520
atftacttgg aagtaacttt ggaagaagaa tccttcttaa aatcaaaaac aaaaacaaaa 2580
aacacaaaaa acacattcta aatactagag ataactttac ttaaaattctt catttttagca 2640
gtgatgatat gcataagtgc tgaaggctt gtaactggg aaatattcca ctgataata 2700
gccagatcc tactgtattc ccaaaaggca atattaaggt agatagatga ttagtagtat 2760
attgttacac actattttgg aattagagaa catacagaag gaatttaggg gcttaaacat 2820
taogactgaa tgcactttag tataaagggc acagtttcta tattttttaa tgaataccaa 2880
tttaattttt tagtatttac ctgttaagag attatttagt ctttaaaatt tttaggttaa 2940
ttttcttggc gtgatataba tgaggaattt actactttat gtctgtctct ctaaactaca 3000
tcctgaaact cagtcctga ggtataatac aacagagcac tttttgaggc aattgaaaaa 3060
ccaacctaca ctcttcggtg cttagagaga tctgctgtct cccaaataag cttttgtatc 3120
tgccagtgaa ttactgtac tccaaatgat tgctttcttt tctggtgata tctgtgcttc 3180
tcataattac tgaagctgc aatattttag taataccttc gggatcactg tccccatct 3240
tccgtgttag agcaaagtga agagttttaa ggaggaagaa gaaagaactg tcttacacca 3300
cttgagctca gacctctaaa ccctgtattt ccottatgat gtcccctttt tgagacacta 3360
atttttaaatt acttactagc tctgaaatat attgattttt atcacagtat tctcaggggtg 3420
aaattaaaac aactatagc ctttttcttg ggatgatttt ctagtcttaa ggtttgggga 3480
cattataaac ttgagtacat ttgtgtaca cagttgatat tccaaattgt atggatggga 3540
gggagagggt tcttaagctg taggcttttc tttgtactgc atttatagag atttagcttt 3600
aatatttttt agagatgtaa aacattctgc tttcttagtc ttacctagtc tgaaacattt 3660
ttattcaata aagattttta ttaaaatttg aaaaaaaaa aaaaa 3705

```

```

<210> 17
<211> 1273
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<n>
<220>
<221> unsure
<222> 1237
<223> a or g or c or t, unknown, or other

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 2768356CB1

```

```

<400> 17
gccaccatcc gcctatctct gcggtgcatg ctgagtctag aaatthttgtt ttctggcaag 60
atgtgagatg gaaaaacaaa ttctggggca aatccatgga aattgttcca attggcacia 120
cccataacat ctttaagcggg tttggggatc atthttgagtg gaacaaagtg acctcttgca 180
tccataacat ctttaagcggg cagagggtgga ttgagcacta tggagagatt gtcatacaaga 240
acctgcatga tgattcctgc tactgcaaag tgaatthttat aaaggcaaaa tactggagca 300
ctaattgccc tgagattgaa ggcacagtgt ttgacaggag tggaaaagcg gttcatcggc 360
tgthttgggaa atggcatgaa agcatctact gtggcggcgg ctcctcttct gctgtgtgat 420
ggagagcaaa tccatgccc aaaggctacg agcaatacta tagcttcaca cagtttgcc 480
tggaattaaa tgaattggat ccatcatcaa agtctthttat gccacctact gacctcgc 540
ttaggccaga ccagaggtht cttagaggaag ggaacttaga agaagctgaa atacaaaagc 600
agaggattga acaactgcag agagaaaggc ggcgggtctt agaagaaaat catgtggagc 660
accagcctcg gthtttcagg aaatccgacg atgactcttg ggtgagcaac ggcacctatt 720
tggaaacttag aaaagatctt gthttttcca aactggacca tctctgtcta tggtaaaaa 780
gtaaaagaag aagataacat tagtgtatth ctctgtgtct tgctctctga agtggcacia 840
acctgtgtth atatathtaa aagatactct aggatgata cttgtgtcta gcttagcatt 900
gtaactctth aagtctatat thtctctcag gctgtcttht acaatthtcaa atgttacct 960
gattgttht atgaattgtag aacacctgta cthttcttht tataataaaa ctatthtaata 1020
aaaatgaaag attgaattgt catgtgtggg thaaaaaaag aagctthtcaa actaathttc 1080
caaaggthtag ggaagattcc aatthaaath atgcttata aaatthtgtt gtgaaaaaaa 1140
tatcaacctc tccaggtgac atthaaagaa aagaattccc aggttactc acctatgct 1200
aagctacca gthtaathttg ttagctgaaa thctthtttg cctcagacag ctcttgatt 1260
gctcatacag aca

```

```

<210> 18
<211> 1733
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 5324145CB1

```

```

<400> 18
gccaacattc taggattctg ctggactagt tcaactgaaa ttgtcttcat aacagatcaa 60
ggaatcgaat thtaccaggt attaccagag aaacggagtc tgaactctt gaagagccac 120
aatctcaatg tgaattggta catgtactgc cccgagagcg cctgtactt gctgtctacc 180
acggctctgg agaattgctc gcagccttht cactthaggg ctggcactat gtcgaagctg 240
ccaaaathtg agattgaaht accagctgcg cctaagtcaa ctaaacccag cctthccgaa 300
agagacatcg caatggctac cataacggg cagctgtatg thctctctt gaggcatcat 360
tctcggacct ccaacagcac aggagcggag gtggtctct atcatctacc acgagaaggt 420
gcctgtaaaa agatgcacat attgaagtht aataggacgg gaaagthtg cctgaactgt 480
gtggacaacc tggtagctg gcatcatcag gatacagaga catcggtaat atctgatct 540
aagttacggg gagagthtga cggctcgtt acctccacc acccctgct tctgctcga 600
tctatccagc cctatcagat cccatcaca ggtctctgt cctgaccag ccagctctct 660
gttccatgta aactctattc thctctthg atgtcttht aacctgacat cattatcag 720
gcaagccaag gttacctctg gaacctcaa gtgaaactg agccatagt aaatctctta 780
ccagacaaaag gaagactcat ggactthtct ctccagagaa agaatgcaa gatgtctc 840
ctgtctgtct gthcagatg thtaagtgag tcagacagag catcgtctc cgtgatagcc 900
actgthtttg ataaactcaa ccatgagtat aaaaagtacc tggatgccga gcagagtht 960
gcatggcgg tggaaagcag gcagagccga agcagcccgc tctcaagag gccggtgagg 1020
accagggcg tgctggacca gtcagatgtg tacacctatg tctgtcagc cthttggaa 1080
aagaaggaga tgctcataa atthgtgata gccgtgtga tggatacat tctctctt 1140
aaccagtht agattgcagt acagcattac ctacatgaa thgttatcaa aacctgtct 1200
cagcacaacc tctthtatat gctgcatcag thctctcag accagctct cagcagctc 1260
aaacctthtg ctgtctgtct gthtcccta gagagthtct atctctctg tcatcagcta 1320
tctctggaca tgctgaagc actthcaaca gcaaatgatg aaatagtag agthctct 1380
tccaaacacc aagtgthtag tgcttaagg thtctcggg gcattggtg ccatgacaac 1440
atthctgcac gaaaathttt agatgctgca aagcagactg aagacaacat gctthtctat 1500
accaattht gctthttthg acagcgaac cagcgtthg gaggagccc caatthcaca 1560
cccggggaac actgtgaaga acatgtgtct thttcaaac agatthtttg agaccaagct 1620
ctaattgagg ctacaacatt ctgaaatcac thgtgttht thtataaaa aatgtgtaca 1680
aagthtaath atthcattaa thaaagctct thaaactata aaaaaaaaaa aaa 1733

```

```

<210> 19
<211> 1370

```

<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 1004646CB1

```

<400> 19
gcacagcctc gcaatgagct gccacaactg ctccgacccc caggtccttt gcagctccgg 60
gcagctgttc ctgcagcccc tctgggacca cctgaggagc tgggaggccc tcctacagtc 120
gcccttcttc cgggtcatct tetccatcac cacatacgtg ggcttttgcc tgcccttcgt 180
ggctctggat atcctgtgct cctgggtgcc cgcctcggc cgctacaaga tccacctga 240
cttctcgcca tccgcgcagc agctgctacc ttgcctgggg cagaccctct accagcatgt 300
gatgtttgtg tcccccgta cgtctctgca ttgggcccgc agcccggccc tcctgcccc 360
cgaagctccc gagctgctcc tgctctgca ccacatcctg ttctgcctgc tactcttcga 420
catggagttc ttcgtgtggc acctgctgca ccacaagggt ccctggctgt accgcacct 480
ccacaagggt caccaccaga actctgcttc gtctgcgctg gcaacgcagt atatgagcgt 540
ctgggaactg ttttctttgg gcttcttcga catgatgaac gtcacactgc tgggtgcca 600
cccgtcacc accctgacct tccacgtggg caacatctgg ctttccgtgg aggaccactc 660
cggctacaac ttcccttggg ccactcacag actggtgccc ttcgggtggg acgggggtgt 720
gggtgaccac gacctgcatc actctcactt taactgcaac ttcgctccgt actttacaca 780
ctgggacaaa atactgggaa cgtctcggac tgcactctgc ccagcggcgt gatgtggctg 840
cgtgcatatg ccctaagact cgggactgct gtgcctttca cacttgaatg aagagaaca 900
cctgagctat atattttttt aaagcaacta acttattgct ttatgtttat ctatgaaaac 960
catagataaa atctgatgca tttttgtaat ctgacaaggt aatttacata ctgttttgtt 1020
atcaatacaa ttttgtgttc ttggttattc tagtctagct cacctcaata gccttgaate 1080
ctgcataatg attagacatt catcactggc atatttagaa tatctctaaa aggacttgtt 1140
tgtagaataa ggaattttct atgtttcaaa gtgttctaaa acctggctaa aagaatgtat 1200
ttttgtggat ggtgttgact tctgactcta aaagcaatca aacatgtttc tgctggacag 1260
tgaccaagaa ttatagtacc ttcttatatt tttttataga actgtatatt tattttgaaa 1320
gaaatgttat tcgtgcttta aaaaggaaaa aaaacctaga atcaataaaa 1370

```

<210> 20
<211> 1264
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 1802851CB1

```

<400> 20
ctcgcgtgcg gtgcgcaggg ataagagagc ggtctggaca gcgcgtggcc ggcgccgctg 60
tggggacagc atgagcggcg gttggatggc gcaggttgga gcgtggcgaa caggggctct 120
gggcctggcg ctgctgctgc tgetcggcct cggactaggc ctggaggccc cgcgcagccc 180
gctttccacc ccgacctctg cccaggccgc agggcccagc tcaggctcgt gcccaccac 240
caagttccag tgccgcacca gtggcttatg cgtgcccctc acctggcgct gcgacaggga 300
cttggactgc agcgatggca gcgatgagga ggagtgcagg attgagccat gtaccagaa 360
agggcaatgc ccaccgcccc ctggcctccc ctgcccctgc accggcgtca gtgactgctc 420
tgggggaact gacaagaaac tgcgcaactg cagccgctcg gcctgcctag caggcgagct 480
ccgttgcaag ctgagcgatg actgcattec actcacgtgg cgtgctgagc gccaccaga 540
ctgtcccagc tccagcagac agctcggctg tggaaaccaat gagatcctcc cggaaagggga 600
tgccacaacc atggggcccc ctgtgacctt ggagagtgtc acctctctca ggaatgccac 660
aaccatgggg ccccctgtga cctggagag tgteccctct gtcgggaatg ccacatctc 720
ctctgccgga gaccagtctg gaagcccaac tgcttatggg gttattgcag ctgctgcggt 780
gctcagtgca agcctggtea ccgccacct cctccttttg tcoctggctc gagcccagga 840
gcgcctccgc ccaactgggt tactggtggc catgaaggag tccctgctgc tgtcagaaca 900
gaagacctcg ctgcccctgag gacaagcaact tgccaccacc gtcactcagc cctggcgcta 960
gocggacagc aggagagcag tgatgctggat gggatcccgg gcacaccagc cctcagagac 1020
ctgagctctt ctggccacct ggaacctoga acccgagctc ctgcagaagt ggccctggag 1080
attgagggtc cctggacact ccttatggag atccggggag ctaggatggg gaacctgcca 1140
cagccagaac tgaggggctg gcccagggca gctcccaggg ggtagaacgg cctgtgctt 1200
aagacactcc tgctgccccg tctgaggggt gcgattaagg ttgcttcaca tcctcaaaaa 1260
aaaa 1264

```

<210> 21

<211> 2566
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> misc_feature
 <223> Incyte ID No: 2764333CB1

<400> 21
 cccacgcgctc cgacgagttc tatgatgccc tgtcagattc cgagtccgaa aggtccctga 60
 gtagattgga agcagtgaca gcacgctcct ttgaagagga aggagagcat ttgggagta 120
 gaaaacacag aatgtccgaa gaaaaagact gtgggtggcg agatgctctc tccaatggca 180
 tcaagaaaca cagaacaagt ttgccttctc ctatgttttc cagaaatgac ttcagttatc 240
 ggagcatcct cagaaaatgt attggaatgg aactatccaa gatcacgatg ccagttatat 300
 ttaatgagcc tctgagcttc ctacagcgcc taactgaata catggagcat acttacctca 360
 tccacaaggc cagttcactc tctgatcctg tggaaaggat gcagtgtgta gctgcgtttg 420
 ctgtatctgc tgttgcttct cagtgggaac ggactggaaa acctttcaac ccactgctgg 480
 gagagactta tgaattagtg cgagatgacc ttggatttag actcatctcc gaacaggtca 540
 gccatcacc accaatcagt gcatttcatg ctgaaggatt aaacaatgac ttcacttttc 600
 atggctctat ctatcccaaa ctgaaattct ggggaagag ttagaagca gaacccaag 660
 gaaccatcac cttggagctc cttgaacaca atgaggcata tacatggaca aatcccact 720
 gctgtgtgca taatatcatt gtgggtaaac tgtggatcga acagtatggc aatgtggaaa 780
 ttataaacca caagactggg gacaaatgtg tttgaattt taagccatgt gccctttttg 840
 gtaaggaatt acacaaagt gaaggtaca ttcaagataa aagcaaaaag aagctctgtg 900
 ccctctatgg gaagtggact gaatgtttat acagtgttga ccctgccacg tttgacgctt 960
 acaaaaaaaaa tgataagaaa aatacagaag agaagaagaa cagcaaacag atgagcacct 1020
 ctgaggagtt ggatgaaatg ccagtgcggg attctgaaag tgtattcatt atccctggaa 1080
 gcgttcttct atggcgaata gccccacggc ctccaattc tgcccagatg tataatttta 1140
 ctagttttgc aatggttttg aatgaagtag acaaaagcat ggagagtgtg attcccaga 1200
 cagactgcag gttacggcct gacatcagag ccatggaaaa tggagagata gatcaagcta 1260
 gtgaagaaaa aaaacgactt gaggaaaaac aaagagcagc ccgcaaaaac aggtccaagt 1320
 cagaagagga ctggaagacy aggtggttcc atcaaggctc taatccctac aatggagcac 1380
 aggactggat ttactctggc agctactggg acagaaatta cttcaatttg cctgacattt 1440
 attaaaatgc atacaagtca ggtgttttgg ctaatctaca aataagtctt aaacctatgt 1500
 ttttaaattt ttttcccttg gtttctactt atcttttaaa aaaaaaaaaa aaaaaaacct 1560
 catgagataa ctgcatttca cccaacaaaa gcagggtata aggcgatatt ggtgatgaaa 1620
 gtcttaggaa aaatgcataa ttttgctata aaatgtactt atttggaata ctattttata 1680
 tagaggtaag agaacactgc tggggaatat gctttttatg gttgctgttg ccatatttac 1740
 tgaaggttta tacctaaatg taacttttagc tttatggaaac tataatagtaa tcccacaaatca 1800
 agttattttg aatattttta tgctgtcatg cttgaaatgt ttatagtgtaa cctttgacat 1860
 atttagaact ctccctctat acaatgttta ttctcagata tagaggttat gtcattttat 1920
 aaagacttca ttgataagat ggcttttatt catactaact ctcccactgt taccctctcc 1980
 atcttccaag aagaaaaaaa atgcctgaat attcagaata gatattttctg atttgaaaat 2040
 tctaagaat taaactggaa aagtatttca tttacttagt gctctgaatt tacttttaca 2100
 gttttctgca gtcagtatca ttaaaaatgt taagtttaca tttgaaactga aaatatgtat 2160
 aaaaatctagc aattcacaac aatgccttag aaatatagat tttaatcacc attacataat 2220
 gacaaacctt gttaaatgct tccacttcca gtggcaaatg ccactagggga aagtaagttg 2280
 cactcatgta agtatcaaac tatataaaag gaggccttgt gcatttcaag tttgcaaaagt 2340
 acctgtgtac ttaaaaatag tgtggagacc tactgtacag tagttttgoc cctttaattg 2400
 gggcacattc atcttaaatc ttatagtatt tatccaccca aaccccagac tgagatactg 2460
 ctcccagggg cctaggtagc tgcagctcgg tgattttaat tgctgtcttg aagttaacaa 2520
 gtgttataat gaaataatct acctgatgct aaataaaggc tttaga 2566

<210> 22
 <211> 1848
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> misc_feature
 <223> Incyte ID No: 2798021CB1

<400> 22
 aaccagctga aaagcatgcy ccaagctgca gcagatgcaa agcctgaaag tttaatgaag 60
 aggctagagg aggagataaa atttaattta tatatggtaa ctgaaaaatt tcctaagaa 120
 ttagaaaata agaaaaagga attacatttt ttacaaaaag tagtttcaga gccagctatg 180
 ggccattctg atcttcttga acttgaatct aaaataaatg aaataaacac agaaattaac 240

```

cagttgattg aaaagaaaat gatgagaaaat gagcccatg aaggcaaac ctcaactgtat 300
aggcaacagg catctatcat ttcccgtaaa aaagaagcca aagctgagga acttcaggag 360
gccaaaggaga agttagccag cctagagaga gaagcatcag taaagagaaa tcagaccctg 420
gaatttgatg gtactgaagt tttaaagggg gatgagttca aacgatatgt caataaactt 480
cgaagcaaga gtacagtttt caaaaagaag catcagataa tagctgaact taaagctgaa 540
ttcggctctt tgcagaggac tgaagaactt cttaaagcaac gtcatgaaaa tattcaacaa 600
caactgcaaa ctatggaggg gaaaaagggt atatctggat atagttacac ccaagaagag 660
ctagaaaagag tatctgcact gaagagttaa gttgatgaaa tgaaggagc aacattggat 720
gatatgtctg aaatgggtgaa aaaactgtat tcattgggat ctgaaaagaa gtcagctctt 780
gcctcagtta taaaagagct acgacagttg cgtcaaaaat atcaagaact gaccaggag 840
tgtgatgaaa agaaatcccc gtatgatagc tgtgcagcag gcctcgaaag caatcgggtc 900
aaattagaac aggaagttag aagactcctg gaagaatgtc ttcaagaaga aagtagatac 960
cattatacaa atbtgatgat taagaacctg gaagttcaac ttctcgtgc tactgatgag 1020
atgaaggcat atatctcttc tgatcaacaa gaaaaaagaa aggcatttag ggaacagtat 1080
acaaaaata ctgctgaaca agaaaacctt ggaagaaac ttccgggaaa acaaaaagtt 1140
atacgagaaa gtcattggtc aaatatgaaa caagcaaaaa tgtggcgtga ttgggacaa 1200
ttaatgggat gtaagaaaca gtgctttctg aaacaacaaa gccaaacttc cattggctag 1260
gtaattcagg aggggtggga ggaccggcta atactgtgaa ttctctgtgtc atcgtttggg 1320
gttttacttg ataccactag ctataagcct aatctcataa tgatctctt tttgaaact 1380
gatttgataa gcattttgtt ttccagaagag ccattcttta ttaagtttct atagaaaaa 1440
atgtaaggt agatttagtt tgaatgtttt ttcatatgaa aaagaggctt ttattctttt 1500
ccatagttta gacatcactg gcctctctct agttttatga gacaggaaac taagtttact 1560
ctctgtaaat gtaaacatat gtcctaaag aaacatgtag ttttttttta gaatgtaata 1620
accagtggtc ttactgtttt tcttaactct ttttaaaaaa actttagaag aatcttttag 1680
gaactaatat ctcttgttct gaagaaacat ttatctgacg ttcagcagtt cctacagttt 1740
tacttcagtt ttttttctt ctgtaaaatg caagaaaatt taatattttg actaacatgt 1800
ctttctgtt ttgatcattt aaaggcatat aaacttgtcg agtattaa 1848

```

```

<210> 23
<211> 2518
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 3335404CB1

```

```

<400> 23
cgcagagccg gcgagggtt gcggtcctgg acggtagggg tctgcgtctg gtgccacctt 60
ctccatcagg ctgcttgcct gggtccaccaa gcctgacccc tccagccagg aggggatcac 120
ggagtgtgtc ccccgcccgg gctgtctgcct gccggaaggg ggctgggaaa cgggatccc 180
cgcgcgccac ttgcccgcca gcgtcagttt caccagggac tggctagcgg ttccctcgtg 240
gctctgcgcg gaggtcgcgc tectcccttc cctcccccac cccgcgcgct gcctccgct 300
ccttcttctg cctccacctt caacccccac ccccgctga cgggagctag ccctcagtc 360
gcccagctg tggttgtggg cgcgggacaa gtccaagggc cctcctccca atatggacag 420
ccgctacaac agcactgcgg gcactgggga cttgaaccag ctgagcgtg ccatccggc 480
cacgcgggtg gaggtgtccg tgtcctgcag aaatcttctt gacagagaca cattttctaa 540
atctgatcca atttgtgtct tatatgtaca aggagtggg aataaagaat ggagagagtt 600
tggaagaact gaagtaattg ataactctt aaatcctgat tttgtaagaa agtttattct 660
ggactacttt tttgaagaaa gagagaactc tcgttttgac ttgtatgat ttgattcaa 720
gagcccaaac ttatccaaac atgactttct gggacaagtg tttgtacat tgggagagat 780
cgttggttca cagggaagtc gcctggaaaa accaatagta ggaattccag ggaagaaatg 840
tggtacaatc atacttacag cagaggaatt aaactgttgc agggatgccg ttttgatgca 900
attttgtgcg aacaaattgg acaagaagga cttctttgga aaatcagatc ctttctctgt 960
attttatcga agtaatgaag atggcagttt tacaatttgt cacaagacag aagttgtcaa 1020
aaacactcta aatccagtat ggcaagcatt caagatctca gtcagagcat tatgtaatgg 1080
agactatgac agaacaatca aagtagaggt gtatgactgg gaccgagatg gaagtcatga 1140
tttcattgga gaatttacia caagctatag ggaactttct agagggcagt cacaaatcaa 1200
cgtatatgag gtgggtgaatc caaaaaagaa aggaaaaaag aaaaaatata ctaattctgg 1260
aacagtaact ttactctctt tcttggtaga aacagaagtt tcattccttg actacattaa 1320
gggagggagc caaatcaatt tcacagtggc tattgatttt acagcatcaa acgggaacco 1380
tgctcagccc acttccctcc actacatgaa tccttaccaa ctgaatgcct atggatggc 1440
actaaaagca gtgggagaaa ttgttcaaga ttatgacagt gataaaatgt tccagctct 1500
aggatttggg gcaaaactgc ctccagatgg aaggatatct cacgaatttg ctttgaatgg 1560
gaatcctcaa aaccctact gtgatggcat atggagggtc atggaggctt attacaggag 1620
tctgaaatct gtacaactat atgggcccac caactttgct cctgtaatta atcatgtagc 1680
aagatatgct tcttctgtaa aggatggctc ccagtatctt gtgcttctga ttgttacaga 1740

```

```

tggtgttattc tcagatatgg cccagactaa ggagtcata gttaatgcct caaaacttcc 1800
aatgtcaata attatagtag gtggtggacc agcagaatgt gatgcaatgg tcgaattgga 1860
tggagatgat gtaagagtct cctctagagg aaaatagct gaaagagaca ttgtgcagtt 1920
tgtgccattc agggattata ttgacagaag tggaaaccac atactgagca tggctagatt 1980
ggctaaagat gtcctagctg agatccctga gcagtttctc tcctatatga gagcccgagg 2040
aatcaagcca tcacctgctc ctccccata caccaccact acacatgtgt tacagactca 2100
aatatgactg tgctctgaaa tgctaatgtc aactacaaat caaaagtgtc gagttaatgc 2160
tttgtgcctg gtgctctgta atgaaccagg caatgagata gttttctcag tttggtttca 2220
gcagttaatg tgctttcttg gatccaaatt taaatatctt cctaaaccaa aactgtaaat 2280
atggttgttg catgagcaac agaaaaaatt gtttaaatgc ttgaagcaaa gtatggatgt 2340
cttctctaaa tctttcttct tttttttttt tttttttttt ttaacagaaa cagctaattt 2400
ccaatgtatt gttgggaaaa agcacaact gtgtttttaa ctcaaatatt gtcttcgact 2460
gctatgtgta taggaaagca gtctctgtat caatgtttac atgtttactac tttttaaa 2518

```

<210> 24

<211> 1120

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<223> Incyte ID No: 3735780CB1

<400> 24

```

gaaatccagt tatcaaaatt gactcaagaa gagagaacct aacagaacaa taacaatgga 60
agaaattggg aacattatca caaagctatc atcctgccaa actccaggct cagatgtcac 120
aggttaaaaa aagtccttca tgaaaaagaa agatcttaag cagcatgatg gattcagaag 180
ctcatgaaaa gagggccacca atactaacat cttcaaaaca agatatatca cctcatatta 240
caaatgttgg tgagatgaag cattaactgt gtggctgctg tgcagccttc aacaatgctg 300
caatcacatt tcccattcag aaggctctct ttgcacaaca gctgtatggc atcaaaacc 360
gggatgcaat acttcagttg agaaggatg gatctcgaaa tttgtatcgt ggaatccttc 420
ccccattgat gcagaagaca actacgcttg cacttatgtt tggctctgat gaggatttat 480
cctgccttct ccacaagcat gtcagtgctc cagagtttgc aaccagtggc gtggcgccag 540
tgcttgcagg gacaacagaa gcaatthtca ctccactgga aagagtccag acattgcttc 600
aagaccacaa acatcatgac aaatthacca acacttacca ggctttcaag gcaactgaaat 660
gtcatggaat tggagagtat tctcaggct tgggtgccat tcttttcgg aatggactca 720
gcaatgtctt gtttttcggc ctctcaggct ccattaagga gcatctgcct accgcaacga 780
ctcacagtgc tcatctggtc aatgatttta tctgtggagg tctattgggt gccatgttgg 840
gattcttgtt ttttccaatt aatgttgtaa aaactcgcat acagtctcag attggtgggg 900
aatthcagtc tttcccaag gttttccaaa aaatctggct ggaacgggac agaaaactga 960
taaactcttt cagaggtgcc catctgaatt accatcggct cctcatctct tggggcataa 1020
tcaatgcaac ttatgagttc ttgttaaagg ttatatgaaa aaacctcag ttaagtgcc 1080
tttatcaact gaatagacct tctaagaaga aaaaaaaaaa 1120

```

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

		International Application No PCT/US 00/04160
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 C12N15/12 C07K14/47 C12N15/63 C12N5/10 A01K67/027 C07K16/18 C12Q1/68 A61K38/17		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 C07K		
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	NAGASE ET AL: "PREDICTION OF THE CODING SEQUENCES OF UNIDENTIFIED HUMAN GENES. XI. THE COMPLETE SEQUENCES OF 100 NEW CDNA CLONES FROM BRAIN WHICH CODE FOR LARGE PROTEINS IN VITRO" DNA RESEARCH, vol. 5, 1998, pages 277-286, XP002926060 ISSN: 1340-2838	1-4,10, 11
Y	Table 1 right column, line 12 abstract	1-17,20, 23
X	-& KOTANI ET AL.: "Homo sapiens mRNA for KIAA0772 protein, complete cds." EMBL SEQUENCE DATABASE, 17 November 1998 (1998-11-17), XP002144842 HEIDELBERG DE Ac AB018315 the whole document	1-4,10, 11
T	-& KOTANI ET AL.: "KIAA0772 protein" EMBL SEQUENCE DATABASE,	1-4,10, 11
-/--		
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C.		<input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.
* Special categories of cited documents:		
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance		"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
"E" earlier document but published on or after the international filing date		"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
"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)		"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.
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means		"&" document member of the same patent family
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
Date of the actual completion of the international search 14 August 2000		Date of mailing of the international search report 23. 11. 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 CEDER O.

2

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 International Application No
 PCT/US 00/04160

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
	1 November 1999 (1999-11-01), XP002144843 HEIDELBERG DE Ac Q9Y4B8 the whole document ---	
Y	CA 2 200 794 A (UNIV TORONTO) 24 September 1998 (1998-09-24) page 4, line 1 -page 11, line 28 ---	1-17,20, 23
A	US 5 472 858 A (ATTIE ALAN D ET AL) 5 December 1995 (1995-12-05) abstract column 2, line 38 - line 50 column 2, line 65 - line 66 ---	5-8,15, 16
E	WO 00 09688 A (OHARA OSAMU ;NAGASE TAKAHIRO (JP); NOMURA NOBUO (JP); TOYODA HITOS) 24 February 2000 (2000-02-24) Seq Id Nos 1, 2 ,3 abstract	1-17,20, 23
E	-& DATABASE WPI Week 200019 Derwent Publications Ltd., London, GB; AN 2000-224333 XP002144844, 24 February 2000 (2000-02-24) abstract -----	1-17,20, 23

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 00/04160

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 21-22
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.:
1-23 all partly

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

1. Claims: 1-23 all partly

Isolated polypeptide and nucleic acid sequences selected from the groups as defined in claims 1, 3 and 10 and their uses, where the sequences are SEQ ID NO 2 and 14.

2. Claims: 1-23 all partly

Isolated polypeptide and nucleic acid sequences selected from the groups as defined in claims 1, 3 and 10 and their uses, where the sequences are SEQ ID NO 3 and 15.

3. Claims: 1-23 all partly

Isolated polypeptide and nucleic acid sequences selected from the groups as defined in claims 1, 3 and 10 and their uses, where the sequences are SEQ ID NO 4 and 16.

4. Claims: 1-23 all partly

Isolated polypeptide and nucleic acid sequences selected from the groups as defined in claims 1, 3 and 10 and their uses, where the sequences are SEQ ID NO 6 and 18.

5. Claims: 1-23 all partly

Isolated polypeptide and nucleic acid sequences selected from the groups as defined in claims 1, 3 and 10 and their uses, where the sequences are SEQ ID NO 9 and 21.

6. Claims: 1-23 all partly

Isolated polypeptide and nucleic acid sequences selected from the groups as defined in claims 1, 3 and 10 and their uses, where the sequences are SEQ ID NO 10 and 22.

7. Claims: 1-23 all partly

Isolated polypeptide and nucleic acid sequences selected from the groups as defined in claims 1, 3 and 10 and their uses, where the sequences are SEQ ID NO 11 and 23.

8. Claims: 1-23 all partly

Isolated polypeptide and nucleic acid sequences selected from the groups as defined in claims 1, 3 and 10 and their uses, where the sequences are SEQ ID NO 12 and 24.

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

9. Claims: 1-23 all partly

Isolated nucleic acid sequence selected from the groups as defined in claims 3 and 10 and its use, where the sequence is SEQ ID NO 13.

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Continuation of Box I.1

Although claim 16 is directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.

Continuation of Box I.I

Rule 39.1(iv) PCT - Method for treatment of the human or animal body by therapy

Continuation of Box I.2

Claims Nos.: 18-19 21-22

Claims 18, 19, 21 22 refer to agonists/antagonists of the polypeptide of claim 1, identified by the methods of claims 17 and 20, respectively, without giving a true technical characterization. Moreover, no such compounds are specifically defined in the description. It is only indicated that they could be "proteins, antibodies, carbohydrates, small molecules, or any other compound or composition which modulates the activity of LIPAP" (page 8 line 1-2 and page9 line 1-2). in consequence the scope of said claims is ambiguous and vague, and their subject-matter is not sufficiently disclosed and supported (Art 5 and 6 PCT). No search can be carried out for such claims whose wordings is, in fact, a mere recitation of the results to be achieved.

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.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/US 00/04160

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
CA 2200794 A	24-09-1998	NONE	
US 5472858 A	05-12-1995	NONE	
WO 0009688 A	24-02-2000	JP 2000050878 A AU 5196799 A	22-02-2000 06-03-2000

フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テ-マ-コ-ト' (参考)	
A 6 1 P	3/00	A 6 1 P	9/00	4 C 0 8 4
	3/06		25/00	4 C 0 8 5
	9/00		43/00	1 1 1 4 H 0 4 5
	25/00	C 0 7 K	14/47	
	43/00		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	M
G 0 1 N	33/15		33/566	
	33/50	C 1 2 N	15/00	Z N A A
	33/53		5/00	A
	33/566	A 6 1 K	37/02	

(81)指定国 E P (A T , B E , C H , C Y ,
 D E , D K , E S , F I , F R , G B , G R , I E , I
 T , L U , M C , N L , P T , S E) , O A (B F , B J
 , C F , C G , C I , C M , G A , G N , G W , M L ,
 M R , N E , S N , T D , T G) , A P (G H , G M , K
 E , L S , M W , S D , S L , S Z , T Z , U G , Z W
) , E A (A M , A Z , B Y , K G , K Z , M D , R U ,
 T J , T M) , A E , A L , A M , A T , A U , A Z ,
 B A , B B , B G , B R , B Y , C A , C H , C N , C
 U , C Z , D E , D K , E E , E S , F I , G B , G D
 , G E , G H , G M , H R , H U , I D , I L , I N ,
 I S , J P , K E , K G , K P , K R , K Z , L C , L
 K , L R , L S , L T , L U , L V , M D , M G , M K
 , M N , M W , M X , N O , N Z , P L , P T , R O ,
 R U , S D , S E , S G , S I , S K , S L , T J , T
 M , T R , T T , U A , U G , U S , U Z , V N , Y U
 , Z A , Z W

(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 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

(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

(72)発明者 ボーグン、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 トラン、バオ
アメリカ合衆国カリフォルニア州95051・
サンタクララ・キーリープールバード
744

F ターム(参考) 2G045 AA25 AA29 AA40 CB01 DA12
DA13 DA14 DA36 DA77 FB02
FB03 FB07 HA16
4B024 AA01 AA11 BA80 CA04 DA02
DA05 DA12 EA04 FA02 GA11
HA12 HA15
4B063 QA19 QA20 QQ43 QR08 QR42
QR56 QS25 QS34 QX02
4B064 AG01 CA02 CA06 CA10 CA19
CC24 DA01 DA13
4B065 AA01X AA57X AB01 BA02
CA24 CA44 CA46
4C084 AA02 AA06 AA07 AA17 BA01
BA02 BA08 BA22 CA17 CA18
CA20 CA21 CA22 CA23 CA53
CA59 CA70 NA14 ZA01 ZA36
ZA66 ZC33 ZC41
4C085 AA03 BB07 BB11 CC21 DD62
EE01
4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 BA10
CA40 DA75 EA20 EA50 FA70
FA72

专利名称(译)	人体脂质相关蛋白		
公开(公告)号	JP2002541772A	公开(公告)日	2002-12-10
申请号	JP2000599780	申请日	2000-02-18
申请(专利权)人(译)	洞察制药公司		
[标]发明人	タングワイトム ヒルマンジェニファーエル ユエヘンリー アジムザイヤルダ ポーグンマライアール トランバオ		
发明人	タング、ワイ・トム ヒルマン、ジェニファー・エル ユエ、ヘンリー アジムザイ、ヤルダ ポーグン、マライア・アール トラン、バオ		
IPC分类号	G01N33/50 A61K38/00 A61K39/00 A61K45/00 A61P1/00 A61P3/00 A61P3/06 A61P9/00 A61P25/00 A61P43/00 C07K14/47 C07K16/18 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C12N15/09 C12P21/02 C12Q1/68 G01N33/15 G01N33/53 G01N33/566		
CPC分类号	A01K2217/05 A61P1/00 A61P3/00 A61P3/06 A61P9/00 A61P25/00 A61P43/00 C07K14/47 C12N2799 /021		
FI分类号	A61K39/00.H A61K45/00 A61P1/00 A61P3/00 A61P3/06 A61P9/00 A61P25/00 A61P43/00.111 C07K14 /47 C07K16/18 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12P21/02.C C12Q1/68.A G01N33/15.Z G01N33/50.Z G01N33/53.M G01N33/566 C12N15/00.ZNA.A C12N5/00.A A61K37/02		
F-TERM分类号	2G045/AA25 2G045/AA29 2G045/AA40 2G045/CB01 2G045/DA12 2G045/DA13 2G045/DA14 2G045 /DA36 2G045/DA77 2G045/FB02 2G045/FB03 2G045/FB07 2G045/HA16 4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/BA80 4B024/CA04 4B024/DA02 4B024/DA05 4B024/DA12 4B024/EA04 4B024/FA02 4B024 /GA11 4B024/HA12 4B024/HA15 4B063/QA19 4B063/QA20 4B063/QQ43 4B063/QR08 4B063/QR42 4B063/QR56 4B063/QS25 4B063/QS34 4B063/QX02 4B064/AG01 4B064/CA02 4B064/CA06 4B064 /CA10 4B064/CA19 4B064/CC24 4B064/DA01 4B064/DA13 4B065/AA01X 4B065/AA57X 4B065/AB01 4B065/BA02 4B065/CA24 4B065/CA44 4B065/CA46 4C084/AA02 4C084/AA06 4C084/AA07 4C084 /AA17 4C084/BA01 4C084/BA02 4C084/BA08 4C084/BA22 4C084/CA17 4C084/CA18 4C084/CA20 4C084/CA21 4C084/CA22 4C084/CA23 4C084/CA53 4C084/CA59 4C084/CA70 4C084/NA14 4C084 /ZA01 4C084/ZA36 4C084/ZA66 4C084/ZC33 4C084/ZC41 4C085/AA03 4C085/BB07 4C085/BB11 4C085/CC21 4C085/DD62 4C085/EE01 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045 /BA10 4H045/CA40 4H045/DA75 4H045/EA20 4H045/EA50 4H045/FA70 4H045/FA72		
优先权	60/120703 1999-02-19 US 60/142762 1999-07-08 US		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明提供了鉴定和编码LIPAP的人脂质相关蛋白 (LIPAP) 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LIPAP的表达有关的疾病的方法以及预防该方法的方法。

