

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) **公開特許公報** (A) (11)特許出願公開番号

特開2003 - 194814

(P2003 - 194814A)

(43)公開日 平成15年7月9日(2003.7.9)

(51) Int.Cl ⁷	識別記号	F I	テ-マ-コ-ト* (参考)
G 0 1 N 33/53		G 0 1 N 33/53	N 4 B 0 6 4
A 6 1 K 38/00		A 6 1 K 39/395	N 4 C 0 8 4
	39/395	A 6 1 P 17/00	4 C 0 8 5
A 6 1 P 17/00		C 0 7 K 16/40	4 H 0 4 5
C 0 7 K 16/40		16/42	

審査請求 有 請求項の数 10 O L (全 38数) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2001 - 397811(P2001 - 397811)

(22)出願日 平成13年12月27日(2001.12.27)

(71)出願人 899000079

学校法人慶應義塾

東京都港区三田2丁目15番45号

(72)発明者 桑名 正隆

東京都新宿区信濃町35番地 慶應義塾大学

医学部内

(74)代理人 100107984

弁理士 廣田 雅紀 (外 2 名)

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 強皮症の診断薬

(57)【要約】

【課題】 抗RNAポリメラーゼ (RNA P) 抗体は急速に皮膚硬化が進行するびまん型強皮症患者に高頻度に検出され、強皮症腎を高率に併発し、きわめて予後の悪い病型と関連することから、強皮症の診断、病型分類、臓器障害、特に強皮症腎の予測にきわめて有用な、抗RNA P 抗体の簡便な検出法を提供すること。

【解決手段】 抗RNA P 抗体が共通して認識するエピトープを同定するために、RNA P IIIの62 k D aと155 k D aの2つのサブユニットであるRPC62の全長及びRPC155の部分断片をリコンビナント蛋白として大腸菌で発現させ、抗RNA P 抗体陽性及び陰性の強皮症患者血清との反応性を免疫プロット法で調べ、RPC155のアミノ酸残基891 - 1020番に強皮症患者血清中の抗RNA P 抗体により共通して認識されるエピトープが存在することを確かめた。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 以下のペプチドを用いることを特徴とする抗RNAポリメラーゼ抗体の検出方法。

(a) 配列番号2に示されるアミノ酸配列からなるペプチド

(b) 配列番号2に示されるアミノ酸配列の全部を含むペプチド

(c) 配列番号2に示されるアミノ酸配列の一部を含むアミノ酸配列からなり、かつ抗核抗体結合能を有するペプチド

(d) 配列番号2に示されるアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ抗核抗体結合能を有するペプチド

(e) 配列番号2に示されるアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列の全部を含むアミノ酸配列からなり、かつ抗核抗体結合能を有するペプチド

(f) 配列番号2に示されるアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列の一部を含むアミノ酸配列からなり、かつ抗核抗体結合能を有するペプチド

【請求項2】 ペプチドが、配列番号4に示されるアミノ酸配列からなるペプチド、又は配列番号4に示されるアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列の全部を含むアミノ酸配列からなり、かつ抗核抗体結合能を有するペプチドであることを特徴とする請求項1記載の抗RNAポリメラーゼ抗体の検出方法。

【請求項3】 以下のペプチドを含有することを特徴とする強皮症の診断薬。

(a) 配列番号2に示されるアミノ酸配列からなるペプチド

(b) 配列番号2に示されるアミノ酸配列の全部を含むペプチド

(c) 配列番号2に示されるアミノ酸配列の一部を含むアミノ酸配列からなり、かつ抗核抗体結合能を有するペプチド

(d) 配列番号2に示されるアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ抗核抗体結合能を有するペプチド

(e) 配列番号2に示されるアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列の全部を含むアミノ酸配列からなり、かつ抗核抗体結合能を有するペプチド

(f) 配列番号2に示されるアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列の一部を含むアミノ酸配列からなり、かつ抗核抗体結合能を有するペプチド

【請求項4】 ペプチドが、配列番号4に示されるアミノ酸配列からなるペプチド、又は配列番号4に示されるアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列の全部を含むアミノ酸配列からなり、かつ抗核抗体結合能を有するペプチドであることを特徴とする請求項3記載の強皮症の診断薬。

【請求項5】 以下のペプチドからなることを特徴とする強皮症の診断用又は治療用ペプチド。

10 (a) 配列番号2に示されるアミノ酸配列からなるペプチド

(b) 配列番号2に示されるアミノ酸配列の全部を含むペプチド

(c) 配列番号2に示されるアミノ酸配列の一部を含むアミノ酸配列からなり、かつ抗核抗体結合能を有するペプチド

(d) 配列番号2に示されるアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ抗核抗体結合能を有するペプチド

(e) 配列番号2に示されるアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列の全部を含むアミノ酸配列からなり、かつ抗核抗体結合能を有するペプチド

(f) 配列番号2に示されるアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列の一部を含むアミノ酸配列からなり、かつ抗核抗体結合能を有するペプチド

【請求項6】 ペプチドが、配列番号4に示されるアミノ酸配列からなるペプチド、又は配列番号4に示されるアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列の全部を含むアミノ酸配列からなり、かつ抗核抗体結合能を有するペプチドであることを特徴とする請求項5記載の強皮症の診断用又は治療用ペプチド。

【請求項7】 以下のペプチドを認識することを特徴とするモノクローナル抗体。

(a) 配列番号2に示されるアミノ酸配列からなるペプチド

40 (b) 配列番号2に示されるアミノ酸配列の全部を含むペプチド

(c) 配列番号2に示されるアミノ酸配列の一部を含むアミノ酸配列からなり、かつ抗核抗体結合能を有するペプチド

(d) 配列番号2に示されるアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ抗核抗体結合能を有するペプチド

50 (e) 配列番号2に示されるアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加された

アミノ酸配列の全部を含むアミノ酸配列からなり、かつ抗核抗体結合能を有するペプチド

(f)配列番号2に示されるアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列の一部を含むアミノ酸配列からなり、かつ抗核抗体結合能を有するペプチド

【請求項8】 ペプチドが、配列番号4に示されるアミノ酸配列からなるペプチド、又は配列番号4に示されるアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列の全部を含むアミノ酸配列からなり、かつ抗核抗体結合能を有するペプチドであることを特徴とする請求項7記載のモノクローナル抗体。

【請求項9】 請求項7又は8に記載のモノクローナル抗体に対する抗イディオタイプ抗体。

【請求項10】 強皮症の診断用又は治療用である請求項9記載の抗イディオタイプ抗体。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、抗RNAポリメラーゼ抗体(抗RNAP抗体)の検出方法、強皮症の診断薬、強皮症の診断用又は治療用ペプチド等に関する。

【0002】

【従来の技術】強皮症(全身性硬化症)は膠原病の一種で、皮膚や肺、腸管など内臓諸臓器の線維化及び末梢循環障害を主徴とする病気である。我が国では約1万人程度の患者がいると推測されており、毎年500~1000*

*0人程度の新患が発生している。医療の進歩に伴い、各種膠原病の予後の改善が報告されているが、強皮症に対する根本的な治療法はいまだ確立されておらず、10年生存率が70%に満たない予後の悪い疾患である。強皮症患者における症状は多彩で、きわめて軽い循環障害のみで全く治療を要さない患者から、短期間のうちに呼吸不全、腎不全、心不全などにより死亡する患者まで幅広い。従って、強皮症と診断された患者では将来どのような臓器障害が進行するかの予測がきわめて重要である。

【0003】強皮症患者血清中にはトポイソメラーゼIやセントロメアなど重要な生物活性をもつ核蛋白に対する自己抗体(抗核抗体)が高頻度に検出される。これら自己抗体は強皮症に特異的であることから、その診断に用いられている。また、抗トポイソメラーゼI抗体は肺線維症を伴い皮膚硬化範囲の広い(びまん型)強皮症、抗セントロメア抗体は内臓病変が少なく皮膚硬化が手指に局限する(局限型)強皮症と関連することから、これら抗核抗体の検出は病型分類や将来の臓器障害の予測にも有用である(Arthritis Rheum, 37:75-83, 1994)。強皮症に特異的で、診断及び病型分類に有用な抗核抗体が表1に示されているが、これらのうち、測定キットが発売され、一般診療で測定可能なものは抗トポイソメラーゼI、抗セントロメア、抗U1RNP抗体の3種類のみである。

【0004】

【表1】

抗核抗体	陽性頻度	皮膚硬化範囲	内臓病変
抗トポイソメラーゼI抗体 (抗Sci-70抗体)	25%	びまん型	肺線維症、皮膚潰瘍
抗セントロメア抗体	20%	局限型	心、腎、肺の障害まれ、 原発性胆汁性肝硬変
抗U1RNP抗体	20%	局限型	筋炎、肺高血圧症
抗RNAポリメラーゼ抗体	5%	びまん型	強皮症腎、心筋障害
抗U3RNP抗体	3%	びまん型	内臓障害が少ない
抗Th/T ₀ 抗体	2%	局限型	内臓障害が少ない
抗PM-Scl抗体	<1%	局限型	筋炎
抗Ku抗体	2%	局限型	筋炎

【0005】抗RNAP抗体は、1993年に複数のRNAポリメラーゼ(RNAP)を同時に認識する抗核抗体として、本発明者らにより強皮症患者血清中に初めて見いだされた抗体である(J Clin Invest 91:1399-404, 1993)。RNAPはRNAの転写を触媒する酵素で、RNAPIはリボゾームRNA、RNAPIIはメッセンジャーRNA、RNAPIIIはトランスファーRNAをそれぞれ転写する。強皮症患者血清中にはRNAPIとRNAPIIIを同時に認識する抗体が検出され、そのうち一部はRNAPIIとも反応する。抗RNAP抗体は強皮症に特異性がきわめて高く、これまで強皮症患者以外での報告はない。抗RNAP抗体は急速に皮膚硬化が進

行するびまん型強皮症に高頻度に検出され、強皮症腎を高率に併発し、きわめて予後の悪い病型と関連する。強皮症腎に対する治療法のなかった1980年代以前は5年生存率はわずか30%であった。死亡例の多くは強皮症腎とよばれる急激に血圧が上昇し、腎不全を伴う合併症により死亡する。1990年代に入ってから強皮症腎に対する特効薬(ACE阻害剤)が見いだされ、強皮症腎の発症早期に投与すると後遺症を残さずに救命できることが示された。ただし、強皮症腎の症状が進行して腎機能が悪化してからACE阻害剤を投与しても効果は少なく、死亡する例もあり、たとえ回復したとしても多くの患者では人工透析が必要である。そこで、強皮症腎と

関連する抗RNA P抗体が検出された強皮症患者では、強皮症腎を早期に発見するための血圧自己測定を徹底させることが勧められている。したがって、抗RNA P抗体は強皮症の診断、病型分類、臓器障害、特に強皮症腎の予測にきわめて有用な抗核抗体である。さらに、診断時に抗RNA P抗体の有無を調べることは、強皮症腎の早期発見、早期治療により死亡例を減らし、強皮症の生命予後の改善をももたらすと考えられている。

【0006】日本人強皮症患者における抗RNA P抗体の陽性頻度は約5%と少ないが、欧米白人強皮症での頻度は20~30%と高率であり、この頻度は抗トポイソメラーゼI、抗セントロメア、抗U1RNP抗体に比べて高く、欧米白人においては抗RNA P抗体が強皮症で最も高頻度に検出される抗核抗体であることが本発明者らにより報告 (Arthritis Rheum 37, 902-6, 1994) されており、これらの成績は、その後欧米の複数の施設での追試で確認されている (Ann Intern Med, 119, 1005-13, 1993, Clin Exp Immunol, 105, 468-74, 1996)。

【0007】

【発明が解決しようとする課題】抗RNA P抗体は臨床的に非常に有用な抗核抗体であるが、現時点では大量のアイソトープと培養細胞を用いる煩雑な免疫沈降法が唯一の検出法であり、そのため、一般臨床検査室での抗RNA P抗体の検出は不可能とされ、世界でも限られた研究室でしかその検出ができないのが現状である。したがって、抗RNA P抗体の簡便な検出法の開発が急務と考えられている。しかし、抗RNA P抗体は、抗核抗体を検出するために通常行われる二重免疫拡散法や粗精製の抗原を用いた免疫プロット法では検出できない。その原因として、RNAPI及びRNAPIIIはいずれも10個以上のサブユニットから構成される巨大複合体であり、細胞あたりの個々のサブユニットの分子数がきわめて少ないことを挙げることができる。この点を解決するためには、強皮症患者血清中の抗RNA P抗体により共通して認識される抗原部位 (エピトープ) の同定が必須*

*である。RNAPI及びRNAPIII分子上のエピトープ領域が明らかとなれば、その部位をリコンビナント蛋白として大量に発現させることで、酵素免疫測定法 (ELISA) を含めた検出法の開発が可能と思われる。本発明の課題は、急速に皮膚硬化が進行するびまん型強皮症患者に高頻度に検出され、強皮症腎を高率に併発し、きわめて予後の悪い病型と関連することから、強皮症の診断、病型分類、臓器障害、特に強皮症腎の予測にきわめて有用で、強皮症に特異性がきわめて高い抗RNA P抗体の簡便な検出法を提供することにある。

【0008】

【課題を解決するための手段】本発明者らによる基礎的検討により、強皮症患者血清中の抗RNA P抗体はRNAPIIIの155kDaと62kDaの2つのサブユニット (RPC155、RPC62) を高頻度に認識することが明らかにされている (Arthritis Rheum1999;42:275-84)。また、ヒトのRPC155のcDNA配列は1997年にSetarehとHernandezにより報告され (Genome Res 1997;7:1006-19)、NCBIのデータベースに登録されている (accession no. AF021351)。そこで、さらに詳細にRPC155、RPC62上に存在するエピトープを同定するために、RPC62の全長蛋白及びRPC155の部分断片をリコンビナント蛋白として大腸菌で発現させ、抗RNA P抗体陽性及び陰性の強皮症患者血清との反応性を免疫プロット法で調べてみた。まず図1に示すRPC155-A (配列番号8)、RPC155-B2 (配列番号10)、RPC155-C (配列番号12)、RPC155-D (配列番号14) 及びRPC62 (全長) のリコンビナント蛋白を用いて検討したところ、表2に示す結果が得られた。いずれのリコンビナント蛋白も抗RNA P抗体陽性血清により認識されたが、抗RNA P抗体陽性11血清はすべてRPC155-Cと反応した。

【0009】

【表2】

リコンビナント RNAP III断片	強皮症 抗RNAP抗体(+) (n = 11)	強皮症 抗RNAP抗体(-) (n = 10)	健常人 (n = 6)
RPC155-A	2(18%)	1 (10%)	0
RPC155-B2	1 (9%)	0	0
RPC155-C	11 (100%)	0	0
RPC155-D	3 (27%)	0	0
RPC62	6 (55%)	0	0

【0010】そこで、さらに詳細にRPC155-Cに含まれるエピトープを調べるため、RPC155-CのN末端及びC末端から短くしたC1~C5の5つのリコンビナント断片を新たに作製した。抗RNA P抗体陽性11血清との反応性を免疫プロット法により検討する

と、全ての血清はC3とC4を認識したが、C1、C2、C5とは反応しなかった。さらにC3とC4の共通部分をコードするC-aからC-gまでの7つのリコンビナント断片を作製し、同様に抗RNA P抗体陽性血清との反応性を調べた。すべての血清はC-c及びC-g

と反応したが、他のリコンビナント断片は認識しなかった。したがって、C - cのコードするRPC155のアミノ酸残基891 - 1020番に強皮症患者血清中の抗RNA P抗体により共通して認識されるエピトープが存在することが明らかとなった。ただし、一部の血清でC - cに対する反応性がC - gに対する反応性に比べて弱かったため、患者血清中の抗体との強い結合にはC - gに余分に含まれるアミノ酸部分も必要であることが推測された。そのため、抗RNA P抗体の検出にはC - cよりもC - gの方が適していることがわかった。

【0011】C - gに対する反応性が強皮症患者血清中の抗RNA P抗体に特異的であることを確認するため、より多数例を用いた免疫ブロットによる検討を行った。その結果、C - gに対する反応性は抗RNA P抗体陽性強皮症16例の全例で検出されたが、抗RNA P抗体陰性強皮症55例、健常人26例では検出されなかった。したがって、C - gは強皮症患者血清中の抗RNA P抗体により共通して認識されるエピトープを含み、同部位を発現するリコンビナント蛋白が抗RNA P抗体検出法の抗原として有用であると考えられた。そこで、C - gを大腸菌で発現させた後にアフィニティーカラムにより精製し、ELISAの抗原として用いた。図2に示すとおり、従来の免疫沈降法により抗RNA P抗体陰性の強皮症血清、コントロールとして用いた全身性エリトマトーデス患者血清、健常人血清ではC - gに対する反応性はいずれも低値だった。健常人の平均 + 5 × 標準偏差である4.15ユニットをカットオフとすると、抗C - g抗体の陽性頻度は抗RNA P抗体陽性例で100%、他では0%となり、C - gを用いたELISAは感度、特異性とも100%のきわめて優れた抗RNA P抗体の検出法であることが明らかとなった。本発明はこれらの知見に基づいて完成するに至ったものである。

【0012】すなわち本発明は、次の(a)~(f)のペプチド(以下「本件ペプチド」という)を用いる抗RNA P抗体の検出方法、本件ペプチドを含有する強皮症の診断薬、本件ペプチドからなる強皮症の診断用又は治療用ペプチド、本件ペプチドを認識するモノクローナル抗体、本件ペプチドを認識するモノクローナル抗体に対する抗イディオタイプ抗体、強皮症の診断用又は治療用である上記の抗イディオタイプ抗体に関する。

(a)配列番号2に示されるアミノ酸配列からなるペプチド

(b)配列番号2に示されるアミノ酸配列の全部を含むペプチド、好ましくは、配列番号4に示されるアミノ酸配列からなるペプチド

(c)配列番号2に示されるアミノ酸配列の一部を含むアミノ酸配列からなり、かつ抗核抗体結合能を有するペプチド

(d)配列番号2に示されるアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加された

10 抗核抗体結合能を有するペプチド

(f)配列番号2に示されるアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列の一部を含むアミノ酸配列からなり、かつ抗核抗体結合能を有するペプチド

【0013】

【発明の実施の形態】本発明の抗RNA P抗体の検出方法や、本発明の強皮症の診断薬、強皮症の診断用又は治療用ペプチド、モノクローナル抗体、強皮症の診断用又は治療用である抗イディオタイプ抗体の作製に用いられる本件ペプチドとしては、ヒト10番染色体(10q22-q23)に存在しているDNA依存性RNAPIIIのサブユニット(accession No. NM - 007055)遺伝子の翻訳産物であり、配列番号6で示されるアミノ酸配列からなる155kDaのサブユニットRPC155の部分アミノ酸配列であるアミノ酸残基[AA]891 - 1020番目(配列番号2)で表されるペプチド、好ましくはAA891 - 1080番目(配列番号4)で表されるペプチドを好適に例示することができる。

【0014】また、本件ペプチドとしては、配列番号2又は4に示されるアミノ酸配列の全部を含むペプチド、例えばRPC155のAA732 - 1166番目(配列番号12)、RPC155のAA732 - 1080番目及びRPC155のAA891 - 1166番目で表されるペプチドや、配列番号2又は4に示されるアミノ酸配列の一部を含むアミノ酸配列からなり、かつ抗核抗体結合能を有するペプチドを挙げることができ、ここで抗核抗体結合能を有するペプチドとは、抗RNA P抗体により認識されるエピトープを有するペプチド等の抗RNA P抗体と結合することができるペプチドをいう。

【0015】その他、本件ペプチドとしては、配列番号2又は4に示されるアミノ酸配列、又は該アミノ酸配列の全部若しくは一部を含むアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ抗核抗体結合能を有するペプチドを挙げることができ、具体的には、配列番号4に示されるアミノ酸配列におけるAA1056番目のグリシンがアラニンに置換されたペプチドを挙げることができる。

【0016】本件ペプチドの調製方法は特に制限されないが、本件ペプチドをコードするDNAの塩基配列情報

に基づき常法により組換えペプチド（リコンビナント断片）として調製する方法を好適に例示することができ、原核細胞等を宿主細胞とする場合は融合タンパク質として発現させてもよい。また、培養細胞や組織から精製することにより本件ペプチドを調製することもできる。なお、ヒトRPC155のエピトープ領域は他の有核生物のRPC155とも相同性が高く、RPC155の由来はヒトに限定されるものではない。

【0017】本発明の抗RNA P抗体の検出方法としては、本件ペプチドを用いる抗RNA P抗体の検出方法であれば特に制限されるものではなく、酵素免疫分析法（ELISA）、蛍光免疫分析法、免疫ブロット分析法、ドットブロット分析法、免疫拡散分析法等を具体的に例示することができるが、中でもヘテロジニアSELISA法が好ましい。かかるELISA法としては、固相化した本件ペプチドを認識する抗RNA P抗体に対する酵素標識抗体を用いる二抗体サンドイッチ法、固相に結合した標識した本件ペプチドと試料中の抗RNA P抗体と接触させる直接抗体法、間接抗体法、競合法等を挙げることができ、固相としてはマイクロタイターウェル、アガロース、ラテックス粒子、磁性微粒子等を挙げることができ、標識酵素としては、西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリ性ホスファターゼ、ガラクトシダーゼ等を挙げることができる。なお、本発明の抗RNA P抗体の検出方法には、抗RNA P抗体の測定方法や分析方法も含まれる。

【0018】本発明の抗RNA P抗体の検出方法の対象となる試料としては特に制限されないが、通常、血清、血漿、唾液、脳脊髄液、尿等の体液を挙げることができ、抗RNA P抗体陽性のびまん型強皮症等の強皮症患者血清を好適に例示することができる。組換えペプチドを用いる場合は、大腸菌成分等の宿主細胞成分と、あらかじめ血清等の試料を反応させ、大腸菌成分等の宿主細胞成分と反応する抗体を除去しておくことが好ましい。また、組換え融合ペプチドを用いる場合は、宿主細胞成分及び融合成分と、あらかじめ血清等の試料を反応させ、宿主細胞成分及び融合成分と反応する抗体を除去しておくことが好ましい。

【0019】本発明の強皮症の診断薬としては、本件ペプチドを含有する強皮症の診断薬であり、上記本発明の抗RNA P抗体の検出方法を実施しうる診断薬であれば特に制限されるものではなく、例えば、固相化した本件ペプチド、血清希釈用ELISA緩衝液、酵素標識二次抗体、酵素基質、宿主細胞成分等を含む強皮症の診断キットを好適に例示することができる。本発明の強皮症の診断薬は、強皮症の診断、病型分類、臓器障害の予測に有用である。

【0020】本発明の強皮症の診断用又は治療用ペプチドとしては、本件ペプチドからなるものであれば特に制限されるものではなく、強皮症の診断用ペプチドとして

は、固相化した本件ペプチドの他、本件ペプチドとマーカートンパク質及びノ又はペプチドタグとを結合させた融合タンパク質又は融合ペプチドを挙げることができる。上記マーカートンパク質としては、例えば、アルカリリフォスファターゼ、抗体のFc領域、HRP、GFPなどの従来知られているマーカートンパク質を具体的に挙げることができ、またペプチドタグとしては、Hisタグ、FLAGタグ、Sタグなどの従来知られているペプチドタグを具体的に例示することができる。かかる融合タンパク質や融合ペプチドは常法により作製することができ、抗RNA P抗体の定量、強皮症の診断用マーカーなどとして、また当該分野の研究用試薬としても有用である。

【0021】本発明の強皮症の治療用ペプチドは、本件ペプチドをコードするDNAが導入された組換えベクターとして投与することもでき、かかる組換えベクターとしては、本件ペプチドを宿主細胞内で発現させることができる発現系を含むものが好ましく、例えば、染色体、エピソード及びウイルスに由来する発現系、より具体的には、細菌プラスミド由来、酵母プラスミド由来、SV40のようなパポウイルス、ワクシニアウイルス、アデノウイルス、鶏痘ウイルス、仮性狂犬病ウイルス、レトロウイルス由来のベクター、バクテリオファージ由来、トランスポゾン由来及びこれらの組合せに由来するベクター、例えば、コスミドやファージミドのようなプラスミドとバクテリオファージの遺伝的要素に由来するものを挙げることができる。この発現系は発現を起こさせるだけでなく発現を調節する制御配列を含んでいてもよい。また、上記本発明の強皮症の治療用ペプチドの投与方法としては、経口投与、静脈注射等の非経口投与のいずれでもよく、投与量は、投与方法、患者の症状・年齢、抗炎症性物質の物性等を考慮して適宜設定することができる。また、剤型としては、錠剤、カプセル剤、顆粒剤、散剤、シロップ剤、懸濁剤、坐剤、軟膏、クリーム剤、ゲル剤、貼付剤、吸入剤、注射剤等を具体的に例示することができ、これらの製剤は製剤用担体と混合して調製した製剤の形で通常投与される。

【0022】本発明のモノクローナル抗体としては、本件ペプチドを認識するモノクローナル抗体であれば特に制限されるものではなく、かかるモノクローナル抗体は上記本件ペプチドを用いて常法により作製することができる。すなわち、動物（好ましくはヒト以外）に本件ペプチド若しくはエピトープを含むその断片を投与することにより産生され、例えば連続細胞系の培養物により産生される抗体をもたらす、ハイブリドーマ法（Nature 256, 495-497, 1975）、トリオーマ法、ヒトB細胞ハイブリドーマ法（Immunology Today 4, 72, 1983）及びEBV-ハイブリドーマ法（MONOCLONAL ANTIBODIES AND CANCER THERAPY, pp.77-96, Alan R.Liss, Inc., 1985）など任意の方法を用いることができる。かかるモノ

クローナル抗体は、例えば、ELISAをはじめとする本発明の抗RNA P抗体の検出方法や本発明の強皮症の診断薬におけるスタンダードとして、また、本件ペプチドをアフィニティー精製する上で、その他、強皮症の発症機構を明らかにする上で有用である。

【0023】本発明のアイディオタイプ抗体としては、本件ペプチドを認識するモノクローナル抗体に対する抗体であれば特に制限されるものではなく、かかるアイディオタイプ抗体は上記本発明のモノクローナル抗体やその可変領域からなる断片を用いて、ハイブリドーマ法等 10 を利用して常法により作製することができる。そして、本発明のアイディオタイプ抗体は、強皮症の診断用又は治療用として用いることができる。

【0024】

【実施例】以下、実施例により本発明をより具体的に説明するが、本発明の技術的範囲はこれらの例示に限定されるものではない。

実施例1 [方法]

実施例1 A (抗RNA P抗体陽性の血清の調製)

免疫沈降法により血清中の抗RNAポリメラーゼ (RNA P) 抗体を検出した。³⁵Sメチオニン (TRAN³⁵S-LABEL; ICN Biomedicals, Irvine, CA, USA) で標識したHeLa細胞の可溶性細胞抽出物を抗原とし、プロテインAセファロースと結合させた被検血清中のIgGと反応させ、RNA P Iの高分子サブユニット (190 kDa蛋白と126 kDa蛋白) とRNA P IIIの高分子サブユニット (155 kDa蛋白と138 kDa蛋白) をすべて沈降した血清を抗RNA P抗体陽性とした。被検血清としては、強皮症患者105例の血清を対象とし、このうち16例の血清が免疫沈降法で抗RNA P抗体陽性であった。コントロールとして全身性エリテマトーデス (SLE) 61例の血清、健常人61例の血清を用いた。強皮症及びSLE患者は、全例がアメリカリウマチ学会による分類予備基準を満たしていた。

【0025】実施例1 B (RPC62、RPC155をコードするcDNAの増幅)

RNA P IIIの62 kDaのサブユニット (RPC62) をコードするcDNAと、RNA P IIIの155 kDaのサブユニット (RPC155) の図1に示される4つの断片 (RPC155-A、RPC155-B2、RPC155-C、RPC155-D) をコードするcDNAをRT-PCR法により増幅し、各塩基配列を決定した (RPC155-A (配列番号7)、RPC155-B2 (配列番号9)、RPC155-C (配列番号11)、RPC155-D (配列番号12))。まず、Genbankに登録されているRPC62とRPC155のcDNAの塩基配列 (アクセッション番号: U93867及びNM-007055) をもとに合成した特異的なプライマーを用い、反応酵素にはExTaq (宝酒造、東京) を用いた。反応条件は、サーマルサイクラ 50

ー (Perkin-Elmer) を用いて最初のみ94 で5分間変性させ、その後94 で1分間熱変性させ、55 で1分間アニーリングし、72 で2分間伸張反応させるというサイクルを35回繰り返し行い、最後に72 で7分間伸張させた。得られたPCR産物を、Big Dye DNA Sequencing Kit (ABI) とABI Prism 310 genetic analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA) とを用いてDNAシーケンスを行い、各塩基配列を決定した。

【0026】ヒト白血病細胞株K562からポリA⁺のmRNAをマグネティックビーズ結合オリゴ (dt)₂₅ (宝酒造、東京) を用いて分離した。AMVの逆転写酵素により、オリゴ (dt) を用いて一本鎖cDNAへと変換し、さらにこれをテンプレートとし、RPC62用プライマー (センスプライマー: 配列番号15、アンチセンスプライマー: 配列番号16) を用いたPCRにより、RPC62の全オープンリーディングフレーム (ORF) をコードするcDNAを増幅した。また、RPC155については、K562のmRNAからrandom hexamer (GIBCO, Grand Island, NY, USA) を用いた逆転写反応により得られた一本鎖cDNAをテンプレートとし、それぞれRPC155-A用プライマー (センスプライマー: 配列番号17、アンチセンスプライマー: 配列番号18)、RPC155-B用プライマー (センスプライマー: 配列番号19、アンチセンスプライマー: 配列番号20)、RPC155-C用プライマー (センスプライマー: 配列番号21、アンチセンスプライマー: 配列番号22)、RPC155-D用プライマー (センスプライマー: 配列番号23、アンチセンスプライマー: 配列番号24) を用いたPCRにより、全ORFを重複してコードする4つの断片 (RPC155-A、アミノ酸残基 [AA] 1-374番目 (配列番号8); RPC155-B、AA365-751; RPC155-C、AA732-1166 (配列番号12); RPC155-D、AA1092-1391 (配列番号14)) を増幅した。得られたPCR産物はpGEM-Tベクター (Promega, Madison, WI, USA) にサブクローニングした。インサートの塩基配列はT7及びSP6プライマーを用いて、ABI Prism 310 genetic analyzerにより決定した。

【0027】また、上記RPC155-CをコードするpGEM-TをテンプレートとしたPCRにより、図1に示す12種類のRPC155-Cの部分断片C-1~C-5、C-a~C-gを増幅した。使用プライマーとしては、C-1 (センスプライマー: 配列番号25、アンチセンスプライマー: 配列番号26)、C-2 (センスプライマー: 配列番号27、アンチセンスプライマー: 配列番号28)、C-3 (センスプライマー: 配列番号29、アンチセンスプライマー: 配列番号30)、C-4 (センスプライマー: 配列番号31、アンチセンスプライマー: 配列番号32)、C-5 (センスプライ

マー：配列番号33、アンチセンスプライマー：配列番号34)、C-a(センスプライマー：配列番号35、アンチセンスプライマー：配列番号36)、C-b(センスプライマー：配列番号37、アンチセンスプライマー：配列番号38)、C-c(センスプライマー：配列番号39、アンチセンスプライマー：配列番号40)、C-d(センスプライマー：配列番号41、アンチセンスプライマー：配列番号42)、C-e(センスプライマー：配列番号43、アンチセンスプライマー：配列番号44)、C-f(センスプライマー：配列番号45、アンチセンスプライマー：配列番号46)、C-g(センスプライマー：配列番号47、アンチセンスプライマー：配列番号48)をそれぞれ用いた。これら12種類のRPC155-Cの各部分断片のPCRに使用したすべてのプライマーには、サブクローニングのことを考慮してすべて制限酵素部位(上流EcoRI、下流はXbaIサイト)が付加されている。

【0028】実施例1C(RPC62、RPC155のリコンビナント蛋白の発現)

実施例1Bで調製したRPC62の全長、及びRPC155の一部をコードするcDNAを蛋白発現ベクターpMAL-c2(New England Biolabs,Beverly,MA,USA)のMalE遺伝子の下流にフレームを合わせてサブクローニングした。0.3mMのIPTGの添加により、RNAPサブユニットのリコンビナント蛋白をmaltose-binding protein(MBP)との融合蛋白として発現させた。一部の実験では、大腸菌で発現させたリコンビナント蛋白をアミロースレジンを用いて精製した。

【0029】実施例1D(免疫ブロット法)

RPC62全長及びRPC155のリコンビナント断片を発現した大腸菌を10%ポリアクリルアミド-SDSゲル電気泳動で分画し、ニトロセルロース膜に電氣的に転写した。血清は250倍に希釈し、MBPの発現を誘導した大腸菌成分と反応させて、あらかじめ大腸菌成分とMBPと反応する抗体を除去した。ニトロセルロース膜は血清、アルカリフォスファターゼ結合ヤギ抗ヒトIgG抗体(ICN/Cappel,Aurora,OH,USA)と順次反応させた。リコンビナント蛋白に結合した抗体はNBT/BCIPを基質とした発色反応により検出した。

【0030】実施例1E(ELISA)

2-メルカプトエタノール(0.05%)添加リン酸緩衝液(PBS)で希釈した精製リコンビナント蛋白(0.5µg/ml)を96ウェルポリビニールプレート(スミロンHプレート;住友ベークライト、東京)の各ウェルに加え、4で12時間静置して固相化した。PBSで1回洗浄後に各ウェルに3%ウシ血清アルブミン(BSA)を加え、ブロッキングした。患者血清はELISAバッファー(0.1%BSA、0.1%Tween20添加PBS)で250倍に希釈し、MBPの発現を誘導した大腸菌成分と反応させて大腸菌成分とMB

Pと反応する抗体を除去した上で各ウェルに加えた。室温で2時間反応させた後、ELISAバッファーで3回洗浄した。さらに、5,000倍に希釈したペルオキシダーゼ結合ヤギ抗ヒトIgG抗体と室温で1時間反応させ、ELISAバッファーで3回洗浄した。DMSOで1mg/mlの濃度に溶解したテトラメチルベンジジンをリン酸・クエン酸緩衝液に対して1:9の割合で混合し、基質として各ウェルに加えた。10分間の反応後に1規定の硫酸を加えて、反応を停止させた。各ウェルの405nmでの吸光度はプレートリーダー(Bio-rad Laboratories,Hercules,CA)により測定した。全ての検体は2ウェルで測定し、その平均を求めた。抗RNAP抗体高力価陽性のMY血清の希釈系列から標準曲線を作成し、4,000倍希釈血清中の抗RNAP抗体量を1ユニットとして各検体の吸光度をユニットに換算した。健康人血清の平均+3×標準偏差である4.15ユニットをカットオフとした。

【0031】実施例2[結果]

実施例2A(RPC62、RPC155をコードするcDNAの増幅)

RPC62の全ORFをコードするcDNAは、通常のRT-PCR法により得られたが、RPC155のORFに相当するcDNA(配列番号5)は4.2kbと大きく、そのため全長の増幅は困難であった。そこで、RPC155の全ORFを30bp以上オーバーラップする4つのcDNA断片として増幅した。すなわち、1391個のアミノ酸で構成されるRPC155を、AA1-374(RPC155-A)、AA365-751(RPC155-B)、AA732-1166(RPC155-C)、AA1092-1391(RPC155-D)をそれぞれコードする4つのcDNA断片として増幅した。得られたcDNA断片はpGEM-Tにサブクローニング後に塩基配列を決定し、既知のRPC155の塩基配列(GenBankアクセッション番号:NM-007055)と比較した。いずれの断片も高度の相同性を有していたが、RPC155-A、Cにはそれぞれ4箇所の塩基置換を認め、そのうち4箇所はアミノ酸置換を伴っていた(15番スレオニンがイソロイシン、262番フェニルアラニンがイソロイシン、283番ロイシンがプロリン、1056番グリシンがアラニンにそれぞれ置換)。また、RPC155-Dに含まれる1276番目のバリンは欠失していた。これらの配列は複数のコロニー由来のDNAから検出され、さらに一致する配列が、Genbankに登録されている遺伝子配列中に見い出されることから、多くはRPC155遺伝子に存在する一塩基遺伝子多型性(SNPs)と考えられた。

【0032】実施例2B(RPC62、RPC155リコンビナント蛋白の発現)

次にRPC62、RPC155-A、RPC155-

B、RPC155-C、RPC155-DをそれぞれpMAL-c2にサブクローニングし、MBPとの融合蛋白として発現させた。RPC155-A、RPC155-C、RPC155-Dではインサートの塩基配列及び融合蛋白の分子量から、それぞれの部分をコードする融合蛋白の発現が確認された。しかし、RPC155-BのcDNAを導入した大腸菌のコロニーからは異なる塩基配列を有するクローンが数多く検出された。いずれの塩基配列中にも塩基の欠失、挿入、変異を認め、フレームシフトや終止コドンへの変異によりRPC155-Bの全長を発現するクローンはなかった。そのため、最も長くオリジナルのアミノ酸配列を発現するクローンをRPC155-B2(AA365-451)(配列番号10)と名付け、その後の解析に用いた(図1)。RPC155のAA509-519は大腸菌からヒトのまで種を越えて広く保存されており、転写活性中心部分と考えられている。そのため、この活性中心部分を含むリコンビナント蛋白の発現が大腸菌に対して毒性に働き、これらの遺伝子に変異をもったクローンが選択された可能性が高い。

【0033】実施例2C(RPC62、RPC155リコンビナント蛋白に対する反応性)

RPC62、RPC155をコードする5つのリコンビナント蛋白(RPC62、RPC155-A、RPC155-B2、RPC155-C、RPC155-D)に対する抗RNA P抗体陽性強皮症11例、抗RNA P抗体陰性強皮症10例、健常人6例の血清の反応性を免疫プロット法により調べた。前記表2に示すように、RPC62、RPC155-A、RPC155-B2、RPC155-C、RPC155-Dはそれぞれ6例(55%)、2例(18%)、1例(9%)、11例(100%)、3例(27%)の抗RNA P抗体陽性血清により認識され、RPC62、RPC155分子上には自己抗体と反応する複数のエピトープが存在することが示された。特に、RPC155-Cは抗RNA P抗体が陽性の全例により認識されたが、抗RNA P抗体陰性強皮症及び健常人の血清には認識されなかった。したがって、抗RNA P抗体陽性血清により共通して認識されるエピトープは、RPC155-Cに存在する可能性が考えられた。

【0034】実施例2D(RPC155上の主要なエピトープ領域の同定)

さらに詳細にRPC155-Cに含まれるエピトープ領域を調べるため、RPC155-CのN及びC末端から短くしたC1-C5の5つのリコンビナント断片をPCR法により新たに作製した(図1参照)。抗RNA P抗体陽性11血清との反応性を免疫プロット法により検討すると、全ての血清はC3とC4を認識したが、C1、C2、C5とは反応しなかった。さらにC3とC4の共通部分をコードするC-aからC-gまでの7つのリコ

ンビナント断片を、配列番号1に示される塩基配列からなるC-cや配列番号3に示される塩基配列からなるC-g等の配列情報に基づいて作製し(図1参照)、同様に抗RNA P抗体陽性11血清との反応性を調べた。抗RNA P抗体陽性のすべての血清はC-c及びC-gと反応したが、他のリコンビナント断片は認識しなかった。したがって、C-cのコードするRPC155のAA891-1020に強皮症患者血清中の抗RNA P抗体により共通して認識されるエピトープが存在することが明らかとなった。ただし、一部の血清でC-cに対する反応性がC-gに対する反応性に比べて非常に弱かったため、患者血清中の抗体との強い結合にはC-gに余分に含まれるアミノ酸部分も必要であることが推測された。C-gに対する反応性が強皮症患者血清中の抗RNA P抗体に特異的であることを確認するため、多数例を用いた免疫プロット法による検討を行った。その結果、C-gに対する反応性は抗RNA P抗体陽性強皮症16例全例で検出されたが、抗RNA P抗体陰性強皮症55例、健常人26例では検出されなかった。

【0035】実施例2E(抗RNA P抗体検出のためのELISA法の確立)

C-c、C-gともに抗RNA P抗体により共通して認識されるエピトープを含んでいたが、一部の血清でC-cに対する反応性がC-gに対する反応性に比べて非常に弱かったため、抗RNA P抗体の検出にはC-cよりもC-gの方が適していると判断した。そこで、C-gを大腸菌で発現させた後にアフィニティーカラムにより精製し、ELISAの抗原として用いた。図2に示す通り、従来の免疫沈降法により抗RNA P抗体が陽性の血清は全て抗C-g抗体高値を示したが、抗RNA P抗体陰性の強皮症血清、コントロールとして用いたSLE患者血清、健常人血清ではC-gに対する反応性はいずれも低値であった。健常人の平均+5x標準偏差である4.15ユニットをカットオフとすると、抗C-g抗体の陽性頻度は、抗RNA P抗体陽性例で100%、他では0%となり、C-gを用いたELISAは感度、特異性とも100%のきわめて優れた抗RNA P抗体の検出法であることがわかった。

【0036】

【発明の効果】本発明により強皮症患者血清中の抗RNA P抗体により共通して認識されるRNA Pサブユニットのエピトープ部位が同定され、その領域を含むリコンビナント蛋白を用いることでELISAなどによる抗RNA P抗体の簡便な検出法の開発が可能となった。本検出法をキット化して一般臨床検査室でも抗RNA P抗体の測定が可能となれば、強皮症患者の生命予後の改善にも貢献すると考えられる。

【0037】

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> KEIO UNIVERSITY
 <120> Diagnostic drugs for scleroderma
 <130> 000000251
 <140>
 <141>
 <160> 48
 <170> PatentIn Ver. 2.1

 <210> 1
 <211> 390
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(390)
 <400> 1
 cga agc tct act ggc gat att atc cag ttc
 att tat gga gga gat ggc 48
 Arg Ser Ser Thr Gly Asp Ile Ile Gln Phe
 Ile Tyr Gly Gly Asp Gly
 1 5 10 15
 tta gat cct gca gct atg gag gga aaa gat
 gaa cct ttg gag ttt aaa 96
 Leu Asp Pro Ala Ala Met Glu Gly Lys Asp
 Glu Pro Leu Glu Phe Lys
 20 25 30
 agg gtt ctg gac aac atc aaa gca gtc ttc
 ccg tgt ccc agt gag cct 144
 Arg Val Leu Asp Asn Ile Lys Ala Val Phe
 Pro Cys Pro Ser Glu Pro
 35 40 45
 gct ctc agc aaa aac gag ctg atc ctg acc
 aca gag tcc atc atg aag 192
 Ala Leu Ser Lys Asn Glu Leu Ile Leu Thr
 Thr Glu Ser Ile Met Lys
 50 55 60
 aag agt gag ttc ctc tgc tgc cag gac agc
 ttc ctg cag gaa ata aaa 240
 Lys Ser Glu Phe Leu Cys Cys Gln Asp Ser
 Phe Leu Gln Glu Ile Lys
 65 70 75 80
 17
 aaa ttc att aag ggg gtc tct gag aag atc
 aag aag acc aga gat aaa 288
 Lys Phe Ile Lys Gly Val Ser Glu Lys Ile
 Lys Tyr Thr Arg Asp Lys
 <213> Homo sapiens 90 95
 tat ggc atc aat gat aac ggc aca aca gag
 ccc cgt gtg ctg tac cag 336
 Tyr Gly Ile Asn Asp Asn Gly Thr Thr Glu

<400> 2

Arg Ser Ser Thr Gly Asp Ile Ile Gln Phe
Ile Tyr Gly Gly Asp Gly

1 5 10 15

Leu Asp Pro Ala Ala Met Glu Gly Lys Asp
Glu Pro Leu Glu Phe Lys

20 25 30

Arg Val Leu Asp Asn Ile Lys Ala Val Phe
Pro Cys Pro Ser Glu Pro

35 40 45

Ala Leu Ser Lys Asn Glu Leu Ile Leu Thr
Thr Glu Ser Ile Met Lys

50 55 60

Lys Ser Glu Phe Leu Cys Cys Gln Asp Ser
Phe Leu Gln Glu Ile Lys

65 70 75 80

Lys Phe Ile Lys Gly Val Ser Glu Lys Ile
Lys Lys Thr Arg Asp Lys

18 85 90 95

Tyr Gly Ile Asn Asp Asn Gly Thr Thr Glu
Arg Val Leu Tyr Gln

<211> 570 100 105 110

Asp Arg Ile Thr Pro Thr Gln Val Glu
Phe Leu Asn Ile Thr Cys

115 120 125

Asp

<221> 30DS

<222> (1)..(570)

<400> 3

cga agc tct act ggc gat att atc cag ttc
att tat gga gga gat ggc 48Arg Ser Ser Thr Gly Asp Ile Ile Gln Phe
Ile Tyr Gly Gly Asp Gly

1 5 10 15

tta gat cct gca gct atg gag gga aaa gat
gaa cct ttg gag ttt aaa 96Leu Asp Pro Ala Ala Met Glu Gly Lys Asp
Glu Pro Leu Glu Phe Lys

20 25 30

agg gtt ctg gac aac atc aaa gca gtc ttc
ccg tgt ccc agt gag cct 144Arg Val Leu Asp Asn Ile Lys Ala Val Phe
Pro Cys Pro Ser Glu Pro

35 40 45

gct ctc agc aaa aac gag ctg atc ctg acc
aca gag tcc atc atg aag 192Ala Leu Ser Lys Asn Glu Leu Ile Leu Thr
Thr Glu Ser Ile Met Lys

50 55 60

aag agt gag ttc ctc tgc tgc cag gac agc
ttc ctg cag gaa ata aaa 240

Lys Ser Glu Phe Leu Cys Cys Gln Asp Ser

Tyr Gly Ile Asn Asp Asn Gly Thr Thr Glu
 Pro Arg Val Leu Tyr Gln
 100 105 110
 ctg gac cgc atc acc ccc acc caa gta gaa
 aag ttt ctg gag acc tgt 384
 Leu Asp Arg Ile Thr Pro Thr Gln Val Glu
 Lys Phe Leu Glu Thr Cys
 115 120 125
 agg gac aag tac atg agg gca cag atg gag
 cct ggt tct gca gtg ggt 432
 Arg Asp Lys Tyr Met Arg Ala Gln Met Glu
 Pro Gly Ser Ala Val Gly
 130 135 140
 gct ctg tgt gcc cag agc att ggt gag cca
 ggc acc cag atg acc ctg 480
 Ala Leu Cys Ala Gln Ser Ile Gly Glu Pro
 Gly Thr Gln Met Thr Leu
 145 19 150 155 1
 60
~~aag aac~~ ttc cac ttt gca ggt gtg gcc tcc
~~aag aac~~ ttc acc ctg ggc 528
~~Lys Thr Phe~~ His Phe Ala Gly Val Ala Ser
~~Met Asn Hom~~ Ser Phe Leu Gly
 <400> 4 165 170 175
~~gtg sec~~ ggg ttt gaa gag ate ate gaa gbe
~~tcc aag gcy gty~~ Asp Gly 570
 Val Pro Arg Ile Lys Glu Ile Ile Asn Ala
 Ser Asp Phe Ala Met Glu Gly Lys Asp
 Glu Pro Leu Gln Phe Lys 185 190
 20 25 30
 Arg Val Leu Asp Asn Ile Lys Ala Val Phe
 Pro Cys Pro Ser Glu Pro
 35 40 45
 Ala Leu Ser Lys Asn Glu Leu Ile Leu Thr
 Thr Glu Ser Ile Met Lys
 50 55 60
 Lys Ser Glu Phe Leu Cys Cys Gln Asp Ser
 Phe Leu Gln Glu Ile Lys
 65 70 75 80

 Lys Phe Ile Lys Gly Val Ser Glu Lys Ile
 Lys Lys Thr Arg Asp Lys
 85 90 95
 Tyr Gly Ile Asn Asp Asn Gly Thr Thr Glu
 Pro Arg Val Leu Tyr Gln
 100 105 110
 Leu Asp Arg Ile Thr Pro Thr Gln Val Glu
 Lys Phe Leu Glu Thr Cys
 115 120 125
 Arg Asp Lys Tyr Met Arg Ala Gln Met Glu
 Pro Gly Ser Ala Val Gly
 130 135 140

20

```

<210> 5
<211> 4176
<212> DNA
<213> Homo sapiens
<220>
<221> CDS
<222> (1)..(4176)
<400> 5
atg gtg aag gag cag ttc cgg gag acg gat
gtg gcc aag aaa aca agc 48
Met Val Lys Glu Gln Phe Arg Glu Thr Asp
Val Ala Lys Lys Thr Ser
      1          5          10          15
cac atc tgt ttt gga atg aag tca cct gag
gag atg cgc cag cag gcg 96
His Ile Cys Phe Gly Met Lys Ser Pro Glu
Glu Met Arg Gln Gln Ala
              20          25          30

cac atc caa gtt gtg agt aag aac ctg tac
agc cag gac aac caa cat 144
His Ile Gln Val Val Ser Lys Asn Leu Tyr
Ser Gln Asp Asn Gln His
              35          40          45
gcc ccc ttg cta tat ggg gtg ctc gac cat
agg atg ggt acg agt gag 192
Ala Pro Leu Leu Tyr Gly Val Leu Asp His
Arg Met Gly Thr Ser Glu
              50          55          60
aag gat cgt cca tgt gaa acc tgt ggg aaa
aac ttg gct gac tgt cta 240
Lys Asp Arg Pro Cys Glu Thr Cys Gly Lys
Asn Leu Ala Asp Cys Leu
              65          70          75          80

ggc cac tat ggg tat atc gac ctg gag ttg
ccg tgt ttt cat gta ggg 288
Gly His Tyr Gly Tyr Ile Asp Leu Glu Leu
Pro Cys Phe His Val Gly
              85          90          95
tac ttc aga gca gtc ata ggc atc tta cag
atg atc tgc aaa acc tgc 336
Tyr Phe Arg Ala Val Ile Gly Ile Leu Gln
Met Ile Cys Lys Thr Cys
              100          105          110
tgc cac atc atg ctg tcc caa gag gag aag
aag cag ttt ctg gac tat 384
Cys His Ile Met Leu Ser Gln Glu Glu Lys
Lys Gln Phe Leu Asp Tyr
              115          120          125
cta aag agg ccc ggc ctg acc tac ctt cag
aag cga gga ctg aaa aag 432

```

cct ctg ctg gga agg gca cag gaa aac ttg
 aat ccc tta gta gtt ctg 672
 Pro Leu Leu Gly Arg Ala Gln Glu Asn Leu
 Asn Pro Leu Val Val Leu
 210 215 220
 aat tta ttt aaa cga atc cca gct gaa gat
 gtt cct cta ctt ctg atg 720
 Asn Leu Phe Lys Arg Ile Pro Ala Glu Asp
 Val Pro Leu Leu Leu Met
 225 230 235 2
 40
 aac cca gaa gcc gga aag ccg tct gat ttg
 att ctc aca cga ctt ttg 768
 Asn Pro Glu Ala Gly Lys Pro Ser Asp Leu
 Ile Leu Thr Arg Leu Leu
 245 250 255
 gtg cct cct ttg tgt ttc aga ccc tcc gtt
 gtg agt gat ttg aag tct 816
 Val Pro Pro Leu Cys Phe Arg Pro Ser Val
 Val Ser Asp Leu Lys Ser
 260 265 270
 ggc acc aat gaa gat gat ctg aca atg aaa
 ctg aca gaa atc att ttc 864
 Gly Thr Asn Glu Asp Asp Leu Thr Met Lys
 Leu Thr Glu Ile Ile Phe
 275 280 285
 cta aac gat gtt att aaa aag cat cgg atc
 tca gga gcc aag acc cag 912
 Leu Asn Asp Val Ile Lys Lys His Arg Ile
 Ser Gly Ala Lys Thr Gln
 290 295 300
 atg atc atg gag gac tgg gat ttc ctg cag
 ctg cag tgt gcc ctc tac 960
 Met Ile Met Glu Asp Trp Asp Phe Leu Gln
 Leu Gln Cys Ala Leu Tyr
 305 310 315 3
 20
 att aac agt gag ctc tcg ggc att ccc ctc
 aac atg gca ccc aag aag 1008
 Ile Asn Ser Glu Leu Ser Gly Ile Pro Leu
 Asn Met Ala Pro Lys Lys
 325 330 335
 tgg acc aga ggc ttc gtc caa cgc ctg aag
 gga aaa cag ggt cga ttt 1056
 Trp Thr Arg Gly Phe Val Gln Arg Leu Lys
 Gly Lys Gln Gly Arg Phe
 340 345 350
 aga gga aat ctc tca gga aag aga gtg gat
 ttt tct ggc aga aca gtc 1104
 Arg Gly Asn Leu Ser Gly Lys Arg Val Asp
 Phe Ser Gly Arg Thr Val
 355 360 365
 atc tcg ccc gac ccc aac ctc cgg att gat

465 470 475 4
 80
 aag ccc cac cgg acc ttc aga ttt aat gag
 tgt gtc tgt aca ccc tat 1488
 Lys Pro His Arg Thr Phe Arg Phe Asn Glu
 Cys Val Cys Thr Pro Tyr
 485 490 495

 aat gct gac ttt gat ggt gat gaa atg aac
 ctt cat ctt cct caa aca 1536
 Asn Ala Asp Phe Asp Gly Asp Glu Met Asn
 Leu His Leu Pro Gln Thr
 500 505 510
 gaa gaa gct aaa gca gag gcc ctt gtt ctg
 atg ggg act aaa gca aat 1584
 Glu Glu Ala Lys Ala Glu Ala Leu Val Leu
 Met Gly Thr Lys Ala Asn
 515 520 525
 ctt gta acc ccg agg aat ggg gaa ccg ctg
 att gct gct att cag gat 1632
 Leu Val Thr Pro Arg Asn Gly Glu Pro Leu
 Ile Ala Ala Ile Gln Asp
 530 535 540
 ttt cta aca ggt gcc tat ctc ctc act ctc
 aag gac act ttc ttt gat 1680
 Phe Leu Thr Gly Ala Tyr Leu Leu Thr Leu
 Lys Asp Thr Phe Phe Asp
 545 550 555 5
 60
 cga gcc aag gct tgc caa atc att gct tca
 ata ctg gtt ggc aag gat 1728
 Arg Ala Lys Ala Cys Gln Ile Ile Ala Ser
 Ile Leu Val Gly Lys Asp
 565 570 575
 gag aaa att aaa gtt cgc ctc cca ccg cct
 aca atc cta aag cct gtc 1776
 Glu Lys Ile Lys Val Arg Leu Pro Pro Pro
 Thr Ile Leu Lys Pro Val
 580 585 590
 acc ctg tgg acg gga aag cag atc ttc agt
 gtc atc ctc agg cct agc 1824
 Thr Leu Trp Thr Gly Lys Gln Ile Phe Ser
 Val Ile Leu Arg Pro Ser
 595 600 605

 gat gac aat cca gtg agg gcc aac ctg cga
 acc aag ggc aag cag tac 1872
 Asp Asp Asn Pro Val Arg Ala Asn Leu Arg
 Thr Lys Gly Lys Gln Tyr
 610 615 620
 tgt ggc aaa ggg gaa gat ctc tgt gcc aat
 gat tcc tat gtt aca atc 1920
 Cys Gly Lys Gly Glu Asp Leu Cys Ala Asn

725 730 735
 cag cag cag cct ggc tgc act gct gag gag
 acc ctg gag gca ctg atc 2256
 Gln Gln Gln Pro Gly Cys Thr Ala Glu Glu
 Thr Leu Glu Ala Leu Ile
 740 745 750
 ctg aag gag ctg tct gtg atc cgt gac cac
 gct ggc agt gcc tgc ctc 2304
 Leu Lys Glu Leu Ser Val Ile Arg Asp His
 Ala Gly Ser Ala Cys Leu
 755 760 765
 cgg gag ctg gac aag agc aac agc ccc ctc
 acc atg gct ctg tgc ggc 2352
 Arg Glu Leu Asp Lys Ser Asn Ser Pro Leu
 Thr Met Ala Leu Cys Gly
 770 775 780
 tcc aaa ggt tcc ttc att aac ata tca cag
 atg att gcc tgt gtg gga 2400
 Ser Lys Gly Ser Phe Ile Asn Ile Ser Gln
 Met Ile Ala Cys Val Gly
 785 790 795 8
 00
 cag cag gcc atc agt ggc tct cga gtg cca
 gac ggc ttt gaa aac agg 2448
 Gln Gln Ala Ile Ser Gly Ser Arg Val Pro
 Asp Gly Phe Glu Asn Arg
 805 810 815
 tcc ttg cct cat ttt gaa aaa cac tca aag
 ctc cca gct gcc aaa ggc 2496
 Ser Leu Pro His Phe Glu Lys His Ser Lys
 Leu Pro Ala Ala Lys Gly
 820 825 830
 ttt gtg gct aat agc ttt tat tcc ggt ttg
 aca cca act gag ttt ttc 2544
 Phe Val Ala Asn Ser Phe Tyr Ser Gly Leu
 Thr Pro Thr Glu Phe Phe
 835 840 845
 ttc cac aca atg gcc ggc cgg gaa ggt cta
 gtc gac acg gct gta aag 2592
 Phe His Thr Met Ala Gly Arg Glu Gly Leu
 Val Asp Thr Ala Val Lys
 850 855 860
 aca gct gaa acg gga tac atg cag cga agg
 ctt gtc aaa tct ctt gaa 2640
 Thr Ala Glu Thr Gly Tyr Met Gln Arg Arg
 Leu Val Lys Ser Leu Glu
 865 870 875 8
 80
 gat ctt tgc tcc cag tat gat ctg aca gtc
 cga agc tct act ggc gat 2688
 Asp Leu Cys Ser Gln Tyr Asp Leu Thr Val
 Arg Ser Ser Thr Gly Asp
 885 890 895

ggc aca aca gag ccc cgt gtg ctg tac cag
 ctg gac cgc atc acc ccc 3024
 Gly Thr Thr Glu Pro Arg Val Leu Tyr Gln
 Leu Asp Arg Ile Thr Pro
 995 1000 1005
 acc caa gta gaa aag ttt ctg gag acc tgt
 agg gac aag tac atg agg 3072
 Thr Gln Val Glu Lys Phe Leu Glu Thr Cys
 Arg Asp Lys Tyr Met Arg
 1010 1015 1020
 gca cag atg gag cca ggt tct gca gtg ggt
 gct ctg tgt gcc cag agc 3120
 Ala Gln Met Glu Pro Gly Ser Ala Val Gly
 Ala Leu Cys Ala Gln Ser
 1025 1030 1035
 1040
 att ggt gag cca ggc acc cag atg acc ctg
 aag act ttc cac ttt gga 3168
 Ile Gly Glu Pro Gly Thr Gln Met Thr Leu
 Lys Thr Phe His Phe Gly
 1045 1050 1055
 ggt gtg gcc tcc atg aac atc acc ctg ggc
 gtg ccc cgg att aaa gag 3216
 Gly Val Ala Ser Met Asn Ile Thr Leu Gly
 Val Pro Arg Ile Lys Glu
 1060 1065 1070
 atc atc aac gct tcc aag gcc atc agc act
 cca att atc aca gca cag 3264
 Ile Ile Asn Ala Ser Lys Ala Ile Ser Thr
 Pro Ile Ile Thr Ala Gln
 1075 1080 1085
 cta gac aag gat gac gac gcg gat tat gct
 cgc ctc gtg aaa ggg aga 3312
 Leu Asp Lys Asp Asp Asp Ala Asp Tyr Ala
 Arg Leu Val Lys Gly Arg
 1090 1095 1100
 att gag aaa acc ctc ttg gga gag att tcc
 gag tat att gaa gaa gtg 3360
 Ile Glu Lys Thr Leu Leu Gly Glu Ile Ser
 Glu Tyr Ile Glu Glu Val
 1105 1110 1115
 1120
 ttt ctt cct gat gac tgc ttt att ctc gtc
 aag ctc tcc ctg gaa cgg 3408
 Phe Leu Pro Asp Asp Cys Phe Ile Leu Val
 Lys Leu Ser Leu Glu Arg
 1125 1130 1135
 att agg ctt ctg aga ctg gaa gtg aac gct
 gag aca gtg aga tat tcc 3456
 Ile Arg Leu Leu Arg Leu Glu Val Asn Ala

Asn Asn Thr Tyr Glu Val Glu Lys Thr Leu
 Gly Ile Glu Ala Ala Arg
 1250 1255 1260
 aca acg atc atc aat gaa atc cag tac acc
 atg gtg gtg aac cac ggc 3840
 Thr Thr Ile Ile Asn Glu Ile Gln Tyr Thr
 Met Val Val Asn His Gly
 1265 1270 1275
 1280
 atg agc atc gac agg agg cac gtg atg ctg
 ctc tcc gac ctc atg acc 3888
 Met Ser Ile Asp Arg Arg His Val Met Leu
 Leu Ser Asp Leu Met Thr
 1285 1290 1295
 tac aag ggt gaa gtc ctg ggc atc act agg
 ttt ggc ctg gcc aag atg 3936
 Tyr Lys Gly Glu Val Leu Gly Ile Thr Arg
 Phe Gly Leu Ala Lys Met
 1300 1305 1310
 aag gag agt gtg ctg atg ctg gcc tcc ttt
 gag aag acg gct gac cat 3984
 Lys Glu Ser Val Leu Met Leu Ala Ser Phe
 Glu Lys Thr Ala Asp His
 1315 1320 1325
 ctc ttt gac gct gcc tac ttc ggg cag aag
 gac tct gtc tgt ggg gtg 4032
 Leu Phe Asp Ala Ala Tyr Phe Gly Gln Lys
 Asn Ser Val Cys Gly Val
 1330 1335 1340
 tgc atc atc atg gga atc cca atg
 aac gat tgg gac ggc ctc 4080
 Ser Ile Ile Met Gly Ile Pro Met
 Met Val Gly Thr Gly Phe Arg Glu Thr Asp
 Val Ala Lys Lys Thr 1350 1355
 1360 5 10 15
 His Arg Cys Phe Gln Met Lys Asp Arg Gln
 Gln Met Arg Gln Arg Arg 4128
 Phe Lys Leu Leu His Lys Ala Asp Arg Asp 30
 Phe Asn Phe Val Lys Ser Lys Asn Leu Tyr
 Ser Gln Asp Asn 1365 His 1370 1375
 35 40 45
 Ala Phe Leu Ile Thr Gln Val Val Asp His
 Arg Met Gln Thr Ser Gln 4176
 Pro Leu Ile Phe Asp Thr Asn Glu Phe His 60
 Lys Asp Arg Val Thr Glu Thr Cys Gly Lys
 Asn Leu Ala 1380 Cys Leu 1385 1390
 65 70 75 80
 Gly His Tyr Gly Tyr Ile Asp Leu Glu Leu
 Pro Cys Phe His Val Gly
 85 90 95
 Tyr Phe Arg Ala Val Ile Gly Ile Leu Gln

130 135 140
 Lys Ile Ser Asp Lys Cys Arg Lys Lys Asn
 Ile Cys His His Cys Gly
 145 150 155 1
 60
 Ala Phe Asn Gly Thr Val Lys Lys Cys Gly
 Leu Leu Lys Ile Ile His
 165 170 175
 Glu Lys Tyr Lys Thr Asn Lys Lys Val Val
 Asp Pro Ile Val Ser Asn
 180 185 190
 Phe Leu Gln Ser Phe Glu Thr Ala Ile Glu
 His Asn Lys Glu Val Glu
 195 200 205
 Pro Leu Leu Gly Arg Ala Gln Glu Asn Leu
 Asn Pro Leu Val Val Leu
 210 215 220
 Asn Leu Phe Lys Arg Ile Pro Ala Glu Asp
 Val Pro Leu Leu Leu Met
 225 230 235 2
 40
 Asn Pro Glu Ala Gly Lys Pro Ser Asp Leu
 Ile Leu Thr Arg Leu Leu
 245 250 255
 Val Pro Pro Leu Cys Phe Arg Pro Ser Val
 Val Ser Asp Leu Lys Ser
 260 265 270
 Gly Thr Asn Glu Asp Asp Leu Thr Met Lys
 Leu Thr Glu Ile Ile Phe
 275 280 285
 Leu Asn Asp Val Ile Lys Lys His Arg Ile
 Ser Gly Ala Lys Thr Gln
 290 295 300
 Met Ile Met Glu Asp Trp Asp Phe Leu Gln
 Leu Gln Cys Ala Leu Tyr
 305 310 315 3
 20
 Ile Asn Ser Glu Leu Ser Gly Ile Pro Leu
 Asn Met Ala Pro Lys Lys
 325 330 335
 Trp Thr Arg Gly Phe Val Gln Arg Leu Lys
 Gly Lys Gln Gly Arg Phe
 340 345 350
 Arg Gly Asn Leu Ser Gly Lys Arg Val Asp
 Phe Ser Gly Arg Thr Val
 355 360 365
 Ile Ser Pro Asp Pro Asn Leu Arg Ile Asp
 Glu Val Ala Val Pro Val
 370 375 380
 His Val Ala Lys Ile Leu Thr Phe Pro Glu
 Lys Val Asn Lys Ala Asn
 385 390 395 4
 00

530 535 540
 Phe Leu Thr Gly Ala Tyr Leu Leu Thr Leu
 Lys Asp Thr Phe Phe Asp
 545 550 555 5
 60
 Arg Ala Lys Ala Cys Gln Ile Ile Ala Ser
 Ile Leu Val Gly Lys Asp
 565 570 575
 Glu Lys Ile Lys Val Arg Leu Pro Pro Pro
 Thr Ile Leu Lys Pro Val
 580 585 590
 Thr Leu Trp Thr Gly Lys Gln Ile Phe Ser
 Val Ile Leu Arg Pro Ser
 595 600 605
 Asp Asp Asn Pro Val Arg Ala Asn Leu Arg
 Thr Lys Gly Lys Gln Tyr
 610 615 620
 Cys Gly Lys Gly Glu Asp Leu Cys Ala Asn
 Asp Ser Tyr Val Thr Ile
 625 630 635 6
 40
 Gln Asn Ser Glu Leu Met Ser Gly Ser Met
 Asp Lys Gly Thr Leu Gly
 645 650 655
 Ser Gly Ser Lys Asn Asn Ile Phe Tyr Ile
 Leu Leu Arg Asp Trp Gly
 660 665 670
 Gln Asn Glu Ala Ala Asp Ala Met Ser Arg
 Leu Ala Arg Leu Ala Pro
 675 680 685
 Val Tyr Leu Ser Asn Arg Gly Phe Ser Ile
 Gly Ile Gly Asp Val Thr
 690 695 700
 Pro Gly Gln Gly Leu Leu Lys Ala Lys Tyr
 Glu Leu Leu Asn Ala Gly
 705 710 715 7
 20
 Tyr Lys Lys Cys Asp Glu Tyr Ile Glu Ala
 Leu Asn Thr Gly Lys Leu
 725 730 735
 Gln Gln Gln Pro Gly Cys Thr Ala Glu Glu
 Thr Leu Glu Ala Leu Ile
 740 745 750
 Leu Lys Glu Leu Ser Val Ile Arg Asp His
 Ala Gly Ser Ala Cys Leu
 755 760 765
 Arg Glu Leu Asp Lys Ser Asn Ser Pro Leu
 Thr Met Ala Leu Cys Gly
 770 775 780
 Ser Lys Gly Ser Phe Ile Asn Ile Ser Gln
 Met Ile Ala Cys Val Gly
 785 790 795 8
 00

930	935	940	
Leu Ile Leu Thr Thr Glu Ser Ile Met Lys			
Lys Ser Glu Phe Leu Cys			
945	950	955	9
60			
Cys Gln Asp Ser Phe Leu Gln Glu Ile Lys			
Lys Phe Ile Lys Gly Val			
	965	970	975
Ser Glu Lys Ile Lys Lys Thr Arg Asp Lys			
Tyr Gly Ile Asn Asp Asn			
	980	985	990
Gly Thr Thr Glu Pro Arg Val Leu Tyr Gln			
Leu Asp Arg Ile Thr Pro			
	995	1000	1005
Thr Gln Val Glu Lys Phe Leu Glu Thr Cys			
Arg Asp Lys Tyr Met Arg			
	1010	1015	1020
Ala Gln Met Glu Pro Gly Ser Ala Val Gly			
Ala Leu Cys Ala Gln Ser			
1025	1030	1035	
1040			
Ile Gly Glu Pro Gly Thr Gln Met Thr Leu			
Lys Thr Phe His Phe Gly			
	1045	1050	1055
Gly Val Ala Ser Met Asn Ile Thr Leu Gly			
Val Pro Arg Ile Lys Glu			
	1060	1065	1070
Ile Ile Asn Ala Ser Lys Ala Ile Ser Thr			
Pro Ile Ile Thr Ala Gln			
	1075	1080	1085
Leu Asp Lys Asp Asp Asp Ala Asp Tyr Ala			
Arg Leu Val Lys Gly Arg			
	1090	1095	1100
Ile Glu Lys Thr Leu Leu Gly Glu Ile Ser			
Glu Tyr Ile Glu Glu Val			
1105	1110	1115	
1120			
Phe Leu Pro Asp Asp Cys Phe Ile Leu Val			
Lys Leu Ser Leu Glu Arg			
	1125	1130	1135
Ile Arg Leu Leu Arg Leu Glu Val Asn Ala			
Glu Thr Val Arg Tyr Ser			
	1140	1145	1150
Ile Cys Thr Ser Lys Leu Arg Val Lys Pro			
Gly Asp Val Ala Val His			
	1155	1160	1165
Gly Glu Ala Val Val Cys Val Thr Pro Arg			
Glu Asn Ser Lys Ser Ser			
	1170	1175	1180
Met Tyr Tyr Val Leu Gln Phe Leu Lys Glu			
Asp Leu Pro Lys Val Val			

1330 1335 1340
 Ser Glu Cys Ile Ile Met Gly Ile Pro Met
 Asn Ile Gly Thr Gly Leu
 1345 1350 1355
 1360
 Phe Lys Leu Leu His Lys Ala Asp Arg Asp
 Pro Asn Pro Pro Lys Arg
 1365 1370 1375

 Pro Leu Ile Phe Asp Thr Asn Glu Phe His
 Ile Pro Leu Val Thr
 1380 1385 1390
 <210> 7
 <211> 1122
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(1122)
 <400> 7
 atg gtg aag gag cag ttc cgg gag acg gat
 gtg gcc aag aaa ata agc 48
 Met Val Lys Glu Gln Phe Arg Glu Thr Asp
 Val Ala Lys Lys Ile Ser
 1 5 10 15
 cac atc tgt ttt gga atg aag tca cct gag
 gag atg cgc cag cag gcg 96
 His Ile Cys Phe Gly Met Lys Ser Pro Glu
 Glu Met Arg Gln Gln Ala
 20 25 30
 cac atc caa gtt gtg agt aag aac ctg tac
 agc cag gac aac caa cat 144
 His Ile Gln Val Val Ser Lys Asn Leu Tyr
 Ser Gln Asp Asn Gln His
 35 40 45
 gcc ccc ttg cta tat ggg gtg ctc gac cat
 agg atg ggt acg agt gag 192
 Ala Pro Leu Leu Tyr Gly Val Leu Asp His
 Arg Met Gly Thr Ser Glu
 50 55 60

 aag gat cgt cca tgt gaa acc tgt ggg aaa
 aac ttg gct gac tgt cta 240
 Lys Asp Arg Pro Cys Glu Thr Cys Gly Lys
 Asn Leu Ala Asp Cys Leu
 65 70 75 80

 ggc cac tat ggg tat atc gac ctg gag ttg
 ccg tgt ttt cat gta ggg 288
 Gly His Tyr Gly Tyr Ile Asp Leu Glu Leu
 Pro Cys Phe His Val Gly
 85 90 95
 tac ttc aga gca gtc ata ggc atc tta cag

Glu Lys Tyr Lys Thr Asn Lys Lys Val Val
 Asp Pro Ile Val Ser Asn
 180 185 190
 ttc ctt cag tct ttt gaa aca gcc att gaa
 cat aat aaa gaa gtg gag 624
 Phe Leu Gln Ser Phe Glu Thr Ala Ile Glu
 His Asn Lys Glu Val Glu
 195 200 205
 cct ctg ctg gga agg gca cag gaa aac ttg
 aat ccc tta gta gtt ctg 672
 Pro Leu Leu Gly Arg Ala Gln Glu Asn Leu
 Asn Pro Leu Val Val Leu
 210 215 220
 aat tta ttt aaa cga atc cca gct gaa gat
 gtt cct cta ctt ctg atg 720
 Asn Leu Phe Lys Arg Ile Pro Ala Glu Asp
 Val Pro Leu Leu Leu Met
 225 230 235 2
 40
 aac cca gaa gcc gga aag ccg tct gat ttg
 att ctc aca cga ctt ttg 768
 Asn Pro Glu Ala Gly Lys Pro Ser Asp Leu
 Ile Leu Thr Arg Leu Leu
 245 250 255
 gtg cct cct ttg tgt atc aga ccc tcc gtt
 gtg agt gat ttg aag tct 816
 Val Pro Pro Leu Cys Ile Arg Pro Ser Val
 Val Ser Asp Leu Lys Ser
 260 265 270
 ggc acc aat gaa gat gat ctg aca atg aaa
 ccg aca gaa att att ttc 864
 Gly Thr Asn Glu Asp Asp Leu Thr Met Lys
 Pro Thr Glu Ile Ile Phe
 275 280 285
 cta aac gat gtt att aaa aag cat cgg atc
 tca gga gcc aag acc cag 912
 Leu Asn Asp Val Ile Lys Lys His Arg Ile
 Ser Gly Ala Lys Thr Gln
 290 295 300
 atg atc atg gag gac tgg gat ttc ctg cag
 ctg cag tgt gcc ctc tac 960
 Met Ile Met Glu Asp Trp Asp Phe Leu Gln
 Leu Gln Cys Ala Leu Tyr
 305 310 315 3
 20
 att aac agt gag ctc tcg ggc att ccc ctc
 aac atg gca ccc aag aag 1008
 Ile Asn Ser Glu Leu Ser Gly Ile Pro Leu
 Asn Met Ala Pro Lys Lys
 325 330 335
 tgg acc aga ggc ttc gtc caa cgc ctg aag
 gga aaa cag ggt cga ttt 1056
 Trp Thr Arg Gly Phe Val Gln Arg Leu Lys

50 55 60
 Lys Asp Arg Pro Cys Glu Thr Cys Gly Lys
 Asn Leu Ala Asp Cys Leu
 65 70 75 80

 Gly His Tyr Gly Tyr Ile Asp Leu Glu Leu
 Pro Cys Phe His Val Gly
 85 90 95
 Tyr Phe Arg Ala Val Ile Gly Ile Leu Gln
 Met Ile Cys Lys Thr Cys
 100 105 110
 Cys His Ile Met Leu Ser Gln Glu Glu Lys
 Lys Gln Phe Leu Asp Tyr
 115 120 125
 Leu Lys Arg Pro Gly Leu Thr Tyr Leu Gln
 Lys Arg Gly Leu Lys Lys
 130 135 140
 Lys Ile Ser Asp Lys Cys Arg Lys Lys Asn
 Ile Cys His His Cys Gly
 145 150 155 1
 60

 Ala Phe Asn Gly Thr Val Lys Lys Cys Gly
 Leu Leu Lys Ile Ile His
 165 170 175
 Glu Lys Tyr Lys Thr Asn Lys Lys Val Val
 Asp Pro Ile Val Ser Asn
 180 185 190
 Phe Leu Gln Ser Phe Glu Thr Ala Ile Glu
 His Asn Lys Glu Val Glu
 195 200 205
 Pro Leu Leu Gly Arg Ala Gln Glu Asn Leu
 Asn Pro Leu Val Val Leu
 210 215 220
 Asn Leu Phe Lys Arg Ile Pro Ala Glu Asp
 Val Pro Leu Leu Leu Met
 225 230 235 2
 40
 Asn Pro Glu Ala Gly Lys Pro Ser Asp Leu
 Ile Leu Thr Arg Leu Leu
 245 250 255
 Val Pro Pro Leu Cys Ile Arg Pro Ser Val
 Val Ser Asp Leu Lys Ser
 260 265 270
 Gly Thr Asn Glu Asp Asp Leu Thr Met Lys
 Phe Thr Glu Ile Ile Phe
 <212> DN275 280 285
 Lys Lys His Arg Ile
 Gly Ala Lys Thr Gln
 <221> 290DS 295 300
 Met Ile Met Glu Asp Trp Asp Phe Leu Gln
 Leu Gln Cys Ala Leu Tyr
 305 310 315 3

<222> (1)..(87)

<400> 9

ggc aga aca gtc atc tcg ccc gac ccc aac

ctc cgg att gat gag gta 48

Gly Arg Thr Val Ile Ser Pro Asp Pro Asn

Leu Arg Ile Asp Glu Val

1

5

10

15

gct gtg cca gtt cat gtg gcc aaa att cta

act ttt cct 87

Ala Val Pro Val His Val Ala Lys Ile Leu

Thr Phe Pro

20

25

<210> 10

<211> 29

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 10

Gly Arg Thr Val Ile Ser Pro Asp Pro Asn

Leu Arg Ile Asp Glu Val

<210> 11

5

10

15

Ala Val Pro Val His Val Ala Lys Ile Leu

Thr Phe Pro

<213> Homo sapiens

25

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1305)

<400> 11

aac acg ggc aag ctg cag cag cct ggc

tgc act gct gag gag acc 48

Asn Thr Gly Lys Leu Gln Gln Gln Pro Gly

Cys Thr Ala Glu Glu Thr

1

5

10

15

ctg gag gca ctg atc ctg aag gag ctg tct

gtg atc cgt gac cat gct 96

Leu Glu Ala Leu Ile Leu Lys Glu Leu Ser

Val Ile Arg Asp His Ala

20

25

30

ggc agt gcc tgc ctc cgg gag ctg gac aag

agc aac agc ccc ctc acc 144

Gly Ser Ala Cys Leu Arg Glu Leu Asp Lys

Ser Asn Ser Pro Leu Thr

35

40

45

atg gct ctg tgc ggc tcc aaa ggt tcc ttc

att aac ata tca cag atg 192

Met Ala Leu Cys Gly Ser Lys Gly Ser Phe

Ile Asn Ile Ser Gln Met

50

55

60

att gcc tgc gtg gga cag cag gcc atc agt

ggc tct cga gtg cca gac 240

Ile Ala Cys Val Gly Gln Gln Ala Ile Ser

Gly Ser Arg Val Pro Asp

cca act gag ttt ttc ttc cac aca atg gcc
 ggc cgg gaa ggt cta gtc 384
 Pro Thr Glu Phe Phe Phe His Thr Met Ala
 Gly Arg Glu Gly Leu Val
 115 120 125
 gac acg gct gta aag aca gct gaa acg gga
 tac atg cag cga agg ctt 432
 Asp Thr Ala Val Lys Thr Ala Glu Thr Gly
 Tyr Met Gln Arg Arg Leu
 130 135 140
 gtc aaa tct ctt gaa gat ctt tgc tcc cag
 tat gat ctg aca gtc cga 480
 Val Lys Ser Leu Glu Asp Leu Cys Ser Gln
 Tyr Asp Leu Thr Val Arg
 145 150 155 1
 60
 agc tct act ggc gat att atc cag ttc att
 tat gga gga gat ggc tta 528
 Ser Ser Thr Gly Asp Ile Ile Gln Phe Ile
 Tyr Gly Gly Asp Gly Leu
 165 170 175
 gat cct gca gct atg gag gga aaa gat gaa
 cct ttg gag ttt aaa agg 576
 Asp Pro Ala Ala Met Glu Gly Lys Asp Glu
 Pro Leu Glu Phe Lys Arg
 180 185 190
 gtt ctg gac aac atc aaa gca gtc ttc ccg
 tgt ccc agt gag cct gct 624
 Val Leu Asp Asn Ile Lys Ala Val Phe Pro
 Cys Pro Ser Glu Pro Ala
 195 200 205
 ctc agc aaa aac gag ctg atc ctg acc aca
 gag tcc atc atg aag aag 672
 Leu Ser Lys Asn Glu Leu Ile Leu Thr Thr
 Glu Ser Ile Met Lys Lys
 210 215 220
 agt gag ttc ctc tgc tgc cag gac agc ttc
 ctg cag gaa ata aaa aaa 720
 Ser Glu Phe Leu Cys Cys Gln Asp Ser Phe
 Leu Gln Glu Ile Lys Lys
 225 230 235 2
 40
 ttc att aag ggg gtc tct gag aag atc aag
 aaa acc aga gat aaa tat 768
 Phe Ile Lys Gly Val Ser Glu Lys Ile Lys
 Lys Thr Arg Asp Lys Tyr
 245 250 255
 ggc atc aat gat aac ggc aca aca gag ccc
 cgt gtg ctg tac cag ctg 816
 Gly Ile Asn Asp Asn Gly Thr Thr Glu Pro
 Arg Val Leu Tyr Gln Leu
 260 265 270

Leu Val Lys Gly Arg Ile Glu Lys Thr Leu
 Leu Gly Glu Ile Ser Glu
 370 375 380
 tat att gaa gaa gtg ttt ctt cct gat gac
 tgc ttt att ctc gtc aag 1200
 Tyr Ile Glu Glu Val Phe Leu Pro Asp Asp
 Cys Phe Ile Leu Val Lys
 385 390 395 4
 00
 ctc tcc ctg gaa cgg att agg ctt ctg aga
 ctg gaa gtg aac gct gag 1248
 Leu Ser Leu Glu Arg Ile Arg Leu Leu Arg
 Leu Glu Val Asn Ala Glu
 405 410 415
 aca gtg aga tat tcc atc tgc aca tcc aag
 ctc cgt gtg aag ccc ggt 1296
 Thr Val Arg Tyr Ser Ile Cys Thr Ser Lys
 Leu Arg Val Lys Pro Gly
 420 425 430
 gat gtg gct
 1305
 Asp Val Ala
 435
 <210> 12
 <211> 435
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 12
 Asn Thr Gly Lys Leu Gln Gln Gln Pro Gly
 Cys Thr Ala Glu Glu Thr
 1 5 10 15
 Leu Glu Ala Leu Ile Leu Lys Glu Leu Ser
 Val Ile Arg Asp His Ala
 20 25 30
 Gly Ser Ala Cys Leu Arg Glu Leu Asp Lys
 Ser Asn Ser Pro Leu Thr
 35 40 45
 Met Ala Leu Cys Gly Ser Lys Gly Ser Phe
 Ile Asn Ile Ser Gln Met
 50 55 60
 Ile Ala Cys Val Gly Gln Gln Ala Ile Ser
 Gly Ser Arg Val Pro Asp
 65 70 75 80
 Gly Phe Glu Asn Arg Ser Leu Pro His Phe
 Glu Lys His Ser Lys Leu
 85 90 95
 Pro Ala Ala Lys Gly Phe Val Ala Asn Ser
 Phe Tyr Ser Gly Leu Thr
 100 105 110
 Pro Thr Glu Phe Phe Phe His Thr Met Ala
 Gly Arg Glu Gly Leu Val
 115 120 125

245 250 255
 Gly Ile Asn Asp Asn Gly Thr Thr Glu Pro
 Arg Val Leu Tyr Gln Leu
 260 265 270
 Asp Arg Ile Thr Pro Thr Gln Val Glu Lys
 Phe Leu Glu Thr Cys Arg
 275 280 285
 Asp Lys Tyr Met Arg Ala Gln Met Glu Pro
 Gly Ser Ala Val Gly Ala
 290 295 300
 Leu Cys Ala Gln Ser Ile Gly Glu Pro Gly
 Thr Gln Met Thr Leu Lys
 305 310 315 3
 20
 Thr Phe His Phe Ala Gly Val Ala Ser Met
 Asn Ile Thr Leu Gly Val
 325 330 335
 Pro Arg Ile Lys Glu Ile Ile Asn Ala Ser
 Lys Ala Ile Ser Thr Pro
 340 345 350
 Ile Ile Thr Ala Gln Leu Asp Lys Asp Asp
 Asp Ala Asp Tyr Ala Arg
 355 360 365
 Leu Val Lys Gly Arg Ile Glu Lys Thr Leu
 Leu Gly Glu Ile Ser Glu
 370 375 380
 Tyr Ile Glu Glu Val Phe Leu Pro Asp Asp
 Cys Phe Ile Leu Val Lys
 385 390 395 4
 00
 Leu Ser Leu Glu Arg Ile Arg Leu Leu Arg
 Leu Glu Val Asn Ala Glu
 405 410 415
 Thr Val Arg Tyr Ser Ile Cys Thr Ser Lys
 Leu Arg Val Lys Pro Gly
 420 425 430
 Asp Val Ala
 435
 <210> 13
 <211> 900
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(900)
 <400> 13
 gat gac gac gcg gat tat gct cgc ctc gtg
 aaa ggg aga att gag aaa 48
 Asp Asp Asp Ala Asp Tyr Ala Arg Leu Val
 Lys Gly Arg Ile Glu Lys
 1 5 10 15
 acc ctc ttg gga gag att tcc gag tat att

gtg gtg tgt gtc acc ccc aga gag aac agc
 aag agc tcc atg tac tac 288
 Val Val Cys Val Thr Pro Arg Glu Asn Ser
 Lys Ser Ser Met Tyr Tyr
 85 90 95
 gtg ctg cag ttc ctg aaa gag gat ctc ccc
 aag gtg gtg gtg cag ggc 336
 Val Leu Gln Phe Leu Lys Glu Asp Leu Pro
 Lys Val Val Val Gln Gly
 100 105 110
 att cca gag gtg tcc aga gct gtc atc cac
 att gac gag cag agt gga 384
 Ile Pro Glu Val Ser Arg Ala Val Ile His
 Ile Asp Glu Gln Ser Gly
 115 120 125
 aag gag aag tac aag ctt ctg gtg gaa ggt
 gat aac ctg cgg gca gtc 432
 Lys Glu Lys Tyr Lys Leu Leu Val Glu Gly
 Asp Asn Leu Arg Ala Val
 130 135 140
 atg gcc aca cac ggt gtg aag ggc acc cga
 acc acc tcc aat aac acc 480
 Met Ala Thr His Gly Val Lys Gly Thr Arg
 Thr Thr Ser Asn Asn Thr
 145 150 155 1
 60
 tat gag gtg gag aaa act ctg ggc atc gag
 gcc gcc cgg aca acg atc 528
 Tyr Glu Val Glu Lys Thr Leu Gly Ile Glu
 Ala Ala Arg Thr Thr Ile
 165 170 175
 atc aat gaa atc cag tac acc atg gtg aac
 cac ggc atg agc atc gac 576
 Ile Asn Glu Ile Gln Tyr Thr Met Val Asn
 His Gly Met Ser Ile Asp
 180 185 190
 agg agg cac gtg atg ctg ctc tcc gac ctc
 atg acc tac aag ggt gaa 624
 Arg Arg His Val Met Leu Leu Ser Asp Leu
 Met Thr Tyr Lys Gly Glu
 195 200 205
 gtc ctg ggc atc act agg ttt ggc ctg gcc
 aag atg aag gag agt gtg 672
 Val Leu Gly Ile Thr Arg Phe Gly Leu Ala
 Lys Met Lys Glu Ser Val
 210 215 220
 ctg atg ctg gcc tcc ttt gag aag acg gct
 gac cat ctc ttt gac gct 720
 Leu Met Leu Ala Ser Phe Glu Lys Thr Ala
 Asp His Leu Phe Asp Ala
 225 230 235 2
 40
 gcc tac ttc ggg cag aag gac tct gtg tgt

20 25 30
 Asp Asp Cys Phe Ile Leu Val Lys Leu Ser
 Leu Glu Arg Ile Arg Leu
 35 40 45
 Leu Arg Leu Glu Val Asn Ala Glu Thr Val
 Arg Tyr Ser Ile Cys Thr
 50 55 60
 Ser Lys Leu Arg Val Lys Pro Gly Asp Val
 Ala Val His Gly Glu Ala
 65 70 75 80
 Val Val Cys Val Thr Pro Arg Glu Asn Ser
 Lys Ser Ser Met Tyr Tyr
 85 90 95
 Val Leu Gln Phe Leu Lys Glu Asp Leu Pro
 Lys Val Val Val Gln Gly
 100 105 110
 Ile Pro Glu Val Ser Arg Ala Val Ile His
 Ile Asp Glu Gln Ser Gly
 115 120 125
 Lys Glu Lys Tyr Lys Leu Leu Val Glu Gly
 Asp Asn Leu Arg Ala Val
 130 135 140
 Met Ala Thr His Gly Val Lys Gly Thr Arg
 Thr Thr Ser Asn Asn Thr
 145 150 155 1
 60
 Tyr Glu Val Glu Lys Thr Leu Gly Ile Glu
 Ala Ala Arg Thr Thr Ile
 165 170 175
 Ile Asn Glu Ile Gln Tyr Thr Met Val Asn
 His Gly Met Ser Ile Asp
 180 185 190
 Arg Arg His Val Met Leu Leu Ser Asp Leu
 Met Thr Tyr Lys Gly Glu
 195 200 205
 Val Leu Gly Ile Thr Arg Phe Gly Leu Ala
 Lys Met Lys Glu Ser Val
 <2112107 215 220
 Leu Ala Ser Phe Glu Lys Thr Ala
 Asn Ile Phe Ile Asp
 220> 230 235 2
 4023> Description of Artificial
 Sequence of the Gene for the
 Gly Val Ser Glu Cys Ile
 245 250 255
 Met Gly Ile Pro Met Asn Ile Gly Thr
 Gly Val Ser Glu Cys Ile
 260 27 265 270
 His Lys Ala Asp Arg Asp Pro Asn Pro Pro
 Lys Arg Pro Leu Ile Phe
 <212> DN275 280 285
 Asp Thr Asn Glu Phe His Ile Pro Leu Val

<213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Description of Artificial
 Sequence:RPC62 antisense
 primer
 <400> 16
 ccaggcacct cctttatfff gctttcc
 27
 <210> 17
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Description of Artificial
 Sequence:RPC155-A sense
 primer
 <400> 17
 atggggaagg agcagttccg gg
 22
 <210> 18
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Description of Artificial
 Sequence:RPC155-A
 antisense primer
 <400> 18
 aggttggggg cgggcgagat ga
 22
 <210> 19
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Description of Artificial
 Sequence:RPC155-B sense
 primer
 <400> 19
 tggcagaaca gtcattctgc cc
 22
 <210> 20
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Description of Artificial
 Sequence:RPC155-B
 antisense primer
 <400> 20
 atcagtgccct ccagggtctc ct
 22

<400> 21
aacacgggca agctgcagca gca
23

<210> 22
<211> 22
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial
Sequence:RPC155-C
antisense primer

<400> 22
ccatgaacag ccacatcacc gg
22

<210> 23
<211> 26
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial
Sequence:RPC155-D sense
primer

<400> 23
aggatgacga cgcggtat gctcgc
26

<210> 24
<211> 27
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial
Sequence:RPC155-D
antisense primer

<400> 24
ctatgtgaca aggggatgt ggaattc
27

<210> 25
<211> 22
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial
Sequence:RPC155-C1 sense
primer

<400> 25
ggaattcaa cacggcaag ct
22

<210> 26
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>

<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Description of Artificial
Sequence:RPC155-C2 sense
primer
<400> 27
gggaattcaa cacgggcaag ct
22

<210> 28
<211> 25
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Description of Artificial
Sequence:RPC155-C2
antisense primer
<400> 28
ggtctagatc aggcaggaa gctgt
25

<210> 29
<211> 22
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Description of Artificial
Sequence:RPC155-C3 sense
primer
<400> 29
gggaattcaa cacgggcaag ct
22

<210> 30
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Description of Artificial
Sequence:RPC155-C3
antisense primer
<400> 30
cgtctagatc agatgcctt gga
23

<210> 31
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Description of Artificial
Sequence:RPC155-C4 sense
primer
<400> 31
ccgaattccg aagctctact ggc

antisense primer
<400> 32
ggctagatc acagccacat cacc
24

<210> 33
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Description of Artificial
Sequence:RPC155-C5 sense
primer
<400> 33
ttgaattcga ccgcatcacc ccc
23

<210> 34
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Description of Artificial
Sequence:RPC155-C5
antisense primer
<400> 34
ggctagatc acagccacat cacc
24

<210> 35
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Description of Artificial
Sequence:RPC155-C-a
sense primer

<400> 35
ccgaattccg aagctctact ggc
23

<210> 36
<211> 25
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Description of Artificial
Sequence:RPC155-C-a
antisense primer
<400> 36
ggctagatc aggcaggaa gctgt
25

<210> 37
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<210> 38
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Description of Artificial
Sequence:RPC155-C-b
antisense primer
<400> 38
actctagatc aggtgatgcg gtc
23

<210> 39
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Description of Artificial
Sequence:RPC155-C-c
sense primer
<400> 39
ccgaattccg aagctctact ggc
23

<210> 40
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Description of Artificial
Sequence:RPC155-C-c
antisense primer
<400> 40
gctctagatc agtccctaca ggt
23

<210> 41
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Description of Artificial
Sequence:RPC155-C-d
sense primer
<400> 41
gggaattcga gtccatcatg aag
23

<210> 42
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Description of Artificial
Sequence:RPC155-C-d

<213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Description of Artificial
 Sequence:RPC155-C-e
 sense primer
 <400> 43
 gcgaattcca ggacagcttc ct
 22
 <210> 44
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Description of Artificial
 Sequence:RPC-C-e
 antisense primer
 <400> 44
 cgtctagatc agatggcctt gga
 23
 <210> 45
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Description of Artificial
 Sequence:RPC-C-f sense
 primer
 <400> 45
 ttgaattcga ccgcatcacc ccc
 23
 <210> 46
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Description of Artificial
 Sequence:RPC-C-f
 antisense primer
 <400> 46
 cgtctagatc agatggcctt gga
 23
 <223> Description of Artificial
 Sequence:RPC-C-g sense
 primer
 <400> 47
 ccgaattccg aagctctact ggc
 23
 <210> 48
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>

<223> Description of Artificial
 Sequence:RPC155-C-C-g
 antisense primer
 <400> 48 26

27

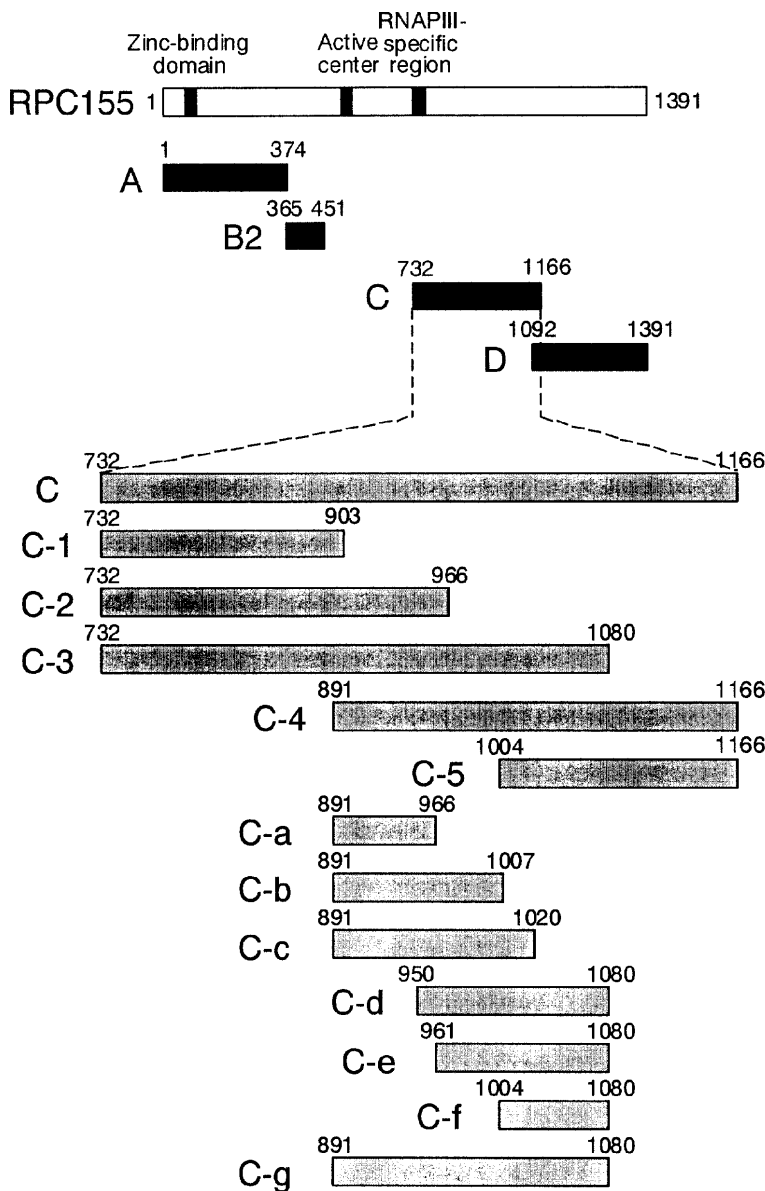
【図面の簡単な説明】gtctagatc agatggcctt gga

*す図である。

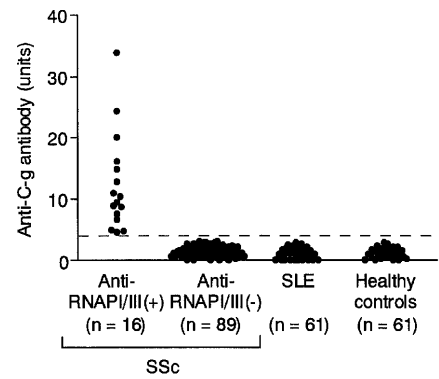
【図1】強皮症患者血清中の抗RNA P抗体により共通して認識されるRNA Pサブユニットのエピトープ部位の解析に用いたRPC155のリコンビナント断片を示*

【図2】リコンビナント断片C-gを用いたELISAによる抗RNA P抗体の検出結果を示す図である。

【図1】



【図2】



フロントページの続き

(51)Int.Cl.⁷

識別記号

F I

テ-マコード⁴ (参考)

C 0 7 K 16/42

C 1 2 P 21/08

C 1 2 P 21/08

C 0 7 K 14/47

// C 0 7 K 14/47

A 6 1 K 37/02

Fターム(参考) 4B064 AG27 CA10 CA20 CC01 CC24
DA01 DA13
4C084 AA02 AA07 BA08 BA22 CA53
CA56 DC28 MA13 MA23 MA28
MA31 MA32 MA35 MA37 MA41
MA43 MA52 MA66 ZA892
4C085 AA15 BB22 CC02 DD63 EE01
4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 BA10
CA40 DA75 DA76 DA89 EA20
EA50 FA71 FA72 FA74

专利名称(译)	硬皮病的诊断剂		
公开(公告)号	JP2003194814A	公开(公告)日	2003-07-09
申请号	JP2001397811	申请日	2001-12-27
[标]申请(专利权)人(译)	学校法人庆应义塾		
申请(专利权)人(译)	学校法人庆应义塾		
[标]发明人	桑名正隆		
发明人	桑名 正隆		
IPC分类号	G01N33/53 A61K38/00 A61K39/395 A61P17/00 C07K14/47 C07K16/40 C07K16/42 C12P21/08 G01N33/68		
CPC分类号	A61P17/00 C07K16/40 C07K2317/21 G01N33/686 G01N33/6881 G01N2333/9125		
FI分类号	G01N33/53.N A61K39/395.N A61P17/00 C07K16/40 C07K16/42 C12P21/08 C07K14/47 A61K37/02 A61K38/00 A61K38/16		
F-TERM分类号	4B064/AG27 4B064/CA10 4B064/CA20 4B064/CC01 4B064/CC24 4B064/DA01 4B064/DA13 4C084/AA02 4C084/AA07 4C084/BA08 4C084/BA22 4C084/CA53 4C084/CA56 4C084/DC28 4C084/MA13 4C084/MA23 4C084/MA28 4C084/MA31 4C084/MA32 4C084/MA35 4C084/MA37 4C084/MA41 4C084/MA43 4C084/MA52 4C084/MA66 4C084/ZA892 4C085/AA15 4C085/BB22 4C085/CC02 4C085/DD63 4C085/EE01 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/CA40 4H045/DA75 4H045/DA76 4H045/DA89 4H045/EA20 4H045/EA50 4H045/FA71 4H045/FA72 4H045/FA74 4C085/BB11		
其他公开文献	JP3455782B2		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

抗RNA聚合酶 (RNAP) 抗体经常在皮肤硬化迅速的弥漫性硬皮病患者中检测到, 并且与肾硬皮病的高发生率相关, 并且与预后非常差有关。因此, 旨在提供一种检测抗RNAP抗体的简单方法, 其对于硬皮病的诊断, 疾病类型的分类以及器官损害, 特别是硬皮病的肾脏疾病的预测非常有用。 SOLUTION : 为了鉴定通常被抗RNAP抗体识别的表位, RPC62的全长是重组蛋白, 该全长是62 kDa和155 kDa的RNAPIII的两个亚基, RPC155的一部分在大肠杆菌中表达, 并且通过免疫印迹检查了与RNAP抗体阳性和阴性硬皮病患者血清的反应性, 并在RPC155的氨基酸残基891-1020处发现了硬皮病患者血清中抗RNAP抗体通常识别的表位。被确认存在。

【图 2】

