

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2006-516190

(P2006-516190A)

(43) 公表日 平成18年6月29日(2006.6.29)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	C 1 2 N 15/00	Z N A A 4 B O 2 4
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	4 B O 6 3
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	4 B O 6 5
A 6 1 K 48/00 (2006.01)	A 6 1 K 48/00	4 C O 8 4
A 6 1 K 31/711 (2006.01)	A 6 1 K 31/711	4 C O 8 5
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 197 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2004-554414 (P2004-554414)	(71) 出願人	505186821
(86) (22) 出願日	平成15年11月21日 (2003.11.21)		ガニユメート・ファーマシューティカルズ
(85) 翻訳文提出日	平成17年7月19日 (2005.7.19)		・アクチェンゲゼルシャフト
(86) 国際出願番号	PCT/EP2003/013091		GANYMED PHARMACEUTICALS AG
(87) 国際公開番号	W02004/047863		ドイツ連邦共和国デー55131マインツ、フライリグラートシュトラッセ12番
(87) 国際公開日	平成16年6月10日 (2004.6.10)	(74) 代理人	100081422
(31) 優先権主張番号	10254601.0		弁理士 田中 光雄
(32) 優先日	平成14年11月22日 (2002.11.22)	(74) 代理人	100072730
(33) 優先権主張国	ドイツ (DE)		弁理士 小島 一晃
		(74) 代理人	100106518
			弁理士 松谷 道子
		(74) 代理人	100127638
			弁理士 志賀 美苗
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 腫瘍において示差的に発現する遺伝子産物およびその利用

(57) 【要約】

本発明は腫瘍に関連して発現する遺伝子産物の同定および該産物に対するコード核酸に関する。本発明はまた、腫瘍に関連して遺伝子産物が異常に発現する疾患の治療および診断、腫瘍に関連して発現するタンパク質、ポリペプチドおよびペプチドそして該ポリペプチド、ペプチドおよびタンパク質に対するコード核酸にも関する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

腫瘍関連抗原の発現または活性を阻害する剤を含む医薬組成物、ここで該腫瘍関連抗原が以下からなる群から選択される核酸によってコードされる配列を有する：

- (a) 配列番号1-8、41-44、51-59、84、117、および119からなる群から選択される核酸配列を含む核酸、その一部または誘導体、
- (b) (a)の核酸にストリンジェントな条件下でハイブリダイズする核酸、
- (c) (a)または(b)の核酸と縮重する核酸、および、
- (d) (a)、(b)または(c)の核酸と相補的な核酸。

【請求項 2】

10

腫瘍関連抗原を発現するか、または異常に発現する細胞に選択的な腫瘍阻害活性を有する剤を含む医薬組成物、ここで該腫瘍関連抗原が以下からなる群から選択される核酸によってコードされる配列を有する：

- (a) 配列番号1-8、41-44、51-59、84、117、および119からなる群から選択される核酸配列を含む核酸、その一部または誘導体、
- (b) (a)の核酸にストリンジェントな条件下でハイブリダイズする核酸、
- (c) (a)または(b)の核酸と縮重する核酸、および、
- (d) (a)、(b)または(c)の核酸と相補的な核酸。

【請求項 3】

剤が、細胞死の誘導、細胞増殖の低下、細胞膜の損傷またはサイトカインの分泌を引き起こす請求項2の医薬組成物。

20

【請求項 4】

剤が腫瘍関連抗原をコードする核酸に選択的にハイブリダイズするアンチセンス核酸である請求項1または2の医薬組成物。

【請求項 5】

剤が腫瘍関連抗原に選択的に結合する抗体である請求項1または2の医薬組成物。

【請求項 6】

剤が腫瘍関連抗原に選択的に結合する補体活性化抗体である請求項2の医薬組成物。

【請求項 7】

投与された場合にHLA分子と腫瘍関連抗原またはその部分の複合体の量を選択的に増加させる剤を含む医薬組成物、ここで該腫瘍関連抗原が以下からなる群から選択される核酸によってコードされる配列を有する：

30

- (a) 配列番号1-8、41-44、51-59、84、117、および119からなる群から選択される核酸配列を含む核酸、その一部または誘導体、
- (b) (a)の核酸にストリンジェントな条件下でハイブリダイズする核酸、
- (c) (a)または(b)の核酸と縮重する核酸、および、
- (d) (a)、(b)または(c)の核酸と相補的な核酸。

【請求項 8】

剤が1または複数の以下からなる群から選択される成分を含む請求項7の医薬組成物：

- (i) 腫瘍関連抗原またはその部分、
- (ii) 腫瘍関連抗原またはその部分をコードする核酸、
- (iii) 腫瘍関連抗原またはその部分を発現する宿主細胞、および、
- (iv) 腫瘍関連抗原またはその部分とHLA分子との単離複合体。

40

【請求項 9】

剤がいずれも異なる腫瘍関連抗原の発現または活性を選択的に阻害し、いずれも異なる腫瘍関連抗原を発現する細胞に選択的であるか、あるいは異なる腫瘍関連抗原またはその部分とHLA分子との複合体の量を増加させる2以上の剤を含み、ここで少なくとも該腫瘍関連抗原の1つが以下からなる群から選択される核酸によってコードされる配列を有する、請求項1、2または7の医薬組成物：

- (a) 配列番号1-8、41-44、51-59、84、117、および119からなる群から選択される核酸配列

50

を含む核酸、その一部または誘導体、

(b)(a)の核酸にストリンジェントな条件下でハイブリダイズする核酸、

(c)(a)または(b)の核酸と縮重する核酸、および、

(d)(a)、(b)または(c)の核酸と相補的な核酸。

【請求項 10】

以下からなる群から選択される 1 または複数の成分を含む医薬組成物：

(i)腫瘍関連抗原またはその部分、

(ii)腫瘍関連抗原またはその部分をコードする核酸、

(iii)腫瘍関連抗原またはその部分と結合する抗体、

(iv)腫瘍関連抗原をコードする核酸に特異的にハイブリダイズするアンチセンス核酸、

(v)腫瘍関連抗原またはその部分を発現する宿主細胞、および、

(vi)腫瘍関連抗原またはその部分とHLA分子との単離複合体、

ここで該腫瘍関連抗原は以下からなる群から選択される核酸によってコードされる配列を有する：

(a)配列番号1-8、41-44、51-59、84、117、および119からなる群から選択される核酸配列を含む核酸、その一部または誘導体、

(b)(a)の核酸にストリンジェントな条件下でハイブリダイズする核酸、

(c)(a)または(b)の核酸と縮重する核酸、および、

(d)(a)、(b)または(c)の核酸と相補的な核酸。

【請求項 11】

(ii)の核酸が発現ベクター中に存在する請求項8または10の医薬組成物。

【請求項 12】

(ii)の核酸がプロモーターに機能的に連結している請求項8または10の医薬組成物。

【請求項 13】

宿主細胞が腫瘍関連抗原またはその部分を分泌する請求項8または10の医薬組成物。

【請求項 14】

宿主細胞がさらに腫瘍関連抗原またはその部分に結合するHLA分子を発現する請求項8または10の医薬組成物。

【請求項 15】

宿主細胞が組換えによりHLA分子および/または腫瘍関連抗原またはその部分を発現する請求項14の医薬組成物。

【請求項 16】

宿主細胞が内因的にHLA分子を発現する請求項14の医薬組成物。

【請求項 17】

宿主細胞が抗原提示細胞である請求項8、10、14または16の医薬組成物。

【請求項 18】

抗原提示細胞が樹状細胞またはマクロファージである請求項17の医薬組成物。

【請求項 19】

宿主細胞が非増殖性である請求項8、10および13-18のいずれかの医薬組成物。

【請求項 20】

抗体がモノクローナル抗体である請求項5または10の医薬組成物。

【請求項 21】

抗体がキメラまたはヒト化抗体である請求項5または10の医薬組成物。

【請求項 22】

抗体が天然の抗体の断片である請求項5または10の医薬組成物。

【請求項 23】

抗体が治療薬または診断薬と結合している請求項5または10の医薬組成物。

【請求項 24】

アンチセンス核酸が腫瘍関連抗原をコードする核酸の6-50の連続するヌクレオチド配列を含む請求項4または10の医薬組成物。

10

20

30

40

50

【請求項 25】

該医薬組成物によって提供される腫瘍関連抗原またはその部分が、異常量の該腫瘍関連抗原またはその部分を発現する細胞の表面上でMHC分子に結合する請求項8および10-13のいずれかの医薬組成物。

【請求項 26】

結合が細胞溶解性反応を引き起こす、および/または、サイトカイン放出を誘導する、請求項25の医薬組成物。

【請求項 27】

さらに医薬上許容される担体および/またはアジュバントを含む請求項1-26のいずれかの医薬組成物。

【請求項 28】

アジュバントが、サポニン、GM-CSF、CpG、サイトカインまたはケモカインである請求項27の医薬組成物。

【請求項 29】

腫瘍関連抗原の発現または異常発現によって特徴づけられる疾患の治療に用いられ得る請求項1-28のいずれかの医薬組成物。

【請求項 30】

疾患が癌である請求項29の医薬組成物。

【請求項 31】

疾患が、肺腫瘍、乳房腫瘍、前立腺腫瘍、メラノーマ、結腸腫瘍、胃腫瘍、膵臓腫瘍、ENT腫瘍、腎臓細胞癌または子宮頸癌、結腸癌あるいは乳癌である請求項29の医薬組成物。

【請求項 32】

腫瘍関連抗原が、配列番号9-19、45-48、60-66、85、90-97、100-102、105、106、111-116、118、120、123、124、および135-137からなる群から選択されるアミノ酸配列、その一部または誘導体を含む、請求項1-31のいずれかの医薬組成物。

【請求項 33】

以下を含む腫瘍関連抗原の発現または異常発現によって特徴づけられる疾患の診断方法：

(i)腫瘍関連抗原またはその部分をコードする核酸の検出、および/または、
 (ii)腫瘍関連抗原またはその部分の検出、および/または、
 (iii)腫瘍関連抗原またはその部分に対する抗体の検出、および/または、
 (iv)患者から単離された生物学的サンプルにおける腫瘍関連抗原またはその部分に特異的な細胞障害性またはヘルパーTリンパ球の検出、
 ここで該腫瘍関連抗原は以下からなる群から選択される核酸によってコードされる配列を有する：

(a)配列番号1-8、41-44、51-59、84、117、および119からなる群から選択される核酸を含む核酸配列、その一部または誘導体、
 (b)(a)の核酸にストリンジェントな条件下でハイブリダイズする核酸、
 (c)(a)または(b)の核酸と縮重する核酸、および、
 (d)(a)、(b)または(c)の核酸に相補的な核酸。

【請求項 34】

検出が以下の工程を含む請求項33の方法：

(i)生物学的サンプルと、腫瘍関連抗原をコードする核酸またはその部分、腫瘍関連抗原またはその部分、または抗体あるいは細胞障害性またはヘルパーTリンパ球に特異的に結合する剤とを、接触させる工程、および、
 (ii)剤と、核酸またはその部分、腫瘍関連抗原またはその部分、抗体あるいは細胞障害性またはヘルパーTリンパ球との複合体の形成を検出する工程。

【請求項 35】

検出を対応する正常生物学的サンプルにおける検出と比較する請求項33または34の方法

10

20

30

40

50

。

【請求項 3 6】

疾患が 2 種類以上の腫瘍関連抗原の発現または異常発現によって特徴づけられ、検出が、該 2 種類以上の腫瘍関連抗原またはその部分をコードする 2 以上の核酸の検出、該 2 種類以上の腫瘍関連抗原またはその部分の検出、該 2 種類以上の腫瘍関連抗原またはその部分に対する 2 以上の抗体の結合の検出、該 2 種類以上の腫瘍関連抗原に対して特異的な 2 以上の細胞障害性またはヘルパー T リンパ球の検出を含む、請求項 33-35 のいずれかの方法

。

【請求項 3 7】

核酸またはその部分が該核酸または該その部分に特異的にハイブリダイズするポリヌクレオチドプローブを用いて検出される請求項 33-36 のいずれかの方法。

10

【請求項 3 8】

ポリヌクレオチドプローブが、腫瘍関連抗原をコードする核酸の 6-50 の連続するヌクレオチドの配列を含む請求項 37 の方法。

【請求項 3 9】

核酸またはその部分が該核酸または該その部分を選択的に増幅することによって検出される請求項 33-36 のいずれかの方法。

【請求項 4 0】

検出すべき腫瘍関連抗原またはその部分が MHC 分子との複合体である請求項 33-36 のいずれかの方法。

20

【請求項 4 1】

MHC 分子が HLA 分子である請求項 40 の方法。

【請求項 4 2】

腫瘍関連抗原またはその部分が、該腫瘍関連抗原または該その部分に特異的に結合する抗体を用いて検出される請求項 33-36 および 40-41 のいずれかの方法。

【請求項 4 3】

抗体が該抗体に特異的に結合するタンパク質またはペプチドを用いて検出される請求項 33-36 のいずれかの方法。

【請求項 4 4】

腫瘍関連抗原の発現または異常発現によって特徴づけられる疾患の退行、経過または発症を判定する方法であって、該疾患を患う患者または該疾患に罹患すると予測される患者からのサンプルを、以下からなる群から選択される 1 または複数のパラメーターについてモニタリングすることを含む方法：

30

(i) 腫瘍関連抗原またはその部分をコードする核酸の量、

(ii) 腫瘍関連抗原またはその部分の量、

(iii) 腫瘍関連抗原またはその部分に結合する抗体の量、および、

(iv) 腫瘍関連抗原またはその部分と MHC 分子との複合体に特異的な細胞溶解性またはサイトカイン-放出性 T 細胞の量、

ここで該腫瘍関連抗原は以下からなる群から選択される核酸によってコードされる配列を有する：

40

(a) 配列番号 1-8、41-44、51-59、84、117、および 119 からなる群から選択される核酸配列を含む核酸、その一部または誘導体、

(b) (a) の核酸にストリンジェントな条件下でハイブリダイズする核酸、

(c) (a) または (b) の核酸と縮重する核酸、および、

(d) (a)、(b) または (c) の核酸と相補的な核酸。

【請求項 4 5】

第一の時点での第一のサンプルにおけるパラメーターと第二の時点でのさらなるサンプルにおけるパラメーターとを測定することを含み、疾患の経過を 2 つのサンプルの比較によって判定する請求項 44 の方法。

【請求項 4 6】

50

疾患が２種類以上の腫瘍関連抗原の発現または異常発現によって特徴づけられ、モニタリングが以下をモニタリングすることを含む、請求項44または45の方法：

- (i) 該２種類以上の腫瘍関連抗原またはその部分をコードする２以上の核酸の量、
- (ii) 該２種類以上の腫瘍関連抗原またはその部分の量、
- (iii) 該２種類以上の腫瘍関連抗原またはその部分に結合する２以上の抗体の量、および/または、
- (iv) 該２種類以上の腫瘍関連抗原またはその部分とMHC分子との複合体に特異的な２以上の細胞溶解性またはサイトカイン-放出性T細胞の量。

【請求項４７】

核酸またはその部分の量を該核酸または該その部分に特異的にハイブリダイズするポリヌクレオチドプローブを用いてモニタリングする、請求項44-46のいずれかの方法。 10

【請求項４８】

ポリヌクレオチドプローブが腫瘍関連抗原をコードする核酸の6-50の連続するヌクレオチドの配列を含む請求項47の方法。

【請求項４９】

核酸またはその部分の量が該核酸または該その部分を選択的に増幅することによってモニタリングされる請求項44-46のいずれかの方法。

【請求項５０】

腫瘍関連抗原またはその部分の量が該腫瘍関連抗原または該その部分に特異的に結合する抗体を用いてモニタリングされる請求項44-46のいずれかの方法。 20

【請求項５１】

抗体の量が抗体に特異的に結合するタンパク質またはペプチドを用いてモニタリングされる請求項44-46のいずれかの方法。

【請求項５２】

細胞溶解性またはサイトカイン放出性T細胞の量が、腫瘍関連抗原またはその部分とMHC分子との複合体を提示する細胞を用いてモニタリングされる請求項44-46のいずれかの方法。

【請求項５３】

ポリヌクレオチドプローブ、抗体、タンパク質またはペプチドあるいは細胞が検出可能な様式で標識される請求項37-38、42 43、47-48および50-52のいずれかの方法。 30

【請求項５４】

検出可能なマーカーが放射性マーカーまたは酵素マーカーである請求項53の方法。

【請求項５５】

サンプルが体液および/または体組織を含む請求項33-54のいずれかの方法。

【請求項５６】

腫瘍関連抗原の発現または異常発現によって特徴づけられる疾患の治療方法であって、該方法が請求項1-32のいずれかの医薬組成物を投与することを含む方法、ここで該腫瘍関連抗原が以下からなる群から選択される核酸によってコードされる配列を有する：

- (a) 配列番号1-8、41-44、51-59、84、117、および119からなる群から選択される核酸配列を含む核酸、その一部または誘導体、 40
- (b) (a)の核酸にストリンジェントな条件下でハイブリダイズする核酸、
- (c) (a)または(b)の核酸と縮重する核酸、および、
- (d) (a)、(b)または(c)の核酸と相補的な核酸。

【請求項５７】

腫瘍関連抗原の発現または異常発現によって特徴づけられる疾患の治療、診断またはモニタリング方法であって、該腫瘍関連抗原またはその部分に結合し、治療薬または診断剤と結合した抗体を投与することを含む方法、ここで該腫瘍関連抗原が以下からなる群から選択される核酸によってコードされる配列を有する：

- (a) 配列番号1-8、41-44、51-59、84、117、および119からなる群から選択される核酸配列を含む核酸、その一部または誘導体、 50

- (b)(a)の核酸にストリンジェントな条件下でハイブリダイズする核酸、
(c)(a)または(b)の核酸と縮重する核酸、および、
(d)(a)、(b)または(c)の核酸と相補的な核酸。

【請求項58】

抗体がモノクローナル抗体である請求項42、50または57のいずれかの方法。

【請求項59】

抗体がキメラまたはヒト化抗体である請求項42、50または57のいずれかの方法。

【請求項60】

抗体が天然の抗体の断片である請求項42、50または57のいずれかの方法。

【請求項61】

以下の工程を含む、腫瘍関連抗原の発現または異常発現によって特徴づけられる疾患を有する患者の治療方法：

- (i)該患者から免疫反応性細胞を含むサンプルを取り出す工程、
(ii)該サンプルと該腫瘍関連抗原またはその部分を発現する宿主細胞を、該腫瘍関連抗原またはその部分に対する細胞溶解性またはサイトカイン放出性T細胞の産生に好適な条件下で接触させる工程、
(iii)腫瘍関連抗原またはその部分を発現する細胞を溶解するのに好適な量の細胞溶解性またはサイトカイン放出性T細胞を患者に導入する工程、
ここで該腫瘍関連抗原は以下からなる群から選択される核酸によってコードされる配列を有する：

- (a)配列番号1-8、41-44、51-59、84、117、および119からなる群から選択される核酸配列を含む核酸、その一部または誘導体、
(b)(a)の核酸にストリンジェントな条件下でハイブリダイズする核酸、
(c)(a)または(b)の核酸と縮重する核酸、および、
(d)(a)、(b)または(c)の核酸に相補的な核酸。

【請求項62】

宿主細胞が組換えにより腫瘍関連抗原またはその部分に結合するHLA分子を発現する請求項61の方法。

【請求項63】

宿主細胞が腫瘍関連抗原またはその部分に結合するHLA分子を内因的に発現する請求項62の方法。

【請求項64】

以下の工程を含む、腫瘍関連抗原の発現または異常発現によって特徴づけられる疾患を患う患者の治療方法：

- (i)該疾患に関連する細胞によって発現される核酸を同定する工程、ここで該核酸は以下からなる群から選択される：
- (a)配列番号1-8、41-44、51-59、84、117、および119からなる群から選択される核酸配列を含む核酸、その一部または誘導体、
(b)(a)の核酸にストリンジェントな条件下でハイブリダイズする核酸、
(c)(a)または(b)の核酸と縮重する核酸、および、
(d)(a)、(b)または(c)の核酸と相補的な核酸、
(ii)宿主細胞を該核酸またはその部分でトランスフェクトする工程、
(iii)トランスフェクトされた宿主細胞を該核酸の発現のために培養する工程、および、
(iv)疾患に関連する患者の細胞に対する免疫応答を上昇させるのに好適な量、患者に宿主細胞またはその抽出物を導入する工程。

【請求項65】

腫瘍関連抗原またはその部分を提示するMHC分子を同定する工程をさらに含み、該宿主細胞が同定されたMHC分子を発現し腫瘍関連抗原またはその部分を提示する、請求項64の方法。

【請求項66】

10

20

30

40

50

免疫応答がB細胞応答またはT細胞応答を含む請求項64または65の方法。

【請求項 6 7】

免疫応答が腫瘍関連抗原またはその部分を提示する宿主細胞に特異的であるか、または腫瘍関連抗原またはその部分を発現する患者の細胞に特異的である細胞溶解性またはサイトカイン放出性T細胞の産生を含むT細胞応答である請求項66の方法。

【請求項 6 8】

宿主細胞が非増殖性である請求項61-67のいずれかの方法。

【請求項 6 9】

以下の工程を含む腫瘍関連抗原の発現または異常発現によって特徴づけられる疾患の治療方法：

10

(i) 異常な量の腫瘍関連抗原を発現する患者からの細胞を同定する工程、

(ii) 該細胞のサンプルを単離する工程、

(iii) 該細胞を培養する工程、および、

(iv) 細胞に対する免疫応答をトリガーするのに好適な量の該細胞を患者に導入する工程、ここで該腫瘍関連抗原は以下からなる群から選択される核酸によってコードされる配列を有する：

(a) 配列番号1-8、41-44、51-59、84、117、および119からなる群から選択される核酸配列を含む核酸、その一部または誘導体、

(b) (a)の核酸にストリンジェントな条件下でハイブリダイズする核酸、

(c) (a)または(b)の核酸と縮重する核酸、および、

20

(d) (a)、(b)または(c)の核酸と相補的な核酸。

【請求項 7 0】

疾患が癌である請求項33-69のいずれかの方法。

【請求項 7 1】

有効量の請求項1-32のいずれかの医薬組成物を投与することを含む、患者における癌の進行の阻害方法。

【請求項 7 2】

腫瘍関連抗原が配列番号9-19、45-48、60-66、85、90-97、100-102、105、106、111-116、118、120、123、124、および135-137からなる群から選択されるアミノ酸配列、その一部または誘導体を含む請求項33-71の方法。

30

【請求項 7 3】

以下からなる群から選択される核酸：

(a) 配列番号3-5からなる群から選択される核酸配列を含む核酸、その一部または誘導体、

(b) (a)の核酸にストリンジェントな条件下でハイブリダイズする核酸、

(c) (a)または(b)の核酸と縮重する核酸、および、

(d) (a)、(b)または(c)の核酸に相補的な核酸。

【請求項 7 4】

配列番号10、および12-14からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むタンパク質またはポリペプチドをコードする核酸、その一部または誘導体。

【請求項 7 5】

請求項73または74の核酸を含む組換えDNAまたはRNA分子。

40

【請求項 7 6】

ベクターである請求項75の組換えDNA分子。

【請求項 7 7】

ベクターがウイルスベクターまたはバクテリオファージである請求項76の組換えDNA分子。

【請求項 7 8】

核酸の発現を制御する発現制御配列をさらに含む、請求項75-77のいずれかの組換えDNA分子。

【請求項 7 9】

50

発現制御配列が核酸と同種または異種である請求項78の組換えDNA分子。

【請求項80】

請求項73または74の核酸または請求項75-79のいずれかの組換えDNA分子を含む宿主細胞。

【請求項81】

HLA分子をコードする核酸をさらに含む請求項80の宿主細胞。

【請求項82】

請求項73の核酸によってコードされるタンパク質またはポリペプチド。

【請求項83】

配列番号10、および12-14からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むタンパク質またはポリペプチド、その一部または誘導体。 10

【請求項84】

請求項82または83のタンパク質またはポリペプチドの免疫原性断片。

【請求項85】

ヒトHLA受容体またはヒト抗体に結合する請求項82または83のタンパク質またはポリペプチドの断片。

【請求項86】

タンパク質またはポリペプチドまたはその一部に特異的に結合する剤、ここで該タンパク質またはポリペプチドが以下からなる群から選択される核酸によってコードされる：

- (a) 配列番号1-8、41-44、51-59、84、117、および119からなる群から選択される核酸配列を含む核酸、その一部または誘導体、 20
- (b) (a)の核酸にストリンジェントな条件下でハイブリダイズする核酸、
- (c) (a)または(b)の核酸と縮重する核酸、および、
- (d) (a)、(b)または(c)の核酸に相補的な核酸。

【請求項87】

タンパク質またはポリペプチドが配列番号9-19、45-48、60-66、85、90-97、100-102、105、106、111-116、118、120、123、124、および135-137からなる群から選択されるアミノ酸配列、その一部または誘導体を含む請求項86の剤。

【請求項88】

抗体である請求項86または87の剤。 30

【請求項89】

抗体が、モノクローナル、キメラまたはヒト化抗体あるいは抗体の断片である請求項88の剤。

【請求項90】

以下の(i)および(ii)の複合体に選択的に結合する抗体：

- (i) タンパク質またはポリペプチドまたはその部分、および
 - (ii) 該タンパク質またはポリペプチドまたは該その部分が結合するMHC分子、
- ここで該抗体は(i)または(ii)の単独には結合せず、該タンパク質またはポリペプチドは以下からなる群から選択される核酸によってコードされる：
- (a) 配列番号1-8、41-44、51-59、84、117、および119からなる群から選択される核酸配列を含む核酸、その一部または誘導体、 40
 - (b) (a)の核酸にストリンジェントな条件下でハイブリダイズする核酸、
 - (c) (a)または(b)の核酸と縮重する核酸、および、
 - (d) (a)、(b)または(c)の核酸に相補的な核酸。

【請求項91】

タンパク質またはポリペプチドが配列番号9-19、45-48、60-66、85、90-97、100-102、105、106、111-116、118、120、123、124、および135-137からなる群から選択されるアミノ酸配列、その一部または誘導体を含む請求項90の抗体。

【請求項92】

モノクローナル、キメラまたはヒト化抗体あるいは抗体の断片である請求項90または91 50

の抗体。

【請求項 9 3】

請求項 86-89のいずれかの剤または請求項 90-92のいずれかの抗体と治療薬または診断薬との結合体。

【請求項 9 4】

治療薬または診断薬が毒素である請求項 93の結合体。

【請求項 9 5】

以下の検出のための剤を含む腫瘍関連抗原の発現または異常発現を検出するためのキット：

(i)腫瘍関連抗原またはその部分をコードする核酸、

10

(ii)腫瘍関連抗原またはその部分、

(iii)腫瘍関連抗原またはその部分に結合する抗体、および/または、

(iv)腫瘍関連抗原またはその部分とMHC分子との複合体に特異的なT細胞、

ここで該腫瘍関連抗原は以下からなる群から選択される核酸によってコードされる配列を有する：

(a)配列番号1-8、41-44、51-59、84、117、および119からなる群から選択される核酸配列を含む核酸、その一部または誘導体、

(b)(a)の核酸にストリンジェントな条件下でハイブリダイズする核酸、

(c)(a)または(b)の核酸と縮重する核酸、および、

(d)(a)、(b)または(c)の核酸に相補的な核酸。

20

【請求項 9 6】

腫瘍関連抗原またはその部分をコードする核酸を検出するための剤が、該核酸の選択的増幅のための核酸分子である請求項 95のキット。

【請求項 9 7】

核酸の選択的増幅のための核酸分子が、腫瘍関連抗原をコードする核酸の6-50の連続するヌクレオチドの配列を含む、請求項 96のキット。

【請求項 9 8】

配列番号1-8、41-44、51-59、84、117、および119からなる群から選択される核酸配列に由来するプロモーター領域を含む組換えDNA分子。

【発明の詳細な説明】

30

【背景技術】

【0001】

学際的なアプローチおよび古典的治療手順の徹底的な使用にも拘わらず、癌はいまだに死の主な原因である。より最近の治療の考え方は患者の免疫系を、組換え腫瘍ワクチンおよびその他の特定の手法、例えば抗体療法を用いて治療全体の考え方に導入することをねらいとする。かかる戦略の成功のための必要条件は、そのエフェクター機能が介入により増強されるべき患者の免疫系による腫瘍特異的または腫瘍関連抗原あるいはエピトープの認識である。腫瘍細胞はその起源である非悪性細胞と生物学的にかなり異なっている。その差は腫瘍発達の際に獲得した遺伝的变化によるものであり、その結果、とりわけ癌細胞において質または量が変化した分子構造が形成される。腫瘍担持宿主の特異的免疫系によって認識されるこの種の腫瘍関連構造は、腫瘍関連抗原とよばれる。腫瘍関連抗原の特異的認識は細胞性および体液性メカニズムを含み、これらは2つの機能的に相互接続した単位である： $CD4^+$ および $CD8^+$ Tリンパ球はMHC (major histocompatibility complex)クラスIIおよびI分子に提示されたプロセッシングされた抗原をそれぞれ認識し、Bリンパ球はプロセッシングされていない抗原に直接に結合する循環性の抗体分子を産生する。腫瘍関連抗原の潜在的な臨床治療的重要性は、免疫系による腫瘍細胞上の抗原の認識がヘルパーT細胞の存在下での細胞障害性エフェクター機構の開始を導き、癌細胞の排除を導きうるという事実起因する(Pardoll, Nat. Med. 4:525-31, 1998)。したがって腫瘍免疫学の主な目的は分子的にこれらの構造を規定することである。これら抗原の分子特性は長い間謎であった。適切なクローニング技術の開発によって初めて、細胞障害性Tリンパ球(CTL)(van d

50

er Bruggen et al., Science 254:1643-7, 1991)の標的構造を分析することにより、あるいは循環性自己抗体をプローブとして用いることにより(Sahin et al., Curr. Opin. Immunol. 9:709-16, 1997)、腫瘍関連抗原について系統的に腫瘍のcDNA発現ライブラリーをスクリーニングすることが可能となった。この目的のために、cDNA発現ライブラリーが新鮮な腫瘍組織から調製され、好適な系においてタンパク質として組換え的に発現された。患者から単離された免疫エフェクター、即ち、腫瘍特異的溶解パターンを示すCTLクローンあるいは循環性自己抗体がそれぞれの抗原のクローニングに利用された。

【0002】

近年、非常に多数の抗原がこれらアプローチによって様々な新形成において規定されている。しかし、上記の古典的方法において抗原同定のために利用されるプローブは、通常既に進展した癌を有する患者からの免疫エフェクター(循環性自己抗体またはCTLクローン)である。多くのデータが、腫瘍は例えば、T細胞の寛容化および反応不顕性化(anergization)を導くことができ、そして、疾患の経過において、特に有効な免疫認識をもたらさうの特異性が免疫エフェクターレパートリーから失われるということを示している。現在の患者の研究は、以前に発見され利用されてきた腫瘍関連抗原の真の作用の確かな証拠を未だにもたらししていない。したがって、自発的免疫応答を誘発するタンパク質が誤った標的構造を有するというのを排除することは出来ない。

10

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0003】

20

本発明の目的は癌の診断および治療のための標的構造を提供することにあった。

【課題を解決するための手段】

【0004】

本発明によると、この目的は請求の範囲記載の主題によって達成される。

【0005】

本発明によると、腫瘍に関連して発現する抗原およびそれをコードする核酸の同定および提供のための戦略が追求された。この戦略は臓器特異的に発現する特定の遺伝子、例えば結腸、肺または腎臓組織にてもっぱら発現する遺伝子は、それぞれの臓器の腫瘍細胞において、そしてさらにその他の組織の腫瘍細胞において異所的に禁じられた態様で再活性化されるという事実に基づく。まず、データマイニングによりできるだけ完全にすべての既知の臓器特異的遺伝子を取り出す。これらは次いで様々な腫瘍におけるその異常な活性化について特異的RT-PCRによる発現分析によって評価される。データマイニングは腫瘍関連遺伝子の同定のための公知の方法である。しかしこの常套方法において、正常組織ライブラリーのトランスクリプトームがコンピュータにより腫瘍組織ライブラリーから通常差し引かれ、残った遺伝子が腫瘍特異的であると予想される(Schmitt et al., Nucleic Acids Res. 27:4251-60, 1999; Vasmatzis et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 95:300-4, 1998; Scheurle et al., Cancer Res. 60:4037-43, 2000)。

30

【0006】

しかしより有効であることが判明した本発明の概念は、すべての臓器特異的遺伝子をコンピュータにより抽出するためにデータマイニングを利用することおよび該遺伝子の腫瘍における発現を評価することに基づく。

40

【0007】

本発明はしたがって一つの態様において、腫瘍において示差的に発現する組織特異的遺伝子を同定する戦略に関する。該戦略は、公共の配列ライブラリーのデータマイニング(「インシリコ」)とそれに続く実験室での(「ウェットベンチ」)研究の評価を組み合わせるものである。

【0008】

本発明によると、2種類のバイオインフォマティックスクリプト(bioinformatic scripts)に基づく組み合わせ戦略により、新規腫瘍遺伝子の同定が可能となった。これらは以前に純粹に臓器特異的であると分類されたものである。これら遺伝子が腫瘍細胞におい

50

て異常に活性化しているという知見により、それら遺伝子に実質的に新規の機能予測をもなう性質が割り当てられるようになる。本発明によると、これら腫瘍関連遺伝子およびそれらによってコードされる遺伝子産物は、免疫原性作用とは独立に同定及び提供された。

【0009】

本発明によって同定された腫瘍関連抗原は以下からなる群から選択される核酸によってコードされるアミノ酸配列を有する：

- (a) 配列番号1-8、41-44、51-59、84、117および119からなる群から選択される核酸配列を含む核酸、その一部または誘導体、
- (b) ストリンジェントな条件下で(a)の核酸にハイブリダイズする核酸、
- (c) (a)または(b)の核酸と縮重する核酸、および、
- (d) (a)、(b)または(c)の核酸と相補的な核酸。

10

【0010】

好適な態様において、本発明によって同定される腫瘍関連抗原は配列番号1-8、41-44、51-59、84、117および119からなる群から選択される核酸によってコードされるアミノ酸配列を有する。さらに好適な態様において、本発明によって同定される腫瘍関連抗原は配列番号9-19、45-48、60-66、85、90-97、100-102、105、106、111-116、118、120、123、124および135-137からなる群から選択されるアミノ酸配列、その一部または誘導体を含む。

【0011】

本発明は一般に、本発明によって同定される腫瘍関連抗原またはその部分または誘導体、それをコードする核酸または該コード核酸に対する核酸、あるいは本発明によって同定される腫瘍関連抗原またはその部分または誘導体に対する抗体の、治療および診断のための使用に関する。この利用は診断、治療および進行管理における個々のものに関するだけでなく、2以上のかかる抗原、機能的断片、核酸、抗体などの組み合わせ、そして一つの態様においてその他の腫瘍関連遺伝子および抗原との組み合わせにも関する。

20

【0012】

治療および/または診断に好適な疾患は1または複数の本発明によって同定される腫瘍関連抗原が選択的に発現または異常に発現している疾患である。

【0013】

本発明はまた、腫瘍細胞に関連して発現する核酸および遺伝子産物にも関する。

30

【0014】

さらに、本発明は既知の遺伝子の選択的スプライシング(スプライスバリエント)または選択的オープンリーディングフレームを用いる変化した翻訳によって産生される遺伝子産物、即ち核酸およびタンパク質またはペプチドに関する。この態様において、本発明は配列表の配列番号3-5による配列からなる群から選択される核酸配列を含む核酸に関する。さらに、この態様において、本発明は配列表の配列番号10および12-14による配列からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むタンパク質またはペプチドに関する。本発明のスプライスバリエントは腫瘍疾患の診断および治療のための標的として本発明にしたがって利用できる。

40

【0015】

特に、本発明は配列表の配列番号10によるアミノ酸配列に関し、これは本発明により同定される選択的オープンリーディングフレームによりコードされ、以前に記載されたタンパク質配列(配列番号9)と、タンパク質のN末端におけるさらなる85アミノ酸において異なる。

【0016】

全く異なる機構によりスプライスバリエントが産生され、例えば、以下が挙げられる

- 異なる転写開始部位の利用
- さらなるエキソンの利用
- 1または2あるいはそれ以上のエキソンの完全または不完全なスプライシング、

50

- スプライス制御配列の突然変異による変化(欠失または新たな供与/受容配列の作成)、
- イントロン配列の不完全な除去。

【0017】

遺伝子の選択的スプライシングにより異なる転写産物配列(スプライスバリエーション)が生じる。その変化した配列の領域におけるスプライスバリエーションの翻訳の結果、元のタンパク質とは構造および機能において顕著に異なる変化したタンパク質が生じる。腫瘍関連スプライスバリエーションにより腫瘍関連転写産物および腫瘍関連タンパク質/抗原が生じうる。これらは腫瘍細胞の検出および腫瘍の治療標的化のための分子マーカーとして利用できる。腫瘍細胞の、例えば、血液、血清、骨髄、痰、気管支洗浄液、分泌液および組織診における検出は、本発明にしたがって行うことが出来、例えば、スプライスバリエーション特異的オリゴヌクレオチドを用いるPCR増幅による核酸の抽出後に行うことが出来る。特に、プライマー対はオリゴヌクレオチドとして好適であり、その少なくとも一方はストリンジェントな条件下で腫瘍関連スプライスバリエーション領域に結合する。本発明によると、実施例においてこの目的で記載されるオリゴヌクレオチドが好適であり、特に、配列表の配列番号34-36、39、40、および107-110から選択される配列を有するまたは含むオリゴヌクレオチドが好適である。本発明によると、すべての配列依存的検出系が検出に好適である。それらは、PCRは別として、例えば、遺伝子チップ/マイクロアレイ系、ノザンプロット、RNAse保護アッセイ(RDA)その他が挙げられる。すべての検出系は共通して、検出は少なくとも1つのスプライスバリエーション特異的核酸配列との特異的ハイブリダイゼーションに基づく。しかし、腫瘍細胞はスプライスバリエーションによってコードされる特異的エピトープを認識する抗体によって、本発明にしたがって検出されうる。該抗体は該スプライスバリエーションに特異的な免疫化ペプチドを用いて調製できる。この態様において、本発明は特に、配列表の配列番号17-19、111-115、120、および137から選択される配列を有するまたは含むペプチドおよびそれに特異的な抗体に関する。免疫化に好適なのは特にそのエピトープが健康細胞において好適に産生される遺伝子産物のバリエーションと顕著に異なるアミノ酸である。抗体による腫瘍細胞の検出は患者から単離したサンプルに対して行うことが出来、あるいは静脈内投与した抗体の撮像として行うことが出来る。診断用途に加えて、新しいまたは異なるエピトープを有するスプライスバリエーションは免疫療法の魅力的な標的である。本発明のエピトープは治療的に活性なモノクローナル抗体またはTリンパ球の標的化に用いることが出来る。受動免疫療法において、スプライスバリエーション特異的エピトープを認識する抗体またはTリンパ球が養子免疫伝達される。その他の抗原の場合のように、抗体をかかえるエピトープを含むポリペプチドの利用により標準技術によって作成することが出来る(動物の免疫化、組換え抗体単離のパニング戦略)。あるいは該エピトープを含むオリゴまたはポリペプチドをコードする核酸を免疫化に用いることも出来る。エピトープ特異的Tリンパ球の作成のためのインビトロまたはインビボでの多くの技術が知られており詳細に記載されており(例えば、Kessler JH、et al. 2001、Sahin et al.、1997)、おそらくスプライスバリエーション特異的エピトープを含むオリゴまたはポリペプチドまたは該オリゴまたはポリペプチドをコードする核酸の使用に基づく。スプライスバリエーション特異的エピトープを含むオリゴまたはポリペプチドまたは該ポリペプチドをコードする核酸は医薬上活性な物質として能動免疫療法(ワクチン化、ワクチン療法)にも用いることが出来る。

【0018】

本発明はまた、正常及び腫瘍組織において二次修飾の性質および程度が異なるタンパク質も記載する(例えば、Durand & Seta、2000; Clin. Chem. 46: 795-805; Hakomori、1996; Cancer Res. 56: 5309-18)。

【0019】

タンパク質修飾の分析はウェスタンブロットにて行うことが出来る。特に、原則として数kDaのサイズを有するグリコシル化の結果標的タンパク質の全質量が増加し、これはSDS-PAGEで分離することが出来る。特異的 O-およびN-グリコシド結合の検出のために、タンパク質溶解液をSDSを用いた変性の前にO-またはN-グリコシラーゼとインキュベートする(

それぞれ製造業者の指示にしたがう。例えば、PNGase、エンドグリコシダーゼF、エンドグリコシダーゼH、Roche Diagnostics)。その後、ウェスタンブロットを行う。標的タンパク質のサイズが低下している場合は特異的グリコシル化がグリコシダーゼとのインキュベーション後に検出することが出来、したがって修飾の腫瘍特異性が分析できる。腫瘍細胞および健康細胞において示差的にグリコシル化されたタンパク質領域が特に興味深い。かかるグリコシル化の差はしかしこれまでにいくつかの細胞表面タンパク質について記載されているに過ぎない(例えば、Muc1)。

【0020】

本発明によると、腫瘍におけるクローディン18についての示差的グリコシル化を検出することが出来た。胃腸癌、膵臓癌、食道腫瘍、前立腺腫瘍および肺腫瘍は低レベルにてグリコシル化された形態のクローディン18を有する。健康組織におけるグリコシル化はクローディン18のタンパク質エピトープをマスクし、このエピトープはグリコシル化の欠失によって腫瘍細胞上では被覆されない。これに対応して本発明によるとこれらドメインに結合するリガンドおよび抗体を選択することが出来る。本発明によるかかるリガンドおよび抗体は健康細胞上のクローディン18には結合しない。というのは健康細胞上ではエピトープがグリコシル化によって被覆されているからである。

10

【0021】

腫瘍関連スプライスパリアント由来のタンパク質エピトープについて上記したように、示差的グリコシル化を用いて診断および治療目的で正常細胞と腫瘍細胞を識別することが出来る。

20

【0022】

一つの態様において、本発明は、本発明によって同定される腫瘍関連抗原を認識し、本発明によって同定される腫瘍関連抗原発現または異常発現を有する細胞に好ましくは選択的な剤を含む医薬組成物に関する。特定の態様において、該剤は細胞死の誘導、細胞増殖の低減、細胞膜の障害またはサイトカインの分泌をもたらし得、好ましくは腫瘍阻害活性を有する。一つの態様において、剤は腫瘍関連抗原をコードする核酸に選択的にハイブリダイズするアンチセンス核酸である。さらなる態様において、剤は腫瘍関連抗原に選択的に結合する抗体、特に補体活性化または毒素結合抗体であって腫瘍関連抗原に選択的に結合する抗体である。さらなる態様において、剤はそれぞれ選択的に、その少なくとも1つが本発明によって同定される腫瘍関連抗原である異なる腫瘍関連抗原を認識する2以上の剤を含む。認識には直接に抗原の活性または発現の阻害を伴う必要はない。本発明のこの態様において、腫瘍に選択的に限定される抗原は好ましくはエフェクター機構のこの特異的位置への動員のための標的として役立つ。好適な態様において、剤はHLA分子上の抗原を認識し、こうして標識された細胞を溶解する細胞障害性Tリンパ球である。さらなる態様において、剤は腫瘍関連抗原に選択的に結合する抗体でありしたがって自然または人工エフェクター機構を該細胞に動員する。さらなる態様において、剤はその他の細胞の該抗原を特異的に認識するエフェクター機能を増強するヘルパーTリンパ球である。

30

【0023】

一つの態様において、本発明は本発明によって同定される腫瘍関連抗原の発現または活性を阻害する剤を含む医薬組成物に関する。好適な態様において、剤は腫瘍関連抗原をコードする核酸に選択的にハイブリダイズするアンチセンス核酸である。さらなる態様において、剤は腫瘍関連抗原に選択的に結合する抗体である。さらなる態様において、剤は、少なくともその1つが本発明によって同定される腫瘍関連抗原である異なる腫瘍関連抗原の発現または活性をそれぞれ選択的に阻害する2以上の剤を含む。

40

【0024】

本発明はさらに投与された際にHLA分子と本発明によって同定される腫瘍関連抗原からのペプチドエピトープとの複合体の量を選択的に増加させる剤を含む医薬組成物に関する。一つの態様において、剤は1または複数の以下からなる群から選択される成分を含む：
(i)腫瘍関連抗原またはその部分、
(ii)該腫瘍関連抗原またはその部分をコードする核酸、

50

- (iii) 該腫瘍関連抗原またはその部分を発現する宿主細胞、および、
(iv) 該腫瘍関連抗原からのペプチドエピトープとMHC分子との単離複合体。

【0025】

一つの態様において、剤はMHC分子とそれぞれ異なる腫瘍関連抗原のペプチドエピトープとの複合体の量を選択的に増加させる2以上の剤を含み、ここで腫瘍関連抗原の少なくとも1つは本発明によって同定される腫瘍関連抗原である。

【0026】

本発明はさらに1または複数の以下からなる群から選択される成分を含む医薬組成物に関する：

- (i) 本発明によって同定される腫瘍関連抗原またはその部分、
(ii) 本発明によって同定される腫瘍関連抗原またはその部分をコードする核酸、
(iii) 本発明によって同定される腫瘍関連抗原またはその部分に結合する抗体、
(iv) 本発明によって同定される腫瘍関連抗原をコードする核酸に特異的にハイブリダイズするアンチセンス核酸、
(v) 本発明によって同定される腫瘍関連抗原またはその部分を発現する宿主細胞、および、
(vi) 本発明によって同定される腫瘍関連抗原またはその部分とHLA分子との単離複合体。

10

【0027】

本発明によって同定される腫瘍関連抗原またはその部分をコードする核酸は医薬組成物中において発現ベクター中にプロモーターに機能的に連結させて存在させてもよい。

20

【0028】

本発明の医薬組成物中に存在する宿主細胞は、腫瘍関連抗原またはその部分を分泌し、それを表面上に発現するものでもよいし、さらに該腫瘍関連抗原またはその該部分に結合するHLA分子を発現するものでもよい。一つの態様において、宿主細胞はHLA分子を内因的に発現する。さらなる態様において、宿主細胞はHLA分子および/または腫瘍関連抗原またはその部分を組換えにより発現する。宿主細胞は好ましくは非増殖性である。好適な態様において、宿主細胞は抗原提示細胞であり、特に、樹状細胞、単球またはマクロファージである。

【0029】

本発明の医薬組成物中に存在する抗体はモノクローナル抗体であるのがよい。さらなる態様において、抗体はキメラまたはヒト化抗体、天然の抗体または合成の抗体の断片であってよく、これらすべてはコンビナトリー技術によって産生できる。抗体は治療上または診断上有用な薬剤と結合させてもよい。

30

【0030】

本発明の医薬組成物中に存在するアンチセンス核酸は6-50の配列、特に10-30、15-30および20-30の、本発明によって同定される腫瘍関連抗原をコードする核酸の連続ヌクレオチドを含むものであってよい。

【0031】

さらなる態様において、直接または核酸の発現を介して本発明の医薬組成物によって提供される腫瘍関連抗原またはその部分は細胞表面のMHC分子に結合し、該結合は好ましくは細胞溶解性応答の誘発および/またはサイトカイン放出の誘導をもたらす。

40

【0032】

本発明の医薬組成物は医薬上許容される担体および/またはアジュバントを含むものでもよい。アジュバントは、サポニン、GM-CSF、CpGヌクレオチド、RNA、サイトカインまたはケモカインから選択すればよい。本発明の医薬組成物は好ましくは腫瘍関連抗原の選択的発現または異常発現によって特徴づけられる疾患の治療に用いられる。好適な態様において、疾患は癌である。

【0033】

本発明はさらに1または複数の腫瘍関連抗原の発現または異常発現によって特徴づけられる疾患の治療または診断方法にも関する。一つの態様において、治療は本発明の医薬組

50

成物の投与を含む。

【0034】

一つの態様において、本発明は、本発明によって同定される腫瘍関連抗原の発現または異常発現によって特徴づけられる疾患の診断方法に関する。該方法は患者から単離した生物学的サンプルにおける、以下の検出を含む：

- (i)腫瘍関連抗原またはその部分をコードする核酸の検出、および/または、
- (ii)腫瘍関連抗原またはその部分の検出、および/または
- (iii)腫瘍関連抗原またはその部分に対する抗体の検出、および/または
- (iv)腫瘍関連抗原またはその部分に特異的な細胞障害性またはヘルパーTリンパ球の検出

10

【0035】

特定の態様において、検出は以下の工程を含む：

- (i)生物学的サンプルを、腫瘍関連抗原またはその部分をコードする核酸、該腫瘍関連抗原または該その部分、腫瘍関連抗原またはその部分に特異的な抗体あるいは細胞障害性またはヘルパーTリンパ球に特異的に結合する剤と接触させる工程、および
- (ii)剤と核酸またはその部分、腫瘍関連抗原またはその部分、抗体あるいは細胞障害性またはヘルパーTリンパ球との複合体の形成を検出する工程。

【0036】

一つの態様において、疾患は2以上の異なる腫瘍関連抗原の発現または異常発現によって特徴づけられ、検出は、該2以上の異なる腫瘍関連抗原またはその部分をコードする2以上の核酸の検出、2以上の異なる腫瘍関連抗原またはその部分の検出、該2以上の異なる腫瘍関連抗原またはその部分に結合する2以上の抗体の検出または該2以上の異なる腫瘍関連抗原に特異的な2以上の細胞障害性またはヘルパーTリンパ球の検出を含む。さらなる態様において、患者から単離した生物学的サンプルを対応する正常な生物学的サンプルと比較する。

20

【0037】

さらなる態様において、本発明は本発明によって同定される腫瘍関連抗原の発現または異常発現によって特徴づけられる疾患の退行、経過または発症を判定する方法に関し、該方法は、該疾患を有するか該疾患に罹患しやすい患者からのサンプルを、以下からなる群から選択される1または複数のパラメーターに関してモニタリングする工程を含む：

30

- (i)腫瘍関連抗原またはその部分をコードする核酸の量、
- (ii)腫瘍関連抗原またはその部分の量、
- (iii)腫瘍関連抗原またはその部分に結合する抗体の量、および
- (iv)腫瘍関連抗原またはその部分とMHC分子との複合体に特異的な細胞溶解性T細胞またはヘルパーT細胞の量。

【0038】

該方法は好ましくは第一のサンプルの第一の時点およびさらなるサンプルの第二の時点でのパラメーターを測定することを含み、ここで疾患の経過が2つのサンプルの比較によって判定される。特定の態様において、疾患は2以上の異なる腫瘍関連抗原の発現または異常発現によって特徴づけられ、モニタリングは以下のモニタリングを含む：

40

- (i)該2以上の異なる腫瘍関連抗原またはそれらの部分をコードする2以上の核酸の量、および/または
- (ii)該2以上の異なる腫瘍関連抗原またはそれらの部分の量、および/または
- (iii)該2以上の異なる腫瘍関連抗原またはそれらの部分に結合する2以上の抗体の量、および/または
- (iv)該2以上の異なる腫瘍関連抗原またはそれらの部分とMHC分子との複合体に特異的な2以上の細胞溶解性T細胞またはヘルパーT細胞の量。

【0039】

本発明によると、核酸またはその部分の検出あるいは核酸またはその部分の量のモニタリングは該核酸または該その部分に特異的にハイブリダイズするポリヌクレオチドプロ

50

ブを用いて行うことが出来、あるいは該核酸または該その部分の選択的増幅によって行うことが出来る。一つの態様において、ポリヌクレオチドプローブは該核酸の連続するヌクレオチドの6-50、特に、10-30、15-30および20-30の配列を含む。

【0040】

特定の態様において、検出すべき腫瘍関連抗原またはその部分は細胞内または細胞表面に存在する。本発明によると、腫瘍関連抗原またはその部分の検出または腫瘍関連抗原またはその部分の量のモニタリングは、該腫瘍関連抗原または該その部分に特異的な抗体結合によって行いうる。

【0041】

さらなる態様において、検出すべき腫瘍関連抗原またはその部分はMHC分子、特にHLA分子との複合体中に存在する。

10

【0042】

本発明によると、抗体の検出または抗体の量のモニタリングは該抗体に特異的なタンパク質またはペプチドの結合を用いて行いうる。

【0043】

本発明によると、抗原またはその部分とMHC分子との複合体に特異的な細胞溶解性T細胞またはヘルパーT細胞の検出あるいは細胞溶解性T細胞またはヘルパーT細胞の量のモニタリングは、該抗原または該その部分とMHC分子との複合体を提示する細胞を用いて行いうる。

【0044】

20

検出またはモニタリングに使用されるポリヌクレオチドプローブ、抗体、タンパク質またはペプチドあるいは細胞は好ましくは検出可能な様式で標識される。特定の態様において、検出可能なマーカーは放射性マーカーまたは酵素マーカーである。さらにTリンパ球は、その増殖、そのサイトカイン産生、およびそのMHCと腫瘍関連抗原またはその部分との複合体での特異的刺激によってトリガーされる細胞障害性活性を検出することにより検出できる。Tリンパ球はまた1または複数の腫瘍関連抗原の特定の免疫原性断片を搭載し、特異的T細胞受容体を接触させることにより特異的Tリンパ球を同定しうる組換えMHC分子あるいは2以上のMHC分子の複合体を介して検出しうる。

【0045】

さらなる態様において、本発明は本発明によって同定される腫瘍関連抗原の発現または異常発現によって特徴づけられる疾患の治療、診断またはモニタリング方法に関し、該方法は、該腫瘍関連抗原またはその部分に結合し、治療または診断薬と複合化された抗体を投与することを含む。抗体はモノクローナル抗体であってよい。さらなる態様において、抗体はキメラまたはヒト化抗体あるいは天然の抗体の断片である。

30

【0046】

本発明はまた、本発明によって同定される腫瘍関連抗原の発現または異常発現によって特徴づけられる疾患を有する患者の治療方法に関し、該方法は以下の工程を含む：

(i) 該患者から免疫反応性細胞を含むサンプルを取り出す工程、

(ii) 該サンプルと該腫瘍関連抗原またはその部分を発現する宿主細胞を、該腫瘍関連抗原またはその部分に対する細胞溶解性T細胞の産生に好適な条件下で接触させる工程、および、

40

(iii) 腫瘍関連抗原またはその部分を発現する細胞を溶解するのに好適な量の細胞溶解性T細胞を患者に導入する工程。

【0047】

本発明はまた腫瘍関連抗原に対する細胞溶解性T細胞のT細胞受容体のクローニングにも関する。該受容体その他のT細胞に移入してもよく、それはそれによって所望の特異性を受け取り、そして(iii)のように、患者に導入してもよい。

【0048】

一つの態様において、宿主細胞はHLA分子を内因的に発現する。さらなる態様において、宿主細胞は組換えによりHLA分子および/または腫瘍関連抗原またはその部分を発現する

50

。宿主細胞は好ましくは非増殖性である。好適な態様において、宿主細胞は抗原提示細胞、特に、樹状細胞、単球またはマクロファージである。

【0049】

さらなる態様において、本発明は腫瘍関連抗原の発現または異常発現によって特徴づけられる疾患を有する患者の治療方法に関し、該方法は以下の工程を含む：

- (i) 本発明によって同定される腫瘍関連抗原をコードし、該疾患に関連する細胞によって発現する核酸を同定する工程、
- (ii) 宿主細胞を該核酸またはその部分でトランスフェクトする工程、
- (iii) 該核酸を発現させるためにトランスフェクトした宿主細胞を培養する工程(高効率のトランスフェクションが達成された場合これは必須ではない)、および、
- (iv) 疾患に関連する患者の細胞に対する免疫応答を上昇させるのに好適な量にて患者に宿主細胞またはその抽出物を導入する工程。

10

【0050】

該方法はさらに腫瘍関連抗原またはその部分を提示するMHC分子を同定することも含み、ここで宿主細胞は同定されたMHC分子を発現し該腫瘍関連抗原またはその部分を提示する。免疫応答はB細胞応答またはT細胞応答のいずれでもよい。さらに、T細胞応答は腫瘍関連抗原またはその部分を提示する宿主細胞に特異的であるか、腫瘍関連抗原またはその部分を発現する患者の細胞に特異的である、細胞溶解性T細胞および/またはヘルパーT細胞の産生を含むものであり得る。

【0051】

20

本発明はまた、本発明によって同定される腫瘍関連抗原の発現または異常発現によって特徴づけられる疾患の治療方法にも関し、該方法は以下の工程を含む：

- (i) 異常な量の腫瘍関連抗原を発現する患者からの細胞を同定する工程、
- (ii) 該細胞のサンプルを単離する工程、
- (iii) 該細胞を培養する工程、および、
- (iv) 細胞に対する免疫応答をトリガーするのに好適な量の該細胞を患者に導入する工程。

【0052】

好ましくは本発明によって用いられる宿主細胞は非増殖性であるか非増殖性にされたものである。腫瘍関連抗原の発現または異常発現によって特徴づけられる疾患は特に癌である。

30

【0053】

本発明はさらに以下からなる群から選択される核酸に関する：

- (a) 配列番号3-5からなる群から選択される核酸配列を含む核酸、その一部または誘導体、
- (b) (a)の核酸にストリンジェントな条件下でハイブリダイズする核酸、
- (c) (a)または(b)の核酸と縮重する核酸、および、
- (d) (a)、(b)または(c)の核酸に相補的な核酸。

【0054】

本発明はさらに配列番号10および12-14からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するタンパク質またはポリペプチドをコードする核酸、その一部または誘導体に関する。

【0055】

40

さらなる態様において、本発明は、本発明の核酸のプロモーター配列に関する。これら配列は好ましくは発現ベクターにおいて別の遺伝子に機能的に連結していてもよく、該遺伝子の適当な細胞での選択的発現を確保してもよい。

【0056】

さらなる態様において、本発明は本発明の核酸を含む組換え核酸分子、特に、DNAまたはRNA分子に関する。

【0057】

本発明はまた、本発明の核酸または本発明の核酸を含む組換え核酸分子を含む宿主細胞にも関する。

【0058】

50

宿主細胞はHLA分子をコードする核酸を含むものでもよい。一つの態様において、宿主細胞は内因的にHLA分子を発現する。さらなる態様において、宿主細胞は組換えによりHLA分子および/または本発明の核酸またはその部分を発現する。好ましくは、宿主細胞は非増殖性である。好適な態様において、宿主細胞は抗原提示細胞、特に、樹状細胞、単球またはマクロファージである。

【0059】

さらなる態様において、本発明は、本発明により同定される核酸とハイブリダイズし、遺伝子プローブまたは「アンチセンス」分子として利用できるオリゴヌクレオチドに関する。本発明により同定される核酸またはその部分にハイブリダイズするオリゴヌクレオチドプライマーまたはコンピテント (competent) サンプルの形態の核酸分子は、本発明により同定される核酸に相同的な核酸の発見に利用できる。PCR増幅、サザンおよびノザンハイブリダイゼーションを相同的核酸の発見に用いることが出来る。ハイブリダイゼーションは低いストリンジェンシーで行ってもよく、より好ましくは中程度のストリンジェンシー、もっとも好ましくは高いストリンジェンシーの条件で行う。本発明による「ストリンジェントな条件」という語は、ポリヌクレオチド間の特異的ハイブリダイゼーションを可能にする条件をいう。

10

【0060】

さらなる態様において、本発明は以下からなる群から選択される核酸によってコードされるタンパク質、ポリペプチドまたはペプチドに関する：

- (a) 配列番号3-5からなる群から選択される核酸配列を含む核酸、その一部または誘導体、
- (b) (a)の核酸にストリンジェントな条件下でハイブリダイズする核酸、
- (c) (a)または(b)の核酸と縮重する核酸、および、
- (d) (a)、(b)または(c)の核酸と相補的な核酸。

20

【0061】

好適な態様において、本発明は配列番号10および12-14からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むタンパク質またはポリペプチドまたはペプチド、その一部または誘導体に関する。

【0062】

さらなる態様において、本発明は本発明によって同定される腫瘍関連抗原の免疫原性断片に関する。該断片は好ましくはヒトHLA受容体またはヒト抗体に結合する。本発明の断片は好ましくは、少なくとも6、特に少なくとも8、少なくとも10、少なくとも12、少なくとも15、少なくとも20、少なくとも30または少なくとも50のアミノ酸の配列を有する。

30

【0063】

この態様において、本発明は配列番号17-19、90-97、100-102、105、106、111-116、120、123、124、および135-137からなる群から選択される配列を有するか含むペプチド、その一部または誘導体に関する。

【0064】

さらなる態様において、本発明は本発明によって同定される腫瘍関連抗原またはその部分に結合する剤に関する。好適な態様において、剤は抗体である。さらなる態様において、抗体はキメラ、ヒト化抗体またはコンビナトリー技術によって産生される抗体あるいは抗体の断片である。さらに、本発明は以下の(i)と(ii)の複合体に選択的に結合する抗体に関する：

40

- (i) 本発明によって同定される腫瘍関連抗原またはその部分、および
- (ii) 本発明によって同定される腫瘍関連抗原または該その部分が結合するMHC分子、ここで該抗体は(i)のみあるいは(ii)のみには結合しない。

【0065】

本発明の抗体はモノクローナル抗体であってよい。さらなる態様において、抗体はキメラまたはヒト化抗体あるいは天然の抗体の断片である。

【0066】

特に、本発明は、配列番号17-19、90-97、100-102、105、106、111-116、120、123、12

50

4、および135-137からなる群から選択される配列を有するかそれを含むペプチド、その一部または誘導体に特異的に結合するかかる剤、特に抗体に関する。

【0067】

本発明はさらに本発明によって同定される腫瘍関連抗原またはその部分に結合する本発明の剤または本発明の抗体と、治療または診断薬との結合体に関する。一つの態様において、治療または診断薬は毒素である。

【0068】

さらなる態様において、本発明は本発明によって同定される腫瘍関連抗原の発現または異常発現の検出用キットに関し、該キットは以下の検出のための剤を含む：

- (i)腫瘍関連抗原またはその部分をコードする核酸、
- (ii)腫瘍関連抗原またはその部分、
- (iii)腫瘍関連抗原またはその部分に結合する抗体、および/または
- (iv)腫瘍関連抗原またはその部分とMHC分子との複合体に特異的なT細胞。

10

【0069】

一つの態様において、核酸またはその部分の検出用の剤は該核酸の選択的増幅のための核酸分子であって、特に該核酸の6-50、特に10-30、15-30および20-30の連続ヌクレオチド配列を含むものである。

【0070】

発明の詳細な説明

本発明によると、腫瘍細胞において選択的または異常に発現し、腫瘍関連抗原である遺伝子が記載される。

20

【0071】

本発明によると、これら遺伝子および/またはその遺伝子産物および/またはその誘導体および/または部分は治療アプローチのための好ましい標的構造である。概念的には、該治療アプローチは選択的に発現した腫瘍関連遺伝子産物の活性の阻害をねらうものである。これは、該異常なそれぞれの選択的発現が腫瘍病原性に機能的に重要である場合、そしてその連結に対応する細胞の選択的傷害が伴う場合に有用である。別の治療の考え方は腫瘍関連抗原を、腫瘍細胞に選択的に細胞傷害能を有するエフェクター機構を動員する標識として考えるものである。ここで、標的分子自体の機能および腫瘍発達におけるその役割は完全に無関係である。

30

【0072】

本発明による核酸の「誘導体」とは、1または複数のヌクレオチド置換、欠失および/または付加が該核酸に存在することを意味する。さらに「誘導体」の語はまたヌクレオチド塩基、糖またはリン酸における核酸の化学的誘導体化も含む。「誘導体」の語はまた天然にはないヌクレオチドおよびヌクレオチドアナログを含む核酸も含む。

【0073】

本発明によると、核酸は好ましくは、デオキシリボ核酸(DNA)またはリボ核酸(RNA)である。本発明による核酸はゲノムDNA、cDNA、mRNA、組換え産物および化学合成された分子を含む。本発明によると、核酸は一本鎖でも二本鎖として存在してもよく、直鎖状でもよいし共有結合により閉環した分子であってもよい。

40

【0074】

本発明により記載される核酸は好ましくは単離されたものである。「単離核酸」の語は、本発明によると、核酸が以下のものであることを意味する：

- (i)インビトロで、例えばポリメラーゼ連鎖反応(PCR)により、増幅されたもの、
- (ii)クローニングにより組換え産物されたもの、
- (iii)例えば切断およびゲル電気泳動分画により精製されたもの、あるいは、
- (iv)例えば化学合成により合成されたもの。

【0075】

単離核酸は組換えDNA技術による操作を行える核酸である。

【0076】

50

核酸は2つの配列がハイブリダイズでき、互いに安定な二本鎖を形成することが出来る場合、別の核酸と「相補的」であり、ここでハイブリダイゼーションは好ましくはポリヌクレオチド間の特異的ハイブリダイゼーションを可能とする条件(ストリンジェントな条件)下で行う。ストリンジェントな条件は、例えば、以下に記載されている：Molecular Cloning: A Laboratory Manual、J. Sambrook et al.、Editors、2nd Edition、Cold Spring Harbor Laboratory press、Cold Spring Harbor、New York、1989またはCurrent Protocols in Molecular Biology、F. M. Ausubel et al.、Editors、John Wiley & Sons、Inc.、New York。これらによると、例えば、ハイブリダイゼーションバッファー(3.5 x SSC、0.02% フィコール、0.02% ポリビニルピロリドン、0.02% ウシ血清アルブミン、2.5 mM NaH₂PO₄ (pH 7)、0.5% SDS、2 mM EDTA)中での65 °Cでのハイブリダイゼーションをいう。SSCは、0.15 M 塩化ナトリウム/0.15 M クエン酸ナトリウム、pH 7である。ハイブリダイゼーション後、DNAをトランスファーしたメンブレンを例えば以下の条件で洗浄する：2 x SSC中、室温、その後、0.1-0.5 x SSC/0.1 x SDS中、68 °Cまでの温度。

10

【0077】

本発明によると、相補的な核酸は少なくとも40%、特に、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、そして好ましくは少なくとも95%、少なくとも98%あるいは少なくとも99%の、同一なヌクレオチドを有する。

【0078】

腫瘍関連抗原をコードする核酸は、本発明によると、単独でまたはその他の核酸、特に異種核酸と組み合わせて存在してもよい。好適な態様において、核酸は、該核酸と同種であっても異種であってもよい発現制御配列または調節配列と機能的に連結している。コード配列と調節配列は、該コード配列の発現または転写が該調節配列の制御あるいは影響下となるように互いに共有結合している場合、互いに「機能的に」連結している。コード配列が翻訳されて機能的タンパク質となり、ここで調節配列が該コード配列に機能的に連結している場合、該調節配列の誘導の結果、該コード配列の転写が起こり、コード配列におけるフレームシフトは起こらず、所望のタンパク質またはペプチドへと翻訳され得ないコード配列は生じない。

20

【0079】

「発現制御配列」または「調節配列」の語は、本発明によると、プロモーター、エンハンサーおよびその他の遺伝子発現を調節する制御要素を含む。本発明の特定の態様において、発現制御配列は制御されうる。調節配列の正確な構造は種または細胞型の関数として変化しうるが、一般にそれぞれ転写および翻訳の開始に関与する5'非転写および5'非翻訳配列、例えば、TATAボックス、キャップ配列、CAAT配列等を含む。より具体的には、5'非転写調節配列は、機能的に連結した遺伝子の転写制御のためのプロモーター配列を含むプロモーター領域を含む。調節配列はまた、エンハンサー配列または上流のアクチベーター配列を含んでいてもよい。

30

【0080】

したがって一方で、本明細書に記載する腫瘍関連抗原はいずれの発現制御配列およびプロモーターと組み合わせてもよい。しかし他方で、本明細書に記載する腫瘍関連遺伝子産物のプロモーターは、本発明によるとその他の遺伝子と組み合わせてもよい。これによってこれらのプロモーターの選択的活性が利用される。

40

【0081】

本発明によると、核酸はさらに宿主細胞からの該核酸によってコードされるタンパク質またはポリペプチドの分泌を制御するポリペプチドをコードするその他の核酸と組み合わせて存在してもよい。本発明によると、核酸はコードされるタンパク質またはポリペプチドが宿主細胞の細胞膜にアンカーされるように、あるいは該細胞の特定のオルガネラに区画化されるようにするポリペプチドをコードする別の核酸と組み合わせて存在してもよい。同様に、レポーター遺伝子またはいずれかの「タグ」を表すことが出来る核酸との組み合わせも可能である。

【0082】

50

好適な態様において、本発明による組換えDNA分子は核酸、例えば本発明の腫瘍関連抗原をコードする核酸の発現を制御する適当なプロモーターとともにベクター中であってもよい。もっとも一般的な意味において本明細書において用いる「ベクター」の語は、該核酸が、例えば、原核および/または真核細胞に導入され、適当な場合ゲノムに組み込まれるのを可能にする核酸のためのあらゆる中間媒体を含む。この種のベクターは細胞中で好ましくは複製および/または発現される。中間媒体は、例えば、エレクトロポレーション、微粒子銃による衝撃、リボソーム投与、アグロバクテリウムによる移入またはDNAまたはRNAウイルスを介した挿入における使用に適用される。ベクターにはプラスミド、ファージミドまたはウイルスゲノムが含まれる。

【0083】

10

本発明によって同定される腫瘍関連抗原をコードする核酸は宿主細胞のトランスフェクションに利用できる。ここで核酸は組換えDNAとRNAの両方を意味する。組換えRNAはDNAテンプレートのインビトロ転写により調製できる。さらに、使用前に安定化配列、キャップおよびポリアデニル化によって修飾してもよい。

【0084】

本発明によると、「宿主細胞」の語は外来核酸で形質転換またはトランスフェクトするあらゆる細胞を含む。本発明によると「宿主細胞」の語は原核(例えば、大腸菌)または真核細胞(例えば、樹状細胞、B細胞、CHO細胞、COS細胞、K562細胞、酵母細胞および昆虫細胞)を含む。特に好ましいのは、哺乳類細胞、例えば、ヒト、マウス、ハムスター、ブタ、ヤギ、霊長類由来細胞である。細胞は様々な組織タイプ由来であってよく、一次細胞および細胞株を含む。具体的な例としてはケラチン生成細胞、末梢血白血球、骨髓幹細胞および胚幹細胞が含まれる。さらなる態様において、宿主細胞は抗原提示細胞、特に、樹状細胞、単球またはマクロファージである。核酸は宿主細胞中に単一コピーまたは2コピー以上の形態において存在し得、一つの態様において、宿主細胞中で発現される。

20

【0085】

本発明によると、「発現」の語はもっとも広い意味で用いられ、RNAの産生またはRNAとタンパク質の産生を含む。それはまた核酸の部分的発現も含む。さらに、発現は一過的に行っても安定に行ってもよい。哺乳類細胞における好ましい発現系は、pcDNA3.1およびpRc/CMV(Invitrogen、Carlsbad、CA)を含み、これらは選抜可能マーカー、例えば、G418に耐性を付与する遺伝子(したがって安定にトランスフェクトされた細胞株の選抜を可能にする)およびサイトメガロウイルス(CMV)のエンハンサー-プロモーター配列を含む。

30

【0086】

本発明の、HLA分子が腫瘍関連抗原またはその部分を提示する場合において、発現ベクターはまた該HLA分子をコードする核酸配列を含んでいてもよい。HLA分子をコードする核酸配列は腫瘍関連抗原をコードする核酸またはその部分と同一の発現ベクターに存在していてもよいし、あるいは両核酸は異なる発現ベクターに存在していてもよい。後者の場合、2つの発現ベクターを細胞に共トランスフェクトすればよい。宿主細胞が腫瘍関連抗原またはその部分またはHLA分子のいずれも発現しない場合、それらをコードする両核酸を細胞に同一の発現ベクターにおいてあるいは異なる発現ベクターにおいてトランスフェクトする。細胞が既にHLA分子を発現している場合、腫瘍関連抗原またはその部分をコードする核酸配列のみを細胞にトランスフェクトすればよい。

40

【0087】

本発明はまた、腫瘍関連抗原をコードする核酸の増幅のためのキットも含む。かかるキットは、例えば、腫瘍関連抗原をコードする核酸にハイブリダイズする増幅プライマーの対を含む。プライマーは好ましくは核酸の6-50、特に、10-30、15-30および20-30の連続ヌクレオチドの配列を含み、プライマーダイマーが形成されないようにオーバーラップしないものである。プライマーの一方は腫瘍関連抗原をコードする核酸の一方の鎖にハイブリダイズし、他方のプライマーは腫瘍関連抗原をコードする核酸の増幅を可能とする配置において相補的な鎖にハイブリダイズする。

【0088】

50

「アンチセンス」分子または「アンチセンス」核酸を用いて核酸の発現を制御、特に減少させることが出来る。「アンチセンス分子」または「アンチセンス核酸」の語は、本発明によると、オリゴリボヌクレオチド、オリゴデオキシリボヌクレオチド、修飾オリゴリボヌクレオチドまたは修飾オリゴデオキシリボヌクレオチドであるオリゴヌクレオチドであって、生理条件下で特定の遺伝子を含むDNAあるいは該遺伝子のmRNAにハイブリダイズするものをいい、それによって、該遺伝子の転写および/または該mRNAの翻訳が阻害される。本発明によると、「アンチセンス分子」はその通常のプロモーターに関して逆方向に核酸またはその部分を含むコンストラクトも含む。核酸またはその部分のアンチセンス転写産物は酵素を規定する天然のmRNAと二本鎖を形成することが出来、したがってmRNAの蓄積または活性な酵素への翻訳を阻害することが出来る。もう一つの可能性は核酸の不活化のためのリボザイムの使用である。本発明による好ましいアンチセンスオリゴヌクレオチドは標的核酸の6-50、特に10-30、15-30および20-30の連続するヌクレオチドの配列を有し、好ましくは標的核酸またはその部分に完全に相補的である。

10

【0089】

好適な態様において、アンチセンスオリゴヌクレオチドはN-末端または5'上流部位、例えば、翻訳開始部位、転写開始部位またはプロモーター部位にハイブリダイズする。さらなる態様において、アンチセンスオリゴヌクレオチドは3'非翻訳領域またはmRNAスプライシング部位にハイブリダイズする。

【0090】

一つの態様において、本発明のオリゴヌクレオチドはリボヌクレオチド、デオキシリボヌクレオチドまたはその組み合わせからなり、一つのヌクレオチドの5'末端ともう一つのヌクレオチドの3'末端が互いにホスホジエステル結合で連結している。これらオリゴヌクレオチドは常套方法によって合成してもよいし、組換え産生してもよい。

20

【0091】

好適な態様において、本発明のオリゴヌクレオチドは「修飾」オリゴヌクレオチドである。ここで、オリゴヌクレオチドはその標的への結合能力を阻害しないで、様々に修飾して、例えば、その安定性または治療効力を上昇させてもよい。本発明によると、「修飾オリゴヌクレオチド」の語は以下のオリゴヌクレオチドを意味する：

(i) 少なくともそのヌクレオチドの2つが互いに合成インターヌクレオシド結合(即ち、ホスホジエステル結合ではないインターヌクレオシド結合)により連結されている、および/または

30

(ii) 核酸において通常みられない化学基がオリゴヌクレオチドに共有結合している。

【0092】

好ましい合成インターヌクレオシド結合は、ホスホロチオエート、アルキルホスホネート、ホスホロジチオエート、リン酸エステル、アルキルホスホノチオエート、ホスホラミダイト、カーバメート、カーボネート、ホスフェートトリエステル、アセトアミデート、カルボキシメチルエステルおよびペプチドである。

【0093】

「修飾オリゴヌクレオチド」の語はまた、共有結合により修飾された塩基および/または糖を有するオリゴヌクレオチドを含む。「修飾オリゴヌクレオチド」は、例えば、3'位のヒドロキシル基および5'位のホスフェート基以外の低分子量有機基に共有結合した糖残基を有するオリゴヌクレオチドである。修飾オリゴヌクレオチドは、例えば、2'-O-アルキル化リボース残基またはリボース以外のその他の糖、例えばアラビノースを含むものでもよい。

40

【0094】

好ましくは、本発明にしたがって記載されるタンパク質およびポリペプチドは単離されたものである。「単離タンパク質」または「単離ポリペプチド」の語は、タンパク質またはポリペプチドが自然環境から分離されていることを意味する。単離タンパク質またはポリペプチドは実質的に純粋な状態であり得る。「実質的に純粋な状態」という語は、タンパク質またはポリペプチドが、自然あるいはインビボでそれらが結合しているその他の物

50

質を実質的に含まないということを意味する。

【0095】

かかるタンパク質およびポリペプチドは、例えば、抗体の産生および治療薬として免疫学的または診断アッセイにおいて利用できる。本発明にしたがって記載されるタンパク質およびポリペプチドは生物学的サンプル、例えば組織または細胞ホモジネートから単離したものでよいし、様々な原核または真核発現系において組換え発現させたものでよい。

【0096】

本発明の目的のために、タンパク質またはポリペプチドあるいはアミノ酸配列の「誘導体」は、アミノ酸挿入バリエーション、アミノ酸欠失バリエーションおよび/またはアミノ酸置換バリエーションを含む。

10

【0097】

アミノ酸挿入バリエーションはアミノ-および/またはカルボキシ-末端融合を含み、また、1または2以上のアミノ酸の特定のアミノ酸配列への挿入も含む。挿入を有するアミノ酸配列バリエーションの場合、1または複数のアミノ酸残基がアミノ酸配列の特定の部位に挿入されているが、結果的に得られる産物の適当なスクリーニングを伴うランダム挿入も可能である。アミノ酸欠失バリエーションは配列からの1または複数のアミノ酸の欠如によって特徴づけられる。アミノ酸置換バリエーションは配列における少なくとも1残基が除去され、別の残基がその位置に挿入されていることによって特徴づけられる。好ましくは修飾は相同的タンパク質またはポリペプチド間で保存されていないアミノ酸配列における位置のものである。好ましくは、アミノ酸を類似の特性、例えば、疎水性、親水性、電気陰性度、側鎖の大きさなどを有する別のアミノ酸で置換する(保存的置換)。保存的置換は、例えば、1つのアミノ酸の、置換すべきアミノ酸と同じ群に属する以下に挙げる別のアミノ酸による交換に関する：

20

1. 小さい脂肪族、非極性またはわずかに極性の残基:Ala、Ser、Thr (Pro、Gly)
2. 負に荷電した残基およびそのアミド:Asn、Asp、Glu、Gln
3. 正に荷電した残基:His、Arg、Lys
4. 大きい脂肪族、非極性残基:Met、Leu、Ile、Val (Cys)
5. 大きい芳香族残基:Phe、Tyr、Trp。

【0098】

タンパク質構造のその特定の部分により、3つの残基を括弧内に示す。Glyは側鎖を有さない唯一の残基でありしたがって鎖に柔軟性を与える。Proは鎖を大幅に制限する珍しい構造を有する。Cysはジスルフィド結合を形成することが出来る。

30

【0099】

上記のアミノ酸バリエーションは公知のペプチド合成技術、例えば、固相合成(Merrifield、1964)および類似の方法または組換えDNA操作によって容易に調製できる。あらかじめ決定した位置における置換突然変異の、配列既知のまたは部分的に既知のDNAへの導入技術は周知であり、例えばM13突然変異誘発が含まれる。置換、挿入または欠失を有するタンパク質の調製のためのDNA配列の操作は、例えばSambrook et al. (1989)に詳細に記載されている。

40

【0100】

本発明によると、タンパク質、ポリペプチドまたはペプチドの「誘導体」は1または複数の酵素に関連する分子の置換、欠失および/または付加が含まれ、かかる分子としては、炭水化物、脂質および/またはタンパク質、ポリペプチドまたはペプチドが挙げられる。「誘導体」の語は、該タンパク質、ポリペプチドまたはペプチドのすべての機能的化学的同等体も含む。

【0101】

本発明によると、腫瘍関連抗原の部分または断片はそれが由来するポリペプチドの機能的特性を有する。かかる機能的特性には、抗体との相互作用、その他のポリペプチドまたはタンパク質との相互作用、核酸の選択的結合および酵素活性が挙げられる。特定の特性

50

はHLAと複合体を形成する能力であり、適当な場合、免疫応答が導かれる。この免疫応答は細胞障害性またはヘルパーT細胞の刺激に基づきうる。本発明の腫瘍関連抗原の部分または断片は好ましくは腫瘍関連抗原の少なくとも6、特に少なくとも8、少なくとも10、少なくとも12、少なくとも15、少なくとも20、少なくとも30または少なくとも50の連続するアミノ酸の配列を含む。

【0102】

腫瘍関連抗原をコードする核酸の部分または断片は本発明によると上記のように少なくとも腫瘍関連抗原および/または該腫瘍関連抗原の部分または断片をコードする核酸の部分に関する。

【0103】

腫瘍関連抗原をコードする遺伝子の単離と同定はまた、1または複数の腫瘍関連抗原の発現によって特徴づけられる疾患の診断を可能とする。これら方法は、腫瘍関連抗原をコードする1または複数の核酸を判定すること、および/またはコードされる腫瘍関連抗原および/またはそれに由来するペプチドを判定することを含む。核酸は常套方法によって判定でき、例えば、ポリメラーゼ連鎖反応または標識化プローブによるハイブリダイゼーションを含む。腫瘍関連抗原またはそれに由来するペプチドは、抗原および/またはペプチドの認識について患者の抗血清をスクリーニングすることによって判定できる。それはまた、対応する腫瘍関連抗原に対する特異性について患者のT細胞をスクリーニングすることによっても判定できる。

【0104】

本発明はまた本明細書に記載する腫瘍関連抗原に結合するタンパク質の単離も可能にし、これには抗体および該腫瘍関連抗原の細胞結合パートナーが含まれる。

【0105】

本発明によると、特定の態様は腫瘍関連抗原由来の「ドミナントネガティブ」ポリペプチドを提供する。ドミナントネガティブポリペプチドは不活性タンパク質バリエーションであり、細胞機構と相互作用することにより、その細胞機構との相互作用から活性のタンパク質ととってかわるか、あるいは活性のタンパク質と競合するものであり、それによって該活性のタンパク質の効果を低減させる。例えば、リガンドに結合するが、リガンドへの結合に応答してシグナルを生じないドミナントネガティブ受容体は該リガンドの生理効果を低減させる。同様に、通常標的タンパク質と相互作用するが該標的タンパク質をリン酸化しないドミナントネガティブな触媒的に不活性なキナーゼは、細胞シグナルの応答としての該標的タンパク質のリン酸化を低減しうる。同様に、遺伝子の制御領域におけるプロモーター部位に結合するが該遺伝子の転写を上昇させないドミナントネガティブな転写因子は、転写を上昇させることなくプロモーター結合部位を占有することによって通常の転写因子の効果を低減しうる。

【0106】

細胞におけるドミナントネガティブなポリペプチドの発現の結果、活性なタンパク質の機能が低下する。当業者であればタンパク質のドミナントネガティブバリエーションを、例えば、常套の突然変異誘発方法そしてバリエーションポリペプチドのドミナントネガティブ効果の評価によって調製することができるであろう。

【0107】

本発明はまた、腫瘍関連抗原に結合するポリペプチド等の物質も含む。かかる結合性物質は、例えば、腫瘍関連抗原および腫瘍関連抗原とその結合パートナーの複合体の検出のためのスクリーニングアッセイにおいて、および該腫瘍関連抗原ならびにその結合パートナーとの複合体の精製において利用することが出来る。かかる物質は例えばかかる抗原への結合によって、腫瘍関連抗原の活性の阻害にも用いることが出来る。

【0108】

本発明はそれゆえ腫瘍関連抗原に選択的に結合することが出来る結合性物質、例えば、抗体または抗体断片を含む。抗体はポリクローナルおよびモノクローナル抗体を含み、これらは常套方法より産生される。

10

20

30

40

50

【0109】

かかる抗体はネイティブなおよび/または変性状態におけるタンパク質を認識することが出来る (Anderson et al., J. Immunol. 143: 1899-1904, 1989; Gardsvoll, J. Immunol. Methods 234: 107-116, 2000; Kayyem et al., Eur. J. Biochem. 208: 1-8, 1992; S piller et al., J. Immunol. Methods 224 : 51-60, 1999)。

【0110】

標的タンパク質に特異的に結合する特異的抗体を含む抗血清は様々な標準的方法で調製することが出来る;例えば、“Monoclonal Antibody: A Practical Approach”, Philip S hepherd, Christopher Dean ISBN 0-19-963722-9; “Antibody: A Laboratory Manual”, Ed Harlow, David Lane, ISBN: 0879693142 および “Using Antibody: A Laboratory Manual: Portable Protocol NO”, Edward Harlow, David Lane, Ed Harlow ISBN 08796 95447を参照されたい。したがってネイティブな形態において複雑な膜タンパク質を認識するアフィン (affine) および特異的抗体を作成することも可能である (Azorsa et al., J. Immunol. Methods 229: 35-48, 1999; Anderson et al., J. Immunol. 143: 1899-190 4, 1989; Gardsvoll, J. Immunol. Methods 234: 107-116, 2000)。これは特に治療的に用いられるだけでなく多くの診断用途を有する抗体の調製に関する。これに関して、全タンパク質、細胞外部分配列、また生理的に折りたたまれた形態にて標的分子を発現する細胞によって免疫することが可能である。

10

【0111】

モノクローナル抗体は古典的にはハイブリドーマ技術を用いて調製される (技術的詳細については以下を参照されたい: “Monoclonal Antibody: A Practical Approach”, Philip Shepherd, Christopher Dean ISBN 0-19-963722-9; “Antibody: A Laboratory Manual”, Ed Harlow, David Lane ISBN: 0879693142; “Using Antibody: A Laboratory Manual: Portable Protocol NO”, Edward Harlow, David Lane, Ed Harlow ISBN: 08796954 47)。

20

【0112】

抗体分子の小さい部分、即ち、抗原結合部位だけが、抗体のそのエピトープへの結合に関与していることが知られている (以下を参考: Clark, W.R. (1986), The Experimental Foundations of Modern Immunology, Wiley & Sons, Inc., New York; Roitt, I. (1991) 、Essential Immunology, 7th Edition, Blackwell Scientific Publications, Oxford) 。pFc'およびFc領域は、例えば、補体カスケードのエフェクターであるが、抗原結合には関与していない。F(ab')₂断片と称されるpFc'領域が酵素的に除かれた抗体またはpFc'領域を含まないように産生された抗体は、完全な抗体の両方の抗原結合部位を担持する。同様に、Fab断片と称されるFc領域が酵素的に除かれた抗体またはFc領域を含まないように産生された抗体は、インタクトな抗体分子の一方の抗原結合部位を担持する。さらに、Fab断片は共有結合した抗体の軽鎖と該抗体のFdと称される重鎖の部分からなる。Fd断片は主な抗体特異性の決定部分であり (一つのFd断片は、抗体の特異性を変化させることなく10までの異なる軽鎖と結合できる)、Fd断片は単離されても、エピトープへの結合能を保持する。

30

【0113】

抗体の抗原結合部分のなかに抗原エピトープと直接相互作用する相補性決定領域 (CDR) と抗原結合部位の三次構造を維持するフレームワーク領域 (FR) が位置する。IgG 免疫グロブリンの重鎖のFd断片と軽鎖の両方は4つのフレームワーク領域 (FR1~FR4) を含み、これは3つの相補性決定領域 (CDR1~CDR3) によって分断されている。CDRおよび、特に、CDR3領域そして、さらに重鎖のCDR3領域が抗体特異性に非常に重要である。

40

【0114】

哺乳類抗体の非-CDR領域は、元の抗体のエピトープに対する特異性を維持したまま同じまたは異なる特異性の抗体の同様の領域によって置換され得ることが知られている。これによって「ヒト化」抗体の開発が可能となり、ここで非ヒトCDRがヒトFRおよび/またはFc/pFc'領域に共有結合して機能性の抗体が作られる。

50

【0115】

これはいわゆる「SLAM」技術に用いることが出来、ここで全血からB細胞が単離され、細胞が単クローン化される。次いで、単一のB細胞の上清がその抗体特異性に関して分析される。ハイブリドーマ技術と異なり、抗体遺伝子の可変領域が単細胞PCRを用いて増幅され、好適なベクターにクローニングされる。このようにして、モノクローナル抗体の供給が加速されている(de Wildt et al., J. Immunol. Methods 207: 61-67, 1997)。

【0116】

別の例として、W092/04381はヒト化マウスRSV抗体の産生と使用を記載しており、ここで少なくともマウスFR領域の一部がヒト起源のFR領域と置換された。この種の抗体、例えば、抗原結合能を有するインタクトな抗体の断片は「キメラ」抗体と称される。

10

【0117】

本発明はまた、抗体のF(ab')₂、Fab、Fv、およびFd断片ならびにキメラ抗体、ここで、Fcおよび/またはFRおよび/またはCDR1および/またはCDR2および/または軽鎖-CDR3領域が相同のヒトまたは非ヒト配列に置換されている、キメラF(ab')₂-断片抗体、ここでFRおよび/またはCDR1および/またはCDR2および/または軽鎖-CDR3領域が相同のヒトまたは非ヒト配列で置換されている、キメラFab-断片抗体、ここでFRおよび/またはCDR1および/またはCDR2および/または軽鎖-CDR3領域が相同のヒトまたは非ヒト配列で置換されている、そしてキメラFd-断片抗体、ここでFRおよび/またはCDR1および/またはCDR2領域が相同のヒトまたは非ヒト配列で置換されている、を提供する。本発明はまた「一本鎖」抗体も含む。

20

【0118】

本発明はまた、腫瘍関連抗原に特異的に結合するポリペプチドも含む。この種のポリペプチド結合性物質は、例えば、単に溶液中に固定化形態で調製されているかあるいはファージディスプレイライブラリーとして調製されるディジェネレートペプチドライブラリーにより提供され得る。1または複数のアミノ酸を有するペプチドのコンビナトリアルライブラリーを調製することも同様に可能である。ペプチドおよび非ペプチド合成残基のライブラリーも調製可能である。

【0119】

ファージディスプレイは本発明の結合性ペプチドの同定に特に有効である。これについて、例えば、4から約80 アミノ酸残基長のインサートを表す(例えば、M13、fd またはラムダファージを使用して)ファージライブラリーを調製する。ファージを次いで腫瘍関連抗原に結合するインサートを担持するかについて選抜する。この工程は2サイクル以上繰り返してもよく、腫瘍関連抗原へ結合するファージを再選択する。繰り返すことによって、特定の配列を有するファージが濃縮される。DNA配列の分析を行って発現するポリペプチドの配列を同定してもよい。腫瘍関連抗原に結合する配列の最も小さい直線状の部分を決定するとよい。酵母の「ツーハイブリッドシステム」を用いて腫瘍関連抗原に結合するポリペプチドを同定してもよい。本発明による腫瘍関連抗原またはその断片はファージディスプレイライブラリーを含むペプチドライブラリーのスクリーニングに用いて、腫瘍関連抗原のペプチド結合性パートナーの同定および選択をすることができる。かかる分子は、腫瘍関連抗原の機能の妨害およびその他の当業者に知られた目的のために、例えば、スクリーニングアッセイ、精製プロトコルに用いることが出来る。

30

40

【0120】

上記の抗体およびその他の結合性分子を、例えば、腫瘍関連抗原を発現する組織の同定に用いることが出来る。抗体は腫瘍関連抗原を発現する細胞および組織を示すために特定の診断物質と結合させてもよい。これらは治療上有用な物質と結合させてもよい。診断物質としては、これらに限定されないが以下が含まれる：硫酸バリウム、イオセタミン酸(iocetamic acid)、イオパノ酸、イボダートカルシウム、ナトリウムジアトリゾエート、メグルミンジアトリゾエート、メトリザミド、チロパノエートナトリウムおよび放射性診断薬、例えば、陽電子放射体、例えば、フッ素-18および炭素-11、ガンマ放出体、例えば、ヨウ素-123、テクネチウム-99m、ヨウ素-131およびインジウム-111、核磁気共鳴のため

50

の核種、例えば、フッ素およびガドリニウム。本発明によると、「治療上有用な物質」との語は所望により1または複数の腫瘍関連抗原を発現する細胞に選択的に導かれるあらゆる治療用分子をいい、例えば、抗癌薬、放射性ヨウ素標識化合物、毒素、細胞増殖抑制剤または細胞溶解剤などが挙げられる。抗癌薬としては、例えば、以下が含まれる：アミノグルテチミド、アザチオプリン、硫酸ブレオマイシン、ブスルファン、カルムスチン、クロラムブシル、シスプラチン、シクロホスファミド、シクロスポリン、シタラビジン、ダカルバジン、ダクチノマイシン、ダウノルビン、ドキソルピシン、タキソール、エトポシド、フルオロウラシル、インターフェロン-、ロムスチン、メルカプトプリン、メトトレキサート、ミトタン、プロカルバジンHCl、チオグアニン、硫酸ビンブラスチンおよび硫酸ビンクリスチン。その他の抗癌剤は、例えば、Goodman and Gilman, "The Pharmacological Basis of Therapeutics", 8th Edition, 1990, McGraw-Hill, Inc., 特に Chapter 52 (Antineoplastic Drugs (Paul Calabresi and Bruce A. Chabner)) に記載されている。毒素はタンパク質、例えば、ヤマゴボウ抗ウイルスタンパク質、コレラ毒素、百日咳毒素、リシン、ゲロニン、アブリン、ジフテリア外毒素またはシュードモナス外毒素であってもよい。毒素残基は、高エネルギー放射性核種、例えば、コバルト-60であってもよい。

10

【0121】

本発明によると「患者」の語は、ヒト、非ヒト霊長類またはその他の動物、特に哺乳類、例えば、ウシ、ウマ、ブタ、ヒツジ、ヤギ、イヌ、ネコ、またはげっ歯類、例えば、マウスおよびラットをいう。特に好ましい態様において、患者はヒトである。

20

【0122】

本発明によると、「疾患」の語は、腫瘍関連抗原が発現しているか異常に発現しているあらゆる病的状態をいう。「異常な発現」とは本発明によると、発現が健康な個体における状態と比べて変化、好ましくは上昇していることをいう。発現の上昇は、少なくとも10%、特に少なくとも20%、少なくとも50%または少なくとも100%の上昇をいう。一つの態様において、腫瘍関連抗原は疾患個体の組織にのみ発現しており、健康な個体における発現は抑制されている。かかる疾患の一例は癌であり、ここで「癌」の語は本発明によると、白血病、精上皮腫、メラノーマ、奇形腫、神経膠腫、腎臓癌、副腎癌、甲状腺癌、腸癌、肝臓癌、結腸癌、胃癌、胃腸癌、リンパ節癌、食道癌、結腸直腸癌、膵臓癌、耳鼻咽喉(ENT)癌、乳癌、前立腺癌、子宮癌、卵巣癌および肺癌ならびにそれらの転移を含む。

30

【0123】

本発明によると、生物学的サンプルは組織サンプルおよび/または細胞サンプルであってよく、本明細書に記載する様々な方法における使用のため、以下のような常套手段によって得られるものであってよい：組織診、例えば、パンチ生検、および血液、気管支吸引液、痰、尿、便またはその他の体液の採取。

【0124】

本発明によると、「免疫反応性細胞」の語は、好適な刺激によって免疫細胞(例えば、B細胞、ヘルパーT細胞、または細胞溶解性T細胞)へと成熟しうる細胞を意味する。免疫反応性細胞は、CD34⁺ 造血幹細胞、未熟および成熟T細胞ならびに未熟および成熟B細胞を含む。腫瘍関連抗原を認識する細胞溶解性またはヘルパーT細胞の産生が望ましい場合は、免疫反応性細胞を細胞溶解性T細胞およびヘルパーT細胞の産生、分化および/または選択に好ましい条件下で腫瘍関連抗原を発現する細胞と接触させる。抗原に曝された際のT細胞前駆体の細胞溶解性T細胞の分化は、免疫系のクローン選択と類似である。

40

【0125】

いくつかの治療方法は患者の免疫系の反応に基づき、その結果、抗原提示細胞、例えば1または複数の腫瘍関連抗原を提示する癌細胞の溶解が導かれる。これに関して、例えば、腫瘍関連抗原とMHC分子との複合体に特異的な自己細胞障害性Tリンパ球が細胞異常を有する患者に投与される。かかる細胞障害性Tリンパ球のインビトロでの産生は知られている。T細胞の分化方法の例は、WO-A-9633265に記載されている。一般に、細胞、例えば血液細胞を含むサンプルを患者から採取し、細胞を、複合体を提示し、細胞障害性Tリンパ

50

球(例えば、樹状細胞)の増殖を引き起こしうる細胞と接触させる。標的細胞はトランスフェクトされた細胞、例えばCOS細胞とすればよい。かかるトランスフェクトされた細胞はその表面に所望の複合体を提示し、細胞障害性Tリンパ球と接触すると、細胞障害性Tリンパ球の増殖を刺激する。クローン拡張された自己細胞障害性Tリンパ球は次いで患者に投与される。

【0126】

抗原特異的細胞障害性Tリンパ球の選択の別の方法において、MHCクラスI分子/ペプチド複合体の蛍光発生テトラマーが、細胞障害性Tリンパ球の特異的クローンの検出に用いられる(Altman et al., Science 274:94-96, 1996; Dunbar et al., Curr. Biol. 8:413-416, 1998)。可溶性MHCクラスI分子は₂ミクログロブリンおよび該クラスI分子に結合するペプチド抗原の存在下でインビトロで折りたたまれる。MHC/ペプチド複合体は精製され、次いでビオチン標識される。テトラマーがビオチン化ペプチド-MHC複合体と標識化アビジン(例えば、フィコエリトリン)の混合によりモル比4:1にて形成される。テトラマーは次いで細胞障害性Tリンパ球、例えば末梢血またはリンパ節と接触される。テトラマーはペプチド抗原/MHCクラスI複合体を認識する細胞障害性Tリンパ球に結合する。テトラマーに結合した細胞は蛍光制御細胞ソーティングによってソートされ、反応性細胞障害性Tリンパ球が単離される。単離された細胞障害性Tリンパ球はインビトロで増殖させればよい。

【0127】

養子免疫伝達と称される治療方法において(Greenberg, J. Immunol. 136(5):1917, 1986; Riddell et al., Science 257:238, 1992; Lynch et al., Eur. J. Immunol. 21:1403-1410, 1991; Kast et al., Cell 59:603-614, 1989)、所望の複合体を提示する細胞(例えば、樹状細胞)は治療すべき患者の細胞障害性Tリンパ球と混合され、その結果、特異的細胞障害性Tリンパ球が増殖する。増殖した細胞障害性Tリンパ球は特異的複合体を提示する特定の異常細胞によって特徴づけられる細胞異常を有する患者に投与される。細胞障害性Tリンパ球は次いで異常細胞を溶解し、それによって所望の治療効果が達成される。

【0128】

しばしば患者のT細胞レパートリーのなかで、この種の特異的複合体に低親和性を有するT細胞のみが増殖できる。というのは、高親和性のものは寛容の発生のために失われてしまうためである。ここで取って代わるのはT細胞受容体自体の移入であろう。このためにも、所望の複合体を提示する細胞(例えば、樹状細胞)が健康な個体またはその他の種(例えば、マウス)の細胞障害性Tリンパ球と混合される。この結果、Tリンパ球が特異的複合体と以前に接触していないドナー生物由来の場合、高親和性の特異的細胞障害性Tリンパ球の増殖が起こる。これら増殖した特異的Tリンパ球の高親和性T細胞受容体がクローニングされる。高親和性T細胞受容体が他の種からクローニングされている場合、それらは様々な程度でヒト化すればよい。かかるT細胞受容体は次いで遺伝子移入、例えば、レトロウイルスベクターの使用によって所望により患者のT細胞に導入される。次いで養子移入をこれら遺伝的に変化したTリンパ球を用いて行う(Stanislawski et al., Nat Immunol. 2:962-70, 2001; Kessels et al., Nat Immunol. 2:957-61, 2001)。

【0129】

上記治療態様は、少なくともいくつかの患者の異常細胞が腫瘍関連抗原とHLA分子との複合体を提示するという事実から出発する。かかる細胞はそれ自体公知の方法によって同定できる。複合体を提示する細胞が同定されたら出来るだけ早く、それらを細胞障害性Tリンパ球を含む患者からのサンプルと混合する。細胞障害性Tリンパ球が複合体を提示する細胞を溶解すると、腫瘍関連抗原の存在が推定できる。

【0130】

養子免疫伝達は本発明によって適用できる唯一の治療形態ではない。細胞障害性Tリンパ球はそれ自体公知の方法でインビボでも作ることが出来る。一つの方法では複合体を発現する非増殖性細胞を用いる。ここで用いられる細胞は通常複合体を発現する細胞、例えば、照射された腫瘍細胞または複合体の提示に必要な一方または両方の遺伝子(即ち、抗原ペプチドとそれを提示するHLA分子)をトランスフェクトされた細胞であろう。様々な細

胞型を利用できる。さらに、目的の遺伝子の一方または両方を担持するベクターを使用することも可能である。特に好ましくはウイルスまたは細菌ベクターである。例えば、腫瘍関連抗原またはその部分をコードする核酸を、特定の組織または細胞型において該腫瘍関連抗原またはその断片の発現を制御するプロモーターおよびエンハンサー配列と機能的に連結させるとよい。核酸は発現ベクターに組み込んでもよい。発現ベクターは非修飾染色体外核酸、プラスミドまたはウイルスゲノムであり得、それに外来核酸を挿入すればよい。腫瘍関連抗原をコードする核酸はレトロウイルスゲノムに導入してもよく、それによって、核酸の標的組織または標的細胞のゲノムへの組み込みが可能となる。かかる系において、微生物、例えば、ワクシニアウイルス、ポックスウイルス、単純ヘルペスウイルス、レトロウイルスまたはアデノウイルスが目的の遺伝子を担持し、事実上、宿主細胞に「感染」する。別の好適な形態は組換えRNAの形態における腫瘍関連抗原の導入であり、これは例えば、リボソーム移入またはエレクトロポレーションによって細胞に導入するとよい。その結果得られた細胞は目的の複合体を提示し、自己細胞障害性Tリンパ球に認識され、自己細胞障害性Tリンパ球が増殖する。

10

20

30

40

50

【0131】

抗原提示細胞へのインビボでの取り込みを可能とするための同様の効果は腫瘍関連抗原またはその断片とアジュバントとを混合することにより達成できる。腫瘍関連抗原またはその断片は、タンパク質、(例えば、ベクター内で)DNAまたはRNAとして表されうる。腫瘍関連抗原はプロセシングされてHLA分子に対するペプチドパートナーが生ずるが、その断片はさらなるプロセシングの必要なく提示されうる。後者は特に、それらがHLA分子に結合しうる場合である。完全な抗原がインビボで樹状細胞によってプロセシングされる投与形態が好ましい。というのはこれによって有効な免疫応答に必要とされるヘルパーT細胞応答も産生されうるからである(Ossendorp et al., Immunol Lett. 74:75-9, 2000; Ossendorp et al., J. Exp. Med. 187:693-702, 1998)。一般に、例えば皮内注射によって患者に有効量の腫瘍関連抗原を投与することが可能である。しかし、注射はリンパ節内に行うことも可能である(Maloy et al., Proc Natl Acad Sci USA 98:3299-303, 2001)。それは樹状細胞への取り込みを促進する試薬と組み合わせで行うことも出来る。好ましい腫瘍関連抗原は、多くの癌患者の同種癌抗血清またはT細胞と反応するものを含む。しかし特に興味深いのは、自発的免疫応答が前から存在しないものに対するものである。明らかに、腫瘍を溶解しうるこれら免疫応答を誘導することが可能である(Keogh et al., J. Immunol. 167:787-96, 2001; Appella et al., Biomed Pept Proteins Nucleic Acids 1:177-84, 1995; Wentworth et al., Mol Immunol. 32:603-12, 1995)。

【0132】

本発明による医薬組成物はまた免疫化のためのワクチンとして使用することもできる。本発明によると、「免疫化」または「ワクチン接種」の語は、抗原に対する免疫応答の上昇または活性化を意味する。腫瘍関連抗原またはそれをコードする核酸の使用により癌に対する免疫効果を試験するために動物モデルを使用することができる。例えば、ヒト癌細胞をマウスに導入して腫瘍を導き、腫瘍関連抗原をコードする1または複数の核酸を投与すればよい。癌細胞に対する効果(例えば、腫瘍サイズの減少)は、核酸による免疫化の有効性のための尺度として測定すればよい。

【0133】

免疫化用組成物の一部として、1または複数の腫瘍関連抗原またはその刺激性の断片を1または複数のアジュバントとともに投与して免疫応答を誘導し、あるいは免疫応答を上昇させる。アジュバントは抗原に組み込まれるか、抗原と共に投与される物質であって、免疫応答を増強させるものである。アジュバントは、抗原蓄積(reservoir)の提供(細胞外またはマクロファージ中)、マクロファージの活性化および/または特定のリンパ球の刺激によって免疫応答を増強しうる。アジュバントは公知であり、これらに限定されないが以下を含む：一リン酸化脂質A(MPL, SmithKline Beecham)、サポニン、例えば、QS21 (SmithKline Beecham)、DQS21 (SmithKline Beecham; WO 96/33739)、QS7、QS17、QS18およびQS-L1 (So et al., Mol. Cell 7:178-186, 1997)、フロイント不完全アジュバント、フ

ロイント完全アジュバント、ビタミンE、モンタニド、ミョウバン、CpGオリゴヌクレオチド(Kreig et al., Nature 374:546-9、1995参照)および生分解性油、例えば、スクアレンおよび/またはトコフェロールから調製される様々な油中水乳剤。好ましくは、ペプチドはDQS21/MPLとの混合物として投与する。DQS21とMPLの比は典型的には約1:10~10:1であり、好ましくは約1:5~5:1、特に約1:1である。ヒトへの投与用のワクチン製剤は典型的にはDQS21とMPLを約1 μ g~約100 μ gの範囲で含む。

【0134】

患者の免疫応答を刺激するその他の物質を投与してもよい。例えば、リンパ球に対するその調節特性からサイトカインをワクチン接種に使用するのが可能である。かかるサイトカインには、例えばインターロイキン-12(IL-12)が含まれ、これは、ワクチンの保護作用を増強することが示されており(Science 268:1432-1434、1995参照)、またGM-CSFおよびIL-18も含まれる。 10

【0135】

免疫応答を増強し、それゆえワクチン接種に使用できる化合物が多数存在する。該化合物にはタンパク質または核酸の形態で提供される共刺激性分子が含まれる。かかる共刺激性分子の例はB7-1およびB7-2であり(それぞれCD80およびCD86)、樹状細胞(DC)上に発現されてT細胞上に発現するCD28分子と相互作用する。この相互作用は抗原/MHC/TCR-刺激(シグナル1)T細胞に対して共刺激(シグナル2)を提供し、それによって該T細胞の増殖およびエフェクター機能が増強される。B7はまたT細胞上のCTLA4(CD152)とも相互作用し、CTLA4およびB7リガンドについての研究により、B7-CTLA4相互作用は抗腫瘍免疫およびCTL増殖を増強しうることが示された(Zheng, P. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95(11):6284-6289 (1998))。 20

【0136】

B7は典型的には腫瘍細胞では発現せず、したがってT細胞に対する有効な抗原提示細胞(APC)はない。B7発現の誘導は、腫瘍細胞がより有効に細胞障害性Tリンパ球の増殖とエフェクター機能を刺激するのを可能にする。B7/IL-6/IL-12の組み合わせによる共刺激により、T細胞集団におけるIFN-ガンマおよびTh1-サイトカインプロファイルの誘導が明らかとなり、その結果さらにT細胞活性が増強される(Gajewski et al., J. Immunol. 154:5637-5648 (1995))。 30

【0137】

細胞障害性Tリンパ球の完全な活性化および完全なエフェクター機能には、該ヘルパーT細胞上のCD40リガンドと樹状細胞によって発現されるCD40分子との相互作用を介するヘルパーT細胞の関与が必要である(Ridge et al., Nature 393:474 (1998)、Bennett et al., Nature 393:478 (1998)、Schonberger et al., Nature 393:480 (1998))。この共刺激シグナルのメカニズムはおそらくB7産生の上昇と関係があり、該樹状細胞(抗原提示細胞)によるIL-6/IL-12産生を伴う。したがってCD40-CD40L相互作用はシグナル1(抗原/MHC-TCR)とシグナル2(B7-CD28)の相互作用を補充する。 40

【0138】

樹状細胞の刺激のための抗-CD40抗体の使用は、腫瘍抗原に対する応答を直接増強すると考えられ、これは通常炎症応答の範囲外であるか、あるいは非専門抗原提示細胞(腫瘍細胞)によって提示されるものである。かかる状況において、ヘルパーTおよびB7共刺激シグナルは提供されない。このメカニズムは、抗原でパルスされた樹状細胞に基づく治療に関係して利用されうる。 40

【0139】

本発明はまた、核酸、ポリペプチドまたはペプチドの投与を提供する。ポリペプチドおよびペプチドはそれ自体公知の方法で投与すればよい。一つの態様において、核酸はエキソピボ方法で投与され、即ち、患者から細胞を取り出して、該細胞の遺伝子操作により腫瘍関連抗原を取り込ませ、変化した細胞を患者に再導入する。これは一般に患者の細胞への遺伝子の機能的コピーのインビトロでの導入および遺伝的に変化した細胞の患者への再導入を含む。遺伝子の機能的コピーは調節要素の機能的制御下にあり、それによって遺伝 50

子が遺伝的に改変された細胞で発現する。トランスフェクションおよび形質導入方法は当業者に知られている。本発明はまた、ベクター、例えば、ウイルスおよび標的制御リボソームを用いることによるインビボでの核酸の投与も提供する。

【0140】

好適な態様において、腫瘍関連抗原をコードする核酸の投与用のウイルスベクターは以下からなる群から選択される：アデノウイルス、アデノ随伴ウイルス、ポックスウイルス、例えば、ワクシニアウイルスおよび弱毒ポックスウイルス、セムリキ森林熱ウイルス、レトロウイルス、シンドビスウイルスおよびTyウイルス様粒子。特に好ましいのはアデノウイルスおよびレトロウイルスである。レトロウイルスは典型的には複製欠損のものである(即ち、それらは感染性粒子を産生できない)。

10

【0141】

本発明によるとインビトロまたはインビボで細胞に核酸を導入するための様々な方法を利用できる。この種の方法には以下が含まれる：核酸 CaPO_4 沈殿のトランスフェクション、DEAEによる核酸トランスフェクション、目的の核酸を担持する上記ウイルスによるトランスフェクションまたは感染、リボソーム媒介トランスフェクションなど。特定の態様において、特定の細胞に核酸を送達するのが好ましい。かかる態様において、細胞への核酸の投与に用いられる担体(例えば、レトロウイルスまたはリボソーム)は結合標的制御分子を有していてもよい。例えば、分子、例えば、標的細胞上の表面膜タンパク質または標的細胞上の受容体のリガンドに特異的な抗体を核酸担体に組み込むか結合すればよい。好ましい抗体は腫瘍関連抗原に選択的に結合する抗体を含む。リボソームを介した核酸の投与が望ましい場合、エンドサイトーシスに関連する表面膜タンパク質に結合するタンパク質をリボソーム製剤に組み込んで、標的制御および/または取り込みを可能とすればよい。かかるタンパク質には、特定の細胞型に特異的なキャプシドタンパク質またはその断片、取り込まれるタンパク質に対する抗体、細胞内部位に案内するタンパク質等が含まれる。

20

【0142】

本発明の治療用組成物は医薬上許容される調製物中で投与すればよい。かかる調製物は通常、医薬上許容される濃度の塩、バッファー物質、保存料、担体、補助免疫増強物質、例えば、アジュバント、CpGおよびサイトカインならびに適切な場合、治療的に活性なその他の化合物を含む。

【0143】

本発明の治療的に活性な化合物はいずれの常套経路で投与してもよく、かかる経路には注射または注入によるものが含まれる。投与は例えば以下に行えばよい：経口、静脈内、腹腔内、筋肉内、皮下または経皮。好ましくは、抗体は肺噴霧剤により治療的に投与する。アンチセンス核酸は好ましくは、ゆっくりと静脈内から投与する。

30

【0144】

本発明の組成物は有効量にて投与される。「有効量」とは、単独でまたはさらなる用量とともに、所望の反応または所望の効果を達成する量をいう。1または複数の腫瘍関連抗原の発現によって特徴づけられる特定の疾患または特定の症状を治療する場合、所望の反応は疾患の経過の阻害である。これには疾患の進行の遅延が含まれ、特に、疾患の進行の妨害である。疾患または症状の治療における所望の反応は該疾患または症状の発症の遅延または発症の予防であってよい。

40

【0145】

本発明の組成物の有効量は治療すべき症状、疾患の重症度、患者の個々のパラメーター、例えば、年齢、生理状態、身長および体重、治療期間、併用療法の種類(存在する場合)、投与の特定の経路およびそういった因子に依存する。

【0146】

本発明の医薬組成物は好ましくは無菌であり、所望の反応または所望の効果を達成するために有効量の治療的に活性な物質を含む。

【0147】

本発明の組成物の投与用量は様々なパラメーター、例えば、投与タイプ、患者の症状、

50

望ましい投与期間等に依存する。患者における反応が最初の用量で不十分な場合、より高い用量(あるいは別のより局所的な投与経路により達成される有効に高い用量)を用いればよい。

【0148】

一般に、1 ng~1 mg、好ましくは10 ng~100 µgの用量の腫瘍関連抗原を製剤し、治療用または免疫応答の誘導または上昇のために投与する。腫瘍関連抗原をコードする核酸(DNAおよびRNA)の投与が望ましい場合、1 ng~0.1 mgの用量を製剤し、投与する。

【0149】

本発明の医薬組成物は、一般に医薬上許容される組成物中で医薬上許容される量を投与する。「医薬上許容される」の語は、医薬組成物の活性成分の作用と相互作用しない非毒性物質をいう。この種の調製物は通常、塩、バッファー物質、保存料、担体および適当な場合はその他の治療的に活性な化合物を含む。医薬中に使用する場合、塩は医薬上許容されるものでなければならない。しかし、医薬上許容されない塩を用いて医薬上許容される塩を調製してもよく、これも本発明に含まれる。この種の薬理上および医薬上許容される塩としてはこれらに限定されないが、以下の酸から調製されるものが挙げられる:塩酸、臭化水素酸、硫酸、硝酸、リン酸、マレイン酸、酢酸、サリチル酸、クエン酸、ギ酸、マロン酸、コハク酸など。医薬上許容される塩はアルカリ金属塩またはアルカリ土類金属塩、例えば、ナトリウム塩、カリウム塩またはカルシウム塩として調製してもよい。

【0150】

本発明の医薬組成物は医薬上許容される担体を含んでいてもよい。本発明によると、「医薬上許容される担体」の語は、1または複数のヒトへの投与に好適な適合性の固体または液体充填剤、希釈剤またはカプセル化物質をいう。「担体」の語は、適用を促進するためにその中に活性成分が混合される天然または合成の有機または無機成分をいう。本発明の医薬組成物の成分は、通常、所望の医薬効果を実質的に阻害する相互作用が起こらないようなものである。

【0151】

本発明の医薬組成物は好適なバッファー物質、例えば塩中の酢酸、塩中のクエン酸、塩中のホウ酸および塩中のリン酸を含んでいてもよい。

【0152】

医薬組成物は適当である場合、好適な保存料、例えば、塩化ベンザルコニウム、クロロブタノール、パラベンおよびチメロサルを含んでいてもよい。

【0153】

医薬組成物は通常均一な剤形において提供され、それ自体公知の方法で調製できるものである。本発明の医薬組成物はカプセル、錠剤、トローチ剤、懸濁液、シロップ、エリキシルの形態または例えば乳濁液の形態であってよい。

【0154】

非経口投与に好適な組成物は通常、活性化合物の無菌の水性または非水性調製物を含み、それは好ましくはレシipientの血液と等張である。許容される担体および溶媒の例は、リンゲル液および等張食塩水である。さらに、通常、無菌の不揮発性油が溶液または懸濁液の媒体として用いられる。

【0155】

本発明を以下の図面と実施例によりさらに詳細に説明するが、これらは単に例示の目的であり、限定を意図するものではない。詳細な説明および実施例の記載により、本発明に含まれるさらなる態様は当業者に明らかである。

【0156】

図面の簡単な説明

図1は、結腸癌組織診におけるGPR35 mRNA発現である。

DNA-無含有 RNA を用いたRT-PCR 研究は、ほとんどの結腸癌組織診でのGPR35 発現を示す。一方、正常組織においては検出可能な発現はない(1 乳房、2-肺、3-リンパ節、4 胸腺、5 結腸、6-15 結腸癌、16-ネガティブコントロール)。

10

20

30

40

50

【0157】

図2は、正常および腫瘍組織におけるGUCY2C mRNA 発現の定量的 PCR 分析である。

GUCY2C-特異的プライマー(配列番号22-23)を用いたリアルタイム PCR 研究は、正常回腸、結腸、およびすべての結腸癌組織診における選択的mRNA 発現を示す。顕著な量のGUCY2C 転写産物が肝臓における結腸癌転移にも検出された。

【0158】

図3は、腫瘍特異的 GUCY2C スプライスバリエーションの同定である。

正常結腸組織および結腸癌からのPCR産物をクローニングし、両群からのクローンを制限分析(EcoR I)によって確認し、配列決定した。

【0159】

図4は、正常肺および肺癌における選択的SCGB3A 発現である。

遺伝子特異的 SCGB3A2 プライマー(配列番号37、38)を用いたRT-PCR 分析は、正常肺(レーン8、14-15)および肺癌組織診(レーン16-24)においてもつばらのcDNA 増幅を示す(1-肝臓-N、2 PBMC-N、3 リンパ節-N、4 胃-N、5 精巣-N、6 乳房-N、7 腎臓-N、8-肺-N、9-胸腺-N、10-卵巣-N、11 副腎-N、12 脾臓-N、14-15-肺-N、16-24-肺癌、25 ネガティブコントロール)。

【0160】

図5は、胃、食道、胃癌および膵臓癌におけるクロードイン18A2.1 発現である。

クロードイン18A2.1-特異的プライマー(配列番号39、40)を用いたRT-PCR 分析により、本発明によると8/10の胃癌組織診および3/6の膵臓癌組織診における顕著なクロードイン18A2.1 発現が示された。顕著な発現は胃および正常食道組織においても検出された。これに対して、卵巣および卵巣癌においては発現は検出されなかった。

【0161】

図6は、腎臓および腎臓細胞癌におけるSLC13A1 発現である。

SLC13A1-特異的プライマー(配列番号49、50)を用いたRT-PCR 分析により、7/8の腎臓細胞癌サンプルにおける発現が示された。しかし、正常組織における転写産物はもっぱら腎臓において検出された(1-2-腎臓、3-10-腎臓細胞癌、11 乳房、12 肺、13 肝臓、14 結腸、15 リンパ節、16 脾臓、17 食道、18 胸腺、19 甲状腺、20 PBMC、21 卵巣、22 精巣)。

【0162】

図7は、結腸、結腸癌および胃癌におけるCLCA1 発現である。

CLCA1-特異的プライマー(配列番号67、68)を用いたRT-PCR 研究により結腸における選択的発現が確認され、調べた結腸癌(3/7)および胃癌サンプル(1/3)における高い発現が示された。その他の正常組織(NT)では発現が無いが、非常に弱いことが示された。

【0163】

図8は、結腸および結腸癌におけるFLJ21477 発現である。

FLJ21477-特異的プライマー(配列番号69、70)によるRT-PCR 研究により結腸における選択的発現、そしてさらに様々なレベルの調べた結腸癌サンプル(7/12)における発現が示された。その他の正常組織(NT)は発現を示さなかった。

【0164】

図9は、結腸および結腸癌におけるFLJ20694 発現である。

FLJ20694-特異的プライマー(配列番号71、72)を用いたRT-PCR 研究により、結腸における選択的発現および様々なレベルの調べた結腸癌サンプル(5/9)における発現が示された。その他の正常組織(NT)は発現を示さなかった。

【0165】

図10は、胃、肺および肺癌におけるvon Ebner 発現である。

von Ebner-特異的プライマー(配列番号73、74)を用いたRT-PCR 研究により、胃、肺および(5/10)の調べた肺癌サンプルにおける選択的発現が示された。その他の正常組織(NT)は発現を示さなかった。

【0166】

10

20

30

40

50

図 1 1 は、胸腺、肺および肺癌におけるPlunc 発現である。

Plunc-特異的プライマー(配列番号75、76)を用いたRT-PCR 研究により、胸腺、肺および(6/10)の調べた肺癌サンプルにおける選択的発現が示された。その他の正常組織は発現を示さなかった。

【0 1 6 7】

図 1 2 は、肺、肺癌および甲状腺におけるSLC26A9 発現である。

SLC26A9-特異的プライマー(配列番号77、78)を用いたRT-PCR 研究により、肺およびすべての(13/13)調べた肺癌サンプルにおける選択的発現が示された。その他の正常組織 (NT)は甲状腺を除き、発現を示さなかった。

【0 1 6 8】

10

図 1 3 は、胃、卵巣、肺および肺癌におけるTHC1005163 発現である。

THC1005163-特異的プライマー(配列番号79)および非特異的オリゴ dT タグプライマーを用いたRT-PCR 研究により、胃、卵巣、肺および(5/9)の肺癌組織診における発現が示された。その他の正常組織(NT)は発現を示さなかった。

【0 1 6 9】

図 1 4 は、腎臓および腎臓細胞癌におけるLOC134288 発現である。

LOC134288-特異的プライマー(配列番号80、81)を用いたRT-PCR 研究により、腎臓および(5/8)の調べた腎臓細胞癌組織診における選択的発現が示された。

【0 1 7 0】

図 1 5 は、腎臓および腎臓細胞癌におけるTHC943866 発現である。

20

THC943866-特異的プライマー(配列番号82、83)を用いたRT-PCR 研究により腎臓および(4/8)の調べた腎臓細胞癌組織診における選択的発現が示された。

【0 1 7 1】

図 1 6 は、結腸および結腸癌におけるFLJ21458 発現である。

FLJ21458-特異的プライマー(配列番号86、87)を用いたRT-PCR 研究により結腸および (7/10)の調べた結腸癌組織診における選択的発現が示された。(1-2-結腸、3-肝臓、4-PBMC、5-脾臓、6 前立腺、7 腎臓、8 卵巣、9 皮膚、10 回腸、11 肺、12 精巣、13-22 結腸癌、23-ネガティブコントロール)。

【0 1 7 2】

図 1 7 は、GPR35の細胞内局在である。

30

GPR35-GFP 融合タンパク質を発現するプラスミドのトランスフェクション後のGPR35の細胞内局在の検出のための免疫蛍光である。矢印は蛍光性 GFPの膜結合蛍光を示す。

【0 1 7 3】

図 1 8 は、GPR35の定量的発現である。

A. GPR35-特異的プライマー(配列番号88、89)を用いた定量的 RT-PCRは、腸、結腸腫瘍サンプルおよび腸腫瘍からの転移における選択的発現を示す。以下の正常組織を分析した：肝臓、肺、リンパ節、胃、脾臓、副腎、腎臓、食道、卵巣、精巣、胸腺、皮膚、乳房、脾臓、リンパ球、活性化リンパ球、前立腺、甲状腺、輸卵管、子宮内膜、小脳、脳。

B. 結腸腫瘍およびその転移におけるGPR35の罹患率。GPR35はケースの90%以上で腫瘍および転移の両方に発現する。

40

【0 1 7 4】

図 1 9 は、GUCY2Cの定量的発現である。

GUCY2C-特異的プライマー(配列番号98、99)による定量的 RT-PCRは、正常結腸および胃組織における高い選択的発現(A)および結腸および胃腫瘍サンプルにおけるGUCY2C-特異的発現(B)を示す。GUCY2Cは11/12の結腸癌および7/10の胃癌において検出可能である。

【0 1 7 5】

図 2 0 は、SCGB3A2の定量的発現である。

SCGB3A2-特異的プライマー(配列番号103、104)を用いた定量的 RT-PCRは、肺サンプルおよび肺腫瘍サンプルにおける選択的発現を示す。19/20の肺腫瘍サンプルはSCGB3A2-陽性であり、SCGB3A2はサンプルの50%以上で少なくとも10倍過剰発現している。以下の正常

50

組織を分析した：肝臓、肺、リンパ節、胃、脾臓、副腎、腎臓、食道、卵巣、精巣、胸腺、皮膚、乳房、膵臓、リンパ球、活性化リンパ球、前立腺、甲状腺、輸卵管、子宮内膜、小脳、脳。

【0176】

図21は、SCGB3A2-特異的抗体による免疫蛍光である。

COS7細胞をSCGB3A2-GFP 融合タンパク質をコードするプラスミドでトランスフェクトした。

A. トランスフェクトした融合タンパク質のSCGB3A2-特異的ウサギ抗血清(配列番号105により免疫化)による検出。

B. GFP 蛍光によるトランスフェクトした融合タンパク質の検出。

10

C. AおよびBからの2つの蛍光の重ね合わせ。黄色が2つの蛍光が重なり合った点でみられ、したがってSCGB3A2 抗血清の特異性が示される。

【0177】

図22は、クローディン18 スプライスバリエーションの模式図である。

2つのクローディン18 スプライスバリエーション A1およびA2はN末端において異なり、異なる可能性のあるグリコシル化部位を示す。

【0178】

図23は、クローディン18、バリエーションA1の定量的発現である。

クローディン-A1は多数の腫瘍組織において高度に活性化されている。特に強い発現が胃腫瘍、肺腫瘍、膵臓癌および食道癌においてみられる。

20

【0179】

図24は、クローディン18、バリエーション A2の定量的発現である。

バリエーション A2は、バリエーション A1と同様に、多くの腫瘍において活性化されている。

【0180】

図25は、クローディン18A2-特異的抗体(細胞外ドメイン)の使用である。

(上)クローディン18A2-陽性胃癌細胞(SNU-16)のペプチド(配列番号17)による免疫化によって産生された抗体での染色。膜染色は特に細胞/細胞相互作用領域において強く表れる。A 免疫前、MeOH; B-免疫血清 MeOH、5 μ g/ml;

(下)クローディン18A2-GFP-トランスフェクト293T細胞における共存分析による抗体の特異性を示す。A クローディン18A2 GFP; B 抗-クローディン-A2; C 重ね合わせ。

30

【0181】

図26は、クローディン18A2-特異的抗体(細胞外ドメイン)の使用である。

ペプチド(配列番号113、N末端に位置する細胞外ドメイン)による免疫化によって産生された抗体によるクローディン18A2-陽性胃癌細胞(SNU 16)の膜染色。

E-カドヘリンに対するモノクローナル抗体を対比染色法に用いた。

A 抗体; B 対比染色法; C 重ね合わせ。

【0182】

図27は、クローディン18のC-末端細胞外ドメインに対する抗体の使用である。

(左、上および下) ペプチド (配列番号116、C末端に位置する細胞外ドメイン)による免疫化によって産生された抗体によるクローディン18A2-陽性胃癌細胞(SNU 16)の膜染色。E-カドヘリンに対するモノクローナル抗体を対比染色法に用いた(右、上、下)。

40

【0183】

図28は、クローディン18A1-特異的抗体の使用である。

(上)クローディン18A1-特異的 ペプチド (配列番号115)による免疫化によって産生された抗体による胃癌細胞(SNU 16; クローディン18A2 陽性)の弱い~無い染色。

A-抗-E-カドヘリン; B 抗-クローディン18A1; C 重ね合わせ。

(下)クローディン18A1-GFP-トランスフェクト293T細胞における共存分析による抗体の特異性を示す。

A-GFP-クローディン18A1; B-抗-クローディン18A1; C-重ね合わせ。

【0184】

50

図 29 は、ウェスタンブロットにおけるクローディン18A2の検出である。

配列番号17のエピトープに対するクローディン18A2-特異的抗体を用いた様々な健康組織からの可溶化液を用いたウェスタンブロッティング。1 胃；2 精巣；3 皮膚；4 乳房；5 肝臓；6 結腸；7 肺；8 腎臓；9 リンパ節。

【0185】

図 30 は、胃および胃腫瘍からのサンプルでのクローディン18A2 ウェスタンブロッティングである。

胃および胃腫瘍からの可溶化液をブロットし、配列番号17を有するエピトープに対するクローディン18A2-特異的抗体を用いて試験した。胃腫瘍ではクローディン-18A2のグリコシル化形態が少なかった。胃可溶化液のPNGase F処理により低-グリコシル化形態の形成が導かれる。

10

左：1-胃 No #A；2-胃 Tu #A；3 胃 No #B；4 胃 Tu #B

右：1-胃 No #A；2-胃 No #B；3-胃 No #B + PNGase F；4-胃 Tu #C；5 胃 Tu #D；6 胃 Tu #D + PNGase F

【0186】

図 31 は、肺腫瘍におけるクローディン18の発現である。

低-グリコシル化クローディン-18A2 バリエーションを図 30 にしたがって肺腫瘍において検出した。1 胃 No；2 胃 Tu；3 9-肺 Tu

【0187】

図 32 は、胃腫瘍組織におけるクローディン18A2-特異的抗体を用いるクローディン18の免疫組織化学分析である。

20

【0188】

図 33 は、クローディン18-特異的ポリクローナル抗血清による胃-特異的 Snu16 細胞の間接的免疫蛍光である。

A. 免疫化の前に作成された免疫前血清による染色；B. クローディン18-特異的血清による染色。

【0189】

図 34 は、SLC13A1の定量的発現である。

SLC13A1-特異的プライマー(配列番号121、122)を用いた定量的 RT-PCRにより、正常腎臓組織における高い選択的発現(A)および腎臓細胞癌におけるSLC13A1-特異的発現が示される(B)。SLC13A1転写は5/8の腎臓細胞癌において検出可能である。

30

【0190】

図 35 は、SLC13A1の細胞内局在である。

SLC13A1-GFP 融合タンパク質を提供するプラスミドでのトランスフェクション後のSLC13A1の細胞内局在を示す免疫蛍光。SLC13A1 融合タンパク質の膜結合蛍光が明らかにみられる(トランスフェクト細胞のまわりの環として)。

【0191】

図 36 は、CLCA1の定量的発現である。

CLCA1-特異的プライマー(配列番号125、126)を用いた定量的 RT-PCRにより、正常結腸組織および胃組織における高い選択的発現(A)および結腸および胃腫瘍サンプルにおけるCLCA1-特異的発現(B)が示される。CLCA1は6/12の結腸癌および7/10の胃癌において検出可能である。

40

【0192】

図 37 は、FLJ21477の定量的発現である。

FLJ21477-特異的プライマー(配列番号127、128)を用いた定量的 RT-PCRにより、正常結腸および胃組織における高い選択的発現ならびに胸腺、食道および脳における弱い発現(A)そして結腸腫瘍サンプルにおけるFLJ21477-特異的発現(B)が示される。FLJ21477は11/12の結腸癌において検出可能である。

【0193】

図 38 は、FLJ20694の定量的発現である。

50

FLJ20694-特異的プライマー(配列番号129、130)を用いた定量的 RT-PCRにより、正常結腸および胃組織における高い選択的発現(A)および結腸および胃腫瘍サンプルにおけるFLJ20694-特異的過剰発現(B)が示される。FLJ20694は、11/12の結腸癌および7/10の胃癌において検出可能である。

【0194】

図39は、FLJ21458の定量的発現である。

FLJ21458-特異的プライマー(配列番号133、134)を用いた定量的 RT-PCRにより、精巣、胃および腸組織における選択的発現が示される。さらに、FLJ21458-特異的転写産物が20/20の結腸腫瘍および7/11の結腸転移において検出可能であった。以下の正常組織を分析した：肝臓、肺、リンパ節、脾臓、副腎、腎臓、食道、卵巣、精巣、胸腺、皮膚、乳房、膵臓、リンパ球、活性化リンパ球、前立腺、甲状腺、輸卵管、子宮内膜、小脳、脳。

10

【0195】

図40は、FLJ21458-特異的抗体による免疫蛍光である。

(上)293細胞をFLJ21458-GFP 融合タンパク質をコードするプラスミドでトランスフェクトした。

A: トランスフェクトした融合タンパク質のFLJ21458-特異的ウサギ抗血清(配列番号136での免疫化)による検出。

B: トランスフェクトした融合タンパク質のGFP 蛍光による検出。

C: AとBからの2つの蛍光の重ね合わせ。

黄色が2つの蛍光が重なる点において生じ、したがってFLJ21458 抗血清の特異性が示される。

20

(下) 内因的にFLJ21458を合成するSnu16 細胞の分析。

A: FLJ21458-特異的ウサギ抗血清(配列番号136による免疫化)を用いたタンパク質検出。

。

B: 膜タンパク質 E-カドヘリンの検出。

C: AとBからの2つの蛍光の重ね合わせ。

黄色が2つの蛍光が重なる点において生じ、FLJ21458の膜局在を示す。

【0196】

図41は、配列である。

参照される配列がここで作られ、示される。

30

【実施例】

【0197】

材料および方法

「インシリコ」、「電子工学」および「ネットワーク上クローニング」の語は、データベースに基づく方法の使用を意味し、これはまた研究室での実験方法をシュミレーションするのにも用いられる。

【0198】

特に断りのない限り、その他のすべての用語および表現は当業者に理解されるように用いられる。言及する技術および方法はそれ自体公知の方法で行い、例えば、以下に記載されている。Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd Edition (1989) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. キットおよび試薬の使用を含むすべての方法は、製造業者の指示にしたがって行われる。

40

【0199】

新規な腫瘍関連遺伝子の決定のためのデータマイニングに基づく戦略

2つのインシリコ戦略、即ち、GenBankキーワード検索およびcDNAxProfilerを組み合わせた。NCBI ENTREZ Search and Retrieval System (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Entrez>)を用いて、GenBank検索を行い、特異的組織において特異的に発現するものとして解釈される候補遺伝子を検索した(Wheeler et al., Nucleic Acids Research 28:10-14, 2000)。

【0200】

50

キーワード、例えば「結腸-特異的遺伝子」、「胃-特異的遺伝子」または「腎臓-特異的遺伝子」、について検索を行い、候補遺伝子(GOI、目的の遺伝子)をデータベースから抽出した。生物について「ヒト」、分子タイプについて「mRNA」と制限することによってこれらデータベースのすべての情報の一部に制限して検索した。見いだされたGOIのリストを同じ配列についての違う名前を決定して検証および修正し、かかる重複を排除した。

【0201】

キーワード検索によって得られたすべての候補遺伝子を次にその組織分布に関して「電子工学ノザン(eNorthern)」方法によって調べた。eNorthernは、GOI配列とEST (expressed sequence tag)データベース (Adams et al., Science 252:1651, 1991) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>)とのアラインメントに基づく。挿入されたGOIに相同的であることが見いだされた各ESTの組織起源を決定することが出来、そのようにしてすべてのESTの和から、GOIの組織分布の予備的評価が得られる。非器官特異的正常組織からのESTと同一性の無いGOIについてのみさらなる研究を行った。この評価では、共有財産が間違って解釈されたcDNA ライブラリーを含むということも考慮した(Scheurle et al., Cancer Res. 60:4037-4043, 2000) (www.fau.edu/cmabb/publications/cancergenes6.htm)。 10

【0202】

使用した第二のデータマイニング方法はNCBI Cancer Genome Anatomy Project のcDNA xProfilerであった(<http://cgap.nci.nih.gov/Tissues/xProfiler>) (Hillier et al., Genome Research 6:807-828, 1996; Pennisi, Science 276:1023-1024, 1997)。これによってデータベースに寄託されたトランスクリプトームのプールを論理演算子によって互いに関連づけることが可能となる。本発明者らは混合ライブラリーを除き、例えば結腸から調製されたすべての発現ライブラリーが割り当てられたプールAを規定した。結腸以外の正常組織から調製されたすべてのcDNAライブラリーをプールBに割り当てた。一般に、すべてのcDNAライブラリーを基礎となる調製方法とは独立に使用し、ただしサイズ> 1000のものだけを許容した。プールBをデジタル処理でBUT NOT演算子によってプールAから差し引いた。このようにして見いだされたGOIのセットをまたeNorthern研究に供し、文献調査によって確認した。 20

【0203】

この組み合わせデータマイニングは全部で公共財産における約 13 000の全長遺伝子を含み、器官-特異的発現を示す可能性のある遺伝子を予測した。 30

【0204】

すべてのその他の遺伝子はまず特異的 RT-PCRによって正常組織において評価した。非器官特異的正常組織において発現していることが判明したすべてのGOIは偽陽性と見なす必要があり、さらなる研究から除外した。残りのGOIを様々な腫瘍組織の大きなパネルにおいて研究した。以下に示す抗原は、腫瘍細胞において活性化されていることが判明した。

【0205】

RNA 抽出、ポリ-d(T)プライムドcDNAの調製および常套のRT-PCR 分析

トータルRNAをカオトロピック剤としてグアニジウムイソチオシアナートを用いることによりネイティブな組織材料から抽出した(Chomczynski & Sacchi, Anal. Biochem. 162:156-9, 1987)。酸性フェノールによる抽出およびイソプロパノール沈降の後、該RNA をDE PC-処理水に溶解した。 40

【0206】

2-4 μ gのトータルRNAからの第一鎖 cDNA合成をSuperscript II (Invitrogen)によって製造業者の指示に従って20 μ lの反応混合物中において行った。用いたプライマーはdT(18)オリゴヌクレオチドであった。cDNAの完全性と質を30サイクルのPCRにおいてp53の増幅によって確認した(センス CGTGAGCGCTTCGAGATGTTCCG、アンチセンス CCTAACCAGCTGCCCAAC TGTAAG、ハイブリダイゼーション温度67)。 50

【0207】

第一鎖 cDNAの記録を多数の正常組織および腫瘍集団から調製した。発現研究のために、0.5 μlのこれらcDNAを30 μlの反応混合物において増幅した。これにはGOI-特異的プライマー(以下参照)および1 UのHotStarTaq DNA ポリメラーゼ(Qiagen)を用いた。各反応混合物は、0.3 mM dNTP、0.3 μM 各プライマーおよび3 μl 10 × 反応バッファーを含むものであった。

【0208】

プライマーは2つの異なるエキソン中に位置するように選択し、偽陽性結果を導く汚染ゲノムDNAによる妨害の排除を、非逆転写DNAをテンプレートとして試験することによって確認した。HotStarTaq DNA ポリメラーゼ活性化のための95 °C、15分の後、35 サイクルのPCRを行った(1分94 °C、1分、特定のハイブリダイゼーション温度、2分72 °C および最終伸長 72 °C 6分)。

【0209】

20 μlのこの反応を分画し、臭化エチジウム染色アガロースゲルで分析した。

【0210】

示すハイブリダイゼーション温度における対応する抗原の発現分析に以下のプライマーを用いた。

【0211】

GPR35 (65)

センス: 5'-AGGTACATGAGCATCAGCCTG-3'

アンチセンス: 5'-GCAGCAGTTGGCATCTGAGAG-3'

GUCY2C (62)

センス: 5'-GCAATAGACATTGCCAAGATG-3'

アンチセンス: 5'-AACGCTGTTGATTCTCCACAG-3'

SCGB3A2 (66)

センス: 5'-CAGCCTTTGTAGTTACTCTGC-3'

アンチセンス: 5'-TGTCACACCAAGTGTGATAGC-3'

クロードイン18A2 (68)

センス1: 5'-GGTTCGTGGTTTCACTGATTGGGATTGC-3'

アンチセンス1: 5'-CGGCTTTGTAGTTGGTTTCTTCTGGTG-3'

センス2: 5'-TGTTTTCAACTACCAGGGGC-3'

アンチセンス2: 5'-TGTTGGCTTTGGCAGAGTCC-3'

クロードイン18A1 (64)

センス: 5'-GAGGCAGAGTTCAGGCTTCACCGA-3'

アンチセンス: 5'-TGTTGGCTTTGGCAGAGTCC-3'

SLC13A1 (64)

センス: 5'-CAGATGGTTGTGAGGAGTCTG-3'

アンチセンス: 5'-CCAGCTTTAACCATGTCAATG-3'

CLCA1 (62)

センス: 5'-ACACGAATGGTAGATACAGTG-3'

アンチセンス: 5'-ATACTTGTGAGCTGTTCCATG-3'

FLJ21477 (68)

センス: 5'-ACTGTTACCTTGCATGGACTG-3'

アンチセンス: 5'-CAATGAGAACACATGGACATG-3'

FLJ20694 (64)

センス: 5'-CCATGAAAGCTCCATGTCTA-3'

アンチセンス: 5'-AGAGATGGCACATATTCTGTC

Ebner (70)

センス: 5'-ATCGGCTGAAGTCAAGCATCG-3'

アンチセンス: 5'-TGGTCAGTGAGGACTCAGCTG-3'

Plunc (55)

センス: 5' -TTTCTCTGCTTGATGCACTTG-3'
 アンチセンス: 5' -GTGAGCACTGGGAAGCAGCTC-3'
 SLC26A9 (67)
 センス: 5' -GGCAAATGCTAGAGACGTGA-3'
 アンチセンス 5' -AGGTGTCCTTCAGCTGCCAAG-3'
 THC1005163 (60)
 センス: 5' - GTTAAGTGCTCTCTGGATTTG-3'
 LOC134288 (64)
 センス: 5' -ATCCTGATTGCTGTGTGCAAG-3'
 アンチセンス: 5' -CTCTTCTAGCTGGTCAACATC-3'
 THC943866 (59)
 センス: 5' -CCAGCAACAACCTTACGTGGTC-3'
 アンチセンス: 5' -CCTTTATTACCCCAATCACTC-3'
 FLJ21458 (62)
 センス: 5' -ATTCATGGTTCCAGCAGGGAC-3'
 アンチセンス: 5' -GGGAGACAAAGTCACGTACTC-3'。

10

【0212】

ランダムヘキサマー-プライム化 cDNAの調製および定量的リアルタイム PCR

いくつかの遺伝子の発現をリアルタイム PCRによって定量した。PCR産物をインターカレートレポーター色素としてSYBR Greenを用いて検出した。SYBR Greenのレポーター蛍光は溶液中で抑制されており、色素は二本鎖 DNA 断片と結合した後にのみ活性になる。各PCR サイクルの後のGOI-特異的プライマーを用いた特異的増幅の結果としてのSYBR Green 20
 蛍光の上昇を定量に用いる。標的遺伝子の発現を絶対的にあるいは調べる組織において一定に発現しているコントロール遺伝子の発現と比べて相対的に定量する。発現は -Ct
 法(PE Biosystems、USA)を用いていわゆるハウスキーピング遺伝子としての18s RNAに対するサンプルの標準化の後に測定した。反応は二連で行い、三連で測定した。QuantiTect
 SYBR Green PCR キット(Qiagen、Hilden)を製造業者の指示に従って用いた。cDNAを高容量
 cDNA Archive Kit (PE Biosystems、USA)を製造業者の指示に従って使用して、ヘキサ
 マープライマーを用いて合成した。希釈したcDNAの各5 µl 部分を総容量25 µlのPCRに
 用いた: センスプライマー 300 nM、アンチセンスプライマー 300 nM; 最初の変性95 、 30
 15分; 95 、 30秒; 30秒のアニーリング; 72 、 30秒; 40 サイクル。使用したプライマ
 ーの配列はそれぞれの実施例に示す。

30

【0213】

クローニングおよび配列分析

全長および遺伝子断片のクローニングは常套方法によって行った。配列を確かめるため、対応する抗原をブルーフリーディングポリメラーゼpfu(Stratagene)を用いて増幅した。PCRの完了後、アデノシンを、HotStarTaq DNA ポリメラーゼによってアンプリコンの末端に連結し、製造業者の指示に従って断片をTOP0-TA ベクターにクローニングした。配列決定は業者サービスによって行った。配列を常套の予測プログラムとアルゴリズムを用いて分析した。

40

【0214】

ウェスタンブロッティング

標的タンパク質を含む可能性のある細胞培養物(標的遺伝子の内因性発現または標的タンパク質をコードする発現ベクターのトランスフェクション後の標的タンパク質の合成)または組織サンプルからの細胞を1% SDS溶液で溶解する。SDSは可溶化液に存在するタンパク質を変性させる。実験混合物の可溶化液を8-15%変性ポリアクリルアミドゲル(1% SDS含有)での電気泳動によって予想タンパク質サイズに応じてサイズによって分画した(SDSポリアクリルアミドゲル電気泳動、SDS-PAGE)。タンパク質を半乾燥電気ブロッティング法(Biorad)によってニトロセルロースメンブレン(Schleicher & Schull)にトランスファーし、メンブレン上で所望のタンパク質が検出される。この目的のため、メンブレンをま

50

ず(例えば、粉乳により)ブロッキングし、次いで1:20-1:200 (抗体の特異性による)の希釈度の特異的抗体とともに60分インキュベートする。洗浄工程の後、メンブレンをマーカー(例えば、酵素、例えば、ペルオキシダーゼまたはアルカリホスファターゼ)と結合させた一次抗体を認識する二次抗体とインキュベートする。さらなる洗浄工程の後、標的タンパク質を酵素反応(例えば、ECL、Amersham Bioscience)によるメンブレン上の発色または化学発光反応によって可視化する。結果を適当なカメラで撮影することにより記録する。

【0215】

タンパク質修飾の分析は通常ウェスタンブロッティングによって行う。通常数kDaのサイズを有するグリコシル化により、標的タンパク質の総分子量が大きくなり、これはSDS-PAGEで分画できる。特異的O-およびN-グリコシド結合を検出するために、組織または細胞からのタンパク質可溶化液をインキュベートした後、OまたはN-グリコシダーゼ(製造業者の指示に従って、例えば、PNGase、エンドグリコシダーゼ F、エンドグリコシダーゼ H、Roche Diagnostics)を用いてSDSによって変性させる。この後ウェスタンブロッティングを上記のように行う。したがって、グリコシダーゼとのインキュベーションの後、標的タンパク質のサイズが減少していれば、特異的グリコシル化を検出することが出来、そしてこのようにして、修飾の腫瘍特異性を分析できる。グリコシル化アミノ酸の正確な位置はアルゴリズムおよび予測プログラムを用いて予測できる。

10

【0216】

免疫蛍光

標的タンパク質を内因的に合成するか(RT-PCRにおけるRNAの検出またはウェスタンブロッティングによるタンパク質の検出)、プラスミドDNAをIFの前にトランスフェクトされた樹立細胞株の細胞を用いる。様々な方法(例えば、エレクトロポレーション、リポソームに基づくトランスフェクション、リン酸カルシウム沈降)がDNAによる細胞株のトランスフェクトのために十分に確立されている(例えば、Lemoine et al. *Methods Mol. Biol.* 1997; 75: 441-7)。トランスフェクトされるプラスミドは免疫蛍光において非修飾タンパク質をコードするものでもよいし、様々なアミノ酸マーカーを標的タンパク質に結合させるものでもよい。もっとも重要なマーカーは、例えば、様々な蛍光性形態における蛍光性の「緑色蛍光性タンパク質」(GFP)および、それに対する高親和性および特異的抗体が入手可能な6-12 アミノ酸の短いペプチド配列である。標的タンパク質を合成する細胞をパラホルムアルデヒド、サポニンまたはメタノールで固定する。所望の場合細胞を界面活性剤(例えば、0.2% Triton X 100)とのインキュベーションにより透過性にしてもよい。固定/透過性化の後、細胞を標的タンパク質に対する一次抗体または結合マーカーに対する一次抗体とともにインキュベートする。洗浄工程の後、混合物を蛍光性マーカー(例えば、フルオレセイン、Texas Red、Dako)と結合させた一次抗体と結合する二次抗体とインキュベートする。このようにして標識した細胞をグリセロールの層で被覆し、製造業者の指示に従って蛍光顕微鏡によって分析する。この場合特異的蛍光発光が用いる物質に応じた特異的励起によって達成される。分析は通常、標的タンパク質の信頼できる局在化を可能とし、抗体の質および標的タンパク質は標的タンパク質に加えてその局在が以前に文献に記載されている結合アミノ酸マーカーまたはその他のマーカータンパク質を染色する二重染色において確認される。GFPおよびその誘導体は直接励起でき、それ自体蛍光を発生する特別の場合を表し、したがって検出のための抗体は必要ではない。

20

30

40

【0217】

免疫組織化学

IHCは特に以下に役立つ：

- (1)腫瘍および正常組織における標的タンパク質の量の評価を可能とする、
- (2)腫瘍および健康組織におけるどれほど多くの細胞が標的遺伝子を合成しているかを分析する、および/または、
- (3)標的タンパク質が検出可能である組織における細胞のタイプ(腫瘍、健康細胞)を規定する。

【0218】

50

異なるプロトコルを個々の抗体に応じて用いる必要がある(例えば、“Diagnostic Immunohistochemistry、David J.、MD Dabbs ISBN: 0443065667”または“Microscopy、Immunohistochemistry、and Anigen Retrieval Methods: For Light and Electron Microscopy ISBN: 0306467704”)。

【0219】

特異的組織サンプルにおける免疫組織化学(IHC)は、対応する組織におけるタンパク質の検出に役立つ。この方法の目的は、機能的にインタクトな組織集合体におけるタンパク質の局在を同定することである。IHCは特に以下に役立つ：

- (1)腫瘍および正常組織における標的タンパク質の量の評価を可能とする、
- (2)どれほど多くの腫瘍および健康組織における細胞が標的遺伝子を合成するかを分析する、そして、
- (3)標的タンパク質が検出可能である組織における細胞タイプ(腫瘍、健康細胞)を規定する。

10

【0220】

あるいは、標的遺伝子のタンパク質の量はデジタルカメラおよび適当なソフトウェア(例えば、Tillvision、Till-Photonics、Germany)を用いた組織免疫蛍光により定量できる。この技術は多く公表されており、染色と顕微鏡法についての詳細は例えば以下にみることができる：“Diagnostic Immunohistochemistry”、David J.、MD Dabbs ISBN: 0443065667 または“Microscopy、Immunohistochemistry、and Antigen Retrieval Methods: For Light and Electron Microscopy” ISBN: 0306467704。抗体の性質によって、有効な結果を得るためには異なるプロトコルを用いなければならないことに注意されたい(一例を以下に示す)。

20

【0221】

通常、組織学的に規定された腫瘍組織および、参照として、対応する健康組織をIHCに用いる。標的遺伝子の存在がRT-PCR分析によって知られているポジティブおよびネガティブコントロール細胞株を用いることも可能である。バックグラウンドコントロールは常に含めなければならない。

【0222】

固定された組織(例えば、アルデヒド-含有物質、ホルムアルデヒド、パラホルムアルデヒドまたはアルコール溶液による固定)または1-10 μm の厚さのショック冷凍組織片をガラス台に乗せる。パラフィン包埋サンプルから例えばキシレンによってパラフィンを除く。サンプルをTBS-Tで洗浄し、血清中でブロッキングする。この後、一次抗体(希釈: 1:2 ~ 1:2000)との18時間のインキュベーションを行い、ここでアフィニティー精製抗体を通常用いる。洗浄工程の次にアルカリホスファターゼ(あるいは例えばペルオキシダーゼ)と結合した、一次抗体に対する二次抗体とのインキュベーションを約30-60分行う。この後、結合した酵素によって変換される色素基質を用いた着色反応を行う(例えば、Shi et al.、J. Histochem. Cytochem. 39: 741-748、1991; Shin et al.、Lab. Invest. 64: 693-702、1991を参照)。抗体特異性を示すために、反応を免疫原を先に添加することによってブロッキングしてもよい。

30

【0223】

免疫化

(Monoclonal Antibody: A Practical Approach、Philip Shepherd、Christopher Dean isbn 0 19 963722 9; Antibody: A Laboratory Manual、Ed Harlow、David Lane ISBN: 0879693142; Using Antibody: A Laboratory Manual: Portable Protocol NO.、Edward Harlow、David Lane、Ed Harlow ISBN: 0879695447も参照されたい)。

40

【0224】

抗体の調製方法は以下に簡単に説明し、その詳細は引用文献にみられる。まず、動物(例えば、ウサギ)を所望の標的タンパク質の最初の注射により免疫する。免疫原に対する動物の免疫応答は所定の時間内での(先の免疫化の約2-4週間後)二回目または三回目の免疫化によって増強できる。様々な所定の時間後に(最初の採血は4週間後、次いで約2週間

50

毎に計5回までの採血)、血液を動物から採取し、それから免疫血清を得る。

【0225】

動物は通常4つの確立された方法の1つで免疫するがその他の方法も利用できる。標的タンパク質に特異的なペプチドによって免疫することが出来、ここで全長タンパク質またはタンパク質の細胞外部分配列は実験的にまたは予測プログラムによって同定できる。

【0226】

(1)第一の場合において、KLH(キーホールリンベットヘモシアニン)に結合したペプチド(長さ: 8-12 アミノ酸)を標準的インビトロ方法によって合成し、これらペプチドを免疫化に用いる。通常、3回の免疫化を行い、その濃度は5-1000 μg /免疫化とする。免疫化はまた、サービス業者からのサービスとして行うことも出来る。

10

【0227】

(2)あるいは、免疫化は組換えタンパク質を用いて行うことも出来る。この目的のため、標的遺伝子のクローニングされたDNAを発現ベクターにクローニングし、標的タンパク質を特定の製造業者の条件と同様に、例えば細胞-フリーインビトロにて、細菌(例えば大腸菌)中、酵母(例えば、*S. pombe*)中、昆虫細胞中または哺乳類細胞中にて合成する(例えば、Roche Diagnostics、Invitrogen、Clontech、Qiagen)。系のいずれかでの合成の後、標的タンパク質を精製し、この場合精製は通常標準的クロマトグラフィー方法により行う。これに関しては、精製の助けとして分子アンカーを有する免疫化のためのタンパク質を用いてもよい(例えば、Hisタグ、Qiagen; FLAGタグ、Roche Diagnostics; Gst 融合タンパク質)。多数のプロトコールが例えば以下においてみられる: "Current Protocols in Molecular Biology", John Wiley & Sons Ltd., Wiley Interscience。

20

【0228】

(3)所望のタンパク質を内因的に合成する細胞株が入手可能な場合、この細胞株を用いて特異的抗血清を産生することが出来る。この場合、免疫化は各回約 $1-5 \times 10^7$ 細胞にて1-3回の注射にて行う。

【0229】

(4)免疫化はDNAの注射によって行うことも出来る(DNA 免疫化)。この目的のため、標的遺伝子を最初に、標的配列が強力な真核プロモーター(例えば、CMV プロモーター)の制御下になるように発現ベクターにクローニングする。次いで、5 -100 μg のDNAを「遺伝子銃」を用いて生物(例えば、マウス、ウサギ)における強い血流のある毛細血管領域に免疫原として移入する。移入されたDNAは動物細胞に取り込まれ、標的遺伝子が発現し、動物は最終的に標的遺伝子に対する免疫応答を発達させる(Jung et al., Mol Cell 12:41-49, 2001; Kasinrerker et al., Hybrid Hybridomics 21:287-293, 2002)。

30

【0230】

ポリクローナル血清または抗体の質の管理

細胞培養に基づくアッセイ、次いでウェスタンブロッティングは特異性を示すのにもっとも好適である(様々な改変が、例えば、Current Protocols in Protein Chemistry, John Wiley & Sons Ltd., Wiley InterScienceに記載されている)。それを示すために、細胞に、強力な真核プロモーター(例えば、サイトメガロウイルスプロモーター)の制御下の標的タンパク質に対するDNAをトランスフェクトする。様々な方法(例えば、エレクトロポレーション、リポソームに基づくトランスフェクション、リン酸カルシウム沈降)がDNAによる細胞株のトランスフェクトについて確立されている(例えば、Lemoine et al., Methods Mol. Biol. 75:441-7, 1997)。標的遺伝子を内因的に発現する細胞株を用いることも可能である(標的遺伝子特異的 RT-PCRによって示される)。コントロールとして理想的な場合においては相同的遺伝子を実験においてトランスフェクトし、以下のウェスタンブロットにおいて分析する抗体の特異性を確認することができる。

40

【0231】

次いでウェスタンブロットにおいて、標的タンパク質を含む可能性がある細胞培養物または組織サンプルからの細胞を1% SDS溶液で溶解し、タンパク質をそれによって変性させる。可溶化液を、8-15% 変性ポリアクリルアミドゲル(1% SDS含有)(SDS ポリアクリルア

50

ミドゲル電気泳動、SDS-PAGE)において電気泳動によってサイズに応じて分画する。タンパク質を次いで複数のブロッティング方法の1つによって特定のメンブレン(例えば、ニトロセルロース、Schleicher & Schull)にトランスファーする(例えば、半乾燥電気ブロット; Biorad)。所望のタンパク質をこのメンブレン上で可視化できる。この目的のため、メンブレンをまず、標的タンパク質を認識する抗体(抗体の特異性に応じて希釈度約1:20-1:200)と60分間インキュベートする。洗浄工程後、メンブレンをマーカー(例えば、酵素、例えば、ペルオキシダーゼまたはアルカリホスファターゼ)と結合し、一次抗体を認識する二次抗体とインキュベートする。次いで着色または化学発光反応において(例えば、ECL、Amersham Bioscience)、メンブレン上で標的タンパク質を可視化することができる。標的タンパク質に対する高い特異性を有する抗体は理想的な場合において所望のタンパク質自体のみを認識するはずである。

10

【0232】

インシリコアプローチで同定された標的タンパク質の膜局在の確認には様々な方法が用いられる。上記抗体を用いる重要かつよく確立された方法は免疫蛍光(IF)である。標的タンパク質(RT-PCRにおけるRNAの検出またはウェスタンブロットにおけるタンパク質の検出)を合成するかあるいはプラスミドDNAをトランスフェクトされた樹立細胞株の細胞がこのために用いられる。様々な方法(例えば、エレクトロポレーション、リポソームに基づくトランスフェクション、リン酸カルシウム沈降)がDNAによる細胞株のトランスフェクションのために確立されている(例えば、Lemoine et al., Methods Mol. Biol. 75:441-7, 1997)。細胞にトランスフェクトされたプラスミドは、免疫蛍光において、非修飾タンパク質をコードするかあるいは標的タンパク質に様々なアミノ酸マーカーを結合させうる。主要なマーカーは、例えば、蛍光性の様々な蛍光性形態における「緑色蛍光性タンパク質」(GFP)、6-12アミノ酸の短いペプチド配列であってそれに対する高親和性かつ特異的抗体が入手可能なもの、あるいはそのシステイン特異的蛍光物質(Invitrogen)を介して結合しうる短いアミノ酸配列 Cys-Cys-X-X-Cys-Cysである。標的タンパク質を合成する細胞は、例えば、パラホルムアルデヒドやメタノールで固定される。次いで細胞は所望により界面活性剤(例えば、0.2% Triton X 100)とのインキュベーションによって透過性にされうる。細胞は次いで標的タンパク質または結合マーカーの1つに対する一次抗体とともにインキュベートされる。洗浄工程後、混合物を蛍光性マーカー(例えば、フルオレセイン、Texas Red、Dako)と結合し、一次抗体と結合する二次抗体とインキュベートする。このように標識した細胞は次いでグリセロール層で被覆し、製造業者の指示に従って蛍光顕微鏡によって分析される。特異的蛍光発光はこの場合、用いる物質に応じた特異的励起によって達成される。分析は通常標的タンパク質の信頼できる局在化を可能にし、抗体の質と標的タンパク質が標的タンパク質に加えて、その局在が既に文献に記載されている結合したアミノ酸マーカーまたはその他のマーカータンパク質の染色をする二重染色によって確認される。GFPおよびその誘導体は特別な場合を表し、直接励起可能でありそれ自体蛍光を発する。界面活性剤の使用により制御されうる膜透過性は、免疫原性エピトープが細胞の内側と外側のいずれに位置しているかを免疫蛍光において示すことを可能にする。選択されたタンパク質の予測はこのようにして実験的に支持される。別の可能性はフローサイトメトリーによる細胞外ドメインの検出である。この目的のために、細胞は非透過性条件下で固定され(例えば、PBS/Na アジド/2% FCS/5 mM EDTA)、製造業者の指示に従ってフローサイトメーターにて分析される。細胞外エピトープのみがこの方法で分析される抗体によって認識されうる。免疫蛍光との違いは例えば、ヨウ化プロピジウムまたはトリパンブルーの使用によって死細胞と生細胞を区別することが可能であること、そして偽陽性結果を避けられることである。

20

30

40

【0233】

アフィニティー精製

ポリクローナル血清の精製は、ペプチド抗体の場合すべて、あるいは組換えタンパク質に対する抗体の場合、部分的に契約会社のサービスとして行った。この目的のために、両方の場合において、適当なペプチドまたは組換えタンパク質をマトリックスに共有結合さ

50

せ、後者を結合後、ネイティブバッファー(PBS: リン酸緩衝食塩水)で平衡化し、次いで粗血清とインキュベートした。さらなるPBS洗浄工程の後、抗体を100 mM グリシン、pH 2.7で溶出し、溶出液をすぐに2M TRIS、pH 8で中和した。このように精製した抗体を次いで、ウェスタンブロッティングおよび免疫蛍光による標的タンパク質の特異的検出に供し得た。

【0234】

EGFPトランスフェクタントの調製

異種発現した腫瘍関連抗原の免疫蛍光顕微鏡法のために、抗原の完全なORF をpEGFP C1およびpEGFP N3 ベクター(Clontech)にクローニングした。スライド上で培養したCHOおよびNIH3T3 細胞にFugene トランスフェクション試薬(Roche)を用いて適当なプラスミドコンストラクトを製造業者の指示に従ってトランスフェクトし、12-24時間後、免疫蛍光顕微鏡法によって分析した。

10

【0235】

実施例 1

診断上および治療上癌標的としてのGPR35の同定

GPR35(配列番号1)およびその翻訳産物(配列番号9)は、推定G タンパク質共役受容体として記載されている。配列はGenbankにおいて登録番号AF089087として公表されている。この転写産物は309アミノ酸、分子量34 kDaのタンパク質をコードしている。GPR35は、7つの膜貫通ドメインを有するGタンパク質共役受容体のスーパーファミリーに属すると予測された(O'Dowd et al., Genomics 47:310-13, 1998)。細胞における予測されたGPR35の局在を確認するために、タンパク質をレポーター分子としてのeGFPと融合させ、適当なプラスミドでのトランスフェクションの後、異種的に293細胞において発現させた。局在を次いで蛍光顕微鏡で分析した。本発明によると、GPR35は完全な膜貫通分子(図17)であることが確認された。ヒトGPR35に対する今日までの研究(とりわけ、Horikawa Y、Oda N、Cox NJ、Li X、Orho-Melander M、Hara M、Hinokio Y、Lindner TH、Mashima H、Schwarz PE、del Bosque-Plata L、Horikawa Y、Oda Y、Yoshiuchi I、Colilla S、Polonsky KS、Wei S、Concannon P、Iwasaki N、Schulze J、Baier LJ、Bogardus C、Groop L、Boerwinkle E、Hanis CL、Bell GI Nat Genet. 2000 Oct; 26(2):163-75を参照されたい)は、GPR35は多くの健康組織で活性化されていることを示唆している。この遺伝子のリーディングフレームは1つのエキソンを含む。本発明によると、GPR35に対する遺伝子特異的プライマー対(配列番号20、21)をRT-PCR 分析に用いて結腸および結腸癌(13/26)におけるcDNAを増幅した。一方、その他の正常組織においては有意な発現は検出不可能であった。GPR35は単一のエキソンからなるという事実により、イントロンにまたがるプライマーによってゲノムDNA不純物を検出することが出来ない。それゆえ、RNA サンプルのゲノムによる汚染を排除するために、すべてのRNAをDNaseで処理した。GPR35 転写産物はDNA-無含有 RNAを用いると本発明によると、結腸、直腸、精巣および結腸癌においてのみ検出された。

20

30

【0236】

表1：正常組織におけるGPR35 発現

【表 1】

正常組織	発現
脳	－
小脳	－
心筋	－
骨格筋	－
直腸	++
胃	－
結腸	++
膵臓	－
腎臓	－
精巣	－
胸腺	－
乳腺	－
卵巣	－
子宮	n. d.
皮膚	－
肺	－
甲状腺	－
リンパ節	－
脾臓	－
PBMC	－
副腎	－
食道	－
小腸	+
前立腺	－
(nd = 測定せず)	

10

20

30

【 0 2 3 7 】

正常結腸組織および結腸癌組織診におけるGPR35 転写産物の選択的かつ高い発現(図1)は以前には知られておらず、本発明による分子診断法に用いることが出来る。例えば、血清および骨髄における転移性腫瘍細胞の検出およびその他の組織における転移の検出のためのRT-PCRが挙げられる。特異的プライマー(配列番号88および89)を用いた定量的RT-PCRにより、GPR35が高度に選択的な腸-特異的分化抗原であることが確認され、これは腸腫瘍および腸腫瘍転移にも含まれる。いくつかの腸腫瘍において、それは実際正常腸に比較して1ログ過剰発する(図18)。GPR35 タンパク質検出用の抗体をウサギの免疫化によって産生した。以下のペプチドをかかると抗体の増殖に用いた:

配列番号90 GSSDLTWPPAIKLG C (AA 9-23)

配列番号91: DRYVAVRHPLRARGLR (AA 112-127)

配列番号92: VAPRAKAHKSQDSL C(末端)

配列番号93 CFRSTRHNFNSMR (細胞外ドメイン 2)

40

【 0 2 3 8 】

かかる抗体を用いた例えばウェスタンブロットによる染色により、腫瘍における発現が確認される。GPR35の4つのすべての細胞外ドメイン(配列番号9の配列における予測細胞外ドメインの位置、AA 1-22 (配列番号94); AA 81-94 (配列番号95); AA 156-176 (配列番号96); AA 280-309 (配列番号97))を本発明によるとモノクローナル抗体の標的構造として利用できる。かかる抗体は腫瘍細胞の細胞表面に特異的に結合し、そして、診断および治療方法の両方に利用できる。腫瘍におけるGPR35の過剰発現は、かかる使用に対するさ

50

らなる支持を提供する。さらに、タンパク質をコードする配列は本発明によると腫瘍特異的免疫応答(T細胞およびB細胞-媒介免疫応答)を誘導するワクチン(RNA、DNA、ペプチド、タンパク質)として利用できる。さらに、驚くべきことにさらなる開始コドンが一般に知られている開始コドンの前の5'側に存在し、N末端が伸長したタンパク質を発現することが見いだされた。

【0239】

したがって本発明によると以前に遍在性に発現すると記載されていたタンパク質であるGPR35が、胃腸腫瘍、特に結腸腫瘍に選択的に過剰発現する腫瘍関連抗原であることが見いだされた。GPR35はそれゆえ特にかかる腫瘍の診断及び治療のための分子標的構造として好適である。ヒト GPR35の今日までの研究、例えば、Horikawa Y、Oda N、Cox NJ、Li X、Orho-Melander M、Hara M、Hinokio Y、Lindner TH、Mashima H、Schwarz PE、del Bosque-Plata L、Horikawa Y、Oda Y、Yoshiuchi I、Colilla S、Polonsky KS、Wei S、Concannon P、Iwasaki N、Schulze J、Baier LJ、Bogardus C、Groop L、Boerwinkle E、Harris CL、Bell GI Nat Genet. 2000 Oct;26(2):163-75 は、GPR35が多くの健康組織において活性化されていることを示唆している。一方、本発明の研究によると、GPR35は驚くべきことにほとんどの正常組織で有意に検出されず、それに対して、原発性および転移性結腸腫瘍において高度に活性化されていることが示された。さらに以前に記載されているGPR35配列の他に、本発明によると別の開始コドンを利用する新規な翻訳バリエーションが見いだされた(配列番号10)。

10

【0240】

GPR35はG共役受容体(GPCR)の群のメンバーであり、G共役受容体(GPCR)の群は、その構造と機能が非常によく研究されている非常に大きなタンパク質ファミリーである。GPCRは医薬上活性な物質の開発のための標的構造として非常に好適である。というのはそれに必要な方法(例えば、受容体発現、精製、リガンドスクリーニング、突然変異誘発、機能阻害、アゴニスト性およびアンタゴニスト性リガンドの選択、リガンドの放射標識)が非常によく開発されており、例えば、以下に詳細に記載されているからである。“G Protein-Coupled Receptors”、Tatsuya Haga、Gabriel Berstein and Gabriel Bernstein ISBN: 0849333849 および、“Identification and Expression of G-Protein Coupled Receptors Receptor Biochemistry and Methodology”、Kevin R. Lynch ASIN: 0471183105。本発明によると、GPR35はほとんどの健康組織で検出できず、細胞表面にて腫瘍関連発現をするという認識により、例えば、薬理活性リガンド、特に例えば、医薬物質としての放射性分子と組み合わせての使用など、その腫瘍関連標的構造としての利用が可能となる。特定の態様においてGPR35に結合する放射標識リガンドをインビボでの腫瘍細胞の検出または結腸腫瘍の治療に利用することが可能である。

20

30

【0241】

実施例2

診断上および治療上癌標的としての肝臓および卵巣腫瘍におけるGUCY2Cならびに新規GUCY2Cスプライスバリエーションの同定

グアニル酸シクラーゼ2C(配列番号2; 翻訳産物: 配列番号11) - I型膜貫通タンパク質 - はナトリウム利尿ペプチド受容体のファミリーに属する。その配列はGenbankにおいて登録番号 NM_004963として公表されている。ペプチド、グアニリン(guanylin)およびウログアニリン(uroguanylin)あるいは耐熱性エンテロトキシン(STa)の結合は、細胞内cGMP濃度を上昇させ、したがって細胞内のシグナル伝達プロセスを誘導する。

40

【0242】

最近の研究はGUCY2Cの発現が腸外領域、例えば、胃および食道の原発性および転移性腺癌にも及ぶことを示している(Park et al., Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 11: 739-44, 2002)。腸の正常および形質転換組織の両方にみられるGUCY2Cのスプライスバリエーションはエキソン1における142 bp 欠失を含み、したがってGUCY2C-様産物の翻訳が妨げられる(Pearlman et al., Dig. Dis. Sci. 45:298-05, 2000)。現在までに記載されている唯一のスプライスバリエーションは翻訳産物を導かない。

50

【 0 2 4 3 】

本発明の目的は診断および治療の両方に利用できるGUCY2Cの腫瘍関連スプライスバリエントを同定することであった。

【 0 2 4 4 】

GUCY2C-特異的プライマー対(配列番号22、23、98、99)を用いたRT-PCR 研究は、正常結腸および胃における強いGUCY2C 転写産物の発現、そして肝臓、精巣、卵巣、胸腺、脾臓、脳および肺における弱い発現を示した(表2、図19)。結腸および胃における発現はその他のすべての正常組織と比べて少なくとも50倍高かった。顕著なGUCY2C転写産物レベルが結腸癌および胃癌において検出された(表2)。これらの結果は定量的PCR 分析により特定され、正常 結腸、回腸、およびほぼすべての調べた結腸癌サンプルにおける顕著なGUCY2C 発現を示した(図2、19B)。多大な過剰発現がいくつかの結腸癌サンプルにおいて検出可能であった。さらに、発現は7/10の胃腫瘍でみられた。本発明者らはまた驚くべきことに、該遺伝子が多くの以前に記載されていなかった腫瘍、とりわけ、卵巣、乳房、肝臓および前立腺腫瘍において活性化されていることを見いだした(図19B、表2)。

【 0 2 4 5 】

表 2 : 正常および腫瘍組織におけるGUC2C 発現

【表 2 - 1】

正常組織	発現	腫瘍タイプ	発現
脳	+	結腸癌	+++
小脳		膵臓癌	-
心筋		食道癌	-
骨格筋	-	胃癌	+++
心筋		気管支癌	-
胃	+++	乳癌	-+
結腸	+++	卵巣癌	+
膵臓	-	子宮内膜癌	
腎臓	-	ENT腫瘍	
肝臓	+	腎臓細胞癌	
精巣	++	前立腺癌	+
胸腺	+	肝臓癌	+

【 0 2 4 6 】

【表 2 - 2】

正常組織	発現
乳房	-
卵巣	+
子宮	+
皮膚	
肺	+
甲状腺	
リンパ節	-
脾臓	+
PBMC	-
前立腺	-

【 0 2 4 7 】

以下のプライマー対を用いて結腸組織および結腸癌組織におけるスプライスバリエントを検出した：

10

20

30

40

50

GUCY2C-118s/GUCY2C-498as (配列番号24、29);
 GUCY2C-621s/GUCY2C-1140as (配列番号25、30);
 GUCY2C 1450s/GUCY2C-1790as (配列番号26、31);
 GUCY2C 1993s/GUCY2C-2366as (配列番号27、32);
 GUCY2C 2717s/GUCY2C-3200as (配列番号28、33);
 GUCY2C 118s/GUCY2C-1140as (配列番号24、30);
 GUCY2C 621s/GUCY2C-1790as (配列番号25、31);
 GUCY2C 1450s/GUCY2C-2366as (配列番号26、32);
 GUCY2C 1993s/GUCY2C-3200as (配列番号27、33)。

【0248】

10

結腸癌組織におけるスプライスバリエーションの研究において3つの以前に知られていない形態が本発明によって同定された。

- a) 111アミノ酸長で位置111のアスパラギンがプロリンに置換されているGUCY2Cのバリエーションを導くエキソン 3の欠失(配列番号3)。
- b) 258アミノ酸長の発現産物をもたらすエキソン 6の欠失(配列番号4)。これは13 アミノ酸からなるC末端新エピトープを作る。
- c)ヌクレオチド位置1606-1614、そして対応するアミノ酸L(536)、L(537)およびQ(538)が欠失しているバリエーション(配列番号5)。

【0249】

エキソン3およびエキソン6がそれぞれ欠失している本発明によるスプライスバリエーション(配列番号3、4)は、特に膜貫通ドメインを有さない翻訳産物(配列番号12、13)によって認識される。エキソン6の欠失の場合の結果は、13 アミノ酸のC末端新エピトープであり、これは既知のいかなるタンパク質とも相同性を示さない。この新エピトープはしたがって免疫療法の標的構造に予定される。本発明の位置1606-1614において塩基が欠失したスプライスバリエーション(配列番号5)およびその翻訳産物(配列番号14)は同様に新エピトープを含む。GUCY2C タンパク質検出用の抗体をウサギの免疫化により産生した。以下のペプチドをこれら抗体の増殖に用いた:

配列番号100: HNGSYEISVLMMGNS (AA 31-45)

配列番号101: NLPTPPTVENQQRLA (AA 1009-1023)

かかる抗体は原理的には診断および治療目的で利用しうる。

【0250】

特に、GUCY2Cの細胞外ドメイン(配列番号11の配列からの推定細胞外ドメインの位置: A A 454-1073 (配列番号102))は本発明によると、モノクローナル抗体の標的構造として利用できる。しかし、構造予測はいくらか不明瞭であり、実験的に確認されておらず、したがって別の膜位置もあり得る。この場合、アミノ酸1-431は細胞外にあり、モノクローナル抗体の出発点として好適である。これら抗体は腫瘍細胞の細胞表面に特異的に結合し、診断および治療方法の両方に利用できる。特に結腸腫瘍におけるGUCY2Cの過剰発現は、かかる使用のさらなる支持を提供する。タンパク質をコードする配列はさらに本発明によると腫瘍特異的免疫応答(T細胞-およびB細胞-媒介免疫応答)を誘導するワクチン(RNA、DNA、ペプチド、タンパク質)として使用できる。

【0251】

さらにGUCY2C 分子の細胞機能によると本発明によると、腫瘍細胞に対する酵素の機能を調節する物質、特に低分子を開発することが出来る。酵素反応の生成物であるcGMPは、多数の機能を有する公知の細胞内シグナル分子である(Tremblay et al. Mol Cell Biochem 230, 31)。

【0252】

実施例 3

診断上および治療上の癌標的としてのSCGB3A2の同定

SCGB3A2 (配列番号6) (翻訳産物: 配列番号15)は分泌グロブリン (secretoglobin) 遺伝子ファミリーに属する。配列はGenBankにおいて登録番号 NM_054023として公表されて

50

いる。SCGB3A2 (UGRP1)はサイズ17 kDaのホモ二量体分泌タンパク質であり、肺および気門にもっぱら発現している(Niimi et al., Am J Hum Genet 70:718-25, 2002)。プライマー対(配列番号37、38)を用いたRT-PCR 研究により正常肺組織における選択的発現が確認された。肺-および気管-特異的遺伝子、例えばサーファクタントタンパク質に対する遺伝子は、脱分化の際に悪性腫瘍において高度に下方制御され、通常肺腫瘍においては検出不可能である。驚くべきことに、SCGB3A2が原発性および転移性肺腫瘍において活性であることが見いだされた。本発明による研究は、SCGB3A2が強くそして高頻度に気管支癌において発現していることが示された(図4)。その他の試験した23の正常組織は、肺および気管を除いて、発現を示さなかった(図20)。

【0253】

10

これをさらに特異的定量的 RT-PCR(配列番号103、104) (図20)において確認し、これはさらに50% 以上の気管支癌における少なくとも1ログの過剰発現を示した。

【0254】

正常肺組織および肺癌組織診におけるSCGB3A2の選択的な高い発現は本発明によると血液および骨髄、痰、気管支吸引液または洗浄液における転移性腫瘍細胞の検出のため、そしてその他の組織、例えば局所リンパ節における転移の検出のための分子診断法、例えば、RT-PCRに利用することが出来る。健康肺において、SCGB3A2は特定の細胞によってもっぱら気管支へと分泌される。したがって、SCGB3A2 タンパク質は健康な個体における気道の外の体液において検出されることは予測されない。一方、特に転移性腫瘍細胞はそれらタンパク質産物を直接血流に分泌する。本発明の一態様はそれゆえ肺腫瘍の診断発見としての特異的抗体アッセイを介して患者の血清または血漿におけるSCGB3A2産物の検出に関する。

20

【0255】

SCGB3A2 タンパク質を検出するための抗体をウサギの免疫化によって産生した。以下のペプチドをこれら抗体の産生に用いた：

配列番号105：LINKVPLPVDKLAPL

配列番号106：SEAVKKLLEALSHLV。

【0256】

SCGB3A2-特異的反応は免疫蛍光において検出可能であった(図21)。分泌タンパク質について予測されるように、細胞におけるSCGB3A2の分泌は小胞体および分泌顆粒が行い得た(図21A)。特異性を確認するために、細胞をSCGB3A2-GFP 融合タンパク質を合成するプラスミドで並行してトランスフェクトした。タンパク質検出はこの場合自己蛍光性GFP(緑色蛍光性タンパク質)(図21B)を介して行った。2つの蛍光の図の重ね合わせにより明らかに、免疫血清が特異的にSCGB3A2 タンパク質を認識すること(図21C)が示された。

30

【0257】

本発明によるとかかる抗体は例えば診断および治療用途でイムノアッセイの形態で利用できる。

【0258】

実施例 4

診断上および治療上癌標的としてのクロードイン18A1およびクロードイン18A2 スプライスバリエントの同定

40

クロードイン18遺伝子は4つの膜貫通ドメインおよび細胞内N末端およびC末端を有する表面膜分子をコードする。Niimiら(Mol. Cell. Biol. 21:7380-90, 2001)は肺組織(クロードイン18A1)および胃組織(クロードイン18A2)においてそれぞれ選択的に発現すると記載されているマウスおよびヒトのクロードイン18の2つのスプライスバリエントを記載している。これらバリエントはN末端において相違している(図22)。

【0259】

本発明によると、スプライスバリエントであるクロードイン18A2(配列番号7)とクロードイン18A1(配列番号117)、ならびにそれらの翻訳産物(配列番号16および118)が、腫瘍のためのマーカーまたは治療標的構造としてどの程度利用できるかを調べた。2つのバリ

50

アントを識別できる定量的 PCRはをA1-特異的(配列番号109 & 110)およびA2 特異的(配列番号107 & 108) プライマー対を選択することによって確立した。A2 スプライスバリエーションはさらに常套のPCRによって第二のプライマー対(配列番号39 & 40)を用いて試験した。A1 バリエーションは正常肺においてのみ活性であると記載されている。しかし、驚くべきことに本発明によると、A1 バリエーションが胃粘膜においても活性であることが見いだされた。胃および肺のみが有意な活性化を示す正常組織である。その他のすべての正常組織はクロードイン A1について陰性である。腫瘍を調べると、驚くべきことにクロードイン A1が多数の腫瘍組織において高度に活性化されていることが見いだされた。特に強い発現は胃腫瘍、肺腫瘍、膵臓癌、食道癌(図23)、ENT腫瘍および前立腺癌においてみられた。ENT、前立腺、膵臓および食道腫瘍におけるクロードイン A1 発現レベルは100-10 000倍対応する正常組織のレベルより高かった。クロードイン A2 スプライスバリエーションの研究に用いたオリゴヌクレオチドはこの転写産物の増幅を特異的に可能とするものであった(配列番号39 & 40および107 & 108)。研究により、A2 スプライスバリエーションは胃粘膜と程度は低いが精巣組織以外の20を超える調べた正常組織のいずれにおいても発現していないことが明らかとなった。本発明者らは、A2 バリエーションも、A1バリエーションと同様に、多くの腫瘍において活性化されていることを見いだした(例えば図24に示す)。これらには胃腫瘍(8/10)、膵臓腫瘍(6/6)、食道癌(5/10)および肝臓癌が含まれる。健康肺においてはクロードイン18A2の活性化は検出されなかったが、驚くべきことにいくらかの肺腫瘍がA2.1 スプライスバリエーションを発現することが見いだされた。

10

20

30

40

【0260】

図3A：正常および腫瘍組織におけるクロードイン18A2の発現

【表3-1】

正常組織	発現	腫瘍タイプ	発現
脳	-	結腸癌	-
小脳	-	膵臓癌	++
心筋	-	食道癌	++
骨格筋	-	胃癌	+++
子宮内膜	-	気管支癌	++
胃	+++	乳癌	-
結腸	-	卵巣癌	-
膵臓	-	子宮内膜癌	n. i.
腎臓	-	ENT腫瘍	++
肝臓	-	腎臓細胞癌	-
精巣	+	前立腺癌	-
胸腺	-		
乳房	-		
卵巣	-		
子宮	-		
皮膚	-		
肺	-		
甲状腺	-		
リンパ節	-		
脾臓	-		
PBMC	-		
食道	-		

【0261】

表3B：正常および腫瘍組織におけるクロードイン18A1の発現

【表 3 - 2】

正常組織	発現	腫瘍タイプ	発現
脳	-	結腸癌	-
小脳	-	膵臓癌	++
心筋	-	食道癌	++
骨格筋	-	胃癌	+++
子宮内膜	-	気管支癌	++
胃	+++	乳癌	+
結腸	-	卵巣癌	n. i.
膵臓	-	子宮内膜癌	n. i.
腎臓	-	ENT腫瘍	++
肝臓	-	腎臓細胞癌	-
精巣	+	前立腺癌	++
胸腺	-		
乳房	-		
卵巣	-		
子宮	-		
皮膚	-		
肺	+++		
甲状腺	-		
リンパ節	-		
脾臓	-		
PBMC	-		
食道	-		

10

20

【0262】

独立のコントロール研究としての常套のPCRもまた、定量的 PCRの結果を確認するものであった。これに用いたオリゴヌクレオチド(配列番号39、40)はA2 スプライスバリエーションの特異的増幅を可能とする。本発明によると、8/10の胃癌および試験した膵臓癌の半分以上がこのスプライスバリエーションの強い発現を示した(図5)。一方、常套のPCRによってはその他の組織における発現は検出されなかった。特に、肺、肝臓、血液、リンパ節、乳房組織および腎臓組織では発現は無かった(表3)。

30

【0263】

したがって該スプライスバリエーションは、本発明によると、上部胃腸管ならびに肺腫瘍、ENT腫瘍、前立腺癌およびその転移の腫瘍に対する高度に特異的な分子マーカーを表す。これら分子マーカーを本発明によると腫瘍細胞の検出に利用できる。腫瘍の検出は本発明によると上記オリゴヌクレオチドを利用して行うことができる(配列番号39、40、107-110)。特に好適なオリゴヌクレオチドは、少なくともその一方が、180塩基対長であって一方(配列番号8)または他方のスプライスバリエーション(配列番号119)に特異的な転写産物のセグメントとストリンジェントな条件下で結合するプライマー対である。

40

【0264】

タンパク質レベルでこれらのデータを確認するために、クローディング-特異的抗体および免疫血清を動物の免疫化により測定した。クローディング18の細胞膜局在およびタンパク質トポロジーを、バイオインフォマティクスツール(TMhMM、TMPRED)による膜貫通ドメインの分析および増強GFPをタグ付加されたクローディング18 融合タンパク質を発現する細胞の免疫蛍光研究によって確認した。クローディング18は2つの細胞外ドメインを有する。N末端細胞外ドメインは2つのスプライスバリエーションにおいて配列において異なる(A1は配列番号111およびA2は配列番号112)。C末端細胞外ドメインは両方のバリエーションについて同一である(配列番号137)。今日まで、クローディング18の細胞外ドメインに結合する抗体は

50

記載されていない。本発明によると、細胞外に位置し、バリエーション A1またはA2に特異的な、または両バリエーションに存在するペプチドエピトープを免疫化に選択した。クローディング18の両方のバリエーションは古典的なグリコシル化モチーフを有さず、タンパク質のグリコシル化はそれゆえ予測されなかった。にもかかわらず、アスパラギン、セリン、スレオニンを含むエピトープが古典的グリコシル化部位が無くてもまれにグリコシル化される可能性があることを考慮して、エピトープの選択に注意を払った。エピトープのグリコシル化はこのエピトープに対して特異的な抗体の結合を妨害しうる。とりわけ、エピトープは本発明によると、それによって作られる抗体が、抗原のグリコシル化状態の識別を可能とするように選択した。以下のペプチドをとりわけ、免疫化のために抗体の産生に選択した：

【0265】

10

配列番号17: DQWSTQDLYN (N-末端細胞外ドメイン、A2-特異的、グリコシル化と関係なく結合)

配列番号18: NNPVTAVFNYQ (N-末端細胞外ドメイン、A2-特異的、非グリコシル化形態に主に結合、N37)

配列番号113: STQDLYNNPVTAVF (N-末端細胞外ドメイン、A2-特異的、非グリコシル化形態のみに結合、N37)

配列番号114: DMWSTQDLYDNP (N-末端細胞外ドメイン、A1-特異的)

配列番号115: CRPYFTILGLPA (N-末端細胞外ドメイン、主にA1に特異的)

配列番号116: TNFWMSTANMYTG (C-末端細胞外ドメイン、A1とA2との両方を認識)。

【0266】

20

配列番号17による免疫化により産生されたA2-特異的抗体についてのデータを例示により示す。特異的抗体は免疫蛍光研究のための様々な固定条件下で利用できる。RT-PCR-陽性および陰性細胞株の比較染色により、容易に検出可能な量において、対応するタンパク質は陽性とされる胃癌細胞株において特異的に検出できる(図25)。内因性タンパク質は膜に位置し、膜上に比較的大きな限局的な集合体を形成する。この抗体をさらにウェスタンブロッティングにおけるタンパク質検出に用いた。予測されたように、タンパク質は胃にのみ検出され、その他の正常組織においては、肺においてさえ検出されなかった(図29)。患者からの胃腫瘍と隣接する正常胃組織の対比染色により、驚くべきことに、クローディング18 A2が、このタンパク質が検出されるすべての胃腫瘍において小さい分子量を有していることが明らかとなった(図30、左)。本発明によると一連の実験において、正常胃組織の可溶化液を脱グリコシル化剤 PNGase Fで処理した場合にもこのレベルのバンドが現れることが判明した(図30、右)。一方A2 バリエーションのグリコシル化形態はもっぱらすべての正常胃組織において検出可能であり、A2 は60%以上の調べた胃癌において検出可能であり、特にもっぱら脱グリコシル化形態におけるものであった。クローディング18のA2 バリエーションはタンパク質レベルにおいてさえ正常肺では検出されないが、それは気管支癌においてはみられ、定量的 RT-PCRによって調べたとおりであった。この場合も、脱グリコシル化バリエーションのみが存在した(図31)。本発明によるとクローディング18 A2 スプライスバリエーションの細胞外ドメインを認識する抗体を産生した。さらに、クローディング18 A1 スプライスバリエーションのN末端ドメインを選択的に認識する抗体(図28)およびC末端細胞外ドメインの領域において両方のバリエーションに結合する抗体(図27)を産生した。本発明によると診断目的でのかかる抗体の使用、例えば、免疫組織学(図32)、だけでなく上述のように治療目的での使用が可能である。さらに重要な態様はクローディング18の示差的にグリコシル化されたドメインに関する。本発明によると非グリコシル化エピトープにのみ結合する抗体を産生した。クローディング18自体は胃組織(A2)ならびに肺および胃(A1)に対する高度に選択的な分化抗原である。腫瘍においてはそれはグリコシル化機構における変化によって明らかに影響を受けるため、特定の脱グリコシル化されたA2のバリエーションが腫瘍において産生される。これは診断および治療に利用できる。免疫血清、例えばここで記載する免疫血清(配列番号17のペプチドに対するもの)を診断に、例えば、ウェスタンブロッティングにおいて利用できる。例えば配列番号113のペプチドでの免疫化によって生じる、グリコシル化されたエピトープにまったく結合することが出来ない抗体(図26)は、結合に

30

40

50

において腫瘍組織を正常組織と区別できる。特にかかる抗体の治療での使用が可能である。というのはそれらは高度に選択的であるからである。産生された抗体は、キメラまたはヒト化組換え抗体の産生に直接用いることも出来る。これはまたウサギから得た抗体を用いて直接行いうる(これについては、J Biol Chem. 2000 May 5;275(18):13668-76 by Rader C、Ritter G、Nathan S、Elia M、Gout I、Jungbluth AA、Cohen LS、Welt S、Old LJ、Barbas CF 3rd. “The rabbit antiody repertoire as a novel source for the generation of therapeutic human antibody”を参照)。この目的のために、免疫した動物からのリンパ球を保存した。アミノ酸1-47(配列番号19および120)もまた免疫療法、例えば、ワクチンおよび抗原-特異的Tリンパ球の養子移入、の特に良好なエピトープである。

【0267】

10

実施例 5

診断上および治療上癌標的としてのSLC13A1の同定

SLC13A1は硫酸ナトリウム共輸送体のファミリーに属する。ヒト遺伝子は、この遺伝子のマウスホモログと異なり、腎臓において選択的に発現する(Lee et al., Genomics 70:354-63)。SLC13A1は595 アミノ酸のタンパク質をコードし、13の推定膜貫通ドメインを含む。選択的スプライシングにより、4種類の転写産物(配列番号41-44)およびその対応する翻訳産物(配列番号45-48)が生じる。SLC13A1が腎臓腫瘍のマーカーとして利用できるかを調べた。SLC13A1の特異的増幅を可能とするオリゴヌクレオチド(配列番号49、50)をこの目的のために用いた。

【0268】

20

表4：正常および腫瘍組織におけるSLC13A1の発現

【表4】

正常組織	発現	腫瘍タイプ	発現
脳	-	結腸癌	nd
小脳	nd	膵臓癌	nd
心筋	nd	食道癌	nd
骨格筋	nd	胃癌	nd
心筋	-	気管支癌	nd
胃	-	乳癌	nd
結腸	-	卵巣癌	nd
膵臓	nd	子宮内膜癌	nd
腎臓	+++	ENT腫瘍	nd
肝臓	-	腎臓細胞癌	+++
精巣	+	前立腺癌	nd
胸腺	-		
乳房	-		
卵巣	-		
子宮	nd		
皮膚	nd		
肺	-		
甲状腺	-		
リンパ節	-		
脾臓	-		
PBMC	-		
S字結腸	-		
食道	-		

30

40

【0269】

SLC13A1-特異的プライマー対(配列番号49、50)を用いたRT-PCR研究により、実質的に腎臓における選択的発現が確認され、本発明により示されるように調べた腎臓細胞癌組織

50

診の実質的にすべて(7/8)において高発現していた(表4、図6)。特異的プライマー(配列番号121、122)を用いた定量的 RT-PCRもまたこれらのデータを確認した(図34)。弱いシグナルが以下の正常組織において検出可能であった:結腸、胃、精巣、乳房、肝臓および脳。腎臓癌における発現はしかし、その他のすべての正常組織よりも、少なくとも100倍高かった。

【0270】

細胞におけるSLC13A1の細胞内局在を分析するために、タンパク質をレポーター分子としてのeGFPと融合させ、適当なプラスミドでのトランスフェクションの後、293細胞において異種発現させた。局在を次いで蛍光顕微鏡下で分析した。本発明者らのデータは驚くべきことにSLC13A1が膜内在性分子であることを確認した(図35)。

10

【0271】

SLC13A1 タンパク質の検出用の抗体をウサギの免疫化により産生した。配列番号123 および124のペプチドをこれら抗体の産生に用いた。かかる抗体は原理的に診断および治療目的で利用できる。

【0272】

SLC13A1 タンパク質は13の膜貫通ドメインおよび7つの細胞外領域を有する。SLC13A1のこれら細胞外ドメインは特に本発明によるとモノクローナル抗体の標的構造として利用できる。SLC13A1はイオンの輸送にチャンネルタンパク質として関与している。健康腎臓におけるSLC13A1の細胞外ドメインは極性によって尿路(管腔内)の方向を向いている。しかし治療に用いられる高分子量モノクローナル抗体は尿路に入らないため、健康腎臓においてはSLC13A1への結合は起こらない。一方、SLC13A1の極性は腫瘍細胞においては無くなり、タンパク質は血流を介して直接抗体標的化に用いられる。腎臓細胞癌におけるSLC13A1の顕著な発現および高頻度により、このタンパク質は本発明によると非常に興味深い診断上および治療上のマーカーとなる。これは本発明によるとRT-PCRによる、血清、骨髄、尿における転移性の腫瘍細胞の検出およびその他の組織における転移の検出を含む。さらに本発明によると、SLC13A1の細胞外ドメインは、モノクローナル抗体を用いる免疫診断および治療のための標的構造としての使用が可能である。SLC13A1はさらに本発明によると腫瘍特異的免疫応答(TおよびB細胞-媒介免疫応答)を誘導するためのワクチン(RNA、DNA、タンパク質、ペプチド)として利用できる。これは、本発明によると、SLC13A1の生理活性を調節するいわゆる低分子化合物の開発も含み、腎臓腫瘍の治療用に利用することが出来る。

20

30

【0273】

実施例 6

診断上および治療上癌標的としてのCLCA1の同定

CLCA1 (配列番号51; 翻訳産物: 配列番号60)は、 Ca^{++} -活性化 Cl^- チャンネルのファミリーに属する。配列はGenbankにおいて登録番号NM_001285として公表されている。CLCA1はもっぱら腸陰窩上皮および杯細胞に発現している(Gruber et al., Genomics 54:200-14、1998)。CLCA1が結腸癌および胃癌のマーカーとして利用できるかを調べた。CLCA1の特異的増幅を可能とするオリゴヌクレオチド(配列番号67、68)をこの目的のために用いた。このプライマーセットを用いたRT-PCR 研究により結腸における選択的発現が確認され、本発明によると(3/7)の調べた結腸癌および(1/3)の調べた胃癌サンプルにおける高い発現が示された(図7)。その他の正常組織は、発現を示さないか非常に弱い発現を示した。これはさらに特異的定量的RT-PCR (配列番号125、126)によって確認され、ここで、発現は分析した正常組織においては検出されなかった(図36)。この実験で調べた腫瘍サンプルの中で、6/12の結腸癌サンプルと5/10の胃癌サンプルはCLCA1について陽性であった。総じて、この遺伝子の腫瘍における発現は無調節であるようであった。非常に強い発現を示すサンプルに加えて、CLCA1はその他のサンプルにおいて顕著に下方制御されていた。

40

【0274】

タンパク質は4つの膜貫通ドメイン、全部で2つの細胞外領域を有すると予測される。CLCA1のこれら細胞外ドメインは、特に本発明によるとモノクローナル抗体のための標的構

50

造として利用できる。

【0275】

CLCA1が胃癌および結腸癌において強力に発現していることそして高頻度であることにより、このタンパク質は本発明によると興味深い診断上および治療上のマーカーとなる。これには本発明によると、RT-PCRによる血清、骨髄、尿の転移性腫瘍細胞の検出ならびにその他の器官における転移の検出が含まれる。さらに本発明によるとCLCA1の細胞外ドメインをモノクローナル抗体による免疫診断および治療の標的構造として利用できる。CLCA1は本発明によるとさらに腫瘍特異的免疫応答(TおよびB細胞-媒介免疫応答)を誘発するためのワクチン(RNA、DNA、タンパク質、ペプチド)として利用できる。これには本発明によるとCLCA1の輸送タンパク質としての生理活性を調節し、胃腸腫瘍の治療に利用できる

10

【0276】

実施例 7

診断上および治療上癌標的としてのFLJ21477の同定

FLJ21477 (配列番号52)およびその推定翻訳産物(配列番号61)は仮定上のタンパク質としてGenbankにおいて登録番号: NM_025153として公表されている。それはATPase活性および4つの膜貫通ドメインを有する膜内在性タンパク質であり、したがって特異的抗体による治療に好適である。FLJ21477-特異的プライマー(配列番号69、70)を用いたRT-PCR研究により結腸における選択的発現、さらに(7/12)の調べた結腸癌サンプルにおいて様々なレベルの発現が示された(図8)。その他の正常組織は発現を示さなかった。これをさらに特異的定量的 RT-PCR(配列番号127、128)により確認した。FLJ21477-特異的発現は結腸(図37A)および11/12の結腸癌において検出可能であった。結腸組織における発現の他に、発現はさらに胃組織でも検出可能であった。さらに、定量的RT-PCRの条件下で、脳、胸腺および食道において検出可能な発現は、結腸および胃と比較して顕著に弱かった(図37A)。さらに以下の腫瘍サンプルにおけるFLJ21477-特異的発現を検出することが出来た:胃、膵臓、食道および肝臓。

20

【0277】

タンパク質は4つの膜貫通ドメインと全部で2つの細胞外領域を有すると予測される。これらFLJ21477の細胞外ドメインは、本発明によると特にモノクローナル抗体のための標的構造として利用できる。

30

【0278】

胃および結腸癌におけるFLJ21477の発現とその高い頻度により、該タンパク質は本発明によると、有用な診断上および治療上マーカーとなる。これには本発明によるとRT-PCRによる血清、骨髄、尿における転移性腫瘍細胞の検出ならびにその他の器官における転移の検出が含まれる。さらに、FLJ21477の細胞外ドメインは本発明によるとモノクローナル抗体による免疫診断および治療の標的構造として利用できる。さらに本発明によると、FLJ21477は腫瘍特異的免疫応答(TおよびB細胞-媒介免疫応答)の誘発のためのワクチン(RNA、DNA、タンパク質、ペプチド)として利用できる。

【0279】

実施例 8

FLJ20694の診断上および治療上癌標的としての同定

FLJ20694(配列番号53)およびその翻訳産物(配列番号62)は仮定上のタンパク質としてGenbankに登録番号: NM_017928として公表されている。このタンパク質は膜内在性分子(膜貫通ドメイン AA 33-54)であり、チオレドキシン機能を有するようである。FLJ20694-特異的プライマー(配列番号71、72)を用いたRT-PCR 研究により、結腸における選択的発現、さらに(5/9)の結腸癌サンプルにおける様々なレベルの発現が示された(図9)。その他の正常組織は発現を示さなかった。これはさらに特異的定量的 RT-PCR (配列番号129、130)により確認された(図38)。FLJ20694発現は結腸および胃(最初の実験では分析していない)以外のその他の正常組織では検出されなかった。

40

【0280】

50

タンパク質は1つの膜貫通ドメインと1つの細胞外領域を有すると予測される。FLJ20694のこれら細胞外ドメインは特に本発明によると、モノクローナル抗体のための標的構造として利用できる。

【0281】

さらに、FLJ20694は本発明によると腫瘍特異的免疫応答(TおよびB細胞-媒介免疫応答)を誘発するためのワクチン(RNA、DNA、タンパク質、ペプチド)として利用できる。これには本発明によるとFLJ20694の生理活性を調節するいわゆる低分子化合物の開発も含まれ、胃腸腫瘍の治療に利用できる。

【0282】

実施例 9

10

von Ebner'sタンパク質 (c20orf114)の診断上および治療上癌標的としての同定

von Ebner's タンパク質 (配列番号54)およびその翻訳産物(配列番号63)は上気道および鼻咽頭上皮のPlunc-関連タンパク質としてGenbank において登録番号 AF364078として公表されている。本発明によると、von Ebner's タンパク質が肺癌のマーカーとして利用できるかを調べた。Ebner's タンパク質の特異的増幅を可能とするオリゴヌクレオチド(配列番号73、74)をこの目的のために用いた。このプライマーセットによるRT-PCR 研究は、肺および(5/10)の調べた肺癌サンプルにおける選択的発現を示した(図10)。正常組織の群において胃での発現も示された。その他の正常組織は発現を示さなかった。

【0283】

実施例 10

20

Pluncの診断上および治療上癌標的としての同定

Plunc (配列番号55)およびその翻訳産物(配列番号64)はGenbankに登録番号 NM_016583として公表されている。ヒト Pluncは256 アミノ酸であってマウス Plunc タンパク質と72%の相同性を示すタンパク質をコードする(Bingle and Bingle、Biochem Biophys Acta 1493:363-7、2000)。Pluncの発現は気管、上気道、鼻咽頭上皮および唾液腺に限定されている。

【0284】

本発明により、Pluncが肺癌のマーカーとして利用できるかを調べた。Pluncの特異的増幅を可能とするオリゴヌクレオチド(配列番号75、76)をこの目的のために使用した。

【0285】

30

このプライマーセットを用いたRT-PCR 研究により、胸腺、肺および(6/10)の調べた肺癌サンプルにおける選択的発現が示された(図11)。その他の正常組織は発現を示さなかった。

【0286】

実施例 11

SLC26A9の診断上および治療上癌標的としての同定

SLC26A9 (配列番号56)およびその翻訳産物 (配列番号65)はGenbankに登録番号 NM_134325として公表されている。SLC26A9は陰イオン交換体のファミリーに属する。SLC26A9の発現は細気管支および肺の肺胞上皮に限定されている(Lohi et al.、J Biol Chem 277:14246-54、2002)。

40

【0287】

SLC26A9が肺癌のマーカーとして利用できるかを調べた。この目的のためにSLC26A9の特異的増幅を可能とするオリゴヌクレオチド(配列番号77、78)を用いた。SLC26A9-特異的プライマー(配列番号77、78)を用いたRT-PCR 研究により、肺およびすべて(13/13)の調べた肺癌サンプルにおける選択的発現が示された(図12)。甲状腺を除くその他の正常組織は発現を示さなかった。まず、配列番号131および132のプライマーを用いた定量的 RT-PCR実験においてこれらの結果を確認することが出来、さらなる情報が得られた。4-5の腫瘍組織のプールされたサンプルにおいて、肺、結腸、脾臓および胃腫瘍におけるSLC26A9-特異的 RNAの高い発現レベルを検出することが出来た。SLC26A9は膜貫通陰イオン輸送体のファミリーのメンバーである。健康な肺において、タンパク質は気道の方

50

に向いており、したがって血液からのIgG抗体を直接用いることは出来ない。一方、タンパク質の極性は腫瘍では失われている。したがって本発明によると、特定の腫瘍、とりわけ、肺腫瘍、胃癌、膵臓癌においてモノクローナル抗体を用いた治療標的としてSLC26A9を用いることが出来る。肺、胃、膵臓および食道癌におけるSLC26A9の顕著な高発現および高頻度により、このタンパク質は本発明によると、良好な診断上および治療上マーカーとなる。これには本発明によるとRT-PCRによる血清、骨髄および尿における転移性腫瘍細胞の検出ならびにその他の器官における転移の検出が含まれる。さらに、SLC26A9の細胞外ドメインは本発明によると、モノクローナル抗体による免疫診断および治療のための標的構造として利用することが出来る。さらに本発明によると腫瘍特異的免疫応答(TおよびB細胞-媒介免疫応答)の誘発のためのワクチン(RNA、DNA、タンパク質、ペプチド)としてSLC26A9を用いることが出来る。これには本発明によると、SLC26A9の生理活性を調節するいわゆる低分子化合物の開発も含まれ、肺腫瘍および胃腸腫瘍の治療に利用できる。

10

20

30

40

50

【0288】

実施例12

THC1005163の診断上および治療上癌標的としての同定

THC1005163 (配列番号57)はTIGR 遺伝子インデックスからの遺伝子断片である。該遺伝子は3'領域のみ明らかになっており、ORFは欠失している。RT-PCR 研究をTHC1005163-特異的プライマー(配列番号79)および5'末端に21 特異的塩基の特異的タグを有するオリゴdT₁₈プライマーを用いて行った。このタグは公知の配列との相同性についてのデータベースサーチプログラムを用いて調べた。この特異的プライマーをまずゲノムDNAの汚染を除くためにcDNA合成に用いた。このプライマーセットを用いたRT-PCR 研究により、胃、卵巣、肺および(5/9)の肺癌組織診における発現が示された(図13)。その他の正常組織は発現を示さなかった。

【0289】

実施例13

L0C134288の診断上および治療上癌標的としての同定

L0C134288 (配列番号58)およびその推定翻訳産物(配列番号66)はGenbankに登録番号.X M_059703として公表されている。

【0290】

本発明によると、L0C134288が腎臓細胞癌のマーカーとして利用できるかを調べた。L0C134288の特異的増幅を可能とするオリゴヌクレオチド(配列番号80、81)をこの目的のために用いた。RT-PCR 研究により腎臓および(5/8)の調べた腎臓細胞癌組織診における選択的発現が示された(図14)。

【0291】

実施例14

THC943866の診断上および治療上癌標的としての同定

THC 943866 (配列番号59)はTIGR 遺伝子インデックスからの遺伝子断片である。THC943866が腎臓細胞癌のマーカーとして利用できるかを調べた。THC943866の特異的増幅を可能とするオリゴヌクレオチド(配列番号82、83)をこの目的のために用いた。

【0292】

THC943866-特異的プライマー(配列番号82、83)を用いたRT-PCR 研究により、腎臓および(4/8)の調べた腎臓細胞癌組織診における選択的発現が示された(図15)。

【0293】

実施例15

FLJ21458の診断上および治療上癌標的としての同定

FLJ21458 (配列番号84)およびその推定翻訳産物(配列番号85)はGenbank に登録番号.N M_034850として公表されている。配列分析により、該タンパク質が新規なブチロフィリンファミリーのメンバーを表すことが明らかとなった。構造分析によりそれは1つの細胞外免疫グロブリンドメインを有する1型膜貫通タンパク質であることが明らかとなった。FLJ21458の特異的増幅を可能とするオリゴヌクレオチド(配列番号86、87)を発現の調査に用

いた。FLJ21458-特異的プライマー(配列番号86、87)によるRT-PCR 研究は、結腸および(7/10)の調べた結腸癌組織診における選択的発現を示した(図16、表5)。特異的プライマー(配列番号133、134)を用いた定量的 RT-PCRにより、選択的発現プロファイルが確認された(図39)。さらにこの実験において結腸、胃、直腸および盲腸におけるFLJ21458の胃腸-特異的検出および精巣における検出を行うことが可能であった。7/11の結腸転移サンプルも定量的 PCRにおいて陽性であった。FLJ21458-特異的発現はその他の腫瘍にも拡張され、タンパク質-特異的発現は胃、脾臓および肝臓腫瘍において検出可能であった(表5)。FLJ21458 タンパク質の検出用の抗体はウサギの免疫化によって産生した。以下のペプチドをこれら抗体の産生に用いた:

配列番号135: QWQVFQDPKPVQAL

配列番号136: AKWKGPQGQDLSTDS。

10

【0294】

FLJ21458-特異的反応は免疫蛍光において検出可能であった(図40)。抗体の特異性を確認するために、293 細胞をFLJ21458-GFP 融合タンパク質をコードするプラスミドでトランスフェクトした。特異性は一方でFLJ21458-特異的抗体を用いた共存研究により確認され、他方で自己蛍光性GFPにより確認された。2つの蛍光図の重ね合わせは、免疫血清が特異的にFLJ21458 タンパク質を認識することを明白に示した(図40a)。タンパク質の過剰発現により結果として得られた細胞染色は散在性であり、明白なタンパク質の局在化は出来なかった。このため、さらなる免疫蛍光実験をFLJ21458を内因的に発現する胃腫瘍特異的細胞株 Snu16を用いて行った(図41B)。細胞をFLJ21458-特異的抗血清および膜タンパク質 E-カドヘリンを認識するもう1つの抗体で染色した。FLJ21458-特異的抗体は少なくとも弱く細胞膜を染色し、したがってFLJ21458が細胞膜に局在することが証明された。

20

【0295】

バイオインフォマティクス研究により、FLJ21458によってコードされるタンパク質が細胞表面分子であり、免疫グロブリン超分子ドメインを有することが示された。この表面分子の選択的発現により、それは、腫瘍細胞の検出の診断方法および腫瘍細胞を排除する治療方法の開発のための良好な標的となる。

【0296】

胃癌および結腸癌におけるFLJ21458の高発現および高頻度によりこのタンパク質は本発明によると、非常に興味深い診断上および治療上のマーカーとなる。これには本発明によると、RT-PCRによる、血清、骨髄および尿における転移性腫瘍細胞の検出およびその他の器官における転移の検出が含まれる。さらに本発明によるとFLJ21458の細胞外ドメインを、モノクローナル抗体による免疫診断および治療のための標的構造として利用することが出来る。さらに本発明によるとFLJ21458を腫瘍特異的免疫応答(TおよびB細胞-媒介免疫応答)を誘導するワクチン(RNA、DNA、タンパク質、ペプチド)として用いることが出来る。これには、本発明によるとFLJ21458の生理活性を調節するいわゆる低分子化合物の開発が含まれ、胃腸腫瘍の治療に利用することが出来る。

30

【0297】

表5: 正常および腫瘍組織におけるFLJ21458 発現

【表 5】

正常組織	発現	腫瘍タイプ	発現
脳	-	結腸癌	7/10
小脳	-	膵臓癌	5/6
心筋	nd	食道癌	nd
骨格筋	-	胃癌	8/10
心筋	-	気管支癌	nd
胃	++	乳癌	nd
結腸	+++	卵巣癌	nd
膵臓	-	子宮内膜癌	nd
腎臓	-	ENT腫瘍	nd
肝臓	-	腎臓細胞癌	nd
精巣	++	前立腺癌	nd
胸腺	nd	結腸転移	7/11
乳房	nd	肝臓癌	5/8
卵巣	-		
子宮	-		
皮膚	-		
肺	-		
甲状腺	nd		
リンパ節	-		
脾臓	-		
PBMC	-		
副腎	nd		
食道	-		
小腸	-		
前立腺	-		

10

20

30

【図面の簡単な説明】

【0298】

【図1】図1は、結腸癌組織診におけるGPR35 mRNA発現である。

【図2】図2は、正常および腫瘍組織におけるGUCY2C mRNA発現の定量的PCR分析である。

【図3】図3は、腫瘍特異的GUCY2C スプライスバリエーションの同定である。

【図4】図4は、正常肺および肺癌における選択的SCGB3A発現である。

【図5】図5は、胃、食道、胃癌および膵臓癌におけるクローディン18A2.1発現である。

40

【図6】図6は、腎臓および腎臓細胞癌におけるSLC13A1発現である。

【図7】図7は、結腸、結腸癌および胃癌におけるCLCA1発現である。

【図8】図8は、結腸および結腸癌におけるFLJ21477発現である。

【図9】図9は、結腸および結腸癌におけるFLJ20694発現である。

【図10】図10は、胃、肺および肺癌におけるvon Ebner発現である。

【図11】図11は、胸腺、肺および肺癌におけるPlunc発現である。

【図12】図12は、肺、肺癌および甲状腺におけるSLC26A9発現である。

【図13】図13は、胃、卵巣、肺および肺癌におけるTHC1005163発現である。

【図14】図14は、腎臓および腎臓細胞癌におけるLOC134288発現である。

【図15】図15は、腎臓および腎臓細胞癌におけるTHC943866発現である。

【図16】図16は、結腸および結腸癌におけるFLJ21458発現である。

50

- 【図 1 7】図 1 7 は、GPR35の細胞内局在である。
- 【図 1 8】図 1 8 は、GPR35の定量的発現である。
- 【図 1 9】図 1 9 は、GUCY2Cの定量的発現である。
- 【図 2 0】図 2 0 は、SCGB3A2の定量的発現である。
- 【図 2 1】図 2 1 は、SCGB3A2-特異的抗体による免疫蛍光である。
- 【図 2 2】図 2 2 は、クローディン18 スプライスバリエーションの模式図である。
- 【図 2 3】図 2 3 は、クローディン-18、バリエーションA1の定量的発現である。
- 【図 2 4】図 2 4 は、クローディン18、バリエーション A2の定量的発現である。
- 【図 2 5】図 2 5 は、クローディン18A2-特異的抗体(細胞外ドメイン)の使用である。
- 【図 2 6】図 2 6 は、クローディン18A2-特異的抗体(細胞外ドメイン)の使用である。 10
- 【図 2 7】図 2 7 は、クローディン18のC-末端細胞外ドメインに対する抗体の使用である。
- 【図 2 8】図 2 8 は、クローディン18A1-特異的抗体の使用である。
- 【図 2 9】図 2 9 は、ウェスタンブロットにおけるクローディン18A2の検出である。
- 【図 3 0】図 3 0 は、胃および胃腫瘍からのサンプルでのクローディン18A2 ウェスタンブロットングである。
- 【図 3 1】図 3 1 は、肺腫瘍におけるクローディン18の発現である。
- 【図 3 2】図 3 2 は、胃腫瘍組織におけるクローディン18A2-特異的抗体を用いるクローディン18の免疫組織化学分析である。
- 【図 3 3】図 3 3 は、クローディン18-特異的ポリクローナル抗血清による胃-特異的 Snu 20
16 細胞の間接的免疫蛍光である。
- 【図 3 4】図 3 4 は、SLC13A1の定量的発現である。
- 【図 3 5】図 3 5 は、SLC13A1の細胞内局在である。
- 【図 3 6】図 3 6 は、CLCA1の定量的発現である。
- 【図 3 7】図 3 7 は、FLJ21477の定量的発現である。
- 【図 3 8】図 3 8 は、FLJ20694の定量的発現である。
- 【図 3 9】図 3 9 は、FLJ21458の定量的発現である。
- 【図 4 0】図 4 0 は、FLJ21458-特異的抗体による免疫蛍光である。
- 【図 4 1】図 4 1 は、配列である。
- 【配列表】 30

SEQUENCE LISTING

<110> Ganymed Pharmaceuticals AG

Sahin Dr., Ugur

Tureci Dr., Özlem

Koslowski Dr., Michael

<120> Differentiell in Tumoren exprimierte Genprodukte und deren Verwendung

10

<130> 342-4PCT

<150> DE 102 54 601.0

<151> 2002-11-22

<160> 137

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1

20

<211> 1875

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 1
 caggccagag tccagctgt cctggactct gctgtgggga agggctgatg caggtgtgga 60
 gtcaaatgtg ggtgcctcct gcagccgggt gccaggaggg gtggaggggc caccctgggc 120
 tttgtccggg agcctgggtct tccgctcctt gggctgacag gtgctgctgc ctctgagccc 180
 tccctgctaa gagctgtgtg ctgggtaagg ctgggtggcc tttgggctcc ctgtccagga 240
 tttgtgctct ggagggtagg gcttgctggg ctggggactg gaggggaacg tggagctcct 300
 tctgcctcct ttctgcccc atgacagcag gcagatccca ggagagaaga gctcaggaga 360
 tgggaagagg atctgtccag gggttagacc tcaaggggta cttggagttc ttacggcac 420
 ccatgctttc tttgaggagt tttgtgtttg tgggtgtggg gtcggggctc acctcctccc 480
 acatccctgc ccagaggtgg gcagagtggg ggcagtgcct tgctccccct gctcgtcttc 540
 tgctgacctc cggctccctg tgctgcccc ggaccatgaa tggcacctac aacacctgtg 600
 gctccagcga cctcacctgg cccccagcga tcaagctggg cttctacgcc tacttgggcg 660
 tcctgctggt gctaggcctg ctgctcaaca gcctggcgct ctgggtgttc tgctgccgca 720

30

tgcagcagtg gacggagacc cgcactctaca tgaccaacctt ggccggtggcc gacctctgcc 780
 tgctgtgcac cttgcccttc gtgtgtgact ccctgcgaga cacctcagac acgccgctgt 840
 gccagctctc ccagggcacc tacctgacca acaggtacat gagcatcagc ctggtcacgg 900
 ccatcgccgt ggaccgctat gtggccgtgc ggcacccgct gcgtgcccgcc gggctgcggt 960
 cccccaggca ggctgcggcc gtgtgcgagg tcctctgggt gctggtcatc ggctccctgg 1020
 tggctcgtg gctcctgggg attcaggagg gcggcttctg cttcaggagc acccggcaca 1080
 atttcaactc catggcgctt ccgctgtctg gattctacct gcccctggcc gtggtggtct 1140
 tctgtctcct gaagggtggt actgccctgg ccagaggcc acccaccgac gtggggcagg 1200
 cagaggccac ccgaagggt gcccgcatgg tctgggcca cctcctgggt ttcgtggtct 1260
 gcttcctgcc cctgcacgtg gggctgacag tgcgcctcgc agtgggctgg aacgcctgtg 1320
 ccctcctgga gacgatccgt cgcgccctgt acataaccag caagctctca gatgccaaact 1380
 gctgcctgga cgccatctgc tactactaca tggccaagga gttccaggag gcgtctgcac 1440
 tggccgtggc tcccagtgt aaggcccaca aaagccagga ctctctgtgc gtgaccctcg 1500
 cctaagaggc gtgtgttggg cgctgtgggc cagggtctcg gggctccggg aggtgctgcc 1560
 tgccagggga agctggaacc agtagcaagg agcccggtat cagccctgaa ctactgtgt 1620
 attctcttgg agccttgggt gggcagggac ggcccaggta cctgctctct tgggaagaga 1680
 gagggacagg gacaagggca agaggactga ggccagagca aggccaatgt cagagacccc 1740
 cgggatgggg cctcacactt gccaccccca gaaccagctc acctggccag agtgggttcc 1800
 tgctggccag ggtgcagcct tgatgacacc tgccgtgcc cctcggggct ggaataaaac 1860
 tccccacca gattc 1875

10

20

<210> 2
 <211> 3222
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 2
 atgaagacgt tgctgttggc cttggctttg tggcactgc tcttccagcc cgggtggctg 60
 tccttttagtt ccaggtgag tcagaactgc cacaatggca gctatgaaat cagcgtcctg 120
 atgatgggca actcagcctt tgagagccc ctgaaaaact tgggaagatgc ggtgaatgag 180
 gggctggaaa tagtgagagg acgtctgcaa aatgctggcc taaatgtgac tgtgaacgct 240
 actttcatgt attcggatgg tctgattcat aactcaggcg actgccggag tagcacctgt 300
 gaaggcctcg acctactcag gaaaatttca aatgcacaac ggatgggctg tgcctcata 360
 gggccctcat gtacatactc caccttccag atgtacctg acacagaatt gagctacccc 420
 atgatctcag ctggaagttt tggattgtca tgtgactata aagaaacctt aaccaggctg 480

30

atgtctccag ctagaaagtt gatgtacttc ttggttaact tttggaaaac caacgatctg 540
 cccttcaaaa cttattcctg gagcacttcg tatgtttaca agaattgtac agaaactgag 600
 gactgtttct ggtagcttaa tgctctggag gctagcgttt cctattttct ccacgaactc 660
 ggctttaagg tgggtttaag acaagataag gattttcagg atatcttaat ggaccacaac 720
 aggaaaagca atgtgattat tatgtgtggt ggtccagagt tcctctacaa gctgaagggt 780
 gaccgagcag tggctgaaga cattgtcatt attctagtgg atcttttcaa tgaccagtac 840
 ttggaggaca atgtcacagc cctgactat atgaaaaatg tcctgtttct gacgctgtct 900
 cctgggaatt cccttctaaa tagctctttc tccaggaatc tatcaccaac aaaacgagac 960
 tttgtcttg cctatttgaa tggaaacctg ctctttggac atatgctgaa gatattttct 1020
 gaaaatggag aaaatattac ccccccaaa ttgtctcatg ctttcaggaa tctcactttt 1080
 gaagggtatg acggtccagt gaccttggat gactgggggg atgttgacag taccatggtg 1140
 ctctgtata cctctgtgga caccaagaaa tacaagggtc ttttgaccta tgataccac 1200
 gtaaataaga cctatcctgt ggatatgagc cccacattca cttggaagaa ctctaaactt 1260
 cctaataata ttacaggccg gggccctcag atcctgatga ttgcagtctt caccctcact 1320
 ggagctgtgg tgctgtcct gctcgtcgt ctctgatgc tcagaaaata tagaaaagat 1380
 tatgaacttc gtcagaaaaa atgggtccac attcctcctg aaaatatctt tcctctggag 1440
 accaatgaga ccaatcatgt tagcctcaag atcgatgatg acaaaagacg agatacaatc 1500
 cagagactac gacagtgcaa atacgacaaa aagcgagtga ttctcaaaga tctcaagcac 1560
 aatgatggta atttactga aaaacagaag atagaattga acaagttgct tcagattgac 1620
 tattacaacc tgaccaagt ctacggcaca gtgaaacttg ataccatgat cttcggggtg 1680
 atagaatact gtgagagagg atccctccg gaagtittaa atgacacaat ttcctacct 1740
 gatggcacat tcatggattg ggagttaag atctctgtct tgtatgacat tgctaagga 1800
 atgtcatatc tgcactccag taagacagaa gtccatggc gcttgaaatc taccaactgc 1860
 gtagtgga gtagaatgg tggtaagatc actgattttg gctgcaattc cattttacct 1920
 ccaaaaaagg acctgtggac agctccagag cacctccgc aagccaacat ctctcagaaa 1980
 ggagatgtgt acagctatgg gatcatcgca caggagatca ttctgcgga agaaaccttc 2040
 tacactttga gctgtcggga ccggaatgag aagattttca gagtggaaaa ttccaatgga 2100
 atgaaacctc tccgccaga ttattcttg gaaacagcag aggaaaaaga gctagaagtg 2160
 tactacttg taaaaaactg ttgggaggaa gatccagaaa agagaccaga ttcaaaaaa 2220
 attgagacta cacttgccaa gatatttga cttttcatg accaaaaaaa tgaaagctat 2280
 atggatacct tgatccgacg tctacagcta tattctcgaa acctggaaca tctggtagag 2340
 gaaaggacac agctgtacaa ggcagagagg gacagggtg acagacttaa ctttatgttg 2400
 cttccaaggc tagtggtaaa gtctctgaag gagaagggt ttgtggagcc ggaactatat 2460
 gaggaagtta caatctactt cagtgcatt gtaggtttca ctactatctg caaatacagc 2520

10

20

30

acccccatgg aagtgggtga catgcttaat gacatctata agagttttga ccacattggt 2580
 gatcatcatg atgtctacaa ggtggaaacc atcgggtgatg cgtacatggt ggctagtgggt 2640
 ttgcctaaga gaaatggcaa tcggcatgca atagacattg ccaagatggc cttggaaatc 2700
 ctcagcttca tggggacctt tgagctggag catcttcctg gcctcccaat atggattcgc 2760
 attggagttc actctggtcc ctgtgctgct ggagttgtgg gaatcaagat gcctcgttat 2820
 tgtctatttg gagatacggc caacacagcc tctaggatgg aatccactgg cctccctttg 2880
 agaattcacg tgagtggctc caccatagcc atcctgaaga gaactgagtg ccagttcctt 2940
 tatgaagtga gaggagaaac atacttaaag ggaagaggaa atgagactac ctactggctg 3000
 actgggatga aggaccagaa attcaacctg ccaaccctc ctactgtgga gaatcaacag 3060
 cgtttgcag cagaattttc agacatgatt gccaaactctt tacagaaaag acaggcagca 3120
 gggataagaa gccaaaaacc cagacgggta gccagctata aaaaaggcac tctggaatac 3180
 ttgcagctga ataccacaga caaggagagc acctattttt aa 3222

<210> 3

<211> 336

<212> DNA

<213> Homo sapiens

10

<400> 3
 atgaagacgt tgctgttgga cttggctttg tggctactgc tcttcagcc cgggtggctg 60
 tccttttagtt ccaggtgag tcagaactgc cacaatggca gctatgaaat cagcgtcctg 120
 atgatgggca actcagcctt tgcaagccc ctgaaaaact tggagatgc ggtgaatgag 180
 gggctggaaa tagtgagagg acgtctgcaa aatgctggcc taaatgtgac tgtgaacgct 240
 actttcatgt attcggatgg tctgattcat aactcaggcg actgccggag tagcacctgt 300
 gaaggcctcg acctactcag gaaaatttca cttga 336

<210> 4

<211> 777

<212> DNA

<213> Homo sapiens

20

<400> 4
 atgaagacgt tgctgttgga cttggctttg tggctactgc tcttcagcc cgggtggctg 60
 tccttttagtt ccaggtgag tcagaactgc cacaatggca gctatgaaat cagcgtcctg 120
 atgatgggca actcagcctt tgcaagccc ctgaaaaact tggagatgc ggtgaatgag 180
 gggctggaaa tagtgagagg acgtctgcaa aatgctggcc taaatgtgac tgtgaacgct 240

30

actttcatgt attcggatgg tctgattcat aactcaggcg actgccggag tagcacctgt 300
 gaaggcctcg acctactcag gaaaatttca aatgcacaac ggatgggctg tgtcctcata 360
 gggccctcat gtacatactc caccttcag atgtacctg acacagaatt gagctacccc 420
 atgatctcag ctggaagttt tggattgtca tgtgactata aagaaacctt aaccaggctg 480
 atgtctccag ctgaaagtt gatgtacttc ttggttaact tttggaaaac caacgatctg 540
 cccitcaaaa cttattcctg gagcacttcg tatgtttaca agaatggtag agaaactgag 600
 gactgtttct ggtaccttaa tgctctggag gctagcggtt cctatttctc ccacgaactc 660
 ggctttaagg tgggtttaag acaagataag gagtttcagg atatcttaat ggaccacaac 720
 aggaaaagca atgtgaccag tacttggagg acaatgtcac agccctgac tatatga 777

10

<210> 5
 <211> 3213
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 5
 atgaagacgt tgctgttga cttggctttg tggctactgc tcttcagcc cgggtggctg 60
 tcctttagtt cccagggtgag tcagaactgc cacaatggca gctatgaaat cagcgctcctg 120
 atgatgggca actcagcctt tgcagagccc ctgaaaaact tggagatgc ggtgaatgag 180
 gggctggaaa tagtgagagg acgtctgcaa aatgctggcc taaatgtgac tgtgaacgct 240
 actttcatgt attcggatgg tctgattcat aactcaggcg actgccggag tagcacctgt 300
 gaaggcctcg acctactcag gaaaatttca aatgcacaac ggatgggctg tgtcctcata 360
 gggccctcat gtacatactc caccttcag atgtacctg acacagaatt gagctacccc 420
 atgatctcag ctggaagttt tggattgtca tgtgactata aagaaacctt aaccaggctg 480
 atgtctccag ctgaaagtt gatgtacttc ttggttaact tttggaaaac caacgatctg 540
 cccitcaaaa cttattcctg gagcacttcg tatgtttaca agaatggtag agaaactgag 600
 gactgtttct ggtaccttaa tgctctggag gctagcggtt cctatttctc ccacgaactc 660
 ggctttaagg tgggtttaag acaagataag gagtttcagg atatcttaat ggaccacaac 720
 aggaaaagca atgtgattat tatgtgtggg ggtccagagt tcctctacaa gctgaagggg 780
 gaccgagcag tggctgaaga cattgtcatt attctagtgg atcttttcaa tgaccagtac 840
 ttggaggaca atgtcacagc ccctgactat atgaaaaatg tccttgttct gacgctgtct 900
 cctgggaatt cctttctaaa tagctctttc tccaggaatc tatcaccaac aaaacgagac 960
 tttgtctttg cctatttgaa tggaaatcctg ctctttggac atatgctgaa gatatttctt 1020
 gaaaatggag aaaatattac caccctcaaa tttgtctatg ctttcaggaa tctcactttt 1080
 gaagggatg acggtccagt gaccttggat gactgggggg atgttgacag taccatgggtg 1140

20

30

cttctgtata cctctgtgga caccaagaaa tacaagggtt ttttgacctg tgataccac 1200
 gtaaataaga cctatcctgt ggatattgagc cccacattca cttggaagaa ctctaaactt 1260
 cctaatagata ttacaggccg gggccctcag atcctgatga ttgcagtcct caccctcact 1320
 ggagctgtgg tgctgtcctt gctcgtcgtc ctcctgatgc tcagaaaata tagaaaagat 1380
 tatgaacttc gtcagaaaaa atgggtccac attcctcctg aaaatatctt tcctctggag 1440
 accaatgaga ccaatcatgt tagcctcaag atcgatgatg acaaaagacg agatacaatc 1500
 cagagactac gacagtgcaa atacgacaaa aagcgagtga ttctcaaaga tctcaagcac 1560
 aatgatggta atttactga aaaacagaag atagaattga acaagattga ctattacaac 1620
 ctgaccaagt tctacggcac agtgaaactt gataccatga tcttcggggt gatagaatac 1680
 tgtgagagag gatccctccg ggaagtitta aatgacacaa tttcctacc tgatggcaca 1740
 ttcattggatt gggagtitta gatctctgtc ttgtatgaca ttgctaaggg aatgtcatat 1800
 ctgcactcca gtaagacaga agtccatggt cgtctgaaat ctaccaactg cgtagtggac 1860
 agtagaatgg tggatgaagat cactgatttt ggctgcaatt ccattttacc tccaaaaaag 1920
 gacctgtgga cagctccaga gcacctccgc caagccaaca tctctcagaa aggagatgtg 1980
 tacagctatg ggatcatcgc acaggagatc attctgcgga aagaaacctt ctacactttg 2040
 agctgtcggg accggaatga gaagattttc agagtggaaa attccaatgg aatgaaaccc 2100
 ttccgcccag atttattctt ggaaacagca gaggaaaaag agctagaagt gtacctactt 2160
 gtaaaaaact gttgggagga agatccagaa aagagaccag atttcaaaaa aattgagact 2220
 acacttgcca agatatttgg actttttcat gacaaaaaa atgaaagcta tatggatacc 2280
 ttgatccgac gtctacagct atattctcga aacctggaac atctggtaga ggaaaggaca 2340
 cagctgtaca aggcagagag ggacagggct gacagactta actttatgtt gcttccaagg 2400
 ctagtggtta agtctctgaa ggagaaaggc tttgtggagc cggaactata tgaggaagtt 2460
 acaatctact tcagtgcatt tgtaggtttc actactatct gcaatacag ccccccatg 2520
 gaagtgggtg acatgcttaa tgacatctat aagagttttg accacattgt tgatcatcat 2580
 gatgtctaca aggtggaac catcgggtgat gcgtacatgg tggctagtgg tttgcctaag 2640
 agaaatggca atcggcatgc aatagacatt gccaagatgg ccttggaat cctcagcttc 2700
 atggggacct ttgagctgga gcatcttcct ggcctcccaa tatggattcg cattggagtt 2760
 cactctggtc cctgtgctgc tggagtgtg ggaatcaaga tgccctcgta ttgtctattt 2820
 ggagatacgg tcaacacagc ctctaggatg gaatccactg gcctcccttt gagaattcac 2880
 gtgagtggct ccacatagc catcctgaag agaactgagt gccagttcct ttatgaagtg 2940
 agaggagaaa catacttaa gggagagga aatgagacta cctactggct gactgggatg 3000
 aaggaccaga aattcaacct gccaacctt cctactgtgg agaataca gcgtttgcaa 3060
 gcagaatttt cagacatgat tgccaactct ttacagaaaa gacaggcagc agggataaga 3120
 agccaaaaac ccagacgggt agccagctat aaaaaaggca ctctggaata cttgcagctg 3180

10

20

30

aataccacag acaaggagag cacctatattt taa

3213

<210> 6
 <211> 550
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 6
 ggggacactt tgtatggcaa gtggaaccac tggcttggtg gatatttgcta gatattttctg 60
 atttttaaac tcctgaaaaa tatcccagat aactgtcatg aagctggtaa ctatcttcct 120
 gctggtgacc atcagccttt gtagttactc tgctactgcc ttcctcatca acaaagtgcc 180
 ccttcctggt gacaagtgg cacctttacc tctggacaac attcttcctt ttatggatcc 240
 attaaagctt cttctgaaaa ctctgggcat ttctgttgag caccttggtg aggggctaag 300
 gaagtgtgta aatgagctgg gaccagaggc ttctgaagct gtgaagaaac tgctggaggc 360
 gctatcacac ttggtgtgac atcaagataa agagcggagg tggatgggga tggaagatga 420
 tgctcctatc ctccctgcct gaaacctgtt ctaccaatta tagatcaaat gccctaaaat 480
 gtagtgaccc gtgaaaagga caaataaagc aatgaatact aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 540
 aaaaaaaaaa 550

10

<210> 7
 <211> 786
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

20

<400> 7
 atggccgtga ctgcctgtca gggcttgggg ttctgtggtt cactgattgg gattgcgggc 60
 atcattgctg ccacctgcat ggaccagtgg agcacccaag acttgtacaa caaccccgta 120
 acagctgttt tcaactacca ggggctgtgg cgctcctgtg tccgagagag ctctggcttc 180
 accgagtgcc ggggctactt caccctgctg gggctgccag ccatgctgca ggcagtgcga 240
 gccctgatga tcgtaggcat cgtcctgggt gccattggcc tcctgggtatc catctttgcc 300
 ctgaaatgca tccgcattgg cagcatggag gactctgcca aagccaacat gacactgacc 360
 tccgggatca tgttcattgt ctcaggctctt tgtgcaattg ctggagtgtc tgtgtttgcc 420
 aacatgctgg tgactaactt ctggatgtcc acagctaaca tgtacaccgg catgggtggg 480
 atggtgcaga ctgttcagac caggtaaca tttggtgcgg ctctgttcgt gggctgggtc 540
 gctggaggcc tcacactaat tgggggtgtg atgatgtgca tcgcctgccg gggcctggca 600
 ccagaagaaa ccaactacaa agccgtttct tatcatgcct caggccacag tgttgcttac 660
 aagcctggag gcttcaaggc cagcactggc tttgggtcca acacaaaaa caagaagata 720
 tacgatggag gtgcccgcac agaggacgag gtacaatctt atccttccaa gcacgactat 780

30

40

gtgtaa

786

<210> 8

<211> 180

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 8

tgcgccacca tggccgtgac tgcctgtcag ggcttgggggt tcgtgggttc actgattggg 60

10

attgcgggca tcattgctgc cacctgcatg gaccagtggg gcacccaaga ctgtacaac 120

aaccctgtaa cagctgtttt caactaccag gggctgtggc gctcctgtgt ccgagagagc 180

<210> 9

<211> 309

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 9

Met Asn Gly Thr Tyr Asn Thr Cys Gly Ser Ser Asp Leu Thr Trp Pro
1 5 10 15

20

Pro Ala Ile Lys Leu Gly Phe Tyr Ala Tyr Leu Gly Val Leu Leu Val
20 25 30Leu Gly Leu Leu Leu Asn Ser Leu Ala Leu Trp Val Phe Cys Cys Arg
35 40 45Met Gln Gln Trp Thr Glu Thr Arg Ile Tyr Met Thr Asn Leu Ala Val
50 55 60Ala Asp Leu Cys Leu Leu Cys Thr Leu Pro Phe Val Leu His Ser Leu
65 70 75 80

30

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

40

Ile Gly Ser Leu Val Ala Arg Trp Leu Leu Gly Ile Gln Glu Gly Gly
145 150 155 160

Phe Cys Phe Arg Ser Thr Arg His Asn Phe Asn Ser Met Arg Phe Pro
165 170 175

Leu Leu Gly Phe Tyr Leu Pro Leu Ala Val Val Val Phe Cys Ser Leu
180 185 190

Lys Val Val Thr Ala Leu Ala Gln Arg Pro Pro Thr Asp Val Gly Gln
195 200 205

Ala Glu Ala Thr Arg Lys Ala Ala Arg Met Val Trp Ala Asn Leu Leu
210 215 220

Val Phe Val Val Cys Phe Leu Pro Leu His Val Gly Leu Thr Val Arg
225 230 235 240

Leu Ala Val Gly Trp Asn Ala Cys Ala Leu Leu Glu Thr Ile Arg Arg
245 250 255

Ala Leu Tyr Ile Thr Ser Lys Leu Ser Asp Ala Asn Cys Cys Leu Asp
260 265 270

Ala Ile Cys Tyr Tyr Tyr Met Ala Lys Glu Phe Gln Glu Ala Ser Ala
275 280 285

Leu Ala Val Ala Pro Arg Ala Lys Ala His Lys Ser Gln Asp Ser Leu
290 295 300

Cys Val Thr Leu Ala
305

<210> 10

<211> 394

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 10

Met Thr Ala Gly Arg Ser Gln Glu Arg Arg Ala Gln Glu Met Gly Arg
1 5 10 15

Gly Ser Val Gln Gly Leu Asp Leu Lys Gly Asp Leu Glu Phe Phe Thr
20 25 30

Ala Pro Met Leu Ser Leu Arg Ser Phe Val Phe Val Gly Val Gly Ser
35 40 45

10

20

30

40

Gly Leu Thr Ser Ser His Ile Pro Ala Gln Arg Trp Ala Glu Trp Gly
50 55 60

Gln Cys Leu Ala Pro Pro Ala Arg Ser Leu Leu Thr Ser Gly Ser Leu
65 70 75 80

Cys Cys Pro Arg Thr Met Asn Gly Thr Tyr Asn Thr Cys Gly Ser Ser
85 90 95

Asp Leu Thr Trp Pro Pro Ala Ile Lys Leu Gly Phe Tyr Ala Tyr Leu
100 105 110

10

Gly Val Leu Leu Val Leu Gly Leu Leu Leu Asn Ser Leu Ala Leu Trp
115 120 125

Val Phe Cys Cys Arg Met Gln Gln Trp Thr Glu Thr Arg Ile Tyr Met
130 135 140

Thr Asn Leu Ala Val Ala Asp Leu Cys Leu Leu Cys Thr Leu Pro Phe
145 150 155 160

Val Leu His Ser Leu Arg Asp Thr Ser Asp Thr Pro Leu Cys Gln Leu
165 170 175

Ser Gln Gly Ile Tyr Leu Thr Asn Arg Tyr Met Ser Ile Ser Leu Val
180 185 190

20

Thr Ala Ile Ala Val Asp Arg Tyr Val Ala Val Arg His Pro Leu Arg
195 200 205

Ala Arg Gly Leu Arg Ser Pro Arg Gln Ala Ala Ala Val Cys Ala Val
210 215 220

Leu Trp Val Leu Val Ile Gly Ser Leu Val Ala Arg Trp Leu Leu Gly
225 230 235 240

Ile Gln Glu Gly Gly Phe Cys Phe Arg Ser Thr Arg His Asn Phe Asn
245 250 255

30

Ser Met Ala Phe Pro Leu Leu Gly Phe Tyr Leu Pro Leu Ala Val Val
260 265 270

Val Phe Cys Ser Leu Lys Val Val Thr Ala Leu Ala Gln Arg Pro Pro
275 280 285

Thr Asp Val Gly Gln Ala Glu Ala Thr Arg Lys Ala Ala Arg Met Val
290 295 300

Trp Ala Asn Leu Leu Val Phe Val Val Cys Phe Leu Pro Leu His Val
305 310 315 320

40

Gly Leu Thr Val Arg Leu Ala Val Gly Trp Asn Ala Cys Ala Leu Leu
325 330 335

Glu Thr Ile Arg Arg Ala Leu Tyr Ile Thr Ser Lys Leu Ser Asp Ala
340 345 350

Asn Cys Cys Leu Asp Ala Ile Cys Tyr Tyr Tyr Met Ala Lys Glu Phe
355 360 365

Gln Glu Ala Ser Ala Leu Ala Val Ala Pro Ser Ala Lys Ala His Lys
370 375 380

Ser Gln Asp Ser Leu Cys Val Thr Leu Ala
385 390

<210> 11

<211> 1073

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 11

Met Lys Thr Leu Leu Leu Asp Leu Ala Leu Trp Ser Leu Leu Phe Gln
1 5 10 15

Pro Gly Trp Leu Ser Phe Ser Ser Gln Val Ser Gln Asn Cys His Asn
20 25 30

Gly Ser Tyr Glu Ile Ser Val Leu Met Met Gly Asn Ser Ala Phe Ala
35 40 45

Glu Pro Leu Lys Asn Leu Glu Asp Ala Val Asn Glu Gly Leu Glu Ile
50 55 60

Val Arg Gly Arg Leu Gln Asn Ala Gly Leu Asn Val Thr Val Asn Ala
65 70 75 80

Thr Phe Met Tyr Ser Asp Gly Leu Ile His Asn Ser Gly Asp Cys Arg
85 90 95

Ser Ser Thr Cys Glu Gly Leu Asp Leu Leu Arg Lys Ile Ser Asn Ala
100 105 110

Gln Arg Met Gly Cys Val Leu Ile Gly Pro Ser Cys Thr Tyr Ser Thr
115 120 125

Phe Gln Met Tyr Leu Asp Thr Glu Leu Ser Tyr Pro Met Ile Ser Ala
130 135 140

10

20

30

40

Gly Ser Phe Gly Leu Ser Cys Asp Tyr Lys Glu Thr Leu Thr Arg Leu
145 150 155 160

Met Ser Pro Ala Arg Lys Leu Met Tyr Phe Leu Val Asn Phe Trp Lys
165 170 175

Thr Asn Asp Leu Pro Phe Lys Thr Tyr Ser Trp Ser Thr Ser Tyr Val
180 185 190

Tyr Lys Asn Gly Thr Glu Thr Glu Asp Cys Phe Trp Tyr Leu Asn Ala
195 200 205

Leu Glu Ala Ser Val Ser Tyr Phe Ser His Glu Leu Gly Phe Lys Val
210 215 220

Val Leu Arg Gln Asp Lys Glu Phe Gln Asp Ile Leu Met Asp His Asn
225 230 235 240

Arg Lys Ser Asn Val Ile Ile Met Cys Gly Gly Pro Glu Phe Leu Tyr
245 250 255

Lys Leu Lys Gly Asp Arg Ala Val Ala Glu Asp Ile Val Ile Ile Leu
260 265 270

Val Asp Leu Phe Asn Asp Gln Tyr Leu Glu Asp Asn Val Thr Ala Pro
275 280 285

Asp Tyr Met Lys Asn Val Leu Val Leu Thr Leu Ser Pro Gly Asn Ser
290 295 300

Leu Leu Asn Ser Ser Phe Ser Arg Asn Leu Ser Pro Thr Lys Arg Asp
305 310 315 320

Phe Ala Leu Ala Tyr Leu Asn Gly Ile Leu Leu Phe Gly His Met Leu
325 330 335

Lys Ile Phe Leu Glu Asn Gly Glu Asn Ile Thr Thr Pro Lys Phe Ala
340 345 350

His Ala Phe Arg Asn Leu Thr Phe Glu Gly Tyr Asp Gly Pro Val Thr
355 360 365

Leu Asp Asp Trp Gly Asp Val Asp Ser Thr Met Val Leu Leu Tyr Thr
370 375 380

Ser Val Asp Thr Lys Lys Tyr Lys Val Leu Leu Thr Tyr Asp Thr His
385 390 395 400

Val Asn Lys Thr Tyr Pro Val Asp Met Ser Pro Thr Phe Thr Trp Lys
405 410 415

10

20

30

40

Asn Ser Lys Leu Pro Asn Asp Ile Thr Gly Arg Gly Pro Gln Ile Leu
 420 425 430
 Met Ile Ala Val Phe Thr Leu Thr Gly Ala Val Val Leu Leu Leu
 435 440 445
 Val Ala Leu Leu Met Leu Arg Lys Tyr Arg Lys Asp Tyr Glu Leu Arg
 450 455 460
 Gln Lys Lys Trp Ser His Ile Pro Pro Glu Asn Ile Phe Pro Leu Glu
 465 470 475 480
 Thr Asn Glu Thr Asn His Val Ser Leu Lys Ile Asp Asp Asp Lys Arg
 485 490 495
 Arg Asp Thr Ile Gln Arg Leu Arg Gln Cys Lys Tyr Asp Lys Lys Arg
 500 505 510
 Val Ile Leu Lys Asp Leu Lys His Asn Asp Gly Asn Phe Thr Glu Lys
 515 520 525
 Gln Lys Ile Glu Leu Asn Lys Leu Leu Gln Ile Asp Tyr Tyr Asn Leu
 530 535 540
 Thr Lys Phe Tyr Gly Thr Val Lys Leu Asp Thr Met Ile Phe Gly Val
 545 550 555 560
 Ile Glu Tyr Cys Glu Arg Gly Ser Leu Arg Glu Val Leu Asn Asp Thr
 565 570 575
 Ile Ser Tyr Pro Asp Gly Thr Phe Met Asp Trp Glu Phe Lys Ile Ser
 580 585 590
 Val Leu Tyr Asp Ile Ala Lys Gly Met Ser Tyr Leu His Ser Ser Lys
 595 600 605
 Thr Glu Val His Gly Arg Leu Lys Ser Thr Asn Cys Val Val Asp Ser
 610 615 620
 Arg Met Val Val Lys Ile Thr Asp Phe Gly Cys Asn Ser Ile Leu Pro
 625 630 635 640
 Pro Lys Lys Asp Leu Trp Thr Ala Pro Glu His Leu Arg Gln Ala Asn
 645 650 655
 Ile Ser Gln Lys Gly Asp Val Tyr Ser Tyr Gly Ile Ile Ala Gln Glu
 660 665 670
 Ile Ile Leu Arg Lys Glu Thr Phe Tyr Thr Leu Ser Cys Arg Asp Arg
 675 680 685

10

20

30

40

Asn Glu Lys Ile Phe Arg Val Glu Asn Ser Asn Gly Met Lys Pro Phe
690 695 700

Arg Pro Asp Leu Phe Leu Glu Thr Ala Glu Glu Lys Glu Leu Glu Val
705 710 715 720

Tyr Leu Leu Val Lys Asn Cys Trp Glu Glu Asp Pro Glu Lys Arg Pro
725 730 735

Asp Phe Lys Lys Ile Glu Thr Thr Leu Ala Lys Ile Phe Gly Leu Phe
740 745 750

His Asp Gln Lys Asn Glu Ser Tyr Met Asp Thr Leu Ile Arg Arg Leu
755 760 765

Gln Leu Tyr Ser Arg Asn Leu Glu His Leu Val Glu Glu Arg Thr Gln
770 775 780

Leu Tyr Lys Ala Glu Arg Asp Arg Ala Asp Arg Leu Asn Phe Met Leu
785 790 795 800

Leu Pro Arg Leu Val Val Lys Ser Leu Lys Glu Lys Gly Phe Val Glu
805 810 815

Pro Glu Leu Tyr Glu Glu Val Thr Ile Tyr Phe Ser Asp Ile Val Gly
820 825 830

Phe Thr Thr Ile Cys Lys Tyr Ser Thr Pro Met Glu Val Val Asp Met
835 840 845

Leu Asn Asp Ile Tyr Lys Ser Phe Asp His Ile Val Asp His His Asp
850 855 860

Val Tyr Lys Val Glu Thr Ile Gly Asp Ala Tyr Met Val Ala Ser Gly
865 870 875 880

Leu Pro Lys Arg Asn Gly Asn Arg His Ala Ile Asp Ile Ala Lys Met
885 890 895

Ala Leu Glu Ile Leu Ser Phe Met Gly Thr Phe Glu Leu Glu His Leu
900 905 910

Pro Gly Leu Pro Ile Trp Ile Arg Ile Gly Val His Ser Gly Pro Cys
915 920 925

Ala Ala Gly Val Val Gly Ile Lys Met Pro Arg Tyr Cys Leu Phe Gly
930 935 940

Asp Thr Val Asn Thr Ala Ser Arg Met Glu Ser Thr Gly Leu Pro Leu
945 950 955 960

10

20

30

40

Arg Ile His Val Ser Gly Ser Thr Ile Ala Ile Leu Lys Arg Thr Glu
 965 970 975

Cys Gln Phe Leu Tyr Glu Val Arg Gly Glu Thr Tyr Leu Lys Gly Arg
 980 985 990

Gly Asn Glu Thr Thr Tyr Trp Leu Thr Gly Met Lys Asp Gln Lys Phe
 995 1000 1005

Asn Leu Pro Thr Pro Pro Thr Val Glu Asn Gln Gln Arg Leu Gln
 1010 1015 1020

Ala Glu Phe Ser Asp Met Ile Ala Asn Ser Leu Gln Lys Arg Gln
 1025 1030 1035

Ala Ala Gly Ile Arg Ser Gln Lys Pro Arg Arg Val Ala Ser Tyr
 1040 1045 1050

Lys Lys Gly Thr Leu Glu Tyr Leu Gln Leu Asn Thr Thr Asp Lys
 1055 1060 1065

Glu Ser Thr Tyr Phe
 1070

<210> 12

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 12

Met Lys Thr Leu Leu Leu Asp Leu Ala Leu Trp Ser Leu Leu Phe Gln
 1 5 10 15

Pro Gly Trp Leu Ser Phe Ser Ser Gln Val Ser Gln Asn Cys His Asn
 20 25 30

Gly Ser Tyr Glu Ile Ser Val Leu Met Met Gly Asn Ser Ala Phe Ala
 35 40 45

Glu Pro Leu Lys Asn Leu Glu Asp Ala Val Asn Glu Gly Leu Glu Ile
 50 55 60

Val Arg Gly Arg Leu Gln Asn Ala Gly Leu Asn Val Thr Val Asn Ala
 65 70 75 80

Thr Phe Met Tyr Ser Asp Gly Leu Ile His Asn Ser Gly Asp Cys Arg
 85 90 95

10

20

30

40

Ser Ser Thr Cys Glu Gly Leu Asp Leu Leu Arg Lys Ile Ser Pro
 100 105 110

<210> 13

<211> 258

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 13

10

Met Lys Thr Leu Leu Leu Asp Leu Ala Leu Trp Ser Leu Leu Phe Gln
 1 5 10 15

Pro Gly Trp Leu Ser Phe Ser Ser Gln Val Ser Gln Asn Cys His Asn
 20 25 30

Gly Ser Tyr Glu Ile Ser Val Leu Met Met Gly Asn Ser Ala Phe Ala
 35 40 45

Glu Pro Leu Lys Asn Leu Glu Asp Ala Val Asn Glu Gly Leu Glu Ile
 50 55 60

Val Arg Gly Arg Leu Gln Asn Ala Gly Leu Asn Val Thr Val Asn Ala
 65 70 75 80

20

Thr Phe Met Tyr Ser Asp Gly Leu Ile His Asn Ser Gly Asp Cys Arg
 85 90 95

Ser Ser Thr Cys Glu Gly Leu Asp Leu Leu Arg Lys Ile Ser Asn Ala
 100 105 110

Gln Arg Met Gly Cys Val Leu Ile Gly Pro Ser Cys Thr Tyr Ser Thr
 115 120 125

Phe Gln Met Tyr Leu Asp Thr Glu Leu Ser Tyr Pro Met Ile Ser Ala
 130 135 140

30

Gly Ser Phe Gly Leu Ser Cys Asp Tyr Lys Glu Thr Leu Thr Arg Leu
 145 150 155 160

Met Ser Pro Ala Arg Lys Leu Met Tyr Phe Leu Val Asn Phe Trp Lys
 165 170 175

Thr Asn Asp Leu Pro Phe Lys Thr Tyr Ser Trp Ser Thr Ser Tyr Val
 180 185 190

Tyr Lys Asn Gly Thr Glu Thr Glu Asp Cys Phe Trp Tyr Leu Asn Ala
 195 200 205

40

Leu Glu Ala Ser Val Ser Tyr Phe Ser His Glu Leu Gly Phe Lys Val
210 215 220

Val Leu Arg Gln Asp Lys Glu Phe Gln Asp Ile Leu Met Asp His Asn
225 230 235 240

Arg Lys Ser Asn Val Thr Ser Thr Trp Arg Thr Met Ser Gln Pro Leu
245 250 255

Thr Ile

10

<210> 14

<211> 1070

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 14

Met Lys Thr Leu Leu Leu Asp Leu Ala Leu Trp Ser Leu Leu Phe Gln
1 5 10 15

Pro Gly Trp Leu Ser Phe Ser Ser Gln Val Ser Gln Asn Cys His Asn
20 25 30

20

Gly Ser Tyr Glu Ile Ser Val Leu Met Met Gly Asn Ser Ala Phe Ala
35 40 45

Glu Pro Leu Lys Asn Leu Glu Asp Ala Val Asn Glu Gly Leu Glu Ile
50 55 60

Val Arg Gly Arg Leu Gln Asn Ala Gly Leu Asn Val Thr Val Asn Ala
65 70 75 80

Thr Phe Met Tyr Ser Asp Gly Leu Ile His Asn Ser Gly Asp Cys Arg
85 90 95

30

Ser Ser Thr Cys Glu Gly Leu Asp Leu Leu Arg Lys Ile Ser Asn Ala
100 105 110

Gln Arg Met Gly Cys Val Leu Ile Gly Pro Ser Cys Thr Tyr Ser Thr
115 120 125

Phe Gln Met Tyr Leu Asp Thr Glu Leu Ser Tyr Pro Met Ile Ser Ala
130 135 140

Gly Ser Phe Gly Leu Ser Cys Asp Tyr Lys Glu Thr Leu Thr Arg Leu
145 150 155 160

40

Met Ser Pro Ala Arg Lys Leu Met Tyr Phe Leu Val Asn Phe Trp Lys
 165 170 175
 Thr Asn Asp Leu Pro Phe Lys Thr Tyr Ser Trp Ser Thr Ser Tyr Val
 180 185 190
 Tyr Lys Asn Gly Thr Glu Thr Glu Asp Cys Phe Trp Tyr Leu Asn Ala
 195 200 205
 Leu Glu Ala Ser Val Ser Tyr Phe Ser His Glu Leu Gly Phe Lys Val
 210 215 220
 Val Leu Arg Gln Asp Lys Glu Phe Gln Asp Ile Leu Met Asp His Asn
 225 230 235 240
 Arg Lys Ser Asn Val Ile Ile Met Cys Gly Gly Pro Glu Phe Leu Tyr
 245 250 255
 Lys Leu Lys Gly Asp Arg Ala Val Ala Glu Asp Ile Val Ile Ile Leu
 260 265 270
 Val Asp Leu Phe Asn Asp Gln Tyr Leu Glu Asp Asn Val Thr Ala Pro
 275 280 285
 Asp Tyr Met Lys Asn Val Leu Val Leu Thr Leu Ser Pro Gly Asn Ser
 290 295 300
 Leu Leu Asn Ser Ser Phe Ser Arg Asn Leu Ser Pro Thr Lys Arg Asp
 305 310 315 320
 Phe Ala Leu Ala Tyr Leu Asn Gly Ile Leu Leu Phe Gly His Met Leu
 325 330 335
 Lys Ile Phe Leu Glu Asn Gly Glu Asn Ile Thr Thr Pro Lys Phe Ala
 340 345 350
 His Ala Phe Arg Asn Leu Thr Phe Glu Gly Tyr Asp Gly Pro Val Thr
 355 360 365
 Leu Asp Asp Trp Gly Asp Val Asp Ser Thr Met Val Leu Leu Tyr Thr
 370 375 380
 Ser Val Asp Thr Lys Lys Tyr Lys Val Leu Leu Thr Tyr Asp Thr His
 385 390 395 400
 Val Asn Lys Thr Tyr Pro Val Asp Met Ser Pro Thr Phe Thr Trp Lys
 405 410 415
 Asn Ser Lys Leu Pro Asn Asp Ile Thr Gly Arg Gly Pro Gln Ile Leu
 420 425 430

10

20

30

40

Met Ile Ala Val Phe Thr Leu Thr Gly Ala Val Val Leu Leu Leu Leu
435 440 445

Val Ala Leu Leu Met Leu Arg Lys Tyr Arg Lys Asp Tyr Glu Leu Arg
450 455 460

Gln Lys Lys Trp Ser His Ile Pro Pro Glu Asn Ile Phe Pro Leu Glu
465 470 475 480

Thr Asn Glu Thr Asn His Val Ser Leu Lys Ile Asp Asp Asp Lys Arg
485 490 495

Arg Asp Thr Ile Gln Arg Leu Arg Gln Cys Lys Tyr Asp Lys Lys Arg
500 505 510

Val Ile Leu Lys Asp Leu Lys His Asn Asp Gly Asn Phe Thr Glu Lys
515 520 525

Gln Lys Ile Glu Leu Asn Lys Ile Asp Tyr Tyr Asn Leu Thr Lys Phe
530 535 540

Tyr Gly Thr Val Lys Leu Asp Thr Met Ile Phe Gly Val Ile Glu Tyr
545 550 555 560

Cys Glu Arg Gly Ser Leu Arg Glu Val Leu Asn Asp Thr Ile Ser Tyr
565 570 575

Pro Asp Gly Thr Phe Met Asp Trp Glu Phe Lys Ile Ser Val Leu Tyr
580 585 590

Asp Ile Ala Lys Gly Met Ser Tyr Leu His Ser Ser Lys Thr Glu Val
595 600 605

His Gly Arg Leu Lys Ser Thr Asn Cys Val Val Asp Ser Arg Met Val
610 615 620

Val Lys Ile Thr Asp Phe Gly Cys Asn Ser Ile Leu Pro Pro Lys Lys
625 630 635 640

Asp Leu Trp Thr Ala Pro Glu His Leu Arg Gln Ala Asn Ile Ser Gln
645 650 655

Lys Gly Asp Val Tyr Ser Tyr Gly Ile Ile Ala Gln Glu Ile Ile Leu
660 665 670

Arg Lys Glu Thr Phe Tyr Thr Leu Ser Cys Arg Asp Arg Asn Glu Lys
675 680 685

Ile Phe Arg Val Glu Asn Ser Asn Gly Met Lys Pro Phe Arg Pro Asp
690 695 700

10

20

30

40

Leu Phe Leu Glu Thr Ala Glu Glu Lys Glu Leu Glu Val Tyr Leu Leu
 705 710 715 720
 Val Lys Asn Cys Trp Glu Glu Asp Pro Glu Lys Arg Pro Asp Phe Lys
 725 730 735
 Lys Ile Glu Thr Thr Leu Ala Lys Ile Phe Gly Leu Phe His Asp Gln
 740 745 750
 Lys Asn Glu Ser Tyr Met Asp Thr Leu Ile Arg Arg Leu Gln Leu Tyr
 755 760 765
 Ser Arg Asn Leu Glu His Leu Val Glu Glu Arg Thr Gln Leu Tyr Lys
 770 775 780
 Ala Glu Arg Asp Arg Ala Asp Arg Leu Asn Phe Met Leu Leu Pro Arg
 785 790 795 800
 Leu Val Val Lys Ser Leu Lys Glu Lys Gly Phe Val Glu Pro Glu Leu
 805 810 815
 Tyr Glu Glu Val Thr Ile Tyr Phe Ser Asp Ile Val Gly Phe Thr Thr
 820 825 830
 Ile Cys Lys Tyr Ser Thr Pro Met Glu Val Val Asp Met Leu Asn Asp
 835 840 845
 Ile Tyr Lys Ser Phe Asp His Ile Val Asp His His Asp Val Tyr Lys
 850 855 860
 Val Glu Thr Ile Gly Asp Ala Tyr Met Val Ala Ser Gly Leu Pro Lys
 865 870 875 880
 Arg Asn Gly Asn Arg His Ala Ile Asp Ile Ala Lys Met Ala Leu Glu
 885 890 895
 Ile Leu Ser Phe Met Gly Thr Phe Glu Leu Glu His Leu Pro Gly Leu
 900 905 910
 Pro Ile Trp Ile Arg Ile Gly Val His Ser Gly Pro Cys Ala Ala Gly
 915 920 925
 Val Val Gly Ile Lys Met Pro Arg Tyr Cys Leu Phe Gly Asp Thr Val
 930 935 940
 Asn Thr Ala Ser Arg Met Glu Ser Thr Gly Leu Pro Leu Arg Ile His
 945 950 955 960
 Val Ser Gly Ser Thr Ile Ala Ile Leu Lys Arg Thr Glu Cys Gln Phe
 965 970 975

10

20

30

40

Leu Tyr Glu Val Arg Gly Glu Thr Tyr Leu Lys Gly Arg Gly Asn Glu
 980 985 990

Thr Thr Tyr Trp Leu Thr Gly Met Lys Asp Gln Lys Phe Asn Leu Pro
 995 1000 1005

Thr Pro Pro Thr Val Glu Asn Gln Gln Arg Leu Gln Ala Glu Phe
 1010 1015 1020

Ser Asp Met Ile Ala Asn Ser Leu Gln Lys Arg Gln Ala Ala Gly
 1025 1030 1035

Ile Arg Ser Gln Lys Pro Arg Arg Val Ala Ser Tyr Lys Lys Gly
 1040 1045 1050

Thr Leu Glu Tyr Leu Gln Leu Asn Thr Thr Asp Lys Glu Ser Thr
 1055 1060 1065

Tyr Phe
 1070

<210> 15

<211> 93

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 15

Met Lys Leu Val Thr Ile Phe Leu Leu Val Thr Ile Ser Leu Cys Ser
 1 5 10 15

Tyr Ser Ala Thr Ala Lys Leu Ile Asn Lys Cys Pro Leu Pro Val Asp
 20 25 30

Lys Leu Ala Pro Leu Pro Leu Asp Asn Ile Leu Pro Phe Met Asp Pro
 35 40 45

Leu Lys Leu Leu Lys Thr Leu Gly Ile Ser Val Glu His Leu Val
 50 55 60

Glu Gly Leu Arg Lys Cys Val Asn Glu Leu Gly Pro Glu Ala Ser Glu
 65 70 75 80

Ala Val Lys Lys Leu Leu Glu Ala Leu Ser His Leu Val
 85 90

<210> 16

10

20

30

40

<211> 261

<212> PRT

<213> , Homo sapiens

<400> 16

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

10

20

30

40

Tyr Asp Gly Gly Ala Arg Thr Glu Asp Glu Val Gln Ser Tyr Pro Ser
 245 250 255

Lys His Asp Tyr Val
 260

<210> 17

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

10

<400> 17

Asp Gln Trp Ser Thr Gln Asp Leu Tyr Asn
 1 5 10

<210> 18

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

20

<400> 18

Asn Asn Pro Val Thr Ala Val Phe Asn Tyr Gln
 1 5 10

<210> 19

<211> 47

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 19

Met Ala Val Thr Ala Cys Gln Gly Leu Gly Phe Val Val Ser Leu Ile
 1 5 10 15

Gly Ile Ala Gly Ile Ile Ala Ala Thr Cys Met Asp Gln Trp Ser Thr
 20 25 30

Gln Asp Leu Tyr Asn Asn Pro Val Thr Ala Val Phe Asn Tyr Gln
 35 40 45

<210> 20

40

<211> 21
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz
 <220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 20
 aggtacatga gcatcagcct g 21

<210> 21 10
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 21
 gcagcagttg gcatctgaga g 21

<210> 22 20
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 22
 gcaatagaca ttgccaagat g 21

<210> 23 30
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 23
 aacgctgttg attctccaca g 21

<210> 24
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

 <220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

 <400> 24 10
 ggatcctcct ttagttccca ggtgagtcag aac 33

 <210> 25
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

 <220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

 <400> 25 20
 tgctctggag gctagcggtt c 21

 <210> 26
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

 <220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

 <400> 26 30
 accaatcatg ttagcctcaa g 21

 <210> 27
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

 <220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 27
agctatggga tcatcgaca g

21

<210> 28

<211> 21

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

10

<400> 28
cctttgagct ggagcatctt c

21

<210> 29

<211> 21

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

20

<400> 29
ctttctagct ggagacatca g

21

<210> 30

<211> 21

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

30

<400> 30
caccatggta ctgtcaacat c

21

<210> 31

<211> 21

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

40

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 31

atgtcataca agacagagat c

21

<210> 32

<211> 21

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

10

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 32

tctgccttgt acagctgtgt c

21

<210> 33

<211> 21

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

20

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 33

tctgtggtat tcagctgcaa g

21

<210> 34

<211> 22

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

30

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 34

tactcaggaa aatttcacct tg

22

<210> 35

<211> 27

40

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 35

gaccacaaca ggaaaagcaa tgtgacc

27

<210> 36

<211> 22

10

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 36

gatagaattg aacaagattg ac

22

<210> 37

<211> 21

20

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 37

cagcctttgt agttactctg c

21

<210> 38

<211> 21

30

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 38

tgtcacacca agtgtgatag c

21

40

<210> 39

<211> 28

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 39

ggttcgtggt ttcactgatt gggattgc

28

10

<210> 40

<211> 27

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 40

cggcttttcta gttggtttct tctgggtg

27

20

<210> 41

<211> 3814

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 41

ctattgaagc cacctgctca ggacaatgaa attcttcagt tacattctgg tttatcgccg 60
 atttctcttc gtggttttca ctgtgttgggt tttactacct ctgcccatcg tcctccacac 120
 caaggaagca gaatgtgcct acacactctt tgtggtcgcc acattttggc tcacagaagc 180
 attgcctctg tcggtaacag ctttgctacc tagtttaatg ttacccatgt ttgggatcat 240
 gccttctaag aagggtggcat ctgcttattt caaggatttt cacttactgc taattggagt 300
 tatctgttta gcaacatcca tagaaaaatg gaatttgcac aagagaattg ctctgaaaat 360
 ggtgatgatg gttgggtgtaa atcctgcatg gctgacgctg gggttcatga gcagcactgc 420
 ctttttgtct atgtggctca gcaacacctc gacggctgcc atgggtgatgc ccattgcgga 480
 ggctgtagtg cagcagatca tcaatgcaga agcagaggtc gagggcactc agatgactta 540
 cttcaacgga tcaaccaacc acggactaga aattgatgaa agtggttaatg gacatgaaat 600
 aaatgagagg aaagagaaaa caaaaccagt tccaggatac aataatgata cagggaaaat 660

30

40

ttcaagcaag gtggagttgg aaaagaactc aggcattgaga accaaatata gaacaaagaa 720
 gggccacgtg acacgtaaac ttacgtgttt gtgcattgcc tactcttcta ccattggtgg 780
 actgacaaca atcactggta cctccaccaa ctgtatcttt gcagagtatt tcaatacacg 840
 ctatcctgac tgcgttgcc tcaactttgg atcatgggtt acgttttctt tcccagctgc 900
 ccttatcatt ctactcttat cctggatctg gcttcagtgg cttttcctag gattcaattt 960
 taaggagatg ttcaaatgtg gcaaaaccaa aacagtccaa caaaaagctt gtgctgaggt 1020
 gattaagcaa gaatacaaaa agcttgggcc aataagggtat caagaaattg tgaccttggt 1080
 cctcttcatt ataattggctc tgctatgggt tagtcgagac cccggatttg ttcttggttg 1140
 gtctgcactt tttcagagt accctgggtt tgctacagat tcaactgttg ctttacttat 1200
 agggctgcta tttttctta tcccagctaa gacactgact aaaactacac ctacaggaga 1260
 aattgttgct ttgattact ctccactgat tacttgaaa gaattccagt cattcatgcc 1320
 ctgggatata gccattcttg ttggtggagg gtttgcctg gcagatgggt gtgaggagtc 1380
 tggattatct aagtggatag gaaataaatt atctcctctg ggttcattac cagcatggct 1440
 aataattctg atactttctt tgatgggtgac atctttaact gaggtagcca gcaatccagc 1500
 taccattaca ctctttctcc caatattatc tccattggcc gaagccattc atgtgaaccc 1560
 tctttatatt ctgatacctt ctactctgtg tacttcattt gcattcctcc taccagtagc 1620
 aaatccaccc aatgctattg tcttttcata tggatcatctg aaagtcatg acatgggtta 1680
 agctggactt ggtgtcaaca ttgttggtgt tgcgtgggtt atgcttgga tatgtacttg 1740
 gattgtaccc atgtttgacc tctacactta cccttcgtgg gctcctgcta tgagtaatga 1800
 gaccatgcca taataagcac aaaatttctg actatcttgc ggtaatttct ggaagacatt 1860
 aatgattgac tgtaaaatgt ggctctaaat aactaatgac acacatttaa atcagttatg 1920
 gtgtagctgc tgcaattccc gtgaataccc gaaacctgct ggtataactc agagtccata 1980
 tttgttattg cagtgcact aaagagcatc tatgtgcctt catcaagaag cccatgtttt 2040
 gagattttgc tcatgaacca tctgcaactt gcttcacat aagaataatt tataacttga 2100
 cttcaaaga gattagagca ttgtttcat ctacagtgg gagttcaatg taacatttta 2160
 aatgcaattt attatttcag aaatttccca tgaaactaaa aatagaaaat aagatatata 2220
 agttaattcg gtacttggat aaatcatttc tgcattgttg ttccagagaa ttgctgaga 2280
 aatcaaagcc atggtcatct ggtgatgaag agaaaagggt aatctaaatg atatgtgcat 2340
 ttcctcattt aaaaaatcca attggattat tcttaataata tacatgtaat atgaaaattg 2400
 agattgaagc actaattcca aaattatggc tgaatatact aaataacaga aaagttacag 2460
 ataagaattt atttctactg aactctatag ttagtgtaat ataattcata tttttatgat 2520
 attggcacac tgagaaattc atttttaga gctatggata aggcttgcta tgatttgac 2580
 tattagtaca gtatagttag aaaggaaagc tgaacactat aaaactatta acatattttc 2640
 gtatatgagt aacaactttg cttaagtgtt tatcttagtt cagaaatata taatgtcata 2700

10

20

30

40

tgttaaaaat aaagagatgt agaaatctaa atgaattatc actgtgtata cagacagaaa 2760
 aatcacataa ctctgggtgtg ttaacattgc aatgaaaaaa tgaaaaaaag aaggaaaaaa 2820
 gaataagaat gaaaactgct gacgtattac aaaacagaaa aataaatgat ttaaaatcaa 2880
 atcaaaaaga aaaaaactaa acatttaaac aaaaatggga taagaatagt cttctagaag 2940
 tgaggatgcg taaaagaatg agtttccaat taccctgatg tgacaattac acattgtaga 3000
 caggtagcaa aatatcacat acaccccaa aatatgtaca aatattatat atcaataaat 3060
 aaatttttaa agagtaagt ctattggcat tccaaaattc agctaaagga aaaatgatca 3120
 aaaacaaagt aagggtgcaca gttagcaaaa gatgcagatg ttatatcaca gcaattctca 3180
 tgctaaaaat acaacaaaag acaagcaaa aaataaacct ttgctttttt tttttttttt 3240
 tttttttttt gagacggagt ctgctctgt cgcccaggct ggagtgcagt ggcgggatct 3300
 cggctcactg caagctccgc ctcccagggt cagccattc tcctgcctca gccaaacctt 3360
 tgctattttt aatcttcgtt ggcactttcc agctgttact gacctgtca tttttgttc 3420
 aaataagatt atttacaac ttattcttga aactaaatat agtaaagggt gtttttaaaa 3480
 taatatttaa catacgaatt attaatggc catgttcatt atttatctat gtttattaat 3540
 gggccaatgc aaaaaatcat ttttcaaag aaaaatttgt ccatgtaaag cttaaattat 3600
 aatattgctg ctttgtataa ctcttctatg ttattctat tcatttgttc cttccctac 3660
 catattttac acatgtattt ataactgtg gtatttatta catttctgct tttttctagt 3720
 cattcaattt atcactgctg aattgcatca gatcatggat gcatttttat tatgaaaaaa 3780
 taaatgact tttcaaatta aaaaaaaaaa aaaa 3814

10

20

<210> 42

<211> 734

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 42

caggacaatg aaattcttca gttacattct ggtttatcgc cgatttctct tcgtgggttt 60
 cactgtgttg gttttactac ctctgcccat cgtcctccac accaaggaag cagaatgtgc 120
 ctacacactc tttgtggtcg ccacattttg gctcacagaa gcattgcctc tgtcggtaac 180
 agctttgcta cctagtttaa tgttaccat gtttgggatc atgccttcta agaagggtggc 240
 atctgcttat ttcaaggatt ttcacttact gctaattgga gttatctgtt tagcaacatc 300
 catagaaaaa tggaaatttg acaagagaat tgctctgaaa atggtgatga tggttggtgt 360
 aaatcctgca tggctgacgc tggggttcat gacgagcact gcctttttgt ctatgtggct 420
 cagcaacacc tcgacggctg ccatggtgat gccattgctg gaggctgtag tgcagcagat 480
 catcaatgca gaagcagagg tcgaggccac tcagatgact tacttcaacg gatcaaccaa 540

30

40

ccacggacta gaaattgatg aaagtgttaa tggacatgaa ataaatgaga ggaaagagaa 600
 aacaaaacca gttccaggat acaataatga tacagggaaa atttcaagca aggtggagtt 660
 ggaaaagact gtttaactac tgaaatgaag ctattctcct gactaaacat aactgaaaaa 720
 ccattcatta aatg 734

<210> 43

<211> 539

<212> DNA

<213> Homo sapiens

10

<400> 43
 gccactcaga tgacttactt caacggatca accaaccacg gactagaaat tgatgaaagt 60
 gttaatggac atgaaataaa tgagaggaaa gagaaaacaa aaccagttcc aggatacaat 120
 aatgatacag ggaaaatttc aagcaagggt gagttggaaa agcactggaa acttgcagtt 180
 caagatggct ccccatctcc ctctgtccat tctgtatcgc agctagctgc tcaaggaaag 240
 gagaaagtgg aaggcatatg tacttagaaa ttattctatt actttcctgg atttaagagt 300
 attcagattt tctatttcaa catcaaaca ttgcattttt aaaaagaaat ttatgtgttc 360
 catgtcaaat ttagtagtgt gtggttgttt ataatatctt ctatatctta cttaatttct 420
 atagtattta tagttatatg tctttatttc taacattttt cttgtgcttt taaagattat 480
 ttaaagatta tttttaaata atctttattt catttaaaata aaatatttta tttaagtct 539

20

<210> 44

<211> 556

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 44
 cacggactag aaattgatga aagtgttaat ggacatgaaa taaatgagag gaaagagaaa 60
 acaaaaccag ttccaggata caataatgat acagggaaaa tttcaagcaa ggtggagttg 120
 gaaaagaact caggcatgag aaccaaatat cgaacaaga agggccacgt gacacgtaaa 180
 cttacgtgtt tgtgcattgc ctactcttct accattgggtg gactgacaac aatcactggt 240
 acctccacca acttgatctt tgcagagtat ttcaatacat tccatccaca cagaagagga 300
 gatcgtacaa ggcatgtaca ccaggaggca gaaatttgag gcatatcttg gaactctgtc 360
 taccacatcc tgaacatcac acagtttcca ctcttggtgc cttcaatcct gagaatgcat 420
 ccaggagcca ttctgtttta tgtcaattac taattagatc atgtcacgtt actaacttac 480
 tacgttccaa ttagtcctta ttgcatttgt aataaaatcc gcatactttc ggactggcta 540

30

40

caaggttata catgat

556

<210> 45

<211> 595

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 45

Met Lys Phe Phe Ser Tyr Ile Leu Val Tyr Arg Arg Phe Leu Phe Val
 1 5 10 15

10

Val Phe Thr Val Leu Val Leu Leu Pro Leu Pro Ile Val Leu His Thr
 20 25 30

Lys Glu Ala Glu Cys Ala Tyr Thr Leu Phe Val Val Ala Thr Phe Trp
 35 40 45

Leu Thr Glu Ala Leu Pro Leu Ser Val Thr Ala Leu Leu Pro Ser Leu
 50 55 60

Met Leu Pro Met Phe Gly Ile Met Pro Ser Lys Lys Val Ala Ser Ala
 65 70 75 80

20

Tyr Phe Lys Asp Phe His Leu Leu Leu Ile Gly Val Ile Cys Leu Ala
 85 90 95

Thr Ser Ile Glu Lys Trp Asn Leu His Lys Arg Ile Ala Leu Lys Met
 100 105 110

Val Met Met Val Gly Val Asn Pro Ala Trp Leu Thr Leu Gly Phe Met
 115 120 125

Ser Ser Thr Ala Phe Leu Ser Met Trp Leu Ser Asn Thr Ser Thr Ala
 130 135 140

Ala Met Val Met Pro Ile Ala Glu Ala Val Val Gln Gln Ile Ile Asn
 145 150 155 160

30

Ala Glu Ala Glu Val Glu Ala Thr Gln Met Thr Tyr Phe Asn Gly Ser
 165 170 175

Thr Asn His Gly Leu Glu Ile Asp Glu Ser Val Asn Gly His Glu Ile
 180 185 190

Asn Glu Arg Lys Glu Lys Thr Lys Pro Val Pro Gly Tyr Asn Asn Asp
 195 200 205

40

Thr Gly Lys Ile Ser Ser Lys Val Glu Leu Glu Lys Asn Ser Gly Met
 210 215 220
 Arg Thr Lys Tyr Arg Thr Lys Lys Gly His Val Thr Arg Lys Leu Thr
 225 230 235 240
 Cys Leu Cys Ile Ala Tyr Ser Ser Thr Ile Gly Gly Leu Thr Thr Ile
 245 250 255
 Thr Gly Thr Ser Thr Asn Leu Ile Phe Ala Glu Tyr Phe Asn Thr Arg
 260 265 270
 Tyr Pro Asp Cys Arg Cys Leu Asn Phe Gly Ser Trp Phe Thr Phe Ser
 275 280 285
 Phe Pro Ala Ala Leu Ile Ile Leu Leu Leu Ser Trp Ile Trp Leu Gln
 290 295 300
 Trp Leu Phe Leu Gly Phe Asn Phe Lys Glu Met Phe Lys Cys Gly Lys
 305 310 315 320
 Thr Lys Thr Val Gln Gln Lys Ala Cys Ala Glu Val Ile Lys Gln Glu
 325 330 335
 Tyr Gln Lys Leu Gly Pro Ile Arg Tyr Gln Glu Ile Val Thr Leu Val
 340 345 350
 Leu Phe Ile Ile Met Ala Leu Leu Trp Phe Ser Arg Asp Pro Gly Phe
 355 360 365
 Val Pro Gly Trp Ser Ala Leu Phe Ser Glu Tyr Pro Gly Phe Ala Thr
 370 375 380
 Asp Ser Thr Val Ala Leu Leu Ile Gly Leu Leu Phe Phe Leu Ile Pro
 385 390 395 400
 Ala Lys Thr Leu Thr Lys Thr Thr Pro Thr Gly Glu Ile Val Ala Phe
 405 410 415
 Asp Tyr Ser Pro Leu Ile Thr Trp Lys Glu Phe Gln Ser Phe Met Pro
 420 425 430
 Trp Asp Ile Ala Ile Leu Val Gly Gly Gly Phe Ala Leu Ala Asp Gly
 435 440 445
 Cys Glu Glu Ser Gly Leu Ser Lys Trp Ile Gly Asn Lys Leu Ser Pro
 450 455 460
 Leu Gly Ser Leu Pro Ala Trp Leu Ile Ile Leu Ile Ser Ser Leu Met
 465 470 475 480

10

20

30

40

Val Thr Ser Leu Thr Glu Val Ala Ser Asn Pro Ala Thr Ile Thr Leu
485 490 495

Phe Leu Pro Ile Leu Ser Pro Leu Ala Glu Ala Ile His Val Asn Pro
500 505 510

Leu Tyr Ile Leu Ile Pro Ser Thr Leu Cys Thr Ser Phe Ala Phe Leu
515 520 525

Leu Pro Val Ala Asn Pro Pro Asn Ala Ile Val Phe Ser Tyr Gly His
530 535 540

Leu Lys Val Ile Asp Met Val Lys Ala Gly Leu Gly Val Asn Ile Val
545 550 555 560

Gly Val Ala Val Val Met Leu Gly Ile Cys Thr Trp Ile Val Pro Met
565 570 575

Phe Asp Leu Tyr Thr Tyr Pro Ser Trp Ala Pro Ala Met Ser Asn Glu
580 585 590

Thr Met Pro
595

<210> 46

<211> 224

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 46

Arg Thr Met Lys Phe Phe Ser Tyr Ile Leu Val Tyr Arg Arg Phe Leu
1 5 10 15

Phe Val Val Phe Thr Val Leu Val Leu Leu Pro Leu Pro Ile Val Leu
20 25 30

His Thr Lys Glu Ala Glu Cys Ala Tyr Thr Leu Phe Val Val Ala Thr
35 40 45

Phe Trp Leu Thr Glu Ala Leu Pro Leu Ser Val Thr Ala Leu Leu Pro
50 55 60

Ser Leu Met Leu Pro Met Phe Gly Ile Met Pro Ser Lys Lys Val Ala
65 70 75 80

Ser Ala Tyr Phe Lys Asp Phe His Leu Leu Leu Ile Gly Val Ile Cys
85 90 95

10

20

30

40

Leu Ala Thr Ser Ile Glu Lys Trp Asn Leu His Lys Arg Ile Ala Leu
 100 105 110
 Lys Met Val Met Met Val Gly Val Asn Pro Ala Trp Leu Thr Leu Gly
 115 120 125
 Phe Met Ser Ser Thr Ala Phe Leu Ser Met Trp Leu Ser Asn Thr Ser
 130 135 140
 Thr Ala Ala Met Val Met Pro Ile Ala Glu Ala Val Val Gln Gln Ile
 145 150 155 160
 Ile Asn Ala Glu Ala Glu Val Glu Ala Thr Gln Met Thr Tyr Phe Asn
 165 170 175
 Gly Ser Thr Asn His Gly Leu Glu Ile Asp Glu Ser Val Asn Gly His
 180 185 190
 Glu Ile Asn Glu Arg Lys Glu Lys Thr Lys Pro Val Pro Gly Tyr Asn
 195 200 205
 Asn Asp Thr Gly Lys Ile Ser Ser Lys Val Glu Leu Glu Lys Thr Val
 210 215 220

<210> 47

<211> 88

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 47

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

10

20

30

40

<210> 48
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 48

His Gly Leu Glu Ile Asp Glu Ser Val Asn Gly His Glu Ile Asn Glu
 1 5 10 15

Arg Lys Glu Lys Thr Lys Pro Val Pro Gly Tyr Asn Asn Asp Thr Gly
 20 25 30

Lys Ile Ser Ser Lys Val Glu Leu Glu Lys Asn Ser Gly Met Arg Thr
 35 40 45

Lys Tyr Arg Thr Lys Lys Gly His Val Thr Arg Lys Leu Thr Cys Leu
 50 55 60

Cys Ile Ala Tyr Ser Ser Thr Ile Gly Gly Leu Thr Thr Ile Thr Gly
 65 70 75 80

Thr Ser Thr Asn Leu Ile Phe Ala Glu Tyr Phe Asn Thr Phe His Pro
 85 90 95

His Arg Arg Gly Asp Arg Thr Arg His Val His Gln Glu Ala Glu Ile
 100 105 110

<210> 49

<211> 21

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: oligonukleotid

<400> 49

ccagctttaa ccatgtcaat g

21

<210> 50

<211> 21

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

10

20

30

40

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 50

cagatgggtg tgaggagtct g

21

<210> 51

<211> 3311

<212> DNA

<213> Homo sapiens

10

<400> 51

tgctaagtct tttggtacaa atggatgtgg aatataattg aatattttct tgtttaaggg	60
gagcatgaag aggtgttgag gttatgtcaa gcattctggc cagctgaagg cagatggaaa	120
tatttacaag tacgcaattt gagactaaga tattgttatc attctcctat tgaagacaag	180
agcaatagta aaacacatca ggtcaggggg ttaaagacct gtgataaacc acttccgata	240
agttggaaac gtgtgtctat attttcatat ctgtatatat ataatggtaa agaagacac	300
cttcgtaacc cgatttttcc aaagagagga atcacagga gatgtacagc aatggggcca	360
tttaagagtt ctgtgttcat cttgattctt caccttctag aaggggccct gagtaattca	420
ctcattcagc tgaacaacaa tggctatgaa ggcattgtcg ttgcaatcga cccaatgtg	480
ccagaagatg aaacactcat tcaacaata aaggacatgg tgaccaggc atctctgtat	540
ctgtttgaag ctacaggaag gcgattttat ttcaaaaatg ttgccatttt gattcctgaa	600
acatggaaga caaaggctga ctatgtgaga ccaaaacttg agacctaca aaatgctgat	660
gttctgggtg ctgagtctac tcctccaggt aatgatgaac cctacactga gcagatgggc	720
aactgtggag agaaggggta aaggatccac ctactcctg atttcattgc aggaaaaaag	780
ttagctgaat atggaccaca aggtaaggca tttgtccatg agtgggctca tctacgatgg	840
ggagtatttg acgagtacaa taatgatgag aaattctact tatccaatgg aagaatacaa	900
gcagtaagat gttcagcagg tattactggg acaaatgtag taaagaagtg tcagggaggc	960
agctgttaca ccaaaagatg cacattcaat aaagttacag gactctatga aaaaggatgt	1020
gagtttgttc tccaatcccg ccagacggag aaggcttcta taatgtttgc acaacatgtt	1080
gattctatag ttgaattctg tacagaacaa aaccacaaca aagaagctcc aaacaagcaa	1140
aatcaaaaat gcaatctccg aagcacatgg gaagtgatcc gtgattctga ggactttaag	1200
aaaaccactc ctatgacaac acagccacca aatccacct tctcattgct gcagattgga	1260
caaagaattg tgtgtttagt ccttgacaaa tctggaagca tggcgactgg taaccgcctc	1320
aatcgactga atcaagcagg ccagcttttc ctgctgcaga cagttgagct ggggtcctgg	1380
gttgggatgg tgacatttga cagtgtgcc catgtacaaa gtgaactcat acagataaac	1440
agtggcagtg acaggacac actcgccaaa agattacctg cagcagcttc aggaggagc	1500

20

30

40

tccatctgca gggggttcg atcggcattt actgtgatta ggaagaaata tccaactgat 1560
 ggatctgaaa ttgtgctgct gacggatggg gaagacaaca ctataagtgg gtgctttaac 1620
 gaggtcaaac aaagtgggtc catcatccac acagtcgctt tggggccctc tgcagctcaa 1680
 gaactagagg agctgtccaa aatgacagga ggtttacaga catatgcttc agatcaagtt 1740
 cagaacaatg gcctcattga tgcttttggg gccctttcat caggaaatgg agctgtctct 1800
 cagcgctcca tccagcttga gagtaaggga ttaaccctcc agaacagcca gtggatgaat 1860
 ggcacagtga tcgtggacag caccgtggga aaggacactt tgtttcttat cacctggaca 1920
 acgcagcctc cccaaatcct tctctgggat cccagtggac agaagcaagg tggttttcta 1980
 gtggacaaaa acacaaaaat ggcttacctc caaatcccag gcattgctaa ggttggcact 2040
 tggaaataca gtctgcaagc aagctcaca accttgaccc tgactgtcac gtcccgtgcg 2100
 tccaatgcta ccttgctccc aattacagt acttccaaaa cgaacaagga caccagcaaa 2160
 ttccccagcc ctctggtagt ttatgcaaat attcgccaag gagcctcccc aattctcagg 2220
 gccagtgtca cagccctgat tgaatcagt aatggaaaaa cagttacctt ggaactactg 2280
 gataatggag caggtgctga tgctactaag gatgacggtg tctactcaag gtatttcaca 2340
 acttatgaca cgaatggtag atacagtga aaagtgcggg ctctgggagg agttaacgca 2400
 gccagacgga gagtataacc ccagcagagt ggagcactgt acatacctgg ctggattgag 2460
 aatgatgaaa tacaatggaa tccaccaaga cctgaaatta ataaggatga tgttaacac 2520
 aagcaagtgt gtttcagcag aacatcctcg ggaggctcat ttgtggcttc tgatgtccca 2580
 aatgctccca tacctgatct ctcccacct ggccaaatca ccgacctgaa ggcggaaatt 2640
 cacgggggca gtctcattaa tctgacttg acagctcctg gggatgatta tgacctgga 2700
 acagctcaca agtatatcat tcgaataagt acaagtattc ttgatctcag agacaagttc 2760
 aatgaatctc ttcaagtga tactactgct ctcatcccaa aggaagccaa ctctgaggaa 2820
 gtctttttgt ttaaaccaga aaacattact ttgaaaaatg gcacagatct ttccattgct 2880
 attcaggctg ttgataaggt cgatctgaaa tcagaaatat ccaacattgc acgagtatct 2940
 ttgtttattc ctccacagac tccgccagag acacctagtc ctgatgaaac gtctgctcct 3000
 tgtcctaata ttcatatcaa cagcaccatt cctggcattc acattttaaa aattatgtgg 3060
 aagtggatag gagaactgca gctgtcaata gcttagggct gaatttttgt cagataaata 3120
 aaataaatca ttcacctttt ttttgattat aaaattttct aaaatgtatt ttagacttcc 3180
 tgtagggggc gatatactaa atgtatatag tacatttata ctaaatgtat tctgtaggg 3240
 ggcgatatac taaatgtatt ttagacttcc tgtagggggc gataaaataa aatgctaaac 3300
 aactgggtaa a 3311

<210> 52

<211> 3067

10

20

30

40

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 52

```

aattaaatta tgagaattaa aaagacaaca ttgagcagag atgaaaaagg aagggaggaa      60
aaggtggaaa agaaaagaag acaagaagcg agtagtggtc tctaacttgc tctttgaagg      120
atggtctcac aaagagaacc ccaacagaca tcatcgtggg aatcaaatca agaccagcaa      180
gtacaccgtg ttgtccttcg tccccaaaaa catTTTTTgag cagctacacc ggTTTgcaa      240
tctctatTTT gtgggcattg cggttctgaa ttttatccct gtggtcaatg ctttcagcc      300
tgaggtgagc atgataccaa tctgtgttat cctggcagtc actgccatca aggacgcttg      360
ggaagacctc cggagggtaca aatcggataa agtcatcaat aaccgagagt gcctcatcta      420
cagcagaaaa gagcagacct atgtgcagaa gtgctggaag gatgtgctgt tgggagactt      480
catccaaatg aaatgcaatg agattgtccc agcagacata ctctctcttt tttctctga      540
ccccaatggg atatgccatc tggaaactgc cagcttggat ggagagacaa acctcaagca      600
aagacgtgtc gtgaagggct tctcacagca ggaggtacag ttcgaaccag agcttttcca      660
caataccatc gtgtgtgaga aacccaacaa ccacctcaac aaattttaagg gttatatgga      720
gcatcctgac cagaccagga ctggctttgg ctgtgagagt cttctgcttc gaggctgcac      780
catcagaaac accgagatgg ctgttggcat tgtcatctat gcaggccatg agacgaaagc      840
catgtgaac aacagtggcc cccggtacaa acgcagcaag attgagcggc gcatgaatat      900
agacatcttc ttctgcattg ggatcctcat cctcatgtgc cttattggag ctgtaggtca      960
cagcatctgg aatgggacct ttgaagaaca ccctcccttc gatgtgccag atgccaatgg     1020
cagcttcctt cccagtggcc ttgggggctt ctacatgttc ctcacaatga tcatcctgct     1080
ccaggtgctg atccccatct ctttgtatgt ctccattgag ctggtgaagc tcgggcaagt     1140
gttcttcttg agcaatgacc ttgacctgta tgatgaagag accgatttat ccattcaatg     1200
tcgagccctc aacatcgtag aggacttggg ccagatccag tacatcttct ccgataagac     1260
ggggaccctg acagagaaca agatggtgtt ccgacgttgc accatcatgg gcagcgagta     1320
ttctcaccaa gaaaatggta tagaagctcc caagggtccc atccctcttt ctaaaaggaa     1380
ataccctgct ctcttaagaa acgaggagat aaaagacatt ctcttggttc tcttagaggc     1440
tgtgtggcat ttccacaagt tgcttcctgt atccctgtgg tcttccttgt cacagatcag     1500
ggctgttcca attacttgta aactttcatt tgttttacaaa ggttagaagt tatcccatat     1560
gtggttcccc ttcagctgat ctttgtctgg tgccagacaa agcactttat gagacgagtt     1620
ttttatctgt cagcaatgga ttggagacat ttcccaattg tgtgccagtc acacaaccaa     1680
ggcttaggaa tttctcaggc caccttacct gacatgtcag ggcaggtctg tgtctagggtg     1740
catggtcaga tttaatacat ccagaagatg tcttctattc taacagatct cttagcttgt     1800
cactgaggca aagttttgat ttaggagata gggctataaa atgcctggac tgttaccttg     1860

```

10

20

30

40

catggactga atatgactca taaaactgat ctgattcctt cagccatcat ctgccaact 1920
 tggttccccct cccaccccc ccacaacaca cacacacact ttctaagaaa agaaaagaaa 1980
 ttcttttttt tcaatacttt aagttctggg atacatgtgc agaattgtgc ggtttgttac 2040
 atagggtatac atgtgtcatg gtggtttgca gcaccaccca acccatcatc taccttaggt 2100
 atttctccta atgctatccc tcccctagcc cccaaccccc cgatgggctc cagtgtgtga 2160
 tgttccccctc catgtccatg tgttctcatt gttcaattcc cacttatgag tgagaacatg 2220
 cagtatttgg ttttctgttc ttgtgttagt ttgctgatgg tttcctgttc atccgtgtcc 2280
 ctgcaaagga catgaactca tcttttttta tggctgcata atattccatg gtgtatatgt 2340
 gccacatttt ctttatccag tctatcgctg atggggactg gggttgggtc caagtctttg 2400
 ctattgtgaa cagtgtctga ataaacttac atgtgcatgt gtcttttagta gaatgattta 2460
 taatcctttg ggtatatacc cagtaatggg attgctggtc aaatgggtatt tctgggttcta 2520
 gatccttgag gaatctttgt ctccacaat ggttgaacta atttgtactc ccaccaacag 2580
 tgtaaaagta ttctgtttc tctacatcct cttcagcatc tgttgtgtcc tgacatttta 2640
 atgatcacta ttctcactgg cgtgagatgt tatctcattg tggttttgat ttgcatttct 2700
 ctaatgacca gtaatgatga gctttttttc atatgtttgt tggctgcata aatgtcttct 2760
 ttgagaagt gtctgttcat atccttcacc catTTTTTga agaaaacaaa ctcttaagag 2820
 agcagtattc attcttttga gtgtgaggga tggagaaaga gaaagatgga gagagtatta 2880
 taagcagctg tatccccctt gccatggtga tagcagacca ttcacatggg agcttctggt 2940
 ctctttgtaa taataataag agccacatta ccagtactta gagtatgcta gttattttta 3000
 cacattgtat cattaaatct tcaaacatc cctatgagtt agaaacctaa aaaaaaaaaa 3060
 aaaaaaa 3067

10

<210> 53

<211> 2778

<212> DNA

<213> Homo sapiens

30

<400> 53

ctcatTTTga tgtctagaat caggggatcc aggatcatca ccaaggatcat ttccccaggt 60
 atggaggggt ctttctgctt ctttcttgtc atgcacagct gctgaggaag gggctgggag 120
 taaagacagt gaaatgggga ggaggagtcc attcaaaccg agaaacaaag tgtttggttt 180
 ttcttaccct tgggtgtagaa gctaccaacc ttttccaaga aagagggcct ggcccccttc 240
 tcgggtctgg ctgggtgcct gctgtgcctc tctggcctcc cctccgaagg gcaccattcc 300
 ctcggtgag tactaccggc ctgcaccgtc ttccagtggg gacagcctga gaagagagtc 360
 tggggcctta cttcagtacc ttcttctact ggcctcacc tgtgcaaata atgccacacg 420

40

ctgcagcctc cttttcccta tctataaaat aaaaatgacc ctgctctatc tcaactgggt 480
 ggcaagaaca cactgttggt gccttgacaga cagatgtgct gaggctgtag aaagtgttt 540
 ttatttggtt gggagcttgt gcataaatgc gagaggggct gcacatctga cggactagag 600
 gtgactcatg gctgaaccgg aacaggacat cggggagaag ccagcagcca tgcgaactc 660
 tccacagggc cctgtgaaaa gctcttcacc tcctctgccc tctggatcta gtgaagccta 720
 ttcatccttc agatgtcagc tcaataatc aaccttcagc gaggcctccc ttgacccta 780
 acatgctttc aaagtactgt gtatttcaca ttcacatgc cccgacaact gtgatttccc 840
 atttattaat atctgtctct tctgctggcc tgcaaaactcc aggagcacag agacatcttt 900
 gggatttttg aacatgattt cccagggct tagcccagtg cctggtgcaa agcaggcttt 960
 caacatgttc agtggatatt gtaagaaaga aagaaataca caaaaggcct ggcataatgca 1020
 aagcactcta aatattcact cttttccctt cctctgggt gagaaaattt ctccttataa 1080
 agacaccctc ctaactgtat ctctgctaga gaactgaaga cataaagcac tctgtgccaa 1140
 aaatatttaa gtaaaaactt gagctaagca cagagattat aaatatttct tccccagatt 1200
 acgcaccatt taaaaatact gtctcagctc cttttcatga tttgggtggg gattaaagaa 1260
 aattactctt caagactgaa agtcattact gcccttttcc tgacttgccct tttcccttga 1320
 gaaggggagg ataagctgca gggcaggaag tggaaagtgg gcacccctgt cctttgtctg 1380
 gcagacagcc aactggctag gtactgtctc ttctcaactc tttcctgatt cccaggtgaa 1440
 tataacaag aaggcacaaa tccacactg ccaacaacgg acccaagtga taacaagaaa 1500
 cccagtga cctgtctagg tgaagactca gccctatgt gaccagggtg caaagccaaa 1560
 ctgaccatct gctttccatt tggactttta gtctactatg tatcttctca ggacagttaa 1620
 gttggaatac aatgccactg tcctgaaaga tggtagaatt atctatttct tggaggagtg 1680
 ggggtgggtg gtaggaatct caagagcgat ttgctcctct gcacaatagc ttttttaagg 1740
 acaccagggc cccaggggct atacatttcc ctgaagcttt ccagataagc aacaaggtat 1800
 gagcacctgc tatgtattgc ccaagggtga tgtgttttaa tatccattgc atattttaaa 1860
 tccttggctg gcttaagct gcaagcttct tgtcttcagt ggatataatg ggggcataca 1920
 tcccagagct tgcccaacac tccaagaaaa gaaccctcag ctaatgcaa gtgtgtatgt 1980
 gcccatgaaa gctccatgtc tacttaacat tcagttttta ggattattta tgcgtgaata 2040
 atagatatga aaatctctga caggatattt gtttccttta caaactgtat ttgaatttat 2100
 ggggtgattta gagcttgtgt ttaaagtcag aattcagaac cccaaagaaa atgacttcat 2160
 tgaaattgaa ctgaagagac aagaactgag ttaccaaacc ctactaaacg tgagttgctg 2220
 tgaactgggg attaaaccag aacgagtgga gaagatcaga aagctaccaa acacactgct 2280
 cagaaaggac aaagacattc gaagactgag ggactttcag gaagtggaa tcattttaat 2340
 gaaaaatgga agctccagat tgacagaata tgtgccatct ctgacagaaa ggcctgcta 2400
 tgatagcaaa gctgcaaaaa tgacttatta aatactccca ggaatggccg cgcaggtgg 2460

10

20

30

40

ctcaccctt gtaatcccag cactttggga agccaagggtg ggcggatcac ctgaggtcag 2520
 gagttctaga ccagcctggc caacatatag tgaaaccag tctctactaa aaaaaatata 2580
 aaaattagct aggtgtggtg gcgcacacct gtagtagtcc cagctacatg ggaagctgag 2640
 gcaggagaat cacctgaacc caggaggcag aggttgacgt gagctgagat tgcgccactg 2700
 cactccagcc tggcgacaga gcaagactct gtctctcaaa ataaataaat aaataataa 2760
 ataaataaat aaataatc 2778

<210> 54

<211> 1646

<212> DNA

<213> Homo sapiens

10

<400> 54

gcccgggaga ggagaggagc gggccgagga ctccagcgtg ccaggtctg gcatcctgca 60
 cttgctgccc tctgacacct gggaagatgg ccggcccgtg gaccttcacc cttctctgtg 120
 gtttctggc agccaccttg atccaagcca cctcagtc cactgcagtt ctcacctcg 180
 gcccaaaagt catcaagaa aagctgacac aggagctgaa ggaccacaac gccaccagca 240
 tcctgcagca gctgccgtg ctgagtgcca tgcgggaaaa gccagccgga ggcacccctg 300
 tgctgggag cctggtgaac accgtcctga agcacatcat ctggctgaag gtcacacag 360
 ctaacatcct ccagctgcag gtgaagccct cggccaatga ccaggagctg ctagtcaaga 420
 tccccctgga catggtggct ggattcaaca cggccctggt caagaccatc gtggagttcc 480
 acatgacgac tgaggcccaa gccaccatcc gcatggacac cagtgcgaag gggccaccc 540
 gcctggtcct cagtgcactgt gccaccagcc atgggagcct gcgcatcaa ctgctgcata 600
 agctctcctt cctggtgaac gccttagcta agcaggtcat gaacctccta gtgccatccc 660
 tgcccaatct agtgaanaac cagctgtgtc ccgtgatcga ggcttcctc aatggcatgt 720
 atgcagacct cctgcagctg gtgaagggtc ccatttcct cagcattgac cgtctggagt 780
 ttgaccttct gtatcctgcc atcaagggtg acaccattca gctctacctg ggggccaagt 840
 tgttggactc acaggggaaag gtgaccaagt ggttcaataa ctctgcagct tccctgacaa 900
 tgcccaccct ggacaacatc ccgttcagcc tcacgtgag tcaggacgtg gtgaaagctg 960
 cagtggctgc tgtctctct ccagaagaat tcattggtcct gttggactct gtgcttcctg 1020
 agagtgccca tcgggtgaag tcaagcatcg ggctgatcaa tgaaaaggct gcagataagc 1080
 tgggatctac ccagatcgtg aagatcctaa ctccaggacac tcccagagttt ttatagacc 1140
 aaggccatgc caagggtggc caactgatcg tgctggaagt gtttccctcc agtgaagccc 1200
 tccgcccttt gttcacctcg ggcacgaag ccagctcgga agctcagttt tacaccaag 1260
 gtgaccaact tatactcaac ttgaataaca tcagctctga tcggatccag ctgatgaact 1320

20

30

40

ctgggattgg ctggttccaa cctgatgttc tgaaaaacat catcactgag atcatccact 1380
 ccacccctgct gccgaaccag aatggcaaat taagatcttg ggtcccagtg tcattggtga 1440
 aggccttggg attcgaggca gctgagtcct cactgaccaa ggatgccctt gtgcttactc 1500
 cagcctcctt gtggaaaccc agctctcctg tctcccagtg aagacttgga tggcagccat 1560
 caggaagggc tgggtcccag ctgggagtat ggggtgtgagc tctatagacc atccctctct 1620
 gcaatcaata aacacttgcc tgtgat 1646

<210> 55

<211> 1049

<212> DNA

<213> Homo sapiens

10

<400> 55
 ggagtggggg agagagagga gaccaggaca gctgctgaga cctctaagaa gtccagatac 60
 taagagcaaa gatgtttcaa actgggggcc tcattgtctt ctacgggctg ttagcccaga 120
 ccattggccca gtttgagggc ctgcccgtgc ccctggacca gaccctgccc ttgaatgtga 180
 atccagccct gcccttgagt cccacaggtc ttgcaggaag cttgacaaat gccctcagca 240
 atggcctgct gtctgggggc ctgttgggca ttctggaaaa ctttccgctc ctggacatcc 300
 tgaagcctgg aggaggtact tctggtggcc tccttggggg actgcttgga aaagtgcgt 360
 cagtattcc tggcctgaac aacatcattg acataaaggt cactgacccc cagctgctgg 420
 aacttgccct tgtgcagagc cctgatggcc accgtctcta tgtcaccatc cctctcggca 480
 taaagctcca agtgaatacg cccctggtcg gtgcaagtct gttgaggctg gctgtgaagc 540
 tggacatcac tgcagaaatc ttagctgtga gagataagca ggagaggatc cacctggtcc 600
 ttggtgactg caccatttcc cctggaagcc tgcaaatctc tctgcttgat ggacttggcc 660
 ccctcccat tcaaggctct ctggacagcc tcacagggat cttgaataaa gtcctgcctg 720
 agttggttca gggcaacgtg tgccctctgg tcaatgaggt tctcagaggc ttggacatca 780
 ccctggtgca tgacattggt aacatgctga tccacggact acagtttctc atcaaggctc 840
 aagccttcca ggaaggggct ggcctctgct gagctgcttc ccagtgtca cagatggctg 900
 gcccatgtgc tgggaagatga cacagtggcc ttctctccga ggaacctgcc ccctctcctt 960
 tcccaccagg cgtgtgtaac atcccatgtg cctcacctaa taaaatggct cttcttctgc 1020
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1049

20

30

<210> 56

<211> 4815

<212> DNA

40

<213> Homo sapiens

<400> 56

gagcagagcc ctttcacaca cctcaggaac acctttcggc tgcccgtccc ccagacacac 60
ctgcagccct gccagcccg ctttctcac cactgttg taaatgccc agatatgagc 120
cagcccaggc cccgctacgt ggtagacaga gccgcatact cccttaccct ctcgacgat 180
gagtttgaga agaaggaccg gacataacca gtgggagaga aacttcgcaa tgccttcaga 240
tgttcctcag ccaagatcaa agctgtggtg tttgggctgc tgctgtgct ctcctggctc 300
cccaagtaca agattaaaga ctacatcatt cctgacctgc tcggtggact cagcggggga 360
tccatccagg tcccacaagg catggcattt gctctgctgg ccaaccttcc tgcagtcaat 420
ggcctctact cctccttctt cccctcctg acctacttct tcctgggggg tggtcaccag 480
atggtgccag gtacctttgc cgttatcagc atcctgggtg gtaacatctg tctgcagctg 540
gccccagagt cgaattcca ggtcttcaac aatgccacca atgagagcta tgtggacaca 600
gcagccatgg aggctgagag gctgcacgtg tcagctacgc tagcctgcct caccgccatc 660
atccagatgg gtctgggctt catgcagttt ggctttgtgg ccatctacct ctcgagtc 720
ttcatccggg gcttcatgac ggccgccggc ctgcagatcc tgatttcggt gctcaagtac 780
atcttcggac tgaccatccc ctctacaca ggcccagggt ccatcgtctt taccttcatt 840
gacatttgca aaaacctccc ccacaccaac atgcctcgc tcattctcgc tctcatcagc 900
ggtgccttcc tgggtgctgt gaaggagctc aatgctcgt acatgcaca gattcgcttc 960
cccatcccta cagagatgat tgggtggtg gtggcaacag ctatctccgg gggctgtaag 1020
atgccccaaa agtatcatat gcagatcgtg ggagaaatcc aacgcgggtt cccacccccg 1080
gtgtcgctg tggctcaca gtggaaggac atgataggca cagccttctc ctagccatc 1140
gtgagctacg tcatcaacct ggctatgggc cggacctgg ccaacaagca cggctacgac 1200
gtggattcga accaggagat gatcgtctc ggctgcagca acttctttgg ctccttctt 1260
aaaattcatg tcatttgctg tgcgcttct gtcactctgg ctgtggatgg agctggagga 1320
aaatcccagg tggccagcct gtgtgtgtct ctgggtggtg tgatcaccat gctggctctg 1380
gggatctatc tgtatctct ccctaagtct gtgctaggag ccctgatcgc tgtcaatctc 1440
aagaactccc tcaagcaact caccgacccc tactacctgt ggaggaagag caagctggac 1500
tgttgcatct gggtagtgag ctctctctcc tccttcttcc tcagcctgcc ctatggtgtg 1560
gcagtgggtg tcgccttctc cgtcctggtc gtggcttctc agactcagtt tcgaaatggc 1620
tatgcactgg cccagggtcat ggacactgac atttatgtga atcccaagac ctataatagg 1680
gcccaggata tccaggggat taaaatcacc acgtactgct cccctctcta ctttgccaac 1740
tcagagatct tcaggcaaaa ggtcatcgcc aagacaggca tggaccccca gaaagtatta 1800
ctagccaagc aaaaatacct caagaagcag gagaagcgga gaatgaggcc cacacaacag 1860
aggaggtctc tattcatgaa aaccaagact gtctccctgc aggagctgca gcaggacttt 1920

10

20

30

40

gagaatgcgc cccccaccga ccccaacaac aaccagaccc cggctaacgg caccagcgtg 1980
 tcctatatca ccttcagccc tgacagctcc tcacctgccc agagtgaagg accagcctcc 2040
 gctgaggccc ccggcgagcc cagtgcacatg ctggccagcg tcccaccctt cgtcaccttc 2100
 cacaccctca tctggacat gagtggagtc agcttcgtgg acttgatggg catcaaggcc 2160
 ctggccaagc tgagctccac ctatgggaag atcggcgtga aggtcttctt ggtgaacatc 2220
 catgcccagg tgtacaatga cattagccat ggaggcgtct ttgaggatgg gagtctagaa 2280
 tgcaagcacg tctttcccag catacatgac gcagtcctct ttgcccaggc aaatgctaga 2340
 gacgtgaccc caggacacaa cttccaaggg gctccagggg atgctgagct ctcttcttac 2400
 gactcagagg aggacattcg cagctactgg gacttagagc aggagatgtt cggggagcatg 2460
 tttcacgcag agaccctgac cgccctgtga gggtcagcc agtcctcatg ctgcctacag 2520
 agtgccctgg acttgggact tccataaagg atgagcctgg ggtcacaggg ggtgtcgggc 2580
 ggaggaaagt gcatcccca gagcttgggt tctctctctc tctccccctc tctctccct 2640
 tcttccctc cccgcatctc cagagagagc ctctcagcag caggggggtg ctacccttac 2700
 gggagtgaga gtctggtag cccactcttc acccgtcagg ccttggccgc aatggacaag 2760
 cctctgtctc actccacccc acccacatct gccctgtcct tggcagctga aggacacctt 2820
 gacttccagc ttttacgagt gagccaaaaa cagaaggaca agtacaactg tgctggcctg 2880
 ctgtacaagc ttcaaaaagt gtcccagagc ccgcacggct cgggtgtcaga tgggtgcagg 2940
 ctgtcacgga catagggata aacttgggta ggactctggc ttgccttccc cagctgcctc 3000
 aactctgtct ctggcagctc tgcaccagg gaccatgtgc tctccacacc caggagtcta 3060
 ggccttggta actatgcgcc cccctccat catccccaag gctgcccaca ccaccactgc 3120
 tgtcagcaag cacatcagac tctagcctgg acagtggcca ggaccgtcga gaccaccaga 3180
 gctacctccc cggggacagc ccactaaggt tctgcctcag cctcctgaaa catcactgcc 3240
 ctgagaggct gctcccttcc cctggaggct ggctagaaac ccaaagagg gggatgggta 3300
 gctggcagaa tcatctggca tcctagtaat agataccagt tattctgcac aaaacttttg 3360
 ggaattcctc tttgcacca gagactcaga ggggaagagg gtgctagtac caacacaggg 3420
 aaaacggatg ggacctgggc ccagacagtc ccccttgacc ccaggggcca tcagggaat 3480
 gcctcccttt ggtaaatctg ccttatcctt ctttacctgg caaagagcca atcatgttaa 3540
 ctcttcctta tcagcctgtg gccagagac acaatggggt ccttctgtag gcaaagggtg 3600
 aagtcctcca gggatccgct acatccccta actgcatgca gatgtggaaa ggggctgac 3660
 cagattgggt cttcctgcac aggaagactc tttaacaccc ttaggacctc aggccatctt 3720
 ctcttatgaa gatgaaaata ggggttaagt ttccatatg tacaaggagg tattgagagg 3780
 aaccctactg ttgacttgaa aataaatagg ttccatgtgt aagtgttttg taaaatttca 3840
 gtggaaatgc acagaaaatc ttctggcctc tcatcactgc ttttctcaag cttcttcagc 3900
 ttaacaaccc cttccctaac aggttgggct ggcccagcct aggaaaacat cccatttct 3960

10

20

30

40

aacttcagcc agacctgcgt tgtgtgtctg tgtgttgagt gagctggcca gctaacaagt 4020
 cttcttagag ttaaaggagg ggggtgctggc caagagccaa cacattcttg gccaggagc 4080
 attgcttttc tgtgaattca ttatgccatc tggctgcca tggaaactcaa aacttggaag 4140
 gcgaaggaca atgttatctg ggattcaccg tggccagcac ccgaagtgcc aaattccagg 4200
 aggacaagag ccttagccaa tgacaactca ctctccccta ctccacctcc ttccaagtcc 4260
 agctcaggcc caggaggtgg gagaaggcca cagagcctca ggaatttcca agtcagagtc 4320
 ccctttgaac caagtatcta gatccccga ggacttgatg aagtgatcct taacccccaa 4380
 gtaatcatta acccccagac cagcctcaga actgaaggag attgttgacc cagtgcctg 4440
 gaggtagggc tcagggagag atctgccaca tgtctgaggg ttgcagagcc cgctgtggag 4500
 gtaagattgg aaacacatga ggcagaggga agacattgaa gaaaacatct ctgctggaat 4560
 atttgaaaa gaacactctt ctggacctgg ttgaagcagg aaagatggag gcaaagtagt 4620
 gaaataatcc agaatttcaa tgcttttgaa tgttcttagt gatactgacc tgtgataata 4680
 taattcccag ggaggactgg gaaccttacc tcttgagata ttgcataat ttatttaatt 4740
 taagcctcat tctccttttg ttcattttgg taataaactg gatttgaatt gtgaacaaaa 4800
 aaaaaaaaaa aaaaa 4815

10

<210> 57

<211> 2572

20

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 57
 aatgctctaa gacctctcag cacgggcgga agaaactccc ggagagctca cccaaaaaac 60
 aaggagatcc catctagatt tcttcttgct ttgactcac agctggaagt tagaaaagcc 120
 tcgatttcat ctttgagag gccaaatggt cttagcctca gtctctgtct ctaaataattc 180
 caccataaaa cagctgagtt atttatgaat tagaggctat agctcacatt ttcaatcctc 240
 tatttctttt tttaaataata actttctact ctgatgagag aatgtggttt taatctctct 300
 ctacatttt gatgatttag acagactccc cctcttcctc ctagtcaata aaccattga 360
 tgatctattt ccagcttat cccaagaaa acttttgaaa ggaaagagta gacccaaga 420
 tgttattttc tgcgtttga atttgtctc cccacccca acttggttag taataaacac 480
 ttactgaaga agaagcaata agagaaagat atttgaatc tctccagccc atgatctcgg 540
 ttttcttaca ctgtgatctt aaaagttacc aaaccaaagt cttttcagt ttgaggcaac 600
 caaacctttc tactgctgtt gacatcttct tattacagca acaccattct aggagtttcc 660
 tgagctctcc actggagtcc tcttctgtc gcgggtcaga aattgtccct agatgaatga 720
 gaaaattatt ttttttaatt taagtcctaa atatagttaa aataaataat gttttagtaa 780

30

40

aatgatacac tatctctgtg aaatagcctc acccctacat gtggatagaa ggaaatgaaa 840
aaataattgc tttagacattg tctatatggt actttgtaaa gtcattgctta agtacaaatt 900
ccatgaaaag ctactgatac ctaattcttt ccttttgagg tctctatggc tctgattgta 960
catgatagta agtghtaagcc atgtaaaaag taaataatgt ctgggcacag tggctcacgc 1020
ctgtaatcct agcacttttg gaggtgagg aggaaggatc acttgagccc agaagttcga 1080
gactagcctg ggcaacatgg agaagcctg tctctacaaa atacagagag aaaaaatcag 1140
ccagtcatgg tggcatacac ctgtagtccc agcattccgg gaggtgagg tgggaggatc 1200
acttgagccc agggaggttg gggctgcagt gagccatgat cacaccactg cactccagcc 1260
aggtgacata gcgagatcct gtctaaaaaa ataaaaata aataatggaa cacagcaagt 1320
cctaggaagt aggttaaaac taattcttta aaaaaaaaaa aaagttgagc ctgaattaaa 1380
tgtaatgttt ccaagtgaca ggtatccaca ttgcatggt tacaagccac tgccagttgg 1440
cagtagcact ttcttggcac tgtggtcggg ttgttttgt ttgtcttgt ttagagacgg 1500
ggtctcactt tccaggctgg cctcaaacct ctgcactcaa gcaattcttc taccctggcc 1560
tcccagtag ctggaattac aggtgtgcgc catcacaact agctggtggt cagttttgtt 1620
actctgagag ctgttcactt ctctgaattc acctagagt gttggaccat cagatgtttg 1680
ggcaaaaactg aaagctcttt gcaaccacac accttccctg agcttacatc actgcccttt 1740
tgagcagaaa gtctaaattc cttccaagac agtagaattc catcccagta ccaaagccag 1800
ataggccccc taggaaactg aggttaagagc agtctctaaa aactaccac agcagcattg 1860
gtgcagggga acttgccat taggttatta tttagagga aagtcctcac atcaatagta 1920
catatgaaa tgacctcaa ggggatttgg gaatactcat aaggatcttc aggtgaaca 1980
gactatgtct ggggaaagaa cggattatgc cccattaaat aacaagtgt gttcaagagt 2040
cagagcagt agctcagagg ccttctcac tgagacagca acatttaaac caaaccagag 2100
gaagtatttg tggaactcac tgcctcagtt tgggtaaagg atgagcagac aagtcaacta 2160
aagaaaaag aaaagcaagg agggaggttg agcaatctag agcatggagt ttgttaagt 2220
ctctctggat ttgagttgaa gagcatccat ttgagttgaa ggccacaggg cacaatgagc 2280
tctcccttct accaccagaa agtcctggt caggctcag gtagtgcggt gtggctcagc 2340
tgggttttta attagcgcatt tctctatcca acatttaatt gtttgaaagc ctccatatag 2400
ttagatttgt ctttgtaatt ttgttgtgt tgctctatct tattgtatat gcattgagta 2460
ttaacctgaa tgttttgta cttaaatatt aaaaacactg ttatcctaca aaaaaccct 2520
caaaggctga aaataaagaa ggaagatgga gacaccctct gggggtcctc tc 2572

<210> 58

<211> 1324

<212> DNA

10

20

30

40

<213> Homo sapiens

<400> 58

ctttgacgtg gatgcccttg gcaggggtgag cccacaagga gcaatggagc agggcagcgg 60
 ccgcttgagg gacttccctg tcaatgtgtt ctccgtcact ccttacacac ccagcaccgc 120
 tgacatccag gtgtccgatg atgacaaggc gggggccacc ttgctcttct caggcatctt 180
 tctgggactg gtggggatca cattcactgt catgggctgg atcaaatacc aaggtgtctc 240
 ccactttgaa tggaccacgc tccttgggcc cgtcctgctg tcagttgggg tgacattcat 300
 cctgattgct gtgtgcaagt tcaaaatgct ctccctgccag ttgtgcaaag aaagtggagg 360
 aagggtcccc gactcgggaa agacaccagg aggaccatca ttgtttttca ctggcatcaa 420
 ccaaccatc accttccatg gggccactgt ggtgcagtac atccctcctc cttatgggtc 480
 tccagagcct atggggataa ataccagcta cctgcagtct gtggtgagcc cctgcggcct 540
 cataacctct ggagggggcag cagccgccat gtcaagtctt cctcaatact acaccatcta 600
 cctcaagat aactctgcat ttgtggttga tgagggtgc ctttctttca cggacgggtg 660
 aaatcacagg cccaatcctg atgttgacca gctagaagag acacagctgg aagaggaggc 720
 ctgtgcctgc ttctctcctc ccccttatga agaaatatac tctctccctc gctagaggct 780
 attctgatat aataacacaa tgctcagctc agggagcaag tgtttccgtc attgttacct 840
 gacaaccgtg gtgttctatg ttgtaacctt cagaagtac agcagcgccc aggcagcctg 900
 acagagatca ttcaaggggg gaaaggggaa gtgggagggtg caattttctc gatttgtaaa 960
 aattaggctg ggctggggaa attctcctcc ggaacagttt caaattccct cgggtaagaa 1020
 atctcctgta taagggtcag gagcaggaat ttcacttttt catccaccac cctccccctt 1080
 ctctgtagga aggcattggt ggctcaattt taaccccagc agccaatgga aaaatcacga 1140
 cttctgagac ttgaggagtt tccacagagg tgagagtcgg gtgggaagga agcagggaag 1200
 agaaagcagg ccagctgga gatctcctgg tggctgtcct tggcccaaaa gcagactcac 1260
 taatcccaaa caactcagct gccatctggc ctctctgagg actctgggta ccttaaagac 1320
 tata 1324

10

20

<210> 59

30

<211> 683

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 59

caggaaagtt cgtgctgcta ggcagaggaa ctgcagcttg ttggcagggtg aaggagcct 60
 gtttagctgt gtccagcaac aacttacgtg gtccctgcttg tggtccagggt gaagcgtctg 120
 gccgccgagc agaggaatca agacctgctc attctttcct cgggggatcc atccagcaat 180

40

gacatcatct catgctgcc caaggacccc aagtctgggc tgctggggac cagccacgct 240
 cccactgct caticcttca tcctagagac attctgactc tcctccgact gcgctgtgca 300
 caggcgtgac aagctctttt acatctcagt ctgcacaact tcaggcactt agcagattga 360
 tatgcatcca acaaatattg attgaatata tgctaaatac ccagtaattgt ttcattgagt 420
 attgggtgaa taaaggaatg ctgggttcct ctggccatat taactcctgc acaatactaa 480
 gaaaaataaa ttgcactagc tgtggaataa tgtgaatccc aatgtcatct attgaaatat 540
 tacctgacta ttaagaggta tttatttttg tatcttttct agcaaagtaa ataaaattct 600
 taatacagca tatcccccta ttcacggggg gtatgttcca agacccccgg tggatgcctg 660
 aaactatgga taataccaga tcc 683

10

<210> 60

<211> 914

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 60

Met Gly Pro Phe Lys Ser Ser Val Phe Ile Leu Ile Leu His Leu Leu
 1 5 10 15

20

Glu Gly Ala Leu Ser Asn Ser Leu Ile Gln Leu Asn Asn Asn Gly Tyr
 20 25 30

Glu Gly Ile Val Val Ala Ile Asp Pro Asn Val Pro Glu Asp Glu Thr
 35 40 45

Leu Ile Gln Gln Ile Lys Asp Met Val Thr Gln Ala Ser Leu Tyr Leu
 50 55 60

Phe Glu Ala Thr Gly Lys Arg Phe Tyr Phe Lys Asn Val Ala Ile Leu
 65 70 75 80

Ile Pro Glu Thr Trp Lys Thr Lys Ala Asp Tyr Val Arg Pro Lys Leu
 85 90 95

30

Glu Thr Tyr Lys Asn Ala Asp Val Leu Val Ala Glu Ser Thr Pro Pro
 100 105 110

Gly Asn Asp Glu Pro Tyr Thr Glu Gln Met Gly Asn Cys Gly Glu Lys
 115 120 125

Gly Glu Arg Ile His Leu Thr Pro Asp Phe Ile Ala Gly Lys Lys Leu
 130 135 140

40

Ala Glu Tyr Gly Pro Gln Gly Lys Ala Phe Val His Glu Trp Ala His
145 150 155 160

Leu Arg Trp Gly Val Phe Asp Glu Tyr Asn Asn Asp Glu Lys Phe Tyr
165 170 175

Leu Ser Asn Gly Arg Ile Gln Ala Val Arg Cys Ser Ala Gly Ile Thr
180 185 190

Gly Thr Asn Val Val Lys Lys Cys Gln Gly Gly Ser Cys Tyr Thr Lys
195 200 205

Arg Cys Thr Phe Asn Lys Val Thr Gly Leu Tyr Glu Lys Gly Cys Glu
210 215 220

Phe Val Leu Gln Ser Arg Gln Thr Glu Lys Ala Ser Ile Met Phe Ala
225 230 235 240

Gln His Val Asp Ser Ile Val Glu Phe Cys Thr Glu Gln Asn His Asn
245 250 255

Lys Glu Ala Pro Asn Lys Gln Asn Gln Lys Cys Asn Leu Arg Ser Thr
260 265 270

Trp Glu Val Ile Arg Asp Ser Glu Asp Phe Lys Lys Thr Thr Pro Met
275 280 285

Thr Thr Gln Pro Pro Asn Pro Thr Phe Ser Leu Leu Gln Ile Gly Gln
290 295 300

Arg Ile Val Cys Leu Val Leu Asp Lys Ser Gly Ser Met Ala Thr Gly
305 310 315 320

Asn Arg Leu Asn Arg Leu Asn Gln Ala Gly Gln Leu Phe Leu Leu Gln
325 330 335

Thr Val Glu Leu Gly Ser Trp Val Gly Met Val Thr Phe Asp Ser Ala
340 345 350

Ala His Val Gln Ser Glu Leu Ile Gln Ile Asn Ser Gly Ser Asp Arg
355 360 365

Asp Thr Leu Ala Lys Arg Leu Pro Ala Ala Ala Ser Gly Gly Thr Ser
370 375 380

Ile Cys Ser Gly Leu Arg Ser Ala Phe Thr Val Ile Arg Lys Lys Tyr
385 390 395 400

Pro Thr Asp Gly Ser Glu Ile Val Leu Leu Thr Asp Gly Glu Asp Asn
405 410 415

10

20

30

40

Thr Ile Ser Gly Cys Phe Asn Glu Val Lys Gln Ser Gly Ala Ile Ile
 420 425 430

His Thr Val Ala Leu Gly Pro Ser Ala Ala Gln Glu Leu Glu Glu Leu
 435 440 445

Ser Lys Met Thr Gly Gly Leu Gln Thr Tyr Ala Ser Asp Gln Val Gln
 450 455 460

Asn Asn Gly Leu Ile Asp Ala Phe Gly Ala Leu Ser Ser Gly Asn Gly
 465 470 475 480

Ala Val Ser Gln Arg Ser Ile Gln Leu Glu Ser Lys Gly Leu Thr Leu
 485 490 495

Gln Asn Ser Gln Trp Met Asn Gly Thr Val Ile Val Asp Ser Thr Val
 500 505 510

Gly Lys Asp Thr Leu Phe Leu Ile Thr Trp Thr Thr Gln Pro Pro Gln
 515 520 525

Ile Leu Leu Trp Asp Pro Ser Gly Gln Lys Gln Gly Gly Phe Val Val
 530 535 540

Asp Lys Asn Thr Lys Met Ala Tyr Leu Gln Ile Pro Gly Ile Ala Lys
 545 550 555 560

Val Gly Thr Trp Lys Tyr Ser Leu Gln Ala Ser Ser Gln Thr Leu Thr
 565 570 575

Leu Thr Val Thr Ser Arg Ala Ser Asn Ala Thr Leu Pro Pro Ile Thr
 580 585 590

Val Thr Ser Lys Thr Asn Lys Asp Thr Ser Lys Phe Pro Ser Pro Leu
 595 600 605

Val Val Tyr Ala Asn Ile Arg Gln Gly Ala Ser Pro Ile Leu Arg Ala
 610 615 620

Ser Val Thr Ala Leu Ile Glu Ser Val Asn Gly Lys Thr Val Thr Leu
 625 630 635 640

Glu Leu Leu Asp Asn Gly Ala Gly Ala Asp Ala Thr Lys Asp Asp Gly
 645 650 655

Val Tyr Ser Arg Tyr Phe Thr Thr Tyr Asp Thr Asn Gly Arg Tyr Ser
 660 665 670

Val Lys Val Arg Ala Leu Gly Gly Val Asn Ala Ala Arg Arg Arg Val
 675 680 685

10

20

30

40

Ile Pro Gln Gln Ser Gly Ala Leu Tyr Ile Pro Gly Trp Ile Glu Asn
690 695 700

Asp Glu Ile Gln Trp Asn Pro Pro Arg Pro Glu Ile Asn Lys Asp Asp
705 710 715 720

Val Gln His Lys Gln Val Cys Phe Ser Arg Thr Ser Ser Gly Gly Ser
725 730 735

Phe Val Ala Ser Asp Val Pro Asn Ala Pro Ile Pro Asp Leu Phe Pro
740 745 750

Pro Gly Gln Ile Thr Asp Leu Lys Ala Glu Ile His Gly Gly Ser Leu
755 760 765

Ile Asn Leu Thr Trp Thr Ala Pro Gly Asp Asp Tyr Asp His Gly Thr
770 775 780

Ala His Lys Tyr Ile Ile Arg Ile Ser Thr Ser Ile Leu Asp Leu Arg
785 790 795 800

Asp Lys Phe Asn Glu Ser Leu Gln Val Asn Thr Thr Ala Leu Ile Pro
805 810 815

Lys Glu Ala Asn Ser Glu Glu Val Phe Leu Phe Lys Pro Glu Asn Ile
820 825 830

Thr Phe Glu Asn Gly Thr Asp Leu Phe Ile Ala Ile Gln Ala Val Asp
835 840 845

Lys Val Asp Leu Lys Ser Glu Ile Ser Asn Ile Ala Arg Val Ser Leu
850 855 860

Phe Ile Pro Pro Gln Thr Pro Pro Glu Thr Pro Ser Pro Asp Glu Thr
865 870 875 880

Ser Ala Pro Cys Pro Asn Ile His Ile Asn Ser Thr Ile Pro Gly Ile
885 890 895

His Ile Leu Lys Ile Met Trp Lys Trp Ile Gly Glu Leu Gln Leu Ser
900 905 910

Ile Ala

<210> 61

<211> 501

<212> PRT

<213> Homo sapiens

10

20

30

40

<400> 61

Met Lys Lys Glu Gly Arg Lys Arg Trp Lys Arg Lys Glu Asp Lys Lys
1 5 10 15

Arg Val Val Val Ser Asn Leu Leu Phe Glu Gly Trp Ser His Lys Glu
20 25 30

Asn Pro Asn Arg His His Arg Gly Asn Gln Ile Lys Thr Ser Lys Tyr
35 40 45

Thr Val Leu Ser Phe Val Pro Lys Asn Ile Phe Glu Gln Leu His Arg
50 55 60

Phe Ala Asn Leu Tyr Phe Val Gly Ile Ala Val Leu Asn Phe Ile Pro
65 70 75 80

Val Val Asn Ala Phe Gln Pro Glu Val Ser Met Ile Pro Ile Cys Val
85 90 95

Ile Leu Ala Val Thr Ala Ile Lys Asp Ala Trp Glu Asp Leu Arg Arg
100 105 110

Tyr Lys Ser Asp Lys Val Ile Asn Asn Arg Glu Cys Leu Ile Tyr Ser
115 120 125

Arg Lys Glu Gln Thr Tyr Val Gln Lys Cys Trp Lys Asp Val Arg Val
130 135 140

Gly Asp Phe Ile Gln Met Lys Cys Asn Glu Ile Val Pro Ala Asp Ile
145 150 155 160

Leu Leu Leu Phe Ser Ser Asp Pro Asn Gly Ile Cys His Leu Glu Thr
165 170 175

Ala Ser Leu Asp Gly Glu Thr Asn Leu Lys Gln Arg Arg Val Val Lys
180 185 190

Gly Phe Ser Gln Gln Glu Val Gln Phe Glu Pro Glu Leu Phe His Asn
195 200 205

Thr Ile Val Cys Glu Lys Pro Asn Asn His Leu Asn Lys Phe Lys Gly
210 215 220

Tyr Met Glu His Pro Asp Gln Thr Arg Thr Gly Phe Gly Cys Glu Ser
225 230 235 240

Leu Leu Leu Arg Gly Cys Thr Ile Arg Asn Thr Glu Met Ala Val Gly
245 250 255

10

20

30

40

Ile Val Ile Tyr Ala Gly His Glu Thr Lys Ala Met Leu Asn Asn Ser
 260 265 270
 Gly Pro Arg Tyr Lys Arg Ser Lys Ile Glu Arg Arg Met Asn Ile Asp
 275 280 285
 Ile Phe Phe Cys Ile Gly Ile Leu Ile Leu Met Cys Leu Ile Gly Ala
 290 295 300
 Val Gly His Ser Ile Trp Asn Gly Thr Phe Glu Glu His Pro Pro Phe
 305 310 315 320
 Asp Val Pro Asp Ala Asn Gly Ser Phe Leu Pro Ser Ala Leu Gly Gly
 325 330 335
 Phe Tyr Met Phe Leu Thr Met Ile Ile Leu Leu Gln Val Leu Ile Pro
 340 345 350
 Ile Ser Leu Tyr Val Ser Ile Glu Leu Val Lys Leu Gly Gln Val Phe
 355 360 365
 Phe Leu Ser Asn Asp Leu Asp Leu Tyr Asp Glu Glu Thr Asp Leu Ser
 370 375 380
 Ile Gln Cys Arg Ala Leu Asn Ile Ala Glu Asp Leu Gly Gln Ile Gln
 385 390 395 400
 Tyr Ile Phe Ser Asp Lys Thr Gly Thr Leu Thr Glu Asn Lys Met Val
 405 410 415
 Phe Arg Arg Cys Thr Ile Met Gly Ser Glu Tyr Ser His Gln Glu Asn
 420 425 430
 Gly Ile Glu Ala Pro Lys Gly Ser Ile Pro Leu Ser Lys Arg Lys Tyr
 435 440 445
 Pro Ala Leu Leu Arg Asn Glu Glu Ile Lys Asp Ile Leu Leu Ala Leu
 450 455 460
 Leu Glu Ala Val Trp His Phe His Lys Leu Leu Pro Val Ser Leu Trp
 465 470 475 480
 Ser Ser Leu Ser Gln Ile Arg Ala Val Pro Ile Thr Cys Lys Leu Ser
 485 490 495
 Phe Val Tyr Lys Gly
 500

<210> 62

<211> 154

10

20

30

40

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 62

Met Gly Arg Arg Ser Pro Phe Lys Pro Arg Asn Lys Val Phe Gly Phe
 1 5 10 15

Ser Tyr Pro Trp Cys Arg Ser Tyr Gln Pro Phe Pro Arg Lys Arg Ala
 20 25 30

Trp Pro Pro Ser Arg Val Trp Leu Gly Ala Cys Cys Ala Ser Leu Ala
 35 40 45

Ser Pro Pro Lys Gly Thr Ile Pro Ser Gly Glu Tyr Tyr Arg Pro Ala
 50 55 60

Pro Ser Ser Ser Gly Asp Ser Leu Arg Arg Glu Ser Gly Ala Leu Leu
 65 70 75 80

Gln Tyr Leu Pro Ser Leu Ala Ser Pro Cys Ala Asn His Ala Thr Arg
 85 90 95

Cys Ser Leu Leu Phe Pro Ile Tyr Lys Ile Lys Met Thr Leu Leu Tyr
 100 105 110

Leu Thr Gly Leu Ala Arg Thr His Cys Cys Cys Leu Ala Asp Arg Cys
 115 120 125

Ala Glu Ala Val Glu Ser Ala Phe Tyr Leu Val Gly Ser Leu Cys Ile
 130 135 140

Asn Ala Arg Gly Ala Ala His Leu Thr Asp
 145 150

<210> 63

<211> 484

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 63

Met Ala Gly Pro Trp Thr Phe Thr Leu Leu Cys Gly Leu Leu Ala Ala
 1 5 10 15

Thr Leu Ile Gln Ala Thr Leu Ser Pro Thr Ala Val Leu Ile Leu Gly
 20 25 30

10

20

30

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

10

20

30

Leu Leu Asp Ser Val Leu Pro Glu Ser Ala His Arg Leu Lys Ser Ser
305 310 315 320

Ile Gly Leu Ile Asn Glu Lys Ala Ala Asp Lys Leu Gly Ser Thr Gln
325 330 335

Ile Val Lys Ile Leu Thr Gln Asp Thr Pro Glu Phe Phe Ile Asp Gln
340 345 350

Gly His Ala Lys Val Ala Gln Leu Ile Val Leu Glu Val Phe Pro Ser
355 360 365

Ser Glu Ala Leu Arg Pro Leu Phe Thr Leu Gly Ile Glu Ala Ser Ser
370 375 380

10

Glu Ala Gln Phe Tyr Thr Lys Gly Asp Gln Leu Ile Leu Asn Leu Asn
385 390 395 400

Asn Ile Ser Ser Asp Arg Ile Gln Leu Met Asn Ser Gly Ile Gly Trp
405 410 415

Phe Gln Pro Asp Val Leu Lys Asn Ile Ile Thr Glu Ile Ile His Ser
420 425 430

Ile Leu Leu Pro Asn Gln Asn Gly Lys Leu Arg Ser Gly Val Pro Val
435 440 445

20

Ser Leu Val Lys Ala Leu Gly Phe Glu Ala Ala Glu Ser Ser Leu Thr
450 455 460

Lys Asp Ala Leu Val Leu Thr Pro Ala Ser Leu Trp Lys Pro Ser Ser
465 470 475 480

Pro Val Ser Gln

<210> 64

<211> 256

<212> PRT

<213> Homo sapiens

30

<400> 64

Met Phe Gln Thr Gly Gly Leu Ile Val Phe Tyr Gly Leu Leu Ala Gln
1 5 10 15

Thr Met Ala Gln Phe Gly Gly Leu Pro Val Pro Leu Asp Gln Thr Leu
20 25 30

Pro Leu Asn Val Asn Pro Ala Leu Pro Leu Ser Pro Thr Gly Leu Ala
35 40 45

Gly Ser Leu Thr Asn Ala Leu Ser Asn Gly Leu Leu Ser Gly Gly Leu
50 55 60

Leu Gly Ile Leu Glu Asn Leu Pro Leu Leu Asp Ile Leu Lys Pro Gly
65 70 75 80

Gly Gly Thr Ser Gly Gly Leu Leu Gly Gly Leu Leu Gly Lys Val Thr
85 90 95

Ser Val Ile Pro Gly Leu Asn Asn Ile Ile Asp Ile Lys Val Thr Asp
100 105 110

10

Pro Gln Leu Leu Glu Leu Gly Leu Val Gln Ser Pro Asp Gly His Arg
115 120 125

Leu Tyr Val Thr Ile Pro Leu Gly Ile Lys Leu Gln Val Asn Thr Pro
130 135 140

Leu Val Gly Ala Ser Leu Leu Arg Leu Ala Val Lys Leu Asp Ile Thr
145 150 155 160

Ala Glu Ile Leu Ala Val Arg Asp Lys Gln Glu Arg Ile His Leu Val
165 170 175

20

Leu Gly Asp Cys Thr His Ser Pro Gly Ser Leu Gln Ile Ser Leu Leu
180 185 190

Asp Gly Leu Gly Pro Leu Pro Ile Gln Gly Leu Leu Asp Ser Leu Thr
195 200 205

Gly Ile Leu Asn Lys Val Leu Pro Glu Leu Val Gln Gly Asn Val Cys
210 215 220

Pro Leu Val Asn Glu Val Leu Arg Gly Leu Asp Ile Thr Leu Val His
225 230 235 240

Asp Ile Val Asn Met Leu Ile His Gly Leu Gln Phe Val Ile Lys Val
245 250 255

30

<210> 65

<211> 791

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 65

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

10

20

30

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

10

20

30

Ile Phe Arg Gln Lys Val Ile Ala Lys Thr Gly Met Asp Pro Gln Lys
545 550 555 560

Val Leu Leu Ala Lys Gln Lys Tyr Leu Lys Lys Gln Glu Lys Arg Arg
565 570 575

Met Arg Pro Thr Gln Gln Arg Arg Ser Leu Phe Met Lys Thr Lys Thr
580 585 590

Val Ser Leu Gln Glu Leu Gln Gln Asp Phe Glu Asn Ala Pro Pro Thr
595 600 605

Asp Pro Asn Asn Asn Gln Thr Pro Ala Asn Gly Thr Ser Val Ser Tyr
610 615 620

10

Ile Thr Phe Ser Pro Asp Ser Ser Ser Pro Ala Gln Ser Glu Pro Pro
625 630 635 640

Ala Ser Ala Glu Ala Pro Gly Glu Pro Ser Asp Met Leu Ala Ser Val
645 650 655

Pro Pro Phe Val Thr Phe His Thr Leu Ile Leu Asp Met Ser Gly Val
660 665 670

Ser Phe Val Asp Leu Met Gly Ile Lys Ala Leu Ala Lys Leu Ser Ser
675 680 685

20

Thr Tyr Gly Lys Ile Gly Val Lys Val Phe Leu Val Asn Ile His Ala
690 695 700

Gln Val Tyr Asn Asp Ile Ser His Gly Gly Val Phe Glu Asp Gly Ser
705 710 715 720

Leu Glu Cys Lys His Val Phe Pro Ser Ile His Asp Ala Val Leu Phe
725 730 735

Ala Gln Ala Asn Ala Arg Asp Val Thr Pro Gly His Asn Phe Gln Gly
740 745 750

Ala Pro Gly Asp Ala Glu Leu Ser Leu Tyr Asp Ser Glu Glu Asp Ile
755 760 765

30

Arg Ser Tyr Trp Asp Leu Glu Gln Glu Met Phe Gly Ser Met Phe His
770 775 780

Ala Glu Thr Leu Thr Ala Leu
785 790

<210> 66

<211> 243

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 66

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

10

20

30

Leu Pro Arg

<210> 67

<211> 21

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

10

<400> 67

acacgaatgg tagatacagt g

21

<210> 68

<211> 21

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

20

<400> 68

atacttgatga gctgttccat g

21

<210> 69

<211> 21

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

30

<400> 69

actgttacct tgcattgact g

21

<210> 70

<211> 21

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 70
caatgagaac acatggacat g 21

<210> 71

<211> 21

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

10

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 71
ccatgaaagc tccatgtcta c 21

<210> 72

<211> 21

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

20

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 72
agagatggca catattctgt c 21

<210> 73

<211> 21

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

30

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 73
atcggctgaa gtcaagcatc g 21

<210> 74

<211> 21

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 74

tggtcagtga ggactcagct g

21

<210> 75

<211> 21

<212> DNA

10

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 75

tttctctgct tgatgcactt g

21

<210> 76

<211> 21

<212> DNA

20

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 76

gtgagcactg ggaagcagct c

21

<210> 77

<211> 21

<212> DNA

30

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 77

ggcaaagtct agagacgtga c

21

<210> 78

<211> 21
<212> DNA
<213> Künstliche Sequenz

<220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 78
aggtgtcctt cagctgcca g 21 10

<210> 79
<211> 21
<212> DNA
<213> Künstliche Sequenz

<220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 79
gttaagtgc ctctggattt g 21 20

<210> 80
<211> 21
<212> DNA
<213> Künstliche Sequenz

<220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 80
atcctgattg ctgtgtgcaa g 21 30

<210> 81
<211> 21
<212> DNA
<213> Künstliche Sequenz

<220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 81
ctcttctagc tggtaacat c 21 40

<210> 82
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz
 <220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

10

<400> 82
 ccagcaacaa cttacgtggt c 21

<210> 83
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz
 <220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

20

<400> 83
 cctttattca cccaatcact c 21

<210> 84
 <211> 2165
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 84
 agaacagcgc agtttgcctt ccgtcacgc agagcctctc cgtggcctcc gcaccttgag 60
 cattaggcca gttctcctct tctctctaatt ccatccgtca cctctcctgt catccgtttc 120
 catgccgtga ggtccattca cagaacacat ccatggctct catgctcagt ttggttctga 180
 gtctcctcaa gctgggatca gggcagtggc aggtgtttgg gccagacaag cctgtccagg 240
 ccttggtggg ggaggacgca gcattctcct gtttcctgtc tcctaagacc aatgcagagg 300
 ccatggaagt gcggttcttc aggggccagt tctctagcgt ggtccacctc tacagggacg 360
 ggaaggacca gccatttatg cagatgccac agtatcaagg caggacaaaa ctggtgaagg 420
 attctattgc ggaggggcgc atctctctga ggctggaaaa cattactgtg ttggatgctg 480
 gcctctatgg gtgcaggatt agttcccagt cttactacca gaaggccatc tgggagctac 540
 aggtgtcagc actgggctca gttcctctca ttccatcac gggatatgtt gatagagaca 600

30

40

```

tccagctact ctgtcagtcc tcgggctggg tcccccgcc cacagcgaag tggaaaggtc 660
cacaaggaca ggatttgtcc acagactcca ggacaaacag agacatgcat ggcctgtttg 720
atgtggagat ctctctgacc gtccaagaga acgccgggag catatcctgt tccatgcggc 780
atgctcatct gagccgagag gtggaatcca gggtagagat aggagatacc ttttctgagc 840
ctatatcgtg gcacctggct accaaagtac tgggaatact ctgctgtggc ctattttttg 900
gcattgtttg actgaagatt ttcttctcca aattccagtg taagcgagag agagaagcat 960
gggccggtgc cttattcatg gttccagcag ggacaggatc agagatgctc ccacatccag 1020
ctgcttctct tcttctagtc ctagcctcca ggggccagg cccaaaaaag gaaaatccag 1080
gcggaactgg actggagaag aaagcacgga caggcagaat tgagagacgc ccggaacac 1140
gcagtggagg tgactctgga tccagagacg gctcacccga agctctgctg ttctgatctg 1200
aaaactgtaa cccatagaaa agctccccag gaggtgcctc actctgagaa gagatttaca 1260
aggaagagtg tgggtggcttc tcagagtttc caagcaggga aacattactg ggaggtggac 1320
ggaggacaca ataaaagggt gcgcgtggga gtgtgccggg atgatgtgga caggaggaag 1380
gagtacgtga ctttgtctcc cgatcatggg tactgggtcc tcagactgaa tggagaacat 1440
ttgtatttca cattaaatcc ccgttttctc agcgtcttcc ccaggacccc acctacaaaa 1500
ataggggtct tcctggacta tgagtgtggg accatctcct tcttcaacat aaatgaccag 1560
tcccttattt ataccctgac atgtcggttt gaaggcttat tgaggcccta cattgagtat 1620
ccgtcctata atgagcaaaa tggaaactcc atagtcatct gccagtcac ccaggaatca 1680
gagaaagagg cctcttgcca aagggcctct gcaatcccag agacaagcaa cagtgagtcc 1740
tcctcacagg caaccacgcc cttcctcccc aggggtgaaa ttaggatga atcacatccc 1800
acattcttct ttagggatat taaggctctc ctcccagatc caaagtcccg cagcagccgg 1860
ccaagggtgc ttccagatga agggggactg gcctgtccac atgggagtca ggtgtcatgg 1920
ctgccctgag ctgggagggg agaaggctga cattacattt agtttgctct cactccatct 1980
ggctaagtga tcttgaaata ccacctctca ggtgaagaac cgtcaggaat tcccatctca 2040
caggctgtgg ttagatttaa gtagacaagg aatgtgaata atgcttagat cttattgatg 2100
acagagtgtg tcctaattgg ttgttcatta tattacattt tcagtaaaaa aaaaaaaaaa 2160
aaaaa 2165

```

10

20

30

<210> 85
<211> 347
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 85

40

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

10

20

30

40

Ala Leu Phe Met Val Pro Ala Gly Thr Gly Ser Glu Met Leu Pro His
 275 280 285

Pro Ala Ala Ser Leu Leu Leu Val Leu Ala Ser Arg Gly Pro Gly Pro
 290 295 300

Lys Lys Glu Asn Pro Gly Gly Thr Gly Leu Glu Lys Lys Ala Arg Thr
 305 310 315 320

Gly Arg Ile Glu Arg Arg Pro Glu Thr Arg Ser Gly Gly Asp Ser Gly
 325 330 335

Ser Arg Asp Gly Ser Pro Glu Ala Leu Arg Phe
 340 345

10

<210> 86

<211> 21

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

20

<400> 86

attcatgggtt ccagcagggga c

21

<210> 87

<211> 21

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

30

<400> 87

gggagacaaa gtcacgtact c

21

<210> 88

<211> 22

<212> DNA

<213> künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

40

<400> 88
tcctggtggt cgtggtctgc tt

22

<210> 89
<211> 22
<212> DNA
<213> künstliche Sequenz

<220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 89
gagagtcctg gcttttgtgg gc

22

10

<210> 90
<211> 15
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 90

Gly Ser Ser Asp Leu Thr Trp Pro Pro Ala Ile Lys Leu Gly Cys
1 5 10 15

<210> 91
<211> 16
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 91

20

Asp Arg Tyr Val Ala Val Arg His Pro Leu Arg Ala Arg Gly Leu Arg
1 5 10 15

<210> 92
<211> 15
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 92

Val Ala Pro Arg Ala Lys Ala His Lys Ser Gln Asp Ser Leu Cys
1 5 10 15

<210> 93
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

30

<400> 93

Cys Phe Arg Ser Thr Arg His Asn Phe Asn Ser Met Arg
1 5 10

<210> 94
<211> 22
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 94

40

Met Asn Gly Thr Tyr Asn Thr Cys Gly Ser Ser Asp Leu Thr Trp Pro
 1 5 10 15

Pro Ala Ile Lys Leu Gly
 20

<210> 95
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 95

Arg Asp Thr Ser Asp Thr Pro Leu Cys Gln Leu Ser Gln Gly
 1 5 10

10

<210> 96
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 96

Gly Ile Gln Glu Gly Gly Phe Cys Phe Arg Ser Thr Arg His Asn Phe
 1 5 10 15

Asn Ser Met Arg Phe Pro
 20

20

<210> 97
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 97

Ala Lys Glu Phe Gln Glu Ala Ser Ala Leu Ala Val Ala Pro Arg Ala
 1 5 10 15

Lys Ala His Lys Ser Gln Asp Ser Leu Cys Val Thr Leu Ala
 20 25 30

<210> 98
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> künstliche Sequenz

30

<220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 98
 tcctgctcgt cgctctcctg at

22

<210> 99
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> künstliche Sequenz

<220>

40

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 99
tcgctttttg tcgtatttgc

20

<210> 100
<211> 15
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 100

His Asn Gly Ser Tyr Glu Ile Ser Val Leu Met Met Gly Asn Ser
1 5 10 15

10

<210> 101
<211> 15
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 101

Asn Leu Pro Thr Pro Pro Thr Val Glu Asn Gln Gln Arg Leu Ala
1 5 10 15

<210> 102
<211> 619
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 102

20

Arg Lys Tyr Arg Lys Asp Tyr Glu Leu Arg Gln Lys Lys Trp Ser His
1 5 10 15

Ile Pro Pro Glu Asn Ile Phe Pro Leu Glu Thr Asn Glu Thr Asn His
20 25 30

Val Ser Leu Lys Ile Asp Asp Asp Lys Arg Arg Asp Thr Ile Gln Arg
35 40 45

Leu Arg Gln Cys Lys Tyr Asp Lys Lys Arg Val Ile Leu Lys Asp Leu
50 55 60

Lys His Asn Asp Gly Asn Phe Thr Glu Lys Gln Lys Ile Glu Leu Asn
65 70 75 80

30

Lys Leu Leu Gln Ile Asp Tyr Tyr Asn Leu Thr Lys Phe Tyr Gly Thr
85 90 95

Val Lys Leu Asp Thr Met Ile Phe Gly Val Ile Glu Tyr Cys Glu Arg
100 105 110

Gly Ser Leu Arg Glu Val Leu Asn Asp Thr Ile Ser Tyr Pro Asp Gly
115 120 125

Thr Phe Met Asp Trp Glu Phe Lys Ile Ser Val Leu Tyr Asp Ile Ala
 130 135 140
 Lys Gly Met Ser Tyr Leu His Ser Ser Lys Thr Glu Val His Gly Arg
 145 150 155 160
 Leu Lys Ser Thr Asn Cys Val Val Asp Ser Arg Met Val Val Lys Ile
 165 170 175
 Thr Asp Phe Gly Cys Asn Ser Ile Leu Pro Pro Lys Lys Asp Leu Trp
 180 185 190
 Thr Ala Pro Glu His Leu Arg Gln Ala Asn Ile Ser Gln Lys Gly Asp
 195 200 205
 Val Tyr Ser Tyr Gly Ile Ile Ala Gln Glu Ile Ile Leu Arg Lys Glu
 210 215 220
 Thr Phe Tyr Thr Leu Ser Cys Arg Asp Arg Asn Glu Lys Ile Phe Arg
 225 230 235 240
 Val Glu Asn Ser Asn Gly Met Lys Pro Phe Arg Pro Asp Leu Phe Leu
 245 250 255
 Glu Thr Ala Glu Glu Lys Glu Leu Glu Val Tyr Leu Leu Val Lys Asn
 260 265 270
 Cys Trp Glu Glu Asp Pro Glu Lys Arg Pro Asp Phe Lys Lys Ile Glu
 275 280 285
 Thr Thr Leu Ala Lys Ile Phe Gly Leu Phe His Asp Gln Lys Asn Glu
 290 295 300
 Ser Tyr Met Asp Thr Leu Ile Arg Arg Leu Gln Leu Tyr Ser Arg Asn
 305 310 315 320
 Leu Glu His Leu Val Glu Glu Arg Thr Gln Leu Tyr Lys Ala Glu Arg
 325 330 335
 Asp Arg Ala Asp Arg Leu Asn Phe Met Leu Leu Pro Arg Leu Val Val
 340 345 350
 Lys Ser Leu Lys Glu Lys Gly Phe Val Glu Pro Glu Leu Tyr Glu Glu
 355 360 365
 Val Thr Ile Tyr Phe Ser Asp Ile Val Gly Phe Thr Thr Ile Cys Lys
 370 375 380
 Tyr Ser Thr Pro Met Glu Val Val Asp Met Leu Asn Asp Ile Tyr Lys
 385 390 395 400

10

20

30

Ser Phe Asp His Ile Val Asp His His Asp Val Tyr Lys Val Glu Thr
 405 410 415
 Ile Gly Asp Ala Tyr Met Val Ala Ser Gly Leu Pro Lys Arg Asn Gly
 420 425 430
 Asn Arg His Ala Ile Asp Ile Ala Lys Met Ala Leu Glu Ile Leu Ser
 435 440 445
 Phe Met Gly Thr Phe Glu Leu Glu His Leu Pro Gly Leu Pro Ile Trp
 450 455 460
 Ile Arg Ile Gly Val His Ser Gly Pro Cys Ala Ala Gly Val Val Gly
 465 470 475 480
 Ile Lys Met Pro Arg Tyr Cys Leu Phe Gly Asp Thr Val Asn Thr Ala
 485 490 495
 Ser Arg Met Glu Ser Thr Gly Leu Pro Leu Arg Ile His Val Ser Gly
 500 505 510
 Ser Thr Ile Ala Ile Leu Lys Arg Thr Glu Cys Gln Phe Leu Tyr Glu
 515 520 525
 Val Arg Gly Glu Thr Tyr Leu Lys Gly Arg Gly Asn Glu Thr Thr Tyr
 530 535 540
 Trp Leu Thr Gly Met Lys Asp Gln Lys Phe Asn Leu Pro Thr Pro Pro
 545 550 555 560
 Thr Val Glu Asn Gln Gln Arg Leu Gln Ala Glu Phe Ser Asp Met Ile
 565 570 575
 Ala Asn Ser Leu Gln Lys Arg Gln Ala Ala Gly Ile Arg Ser Gln Lys
 580 585 590
 Pro Arg Arg Val Ala Ser Tyr Lys Lys Gly Thr Leu Glu Tyr Leu Gln
 595 600 605
 Leu Asn Thr Thr Asp Lys Glu Ser Thr Tyr Phe
 610 615

10

20

30

<210> 103

<211> 20

<212> DNA

<213> künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 103

gctggttaact atcttcctgc

20

<210> 104
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> künstliche Sequenz

<220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 104
 gaagaatggt gtccagaggt 20

<210> 105
 <211> 15
 <212> PRT 10
 <213> Homo sapiens 10

<400> 105
 Leu Ile Asn Lys Val Pro Leu Pro Val Asp Lys Leu Ala Pro Leu
 1 5 10 15

<210> 106
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 106
 Ser Glu Ala Val Lys Lys Leu Leu Glu Ala Leu Ser His Leu Val
 1 5 10 15 20

<210> 107
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> künstliche Sequenz

<220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 107
 tgttttcaac taccaggggc 20

<210> 108
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> künstliche Sequenz 30

<220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 108
 tgttggcttt ggcagagtcc 20

<210> 109
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 109
gaggcagagt tcaggcttca ccga 24

<210> 110
<211> 20
<212> DNA
<213> künstliche Sequenz

<220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 110 10
tggttgcttt ggcagagtc 20

<210> 111
<211> 56
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 111
Thr Gly Met Asp Met Trp Ser Thr Gln Asp Leu Tyr Asp Asn Pro Val
1 5 10 15

Thr Ser Val Phe Gln Tyr Glu Gly Leu Trp Arg Ser Cys Val Arg Gln
20 25 30

Ser Ser Gly Phe Thr Glu Cys Arg Pro Tyr Phe Thr Ile Leu Gly Leu
35 40 45 20

Pro Ala Met Leu Gln Ala Val Arg
50 55

<210> 112
<211> 53
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 112
Asp Gln Trp Ser Thr Gln Asp Leu Tyr Asn Asn Pro Val Thr Ala Val
1 5 10 15 30

Phe Asn Tyr Gln Gly Leu Trp Arg Ser Cys Val Arg Glu Ser Ser Gly
20 25 30

Phe Thr Glu Cys Arg Gly Tyr Phe Thr Leu Leu Gly Leu Pro Ala Met
35 40 45

Leu Gln Ala Val Arg
50

<210> 113
<211> 14

<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 113

Ser Thr Gln Asp Leu Tyr Asn Asn Pro Val Thr Ala Val Phe
1 5 10

<210> 114
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 114

Asp Met Trp Ser Thr Gln Asp Leu Tyr Asp Asn Pro
1 5 10

10

<210> 115
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 115

Cys Arg Pro Tyr Phe Thr Ile Leu Gly Leu Pro Ala
1 5 10

<210> 116
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

20

<400> 116

Thr Asn Phe Trp Met Ser Thr Ala Asn Met Tyr Thr Gly
1 5 10

<210> 117
<211> 816
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 117

gccaggatca tgtccaccac cacatgccaa gtgggtggcgt tcctcctgtc catcctgggg 60
ctggccggct gcatcgcggc caccgggatg gacatgtgga gcaccagga cctgtacgac 120
aaccctgtca cctccgtgtt ccagtacgaa gggctctgga ggagctgctg gaggcagagt 180
tcaggcttca ccgaatgcag gccctatttc accatcctgg gacttcagc catgctgcag 240
gcagtgcgag ccctgatgat cgtaggcatc gtcctgggtg ccattggcct cctggtatcc 300
atctttgccc tgaaatgcat ccgcattggc agcatggagg actctgcca agccaacatg 360
acactgacct ccgggatcat gttcattgtc tcagggtctt gtgcaattgc tggagtgtct 420
gtgtttgcca acatgctggt gactaacttc tggatgtcca cagctaacat gtacaccggc 480
atgggtggga tgggtgcagac tggtcagacc aggtacacat ttgggtgcggc tctgttcgtg 540
ggctgggtcg ctggaggcct cacactaatt ggggggtgtga tgatgtgcat cgcctgccgg 600

30

40

ggcctggcac cagaagaaac caactacaaa gccgtttctt atcatgcctc aggccacagt 660
 gttgcctaca agcctggagg cttcaaggcc agcactggct ttgggtccaa caccaaaaac 720
 aagaagatat acgatggagg tgcccgacac gaggacgagg tacaatctta tccttccaag 780
 cagcactatg tgtaatgctc taagacctct cagcac 816

<210> 118
 <211> 261
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 118

Met Ser Thr Thr Thr Cys Gln Val Val Ala Phe Leu Leu Ser Ile Leu 10
 1 5 10 15

Gly Leu Ala Gly Cys Ile Ala Ala Thr Gly Met Asp Met Trp Ser Thr
 20 25 30

Gln Asp Leu Tyr Asp Asn Pro Val Thr Ser Val Phe Gln Tyr Glu Gly
 35 40 45

Leu Trp Arg Ser Cys Val Arg Gln Ser Ser Gly Phe Thr Glu Cys Arg
 50 55 60

Pro Tyr Phe Thr Ile Leu Gly Leu Pro Ala Met Leu Gln Ala Val Arg
 65 70 75 80

Ala Leu Met Ile Val Gly Ile Val Leu Gly Ala Ile Gly Leu Leu Val
 85 90 95

Ser Ile Phe Ala Leu Lys Cys Ile Arg Ile Gly Ser Met Glu Asp Ser
 100 105 110

Ala Lys Ala Asn Met Thr Leu Thr Ser Gly Ile Met Phe Ile Val Ser
 115 120 125

Gly Leu Cys Ala Ile Ala Gly Val Ser Val Phe Ala Asn Met Leu Val
 130 135 140

Thr Asn Phe Trp Met Ser Thr Ala Asn Met Tyr Thr Gly Met Gly Gly
 145 150 155 160

Met Val Gln Thr Val Gln Thr Arg Tyr Thr Phe Gly Ala Ala Leu Phe
 165 170 175

Val Gly Trp Val Ala Gly Gly Leu Thr Leu Ile Gly Gly Val Met Met
 180 185 190

Cys Ile Ala Cys Arg Gly Leu Ala Pro Glu Glu Thr Asn Tyr Lys Ala
 195 200 205

10

20

30

40

Val Ser Tyr His Ala Ser Gly His Ser Val Ala Tyr Lys Pro Gly Gly
 210 215 220

Phe Lys Ala Ser Thr Gly Phe Gly Ser Asn Thr Lys Asn Lys Lys Ile
 225 230 235 240

Tyr Asp Gly Gly Ala Arg Thr Glu Asp Glu Val Gln Ser Tyr Pro Ser
 245 250 255

Lys His Asp Tyr Val
 260

<210> 119
 <211> 227
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

10

<400> 119
 gccaggatca tgtccaccac cacatgccaa gtggtggcgt tcctcctgtc catcctgggg 60
 ctggccggct gcatcgcggc caccgggatg gacatgtgga gcaccagga cctgtacgac 120
 aaccccgctca cctccgtgtt ccagtacgaa gggctctgga ggagctgcgt gaggcagagt 180
 tcaggcttca ccgaatgcag gcctatttc accatcctgg gacttcc 227

<210> 120
 <211> 69
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

20

<400> 120

Met Ser Thr Thr Thr Cys Gln Val Val Ala Phe Leu Leu Ser Ile Leu
 1 5 10 15

Gly Leu Ala Gly Cys Ile Ala Ala Thr Gly Met Asp Met Trp Ser Thr
 20 25 30

Gln Asp Leu Tyr Asp Asn Pro Val Thr Ser Val Phe Gln Tyr Glu Gly
 35 40 45

Leu Trp Arg Ser Cys Val Arg Gln Ser Ser Gly Phe Thr Glu Cys Arg
 50 55 60

30

Pro Tyr Phe Thr Ile
 65

<210> 121
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> künstliche Sequenz

<220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 121

40

aatgagagga. aagagaaaac

20

<210> 122

<211> 20

<212> DNA

<213> künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 122

atggtagaag agtaggcaat

20

<210> 123

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 123

Glu	Lys	Trp	Asn	Leu	His	Lys	Arg	Ile	Ala	Leu	Lys	Met	Val	Cys
1			5						10					15

10

<210> 124

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 124

Cys	Leu	Gly	Phe	Asn	Phe	Lys	Glu	Met	Phe	Lys
1			5						10	

20

<210> 125

<211> 23

<212> DNA

<213> künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 125

taatgatgaa ccctacactg agc

23

<210> 126

<211> 20

<212> DNA

<213> künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 126

atggacaaaat gccctacctt

20

<210> 127

<211> 22

<212> DNA

<213> künstliche Sequenz

40

<220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 127
 agtgctggaa ggatgtgcgt gt 22

<210> 128
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> künstliche Sequenz

<220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid 10

<400> 128
 ttgaggtggt tgttgggttt 20

<210> 129
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> künstliche Sequenz

<220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 129
 agatgtgctg aggctgtaga 20

<210> 130
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> künstliche Sequenz 20

<220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 130
 atgaagggtg attatttgag 20

<210> 131
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> künstliche Sequenz 30

<220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 131
 agccgcatac tcccttacc tct 23

<210> 132
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> künstliche Sequenz

<220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 132
gcagcagccc aaacaccaca

20

<210> 133
<211> 20
<212> DNA
<213> künstliche Sequenz

<220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 133
ctgagccgag aggtggaatc

20

10

<210> 134
<211> 20
<212> DNA
<213> künstliche Sequenz

<220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 134
ctctctcgct tacactggaa

20

<210> 135
<211> 14
<212> PRT
<213> Homo sapiens

20

<400> 135

Gln Trp Gln Val Phe Gly Pro Asp Lys Pro Val Gln Ala Leu
1 5 10

<210> 136
<211> 15
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 136

Ala Lys Trp Lys Gly Pro Gln Gly Gln Asp Leu Ser Thr Asp Ser
1 5 10 15

30

<210> 137
<211> 32
<212> PRT
<213> Homo sapiens

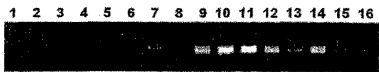
<400> 137

Asn Met Leu Val Thr Asn Phe Trp Met Ser Thr Ala Asn Met Tyr Thr
1 5 10 15

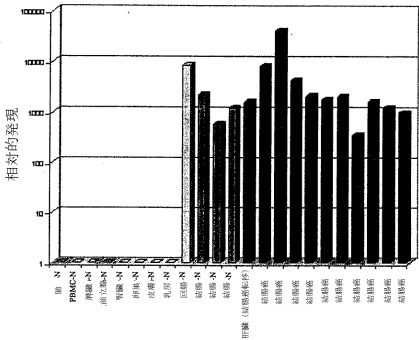
Gly Met Gly Gly Met Val Gln Thr Val Gln Thr Arg Tyr Thr Phe Gly
20 25 30

40

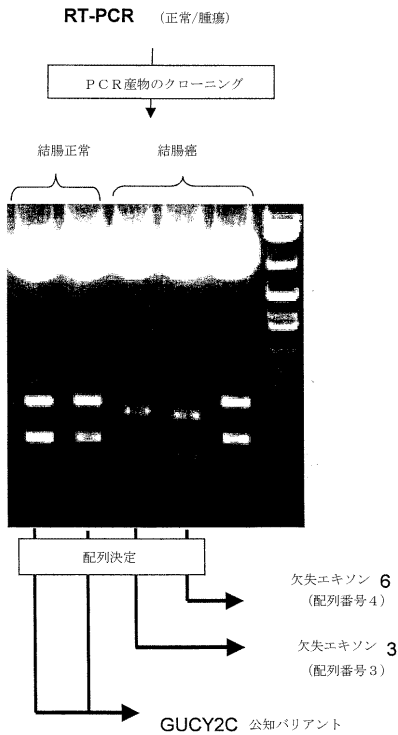
【 図 1 】
Abb. 1



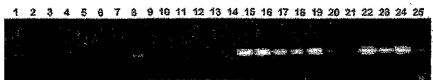
【 図 2 】
Fig. 2



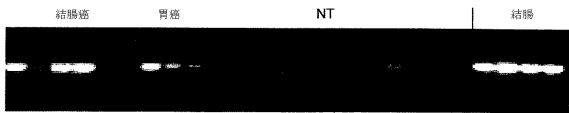
【 図 3 】
Fig. 3



【 図 4 】
Abb. 4



【 図 7 】



【 図 8 】
Fig. 8

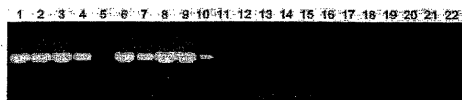


【 図 5 】

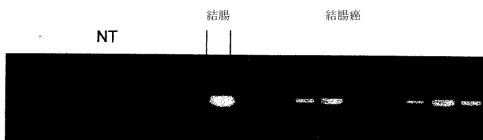
Fig. 5



【 図 6 】
Abb. 6

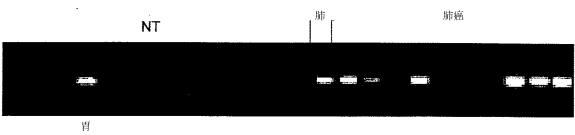


【 図 9 】
Fig. 9



【図 1 0】

Fig. 10



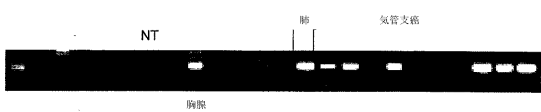
【図 1 2】

Fig. 12



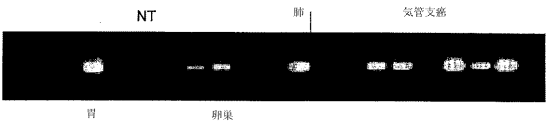
【図 1 1】

Fig. 11



【図 1 3】

Fig. 13



【図 1 4】

Fig. 14



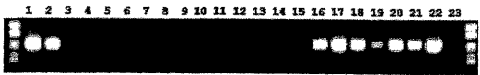
【図 1 5】

Fig. 15



【図 1 6】

Abb. 16



【図 1 7】

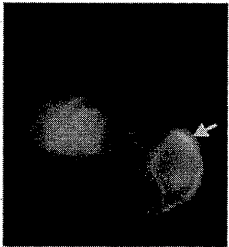
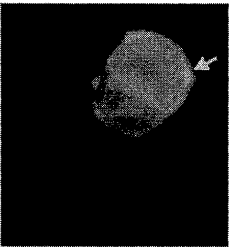


Abb. 17

Fig. 23

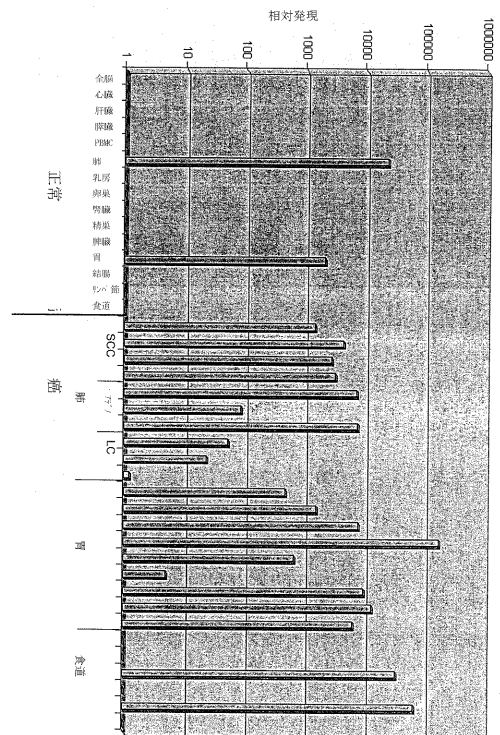
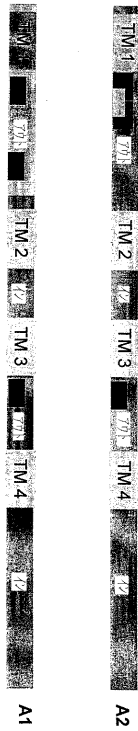


Fig. 22

潜在的グリコシル化部位



【 図 2 2 】

胃変異体			
配列名	位置	潜在的 Juvy N1yc-1 変異位	
配列	37	0.7218 (9/9)	++
配列	38	0.6502 (8/9)	++
配列	43	0.6828 (8/9)	++
配列	116	0.5743 (7/9)	++
配列	141	0.6348 (7/8)	++
配列	146	0.5187 (5/9)	++
配列	153	0.4686 (5/9)	++
配列	205	0.6011 (8/9)	++
配列	234	0.3960 (5/9)	+
配列	237	0.4802 (9/9)	-

肺変異体			
配列名	位置	潜在的 Juvy N1yc-1 変異位	
配列	38	0.7102 (9/9)	++
配列	116	0.5713 (7/9)	++
配列	141	0.5347 (7/9)	+
配列	146	0.5186 (6/9)	+
配列	153	0.4686 (5/9)	+
配列	205	0.5009 (8/9)	+
配列	234	0.3988 (6/9)	+
配列	237	0.4603 (6/9)	-

【 図 2 5 】

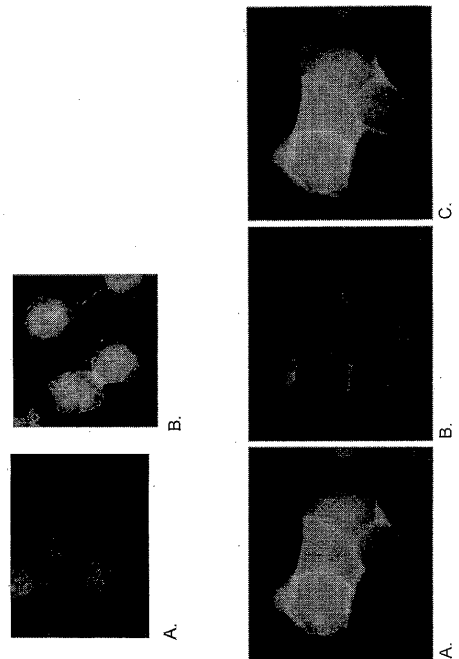
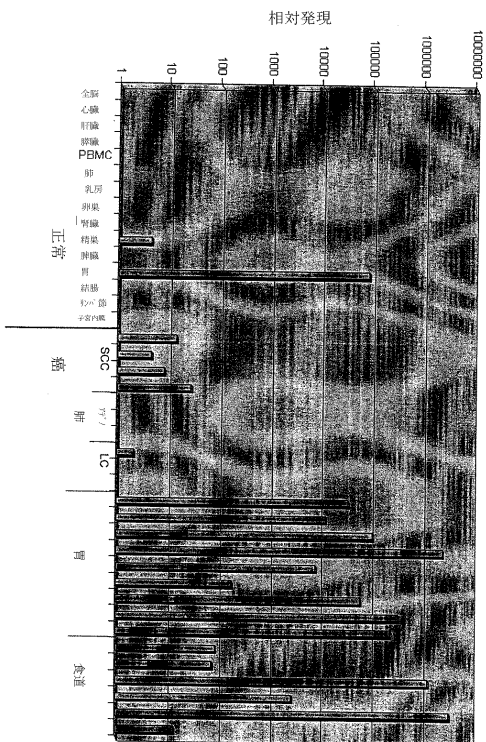


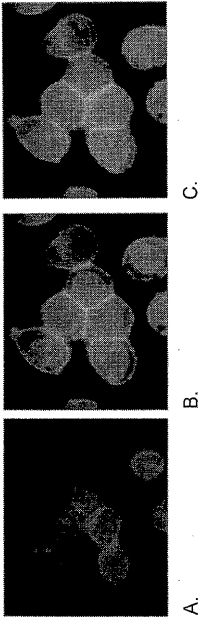
Fig. 24



【 図 2 4 】

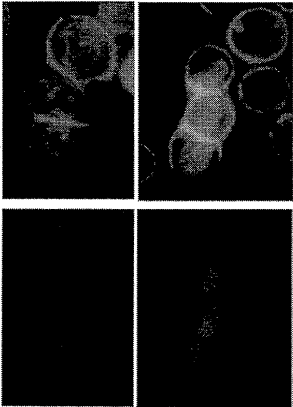
【 図 2 6 】

Abb. 26



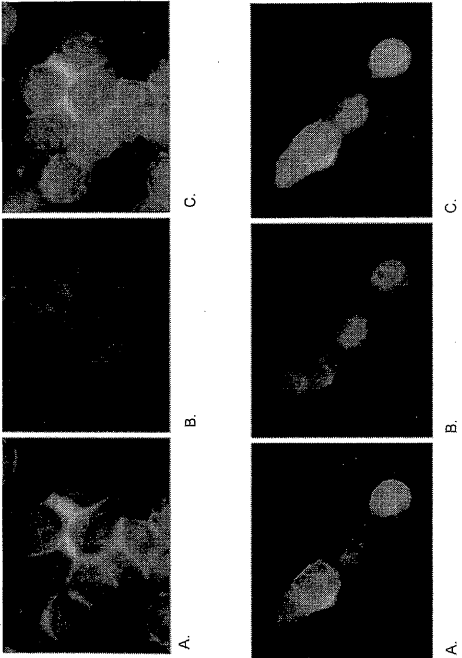
【 図 2 7 】

Abb. 27



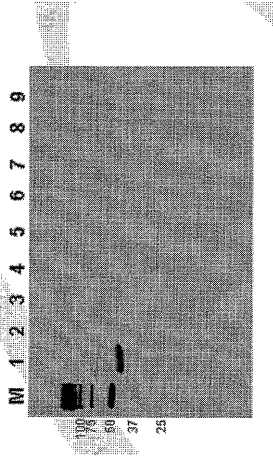
【 図 2 8 】

Abb. 28



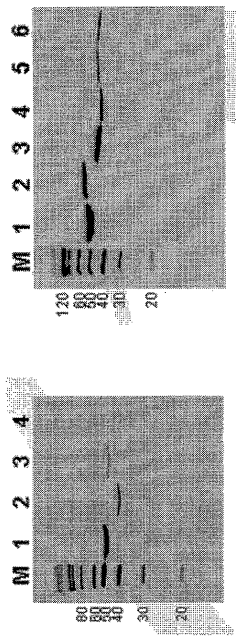
【 図 2 9 】

Abb. 29



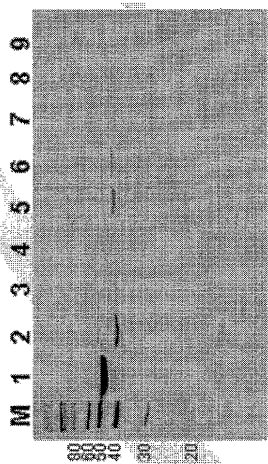
【 図 3 0 】

Abb. 30



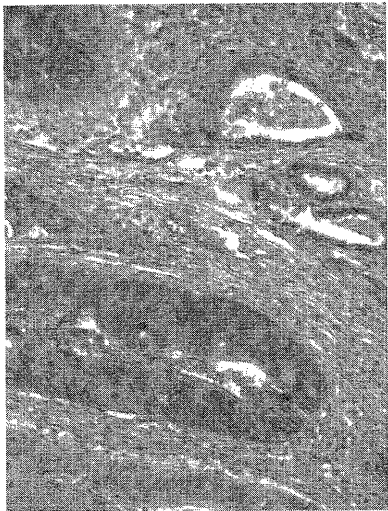
【 図 3 1 】

Abb. 31



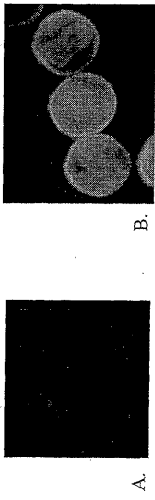
【 図 3 2 】

Abb. 32

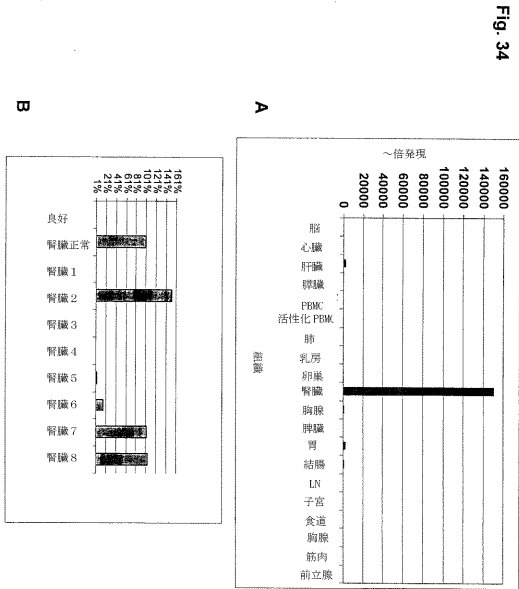


【 図 3 3 】

Abb. 33



【 図 3 4 】



【 図 3 5 】

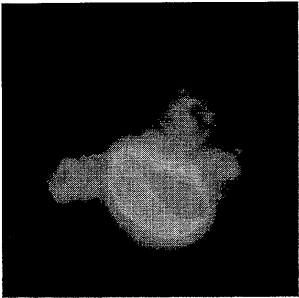
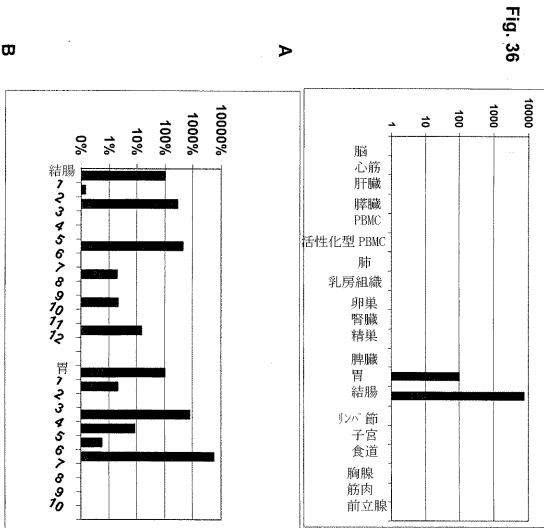
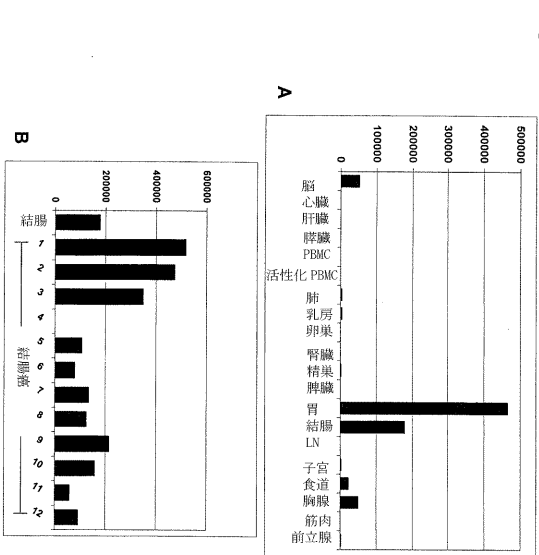


Abb. 35

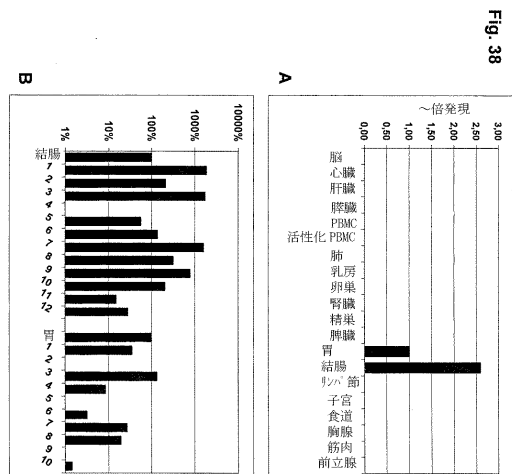
【 図 3 6 】



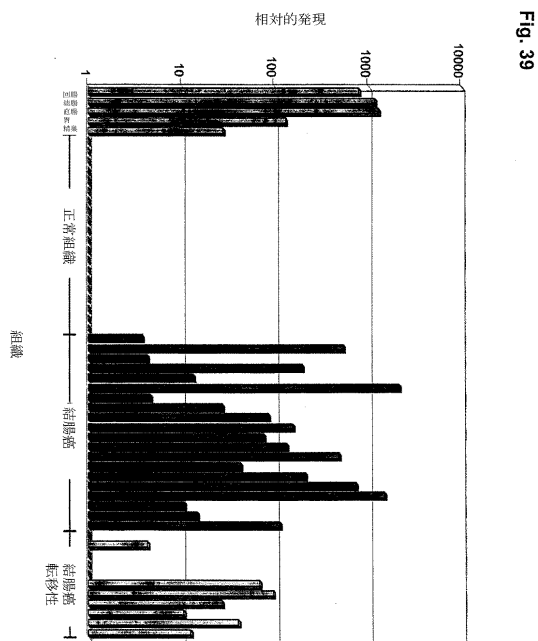
【 図 3 7 】



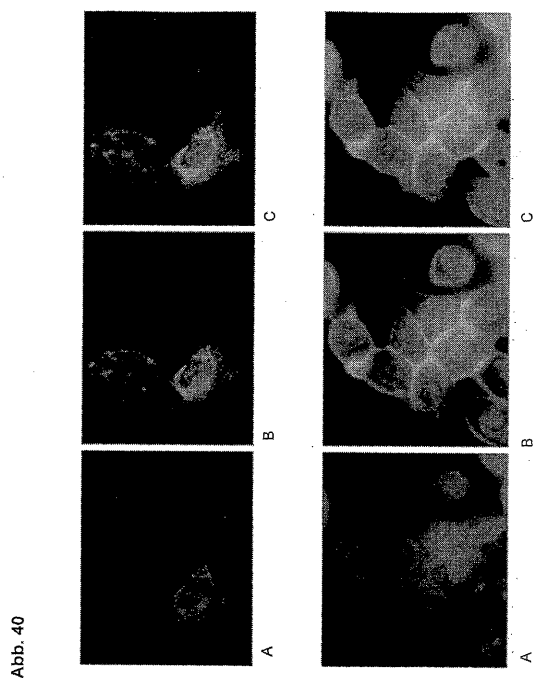
【 図 3 8 】



【 図 3 9 】



【 図 4 0 】



【 図 4 1 - 1 】

[illegible]

【 図 4 1 - 3 】

ACGTATTTTGGCTGATCCATTCATTTCACCTCAAAAAGAGACCTGTGGACAGCTCGAGAGCACTCCGCC
 AACGCAACCATCTCTCAAAGAAAGGCTGTGTACAGTATCTGGGATCATCGACAGGAGATCATCTCGGCAAA
 AGAACCTCTCTACACTTGAGCTGTGGGACCGGAATGAGGAAGTTTTCAGAGTGGAAATTCACATGGA
 ATGAAACTCTGCGCCGCAAGATTCTTTGGAAACGAGAGAGAAAGAGAGATGATAGATCTACTACTTGT
 TAAAACTCTGCTGAGGATCTGAGAGAAAGATGAGGATCTTTAAAAAATTTGAGGTCACTATCTGCCAA
 GATATTCTGCGACTTTCTTGATGACCAAAAATTTGAAAGCTTTGCTGATCTGCGAGCTTCACGGTCT
 TATTTCTGGAACCTGGCAACATCTGTAGAAAGAAAGGACAGACGTCTACAGCGCAAGAGGGGACGGCTGT
 ACAGACTTAACCTTATGTGTCTCCAAAGCTGTGGTAAAGCTCTCGAGGAAAGAAAGGCTTTGTGGAGC
 GGAACTATATGAGGAAGTACAGATCTACTTCAGTGACATTTAGGTTTGCTACTACTTCTCGAAATACAGC
 AGCTGATGAGAGAGTCTGAGGATCTGAGGATCTGAGGATCTGAGGATCTGAGGATCTGAGGATCTGAGGAT
 ATGCTACAGAGCTGGAAACCATCTGAGGATCTGAGGATCTGAGGATCTGAGGATCTGAGGATCTGAGGAT
 TCGGAGCTGAGATGAGATCTGGCAAGGATCTGGGATCTGGAATCTCGAGCTCTAGGGGACCTTTGAGTGGAG
 CATCTCTCGGCTCCCAATATGAGATCGGATCGGATCGGATCTGAGTCTCGCTGTGGTCTGGAGTTGTGG
 GAGATCAAGATGGCTTTATGTGTTATTTGGAGATAGCTGCAACAGCACTCTAGATGAGATACACTGTG
 TCTGTTTGGAGATCTGAGGATCTGAGGATCTGAGGATCTGAGGATCTGAGGATCTGAGGATCTGAGGAT
 TATGAGCTGAGGATGAGGATCTGAGGATCTGAGGATCTGAGGATCTGAGGATCTGAGGATCTGAGGAT
 AGAGCAGAGAAATTCACCTGCCACCGGCTCTGCTTGGAGATCTGAGGATCTTTCACAGCAAGATTC
 AGAGATAGTGGTGCACATCTTACAGAAAGAACGAGAGAGAGATGAAGAGCAAAAAGCCAGACGGGTA
 CGACGCTATAAAAAGGCACTGTGGAATATCTGACGTGAGTAAACACAGACAGAGAGACATATTTT
 AA

#3 ATGAGACGCTTGCTGTGGAGCTTGGCTTTTGTGCTACTGCTCTTCACGCGGGGTGGTCTCTTTAATT
 CCGAGTGAAGTCAAGACTAGCAATGCGCATGTAATACAGGCTCTCTGATGATGGCAACTCAGGCTCT
 TCGCAGAGCCCTGGAATAAATCGGAAGATCGGTGAGATCGGCTTGGAAATGTGAGAGAGAGATCTGCA
 ATGCTGGGCTTAAGTGTGACTGTGAGGACTCTCATCTGATATTTGGATGGTGGTCTCATCACTACCTCAGG
 ATCGCGGAGCTTACCTGTGAGGCTGCGACTCTTCGAGAAATTTTCCATTTG

#4 ATGAGACGCTTGCTGTGGAGCTTGGCTTTTGTGCTACTGCTCTTCACGCGGGGTGGTCTCTTTAATT
 CCGAGTGAAGTCAAGACTAGCAATGCGCATGTAATACAGGCTCTCTGATGATGGCAACTCAGGCTCT
 TCGCAGAGCCCTGGAATAAATCGGAAGATCGGTGAGATCGGCTTGGAAATGTGAGAGAGATCTGCA
 ATGCTGGGCTTAAGTGTGACTGTGAGGACTCTCATCTGATATTTGGATGGTGGTCTCATCACTACCTCAGG
 ATCGCGGAGCTTACCTGTGAGGCTGCGACTCTTCGAGAAATTTTCCATTTG

#5 ATGAGACGCTTGCTGTGGAGCTTGGCTTTTGTGCTACTGCTCTTCACGCGGGGTGGTCTCTTTAATT
 CCGAGTGAAGTCAAGACTAGCAATGCGCATGTAATACAGGCTCTCTGATGATGGCAACTCAGGCTCT
 TCGCAGAGCCCTGGAATAAATCGGAAGATCGGTGAGATCGGCTTGGAAATGTGAGAGAGATCTGCA
 ATGCTGGGCTTAAGTGTGACTGTGAGGACTCTCATCTGATATTTGGATGGTGGTCTCATCACTACCTCAGG
 ATCGCGGAGCTTACCTGTGAGGCTGCGACTCTTCGAGAAATTTTCCATTTG

【 図 4 1 - 4 】

[illegible]

【 図 4 1 - 3 】

[illegible]

【 図 4 1 - 7 】

#36 GATGAAGATTGACCAAGATTTC

#37 CAGCTTTGTAGTACTCTGC

#38 TGTCAACCAAGTGTGATAGC

#39 GGTGTGTGGTTTCACTGATTGGGATTGC

#40 CGGTTTGTAGTGGTTTCTTCGTGGT

#41

ctatggaagccaactcgtcagcagatacaaaattcttcagttaacotcttggtttatcttcgcgcat
attctctctcgtggttttccactctgtgtgttttcttaacctctgcgcactctctcccaacac
caaggaagagaagatgctgcatacaactctctgtgtgtgcgcacattcttgctcaagaagaa
atttgctctctcgttgtaacagctcttgctacctagttttaaattgtaccacttttgggtacat
gcctcttaagaagttggcatctgctatttctaagaatttccaactctgtaattgttggaatt
tatctgttttagaacacatctagaaaaattggatttgcaacagagaattctctctgaaat
gggtgatgtgtgtgtgtaaatctctgcatggtagcgcgggggtctatgcagacagcaact
ctttctctgtatgctgtgcagcaaacactcgcacggctgctgtgtgtatgcgcacttcgga
ggctgtatgctgcagcagctcatcaatgcaggaagagagctgcgcgcacacagatgactta
cttcaacggctgatacaaccaacggcagtgagaattgatgaaggtttatggactatggaaat
aaatgagggagagaagaagaacaaacagctccaggatcacatattgcacagaggaataat
ttcagagaaggtgggtgtggaagaaactcaggctgatacagaacaaattgcacacagaag
ggcgccactggcagcagtaaaacttaagttgtgtgcattgctactcttaacatttgctgtg
actgcacaaactaacctgtaactcccaactctgattcttgacagatttctaataacatg
ctatacctgaactgtgtgctccaattggatcattgttgaactttctctcccaacgtgc
ccttatactctatcactctctctggtctcgttcagttgctctctctcagattctgaatt
tttagaggtgttccaattgtgcacaaacaaacagctcccaaaaagactttgtctgcagtt
gattaaagcaagatatacaaaaagcttgggcataaagttatcaagaattttgacctcgt
cctctctctataatagctctctgatagtgttttgatgcagagaccggactttgtctctgttg
ctgtgcactttttcagatgacctgggttttgctacagatcaactgttgcttaacttat
agggctgctattctcttcttcccaagatgaacatcagtaaaactacaacctacaaggaa
aaattgtgcttttgtatactctccaagtattcttgaaagaaattccagctcatcagctc
ctgtgataatagacctctttgtgtggagaggttttgcctggcagctgtgtgtgagagatc
ctggtattatacctggtatgagaataaattatactctctgggtctataccagcagttgct
aataattctgatatctctcttgatggtgaactctttaaactgaggtagccacatccagc
tacaactacaactctttccccaattatactccattggccgaagacactcattgtggaacc
ctcttatactctgatacctctctactctctgttactcattgtaactctcttaacagag
taaaacccaattatactctctgtctcttatactcttgcctgtgctgctgagagagaa
agctggagattgtgtccaacttgggtgttgcctgtgctgttatgctgtgcattgttaactg
gatttacaacattgtgaacctatacaactcaactcttggtggctcgtctgatatgtagta
gacatgcgcataataagacaacaaattctgactattctgcggttaattcttggaagacatt
gaactgcgtatgtaaaagtgtgcgttaaaactaatgtagacacaaattaaacgcttatg
tgtgtgcgtgctgctgctgctgctgctgctgctgctgctgctgctgctgctgctgctg
tttgttatgtcagtgcaactaaagagacattctgctgtcctctcaagaagcccaactttt
gagattttgctctatgacaactctgcaactctgctctataagaataaattctaaactga
cctccaagaagattgagagatttttttcttactctacagtggaggtcaagttaacttata
aatgtcaatttatcttgaagaattctccatgaactaaagtagaaagaaactcaacttca
agttaaattgctgtaattgtagaataactattctgcattttgtgttcgaagaaacttga
aotcaaaagocctgtctcctgtgtgtagaagagaaaagttctataatctaatgatattgtc
ttctccatttaaaaaactccaaattggattattcttataattacatgatttataagaaattg
agatgcagaacatcataccaaatttatgtgtgtaataattcaaaataaacagaaagttacac
aaattgtattttttttttgaactctatgattgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgt
attggcaactagaagaaattttttttagatagattgataaaggtgtgctgattgtgcatt
ctattgatacagttattgtagaagaaagctgaacataataaaactataaacattttatctat
ctatatagtagacaacattctgttaagtgtttttattctattgttcgaagaaactaatgtctat
tgttaaaaataaagagatgataacataaaagattatcaacgtgtatcagacagacaaa
ctcttataaact
gaataacgaataaagagctctgaacttttgcaaaacagaaataaaataactttggaatactt

【 図 4 1 - 9 】

[illegible]

【 図 4 1 - 7 】

[illegible]

【 ㊦ 4 1 - 1 1 】

TTGGGCTGGTAAATGAGAAATAATCTCTCAAGACGAAAGTACATGCCCTTTCTCGACTGGAGCTTTC
CTCTGGAAGAGGGGAGTAAGCTGCAGGGGCAAGGAAGTGAAGTGGGGCATCTGTGCTCTGTCTCGACAGCA
GCCACTGCTGCAGCTGCTCTCTCAACTCTTCTGATTCCCAGCTGAATATAAAGCAAGGACACAA
TCCACACTTCCACACAGCCGACGAGTGAATCCAGGACCCAGGTGAGCTGTGTAGTGGAGCTGAGCC
CCTATCTCCAGTGCAGTGCAGTGCAGTGCAGTGCAGTGCAGTGCAGTGCAGTGCAGTGCAGTGCAGT
CTCAGACAGCATTTGGTGAATACATGCCACTTCTGGTGAAGATGTGACAAATATCTCTGAGAGCTG
GGGGGTGGTGGTAGAATCTCAGAGCGATTGTGCTCTGCACAAATGTTTATATAGGACACAGAGCGCC
CCAGGGCTATACATTTTCCCTGAAGCTTTTCAAGATAGAGCAAGGATGAGACAGCTGTATGTGTCGGAAG
TGATGTTTAAATATATATCAATTTTCAATCTTGGCTGGTTCAGTAAGCTGCAGCTTTCTGTCTCTCA
CTGTGATATAGTGCAGTGCAGTGCAGTGCAGTGCAGTGCAGTGCAGTGCAGTGCAGTGCAGTGCAGT
TGTGTATGTGCGCCATGAGAGTCCGATCTTCACTTACACTCAGTTTATAGGATATATAGCTGTATATATAG
ATATGAAATCTCTGACAGTATTTTGTCTCTTCAAGTCAATTTAGTATATAGGTTATAGTGGCTAT
TGTTAAGCTCAGATTCAGACCGCCAGAAAGATGACTCTAGTAAGATGAACTGAAGACAGAGACTCAG
CTGCTCAAGCTTCTGAGTGCAGTGCAGTGCAGTGCAGTGCAGTGCAGTGCAGTGCAGTGCAGTGCAGT
CTACACAGCAAGTGCAGTAAGACAGAAAGACTGAGTGCAGTGCAGTGCAGTGCAGTGCAGTGCAGTGCAG
TATATGAAGATGGAAGCTCAGATGACGAATATGTCATCTCTGACAGGAAGCGCTGTATGATACGA
AGCTGCAAAATGCTTATTAATATCCCGAAGTGGCGCGCATGTGGTGCATCCACCTGTATATCCGACGA
TCTTGGGAACAGCTGGTGGGGGATCTCTCCAGTGCAGAGTTCTAGACCGAGTGGCCACATATATGAA
CTGCTCTCTCAAT
TGGAGAGCTGAGGACAGAAATCACTTCAAGGAGGAGGAGGAGTGCAGTGCAGTGCAGTGCAGTGCAGT
ACTCCAGCTGGGACAGCAAGCTCTCTCTCAAAATATAATAATAATAATAATAATAATAATAATAATA
AATC

#54 CCGGGGAGAGAGAGAGAGCGGCGGAGACTCGAGCTCCGAGCTTGGCATCTGCAGTCTTGCCCTCT
GACACTGGGGAAGATGGCGGCGGCTGCAGCTCTACCCCTCTGTGGTGTCTTCTGGACGACAGCTATGTCCAA
CGACCTCATCGCAATCGAGCTTGATCTTCTGGCCCAAAAGTCAATAAGAAAGAGTGCACAGGAGGTGA
AGGACCAACAGCGCAGCTAGCATCTGTGCAGACGCTGGCTGTCTGAGTGCATCGGGGAAAGCTCGCGAGG
CTGCTCTGGT
ATCTCCCTGACTCAGTGGAGTCTTCTTCTGACAGTGCAGTGCAGTGCAGTGCAGTGCAGTGCAGTGCAGT
CTGGATCTCACACGGCTCTGTGCAAGCAATCTGGTAGGATCCAGTACGACGTGAGGCGCAACGACCATCTG
CATGAGCACAGTGCAGTGGCCGCGCCGCTGCTGCTGAGTGTCTGCCACAGGCTGGAGCTGGCTGGCT
ATCCACTGCTGCTATAGCTCTGTCTGCTGAGGCGCTTACGTAGACAGTGCATGAGTGCATGCTATGCTATG
CTGCTCAATCTCTG
CTGTCAGCTGG
AAGGCTGACACATCTCAGCTCTCACTGGGCGCAAGTGTGGATCAAGGCGAAGGTGACAGTGGTGGTGA
ATATACCTGACGCTCTGGTGAACATCGGCGGCTGGACACATCCGCTGACGCTATCTGATGAGTGCAGAGG
CTGCTGAGTGGT
ATGTCGGCTTGGCTGAGTGCAGTGCAGTGCAGTGCAGTGCAGTGCAGTGCAGTGCAGTGCAGTGCAGTGCAG
TGTGGAGATCTGAACTCAGACAGCTCCGGCTTTTATGACAGCGCCAGCTGGCAAGTGGCCCACTGAT
CTGTGCTGGAGTGTCTCTCTCAGTGCAGTGGCGCTCGCCCTCTGTACGCTCTGGGCTATGAGCTGCAGT
CTG
CTG
CTG
AGATGTCAGCATGGTCTTGGTGAATCCAGCAATCTCCCTGAGGAGCTGCACAAATTTCTGCTTGAAGGACTG
GCCCTCCCTCAATGAGTCTCTTGACAGCATCTCAGGAGTCTGAAATAAATCTGGCTGAGTGTGTTCA
GGGCAAGCTGCTGCCCTCTGCTCAATGAGGTTGAGAGTCTGAGCATCACCTGCTGCATGAGTCAATGAT
CTG
CTTCCAGTGCAGCTTGTGATGGCAGCATCAGGAGAGAGTGGTGGCGAGTGGGAGTATGGGTGTGAGCTCTATA
GAGCTCTGCTCTG

#55 GGAGTGGGGGAGAGAGGAGACAGACAGCATCTGAGACATCTAGAAGATCAGATATAGAAGCAAGAT
TGTCAAACTGGGGGCGCTCATGTCTCTACAGGGCTTTTAGGCCACAGCTGGCCGAGCTTGGAGGAGCTGGCC
CGCTGCTGGAGCTG
CTGTGCAAACTGGCTCAGACATGGCTCTCTCTGGGGCGCTCTGGGCACTCTGGTAAAGCTCTGCCTCTCT
GGACATCTGAGCTGAGCTGAGGAGGATCTCTGTGGTGCTCTGGGGAGGCTCTGGAAAGATGAGCTCAGT
ATTCCTGGGCTGACACACATCATGTGACATAAAGTCTGACATGCCCGCAGCTCTGGAAGCTTGGCTCTGTGAC
CGGCTGATGGGCTGAGCTCTGATGACCATCTCTGCGATTAAGTCCCAAGTGAATGCCCTCTGGCTGGTGG
CTG
AGATGTCAGCATGGTCTTGGTGAATCCAGCAATCTCCCTGAGGAGCTGCACAAATTTCTGCTTGAAGGACTG
GCCCTCCCTCAATGAGTCTCTTGACAGCATCTCAGGAGTCTGAAATAAATCTGGCTGAGTGTGTTCA
GGGCAAGCTGCTGCCCTCTGCTCAATGAGGTTGAGAGTCTGAGCATCACCTGCTGCATGAGTCAATGAT
CTG
CTTCCAGTGCAGTCTGCTGAGCTGGCCACTGTGCTGGAAGTGCACAGTGCAGTGCCTCTCTCTGAGGAGAC
CCCTCTCTCTTCCCAAGAGGCTGTGTAAACATCCATGTGCTCAGCTTAATAATATGCTCTCTCTGCGAA
AAAAAATAAAAAAATAAAAAAATAAAAAA

[illegible]

【 ㊦ 4 1 - 1 3 】

[illegible][illegible]

【 図 4 1 - 1 5 】

[illegible]

	<p> gaaagccacgaacctttatgcagatgccacagttatcaaggcaggagccaaacatgggtgaag attcatatgcggaggaggcgcatctctctctgaggtcgaaaacattactggtctggatcgct gctctcatatgggtgcagagatgattctccagctcttactacacgaaggacatctggggagcat agggtgcagacacggctgctcaagctctctctctctctctacacgcgagatctgtgtatagacata tccagctctactctctgtgtactctgggtgattctcccccagccagacagatgacgtgctctgt ccaaaggacacagattgtgtccacagactccaaaggacacacagacagatgacgtgctctgt atgtggagatgattctctgacgtcccaaaggacgcggggagcatctctctgtccatcgctc atgctcatctggcgcagagggtggaatccagggtacatgatagagatcaactctttcttg ctabatctgagccatcggtcccaaaagtacagggaatcatctgtctggcctattcttttgc ctgtctggagcatgagattctctctccaaagctgagctctgtaagcagagagaaagacac ggggcggctgctctattcattctccaaaggagcaggtctcagatgctctccatctccatct ctgctctctctctctctctgctctgagctccaggggccaaaggcccaaaaagaaaatcgct cgggaaacagctggaggaagaagaacgagcagcagcagatctgagagcgcggcccaacac gcagctggagggagctctggatcccaagagctgcacccagaagctctgctgtcttctgatctg ctgtctgaacacacaaaagagctcccccagctccagctccctccagagagagacttaca aggaagagctgtggctgctctctcagagttctccaaaggaggaagaactatctggagctgggac ggagacacacaataaaaaggtgcgcgctggaggtctggccggagatctgtggacaggaggaag gagtcagctgagttctctcccatcatctgggtactgggtctccagactgagtagagagaact tgtatctcatttaataaactccgctcttatccagctctctcccccagagccacatcaaaaa atagggtctctctccatcatctgagttgggacacactctctctctctctcaataaagtaggac tccctctatttatactccgacatctggtttgaaggtctgttagggccatcaatgagatct cgctctctaatagagcaaaaatgaaactcccatctgctcatctgccactcaccacagatca gagaagaaggagctcttgccaagaaggctctctgcaatccagacagacagacagatgattcc tctctccacagaaacacagcctctctcccccagggttgaaatctagatgtacacatctcc acatctctttcttgagattataaggtctctctccagctcccaagctccagctccggagac ccaaagtggtctccagatgaaggggagactggcctctccacatggagctcaggtctctatggt ctcgctctgagctggaggaggaaggagctcgacatcattattggtctctccatccatct ggctaaagtatgcttgtaataacacactctcagtggaagcagctccaggagatcccatctcca caggtctgtggtgtgatttaagtacagaagaagattgataatgctgacatgattatgtg scagagtggtctctcattatggtttgtctattatcacactctcgttcaaaaanaaaaaa aaaaa </p>
#55	<p> maalmilvlslklkpgwgqvfsgpdksvalvyedaaefclapktnasmevffrgsg svhlyrlidrgdflmpqpygqctklkvidsleagrlinlenlrvldagpyrlisg yykklmlqwlsvagpvlslstgvyvdrqilqlcsgwgfprptaikwkgpggqldatdr tnrhmjldfveislstvgenagaiscmznhrlsreversyrgtfgtfeplshvllk gilvcllcfkfglklfkfkqkcrreapafmvnpgatpmpasphailvlvaer gwpglknpqgylglekktqrlgrrerastgddagsgagseallr </p>
#56	ATT CAT GGT TCC AGC AGG AAC
#57	GGG ACA CAA GGT CAG CTA CTC

#88	TCTCTGGTGTCTGTGGTCTGCTT
#89	GAGAGTCTCTGGCTTTTGTGGGC
#90	GSSDLTWPPAIKLG
#91	DRYVAVRHPLRARGLR
#92	VAPRAKARKSQSLC
#93	CFSTRNRHNSMR
#94	MNGTYNTCGSSDLTWPPAIKLG
#95	RDTSDTPLCOLSQG
#96	GIEQGEGCFRSTRNRHNSMRFP
#97	AKETGEASALAVAPRAKARKSQSLCVTLA
#98	TCGCTGCTGCTGCTGCTGCTGAT
#99	TCGCTCTTTTGTGCTATTGCG
#100	HNGSYSEIVLMMGNS
#101	NLPPTPTVENQORLA

【 ㊦ 4 1 - 1 7 】

#102	RYRKDYLDTQDYNHIFPNI PFLETNE NVHS LKTDODKRRDTI QRLAQCKYDKRVLVLDLKHNDEN FKYCKEILNKGLQWISHLTKFYGVKLTIMIFGVGIEYCGSLRSLVMDTISYFDGTFMDWEKFSYLV YUIAKGMS LKSTCTEVBGR LKSCNVCVDSRMVVKTFDGCNS LIPPKDLMTAPEH LRQANISQKGDVY SYGIAQEILARSTTYTISCRDMENKIFRVNSNGMKFPBDFLPELHLEVLVLVNVNWEDEPKR RDKNKEPTLAKI FGLHIDQKSNEMOTILRLGLQYSNRLHEVSEYQTYKAERDADRNLNEMLLPR VVKSLKEGFEVPELVEVYITVDSIDVGTITKYSTPMVEYMDLADYKSFDRDIDVHDVYKVFETGDA YVWAGSLPKRGNRHAIIDAKMALELISFMGTLEHLHGLPIFIRIYGHVSGSPCAVGVGIMERYCLFG DCTGTASMSLGLPIRHYVSGTILAKRKEQTEVYRGVETGYLKGNGNTTMYLTKMDKQDNLPTPEP TVNQDLQAGQKQSDIOMSLRSGKQAGRAJLSPQTRFVAS YKGTLELITDITREESTYF
#104	GAGAAATGTGTTCCAGAGGCT
#105	LINKVPLVPVKIAPL
#106	SEAVKKULELASHLV
#107	TGTTTCAACTACAGGAGGC
#108	TGTTGGCTTTGGCAGAGTCC
#109	GAGGCAGAGTTCCAGCTTACCAG
#110	TGTTGGCTTTGGCAGAGTCC
#111	TGDMHWSQDLYNNPVTSVQFYEGSLRSCVRSSSGFTCFYPIFLGLPAMLQAVR
#112	DQWSTQDLYNNPVTAFFNVQGLMRSCVRSSSGFTCEGRYFTLL GLPAMLQAVR
#113	TGQLYNNPVTTAV
#114	DQWSTQDLYNDP
#115	CRYPYTLIGLPA
#116	TNFWMTNMMYTG
#117	cgacagatca tgcacaacac cacatgcgca ggtggtggct tctctcgtc catctcggg ctcgcgcgct gactcggcgc caccggatga cagatgtga gaaccacga cctgtacagc aaacccctca ctcctcgtgt cactatgca cagatgaaga gggctcgcgt gagccagagt ctacggctca ccgaatgatg gccctattc acaatcctgc gacttcacg acttcacgc gaatgcgcgc cctcgtgatg ctgtagcagc gctcctggct ccatcggctc ccgtgatcc atctctggcc tgaattgat cagatgcgt acgtatggcg actctgcgaa accgcacatc cgactgcgt ccgatgatg gttcattct tcaagtcctt gcaagatct tggagtgtct gtgtttgcca acatgtgct gactaacatc tggatgtca cagctaacca tgaaccgcg atgggtggga ttgtgcagac tgttgaagc atgtacaact ttgttggcgc ttgtctgtc ggctggatcg atygagcct caccataact ggggggtgtg tgaatgtcgt ccgcctgcgc gctcggcgc cagagaaacac caactacaa cagctgcctt acatgcgtcc gacccaacac gttcgaatca accgatggag cctcaagcgc agcatcgct ttgtgtcca cagcaaaaac aagaagatat acgatggtag tgcgcgca gacagaggag tacacatctt tctcttcag cacagatcat ttaatgctc taagcactct cagcac
#118	MTSTTCQVAFLLSILGLAGCIATAMDMMSQDLYNNPVTSV
#119	QYBGLMRSCVRSSSGFTCECRYPYTLIGLPAFLMIVGILVGAIGLSLVIFALK CIRIGMSEKASAMNTLTSIGMIEVSGLCATGVSVFPAFLNFWMSMTAMTGMG BVQTVQRTTGTCAALFVQWVAGLILGLGVMMCIKAGNAPLSTYKAVSHAGSNG QYQGTGASTGQYGSNTKMKELVGCATCTDEYGVSEKRDY
#120	cgacagatca tgcacaacac cacatgcgca ggtggtggct tctctcgtc catctcggg ctcgcgcgct gactcggcgc caccggatga cagatgtga gaaccacga cctgtacagc aaacccctca ctcctcgtgt cactatgca cagatgaaga gggctcgcgt gagcagatc ctcgcgtca ctcctcgtgt cactatgca cagatgtga acatcgcgt gactctc
#121	MTSTTCQVAFLLSILGLAGCIATAMDMMSQDLYNNPVTSVQYBGLMRSCVRSSSGFTCECRYPYTL
#122	RAATGAGAAGAGAAGAAACAT
#123	ATGATAGAGAGATAGGAAT
#124	EKNMLKRLALDMVC
#125	CLGPFKEMK
#126	TAAATGATGAACCTCACTAGGC

```
#126 ATGACCAATGCCCTACCTT
#127 ACTGTCTGGAGAGATGCTGGT
#128 TTGAGGTGGTTGTGGGTTT
#129 AGATGCTCTGAGGCTGTAGA
#130 ATGAGGATTGATTATTGGAG
#131 AGGCACATACTCCCTACCTCT
#132 CGAGAGCCACCAACACCTA
#133 CTGAGCCGAGAGGTGGAACT
#134 CTCTCTCGCTTACACTGGAA
#135 QWVGFGDKPVFVAL
#136 ARWKPGCQLETPS
#137 NMLVTFNFMSTANMYTQMGVMVCTVTRSYFG
```

【手続補正書】

【提出日】平成17年7月19日(2005.7.19)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】配列表

【補正方法】変更

【補正の内容】

【配列表】

2006516190000001.app

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT						International Application No. PCT/EP 03/13091
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER						
IPC 7	C12N15/11	A61K39/395	C12N5/10	C07K14/47	C07K16/30	
	C07K16/32	A61K48/00				
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC						
B. FIELDS SEARCHED						
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)						
IPC 7	C12N	A61K	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)						
EPO-Internal, PAJ, WPI Data, EMBL, BIOSIS						
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT						
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages				Relevant to claim No.	
	- / - -					
<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			"a" 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			Date of mailing of the international search report			
13 September 2004			12. 10. 2004			
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.O. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 851 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016			Authorized officer Lechner, O			

10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.
PCT/EP 03/13091

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 99/64452 A (SMITHKLINE BEECHAM CORP) 16 December 1999 (1999-12-16)	1-5, 7-16, 20-22, 24-27, 29, 32-35, 37-39, 44, 47-50, 53, 55-60, 64,66, 74-81, 83,84, 86-89, 95,98
Y	the whole document	1-72, 74-81, 83-98
X	----- US 6 235 481 B1 (ODA NAOHISA ET AL) 22 May 2001 (2001-05-22) column 79, last paragraph - column 80, paragraph 1; example 4	74,80, 81,83-85
X	----- WO 02/061087 A (ROUSH CHRISTINE L ;BROWN JOSEPH P (US); BURMER GLENNA C (US); LIFE) 8 August 2002 (2002-08-08) paragraph [0129]	74,75, 83,84
X	----- WO 02/14500 A (SCOTT ELIZABETH M ; SUDDUTH KLINGER JULIE (US); CHIRON CORP (US); HYSE) 21 February 2002 (2002-02-21)	1-5, 7-16, 20-27, 29-39, 44, 47-50, 53, 55-60, 64,66, 71,72, 86-89, 95,98
Y	abstract; claims 19,23 page 267 page 409 page 486 page 505 page 614 page 646 page 661 page 680 page 684	1-72, 86-98
Y	----- -/--	1-72, 86-98

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 03/13091

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 01/75067 A (HYSEQ INC ; LIU CHENGHUA (US); TANG Y TOM (US); DRMANAC RODOJE T (US)) 11 October 2001 (2001-10-11) abstract; claims 27,28 -----	1-72, 86-98
Y	BARANOVA^A A V ET AL: "In silico screening for tumour-specific expressed sequences in human genome" FEBS LETTERS, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, AMSTERDAM, NL, vol. 508, no. 1, 9 November 2001 (2001-11-09), pages 143-148, XP004322294 ISSN: 0014-5793 page 147, left-hand column page 146, right-hand column, last paragraph table 3 -----	1-72, 74-81, 83-98
Y	WO 01/27257 A (TRUSTEES OF THE UNIVERSITY OF) 19 April 2001 (2001-04-19) the whole document -----	1-72, 74-81, 83-98
Y	WO 01/62920 A (CORIXA CORP) 30 August 2001 (2001-08-30) the whole document -----	1-72, 74-81, 83-98
Y	REITER Y ET AL: "peptide-specific killing of antigen-presenting cells by a recombinant antibody-toxin fusion protein targeted to major histocompatibility complex/peptide class I complexes with T cell receptor-like specificity" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE, WASHINGTON, US, vol. 94, April 1997 (1997-04), pages 4631-4636, XP002967291 ISSN: 0027-8424 abstract -----	90-94
P,X	WO 02/103028 A (BIOMEDICAL CT) 27 December 2002 (2002-12-27) page 41, paragraph 8 -----	74
A	O'DOWD B F ET AL: "Discovery of Three Novel G-Protein-Coupled Receptor Genes" GENOMICS, ACADEMIC PRESS, SAN DIEGO, US, vol. 47, no. 2, 15 January 1998 (1998-01-15), pages 310-313, XP004449298 ISSN: 0888-7543 page 312, left-hand column, paragraph 1 ----- ----- -/--	1-98

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP 03/13091

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	<p>ENGBERG J ET AL: "RECOMBINANT ANTIBODIES WITH THE ANTIGEN-SPECIFIC, MHC RESTRICTED SPECIFICITY OF T CELLS: NOVEL REAGENTS FOR BASIC AND CLINICAL INVESTIGATIONS AND IMMUNOTHERAPY" IMMUNOTECHNOLOGY, XX, XX, vol. 4, March 1999 (1999-03), pages 273-278, XP000991083 abstract</p>	90-94
A	<p>----- KOSLOWSKI MICHAEL ET AL: "Multiple splice variants of lactate dehydrogenase C selectively expressed in human cancer" CANCER RESEARCH, vol. 62, no. 22, 15 November 2002 (2002-11-15), pages 6750-6755, XP002284383 ISSN: 0008-5472 abstract -----</p>	1-72, 74-81, 83-98

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

EP03/13091

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 supplement sheet ISA/210

2. ☒ Claims Nos.: 1-3, 7, 9, 27-32, 56, 71, 72, 86, 87, 93, 94 (partly)
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 supplement sheet 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:

See supplement sheet

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☒ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

1-72, 74-81
83-98 (all in part - only as far as relating to inventions 1 and 11 respectively)

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.:

Remark on Protest

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

EP03/13091

Box II, 3

1-72, 74-81, 83-98 (alle teilweise nur insoweit dass sie Erfindungen 1 bzw. 11 betreffen)

Continuation of Box I, 1

Although claim 57 relates to a diagnostic method carried out on the human or animal body, the search was carried out and was based on the stated effects of the compound or composition.

Although claims 56 to 72 relate to a method for treatment of the human or animal body, the search was carried out and was based on the stated effects of the compound or composition.

Continuation of Box I, 2

Claims nos 1-3, 7, 9, 27-32, 56, 71, 72, 86, 87, 93, 94 (in part)

Claims 1-3, 7, 9, 27-32, 56, 71, 72, 86, 87, 93, 94 are unclear within the meaning of PCT Article 6 since they concern compositions, agents or cells defined only by the following desirable functional properties or characteristics: a) agent that inhibits the expression or activity of a tumour-associated antigen; b) agent having tumour-inhibiting activity; c) agent which induces cytolysis, a reduction in cell growth, damage to the cell membrane, or the secretion of cytokines; d) agent which, on administration, selectively increases the amount of complexes between an HLA molecule and a tumour-associated antigen or a part thereof; e) agents which each selectively inhibit the expression or activity of different tumour-associated antigens, are each selective for cells which express different tumour-associated antigens or increase the amount of complexes between HLA molecules and different tumour-associated antigens or parts thereof; f) cells which express an abnormal amount of the tumour-associated antigen or a part thereof; g) agent which binds specifically to the nucleic acid coding for the tumour-associated antigen or the part thereof, to the tumour-associated antigen or the part thereof, to the antibody or to the cytotoxic or helper -T-

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

EP03/13091

cells; h) agent that binds specifically to a protein, a polypeptide or a part thereof.

The lack of clarity is such that it is impossible to carry out a meaningful search covering the entire range of protection sought. Therefore the search was directed to those parts which appear clear in the above sense:

For claims 1, 2, 56, 71 and the above-mentioned claims dependent thereon: products of claims 4-6, i.e. antisense nucleic acids, tumour-associated antigens and (complement-activating) antibodies specific to tumour-associated antigens.

For claim 7 and the above-mentioned claims dependent thereon: the agents listed in claim 8.

Claims 86, 87, 93 and the above-mentioned claims dependent thereon: antibodies (see claim 88).

The applicant is advised that claims relating to inventions in respect of which no international search report has been established normally need not be the subject of an international preliminary examination (PCT Rule 66.1(e)). In its capacity as International Preliminary Examining Authority the EPO generally will not carry out a preliminary examination for subjects that have not been searched. This also applies to cases where the claims were amended after receipt of the international search report (PCT Article 19) or where the applicant submits new claims in the course of the procedure under PCT Chapter II. After entry into the regional phase before the EPO, however, an additional search can be carried out in the course of the examination (cf. EPO Guidelines, Part C, VI, 8.5) if the deficiencies that led to the declaration under PCT Article 17(2) have been remedied.

The International Searching Authority has determined that this international application contains multiple (groups of) inventions, namely:

1. Claims 1-72, 74-81, 83-98 (all in part)

GPR35 and fragments thereof coded by SEQ ID No. 1 (nucleic acids), SEQ ID Nos 9, 10 (protein), SEQ ID Nos 90-93 (GPR35

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

EP03/13091

peptides), SEQ ID Nos 94 to 97 (predicated extracellular domains of GPR35)

- a) pharmaceutical compositions or agents which contain or inhibit this tumour antigen and method which uses these pharmaceutical compositions, etc. for diagnosing or treating a disease (cancer) distinguished by the (abnormal) expression of the tumour antigen;
- b) specific antibodies to the tumour antigen or tumour antigen fragment bound to MHC molecules;
- c) nucleic acids or proteins which code for the tumour antigen;
- d) host cell containing a tumour antigen-specific nucleic acid;
- e) conjugate between the agent in a) or the antibody in b) and a therapeutic or diagnostic agent;
- f) kit for detecting the (abnormal) expression of the tumour antigen;
- g) recombinant DNA molecule comprising a promotor region derived from a nucleic acid coding for the tumour antigen.

2. Claims 1-72, 74-81, 83-98 (all in part)

GUCY2C and fragments thereof coded by SEQ ID No. 2
(nucleic acids),
SEQ ID Nos 11-14 (protein),
SEQ ID Nos 100, 101 (GUCY2C protein fragments),
SEQ ID No. 102 (predicated extracellular domains of
GUCY2C)

- a) pharmaceutical compositions or agents which contain or inhibit this tumour antigen and method which uses these pharmaceutical compositions, etc. for diagnosing or treating a disease (cancer) distinguished by the (abnormal) expression of the tumour antigen;
- b) specific antibodies to the tumour antigen or tumour antigen fragment bound to MHC molecules;
- c) nucleic acids or proteins which code for the tumour antigen;
- d) host cell containing a tumour antigen-specific nucleic acid;
- e) conjugate between the agent in a) or the antibody in b) and a therapeutic or diagnostic agent;

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

EP03/13091

- f) kit for detecting the (abnormal) expression of the tumour antigen;
- g) recombinant DNA molecule comprising a promotor region derived from a nucleic acid coding for the tumour antigen.

3. Claims 1-73, 75-82, 84-98 (all in part)

SEQ ID No. 3 (nucleic acids)

- a) pharmaceutical compositions or agents which contain or inhibit this tumour antigen and method which uses these pharmaceutical compositions, etc. for diagnosing or treating a disease (cancer) distinguished by the (abnormal) expression of the tumour antigen;
- b) specific antibodies to the tumour antigen or tumour antigen fragment bound to MHC molecules;
- c) nucleic acids or proteins which code for the tumour antigen;
- d) host cell containing a tumour antigen-specific nucleic acid;
- e) conjugate between the agent in a) or the antibody in b) and a therapeutic or diagnostic agent;
- f) kit for detecting the (abnormal) expression of the tumour antigen;
- g) recombinant DNA molecule comprising a promotor region derived from a nucleic acid coding for the tumour antigen.

4. Claims 1-73, 75-82, 84-98 (all in part)

SEQ ID No. 4 (nucleic acids)

- a) pharmaceutical compositions or agents which contain or inhibit this tumour antigen and method which uses these pharmaceutical compositions, etc. for diagnosing or treating a disease (cancer) distinguished by the (abnormal) expression of the tumour antigen;
- b) specific antibodies to the tumour antigen or tumour antigen fragment bound to MHC molecules;
- c) nucleic acids or proteins which code for the tumour antigen;
- d) host cell containing a tumour antigen-specific nucleic acid;
- e) conjugate between the agent in a) or the antibody in b) and a therapeutic or diagnostic agent;
- f) kit for detecting the (abnormal) expression of the tumour antigen;

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

EP03/13091

g) recombinant DNA molecule comprising a promotor region derived from a nucleic acid coding for the tumour antigen.

5. Claims 1-73, 75-82, 84-98 (all in part)

SEQ ID No. 5 (nucleic acids)

- a) pharmaceutical compositions or agents which contain or inhibit this tumour antigen and method which uses these pharmaceutical compositions, etc. for diagnosing or treating a disease (cancer) distinguished by the (abnormal) expression of the tumour antigen;
- b) specific antibodies to the tumour antigen or tumour antigen fragment bound to MHC molecules;
- c) nucleic acids or proteins which code for the tumour antigen;
- d) host cell containing a tumour antigen-specific nucleic acid;
- e) conjugate between the agent in a) or the antibody in b) and a therapeutic or diagnostic agent;
- f) kit for detecting the (abnormal) expression of the tumour antigen;
- g) recombinant DNA molecule comprising a promotor region derived from a nucleic acid coding for the tumour antigen.

6. Claims 1-72, 86-98 (all in part)

SEQ ID No. 6 (SCGB3A2; nucleic acids)

SEQ ID No. 15 (protein)

SEQ ID Nos 105, 106 (SCGB3A2 protein fragments)

- a) pharmaceutical compositions or agents which contain or inhibit this tumour antigen and method which uses these pharmaceutical compositions, etc. for diagnosing or treating a disease (cancer) distinguished by the (abnormal) expression of the tumour antigen;
- b) specific antibodies to the tumour antigen or tumour antigen fragment bound to MHC molecules;
- c) conjugate between the agent in a) or the antibody in b) and a therapeutic or diagnostic agent;
- d) kit for detecting the (abnormal) expression of the tumour antigen;
- e) recombinant DNA molecule comprising a promotor region derived from a nucleic acid coding for the tumour antigen.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

EP03/13091

7. Claims 1-72, 86-98 (all in part)

SEQ ID Nos 7, 8, 119 (claudin-18A2; nucleic acids), SEQ ID No. 117 (claudin-18A1, nucleic acids),

SEQ ID No. 16 (claudin-18A2, protein)

SEQ ID No. 118 (claudin-18A1, protein)

SEQ ID Nos 17-19, 112, 113 (claudin-18A2, protein fragments),

SEQ ID Nos 111, 114, 115, 120 (claudin-18A1, protein fragments),

SEQ ID Nos 116, 137 (claudin-18A1 and A2 – common C terminal)

a) pharmaceutical compositions or agents which contain or inhibit this tumour antigen and method which uses these pharmaceutical compositions, etc. for diagnosing or treating a disease (cancer) distinguished by the (abnormal) expression of the tumour antigen;

b) specific antibodies to the tumour antigen or tumour antigen fragment bound to MHC molecules;

c) conjugate between the agent in a) or the antibody in b) and a therapeutic or diagnostic agent;

d) kit for detecting the (abnormal) expression of the tumour antigen;

e) recombinant DNA molecule comprising a promotor region derived from a nucleic acid coding for the tumour antigen.

8. Claims 1-72, 86-98 (all in part)

SEQ ID Nos 41-44 (SLC13A1 transcripts),

SEQ ID Nos 45-48 (SLC13A1 transcript-specific translation products),

SEQ ID Nos 123, 124 (SLC13A1 protein fragments)

a) pharmaceutical compositions or agents which contain or inhibit this tumour antigen and method which uses these pharmaceutical compositions, etc. for diagnosing or treating a disease (cancer) distinguished by the (abnormal) expression of the tumour antigen;

b) specific antibodies to the tumour antigen or tumour antigen fragment bound to MHC molecules;

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

EP03/13091

- c) conjugate between the agent in a) or the antibody in b) and a therapeutic or diagnostic agent;
- d) kit for detecting the (abnormal) expression of the tumour antigen;
- e) recombinant DNA molecule comprising a promotor region derived from a nucleic acid coding for the tumour antigen.

9. Claims 1-72, 86-98 (all in part)

SEQ ID No. 51 (CLCA1 nucleic acids)

SEQ ID No. 60 (CLCA1 protein)

- a) pharmaceutical compositions or agents which contain or inhibit this tumour antigen and method which uses these pharmaceutical compositions, etc. for diagnosing or treating a disease (cancer) distinguished by the (abnormal) expression of the tumour antigen;
- b) specific antibodies to the tumour antigen or tumour antigen fragment bound to MHC molecules;
- c) conjugate between the agent in a) or the antibody in b) and a therapeutic or diagnostic agent;
- d) kit for detecting the (abnormal) expression of the tumour antigen;
- e) recombinant DNA molecule comprising a promotor region derived from a nucleic acid coding for the tumour antigen.

10. Claims 1-72, 86-98 (all in part)

SEQ ID No. 52 (FLJ21477 nucleic acids),

SEQ ID No. 61 (FLJ21477 protein)

- a) pharmaceutical compositions or agents which contain or inhibit this tumour antigen and method which uses these pharmaceutical compositions, etc. for diagnosing or treating a disease (cancer) distinguished by the (abnormal) expression of the tumour antigen;
- b) specific antibodies to the tumour antigen or tumour antigen fragment bound to MHC molecules;
- c) conjugate between the agent in a) or the antibody in b) and a therapeutic or diagnostic agent;
- d) kit for detecting the (abnormal) expression of the tumour antigen;

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

EP03/13091

e) recombinant DNA molecule comprising a promotor region derived from a nucleic acid coding for the tumour antigen.

11. Claims 1-72, 86-98 (all in part)

SEQ ID No. 53 (FLJ20694 nucleic acids)

SEQ ID No. 62 (FLJ20694 protein)

- a) pharmaceutical compositions or agents which contain or inhibit this tumour antigen and method which uses these pharmaceutical compositions, etc. for diagnosing or treating a disease (cancer) distinguished by the (abnormal) expression of the tumour antigen;
- b) specific antibodies to the tumour antigen or tumour antigen fragment bound to MHC molecules;
- c) conjugate between the agent in a) or the antibody in b) and a therapeutic or diagnostic agent;
- d) kit for detecting the (abnormal) expression of the tumour antigen;
- e) recombinant DNA molecule comprising a promotor region derived from a nucleic acid coding for the tumour antigen.

12. Claims 1-72, 86-98 (all in part)

SEQ ID No. 54 (Ebner protein nucleic acids),

SEQ ID No. 63 (Ebner protein)

- a) pharmaceutical compositions or agents which contain or inhibit this tumour antigen and method which uses these pharmaceutical compositions, etc. for diagnosing or treating a disease (cancer) distinguished by the (abnormal) expression of the tumour antigen;
- b) specific antibodies to the tumour antigen or tumour antigen fragment bound to MHC molecules;
- c) conjugate between the agent in a) or the antibody in b) and a therapeutic or diagnostic agent;
- d) kit for detecting the (abnormal) expression of the tumour antigen;
- e) recombinant DNA molecule comprising a promotor region derived from a nucleic acid coding for the tumour antigen.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

EP03/13091

13. Claims 1-72, 86-98 (all in part)

SEQ ID No. 55 (Plunc nucleic acids),

SEQ ID No. 64 (Plunc protein)

- a) pharmaceutical compositions or agents which contain or inhibit this tumour antigen and method which uses these pharmaceutical compositions, etc. for diagnosing or treating a disease (cancer) distinguished by the (abnormal) expression of the tumour antigen;
- b) specific antibodies to the tumour antigen or tumour antigen fragment bound to MHC molecules;
- c) conjugate between the agent in a) or the antibody in b) and a therapeutic or diagnostic agent;
- d) kit for detecting the (abnormal) expression of the tumour antigen;
- e) recombinant DNA molecule comprising a promotor region derived from a nucleic acid coding for the tumour antigen.

14. Claims 1-72, 86-98 (all in part)

SEQ ID No. 56 (SLC26A9 nucleic acids),

SEQ ID No. 65 (SLC26A9 protein)

- a) pharmaceutical compositions or agents which contain or inhibit this tumour antigen and method which uses these pharmaceutical compositions, etc. for diagnosing or treating a disease (cancer) distinguished by the (abnormal) expression of the tumour antigen;
- b) specific antibodies to the tumour antigen or tumour antigen fragment bound to MHC molecules;
- c) conjugate between the agent in a) or the antibody in b) and a therapeutic or diagnostic agent;
- d) kit for detecting the (abnormal) expression of the tumour antigen;
- e) recombinant DNA molecule comprising a promotor region derived from a nucleic acid coding for the tumour antigen.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

EP03/13091

15. Claims 1-72, 86-98 (all in part)

SEQ ID No. 57 (THC1005163 nucleic acids)

- a) pharmaceutical compositions or agents which contain or inhibit this tumour antigen and method which uses these pharmaceutical compositions, etc. for diagnosing or treating a disease (cancer) distinguished by the (abnormal) expression of the tumour antigen;
- b) specific antibodies to the tumour antigen or tumour antigen fragment bound to MHC molecules;
- c) conjugate between the agent in a) or the antibody in b) and a therapeutic or diagnostic agent;
- d) kit for detecting the (abnormal) expression of the tumour antigen;
- e) recombinant DNA molecule comprising a promotor region derived from a nucleic acid coding for the tumour antigen.

16. Claims 1-72, 86-98 (all in part)

SEQ ID No. 58 (LOC134288 nucleic acids),

SEQ ID No. 66 (LOC134288 protein)

- a) pharmaceutical compositions or agents which contain or inhibit this tumour antigen and method which uses these pharmaceutical compositions, etc. for diagnosing or treating a disease (cancer) distinguished by the (abnormal) expression of the tumour antigen;
- b) specific antibodies to the tumour antigen or tumour antigen fragment bound to MHC molecules;
- c) conjugate between the agent in a) or the antibody in b) and a therapeutic or diagnostic agent;
- d) kit for detecting the (abnormal) expression of the tumour antigen;
- e) recombinant DNA molecule comprising a promotor region derived from a nucleic acid coding for the tumour antigen.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

EP03/13091

17. Claims 1-72, 86-98 (all in part)

SEQ ID No. 59 (THC943866 nucleic acids)

- a) pharmaceutical compositions or agents which contain or inhibit this tumour antigen and method which uses these pharmaceutical compositions, etc. for diagnosing or treating a disease (cancer) distinguished by the (abnormal) expression of the tumour antigen;
- b) specific antibodies to the tumour antigen or tumour antigen fragment bound to MHC molecules;
- c) conjugate between the agent in a) or the antibody in b) and a therapeutic or diagnostic agent;
- d) kit for detecting the (abnormal) expression of the tumour antigen;
- e) recombinant DNA molecule comprising a promotor region derived from a nucleic acid coding for the tumour antigen.

18. Claims 1-72, 86-98 (all in part)

SEQ ID No. 84 (FLJ21458 nucleic acids),

SEQ ID No. 85 (FLJ21458 protein),

SEQ ID Nos 135, 136 (FLJ21458 protein fragments)

- a) pharmaceutical compositions or agents which contain or inhibit this tumour antigen and method which uses these pharmaceutical compositions, etc. for diagnosing or treating a disease (cancer) distinguished by the (abnormal) expression of the tumour antigen;
- b) specific antibodies to the tumour antigen or tumour antigen fragment bound to MHC molecules;
- c) conjugate between the agent in a) or the antibody in b) and a therapeutic or diagnostic agent;
- d) kit for detecting the (abnormal) expression of the tumour antigen;
- e) recombinant DNA molecule comprising a promotor region derived from a nucleic acid coding for the tumour antigen.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP 03/13091

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9964452 A	16-12-1999	EP 1084142 A1 JP 2002517222 T WO 9964452 A1	21-03-2001 18-06-2002 16-12-1999
US 6235481 B1	22-05-2001	US 2002150896 A1 AU 1450900 A EP 1080209 A2 WO 0023603 A2	17-10-2002 08-05-2000 07-03-2001 27-04-2000
WO 02061087 A	08-08-2002	WO 02061087 A2	08-08-2002
WO 0214500 A	21-02-2002	AU 8504701 A EP 1309679 A2 JP 2004512029 T WO 0214500 A2	25-02-2002 14-05-2003 22-04-2004 21-02-2002
WO 0175067 A	11-10-2001	AU 3486501 A AU 3995501 A AU 4925101 A AU 4972801 A AU 5119401 A AU 5521401 A CA 2399681 A1 CA 2404501 A1 CA 2404555 A1 EP 1254266 A1 EP 1268762 A1 EP 1268510 A2 JP 2004502403 T JP 2004500120 T WO 0157266 A1 WO 0164839 A2 WO 0175067 A2 WO 0175064 A2 WO 0174836 A1 WO 0175093 A1 US 2004048249 A1 US 2003092112 A1 US 2003087370 A1 US 2003096279 A1 US 2003235883 A1 US 6436703 B1 US 2002061567 A1 US 2003180722 A1 US 2002146757 A1	14-08-2001 12-09-2001 15-10-2001 15-10-2001 15-10-2001 15-10-2001 09-08-2001 11-10-2001 11-10-2001 06-11-2002 02-01-2003 02-01-2003 29-01-2004 08-01-2004 09-08-2001 07-09-2001 11-10-2001 11-10-2001 11-10-2001 11-10-2001 11-03-2004 15-05-2003 08-05-2003 22-05-2003 25-12-2003 20-08-2002 23-05-2002 25-09-2003 10-10-2002
WO 0127257 A	19-04-2001	AU 1205901 A WO 0127257 A1 US 2003027144 A1	23-04-2001 19-04-2001 06-02-2003
WO 0162920 A	30-08-2001	AU 4722001 A CA 2401070 A1 EP 1261711 A2 JP 2003524021 T NZ 521430 A WO 0162920 A2 US 2003082194 A1	03-09-2001 30-08-2001 04-12-2002 12-08-2003 30-04-2004 30-08-2001 01-05-2003

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP 03/13091

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 02103028 A	27-12-2002	CA 2449042 A1	27-12-2002
		EP 1446757 A2	18-08-2004
		WO 02103028 A2	27-12-2002
		US 2003108890 A1	12-06-2003

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 03/13091

A. KLASIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7 C12N15/11 A61K39/395 C12N5/10 C07K14/47 C07K16/30
C07K16/32 A61K48/00

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 C12N A61K C07K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, PAJ, WPI Data, EMBL, BIOSIS

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
	-/-	

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

A Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

E älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

L Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

O Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

P Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

T Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

Y Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

& Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

13. September 2004

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

12. 10. 2004

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Beauftragter

Lechner, O

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 03/13091

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 99/64452 A (SMITHKLINE BEECHAM CORP) 16. Dezember 1999 (1999-12-16)	1-5, 7-16, 20-22, 24-27, 29, 32-35, 37-39, 44, 47-50, 53, 55-60, 64,66, 74-81, 83,84, 86-89, 95,98
Y	das ganze Dokument	1-72, 74-81, 83-98
X	----- US 6 235 481 B1 (ODA NAOHISA ET AL) 22. Mai 2001 (2001-05-22) Spalte 79, letzter Absatz - Spalte 80, Absatz 1; Beispiel 4	74,80, 81,83-85
X	----- WO 02/061087 A (ROUSH CHRISTINE L ;BROWN JOSEPH P (US); BURMER GLENNA C (US); LIFE) 8. August 2002 (2002-08-08) Absatz '0129!	74,75, 83,84
X	----- WO 02/14500 A (SCOTT ELIZABETH M ; SUDDUTH KLINGER JULIE (US); CHIRON CORP (US); HYSE) 21. Februar 2002 (2002-02-21)	1-5, 7-16, 20-27, 29-39, 44, 47-50, 53, 55-60, 64,66, 71,72, 86-89, 95,98
Y	Zusammenfassung; Ansprüche 19,23 Seite 267 Seite 409 Seite 486 Seite 505 Seite 614 Seite 646 Seite 661 Seite 680 Seite 684	1-72, 86-98
Y	----- -/--	1-72, 86-98

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 03/13091

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	WO 01/75067 A (HYSEQ INC ; LIU CHENGHUA (US); TANG Y TOM (US); DRMANAC RODOJE T (US)) 11. Oktober 2001 (2001-10-11) Zusammenfassung; Ansprüche 27,28 -----	1-72, 86-98
Y	BARANOVA A A V ET AL: "In silico screening for tumour-specific expressed sequences in human genome" FEBS LETTERS, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, AMSTERDAM, NL, Bd. 508, Nr. 1, 9. November 2001 (2001-11-09), Seiten 143-148, XP004322294 ISSN: 0014-5793 Seite 147, linke Spalte Seite 146, rechte Spalte, letzter Absatz Tabelle 3 -----	1-72, 74-81, 83-98
Y	WO 01/27257 A (TRUSTEES OF THE UNIVERSITY OF) 19. April 2001 (2001-04-19) das ganze Dokument -----	1-72, 74-81, 83-98
Y	WO 01/62920 A (CORIXA CORP) 30. August 2001 (2001-08-30) das ganze Dokument -----	1-72, 74-81, 83-98
Y	REITER Y ET AL: "peptide-specific killing of antigen-presenting cells by a recombinant antibody-toxin fusion protein targeted to major histocompatibility complex/peptide class I complexes with T cell receptor-like specificity" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE. WASHINGTON, US, Bd. 94, April 1997 (1997-04), Seiten 4631-4636, XP002967291 ISSN: 0027-8424 Zusammenfassung -----	90-94
P,X	WO 02/103028 A (BIOMEDICAL CT) 27. Dezember 2002 (2002-12-27) Seite 41, Absatz 8 -----	74
A	O'DOWD B F ET AL: "Discovery of Three Novel G-Protein-Coupled Receptor Genes" GENOMICS, ACADEMIC PRESS, SAN DIEGO, US, Bd. 47, Nr. 2, 15. Januar 1998 (1998-01-15), Seiten 310-313, XP004449298 ISSN: 0888-7543 Seite 312, linke Spalte, Absatz 1 ----- ----- -/--	1-98

10

Formblatt PCT/ISA/210 (Fortsetzung von Blatt 2) (Januar 2004)

Seite 3 von 4

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 03/13091

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	<p>ENGBERG J ET AL: "RECOMBINANT ANTIBODIES WITH THE ANTIGEN-SPECIFIC, MHC RESTRICTED SPECIFICITY OF T CELLS: NOVEL REAGENTS FOR BASIC AND CLINICAL INVESTIGATIONS AND IMMUNOTHERAPY"</p> <p>IMMUNOTECHNOLOGY, XX, XX, Bd. 4, März 1999 (1999-03), Seiten 273-278, XP000991083 Zusammenfassung</p> <p>-----</p>	90-94
A	<p>KOSLOWSKI MICHAEL ET AL: "Multiple splice variants of lactate dehydrogenase C selectively expressed in human cancer"</p> <p>CANCER RESEARCH, Bd. 62, Nr. 22, 15. November 2002 (2002-11-15), Seiten 6750-6755, XP002284383 ISSN: 0008-5472 Zusammenfassung</p> <p>-----</p>	1-72, 74-81, 83-98

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP 03/13091

Feld I Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)

Gemäß Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1. ☒ Ansprüche Nr. weil sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich
siehe BEIBLATT PCT/ISA/210
2. ☒ Ansprüche Nr. 1-3, 7, 9, 27-32, 56, 71, 72, 86, 87, 93, 94 (teilweise) weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich
siehe BEIBLATT PCT/ISA/210
3. ☐ Ansprüche Nr. weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

Feld II Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 3 auf Blatt 1)

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

siehe Zusatzblatt

1. ☐ Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche.
2. ☐ Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchegebühr gerechtfertigt hätte, hat die Behörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.
3. ☒ Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die
Ansprüche Nr.
1-72, 74-81
83-98 (all in part - only as far as relating to inventions 1 and 11 respectively)
4. ☐ Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:

Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs

- ☐ Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.
- ☒ Die Zahlung zusätzlicher Recherchegebühren erfolgte ohne Widerspruch.

Internationales Aktenzeichen PCT/ EP 03 /13091

WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Fortsetzung von Feld I.1

Obwohl Anspruch 57, sich auf ein Diagnostizierverfahren, das am menschlichen/tierischen Körper vorgenommen wird, bezieht, wurde die Recherche durchgeführt und gründete sich auf die angeführten Wirkungen der Verbindung/Zusammensetzung.

Obwohl die Ansprüche 56-72 sich auf ein Verfahren zur Behandlung des menschlichen/tierischen Körpers beziehen, wurde die Recherche durchgeführt und gründete sich auf die angeführten Wirkungen der Verbindung/Zusammensetzung.

Fortsetzung von Feld I.2

Ansprüche Nr.: 1-3, 7, 9, 27-32, 56, 71, 72, 86, 87, 93, 94 (teilweise)

Patentansprüche 1-3, 7, 9, 27-32, 56, 71, 72, 86, 87, 93, 94 sind im Sinne von Artikel 6, PCT unklar, da sie sich auf Zusammensetzungen/Mittel/Zellen beziehen die lediglich über die folgende(n) erstrebenswerte(n) funktionellen Eigenheit(en) oder Eigenschaft(en) definiert ist/sind, nämlich: a) Mittel das die Expression oder Aktivität eines Tumor-assoziierten Antigens hemmt, b) Mittel mit tumorhemmender Aktivität..., c) Mittel bewirkt die Induktion des Zelltods, die Reduktion des Zellwachstums, eine Schädigung der Zellmembran oder eine Sekretion von Zytokinen, d) Mittel, das bei einer Verabreichung selektiv die Menge an Komplexen zwischen einem HLA-Molekül und einem Tumor-assoziierten Antigen oder einem Teil davon erhöht, e) Mittel die jeweils selektiv die Expression oder Aktivität verschiedener Tumor-assoziierten Antigene hemmen, jeweils selektiv für Zellen sind, die versch. Tumor-assoziierte Antigene exprimieren oder die Menge an Komplexen zwischen HLA-Molekülen und versch. Tumor-assoziierten Antigenen oder Teilen davon erhöhen, f) Zellen, die eine abnormale Menge des Tumor-assoziierten Antigens oder eines Teiles davon exprimieren, g) Mittel das spezifisch an die Nukleinsäure, die für das Tumor-assoziierte Antigen kodiert, oder den Teil davon, an das Tumor-assoziierte Antigen oder den Teil davon, an den Antikörper oder an die zytotoxischen oder Helfer-T-Lymphozyten bindet, h) Mittel das spezifisch an ein Protein oder Polypeptid oder einem Teil davon bindet...

Der Mangel an Klarheit ist dergestalt, daß er eine sinnvolle Recherche über den gesamten erstrebten Schutzbereich unmöglich macht. Daher wurde die Recherche auf jene Teile gerichtet, welche im o.a. Sinne als klar erscheinen:

Für Ansprüche 1, 2, 56, 71 sowie oben genannte, davon abhängige Ansprüche:

Produkte der Ansprüche 4-6, i.e. Antisense-Nukleinsäuren tumor-assoziierten Antigene sowie (komplementaktivierende) Antikörper die für tumor-assoziierte Antigene spezifisch sind.

Für Anspruch 7 und oben genannte, davon abhängige Ansprüche: die in Anspruch 8 gelisteten Mittel

Ansprüche 86, 87, 93 und oben genannte, davon abhängige Ansprüche: Antikörper (siehe Anspruch 88)

Internationales Aktenzeichen PCT/ EP 03 /13091

WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Der Anmelder wird darauf hingewiesen, dass Patentansprüche auf Erfindungen, für die kein internationaler Recherchenbericht erstellt wurde, normalerweise nicht Gegenstand einer internationalen vorläufigen Prüfung sein können (Regel 66.1(e) PCT). In seiner Eigenschaft als mit, der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde wird das EPA also in der Regel keine vorläufige Prüfung für Gegenstände durchführen, zu denen keine Recherche vorliegt. Dies gilt auch für den Fall, dass die Patentansprüche nach Erhalt des internationalen Recherchenberichtes geändert wurden (Art. 19 PCT), oder für den Fall, dass der Anmelder im Zuge des Verfahrens gemäss Kapitel II PCT neue Patentanprüche vorlegt. Nach Eintritt in die regionale Phase vor dem EPA kann jedoch im Zuge der Prüfung eine weitere Recherche durchgeführt werden (Vgl. EPA-Richtlinien C-VI, 8.5), sollten die Mängel behoben sein, die zu der Erklärung gemäss Art. 17 (2) PCT geführt haben.

Internationales Aktenzeichen PCT/ EP 03/13091

WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, dass diese internationale Anmeldung mehrere (Gruppen von) Erfindungen enthält, nämlich:

1. Ansprüche: 1-72, 74-81, 83-98 (alle teilweise)

GPR35 und Fragmente davon codiert durch SeqID No 1 (Nukleinsäuren), SeqID No 9, 10 (Protein), SeqID No 90-93 (GPR35 Peptide), SeqID No 94-97 (prädizierte extrazelluläre Domänen von GPR35)

- a) Pharmazeutische Zusammensetzungen/Mittel die dieses Tumorantigen enthalten bzw. das Tumorantigen hemmen und Verfahren zur Diagnose/Behandlung einer Erkrankung (Krebs) die sich durch die (abnormale) Expression des Tumorantigens auszeichnet welches besagte pharmazeutische Zusammensetzungen etc. anwendet;
- b) spezifische Antikörper gegen das Tumorantigen bzw. an MHC-Moleküle gebundenes Tumorantigen-Fragment
- c) Nukleinsäuren/Proteine die für das Tumorantigen codieren;
- d) Wirtszelle, die eine Tumorantigen-spezifische Nukleinsäure enthält;
- e) Konjugat zwischen dem Mittel aus a) bzw. dem Antikörper aus b) und einem therapeutischen/diagnostischen Mittel;
- f) Kit zum Nachweis der (abnormalen) Expression des Tumorantigens
- g) rekombinantes DNA Molekül umfassend eine Promotorregion die von einer das Tumorantigen codierenden Nukleinsäure abgeleitet ist.

2. Ansprüche: 1-72, 74-81, 83-98 (alle teilweise)

Internationales Aktenzeichen PCT/ EP 03/13091

WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

GUCY2C und Fragmente davon codiert durch SeqID No 2 (Nukleinsäuren),
 SeqID No 11-14 (Protein),
 SeqID No 100, 101 (GUCY2C Proteinfragmente),
 SeqID No 102 (prädizierte extrazelluläre Domänen von (GUCY2C))

- a) Pharmazeutische Zusammensetzungen/Mittel die dieses Tumorantigen enthalten bzw. das Tumorantigen hemmen und Verfahren zur Diagnose/Behandlung einer Erkrankung (Krebs) die sich durch die (abnormale) Expression des Tumorantigens auszeichnet welches besagte pharmazeutische Zusammensetzungen etc. anwendet;
- b) spezifische Antikörper gegen das Tumorantigen bzw. an MHC-Moleküle gebundenes Tumorantigen-Fragment
- c) Nukleinsäuren/Proteine die für das Tumorantigen codieren;d) Wirtszelle, die eine Tumorantigen-spezifische Nukleinsäure enthält;
- e) Konjugat zwischen dem Mittel aus a) bzw. dem Antikörper aus b) und einem therapeutischen/diagnostischen Mittel;
- f) Kit zum Nachweis der (abnormalen) Expression des Tumorantigens
- g) rekombinantes DNA Molekül umfassend eine Promotorregion die von einer das Tumorantigen codierenden Nukleinsäure abgeleitet ist.

3. Ansprüche: 1-73, 75-82, 84-98 (alle teilweise)

SeqID No 3 (Nukleinsäuren)

- a) Pharmazeutische Zusammensetzungen/Mittel die dieses Tumorantigen enthalten bzw. das Tumorantigen hemmen und Verfahren zur Diagnose/Behandlung einer Erkrankung (Krebs) die sich durch die (abnormale) Expression des Tumorantigens auszeichnet welches besagte pharmazeutische Zusammensetzungen etc. anwendet;
- b) spezifische Antikörper gegen das Tumorantigen bzw. an MHC-Moleküle gebundenes Tumorantigen-Fragment
- c) Nukleinsäuren/Proteine die das Tumorantigen codieren;
- d) Wirtszelle, die eine Tumorantigen-spezifische Nukleinsäure enthält;
- e) Konjugat zwischen dem Mittel aus a) bzw. dem Antikörper aus b) und einem therapeutischen/diagnostischen Mittel;
- f) Kit zum Nachweis der (abnormalen) Expression des Tumorantigens
- g) rekombinantes DNA Molekül umfassend eine Promotorregion die von einer das Tumorantigen codierenden Nukleinsäure abgeleitet ist.

4. Ansprüche: 1-73, 75-82, 84-98 (alle teilweise)

Internationales Aktenzeichen PCT/ EP 03/13091

WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

SeqID No 4 (Nukleinsäuren)

- a) Pharmazeutische Zusammensetzungen/Mittel die dieses Tumorantigen enthalten bzw. das Tumorantigen hemmen und Verfahren zur Diagnose/Behandlung einer Erkrankung (Krebs) die sich durch die (abnormale) Expression des Tumorantigens auszeichnet welches besagte pharmazeutische Zusammensetzungen etc. anwendet;
- b) spezifische Antikörper gegen das Tumorantigen bzw. an MHC-Moleküle gebundenes Tumorantigen-Fragment
- c) Nukleinsäuren/Proteine die das Tumorantigen codieren;
- d) Wirtszelle, die eine Tumorantigen-spezifische Nukleinsäure enthält;
- e) Konjugat zwischen dem Mittel aus a) bzw. dem Antikörper aus b) und einem therapeutischen/diagnostischen Mittel;
- f) Kit zum Nachweis der (abnormalen) Expression des Tumorantigens
- g) rekombinantes DNA Molekül umfassend eine Promotorregion die von einer das Tumorantigen codierenden Nukleinsäure abgeleitet ist..

5. Ansprüche: 1-73, 75-82, 84-98 (alle teilweise)

SeqID No 5 (Nukleinsäuren)

- a) Pharmazeutische Zusammensetzungen/Mittel die dieses Tumorantigen enthalten bzw. das Tumorantigen hemmen und Verfahren zur Diagnose/Behandlung einer Erkrankung (Krebs) die sich durch die (abnormale) Expression des Tumorantigens auszeichnet welches besagte pharmazeutische Zusammensetzungen etc. anwendet;
- b) spezifische Antikörper gegen das Tumorantigen bzw. an MHC-Moleküle gebundenes Tumorantigen-Fragment
- c) Nukleinsäuren/Proteine die das Tumorantigen codieren;
- d) Wirtszelle, die eine Tumorantigen-spezifische Nukleinsäure enthält;
- e) Konjugat zwischen dem Mittel aus a) bzw. dem Antikörper aus b) und einem therapeutischen/diagnostischen Mittel;
- f) Kit zum Nachweis der (abnormalen) Expression des Tumorantigens
- g) rekombinantes DNA Molekül umfassend eine Promotorregion die von einer das Tumorantigen codierenden Nukleinsäure abgeleitet ist.

6. Ansprüche: 1-72, 86-98 (alle teilweise)

Internationales Aktenzeichen PCT/ EP 03/13091

WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

SeqID No 6 (SCGB3A2; Nukleinsäuren),
 SeqID No 15 (Protein),
 SeqID No 105, 106 (SCGB3A2 Proteinfragmente)
 a) Pharmazeutische Zusammensetzungen/Mittel die dieses Tumorantigen enthalten bzw. das Tumorantigen hemmen und Verfahren zur Diagnose/Behandlung einer Erkrankung (Krebs) die sich durch die (abnormale) Expression des Tumorantigens auszeichnet welches besagte pharmazeutische Zusammensetzungen etc. anwendet;
 b) spezifische Antikörper gegen das Tumorantigen bzw. an MHC-Moleküle gebundenes Tumorantigen-Fragment
 c) Konjugat zwischen dem Mittel aus a) bzw. dem Antikörper aus b) und einem therapeutischen/diagnostischen Mittel;
 d) Kit zum Nachweis der (abnormalen) Expression des Tumorantigens
 e) rekombinantes DNA Molekül umfassend eine Promotorregion die von einer das Tumorantigen codierenden Nukleinsäure abgeleitet ist.

7. Ansprüche: 1-72, 86-98 (alle teilweise)

SeqID No 7, 8, 119 (Claudin-18A2; Nukleinsäuren), SeqID No 117 (Claudin-18A1, Nukleinsäuren),
 SeqID No 16 (Claudin-18A2 Protein),
 SeqID No 118 (Claudin-18A1, Protein),
 SeqID No 17-19, 112, 113, (Claudin-18A2 Proteinfragmente),
 SeqID No 111, 114, 115, 120 (Claudin-18A1 Proteinfragmente),
 SeqID No 116, 137 (Claudin-18A1 und A2 - gemeinsamer C-Terminus)
 a) Pharmazeutische Zusammensetzungen/Mittel die dieses Tumorantigen enthalten bzw. das Tumorantigen hemmen und Verfahren zur Diagnose/Behandlung einer Erkrankung (Krebs) die sich durch die (abnormale) Expression des Tumorantigens auszeichnet welches besagte pharmazeutische Zusammensetzungen etc. anwendet;
 b) spezifische Antikörper gegen das Tumorantigen bzw. an MHC-Moleküle gebundenes Tumorantigen-Fragment
 c) Konjugat zwischen dem Mittel aus a) bzw. dem Antikörper aus b) und einem therapeutischen/diagnostischen Mittel;
 d) Kit zum Nachweis der (abnormalen) Expression des Tumorantigens
 e) rekombinantes DNA Molekül umfassend eine Promotorregion die von einer das Tumorantigen codierenden Nukleinsäure abgeleitet ist.

8. Ansprüche: 1-72, 86-98 (alle teilweise)

Internationales Aktenzeichen PCT/ EP 03/13091

WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

SeqID No 41-44 (SLC13A1 Transkripte),
 SeqID No 45-48 (SLC13A1 Transkript-spezifische
 Translationsprodukte),
 SeqID No 123, 124 (SLC13A1 Proteinfragmente)
 a) Pharmazeutische Zusammensetzungen/Mittel die dieses
 Tumorantigen enthalten bzw. das Tumorantigen hemmen und
 Verfahren zur Diagnose/Behandlung einer Erkrankung (Krebs)
 die sich durch die (abnormale) Expression des Tumorantigens
 auszeichnet welches besagte pharmazeutische
 Zusammensetzungen etc. anwendet;
 b) spezifische Antikörper gegen das Tumorantigen bzw. an
 MHC-Moleküle gebundenes Tumorantigen-Fragment
 c) Konjugat zwischen dem Mittel aus a) bzw. dem Antikörper
 aus b) und einem therapeutischen/diagnostischen Mittel;
 d) Kit zum Nachweis der (abnormalen) Expression des
 Tumorantigens
 e) rekombinantes DNA Molekül umfassend eine Promotorregion
 die von einer das Tumorantigen codierenden Nukleinsäure
 abgeleitet ist.

9. Ansprüche: 1-72, 86-98 (alle teilweise)

SeqID No 51 (CLCA1 Nukleinsäuren),
 SeqID No 60 (CLCA1 Protein)
 a) Pharmazeutische Zusammensetzungen/Mittel die dieses
 Tumorantigen enthalten bzw. das Tumorantigen hemmen und
 Verfahren zur Diagnose/Behandlung einer Erkrankung (Krebs)
 die sich durch die (abnormale) Expression des Tumorantigens
 auszeichnet welches besagte pharmazeutische
 Zusammensetzungen etc. anwendet;
 b) spezifische Antikörper gegen das Tumorantigen bzw. an
 MHC-Moleküle gebundenes Tumorantigen-Fragment
 c) Konjugat zwischen dem Mittel aus a) bzw. dem Antikörper
 aus b) und einem therapeutischen/diagnostischen Mittel;
 d) Kit zum Nachweis der (abnormalen) Expression des
 Tumorantigens
 e) rekombinantes DNA Molekül umfassend eine Promotorregion
 die von einer das Tumorantigen codierenden Nukleinsäure
 abgeleitet ist.

10. Ansprüche: 1-72, 86-98 (alle teilweise)

internationales Aktenzeichen PCT/ EP 03/13091

WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

SeqID No 52 (FLJ21477 Nukleinsäuren),
 SeqID No 61 (FLJ21477 Protein)
 a) Pharmazeutische Zusammensetzungen/Mittel die dieses Tumorantigen enthalten bzw. das Tumorantigen hemmen und Verfahren zur Diagnose/Behandlung einer Erkrankung (Krebs) die sich durch die (abnormale) Expression des Tumorantigens auszeichnet welches besagte pharmazeutische Zusammensetzungen etc. anwendet;
 b) spezifische Antikörper gegen das Tumorantigen bzw. an MHC-Moleküle gebundenes Tumorantigen-Fragment
 c) Konjugat zwischen dem Mittel aus a) bzw. dem Antikörper aus b) und einem therapeutischen/diagnostischen Mittel;
 d) Kit zum Nachweis der (abnormalen) Expression des Tumorantigens
 e) rekombinantes DNA Molekül umfassend eine Promotorregion die von einer das Tumorantigen codierenden Nukleinsäure abgeleitet ist.

11. Ansprüche: 1-72, 86-98 (alle teilweise)

SeqID No 53 (FLJ20694 Nukleinsäuren),
 SeqID No 62 (FLJ20694 Protein)
 a) Pharmazeutische Zusammensetzungen/Mittel die dieses Tumorantigen enthalten bzw. das Tumorantigen hemmen und Verfahren zur Diagnose/Behandlung einer Erkrankung (Krebs) die sich durch die (abnormale) Expression des Tumorantigens auszeichnet welches besagte pharmazeutische Zusammensetzungen etc. anwendet;
 b) spezifische Antikörper gegen das Tumorantigen bzw. an MHC-Moleküle gebundenes Tumorantigen-Fragment
 c) Konjugat zwischen dem Mittel aus a) bzw. dem Antikörper aus b) und einem therapeutischen/diagnostischen Mittel;
 d) Kit zum Nachweis der (abnormalen) Expression des Tumorantigens
 e) rekombinantes DNA Molekül umfassend eine Promotorregion die von einer das Tumorantigen codierenden Nukleinsäure abgeleitet ist.

12. Ansprüche: 1-72, 86-98 (alle teilweise)

Internationales Aktenzeichen PCT/ EP 03/ 13091

WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

SeqID No 54 (Ebner-Protein Nukleinsäuren),
 SeqID No 63 (Ebner-Protein)
 a) Pharmazeutische Zusammensetzungen/Mittel die dieses Tumorantigen enthalten bzw. das Tumorantigen hemmen und Verfahren zur Diagnose/Behandlung einer Erkrankung (Krebs) die sich durch die (abnormale) Expression des Tumorantigens auszeichnet welches besagte pharmazeutische Zusammensetzungen etc. anwendet;
 b) spezifische Antikörper gegen das Tumorantigen bzw. an MHC-Moleküle gebundenes Tumorantigen-Fragment
 c) Konjugat zwischen dem Mittel aus a) bzw. dem Antikörper aus b) und einem therapeutischen/diagnostischen Mittel;
 d) Kit zum Nachweis der (abnormalen) Expression des Tumorantigens
 e) rekombinantes DNA Molekül umfassend eine Promotorregion die von einer das Tumorantigen codierenden Nukleinsäure abgeleitet ist.

13. Ansprüche: 1-72, 86-98 (alle teilweise)

SeqID No 55 (Plunc Nukleinsäuren),
 SeqID No 64 (Plunc Protein)
 a) Pharmazeutische Zusammensetzungen/Mittel die dieses Tumorantigen enthalten bzw. das Tumorantigen hemmen und Verfahren zur Diagnose/Behandlung einer Erkrankung (Krebs) die sich durch die (abnormale) Expression des Tumorantigens auszeichnet welches besagte pharmazeutische Zusammensetzungen etc. anwendet;
 b) spezifische Antikörper gegen das Tumorantigen bzw. an MHC-Moleküle gebundenes Tumorantigen-Fragment
 c) Konjugat zwischen dem Mittel aus a) bzw. dem Antikörper aus b) und einem therapeutischen/diagnostischen Mittel;
 d) Kit zum Nachweis der (abnormalen) Expression des Tumorantigens
 e) rekombinantes DNA Molekül umfassend eine Promotorregion die von einer das Tumorantigen codierenden Nukleinsäure abgeleitet ist.

14. Ansprüche: 1-72, 86-98 (alle teilweise)

Internationales Aktenzeichen PCT/ EP 03/13091

WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

SeqID No 56 (SLC26A9 Nukleinsäuren),
 SeqID No 65 (SLC26A9 Protein)
 a) Pharmazeutische Zusammensetzungen/Mittel die dieses Tumorantigen enthalten bzw. das Tumorantigen hemmen und Verfahren zur Diagnose/Behandlung einer Erkrankung (Krebs) die sich durch die (abnormale) Expression des Tumorantigens auszeichnet welches besagte pharmazeutische Zusammensetzungen etc. anwendet;
 b) spezifische Antikörper gegen das Tumorantigen bzw. an MHC-Moleküle gebundenes Tumorantigen-Fragment
 c) Konjugat zwischen dem Mittel aus a) bzw. dem Antikörper aus b) und einem therapeutischen/diagnostischen Mittel;
 d) Kit zum Nachweis der (abnormalen) Expression des Tumorantigens
 e) rekombinantes DNA Molekül umfassend eine Promotorregion die von einer das Tumorantigen codierenden Nukleinsäure abgeleitet ist.

15. Ansprüche: 1-72, 86-98 (alle teilweise)

SeqID No 57 (THC1005163 Nukleinsäuren)
 a) Pharmazeutische Zusammensetzungen/Mittel die dieses Tumorantigen enthalten bzw. das Tumorantigen hemmen und Verfahren zur Diagnose/Behandlung einer Erkrankung (Krebs) die sich durch die (abnormale) Expression des Tumorantigens auszeichnet welches besagte pharmazeutische Zusammensetzungen etc. anwendet;
 b) spezifische Antikörper gegen das Tumorantigen bzw. an MHC-Moleküle gebundenes Tumorantigen-Fragment
 c) Konjugat zwischen dem Mittel aus a) bzw. dem Antikörper aus b) und einem therapeutischen/diagnostischen Mittel;
 d) Kit zum Nachweis der (abnormalen) Expression des Tumorantigens
 e) rekombinantes DNA Molekül umfassend eine Promotorregion die von einer das Tumorantigen codierenden Nukleinsäure abgeleitet ist.

16. Ansprüche: 1-72, 86-98 (alle teilweise)

Internationales Aktenzeichen PCT/ EP 03/13091

WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

SeqID No 58 (LOC134288 Nukleinsäuren),
 SeqID No 66 (LOC134288 Protein)
 a) Pharmazeutische Zusammensetzungen/Mittel die dieses Tumorantigen enthalten bzw. das Tumorantigen hemmen und Verfahren zur Diagnose/Behandlung einer Erkrankung (Krebs) die sich durch die (abnormale) Expression des Tumorantigens auszeichnet welches besagte pharmazeutische Zusammensetzungen etc. anwendet;
 b) spezifische Antikörper gegen das Tumorantigen bzw. an MHC-Moleküle gebundenes Tumorantigen-Fragment
 c) Konjugat zwischen dem Mittel aus a) bzw. dem Antikörper aus b) und einem therapeutischen/diagnostischen Mittel;
 d) Kit zum Nachweis der (abnormalen) Expression des Tumorantigens
 e) rekombinantes DNA Molekül umfassend eine Promotorregion die von einer das Tumorantigen codierenden Nukleinsäure abgeleitet ist.

17. Ansprüche: 1-72, 86-98 (alle teilweise)

SeqID No 59 (THC943866 Nukleinsäuren)
 a) Pharmazeutische Zusammensetzungen/Mittel die dieses Tumorantigen enthalten bzw. das Tumorantigen hemmen und Verfahren zur Diagnose/Behandlung einer Erkrankung (Krebs) die sich durch die (abnormale) Expression des Tumorantigens auszeichnet welches besagte pharmazeutische Zusammensetzungen etc. anwendet;
 b) spezifische Antikörper gegen das Tumorantigen bzw. an MHC-Moleküle gebundenes Tumorantigen-Fragment
 c) Konjugat zwischen dem Mittel aus a) bzw. dem Antikörper aus b) und einem therapeutischen/diagnostischen Mittel;
 d) Kit zum Nachweis der (abnormalen) Expression des Tumorantigens
 e) rekombinantes DNA Molekül umfassend eine Promotorregion die von einer das Tumorantigen codierenden Nukleinsäure abgeleitet ist.

18. Ansprüche: 1-72, 86-98 (alle teilweise)

Internationales Aktenzeichen PCT/ EP 03/13091

WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

SeqID No 84 (FLJ21458 Nukleinsäuren),
SeqID No 85 (FLJ21458 Protein),
SeqID No 135, 136 (FLJ21458 Proteinfragmente)
a) Pharmazeutische Zusammensetzungen/Mittel die dieses
Tumorantigen enthalten bzw. das Tumorantigen hemmen und
Verfahren zur Diagnose/Behandlung einer Erkrankung (Krebs)
die sich durch die (abnormale) Expression des Tumorantigens
auszeichnet welches besagte pharmazeutische
Zusammensetzungen etc. anwendet;
b) spezifische Antikörper gegen das Tumorantigen bzw. an
MHC-Moleküle gebundenes Tumorantigen-Fragment
c) Konjugat zwischen dem Mittel aus a) bzw. dem Antikörper
aus b) und einem therapeutischen/diagnostischen Mittel;
d) Kit zum Nachweis der (abnormalen) Expression des
Tumorantigens
e) rekombinantes DNA Molekül umfassend eine Promotorregion
die von einer das Tumorantigen codierenden Nukleinsäure
abgeleitet ist.

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP 03/13091

Im Recherchenbericht angeführtes Patentedokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 9964452 A	16-12-1999	EP 1084142 A1 JP 2002517222 T WO 9964452 A1	21-03-2001 18-06-2002 16-12-1999
US 6235481 B1	22-05-2001	US 2002150896 A1 AU 1450900 A EP 1080209 A2 WO 0023603 A2	17-10-2002 08-05-2000 07-03-2001 27-04-2000
WO 02061087 A	08-08-2002	WO 02061087 A2	08-08-2002
WO 0214500 A	21-02-2002	AU 8504701 A EP 1309679 A2 JP 2004512029 T WO 0214500 A2	25-02-2002 14-05-2003 22-04-2004 21-02-2002
WO 0175067 A	11-10-2001	AU 3486501 A AU 3995501 A AU 4925101 A AU 4972801 A AU 5119401 A AU 5521401 A CA 2399681 A1 CA 2404501 A1 CA 2404555 A1 EP 1254266 A1 EP 1268762 A1 EP 1268510 A2 JP 2004502403 T JP 2004500120 T WO 0157266 A1 WO 0164839 A2 WO 0175067 A2 WO 0175064 A2 WO 0174836 A1 WO 0175093 A1 US 2004048249 A1 US 2003092112 A1 US 2003087370 A1 US 2003096279 A1 US 2003235883 A1 US 6436703 B1 US 2002061567 A1 US 2003180722 A1 US 2002146757 A1	14-08-2001 12-09-2001 15-10-2001 15-10-2001 15-10-2001 15-10-2001 09-08-2001 11-10-2001 11-10-2001 06-11-2002 02-01-2003 02-01-2003 29-01-2004 08-01-2004 09-08-2001 07-09-2001 11-10-2001 11-10-2001 11-10-2001 11-10-2001 11-10-2001 11-03-2004 15-05-2003 08-05-2003 22-05-2003 25-12-2003 20-08-2002 23-05-2002 25-09-2003 10-10-2002
WO 0127257 A	19-04-2001	AU 1205901 A WO 0127257 A1 US 2003027144 A1	23-04-2001 19-04-2001 06-02-2003
WO 0162920 A	30-08-2001	AU 4722001 A CA 2401070 A1 EP 1261711 A2 JP 2003524021 T NZ 521430 A WO 0162920 A2 US 2003082194 A1	03-09-2001 30-08-2001 04-12-2002 12-08-2003 30-04-2004 30-08-2001 01-05-2003

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP 03/13091

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
WO 02103028	A	27-12-2002	CA	2449042 A1	27-12-2002
			EP	1446757 A2	18-08-2004
			WO	02103028 A2	27-12-2002
			US	2003108890 A1	12-06-2003

フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	E 4 C 0 8 6
A 6 1 K 35/12 (2006.01)	A 6 1 K 35/12	4 C 0 8 7
A 6 1 K 39/39 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	T 4 H 0 4 5
A 6 1 K 38/00 (2006.01)	A 6 1 K 39/39	
A 6 1 K 38/22 (2006.01)	A 6 1 K 37/02	
G 0 1 N 33/53 (2006.01)	A 6 1 K 37/24	
G 0 1 N 33/574 (2006.01)	G 0 1 N 33/53	N
C 0 7 K 16/30 (2006.01)	G 0 1 N 33/574	A
C 1 2 Q 1/68 (2006.01)	G 0 1 N 33/53	M
C 1 2 N 5/10 (2006.01)	C 0 7 K 16/30	
C 0 7 K 14/82 (2006.01)	C 1 2 Q 1/68	A
	C 1 2 N 5/00	B
	C 0 7 K 14/82	

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

(72) 発明者 ウグール・サヒン

ドイツ連邦共和国デー - 5 5 1 1 6 マインツ、フィリップ・フォン・ツァベルン・ブラッツ 1 番

(72) 発明者 エツレム・テューレツィ

ドイツ連邦共和国デー - 5 5 1 1 6 マインツ、フィリップ・フォン・ツァベルン・ブラッツ 1 番

(72) 発明者 ミヒャエル・コスロヴスキー

ドイツ連邦共和国デー - 5 0 9 9 9 ケルン、ロッダーヴェーク 2 4 番

F ターム (参考) 4B024 AA01 AA12 BA36 BA45 BA54 CA02 CA04 CA05 CA09 DA03
 EA02 EA03 EA04 HA12 HA15 HA17
 4B063 QA01 QA19 QQ08 QQ58 QQ79 QR08 QR32 QR55 QR59 QR62
 QR77 QR80 QS05 QS24 QS33 QS34 QS38
 4B065 AA93X AA93Y AB01 AC20 BA02 CA23 CA24 CA25 CA45 CA46
 4C084 AA13 AA17 BA44 DA01 DB01 NA14 ZB26
 4C085 AA13 AA14 BB01 CC03 CC22 CC23 EE01 EE06 FF12 FF13
 4C086 AA01 AA02 EA16 MA01 MA02 MA04 MA05 MA07 NA14 ZB26
 4C087 AA01 AA02 BB63 NA14 ZB26
 4H045 AA10 AA11 AA30 CA41 DA76 DA86 EA22 EA31 EA51 FA72
 FA74

专利名称(译)	<无法获取翻译>		
公开(公告)号	JP2006516190A5	公开(公告)日	2007-03-22
申请号	JP2004554414	申请日	2003-11-21
[标]申请(专利权)人(译)	加尼梅德药物公司		
申请(专利权)人(译)	Ganyumeto制药股份公司		
[标]发明人	ウグールサヒン エツレムテューレツィ ミヒャエルコスロヴスキー		
发明人	ウグール・サヒン エツレム・テューレツィ ミヒャエル・コスロヴスキー		
IPC分类号	C12N15/09 A61K45/00 A61P35/00 A61K48/00 A61K31/711 A61K39/395 A61K35/12 A61K39/39 A61K38/00 A61K38/22 G01N33/53 G01N33/574 C07K16/30 C12Q1/68 C12N5/10 C07K14/82		
CPC分类号	A61K39/0011 A61K39/395 A61K48/005 C07K14/47 C07K16/18 C12N2503/02 C12Q1/6886 C12Q2600 /136 C12Q2600/158 G01N33/5011 G01N33/5017 G01N33/57407 G01N33/57484 G01N2500/10 A61K2039/505 A61P1/04 A61P1/18 A61P11/00 A61P13/08 A61P13/12 A61P15/00 A61P17/00 A61P35 /00 A61P43/00 C07K16/30 C07K16/3023 C07K16/3046 C07K2317/34 A61K39/39558 C07K2317/30 A61K47/549 C07K16/3076		
FI分类号	C12N15/00.ZNA.A A61K45/00 A61P35/00 A61K48/00 A61K31/711 A61K39/395.E A61K35/12 A61K39 /395.T A61K39/39 A61K37/02 A61K37/24 G01N33/53.N G01N33/574.A G01N33/53.M C07K16/30 C12Q1/68.A C12N5/00.B C07K14/82		
F-TERM分类号	4B024/AA01 4B024/AA12 4B024/BA36 4B024/BA45 4B024/BA54 4B024/CA02 4B024/CA04 4B024 /CA05 4B024/CA09 4B024/DA03 4B024/EA02 4B024/EA03 4B024/EA04 4B024/HA12 4B024/HA15 4B024/HA17 4B063/QA01 4B063/QA19 4B063/QQ08 4B063/QQ58 4B063/QQ79 4B063/QR08 4B063 /QR32 4B063/QR55 4B063/QR59 4B063/QR62 4B063/QR77 4B063/QR80 4B063/QS05 4B063/QS24 4B063/QS33 4B063/QS34 4B063/QS38 4B065/AA93X 4B065/AA93Y 4B065/AB01 4B065/AC20 4B065 /BA02 4B065/CA23 4B065/CA24 4B065/CA25 4B065/CA45 4B065/CA46 4C084/AA13 4C084/AA17 4C084/BA44 4C084/DA01 4C084/DB01 4C084/NA14 4C084/ZB26 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085 /BB01 4C085/CC03 4C085/CC22 4C085/CC23 4C085/EE01 4C085/EE06 4C085/FF12 4C085/FF13 4C086/AA01 4C086/AA02 4C086/EA16 4C086/MA01 4C086/MA02 4C086/MA04 4C086/MA05 4C086 /MA07 4C086/NA14 4C086/ZB26 4C087/AA01 4C087/AA02 4C087/BB63 4C087/NA14 4C087/ZB26 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA30 4H045/CA41 4H045/DA76 4H045/DA86 4H045/EA22 4H045 /EA31 4H045/EA51 4H045/FA72 4H045/FA74		
代理人(译)	田中，三夫 小島 一晃		
优先权	10254601 2002-11-22 DE		
其他公开文献	JP2006516190A		

摘要(译)

本发明涉及鉴定与肿瘤有关的基因产物和编码所述产物的核酸。本发明还涉及疾病的治疗和诊断，其中基因产物与肿瘤，蛋白质，多肽和与肿瘤相关的肽以及所述多肽，肽和蛋白质的编码核酸相关地异常表达。。

