

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2013-140167

(P2013-140167A)

(43) 公開日 平成25年7月18日(2013.7.18)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/68 (2006.01)	GO 1 N 33/68	Z N A 2 G O 4 5
C 1 2 Q 1/68 (2006.01)	C 1 2 Q 1/68	A 4 B O 2 4
GO 1 N 33/50 (2006.01)	GO 1 N 33/50	P 4 B O 6 3
GO 1 N 33/53 (2006.01)	GO 1 N 33/53	D
GO 1 N 33/48 (2006.01)	GO 1 N 33/53	M

審査請求 有 請求項の数 6 O L 外国語出願 (全 173 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2013-27902 (P2013-27902)	(71) 出願人	509012625 ジェネンテック, インコーポレイテッド
(22) 出願日	平成25年2月15日 (2013.2.15)		アメリカ合衆国 カリフォルニア州 サウス サンフランシスコ ディーエヌエー
(62) 分割の表示	特願2013-18370 (P2013-18370) の分割		ウェイ 1
原出願日	平成14年10月15日 (2002.10.15)	(74) 代理人	100109726 弁理士 園田 吉隆
(31) 優先権主張番号	60/340,083	(74) 代理人	100101199 弁理士 小林 義教
(32) 優先日	平成13年10月19日 (2001.10.19)	(72) 発明者	ゴダード, オードリー
(33) 優先権主張国	米国 (US)		アメリカ合衆国 カリフォルニア 941 31, サン フランシスコ, コンゴ ストリート 110
(特許庁注: 以下のものは登録商標)			
1. UNIX			

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 炎症性腸疾患の診断と治療のための組成物と方法

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】 哺乳動物における炎症性腸疾患(「IBD」)の診断と治療に有用な物質の組成物と、該物質の組成物の使用方法を提供する。

【解決手段】 特定の生物学的活性の変調を試験する様々なアッセイにおいて陽性である化合物(例えばタンパク質)を同定することに基づく。そのような化合物をPROポリペプチドと称する。そのような効果が所望される場合、該化合物は、疾患の診断及び/又は治療(予防及び緩解を含む)に有用な薬剤及び/又は薬剤成分と考えられる。加えて、その組成物及び方法により、IBD関連疾患の治療に対する臨床的評価を行細の患者の診断的モニタリング、臨床試験における化合物の効果のモニタリング、及びそのようなIBD関連疾患に罹患しやすい対象の同定が可能になる。

【選択図】なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

哺乳動物試料における潰瘍性大腸炎の存在の検出方法であって、哺乳動物から採取した組織細胞の試験試料中と、同一組織起源の既知の正常細胞の対照試料中とにおいて、

(a) 図 3 4 (配列番号: 3 4) に示されるアミノ酸配列を有するポリペプチド、ないしは、図 3 4 (配列番号: 3 4) に示すアミノ酸配列に少なくとも 9 9 % のアミノ酸配列同一性を有するポリペプチド、又は

(b) 図 3 3 (配列番号: 3 3) に示されるヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチド、ないしは、図 3 3 (配列番号: 3 3) に示されるヌクレオチド配列に少なくとも 9 9 % の核酸配列同一性を有する核酸によってコードされるポリペプチド

をコードする遺伝子の発現レベルを検出することを含み、対照試料と比較して試験試料中の前記ポリペプチドの発現レベルが高い場合に、試験試料を採取した哺乳動物における潰瘍性大腸炎の存在が示される方法。

【請求項 2】

前記ポリペプチドをコードする遺伝子の発現レベルを検出する工程が、インサイツハイブリダイゼーション又は R T - P C R 分析におけるオリゴヌクレオチドの使用を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記ポリペプチドをコードする遺伝子の発現レベルを検出する工程が、免疫組織化学法における抗体の使用を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 4】

哺乳動物試料における潰瘍性大腸炎の存在の検出方法であって、

(a) 図 3 4 (配列番号: 3 4) に示されるアミノ酸配列、又は

(b) 図 3 3 (配列番号: 3 3) に示されるヌクレオチド配列を含んでなるヌクレオチド配列によってコードされるアミノ酸配列

を有するポリペプチドに結合する抗体に、哺乳動物から採取した組織細胞の試験試料を接触させることと、試験試料中における前記ポリペプチドと前記抗体との複合体形成を検出することとを含み、複合体の形成が前記哺乳動物における潰瘍性大腸炎の存在を示す方法

【請求項 5】

前記抗体を検出可能に標識する、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 6】

前記組織細胞の試験試料が、潰瘍性大腸炎を有する疑いのある個体から採取される、請求項 4 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

1. 発明の分野

本発明は、哺乳動物における炎症性腸疾患 (「IBD」) の診断と治療に有用な物質の組成物と、該物質の組成物の使用方法を目的とする。

【背景技術】

【0002】

2. 発明の背景

炎症性腸疾患 (「IBD」) という用語は、腸が炎症を起こす結果、しばしば周期的な痙攣又は下痢を誘発する、原因不明の慢性的炎症性疾患の群を意味する。米国における I B D の罹患率は、人口 1 0 万人当たり約 2 0 0 人と推定される。I B D 患者は、大きく 2 つのグループ、即ち潰瘍性大腸炎 (「UC」) 患者とクローン病 (「CD」) 患者に分けることができる。

UC 患者においては、主に結腸粘膜に炎症性反応が見られる。炎症は通常均一で、正常粘膜に途切れることなく連続している。表面粘膜細胞並びに陰窩上皮及び粘膜下組織に、

10

20

30

40

50

好中球湿潤を伴う炎症性反応が現れる。最終的に、この病状が進行すると上皮細胞が失われる上皮の損傷が発生し、大腸の複数潰瘍形成、繊維症、異型性症、及び長期的退縮に繋がる。

C Dは、炎症が腸壁の全ての層に亘り、腸間膜並びにリンパ節にも現れる点でUCと異なる。C Dは、口から肛門まで、消化管のあらゆる部分に発生し得る。この疾病は、不連続性である場合が多い。つまり、腸において、重症の部分と、明らかに疾病に冒されていない部分とに分かれている。C Dでは、また、腸壁の厚みが増し、閉塞を引き起こすことがある。加えて、瘻管、及び裂が珍しくない。

【0003】

臨床的に、IBDは、慢性的で予測不可能経過を辿ることになることが多い様々な症状を特徴とする。血性の下痢と腹痛に発熱と体重減少がしばしば伴う。大きな疲労感と同様に貧血も起こる。IBDには、一般に、関節痛から急性関節炎に亘る関節症状、並びに肝機能異常が伴う。IBD患者はまた、一般の人口に比べ、大腸癌の危険が大きい。IBDの急性「発病」の間は、仕事及びその他の日常活動を行うことは通常不可能であり、入院が必要なことも多い。

IBDの原因は不明であるが、遺伝性、感染性及び免疫性の可能性等の要因が関係しているとみなされてきた。IBDは、白人、特にユダヤ系に多い。病状の慢性的炎症という性質により、炎症性の原因の可能性に対する情熱的な研究が促されてきた。急性炎症を刺激する作用物質が発見されているが、IBDに伴う慢性炎症を引き起こす作用物質は見つかっていない。IBDが自己免疫性の疾病であるという仮定は、前述したようにIBDが関節炎として腸外の症状を持つことと、免疫反応を抑制することで知られる副腎性グルココルチコイド、サイクロスポリン、及びアザチオプリン等の治療薬による治療により、IBDに肯定的な反応があることが知られていることより支持される。加えて、胃腸管は、身体その他のいずれの器官よりも、食物、細菌副産物(LPS)等由来のタンパク質等の抗原性の物質に曝されている。

【0004】

一般的に内視鏡検査により診断が出た後は、治療は、緩解を誘発してそれを維持することを目標とする。患者の治療に用いられる最も毒性の低い薬剤は、アミノサリチル酸である。通常1日に4回投与されるスルファサラジン(アザルフィジン)は、スルファピリジンにアゾ結合によりリンクするアミノサリチル酸の活性分子(5-ASA)から構成される。大腸の嫌気性細菌はアゾ結合を分断し、活性5-ASAを解放する。しかしながら、スルファピリジンは、可逆性精子異常、消化不良、又はスルファ成分に対するアレルギー反応等の大きな副作用を伴うため、少なくとも20%の患者はスルファピリジンに耐えることが出来ない。これらの副作用は、オルサラジンを吹くよう患者では軽減される。しかし、スルファサラジンとオルサラジンはどちらも小腸の炎症に効果が無い。小腸で放出される5-ASAの他の調製物(例えばメサラミン及びアサコール)が開発されている。通常、5-ASA療法の効果が完全に現れるまでには6~8週間かかる。5-ASA療法に反応しない患者、又はもっと症状が重い患者には、コルチコステロイドが処方される。しかしながら、これは短期療法であり、維持療法としては使用できない。コルチコステロイドにより2~4週間で臨床的緩解に達するが、副作用は重大で、クッシング症候群によるゴールドフェイス、顔面発毛、躁鬱及び不眠症を含む。スルファサラジン及び5-アミノサリチル酸処方物に対する反応は、クローン病では乏しく、初期潰瘍性大腸炎では良好から中程度である。これらの薬剤が効かない場合、強力な免疫抑制剤、例えばサイクロスポリン、プレドニゾン、6-メルカプトプリン又はアザチオプリン(肝臓で6-メルカプトプリンに変換される)が一般に試される。クローン病においては、フィステルと膿瘍に起因する腹腔内敗血症は一般的であるので、クローン病患者へのコルチコステロイド及びその他免疫抑制剤の使用は慎重にモニターしなければならない。IBD患者の約25%が、疾病の経過中に外科的処置(結腸切除)を必要とする。

さらに、重症の潰瘍性大腸炎患者においては、特に疾病が複数年に亘る場合、大腸癌の危険が上昇する(32X)。大量出血、慢性的消耗性疾患、大腸穿孔、又は癌の危険の

10

20

30

40

50

ため、IBD患者の約20～25%に最終的に大腸の切除手術が必要となる。外科的処置は、他の形態の医学的治療が失敗したとき、又はステロイドやその他薬剤の副作用により患者の健康が脅かされるときにも行われる場合がある。外科的処置は湿潤性で生命の危険もあるので、特に望ましい治療法ではなく、一般に最後の手段として行われる処置である。

【0005】

医薬品及び外科的処置に加え、栄養療法などの非常套的なIBD治療も試みられてきた。例えば、半自然的調整剤であるがFlexical（登録商標）は、ステロイドプレドニゾロンとして有効であることが示されている。Sanderson等, Arch. Dis. Child. 51:123-7(1987)を参照。しかし、半自然的調整剤は比較的高価で、一般に経口投与に適さないため、その使用は限られている。IBDの症状を緩和するため、タンパク質全体を含む栄養療法が試されてきた。Giafer等, Lancet 335:816-9 (1990)を参照。米国特許第5,461,033号には、TGF- β 2及びウシ乳から単離された酸性カゼインの使用が開示されている。Beattie等, Aliment. Pharmacol. Ther. 8:1-6 (1994)は、IBD小児の特殊調整粉乳におけるカゼインの使用が開示されている。米国特許第5,952,295号には、IBDの治療のための腸調製物におけるカゼインの使用が開示されている。しかしながら、栄養療法は非毒性であるものの、一時的な治療に過ぎず、疾病を根本的に治療するものではない。

哺乳動物のIBD治療は進歩しているとはいえ、哺乳動物のIBDを検知及び治療する能力を有する診断薬及び治療薬に対する需要は大きい。従って、本発明の目的は、正常細胞と比較してIBD組織由来の細胞に過剰発現するポリペプチドを同定することと、このようなポリペプチドとそれがコードする核酸を使用して、哺乳動物のIBDの診断的検出及び治療的処置に有用な物質の成分を生産することである。

【発明の概要】

【0006】

3. 発明の概要

本発明は、哺乳動物のIBDの診断及び治療のための組成物と方法を提供する。本発明は、特定の生物学的活性の変調を試験する様々なアッセイにおいて陽性である化合物（例えばタンパク質）を同定することに基づく。そのような化合物を本明細書ではPROポリペプチドと称する。つまり、そのような効果が所望される場合、該化合物は、疾患の診断及び/又は治療（予防及び緩解を含む）に有用な薬剤及び/又は薬剤成分と考えられる。加えて、本発明の組成物及び方法により、IBD関連疾患の治療に対する臨床的評価を行細の患者の診断的モニタリング、臨床試験における化合物の効果のモニタリング、及びそのようなIBD関連疾患に罹患しやすい対象の同定が可能になる。

【0007】

一実施形態において、本発明は、製薬的に許容可能な担体との混合剤中に、PROポリペプチド、そのアゴニスト又はアンタゴニスト、又は抗PRO抗体を含む組成物を提供する。1態様においては、組成物は製薬的に有効な量のポリペプチド、アゴニスト、アンタゴニスト又は抗体を含む。別の態様では、組成物はさらに活性成分を含む。好ましくは、組成物は無菌である。PROポリペプチド、アゴニスト、アンタゴニスト又は抗体は、液状の製薬的調節物の形態で投与することが出来、それは保存して貯蔵安定性を伸ばすことができる。好ましくは、保存された液状製薬的調節物は、PROポリペプチド、アゴニスト、アンタゴニスト又は抗体の複数回分の投与量を含んでよく、よって、反復使用に適している。好ましい実施形態では、組成物は抗体を含み、抗体は、モノクローナル抗体、抗体断片、ヒト抗体、ヒト化抗体、又は一本鎖抗体である。本発明の抗体は、随意に、メイタンシノイド又はカリケアマイシン、抗生物質、放射性同位体、ヌクレオチジル酵素等を含め、毒素等の細胞障害剤及び成長阻害剤に結合できる。本発明の抗体は、随意に、CHO細胞又は細菌細胞中に産生することができ、好ましくはそれが結合する細胞の死滅を誘発する。診断的目的のために、本発明の抗体は検出可能に標識化できる。

さらなる実施形態において、本発明は、製薬的に許容可能な担体と、製薬的に有効な量のPROポリペプチド、アゴニスト、アンタゴニスト又は抗体との混合剤からなる、IB

Dの治療に有用な組成物の調製方法を提供する。

【0008】

さらに別の態様では、本発明は：

(a) PROポリペプチド或いはそのアゴニスト又はアンタゴニストを含む物質の組成物；

(b) 前記組成物を収容する容器；及び

(c) 前記PROポリペプチド或いはそのアゴニスト又はアンタゴニストのIBD治療への使用について述べた前記容器への貼付ラベル、又は前記容器に含まれる包装挿入物からなる製造品（アゴニスト又はアンタゴニストはPROポリペプチドに結合する抗体でもよい）を提供する。本組成物は、製薬的に有効な量のPROポリペプチド或いはそのアゴニスト又はアンタゴニストを含む。

10

【0009】

別の実施形態では、本発明は：

(a) 通常PROポリペプチドにより誘発される細胞反応の誘発に適切な条件下で、細胞と試験化合物を接触させ、スクリーニングすること；及び

(b) 試験化合物が有効なアゴニストであるかどうかを決定するために前記細胞反応の誘発を測定し、ここで、前記細胞反応が誘発されていることは、前記試験化合物が有効なアゴニストであることを示すこと

からなる、PROポリペプチドのアゴニストの同定方法を提供する。

別の実施形態では、本発明は：

20

(a) PROポリペプチドによる細胞増殖を刺激するのに適切な条件下で、細胞と試験化合物を接触させ、スクリーニングすること；及び

(b) 試験化合物が有効なアゴニストであるかどうかを決定するために前記細胞の増殖を測定し、ここで、細胞増殖が刺激されたことは、前記試験化合物が有効なアゴニストであることを示すこと

からなる、PROポリペプチドのアゴニストの同定方法を提供する。

【0010】

別の実施形態では、本発明は、試験化合物とPROポリペプチドを、試験化合物とポリペプチドが相互作用するのに十分な条件及び時間で接触させること、及びPROポリペプチドの活性が阻害されたかどうかを決定することからなる、PROポリペプチドの活性を阻害する化合物の同定方法を提供する。特に好ましい態様では、試験化合物又はPROポリペプチドを固体の支持体に固定する。別の好ましい態様では、非固定化成分に検出可能な標識を付ける。好ましい態様では、本方法は：

30

(a) PROポリペプチドの存在下において、通常PROポリペプチドにより誘発される細胞反応の誘発に適切な条件下で、細胞と試験化合物を接触させ、スクリーニングすること；及び

(b) 試験化合物が有効なアゴニストであるかどうかを決定するために前記細胞反応の誘発を測定すること

を含む。

別の好ましい実施形態では、この方法は：

40

(a) PROポリペプチドの存在下において、PROポリペプチドによる細胞増殖を刺激するのに適切な条件下で、細胞と試験化合物を接触させ、スクリーニングすること；及び

(b) 試験化合物が有効なアゴニストであるかどうかを決定するために前記細胞の増殖を測定すること

を含む。

【0011】

別の実施形態では、本発明は、通常ポリペプチドを発現する細胞においてPROポリペプチドの発現を阻害する化合物の同定方法を提供し、該方法は、細胞に試験化合物を接触させること、及びPROポリペプチドの発現が阻害されたかどうかを決定することを含む。

50

好ましい態様では、本方法は：

(a) P R Oポリペプチドを発現させるのに適切な条件下で、細胞と試験化合物を接触させ、スクリーニングすること；及び

(b) 前記ポリペプチドの発現の阻害を測定することを含む。

更なる実施形態では、本発明は、上述の方法により同定される化合物のような、P R Oポリペプチドの発現を阻害する化合物を提供する。

【 0 0 1 2 】

本発明の別の態様は、上述の方法により随意に同定できるP R Oポリペプチドのアゴニスト又はアンタゴニストを目的とする。

P R Oポリペプチドの1以上の機能又は活性を阻害するP R Oポリペプチドのアンタゴニストの1種は抗体である。従って、別の態様では、本発明はP R Oポリペプチドに結合する単離された抗体を提供する。好ましい態様では、抗体はモノクローナル抗体であり、好ましくは非ヒト相補性決定領域(C D R)残基及びヒトフレームワーク領域(F R)残基である。抗体は標識可能で且つ固体の支持体に固定化することができる。さらに別の態様では、抗体は、抗体断片、一本鎖抗体、ヒト抗体又はヒト化抗体である。好ましくは、抗体はポリペプチドに特異的に結合する。随意に、メイタンシノイド又はカリケアマイシン、抗生物質、放射性同位体、ヌクレオチジル酵素等を含め、毒素等の細胞障害剤及び成長阻害剤に結合させることができる。本発明の抗体は、随意に、C H O細胞又は細菌細胞中に産生することができ、好ましくはそれが結合する細胞の死滅を誘発する。診断的

10

20

【 0 0 1 3 】

さらに別の態様では、本発明は、P R Oポリペプチドコード化核酸配列の突然変異に関する疾病、又は該疾病の罹患し易さを診断する方法であって、前記P R Oポリペプチド核酸の有無を決定し、前記突然変異の有無が前記疾病、又は前記疾病のかかり易さを示す方法を提供する。

さらに別の態様では、本発明は、哺乳動物のI B Dを診断する方法であって、(a) 前記哺乳動物由来の組織の細胞(例えば結腸細胞)の試験試料中、及び(b) 同じ種類の細胞の既知の正常組織細胞の対照試料中におけるP R Oポリペプチドをコードする遺伝子の発現レベルを分析することを含み、対照試料と比較した場合の該試料中の発現レベルの高低が前記哺乳動物中のI B Dの存在を示す方法を提供する。P R Oポリペプチドをコード化する遺伝子の発現は、随意で、対照試料と比較した試験試料中のポリペプチド又はm R N Aのレベルを測定することにより行ってもよい。

30

【 0 0 1 4 】

さらに別の実施形態では、本発明は哺乳動物のI B Dを診断する方法であって、前記哺乳動物から採取した組織細胞(例えば結腸細胞)の試験試料にP R Oポリペプチドの存在の有無を検出することを含み、前記試験試料中の前記P R Oポリペプチドの有無が哺乳動物におけるI B Dの存在を示す方法を提供する。

さらに別の実施形態では、本発明は哺乳動物のI B Dを診断する方法であって、(a) 抗P R O抗体を該哺乳動物より採取した組織細胞(例えば結腸細胞)の試験試料に接触させること、及び(b) 試験試料において抗体とP R Oポリペプチドの間の複合体形成を検出することを含み、前記複合体の形成が哺乳動物におけるI B Dの存在を示す方法を提供する。検出は、定性的であっても定量的であってもよく、同種の細胞の既知の正常組織細胞の対照試料中の複合体形成のモニタリングと比較することにより行ってもよい。試験試料中に形成された大量又は少量の複合体は、試験組織細胞を採取した哺乳動物にI B Dが存在することを示す。好ましくは抗体は検出可能な標識を保持する。複合体の形成は、例えば、光学顕微鏡、フローサイトメトリー、蛍光定量法、又は当分野において知られる他の技術によりモニターすることができる。試験試料は、通常、I B Dの疑いがある個体から採取する。

40

【 0 0 1 5 】

50

別の実施形態では、本発明は、試料中のPROポリペプチドの存在を決定する方法であって、PROポリペプチドを含む疑いのある試料を抗PRO抗体に接触させること、及び前記試料の成分への前記抗体の結合を決定することを含む方法を提供する。特定の態様では、試料はPROポリペプチドを含む疑いのある細胞を有し、抗体は細胞に結合する。好ましくは、抗体は検出可能に標識し、及び/又は固体の支持体に結合させる。

さらなる態様では、本発明は、適切なパッケージ中に抗PRO抗体及び担体を含むIBD診断キットを提供する。好ましくは、このようなキットは、さらに、前記抗体をPROポリペプチドの検出に使用するための指示書を含む。好ましくは、担体は例えばバッファーである。好ましくは、IBDはクローン病又は潰瘍性大腸炎である。

【0016】

また別の実施形態では、本発明は、哺乳動物にPROポリペプチドの有効量を投与することを含む、哺乳動物のIBD治療法を提供する。好ましくは、疾患はクローン病又は潰瘍性大腸炎である。好ましくは、哺乳動物はヒト、好ましくはIBD発症の危険を有するヒトである。

別の好ましい実施形態では、PROポリペプチドは、化学療法剤、成長阻害剤又は細胞障害剤と組合せて投与される。

さらなる実施形態では、本発明は、哺乳動物に対し、PROポリペプチドのアゴニスト、アンタゴニスト、又は抗PRO抗体の有効量を投与することを含む哺乳動物のIBD治療法を提供する。好ましくは、IBDはクローン病又は潰瘍性大腸炎である。また、好ましくは、哺乳動物はヒトであり、アゴニスト、アンタゴニスト、又は抗PRO抗体と併せて化学療法剤、成長阻害剤又は細胞障害剤の有効量を投与する。

【0017】

本発明のまた別の実施形態は、IBDを有する哺乳動物の、PROポリペプチドを発現する細胞の治療的処置を目的とし、本方法は、PROポリペプチドに結合する抗体の治療的有効量を哺乳動物に対して投与することを含み、それによりIBDを効果的に治療処置する。場合によっては、抗体は、モノクローナル抗体、抗体断片、キメラ抗体、ヒト抗体、ヒト化抗体、又は一本鎖抗体である。本発明の方法に使用される抗体は、随意に、メイタンシノイド又はカリケアマイシン、抗生物質、放射性同位体、ヌクレオチジル酵素等を含め、毒素等の細胞障害剤及び成長阻害剤に結合させることができる。本発明の方法に使用される抗体は、随意に、CHO細胞又は細菌細胞中に産生することができる。

また、さらなる実施形態では、本発明は、IBDに罹患した哺乳動物におけるIBD治療法を提供し、本方法は、哺乳動物に対し、(a) PROポリペプチド、(b) PROポリペプチドのアゴニスト、又は(c) PROポリペプチドのアンタゴニストのいずれかをコードする核酸を投与することを含む。前記アゴニスト又はアンタゴニストは抗PRO抗体でもよい。好ましい実施形態では、哺乳動物はヒトである。別の好ましい実施形態では、遺伝子をエキソピボにより投与する。さらなる好ましい実施形態では、遺伝子はベクター内、さらに好ましくはアデノウイルス、アデノ関連ウイルス、レンチウイルス、又はレトロウイルスベクター内に含まれる。

【0018】

また別の態様では、本発明は、基本的に、プロモーター、(a) PROポリペプチド、(b) PROポリペプチドのアゴニストポリペプチド、又は(c) PROポリペプチドのアンタゴニストポリペプチドをコードする核酸、及びポリペプチドの細胞分泌のためのシグナル配列からなるレトロウイルスベクターを含む組換えレトロウイルス粒子を提供する。ここで、レトロウイルスベクターはレトロウイルス構造タンパク質と関連している。好ましくは、シグナル配列は、天然PROポリペプチド由来である等。哺乳動物由来である。

また、さらなる実施形態では、本発明は、レトロウイルス構造のタンパク質を発現し、且つ、プロモーター、(a) PROポリペプチド、(b) PROポリペプチドのアゴニストポリペプチド、又は(c) PROポリペプチドのアンタゴニストポリペプチドをコードする核酸、及びポリペプチドの細胞分泌のためのシグナル配列からなるレトロウイルスベ

10

20

30

40

50

クターを含む核酸構成を有するエキソピボ酸性株細胞を供給する。ここで、前記産生株細胞は、構造タンパク質と関連させてレトロウイルスベクターを包み、組換えレトロウイルス粒子を産生する。

本発明の他の実施形態では、本発明は、PROポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を有する単離された核酸分子を提供する。

【0019】

一態様では、単離された核酸分子は、(a)本明細書に開示する完全長アミノ酸配列、本明細書に開示するシグナルペプチドを欠くアミノ酸配列、シグナルペプチドの有無に関わらず、本明細書に開示する膜貫通タンパク質の細胞外ドメイン、又は本明細書に開示する完全長アミノ酸配列のその他任意の特に定義された断片を有するPROポリペプチドをコードするDNA分子、又は(b)(a)のDNA分子の相補鎖に対し、少なくとも約80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、又は98%の核酸配列同一性か、或いは少なくとも約99%の核酸配列同一性を有するヌクレオチド配列を有する。

10

別の態様では、単離された核酸分子は、(a)本明細書に開示する完全長PROポリペプチドcDNAのコード化配列、本明細書に開示するシグナルペプチドを欠くPROポリペプチドのコード化配列、シグナルペプチドの有無に関わらず、本明細書に開示する膜貫通PROポリペプチドの細胞外ドメインのコード化配列、又は本明細書に開示する完全長アミノ酸配列のその他任意の特に定義された断片のコード化配列を有するDNA分子、又は(b)(a)のDNA分子の相補鎖に対し、少なくとも約80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、又は98%の核酸配列同一性か、或いは少なくとも約99%の核酸配列同一性を有するヌクレオチド配列を有する。

20

【0020】

さらなる態様では、本発明は、(a)本明細書に開示するようにATCCに寄託されたヒトタンパク質cDNAのいずれかによってコードされるものと同じ成熟ポリペプチドをコードするDNA分子、又は(a)のDNA分子の相補鎖に対し、少なくとも約80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、又は98%の核酸配列同一性か、或いは少なくとも約99%の核酸配列同一性を有するヌクレオチド配列を有する単離された核酸分子を提供する。

30

本発明の別の態様は、膜貫通ドメインが削除されているか、又は膜貫通ドメインが不活性化されているPROポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、或いはそのようなコード化ヌクレオチド配列に相補的なヌクレオチド配列を有する単離された核酸分子を提供し、そのようなポリペプチドの膜貫通ドメインを本明細書に開示する。したがって、ここに開示されるPROポリペプチドの可溶性の細胞外ドメインを考慮する。

【0021】

別の態様では、本発明は、(a)本明細書に開示する完全長アミノ酸配列、本明細書に開示するシグナルペプチドを欠くPROポリペプチドアミノ酸配列、シグナルペプチドの有無に関わらず、本明細書に開示する膜貫通PROポリペプチドの細胞外ドメイン、又は本明細書に開示する完全長PROポリペプチドアミノ酸配列のその他任意の特に定義された断片を有するPROポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、又は(b)(a)のヌクレオチド配列の相補鎖にハイブリダイズする単離された核酸分子を目的とする。これに関し、本発明の一実施形態は、本明細書に開示する完全長PROポリペプチドコード化配列の断片、又はその相補鎖を目的とする。これは、例えば、診断プローブ、アンチセンスオリゴヌクレオチドプローブ、又は、抗PROポリペプチド抗体の結合部位を有するポリペプチドを随意でコードすることができる完全長PROポリペプチドの断片のコード化に有用なハイブリダイゼーションプローブ等に見出すことができる。このような核酸断片の長さは、通常、少なくとも5ヌクレオチドであり、或いは少なくとも約6、7、

40

50

8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、105、110、115、120、125、130、135、140、145、150、155、160、165、170、175、180、185、190、195、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、310、320、330、340、350、360、370、380、390、400、410、420、430、440、450、460、470、480、490、500、510、520、530、540、550、560、570、580、590、600、610、620、630、640、650、660、670、680、690、700、710、720、730、740、750、760、770、780、790、800、810、820、830、840、850、860、870、880、890、900、910、920、930、940、950、960、970、980、990、又は1000ヌクレオチドであり、この文脈において「約」という語は、言及された長さのプラスマイナス10%のヌクレオチド配列長を意味する。PROポリペプチドコード化ヌクレオチド配列の新規断片は、複数の周知の配列アラインメントプログラムを使用して、どのPROポリペプチドコード化ヌクレオチド配列断片が新規であるかを決定することにより、PROポリペプチドコード化ヌクレオチド配列と他の既知のヌクレオチド配列を整列させることによって決定できることに注意されたい。そのようなPROポリペプチドコード化ヌクレオチド配列の新規断片の全てをここで考慮する。また、これらヌクレオチド分子の断片によりコードされるPROポリペプチド断片、好ましくは抗PRO抗体の結合部位を有するPROポリペプチド断片も考慮する。

【0022】

別の実施形態では、本発明は、上記に同定した任意の単離された核酸配列によりコードされる単離されたPROポリペプチドを提供する。

特定の態様では、本発明は、本明細書に開示する完全長アミノ酸配列、本明細書に開示するシグナルペプチドを欠くアミノ酸配列、シグナルペプチドの有無に関わらず、本明細書に開示する膜貫通タンパク質の細胞外ドメイン、又は本明細書に開示する完全長アミノ酸配列のその他任意の特に定義された断片を有するPROポリペプチドに対し、少なくとも約80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、又は98%の核酸配列同一性が、或いは少なくとも約99%の核酸配列同一性を有する単離されたPROポリペプチドを提供する。

さらなる態様では、本発明は、本明細書に開示するようにATCCに寄託されたヒトタンパク質cDNAのいずれかによってコードされるアミノ酸配列に対し、少なくとも約80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、又は98%の核酸配列同一性が、或いは少なくとも約99%の核酸配列同一性を有する単離されたPROポリペプチドを提供する。

【0023】

特定の態様では、本発明は、N末端シグナル配列及び/又は開始メチオニンを持たず、上記に記載したようなアミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列によりコードされる単離されたPROポリペプチドを提供する。本明細書には、該単離されたPROポリペプチドを生産するための方法も開示し、該方法は、適切なコード化核酸分子有するベクターを含む宿主細胞をPROポリペプチドの発現に適切な条件下で培養することと、細胞培地からPROポリペプチドを回収することを含む。

本発明の別の態様は、膜貫通ドメインが削除されているか、又は膜貫通ドメインが不活性化されている単離されたPROポリペプチドを提供する。本明細書には、該単離されたPROポリペプチドを生産するための方法も開示し、該方法は、適切なコード化核酸分子有するベクターを含む宿主細胞をPROポリペプチドの発現に適切な条件下で培養するこ

とと、細胞培地からPROポリペプチドを回収することを含む。

【0024】

また別の実施形態では、本発明は上記に定義したような天然PROポリペプチドのアゴニスト及びアンタゴニストを提供する。特定の実施形態では、アゴニスト又はアンタゴニストは小分子の抗PRO抗体である。

さらなる実施形態では、本発明は、PROポリペプチドへのアゴニスト又はアンタゴニストの同定方法を提供し、該方法は、PROポリペプチドを候補分子に接触させること、及び前記PROポリペプチドによって媒介される生物学的活性をモニタリングすることを含む。

またさらなる実施形態では、本発明は、担体と組み合わせた、PROポリペプチド、或いはここに開示するPROポリペプチドのアゴニスト又はアンタゴニスト、或いは抗PRO抗体を有する物質の組成物を提供する。場合によっては、担体は製薬的に許容可能な担体である。

【0025】

本発明の別の実施形態は、PROポリペプチド、そのアゴニスト又はアンタゴニスト、又は抗PRO抗体に反応する状態の治療に有用な薬物の調製に、PROポリペプチド、或いはここに開示するPROポリペプチドのアゴニスト又はアンタゴニスト、或いは抗PRO抗体を使用する方法を目的とする。

本発明のまた別の実施形態では、本発明は、本明細書に開示するポリペプチドのいずれかをコードするDNAを含むベクターを提供する。そのようなベクターのいずれかを含む宿主細胞も提供される。例として、宿主細胞は、CHO細胞、大腸菌、酵母、又はバキュロウイルスに感染した昆虫細胞である。本明細書に開示する任意のポリペプチドの生産方法がさらに提供され、該方法は、宿主細胞を所望のポリペプチドの発現に適した条件下で培養すること、及び所望のポリペプチドを細胞培地から回収することを含む。

他の実施形態では、本発明は、異種ポリペプチド又はアミノ酸配列に融合させた本明細書に記載の任意のポリペプチドを有するキメラ分子を提供する。そのようなキメラ分子の例は、イムノグロブリンのFc領域又はエピトープタグ配列に融合させたここに開示する任意のポリペプチドを有するキメラ分子を含む。

【0026】

別の実施形態では、本発明は上述又は後述のポリペプチドのいずれかに特異的に結合する抗体を提供する。場合によっては、抗体は、モノクローナル抗体、ヒト抗体、ヒト化抗体、抗体断片又は一本鎖抗体である。

また別の実施形態では、本発明はゲノム及びcDNAヌクレオチド配列又はアンチセンスプローブを単離するのに有用なオリゴヌクレオチドプローブを提供し、ここで、これらプローブは上述又は後述のヌクレオチド配列由来でよい。

本発明のさらなる実施形態は、本明細書の記述により、当業者に明らかである。

【図面の簡単な説明】

【0027】

【図1】本明細書において「DNA32279」と表すヌクレオチド配列（配列番号：1）を示す。

【図2】図1に示した配列番号：1のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：2）を示す。

【図3】本明細書において「DNA33085」と表すヌクレオチド配列（配列番号：3）を示す。

【図4】図3に示した配列番号：3のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：4）を示す。

【図5】本明細書において「DNA33457」と表すヌクレオチド配列（配列番号：5）を示す。

【図6】図5に示した配列番号：5のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：6）を示す。

10

20

30

40

50

【図 7】本明細書において「DNA33461」と表すヌクレオチド配列（配列番号：7）を示す。

【図 8】図 7 に示した配列番号：7 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：8）を示す。

【図 9】本明細書において「DNA33785」と表すヌクレオチド配列（配列番号：9）を示す。

【図 10】図 9 に示した配列番号：9 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：10）を示す。

【図 11】本明細書において「DNA36725」と表すヌクレオチド配列（配列番号：11）を示す。

10

【図 12】図 11 に示した配列番号：11 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：12）を示す。

【図 13】本明細書において「DNA40576」と表すヌクレオチド配列（配列番号：13）を示す。

【図 14 A】図 13 に示した配列番号：13 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：14）を示す。

【図 14 B】図 13 に示した配列番号：13 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：14）を示す。

【図 15】本明細書において「DNA51786」と表すヌクレオチド配列（配列番号：15）を示す。

20

【図 16】図 15 に示した配列番号：15 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：16）を示す。

【図 17】本明細書において「DNA52594」と表すヌクレオチド配列（配列番号：17）を示す。

【図 18】図 17 に示した配列番号：17 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：18）を示す。

【図 19】本明細書において「DNA59776」と表すヌクレオチド配列（配列番号：19）を示す。

【図 20】図 19 に示した配列番号：19 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：20）を示す。

30

【図 21】本明細書において「DNA62377」と表すヌクレオチド配列（配列番号：21）を示す。

【図 22】図 21 に示した配列番号：21 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：22）を示す。

【図 23】本明細書において「DNA64882」と表すヌクレオチド配列（配列番号：23）を示す。

【図 24】図 23 に示した配列番号：23 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：24）を示す。

【図 25】本明細書において「DNA69553」と表すヌクレオチド配列（配列番号：25）を示す。

40

【図 26】図 25 に示した配列番号：25 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：26）を示す。

【図 27】本明細書において「DNA77509」と表すヌクレオチド配列（配列番号：27）を示す。

【図 28】図 27 に示した配列番号：27 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：28）を示す。

【図 29】本明細書において「DNA77512」と表すヌクレオチド配列（配列番号：29）を示す。

【図 30】図 29 に示した配列番号：29 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：30）を示す。

50

【図 3 1】本明細書において「DNA 8 1 7 5 2」と表すヌクレオチド配列（配列番号：3 1）を示す。

【図 3 2】図 3 1 に示した配列番号：3 1 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：3 2）を示す。

【図 3 3】本明細書において「DNA 8 2 3 0 5」と表すヌクレオチド配列（配列番号：3 3）を示す。

【図 3 4】図 3 3 に示した配列番号：3 3 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：3 4）を示す。

【図 3 5】本明細書において「DNA 8 2 3 5 2」と表すヌクレオチド配列（配列番号：3 5）を示す。

【図 3 6】図 3 5 に示した配列番号：3 5 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：3 6）を示す。

【図 3 7】本明細書において「DNA 8 7 9 9 4」と表すヌクレオチド配列（配列番号：3 7）を示す。

【図 3 8】図 3 7 に示した配列番号：3 7 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：3 8）を示す。

【図 3 9 A】本明細書において「DNA 8 8 4 1 7」と表すヌクレオチド配列（配列番号：3 9）を示す。

【図 3 9 B】本明細書において「DNA 8 8 4 1 7」と表すヌクレオチド配列（配列番号：3 9）を示す。

【図 4 0 A】図 3 9 A - B に示した配列番号：3 9 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：4 0）を示す。

【図 4 0 B】図 3 9 A - B に示した配列番号：3 9 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：4 0）を示す。

【図 4 1】本明細書において「DNA 8 8 4 3 2」と表すヌクレオチド配列（配列番号：4 1）を示す。

【図 4 2 A】図 4 1 に示した配列番号：4 1 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：4 2）を示す。

【図 4 2 B】図 4 1 に示した配列番号：4 1 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：4 2）を示す。

【図 4 3】本明細書において「DNA 9 2 2 4 7」と表すヌクレオチド配列（配列番号：4 3）を示す。

【図 4 4】図 4 3 に示した配列番号：4 3 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：4 4）を示す。

【図 4 5】本明細書において「DNA 9 5 9 3 0」と表すヌクレオチド配列（配列番号：4 5）を示す。

【図 4 6】図 4 5 に示した配列番号：4 5 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：4 6）を示す。

【図 4 7】本明細書において「DNA 9 9 3 3 1」と表すヌクレオチド配列（配列番号：4 7）を示す。

【図 4 8】図 4 7 に示した配列番号：4 7 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：4 8）を示す。

【図 4 9】本明細書において「DNA 1 0 1 2 2 2」と表すヌクレオチド配列（配列番号：4 9）を示す。

【図 5 0】図 4 9 に示した配列番号：4 9 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：5 0）を示す。

【図 5 1】本明細書において「DNA 1 0 2 8 5 0」と表すヌクレオチド配列（配列番号：5 1）を示す。

【図 5 2】図 5 1 に示した配列番号：5 1 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：5 2）を示す。

10

20

30

40

50

【図 5 3】本明細書において「DNA 1 0 5 7 9 2」と表すヌクレオチド配列（配列番号：5 3）を示す。

【図 5 4】図 5 3 に示した配列番号：5 3 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：5 4）を示す。

【図 5 5】本明細書において「DNA 1 0 7 4 2 9」と表すヌクレオチド配列（配列番号：5 5）を示す。

【図 5 6】図 5 5 に示した配列番号：5 5 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：5 6）を示す。

【図 5 7】本明細書において「DNA 1 4 5 5 8 2」と表すヌクレオチド配列（配列番号：5 7）を示す。

【図 5 8】図 5 7 に示した配列番号：5 7 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：5 8）を示す。

【図 5 9】本明細書において「DNA 1 6 5 6 0 8」と表すヌクレオチド配列（配列番号：5 9）を示す。

【図 6 0】図 5 9 に示した配列番号：5 9 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：6 0）を示す。

【図 6 1】本明細書において「DNA 1 6 6 8 1 9」と表すヌクレオチド配列（配列番号：6 1）を示す。

【図 6 2】図 6 1 に示した配列番号：6 1 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：6 2）を示す。

【図 6 3】本明細書において「DNA 1 6 8 0 6 1」と表すヌクレオチド配列（配列番号：6 3）を示す。

【図 6 4】図 6 3 に示した配列番号：6 3 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：6 4）を示す。

【図 6 5】本明細書において「DNA 1 7 1 3 7 2」と表すヌクレオチド配列（配列番号：6 5）を示す。

【図 6 6】図 6 5 に示した配列番号：6 5 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：6 6）を示す。

【図 6 7】本明細書において「DNA 1 8 8 1 7 5」と表すヌクレオチド配列（配列番号：6 7）を示す。

【図 6 8】図 6 7 に示した配列番号：6 7 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：6 8）を示す。

【図 6 9】本明細書において「DNA 1 8 8 1 8 2」と表すヌクレオチド配列（配列番号：6 9）を示す。

【図 7 0】図 6 9 に示した配列番号：6 9 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：7 0）を示す。

【図 7 1】本明細書において「DNA 1 8 8 2 0 0」と表すヌクレオチド配列（配列番号：7 1）を示す。

【図 7 2】図 7 1 に示した配列番号：7 1 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：7 2）を示す。

【図 7 3】本明細書において「DNA 1 8 8 2 0 3」と表すヌクレオチド配列（配列番号：7 3）を示す。

【図 7 4】図 7 3 に示した配列番号：7 3 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：7 4）を示す。

【図 7 5】本明細書において「DNA 1 8 8 2 0 5」と表すヌクレオチド配列（配列番号：7 5）を示す。

【図 7 6】図 7 5 に示した配列番号：7 5 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：7 6）を示す。

【図 7 7】本明細書において「DNA 1 8 8 2 4 4」と表すヌクレオチド配列（配列番号：7 7）を示す。

10

20

30

40

50

【図 7 8】図 7 7 に示した配列番号：7 7 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：7 8）を示す。

【図 7 9】本明細書において「DNA 1 8 8 2 7 0」と表すヌクレオチド配列（配列番号：7 9）を示す。

【図 8 0】図 7 9 に示した配列番号：7 9 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：8 0）を示す。

【図 8 1】本明細書において「DNA 1 8 8 2 7 7」と表すヌクレオチド配列（配列番号：8 1）を示す。

【図 8 2】図 8 1 に示した配列番号：8 1 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：8 2）を示す。

10

【図 8 3】本明細書において「DNA 1 8 8 2 7 8」と表すヌクレオチド配列（配列番号：8 3）を示す。

【図 8 4】図 8 3 に示した配列番号：8 3 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：8 4）を示す。

【図 8 5】本明細書において「DNA 1 8 8 2 8 7」と表すヌクレオチド配列（配列番号：8 5）を示す。

【図 8 6】図 8 5 に示した配列番号：8 5 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：8 6）を示す。

【図 8 7 A】本明細書において「DNA 1 8 8 3 0 2」と表すヌクレオチド配列（配列番号：8 7）を示す。

20

【図 8 7 B】本明細書において「DNA 1 8 8 3 0 2」と表すヌクレオチド配列（配列番号：8 7）を示す。

【図 8 8 A】図 8 7 A - B に示した配列番号：8 7 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：8 8）を示す。

【図 8 8 B】図 8 7 A - B に示した配列番号：8 7 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：8 8）を示す。

【図 8 9】本明細書において「DNA 1 8 8 3 3 2」と表すヌクレオチド配列（配列番号：8 9）を示す。

【図 9 0】図 8 9 に示した配列番号：8 9 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：9 0）を示す。

30

【図 9 1】本明細書において「DNA 1 8 8 3 3 9」と表すヌクレオチド配列（配列番号：9 1）を示す。

【図 9 2】図 9 1 に示した配列番号：9 1 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：9 2）を示す。

【図 9 3】本明細書において「DNA 1 8 8 3 4 0」と表すヌクレオチド配列（配列番号：9 3）を示す。

【図 9 4】図 9 3 に示した配列番号：9 3 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：9 4）を示す。

【図 9 5】本明細書において「DNA 1 8 8 3 5 5」と表すヌクレオチド配列（配列番号：9 5）を示す。

40

【図 9 6】図 9 5 に示した配列番号：9 5 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：9 6）を示す。

【図 9 7】本明細書において「DNA 1 8 8 4 2 5」と表すヌクレオチド配列（配列番号：9 7）を示す。

【図 9 8】図 9 7 に示した配列番号：9 7 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：9 8）を示す。

【図 9 9】本明細書において「DNA 1 8 8 4 4 8」と表すヌクレオチド配列（配列番号：9 9）を示す。

【図 1 0 0】図 9 9 に示した配列番号：9 9 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：1 0 0）を示す。

50

【図101】本明細書において「DNA194566」と表すヌクレオチド配列（配列番号：101）を示す。

【図102】図101に示した配列番号：101のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：102）を示す。

【図103】本明細書において「DNA199788」と表すヌクレオチド配列（配列番号：103）を示す。

【図104】図103に示した配列番号：103のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：104）を示す。

【図105】本明細書において「DNA200227」と表すヌクレオチド配列（配列番号：105）を示す。

【図106】図105に示した配列番号：105のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：106）を示す。

【図107】本明細書において「DNA27865」と表すヌクレオチド配列（配列番号：107）を示す。

【図108】図107に示した配列番号：107のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：108）を示す。

【図109】本明細書において「DNA33094」と表すヌクレオチド配列（配列番号：109）を示す。

【図110】図109に示した配列番号：109のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：110）を示す。

【図111】本明細書において「DNA45416」と表すヌクレオチド配列（配列番号：111）を示す。

【図112】図111に示した配列番号：111のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：112）を示す。

【図113】本明細書において「DNA48328」と表すヌクレオチド配列（配列番号：113）を示す。

【図114】図113に示した配列番号：113のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：114）を示す。

【図115】本明細書において「DNA50960」と表すヌクレオチド配列（配列番号：115）を示す。

【図116】図115に示した配列番号：115のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：116）を示す。

【図117】本明細書において「DNA80896」と表すヌクレオチド配列（配列番号：117）を示す。

【図118】図117に示した配列番号：117のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：118）を示す。

【図119】本明細書において「DNA82319」と表すヌクレオチド配列（配列番号：119）を示す。

【図120】図119に示した配列番号：119のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：120）を示す。

【図121】本明細書において「DNA82352」と表すヌクレオチド配列（配列番号：121）を示す。

【図122】図121に示した配列番号：121のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：122）を示す。

【図123】本明細書において「DNA82363」と表すヌクレオチド配列（配列番号：123）を示す。

【図124】図123に示した配列番号：123のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：124）を示す。

【図125】本明細書において「DNA82368」と表すヌクレオチド配列（配列番号：125）を示す。

10

20

30

40

50

【図 1 2 6】図 1 2 5 に示した配列番号：1 2 5 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：1 2 6）を示す。

【図 1 2 7】本明細書において「DNA 8 3 1 0 3」と表すヌクレオチド配列（配列番号：1 2 7）を示す。

【図 1 2 8】図 1 2 7 に示した配列番号：1 2 7 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：1 2 8）を示す。

【図 1 2 9】本明細書において「DNA 8 3 5 0 0」と表すヌクレオチド配列（配列番号：1 2 9）を示す。

【図 1 3 0】図 1 2 9 に示した配列番号：1 2 9 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：1 3 0）を示す。

【図 1 3 1】本明細書において「DNA 8 8 0 0 2」と表すヌクレオチド配列（配列番号：1 3 1）を示す。

【図 1 3 2】図 1 3 1 に示した配列番号：1 3 1 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：1 3 2）を示す。

【図 1 3 3】本明細書において「DNA 9 2 2 8 2」と表すヌクレオチド配列（配列番号：1 3 3）を示す。

【図 1 3 4】図 1 3 3 に示した配列番号：1 3 3 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：1 3 4）を示す。

【図 1 3 5】本明細書において「DNA 9 6 9 3 4」と表すヌクレオチド配列（配列番号：1 3 5）を示す。

【図 1 3 6】図 1 3 5 に示した配列番号：1 3 5 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：1 3 6）を示す。

【図 1 3 7】本明細書において「DNA 9 6 9 4 3」と表すヌクレオチド配列（配列番号：1 3 7）を示す。

【図 1 3 8】図 1 3 7 に示した配列番号：1 3 7 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：1 3 8）を示す。

【図 1 3 9】本明細書において「DNA 9 7 0 0 5」と表すヌクレオチド配列（配列番号：1 3 9）を示す。

【図 1 4 0】図 1 3 9 に示した配列番号：1 3 9 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：1 4 0）を示す。

【図 1 4 1】本明細書において「DNA 9 8 5 5 3」と表すヌクレオチド配列（配列番号：1 4 1）を示す。

【図 1 4 2】図 1 4 1 に示した配列番号：1 4 1 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：1 4 2）を示す。

【図 1 4 3】本明細書において「DNA 1 0 2 8 4 5」と表すヌクレオチド配列（配列番号：1 4 3）を示す。

【図 1 4 4】図 1 4 3 に示した配列番号：1 4 3 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：1 4 4）を示す。

【図 1 4 5】本明細書において「DNA 1 0 8 7 1 5」と表すヌクレオチド配列（配列番号：1 4 5）を示す。

【図 1 4 6】図 1 4 5 に示した配列番号：1 4 5 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：1 4 6）を示す。

【図 1 4 7】本明細書において「DNA 1 0 8 7 3 5」と表すヌクレオチド配列（配列番号：1 4 7）を示す。

【図 1 4 8】図 1 4 7 に示した配列番号：1 4 7 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：1 4 8）を示す。

【図 1 4 9】本明細書において「DNA 1 6 4 4 5 5」と表すヌクレオチド配列（配列番号：1 4 9）を示す。

【図 1 5 0】図 1 4 9 に示した配列番号：1 4 9 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：1 5 0）を示す。

10

20

30

40

50

【図151】本明細書において「DNA188178」と表すヌクレオチド配列（配列番号：151）を示す。

【図152】図151に示した配列番号：151のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：152）を示す。

【図153】本明細書において「DNA188271」と表すヌクレオチド配列（配列番号：153）を示す。

【図154】図153に示した配列番号：153のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：154）を示す。

【図155】本明細書において「DNA188338」と表すヌクレオチド配列（配列番号：155）を示す。

【図156】図155に示した配列番号：155のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：156）を示す。

【図157】本明細書において「DNA188342」と表すヌクレオチド配列（配列番号：157）を示す。

【図158】図157に示した配列番号：157のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：158）を示す。

【図159】本明細書において「DNA188427」と表すヌクレオチド配列（配列番号：159）を示す。

【図160A】図159に示した配列番号：159のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：160）を示す。

【図160B】図159に示した配列番号：159のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：160）を示す。

【図161】本明細書において「DNA195011」と表すヌクレオチド配列（配列番号：161）を示す。

【図162】図161に示した配列番号：161のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：162）を示す。

【発明を実施するための形態】

【0028】

5. 好適な実施態様の詳細な説明

5.1. 定義

ここで使用される際の「炎症性腸疾患」または「IBD」という用語は、腸（bowel）の任意の部分が炎症を起こし且つ/又は潰瘍化する何らかの慢性疾患を指す。IBDの例には、これらに限定されるものではないが、クローン病と潰瘍性大腸炎がある。

ここで使用される際の「PROポリペプチド」及び「PRO」という用語は、直後に数値符号がある場合に種々のポリペプチドを指し、完全な符号（例えば、PRO/数字）は、ここに記載する特定のポリペプチド配列を意味する。ここで使用される「PRO/数字ポリペプチド」及び「PRO/数字」は、天然配列ポリペプチド及び変異体（ここで更に詳細に定義する）を含む。この記載されるPROポリペプチドは、ヒト組織型又は他の供給源といった種々の供給源から単離してもよく、組換え又は合成方法によって調製してもよい。

「天然配列PROポリペプチド」は、天然由来の対応するPROポリペプチドと同一のアミノ酸配列を有するポリペプチドを含んでいる。このような天然配列PROポリペプチドは、自然から単離することもできるし、組換え又は合成手段により生産することもできる。「天然配列PROポリペプチド」という用語には、特に、特定のPROポリペプチドの自然に生じる切断又は分泌形態（例えば、細胞外ドメイン配列）、自然に生じる変異形態（例えば、選択的にスプライシングされた形態）及びそのポリペプチドの自然に生じる対立遺伝子変異体が含まれる。本発明の種々の実施態様において、天然配列PROポリペプチドは、添付の図面に示される全長アミノ酸配列を含む成熟又は全長天然配列ポリペプチドである。開始及び停止コドンは（指示がある場合には）、図において太字又は下線で示した。添付の図において「N」と示される核酸残基は、任意の核酸残基である。しかし、添

10

20

30

40

50

付の図面に開示したPROポリペプチドは、図面におけるアミノ酸位置としてここに命名されるメチオニン残基で始まるように示されているが、図面におけるアミノ酸位置1の上流又は下流に位置する他のメチオニン残基をPROポリペプチドの開始アミノ酸残基として用いることも考えられるし可能でもある。

【0029】

PROポリペプチド「細胞外ドメイン」又は「ECD」は、膜貫通及び細胞質ドメインを実質的に有しないPROポリペプチドの形態を意味する。通常、PROポリペプチドECDは、それらの膜貫通及び/又は細胞質ドメインを1%未満、好ましくはそのようなドメインを0.5%未満しか持たない。本発明のPROポリペプチドについて同定された任意の膜貫通ドメインは、疎水性ドメインのその型を同定するために当該分野において日常的に使用される基準に従い同定されることが理解されるであろう。膜貫通ドメインの厳密な境界は変わり得るが、最初に同定されたドメインのいずれかの末端から約5アミノ酸を越えない可能性が高い。従って、PROポリペプチド細胞外ドメインは、場合によっては、実施例又は明細書で同定されるように膜貫通ドメイン及び/又は細胞外ドメインの境界のいずれかの側から約5を越えないアミノ酸を含んでもよく、シグナルペプチドを伴う又は伴わない、それらのポリペプチド及びそれらをコードする核酸が、本発明で考慮される。

ここに開示する種々のPROポリペプチドの「シグナルペプチド」の適切な位置は、本明細書及び/又は添付図面に示す。しかし、注記するように、シグナルペプチドのC-末端境界は変化しうるが、ここで最初に定義したようにシグナルペプチドC-末端境界のいずれかの側で約5アミノ酸未満である可能性が最も高く、シグナルペプチドのC-末端境界は、そのような型のアミノ酸配列成分を同定するのに日常的に使用される基準に従って同定しうる(例えば、Nielsen等, Prot. Eng.10:1-6(1997)及びvon Heinje等, Nucl. Acids. Res.14:4683-4690(1986))。さらに、幾つかの場合には、分泌ポリペプチドからのシグナルペプチドの切断は完全に均一ではなく、一以上の分泌種をもたらすことも認められる。シグナルペプチドがここに定義されるシグナルペプチドのC-末端境界の何れかの側の約5アミノ酸未満内で切断されるこれらの成熟ポリペプチド、及びそれらをコードするポリヌクレオチドが、本発明で考慮される。

【0030】

「PROポリペプチド変異体」とはPROポリペプチド、好ましくは、ここに開示するような完全長天然配列PROポリペプチド配列、ここで開示するようなシグナルペプチドを欠くPROポリペプチド配列、ここに開示するようなシグナルペプチドを有する又は有しないPROポリペプチドの細胞外ドメイン又はここに開示する完全長TATポリペプチド配列の任意の他の断片(例えば、完全長PROポリペプチドの完全なコード配列の一部のみを示す核酸によってコードされるもの)と少なくとも約80%のアミノ酸配列同一性を有するここで定義するような活性なPROポリペプチドを意味する。このようなPROポリペプチド変異体には、例えば、完全長天然アミノ酸配列の末端又はC末端において一又は複数のアミノ酸残基が付加、もしくは欠失されたPROポリペプチドが含まれる。通常、PROポリペプチド変異体は、ここに開示する完全長天然配列PROポリペプチド配列、ここに開示するシグナルペプチドを欠くPROポリペプチド配列、シグナルペプチドを有する又は有しないここに開示するPROポリペプチドの細胞外ドメイン、又はここに開示する完全長PROポリペプチド配列の任意の具体的に定義した他の断片に対して、少なくとも約80%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%のアミノ酸配列同一性を有している。通常、PRO変異体ポリペプチドは、少なくとも約10アミノ酸長、あるいは少なくとも約20、30、40、50、60、70、80、90、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、310、320、330、340、350、360、370、380、390、400、410、420、

430、440、450、460、470、480、490、500、510、520、530、540、550、560、570、580、590、600アミノ酸長、又はそれ以上である。

ここに定義されるPROポリペプチドに対してここで同定されている「パーセント(%)アミノ酸配列同一性」は、配列を整列させ、最大のパーセント配列同一性を得るために必要ならば間隙を導入し、如何なる保存的置換も配列同一性の一部と考えないとした、特定のPROポリペプチド配列のアミノ酸残基と同一である候補配列中のアミノ酸残基のパーセントとして定義される。パーセントアミノ酸配列同一性を決定する目的のためのアラインメントは、当業者の技量の範囲にある種々の方法、例えばBLAST、BLAST-2、ALIGN又はMegaalign(DNA STAR)ソフトウェアのような公に入手可能なコンピュータソフトウェアを使用することにより達成可能である。当業者であれば、比較される配列の全長に対して最大のアラインメントを達成するために必要な任意のアルゴリズムを含む、アラインメントを測定するための適切なパラメータを決定することができる。しかし、ここでの目的のためには、%アミノ酸配列同一性値は、配列比較コンピュータプログラムALIGN-2を用いて計算され、ここでALIGN-2プログラムのための完全なソースコードは以下の表1に与えられる。ALIGN-2配列比較コンピュータプログラムはジェネンテック社によって作成され、以下の表1に示したソースコードは米国著作権庁、Washington D.C., 20559に使用者用書類とともに提出され、米国著作権登録番号TXU510087の下で登録されている。ALIGN-2はジェネンテック社、South San Francisco, Californiaから公的に入手可能であり、また以下の表1に与えたソースコードからコンパイルしてもよい。ALIGN-2プログラムは、UNIXオペレーティングシステム、好ましくはデジタルUNIX V4.0Dでの使用のためにコンパイルされる。全ての配列比較パラメータは、ALIGN-2プログラムによって設定され変動しない。

10

20

30

40

50

【0031】

アミノ酸配列比較にALIGN-2が用いられる状況では、与えられたアミノ酸配列Aの、与えられたアミノ酸配列Bとの、又はそれに対する%アミノ酸配列同一性(あるいは、与えられたアミノ酸配列Bと、又はそれに対して或る程度の%アミノ酸配列同一性を持つ又は含む与えられたアミノ酸配列Aと言うこともできる)は次のように計算される:

分率 X/Y の 100 倍

ここで、Xは配列アラインメントプログラムALIGN-2のA及びBのアラインメントによって同一であると一致したスコアのアミノ酸残基数であり、YはBの全アミノ酸残基数である。アミノ酸配列Aの長さがアミノ酸配列Bの長さとは異なる場合、AのBに対する%アミノ酸配列同一性は、BのAに対する%アミノ酸配列同一性とは異なることは理解されるであろう。この方法を用いた%アミノ酸配列同一性の計算の例として、表2及び3は、「比較タンパク質」と称されるアミノ酸配列の「PRO」と称されるアミノ酸配列に対する%アミノ酸配列同一性の計算方法を示し、ここで、「PRO」は対象の仮想PROポリペプチドのアミノ酸配列を表し、「比較タンパク質」は対象の「PRO」ポリペプチドが比較されるポリペプチドのアミノ酸配列を表し、「X」、「Y」及び「Z」はそれぞれ異なった仮想アミノ酸残基を表す。特に断らない限り、ここで使用される全ての%アミノ酸配列同一性の値はALIGN-2コンピュータプログラムを用いて直ぐ前の段落に記載されたようにして得られる。

「PRO変異体ポリヌクレオチド」又は「PRO変異体核酸配列」とは、下記に定義されるように、PROポリペプチド、好ましくは活性PROポリペプチドをコードする核酸分子であり、ここに開示する全長天然配列PROポリペプチド配列、ここに開示するシグナルペプチドを欠いた全長天然配列PROポリペプチド配列、シグナルペプチド有無のここに開示するPROポリペプチドの細胞外ドメイン、又はここに開示する全長PROポリペプチド配列の他の任意の断片(例えば、全長PROポリペプチドのための完全なコード配列の一部のみを代表する、核酸によってコード化されたそれら断片)をコードする核酸配列と少なくとも80%の配列同一性を有する。通常は、PRO変異体ポリペプチドヌクレオチドは、ここに開示する全長天然配列PROポリペプチド配列、ここに開示するシグ

ナルペプチドを欠いた全長天然配列PROポリペプチド配列、シグナルペプチドを伴うか伴わないここに開示するPROポリペプチドの細胞外ドメイン、又はここに開示する全長PROポリペプチドの他の任意の断片をコードする核酸配列と、少なくとも約80%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の核酸配列同一性を有している。変異体は、天然ヌクレオチド配列を含まない。

【0032】

通常、PRO変異体ポリヌクレオチドは、少なくとも約5ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、105、110、115、120、125、130、135、140、145、150、155、160、165、170、175、180、185、190、195、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、310、320、330、340、350、360、370、380、390、400、410、420、430、440、450、460、470、480、490、500、510、520、530、540、550、560、570、580、590、600、610、620、630、640、650、660、670、680、690、700、710、720、730、740、750、760、770、780、790、800、810、820、830、840、850、860、870、880、890、900、910、920、930、940、950、960、970、980、990、又は1000ヌクレオチド長であり、この文脈の「約」という用語は、参照したヌクレオチド配列長にその参照長の10%を加えるか又は減じたものを意味する。

ここで同定されるPROコード化核酸配列に対する「パーセント(%)核酸配列同一性」は、配列を整列させ、最大のパーセント配列同一性を得るために必要ならば間隙を導入し、当該PRO核酸配列のヌクレオチドと同一である候補配列中のヌクレオチドのパーセントとして定義される。パーセント核酸配列同一性を決定する目的のためのアラインメントは、当業者の知る範囲にある種々の方法、例えばBLAST、BLAST-2、ALIGN又はMegaalign(DNASTAR)ソフトウェアのような公に入手可能なコンピュータソフトウェアを使用することにより達成可能である。ここでの目的のためには、%核酸配列同一性値は、ALIGN-2プログラム用の完全なソースコードが下記の表1に提供されている配列比較コンピュータプログラムALIGN-2を使用することによって得られる。ALIGN-2配列比較コンピュータプログラムはジェネンテック社によって作成され、下記の表1に示したソースコードは米国著作権事務所、ワシントン D.C. , 20559に使用者用書類とともに提出され、米国著作権登録番号TXU510087の下で登録されている。ALIGN-2はジェネンテック社、サウス サン フランシスコ、カリフォルニアから公的に入手可能であり、下記の表1に提供されたソースコードからコンパイルしてもよい。ALIGN-2プログラムは、UNIXオペレーティングシステム、好ましくはデジタルUNIX V4.0Dでの使用のためにコンパイルされる。全ての配列比較パラメータは、ALIGN-2プログラムによって設定され変動しない。

【0033】

核酸配列比較にALIGN-2が用いられる状況では、与えられた核酸配列Cの、与えられた核酸配列Dとの、又はそれに対する%核酸配列同一性(あるいは、与えられた核酸配列Dと、又はそれに対して或る程度の%核酸配列同一性を持つ又は含む与えられた核酸配列Cとすることもできる)は次のように計算される:

分率 W/Z の100倍

ここで、Wは配列アラインメントプログラムALIGN-2のC及びDのアラインメントによって同一であると一致したスコアのヌクレオチドの数であり、ZはDの全ヌクレオチドである。核酸配列Cの長さが核酸配列Dの長さとは異なる場合、CのDに対する%核酸配列同一性は、DのCに対する%核酸配列同一性とは異なることは理解されるであろう。%核酸配

列同一性の計算の例として、「PRO-DNA」が対象となる仮説的PROコード化核酸配列を表し、「比較DNA」が対象となる「PRO-DNA」核酸分子が比較されている核酸配列を表し、そして「N」、「L」及び「V」の各々が異なった仮説的ヌクレオチドを表して、表4及び5が「比較DNA」と称される核酸配列の「PRO-DNA」と称される核酸配列に対する%核酸配列同一性の計算方法を示す。特に断らない限りは、ここでの全ての%核酸配列同一性値は、直上のパラグラフに示したようにALIGN-2コンピュータプログラムを用いて得られる。

他の実施態様では、PRO変異体ポリヌクレオチドとは、PROポリペプチドをコードする核酸分子であり、好ましくはストリンジェントなハイブリダイゼーション及び洗浄条件下で、ここに記載の完全長PROポリペプチドをコードするヌクレオチド配列とハイブリダイゼーションすることができる。PRO変異体ポリペプチドは、PRO変異体ポリヌクレオチドによってコードされているものであり得る。

ここで開示する種々のポリペプチドを記載するために使用される「単離」とは、自然環境の成分から同定及び分離及び/又は回収されたポリペプチドを意味する。その自然環境の汚染成分とは、そのポリペプチドの診断又は治療への使用を典型的には妨害する物質であり、酵素、ホルモン、及び他のタンパク質様又は非タンパク質様溶質が含まれる。好ましい実施態様において、ポリペプチドは、(1)スピニングカップシークエネーターを使用することにより、少なくとも15残基のN末端あるいは内部アミノ酸配列を得るのに十分なほど、あるいは、(2)クーマシーブルーあるいは好ましくは銀染色を用いた非還元あるいは、還元条件下でのSDS-PAGEによる均一性が達せられるまで、精製される。単離されたポリペプチドには、PROポリペプチドの自然環境の少なくとも1つの成分が存在しないため、組換え細胞内のインサイツのポリペプチドが含まれる。しかしながら、通常は、単離されたポリペプチドは少なくとも1つの精製工程により調製される。

【0034】

「単離された」PROポリペプチドをコードする核酸又は他のポリペプチドコード化核酸は、同定され、ポリペプチドをコードする核酸の天然源に通常付随している少なくとも1つの汚染核酸分子から分離された核酸分子である。単離されたポリペプチドをコードする核酸分子は、天然に見出される形態あるいは設定以外のものである。ゆえに、単離されたポリペプチドをコードする核酸分子は、天然の細胞中に存在する特異的なポリペプチドをコードする核酸分子とは区別される。しかし、ポリペプチドをコードする単離された核酸分子には、例えば、核酸分子が天然細胞のものとは異なった染色体位置にあるポリペプチドを通常は発現する細胞に含まれるポリペプチドをコードする核酸分子が含まれる。

「コントロール配列」という表現は、特定の宿主生物において作用可能に結合したコード配列を発現するために必要なDNA配列を指す。例えば原核生物に好適なコントロール配列は、プロモーター、場合によってはオペレータ配列、及びリボソーム結合部位を含む。真核生物の細胞は、プロモーター、ポリアデニル化シグナル及びエンハンサーを利用することが知られている。

核酸は、他の核酸配列と機能的な関係にあるときに「作用可能に結合し」ている。例えば、プレ配列あるいは分泌リーダーのDNAは、ポリペプチドの分泌に参画するプレタンパク質として発現されているなら、そのポリペプチドのDNAに作用可能に結合している；プロモーター又はエンハンサーは、配列の転写に影響を及ぼすならば、コード配列に作用可能に結合している；又はリボソーム結合部位は、もしそれが翻訳を容易にするような位置にあるなら、コード配列と作用可能に結合している。一般的に、「作用可能に結合している」とは、結合したDNA配列が近接しており、分泌リーダーの場合には近接して読みフェーズにあることを意味する。しかし、エンハンサーは必ずしも近接している必要はない。結合は簡便な制限部位でのライゲーションにより達成される。そのような部位が存在しない場合は、従来手法に従って、合成オリゴヌクレオチドアダプターあるいはリンカーが使用される。

【0035】

ハイブリダイゼーション反応の「ストリンジェンシー」は、当業者によって容易に決定

10

20

30

40

50

され、一般的にプローブ長、洗浄温度、及び塩濃度に依存する経験的な計算である。一般に、プローブが長くなると適切なアニーリングに必要な温度が高くなり、プローブが短くなるとそれに必要な温度は低くなる。ハイブリダイゼーションは、一般的に、相補鎖がその融点より低い環境に存在する場合に、変性DNAの再アニールする能力に依存する。プローブとハイブリダイゼーション配列の間で所望される相同性の程度が高くなればなるほど、用いることができる相対温度が高くなる。その結果、より高い相対温度は、反応条件をよりストリンジェントにすることになり、低い温度はストリンジェントを低下させることになる。ハイブリダイゼーション反応のストリンジェンシーの更なる詳細及び説明については、Ausubelら、*Current Protocols in Molecular Biology*, Wiley Interscience Publishers, (1995)を参照のこと。

ここで定義される「ストリンジェントな条件」又は「高度のストリンジェンシー条件」は、(1)洗浄のために低イオン強度及び高温、例えば、50において0.015Mの塩化ナトリウム/0.0015Mのクエン酸ナトリウム/0.1%のドデシル硫酸ナトリウムを用いるもの；(2)ハイブリダイゼーション中にホルムアミド等の変性剤、例えば、42において50% (v/v)ホルムアミドと0.1%ウシ血清アルブミン/0.1%フィコール/0.1%のポリビニルピロリドン/50mMのpH6.5のリン酸ナトリウムバッファー、及び750mMの塩化ナトリウム、75mMクエン酸ナトリウムを用いるもの；又は(3)42における50%ホルムアミド、5xSSC(0.75MのNaCl、0.075Mのクエン酸ナトリウム)、50mMのリン酸ナトリウム(pH6.8)、0.1%のピロリン酸ナトリウム、5xデンハード液、超音波処理サケ精子DNA(50µg/ml)、0.1%SDS、及び10%のデキストラン硫酸と、42における0.2xSSC(塩化ナトリウム/クエン酸ナトリウム)中の洗浄及び55での50%ホルムアミド、次いで55におけるEDTAを含む0.1xSSCからなる高ストリンジェンシー洗浄を用いるもの、によって同定される。

「中程度のストリンジェント条件」は、Sambrookら、*Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (New York: Cold Spring Harbor Press, 1989)に記載されているように同定され、上記のストリンジェントより低い洗浄溶液及びハイブリダイゼーション条件(例えば、温度、イオン強度及び%SDS)の使用を含む。中程度のストリンジェント条件は、20%ホルムアミド、5xSSC(150mMのNaCl、15mMのクエン酸三ナトリウム)、50mMリン酸ナトリウム(pH7.6)、5xデンハード液、10%デキストラン硫酸、及び20mg/mlの変性剪断サケ精子DNAを含む溶液中の37での終夜インキュベーション、次いで1xSSC中37-50でのフィルターの洗浄といった条件である。当業者であれば、プローブ長などの因子に適合させる必要に応じて、どのようにして温度、イオン強度等を調節するかを認識する。

【0036】

「エピトープタグ」なる用語は、ここで用いられるときは、「タグポリペプチド」と融合したPROポリペプチド又は抗PRO抗体を含んでなるキメラポリペプチドを意味する。タグポリペプチドは、その抗体が産生され得るエピトープを提供するのに十分な残基を有し、その長さは融合するポリペプチドの活性を阻害しないよう十分に短い。また、タグポリペプチドは、好ましくは抗体が他のエピトープと実質的に交差反応をしないようになり独特である。適切なタグポリペプチドは、一般に、少なくとも6のアミノ酸残基、通常は約8~約50のアミノ酸残基(好ましくは、約10~約20の残基)を有する。

ここでの目的に対する「活性な」又は「活性」とは、天然又は天然に生じるPROの生物学的及び/又は免疫学的活性を保持するPROポリペプチドの形態を意味し、その中で、「生物学的」活性とは、天然又は天然発生TATが保持する抗原性エピトープに対する抗体の生成を誘発する能力以外の、天然又は天然発生PROによって引き起こされる生物機能(阻害又は刺激)を意味し、「免疫学的」活性とは、天然又は天然発生PROが保持する抗原性エピトープに対する抗体の生成を誘発する能力を意味する。

ここで開示されているスクリーニングアッセイにより同定可能なPROポリペプチドに拮抗する分子(例えば、有機又は無機小分子、ペプチド等)における「生物学的活性」とは

10

20

30

40

50

、ここで同定されたPROポリペプチドに結合又は複合体化、又は他の細胞タンパク質とPROポリペプチドとの相互作用を干渉、又はPROポリペプチドの転写又は翻訳を阻害する分子の能力を称するとき使用される。

「アンタゴニスト」なる用語は最も広い意味で用いられ、そしてここに開示した天然PROポリペプチドの生物学的活性を部分的又は完全にブロック、阻害、又は中和する任意の分子が含まれる。同じように、「アゴニスト」という用語は最も広い意味で用いられ、ここに開示した天然PROポリペプチドの生物学的活性を模倣する任意の分子が含まれる。適切なアゴニスト又はアンタゴニスト分子には、特にアゴニスト又はアンタゴニスト抗体又は抗体断片、断片、又は天然PROポリペプチドのアミノ酸配列変異体、ペプチド、アンチセンスオリゴヌクレオチド、小有機分子等が含まれる。PROポリペプチドのアゴニスト又はアンタゴニストを同定する方法は、PROポリペプチドと候補アゴニスト又はアンタゴニスト分子を接触させ、そして通常はPROポリペプチドに関連している一つ又は複数の生物学的活性の検出可能な変化を測定することが含まれ得る。

10

【0037】

「治療する」又は「治療」又は「緩和」とは、治療上の処置及び予防的療法又は防護的療法の双方を称し、その目的は、標的である病的症状又は疾患を防ぐか又は衰え（小さく）させることである。治療を必要とするものには、疾患に罹りやすいものと同時に疾患にすでに罹っているもの、又は疾患が予防されるべきものを含む。疾患はあらゆる原因により発生する可能性がある。

「慢性」投与とは、初期の治療効果（活性）を長期間にわたって維持するようにするために、急性態様とは異なり連続的な態様での薬剤の投与を意味する。

20

「間欠」投与とは、中断無く連続的になされるのではなく、むしろ本質的に周期的になされる処理である。

癌の治療、症状の緩和又は診断のための「哺乳動物」とは、哺乳動物に分類される任意の動物を意味し、ヒト、家畜用及び農場用動物、及び動物園、スポーツ、又はペット動物、例えばイヌ、ネコ、ウシ、ウマ、ヒツジ、ブタ、ヤギ、ウサギなどを含む。好ましくは、哺乳動物はヒトである。

一又は複数の更なる治療薬と「組み合わせた」投与とは、同時（同時期）及び任意の順序での連続した投与を含む。

ここで用いられる「担体」は、製薬的に許容されうる担体、賦形剤、又は安定化剤を含み、用いられる服用量及び濃度でそれらに曝露される細胞又は哺乳動物に対して非毒性である。生理学的に許容されうる担体は、水性pH緩衝溶液であることが多い。生理学的に許容されうる担体の例は、リン酸塩、クエン酸塩、及び他の有機酸塩のバッファー；アスコルビン酸を含む酸化防止剤；低分子量（約10残基未満）ポリペプチド；タンパク質、例えば血清アルブミン、ゼラチン、又は免疫グロブリン；疎水性ポリマー、例えばポリビニルピロリドン；アミノ酸、例えばグリシン、グルタミン、アスパラギン、アルギニン又はリジン；グルコース、マンノース又はデキストランを含む単糖類、二糖類、及び他の炭水化物；EDTA等のキレート剤；マンニトール又はソルビトール等の糖アルコール；ナトリウム等の塩形成対イオン；及び/又は非イオン性界面活性剤、例えば、TWEEN（登録商標）、ポリエチレングリコール（PEG）、及びPLURONICS（登録商標）を含む。

30

40

【0038】

「固相」とは、本発明の抗体が接着できる非水性マトリクスを意味する。ここに包含される固相の例は、部分的又は全体的にガラス（例えば、径の調整されたガラス）、ポリサッカリド（例えばアガロース）、ポリアクリルアミド、ポリスチレン、ポリビニルアルコール及びシリコンで形成されたものを含む。或る実施態様では、前後関係に応じて、固相はアッセイ用プレートのウェル；その他では精製用カラム（例えばアフィニティクロマトグラフィークラム）を含むことができる。また、この用語は、米国特許第4,275,149号に記載されたような別々の粒子の不連続な固相も含む。

「リポソーム」は、哺乳動物への薬物（例えばPROポリペプチド、又はそれらに対す

50

る抗体)の輸送に有用な、脂質、リン脂質及び/又は界面活性剤を含む種々のタイプの小胞体である。リポソームの成分は、通常は細胞膜の脂質配向に類似した2層構造に配列される。

ここで定義されている「小分子」とは、約500ダルトン未満の分子量である。

ここで使用される「PROポリペプチドレセプター」という用語は、PROポリペプチドを結合する能力を保有するPROポリペプチドのための細胞レセプター及びその変異体を指す。

ここに開示するポリペプチド、抗体、又はそのアゴニスト又はアンタゴニストの「有効量」とは、特に述べた目的を実施するために十分な量のことである。「有効量」は、述べられた目的に関連して、経験的及び常套的な形で決定することができる。

活性剤、例えばPROポリペプチド、又はそのアゴニスト又はアンタゴニスト、又は抗PRO抗体の「治療的有效量」という用語は、哺乳動物のIBDの治療に効果的な量を指し、経験的に決定することができる。

【0039】

抗PRO抗体、又はPROポリペプチドの「成長阻害量」は、細胞の成長をインビトロ又はインビボで阻害できる量であり、経験的及び常套的な形で決定することができる。

抗PRO抗体、又はPROポリペプチドの「細胞毒性量」は、細胞をインビトロ又はインビボで破壊できる量であり、経験的及び常套的な形で決定することができる。

「抗体」という用語は最も広い意味において使用され、具体的には例えば、単一の抗PROモノクローナル抗体(アゴニスト、アンタゴニスト、及び中和抗体を含む)、多エピトープ(polyepitopic)特異性を持つ抗PRO抗体組成物、ポリクローナル抗体、一本鎖抗PRO抗体、及び所望する生物学的又は免疫学的活性を示す限りは抗PRO抗体の断片(下記を参照)を包含する。「免疫グロブリン」(Ig)という用語は、ここでの抗体と相互に置き換え可能に用いられる。

「単離された抗体」とは、その自然環境の成分から同定され分離され及び/又は回収されたものを意味する。その自然環境の汚染成分とは、抗体の診断又は治療への使用を妨害する物質であり、酵素、ホルモン、及び他のタンパク質様又は非タンパク質様溶質が含まれる。好ましい実施態様では、抗体は、(1)ローリー(Lowry)法によって定量して95重量%以上の、最も好ましくは99重量%以上の抗体まで、(2)スピニングカップシークエネーターを使用することにより、少なくとも15のN末端あるいは内部アミノ酸配列の残基を得るのに十分な程度まで、あるいは(3)クーマシーブルーあるいは好ましくは銀染色を用いた還元又は非還元条件下でのSDS-PAGEによる均一性が達せられるまで精製される。単離された抗体には、組換え体細胞内のインサイツの抗体が含まれるが、これは抗体の自然環境の少なくとも一つの成分が存在しないからである。しかしながら、通常は、単離された抗体は少なくとも一つの精製工程により調製される。

【0040】

基本的な4-鎖抗体ユニットは2つの同一の軽(L)鎖と2つの同一の重(H)鎖から構成されるヘテロ四量体の糖タンパクである(IgM抗体は、基本的なヘテロ四量体ユニットとそれに付随するJ鎖と称される付加的なポリペプチドの5つからなり、よって10の抗原結合部位を有するが、分泌されたIgA抗体は重合して、基本的な4-鎖ユニットとそれ付随するJ鎖のうち2-5つを含む多価集合を形成可能である)。IgGの場合、4-鎖ユニットは一般的に約150000ダルトンである。それぞれのL鎖は1つの共有ジスルフィド結合によってH鎖に結合するが、2つのH鎖はH鎖のアイソタイプに応じて一又は複数のジスルフィド結合により互いに結合している。それぞれのH及びL鎖はまた規則的な間隔を持った鎖内ジスルフィド結合を持つ。それぞれのH鎖は、及び鎖の各々に対しては3つの定常ドメイン(C_H)が、μ及びアイソタイプに対しては4つのC_Hドメインが続く可変ドメイン(V_H)をN末端に有する。それぞれのL鎖は、その他端に定常ドメイン(C_L)が続く可変ドメイン(V_L)をN末端に有する。V_LはV_Hと整列し、C_Lは重鎖の第一定常ドメイン(C_{H1})と整列している。特定のアミノ酸残基が、軽鎖及び重鎖可変ドメイン間の界面を形成すると考えられている。V_LとV_Hは共同して対になって、単一

10

20

30

40

50

の抗原結合部位を形成する。異なるクラスの抗体の構造及び特性は、例えばBasic and Clinical Immunology, 8版, Daniel P. Stites, Abba I. Terr and Tristram G. Parslow(編), Appleton & Lange, Norwalk, CT, 1994, 71頁及び6章を参照のこと。

任意の脊椎動物種からのL鎖には、その定常ドメインのアミノ酸配列に基づいて、カッパ及びラムダと呼ばれる2つの明確に区別される型の一つを割り当てることができる。また、その重鎖の定常ドメイン(C_H)のアミノ酸配列に応じて、免疫グロブリンには異なったクラス又はアイソタイプを割り当てることができる。Ig A、Ig D、Ig E、Ig G及びIg Mという免疫グロブリンの5つの主要なクラスがあり、それぞれ、 γ 、 δ 、 ϵ 、 μ と呼ばれる重鎖を有する。さらに κ 及び λ のクラスは、C_H配列及び機能等の比較的小さな差異に基づいてサブクラスに分割され、例えば、ヒトにおいては次のサブクラス：Ig G 1、Ig G 2、Ig G 3、Ig G 4、Ig A 1及びIg A 2が発現する。

【0041】

「可変」という用語は、可変ドメインのある部分が抗体の間で配列が広範囲に異なることを意味する。Vドメインは抗原結合性を媒介し、その特定の抗原に対する特定の抗体の特異性を定める。しかし、可変性は可変ドメインの110-アミノ酸スパンを通して均等には分布されていない。代わりに、V領域は、それぞれ9-12アミノ酸長である「高頻度可変領域」と称される極度の可変性を有するより短い領域によって分離された15-30アミノ酸のフレームワーク領域(FR)と呼ばれる比較的不变の伸展からなる。天然重鎖及び軽鎖の可変ドメイン各々は、大きな β -シート配置をとり、3つの高頻度可変領域により接続された4つのFR領域を含み、それはループ状の接続を形成し、 β -シート構造の一部を形成することもある。各鎖の高頻度可変領域はFRにより他の鎖からの高頻度可変領域とともに極近傍に保持され、抗体の抗原結合部位の形成に寄与している(Kabat等, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th ED. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991))。定常ドメインは抗体の抗原への結合に直接は関係ないが、種々のエフェクター機能、例えば抗体依存性細胞障害(ADCC)における抗体の寄与を示す。

ここで使用される場合、「高頻度可変領域」なる用語は、抗原結合性の原因となる抗体のアミノ酸残基を意味する。高頻度可変領域は「相補性決定領域」又は「CDR」からのアミノ酸残基(すなわち、V_Lにおいては、およそ残基24-34(L1)、50-56(L2)及び89-97(L3)、及びV_Hにおいては、およそ1-35(H1)、50-65(H2)及び95-102(H3); Kabat等, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5版 Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD.(1991))及び/又は「高頻度可変ループ」からの残基(例えば、V_Lにおいては、およそ残基26-32(L1)、50-52(L2)及び91-96(L3)、及びV_Hにおいては、およそ26-32(H1)、53-55(H2)及び96-101(H3); Chothia及びLesk J.Mol.Biol. 196:901-917 (1987))を含んでなる。

【0042】

ここで使用される「モノクローナル抗体」という用語は、実質的に均一な抗体の集団から得られる抗体を意味する、すなわち、集団に含まれる個々の抗体が、少量で存在しうる自然に生じる可能性のある突然変異を除いて同一である。モノクローナル抗体は高度に特異的であり、一つの抗原部位に対している。さらに、異なる決定基(エピトープ)に対する異なる抗体を含むポリクローナル抗体調製物と比べて、各モノクローナル抗体は、抗原上の単一の決定基に対するものである。その特異性に加えて、モノクローナル抗体は、他の抗体によって汚染されずに合成される点で有利である。「モノクローナル」との修飾詞は、抗体を何か特定の方法で生成しなければならないことを意味するものではない。例えば、本発明において有用なモノクローナル抗体は、最初にKohler等, Nature 256, 495 (1975)により記載されたハイブリドーマ法によって作ることができ、あるいは組換えDNA法によって、細菌、真核細胞動物又は植物細胞から作ることができる(例えば、米国特許第4,816,567号参照)。また「モノクローナル抗体」は、例えばClackson等, Nature 352:624-628(1991)、及びMarks等, J. Mol. Biol. 222:581-597(1991)に記載された技術を用いて

ファージ抗体ライブラリーから単離することもできる。

ここで、モノクローナル抗体は、重鎖及び/又は軽鎖の一部が、特定の種由来の抗体、あるいは特定の抗体クラス又はサブクラスに属する抗体の対応する配列と同一であるか又は相同性があり、鎖の残りの部分が他の種由来の抗体、あるいは他の抗体クラス又はサブクラスに属する抗体の対応する配列と同一であるか又は相同である「キメラ」抗体、並びにそれが所望の生物活性を有する限りこのような抗体の断片を特に含む(米国特許第4,816,567号;及びMorrison等, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855(1984))。ここで対象のキメラ抗体には、非ヒト霊長類(例えば旧世界ザル、類人猿等)から由来する可変ドメイン抗原-結合配列及びヒト定常領域配列を含む「プリマタイズ(primatized)」抗体を含む。

10

【0043】

「無傷」の抗体は、抗原-結合部位、並びに C_L 及び少なくとも重鎖定常ドメイン、 C_{H1} 、 C_{H2} 及び C_{H3} を含むものである。定常ドメインは天然配列定常ドメイン(例えば、ヒト天然配列定常ドメイン)又はそれらのアミノ酸配列変異体であってよい。好ましくは、無傷の抗体は1つ又は複数のエフェクター機能を有する。

「抗体断片」は、無傷の抗体の一部、好ましくは無傷の抗体の抗原結合又は可変領域を含む。抗体断片の例は、Fab、Fab'、 $F(ab')_2$ 、及びFv断片;ダイアボディ(diabodies);直鎖状抗体(米国特許第5,641,870号、実施例2;Zapata等, Protein Eng. 8(10): 1057-1062 [1995]);単鎖抗体分子;及び抗体断片から形成された多重特異性抗体を含む。

20

抗体のパパイン消化は、「Fab」断片と呼ばれる2つの同一の抗体結合断片と、容易に結晶化する能力を反映して命名された残留「Fc」断片を産生する。Fab断片は全長L鎖とH鎖の可変領域ドメイン(V_H)、及び一つの重鎖の第一定常ドメイン(C_{H1})からなる。各Fab断片は抗原結合性に関して一価である、すなわち単一の抗原-結合部位を有する。抗体のペプシン処理により、単一の大きな $F(ab')_2$ 断片が生じ、これは2価の抗原結合部位を持つ2つのジスルフィド結合されたFab断片にほぼ対応し、抗原を交差結合させることができるものである。Fab'断片は、抗体ヒンジ領域からの1つ又は複数のシステインを含む C_{H1} ドメインのカルボキシ末端に幾つかの残基が付加されていることによりFab断片と相違する。Fab'-SHは、ここでは定常ドメインのシステイン残基(類)が遊離のチオール基を持つFab'を表す。 $F(ab')_2$ 抗体断片は、通常はFab'断片の対として生成され、それらの間にヒンジシステインを有する。抗体断片の他の化学的結合も知られている。

30

【0044】

Fc断片はジスルフィドにより一緒に保持されている双方のH鎖のカルボキシ末端部位を含む。抗体のエフェクター機能は、Fc領域の配列により決定され、その領域は、所定の型の細胞に見出されるFcレセプター(FcR)によって認識される部位である。

「Fv」は、完全な抗原-認識及び-結合部位を含む最小の抗体断片である。この断片は、密接に非共有結合した1本の重鎖と1本の軽鎖の可変領域の二量体からなる。これら2つのドメインの折り畳みから、抗原結合のためのアミノ酸残基に寄与し、抗体に対する抗原結合特異性を付与する6つの高頻度可変ループ(H及びL鎖から、それぞれ3つのループ)が生じる。しかしながら、単一の可変ドメイン(又は抗原に特異的な3つのCDRのみを含んでなるFvの半分)でさえ、結合部位全体よりは低い親和性であるが、抗原を認識し結合する能力を持つ。

40

「sFv」又は「scFv」とも略称される「単鎖Fv」は、単一のポリペプチド鎖内に結合した V_H 及び V_L 抗体ドメインを含む抗体断片である。好ましくは、sFvポリペプチドは V_H 及び V_L ドメイン間にポリペプチドリンカーをさらに含み、それはsFVが抗原結合に望まれる構造を形成するのを可能にする。sFvの概説については、Pluckthun in The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenberg及びMoore編, Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994); Borrebaeck 1995, 以下を参照のこと。

50

【 0 0 4 5 】

「ダイアボディ(diabodies)」という用語は、鎖間ではなく鎖内でVドメインを対形成させ、結果として二価の断片、すなわち2つの抗原-結合部位を有する断片が得られるように、 V_H と V_L ドメインとの間に、短いリンカー(約5-10残基)を持つsFv断片(前の段落を参照)を構築することにより調製される小型の抗体断片を意味する。二重特異性ダイアボディは2つの「交差」sFv断片のヘテロダイマーであり、ここでは2つの抗体の V_H 及び V_L ドメインが異なるポリペプチド鎖上に存在する。ダイアボディは、例えば、欧州特許第404097号；国際公開93/11161号；及びHollinger等, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90: 6444-6448 (1993)により十分に記載されている。

非ヒト(例えば齧歯類)抗体の「ヒト化」形とは、非ヒト抗体から得られた最小配列を含むキメラ抗体である。大部分において、ヒト化抗体は、レシピエントの高頻度可変領域の残基が、マウス、ラット、ウサギ又は非ヒト霊長類のような所望の抗体特異性、親和性及び能力を有する非ヒト種(ドナー抗体)の高頻度可変領域の残基によって置換されたヒト免疫グロブリン(レシピエント抗体)である。ある場合には、ヒト免疫グロブリンのフレームワーク領域(FR)残基は、対応する非ヒト残基によって置換される。さらに、ヒト化抗体は、レシピエント抗体にもドナー抗体にも見出されない残基を含んでいてもよい。これらの修飾は抗体の特性をさらに洗練するために行われる。一般的に、ヒト化抗体は、全て又はほとんど全ての高頻度可変ループが非ヒト免疫グロブリンのものに一致し、全て又はほとんど全てのFRがヒト免疫グロブリン配列である、少なくとも1つ、典型的には2つの可変ドメインの実質的に全てを含む。ヒト化抗体は、状況に応じて免疫グロブリン定常領域(Fc)、典型的にはヒトの免疫グロブリンの定常領域の少なくとも一部を含む。さらなる詳細は、Jones等, Nature 321:522-525(1986)；Riechmann等, Nature 332, 323-329(1988)；及びPresta, Curr. Op. Struct. Biol. 2, 593-596(1992)を参照のこと。

【 0 0 4 6 】

「種依存性抗体」、例えば哺乳動物抗-ヒトIgE抗体は、二番目の哺乳動物種からの抗原の相同体に対して有している結合親和性よりも、一番目の哺乳動物種からの抗原に対してより強力な結合親和性を有する抗体である。通常、種依存性抗体は、ヒト抗原(すなわち、約 1×10^{-7} M以下、好ましくは約 1×10^{-8} 以下、最も好ましくは約 1×10^{-9} M以下の結合親和性(Kd)値を有する)と「特異的に結合」するが、そのヒト抗原に対する結合親和性よりも、少なくとも約50倍、又は少なくとも約500倍、又は少なくとも約1000倍弱い、二番目の非ヒト哺乳動物種からの抗原の相同体に対する結合親和性を有する。種依存性抗体は、上に定義した種々の型の抗体のいずれでもあることが可能だが、好ましくはヒト化又はヒト抗体である。

対象の抗原と「結合する」抗体は、その抗体がその抗原を発現している細胞を標的とする診断及び/又は治療剤として有用であり、他のタンパク質と有意には交差反応しないように十分な親和性でその抗原と結合するものである。そのような実施態様では、抗体の「非標的」タンパク質との結合の程度は、蛍光標示式細胞分取器(FACS)分析又は放射免疫沈降(RIA)によって定量して、その特定の標的タンパク質との抗体の結合の約10%よりも低い。特定のポリペプチド又は特定のポリペプチドのエピトープと「特異的に結合する」抗体、又は抗体が特定のポリペプチド又は特定のポリペプチドのエピトープにとって「特異的である」とは、抗体が如何なる他のポリペプチド又はポリペプチドエピトープへ実質的に結合することなく特定のポリペプチド又は特定のポリペプチドのエピトープに結合することである。

【 0 0 4 7 】

「PROポリペプチドを発現する細胞の成長を阻害する抗体」又は「成長阻害」抗体とは、適切なPROポリペプチドを発現又は過剰発現する細胞と結合するもの、又は測定可能な程の成長阻害を引き起こすものである。好ましい成長阻害抗PRO抗体は、試験された抗体で処理されていない細胞による一般的なコントロールである、適切なコントロールと比較して、20%より多く、好ましくは約20%から約50%、そしてさらに好ましくは50%よりも多く(例えば、約50%から約100%)PRO発現細胞の成長を阻害す

る。成長阻害は、細胞培養で約 0.1 から 30 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 又は約 0.5 nM から 200 nM の抗体濃度で測定することができ、成長阻害は抗体への細胞の曝露の後 1 日から 10 日で判断することができる。

「アポトーシスを誘発する」抗体、オリゴペプチド又は他の有機分子は、アネキシン V の結合、DNA の断片化、細胞収縮、小胞体の拡張、細胞断片化、及び/又は膜小胞の形成(アポトーシス体と呼ばれる)等により決定されるようなプログラム細胞死を誘発するものである。細胞は、通常、PROポリペプチドを過剰発現しているものである。好ましくは、細胞は腫瘍細胞、例えば前立腺、乳房、卵巣、胃、子宮内膜、肺、腎臓、結腸、膀胱細胞である。アポトーシスに伴う細胞のイベントを評価するために種々の方法が利用できる。例えば、ホスファチジルセリン(PS)転位置をアネキシン結合により測定することができ；DNA断片化はDNAラダーリングにより評価することができ；DNA断片化に伴う細胞核/クロマチン凝結は低二倍体細胞の何らかの増加により評価することができる。好ましくは、アネキシン結合アッセイにおいて、アポトーシスを誘発する抗体、オリゴペプチド又は他の有機分子は、未処理細胞の約 2 ~ 50 倍、好ましくは約 5 ~ 50 倍、最も好ましくは約 10 ~ 50 倍のアネキシン結合を誘発するという結果を生じるものである。

【0048】

抗体の「エフェクター機能」とは、抗体のFc領域(天然配列Fc領域又はアミノ酸配列変異体Fc領域)に帰する生物学的活性を意味し、抗体のアイソタイプにより変わる。抗体のエフェクター機能の例には、C1q結合及び補体依存性細胞障害；Fcレセプター結合性；抗体依存性細胞媒介性細胞障害(ADCC)；貪食作用；細胞表面レセプター(例えば、B細胞レセプター)のダウンレギュレーション；及びB細胞活性化が含まれる。

「抗体依存性細胞媒介性細胞障害」又は「ADCC」とは、ある種の細胞障害細胞(例えば、ナチュラルキラー(NK)細胞、好中球及びマクロファージ)上に存在するFcレセプター(FcRs)と結合した分泌Igにより、これらの細胞障害エフェクター細胞が抗原-担持標的細胞に特異的に結合し、続いて細胞毒により標的細胞を死滅させることを可能にする細胞毒性の形態を意味する。抗体は細胞障害細胞を「備えて」おり、これはこのような死滅には絶対に必要なものである。ADCCを媒介する主要な細胞NK細胞はFcRIIIのみを発現するのに対し、単球はFcRI、FcRII及びFcRIIを発現する。造血細胞でのFcRの発現は、Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol. 9:457-92 (1991) の 464 頁の表 3 に要約されている。対象の分子のADCC活性を評価するために、米国特許第5,500,362号又は同5,821,337号に記載されているようなインビトロADCCアッセイを実施することができる。このようなアッセイにおいて有用なエフェクター細胞には、末梢血液単核細胞(PBMC)及びナチュラルキラー細胞(NK細胞)が含まれる。代わりとして、もしくは付加的に、対象の分子のADCC活性は、例えば、Clynes等, (USA) 95:652-656 (1998)において開示されているような動物モデルにおいて、インビボで評価することが可能である。

【0049】

「Fcレセプター」又は「FcR」は、抗体のFc領域に結合するレセプターを記載するものである。好適なFcRは天然配列ヒトFcRである。さらに好適なFcRは、IgG抗体(ガンマレセプター)と結合するもので、FcRI、FcRII及びFcRIIIサブクラスのレセプターを含み、これらのレセプターの対立遺伝子変異体、選択的にスプライシングされた形態のものも含まれる。FcRIIレセプターには、FcRIIA(「活性型レセプター」)及びFcRIIB(「阻害型レセプター」)が含まれ、主としてその細胞質ドメインは異なるが、類似のアミノ酸配列を有するものである。活性型レセプターFcRIIAは、細胞質ドメインにチロシン依存性免疫レセプター活性化モチーフ(immunoreceptor tyrosine-based activation motif; ITAM)を含んでいる。阻害型レセプターFcRIIBは、細胞質ドメインにチロシン依存性免疫レセプター阻害性モチーフ(immunoreceptor tyrosine-based inhibition motif; ITIM)を含んでいる(Daeron, Annu. Rev. Immunol. 15:203-234 (1997)を参照)。FcRsに関しては、Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol. 9:457-492 (1991); Capel等, Immunometh

10

20

30

40

50

ods 4:25-34 (1994); 及びde Haas等, J. Lab. Clin. Med. 126:330-41 (1995) に概説されている。将来的に同定されるものも含む他のFcRsはここでの「FcR」という言葉によって包含される。また、該用語には、母性IgGsが胎児に受け継がれる要因となっている新生児性レセプターFcRn (Guyer等, J. Immunol. 117:587 (1976) Kim等, J. Immunol. 24:249 (1994)) も含まれる。

「ヒトエフェクター細胞」とは、一又は複数のFcRsを発現し、エフェクター機能を実行する白血球のことである。その細胞が少なくともFcRIIIを発現し、ADCCエフェクター機能を実行することが望ましい。ADCCを媒介するヒト白血球の例として、末梢血液単核細胞(PBMC)、ナチュラルキラー(NK)細胞、単球、細胞毒性T細胞及び好中球が含まれるが、PBMCとNK細胞が好適である。エフェクター細胞は天然源、例えば血液から単離してもよい。

【0050】

「補体依存性細胞障害」もしくは「CDC」は、補体の存在下で標的を溶解することを意味する。典型的な補体経路の活性化は補体系(C1q)の第1補体が、同族抗原と結合した(適切なサブクラスの)抗体に結合することにより開始される。補体の活性化を評価するために、CDCアッセイを、例えばGazzano-Santoro等, J. Immunol. Methods 202:163 (1996)に記載されているように実施することができる。

「癌」及び「癌性」という用語は、典型的には調節されない細胞成長を特徴とする、哺乳動物における生理学的状態を指すか記述する。癌の例には、これらに限定されるものではないが、癌腫、リンパ腫、芽細胞腫、肉腫、及び白血病又はリンパ様悪性腫瘍が含まれる。このような癌のより特定の例には、扁平細胞癌(squamous cell cancer)(例えば扁平上皮細胞癌)、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、肺の腺癌、及び肺の扁平癌腫(squamous carcinoma)を含む肺癌、腹膜癌、肝細胞癌、胃腸癌を含む胃(gastric)又は腹部(stomach)癌、膵臓癌、神経膠芽細胞腫、子宮頸管癌、卵巣癌、肝臓癌、膀胱癌、尿道癌、肝癌、乳癌、結腸癌、直腸癌、結腸直腸癌、子宮内膜又は子宮癌、唾液腺癌、腎臓(kidney)又は腎(renal)癌、前立腺癌、産卵口癌、甲状腺癌、肝臓癌、肛門癌、陰茎癌、黒色腫、多発性骨髄腫及びB細胞リンパ腫、脳、並びに頭部及び頸部の癌、及び関連した転移が含まれる。

【0051】

ここで用いられる「腫瘍」は、悪性又は良性に関わらず、全ての腫瘍形成細胞成長及び増殖、及び全ての前癌性及び癌性細胞及び組織を意味する。

「細胞死を誘導する」抗体は、生細胞を生育不能にするものである。細胞は、PROポリペプチドを発現するもの、好ましくは、同じ組織型の正常細胞と比較してPROポリペプチドを過剰発現する細胞である。インビトロ細胞死は、抗体依存性細胞媒介細胞障害(ADCC)又は補体依存性障害(CDC)によって誘導される細胞死を識別するために、補体及び免疫エフェクター細胞の無い状態で確かめてもよい。従って、細胞死に関するアッセイは、熱不活性化血清(すなわち、補体の無い)を用いて、免疫エフェクター細胞が無い状態でおこなってもよい。抗体、オリゴペプチド又は他の有機分子が細胞死を誘導するか否かを確かめるために、ヨウ化プロビジウム(PI)、トリバンブルー(Moore等 Cytotechnology 17: 1-11(1995))又は7AADの取り込みによって評価した膜整合性の損失を、未処理細胞と関連して評価することができる。好ましい細胞死を誘導する抗体、オリゴペプチド又は他の有機分子は、BT474細胞でのPI取り込みアッセイで、PI取り込みを誘導するものである。

【0052】

「PRO発現細胞」は、細胞の表面上に又は分泌形態で内因性又は形質移入されたPROポリペプチドを発現する。「PRO発現IBD」は、細胞の表面上に存在するPROポリペプチドを有する、IBDを含む細胞である。「PRO発現IBD」は、その細胞の表面上に十分なレベルのPROポリペプチドを生成し、抗PRO抗体はそれへ結合することができ、IBDに関して治療的効果を有する。PROポリペプチドを「過剰発現」するIBDは、同じ組織型の非IBD細胞と比較して、その細胞表面に顕著により高いレベルのPROポリペプチドを有するものである。そのような過剰発現は、遺伝子増幅又は増大し

10

20

30

40

50

た転写又は翻訳によって生じ得る。PROポリペプチド過剰発現は、診断又は予後アッセイにおいて、細胞の表面上に存在するPROタンパク質の増大したレベルを評価することによって定量されうる（例えば、PROポリペプチドをコードする単離された核酸から、組み換えDNA技術を用いて調製することができる単離されたPROポリペプチドに対して調製した抗PRO抗体を用いた免疫組織化学アッセイを介して；FACS分析など）。あるいは、又は付加的に、例えば、PROコード化核酸又はその相補鎖と一致する核酸ベースプローブを使用する蛍光インサイツハイブリダイゼーション；（FISH；1998年10月に公開の国際公開98/45479を参照せよ）、サザンブロッティング、ノーザンブロッティング、又はポリメラーゼ連鎖反応（PCR）技術、例えばリアルタイム定量PCR（RT-PCR）を介して、細胞のPROポリペプチドコード化核酸又はmRNAのレベルを測定してもよい。また、例えば、抗体ベースアッセイを用いて、血清のような生物学的体液中に流れている抗原を測定することによって、TATポリペプチド過剰発現を研究してもよい（同じく、例えば、1990年6月12日に公開の米国特許第4,933,294号；1991年4月18日に公開の国際公開91/05264；1995年3月28日に公開の米国特許第5,401,638号；Sias等、J. Immunol. Methods 132: 73-80(1990)を参照せよ）。上記のアッセイとは別に、種々のインビボアッセイは、熟練技術者にとって入手可能である。例えば、患者の体の中にある細胞を、例えば、放射活性アイソトープのような検出可能な標識で場合によって標識した抗体に曝してもよく、患者の細胞への抗体の結合は、例えば、放射活性の外部スキャンニングによって、又は以前に抗体へ曝した患者から取り出した生検を分析することによって評価することができる。

ここで用いられているように、「イムノアドヘシン」という用語は、免疫グロブリン定常ドメインのエフェクター機能を持つ異種タンパク質（「アドヘシン」）の結合特異性を付与した抗体様分子を指す。構造的には、イムノアドヘシンは抗体の抗原認識及び結合部位以外の所望の結合特異性を持つアミノ酸配列（即ち「異種」）と免疫グロブリン定常ドメイン配列との融合物である。イムノアドヘシン分子のアドヘシン部分は、典型的には少なくともレセプター又はリガンドの結合部位を含む近接アミノ酸配列を含む。イムノアドヘシンの免疫グロブリン定常ドメイン配列は、IgG-1、IgG-2、IgG-3、又はIgG-4サブタイプ、IgA（IgA-1及びIgA-2を含む）、IgE、IgD又はIgMなどの任意の免疫グロブリンから得ることができる。

【0053】

「標識」という語は、ここで用いられる場合、「標識化」抗体を作製するために、抗体に直接的又は間接的に結合させる検出可能な化合物又は組成物を意味する。標識はそれ自身によって検出可能でもよく（例えば、放射性同位体標識又は蛍光標識）、あるいは、酵素標識の場合には、検出可能な基質化合物又は組成物の化学的変換を触媒してもよい。

ここで用いられる「細胞毒性剤」という用語は、細胞の機能を阻害又は阻止し及び/又は細胞破壊を生ずる物質を指す。この用語は、放射性同位体（例えば、 At^{211} 、 I^{131} 、 I^{125} 、 Y^{90} 、 Re^{186} 、 Re^{188} 、 Sm^{153} 、 Bi^{212} 、 P^{32} 及びLuの放射性同位元素）、化学治療薬、例えばメトトレキセート、アドリアマイシン、ピンカルカロイド類（ピンクリスチン、ピンブラスチン、エトポシド）、ドキソルピシン、メルファラン、マイトマイシンC、クロラムブシル、ダウノルピシン又は他の挿入剤、酵素及びその断片、例えば核溶解性酵素、抗生物質、及び毒素、例えばその断片及び/又は変異体を含む小分子毒素又は細菌、糸状菌、植物又は動物起源の酵素的に活性な毒素、そして下記に開示する種々の抗腫瘍又は抗癌剤を含むように意図されている。他の細胞毒性薬が下記に記載されている。殺腫瘍性剤は、腫瘍細胞の破壊を引き起こす。

ここで用いられる際の「成長阻害剤」は、細胞の成長をインビトロ又はインビボの何れかで阻害する化合物又は組成物を意味する。よって、成長阻害剤は、S期でPRO発現細胞の割合を有意に減少させるものである。成長阻害剤の例は、細胞周期の進行を（S期以外の位置で）阻害する薬剤、例えばG1停止又はM期停止を誘発する薬剤を含む。古典的なM期ブロッカーは、ピнкаス（ピンクリスチン及びピンブラスチン）、タキサン類、及びトポイソメラーゼII阻害剤、例えばドキソルピシン、エビルピシン、ダウノルピシン

10

20

30

40

50

、エトポシド、及びブレオマイシンを含む。またG 1 停止させるこれらの薬剤は、S 期停止にも波及し、例えば、DNAアルキル化剤、例えば、タモキシフェン、プレドニゾン、ダカルバジン、メクロレタミン、シスプラチン、メトトレキサート、5-フルオロウラシル、及びアラ-Cである。更なる情報は、The Molecular Basis of Cancer, Mendelsohn及びIsrael, 編, Chapter 1, 表題「Cell cycle regulation, oncogenes, and antineoplastic drugs」, Murakami等, (WB Saunders: Philadelphia, 1995)、特に13頁に見出すことができる。タキサン類(パクリタキセル及びドセタキセル)は、共にイチイに由来する抗癌剤である。ヨーロッパイチイに由来するドセタキセル(TAXOTERE(登録商標)、ローン・プーラン ローラー)は、パクリタキセル(TAXOL(登録商標)、プリストル-マイヤー スクウィブ)の半合成類似体である。パクリタキセル及びドセタキセルは、チューブリン二量体から微小管の集合を促進し、細胞の有糸分裂を阻害する結果となる脱重合を防ぐことによって微小管を安定化にする。

【0054】

「ドキシソルピシン」はアントラサイクリン抗生物質である。ドキシソルピシンの完全な化学名は、(8S-シス)-10-[(3-アミノ-2,3,6-トリデオキシ-L-リキソ-ヘキサピラノシル)オキシ]-7,8,9,10-テトラヒドロ-6,8,11-トリヒドロキシ-8-(ヒドロキシアセチル)-1-メトキシ-5,12-ナフタセンジオンである。

「サイトカイン」なる用語は、一つの細胞集団から放出され、他の細胞に細胞間メディエータとして作用するタンパク質の一般用語である。このようなサイトカインの例は、リンホカイン、モノカイン、及び伝統的なポリペプチドホルモンである。サイトカインに含まれるのは、成長ホルモン、例えばヒト成長ホルモン、N-メチオニルヒト成長ホルモン、及びウシ成長ホルモン；副甲状腺ホルモン；チロキシン；インシュリン；プロインシュリン；レラクシン；プロレラクシン；糖タンパク質ホルモン、例えば濾胞刺激ホルモン(FSH)、甲状腺刺激ホルモン(TSH)、及び黄体化ホルモン(LH)；肝臓成長因子；線維芽成長因子；プロラクチン；胎盤ラクトゲン；腫瘍壊死因子-及び-；ミューラー阻害因子；マウス生殖腺刺激ホルモン関連ペプチド；インヒピン；アクチピン；血管内皮成長因子；インテグリン；トロンボポエチン(TPO)；NGF-等の神経成長因子；血小板成長因子；TGF-及びTGF-等のトランスフォーミング成長因子(TGFs)；インシュリン様成長因子-I及びII；エリスロポエチン(EPO)；骨誘発因子；インターフェロン-、-、及び-等のインターフェロン；コロニー刺激因子(CSFs)、例えばマクロファージ-CSF(M-CSF)；顆粒球-マクロファージ-CSF(GM-CSF)；及び顆粒球-CSF(G-CSF)；インターロイキン(ILs)、例えばIL-1、IL-1a、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IL-11、IL-12；腫瘍壊死因子、例えばTNF-及びTNF-；及びLIF及びキットリガンド(KL)を含む他のポリペプチド因子である。ここで用いられる際、用語サイトカインには、天然供給源から、又は組換え細胞培養からのタンパク質、及び天然配列サイトカインの生物学的に活性な等価物が含まれる。

「パッケージ挿入物」という用語は、効能、用途、服用量、投与、配合禁忌及び/又はその治療薬の用途に関する警告についての情報を含む、治療薬の商業的包装を慣習的に含めた指示書を指す。

10

20

30

40

表 1

```

/*
 *
 * C-C increased from 12 to 15
 * Z is average of EQ
 * B is average of ND
 * match with stop is _M; stop-stop = 0; J (joker) match = 0
 */
#define      _M      -8      /* value of a match with a stop */

int      _day[26][26] = {
/* A */
0, -3, 0},
/* B */
0, -3, 1},
/* C */
0, 0, -5},
/* D */
0, -4, 2},
/* E */
0, -4, 3},
/* F */
0, 0, 7, -5},
/* G */
0, -5, 0},
/* H */
0, 0, 2},
/* I */
0, -1, -2},
/* J */
0, 0, 0, 0},
/* K */
0, -4, 0},
/* L */
0, -1, -2},
/* M */
0, -2, -1},
/* N */
0, -2, 1},
/* O */
0, _M, _M,
/* P */
0, -5, 0},
/* Q */
0, -4, 3},
/* R */
2, 0, -4, 0},
/* S */
0, -3, 0},
/* T */
0, -3, 0},
/* U */
0, 0, 0, 0},
/* V */
0, -2, -2},
/* W */
0, 0, -6},
/* X */
0, 0, 0, 0},
/* Y */
0, 0, 10, -4},
/* Z */
0, -4, 4}
};

```

10

20

30

表1 (続き)

```

/*
*/
#include <stdio.h>
#include <ctype.h>

#define MAXJMP 16 /* max jumps in a diag */
#define MAXGAP 24 /* don't continue to penalize gaps larger than this */
#define JMPS 1024 /* max jumps in an path */
#define MX 4 /* save if there's at least MX-1 bases since last
jump */

#define DMAT 3 /* value of matching bases */
#define DMIS 0 /* penalty for mismatched bases */
#define DINS0 8 /* penalty for a gap */
#define DINS1 1 /* penalty per base */
#define PINS0 8 /* penalty for a gap */
#define PINS1 4 /* penalty per residue */

struct jmp {
    short n[MAXJMP]; /* size of jmp (neg for dely) */
    unsigned short x[MAXJMP]; /* base no. of jmp in seq x */
}; /* limits seq to 2^16 -1 */

struct diag {
    int score; /* score at last jmp */
    long offset; /* offset of prev block */
    short ijmp; /* current jmp index */
    struct jmp jp; /* list of jumps */
};

struct path {
    int spc; /* number of leading spaces */
    short n[JMPS]; /* size of jmp (gap) */
    int x[JMPS]; /* loc of jmp (last elem before gap) */
};

char *ofile; /* output file name */
char *namex[2]; /* seq names: getseqs( ) */
char *prog; /* prog name for err msgs */
char *seqx[2]; /* seqs: getseqs( ) */
int dmax; /* best diag: nw( ) */
int dmax0; /* final diag */
int dna; /* set if dna: main( ) */
int endgaps; /* set if penalizing end gaps */
int gapx, gapy; /* total gaps in seqs */
int len0, len1; /* seq lens */
int ngapx, ngapy; /* total size of gaps */
int smax; /* max score: nw( ) */
int *xbm; /* bitmap for matching */
long offset; /* current offset in jmp file */
struct diag *dx; /* holds diagonals */
struct path pp[2]; /* holds path for seqs */

char *calloc( ), *malloc( ), *index( ), *strcpy( );
char *getseq( ), *g_calloc( );

```

表1 (続き)

```

/* Needleman-Wunsch alignment program
*
* usage: prog file1 file2
* where file1 and file2 are two dna or two protein sequences.
* The sequences can be in upper- or lower-case and may contain ambiguity
* Any lines beginning with ';', '>' or '<' are ignored
* Max file length is 65535 (limited by unsigned short x in the jmp struct)
* A sequence with 1/3 or more of its elements ACGTU is assumed to be DNA
* Output is in the file "align.out"
*
* The program may create a tmp file in /tmp to hold info about traceback.
* Original version developed under BSD 4.3 on a vax 8650
*/
#include "nw.h"
#include "day.h"

static _dbval[26] = {
    1,14,2,13,0,0,4,11,0,0,12,0,3,15,0,0,0,5,6,8,8,7,9,0,10,0
};

static _pbval[26] = {
    1, 2|(1<<('D'-'A'))|(1<<('N'-'A')), 4, 8, 16, 32, 64,
    128, 256, 0xFFFFFFFF, 1<<10, 1<<11, 1<<12, 1<<13, 1<<14,
    1<<15, 1<<16, 1<<17, 1<<18, 1<<19, 1<<20, 1<<21, 1<<22,
    1<<23, 1<<24, 1<<25|(1<<('E'-'A'))|(1<<('Q'-'A'))
};

main(ac, av)
int ac;
char *av[];
{
    prog = av[0];
    if (ac != 3) {
        fprintf(stderr,"usage: %s file1 file2\n", prog);
        fprintf(stderr,"where file1 and file2 are two dna or two protein
sequences.\n");
        fprintf(stderr,"The sequences can be in upper- or lower-case\n");
        fprintf(stderr,"Any lines beginning with ';' or '<' are ignored\n");
        fprintf(stderr,"Output is in the file %s\"align.out\"\n");
        exit(1);
    }
    namex[0] = av[1];
    namex[1] = av[2];
    seqx[0] = getseq(namex[0], &len0);
    seqx[1] = getseq(namex[1], &len1);
    xbm = (dna)? _dbval : _pbval;

    endgaps = 0; /* 1 to penalize endgaps */
    ofile = "align.out"; /* output file */

    nw( ); /* fill in the matrix, get the possible jmps */
    readjmps( ); /* get the actual jmps */
    print( ); /* print stats, alignment */

    cleanup(0); /* unlink any tmp files */
}

```

表1 (続き)

```

/* do the alignment, return best score: main( )
* dna: values in Fitch and Smith, PNAS, 80, 1382-1386, 1983
* pro: PAM 250 values
* When scores are equal, we prefer mismatches to any gap, prefer
* a new gap to extending an ongoing gap, and prefer a gap in seqx
* to a gap in seq y.
*/
nw( ) nw
{
    char      *px, *py;           /* seqs and ptrs */
    int       *ndely, *dely;      /* keep track of dely */
    int       ndelx, delx;       /* keep track of delx */
    int       *tmp;              /* for swapping row0, row1 */
    int       mis;               /* score for each type */
    int       ins0, ins1;        /* insertion penalties */
    register  id;                /* diagonal index */
    register  ij;                /* jmp index */
    register  *col0, *col1;      /* score for curr, last row */
    register  xx, yy;            /* index into seqs */

    dx = (struct diag *)g_calloc("to get diags", len0+len1+1, sizeof(struct diag));

    ndely = (int *)g_calloc("to get ndely", len1+1, sizeof(int));
    dely = (int *)g_calloc("to get dely", len1+1, sizeof(int));
    col0 = (int *)g_calloc("to get col0", len1+1, sizeof(int));
    col1 = (int *)g_calloc("to get col1", len1+1, sizeof(int));
    ins0 = (dna)? DINS0 : PINS0;
    ins1 = (dna)? DINS1 : PINS1;

    smax = -10000;
    if (endgaps) {
        for (col0[0] = dely[0] = -ins0, yy = 1; yy <= len1; yy++) {
            col0[yy] = dely[yy] = col0[yy-1] - ins1;
            ndely[yy] = yy;
        }
        col0[0] = 0; /* Waterman Bull Math Biol 84 */
    }
    else
        for (yy = 1; yy <= len1; yy++)
            dely[yy] = -ins0;

    /* fill in match matrix
    */
    for (px = seqx[0], xx = 1; xx <= len0; px++, xx++) {
        /* initialize first entry in col
        */
        if (endgaps) {
            if (xx == 1)
                col1[0] = delx = -(ins0+ins1);
            else
                col1[0] = delx = col0[0] - ins1;
            ndelx = xx;
        }
        else {
            col1[0] = 0;
            delx = -ins0;
            ndelx = 0;
        }
    }
}

```

表1 (続き)

```

...nw
for (py = seqx[1], yy = 1; yy <= len1; py++, yy++) {
  mis = col0[yy-1];
  if (dna)
    mis += (xbm[*px-'A']&xbm[*py-'A'])? DMAT : DMIS;
  else
    mis += _day[*px-'A'][*py-'A'];

  /* update penalty for del in x seq;
   * favor new del over ongong del
   * ignore MAXGAP if weighting endgaps
   */
  if (endgaps || ndely[yy] < MAXGAP) {
    if (col0[yy] - ins0 >= dely[yy]) {
      dely[yy] = col0[yy] - (ins0+ins1);
      ndely[yy] = 1;
    } else {
      dely[yy] -= ins1;
      ndely[yy]++;
    }
  } else {
    if (col0[yy] - (ins0+ins1) >= dely[yy]) {
      dely[yy] = col0[yy] - (ins0+ins1);
      ndely[yy] = 1;
    } else
      ndely[yy]++;
  }

  /* update penalty for del in y seq;
   * favor new del over ongong del
   */
  if (endgaps || ndelx < MAXGAP) {
    if (coll[yy-1] - ins0 >= delx) {
      delx = coll[yy-1] - (ins0+ins1);
      ndelx = 1;
    } else {
      delx -= ins1;
      ndelx++;
    }
  } else {
    if (coll[yy-1] - (ins0+ins1) >= delx) {
      delx = coll[yy-1] - (ins0+ins1);
      ndelx = 1;
    } else
      ndelx++;
  }

  /* pick the maximum score; we're favoring
   * mis over any del and delx over dely
   */
}

```

10

20

30

表1 (続き)

```

...nw
id = xx - yy + len1 - 1;
if (mis >= delx && mis >= dely[yy])
    coll[yy] = mis;
else if (delx >= dely[yy]) {
    coll[yy] = delx;
    ij = dx[id].ijmp;
    if (dx[id].jp.n[0] && (!dna || (ndelx >= MAXJMP
    && xx > dx[id].jp.x[ij]+MX) || mis > dx[id].score+DINS0))
    {
        dx[id].ijmp++;
        if (++ij >= MAXJMP) {
            writejmps(id);
            ij = dx[id].ijmp = 0;
            dx[id].offset = offset;
            offset += sizeof(struct jmp) + sizeof(offset);
        }
        dx[id].jp.n[ij] = ndelx;
        dx[id].jp.x[ij] = xx;
        dx[id].score = delx;
    }
} else {
    coll[yy] = dely[yy];
    ij = dx[id].ijmp;
if (dx[id].jp.n[0] && (!dna || (ndely[yy] >= MAXJMP
    && xx > dx[id].jp.x[ij]+MX) || mis > dx[id].score+DINS0))
    {
        dx[id].ijmp++;
        if (++ij >= MAXJMP) {
            writejmps(id);
            ij = dx[id].ijmp = 0;
            dx[id].offset = offset;
            offset += sizeof(struct jmp) + sizeof(offset);
        }
        dx[id].jp.n[ij] = -ndely[yy];
        dx[id].jp.x[ij] = xx;
        dx[id].score = dely[yy];
    }
} if (xx == len0 && yy < len1) {
    /* last col
    */
    if (endgaps)
        coll[yy] -= ins0+ins1*(len1-yy);
    if (coll[yy] > smax) {
        smax = coll[yy];
        dmax = id;
    }
}
} if (endgaps && xx < len0)
    coll[yy-1] -= ins0+ins1*(len0-xx);
if (coll[yy-1] > smax) {
    smax = coll[yy-1];
    dmax = id;
}
tmp = col0; col0 = coll; coll = tmp;
}
(void) free((char *)ndely);
(void) free((char *)dely);
(void) free((char *)col0);
(void) free((char *)coll);
}

```

表1 (続き)

```

/*
 *
 * print( ) -- only routine visible outside this module
 *
 * static:
 * getmat( ) -- trace back best path, count matches: print( )
 * pr_align( ) -- print alignment of described in array p[]: print( )
 * dumpblock( ) -- dump a block of lines with numbers, stars: pr_align( )
 * nums( ) -- put out a number line: dumpblock( )
 * putline( ) -- put out a line (name, [num], seq, [num]): dumpblock( )
 * stars( ) -- put a line of stars: dumpblock( )
 * stripname( ) -- strip any path and prefix from a seqname
 */

#include "nw.h"

#define SPC 3
#define P_LINE 256 /* maximum output line */
#define P_SPC3 /* space between name or num and seq */

extern _day[26][26];
int olen; /* set output line length */
FILE *fx; /* output file */

print( )
{
    int lx, ly, firstgap, lastgap; /* overlap */

    if ((fx = fopen(ofile, "w")) == 0) {
        fprintf(stderr, "%s: can't write %s\n", prog, ofile);
        cleanup(1);
    }
    fprintf(fx, "<first sequence: %s (length = %d)\n", namex[0], len0);
    fprintf(fx, "<second sequence: %s (length = %d)\n", namex[1], len1);
    olen = 60;
    lx = len0;
    ly = len1;
    firstgap = lastgap = 0;
    if (dmax < len1 - 1) { /* leading gap in x */
        pp[0].spc = firstgap = len1 - dmax - 1;
        ly -= pp[0].spc;
    }
    else if (dmax > len1 - 1) { /* leading gap in y */
        pp[1].spc = firstgap = dmax - (len1 - 1);
        lx -= pp[1].spc;
    }
    if (dmax0 < len0 - 1) { /* trailing gap in x */
        lastgap = len0 - dmax0 - 1;
        lx -= lastgap;
    }
    else if (dmax0 > len0 - 1) { /* trailing gap in y */
        lastgap = dmax0 - (len0 - 1);
        ly -= lastgap;
    }
    getmat(lx, ly, firstgap, lastgap);
    pr_align( );
}

```

10

20

30

表1 (続き)

```

/*
 * trace back the best path, count matches
 */
static
getmat(lx, ly, firstgap, lastgap)                               getmat
{
    int      lx, ly;                                           /* "core" (minus endgaps) */
    int      firstgap, lastgap;                                /* leading trailing overlap */

    int      nm, i0, i1, siz0, siz1;
    char     outx[32];
    double   pct;
    register      n0, n1;
    register char *p0, *p1;

    /* get total matches, score
    */
    i0 = i1 = siz0 = siz1 = 0;
    p0 = seqx[0] + pp[1].spc;
    p1 = seqx[1] + pp[0].spc;
    n0 = pp[1].spc + 1;
    n1 = pp[0].spc + 1;

    nm = 0;
    while ( *p0 && *p1 ) {
        if (siz0) {
            p1++;
            n1++;
            siz0--;
        }
        else if (siz1) {
            p0++;
            n0++;
            siz1--;
        }
        else {
            if (xbm[*p0-'A'] & xbm[*p1-'A'])
                nm++;
            if (n0++ == pp[0].x[i0])
                siz0 = pp[0].n[i0++];
            if (n1++ == pp[1].x[i1])
                siz1 = pp[1].n[i1++];
            p0++;
            p1++;
        }
    }

    /* pct homology:
    * if penalizing endgaps, base is the shorter seq
    * else, knock off overhangs and take shorter core
    */
    if (endgaps)
        lx = (len0 < len1)? len0 : len1;
    else
        lx = (lx < ly)? lx : ly;
    pct = 100.* (double)nm / (double)lx;
    fprintf(fx, "%n");
    fprintf(fx, "<%d match%s in an overlap of %d: %.2f percent similarity%n",
            nm, (nm == 1)? "" : "es", lx, pct);
}

```

10

20

30

表 1 (続き)

```

fprintf(fx, "<gaps in first sequence: %d", gapx);
if (gapx) {
    (void) sprintf(outx, " (%d %s%s)",
        ngapx, (dna)? "base":"residue", (ngapx == 1)? "":"s");
    fprintf(fx,"%s", outx);
}
fprintf(fx, ", gaps in second sequence: %d", gapy);
if (gapy) {
    (void) sprintf(outx, " (%d %s%s)",
        ngapy, (dna)? "base":"residue", (ngapy == 1)? "":"s");
    fprintf(fx,"%s", outx);
}
if (dna)
    fprintf(fx,
        "%n<score: %d (match = %d, mismatch = %d, gap penalty = %d + %d per base)%n",
        smax, DMAT, DMIS, DINS0, DINS1);
else
    fprintf(fx,
        "%n<score: %d (Dayhoff PAM 250 matrix, gap penalty = %d + %d per residue)%n",
        smax, PINS0, PINS1);
if (endgaps)
    fprintf(fx,
        "<endgaps penalized. left endgap: %d %s%s, right endgap: %d %s%s%n",
        firstgap, (dna)? "base" : "residue", (firstgap == 1)? "":"s",
        lastgap, (dna)? "base" : "residue", (lastgap == 1)? "":"s");
else
    fprintf(fx, "<endgaps not penalized%n");
}

static nm; /* matches in core -- for checking */
static lmax; /* lengths of stripped file names */
static ij[2]; /* jmp index for a path */
static nc[2]; /* number at start of current line */
static ni[2]; /* current elem number -- for gapping */
static siz[2];
static char *ps[2]; /* ptr to current element */
static char *po[2]; /* ptr to next output char slot */
static char out[2][P_LINE]; /* output line */
static char star[P_LINE]; /* set by stars( ) */

/*
 * print alignment of described in struct path pp[]
 */
static
pr_align( )
{
    int nn; /* char count */
    int more;
    register i;

    for (i = 0, lmax = 0; i < 2; i++) {
        nn = stripname(name[i]);
        if (nn > lmax)
            lmax = nn;

        nc[i] = 1;
        ni[i] = 1;
        siz[i] = ij[i] = 0;
        ps[i] = seqx[i];
        po[i] = out[i];
    }
}

```

...getmat

10

20

pr_align

30

表1 (続き)

```

for (nn = nm = 0, more = 1; more; ) {
    for (i = more = 0; i < 2; i++) {
        /*
         * do we have more of this sequence?
         */
        if (!*ps[i])
            continue;

        more++;

        if (pp[i].spc) { /* leading space */
            *po[i]++ = ' ';
            pp[i].spc--;
        }
        else if (siz[i]) { /* in a gap */
            *po[i]++ = '-';
            siz[i]--;
        }
        else { /* we're putting a seq element
            */
            *po[i] = *ps[i];
            if (islower(*ps[i]))
                *ps[i] = toupper(*ps[i]);
            po[i]++;
            ps[i]++;

            /*
             * are we at next gap for this seq?
             */
            if (ni[i] == pp[i].x[ij[i]]) {
                /*
                 * we need to merge all gaps
                 * at this location
                 */
                siz[i] = pp[i].n[ij[i]++];
                while (ni[i] == pp[i].x[ij[i]])
                    siz[i] += pp[i].n[ij[i]++];
            }
            ni[i]++;
        }
    }
    if (++nn == olen || !more && nn) {
        dumpblock( );
        for (i = 0; i < 2; i++)
            po[i] = out[i];
        nn = 0;
    }
}

/*
 * dump a block of lines, including numbers, stars: pr_align( )
 */
static
dumpblock( )
{
    register i;

    for (i = 0; i < 2; i++)
        *po[i]-- = '\0';
}

```

...pr_align

10

20

30

dumpblock

表1 (続き)

```

int          i;
register char *px;

for (px = name[ix], i = 0; *px && *px != ':'; px++, i++)
    (void) putc(*px, fx);
for (; i < lmax+P_SPC; i++)
    (void) putc(' ', fx);

/* these count from 1:
 * ni[] is current element (from 1)
 * nc[] is number at start of current line
 */
for (px = out[ix]; *px; px++)
    (void) putc(*px&0x7F, fx);
(void) putc('\n', fx);
}

/*
 * put a line of stars (seqs always in out[0], out[1]): dumpblock( )
 */
static
stars( )
{
    int          i;
    register char *p0, *p1, cx, *px;

    if (!*out[0] || (*out[0] == ' ' && *(po[0]) == ' ') ||
        !*out[1] || (*out[1] == ' ' && *(po[1]) == ' '))
        return;
    px = star;
    for (i = lmax+P_SPC; i; i--)
        *px++ = ' ';

    for (p0 = out[0], p1 = out[1]; *p0 && *p1; p0++, p1++) {
        if (isalpha(*p0) && isalpha(*p1)) {
            if (xbrm[*p0-'A']&xbrm[*p1-'A']) {
                cx = '*';
                nm++;
            }
            else if (!dna && _day[*p0-'A'][*p1-'A'] > 0)
                cx = '.';
            else
                cx = ' ';
        }
        else
            cx = ' ';
        *px++ = cx;
    }
    *px++ = '\n';
    *px = '\0';
}

```

...putline

10

stars

20

30

表1 (続き)

```

/*
 * strip path or prefix from pn, return len: pr_align( )
 */
static
stripname(pn)
char *pn; /* file name (may be path) */
{
    register char *px, *py;

    py = 0;
    for (px = pn; *px; px++)
        if (*px == '/')
            py = px + 1;
    if (py)
        (void) strcpy(pn, py);
    return(strlen(pn));
}

```

stripname

40

表1 (続き)

```

/*
 * cleanup() -- cleanup any tmp file
 * getseq() -- read in seq, set dna, len, maxlen
 * g_calloc() -- calloc() with error checkin
 * readjumps() -- get the good jumps, from tmp file if necessary
 * writejumps() -- write a filled array of jumps to a tmp file: nw()
 */
#include "nw.h"
#include <sys/file.h>

char *jname = "/tmp/homgXXXXXX"; /* tmp file for jumps */
FILE *fj;

int cleanup(); /* cleanup tmp file */
long lseek();

/*
 * remove any tmp file if we blow
 */
cleanup(i) cleanup
{
    int i;
    if (fj) (void) unlink(jname);
    exit(i);
}

/*
 * read, return ptr to seq, set dna, len, maxlen
 * skip lines starting with ';', '<', or '>'
 * seq in upper or lower case
 */
char *
getseq(file, len) getseq
{
    char *file; /* file name */
    int *len; /* seq len */

    char line[1024], *pseq;
    register char *px, *py;
    int natgc, tlen;
    FILE *fp;

    if ((fp = fopen(file, "r")) == 0) {
        fprintf(stderr, "%s: can't read %s\n", prog, file);
        exit(1);
    }
    tlen = natgc = 0;
    while (fgets(line, 1024, fp)) {
        if (*line == ';' || *line == '<' || *line == '>')
            continue;
        for (px = line; *px != '\n'; px++)
            if (isupper(*px) || islower(*px))
                tlen++;
    }
    if ((pseq = malloc((unsigned)(tlen+6))) == 0) {
        fprintf(stderr, "%s: malloc( ) failed to get %d bytes for %s\n", prog,
tlen+6, file);
        exit(1);
    }
    pseq[0] = pseq[1] = pseq[2] = pseq[3] = '\0';
}

```

表1 (続き)

```

py = pseq + 4;
*len = tlen;
rewind(fp);

while (fgets(line, 1024, fp)) {
  if (*line == ';' || *line == '<' || *line == '>')
    continue;
  for (px = line; *px != '\n'; px++) {
    if (isupper(*px))
      *py++ = *px;
    else if (islower(*px))
      *py++ = toupper(*px);
    if (index("ATGCU", *(py-1)))
      natgc++;
  }
  *py++ = '\0';
  *py = '\0';
  (void) fclose(fp);
  dna = natgc > (tlen/3);
  return(pseq+4);
}

char *
g_malloc(msg, nx, sz)                                     g_malloc
  char *msg; /* program, calling routine */
  int nx, sz; /* number and size of elements */
{
  char *px, *calloc();
  if ((px = calloc((unsigned)nx, (unsigned)sz)) == 0) {
    if (*msg) {
      fprintf(stderr, "%s: g_malloc() failed %s (n=%d, sz=%d)\n", prog,
msg, nx, sz);
      exit(1);
    }
  }
  return(px);
}

/*
 * get final jmps from dx[] or tmp file, set pp[], reset dmax: main()
 */
readjmps()                                               readjmps
{
  int fd = -1;
  int siz, i0, i1;
  register i, j, xx;

  if (fj) {
    (void) fclose(fj);
    if ((fd = open(jname, O_RDONLY, 0)) < 0) {
      fprintf(stderr, "%s: can't open() %s\n", prog, jname);
      cleanup(1);
    }
  }
  for (i = i0 = i1 = 0, dmax0 = dmax, xx = len0; ; i++) {
    while (1) {
      for (j = dx[dmax].ijmp; j >= 0 && dx[dmax].jp.x[j] >= xx; j--)
        ;
    }
  }
}

```

表1 (続き)

```

...readjumps
if (j < 0 && dx[dmax].offset && fj) {
    (void) lseek(fd, dx[dmax].offset, 0);
    (void) read(fd, (char *)&dx[dmax].jpp, sizeof(struct jmp));
    (void) read(fd, (char *)&dx[dmax].offset,
sizeof(dx[dmax].offset));
    dx[dmax].ijmp = MAXJMP-1;
}
else break;
}
if (i >= JMPS) {
    fprintf(stderr, "%s: too many gaps in alignment\n", prog);
    cleanup(1);
}
if (j >= 0) {
    siz = dx[dmax].jpp.n[j];
    xx = dx[dmax].jpp.x[j];
    dmax += siz;
    if (siz < 0) { /* gap in second seq */
        pp[1].n[i1] = -siz;
        xx += siz;
        /* id = xx - yy + len1 - 1
        */
        pp[1].x[i1] = xx - dmax + len1 - 1;
        gapy++;
        ngapy -= siz;
/* ignore MAXGAP when doing endgaps */
        siz = (-siz < MAXGAP || endgaps)? -siz : MAXGAP;
        i1++;
    }
    else if (siz > 0) { /* gap in first seq */
        pp[0].n[i0] = siz;
        pp[0].x[i0] = xx;
        gapx++;
        ngapx += siz;
/* ignore MAXGAP when doing endgaps */
        siz = (siz < MAXGAP || endgaps)? siz : MAXGAP;
        i0++;
    }
}
else break;
}

/* reverse the order of jumps
*/
for (j = 0, i0--; j < i0; j++, i0--) {
    i = pp[0].n[j]; pp[0].n[j] = pp[0].n[i0]; pp[0].n[i0] = i;
    i = pp[0].x[j]; pp[0].x[j] = pp[0].x[i0]; pp[0].x[i0] = i;
}
for (j = 0, i1--; j < i1; j++, i1--) {
    i = pp[1].n[j]; pp[1].n[j] = pp[1].n[i1]; pp[1].n[i1] = i;
    i = pp[1].x[j]; pp[1].x[j] = pp[1].x[i1]; pp[1].x[i1] = i;
}
if (fd >= 0)
    (void) close(fd);
if (fj) {
    (void) unlink(jname);
    fj = 0;
    offset = 0; }
}

```

10

20

30

表 1 (続き)

```

/*
 * write a filled jmp struct offset of the prev one (if any): nw( )
 */
writejmps(ix)                                     writejmps
{
    int ix;
    char *mktemp( );
    if (!fj) {
        if (mktemp(jname) < 0) {
            fprintf(stderr, "%s: can't mktemp( ) %s\n", prog, jname);
            cleanup(1);
        }
        if ((fj = fopen(jname, "w")) == 0) {
            fprintf(stderr, "%s: can't write %s\n", prog, jname);
            exit(1);
        }
    }
    (void) fwrite((char *)&dx[ix].jp, sizeof(struct jmp), 1, fj);
    (void) fwrite((char *)&dx[ix].offset, sizeof(dx[ix].offset), 1, fj);
}

```

表 2

PRO	XXXXXXXXXXXXXXXXXX	(長さ = 15 アミノ酸)	
比較タンパク質	XXXXXXXXYYYYYYY	(長さ = 12 アミノ酸)	20

% アミノ酸配列同一性 =
(ALIGN-2で決定される 2つのポリペプチドの間の一致するアミノ酸残基の数)
÷ (PROポリペプチドのアミノ酸残基の総数) =
5 ÷ 15 = 33.3%

表 3

PRO	XXXXXXXXXXXXX	(長さ = 10 アミノ酸)	30
比較タンパク質	XXXXXXXXYYYYYYZZYZ	(長さ = 15 アミノ酸)	

% アミノ酸配列同一性 =
(ALIGN-2で決定される 2つのポリペプチドの間の一致するアミノ酸残基の数)
÷ (PROポリペプチドのアミノ酸残基の総数) =
5 ÷ 10 = 50%

表 4

PRO-DNA	NNNNNNNNNNNNNNNN	(長さ = 14 ヌクレオチド)	
比較 DNA	NNNNNNLLLLLLLLLLLL	(長さ = 16 ヌクレオチド)	40

% 核酸配列同一性 =
(ALIGN-2で決定される 2つの核酸配列の間の一致するヌクレオチドの数)
÷ (PRO-DNA核酸配列のヌクレオチドの総数) =
6 ÷ 14 = 42.9%

表 5

PRO-DNA	NNNNNNNNNNNNNN	(長さ = 12 ヌクレオチド)
比較 DNA	NNNNLLLLVV	(長さ = 9 ヌクレオチド)

％ 核酸配列同一性 =

(ALIGN-2で決定される2つの核酸配列の間の一致するヌクレオチドの数)

÷ (PRO-DNA核酸配列のヌクレオチドの総数) =

$4 \div 12 = 33.3\%$

10

【 0 0 5 5 】

5 . 2 . 本発明の組成物と方法

5 . 2 . 1 . 抗 P R O 抗体

一実施態様では、本発明は、ここで治療及び/又は診断薬としての用途が見出され得る抗 P R O 抗体を提供する。例示的な抗体には、ポリクローナル、モノクローナル、ヒト化、二重特異性及びヘテロコンジュゲート抗体が含まれる。

【 0 0 5 6 】

5 . 2 . 1 . 1 . ポリクローナル抗体

ポリクローナル抗体は、好ましくは、関連する抗原とアジュバントを複数回皮下(sc)又は腹腔内(ip)注射することにより、動物に産生される。免疫化されるべき種において免疫原性であるタンパク質へ、関連する抗原(特に、合成ペプチドが用いられる場合)を結合することが有用である。例えば、この抗原を、キーホールリンペットヘモシニアン(K L H)、血清アルブミン、ウシサイログロブリン、又は大豆トリブシンインヒビターへ、二重官能性又は誘導體形成剤、例えばマレイミドベンゾイルスルホスクシンイミドエステル(システイン残基を介する抱合)、N-ヒドロキシスクシンイミド(リジン残基を介する抱合)、グルタルアルデヒド、及び無水コハク酸、 $SOCl_2$ 、又はR及びR¹が異なるアルキル基であるR¹N=C=NRを用いて結合させることができる。

20

動物を、例えばタンパク質又はコンジュゲート100µg又は5µg(それぞれウサギ又はマウスの場合)を完全フロイントアジュバント3容量と併せ、この溶液を複数部位に皮内注射することによって、抗原、免疫原性コンジュゲート、又は誘導體に対して免疫する。1ヶ月後、完全フロイントアジュバントに入れたタンパク質またはコンジュゲートの初回量の1/5ないし1/10を複数部位に皮下注射することにより、該動物を追加免疫する。7ないし14日後に動物を採血し、抗体価について血清を検定する。動物は、力価がプラトーに達するまで追加免疫する。コンジュゲートは、タンパク融合として組換え細胞培養で調製することも可能である。また、ミョウバンのような凝集化剤が、免疫反応の増強のために適切に使用される。

30

【 0 0 5 7 】

5 . 2 . 1 . 2 . モノクローナル抗体

モノクローナル抗体は、Kohlerら、Nature, 256:495 (1975)により最初に記載されたハイブリドーマ法、又は組換えDNA法(米国特許第4,816,567号)によって作成することができる。

40

ハイブリドーマ法においては、マウス又はその他の適当な宿主動物、例えばハムスターを上記のように免疫し、免疫化に用いられたタンパク質と特異的に結合する抗体を産生する、又は産生することのできるリンパ球を導き出す。別法として、リンパ球をインビトロで免疫することもできる。免疫化の後、リンパ球を、ポリエチレングリコールのような適当な融合剤を用いて骨髓腫細胞株と融合させ、ハイブリドーマ細胞を形成させる(Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, 59-103頁(Academic Press, 1986))

。

このようにして調製されたハイブリドーマ細胞を、融合していない親の骨髓腫細胞(融

50

合パートナーとも呼ばれる)の増殖または生存を阻害する1つ又は複数の物質を好ましくは含む適当な培地に蒔き、増殖させる。例えば、親の骨髓腫細胞が酵素ヒポキサンチンゲアニジンホスホリボシルトランスフェラーゼ(HGPRT又はHPRT)を欠失するならば、ハイブリドーマのための選択的培地は、典型的には、HGPRT-欠失細胞の成長を妨げる物質であるヒポキサンチン、アミノプテリン、及びチミジンを含む(HT培地)。

【0058】

好ましい融合パートナーである骨髓腫細胞とは、効率的に融合し、選択された抗体産生細胞による抗体の安定な高レベルの発現を支え、融合した親細胞培地に対して感受性である細胞である。好ましい骨髓腫株化細胞は、マウス骨髓腫ライン、例えば、ソーク・インスティテュート・セル・ディストリビューション・センター、サンディエゴ、カリフォルニア、アメリカ合衆国より入手し得るMOPC-21およびMPC-11マウス腫瘍、及び、アメリカン・タイプ・カルチャー・コレクション、ロックヴィル、メリーランド、アメリカ合衆国より入手し得るSP-2又は誘導體、例えばX63-Ag8-653細胞である。ヒト骨髓腫及びマウス-ヒトヘテロ骨髓腫株化細胞もまたヒトモノクローナル抗体の産生のために開示されている(Kozbor, J. Immunol., 133:3001 (1984); Brodeurら, Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, 51-63頁, (Marcel Dekker, Inc., ニューヨーク, 1987))。

ハイブリドーマ細胞が生育している培地を、抗原に対するモノクローナル抗体の産生について検定する。好ましくは、ハイブリドーマ細胞により産生されるモノクローナル抗体の結合特異性は、免疫沈降又はインビトロ結合検定、例えばラジオイムノアッセイ(RIA)又は酵素結合免疫吸着検定(ELISA)によって測定する。

【0059】

例えば、モノクローナル抗体の結合親和性は、Munsonら., Anal. Biochem., 107:220(1980)のスキッチャード分析によって測定することができる。

所望の特異性、親和性、及び/又は活性の抗体を産生するハイブリドーマ細胞が同定された後、そのクローンを限界希釈法によりサブクローニングし、標準的な方法により成長させることができる(Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, 59-103頁(Academic Press, 1986))。この目的に対して好適な培地は、例えば、D-MEM又はRPMI-1640培地を包含する。また、このハイブリドーマ細胞は、動物の腹水症腫瘍として、例えばマウスへの細胞の腹腔内注射によって、インビボで成長させることができる。

サブクローンにより分泌されたモノクローナル抗体は、例えばアフィニティークロマトグラフィー(例えばプロテインA又はプロテインG-セファロースを用いる)又はイオン交換クロマトグラフィー、ヒドロキシアパタイトクロマトグラフィー、ゲル電気泳動、透析等のような常套的な抗体精製法によって、培地、腹水、又は血清から適切に分離される。

【0060】

モノクローナル抗体をコードするDNAは、常法を用いて(例えば、マウス抗体の重鎖および軽鎖をコードしている遺伝子に特異的に結合できるオリゴヌクレオチドプローブを用いることにより)容易に分離されて、配列決定される。ハイブリドーマ細胞は、このようなDNAの好ましい供給源となる。ひとたび単離されたならば、DNAを発現ベクター中に入れ、ついでこれを、この状況以外では抗体タンパク質を産生しない大腸菌細胞、サルCOS細胞、チャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞、又は骨髓腫細胞のような宿主細胞中にトランスフェクションし、組換え宿主細胞にモノクローナル抗体の合成を獲得することができる。抗体をコードするDNAの細菌での組み換え発現に関する総説には、Skerraら., Curr. Opinion in Immunol., 5:256-262(1993)及びPluckthun, Immunol. Revs. 130:151-188(1992)が含まれる。

更なる実施態様では、モノクローナル抗体又は抗体フラグメントは、McCaffertyら, Nature, 348:552-554 (1990)に記載された技術を使用して産生される抗体ファージライブラ

リから単離することができる。Clacksonら, *Nature*, 352:624-628 (1991)及び Marksら, *J.Mol.Biol.*, 222:581-597 (1991)は、ファージライブラリを使用したマウス及びヒト抗体の分離をそれぞれ記述している。続く刊行物は、鎖シャフリングによる高親和性(nM範囲)のヒト抗体の産生(Marksら, *Bio/Technology*, 10:779-783(1992))、並びに大規模なファージライブラリを構築するための方策としてコンビナトリアル感染とインビボ組換え(Waterhouseら, *Nuc.Acids.Res.*, 21:2265-2266(1993))を記述している。従って、これらの技術は、モノクローナル抗体の単離に対する伝統的なモノクローナル抗体ハイブリドーマ法の実行可能な別法である。

【0061】

抗体をコードするDNAを修飾して、例えば、相同的なマウス配列をヒト重鎖及び軽鎖定常ドメイン(C_H及びC_L)配列で置換することによって(米国特許第4,816,567号; Morrisonら, *Proc.Natl.Acad.Sci.,USA*, 81:6851(1984))、又は免疫グロブリンコード配列に非免疫グロブリンポリペプチド(異種ポリペプチド)のコード配列の全部又は一部を共有結合させることによって修飾することができる。非免疫グロブリンポリペプチド配列は、抗体の定常ドメインに置き代えることができるか、又は抗体の1つの抗原結合部位の変動ドメインが置換されて、抗原に対する特異性を有する1つの抗原結合部位と異なる抗原に対する特異性を有するもう1つの抗原結合部位とを含むキメラ二価抗体を作り出す。

【0062】

5.2.1.3. ヒト及びヒト化抗体

本発明の抗-PRO抗体は、さらにヒト化抗体又はヒト抗体を含む。非ヒト(例えばマウス)抗体のヒト化形とは、キメラ免疫グロブリン、免疫グロブリン鎖又はその断片(例えばF_v、Fab、Fab'、F(ab')₂あるいは抗体の他の抗原結合サブ配列)であって、非ヒト免疫グロブリンに由来する最小配列を含むものである。ヒト化抗体は、レシピエントの相補性決定領域(CDR)の残基が、マウス、ラット又はウサギのような所望の特異性、親和性及び能力を有する非ヒト種(ドナー抗体)のCDRの残基によって置換されたヒト免疫グロブリン(レシピエント抗体)を含む。幾つかの例では、ヒト免疫グロブリンのF_vフレームワーク残基は、対応する非ヒト残基によって置換されている。また、ヒト化抗体は、レシピエント抗体にも、移入されたCDRもしくはフレームワーク配列にも見出されない残基を含んでいてもよい。一般的に、ヒト化抗体は、全て又はほとんど全てのCDR領域が非ヒト免疫グロブリンのものに一致し、全て又はほとんど全てのFR領域がヒト免疫グロブリンのコンセンサス配列である、少なくとも1つ、典型的には2つの可変ドメインの実質的に全てを含む。ヒト化抗体は、最適には免疫グロブリン定常領域(Fc)、典型的にはヒトの免疫グロブリンの定常領域の少なくとも一部を含む [Jones等, *Nature*, 321:522-525 (1986); Riechmann等, *Nature*, 332:323-329 (1988); 及びPresta, *Curr. Op Struct. Biol.*, 2:593-596 (1992)]。

【0063】

非ヒト抗体をヒト化する方法はこの分野でよく知られている。一般的に、ヒト化抗体には非ヒト由来の1つ又は複数のアミノ酸残基が導入される。これら非ヒトアミノ酸残基は、しばしば、典型的には「移入」可変ドメインから得られる「移入」残基と称される。ヒト化は基本的にウィンター(Winter)及び共同研究者 [Jones等, *Nature*, 321:522-525 (1986); Riechmann等, *Nature*, 332:323-327 (1988); Verhoeyen等, *Science*, 239:1534-1536 (1988)] の方法に従って、齧歯類CDR又はCDR配列をヒト抗体の対応する配列に置換することにより実施される。よって、このような「ヒト化」抗体は、無傷のヒト可変ドメインより実質的に少ない分が非ヒト種由来の対応する配列で置換されたキメラ抗体(米国特許第4,816,567号)である。実際には、ヒト化抗体は典型的には幾つかのCDR残基及び場合によっては幾つかのFR残基が齧歯類抗体の類似する部位からの残基によって置換されたヒト抗体である。

抗体がヒトの治療用途を意図している場合、抗原性及びHAM A反応(ヒト抗-マウス抗体)を低減するには、ヒト化抗体を生成する際に使用するヒトの軽重両方のヒト可変ドメインの選択が非常に重要である。いわゆる「ベストフィット法」では、齧歯動物抗体の可

変ドメインの配列を、既知のヒト可変ドメイン配列のライブラリー全体に対してスクリーニングする。次に齧歯動物のものと最も近いヒトVドメイン配列を同定し、その中のヒトフレームワーク(FR)をヒト化抗体のために受け入れる(Sims等, J. Immunol., 151:2296 (1993); Chothia等, J. Mol. Biol., 196:901(1987))。他の方法では、軽又は重鎖の特定のサブグループのヒト抗体全てのコンセンサス配列から誘導される特定のフレームワーク領域を使用する。同じフレームワークをいくつかの異なるヒト化抗体に使用できる(Carter等, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:4285 (1992); Presta等, J. Immunol., 151:2623(1993))。

【0064】

更に、抗体を、抗原に対する高結合親和性や他の好ましい生物学的性質を保持してヒト化することが重要である。この目標を達成するべく、好ましい方法では、親及びヒト化配列の三次元モデルを使用して、親配列及び様々な概念的ヒト化産物の分析工程を経てヒト化抗体を調製する。三次元免疫グロブリンモデルは一般的に入手可能であり、当業者にはよく知られている。選択された候補免疫グロブリン配列の推測三次元立体配座構造を図解し、表示するコンピュータプログラムは購入可能である。これら表示を見ることで、候補免疫グロブリン配列の機能における残基のありそうな役割の分析、すなわち候補免疫グロブリンの抗原との結合能力に影響を及ぼす残基の分析が可能になる。このようにして、例えば標的抗原に対する親和性が高まるといった、望ましい抗体特性が達成されるように、FR残基をレシピエント及び移入配列から選択し、組み合わせることができる。一般的に、高頻度可変領域残基は、直接かつ最も実質的に抗原結合性に影響を及ぼしている。

ヒト化抗PRO抗体の種々の形態が考えられる。例えばヒト化抗体は、免疫結合体を生成するために、状況に応じて1つ又は複数の細胞傷害剤(類)と結合していてもよい抗体断片、例えばFabであってもよい。また、ヒト化抗体は無傷抗体、例えば無傷IgG1抗体であってもよい。

【0065】

ヒト化の別法として、ヒト抗体を生成することができる。例えば、現在では、免疫化することで、内因性免疫グロブリンの産生がなく、ヒト抗体の全レパートリーを産生することのできるトランスジェニック動物(例えば、マウス)を作ることが可能である。例えば、キメラ及び生殖細胞系突然変異体マウスにおける抗体重鎖結合領域(J_H)遺伝子のホモ接合体欠失によって、結果として内因性抗体産生の完全な阻害が起こることが説明されてきた。ヒト生殖系列免疫グロブリン遺伝子配列の、このような生殖細胞系突然変異体マウスへの転移によって、結果として抗原投与時にヒト抗体の産生がおこる。Jakobovits等, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:2551 (1993); Jakobovits等, Nature 362:255-258 (1993); Ruggeman等, Year in Immuno., 7:33 (1993); 米国特許第5,545,806号、同5,569,825号、同5,591,669号(全てジェンファーム(GenPharm)); 同5,545,807号; 及び国際公開第97/17852号を参照されたい。

【0066】

別法として、ファージディスプレイ技術(McCafferty等, Nature 348:552-553[1990])を使用して、非免疫化ドナーの免疫グロブリン可変(V)ドメイン遺伝子レパートリーから、インビトロでヒト抗体及び抗体断片を産出させることができる。この技術によれば、抗体Vドメイン遺伝子を、フレーム単位で、繊維状バクテリオファージ、例えばM13又はfdの大きい又は小さいコートタンパク質遺伝子のどちらかでクローンし、ファージ粒子の表面で機能的抗体断片として表示させる。繊維状粒子がファージゲノムの一本鎖DNAコピーを含むので、抗体の機能特性に基づいた選択に基づいても、結果としてこれらの特性を示す抗体をコードする遺伝子の選択がなされる。よって、このファージはB細胞のいくつかの特性を模倣している。ファージディスプレイは多様な形式で行うことができる; 例えばJohnson, Kevin S. 及びChiswell, David J., Current Opinion in Structural Biology 3:564-571(1993)を参照せよ。V-遺伝子セグメントのいくつかの供給源を、ファージディスプレイのために使用できる。Clackson等, Nature, 352:624-628(1991)は、免疫化したマウス脾臓由来のV遺伝子の小さいランダムなコンビナトリアルライブラリーか

ら、多様で多くの抗-オキサゾロン抗体を単離した。非免疫化ヒトドナーのV遺伝子のレパートリーが構成可能であり、多様で多くの抗原(自己抗原を含む)に対する抗体は、Marks等, J. Mol. Biol. 222:581-597(1991)、又はGriffith等, EMBO J. 12:725-734(1993)に記載の技術にそのまま従うことで単離することができる。また、米国特許第5,565,332号及び同5,573,905号を参照のこと。

上述したように、ヒト抗体はインビトロで活性化したB細胞により産生することができる(米国特許第5,567,610号及び同5,229,275号)。

【0067】

5.2.1.4. 抗体断片

ある状況下では、抗体全体よりも、抗体断片を用いることに利点がある。より小さな大きさの断片によって迅速なクリアランスが可能となり、固形腫瘍への接近の改良につながり得る。

抗体断片を産生するために様々な技術が開発されている。伝統的には、これらの断片は、無傷の抗体のタンパク分解性消化によって誘導された(例えば、Morimoto等, Journal of Biochemical and Biophysical Methods 24:107-117 (1992); 及びBrennan等, Science, 229:81(1985)を参照されたい)。しかし、これらの断片は、現在は組換え宿主細胞により直接産生することができる。Fab、Fv及びScFv抗体断片は、すべて大腸菌で発現させ分泌させることができ、従って、大量のこれら断片の産生が容易となった。抗体断片は、上で論じた抗体ファージライブラリーから単離することができる。別法として、Fab'-SH断片は大腸菌から直接回収することができ、化学的に結合させてF(ab')₂断片を形成することができる(Carter等, Bio/Technology 10:163-167(1992))。他のアプローチ法では、F(ab')₂断片を組換え宿主細胞培養から直接分離することができる。インビボ半減期が増した、サルベージレセプター結合性エピトープ残基を含むFab及びF(ab')₂が、米国特許第5,869,046号に記載されている。抗体断片を生成するための他の方法は、当業者には明らかであろう。他の実施態様では、選択する抗体は単鎖Fv断片(s c F v)である。国際公開93/16185号; 米国特許第5,571,894号; 及び米国特許第5,587,458号を参照のこと。Fv及びs F vは、定常領域を欠く無傷の連結部位を有する唯一の種である; 従って、インビボで使用している間の減少した非特異的結合に適している。s F v融合タンパク質は、s F vのアミノ又はカルボキシ末端のどちらかで、エフェクタータンパク質の融合体が生成されるように構成されてもよい。上掲のAntibody Engineering, Borrebaeck編を参照のこと。また、抗体断片は、例えば米国特許第5,641,870号に記載されているような「直鎖状抗体」であってもよい。そのような直鎖状抗体断片は単一特異性又は二重特異性であってもよい。

【0068】

5.2.1.5. 二重特異性抗体

二重特異性抗体は、少なくとも2つの異なるエピトープに対して結合特異性を有する抗体である。例示的な二重特異性抗体は、PROタンパク質の2つの異なるエピトープに結合しうる。他のこのような抗体では他のタンパク質に対する結合部位とPRO結合部位とが結合しうる。あるいは、抗PROアームは、PRO-発現細胞に細胞防御メカニズムを集中させ局在させるように、FcRI(CD64)、FcRII(CD32)及びFcRIII(CD16)等のIgG(FcR)に対するFcレセプター、又はT細胞レセプター分子(例えばCD3)等の白血球上のトリガー分子に結合するアームと結合しうる。また、二重特異性抗体はPROを発現する細胞に細胞障害剤を局在化するためにも使用される。これらの抗体はPRO結合アーム及び細胞障害剤(例えば、サポリン(saporin)、抗インターフェロン- γ 、ピンカアルカロイド、リシンA鎖、メトトレキセート又は放射性同位体ハプテン)と結合するアームを有する。二重特異性抗体は完全長抗体又は抗体断片(例えばF(ab')₂二重特異性抗体)として調製することができる。

国際公開第96/16673号には、二重特異性抗-ErbB2/抗-FcRIII抗体が記載されており、米国特許第5,837,234号には、二重特異性抗-ErbB2/抗-FcRI抗体が開示されている。二重特異性抗-ErbB2/Fc抗体は国際公開第98/02463号に

10

20

30

40

50

示されている。米国特許第5,821,337号は、二重特異性抗-E r b B 2 / 抗-C D 3 抗体を教示するものである。

【 0 0 6 9 】

二重特異性抗体を作成する方法は当該分野において既知である。完全長二重特異性抗体の伝統的な産生は二つの免疫グロブリン重鎖-軽鎖対の同時発現に基づき、ここで二つの鎖は異なる特異性を持っている(Millstein等, Nature, 305:537-539(1983))。免疫グロブリン重鎖及び軽鎖が無作為に取り揃えられているため、これらのハイブリドーマ(四部雑種)は10個の異なる抗体分子の可能性ある混合物を産生し、そのうちただ一つが正しい二重特異性構造を有する。通常、アフィニティークロマトグラフィー工程により行われる正しい分子の精製は、かなり煩わしく、生成物収率は低い。同様の方法が国際公開第93/08829号及びTrauneker等、EMBO J. 10:3655-3659(1991)に開示されている。

10

【 0 0 7 0 】

異なったアプローチ法では、所望の結合特異性を有する抗体可変ドメイン(抗原-抗体結合部位)を免疫グロブリン定常ドメイン配列と融合させる。該融合は好ましくは、少なくともヒンジの一部、C_H2及びC_H3領域を含むIg重鎖定常ドメインである。軽鎖の結合に必要な部位を含む第一の重鎖定常領域(C_H1)を、融合の少なくとも一つに存在させることが望ましい。免疫グロブリン重鎖の融合、望まれるならば免疫グロブリン軽鎖をコードしているDNAを、別個の発現ベクター中に挿入し、適当な宿主生物に同時トランスフェクトする。これにより、組立に使用される三つのポリペプチド鎖の等しくない比率が所望の二重特異性抗体の最適な収率をもたらす態様において、三つのポリペプチド断片の相互の割合の調節に大きな融通性が与えられる。しかし、少なくとも二つのポリペプチド鎖の等しい比率での発現が高収率をもたらすとき、又はその比率が所望の鎖の結合にあまり影響がないときは、2または3個全てのポリペプチド鎖のためのコード化配列を一つの発現ベクターに挿入することが可能である。

20

この手法の好ましい実施態様では、二重特異性抗体は、第一の結合特異性を有する一方のアームのハイブリッド免疫グロブリン重鎖と他方のアームのハイブリッド免疫グロブリン重鎖-軽鎖対(第二の結合特異性を提供する)とからなる。二重特異性分子の半分にしか免疫グロブリン軽鎖がないと容易な分離法が提供されるため、この非対称的構造は、所望の二重特異性化合物を不要な免疫グロブリン鎖の組み合わせから分離することを容易にすることが分かった。このアプローチ法は、国際公開第94/04690号に開示されている。二重特異性抗体を産生する更なる詳細については、例えばSuresh等, Methods in Enzymology, 121:210 (1986)を参照されたい。

30

【 0 0 7 1 】

米国特許第5,731,168号に記載された他の手法によれば、一对の抗体分子間の界面を操作して組換え細胞培養から回収されるヘテロダイマーのパーセントを最大にすることができる。好適な界面はC_H3ドメインの少なくとも一部を含む。この方法では、第1抗体分子の界面からの1つ又は複数の小さいアミノ酸側鎖がより大きな側鎖(例えばチロシン又はトリプトファン)と置き換えられる。大きなアミノ酸側鎖を小さいもの(例えばアラニン又はスレオニン)と置き換えることにより、大きな側鎖と同じ又は類似のサイズの相補的「キャビティ」を第2の抗体分子の界面に作り出す。これにより、ホモダイマーのような不要の他の最終産物に対してヘテロダイマーの収量を増大させるメカニズムが提供される。

40

二重特異性抗体は、架橋した又は「ヘテロコンジュゲート」抗体もまた含む。例えば、ヘテロコンジュゲートの抗体の一方はアビジンに結合され、他方はビオチンに結合される。そのような抗体は、例えば、不要の細胞に対する免疫系細胞を標的化するため(米国特許第4,676,980号)、及びHIV感染の治療のために提案された(国際公開第91/00360号、同92/200373号、及び欧州特許第03089号)。ヘテロコンジュゲート抗体は、あらゆる簡便な架橋法を用いて作製することができる。好適な架橋剤は当該分野において良く知られており、幾つかの架橋技術と共に米国特許第4,676,980号に開示されている。

【 0 0 7 2 】

50

抗体断片から二重特異性抗体を産生する技術もまた文献に記載されている。例えば、化学結合を使用して二重特異性抗体を調製することができる。Brennan等, Science, 229:81 (1985)は無傷の抗体をタンパク分解性に切断してF(a b')₂断片を産生する手順を記述している。これらの断片は、ジチオール錯体形成剤、亜硫酸ナトリウムの存在下で還元して近接ジチオールを安定化させ、分子間ジスルフィド形成を防止する。産生されたF a b'断片はついでチオニトロベンゾアート(TNB)誘導体に変換される。F a b'-TNB誘導体の一つをついでメルカプトエチルアミンでの還元によりF a b'-チオールに再変換し、他のF a b'-TNB誘導体の等モル量と混合して二重特異性抗体を形成する。作られた二重特異性抗体は酵素の選択的固定化用の薬剤として使用することができる。

最近の進歩により、大腸菌からのF a b'-S H断片の直接の回収が容易になり、これは化学的に結合して二重特異性抗体を形成することができる。Shalaby等, J. Exp. Med., 175: 217-225 (1992)は完全にヒト化された二重特異性抗体F(a b')₂分子の製造を記述している。各F a b'断片は大腸菌から別個に分泌され、インビトロで定方向化学共役を受けて二重特異性抗体を形成する。このようにして形成された二重特異性抗体は、正常なヒトT細胞、及びE r b B 2レセプターを過剰発現する細胞に結合可能で、ヒト乳房腫瘍標的に対するヒト細胞毒性リンパ球の細胞溶解活性の誘因となる。組換え細胞培養から直接的に二重特異性抗体断片を作成し単離する様々な技術もまた記述されている。例えば、二重特異性抗体はロイシンジッパーを使用して生成されている。Kostelny等, J. Immunol. 148 (5):1547-1553 (1992)。F o s及びJ u nタンパク質からのロイシンジッパーペプチドを遺伝子融合により二つの異なった抗体のF a b'部分に結合させる。抗体ホモダイマーをヒンジ領域で還元してモノマーを形成し、ついで再酸化して抗体ヘテロダイマーを形成する。この方法はまた抗体ホモダイマーの生成に対して使用することができる。Hollinger等, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:6444-6448 (1993)により記述された「ダイアボディ」技術は二重特異性抗体断片を作成する別のメカニズムを提供した。断片は、同一鎖上の2つのドメイン間の対形成を可能にするには十分に短いリンカーによりV_LにV_Hを結合してなる。従って、一つの断片のV_H及びV_Lドメインは他の断片の相補的V_L及びV_Hドメインと強制的に対形成させられ、よって2つの抗原結合部位を形成する。単鎖F v(s F v)ダイマーの使用により二重特異性抗体断片を製造する他の方策もまた報告されている。Gruber等, J. Immunol. 152:5368 (1994)を参照されたい。

二価より多い抗体も考えられる。例えば、三重特異性抗体を調製することができる。Tutt等 J. Immunol. 147:60(1991)。

【0073】

5.2.1.6. ヘテロコンジュゲート抗体

ヘテロコンジュゲート抗体もまた本発明の範囲に入る。ヘテロコンジュゲート抗体は、2つの共有結合した抗体からなる。このような抗体は、例えば、免疫系細胞を不要な細胞に対して標的化させるため[米国特許第4,676,980号]及びH I V感染の治療のために[国際公開第91/00360; 国際公開第92/200373; 欧州特許第03089号]提案されている。この抗体は、架橋剤に関連したものを含む合成タンパク化学における既知の方法を使用して、インビトロで調製できると考えられる。例えば、ジスルフィド交換反応を使用するか又はチオエーテル結合を形成することによって、免疫毒素を作成することができる。この目的に対して好適な試薬の例には、イミノチオレート及びメチル-4-メルカプトブチルイミダート、及び例えば米国特許第4,676,980号に開示されたものが含まれる。

【0074】

5.2.1.7. 多価抗体

多価抗体は、抗体が結合する抗原を発現する細胞により、二価抗体よりも早くインターナリゼーション(及び/又は異化)されうる。本発明の抗体は、3又はそれ以上の結合部位を有する多価抗体(I g Mクラス以外のもの)であり得(例えば四価抗体)、抗体のポリペプチド鎖をコードする核酸の組換え発現により容易に生成することができる。多価抗体は二量化ドメインと3又はそれ以上の抗原結合部位を有する。好ましい二量化ドメインはF c領域又はヒンジ領域を有する(又はそれらからなる)。このシナリオにおいて、抗体はF c

領域と、Fc領域のアミノ末端に3又はそれ以上の抗原結合部位を有しているであろう。ここで、好ましい多価抗体は3ないし8、好ましくは4の抗原結合部位を有する(又はそれらからなる)。多価抗体は少なくとも1つのポリペプチド鎖(好ましくは2つのポリペプチド鎖)を有し、ポリペプチド鎖(類)は2又はそれ以上の可変ドメインを有する。例えば、ポリペプチド鎖(類)はVD1-(X1)_n-VD2-(X2)_n-Fcを有し、ここでVD1は第1の可変ドメインであり、VD2は第2の可変ドメインであり、FcはFc領域のポリペプチド鎖の一つであり、X1及びX2はアミノ酸又はポリペプチドを表し、nは0又は1である。例えば、ポリペプチド鎖(類)は：VH-CH1-柔軟なリンカー-VH-CH1-Fc領域鎖；又はVH-CH1-VH-CH1-Fc領域鎖を有し得る。ここで多価抗体は、好ましくは少なくとも2つ(好ましくは4つ)の軽鎖可変ドメインポリペプチドをさらに有する。ここで多価抗体は、例えば約2～約8の軽鎖可変ドメインポリペプチドを有する。ここで考察される軽鎖可変ドメインポリペプチドは軽鎖可変ドメインを有し、場合によってはCLドメインを更に有する。

【0075】

5.2.1.8. エフェクター機能の加工

本発明の抗体をエフェクター機能について改変し、例えば抗体の抗原-依存細胞媒介細胞毒性(ADCC)及び/又は補体依存細胞毒性(CDC)を向上させることは望ましい。これは、抗体のFc領域で—又は複数のアミノ酸置換を誘導することによりなされる。あるいは又はさらに、システイン残基をFc領域に導入し、それにより、この領域に鎖間ジスルフィド結合を形成するようにしてもよい。そのようにして生成された同種二量体抗体は、向上したインターナリゼーション能力及び/又は増加した補体媒介細胞殺傷及び抗体-依存細胞性細胞毒性(ADCC)を有する可能性がある。Caron等, J. Exp. Med. 176: 1191-1195 (1992)及びShopes, B. J. Immunol. 148: 2918-2922 (1992)参照。また、向上した抗腫瘍活性を持つ同種二量体抗体は、Wolff等, Cancer Research 53: 2560-2565 (1993)に記載されている異種二官能性架橋を用いて調製することができる。あるいは、抗体は、2つのFc領域を有するように加工して、それにより補体溶解及びADCC能力を向上させることもできる。Stevenson等, Anti-Cancer Drug Design 3: 219-230 (1989)参照。抗体の血清半減期を増大させるために、例えば米国特許第5,739,277号に記載のように、抗体(特に抗体断片)へサルベージレセプター結合エピトープを導入してもよい。ここで使用される場合の「サルベージレセプター結合エピトープ」なる用語は、IgG分子のインビボ血清半減期を増加させる原因であるIgG分子(例えば、IgG₁、IgG₂、IgG₃又はIgG₄)のFc領域のエピトープを意味する。

【0076】

5.2.1.9. 免疫複合体

また、本発明は、化学治療薬、成長阻害剤、毒素(例えば、細菌、真菌、植物又は動物由来の酵素活性毒素、又はその断片)などの細胞毒性剤、あるいは放射性同位体(即ち、放射性コンジュゲート)と抱合している抗体を含む免疫複合体に関する。

このような免疫複合体の生成に有用な化学治療薬を上に記載した。用いることのできる酵素活性毒素及びその断片には、ジフテリアA鎖、ジフテリア毒素の非結合活性断片、(緑膿菌からの)外毒素A鎖、リシンA鎖、アブリンA鎖、モデクシン(modeccin)A鎖、アルファ-サルシン、アレウリテス・フォーディ(Aleurites fordii)タンパク質、ジアンチン(dianthin)タンパク質、フィトラカ・アメリカーナ(Phytolaca americana)タンパク質(PAPI、PAPII、及びPAP-S)、モモルディカ・チャランチア(momordica charantia)インヒビター、クルシン(curcun)、クロチン(crotin)、サパオナリア・オフィシナリス(sapao naria officinalis)インヒビター、ゲロニン(gelonin)、ミトゲリン(mitogellin)、レストリクトシン(restrictocin)、フェノマイシン(phenomycin)、エノマイシン(enomycin)及びトリコテセン(tricothecene)が含まれる。放射性コンジュゲート抗体の生成には、様々な放射性ヌクレオチドが利用可能である。例としては、²¹²Bi、¹³¹I、¹³¹In、⁹⁰Y及び¹⁸⁶Reが含まれる。抗体及び細胞毒性薬の複合体は、種々の二官能性タンパク質カップリング剤、例えば、N-スクシンイミジル-3-(2-ピリジルジチオール)

プロピオナート (SPDP)、イミノチオラン (IT)、イミドエステルの二官能性誘導体 (ジメチルアジピミデート HCL 等)、活性エステル (ジスクシンイミジルスベレート等)、アルデヒド (グルタルアルデヒド等)、ビス-アジド化合物 (ビス(p-アジドベンゾイル)ヘキサンジアミン等)、ビス-ジアゾニウム誘導体 (ビス-(p-ジアゾニウムベンゾイル)-エチレンジアミン等)、ジイソシアネート (トリエン 2, 6-ジイソシアネート等)、及びビス-活性フッ素化合物 (1, 5-ジフルオロ-2, 4-ジニトロベンゼン等) を用いて作成できる。例えば、リシン免疫毒素は、Vitetta等, Science 238: 1098 (1987) に記載されているように調製することができる。カーボン-14-標識1-イソチオシアナトベンジル-3-メチルジエチレントリアミン五酢酸 (MX-DTPA) は、放射性ヌクレオチドの抗体への抱合のためのキレート剤の例である。国際公開94/11026参照。

10

抗体のコンジュゲートと1つ又は複数の小分子毒素、例えばカリケアマイシン、メイタンシノイド、トリコセン (trichothene) 及び CC 1065、及び毒性活性を有するこれらの毒素の誘導体が、ここで考察される。

【0077】

5.2.1.9.1.メイタンシン及びメイタンシノイド

好ましい一実施態様では、本発明の抗PRO抗体(完全長又は断片)は一又は複数のメイタンシノイド分子と結合している。

メイタンシノイドは、チューブリン重合を阻害するように作用する分裂阻害剤である。メイタンシンは、最初、東アフリカシラブ *Maytenus serrata* から単離されたものである (米国特許第3,896,111号)。その後、ある種の微生物がメイタンシノイド類、例えばメイタンシノール及びC-3メイタンシノールエステルを生成することが発見された (米国特許第4,151,042号)。合成メイタンシノール及びその誘導体及び類似体は、例えば米国特許第4,137,230号; 同4,248,870号; 同4,256,746号; 同4,260,608号; 同4,265,814号; 同4,294,757号; 同4,307,016号; 同4,308,268号; 同4,308,269号; 同4,309,428号; 同4,313,946号; 同4,315,929号; 同4,317,821号; 同4,322,348号; 同4,331,598号; 同4,361,650号; 同4,364,866号; 同4,424,219号; 同4,450,254号; 同4,362,663号; 及び同4,371,533号に開示されており、その開示は出典を明示してここに取り込まれる。

20

【0078】

5.2.1.9.2.タンシノイド-抗体コンジュゲート

治療指標を改善する試みにおいて、メイタンシン及びメイタンシノイドは、腫瘍細胞抗原に特異的に結合する抗体と結合している。メイタンシノイドを含有する免疫コンジュゲート及びそれらの治療用途は、例えば米国特許第5,208,020号、同5,416,064号、欧州特許第0425235B1号に開示されており、その開示は出典を明示してここに取り込まれる。Liu等, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93: 8618-8623(1996)には、ヒト結腸直腸癌に対するモノクローナル抗体C242に結合するDM1と命名されたメイタンシノイドを含有する免疫コンジュゲートが記載されている。前記コンジュゲートは培養された結腸癌細胞に対して高い細胞毒性を有することが見出されており、インビボ腫瘍成長アッセイにおいて抗腫瘍活性を示す。Chari等, Cancer Research, 52: 127-131(1992)には、メイタンシノイドが、ジスルフィド結合を介して、ヒト結腸癌株化細胞の抗原に結合するマウス抗体A7、又はHER-2/neuオンコジーンに結合する他のマウスモノクローナル抗体TA.1に結合している免疫コンジュゲートが記載されている。TA.1-メイタンシノイドコンジュゲートの細胞毒性はヒト乳癌株化細胞SK-BR-3におけるインビトロで試験され、細胞当たり 3×10^5 HER-2表面抗原が発現した。薬剤コンジュゲートにより、遊離のメイタンシノイド剤に類似した細胞障害度が達成され、該細胞障害度は、抗体分子当たりのメイタンシノイド分子の数を増加させることにより増加する。A7-メイタンシノイドコンジュゲートはマウスにおいては低い全身性細胞毒性を示した。

30

40

【0079】

5.2.1.9.3.抗PROポリペプチド抗体-メイタンシノイドコンジュゲート(免疫コンジュゲート)

抗PRO抗体-メイタンシノイドコンジュゲートは、抗体又はメイタンシノイド分子の

50

いずれの生物学的活性もほとんど低減することなく、メイタンシノイド分子に抗P R O抗体を化学的に結合させることにより調製される。1分子の毒素/抗体は、裸抗体の使用において細胞毒性を高めることが予期されているが、抗体分子当たり、平均3-4のメイタンシノイド分子が結合したものは、抗体の機能又は溶解性に悪影響を与えることなく、標的細胞に対する細胞毒性を向上させるといった効力を示す。メイタンシノイドは当該技術分野でよく知られており、公知の技術で合成することも、天然源から単離することもできる。適切なメイタンシノイドは、例えば米国特許第5,208,020号、及び他の特許、及び上述した特許ではない刊行物に開示されている。好ましいメイタンシノイドは、メイタンシノール、及び種々のメイタンシノールエステル等の、メイタンシノール分子の芳香環又は他の位置が修飾されたメイタンシノール類似体である。

10

例えば、米国特許第5,208,020号又は欧州特許第0425235B1号、及びChari等, *Cancer Research*, 52:127-131(1992)に開示されているもの等を含む、抗体-メイタンシノイドコンジュゲートを作製するために、当該技術で公知の多くの結合基がある。結合基には、上述した特許に開示されているようなジスルフィド基、チオエーテル基、酸不安定性基、光不安定性基、ペプチターゼ不安定性基、又はエステラーゼ不安定性基が含まれるが、ジスルフィド及びチオエーテル基が好ましい。

【0080】

抗体とメイタンシノイドとのコンジュゲートは、種々の二官能性タンパク質カップリング剤、例えばN-スクシンイミジル-3-(2-ピリジルジチオ)プロピオナート(S P D P)、スクシンイミジル-4-(N-マレイミドメチル)シクロヘキサン-1-カルボキシラート、イミノチオラン(I T)、イミドエステル類の二官能性誘導体(例えばジメチルアジピミダートH C L)、活性エステル類(例えば、スベリン酸ジスクシンイミジル)、アルデヒド類(例えば、グルタルアルデヒド)、ビスアジド化合物(例えば、ビス(p-アジドベンゾイル)ヘキサジアミン)、ビス-ジアゾニウム誘導体(例えば、ビス-(p-ジアゾニウムベンゾイル)エチレンジアミン)、ジイソシアネート(例えば、トルエン-2,6-ジイソシアネート)、及び二活性フッ素化合物(例えば、1,5-ジフルオロ-2,4-ジニトロベンゼン)を使用して作製することができる。特に好ましいカップリング剤には、ジスルフィド結合により提供されるN-スクシンイミジル-4-(2-ピリジルチオ)ペンタノアート(S P P)及びN-スクシンイミジル-3-(2-ピリジルジチオ)プロピオナート(S P D P)(Carlsson等, *Biochem. J.* 173:723-737[1978])が含まれる。

20

30

リンカーは結合の種類に応じて、種々の位置でメイタンシノイド分子に結合し得る。例えば、従来からのカップリング技術を使用してヒドロキシル基と反応させることによりエステル結合を形成することができる。反応はヒドロキシル基を有するC-3位、ヒドロキシメチルで修飾されたC-14位、ヒドロキシル基で修飾されたC-15位、及びヒドロキシル基を有するC-20位で生じる。好ましい実施態様において、結合はメイタンシノール又はメイタンシノールの類似体のC-3位で形成される。

【0081】

5.2.1.9.4.カリケアマイシン

対象の他の免疫コンジュゲートには、1つ又は複数のカリケアマイシン分子と結合した抗P R O抗体が含まれる。抗生物質のカリケアマイシンファミリーはサブ-ピコモルの濃度で二重鎖DNA破壊を生じることができる。カリケアマイシンファミリーのコンジュゲートの調製については、米国特許第5,712,374号、同5,714,586号、同5,739,116号、同5,767,285号、同5,770,701号、同5,770,710号、同5,773,001号、同5,877,296号(全て、American Cyanamid Company)を参照のこと。使用可能なカリケアマイシンの構造類似体には、限定するものではないが、 1^I 、 2^I 、 3^I 、N-アセチル- 1^I 、P S A G及び 1^I_1 (Hinman等, *Cancer Research*, 53:3336-3342(1993)、Lode等 *Cancer Research*, 58:2925-2928(1998)及び上述したAmerican Cyanamidの米国特許)が含まれる。抗体が結合可能な他の抗腫瘍剤は、葉酸代謝拮抗薬であるQ F Aである。カリケアマイシン及びQ F Aは双方とも、細胞内に作用部位を有し、原形質膜を容易に通過しない。よって抗体媒介性インターナリゼーションによるこれらの薬剤の細胞への取込により、細胞障害効果が大

40

50

きく向上する。

【0082】

5.2.1.9.5. 他の細胞障害剤

本発明の抗PRO抗体と結合可能な他の抗腫瘍剤には、BCNU、ストレプトゾイシン、ピンクリスチン及び5-フルオロウラシル、米国特許第5,053,394号、同5,770,710号に記載されており、集合的にLL-E33288複合体として公知の薬剤のファミリー、並びにエスペラマイシン(esperamicine)(米国特許第5,877,296号)が含まれる。

使用可能な酵素活性毒及びその断片には、ジフテリアA鎖、ジフテリア毒素の非結合性活性断片、外毒素A鎖(シュードモナス・アエルギノーサ(*Pseudomonas aeruginosa*))、リシンA鎖、アプリンA鎖、モデシン(modeccin)A鎖、アルファ-サルシン(sarcin)、アレウライツ・フォルディイ(*Aleurites fordii*)プロテイン、ジアンシン(dianthin)プロテイン、フィトラッカ・アメリカーナ(*Phytolaca americana*)プロテイン(PAPI、PAPII及びPAP-S)、モモルディカ・キャランティア(*Momordica charantia*)インヒビター、クルシン(curcin)、クロチン、サパオナリア(*Sapaonaria*)オフィシナリスインヒビター、ゲロニン(gelonin)、マイトゲリン(mitogellin)、レストリクトシン(restrictocin)、フェノマイシン、エノマイシン及びトリコセセス(tricothecenes)が含まれる。例えば、1993年10月28日公開の国際公開第93/21232号を参照のこと。

本発明は、抗体と核酸分解活性を有する化合物(例えばリボヌクレアーゼ又はDNAエンドヌクレアーゼ、例えばデオキシリボヌクレアーゼ; DNAアーゼ)との間に形成される免疫コンジュゲートをさらに考慮する。

【0083】

腫瘍を選択的に破壊するため、抗体は高い放射性を有する原子を含有してよい。放射性コンジュゲートした抗PRO抗体を生成するために、種々の放射性同位体が利用される。例には、 At^{211} 、 I^{131} 、 I^{125} 、 Y^{90} 、 Re^{186} 、 Re^{188} 、 Sm^{153} 、 Bi^{212} 、 P^{32} 、 Pb^{212} 及びLuの放射性同位体が含まれる。コンジュゲートが診断用で使用される場合、それはシンチグラフィ-研究用の放射性原子、例えば Tc^{99m} 又は I^{123} 、又は核磁気共鳴(NMR)映像(磁気共鳴映像、mriとしても公知)用のスピン標識、例えばヨウ素-123、ヨウ素-131、インジウム-111、フッ素-19、炭素-13、窒素-15、酸素-17、ガドリニウム、マンガン又は鉄を含有し得る。

放射-又は他の標識が、公知の方法でコンジュゲートに導入される。例えば、ペプチドは生物合成されるか、又は水素の代わりにフッ素-19を含む適切なアミノ酸前駆体を使用する化学的なアミノ酸合成により合成される。標識、例えば Tc^{99m} 又は I^{123} 、 Re^{186} 、 Re^{188} 及び In^{111} は、ペプチドのシステイン残基を介して結合可能である。イットリウム-90はリジン残基を介して結合可能である。IODOGEN法(Fraker等(1978) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 80:49-57)は、ヨウ素-123の導入に使用することができる。他の方法の詳細は、「*Monoclonal Antibodies in Immunoscintigraphy*」(Chatal, CRC Press 1989)に記載されている。

【0084】

抗体と細胞障害剤のコンジュゲートは、種々の二官能性タンパク質カップリング剤、例えばN-スクシンイミジル-3-(2-ピリジルジチオ)プロピオナート(SPDP)、スクシンイミジル-4-(N-マレイミドメチル)シクロヘキサン-1-カルボキシラート、イミノチオラン(IT)、イミドエステル類の二官能性誘導体(例えばジメチルアジピミダートHCL)、活性エステル類(例えば、スベリン酸ジスクシンイミジル)、アルデヒド類(例えば、グルタルアルデヒド)、ビスアジド化合物(例えば、ビス(p-アジドベンゾイル)ヘキサジアミン)、ビス-ジアゾニウム誘導体(例えば、ビス-(p-ジアゾニウムベンゾイル)エチレンジアミン)、ジイソシアネート(例えば、トリエン-2,6-ジイソシアネート)、及び二活性フッ素化合物(例えば、1,5-ジフルオロ-2,4-ジニトロベンゼン)を使用して作製することができる。例えば、リシン免疫毒素は、Vitetta等、*Science* 238:1098(1987)に記載されているようにして調製することができる。炭素-14標識1-イソチオシアナトベンジル-3-メチルジエチレン-トリアミン五酢酸(MX-DTPA)が抗体に放射性ヌクレオチ

ドをコンジュゲートするためのキレート剤の例である。国際公開第94/11026号を参照されたい。リンカーは細胞中の細胞障害剤の放出を容易にするための「切断可能リンカー」であってよい。例えば、酸不安定性リンカー、ペプチダーゼ過敏性リンカー、光不安定性リンカー、ジメチルリンカー又はジスルフィド含有リンカーが使用され得る(Chari等, *Cancer Research*, 52:127-131(1992); 米国特許第5208020号)。

別法として、抗P R O抗体及び細胞障害剤を含有する融合タンパク質は、例えば組換え技術又はペプチド合成により作製される。D N Aの長さは、コンジュゲートの所望する特性を破壊しないリンカーペプチドをコードする領域により離間しているか、又は互いに隣接しているコンジュゲートの2つの部分をコードする領域をそれぞれ含有する。

他の実施態様において、腫瘍の事前ターゲティングに利用するために、「レセプター」(例えばストレプトアビジン)に抗体をコンジュゲートし、ここで抗体-レセプターコンジュゲートを患者に投与し、続いて清澄剤を使用し、循環から未結合コンジュゲートを除去し、細胞障害剤(例えば放射性ヌクレオチド)にコンジュゲートする「リガンド」(例えばアビジン)を投与する。

【0085】

5.2.1.10. 免疫リポソーム

ここで開示されている抗P R O抗体は、免疫リポソームとして処方することもできる。「リポソーム」は、哺乳動物への薬物輸送に有用な、脂質、リン脂質及び/又は界面活性剤を含む種々のタイプの小胞体である。リポソームの成分は、通常は生物膜の脂質配向に類似した2層構造に配列される。抗体を含有するリポソームは、例えばEpstein等, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82:3688(1985); Hwang等, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4030(1980); 及び米国特許第4,485,045号及び同4,544,545号; 及び1997年10月23日に公開の国際公開97/38731に記載されているように、当該分野において既知の方法により調製される。循環時間が増したリポソームは米国特許第5,013,556号に開示されている。

特に有用なリポソームは、ホスファチジルコリン、コレステロール及びP E G-誘導体化ホスファチジルエタノールアミン(P E G-P E)を含有する脂質組成物を用いた逆相蒸発法により作製することができる。リポソームは孔径が定められたフィルターを通して押し出され、所望の直径を有するリポソームが得られる。本発明の抗体のF a b'断片は、ジスルフィド交換反応を介して、Martin等, *J. Biol. Chem.* 257:286-288(1982)に記載されているようにしてリポソームにコンジュゲートすることができる。場合によっては、化学療法剤はリポソーム内に包含される。Gabizon等, *J. National Cancer Inst.* 81(19)1484(1989)を参照されたい。

【0086】

5.2.1.11. 抗体の製薬組成物

ここで同定されるP R Oポリペプチドに特異的に結合する抗体、並びに上記に開示したスクリーニングアッセイによって同定された他の分子は、種々の疾患の治療のために、製薬組成物の形態で投与することができる。

P R Oポリペプチドが細胞内にあり、全抗体が阻害剤として用いられる場合、取り込める抗体が好ましい。しかし、リポフェクション又はリポソームも抗体、又は抗体断片を細胞に導入するために使用できる。抗体断片が用いられる場合、標的タンパク質の結合ドメインに特異的に結合する最小阻害断片が好ましい。例えば、抗体の可変領域配列に基づいて、標的タンパク質配列に結合する能力を保持したペプチド分子が設計できる。このようなペプチドは、化学的に合成でき、及び/又は組換えD N A技術によって生成できる。例えば、Marascoら, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90, 7889-7893 (1993)参照。

ここでの製剤は、治療すべき特定の徴候に必要な場合に1つ以上の活性化合物、好ましくは互いに悪影響を及ぼさない相補的活性を持つものも含んでよい。あるいは、又はそれに加えて、組成物は、細胞毒性薬、サイトカイン又は成長阻害剤を含んでもよい。これらの分子は、適切には、意図する目的に有効な量の組み合わせで存在する。

【0087】

また、活性成分は、例えばコアセルベーション技術により又は界面重合により調製され

たマイクロカプセル、例えば、各々ヒドロキシメチルセルロース又はゼラチン-マイクロカプセル及びポリ(メタクリル酸メチル)マイクロカプセル中、コロイド状薬物送達系(例えば、リポソーム、アルブミン小球、マイクロエマルジョン、ナノ粒子及びナノカプセル)中、又はマイクロエマルジョン中に包括されていてもよい。これらの技術は、Remington's Pharmaceutical Science, 上掲に開示されている。

インビボ投与に使用される製剤は無菌的でなければならない。これは、滅菌濾過膜を通した濾過により容易に達成される。

徐放性製剤を調製してもよい。徐放性製剤の好適な例は、抗体を含有する固体疎水性ポリマーの半透性マトリクスを含み、このマトリクスは成形された物品、例えばフィルム、又はマイクロカプセルの形状である。徐放性マトリクスの例は、ポリエステルヒドロゲル(例えば、ポリ(2-ヒドロキシエチル-メタクリレート)又はポリ(ビニルアルコール))、ポリラクチド(米国特許第3,773,919号)、L-グルタミン酸及び-D-エチル-L-グルタメート、非分解性エチレン-酢酸ビニル、LUPRONDEPOT(商品名)(乳酸-グリコール酸コポリマーと酢酸リュプロリドの注射可能な小球)などの分解性乳酸-グリコール酸コポリマー、及びポリ-D-(-)-3-ヒドロキシブチル酸を含む。エチレン-酢酸ビニル及び乳酸-グリコール酸などのポリマーは分子を100日に渡って放出することができるが、ある種のヒドロゲルはより短時間でタンパク質を放出してしまう。カプセル化された抗体が身体内に長時間残ると、それらは37°Cの水分に露出されることにより変性又は凝集し、その結果、生物学的活性の低下及び起こりうる免疫原性の変化をもたらす。合理的な方法は、含まれる機構に依存する安定化について工夫することができる。例えば、凝集機構がチオ-ジスルフィド交換を通した分子間S-S結合形成であると発見された場合、安定化はスルフヒドリル残基の修飾、酸性溶液からの凍結乾燥、水分含有量の制御、適切な添加剤の付加、及び特異的ポリマーマトリクス組成物の開発によって達成されうる。

【0088】

5.2.2. 所望する特性を有する抗体のスクリーニング

抗体を生成する技術を、上記にて記載した。所望するような、所定の生物学的特性を有する抗体をさらに選択することができる。

本発明の抗PRO抗体の成長阻害効果を、例えば、内因的又はPRO遺伝子によるトランスフェクション後のいずれかでPROポリペプチドを発現する細胞を用いる当該分野で周知の方法によって評価することができる。例えば、適切な腫瘍細胞株及びPRO形質移入細胞は、数日間(例えば、2-7日)、種々の濃度の本発明の抗PROモノクローナル抗体で処理し、クリスタル・バイオレット又はMTTで染色、又は幾つかの他の比色アッセイによって分析し得る。増殖を測定するその他の方法は、本発明の抗PRO抗体の存在又は非存在下で処理した細胞の³H-チミジン取り込みを比較することによる。抗体処理の後、細胞を収集し、DNAへ取り込まれた放射能をシンチレーションカウンターで定量化した。適切なポジティブコントロールには、細胞株の成長を阻害することが知られている成長阻害抗体でその選択した細胞株を処理することが含まれる。インビボでの成長阻害は、当該分野で知られている種々の方法で確かめることができる。好ましくは、腫瘍細胞は、PROポリペプチドを過剰発現するものである。好ましくは、抗PRO抗体は、ある実施態様では約0.5から30 µg/mlの抗体濃度で、未処理腫瘍細胞と比べて約25-100%、より好ましくは約30-100%、そしてさらにより好ましくは約50-100%又は70-100%のPRO発現腫瘍細胞の増殖をインビトロ又はインビボで阻害する。成長阻害は、細胞培養で、約0.5から30 µg/ml又は0.5 nMから200 nMの抗体濃度で測定することができ、その成長阻害は、抗体への腫瘍細胞の曝露後1-10日で確かめられる。約1 µg/kgから約100 mg/kg体重での抗PRO抗体の投与が、抗体の最初の投与から約5日から3ヶ月、好ましくは約5日から30日以内に腫瘍の大きさの減少又は腫瘍細胞増殖の減少を引き起こすならば、抗体はインビボで成長阻害作用がある。

細胞死を誘発する抗PRO抗体を選択するために、例えばヨウ化プロピジウム(PI)、トリパンプルー又は7AADの取込みにより示される膜インテグリティの損失度合いを

対照と比較して求める。P I 取込みアッセイは、補体及び免疫エフェクター細胞の不在下で行われる。P R Oポリペプチド発現細胞腫瘍細胞を、培地のみ、又は適切なモノクローナル抗体(例えば約 $10\mu\text{g}/\text{ml}$)を含有する培地でインキュベートする。細胞を3日間インキュベートする。各処理に続いて、細胞を洗浄し、細胞凝塊除去のために 35mm のストレーナキャップ付き 12×75 チューブ(チューブ当たり 1ml 、処理グループ当たり3チューブ)に等分する。次いで、チューブへP I ($10\mu\text{g}/\text{ml}$)を与える。サンプルをF A C S C A N(登録商標)フローサイトメータとF A C S C O N V E R T(登録商標)セルクエスト(CellQuest)ソフトウェア(Becton Dickinson)を使用して分析してもよい。P I 取込みによって測定されるような、統計的に有意なレベルの細胞死を誘発する抗体は、細胞死誘発抗体として選択することができる。

10

【0089】

関心のある抗体が結合したP R Oポリペプチド上のエピトープに結合する抗体をスクリーニングするために、Antibodies, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Harlow及びDavid Lane編(1988)に記載されているような通常の交差ブロッキングアッセイを実施することができる。既知の抗P R O抗体のように、試験抗体、オリゴペプチド又は他の有機分子が同じ部位又はエピトープと結合するならば、このアッセイを確定するために用いることができる。あるいは、又は付加的に、エピトープマッピングを、当該分野で周知の方法によって行うことができる。例えば、接触残基を同定するために、例えばアラニンスキャンニングによって抗体配列を変異させることができる。この変異体抗体は、適切なフォールディングを確かめるために、最初にポリクローナル抗体との結合について試験される。異なる方法では、P R Oポリペプチドの異なる領域と一致するペプチドを、試験抗体群又は試験抗体及び特徴付けられた又は既知のエピトープを有する抗体による競合アッセイで用いることができる。

20

【0090】

5.2.3. 抗体依存性酵素媒介性プロドラッグ治療法(A D E P T)

また、本発明の抗体は、プロドラッグ(例えばペプチジル化学療法剤、国際公開81/01145を参照)を活性化酵素へ変換するプロドラッグ活性化酵素へ抗体をコンジュゲートすることによって、A D E P Tにおいて使用することができる。例えば国際公開88/07378及び米国特許第4,975,278号を参照されたい。

A D E P Tに有用な免疫コンジュゲートの酵素成分には、より活性化細胞毒形態に変換するようにプロドラッグへ作用し得る任意の酵素が含まれる。

30

限定するものではないが、この発明の方法に有用な酵素には、ホスファート含有プロドラッグを遊離の薬剤に変換するのに有用なアルカリ性ホスファターゼ; スルファート含有プロドラッグを遊離の薬剤に変換するのに有用なアリアルスルファターゼ; 非毒性5-フルオロシトシンを抗癌剤5-フルオロウラシルに変換するのに有用なシトシンデアミナーゼ; プロテアーゼ、例えばセラチアプロテアーゼ、サーモリシン、サブチリシン、カルボキシペプチダーゼ及びカテプシン(例えば、カテプシンB及びL)で、ペプチド含有プロドラッグを遊離の薬剤に変換するのに有用なもの; D-アミノ酸置換基を含有するプロドラッグの変換に有用なD-アラニルカルボキシペプチダーゼ; 炭水化物切断酵素、例えばグリコシル化プロドラッグを遊離の薬剤に変換するのに有用なノイラミニダーゼ及びガラクトシダーゼ; ラクタムで誘導体化された薬剤を遊離の薬剤に変換させるのに有用なラクタマーゼ; 及びペニシリンアミダーゼ、例えばそれぞれフェノキシアセチル又はフェニルアセチル基で、それらのアミン性窒素において誘導体化された薬剤を遊離の薬剤に変換するのに有用なペニシリンVアミダーゼ又はペニシリンGアミダーゼが含まれる。あるいは、「アブザイム」としてもまた公知の酵素活性を有する抗体を、遊離の活性薬剤に本発明のプロドラッグを変換させるために使用することもできる(例えば、Massey, Nature 328:457-458[1987]を参照)。抗体-アブザイムコンジュゲートは、ここで記載されているようにして、腫瘍細胞個体群にアブザイムを送達するために調製することができる。

40

【0091】

この発明の酵素は、当該分野においてよく知られている技術、例えば上で検討したヘテ

50

口二官能性架橋試薬を使用することにより、抗PRO抗体に共有的に結合させることができる。あるいは、本発明の抗体の少なくとも抗原結合領域を本発明の酵素の少なくとも機能的に活性な部位に結合せしめてなる融合タンパク質を、当該技術においてよく知られている組換えDNA技術を使用して作成することができる(Neubergerら, Nature 312:604-608[1984])。

【0092】

5.2.4 完全長PROポリペプチド

本発明は、本出願でPROポリペプチドと呼ばれるポリペプチドをコードする新規に同定され単離された核酸配列も提供する。特に下記の実施例でさらに詳細に説明するように、種々のPROポリペプチドをコードするcDNA(部分及び完全長)が同定され単離された。

下記の実施例に開示するように、種々のcDNAクローンがATCCに寄託されている。これらのクローンの正確なヌクレオチド配列は、この分野で日常的な方法を用いて寄託されたクローンを配列決定することにより容易に決定することができる。予測されるアミノ酸配列は、ヌクレオチド配列から常套的技量を用いて決定できる。ここに記載したPROポリペプチド及びコード化核酸について、本出願人は、現時点で入手可能な配列情報と最も良く一致するリーディングフレームであると考えられるものを同定した。

【0093】

5.2.5 抗PRO抗体及びPROポリペプチド変異体

ここに記載した抗PRO抗体及び完全長天然配列PROポリペプチドに加えて、抗PRO抗体及びPROポリペプチド変異体も調製できると考えられる。抗PRO抗体及びPROポリペプチド変異体は、コード化DNAに適当なヌクレオチド変化を導入することによって、及び/又は所望の抗体又はポリペプチドを合成することによって調製できる。当業者は、アミノ酸変化がグリコシル化部位の数又は位置の変化あるいは膜固着特性の変化などの抗PRO抗体の翻訳後プロセス又はPROポリペプチドの翻訳後プロセスを変え得るのを理解するであろう。

【0094】

ここに記載した抗PRO抗体及びPROポリペプチドの変異は、例えば、米国特許第5,364,934号に示す保存的及び非保存的変異に関する技術及び指針のいずれかを用いて作成することができる。変異は、結果として天然配列抗体又はポリペプチドと比較してアミノ酸配列の変化を生じる、抗体又はポリペプチドをコードする1つ又は複数のコドンの置換、欠失又は挿入であってもよい。場合によっては、変異は、抗PRO抗体又はPROポリペプチドの一つ又は複数のドメインにおける、少なくとも一つのアミノ酸の他の任意のアミノ酸との置換による。どのアミノ酸残基が所望の活性に悪影響を与えることなく挿入、置換又は欠失され得るかを確かめる指針は、抗PRO抗体又はPROポリペプチドの配列を既知の相同タンパク質分子の配列と比較し、相同性の高い領域内で生じたアミノ酸配列変化の数を最小にすることによって見出される。アミノ酸置換は、一のアミノ酸を類似した構造及び/又は化学特性を持つ他のアミノ酸で置換すること、例えばロイシンのセリンでの置換、即ち保存的アミノ酸置換の結果であることができる。挿入及び欠失は、場合によっては1から5のアミノ酸の範囲内であり得る。許容され得る変異は、配列にアミノ酸の挿入、欠失又は置換を系統的に作成し、生じた変異体を完全長又は成熟天然配列によって示される活性に関して試験することによって確かめられる。

【0095】

抗PRO抗体及びPROポリペプチド断片がここで提供されている。そのような断片は、例えば完全長天然抗体又はタンパク質と比較した時に、N末端又はC末端で切断しているか、又は内部残基を欠いている可能性がある。ある断片は、抗PRO抗体又はPROポリペプチドの所望される生物学的活性にとって必修ではないアミノ酸残基を欠く。

抗PRO抗体及びPROポリペプチド断片は、多くの従来技術のいずれかによって調製してもよい。所望のペプチド断片は化学合成してもよい。代替的方法には、酵素的消化、例えば特定のアミノ酸残基で確定した部位でタンパク質を切断することが知られた酵素に

よってタンパク質を処理することで、又は適当な制限酵素でDNAを消化して所望の断片を単離することによって抗体又はポリペプチド断片を生成することが含まれる。さらにその他の好適な技術には、ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)によって、所望の抗体又はポリペプチド断片をコードするDNA断片を単離し増幅することが含まれる。DNA断片の所望の末端を確定するオリゴヌクレオチドは、PCRの5'及び3'プライマーで用いられる。好ましくは、抗PRO抗体及びPROポリペプチド断片は、ここに開示した天然抗PRO抗体又はPROポリペプチドと少なくとも1つの生物学的及び/又は免疫学的活性を共有する。

【0096】

特定の実施態様では、対象とする保存的置換を、好ましい置換とのタイトルの下、表6に示す。このような置換が生物学的活性の変化をもたらす場合、表6に例示的置換と称される又は以下にアミノ酸分類でさらに記載するように、より置換的な変化が導入され生成物がスクリーニングされる。

10

【0097】

表 6

元の残基	例示的置換	好ましい置換	
Ala (A)	val; leu; ile	val	20
Arg (R)	lys; gln; asn	lys	
Asn (N)	gln; his; lys; arg	gln	
Asp (D)	glu	glu	
Cys (C)	ser	ser	
Gln (Q)	asn	asn	
Glu (E)	asp	asp	
Gly (G)	pro; ala	ala	
His (H)	asn; gln; lys; arg	arg	30
Ile (I)	leu; val; met; ala; phe; ノルロイシン	leu	
Leu (L)	ノルロイシン; ile; val; met; ala; phe	ile	
Lys (K)	arg; gln; asn	arg	
Met (M)	leu; phe; ile	leu	
Phe (F)	leu; val; ile; ala; tyr	leu	
Pro (P)	ala	ala	40
Ser (S)	thr	thr	
Thr (T)	ser	ser	
Trp (W)	tyr; phe	tyr	
Tyr (Y)	trp; phe; thr; ser	phe	
Val (V)	ile; leu; met; phe; ala; ノルロイシン	leu	

【0098】

50

抗 P R O 抗体又は P R O ポリペプチドの機能又は免疫学的同一性の置換的修飾は、(a) 置換領域のポリペプチド骨格の構造、例えばシート又は螺旋配置、(b) 標的部位の電荷又は分子疎水性、又は(c) 側鎖の嵩を維持しながら、それらの効果において実質的に異なる置換基を選択することにより達成される。天然発生残基は共通の側鎖特性に基づいてグループに分けることができる：

- (1) 疎水性：ノルロイシン, met, ala, val, leu, ile;
- (2) 中性の親水性：cys, ser, thr;
- (3) 酸性：asp, glu;
- (4) 塩基性：asn, gln, his, lys, arg;
- (5) 鎖配向に影響する残基：gly, pro; 及び
- (6) 芳香族：trp, tyr, phe。

10

【 0 0 9 9 】

非保存的置換は、これらの分類の 1 つのメンバーを他の分類に交換することを必要とするであろう。また、そのように置換された残基は、保存的置換部位、又はより好ましくは、残された(非保存)部位に導入されうる。

変異は、オリゴヌクレオチド媒介(部位特異的)突然変異誘発、アラニンスキャンニング、及び P C R 突然変異誘発等のこの分野で知られた方法を用いてなすことができる。部位特異的突然変異誘発 [Carter等, Nucl. Acids Res., 13: 4331 (1986); Zoller等, Nucl. Acids Res., 10: 6487 (1987)]、カセット突然変異誘発 [Wells等, Gene, 34: 315 (1985)]、制限的選択突然変異誘発 [Wells等, Philos. Trans. R. Soc. London SerA, 317: 415 (1986)] 又は他の知られた技術をクローニングした D N A に実施して、抗 P R O 抗体又は P R O ポリペプチド変異体 D N A を作成することもできる。

20

【 0 1 0 0 】

また、隣接配列に沿って 1 つ又は複数のアミノ酸を同定するのにスキャンニングアミノ酸分析を用いることができる。好ましいスキャンニングアミノ酸は比較的小さく、中性のアミノ酸である。そのようなアミノ酸は、アラニン、グリシン、セリン、及びシステインを含む。アラニンは、ベータ炭素を越える側鎖を排除し変異体の主鎖構造を変化させにくいので、この群の中で典型的に好ましいスキャンニングアミノ酸である [Cunningham及び Wells, Science, 244: 1081-1085 (1989)]。また、アラニンは最もありふれたアミノ酸であるため典型的には好ましい。さらに、それは埋もれた及び露出した位置の両方に見られることが多い [Creighton, The Proteins, (W.H. Freeman & Co., N.Y.); Chothia, J. Mol. Biol., 150: 1 (1976)]。アラニン置換が十分な量の変異体を生じない場合は、アイソテリック(isoteric)アミノ酸を用いることができる。

30

抗 P R O 抗体又は P R O ポリペプチドの適切なコンフォメーションを維持することに関与していない任意のシステイン残基も、分子の酸化安定性を向上させ、異常な架橋を防ぐために、概してセリンと置換され得る。逆に、抗 P R O 抗体又は P R O ポリペプチドの安定性(特に、抗体が F v 断片のような抗体断片)を向上させるために、それにシステイン結合(複数でも)を加えてもよい。

【 0 1 0 1 】

特に好ましい型の置換変異体は、親抗体(例えば、ヒト化抗体又はヒト抗体)の 1 つ又は複数の高頻度可変領域残基の置換を含む。一般的に、さらなる開発のために得られた変異体は、それらが生成された親抗体と比較して向上した生物学的特性を有している。そのような置換変異体を生成する簡便な方法には、ファージディスプレイを使用する親和性成熟がふくまれる。簡潔に言えば、高頻度可変領域部位(例えば、6-7 部位)を変異させて各部位における全ての可能なアミノ酸置換を生成させる。このように生成された抗体変異体は、繊維状ファージ粒子から、各粒子内に充填された M 1 3 の遺伝子 I I I 産物への融合物として一価形態で表示される。ファージ表示変異体は、次いで、ここに開示されるようなそれらの生物学的活性(例えば、結合親和性)についてスクリーニングされる。改変の候補となる高頻度可変領域部位を同定するために、アラニンスキャンニング突然変異誘発を実施し、抗原結合に有意に寄与する高頻度可変領域残基を同定することができる。

40

50

あるいは、又はそれに加えて、抗原-抗体複合体の結晶構造を分析して抗体とヒトPROポリペプチドとの接点を同定するのが有利である場合もある。このような接触残基及び隣接残基は、ここで詳しく記述した技術による置換の候補である。そのような変異体が生成されたら、変異体のパネルにここに記載するようなスクリーニングを施し、1つ又は複数の関連アッセイにおいて優れた特性を持つ抗体を更なる開発のために選択することができる。

【0102】

抗PRO抗体のアミノ酸配列変異体をコードする核酸分子は、当該分野で周知の種々の方法によって調製される。これらの方法には、限定されるものではないが、オリゴヌクレオチド媒介（又は部位特異的）突然変異誘発、PCR突然変異誘発、そして抗-PSCA抗体の早期に調製した変異体又は非変異体形のカセット突然変異誘発による、天然ソースからの単離（天然発生アミノ酸配列変異体の場合）又は調製が含まれる。

【0103】

5.2.6. 抗PRO抗体及びPROポリペプチドの修飾

抗PRO抗体及びPROポリペプチドの共有結合的修飾は本発明の範囲内に含まれる。共有結合的修飾の一型には、抗PRO抗体又はPROポリペプチドの標的とするアミノ酸残基を、抗PRO抗体又はPROポリペプチドの選択された側鎖又はN又はC末端残基と反応できる有機誘導体化試薬と反応させることが含まれる。二官能性試薬による誘導体化は、例えば抗PRO抗体又はPROポリペプチドを、抗PRO抗体の精製方法で用いる水不溶性支持体マトリクス又は表面と架橋させるために有用であり、その逆も同じである。通常用いられる架橋剤には、例えば、1,1-ビス（ジアゾアセチル）-2-フェニルエタン、グルタルアルデヒド、N-ヒドロキシスクシンイミドエステル、例えば4-アジドサリチル酸を有するエステル、3,3'-ジチオビス（スクシンイミジルプロピオネート）等のジスクシンイミジルエステルを含むホモ二官能性イミドエステル、ビス-N-マレイミド-1,8-オクタン等の二官能性マレイミド、及びメチル-3-[(p-アジドフェニル)-ジチオ]プロピオイミデート等の試薬が含まれる。

【0104】

他の修飾には、グルタミンル及びアスパラギンル残基の各々対応するグルタミンル及びアスパルチル残基への脱アミノ化、プロリン及びリシンのヒドロキシル化、セリル又はトレオニル残基のヒドロキシル基のリン酸化、リシン、アルギニン、及びヒスチジン側鎖の-アミノ基のメチル化[T.E. Creighton, Proteins: Structure and Molecular Properties, W.H. Freeman & Co., San Francisco, pp.79-86 (1983)]、N末端アミンのアセチル化、及び任意のC末端カルボキシル基のアミド化が含まれる。

本発明の範囲内に含まれる抗PRO抗体又はPROポリペプチドの共有結合的修飾の他の型は、抗体又はポリペプチドの天然グリコシル化パターンの変更を含む。ここで意図される「天然グリコシル化パターンの変更」とは、天然配列抗PRO抗体又はPROポリペプチドに見られる一又は複数の炭水化物部分を欠失させること（内在するグリコシル化部位を取り除くことによって、又は化学及び/又は酵素的手法でグリコシル化を欠失させることのいずれか）、及び/又は天然配列抗PRO抗体又はPROポリペプチドに存在しない一又は複数のグリコシル化部位の付加を意味する。さらには、この語法には、存在する種々の炭水化物部分の性質及び特性の変化を含む、天然タンパク質のグリコシル化における定性的な変化が含まれる。

【0105】

抗体及び他のポリペプチドのグリコシル化とは、典型的にはN-結合又はO-結合のいずれかである。N-結合とは、アスパラギン残基の側鎖への炭水化物部分の付与を指す。トリペプチド配列は、Xがプロリンを除く任意のアミノ酸である、アスパラギン-X-セリン及びアスパラギン-X-スレオニンの配列であり、アスパラギン側鎖への炭水化物部分が酵素的に付与される認識部位である。従って、ポリペプチドのこれらトリペプチド配列のいずれかの存在によって、潜在的なグリコシル化部位を作り出される。O-結合グリコシル化とは、5-ヒドロキシプロリン又は5-ヒドロキシリジンも用いられるが、殆どの場合

にはセリン又はスレオニンへN-アセチルガラクトサミン、ガラクトース、又はキシロースのうちの一つの糖をヒドロキシアミノ酸へ付与することを指す。

抗PRO抗体又はPROポリペプチドへのグリコシル化部位の付加は、アミノ酸配列を改変して、それが上記に記載のトリペプチド配列(N-結合グリコシル化部位について)の一つ又は複数を含むようにすることによって簡便に完遂できる。この改変は、また、最初の抗PRO抗体又はPROポリペプチドの配列へ一つ又は複数のセリン又はスレオニン残基を付加、又は置換することによって生成される(O-結合グリコシル化部位について)。抗PRO抗体又はPROポリペプチドアミノ酸配列は、DNAレベルでの変化を通して、特に、コドンが所望するアミノ酸へ翻訳される、あらかじめ選択した塩基での抗PRO抗体又はPROポリペプチドをコードするDNAを変異させることによって、随意に改変され得る。

10

【0106】

抗PRO抗体又はPROポリペプチド上に炭水化物部分の数を増加させる他の手段は、グリコシドのポリペプチドへの化学的又は酵素的結合による。そのような方法は、この技術分野において、例えば、1987年9月11日に発行された国際公開87/05330、及びAplin及びWriston, CRC Crit. Rev. Biochem., pp. 259-306 (1981)に記載されている。

抗PRO抗体又はPROポリペプチド上に存在する炭水化物部分の除去は、化学的又は酵素的に、あるいはグルコシル化の標的として提示されたアミノ酸残基をコードするコドンの変異的置換によってなすことができる。化学的脱グリコシル化技術は、この分野で知られており、例えば、Hakimuddinら, Arch. Biochem. Biophys., 259:52 (1987)によって、そしてEdgeら, Anal. Biochem., 118: 131 (1981)によって記載されている。ポリペプチド上の炭水化物部分の酵素的切断は、Thotakuraら, Meth. Enzymol. 138:350 (1987)に記載されているように、種々のエンド及びエキソグリコシダーゼを用いることにより達成される。

20

【0107】

抗PRO抗体又はPROポリペプチド共有結合的修飾の他の型は、抗体又はポリペプチドを種々の非タンパク質様ポリマーの1つ、例えばポリエチレングリコール(PEG)、ポリプロピレングリコール、又はポリオキシアルキレンへ、米国特許第4,640,835号;第4,496,689号;第4,301,144号;第4,670,417号;第4,791,192号又は第4,179,337号に記載された方法で結合させることを含む。また、抗体又はポリペプチドは、例えばコアセルベーション法によって又は界面重合によって調製されたマイクロカプセル(例えば、それぞれヒドロキシメチルセルロース又はゼラチン-マイクロカプセル及びポリ-(メチルメタクリレート)マイクロカプセル)に、コロイド状薬物送達系(例えば、リボソーム、アルブミンマイクロソフィア、マイクロエマルジョン、ナノ粒子及びナノカプセル)又はマクロエマルジョンで捕捉することができる。このような技術はRemington's Pharmaceutical Sciences, 16th edition, A. Oslo編(1980)に開示されている。

30

また、本発明の抗PRO抗体又はPROポリペプチドは、その他の異種ポリペプチド又はアミノ酸配列と融合した抗PRO抗体又はPROポリペプチドを含むキメラ分子が形成される方法で修飾されてもよい。

【0108】

一実施態様では、このようなキメラ分子は、抗タグ抗体が選択的に結合できるエピトープを提供するタグポリペプチドと抗PRO抗体又はPROポリペプチドとの融合を含む。エピトープタグは、一般的には抗PRO抗体又はPROポリペプチドのアミノ又はカルボキシル末端に位置する。このような抗PRO抗体又はPROポリペプチドのエピトープタグ形態の存在は、タグポリペプチドに対する抗体を用いて検出することができる。また、エピトープタグの提供は、抗タグ抗体又はエピトープタグに結合する他の型の親和性マトリクスを用いたアフィニティ精製によって抗PRO抗体又はPROポリペプチドを容易に精製できるようにする。種々のタグポリペプチド及びそれら各々の抗体はこの分野で良く知られている。例としては、ポリ-ヒスチジン(ポリ-his)又はポリ-ヒスチジン-グリシン(poly-his-gly)タグ; flu HAタグポリペプチド及びその抗体12CA5 [Fieldら,

40

50

Mol. Cell. Biol., 8:2159-2165 (1988)] ; c-mycタグ及びそれに対する 8 F 9、3 C 7、6 E 1 0、G 4、B 7 及び 9 E 1 0 抗体 [Evanら, Molecular and Cellular Biology, 5:3610-3616 (1985)] ; 及び単純ヘルペスウイルス糖タンパク質 D (gD) タグ及びその抗体 [Paborskyら, Protein Engineering, 3(6):547-553 (1990)] を含む。他のタグポリペプチドは、フラッグペプチド [Hoppら, BioTechnology, 6:1204-1210 (1988)] ; K T 3 エピトープペプチド [Martinら, Science, 255:192-194 (1992)] ; -チューブリンエピトープペプチド [Skinnerら, J. Biol. Chem., 266:15163-15166 (1991)] ; 及び T 7 遺伝子 1 0 タンパク質ペプチドタグ [Lutz-Freyermuthら, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87:6393-6397 (1990)] を含む。

【 0 1 0 9 】

それに換わる実施態様では、キメラ分子は抗 P R O 抗体又は P R O ポリペプチドと免疫グロブリン又は免疫グロブリンの特定領域との融合体を含んでもよい。キメラ分子の二価形態 (「イムノアドヘシン」とも呼ばれる) については、そのような融合体は I g G 分子の F c 領域であり得る。I g 融合体は、好ましくは I g 分子内の少なくとも 1 つの可変領域に換えて抗 P R O 抗体又は P R O ポリペプチドの可溶化 (膜貫通ドメイン欠失又は不活性化) 形態を含む。特に好ましい実施態様では、免疫グロブリン融合体は、I g G 分子のヒンジ、C H₂ 及び C H₃、又はヒンジ、C H₁、C H₂ 及び C H₃ 領域を含む。免疫グロブリン融合体の製造については、1995年6月27日発光の米国特許第5,428,130号を参照のこと。

【 0 1 1 0 】

5 . 2 . 7 . 抗 P R O 抗体及び P R O ポリペプチドの調製

以下の説明は、主として、抗 P R O 抗体及び P R O ポリペプチドコード化核酸を含むベクターで形質転換又は形質移入された細胞を培養することにより抗 P R O 抗体及び P R O ポリペプチドを生成する方法に関する。勿論、当該分野においてよく知られている他の方法を用いて抗 P R O 抗体及び P R O ポリペプチドを調製することができると考えられている。例えば、適切なアミノ酸配列、又はその一部分を、固相技術を用いた直接ペプチド合成によって生成してもよい [例え、Stewartら, Solid-Phase Peptide Synthesis, W.H. Freeman Co., サンフランシスコ, カリフォルニア(1969) ; Merrifield, J. Am. Chem. Soc., 85:2149-2154 (1963) 参照]。手動技術を使用して又は自動でインビトロタンパク質合成を行ってもよい。自動合成は、例えば、アプライド・バイオシステムズ・ペプチド合成機 (フォスター シティー, カリフォルニア) を用いて、製造者の指示に従って実施してもよい。抗 P R O 抗体又は P R O ポリペプチドの種々の部分を別々に化学的に合成し、化学的又は酵素的な方法を用いて結合させて所望する抗 P R O 抗体又は P R O ポリペプチドを生成させてもよい。

【 0 1 1 1 】

5 . 2 . 7 . 1 . 抗 P R O 抗体又は P R O ポリペプチドをコードする D N A の単離

抗 P R O 抗体又は P R O ポリペプチドをコードする D N A は、抗 P R O 抗体又は P R O ポリペプチド m R N A を保有してそれを検出可能なレベルで発現すると考えられる組織から調製された c D N A ライブラリから得ることができる。従って、ヒト抗 P R O 抗体又は P R O ポリペプチド D N A は、ヒトの組織から調製された c D N A ライブラリから簡便に得ることができる。また抗 P R O 抗体又は P R O ポリペプチド-コード化遺伝子は、ゲノムライブラリから又は公知の合成方法 (例えば、自動化核酸合成) により得られることもできる。

ライブラリは、対象となる遺伝子あるいはその遺伝子によりコードされるタンパク質を同定するために設計されたプローブ (少なくとも約 2 0 - 8 0 塩基のオリゴヌクレオチド等) によってスクリーニングできる。選択されたプローブによる c D N A 又はゲノムライブラリのスクリーニングは、例えば Sambrookら, Molecular Cloning: A Laboratory Manual (New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989) に記載されている標準的な手順を使用して実施することができる。抗 P R O 抗体又は P R O ポリペプチドをコードする遺伝子を単離する他の方法は、P C R 法を使用するものである [Sambrookら, 上掲 ; Dieff

10

20

30

40

50

enbachら, PCR Primer : A Laboratory Manual (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1995)]。

【 0 1 1 2 】

c D N Aライブラリをスクリーニングするための技術は、当該分野で良く知られている。プローブとして選択されたオリゴヌクレオチド配列は、疑陽性が最小化されるよう十分な長さであり、十分に明瞭でなければならない。オリゴヌクレオチドは、スクリーニングされるライブラリ内のD N Aとのハイブリダイゼーション時に検出可能であるように標識されていることが好ましい。標識化の方法は当該分野において良く知られており、³²P標識されたA T Pのような放射線標識、ピオチン化あるいは酵素標識の使用を含む。中程度のストリンジェンシー及び高度のストリンジェンシーを含むハイブリダイゼーション条件は、上掲のSambrookら, に示されている。

このようなライブラリスクリーニング法において同定された配列は、GenBank又はその他の公共データベース又は他の個人の配列データベースに寄託され利用可能となっている他の周知の配列と比較及びアラインメントすることができる。分子の決定された領域内の又完全長配列に渡っての(アミノ酸又はヌクレオチドレベルのいずれかでの)配列同一性は、当該分野で知られた、及びここに記載した方法を用いて決定することができる。

タンパク質コード化配列を有する核酸は、初めてここで開示された推定アミノ酸配列を使用し、また必要ならば、c D N Aに逆転写されていないm R N Aの生成中間体及び先駆物質を検出する上掲のSambrookら, に記述されているような従来のプライマー伸展法を使用して、選択されたc D N A又はゲノムライブラリをスクリーニングすることによって得られる。

【 0 1 1 3 】

5 . 2 . 7 . 2 . 宿主細胞の選択及び形質転換

宿主細胞を、ここに記載した抗P R O抗体又はP R Oポリペプチド生成のための発現又はクローニングベクターで形質移入又は形質転換し、プロモーターを誘導し、形質転換体を選択し、又は所望の配列をコードする遺伝子を増幅するために適当に変性された常套的栄養培地で培養する。培養条件、例えば培地、温度、p H等々は、過度の実験をすることなく当業者が選ぶことができる。一般に、細胞培養の生産性を最大にするための原理、プロトコール、及び実用技術は、Mammalian Cell Biotechnology: a Practical Approach, M. Butler編 (IRL Press, 1991)及びSambrookら, 上掲に見出すことができる。

【 0 1 1 4 】

真核生物細胞形質移入及び原核生物細胞形質転換の方法、例えば、C a C l₂、C a P O₄、リボソーム媒介及びエレクトロポレーションは当業者に知られている。用いられる宿主細胞に応じて、その細胞に対して適した標準的な方法を用いて形質転換はなされる。前掲のSambrookら, に記載された塩化カルシウムを用いるカルシウム処理又はエレクトロポレーションが、一般的に原核生物に対して用いられる。アグロバクテリウム・トゥメファシエンスによる感染が、Shawら, Gene, 23:315(1983)及び1989年6月29日公開の国際公開89/05859に記載されているように、或る種の植物細胞の形質転換に用いられる。このような細胞壁のない哺乳動物の細胞に対しては、Graham及びvan der Eb, Virology, 52:456-457 (1978)のリン酸カルシウム沈降法が用いられる。哺乳動物細胞の宿主系形質転換の一般的な態様は米国特許第4,399,216号に記載されている。酵母菌中への形質転換は、典型的には、Van Solingenら, J. Bact., 130:946 (1977)及びHsiaoら, Proc. Natl. Acad. Sci. (USA), 76:3829 (1979)の方法に従って実施される。しかしながら、D N Aを細胞中に導入する他の方法、例えば、核マイクロインジェクション、エレクトロポレーション、無傷の細胞、又はポリカチオン、例えばポリブレン、ポリオルニチン等を用いる細菌プロトプラスト融合もまた用いることもできる。哺乳動物細胞を形質転換するための種々の技術については、Keownら, Methods in Enzymology, 185:527-537 (1990)及び Mansourら, Nature, 336:348-352 (1988)を参照のこと。

【 0 1 1 5 】

ここに記載のベクターにD N Aをクローニングあるいは発現するために適切な宿主細胞

は、原核生物、酵母菌、又は高等真核生物細胞である。適切な原核生物には、限定するものではないが、真正細菌、例えばグラム陰性又はグラム陽性微生物、例えば大腸菌のような腸内細菌科が含まれる。種々の大腸菌株が公に利用可能であり、例えば、大腸菌 K 1 2 株 MM 2 9 4 (A T C C 3 1 , 4 4 6) ; 大腸菌 X 1 7 7 6 (A T C C 3 1 , 5 3 7) ; 大腸菌株 W 3 1 1 0 (A T C C 2 7 , 3 2 5) 及び K 5 7 7 2 (A T C C 5 3 , 6 3 5) である。他の好ましい原核動物宿主細胞は、大腸菌属、例えば大腸菌 (*E. coli*)、エンテロバクター、エルビニア (*Erwinia*)、クレブシエラ (*Klebsiella*)、プロテウス (*Proteus*)、サルモネラ、例えばネズミチフス菌 (*Salmonella Typhimurium*)、セラチア、例えばセラチア・マルセサンス (*Serratia marcescans*)、及び赤痢菌、並びに桿菌、例えばパチルス・スプチルス (*B. subtilis*) 及びパチルス・リチェニフォルミス (*B. licheniformis*) (10
例えば、1989年4月12日発行の DD 2 6 6 , 7 1 0 に記載されたパチルス・リチェニフォルミス 4 1 P)、シュードモナス、例えば緑膿菌及びストレプトマイセスなどの腸内細菌科を含む。これらの例は限定ではなく例示である。株 W 3 1 1 0 は、組換え DNA 生成物発酵のための共通の宿主株であるので一つの特に好ましい宿主又は親宿主である。好ましくは、宿主細胞は最小量のタンパク質分解酵素しか分泌しない。例えば、株 W 3 1 1 0 を、宿主にとって内因性のタンパク質をコードする遺伝子の遺伝子変異をもたらすように修飾してもよく、そのような宿主の例としては、完全な遺伝子型 *tonA* を有する大腸菌 W 3 1 1 0 株 1 A 2 ; 完全な遺伝子型 *tonA ptr 3* を有する大腸菌 W 3 1 1 0 株 9 E 4 ; 完全な遺伝子型 *tonA ptr 3 phoA E 1 5 (arg F - lac) 1 6 9 deg P omp T kan^r* を有する大腸菌 W 3 1 1 0 株 2 7 C 7 (A T C C 5 5 , 2 4 4) ; 完全な遺伝子型 *tonA ptr 3 phoA E 1 5 (alg F - lac) 1 6 9 deg P omp T rbs 7 ilv G kan^r* を有する大腸菌 W 3 1 1 0 株 3 7 D 6 ; 非カナマイシン耐性 *deg P* 欠失変異を持つ 3 7 D 6 株である大腸菌 W 3 1 1 0 株 4 0 B 4 ; 及び1990年8月7日発行の米国特許第4,946,783号に開示された変異周辺質プロテアーゼを有する大腸菌株を含む。あるいは、クローニングのインビトロ法、例えば PCR 又は他の核酸ポリメラーゼ反応が好ましい。

【 0 1 1 6 】

完全長抗体、抗体断片、及び抗体融合タンパク質は、治療用の抗体が細胞傷害剤 (例
えば、毒素) と結合し、その免疫コンジュゲートそのものが腫瘍細胞の破壊において有効性を示す場合など、特にグリコシル化及び F c エフェクター機能が不要な場合に、細菌で 30
産生することができる。完全長抗体は、血液循環でより長い半減期を有する。大腸菌での産生が、より迅速でより費用効率的である。細菌での抗体断片及びポリペプチドの発現については、例えば、米国特許第5,648,237号 (Carter ら)、米国特許第5,789,199号 (Joly ら)、及び翻訳開始部位 (T I R) 及び発現と分泌を最適化するシグナル配列を記載している米国特許第5,840,523号 (Simmons ら) を参照のこと。これら特許は、ここに参考文献として取り入れられている。発現の後、抗体は、大腸菌細胞ペーストから可溶性分画へ分離し、例えば、アイソタイプによってプロテイン A 又は G カラムを介して精製することができる。最終精製は、例えば、CHO 細胞で発現させた抗体を精製するための工程と同じようにしておこなうことができる。

【 0 1 1 7 】

原核生物に加えて、糸状菌又は酵母菌のような真核微生物は、抗 P R O 抗体又は P R O
ポリペプチドコード化ベクターのための適切なクローニング又は発現宿主である。サッカロミセス・セレヴィシヤは、通常用いられる下等真核生物宿主微生物である。他に、シゾサッカロミセス・ポンベ (*Schizosaccharomyces pombe*) (Beach 及び Nurse, Nature, 290: 140 [1981]; 1985年5月2日発行の欧州特許第139,383号) ; クリュイペロミセス宿主 (*Kluyveromyces hosts*) (米国特許第4,943,529号; Fleer ら, Bio/Technology, 9: 968-975 (1991))、例えばクリュイペロミセスラクチス (*K. lactis*) (MW98-8C, CBS683, CBS4574; Lovencourt ら, J. Bacteriol. 154(2): 737-742 [1983])、クリュイペロミセス・フラギリリス (*K. fragilis*) (A T C C 1 2 , 4 2 4)、クリュイペロミセス・ブルガリクス (*K. bulgaricus*) (A T C C 1 6 , 0 4 5)、クリュイペロミセス・ウィケラマイ (*K. wicker* 40
50

amii) (ATCC 24,178)、クリユイベロミセス・ワルチイ(K. waltii) (ATCC 56,500)、クリユイベロミセス・ドロソフィラルム(K. drosophilum) (ATCC 36,906; Van den Bergら, Bio/Technology, 8: 135 (1990))、クリユイベロミセス・テモトレランス(K. thermotolerans)及びクリユイベロミセス・マルキシアナス(K. marxianus); ヤロウイア(yarrowia) (欧州特許第402,226号); ピチア・パストリス(Pichia pastoris) (欧州特許第183,070号; Sreekrishnaら, J. Basic Microbiol, 28: 265-278 [1988]); カンジダ; トリコデルマ・レーシア(Trichoderma reesia) (欧州特許第244,234号); アカパンカピ(Caseら, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 76: 5259-5263 [1979]); シュワニオマイセス(Schwanniomyces)、例えばシュワニオマイセス・オクシデンタリス(Schwanniomyces occidentalis) (1990年10月31日発行の欧州特許第394,538号); 及び糸状真菌、例えば、ニューロスポラ、ペニシリウム、トリポクラジウム(Tolyocladium) (1991年1月10日発行の国際公開91/00357); 及びアスペルギルス宿主、例えばアスペルギルス・ニダランス(Ballanceら, Biochem. Biophys. Res. Commun., 112: 284-289 [1983]; Tilburnら, Gene, 26: 205-221 [1983]; Yeltonら, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81: 1470-1474 [1984]) 及びアスペルギルス・ニガー(Kelly及びHynes, EMBO J., 4: 475-479 [1985]) が含まれる。ここで好ましいメチロトロピック(C1化合物資化性、Methylotropic)酵母は、これらに限られないが、ハンセヌラ(Hansenula)、カンジダ、クロエケラ(Kloeckera)、ピチア(Pichia)、サッカロミセス、トルロプシス(Torulopsis)、及びロドトルラ(Rhodotorula)からなる属から選択されたメタノールで成長可能な酵母を含む。この酵母の分類の例示である特定の種のリストは、C. Anthony, The Biochemistry of Methylotrophs, 269 (1982)に記載されている。

【0118】

グリコシル化抗PRO抗体又はPROポリペプチドの発現に適した宿主細胞は、多細胞生物から由来のものである。非脊椎動物細胞の例には、植物細胞、例えば綿、トウモロコシ、ジャガイモ、大豆、ペチュニア、トマト及びタバコの細胞培養と同様に、ショウジョウバエS2及びヨトウ(spodoptera) Sf9等の昆虫細胞が含まれる。多くのバキュロウイルス株及び変異体、及びヨトウガ(Spodoptera frugiperda)(幼虫(caterpillar))、ネットアイシマカ(蚊)、ヒトスジシマカ(蚊)、キイロショウジョウバエ(ショウジョウバエ)、及びカイコ等の宿主に対応する許容性昆虫宿主細胞が同定されている。種々のトランスフェクション用のウイルス株、例えばオートグラファ・カルフォルニカ(Autographa californica) NPVのL-1変異株、カイコNPVのBm-5株が公に入手でき、このようなウイルスは、本発明に係るウイルスとして、特に、ヨトウガ細胞のトランスフェクションのために使用してもよい。

【0119】

しかし、最大の関心は脊椎動物細胞に向けられ、培養(組織培養)した脊椎動物細胞の増殖がルーチン作業となった。有用な哺乳動物宿主細胞株の例は、SV40(COS-7, ATCC CRL 1651)で形質転換させたサル腎CV1細胞株; ヒト胚芽腎細胞株(293又は懸濁培養で成長するようにサブクローン化された293細胞, Grahamら, J. Gen Virol., 36:59 (1977)); ベビーハムスター腎細胞(BHK, ATCC CCL 10); チャイニーズハムスター卵巣細胞/ - DHFR (CHO, Urlaubら, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77: 4216 (1980)); マウスセルトリ細胞(TM4, Mather, Biol. Reprod., 23: 243-251 (1980)); サル腎細胞(CV1 ATCC CCL 70); アフリカミドリザル腎細胞(VERO-76, ATCC CRL-1587); ヒト頸管腫瘍細胞(HELA, ATCC CCL 2); イヌ腎細胞(MDCK, ATCC CCL 34); バッファローラット肝細胞(BRL 3A, ATCC CRL 1442); ヒト肺細胞(W138, ATCC CCL 75); ヒト肝細胞(Hep G2, HB 8065); マウス乳房腫瘍細胞(MMT 060562, ATCC CCL 51); TRI細胞(Matherら, Annals N.Y. Acad. Sci., 383:44-68 (1982)); MRC 5細胞; FS4細胞; 及びヒト肝臓癌細胞(Hep G2)である。

宿主細胞は、抗PRO抗体又はPROポリペプチド生成のために上述の発現又はクローニングベクターで形質転換され、プロモーターを誘発し、形質転換体を選出し、又は所望

の配列をコードする遺伝子を増幅するために適切に修正した通常の栄養培地で培養される。

【0120】

5.2.7.3.複製可能なベクターの選択及び使用

抗PRO抗体又はPROポリペプチドをコードする核酸(例えば、cDNA又はゲノムDNA)は、クローニング(DNAの増幅)又は発現のために複製可能なベクター内に挿入される。様々なベクターが公的に入手可能である。ベクターは、例えば、プラスミド、コスミド、ウイルス粒子、又はファージの形態とすることができる。適切な核酸配列が、種々の手法によってベクターに挿入される。一般に、DNAはこの分野で周知の技術を用いて適当な制限エンドヌクレアーゼ部位に挿入される。ベクター成分としては、一般に、これらに制限されるものではないが、1つ又は複数のシグナル配列、複製開始点、1つ又は複数のマーカー遺伝子、エンハンサーエレメント、プロモーター、及び転写終結配列を含む。これらの成分の1つ又は複数を含む適当なベクターの作成には、当業者に知られた標準的なライゲーション技術を用いる。

10

【0121】

PROは直接的に組換え手法によって生成されるだけでなく、シグナル配列あるいは成熟タンパク質あるいはポリペプチドのN-末端に特異的切断部位を有する他のポリペプチドである異種性ポリペプチドとの融合ペプチドとしても生成される。一般に、シグナル配列はベクターの成分であるか、ベクターに挿入される抗PRO抗体又はPROポリペプチド-コード化DNAの一部である。シグナル配列は、例えばアルカリフォスファターゼ、ペニシリナーゼ、1ppあるいは熱安定性エンテロトキシンIIリーダーの群から選択される原核生物シグナル配列であってよい。酵母の分泌に関しては、シグナル配列は、酵母インペルターゼリーダー、アルファ因子リーダー(酵母菌属(Saccharomyces)及びクルイペロマイシス(Kluyveromyces)因子リーダーを含み、後者は米国特許第5,010,182号に記載されている)、又は酸ホスフォターゼリーダー、カンジダ・アルビカンス(C.albicans)グルコアミラーゼリーダー(1990年4月4日発行の欧州特許第362179号)、又は1990年11月15日に公開された国際公開90/13646に記載されているシグナルであり得る。哺乳動物細胞の発現においては、哺乳動物シグナル配列は、同一あるいは関連種の分泌ポリペプチド由来のシグナル配列並びにウイルス分泌リーダーのようなタンパク質の直接分泌に使用してもよい。

20

30

【0122】

発現及びクローニングベクターは共に1つ又は複数の選択された宿主細胞において該ベクターの複製を可能にする核酸配列を含んでいる。このような配列は、バクテリア、酵母、及びウイルスについてよく知られている。プラスミドpBR322に由来する複製開始点は大部分のグラム陰性細菌に好適であり、2µプラスミド開始点は酵母に適しており、様々なウイルス開始点(SV40、ポリオーマ、アデノウイルス、VSV又はBPV)は哺乳動物細胞におけるクローニングベクターに有用である。

発現及びクローニングベクターは、典型的には、選べるマーカーとも称される選択遺伝子を含む。典型的な選択遺伝子は、(a)アンピシリン、ネオマイシン、メトトレキサートあるいはテトラサイクリンのような抗生物質あるいは他の毒素に耐性を与え、(b)栄養要求性欠陥を補い、又は(c)複合培地から得られない重要な栄養素を供給するタンパク質をコードしており、例えばパシリのD-アラニンラセマーゼをコードする遺伝子がある。

40

【0123】

哺乳動物細胞に適切な選べるマーカーの例は、DHFRあるいはチミジンキナーゼのように、抗PRO抗体又はPROポリペプチド-コード化核酸を取り込むことのできる細胞成分を同定することのできるものである。野生型DHFRを用いた場合の好適な宿主細胞は、Urlaubらにより、Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77:4216 (1980)に記載されているようにして調製され増殖されたDHFR活性に欠陥のあるCHO株化細胞である。酵母菌中での使用に好適な選択遺伝子は酵母プラスミドYRp7に存在するtrp1遺伝子である[Stinchcombら, Nature, 282:39(1979); Kingsmanら, Gene, 7:141(1979); Tschemp

50

erら, Gene, 10:157(1980)]。trp1 遺伝子は、例えば、ATCC 番号 44076 あるいは PEP4-1 のようなトリプトファンで成長する能力を欠く酵母菌の突然変異株に対する選択マーカーを提供する [Jones, Genetics, 85:12 (1977)]。

発現及びクローニングベクターは、通常、抗PRO抗体又はPROポリペプチド-コード化核酸配列に作用可能に結合し、mRNA合成を方向付けるプロモーターを含む。種々の有能な宿主細胞により認識されるプロモーターが知られている。原核生物宿主との使用に適したプロモーターは、 β -ラクタマーゼ及びラクトースプロモーター系 [Changら, Nature, 275:615 (1978) ; Goeddelら, Nature, 281:544 (1979)]、アルカリフォスファターゼ、トリプトファン(trp)プロモーター系 [Goeddel, Nucleic Acids Res., 8:4057 (1980)]; 欧州特許第36,776号]、及びハイブリッドプロモーター、例えばtacプロモーター [deBoerら, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 80:21-25 (1983)] を含む。細菌系で使用するプロモーターもまた抗PRO抗体又はPROポリペプチドをコードするDNAと作用可能に結合したシャイン・ダルガーノ(S.D.)配列を有する。

【0124】

酵母宿主との使用に適したプロモーター配列の例としては、3-ホスホグリセラートキナーゼ [Hitzemanら, J. Biol. Chem., 255:2073 (1980)] 又は他の糖分解酵素 [Hessら, J. Adv. Enzyme Reg., 7:149 (1968) ; Holland, Biochemistry, 17:4900(1978)]、例えばエノラーゼ、グリセルアルデヒド-3-リン酸デヒドロゲナーゼ、ヘキソキナーゼ、ピルビン酸デカルボキシラーゼ、ホスホフルクトキナーゼ、グルコース-6-リン酸イソメラーゼ、3-ホスホグリセラートムターゼ、ピルビン酸キナーゼ、トリオセリン酸イソメラーゼ、ホスホグルコースイソメラーゼ、及びグルコキナーゼが含まれる。

他の酵母プロモーターとしては、成長条件によって転写が制御される付加的効果を有する誘発的プロモーターであり、アルコールデヒドロゲナーゼ2、イソチトクロムC、酸フォスファターゼ、窒素代謝と関連する分解性酵素、メタロチオネイン、グリセルアルデヒド-3-リン酸デヒドロゲナーゼ、及びマルトース及びガラクトースの利用を支配する酵素のプロモーター領域がある。酵母菌での発現に好適に用いられるベクターとプロモーターは欧州特許第73,657号に更に記載されている。

【0125】

哺乳動物の宿主細胞におけるベクターからの抗PRO抗体又はPROポリペプチド転写は、例えば、ポリオーマウイルス、伝染性上皮腫ウイルス(1989年7月5日公開の英国特許第2,211,504号)、アデノウイルス(例えばアデノウイルス2)、ウシ乳頭腫ウイルス、トリ肉腫ウイルス、サイトメガロウイルス、レトロウイルス、B型肝炎ウイルス及びサルウイルス40(SV40)のようなウイルスのゲノムから得られるプロモーター、異種性哺乳動物プロモーター、例えばアクチンプロモーター又は免疫グロブリンプロモーター、及び熱衝撃プロモーターから得られるプロモーターによって、このようなプロモーターが宿主細胞系に適合し得る限り制御される。

より高等の真核生物による抗PRO抗体又はPROポリペプチドをコードするDNAの転写は、ベクター中にエンハンサー配列を挿入することによって増強され得る。エンハンサーは、通常は約10から300塩基対で、プロモーターに作用してその転写を増強するDNAのシス作用要素である。哺乳動物遺伝子由来の多くのエンハンサー配列が現在知られている(グロビン、エラスターゼ、アルブミン、 α -フェトプロテイン及びインスリン)。しかしながら、典型的には、真核細胞ウイルス由来のエンハンサーが用いられるであろう。例としては、複製開始点の後期側のSV40エンハンサー(100-270塩基対)、サイトメガロウイルス初期プロモーターエンハンサー、複製開始点の後期側のポリオーマエンハンサー及びアデノウイルスエンハンサーが含まれる。エンハンサーは、抗PRO抗体又はPROポリペプチドコード化配列の5'又は3'位でベクター中にスプライシングされ得るが、好ましくはプロモーターから5'位に位置している。

【0126】

また真核生物宿主細胞(酵母、真菌、昆虫、植物、動物、ヒト、又は他の多細胞生物由来の有核細胞)に用いられる発現ベクターは、転写の終結及びmRNAの安定化に必要な

配列も含む。このような配列は、真核生物又はウイルスのDNA又はcDNAの通常は5'、時には3'の非翻訳領域から取得できる。これらの領域は、抗PRO抗体又はPROポリペプチドをコードするmRNAの非翻訳部分にポリアデニル化断片として転写されるヌクレオチドセグメントを含む。

組換え脊椎動物細胞培養での抗PRO抗体又はPROポリペプチドの合成に適応化するのに適切な、さらに他の方法、ベクター及び宿主細胞は、Gethingら, Nature, 293:620-625 (1981); Manteiら, Nature, 281:40-46 (1979); 欧州特許第117,060号;及び欧州特許第117,058号に記載されている。

【0127】

5.2.7.4. 宿主細胞の培養

本発明の抗PRO抗体又はPROポリペプチドを生成するために用いられる宿主細胞は種々の培地において培養することができる。市販培地の例としては、ハム(Ham)のF10(シグマ)、最小必須培地((MEM),シグマ)、RPMI-1640(シグマ)及びダルベッコの改良イーグル培地((DMEM),シグマ)が宿主細胞の培養に好適である。また、Hamら, Meth. Enz. 58:44 (1979), Barnesら, Anal. Biochem. 102:255 (1980), 米国特許第4,767,704号;同4,657,866号;同4,927,762号;同4,560,655号;又は同5,122,469号;国際公開第90/03430号;国際公開第87/00195号;又は米国特許再発行第30,985号に記載された任意の培地も宿主細胞に対する培養培地として使用できる。これらの培地はいずれも、ホルモン及び/又は他の成長因子(例えばインスリン、トランスフェリン、又は表皮成長因子)、塩類(例えば、塩化ナトリウム、カルシウム、マグネシウム及びリン酸塩)、バッファー(例えばHEPES)、ヌクレオシド(例えばアデノシン及びチミジン)、抗生物質(例えば、ゲンタマイシン(商品名)薬)、微量元素(マイクロモル範囲の最終濃度で通常は存在する無機化合物として定義される)及びグルコース又は同等のエネルギー源を必要に応じて補充することができる。任意の他の必要な補充物質もまた当業者に知られている適当な濃度で含まれてもよい。培養条件、例えば温度、pH等々は、発現のために選ばれた宿主細胞について以前から用いられているものであり、当業者には明らかであろう。

【0128】

5.2.7.5. 遺伝子増幅/発現の検出

遺伝子の増幅及び/又は発現は、ここで提供された配列に基づき、適切に標識されたプローブを用い、例えば、従来よりのサザンブロット法、mRNAの転写を定量化するノーザンブロット法[Thomas, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77:5201-5205 (1980)]、ドットブロット法(DNA分析)、又はインサイツハイブリダイゼーションによって、直接的に試料中で測定することができる。あるいは、DNA二重鎖、RNA二重鎖、及びDNA-RNAハイブリッド二重鎖又はDNA-タンパク二重鎖を含む、特異的二重鎖を認識することができる抗体を用いることもできる。次いで、抗体を標識し、アッセイを実施ことができ、ここで二重鎖は表面に結合しており、その結果、表面での二重鎖の形成の時点でその二重鎖に結合した抗体の存在を検出することができる。

【0129】

あるいは、遺伝子の発現は、遺伝子産物の発現を直接的に定量化する免疫学的な方法、例えば細胞又は組織切片の免疫組織化学的染色及び細胞培養又は体液のアッセイによって、測定することもできる。試料液の免疫組織化学的染色及び/又はアッセイに有用な抗体は、モノクローナルでもポリクローナルでもよく、任意の哺乳動物で調製することができる。簡便には、抗体は、天然配列PROポリペプチドに対して、又はここで提供されるDNA配列をベースとした合成ペプチドに対して、又はPRO DNAに融合し特異的抗体エピトープをコードする外因性配列に対して調製され得る。

【0130】

5.2.7.6. 抗PRO抗体及びPROポリペプチドの精製

抗PRO抗体及びPROポリペプチドの形態は、培地又は宿主細胞の溶菌液から回収することができる。膜結合性であるならば、適切な洗浄液(例えばトリトン-X100)を用いて又は酵素的切断により膜から引き離すことができる。抗PRO抗体及びPROポリペ

10

20

30

40

50

プチドの発現に用いられる細胞は、凍結融解サイクル、超音波処理、機械的破壊、又は細胞溶解剤などの種々の化学的又は物理的手段によって破壊することができる。

抗PRO抗体及びPROポリペプチドは、組換え細胞タンパク又はポリペプチドから精製することが望ましい。適切な精製手順の例である次の手順により精製される：すなわち、イオン交換カラムでの分画；エタノール沈殿；逆相HPLC；シリカ又はカチオン交換樹脂、例えばDEAEによるクロマトグラフィー；クロマトフォーカシング；SDS-PAGE；硫酸アンモニウム沈殿；例えばセファデックスG-75を用いるゲル濾過；IgGのような汚染物を除くプロテインAセファロースカラム；及び抗PRO抗体及びPROポリペプチドのエピトプタグ形態を結合させる金属キレート化カラムである。この分野で知られ、例えば、Deutscher, *Methods in Enzymology*, 182 (1990)；Scopes, *Protein Purification: Principles and Practice*, Springer-Verlag, New York (1982)に記載された多くのタンパク質精製方法を用いることができる。選ばれる精製過程は、例えば、用いられる生成方法及び特に生成される特定の抗PRO抗体又はPROポリペプチドの性質に依存する。

【0131】

組換え技術を使用する場合、抗体は細胞内、細胞膜周辺腔内に生成されるか、又は培地に直接分泌され得る。抗体が細胞内に生成される場合、第1段階として、粒状細胞片、宿主細胞又は溶菌断片を、例えば遠心分離又は超遠心分離にかけて取り除く。Carterら、*Bio/Technology* 10:163-167(1992)は、大腸菌の細胞膜周辺腔に分泌される抗体を単離するための手順について記載している。簡単に述べると、細胞ペーストを酢酸ナトリウム(pH 3.5)、EDTA、及びフェニルメチルスルホニルフロリド(PMSF)の存在下で、30分以上かけて解凍する。細胞片は遠心分離により除去することができる。抗体が培地へ分泌されている場合、そのような発現系からの上清は、一般的には、市販のタンパク質濃縮フィルター、例えばAmicon又はMillipore Pelliconの限外濾過ユニットを用いて最初に濃縮する。PMSFなどのプロテアーゼ阻害剤を上記の任意の工程に含めてタンパク質分解を阻害してもよく、抗生物質を含めて外来性の汚染物の成長を防止してもよい。

【0132】

細胞から調製した抗体組成物は、例えば、ヒドロキシルアパタイトクロマトグラフィー、ゲル電気泳動、透析、及びアフィニティークロマトグラフィーを用いて精製でき、アフィニティークロマトグラフィーが好ましい精製技術である。アフィニティリガンドとしてのプロテインAの適合性は抗体に存在する免疫グロブリンFc領域の種及びアイソタイプに依存する。プロテインAは、ヒト 1、 2、又は 4重鎖に基づく抗体の精製に用いることができる(Lindmarkら、*J. Immunol. Meth.* 62: 1-13 [1983])。プロテインGは、全てのマウスアイソタイプ及びヒト 3に推奨されている(Gussら、*EMBO J.* 5: 15671575 [1986])。アフィニティリガンドが結合されるマトリクスはアガロースであることが最も多いが、他の材料も使用可能である。孔制御ガラスやポリ(スチレンジビニル)ベンゼン等の機械的に安定なマトリクスは、アガロースで達成できるものより早い流速及び短い処理時間を可能にする。抗体がC_H3ドメインを含む場合、Bakerbond ABX(商品名)樹脂(J.T. Baker, Phillipsburg, NJ)が精製に有用である。イオン交換カラムでの分画、エタノール沈殿、逆相HPLC、シリカ上のクロマトグラフィー、アニオン又はカチオン交換樹脂(ポリアスパラギン酸カラム)上でのヘパリンSEPHAROSE(商品名)クロマトグラフィー、クロマトフォーカシング、SDS-PAGE、及び硫酸アンモニウム沈殿などの他のタンパク質精製技術も、回収される抗体に応じて利用可能である。

任意の予備精製工程に続いて、対象とする抗体と汚染物とを含む混合物に、約2.5-4.5のpHでの溶離バッファーを用いて、低pH疎水性相互作用クロマトグラフィーを施してもよく、好ましくは低い塩濃度(例えば、約0-0.25M塩)で実施される。

【0133】

5.2.8. 製薬的製剤

本発明に基づく抗PRO抗体及び/又はPROポリペプチドの治療的製剤は、所望される程度の純度を持つ抗体を凍結乾燥製剤又は水性溶液の形態で、最適な製薬上許容される

担体、賦形剤又は安定化剤と混合することにより調製され保存される (Remington's Pharmaceutical Sciences 16th 版, Osol, A. 編. [1980])。許容される担体、賦形剤、又は安定化剤は、用いられる用量及び濃度で受容者に非毒性であり、酢酸、T r i s、リン酸、クエン酸、及び他の有機酸などの緩衝液；アスコルビン酸及びメチオニンを含む酸化防止剤；防腐剤 (オクタデシルジメチルベンジルアンモニウムクロライド；ヘキサメトニウムクロライド；ベンズアルコニウムクロライド、ベンズエトニウムクロライド；フェノール、ブチル又はベンジルアルコール；メチル又はプロピルパラベン等のアルキルパラベン；カテコール；レゾルシノール；シクロヘキサノール；3-ペンタノール；及びm-クレゾールなど)；低分子量 (約10残基未満) ポリペプチド；血清アルブミン、ゼラチン、又は免疫グロブリン等のタンパク質；ポリビニルピロリドン等の親水性ポリマー；グリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニン、又はリシン等のアミノ酸；グルコース、マンノース、又はデキストリンを含む単糖類、二糖類、及び他の炭水化物；E D T A等のキレート剤；トレハロース及び塩化ナトリウムなどのトニシファイヤー；スクロース、マンニトール、トレハロース又はソルビトールなどの糖；ポリソルベート等の界面活性剤；ナトリウムなどの塩形成対イオン；金属錯体 (例えば、Z n-タンパク質錯体)；及び/又はトゥイーン (T W E E N) (登録商標)、プルロニクス (P L U R O N I C S) (登録商標)、又はポリエチレングリコール (P E G) 等の非イオン性界面活性剤を含む。抗体は、好ましくは5-200mg/mlの間、好ましくは10-100mg/mlの間の濃度の抗体で構成される。

10

20

30

40

50

【0134】

ここでの製剤は、また、治療すべき特定の徴候の必要に応じて一つ以上の活性化化合物、好ましくは互いに悪影響を及ぼさない相補的活性を持つものも含んでよい。例えば、抗P R O抗体に加えて、1つの製剤に、例えば、P R Oポリペプチド上の異なるエピトープと結合する第二抗P R O抗体、又は特定の疾患の成長に影響を与える成長因子のような何らかの他の標的に対する抗体を含めることは望ましい。あるいは、又はさらに、この組成物は、さらに、化学療法剤、細胞毒性剤、サイトカイン、成長阻害剤、抗-ホルモン剤、及び/又は心臓保護剤を含んでもよい。このような分子は、意図する目的にとって有効な量の組み合わせで適切に存在する。

また、活性成分は、例えばコアセルベーション技術により又は界面重合により調製されたマイクロカプセル、例えば、各々ヒドロキシメチルセルロース又はゼラチン-マイクロカプセル及びポリ(メタクリル酸メチル)マイクロカプセル中、コロイド状薬物送達系 (例えば、リポソーム、アルブミン小球、マイクロエマルジョン、ナノ粒子及びナノカプセル) 中、又はマイクロエマルジョン中に包括されていてもよい。これらの技術は、Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)に開示されている。

【0135】

徐放性製剤を調製してもよい。徐放性製剤の好適な例は、抗体を含有する固体疎水性ポリマーの半透性マトリクスを含み、このマトリクスは成形された物品、例えばフィルム、又はマイクロカプセルの形状である。徐放性マトリクスの例には、ポリエステル、ヒドロゲル (例えば、ポリ(2-ヒドロキシエチル-メタクリレート)又はポリ(ビニルアルコール))、ポリアクチド (米国特許第3,773,919号)、L-グルタミン酸及びエチル-L-グルタメート、非分解性エチレン-酢酸ビニル、L U P R O N D E P O T (登録商標) (乳酸-グリコール酸コポリマーと酢酸リュープロリドの注射可能な小球) などの分解性乳酸-グリコール酸コポリマー、ポリ-(D)-(-)-3-ヒドロキシブチル酸が含まれる。

インビボ投与に使用される製剤は無菌でなければならない。これは、滅菌濾過膜を通じた濾過により容易に達成される。

【0136】

5.2.9. 抗P R O抗体及びP R Oポリペプチドによる診断及び治療

一実施態様では、P R Oポリペプチド過剰発現は、免疫組織化学 (I H C) によって分析される。組織生検からのパラフィン包埋組織切片 (例えば、I B D患者の大腸組織) を

IHCアッセイへ供してもよいし、次のPROタンパク質染色強度基準と合致させてもよい：

スコア0 - 染色が観察されないか、又は膜染色が腫瘍細胞の10%未満で観察される。

スコア1+ - わずかに/弱く認知できる程度の膜染色が腫瘍細胞の10%を越えて検出される。細胞はそれらの膜の一部のみが染色される。

スコア2+ - 弱いないしは中程度の完全な膜染色が腫瘍細胞の10%を越えて観察される。

スコア3+ - 中程度から強い完全な膜染色が腫瘍細胞の10%を越えて観察される。

PROポリペプチド発現に関して0又は1+スコアの組織(例えば、IBD患者の大腸組織)は、PROが過剰発現していないことを特徴付けるものであるのに対し、2+又は3+スコアの組織はPROが過剰発現していることを特徴付ける。

【0137】

別に、又は付加的に、FISHアッセイ、例えばINFORM(登録商標)(Ventana, Arizonaから販売)又はPATHVISION(登録商標)(Vysis, Illinois)を、ホルマリン固定、パラフィン包埋された腫瘍組織で実施して、組織(例えば、IBD患者の大腸組織)におけるPRO過剰発現の程度(生じているならば)を測定してもよい。

PRO過剰発現又は増幅は、インビボ診断アッセイを使用して評価することができ、例えば検出される分子に結合し、検出可能な標識(例えば、放射性同位体又は蛍光標識)が付けられた分子(例えば抗体)を投与し、標識の局在化について患者を外部スキャンニングする。

上記にて説明しているように、本発明の抗PRO抗体には、種々の非治療的用途がある。本発明の抗PRO抗体は、PROポリペプチドを発現している疾患の診断及び染色にとって有用である(例えば、ラジオイメージングで)。他の細胞の精製の段階として、混合細胞の集団からPRO発現細胞を死滅させて除去するために、この抗体は、また、例えば、ELISA又はウェスタンブロットにおいて、インビトロでPROポリペプチドの検出及び定量化のために、細胞からPROポリペプチドを精製又は免疫沈降するのに有用である。

【0138】

疾患が癌である場合には、現在の治療には、次の治療：外科手術による癌組織の除去、放射線治療、及び化学治療の一つ、又はそれらを組合せたものが含まれる。抗PRO抗体による治療は、特に、化学治療における副作用や毒素に対する耐性がない老年の患者、及び放射線治療の有用性に限界がある転移性疾患において所望されている。本発明の腫瘍標的化抗PRO抗体は、疾患の初期診断時及び再発中におけるPRO-発現癌の緩和に有用である。治療用途に関しては、抗PRO抗体は、単独で、あるいは例えば、ホルモン、抗血管形成、又は放射線標識された化合物と共に、又は外科手術、寒冷療法、及び/又は放射線治療と組み合わせて使用してもよい。抗PRO抗体による治療は、従来の治療の前又は後のいずれかに連続させて、他の形態の従来の治療と共に実施することができる。化学療法剤、例えばTAXOTERE(登録商標)(ドセタキセル)、TAXOL(登録商標)(パリクタキセル)、エストラムスチン及びミトキサントロンは、癌、特に危険性の少ない患者の癌治療に使用される。癌を治療又は緩和するための本発明の方法において、上述した1つ又は複数の化学療法剤による治療と組合せて、癌患者に抗PRO抗体を投与することができる。特に、パリクタキセル及びその誘導体との組合せ治療が考えられる(例えば、欧州特許第0600517号を参照のこと)。抗PRO抗体は治療的有効量の化学療法剤と共に投与されるであろう。他の実施態様において、抗PRO抗体は化学療法剤、例えばバクタキセルの活性及び効力を高めるための化学治療と組合せて投与される。医師用卓上参考書(PDR)には、種々の癌治療に使用されるこれらの薬剤の用量が開示されている。治療的に有効な上述の化学療法剤の投薬計画及び用量は、治療される特定の癌、疾患の程度、及び当該技術分野の医師によく知られている他の因子に依存し、医師が決定することができる。

10

20

30

40

50

【0139】

特定の一実施態様では、細胞障害剤に結合した抗P R O抗体を含有する免疫コンジュゲートを患者に投与する。好ましくは、P R Oタンパク質に結合した免疫コンジュゲートは細胞によりインターナリゼーションし、結果として、それが結合した癌細胞の殺傷性における免疫コンジュゲートの治療的効果が向上する。好ましい実施態様では、細胞障害剤は、癌細胞内の核酸を標的とするか、又はこれに干渉する。このような細胞障害剤の例は、上述されており、メイタンシノイド、カリケアマイシン、リボヌクレアーゼ及びDNAエンドヌクレアーゼを含む。

抗P R O抗体又はその免疫コンジュゲートは、静脈内投与等の公知の方法、例えばボラス、もしくは一定時間にわたる連続注入による、筋肉内、腹腔内、脳脊髄内、皮下、関節内、滑液包内、くも膜下腔内、経口、局所的、又は吸入経路により、ヒトの患者に投与される。抗体の静脈内又は皮下投与が好ましい。

【0140】

他の治療計画を抗P R O抗体の投与と組合せてもよい。組合せ投与には、別々の製剤又は単一の医薬製剤を使用する同時投与、及び好ましくは両方(又は全ての)活性剤が同時にその生物学的活性を働かせる時間があるいずれかの順での連続投与が含まれる。このような組合せ治療により、結果として相乗的治療効果が生じることが好ましい。

また、特定の癌に関連した他の腫瘍抗原に対する抗体の投与と共に、抗P R O抗体又は抗体類の投与を組合せることが望ましい。

【0141】

他の実施態様では、本発明の治療方法は、異なる化学療法剤の混合物の同時投与を含む、抗P R O抗体(又は抗体類)と1つ又は複数の化学療法剤又は成長阻害剤との組合せ投与を含む。化学療法剤には、リン酸エストラムスチン、プレドニムスチン、シスプラチン、5-フルオロウラシル、メルファラン、シクロホスファミド、ヒドロキシ尿素及びヒドロキシ尿素タキサン(hydroxyureataxanes)(例えばパクリタキセル及びドキセタキセル)及び/又はアントラサイクリン抗生物質が含まれる。このような化学療法剤の調製及び投与スケジュールは製造者の注意書きに従い使用されるか、又は熟練した実務者により経験的に決定される。このような化学療法剤の調製及び投与スケジュールは、Chemotherapy Service 編 M.C.Perry, Williams & Wilkins, Baltimore, MD(1992)にも記載されている。

【0142】

抗体は、抗ホルモン化合物;例えばタモキシフェン等の抗-エストロゲン化合物;オナプリストン(onapristone)(欧州特許第616812号を参照)などの抗-プロゲステロン;又はフルタミドなどの抗アンドロゲンを、このような分子に対して既知の用量で組合せてもよい。治療される疾患がアンドロゲン非依存性である場合、患者は予め抗アンドロゲン治療を受け、疾患がアンドロゲン非依存性になった後、抗P R O抗体(及び場合によってはここに記載した他の薬剤)を患者に投与してもよい。

しばしば、心臓保護剤(治療に関連する心筋の機能不全を防止又は低減するため)又は1つ又は複数のサイトカインを患者に同時投与することも有益なことである。上述した治療計画に加えて、抗体、オリゴペプチド又は有機分子治療の前、同時又は治療後に、外科的に組織細胞を取り除くか、及び/又は放射線治療を施してもよい。上述した任意の同時投与される薬剤の適切な用量は現在使用されている量であり、抗P R O抗体と薬剤の組合せ作用(相乗作用)に応じてより少なくしてもよい。

【0143】

疾患の予防又は治療のための投与量及び方式は、公知の基準に従い、医師により選択されるであろう。抗体の適切な用量は、上記のような治療される疾患の種類、疾患の重症度及び過程、抗体、オリゴペプチド又は有機分子を予防目的で投与するのか治療目的で投与するのか、過去の治療、患者の臨床歴及び抗体への反応性、手当てをする医師の裁量に依存するであろう。抗体は一度に又は一連の処置にわたって患者に適切に投与される。好ましくは、抗体は静脈注入又は皮下注射により投与される。疾患の種類及び重症度に応じて、例えば1つ又は複数の別個の投与又は連続注入のいずれかであれ、体重1kg当たり約

10

20

30

40

50

1 μg ないし 50 mg (例えば 0.1 - 15 mg / kg / 用量) の抗体を患者への最初の投与量の候補とすることができる。投薬計画は、約 4 mg / kg の初期ローディング量、続いて 1 週間に約 2 mg / kg の維持用量の抗 P R O 抗体を投与することからなっておりよい。しかしながら、他の投薬計画も有効であろう。上述した因子に応じて、典型的な一日の投与量は約 1 μg / kg から 100 mg / kg あるいはそれ以上の範囲である。数日間又はそれ以上の繰り返し投与の場合、状態によっては、疾患の徴候の望ましい抑制が生じるまで処置を維持する。この治療の進行状態は、医師又は他の当業者に公知の基準をベースにした通常の方法やアッセイで容易にモニターされる。

【0144】

抗体タンパク質の患者への投与の他に、本出願は遺伝子治療による抗体の投与を考察する。抗体をコードする核酸の投与は「抗体を治療的有效量で投与する」という表現に含まれる。例えば、遺伝子治療を用いた細胞内抗体の生成に関する、1996年3月14日に公開された国際公開第96/07321号を参照のこと。

10

【0145】

核酸(場合によってはベクター内に含まれたもの)を患者の細胞に入れるために: インビボ及びエキソビボという2つの主要な方法がある。インビボ送達では、核酸は、通常は抗体が必要とされている部位に直接注入される。エキソビボ処理では、患者の細胞を取り出し、核酸をこれらの単離された細胞に導入し、修飾された細胞を患者に、直接、又は例えば患者に埋め込まれる多孔性膜にカプセル化して投与する(米国特許第4,892,538号及び第5,283,187号参照)。核酸を生細胞に導入するために利用可能な種々の技術がある。これらの技術は、核酸が培養された細胞にインビトロで移入されるか、又は対象とする宿主にインビボで移入されるかによって異なる。哺乳動物細胞にインビトロで核酸を移入するのに適した技術は、リポソーム、エレクトロポレーション、マイクロインジェクション、細胞融合、D E A E -デキストラン、リン酸カルシウム沈降法などの使用を含む。遺伝子のエキソビボ送達に通常用いられるベクターはレトロウイルスベクターである。

20

【0146】

現在好まれているインビボ核酸移入技術は、ウイルスベクター(例えば、アデノウイルス、単純ヘルペスウイルス、又はアデノ関連ウイルス)、及び脂質ベースの系(例えば、遺伝子の脂質媒介移入に有用な脂質は、D O T M A、D O P E、及びD C - C h o lである)での形質移入を含む。現在知られている遺伝子マーキング及び遺伝子治療プロトコールの概説については、Andersonら、Science, 256:808-813 (1992)を参照のこと。また、国際公開第93/25673号及びそこに引用された参考文献も参照。

30

【0147】

本発明の抗 P R O 抗体とは、ここでの「抗体」の定義により包含される様々な形態であってよい。よって、抗体には、完全長又は無傷抗体、抗体断片、天然配列抗体又はアミノ酸変異体、ヒト化、キメラ又は融合抗体、免疫コンジュゲート、及びそれらの機能的断片が含まれる。融合抗体において、抗体配列は異種ポリペプチド配列に融合している。抗体は F c 領域が修飾されて、所望のエフェクター機能を提供することができる。以下の段落に詳細に記載されるように、適切な F c 領域と共に、細胞表面に結合したそのままの抗体は、例えば抗体-依存性細胞障害(A D C C)を介して又は補体依存性細胞障害において補体を補充することにより、又は他のいくつかのメカニズムにより、細胞毒性を誘発し得る。あるいは、副作用及び治療による合併症を最小にするようにエフェクター機能を除去又は低減することが望ましい場合には、所定の他の F c 領域が使用される。

40

一実施態様では、抗体は、本発明の抗体類と同じエピトープとの結合に関して競合するか、又はこれに実質的に結合する。また、本発明の抗 P R O 抗体の生物学的特徴を有する抗体類も考慮される。

上述した抗体の産生方法をここで詳細に記載する。

【0148】

本抗 P R O 抗体は、哺乳動物における P R O -発現疾患(例えば I B D)の治療又は1つ又は複数の疾患の徴候の緩和に有用である。このような I B D には、限定するわけでは

50

ないが、クローン病と潰瘍性大腸炎が含まれる。抗体は、哺乳動物においてPROポリペプチドを発現している細胞の少なくとも一部に結合可能である。好ましい実施態様では、抗体は、インビボ又はインビトロで細胞のPROポリペプチドに結合して、PRO-発現細胞を破壊又は死滅させるか、又はこのような細胞の成長を阻害するのに効果的である。このような抗体には、裸の抗PRO抗体(いかなる薬剤にも結合していない)が含まれる。細胞傷害性又は細胞成長阻害特性を有する裸の抗体は、細胞障害剤と併用すると、より強く細胞を破壊することが可能である。例えば細胞障害剤と抗体とを結合させ、以下に記載するような免疫コンジュゲートを形成させることによって、細胞障害特性を抗PRO抗体に付与することができる。この細胞障害剤又は成長阻害剤は、好ましくは小分子である。カリケマイシン又はメイトンシノイドなどの毒素、及びそれらの類似物又は誘導体が好ましい。

10

【0149】

本発明は、本発明の抗PRO抗体と担体を含有する組成物を提供する。疾患(例えばIBD)の治療のために、組成物はその治療の必要性に応じて患者に投与することができ、ここで組成物は免疫コンジュゲート又は裸の抗体として存在する1つ又は複数の抗PRO抗体を含有し得る。さらなる実施態様においては、組成物は、他の療法剤、例えば化学療法剤を含む成長阻害剤又は細胞障害剤とこれらの抗体、オリゴペプチド又は有機分子を組合せて含有することもできる。また本発明は、本発明の抗PRO抗体、及び担体を含有する製剤も提供する。一実施態様において、製剤は製薬的に許容可能な担体を含有する治療用製剤である。

20

本発明の他の態様は、抗PRO抗体をコードする単離された核酸分子である。H及びL鎖、特に高頻度可変領域残基をコードする核酸、天然配列抗体及び変異体をコードする鎖、該抗体の修飾体及びヒト化形態を含む。

【0150】

また、本発明は、抗PRO抗体を治療的有効量、哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物におけるPROポリペプチド-発現疾患(例えばIBD)の治療又は疾患の1つ又は複数の徴候を緩和するのに有用な方法を提供する。抗体治療組成物は、医師の指示通りに、短い期間(急性)又は慢性的に、又は間欠的に投与することができる。また、PRO-発現細胞の成長を阻害し、該細胞を殺傷する方法も提供される。

本発明は少なくとも1つの抗PRO抗体を含有するキット及び製造品も提供する。抗PRO抗体を含有するキットは、例えばPRO細胞殺傷アッセイ、細胞からのPROポリペプチドの精製又は免疫沈降における用途が見出されている。例えば、PROの単離及び精製のためには、キットはビーズ(例えばセファロースビーズ)に結合した抗PRO抗体を含有することができる。キットは、インビトロ、例えばELISA又はウエスタンブロットにおけるIBDの検出及び定量化のため抗体を包含して提供することができる。検出に有用なこのような抗体は、蛍光又は放射標識などの標識が付されて提供され得る。

30

【0151】

5.2.10. 製造品及びキット

本発明の別の実施形態は、PROを発現する疾患(例えばIBD)の治療に有用な材料を含む製造品である。製造品は、容器と、容器に付随するラベル又は添付文書を含む。適切な容器には、例えば、ボトル、バイアル、シリンジ等が含まれる。容器は、ガラスやプラスチック等、様々な材料から形成されてよい。容器は、癌の症状の治療に有効な組成物を保持するもので、無菌のアクセスポートを有してもよい(例えば、容器は、静脈注射用の溶液の袋、又は皮下注射の針で穿孔可能なストッパーを有するバイアルでもよい)。組成物中の少なくとも1つの活性剤は、本発明の抗PRO抗体である。ラベル又は添付文書は、組成物が特定の疾患(例えばクローン病や潰瘍性大腸炎などのIBD)の治療に使用されるものであることを示す。ラベル又は添付文書はさらにIBD患者への抗体組成成分投与に関する指示を含む。加えて、製造品は、製薬的に許容可能なバッファー、例えば注射用の静菌水(BWFI)、リン酸緩衝食塩水、リンガー溶液及びデキストロース溶液等を収容する第2の容器を更に備えてもよい。製造品は、更に、商業的観点及び使用者の観点

40

50

から望ましい他の材料、例えば他のバッファー、フィルター、針、及びシリンジ等を備えてもよい。

また、P R O 発現細胞死滅アッセイ、細胞からの P R O ポリペプチドの精製又は免疫沈降等、様々な目的のために有用なキットが提供される。P R O ポリペプチドの単離及び精製のために、キットはビーズ（例えばセファロースビーズ）に結合した抗 P R O 抗体を含むことができる。キットは、インビトロ、例えば E L I S A 又はウエスタンブロットにおける P R O ポリペプチドの検出及び定量化のため抗体を包含して提供することができる。製造品の場合と同じように、キットは、容器と、容器に付随するラベル又は添付文書を含む。容器は本発明の抗 P R O 抗体を少なくとも 1 つ含む組成物を保持する。例えば希釈剤とバッファー、対照抗体等を収容する追加の容器が含まれてもよい。ラベル又は添付文書には、組成物の説明、並びに意図されるインビトロでの使用又は診断のための使用に関する指示を記載することができる。

【 0 1 5 2 】

5 . 2 . 1 1 . P R O ポリペプチドの用途

5 . 2 . 1 1 . 1 . P R O ポリペプチドを使用した動物モデル

トランスジェニック動物を生産するための標準的な技術を使用して、ここで同定された P R O 遺伝子のコード化部位を対象とする動物のゲノムに導入することにより、組換え(トランスジェニック)動物モデルを作製することができる。トランスジェニック操作の標的として寄与することができる動物には、限定するものではないが、マウス、ラット、ウサギ、モルモット、ヒツジ、ヤギ、ブタ、及び非ヒト霊長類、例えばヒヒ、チンパンジー及びサルが含まれる。このような動物に導入遺伝子を導入するための、当該技術分野における周知の技術には、前核のマイクロインジェクション(米国特許第4,873,191号)；胚へのレトロウイルス媒介性遺伝子移動(例えば、Van der Puttenら, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82 : 6148-615(1985))；胚幹細胞における遺伝子を標的化(Thompsonら, Cell, 56 : 313-321(1989))；胚のエレクトロポレーション(Lo, Mol. Cell. Biol., 3 : 1803-1814(1983))；及び精子媒介性遺伝子移動が含まれる。Lavitranoら, Cell, 57 : 717-73(1989)。概要については、例えば米国特許第4,736,866号を参照されたい。

本発明の目的において、トランスジェニック動物にはそれらの細胞の一部のみに導入遺伝子を担持するもの(「モザイク動物」)が含まれる。導入遺伝子は、単一の導入遺伝子として、又は鎖状体で組み込むことができ、例えば、ヘッド対ヘッド又はヘッド対テイルのタンデムで組み込むことができる。また特定の細胞系への導入遺伝子の選択的導入は、例えばLaskoら, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89 : 6232-636(1992)の技術により可能である。トランスジェニック動物における導入遺伝子の発現は通常の方法によりモニター可能である。例えば、サザンブロット分析又は P C R 増幅を使用して導入遺伝子の統合を証明することができる。ついで、m R N A の発現レベルはインシトゥーハイブリッド形成、ノーザンブロット分析、P C R 又は免疫細胞化学等の技術を使用して分析することができる。動物は腫瘍又は癌進行の徴候のためにさらに試験される。

あるいは、動物の胚性細胞に導入された P R O ポリペプチドをコードする変更ゲノム D N A と、P R O ポリペプチドをコードする内在性遺伝子との間の相同的組換えによって、ここで同定される P R O ポリペプチドをコードする欠陥又は変更遺伝子を有する「ノックアウト」動物を構築することができる。例えば、特定の P R O ポリペプチドをコードする c D N A は、確立された技術に従い、該ポリペプチドをコードするゲノム D N A のクローニングに使用できる。特定の P R O ポリペプチドをコードするゲノム D N A の一部を欠失したり、組み込みをモニターするために使用できる選択可能なマーカーをコードする遺伝子等の他の遺伝子で置換することができる。典型的には、ベクターは無変化のフランキング D N A (5 ' と 3 ' 末端の両方)を数キロベース含む。例えば、相同的組換えベクターについてはThomas及びCapecchi, Cell, 51:503(1987)を参照のこと。ベクターは胚性幹細胞に(例えばエレクトロポレーションによって)導入し、導入された D N A が内在性 D N A と相同的に組換えられた細胞が選択される。例えば、Li等, Cell, 69:915(1992)参照。選択された細胞は次に動物(例えばマウス又はラット)の胚盤胞内に注入されて集合キメラを形

10

20

30

40

50

成する。例えば、Bradley, Teratocarcinomas and Embryonic Stem Cells: A Practical Approach, E. J. Robertson, ed. (IRL, Oxford, 1987), pp. 113-152参照。その後、キメラ性胚を適切な偽妊娠の雌性乳母に移植し、期間をおいて「ノックアウト」動物をつくり出す。胚細胞に相同的に組換えられたDNAを有する子孫は標準的な技術により同定され、それらを利用して動物の全細胞が相同的に組換えられたDNAを含む動物を繁殖させることができる。ノックアウト動物は、例えば、特定の病理的状態の進行に対する防御能力、及びPROポリペプチドが不在であることによるある種の病理的状態によって特徴付けられる。

【0153】

5.2.11.2. 組織分布

さらなる研究、例えば種々のヒト組織におけるmRNA発現を測定することにより、本明細書に開示するアッセイの結果を証明することができる。

上述したように、種々の組織における遺伝子の増幅及び/又は発現は、ここで提供された配列に基づき、適切に標識されたプローブを用い、例えば、従来よりのサザンブロット法、mRNAの転写を定量化するノーザンブロット法(Thomas, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77:5201-5205 (1980))、ドットブロット法(DNA分析)、又はインサイツハイブリッド形成法によって測定することができる。あるいは、DNA二重鎖、RNA二重鎖及びDNA-RNAハイブリッド二重鎖又はDNA-タンパク二重鎖を含む、特異的二重鎖を認識することができる抗体を用いることもできる。

あるいは、種々の組織における遺伝子の発現は、遺伝子産物の発現を直接的に定量する免疫学的方法、例えば組織切片の免疫組織化学的染色及び細胞培養又は体液のアッセイによって測定することもできる。試料液の免疫組織化学的染色及び/又はアッセイに有用な抗体は、モノクローナルでもポリクローナルでもよく、任意の哺乳動物で調製することができる。簡便には、抗体は、天然配列PROポリペプチドに対して、又はここで提供されるDNA配列をベースとした合成ペプチドに対して、又はPRO DNAに融合し特異的抗体エピトープをコードする外来性配列に対して調製され得る。抗体生産のための一般的な技術、及びインサイツ-ハイブリッド形成のための特定のプロトコルは以下に提供する。

【0154】

5.2.11.3. 抗体結合性の研究

本明細書のアッセイに使用される細胞におけるPROポリペプチドの効果を阻害する抗PRO抗体の能力を試験する、ここでのアッセイの結果は、抗体結合性を研究することで証明することができる。抗体の例としては、ポリクローナル、モノクローナル、ヒト化、二重特異性及びヘテロ抱合体抗体が含まれ、その調製は上述した。

抗体結合性の研究は任意の周知のアッセイ方法、例えば競合結合アッセイ、直接及び間接サンドイッチアッセイ、及び免疫沈降アッセイ等で行われうる。Zola, Monoclonal Antibodies: A Manual of Techniques, (CRC Press, Inc. 1987)pp. 147-158。

競合結合アッセイは、有限量の抗体との結合における、試験用サンプルに対して競合する標識された標準体の能力による。試験用サンプル中の標的タンパク質の量は、抗体が結合する標準体の量に対して逆比例する。結合する標準体の量の測定を容易にするため、好ましくは抗体は競合の前後に不溶化され、抗体に結合する分析物及び標準体は、便宜上、結合しないで残存する標準体及び分析物から分離する。

サンドイッチアッセイでは、検出される互いに異なる免疫原部分、又はエピトープ、又はタンパク質に結合可能な2つの抗体が使用される。サンドイッチアッセイにおいて、分析されるテスト用サンプルは、固体支持体に固定化された第1の抗体に結合し、その後、第2の抗体が分析物に結合し、よって不溶性の3部位複合体が形成される。例えば、米国特許第4,376,110号を参照されたい。第2の抗体は検出可能な部分で、それ自身がラベルされてもよく(直接サンドイッチアッセイ)、又は検出可能な部分でラベルされた抗免疫グロブリン抗体を使用して測定してもよい(間接サンドイッチアッセイ)。例えば、一方の種類のアッセイはELISAアッセイであり、この場合、検出可能な部分は

10

20

30

40

50

酵素である。

免疫組織化学において、組織サンプルは新鮮なものであるか凍結されていてもよく、パラフィンに包埋されていてもよく、防腐剤、例えばホルマリンで固定されていてもよい。

【 0 1 5 5 】

5 . 2 . 1 1 . 4 . 遺伝子治療

以下の記載は、それによって疾患の症状が寛解され得る方法及び組成物に関するものである。ある種の疾患は、少なくとも一部において、過剰レベルの遺伝子産物、又は異常な又は過剰な活性を示す遺伝子産物の存在によってもたらされる。従って、そのような遺伝子産物のレベル及び / 又は活性の低下がそのような疾患の症状の寛解を引き起こす。

あるいは、ある種の他の疾患は、少なくとも一部において、遺伝子発現のレベルの欠如又は低下、又は遺伝子産物活性レベルの低下によってもたらされる。従って、そのような遺伝子産物の遺伝子発現レベル及び / 又は活性のレベルは、そのような疾患の症状の寛解をもたらす。

ある場合には、疾患状態における遺伝子の上方制御は、疾患状況に応答する遺伝子産物に関する防御的役割を反映する。そのような標的遺伝子の発現又は標的遺伝子産物の活性の促進は、それが発揮する防御的効果を補強することになる。ある種の疾患状態は、そのような防御的遺伝子の異常に低いレベルの活性に起因する。また、このような場合、そのような遺伝子産物の遺伝子発現レベル及び / 又は活性の増加は、そのような疾患症状の寛解をもたらすであろう。

ここに記載される P R O ポリペプチド及びポリペプチジルアゴニスト及びアンタゴニストは、それらのペプチドを、しばしば遺伝子治療と呼ばれるインビボでの発現により本発明に従って用いてもよい。

核酸（場合によってはベクター内に含まれたもの）を患者の細胞に入れるために：インビボ及びエキソビボという2つの主要な方法がある。インビボ送達では、核酸は、通常は P R O ポリペプチドが必要とされている部位、すなわち P R O ポリペプチドの合成部位、もし知られているならば P R O ポリペプチドの生物学的活性が必要とされる部位（例えば傷）に、患者に直接注入される。エキソビボ処理では、患者の細胞を取り出し、核酸をこれらの単離された細胞に導入し、修飾された細胞を患者に、直接、又は例えば患者に埋め込まれる多孔性膜にカプセル化して投与する（米国特許第4,892,538号及び第5,283,187号参照）。核酸を生細胞に導入するために利用可能な種々の技術がある。これらの技術は、核酸が培養された細胞にインビトロで移入されるか、又は対象とする宿主にインビボで移入されるかによる。哺乳動物細胞にインビトロで核酸を移入するのに適した技術は、リボソーム、エレクトロポレーション、マイクロインジェクション、形質導入、細胞融合、DEAE-デキストラン、リン酸カルシウム沈降法などを含む。形質導入は、複製欠陥、組換えウイルス（好ましくはレトロウイルス）粒子の細胞レセプターとの結合、次いで粒子に含まれる核酸の細胞への導入を含む。遺伝子のエキソビボ送達に通常用いられるベクターはレトロウイルスである。

【 0 1 5 6 】

現在インビボ核酸移入技術で好ましいのは、ウイルス又は非ウイルスベクター（アデノウイルス、レンチウイルス、単純ヘルペスウイルス、又はアデノ関連ウイルス（ A A V ））、及び脂質ベースの系（遺伝子の脂質媒介移入に有用な脂質は、例えば、D O T M A、D O P E、及び D C - C h o l である；例えば、Tonkinson等、Cancer Investigation, 14(1): 54-65 (1996) 参照）での形質移入を含む。遺伝子治療で使用するために最も好ましいベクターはウイルス、最も好ましくはアデノウイルス、A A V、レンチウイルス、又はレトロウイルスである。レトロウイルスベクター等のウイルスベクターは、少なくとも1つの転写プロモーター / エンハンサー又は位置決定因子、あるいは選択的スプライシング、核 R N A 輸出、又はメッセンジャーの翻訳後修飾などの他の手段により遺伝子発現を制御する他の因子を含む。さらに、レトロウイルスベクター等のウイルスベクターは、P R O ポリペプチドをコードする遺伝子の存在下で転写されたとき、それに作用可能に結合し、翻訳開始配列として機能する核酸分子を含む。このようなベクターコンストラクトに

は、パッケージングシグナル、ロングターミナルリピート (LTRs) 又はその一部、及び使用するウィルスに適するポジティブ及びネガティブ鎖プライマー結合部位 (ウィルスベクター中に未だ存在しない場合) も含まれる。さらに、これらのベクターは、典型的には、それらが配置される宿主細胞から PRO ポリペプチドを分泌させるシグナル配列を含む。好ましくは、この目的のためのシグナル配列は哺乳動物シグナル配列、最も好ましくは PRO ポリペプチドのための天然シグナル配列である。場合によっては、ベクター作成物は、ポリアデニル化並びに一又は複数の制限部位を指向するシグナル及び翻訳終結配列も含む。例として、このようなベクターは典型的には 5' LTR、tRNA 結合部位、パッケージングシグナル、第二鎖 DNA 合成の開始点、及び 3' LTR 又はその一部を含む。非ウィルスの他のベクター、例えばカチオン性脂質、ポリリシン、及びデンドリマーを用いることもできる。 10

幾つかの状況では、核酸供給源を標的細胞にターゲティングする試薬、例えば細胞表面膜タンパク質に特異的な抗体又は標的細胞、標的細胞上のレセプターのリガンドなどとともに提供するのが望ましい。リボソームが用いられる場合、エンドサイトーシスを伴って細胞表面膜タンパク質に結合するタンパク質が、ターゲティング及び/又は取り込みの促進のために用いられ、例えば、特定の細胞型向性のキャプシドタンパク質又はそのフラグメント、サイクリングにおいて内部移行を受けるタンパク質の抗体、及び細胞内局在化をターゲティングし細胞内半減期を向上させるタンパク質である。レセプター媒介エンドサイトーシスの技術は、例えば、Wu等, *J. Biol. Chem.*, 262:4429-4432 (1987)及びWagner等, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 87: 3410-3414 (1990)に記載されている。現在知られている遺伝子標識化及び遺伝子治療プロトコルの概説については、Anderson等, *Science*, 256:808-813 (1992)を参照のこと。また、WO93/25673及びそこに引用された参考文献も参照。 20

好適な遺伝子治療及びレトロウイルス粒子及び構造タンパク質の作成方法は、米国特許第5,681,746号に見出される。

【0157】

5.2.11.5. 診断法としての遺伝子の用途

また本発明は、診断法としての PRO ポリペプチドをコードする遺伝子の用途に関する。PRO ポリペプチド中の変異体は IBD の原因であるため、変異した形態の PRO ポリペプチドの検出は、IBD 等の疾患の診断、又は該疾患に対する感受性の診断を可能にする。 30

ヒト PRO ポリペプチドをコードする遺伝子に変異体を担持する個人は、種々の技術で DNA レベルが検出される。診断用の核酸は患者の細胞、例えば血液、尿、唾液、組織バイオプシー、及び検屍物質から得ることができる。ゲノム DNA は、分析の前に PCR を使用して酵素的に増幅させる (Saikiら, *Nature*, 324: 163-166(1986))か、又は直接検出に使用することができる。RNA 又は cDNA は同じ目的のために使用することができる。例として、PRO ポリペプチドをコードする核酸に相補的な PCR プライマーを、PRO ポリペプチド変異体の同定及び分析に使用することができる。例えば、欠失及び挿入は正常な遺伝子型と比較した増幅産物の大きさの変化により検出することができる。点変異 (point mutations) は、PRO ポリペプチドをコードする放射能標識された RNA、又は PRO ポリペプチドをコードする放射能標識されたアンチセンス DNA 配列に対し、増幅 DNA をハイブリッド形成させることにより同定することができる。完全な適合配列は RNアーゼ A 消化又は溶解温度の相違により非適合二重鎖と区別することができる。 40

DNA 配列の相違に基づく遺伝子テストは、変性剤を用いるか又は用いないで、ゲル中の DNA 断片の電気泳動移動性の変化を検出することにより達成される。小配列の欠失及び挿入は高解像度のゲル電気泳動により可視化することができる。異なる配列の DNA 断片は、変性ホルムアミジン勾配ゲルにおいて区別され、異なる DNA 断片の移動は、特定の溶解又は部分的な溶解温度により、ゲルの異なる位置で阻害される。例えば、Myersら, *Science*, 230: 1242(1985)。

また、特定の位置における配列変化はヌクレアーゼ保護アッセイ、例えば RNアーゼ及 50

び S 1 保護、又は化学的切断方法、例えば Cottonら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 85 : 4397-4401(1985)により明らかになる。

より便宜的なゲル電気泳動及び DNA 配列化に加えて、変異はインサイツ分析で検出することもできる。

よって、特定の DNA 配列の欠失はハイブリッド形成、RNアーゼ保護、化学的切断、直接 DNA 配列化、又は制限酵素、例えば制限フラグメント長のポリモルフィズム(RFLP)の使用、及びゲノム DNA のサザンロット等の方法により達成することができる。

【 0 1 5 8 】

5 . 2 . 1 1 . 6 . P R O ポリペプチドレベル検出のための用途

P R O ポリペプチドに特異的な抗体を固体支持体上に取り付け、標識された P R O ポリペプチド及び宿主から誘導されたサンプルを固体支持体に通過させる競合アッセイを使用することもでき、固体支持体に取り付けた検出されるレベルの量はサンプル中の P R O ポリペプチドの量と相関関係がある。

【 0 1 5 9 】

5 . 2 . 1 1 . 7 . 染色体マッピング

また、本発明の配列は染色体同定において重要である。配列は特異的に標的とされ、個人のヒト染色体の特定の位置にハイブリッド形成させることができる。さらに、染色体の特定部位の同定が、現在必要である。実際の配列データ(反復多形性)に基づいたいくつかの染色体マーキング試薬は、現在、染色体位置のマーキングのために入手可能である。本発明の染色体の DNA マッピングは、病気に関連した遺伝子を有する配列を相関させるために、重要な第一段階である。

簡単に言えば、配列は c D N A から P C R プライマー(好ましくは 1 5 - 2 5 塩基対)を調製することにより、染色体にマッピングすることができる。3'-非翻訳領域のコンピュータ分析を使用すると、ゲノム DNA の一エクソン以上のスパンではないプライマーが素早く選択され、よって増幅プロセスがより複雑になる。これらのプライマーを、次に、個々のヒト染色体を遺伝子を含む体細胞ハイブリッドの P C R スクリーニングに使用する。プライマーに対応するヒト遺伝子を含むハイブリッドのみが、増幅断片を作成するであろう。

体細胞ハイブリッドの P C R マッピングは、特定の染色体に特定の DNA を割り当てるための迅速な方法である。同様な方法により、同様のオリゴヌクレオチドプライマーを本発明で使用すると、サブローカリゼーションは、大きなゲノムクローンのプール又は特定の染色体由来の断片のパネルを用いて達せられる。同様に、その染色体へのマッピングに使用可能な他のマッピング方法には、インサイツハイブリッド形成、標識されたフローソート染色体を用いたプレスクリーニング、及び染色体特異性 c D N A ライブラリを組み立てるためのハイブリッド形成によるプレセクションが含まれる。

中期染色体展開への c D N A クローンの蛍光インサイツハイブリッド形成(F I S H)を、正確な染色体位置を一工程で提供するために使用することができる。この技術は 5 0 0 又は 6 0 0 塩基と短い c D N A で使用することができるが；2 0 0 0 塩基対を越える長さのクローンは、単純な検出に対して十分なシグナル強さを有する独特の染色体位置に結合する見込みが高い。F I S H には、P R O ポリペプチドをコードする遺伝子を誘導するクローンの使用が必要であり、長くなればなる程良好になる。例えば、2 0 0 0 塩基対で良好であり、4 0 0 0 塩基対でより好ましく、4 0 0 0 を越えても、時間の合理的なパーセンテージの良好な結果を得るのには、おそらく必要ではない。この技術の総説については、Verma等、Human Chromosomes ; a Manual of Basic Techniques(Pergamon Press, New York, 1988)を参照されたい。

一度、配列を厳密な染色体位置にマッピングすれば、染色体上の配列の物理的位置は遺伝子地図データと相関可能である。このようなデータは、例えば、V. McKusick, Mendelian Inheritance in Man (Johns Hopkins University Welch Medical Library)に見出される。次に、同じ染色体領域にマッピングされる遺伝子と病気の間を連鎖アッセイにより同定する(物理的に隣接する遺伝子の共遺伝(coinheritance))。

次に、病気に罹患した又は病気に罹患しなかった個体間の cDNA 又はゲノム配列における差異を測定する必要がある。変異が病気に罹患し個体の数人又は全員に見出され、正常な個体では見出されない場合、変異は病気の原因であると思われる。

物理的マッピング及び遺伝子マッピング技術の現在の解像度によれば、病気に関連した染色体領域に厳密に位置する cDNA は、50 ないし 500 潜在的原因遺伝子の間の 1 つである(このことは、1メガベースのマッピング解像度で、20 kb 当たり 1 遺伝子であると仮定している)。

【0160】

5.2.11.8. 候補薬のスクリーニングアッセイ

本発明は、PROポリペプチドに類似する(アゴニスト)又はPROポリペプチドの効果を増強する(アンタゴニスト)ものを同定するための化合物のスクリーニング方法も包含する。アンタゴニスト候補薬のスクリーニングアッセイは、ここに同定した遺伝子にコードされるPROポリペプチドと結合又は複合体形成する化合物、又は他にコード化ポリペプチドと他の細胞性タンパク質との相互作用を阻害する化合物を同定するために設計される。このようなスクリーニングアッセイは、それを特に小分子候補薬の同定に適したものに、化学的ライブラリのハイスループットスクリーニングに適用可能なアッセイを含む。

このアッセイは、タンパク質-タンパク質結合アッセイ、生化学的スクリーニングアッセイ、イムノアッセイ、及び細胞ベースのアッセイで、この分野で知られたものを含む種々の方式で実施される。

アンタゴニストについての全てのアッセイは、それらが候補薬をここで同定された核酸にコードされるPROポリペプチドと、これら2つの成分が相互作用するのに十分な条件下及び時間で接触させることを必要とすることにおいて共通する。

結合アッセイにおいて、相互作用は結合であり、形成された複合体は単離されるか、又は反応混合物中で検出される。特別な実施態様では、ここに同定された遺伝子にコードされるPROポリペプチド又は候補薬が、共有又は非共有結合により固相、例えばマイクロタイプレートに固定化される。非共有結合は、一般的に固体表面をPROポリペプチドの溶液で被覆し乾燥させることにより達成される。あるいは、固定化されるPROポリペプチドに特異的な固定化抗体、例えばモノクローナル抗体を、それを固体表面に固着させるために用いることができる。アッセイは、固定化成分、例えば固着成分を含む被覆表面に、検出可能な標識で標識されていてもよい非固定化成分を添加することにより実施される。反応が完了したとき、未反応成分を例えば洗浄により除去し、固体表面に固着した複合体を検出する。最初の非固定化成分が検出可能な標識を有している場合、表面に固定化された標識の検出は複合体形成が起こったことを示す。最初の非固定化成分が標識を持たない場合は、複合体形成は、例えば、固定化された複合体に特異的に結合する標識抗体によって検出できる。

【0161】

候補化合物が相互作用するがここに同定した遺伝子にコードされる特定のPROポリペプチドに結合しない場合、そのポリペプチドとの相互作用は、タンパク質-タンパク質相互作用を検出するために良く知られた方法によってアッセイすることができる。そのようなアッセイは、架橋、同時免疫沈降、及び勾配又はクロマトグラフィカラムを通す同時精製などの伝統的な手法を含む。さらに、タンパク質-タンパク質相互作用は、Chevray及びNathans, Proc.Natl. Acad. Sci. USA 89, 5789-5793 (1991)に開示されているようにして、(Fields及び共同研究者等[Fields及びSong, Nature(London) 340, 245-246 (1989)]; Chien等, Proc.Natl. Acad. Sci. USA 88, 9578-9582 (1991))に記載された酵母菌ベースの遺伝子系を用いることによりモニターすることができる。酵母菌GAL4などの多くの転写活性化剤は、2つの物理的に別個のモジュラードメインからなり、一方はDNA結合ドメインとして作用し、他方は転写活性化ドメインとして機能する。既刊の文献に記載された酵母菌発現系(一般に「2-ハイブリッド系」と呼ばれる)は、この特性の長所を利用して、2つのハイブリッドタンパク質を用い、一方では標的タンパク質がGAL4

10

20

30

40

50

のDNA結合ドメインに融合し、他方では、候補となる活性化タンパク質が活性化ドメインに融合している。GAL1-lacZリポーター遺伝子のGAL4活性化プロモーターの制御下での発現は、タンパク質-タンパク質相互作用を介したGAL4活性の再構成に依存する。相互作用するポリペプチドを含むコロニーは、 β -ガラクトシダーゼに対する色素生産性物質で検出される。2-ハイブリッド技術を用いた2つの特定のタンパク質間のタンパク質-タンパク質相互作用を同定するための完全なキット(MATCHMAKER(商品名))は、Clontechから商業的に入手可能である。この系は、特定のタンパク質相互作用に含まれるタンパク質ドメインのマッピング、並びにこの相互作用にとって重要なアミノ酸残基の特定にも拡張することができる。

ここで同定されたPROポリペプチドをコードする遺伝子と細胞内又は細胞外成分との相互作用を阻害する化合物は、次のように試験できる：通常は反応混合物は、遺伝子産物と細胞外又は細胞内成分を、それら2つの生成物が相互作用及び結合する条件下及び時間で含むように調製される。候補化合物が結合を阻害する能力を試験するために、反応は試験化合物の不存在及び存在下で実施される。さらに、プラシーボを第3の反応混合物に添加してポジティブコントロールを提供してもよい。混合物中に存在する試験化合物と細胞内又は細胞外成分との結合(複合体形成)は上記のようにモニターされる。試験化合物を含有する反応混合物ではなく対照反応における複合体の形成は、試験化合物が試験化合物とその結合パートナーとの相互作用を阻害することを示す。

PROポリペプチドが同時有糸分裂促進物質ConAの存在下で内皮細胞の増殖を刺激する能力を有している場合、スクリーニング方法の一例では、この能力の利点が利用される。特に、増殖アッセイにおいて、ヒト臍帯静脈内皮細胞を得、96-ウェル平底培養皿(Costar, Cambridge, MA)で培養し、細胞の増殖を容易にするのに適切な反応混合物を補い、該混合物はCon-A(Calbiochem, La Jolla, CA)を含有している。Con-A及びスクリーニングされる化合物を添加し、37°Cでインキュベートした後、培養物を ^3H チミジンで標識し、ガラス繊維フィルター上に収集する(pH; Cambridge Technology, Watertown, MA)。3組の培養の平均 ^3H チミジン取り込み(cpm)を、液体シンチレーション計測器を使用して測定する(Beckman Instruments, Irvine, CA)。有意な ^3H (H)チミジン混入率が内皮細胞の刺激において示された。

アンタゴニストを検定するために、上述したアッセイを行うが；このアッセイにおいて、PROポリペプチドはスクリーニングされる化合物とともに添加してよく、PROポリペプチド存在下での ^3H (H)チミジン導入を阻害する化合物の能力が、化合物がPROポリペプチドのアンタゴニストであることを示す。あるいは、アンタゴニストは、PROポリペプチド及び膜結合PROポリペプチドレセプター又は組換えレセプターを持つ潜在的アンタゴニストを、競合的阻害アッセイに適した条件下で結合させることにより検出してもよい。PROポリペプチドは、放射活性等で標識でき、レセプターに結合したPROポリペプチド分子の数を潜在的アンタゴニストの有効性を決定するのに使用できる。レセプターをコードする遺伝子は、当業者に知られた多くの方法、例えばリガンドパンニング及びFACSソートにより同定できる。Coligan等, Current Protocols in Immun., 1(2): Chapter 5 (1991)。好ましくは、発現クローニングが用いられ、ポリアデニル化RNAがPROポリペプチドに反応性の細胞から調製され、このRNAから生成されたcDNAライブラリがプールに分配され、COS細胞又はPROポリペプチド反応性でない他の細胞の形質移入に使用される。スライドガラス上で成長させた形質移入細胞を標識したPROポリペプチドに曝露する。PROポリペプチドは、ヨウ素化又は部位特異的タンパク質キナーゼの認識部位の包含を含む種々の手段で標識できる。固定及びインキュベーションの後、スライドにオートラジオグラフィ分析を施す。ポジティブプールを同定し、相互作用サブプール化及び再スクリーニング工程を用いてサブプールを調製して再形質移入し、結果的に推定レセプターをコードする単一のクローンを生成する。

【0162】

これに代わるレセプター同定のアプローチとして、標識したPROポリペプチドをレセプター分子を発現する細胞膜又は抽出調製物に光親和性結合させることができる。架橋材

10

20

30

40

50

料はPAGEに溶解させ、X線フィルムに曝露する。レセプターを含む標識複合体を励起し、ペプチド断片に分離し、タンパク質マイクロ配列決定を施すことができる。マイクロ配列から得たアミノ酸配列は、推定レセプターをコードする遺伝子を同定するcDNAライブラリをスクリーニングする分解性オリゴヌクレオチドプローブの組の設計に用いられる。

アンタゴニストの他の検定では、レセプターを発現する哺乳動物細胞又は膜調製物を、候補化合物の存在下で標識PROポリペプチドとともにインキュベートする。次いで、この相互作用を促進又は阻止する化合物の能力を測定する。

IBDの治療に有用な組成物には、限定するものではないが、標的遺伝子産物の活性及び/又は発現を阻害する抗体、小有機及び無機分子、ペプチド、リンペプチド、アンチセンス及びリボザイム分子、トリプルヘリックス分子が含まれる。

潜在的なアンタゴニストのより特別な例は、免疫グロブリンとPROポリペプチドとの融合体に結合するオリゴヌクレオチド、特に、限られないが、ポリ-及びモノクローナル抗体及び抗体断片、単鎖抗体、抗-イディオタイプ抗体、及びこれらの抗体又は断片のキメラ又はヒト化形態、並びにヒト抗体及び抗体断片を含む抗体を含んでいる。あるいは、潜在的アンタゴニストは、密接に関連したタンパク質、例えば、レセプターを認識するが影響せず、それによりPROポリペプチドの作用を競合的に阻害するPROポリペプチドの変異形態であってもよい。

【0163】

他の潜在的なPROポリペプチドアンタゴニストは、アンチセンス技術を用いて調製されたアンチセンスRNA又はDNA作成物であり、例えば、アンチセンスRNA又はDNA分子は、標的mRNAにハイブリッド形成してタンパク質翻訳を妨害することによりmRNAの翻訳を直接阻止するように作用する。アンチセンス技術は、トリプルヘリックス形成又はアンチセンスDNA又はRNAを通して遺伝子発現を制御するのに使用でき、それらの方法はともに、ポリヌクレオチドのDNA又はRNAへの結合に基づく。例えば、ここでの成熟PROポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列の5'コード化部分は、約10から40塩基対長のアンチセンスRNAオリゴヌクレオチドの設計に使用される。DNAオリゴヌクレオチドは、転写に含まれる遺伝子の領域に相補的であるように設計され(トリプルヘリックス - Lee等, Nucl. Acids Res., 6: 3073 (1979); Cooney等, Science, 241: 456 (1988); Dervan等, Science, 251: 1360 (1991)参照)、それによりPROポリペプチドの転写及び生成を防止する。ここで述べるように、RNAの一部と「相補的な」配列とは、RNAとハイブリダイズ可能な相補性を持ち、安定な二重鎖を形成することを意味し; 従って、二重鎖アンチセンス核酸の場合、二重鎖DNAの一本鎖がテストされ、三重鎖ヘリックス形成がアッセイされる。ハイブリダイズする能力は相補度とアンチセンス核酸の長さ依存するであろう。一般に、ハイブリダイズする核酸が長ければ長い程、より多くのRNAとの塩基ミスマッチを包含することとなり、さらに安定二重鎖(又は場合によっては三重鎖)を形成する。当業者は、ハイブリダイズした複合体の融解温度を決定するための標準的な手法の使用により、可能な温度を評価することができる。アンチセンスRNAオリゴヌクレオチドはインピボでmRNAにハイブリッド形成してmRNA分子のPROポリペプチドへの翻訳を阻止する(アンチセンス - Okano, Neurochem., 56: 560 (1991); Oligodeoxynucleotides as Antisense Inhibitors of Gene Expression (CRC Press: Boca Raton, FL, 1988))。

【0164】

アンチセンスオリゴヌクレオチドは、DNA又はRNA又はそのキメラ混合物又は誘導体又は修飾された種類、一本鎖又は二本鎖であってもよい。オリゴヌクレオチドは塩基部分、糖部分、又はリン酸骨格において、例えば、分子、ハイブリダイゼーションなどの安定性を改善するために修飾してもよい。オリゴヌクレオチドは、ペプチド(例えば、インピボにおいて、宿主細胞のレセプターを標的化するための)、又は細胞膜(例えば、Letsinger等, 1989, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 86:6553-6556; Lemaitre等, 1987, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 84:648-652; PCT公報WO88/09810, 1988年12月15日発行を参

10

20

30

40

50

照のこと)又は血管-脳関門(例えば、PCT公報WO89/10134, 1988年4月25日発行を参照のこと)輸送を促進する薬剤、ハイブリダイゼーション-トリガー切断剤(例えば、Krol等, 1988, BioTechniques 6:958-976を参照のこと)又はインターカレーティング剤(Zon, 1988, Pharm. Res. 5:539-549)などの付加的な他の集団を含んでもよい。このために、オリゴヌクレオチドは他の分子、例えば、ペプチド、ハイブリダイゼーション-トリガー架橋剤、輸送剤、ハイブリダイゼーション-トリガー切断剤、などと結合してもよい。

アンチセンスオリゴヌクレオチドは、限定はしないが、5-フルオロウラシル、5-ブROMOURACIL、5-クロロウラシル、5-ヨードウラシル、ヒポキサンチン、キサンチン、4-アセチルシトシン、5-(カルボキシヒドロキシルメチル)ウラシル、5-カルボキシメチルアミノメチル-2-チオウリジン、5-カルボキシメチルアミノメチルウラシル、ジヒドロウラシル、 β -D-ガラクトシルクエオシン、イノシン、N⁶-イソペンテニルアデニン、1-メチルグアニン、1-メチルイノシン、2,2-ジメチルグアニン、2-メチルアデニン、2-メチルグアニン、3-メチルシトシン、5-メチルシトシン、N⁶-アデニン、7-メチルグアニン、5-メチルアミノメチルウラシル、5-メトキシアミノメチル-2-チオウラシル、 β -D-マンノシルクエオシン、5'-メトキシカルボキシメチルウラシル、5-メトキシウラシル、2-メチルチオ-N⁶-イソペンテニルアデニン、ウラシル-5-オキシ酢酸(V)、ワイプトキソシン、シュードウラシル、クエオシン、2-チオシトシン、5-メチル-2-チオウラシル、2-チオウラシル、4-チオウラシル、5-メチルウラシル、ウラシル-5-オキシ酢酸メチルエステル、ウラシル-5-オキシ酢酸(V)、5-メチル-2-チオウラシル、3-(3-アミノ-3-N-2-カルボキシプロピル)ウラシル、(acp3)_w、及び2,6-ジアミノプリンを含む集団から選択される少なくとも一つの修飾された塩基部分を含んでもよい。

また、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、限定はしないが、アラビノース、2-フルオロアラビノース、キシロース、及びヘキソースを含む集団から選択される少なくとも一つの修飾された糖部分を含んでもよい。

さらに他の実施態様において、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、ホスホロチオエート、ホスホロジチオエート、ホスホラミドチオエート、ホスホラミデート、ホスホルジアミデート、メチルホスホネート、アルキルホスホトリエステル及びホルムアセタール又はその類似体から成る集団から選択される少なくとも一つの修飾されたリン酸骨格を含む。

さらに他の実施態様において、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、 β -アノメリックオリゴヌクレオチドである。 β -アノメリックオリゴヌクレオチドは、相補的なRNAと特異的な二重鎖ハイブリッドを形成するが、通常の α -ユニットとは反対に、鎖は互いに平行に並ぶ(Gautier等, 1987, Nucl. Acids. Res. 15:6625-6641)。オリゴヌクレオチドは2'-O-メチルリボヌクレオチド(Inoue等, 1987, Nucl. Acids Res. 15:6131-6148)、又はキメラRNA-DNA類似体である(Inoue等, 1987, FEBS Lett. 215:327-330)。

本発明のオリゴヌクレオチドは当該技術分野において既知の標準的な方法、例えば、自動DNA合成機(Biosearch, Applied Biosystemsなどから購入できるような)の使用により合成してもよい。例えば、ホスホロチオエートオリゴヌクレオチドは、Stein等の方法(1988, Nucl. Acids Res. 16:3209)によって合成されてもよく、メチルホスホネートオリゴヌクレオチドは、調整された孔のガラスポリマー支持体などを用いて調製することができる(Sarin等, 1988, Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A. 85:7448-7451)。

上記のオリゴヌクレオチドは、細胞に輸送され、アンチセンスRNA又はDNAをインビボで発現させて、PROポリペプチドの生産を阻害することもできる。アンチセンスDNAが用いられる場合、翻訳開始部位、例えば標的遺伝子ヌクレオチド配列の約-10から+10位置の間から誘導されるオリゴデオキシリボヌクレオチドが好ましい。

【0165】

アンチセンス又はセンスRNA又はDNA分子は、一般的に少なくとも約5ヌクレオチド長であるか、或いは少なくとも約6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、

10

20

30

40

50

90、95、100、105、110、115、120、125、130、135、140、145、150、155、160、165、170、175、180、185、190、195、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、310、320、330、340、350、360、370、380、390、400、410、420、430、440、450、460、470、480、490、500、510、520、530、540、550、560、570、580、590、600、610、620、630、640、650、660、670、680、690、700、710、720、730、740、750、760、770、780、790、800、810、820、830、840、850、860、870、880、890、900、910、920、930、940、950、960、970、980、990、又は1000ヌクレオチド長であり、ここで使用する「約」という語は、言及されたヌクレオチド配列の長さが該言及された長さの上下10%までを含むことを意味する。

10

潜在的アンタゴニストは、PROポリペプチドの活性部位、レセプター結合部位、又は成長因子又は他の関連結合部位に結合し、それによりPROポリペプチドの正常な生物学的活性を阻止する小分子を含む。小分子の例は、これらに限られないが、小型ペプチド又はペプチド様分子、好ましくは可溶性ペプチド、及び合成非ペプチド有機又は無機化合物を含む。

更なる潜在的アンタゴニストはリボザイムであるが、これはRNAの特異的な切断を触媒することができる酵素的RNA分子である。リボザイムは、相補的標的RNAへの配列特異的ハイブリッド形成、次いでヌクレオチド鎖切断的切断により作用する。潜在的RNA標的内の特異的リボザイム切断部位は、既知の技術で同定できる。更なる詳細は、例えば、Rossi, *Current Biology* 4: 469-471 (1994)及びPCT公報WO 97/33551号(1997年9月18日発行)を参照されたい。

20

【0166】

特異的な認識部位でmRNAを切断するリボザイムは標的遺伝子mRNAを破壊するために使用可能であるが、ハンマーヘッドリボザイムの使用が好ましい。ハンマーヘッドリボザイムは、標的mRNAと相補的な塩基対を形成する隣接領域によって決定される位置でmRNAを切断する。唯一の条件は、標的mRNAは以下の2塩基配列：5'-UG-3'を持つことである。ハンマーヘッドリボザイムの構築及び生産は当該技術分野においてよく知られており、その全体としてここに文献により取り込まれているMyers, 1995, *Molecular Biology and Biotechnology: A Comprehensive Desk Reference*, VCH Publishers, New York, (特に833ページの図4を参照のこと)中、及びHaseloff及びGerlach, 1988, *Nature*, 334:585-591中により詳細に記載されている。

30

好ましくはリボザイムは、切断認識部位が標的遺伝子mRNAの5'末端近くに位置するように、即ち、効率を増大し、非機能的なmRNA転写の細胞内蓄積を最小にするために加工される。

また、本発明のリボザイムは、テトラヒメナサーモフィラ(IVS、又はL-19 IVSRNAとして知られる)中で天然に産生され、Thomas Cech及び共同研究者(Zaug等, 1984, *Science*, 224:574-578; Zaug及びCech, 1986, *Science*, 231:470-475; Zaug等, 1986, *Nature*, 324:429-433; University Patents Inc.による、公開された国際特許出願番号W088/04300; Been及びCech, 1986, *Cell*, 47:207-216)により広範に記述されてきたRNAエンドリボヌクレアーゼ(「Cech-タイプリボザイム」と後述される)も含む。Cech-タイプリボザイムは、標的RNA配列とハイブリダイズした後、標的RNAの切断が生じる8塩基対の活性部位を持つ。本発明は標的遺伝子中に存在する8塩基対の活性配列を標的とするこれらCech-タイプリボザイムを包含する。

40

アンチセンスのアプローチにおいて、リボザイムは、修飾されたオリゴヌクレオチド(例えば、改善された安定、標的化などのために)で構成され、インビボで標的遺伝子を発現する細胞へ送達される。送達の好ましい方法は、形質移入された細胞が、内在性の標的遺伝子メッセージを破壊し、翻訳を阻害するのに十分な量のリボザイムを生産するように

50

、強力で構成的なpol III又はpol IIプロモーターのコントロール下において、リボザイムをコードするDNAコンストラクトを用いることを含む。アンチセンス分子とは異なり、リボザイムは酵素的であるため、低い細胞内濃度が効率化のために要求される。

転写阻害に用いられるトリプルヘリックス形成における核酸分子は一本鎖でデオキシヌクレオチドからなる。これらのオリゴヌクレオチドの基本組成は、フーグスチン塩基対則を介するトリプルヘリックス形成を促進するように設計され、それは一般に二重鎖の一方の鎖上のプリン又はピリミジンのサイズ変更可能な伸展を必要とする。さらなる詳細は、例えば、上掲のPCT公報WO 97/33551号を参照されたい。

これらの小分子は、上記で議論したスクリーニングアッセイの一又は複数の任意のものにより及び/又は当業者に良く知られた他の任意のスクリーニング技術により同定できる。

10

【0167】

5.2.11.9. 投与プロトコール、スケジュール、用量及び製剤

ここに記載された分子及びそれらのアゴニスト及びアンタゴニストは、上述した種々の疾患及び病気の予防及び治療薬として薬剂的に有用である。

PROポリペプチド又はアゴニスト又はアンタゴニストの治療用組成物は、適当な純度を持つ所望の分子を任意の薬剂的に許容可能な担体、賦形剤、又は安定化剤 (Remington's Pharmaceutical Sciences, 16th edition, Osol, A. 編, (1980)) と、凍結乾燥した製剤又は水溶液の形態で混合することにより調製することができる。許容可能な担体、賦形剤、又は安定化剤は、好ましくは用いられる投与量及び濃度で受容者に非毒性であり、リン酸塩、クエン酸塩、及び他の有機酸などのバッファー；アスコルビン酸及びメチオニンを含む酸化防止剤；防腐剤 (オクタデシルジメチルベンジルアンモニウムクロライド；ヘキサメトニウムクロライド；ベンザルコニウムクロライド；ベンゼトニウムクロライド；フェノール、ブチル又はベンジルアルコール；メチル又はプロピルパラベン等のアルキルパラベン；カテコール；レゾルシノール；シクロヘキサノール；3-ペンタノール；及びm-クレゾール)；低分子量 (約10残基未満) ポリペプチド；血清アルブミン、ゼラチン、又は免疫グロブリン等のタンパク質；ポリビニルピロリドン等の親水性ポリマー；グリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニン、又はリシン等のアミノ酸；グルコース、マンノース、又はデキストランを含む単糖類、二糖類、及び他の炭水化物；EDTA等のキレート剤；スクロース、マンニトール、トレハロース又はソルビトール等の糖；ナトリウム等の塩形成対イオン；金属錯体 (例えば、Zn-タンパク質錯体)；及び/又はTWEEN (登録商標)、PLURONICS (登録商標) 又はポリエチレングリコール (PEG) 等の非イオン性界面活性剤を含む。

20

30

このような担体の更なる例は、イオン交換体、アルミナ、ステアリン酸アルミニウム、レシチン、血清タンパク質、例えばヒト血清アルブミン、緩衝物質、例えばリン酸塩、グリシン、ソルビン酸、ソルビン酸カリウム、飽和植物脂肪酸の部分的グリセリド混合物、水、塩、又は電解質、例えば硫酸プロタミン、リン酸水素二ナトリウム、リン酸水素カリウム、塩化ナトリウム、亜鉛塩、コロイダルシリカ、マグネシウムトリシリケート、ポリビニルピロリドン、セルロースベースの物質、及びポリエチレングリコールである。局所用の担体又はゲルベースの形態は、ナトリウムカルボキシメチルセルロース又はメチルセルロース等の多糖類、ポリビニルピロリドン、ポリアクリレート、ポリオキシエチレン-ポリオキシプロピレンブロックポリマー、ポリエチレングリコール、及びモクロウアルコールを含む。あらゆる投与について、従来のデポー形態が好適に用いられる。このような形態は、例えば、マイクロカプセル、ナノ-カプセル、リボソーム、硬膏剤、吸入形態、鼻スプレー、舌下錠剤、及び徐放性製剤を含む。PROポリペプチド又はアゴニスト又はアンタゴニストは、典型的にはそのような媒体中に約0.1mg/mlから100mg/mlの濃度で処方される。

40

【0168】

インビボ投与に用いられるPROポリペプチド又はアゴニスト又はアンタゴニストは無菌でなければならない。これは、凍結乾燥及び再形成の前又は後の滅菌濾過膜を通した濾

50

過によって容易に達成される。PROポリペプチドは通常は凍結乾燥形態又は全身投与される場合には溶液中に貯蔵される。凍結乾燥形態にある場合、PROポリペプチド又はアゴニスト又はアンタゴニストは典型的には使用時の適当な希釈剤を含む他の成分と組み合わせて処方される。PROポリペプチド又はアゴニスト又はアンタゴニストの液体製剤の例は、無菌の、透明な、無色の生鮮溶液で、皮下注射用の1回投与バイアルに充填されている。繰り返し使用に適切な防腐製薬組成物は、例えば、主にポリペプチドの種類及び指示に依存し、

- a) PROポリペプチド又はそれらのアゴニスト又はアンタゴニスト；
 - b) 溶液中のポリペプチド又は他の分子の安定性を最大にする範囲内のpH、好ましくは約4-8のpHを維持可能なバッファー；
 - c) 主として、攪拌誘発性集合体に対しポリペプチド又は分子を安定化させる洗浄剤/界面活性剤；
 - d) 等張剤；
 - e) フェノール、ベンジルアルコール及びベンゼトニウムハロゲン化物、例えば塩化物の群から選択される防腐剤；及び
 - f) 水；
- を含有し得る。

使用される洗浄剤が非イオン性であるならば、それは、例えばポリソルベート(例えば、POLYSORBATE(登録商標)(TWEEN(登録商標)20、80等)、ポロキサマー(例えば、PULOXAMER(登録商標)188等)であってよい。非イオン性界面活性剤を使用することにより、ポリペプチドの変性を引き起こすことなく、表面応力の剪断に調製物をさらすことができる。さらに、このような界面活性剤含有調製物は、静脈投与で使用されるようなエアゾール装置、及びニードレスジェット注入ガンで使用され得る(例えば、EP257,956を参照されたい)。

等張剤は、PROポリペプチド又はそのアゴニスト又はアンタゴニストの液体組成物を確実に等浸透圧とするために存在し、多価糖アルコール、好ましくは3価又は高級糖アルコール、例えばグリセリン、エリトリール、アラビトール、キシリトール、ソルビトール及びマンニトールが含まれる。これらの糖アルコールは、単独で、又は組合せて使用することもできる。また、塩化ナトリウム又は他の適切な塩を、溶液を等張にするために使用してもよい。

バッファーは、所望するpHに応じて、アセタート、シトラート、スクシナート又はホスファートバッファーであってよい。本発明の液状調製物の一種類のpHは、約4から8、好ましくはほぼ生理学的pHの範囲に緩衝される。

防腐剤、フェノール、ベンジルアルコール及びベンゼトニウムハロゲン化物、例えば塩化物は、使用可能な周知の抗菌薬である。

【0169】

治療用PROポリペプチド組成物は、一般的に無菌のアクセスポートを具備する容器、例えば、静脈内溶液バッグ又は皮下注射針で穿孔可能なストッパーを具備するバイアルに配される。製剤は、好ましくは静脈内(i.v.)、皮下(s.c.)、又は筋肉内(i.m.)の繰り返し注射として、あるいは鼻内又は肺内送達に適したエアロゾル製剤として投与される(肺内送達については、例えばEP 257,956参照)。

また、PROポリペプチドは持続放出製剤の形態で投与することもできる。持続放出製剤の好適な例は、タンパク質を含む固体疎水性ポリマーの半透性マトリクスを含み、当該マトリクスは成形物、例えばフィルム又はマイクロカプセルの形態である。持続放出マトリクスの例は、ポリエステル、ヒドロゲル(例えば、Langer等, J. Biomed. Mater. Res., 15: 167-277 (1981)及びLanger, Chem. Tech., 12: 98-105 (1982)に記載されたようなポリ(2-ヒドロキシエチル-メタクリレート)、又はポリ(ビニルアルコール)、ポリアクチド(米国特許第3,773,919号、EP58,481)、L-グルタミン酸及びガンマエチル-L-グルタメートのコポリマー(Sidman等, Biopolymers, 22: 547-556 (1983))、非分解性エチレン-酢酸ビニル(Langer等, 上掲)、分解性乳酸-グリコール酸コポリマー、例えばLu

10

20

30

40

50

pron Depot^{T M} (乳酸 - グリコール酸コポリマー及び酢酸ロイプロリドからなる注射可能な微小球)、及びポリ-D-(-)-3-ヒドロキシブチル酸 (EP133,988) を含む。

エチレン - 酢酸ビニルや乳酸 - グリコール酸等の重合体は100日以上分子を放出できるが、特定のヒドロゲルはより短い時間タンパク質を放出する。カプセル化タンパク質は、長時間体内に残存すると、37 で水分に曝されることで、変性又は凝集し、生理活性の喪失や免疫原性の変化のおそれがある。かかる機構によって安定性を得るための合理的な処置が考えられる。例えば、凝集機構がチオ - ジスルフィド交換による分子間S-S結合であることが分かれば、スルフヒドリル残基を変更し、酸性溶液から凍結乾燥し、水分量を調整し、適当な添加物を使用し、特定の重合体マトリクス化合物を開発することで安定性を保証することができる。

10

P R Oポリペプチドの持続放出組成物は、リポソーム的に包括されたP R Oポリペプチドを含む。P R Oポリペプチドを含有するリポソームは、それ自体周知である方法、例えば、DE3,218,121、Epstein等、Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82:3688-3692 (1985)、Hwang等、Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77:4030-4034 (1980)、EP52,322、EP36,676、EP88,046、EP143,949、EP142,641、特願昭58-118008、米国特許第4,485,045号及び第4,544,545号、及びEP102,324等による方法によって調製する。通常、リポソームは、脂質含有量が約30モル%以上コレステロールであり、選択される割合が最適な治療法に対して調整された微小(約200 - 800オングストローム)な単ラメラ状のものである。

【0170】

P R Oポリペプチド又はそのアゴニスト又はアンタゴニストの治療的有効量は、当然のことながら、治療(予防を含む)すべき病理学的状態、投与方法、治療に用いられる化合物の型、包含される任意の同時治療、患者の年齢、体重、一般的な医学的状态、医学的履歴などの要因によって変化し、それは担当する医師の技量の範囲内で良好に決定される。従って、治療者は、最大の治療効果が得られるように、投与量を滴定し投与経路を修正する必要がある。P R Oポリペプチドが狭い範囲の宿主を有しているならば、ヒトの患者の治療には、ヒトP R Oポリペプチド、より好ましくは天然配列ヒトP R Oポリペプチドを含有する調製物であることが好ましい。臨床医は投与量が当該病状の治療において所望する効果が得られるまで、P R Oポリペプチドを投与するであろう。

20

上記の指針では、有効投与量は、一般的に約0.001から約1.0mg/kg、好ましくは約0.01 - 1.0mg/kg、最も好ましくは約0.01 - 0.1mg/kgの範囲内である。

30

組織再生に使用されるP R Oポリペプチドを含有する製薬組成物の用量計画は、ポリペプチドの作用を変える種々の要因、例えば、形成が望まれる組織(例えば骨)の重量、傷害部位、傷害を受けた組織の状態、創傷の大きさ、傷害を受けた組織のタイプ(例えば、骨)、患者の年齢、性別、食事、感染症の重傷度、投与時間、及び他の臨床的要因を考慮して、担当する医師により決定されるであろう。用量は、再構成に使用されるマトリクスの種類、製薬組成物の他のタンパク質含有物により変わり得る。例えば、他の周知の成長因子、例えばIGF-Iを最終組成物に添加すると、さらに用量に影響を与える。進行状況は組織/骨の成長及び/又は修復を、例えばX線、組織形態測定(histomorphometric determinations)及びテトラサイクリン標識化により、定期的に評価することにより監視可能である。

40

【0171】

P R Oポリペプチド又はアンタゴニスト又はアゴニスト投与の経路は周知の方法に従い、例えば静脈内、筋肉内、脳内、腹腔内、脳脊髄内、皮下、眼内、関節内、滑膜内、包膜内、経口、局所又は吸入経路による注射又は注入、あるいは以下に記載する持続放出系による。またP R Oポリペプチド又はそれらのアゴニスト又はアンタゴニストは腫瘍内、腫瘍周辺、病巣内、又は病巣周辺経路で好適に投与され、局所的並びに全身に治療効果を発揮する。腹腔内経路は、例えば卵巣腫瘍の治療に特に有用であることが予期されている。

ペプチド又は小分子がアンタゴニスト又はアゴニストとして使用される場合、好ましくは、液体又は固体の形態で経口的又は非経口的に哺乳動物に投与される。

50

塩を形成し下記において有用な分子の薬理的に許容可能な塩類の例には、アルカリ金属塩(例えばナトリウム塩、カリウム塩)、アルカリ土類金属塩(例えばカルシウム塩、マグネシウム塩)、アンモニウム塩、有機塩基塩(例えばピリジン塩、トリエチルアミン塩)、無機酸塩(例えば塩酸、硫酸塩、硝酸塩)及び有機酸塩(例えば酢酸塩、シュウ酸塩、p-トルエンスルホン酸塩)が含まれる。

骨、軟骨、腱、又は靭帯再生に有用な、ここに記載された組成物における治療方法には、移植又は装置としての、局所的(topically)、全身的又は局部的(locally)な組成物の投与が含まれる。投与した場合、有用な治療用組成物は、発熱物質を含有しない生理学的に許容可能な形態である。さらに組成物は、骨、軟骨又は組織のダメージ部位に送達される粘性のある形態で注射されるかカプセル化されることが望ましい。局所的投与は傷の治癒及び組織の修復に適している。好ましくは、骨及び/又は軟骨の形成のためには、組成物は、骨及び/又は軟骨のダメージ部位にタンパク質含有組成物を送達せしめ、好ましくは体内に再吸収可能な骨及び軟骨を発育する構造体を提供することのできるマトリクスを含む。このようなマトリクスは他の移植医療用途に使用される材料で作成される。

【0172】

マトリクス材料の選択は、生物学的適合性、生物分解性能、機械的特性、美容的外観、及び界面活性に基づく。組成物の特定の用途は、適切な処方により定義される。組成物の潜在的マトリクスは生物分解性であり、化学的に定義される硫酸カルシウム、リン酸三カルシウム、ヒドロキシアパタイト、ポリ乳酸、ポリグリコール酸、及びポリ無水物であってよい。他の潜在的マトリクスは生物分解性で生物学的に明確に定義された、例えば骨又は真皮コラーゲンである。さらなるマトリクスは純粋タンパク質又は細胞外マトリクス成分からなる。他の潜在的マトリクスは、非生物分解性であり、化学的に定義された、例えば焼結ヒドロキシアパタイト、生体ガラス、アルミナート、又は他のセラミックスである。マトリクスは上述した任意の種類材料、例えばポリ乳酸とヒドロキシアパタイト又はコラーゲンとリン酸三カルシウムの組合せからなるものであってもよい。生物セラミックは組成において、例えばカルシウム-アルミナート-ホスファートに変えてもよく、孔サイズ、粒子サイズ及び生物分解性能を変更するためのプロセスが施されていてもよい。

特定の一実施態様では、乳酸とグリコール酸が50:50(モル重量)のコポリマーであり、150から800ミクロンの範囲の直径を有する多孔質粒子の形態である。いくつかの用途において、金属イオン封鎖剤、例えばカルボキシメチルセルロース、又は自己移植血塊を利用し、マトリクスからの分離から組成物を保護するのに有用である。

一好適なファミリーの金属イオン封鎖剤は、セルロース材料、例えばメチルセルロース、エチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース及びカルボキシメチルセルロースを含むアルキルセルロース(ヒドロキシアルキルセルロースを含む)であり、好ましくはカルボキシメチルセルロース(CMC)のカチオン塩である。他の好ましい金属イオン封鎖剤には、ヒアルロン酸、アルギニン酸ナトリウム、ポリ(エチレングリコール)、ポリオキシエチレンオキッド、カルボキシビニルポリマー、及びポリ(ビニルアルコール)が含まれる。ここで有用な金属イオン封鎖剤の量は、調製物の全量に基づき、0.5-20重量%、好ましくは1-10重量%であり、ポリマーマトリクスからのポリペプチド(又はそのアンタゴニスト)の脱着を防止し、組成物に適切な操作性を付与し、さらに原細胞のマトリクスへの浸透を防止し、よって、ポリペプチド(又はそのアンタゴニスト)に原細胞の骨形成活性を助長する機会を付与するのに必要な量である。

【0173】

5.2.11.10. 組合せ治療

当問題となる疾患の防止又は治療におけるPROポリペプチド、そのアゴニスト又はアンタゴニストの効力は、同じ組成物又は別個の組成物において、これらの目的のために有効な他の薬剤と組合せるか、又は活性剤を連続して投与することにより改善される。

一部の徴候については、PROポリペプチド、そのアゴニスト又はアンタゴニストを、骨及び/又は軟骨の問題となる欠損、傷、又は組織の治療に有効な他の薬剤と組み合わせ

10

20

30

40

50

てもよい。このような薬剤には、EGF、PDGF、TGF- β 、又はTGF- α 、IGF、FGF、及びCTGF等の種々の成長因子が含まれる。

加えて、癌の治療に使用されるPROポリペプチド又はそれらのアゴニスト又はアンタゴニストは、上述にて同定したような細胞障害剤、化学治療剤又は成長阻害剤と組合せてもよい。また癌の治療のために、PROポリペプチド又はそのアゴニスト又はアンタゴニストは適切に連続投与されるか、又は、放射活性物質の照射又は投与を含んでも含まなくても、放射線学的治療と組合せられる。

PROポリペプチド、そのアゴニスト又はアンタゴニストと組合せて投与される治療薬の有効量は、医師又は獣医の裁量による。投与量とその調節は処理される病状に最大の治療効果が達成されるようになされる。加えて、用量は、治療される特定の患者及び使用される治療薬の種類等の因子に依存する。典型的には、使用される量は、治療薬をPROポリペプチドと共に投与しない場合と同じ用量である。

【0174】

以下の実施例は例示のみを目的としており、いかなる意味でも本発明の範囲を限定するものではない。

本明細書で引用する全ての特許文献及び非特許文献は、ここに参照することによりその全体を本明細書に包含する。

【実施例】

【0175】

6. 実施例

実施例で言及されている市販試薬は、特に示さない限りは製造者の使用説明に従い使用した。ATCC登録番号により以下の実施例及び明細書全体の中で特定されている細胞の供給源はアメリカン・タイプ・カルチャー・コレクション（バージニア州マナサスである。特に示さない限り、本発明は、上述及び下記の文献に開示されているような組換えDNA技術の標準的な方法を使用する：Sambrook, 上掲; Ausubel等, Current Protocols in Molecular Biology (Green Publishing Associates and Wiley Interscience, N.Y., 1989); Innis等, PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications (Academic Press, Inc.: N.Y., 1990); Harlow等, Antibodies: A Laboratory Manual (Cold Spring Harbor Press: Cold Spring Harbor, 1998); Gait, Oligonucleotide Synthesis (IRL Press: Oxford, 1984); Freshney, Animal Cell Culture 1987; Coligan等, Current Protocols in Immunology, 1991。

【0176】

6.1. 実施例1：材料の寄託及び/又は公的入手可能性

以下の材料は、ブダペスト条約の条項に基づき、下の表7に示すようにアメリカン・タイプ・カルチャー・コレクション（アメリカ合衆国、バージニア州、マナサス、ユニバーシティプールバード 10801）に寄託されている。

表 7

材料	寄託番号	寄託日
DNA32279-1131	209259	9/16/97
DNA33085-1110	209087	5/30/97
DNA33461-1199	209367	10/15/97
DNA33785-1143	209417	10/28/97
DNA52594-1270	209679	3/17/1998
DNA59776-1600	203128	8/18/98
DNA62377-1381-1	203552	12/22/98
DNA168061-2897	1600-PTA	3/30/2000
DNA171372-2908	1783-PTA	4/25/2000

10

これらの寄託は、特許手続き上の微生物の寄託の国際的承認に関するブダペスト条約及びその規則(ブダペスト条約)の規定に従って行われた。これは、寄託の日付から30年間、寄託の生存可能な培養が維持されることを保証するものである。寄託物はブダペスト条約の条項に従い、またジェネンテック社とATCCとの間の合意に従い、ATCCから入手することができ、これは、どれが最初であろうとも、関連した米国特許の発行時又は任意の米国又は外国特許出願の公開時に、寄託培養物の後代を永久かつ非制限的に入手可能とすることを保証し、米国特許法第122条35及びそれに従う特許庁長官規則(特に参照番号886OG638の37CFR第1.14条を含む)に従って権利を有すると米国特許庁長官が決定した者に子孫を入手可能とすることを保証するものである。

20

本出願の譲受人は、寄託した培養物が、適切な条件下で培養されていた場合に死滅もしくは損失又は破壊されたならば、材料は通知時に同一の他のものと即座に取り替えることに同意する。寄託物質の入手可能性は、特許法に従いあらゆる政府の権限下で認められた権利に違反して、本発明を実施するライセンスであるとみなされるものではない。

30

以下の材料は、後述のように公的に入手可能である。

表 8

<u>材料</u>	<u>登録番号</u>	
DNA32279	NM_006329	
DNA33085	NM_003841	
DNA33457	NM_003665	
DNA33461	NM_020997	
DNA33785	NM_006072	
DNA36725	NM_002190	10
DNA40576	NM_003266	
DNA51786	NM_000230	
DNA52594	NM_014452	
DNA59776	P_Z65071	
DNA62377	NM_013278	
DNA64882	NM_002407	
DNA69553	NM_002195	
DNA77509	NM_003212	20
DNA77512	NM_006507	
DNA81752	NM_001561	
DNA82305	NM_002580	
DNA82352	NM_002991	
DNA87994	NM_003225	

DNA88417	NM_000885	
DNA88432	NM_000888	
DNA92247	NM_004633	
DNA95930	NM_014432	
DNA99331	NM_001511	
DNA101222	NM_003263	
DNA102850	NM_000577	
DNA105792	NM_002391	10
DNA107429	NM_000758	
DNA145582	DNA145582	
DNA165608	NM_021258	
DNA166819	P_T87432	
DNA168061	P_Z60585	
DNA171372	DNA171372	
DNA188175	NM_003842	
DNA188182	NM_014143	
DNA188200	HUMTDGF3A	20
DNA188203	NM_001330	
DNA188205	NM_005214	
DNA188244	NM_006119	
DNA188270	NM_000641	
DNA188277	M15329	
DNA188278	NM_000576	
DNA188287	NM_000880	
DNA188302	NM_000245	
DNA188332	P_V19157	30
DNA188339	NM_004158	
DNA188340	AB037599	
DNA188355	NM_004591	
DNA188425	NM_002994	
DNA188448	NM_005118	
DNA194566	NM_001837	
DNA199788	NM_002990	
DNA200227	NM_003814	40
DNA27865	P_AAA54109	
DNA33094	WIF1	
DNA45416	HS159A1	
DNA48328	WNT4	
DNA50960	BD102846	

DNA80896	D26579	
DNA82319	CCL25	
DNA82352	CCL24	
DNA82363	CXCL9	
DNA82368	BC028217	
DNA83103	AL353732	
DNA83500	P_AAF4264	
DNA88002	HSU16261	
DNA92282	P_ABL88225	
DNA96934	HSIFD4	10
DNA96943	HSIFNG2	
DNA97005	BC028372	
DNA98553	HSAMAC1	
DNA102845	HSMCP3A	
DNA108715	SCYA4	
DNA108735	CCL1	
DNA164455	IL1F6	
DNA188178	AF074332	
DNA188271	IL13	
DNA188338	CXCL11	20
DNA188342	AF146761	
DNA188427	MERTK	
DNA195011	HSA251549	

【 0 1 7 7 】

6 . 2 . 実施例 2 : P R O のハイブリダイゼーションプローブとしての使用

以下の方法は、P R O をコードするヌクレオチド配列のハイブリダイゼーションプローブとしての使用について記載する。

(添付図面に示す)完全長又は成熟 P R O のコード化配列を含んでなる D N A、又はその断片を、ヒト組織 c D N A ライブラリー又はヒト組織ゲノムライブラリーにおける相同的な D N A (例えば、P R O の天然に生じる変異体をコードするもの)のスクリーニングのためのプローブとして用いる。 30

いずれかのライブラリー D N A を含むフィルターのハイブリダイゼーション及び洗浄は、以下の高ストリンジェント条件で実施した。P R O ポリペプチドをコードする遺伝子由来の放射標識プローブのフィルターへのハイブリダイゼーションは、5 0 %ホルムアルデヒド、5 x S S C、0 . 1 % S D S、0 . 1 %ピロリン酸ナトリウム、5 0 m M リン酸ナトリウム、p H 6 . 8、2 x デンハード溶液、及び 1 0 % 硫酸デキストランの溶液中で、4 2 °C において 2 0 時間行った。フィルターの洗浄は、0 . 1 x S S C 及び 0 . 1 % S D S の水溶液中、4 2 °C で行った。

ついで、完全長天然配列をコードする D N A と所望の配列同一性を有する D N A を、本技術分野で知られた標準的な方法を用いて同定できる。 40

【 0 1 7 8 】

6 . 3 . 実施例 3 : 大腸菌中での P R O の発現

この実施例は、大腸菌中での組換え発現による P R O の非グリコシル化形態の調製を例証する。

P R O をコードする D N A 配列を、選択された P C R プライマーを用いて最初に増幅した。プライマーは、選択された発現ベクターの制限酵素部位に対応する制限酵素部位を持たなければならない。種々の発現ベクターが用いられる。好適なベクターの例は、p B R 3 2 2 (大腸菌由来のもの; Bolivar 等, Gene, 2:95 (1977) 参照)であり、アンピシリン及びテトラサイクリン耐性についての遺伝子を含む。ベクターは、制限酵素で消化され、 50

脱リン酸される。PCR増幅した配列は、次いで、ベクターに結合させる。ベクターは、好ましくは抗生物質耐性遺伝子、trpプロモーター、ポリ-Hisリーダー（最初の6つのSTIIコドン、ポリ-His配列、及びエンテロキナーゼ切断部位を含む）、PROをコードする領域、ラムダ転写ターミネーター、及びargU遺伝子を含む。

ライゲーション混合物は、ついで、上掲のSambrook等に記載された方法を用いた選択した大腸菌の形質転換に使用される。形質転換体は、それらのLBプレートで成長する能力により同定され、次いで抗生物質耐性コロニーが選択される。プラスミドDNAが単離され、制限分析及びDNA配列で確認される。

選択されたクローンは、抗生物質を添加したLBブロスなどの液体培地で終夜成長させることができる。終夜培地は、続いて大規模培地の播種に用いられる。次に細胞を所望の光学密度まで成長させ、その間に発現プロモーターが作動する。

数時間の細胞培養の後、遠心分離による集菌が可能である。遠心分離で得られた細胞ペレットは、この分野で知られた種々の試薬を用いて可溶化され、次いで可溶化PROタンパク質を、タンパク質が強く結合する条件下で金属キレート化カラムを用いて精製した。

【0179】

以下の手法を用いて、ポリ-His（ポリ-ヒス）タグ形態でPROを大腸菌で発現させてもよい。PROをコードするDNAを選択したPCRプライマーを用いて最初に増幅した。プライマーは、選択された発現ベクターの制限酵素部位に対応する制限酵素部位、及び効率的で信頼性のある翻訳開始、金属キレートカラムでの迅速な精製、及びエンテロキナーゼでのタンパク質分解的除去を与える他の有用な配列を含む。次いでPCR増幅された、ポリ-Hisタグ配列を発現ベクターに結合させ、それを株52（W3110 fuhA(tonA) lon galE rpoHts(htpRts) clpP(lacIq)）に基づく大腸菌宿主の形質転換に使用した。形質転換体は、最初に50mg/mlのカルペニシリンを含有するLB中、30で振盪しながら3-5のOD、600に達するまで成長させた。ついで培地をCRAP培地（3.57gの(NH₄)₂SO₄、0.71gのクエン酸ナトリウム・2H₂O、1.07gのKCl、5.36gのDifco酵母抽出物、500mL水中の5.36gのSheffield hycase SF、並びに110mMのMPO₅、pH7.3、0.55% (w/v)のグルコース及び7mMのMgSO₄の混合で調製)中に50-100倍希釈し、30で振盪させながら約20-30時間成長させた。試料を取り出してSDS-PAGE分析により発現を確認し、バルク培地を遠心分離して細胞のペレットとした。細胞ペレットを精製及びリフォールディングまで凍結させた。

0.5から1Lの発酵（6-10gペレット）からの大腸菌ペーストを、7Mのグアニジン、20mMのトリス、pH8バッファー中で10容量(w/v)で再懸濁させた。固体硫酸ナトリウム及びテトラチオン酸ナトリウムを添加して最終濃度を各々0.1M及び0.02Mとし、溶液を4で終夜攪拌した。この工程により、すべてのシステイン残基が亜硫酸化によりブロックされた変性タンパク質がもたらされた。溶液をBeckman Ultracentrifuge中で40,000rpmで30分間濃縮した。上清を金属キレートカラムバッファー（6Mのグアニジン、20mMのトリス、pH7.4）の3-5容量で希釈し、0.22ミクロンフィルターを通して濾過して透明化した。透明化抽出物を、金属キレートカラムバッファーで平衡化させた5mlのQiagen Ni²⁺-NTA金属キレートカラムにローディングした。カラムを50mMのイミダゾール（Calbiochem, Utrol grade）を含む添加バッファー、pH7.4で洗浄した。タンパク質を250mMのイミダゾールを含有するバッファーで溶離した。所望のタンパク質を含有する画分をプールし、4で保存した。タンパク質濃度は、そのアミノ酸配列に基づいて計算した吸光係数を用いて280nmにおけるその吸収により見積もった。

【0180】

試料を、20mMのトリス、pH8.6、0.3MのNaCl、2.5Mの尿素、5mMのシステイン、20mMのグリシン及び1mMのEDTAからなる新たに調製した再生バッファー中に徐々に希釈することによりタンパク質を再生させた。リフォールディング容量は、

最終的なタンパク質濃度が50～100マイクログラム/mlとなるように選択した。リフォールディング溶液を4℃で12～36時間ゆっくり攪拌した。リフォールディング反応はTFAを最終濃度0.4%（約3のpH）で添加することにより停止させた。タンパク質をさらに精製する前に、溶液を0.22ミクロンフィルターを通して濾過し、アセトニトリルを最終濃度2～10%で添加した。再生したタンパク質を、Poros R1/H逆相カラムで、0.1% TFAの移動バッファーと10～80%のアセトニトリル勾配での溶離を用いてクロマトグラフにかけた。A₂₈₀吸収を持つ画分の一定分量をSDSポリアクリルアミドゲルで分析し、相同な再生タンパク質を含有する画分をプールした。一般的に、殆どの正しく再生したタンパク質種は、これらの種が最も緻密であり、その疎水性内面が逆相樹脂との相互作用から遮蔽されているので、アセトニトリルの最低濃度で溶離される。凝集した種は通常、より高いアセトニトリル濃度で溶離される。誤って再生したタンパク質を所望の形態から除くのに加えて、逆相工程は試料からエンドトキシンも除去する。

所望の折り畳みPROポリペプチドを含有する画分をプールし、溶液に向けた窒素の弱い気流を用いてアセトニトリルを除去した。タンパク質を、透析又は調製バッファーで平衡化したG25 Superfine (Pharmacia) 樹脂でのゲル濾過及び滅菌濾過により、0.14Mの塩化ナトリウム及び4%のマンニトールを含む20mMのHepes、pH6.8に調製した。

ここで記載されるPROポリペプチドの多くは、上述のようにして成功裏に発現され精製された。

【0181】

6.4. 実施例4：哺乳動物細胞中でのPROの発現

この実施例は、哺乳動物細胞における組み換え発現によるPROの潜在的なグリコシル化形態の調製を例示する。

発現ベクターとしてpRK5（1989年3月15日発行のEP30247を参照のこと）を用いた。場合によっては、PRO DNAを選択した制限酵素を持つpRK5に結合させ、上掲のSambrook等に記載されたようなライゲーション方法を用いてPRO DNAを挿入させる。得られたベクターは、各々pRK5-PROと呼ばれる。

一実施態様では、選択された宿主細胞は293細胞とすることができる。ヒト293細胞(ATCC CCL 1573)は、ウシ胎児血清及び場合によっては滋養成分及び/又は抗生物質を添加したDMEMなどの媒質中で組織培養プレートにおいて成長させて集密化した。約10μgのpRK5-PRO DNAを、VARNA遺伝子をコードする約1μgのDNAと混合し[Thimmappaya等, Cell, 31:543(1982)]、500μlの1mMトリス-HCl、0.1mMEDTA、0.227mM CaCl₂に溶解させた。この混合物に、500μlの50mM HEPES (pH7.35)、280mMのNaCl、1.5mMのNaPO₄を滴下添加し、25℃で10分間沈殿物を形成させた。沈殿物を懸濁し、293細胞に加えて37℃で約4時間定着させた。培養培地を吸引し、2mlのPBS中20%グリセロールを30秒間添加した。293細胞は、次いで無血清培地で洗浄し、新鮮な培地を添加し、細胞を約5日間インキュベートした。

形質移入の約24時間後、培養培地を除去し、培養培地(単独)又は200μCi/ml³⁵S-システイン及び200μCi/ml³⁵S-メチオニンを含む培養培地で置換した。12時間のインキュベーションの後、条件培地を回収し、スピンフィルターで濃縮し、15%SDSゲルに添加した。処理したゲルを乾燥させ、PROポリペプチドの存在を現すとして選択された時間にわたってフィルムにさらした。形質転換した細胞を含む培地は、更なるインキュベーションを施し(無血清培地で)、培地を選択されたバイオアッセイで試験した。

【0182】

これに換わる技術において、PROは、Somparyrac等, Proc. Natl. Acad. Sci., 12:7575 (1981)に記載された硫酸デキストラン法を用いて293細胞に一過的に導入される。293細胞は、スピナーフラスコ内で最大密度まで成長させ、700μgのpRK5-PRO DNAを添加する。細胞は、まずスピナーフラスコから遠心分離によって濃縮し、P

B Sで洗淨した。DNA - デキストラン沈殿物を細胞ペレット上で4時間インキュベートした。細胞を20%グリセロールで90秒間処理し、組織培養培地で洗淨し、組織培養培地、5 µg/mlウシインシュリン及び0.1 µg/mlウシトランスフェリンを含むスピナーフラスコに再度導入した。約4日後に、条件培地を遠心分離して濾過し、細胞及び細胞片を除去した。次いで発現されたPROを含む試料を濃縮し、透析及び/又はカラムクロマトグラフィー等の選択した方法によって精製した。

他の実施態様では、PROをCHO細胞で発現させることができる。pRK5 - PROは、CaPO₄又はDEAE - デキストランなどの公知の試薬を用いてCHO細胞に形質移入することができる。上記したように、細胞培地をインキュベートし、培地を培養培地(単独)又は³⁵S - メチオニン等の放射性標識を含む培地に置換することができる。PROポリペプチドの存在を判定した後、培養培地を無血清培地に置換してもよい。好ましくは、培地を約6日間インキュベートし、ついで条件培地を収集する。ついで、発現されたPROポリペプチドを含む培地を濃縮して、任意の選択した方法によって精製することができる。

【0183】

また、エピトープタグPROは、宿主CHO細胞において発現させてもよい。PROは、pRK5ベクターからサブクローニングした。サブクローン挿入物は、ついで、PCRを施してバキュロウイルス発現ベクター中のポリ-Hisタグ等の選択されたエピトープタグを持つ枠に融合できる。ポリ-HisタグPRO挿入物は、ついで、安定なクローンの選択のためのDHFR等の選択マーカを含むSV40誘導ベクターにサブクローニングできる。最後に、CHO細胞をSV40誘導ベクターで(上記のように)形質移入した。発現を確認するために、上記のように標識化を行ってもよい。発現されたポリ-HisタグPROを含む培養培地は、次いで濃縮し、Ni²⁺ - キレートアフィニティクロマトグラフィー等の選択された方法により精製できる。

また、PROは、一過性発現法によって、CHO及び/又はCOS細胞中で、あるいは他の安定な発現法によってCHO細胞中で発現させることもできる。

CHO細胞における安定な発現は、以下の方法を用いて実施することが可能である。タンパク質を、各タンパク質の可溶性のコード化配列(例えば、細胞外ドメイン)がヒンジ、CH2及びCH2ドメインを含むIgG1定常領域配列に融合したIgG作成物(イムノアドヘンシ)及び/又はポリ-Hisタグ形態として発現する。

PCR増幅に続いて、それぞれのDNAを、Ausubel等、Current Protocols of Molecular Biology, Unit 3.16, John Wiley and Sons (1997)に記載されたような標準的技術を用いてCHO発現ベクターにサブクローニングした。CHO発現ベクターは、対象とするDNAの5'及び3'に適合する制限部位を有し、cDNAの便利なシャトル化(Shuttling)ができるように作成される。ベクターは、Lucas等、Nucl. Acids res. 24: 9, 1774-1779 (1996)に記載されたようにCHO細胞での発現を用い、対象とするcDNA及びジヒドロフォレートレダクターゼ(DHFR)の発現の制御にSV40初期プロモーター/エンハンサーを用いる。DHFR発現は、形質移入に続くプラスミドの安定な維持のための選択を可能にする。

所望のプラスミドDNAの12マイクログラムを、市販の形質移入試薬Superfect(登録商標)(Quiagen), Dospere(登録商標)及びFugene(登録商標)(Boehringer Mannheim)を用いて約一千万のCHO細胞に導入した。細胞は、上掲のLucas等に記載されているように成長させた。約3 × 10⁷細胞を、下記のような更なる成長及び生産のためにアンプル中で凍結させた。

【0184】

プラスミドDNAを含むアンプルを水槽に配して解凍し、ボルテックスにより混合した。内容物を10mLの媒質を含む遠心管にピペットして、1000rpmで5分間遠心分離した。上清を吸引して細胞を10mLの選択培地(0.2 µm濾過PS20、5%の0.2 µm透析濾過ウシ胎児血清を添加)中に懸濁させた。次いで細胞を90mLの選択培地を含む100mlスピナーに分けた。1 - 2日後、細胞を150mLの選択成長培地を満たした250

mLスピナーに移し、37℃でインキュベートした。さらに2 - 3日後、250mL、500mL及び2000mLのスピナーを 3×10^5 細胞/mLで播種した。細胞培地を遠心分離により新鮮培地に交換し、生産培地に再懸濁させた。任意の適切なCHO培地を用いてもよいが、実際には1992年6月16日に発行された米国特許第5,122,469号に記載された生産培地を使用した。3Lの生産スピナーを 1.2×10^6 細胞/mLで播種した。0日目に、細胞数とpHを測定した。1日目に、スピナーをサンプリングし、濾過空気での散布を実施した。2日目に、スピナーをサンプリングし、温度を33℃に変え、500g/Lのグルコース及び0.6mLの10%消泡剤(例えば35%ポリジメチルシロキサンエマルジョン、Dow Corning 365 Medical Grade Emulsion)の30mLとした。生産を通して、pHは7.2近傍に調節し維持した。10日後、又は生存率が70%を下回るまで、細胞培地を遠心分離で回収して0.22 μ mフィルターを通して濾過した。濾過物は、4℃で貯蔵するか、即座に精製用カラムにローディングした。

10

ポリ-Hisタグ化コンストラクトについて、タンパク質はNi²⁺-NTAカラム(Qiagen)を用いて精製した。精製の前に、イミダゾールを条件培地に5mMの濃度まで添加した。条件培地を、0.3MのNaCl及び5mMイミダゾールを含む20mMのHepes、pH7.4バッファーで平衡化した6mLのNi²⁺-NTAカラムに4 - 5mL/分の流速で4℃においてポンプ供給した。ローディング後、カラムをさらに平衡バッファーで洗浄し、タンパク質を0.25Mイミダゾールを含む平衡バッファーで溶離した。高度に精製されたタンパク質は、続いて10mMのHepes、0.14MのNaCl及び4%のマンニトール、pH6.8を含む貯蔵バッファー中で25mLのG25 Superfine(Pharmacia)カラムを用いて脱塩し、-80℃で貯蔵した。

20

イムノアドヘシン(Fc含有)コンストラクトを以下のようにして条件培地から精製した。条件培地を、20mMのリン酸ナトリウムバッファー、pH6.8で平衡化した5mLのプロテインAカラム(Pharmacia)にポンプ供給した。ローディング後、カラムを平衡バッファーで強く洗浄した後、100mMのクエン酸、pH3.5で溶離した。溶離したタンパク質は、1mLの画分を275 μ Lの1Mトリスバッファー、pH9を含む管に回収することにより即座に中性化した。高度に精製されたタンパク質は、続いてポリ-Hisタグタンパク質について上記した貯蔵バッファー中で脱塩した。均一性はSDSポリアクリルアミドゲルで試験し、エドマン(Edman)分解によりN末端アミノ酸配列決定した。

30

ここに開示されるPROポリペプチドの多くは、上述のようにして成功裏に発現され精製された。

【0185】

6.5. 実施例5：酵母中でのPROの発現

以下の方法は、酵母中でのPROの組換え発現を記述する。

第1に、ADH2/GAPDHプロモーターからのPROの細胞内生産又は分泌のための酵母菌発現ベクターを作成する。PROをコードするDNA及びプロモーターを選択したプラスミドの適当な制限酵素部位に挿入してPROの細胞内発現を指示する。分泌のために、PROをコードするDNAを選択したプラスミドに、ADH2/GAPDHプロモーターをコードするDNA、天然PROシグナルペプチド又は他の哺乳動物シグナルペプチド、又は、例えば酵母菌アルファ因子又は転化酵素分泌シグナル/リーダー配列、及び(必要ならば)PROの発現のためのリンカー配列と共にクローニングすることができる。

40

酵母菌株AB110等の酵母菌は、ついで上記の発現プラスミドで形質転換し、選択された発酵培地中で培養できる。形質転換した酵母菌上清は、10%トリクロロ酢酸での沈降及びSDS-PAGEによる分離で分析し、次いでクマシーブルー染色でゲルの染色をすることができる。

続いて組換えPROは、発酵培地から遠心分離により酵母菌細胞を除去し、次いで選択されたカートリッジフィルターを用いて培地を濃縮することによって単離及び精製できる。PROを含む濃縮物は、選択されたカラムクロマトグラフィー樹脂を用いてさらに精製

50

してもよい。

ここに開示されるPROポリペプチドの多くは、上述のようにして成功裏に発現され精製された。

【0186】

6.6. 実施例6：バキュロウイルス感染昆虫細胞中でのPROの発現

以下の方法は、バキュロウイルス感染昆虫細胞中におけるPROの組換え発現を示す。

PROをコードする配列を、バキュロウイルス発現ベクターに含まれるエピトープタグの上流に融合させた。このようなエピトープタグは、ポリ-Hisタグ及び免疫グロブリンタグ(IgGのFc領域など)を含む。pVL1393(Navagen)などの市販されているプラスミドから誘導されるプラスミドを含む種々のプラスミドを用いることができる。簡単に述べると、PROコード化配列、又はPROのコード化配列の所望する部分(例えば膜貫通タンパク質の細胞外ドメインをコードする配列又はタンパク質が細胞外である場合の成熟タンパク質をコードする配列)が、5'及び3'領域に相補的なプライマーでのPCRにより増幅される。5'プライマーは、隣接する(選択された)制限酵素部位を包含していてもよい。生産物は、ついで、選択された制限酵素で消化され、発現ベクターにサブクローニングされる。

組換えバキュロウイルスは、上記のプラスミド及びBaculoGold(登録商標)ウイルスDNA(PharMingen)を、Spodoptera frugiperda(「Sf9」)細胞(ATCC CRL 1711)中にリポフェクチン(GIBCO-BRLから市販)を用いて同時形質移入することにより作成される。28で4-5日インキュベートした後、放出されたウイルスを回収し、更なる増幅に用いた。ウイルス感染及びタンパク質発現は、O'Reilley等, Baculovirus expression vectors: A Laboratory Manual, Oxford: Oxford University Press (1994)に記載されているように実施した。

【0187】

次に、発現されたポリ-HisタグPROは、例えばNi²⁺-キレートアフィニティークロマトグラフィーにより次のように精製される。抽出は、Rupert等, Nature, 362:175-179 (1993)に記載されているように、ウイルス感染した組み換えSf9細胞から調製した。簡単には、Sf9細胞を洗浄し、超音波処理用バッファー(25mMのHepes、pH7.9; 12.5mMのMgCl₂; 0.1mMのEDTA; 10%グリセロール; 0.1%のNP-40; 0.4MのKCl)中に再懸濁し、氷上で2回20秒間超音波処理した。超音波処理物を遠心分離で透明化し、上清をローディングバッファー(50mMリン酸塩、300mMのNaCl、10%グリセロール、pH7.8)で50倍希釈し、0.45µmフィルターで濾過した。Ni²⁺-NTAアガロースカラム(Qiagenから市販)を5mLの総容積で調製し、25mLの水で洗浄し、25mLのローディングバッファーで平衡させた。濾過した細胞抽出物は、毎分0.5mLでカラムにローディングした。カラムを、分画回収が始まる点であるA₂₈₀のベースラインまでローディングバッファーで洗浄した。次に、カラムを、結合タンパク質を非特異的に溶離する二次洗浄バッファー(50mMリン酸塩; 300mMのNaCl、10%グリセロール、pH6.0)で洗浄した。A₂₈₀のベースラインに再度到達した後、カラムを二次洗浄バッファー中で0から500mMイミダゾール勾配で展開した。1mLの分画を回収し、SDS-PAGE及び銀染色又はアルカリホスファターゼ(Qiagen)に複合したNi²⁺-NTAでのウェスタンブロットで分析した。溶離したHis₁₀-タグPROを含む画分をプールしてローディングバッファーで透析した。

あるいは、IgGタグ(又はFcタグ)PROの精製は、例えば、プロテインA又はプロテインGカラムクロマトグラフィーを含む公知のクロマトグラフィー技術を用いて実施できる。

【0188】

PCR増幅に続いて、対応するコード化配列をバキュロウイルス発現ベクター(IgG融合物に対するpb.PH.IgG及びポリ-Hisタグに対するpb.PH.His.c)にサブクローニングし、そのベクター及びBaculoGold(登録商標)バキュロウイルスDNA(PharMingen)を105スポドプテラフルギベルダ(Spodoptera frugiperda)(「Sf9」)細胞(ATCC CRL 1711)

にリポフェクチン (Gibco BRL) を用いて同時形質移入した。pb.PH.IgG及びpb.PH.Hisは、市販のパキユロウイルス発現ベクター-pVL1393 (Pharmingen) の修飾物であり、His又はFcタグ配列を含むように修飾されたポリリンカー領域を持つ。細胞を、10%のFBS (Hyclone) を添加したHinkのTNM-FH培地で成長させた。細胞は、28℃で5日間インキュベートした。上清を回収し、続いて10%FBSを添加したHinkのTNM-FH培地におけるSf9細胞感染による約10の感染効率 (MOI) での最初のウイルス増幅に用いた。細胞を28℃で3日間インキュベートした。上清を回収し、パキユロウイルス発現ベクターにおける作成物の発現を、1mlの上清の25mLのヒスチジンタグタンパク質用のNi²⁺-NTAビーズ (QIAGEN) 又はIgGタグタンパク質用のプロテイン A セファロースCL-4Bビーズ (Pharmacia) へのバッチ結合、次いでクマシーブルー染色により周知の濃度のタンパク質標準と比較するSDS-PAGE分析により測定した。

10

第1の増幅ウイルス上清をESF-921培地 (Expression Systems LLC) で成長させたSf9細胞のスピナー培地 (500ml) の約0.1のMOIでの感染に使用した。細胞は28℃で3日間インキュベートした。上清を回収して濾過した。バッチ結合及びSDS-PAGE分析を、スピナー培地の発現が確認されるまで、必要に応じて繰り返した。

形質移入細胞からの条件培地 (0.5~3L) を、遠心分離により細胞を除去し0.22ミクロンフィルターを通して濾過することにより回収した。ポリ-Hisタグ化コンストラクトについては、タンパク質索生物をNi²⁺-NTAカラム (Qiagen) を用いて精製した。精製前に、イミダゾールを条件培地に5mMの濃度まで添加した。条件培地を、0.3MのNaCl及び5mMのイミダゾールを含む20mMのHepes, pH7.4バッファーで平衡化した6mlのNi²⁺-NTAカラムに4-5ml/分の流速及び4℃でポンプ供給した。ローディング後、カラムをさらに平衡バッファーで洗浄し、タンパク質を0.25Mイミダゾールを含む平衡バッファーで溶離した。高度に精製されたタンパク質は、続いて10mMのHepes、0.14MのNaCl及び4%のマンニトールを含む貯蔵バッファー、pH6.8中で25mlのG25 Superfine (Pharmacia) カラムを用いて脱塩し、-80℃で貯蔵した。

20

【0189】

タンパク質のイムノアドヘシン (Fc含有) コンストラクトを以下のようにして条件培地から精製した。条件培地を、20mMのリン酸ナトリウムバッファー、pH6.8で平衡化した5mlのプロテイン A カラム (Pharmacia) にポンプ供給した。ローディング後、カラムを平衡バッファーで強く洗浄した後、100mMのクエン酸、pH3.5で溶離した。溶離したタンパク質は、1mlの画分を275mLの1Mトリスバッファー、pH9を含む管に回収することにより即座に中性化した。高度に精製されたタンパク質は、続いてポリ-Hisタグタンパク質について上記したように貯蔵バッファー中で脱塩した。タンパク質の均一性はSDSポリアクリルアミドゲル (PEG) 電気泳動及びエドマン (Edman) 分解によるN-末端アミノ酸配列決定により評価できる。

30

あるいは、修飾パキユロウイルス法をhigh5細胞取り込みに使用してもよい。この方法では、所望の配列をコードするDNAは、Pfu (Stratagene) 等の適当な系で増幅されても、又はパキユロウイルス発現ベクターに含まれるエピトープタグの上流 (5'-) に融合させてもよい。このようなエピトープタグは、ポリ-Hisタグ及び免疫グロブリンタグ (IgGのFc領域等) を含む。種々のプラスミドを用いることができ、pIE1-1 (Novagen) 等の市販のプラスミドから誘導されたプラスミドを含む。pIE1-1及びpIE1-2ベクターは、安定に形質転換された昆虫細胞 (1) におけるパキユロウイルスie1プロモーターからの組換えタンパク質の構成的発現のために設計される。このプラスミドは複数のクローニング部位の方向においてのみ相違し、未感染昆虫細胞におけるie1媒介遺伝子発現に重要であることが知られた全てのプロモーター配列並びにhr5エンハンサー成分を含む。pIE1-1及びpIE1-2は翻訳開始部位を含み、融合タンパク質の製造に使用できる。簡単には、所望の配列又は配列の所望の部分 (膜貫通タンパク質の細胞外ドメインをコードする配列など) を、5'及び3'領域に相補的なプライマーでのPCRにより増幅する。5'プライマーは隣接する (選択された) 制限酵素部位を導入してもよい。生成物は、次いで、選択された制限酵素で消化されて発現ベクターにサブクロ

40

50

ーニングされる。例えば、p I E 1 - 1 の誘導体は、ヒト I g G (p b . P H . I g G) の F c 領域又は所望の配列の下流の 8 ヒスチジン (p b . P H . H i s) タグ (3 ' -) を含むことができる。好ましくは、ベクター作成物は確認のために配列決定される。

【 0 1 9 0 】

H i g h - 5 細胞を、27℃、CO₂ 無し、pen / strep 無しの条件下で 50% の集密度まで成長させた。150 mm プレート各々について、配列を含む 30 μg の p I E ベースベクターを 1 ml の E x - 細胞培地 (媒質 : E x - 細胞 4 0 1 + 1 / 1 0 0 の L - G l u J R H B i o s c i e n c e s # 1 4 4 0 1 - 7 8 P (注 : この媒質は光感受性)) と混合し、別の管において、100 μl のセルフェクチン (C e l l F E C T I N (G i b c o B R L # 1 0 3 6 2 - 0 1 0) (ボルテックスで混合)) を 1 ml の E x - 細胞培地と混合した。2つの溶液を混合し、室温で 15 分間インキュベートした。8 ml の E x - 細胞培地を 2 ml の D N A / セルフェクチン混合物に添加し、E x - 細胞培地で 1 回洗浄した h i g h - 5 細胞上に層形成させた。次いでプレートを暗室室温で 1 時間インキュベートした。次いで D N A / セルフェクチン混合物を吸引し、細胞を E x - 細胞で 1 回洗浄して過剰のセルフェクチンを除去した。30 ml の新鮮な E x - 細胞培地を添加し、細胞を 28℃ で 3 日間インキュベートした。上清を回収して、バキュロウイルス発現ベクターでの配列の発現を、1 ml の上清の 25 mL のヒスチジntagタンパク質用の Ni²⁺ - N T A ビーズ (Q I A G E N) 又は I g G タグタンパク質用のプロテイン A セファロース C L - 4 B ビーズ (P h a r m a c i a) へのバッチ結合、次いでクマシーブルー染色により周知の濃度のタンパク質標準と比較する S D S - P A G E 分析により測定した。

形質移入細胞からの条件培地 (0 . 5 ~ 3 L) を、遠心分離により細胞を除去し、0 . 22 ミクロンフィルターを通して濾過することにより回収した。ポリ-Hisタグ化コンストラクトについては、タンパク質作成物を Ni²⁺ - N T A カラム (Q i a g e n) を用いて精製した。精製前に、イミダゾールを条件培地に 5 mM の濃度まで添加した。条件培地を、0 . 3 M の N a C l 及び 5 mM イミダゾールを含む 20 mM の H e p e s , p H 7 . 4 バッファーで平衡化した 6 ml の Ni²⁺ - N T A カラムに 4 - 5 ml / 分の流速及び 48℃ でポンプ供給した。ローディング後、カラムをさらに平衡バッファーで洗浄し、タンパク質を 0.25M イミダゾールを含む平衡バッファーで溶離した。高度に精製されたタンパク質は、続いて 10 mM の H e p e s , 0 . 1 4 M の N a C l 及び 4 % のマンニトールを含む貯蔵バッファー, p H 6 . 8 中で 25 ml の G 2 5 S u p e r f i n e (P h a r m a c i a) カラムを用いて脱塩し、- 80℃ で貯蔵した。

タンパク質のイムノアドヘンシ (Fc 含有) 作成物を以下のようにして条件培地から精製した。条件培地を、20 mM のリン酸ナトリウムバッファー, p H 6 . 8 で平衡化した 5 ml のプロテイン A カラム (P h a r m a c i a) に充填した。ローディング後、カラムを平衡バッファーで強く洗浄した後、100mM のクエン酸, p H 3.5 で溶離した。溶離したタンパク質は、1 ml の画分を 275 ml の 1 M トリスバッファー, p H 9 を含むチューブに回収することにより即座に中和した。高度に精製されたタンパク質は、続いて、ポリ - H i s タグタンパク質について上記したように、貯蔵バッファー中で脱塩した。配列の均一性は S D S ポリアクリルアミドゲル及びエドマン (E d m a n) 分解による N - 末端アミノ酸配列決定及び所望又は必要に応じて他の分析手法により評価できる。

ここに開示の P R O ポリペプチドの多くが、上記の方法により成功裏に発現された。

【 0 1 9 1 】

6 . 7 . 実施例 7 : P R O に結合する抗体の調製

この実施例は、他のポリペプチド又はポリペプチドエピトープには実質的に全く結合することなく、P R O ポリペプチド、又は P R O ポリペプチド上のエピトープに対して特異的に結合できるモノクローナル抗体の調製を例示する。

モノクローナル抗体の生産のための技術は、この分野で知られており、例えば、上掲の Goding に記載されている。使用することができる免疫原には、精製 P R O , P R O を含む融合タンパク質、及び細胞表面上に組換え P R O を発現する細胞が含まれる。免疫原の選択は、当業者が過度の実験をすることなくすることができる。

B a l b / c 等のマウスを、完全フロイントアジュバントに乳化して皮下又は腹腔内に 1 - 1 0 0 マイクログラムで注入した P R O 免疫原で免疫化する。あるいは、免疫原を M P L - T D M アジュバント (Ribi Immunochemical Research, Hamilton, MT) に乳化し、動物の後足蹠に注入してもよい。免疫化したマウスは、次いで 1 0 から 1 2 日後に、選択したアジュバント中に乳化した付加的免疫源で追加免疫する。その後、数週間、マウスをさらなる免疫化注射で追加免疫する。抗 P R O 抗体の検出のための E L I S A アッセイで試験するために、レトロオービタル出血からの血清試料をマウスから周期的に採取してもよい。

適当な抗体力価が検出された後、抗体に「ポジティブ (陽性)」な動物に、P R O の静脈内注射の最後の注入をすることができる。3 から 4 日後、マウスを屠殺し、脾臓細胞を取り出した。次いで脾臓細胞を (3 5 % ポリエチレングリコールを用いて)、A T C C から番号 C R L 1 5 9 7 で入手可能な P 3 X 6 3 A g U . 1 等の選択されたマウス骨髄腫株化細胞に融合させた。融合によりハイブリドーマ細胞が生成され、次いで、H A T (ヒポキサンチン、アミノプテリン、及びチミジン) 培地を含む 9 6 ウェル組織培養プレートに蒔き、非融合細胞、骨髄腫ハイブリッド、及び脾臓細胞ハイブリッドの増殖を阻害した。

ハイブリドーマ細胞は、P R O に対する反応性についての E L I S A でスクリーニングされる。P R O に対する所望のモノクローナル抗体を分泌する「ポジティブ (陽性)」ハイブリドーマ細胞の決定は、技術常識の範囲内である。

陽性ハイブリドーマ細胞を同系の B a l b / c マウスに腹腔内注入し、抗 P R O モノクローナル抗体を含む腹水を生成する。あるいは、ハイブリドーマ細胞を、組織培養フラスコ又はローラーボトル内で成長させることもできる。腹水中に生成されたモノクローナル抗体の精製は、硫酸アンモニウム沈降、それに続くゲル排除クロマトグラフィー - を用いて行うことができる。あるいは、抗体のプロテイン A 又はプロテイン G に対する親和性に基づくアフィニティクロマトグラフィーを用いることもできる。

【 0 1 9 2 】

6 . 8 . 実施例 8 : 特異的抗体を用いた P R O ポリペプチドの精製

天然又は組換え P R O ポリペプチドは、この分野の種々の標準的なタンパク質精製方法によって精製できる。例えば、プロ-P R O ポリペプチド、成熟ポリペプチド、又はプレ-P R O ポリペプチドは、対象の P R O ポリペプチドに特異的な抗体を用いた免疫親和性クロマトグラフィーによって精製される。一般に、免疫親和性カラムは抗 P R O ポリペプチド抗体を活性化クロマトグラフィー樹脂に共有結合させて作製される。

ポリクローナル免疫グロブリンは、硫酸アンモニウムでの沈殿又は固定化プロテイン A (Pharmacia LKB Biotechnology, Piscataway, N.J.) での精製のいずれかにより免疫血清から調製される。同様に、モノクローナル抗体は、硫酸アンモニウム沈殿又は固定化プロテイン A でのクロマトグラフィーによりマウス腹水液から調製される。部分的に精製された免疫グロブリンは、C n B r - 活性化 S E P H A R O S E ^{T M} (Pharmacia LKB Biotechnology) 等のクロマトグラフィー樹脂に共有結合される。抗体が樹脂に結合され、樹脂がブロックされ、誘導体樹脂は製造者の指示に従って洗浄される。

このような免疫親和性カラムは、可溶化形態の P R O ポリペプチドを含有する細胞からの画分を調製することによる P R O ポリペプチドの精製において利用される。この調製物は、洗浄剤の添加又はこの分野で公知の方法により微分遠心分離を介して得られる全細胞又は細胞成分画分の可溶化により誘導される。あるいは、シグナル配列を含む可溶化 P R O ポリペプチドは、細胞が成長する培地中に有用な量で分泌される。

可溶化 P R O ポリペプチド含有調製物は、免疫親和性カラムを通され、カラムは P R O ポリペプチドの好ましい吸着をさせる条件下 (例えば、洗浄剤存在下の高イオン強度バッファー) で洗浄される。ついで、カラムは、抗体 / P R O ポリペプチド結合を分解する条件下 (例えば、約 2 - 3 といった低 pH、高濃度の尿素又はチオシアン酸イオン等のカオトロップ) で溶離され、P R O ポリペプチドが回収される。

【 0 1 9 3 】

6 . 9 . 実施例 9 : 薬物スクリーニング

本発明は、PROポリペプチド又はその結合断片を種々の薬物スクリーニング技術に使用することによる化合物のスクリーニングにとって特に有用である。そのような試験に用いられるPROポリペプチド又は断片は、溶液中の自由状態でも、固体支持体に固定されても、細胞表面に担持されていても、或いは細胞内に位置していてもよい。薬剤スクリーニングの1つの方法では、PROポリペプチド又は断片を発現する組換え核酸で安定に形質移入される真核生物又は原核生物宿主細胞を利用する。薬剤は、そのような形質移入細胞に対して、競合的結合アッセイによってスクリーニングされる。生存可能又は固定化形態のいずれかによって、このような細胞は標準的な結合アッセイで使用できる。例えば、PROポリペプチド又は断片と試験される試薬の間での複合体の形成を測定できる。あるいは、試験する試薬によって生ずるPROポリペプチドとその標的細胞又は標的レセプターとの間の複合体形成における減少を試験することもできる。

従って、本発明は、PROポリペプチド関連疾患又は障害に影響を与えうる薬剤又は任意の他の試薬のスクリーニング方法を提供する。これらの方法は、当該技術分野に周知の方法により、その試薬をPROポリペプチド又は断片に接触させ、(I)試薬とPROポリペプチド又は断片との間の複合体の存在について、又は(ii)PROポリペプチド又は断片と細胞との間の複合体の存在について、検定することを含む。これらの競合結合アッセイでは、PROポリペプチド又は断片が典型的には標識される。適切なインキュベーションの後、自由なPROポリペプチド又は断片を結合形態のものから分離し、自由又は未複合の標識の量が、特定の試薬のPROポリペプチドに対する結合能又はPROポリペプチド/細胞複合体の阻害能力の尺度となる。

【0194】

薬剤スクリーニングのための他の技術は、ポリペプチドに対して適当な結合親和性を持つ化合物についての高スループットスクリーニングを提供し、1984年9月13日に公開されたWO84/03564に詳細に記載されている。簡単に述べると、多数の異なる小型ペプチド試験化合物が、プラスチックピン等の固体支持体又は幾つかの他の表面上で合成される。PROポリペプチドに適用すると、ペプチド試験化合物はPROポリペプチドと反応して洗浄される。結合したPROポリペプチドはこの分野で良く知られた方法により検出される。精製したPROポリペプチドは、上記の薬剤スクリーニング技術に使用するためにプレート上に直接被覆することもできる。さらに、非中和抗体は、ペプチドを捕捉し、それを固体支持体上に固定化するのに使用できる。

また、本発明は、PROポリペプチドに結合可能な中和抗体が、PROポリペプチド又はその断片について試験化合物と特異的に競合する競合薬剤スクリーニングアッセイも考慮する。この方法において、抗体は、PROポリペプチドと1つ又は複数の抗原決定基を共有する任意のペプチドの存在を検出するのに使用できる。

【0195】

6.10. 実施例10：合理的薬物設計

合理的薬物設計の目的は、対象とする生物学的活性ポリペプチド（即ち、PROポリペプチド）又はそれらが相互作用する小分子、例えばアゴニスト、アンタゴニスト、又はインヒビターの構造的類似物を製造することである。これらの例の任意のものが、PROポリペプチドのより活性で安定な形態又はインビボでPROポリペプチドの機能を促進又は阻害する薬物の創作に使用できる（参考、Hodgson, Bio/Technology, 9: 19-21 (1991)）。

1つの方法において、PROポリペプチド、又はPROポリペプチドインヒビター複合体の三次元構造が、X線結晶学により、コンピュータモデル化により、最も典型的には2つの方法の組み合わせにより決定される。分子の構造を解明し活性部位を決定するためには、PROポリペプチドの形状及び電荷の両方が確認されなければならない。数は少ないが、PROポリペプチドの構造に関する有用な情報が相同タンパク質の構造に基づいたモデル化によって得られることもある。両方の場合において、関連する構造情報は、類似PROポリペプチド様分子の設計又は効果的なインヒビターの同定に使用される。合理的な薬剤設計の有用な例は、Braxton及びWells, Biochemistry, 31: 7796-7801 (1992)に示さ

れているような向上した活性又は安定性を持つ分子、又はAthaudaら, J. Biochem., 113: 742-746 (1993)に示されているような天然ペプチドのインヒビター、アゴニスト、又はアンタゴニストとして作用する分子を含む。

また、上記のような機能アッセイによって選択された標的特異的な抗体を単離しその結晶構造を解明することもできる。この方法は、原理的には、その後の薬剤設計の基礎となるファーマコア(pharmacore)を生成する。機能的で、薬理的に活性な抗体に対する抗イディオタイプ抗体(抗ids)を生成することにより、タンパク質結晶学をバイパスすることができる。鏡像の鏡像として、抗idsの結合部位は最初のレセプターの類似物であると予測できる。抗idsは、次いで、化学的又は生物学的に製造したペプチドのバンクからペプチドを同定及び単離するのに使用できる。単離されたペプチドは、ファーマコアとして機能するであろう。

本発明によって、X線結晶学などの分析実験を実施するために十分な量のPROポリペプチドが入手可能である。さらに、ここに提供したPROポリペプチドアミノ酸配列の知識は、X線結晶学に代わる又はそれに加わるコンピュータモデル化技術を用いる者にガイダンスを提供する。

【0196】

6.11. 実施例11: PRO mRNA発現の定量的分析

このアッセイでは、5'ヌクレアーゼアッセイ(例えばTaqMan(登録商標))及びリアルタイムでの定量的PCR(例えばABI Prism(登録商標)7700配列検出システム(Applied Biosystems, カリフォルニア州フォスターシティ))を使用して、正常非IBD組織と比較してIBDに過剰発現する遺伝子を検出した。5'ヌクレアーゼアッセイ反応は、Taq DNAポリメラーゼ酵素の5'エクソヌクレアーゼ活性を利用してリアルタイムで遺伝子発現をモニターする蛍光PCRに基づく技術である。2つのオリゴヌクレオチドプライマー(その配列は対象の遺伝子に基づいている)を使用してPCR反応の単位複製配列の典型を生成した。第3のオリゴヌクレオチド、又はプローブは、2つのPCRプライマーの間に位置するヌクレオチド配列を検出するように設計されている。プローブは、Taq DNAポリメラーゼ酵素による拡張ができないもので、リポーター蛍光染料及びクエンチャー蛍光染料により標識される。2つの染料がプローブ上で互いに接近して位置するとき、リポーター染料からのいかなるレーザー誘導放出もクエンチング染料により消失する。PCR増幅の間、Taq DNAポリメラーゼ酵素はテンプレートに依存してプローブを切断する。結果として得られたプローブ断片は、溶液中で分解し、解放されたりポーター染料からのシグナルに対する第2のフルオロフォアのクエンチング効果が無くなる。新規分子を合成する毎にリポーター染料の1分子が解放され、消失していないリポーター染料を検出することによりデータの定量的理解の基礎が提供される。

5'ヌクレアーゼ法をABI Prism(登録商標)7700配列検出システムなどのリアルタイム定量PCR装置で実行した。該システムは、サーマルサイクラー、レーザー、電荷結合素子(CCD)カメラ及びコンピューターからなる。システムは、サーマルサイクラーの96ウェル構成において試料を増幅する。増幅の間、96ウェルすべてについて、光ファイバーケーブルによりレーザー誘導蛍光シグナルをリアルタイムで回収し、CCDで検出した。システムは機器の動作及びデータの分析のためのソフトウェアを含む。

【0197】

まず、5'ヌクレアーゼアッセイデータは C_t 、又は閾サイクル数と表される。これは、レポーターシグナルが蛍光発光の背景強度を超えて蓄積するサイクル数と定義される。

C_t の値を、内部基準($GAPDH$ 転写)と比較したときの核酸試料における特定の標的配列の開始コピーの相対数の定量的測定値として使用した。 C_t は、 $C_t = C_{t \text{ gene1 in sample1}} - C_{t \text{ GAPDH in sample1}}$ と計算される。これは、異なる試料のmRNA濃度の差異を制御する。6つの正常な結腸RNA試料から得たデータを平均し、次いでGAPDHを基準として使用して C_t を計算した。

C_t の値を、正常な結腸RNAの結果とIBDの結腸RNAの結果を比較したときの核酸試料における特定の標的配列の開始コピーの相対数の定量的測定値として使用した

10

20

30

40

50

。 C_t は、正常結腸 mRNA のシグナルを疾病 mRNA のシグナルから差し引くことにより計算した。 $C_t = C_t^{disease} - C_t^{normal}$ 。累乗の差異は 2^{-C_t} と計算された。1つの C_t 単位が 1 PCR サイクル、又は正常に対して約 2 倍の相対的増加に対応するので、2 単位は 4 倍の相対的増加に、3 単位は 8 倍の相対的増加に、といった様に対応し、2 つ以上の異なる組織間における mRNA 発現の相対的な累乗増加を定量的に測定できる。

この技術を使用して、正常非 IBD 組織と比較した場合に IBD 試料の 1 / 3 よりも多くに有意に過剰発現（累乗の差異 1.5（正常に対する IBD））又は過少発現（累乗の差異 0.5（正常に対する IBD））するものとして以下にリストアップする分子が同定された。別の分析では、遺伝子が UC、CD 及び正常群に共通の C_t 値を有するという仮定の下に生の C_t 値を Kruskal-Wallis 検定により分析した。遺伝子を Kruskal-Wallis 統計的スコアによりランク付けした。スコアが大きい程、群間で発現に差異が生じることを示す。このように同定された遺伝子は、哺乳動物における IBD の診断と治療のための良好他ポリペプチド標的となる。

【 0 1 9 8 】

分子	発現が上方制御されたもの	対照	
DNA 9 2 2 4 7	潰瘍性大腸炎及びクローン病	対応する正常結腸組織	
DNA 1 8 8 4 2 5	潰瘍性大腸炎及びクローン病	対応する正常結腸組織	
DNA 1 8 8 2 8 7	潰瘍性大腸炎	対応する正常結腸組織	
DNA 1 8 8 3 3 2	潰瘍性大腸炎及びクローン病	対応する正常結腸組織	20
DNA 8 7 9 9 4	潰瘍性大腸炎及びクローン病	対応する正常結腸組織	
DNA 1 8 8 2 7 8	潰瘍性大腸炎	対応する正常結腸組織	
DNA 9 9 3 3 1	潰瘍性大腸炎及びクローン病	対応する正常結腸組織	
DNA 6 4 8 8 2	潰瘍性大腸炎	対応する正常結腸組織	
DNA 1 8 8 2 7 7	潰瘍性大腸炎	対応する正常結腸組織	
DNA 1 8 8 1 8 2	潰瘍性大腸炎及びクローン病	対応する正常結腸組織	
DNA 1 0 5 7 9 2	潰瘍性大腸炎及びクローン病	対応する正常結腸組織	
DNA 5 9 7 7 6	潰瘍性大腸炎	対応する正常結腸組織	
DNA 6 2 3 7 7	潰瘍性大腸炎	対応する正常結腸組織	
DNA 1 8 8 3 5 5	潰瘍性大腸炎及びクローン病	対応する正常結腸組織	30
DNA 1 7 1 3 7 2	潰瘍性大腸炎	対応する正常結腸組織	
DNA 1 8 8 3 0 2	潰瘍性大腸炎及びクローン病	対応する正常結腸組織	
DNA 8 8 4 3 2	潰瘍性大腸炎及びクローン病	対応する正常結腸組織	
DNA 5 1 7 8 6	潰瘍性大腸炎	対応する正常結腸組織	
DNA 9 5 9 3 0	潰瘍性大腸炎	対応する正常結腸組織	
DNA 1 8 8 2 0 5	潰瘍性大腸炎	対応する正常結腸組織	
DNA 7 7 5 0 9	潰瘍性大腸炎	対応する正常結腸組織	
DNA 4 0 5 7 6	潰瘍性大腸炎	対応する正常結腸組織	
DNA 3 3 4 6 1	潰瘍性大腸炎及びクローン病	対応する正常結腸組織	
DNA 3 3 0 8 5	潰瘍性大腸炎	対応する正常結腸組織	40
DNA 3 2 2 7 9	潰瘍性大腸炎	対応する正常結腸組織	
DNA 6 9 5 3 3	潰瘍性大腸炎	対応する正常結腸組織	
DNA 1 8 8 4 4 8	潰瘍性大腸炎	対応する正常結腸組織	
DNA 1 0 2 8 5 0	潰瘍性大腸炎	対応する正常結腸組織	
DNA 1 9 4 5 6 6	潰瘍性大腸炎及びクローン病	対応する正常結腸組織	
DNA 7 7 5 1 2	潰瘍性大腸炎及びクローン病	対応する正常結腸組織	
DNA 3 3 7 8 5	潰瘍性大腸炎	対応する正常結腸組織	
DNA 8 2 3 5 2	潰瘍性大腸炎及びクローン病	対応する正常結腸組織	
DNA 1 8 8 3 4 0	潰瘍性大腸炎	対応する正常結腸組織	
DNA 1 8 8 2 0 3	潰瘍性大腸炎	対応する正常結腸組織	50

DNA145582	潰瘍性大腸炎	対応する正常結腸組織	
DNA88417	潰瘍性大腸炎	対応する正常結腸組織	
DNA101222	潰瘍性大腸炎	対応する正常結腸組織	
DNA199788	潰瘍性大腸炎	対応する正常結腸組織	
DNA166819	潰瘍性大腸炎	対応する正常結腸組織	
DNA81752	潰瘍性大腸炎	対応する正常結腸組織	
DNA188270	潰瘍性大腸炎	対応する正常結腸組織	
DNA82305	潰瘍性大腸炎	対応する正常結腸組織	
DNA107429	潰瘍性大腸炎	対応する正常結腸組織	
DNA168061	潰瘍性大腸炎	対応する正常結腸組織	10
DNA33457	潰瘍性大腸炎	対応する正常結腸組織	
DNA36725	潰瘍性大腸炎	対応する正常結腸組織	
DNA188200	潰瘍性大腸炎	対応する正常結腸組織	
DNA45416	潰瘍性大腸炎	対応する正常結腸組織	
DNA80896	潰瘍性大腸炎	対応する正常結腸組織	
DNA82352	潰瘍性大腸炎	対応する正常結腸組織	
DNA82363	潰瘍性大腸炎	対応する正常結腸組織	
DNA82368	潰瘍性大腸炎	対応する正常結腸組織	
DNA83103	潰瘍性大腸炎及びクローン病	対応する正常結腸組織	
DNA83500	潰瘍性大腸炎	対応する正常結腸組織	20
DNA88002	潰瘍性大腸炎	対応する正常結腸組織	
DNA92282	潰瘍性大腸炎	対応する正常結腸組織	
DNA96934	潰瘍性大腸炎及びクローン病	対応する正常結腸組織	
DNA96943	潰瘍性大腸炎	対応する正常結腸組織	
DNA97005	クローン病	対応する正常結腸組織	
DNA98553	潰瘍性大腸炎	対応する正常結腸組織	
DNA102845	潰瘍性大腸炎	対応する正常結腸組織	
DNA108735	潰瘍性大腸炎	対応する正常結腸組織	
DNA164455	潰瘍性大腸炎	対応する正常結腸組織	
DNA188178	潰瘍性大腸炎	対応する正常結腸組織	30
DNA188271	潰瘍性大腸炎	対応する正常結腸組織	
DNA188338	潰瘍性大腸炎	対応する正常結腸組織	
DNA188342	潰瘍性大腸炎	対応する正常結腸組織	
DNA188427	潰瘍性大腸炎	対応する正常結腸組織	
DNA195011	潰瘍性大腸炎及びクローン病	対応する正常結腸組織	
DNA188244	クローン病	対応する正常結腸組織	
DNA165608	クローン病	対応する正常結腸組織	
DNA188339	クローン病	対応する正常結腸組織	
DNA188175	クローン病	対応する正常結腸組織	
【0199】			40
分子	発現が下方制御されたもの	対照	
DNA51786	クローン病	対応する正常結腸組織	
DNA52594	クローン病	対応する正常結腸組織	
DNA200227	潰瘍性大腸炎及びクローン病	対応する正常結腸組織	
DNA27865	クローン病	対応する正常結腸組織	
DNA33094	潰瘍性大腸炎	対応する正常結腸組織	
DNA48328	潰瘍性大腸炎	対応する正常結腸組織	
DNA50960	潰瘍性大腸炎	対応する正常結腸組織	
DNA82319	潰瘍性大腸炎	対応する正常結腸組織	
DNA97005	潰瘍性大腸炎	対応する正常結腸組織	50

DNA108715

潰瘍性大腸炎

対応する正常結腸組織

【0200】

上記の文書による明細書は、当業者に本発明を実施できるようにするために十分であると考えられる。開示した実施形態は、本発明の一面の一例として意図されており、機能的に等価なあらゆる作成物がこの発明の範囲内にあるため、寄託された作成物により、本発明の範囲が限定されるものではない。ここでの材料の寄託は、ここに含まれる文書による説明が、そのベストモードを含む、本発明の任意の側面の実施を可能にするために不十分であることを認めるものではないし、それが表す特定の例証に請求の範囲を制限すると解釈されるものでもない。実際、ここに示し記載したものに加え、本発明に様々な改変が可能であることは、前記の記載から当業者にとっては明らかなものであり、そのような改変は請求の範囲内に入るものである。

10

【0201】

実施態様

1. (a) 図2 (配列番号: 2), 図4 (配列番号: 4), 図6 (配列番号: 6), 図8 (配列番号: 8), 図10 (配列番号: 10), 図12 (配列番号: 12), 図14 (配列番号: 14), 図16 (配列番号: 16), 図18 (配列番号: 18), 図20 (配列番号: 20), 図22 (配列番号: 22), 図24 (配列番号: 24), 図26 (配列番号: 26), 図28 (配列番号: 28), 図30 (配列番号: 30), 図32 (配列番号: 32), 図34 (配列番号: 34), 図36 (配列番号: 36), 図38 (配列番号: 38), 図40 (配列番号: 40), 図42 (配列番号: 42), 図44 (配列番号: 44), 図46 (配列番号: 46), 図48 (配列番号: 48), 図50 (配列番号: 50), 図52 (配列番号: 52), 図54 (配列番号: 54), 図56 (配列番号: 56), 図58 (配列番号: 58), 図60 (配列番号: 60), 図62 (配列番号: 62), 図64 (配列番号: 64), 図66 (配列番号: 66), 図68 (配列番号: 68), 図70 (配列番号: 70), 図72 (配列番号: 72), 図74 (配列番号: 74), 図76 (配列番号: 76), 図78 (配列番号: 78), 図80 (配列番号: 80), 図82 (配列番号: 82), 図84 (配列番号: 84), 図86 (配列番号: 86), 図88 (配列番号: 88), 図90 (配列番号: 90), 図92 (配列番号: 92), 図94 (配列番号: 94), 図96 (配列番号: 96), 図98 (配列番号: 98), 図100 (配列番号: 100), 図102 (配列番号: 102), 図104 (配列番号: 104), 図106 (配列番号: 106), 図108 (配列番号: 108), 図110 (配列番号: 110), 図112 (配列番号: 112), 図114 (配列番号: 114), 図116 (配列番号: 116), 図118 (配列番号: 118), 図120 (配列番号: 120), 図122 (配列番号: 122), 図124 (配列番号: 124), 図126 (配列番号: 126), 図128 (配列番号: 128), 図130 (配列番号: 130), 図132 (配列番号: 132), 図134 (配列番号: 134), 図136 (配列番号: 136), 図138 (配列番号: 138), 図140 (配列番号: 140), 図142 (配列番号: 142), 図144 (配列番号: 144), 図146 (配列番号: 146), 図148 (配列番号: 148), 図150 (配列番号: 150), 図152 (配列番号: 152), 図154 (配列番号: 154), 図156 (配列番号: 156), 図158 (配列番号: 158), 図160 (配列番号: 160), 又は 図162 (配列番号: 162) 中に示されるアミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列;

20

30

40

(b) 関連するシグナルペプチドを欠いており、図2 (配列番号: 2), 図4 (配列番号: 4), 図6 (配列番号: 6), 図8 (配列番号: 8), 図10 (配列番号: 10), 図12 (配列番号: 12), 図14 (配列番号: 14), 図16 (配列番号: 16), 図18 (配列番号: 18), 図20 (配列番号: 20), 図22 (配列番号: 22), 図24 (配列番号: 24), 図26 (配列番号: 26), 図28 (配列番号: 28), 図30 (配列番号: 30), 図32 (配列番号: 32), 図34 (配列番号: 34), 図36 (配列番号: 36), 図38 (配列番号: 38), 図40 (配列番号: 40), 図42 (配列番号: 42), 図44 (配列番号: 44), 図46 (配列番号: 46), 図48 (配列番号: 48), 図50 (配列番号: 50), 図52 (配列番号: 52), 図54 (配列番号: 54), 図56 (

50

配列番号：56), 図58 (配列番号：58), 図60 (配列番号：60), 図62 (配列番号：62), 図64 (配列番号：64), 図66 (配列番号：66), 図68 (配列番号：68), 図70 (配列番号：70), 図72 (配列番号：72), 図74 (配列番号：74), 図76 (配列番号：76), 図78 (配列番号：78), 図80 (配列番号：80), 図82 (配列番号：82), 図84 (配列番号：84), 図86 (配列番号：86), 図88 (配列番号：88), 図90 (配列番号：90), 図92 (配列番号：92), 図94 (配列番号：94), 図96 (配列番号：96), 図98 (配列番号：98), 図100 (配列番号：100), 図102 (配列番号：102), 図104 (配列番号：104), 図106 (配列番号：106), 図108 (配列番号：108), 図110 (配列番号：110), 図112 (配列番号：112), 図114 (配列番号：114), 図116 (配列番号：116), 図118 (配列番号：118), 図120 (配列番号：120), 図122 (配列番号：122), 図124 (配列番号：124), 図126 (配列番号：126), 図128 (配列番号：128), 図130 (配列番号：130), 図132 (配列番号：132), 図134 (配列番号：134), 図136 (配列番号：136), 図138 (配列番号：138), 図140 (配列番号：140), 図142 (配列番号：142), 図144 (配列番号：144), 図146 (配列番号：146), 図148 (配列番号：148), 図150 (配列番号：150), 図152 (配列番号：152), 図154 (配列番号：154), 図156 (配列番号：156), 図158 (配列番号：158), 図160 (配列番号：160), 又は 図162 (配列番号：162)中に示されるアミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列；

10

20

(c) 関連するシグナルペプチドを有し、図2 (配列番号：2), 図4 (配列番号：4), 図6 (配列番号：6), 図8 (配列番号：8), 図10 (配列番号：10), 図12 (配列番号：12), 図14 (配列番号：14), 図16 (配列番号：16), 図18 (配列番号：18), 図20 (配列番号：20), 図22 (配列番号：22), 図24 (配列番号：24), 図26 (配列番号：26), 図28 (配列番号：28), 図30 (配列番号：30), 図32 (配列番号：32), 図34 (配列番号：34), 図36 (配列番号：36), 図38 (配列番号：38), 図40 (配列番号：40), 図42 (配列番号：42), 図44 (配列番号：44), 図46 (配列番号：46), 図48 (配列番号：48), 図50 (配列番号：50), 図52 (配列番号：52), 図54 (配列番号：54), 図56 (配列番号：56), 図58 (配列番号：58), 図60 (配列番号：60), 図62 (配列番号：62), 図64 (配列番号：64), 図66 (配列番号：66), 図68 (配列番号：68), 図70 (配列番号：70), 図72 (配列番号：72), 図74 (配列番号：74), 図76 (配列番号：76), 図78 (配列番号：78), 図80 (配列番号：80), 図82 (配列番号：82), 図84 (配列番号：84), 図86 (配列番号：86), 図88 (配列番号：88), 図90 (配列番号：90), 図92 (配列番号：92), 図94 (配列番号：94), 図96 (配列番号：96), 図98 (配列番号：98), 図100 (配列番号：100), 図102 (配列番号：102), 図104 (配列番号：104), 図106 (配列番号：106), 図108 (配列番号：108), 図110 (配列番号：110), 図112 (配列番号：112), 図114 (配列番号：114), 図116 (配列番号：116), 図118 (配列番号：118), 図120 (配列番号：120), 図122 (配列番号：122), 図124 (配列番号：124), 図126 (配列番号：126), 図128 (配列番号：128), 図130 (配列番号：130), 図132 (配列番号：132), 図134 (配列番号：134), 図136 (配列番号：136), 図138 (配列番号：138), 図140 (配列番号：140), 図142 (配列番号：142), 図144 (配列番号：144), 図146 (配列番号：146), 図148 (配列番号：148), 図150 (配列番号：150), 図152 (配列番号：152), 図154 (配列番号：154), 図156 (配列番号：156), 図158 (配列番号：158), 図160 (配列番号：160), 又は 図162 (配列番号：162)中に示されるポリペプチドの細胞外ドメインをコードするヌクレオチド配列；

30

40

(d) 関連するシグナルペプチドを欠いており、図2 (配列番号：2), 図4 (配列番号

50

号：4)，図6（配列番号：6），図8（配列番号：8），図10（配列番号：10），図12（配列番号：12），図14（配列番号：14），図16（配列番号：16），図18（配列番号：18），図20（配列番号：20），図22（配列番号：22），図24（配列番号：24），図26（配列番号：26），図28（配列番号：28），図30（配列番号：30），図32（配列番号：32），図34（配列番号：34），図36（配列番号：36），図38（配列番号：38），図40（配列番号：40），図42（配列番号：42），図44（配列番号：44），図46（配列番号：46），図48（配列番号：48），図50（配列番号：50），図52（配列番号：52），図54（配列番号：54），図56（配列番号：56），図58（配列番号：58），図60（配列番号：60），図62（配列番号：62），図64（配列番号：64），図66（配列番号：66），図68（配列番号：68），図70（配列番号：70），図72（配列番号：72），図74（配列番号：74），図76（配列番号：76），図78（配列番号：78），図80（配列番号：80），図82（配列番号：82），図84（配列番号：84），図86（配列番号：86），図88（配列番号：88），図90（配列番号：90），図92（配列番号：92），図94（配列番号：94），図96（配列番号：96），図98（配列番号：98），図100（配列番号：100），図102（配列番号：102），図104（配列番号：104），図106（配列番号：106），図108（配列番号：108），図110（配列番号：110），図112（配列番号：112），図114（配列番号：114），図116（配列番号：116），図118（配列番号：118），図120（配列番号：120），図122（配列番号：122），図124（配列番号：124），図126（配列番号：126），図128（配列番号：128），図130（配列番号：130），図132（配列番号：132），図134（配列番号：134），図136（配列番号：136），図138（配列番号：138），図140（配列番号：140），図142（配列番号：142），図144（配列番号：144），図146（配列番号：146），図148（配列番号：148），図150（配列番号：150），図152（配列番号：152），図154（配列番号：154），図156（配列番号：156），図158（配列番号：158），図160（配列番号：160），又は図162（配列番号：162）中に示されるポリペプチドの細胞外ドメインをコードするヌクレオチド配列；

(e) 図1（配列番号：1），図3（配列番号：3），図5（配列番号：5），図7（配列番号：7），図9（配列番号：9），図11（配列番号：11），図13（配列番号：13），図15（配列番号：15），図17（配列番号：17），図19（配列番号：19），図21（配列番号：21），図23（配列番号：23），図25（配列番号：25），図27（配列番号：27），図29（配列番号：29），図31（配列番号：31），図33（配列番号：33），図35（配列番号：35），図37（配列番号：37），図39（配列番号：39），図41（配列番号：41），図43（配列番号：43），図45（配列番号：45），図47（配列番号：47），図49（配列番号：49），図51（配列番号：51），図53（配列番号：53），図55（配列番号：55），図57（配列番号：57），図59（配列番号：59），図61（配列番号：61），図63（配列番号：63），図65（配列番号：65），図67（配列番号：67），図69（配列番号：69），図71（配列番号：71），図73（配列番号：73），図75A - 75B（配列番号：75），図77（配列番号：77），図79（配列番号：79），図81（配列番号：81），図83（配列番号：83），図85（配列番号：85），図87（配列番号：87），図89（配列番号：89），図91（配列番号：91），図93（配列番号：93），図95（配列番号：95），図97（配列番号：97），図99（配列番号：99），図101（配列番号：101），図103（配列番号：103），図105（配列番号：105）中に示されるヌクレオチド配列；

(f) 図1（配列番号：1），図3（配列番号：3），図5（配列番号：5），図7（配列番号：7），図9（配列番号：9），図11（配列番号：11），図13（配列番号：13），図15（配列番号：15），図17（配列番号：17），図19（配列番号：19），図21（配列番号：21），図23（配列番号：23），図25（配列番号：25），図2

10

20

30

40

50

7 (配列番号: 27), 図29 (配列番号: 29), 図31 (配列番号: 31), 図33 (配列番号: 33), 図35 (配列番号: 35), 図37 (配列番号: 37), 図39 (配列番号: 39), 図41 (配列番号: 41), 図43 (配列番号: 43), 図45 (配列番号: 45), 図47 (配列番号: 47), 図49 (配列番号: 49), 図51 (配列番号: 51), 図53 (配列番号: 53), 図55 (配列番号: 55), 図57 (配列番号: 57), 図59 (配列番号: 59), 図61 (配列番号: 61), 図63 (配列番号: 63), 図65 (配列番号: 65), 図67 (配列番号: 67), 図69 (配列番号: 69), 図71 (配列番号: 71), 図73 (配列番号: 73), 図s 75A - 75B (配列番号: 75), 図77 (配列番号: 77), 図79 (配列番号: 79), 図81 (配列番号: 81), 図83 (配列番号: 83), 図85 (配列番号: 85), 図87 (配列番号: 87), 図89 (配列番号: 89), 図91 (配列番号: 91), 図93 (配列番号: 93), 図95 (配列番号: 95), 図97 (配列番号: 97), 図99 (配列番号: 99), 図101 (配列番号: 101), 図103 (配列番号: 103), 図105 (配列番号: 105), 図107 (配列番号: 107), 図109 (配列番号: 109), 図111 (配列番号: 111), 図113 (配列番号: 113), 図115 (配列番号: 115), 図117 (配列番号: 117), 図119 (配列番号: 119), 図121 (配列番号: 121), 図123 (配列番号: 123), 図125 (配列番号: 125), 図127 (配列番号: 127), 図129 (配列番号: 129), 図131 (配列番号: 131), 図133 (配列番号: 133), 図135 (配列番号: 135), 図137 (配列番号: 137), 図139 (配列番号: 139), 図141 (配列番号: 141), 図143 (配列番号: 143), 図145 (配列番号: 145), 図147 (配列番号: 147), 図149 (配列番号: 149), 図151 (配列番号: 151), 図153 (配列番号: 153), 図155 (配列番号: 155), 図157 (配列番号: 157), 図159 (配列番号: 159), 図161 (配列番号: 161)中に示されるヌクレオチド配列の完全長コード化配列;

(g)表7に示すATCC登録番号のいずれかの下に登録されているか、又は表8に示す登録番号の下に利用可能なcDNAの完全長コード化配列; 或いは

(h)(a)、(b)、(c)、(d)、(e)、(f)又は(g)の相補鎖と少なくとも80%の核酸配列同一性を有する単離された核酸。

2. (a)図2 (配列番号: 2), 図4 (配列番号: 4), 図6 (配列番号: 6), 図8 (配列番号: 8), 図10 (配列番号: 10), 図12 (配列番号: 12), 図14 (配列番号: 14), 図16 (配列番号: 16), 図18 (配列番号: 18), 図20 (配列番号: 20), 図22 (配列番号: 22), 図24 (配列番号: 24), 図26 (配列番号: 26), 図28 (配列番号: 28), 図30 (配列番号: 30), 図32 (配列番号: 32), 図34 (配列番号: 34), 図36 (配列番号: 36), 図38 (配列番号: 38), 図40 (配列番号: 40), 図42 (配列番号: 42), 図44 (配列番号: 44), 図46 (配列番号: 46), 図48 (配列番号: 48), 図50 (配列番号: 50), 図52 (配列番号: 52), 図54 (配列番号: 54), 図56 (配列番号: 56), 図58 (配列番号: 58), 図60 (配列番号: 60), 図62 (配列番号: 62), 図64 (配列番号: 64), 図66 (配列番号: 66), 図68 (配列番号: 68), 図70 (配列番号: 70), 図72 (配列番号: 72), 図74 (配列番号: 74), 図76 (配列番号: 76), 図78 (配列番号: 78), 図80 (配列番号: 80), 図82 (配列番号: 82), 図84 (配列番号: 84), 図86 (配列番号: 86), 図88 (配列番号: 88), 図90 (配列番号: 90), 図92 (配列番号: 92), 図94 (配列番号: 94), 図96 (配列番号: 96), 図98 (配列番号: 98), 図100 (配列番号: 100), 図102 (配列番号: 102), 図104 (配列番号: 104), 図106 (配列番号: 106), 図108 (配列番号: 108), 図110 (配列番号: 110), 図112 (配列番号: 112), 図114 (配列番号: 114), 図116 (配列番号: 116), 図118 (配列番号: 118), 図120 (配列番号: 120), 図122 (配列番号: 122), 図124 (配列番号: 124), 図126 (配列番号: 126), 図128 (配列番号: 128), 図130 (配列番号: 130), 図132 (配列番号: 132), 図134 (配列番号: 134), 図

10

20

30

40

50

1 3 6 (配列番号: 1 3 6), 図 1 3 8 (配列番号: 1 3 8), 図 1 4 0 (配列番号: 1 4 0), 図 1 4 2 (配列番号: 1 4 2), 図 1 4 4 (配列番号: 1 4 4), 図 1 4 6 (配列番号: 1 4 6), 図 1 4 8 (配列番号: 1 4 8), 図 1 5 0 (配列番号: 1 5 0), 図 1 5 2 (配列番号: 1 5 2), 図 1 5 4 (配列番号: 1 5 4), 図 1 5 6 (配列番号: 1 5 6), 図 1 5 8 (配列番号: 1 5 8), 図 1 6 0 (配列番号: 1 6 0), 又は 図 1 6 2 (配列番号: 1 6 2) 中に示されるアミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列;

(b) 関連するシグナルペプチドを欠いており、図 2 (配列番号: 2), 図 4 (配列番号: 4), 図 6 (配列番号: 6), 図 8 (配列番号: 8), 図 1 0 (配列番号: 1 0), 図 1 2 (配列番号: 1 2), 図 1 4 (配列番号: 1 4), 図 1 6 (配列番号: 1 6), 図 1 8 (配列番号: 1 8), 図 2 0 (配列番号: 2 0), 図 2 2 (配列番号: 2 2), 図 2 4 (配列番号: 2 4), 図 2 6 (配列番号: 2 6), 図 2 8 (配列番号: 2 8), 図 3 0 (配列番号: 3 0), 図 3 2 (配列番号: 3 2), 図 3 4 (配列番号: 3 4), 図 3 6 (配列番号: 3 6), 図 3 8 (配列番号: 3 8), 図 4 0 (配列番号: 4 0), 図 4 2 (配列番号: 4 2), 図 4 4 (配列番号: 4 4), 図 4 6 (配列番号: 4 6), 図 4 8 (配列番号: 4 8), 図 5 0 (配列番号: 5 0), 図 5 2 (配列番号: 5 2), 図 5 4 (配列番号: 5 4), 図 5 6 (配列番号: 5 6), 図 5 8 (配列番号: 5 8), 図 6 0 (配列番号: 6 0), 図 6 2 (配列番号: 6 2), 図 6 4 (配列番号: 6 4), 図 6 6 (配列番号: 6 6), 図 6 8 (配列番号: 6 8), 図 7 0 (配列番号: 7 0), 図 7 2 (配列番号: 7 2), 図 7 4 (配列番号: 7 4), 図 7 6 (配列番号: 7 6), 図 7 8 (配列番号: 7 8), 図 8 0 (配列番号: 8 0), 図 8 2 (配列番号: 8 2), 図 8 4 (配列番号: 8 4), 図 8 6 (配列番号: 8 6), 図 8 8 (配列番号: 8 8), 図 9 0 (配列番号: 9 0), 図 9 2 (配列番号: 9 2), 図 9 4 (配列番号: 9 4), 図 9 6 (配列番号: 9 6), 図 9 8 (配列番号: 9 8), 図 1 0 0 (配列番号: 1 0 0), 図 1 0 2 (配列番号: 1 0 2), 図 1 0 4 (配列番号: 1 0 4), 図 1 0 6 (配列番号: 1 0 6), 図 1 0 8 (配列番号: 1 0 8), 図 1 1 0 (配列番号: 1 1 0), 図 1 1 2 (配列番号: 1 1 2), 図 1 1 4 (配列番号: 1 1 4), 図 1 1 6 (配列番号: 1 1 6), 図 1 1 8 (配列番号: 1 1 8), 図 1 2 0 (配列番号: 1 2 0), 図 1 2 2 (配列番号: 1 2 2), 図 1 2 4 (配列番号: 1 2 4), 図 1 2 6 (配列番号: 1 2 6), 図 1 2 8 (配列番号: 1 2 8), 図 1 3 0 (配列番号: 1 3 0), 図 1 3 2 (配列番号: 1 3 2), 図 1 3 4 (配列番号: 1 3 4), 図 1 3 6 (配列番号: 1 3 6), 図 1 3 8 (配列番号: 1 3 8), 図 1 4 0 (配列番号: 1 4 0), 図 1 4 2 (配列番号: 1 4 2), 図 1 4 4 (配列番号: 1 4 4), 図 1 4 6 (配列番号: 1 4 6), 図 1 4 8 (配列番号: 1 4 8), 図 1 5 0 (配列番号: 1 5 0), 図 1 5 2 (配列番号: 1 5 2), 図 1 5 4 (配列番号: 1 5 4), 図 1 5 6 (配列番号: 1 5 6), 図 1 5 8 (配列番号: 1 5 8), 図 1 6 0 (配列番号: 1 6 0), 又は 図 1 6 2 (配列番号: 1 6 2) 中に示されるアミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列;

(c) 関連するシグナルペプチドを有し、図 2 (配列番号: 2), 図 4 (配列番号: 4), 図 6 (配列番号: 6), 図 8 (配列番号: 8), 図 1 0 (配列番号: 1 0), 図 1 2 (配列番号: 1 2), 図 1 4 (配列番号: 1 4), 図 1 6 (配列番号: 1 6), 図 1 8 (配列番号: 1 8), 図 2 0 (配列番号: 2 0), 図 2 2 (配列番号: 2 2), 図 2 4 (配列番号: 2 4), 図 2 6 (配列番号: 2 6), 図 2 8 (配列番号: 2 8), 図 3 0 (配列番号: 3 0), 図 3 2 (配列番号: 3 2), 図 3 4 (配列番号: 3 4), 図 3 6 (配列番号: 3 6), 図 3 8 (配列番号: 3 8), 図 4 0 (配列番号: 4 0), 図 4 2 (配列番号: 4 2), 図 4 4 (配列番号: 4 4), 図 4 6 (配列番号: 4 6), 図 4 8 (配列番号: 4 8), 図 5 0 (配列番号: 5 0), 図 5 2 (配列番号: 5 2), 図 5 4 (配列番号: 5 4), 図 5 6 (配列番号: 5 6), 図 5 8 (配列番号: 5 8), 図 6 0 (配列番号: 6 0), 図 6 2 (配列番号: 6 2), 図 6 4 (配列番号: 6 4), 図 6 6 (配列番号: 6 6), 図 6 8 (配列番号: 6 8), 図 7 0 (配列番号: 7 0), 図 7 2 (配列番号: 7 2), 図 7 4 (配列番号: 7 4), 図 7 6 (配列番号: 7 6), 図 7 8 (配列番号: 7 8), 図 8 0 (配列番号: 8 0), 図 8 2 (配列番号: 8 2), 図 8 4 (配列番号: 8 4), 図 8 6 (配列番号: 8 6), 図 8 8 (配列番号: 8 8), 図 9 0 (配列番号: 9 0), 図 9 2 (配列番号: 9 2), 図 9 4 (配列番号: 9 4)

10

20

30

40

50

: 94), 図96 (配列番号: 96), 図98 (配列番号: 98), 図100 (配列番号: 100), 図102 (配列番号: 102), 図104 (配列番号: 104), 図106 (配列番号: 106), 図108 (配列番号: 108), 図110 (配列番号: 110), 図112 (配列番号: 112), 図114 (配列番号: 114), 図116 (配列番号: 116), 図118 (配列番号: 118), 図120 (配列番号: 120), 図122 (配列番号: 122), 図124 (配列番号: 124), 図126 (配列番号: 126), 図128 (配列番号: 128), 図130 (配列番号: 130), 図132 (配列番号: 132), 図134 (配列番号: 134), 図136 (配列番号: 136), 図138 (配列番号: 138), 図140 (配列番号: 140), 図142 (配列番号: 142), 図144 (配列番号: 144), 図146 (配列番号: 146), 図148 (配列番号: 148), 図150 (配列番号: 150), 図152 (配列番号: 152), 図154 (配列番号: 154), 図156 (配列番号: 156), 図158 (配列番号: 158), 図160 (配列番号: 160), 又は 図162 (配列番号: 162)中に示されるポリペプチドの細胞外ドメインをコードするヌクレオチド配列;

(d) 関連するシグナルペプチドを欠いており、図2 (配列番号: 2), 図4 (配列番号: 4), 図6 (配列番号: 6), 図8 (配列番号: 8), 図10 (配列番号: 10), 図12 (配列番号: 12), 図14 (配列番号: 14), 図16 (配列番号: 16), 図18 (配列番号: 18), 図20 (配列番号: 20), 図22 (配列番号: 22), 図24 (配列番号: 24), 図26 (配列番号: 26), 図28 (配列番号: 28), 図30 (配列番号: 30), 図32 (配列番号: 32), 図34 (配列番号: 34), 図36 (配列番号: 36), 図38 (配列番号: 38), 図40 (配列番号: 40), 図42 (配列番号: 42), 図44 (配列番号: 44), 図46 (配列番号: 46), 図48 (配列番号: 48), 図50 (配列番号: 50), 図52 (配列番号: 52), 図54 (配列番号: 54), 図56 (配列番号: 56), 図58 (配列番号: 58), 図60 (配列番号: 60), 図62 (配列番号: 62), 図64 (配列番号: 64), 図66 (配列番号: 66), 図68 (配列番号: 68), 図70 (配列番号: 70), 図72 (配列番号: 72), 図74 (配列番号: 74), 図76 (配列番号: 76), 図78 (配列番号: 78), 図80 (配列番号: 80),

図82 (配列番号: 82), 図84 (配列番号: 84), 図86 (配列番号: 86), 図88 (配列番号: 88), 図90 (配列番号: 90), 図92 (配列番号: 92), 図94 (配列番号: 94), 図96 (配列番号: 96), 図98 (配列番号: 98), 図100 (配列番号: 100), 図102 (配列番号: 102), 図104 (配列番号: 104), 図106 (配列番号: 106), 図108 (配列番号: 108), 図110 (配列番号: 110), 図112 (配列番号: 112), 図114 (配列番号: 114), 図116 (配列番号: 116), 図118 (配列番号: 118), 図120 (配列番号: 120), 図122 (配列番号: 122), 図124 (配列番号: 124), 図126 (配列番号: 126), 図128 (配列番号: 128), 図130 (配列番号: 130), 図132 (配列番号: 132), 図134 (配列番号: 134), 図136 (配列番号: 136), 図138 (配列番号: 138), 図140 (配列番号: 140), 図142 (配列番号: 142), 図144 (配列番号: 144), 図146 (配列番号: 146), 図148 (配列番号: 148), 図150 (配列番号: 150), 図152 (配列番号: 152), 図154 (配列番号: 154), 図156 (配列番号: 156), 図158 (配列番号: 158), 図160 (配列番号: 160), 又は 図162 (配列番号: 162)中に示されるポリペプチドの細胞外ドメインをコードするヌクレオチド配列;

(e) 図1 (配列番号: 1), 図3 (配列番号: 3), 図5 (配列番号: 5), 図7 (配列番号: 7), 図9 (配列番号: 9), 図11 (配列番号: 11), 図13 (配列番号: 13), 図15 (配列番号: 15), 図17 (配列番号: 17), 図19 (配列番号: 19), 図21 (配列番号: 21), 図23 (配列番号: 23), 図25 (配列番号: 25), 図27 (配列番号: 27), 図29 (配列番号: 29), 図31 (配列番号: 31), 図33 (配列番号: 33), 図35 (配列番号: 35), 図37 (配列番号: 37), 図39 (配列番号: 39), 図41 (配列番号: 41), 図43 (配列番号: 43), 図45 (配列番号

10

20

30

40

50

: 45), 図47 (配列番号: 47), 図49 (配列番号: 49), 図51 (配列番号: 51), 図53 (配列番号: 53), 図55 (配列番号: 55), 図57 (配列番号: 57), 図59 (配列番号: 59), 図61 (配列番号: 61), 図63 (配列番号: 63), 図65 (配列番号: 65), 図67 (配列番号: 67), 図69 (配列番号: 69), 図71 (配列番号: 71), 図73 (配列番号: 73), 図75A - 75B (配列番号: 75), 図77 (配列番号: 77), 図79 (配列番号: 79), 図81 (配列番号: 81), 図83 (配列番号: 83), 図85 (配列番号: 85), 図87 (配列番号: 87), 図89 (配列番号: 89), 図91 (配列番号: 91), 図93 (配列番号: 93), 図95 (配列番号: 95), 図97 (配列番号: 97), 図99 (配列番号: 99), 図101 (配列番号: 101), 図103 (配列番号: 103), 図105 (配列番号: 105), 図107 (配列番号: 107), 図109 (配列番号: 109), 図111 (配列番号: 111), 図113 (配列番号: 113), 図115 (配列番号: 115), 図117 (配列番号: 117), 図119 (配列番号: 119), 図121 (配列番号: 121), 図123 (配列番号: 123), 図125 (配列番号: 125), 図127 (配列番号: 127), 図129 (配列番号: 129), 図131 (配列番号: 131), 図133 (配列番号: 133), 図135 (配列番号: 135), 図137 (配列番号: 137), 図139 (配列番号: 139), 図141 (配列番号: 141), 図143 (配列番号: 143), 図145 (配列番号: 145), 図147 (配列番号: 147), 図149 (配列番号: 149), 図151 (配列番号: 151), 図153 (配列番号: 153), 図155 (配列番号: 155), 図157 (配列番号: 157), 図159 (配列番号: 159), 図161 (配列番号: 161)中に示されるヌクレオチド配列;

(f) 図1 (配列番号: 1), 図3 (配列番号: 3), 図5 (配列番号: 5), 図7 (配列番号: 7), 図9 (配列番号: 9), 図11 (配列番号: 11), 図13 (配列番号: 13), 図15 (配列番号: 15), 図17 (配列番号: 17), 図19 (配列番号: 19), 図21 (配列番号: 21), 図23 (配列番号: 23), 図25 (配列番号: 25), 図27 (配列番号: 27), 図29 (配列番号: 29), 図31 (配列番号: 31), 図33 (配列番号: 33), 図35 (配列番号: 35), 図37 (配列番号: 37), 図39 (配列番号: 39), 図41 (配列番号: 41), 図43 (配列番号: 43), 図45 (配列番号: 45), 図47 (配列番号: 47), 図49 (配列番号: 49), 図51 (配列番号: 51), 図53 (配列番号: 53), 図55 (配列番号: 55), 図57 (配列番号: 57), 図59 (配列番号: 59), 図61 (配列番号: 61), 図63 (配列番号: 63), 図65 (配列番号: 65), 図67 (配列番号: 67), 図69 (配列番号: 69), 図71 (配列番号: 71), 図73 (配列番号: 73), 図s 75A - 75B (配列番号: 75), 図77 (配列番号: 77), 図79 (配列番号: 79), 図81 (配列番号: 81), 図83 (配列番号: 83), 図85 (配列番号: 85), 図87 (配列番号: 87), 図89 (配列番号: 89), 図91 (配列番号: 91), 図93 (配列番号: 93), 図95 (配列番号: 95), 図97 (配列番号: 97), 図99 (配列番号: 99), 図101 (配列番号: 101), 図103 (配列番号: 103), 図105 (配列番号: 105), 図107 (配列番号: 107), 図109 (配列番号: 109), 図111 (配列番号: 111), 図113 (配列番号: 113), 図115 (配列番号: 115), 図117 (配列番号: 117), 図119 (配列番号: 119), 図121 (配列番号: 121), 図123 (配列番号: 123), 図125 (配列番号: 125), 図127 (配列番号: 127), 図129 (配列番号: 129), 図131 (配列番号: 131), 図133 (配列番号: 133), 図135 (配列番号: 135), 図137 (配列番号: 137), 図139 (配列番号: 139), 図141 (配列番号: 141), 図143 (配列番号: 143), 図145 (配列番号: 145), 図147 (配列番号: 147), 図149 (配列番号: 149), 図151 (配列番号: 151), 図153 (配列番号: 153), 図155 (配列番号: 155), 図157 (配列番号: 157), 図159 (配列番号: 159), 図161 (配列番号: 161)中に示されるヌクレオチド配列の完全長コード化配列;

(g) 表7に示すATCC登録番号のいずれかの下に登録されているか、又は表8に示

す登録番号の下に利用可能な c D N A の完全長コード化配列 ; 或いは

(h) (a)、(b)、(c)、(d)、(e)、(f) 又は (g) の相補鎖を含む単離された核酸。

3 . (a) 図 2 (配列番号 : 2) , 図 4 (配列番号 : 4) , 図 6 (配列番号 : 6) , 図 8 (配列番号 : 8) , 図 1 0 (配列番号 : 1 0) , 図 1 2 (配列番号 : 1 2) , 図 1 4 (配列番号 : 1 4) , 図 1 6 (配列番号 : 1 6) , 図 1 8 (配列番号 : 1 8) , 図 2 0 (配列番号 : 2 0) , 図 2 2 (配列番号 : 2 2) , 図 2 4 (配列番号 : 2 4) , 図 2 6 (配列番号 : 2 6) , 図 2 8 (配列番号 : 2 8) , 図 3 0 (配列番号 : 3 0) , 図 3 2 (配列番号 : 3 2) , 図 3 4 (配列番号 : 3 4) , 図 3 6 (配列番号 : 3 6) , 図 3 8 (配列番号 : 3 8) , 図 4 0 (配列番号 : 4 0) , 図 4 2 (配列番号 : 4 2) , 図 4 4 (配列番号 : 4 4) , 図 4 6 (配列番号 : 4 6) , 図 4 8 (配列番号 : 4 8) , 図 5 0 (配列番号 : 5 0) , 図 5 2 (配列番号 : 5 2) , 図 5 4 (配列番号 : 5 4) , 図 5 6 (配列番号 : 5 6) , 図 5 8 (配列番号 : 5 8) , 図 6 0 (配列番号 : 6 0) , 図 6 2 (配列番号 : 6 2) , 図 6 4 (配列番号 : 6 4) , 図 6 6 (配列番号 : 6 6) , 図 6 8 (配列番号 : 6 8) , 図 7 0 (配列番号 : 7 0) , 図 7 2 (配列番号 : 7 2) , 図 7 4 (配列番号 : 7 4) , 図 7 6 (配列番号 : 7 6) , 図 7 8 (配列番号 : 7 8) , 図 8 0 (配列番号 : 8 0) , 図 8 2 (配列番号 : 8 2) , 図 8 4 (配列番号 : 8 4) , 図 8 6 (配列番号 : 8 6) , 図 8 8 (配列番号 : 8 8) , 図 9 0 (配列番号 : 9 0) , 図 9 2 (配列番号 : 9 2) , 図 9 4 (配列番号 : 9 4) , 図 9 6 (配列番号 : 9 6) , 図 9 8 (配列番号 : 9 8) , 図 1 0 0 (配列番号 : 1 0 0) , 図 1 0 2 (配列番号 : 1 0 2) , 図 1 0 4 (配列番号 : 1 0 4) , 図 1 0 6 (配列番号 : 1 0 6) , 図 1 0 8 (配列番号 : 1 0 8) , 図 1 1 0 (配列番号 : 1 1 0) , 図 1 1 2 (配列番号 : 1 1 2) , 図 1 1 4 (配列番号 : 1 1 4) , 図 1 1 6 (配列番号 : 1 1 6) , 図 1 1 8 (配列番号 : 1 1 8) , 図 1 2 0 (配列番号 : 1 2 0) , 図 1 2 2 (配列番号 : 1 2 2) , 図 1 2 4 (配列番号 : 1 2 4) , 図 1 2 6 (配列番号 : 1 2 6) , 図 1 2 8 (配列番号 : 1 2 8) , 図 1 3 0 (配列番号 : 1 3 0) , 図 1 3 2 (配列番号 : 1 3 2) , 図 1 3 4 (配列番号 : 1 3 4) , 図 1 3 6 (配列番号 : 1 3 6) , 図 1 3 8 (配列番号 : 1 3 8) , 図 1 4 0 (配列番号 : 1 4 0) , 図 1 4 2 (配列番号 : 1 4 2) , 図 1 4 4 (配列番号 : 1 4 4) , 図 1 4 6 (配列番号 : 1 4 6) , 図 1 4 8 (配列番号 : 1 4 8) , 図 1 5 0 (配列番号 : 1 5 0) , 図 1 5 2 (配列番号 : 1 5 2) , 図 1 5 4 (配列番号 : 1 5 4) , 図 1 5 6 (配列番号 : 1 5 6) , 図 1 5 8 (配列番号 : 1 5 8) , 図 1 6 0 (配列番号 : 1 6 0) , 又は 図 1 6 2 (配列番号 : 1 6 2) 中に示されるアミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列 ;

(b) 関連するシグナルペプチドを欠いており、図 2 (配列番号 : 2) , 図 4 (配列番号 : 4) , 図 6 (配列番号 : 6) , 図 8 (配列番号 : 8) , 図 1 0 (配列番号 : 1 0) , 図 1 2 (配列番号 : 1 2) , 図 1 4 (配列番号 : 1 4) , 図 1 6 (配列番号 : 1 6) , 図 1 8 (配列番号 : 1 8) , 図 2 0 (配列番号 : 2 0) , 図 2 2 (配列番号 : 2 2) , 図 2 4 (配列番号 : 2 4) , 図 2 6 (配列番号 : 2 6) , 図 2 8 (配列番号 : 2 8) , 図 3 0 (配列番号 : 3 0) , 図 3 2 (配列番号 : 3 2) , 図 3 4 (配列番号 : 3 4) , 図 3 6 (配列番号 : 3 6) , 図 3 8 (配列番号 : 3 8) , 図 4 0 (配列番号 : 4 0) , 図 4 2 (配列番号 : 4 2) , 図 4 4 (配列番号 : 4 4) , 図 4 6 (配列番号 : 4 6) , 図 4 8 (配列番号 : 4 8) , 図 5 0 (配列番号 : 5 0) , 図 5 2 (配列番号 : 5 2) , 図 5 4 (配列番号 : 5 4) , 図 5 6 (配列番号 : 5 6) , 図 5 8 (配列番号 : 5 8) , 図 6 0 (配列番号 : 6 0) , 図 6 2 (配列番号 : 6 2) , 図 6 4 (配列番号 : 6 4) , 図 6 6 (配列番号 : 6 6) , 図 6 8 (配列番号 : 6 8) , 図 7 0 (配列番号 : 7 0) , 図 7 2 (配列番号 : 7 2) , 図 7 4 (配列番号 : 7 4) , 図 7 6 (配列番号 : 7 6) , 図 7 8 (配列番号 : 7 8) , 図 8 0 (配列番号 : 8 0) , 図 8 2 (配列番号 : 8 2) , 図 8 4 (配列番号 : 8 4) , 図 8 6 (配列番号 : 8 6) , 図 8 8 (配列番号 : 8 8) , 図 9 0 (配列番号 : 9 0) , 図 9 2 (配列番号 : 9 2) , 図 9 4 (配列番号 : 9 4) , 図 9 6 (配列番号 : 9 6) , 図 9 8 (配列番号 : 9 8) , 図 1 0 0 (配列番号 : 1 0 0) , 図 1 0 2 (配列番号 : 1 0 2) , 図 1 0 4 (配列番号 : 1 0 4) , 図 1 0 6 (配列番号 : 1 0 6) , 図 1 0 8 (配列番号 : 1 0 8) , 図 1 1 0 (配列番号 : 1 1 0) , 図 1 1 2 (配列番号 : 1 1 2) , 図 1 1 4 (配列番号 : 1 1 4) , 図 1 1 6 (配列番号

: 116), 図118 (配列番号: 118), 図120 (配列番号: 120), 図122 (配列番号: 122), 図124 (配列番号: 124), 図126 (配列番号: 126), 図128 (配列番号: 128), 図130 (配列番号: 130), 図132 (配列番号: 132), 図134 (配列番号: 134), 図136 (配列番号: 136), 図138 (配列番号: 138), 図140 (配列番号: 140), 図142 (配列番号: 142), 図144 (配列番号: 144), 図146 (配列番号: 146), 図148 (配列番号: 148), 図150 (配列番号: 150), 図152 (配列番号: 152), 図154 (配列番号: 154), 図156 (配列番号: 156), 図158 (配列番号: 158), 図160 (配列番号: 160), 又は 図162 (配列番号: 162)中に示されるアミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列;

10

(c) 関連するシグナルペプチドを有し、図2 (配列番号: 2), 図4 (配列番号: 4), 図6 (配列番号: 6), 図8 (配列番号: 8), 図10 (配列番号: 10), 図12 (配列番号: 12), 図14 (配列番号: 14), 図16 (配列番号: 16), 図18 (配列番号: 18), 図20 (配列番号: 20), 図22 (配列番号: 22), 図24 (配列番号: 24), 図26 (配列番号: 26), 図28 (配列番号: 28), 図30 (配列番号: 30), 図32 (配列番号: 32), 図34 (配列番号: 34), 図36 (配列番号: 36), 図38 (配列番号: 38), 図40 (配列番号: 40), 図42 (配列番号: 42), 図44 (配列番号: 44), 図46 (配列番号: 46), 図48 (配列番号: 48), 図50 (配列番号: 50), 図52 (配列番号: 52), 図54 (配列番号: 54), 図56 (配列番号: 56), 図58 (配列番号: 58), 図60 (配列番号: 60), 図62 (配列番号: 62), 図64 (配列番号: 64), 図66 (配列番号: 66), 図68 (配列番号: 68), 図70 (配列番号: 70), 図72 (配列番号: 72), 図74 (配列番号: 74), 図76 (配列番号: 76), 図78 (配列番号: 78), 図80 (配列番号: 80), 図82 (配列番号: 82), 図84 (配列番号: 84), 図86 (配列番号: 86), 図88 (配列番号: 88), 図90 (配列番号: 90), 図92 (配列番号: 92), 図94 (配列番号: 94), 図96 (配列番号: 96), 図98 (配列番号: 98), 図100 (配列番号: 100), 図102 (配列番号: 102), 図104 (配列番号: 104), 図106 (配列番号: 106), 図108 (配列番号: 108), 図110 (配列番号: 110), 図112 (配列番号: 112), 図114 (配列番号: 114), 図116 (配列番号: 116), 図118 (配列番号: 118), 図120 (配列番号: 120), 図122 (配列番号: 122), 図124 (配列番号: 124), 図126 (配列番号: 126), 図128 (配列番号: 128), 図130 (配列番号: 130), 図132 (配列番号: 132), 図134 (配列番号: 134), 図136 (配列番号: 136), 図138 (配列番号: 138), 図140 (配列番号: 140), 図142 (配列番号: 142), 図144 (配列番号: 144), 図146 (配列番号: 146), 図148 (配列番号: 148), 図150 (配列番号: 150), 図152 (配列番号: 152), 図154 (配列番号: 154), 図156 (配列番号: 156), 図158 (配列番号: 158), 図160 (配列番号: 160), 又は 図162 (配列番号: 162)中に示されるポリペプチドの細胞外ドメインをコードするヌクレオチド配列;

20

30

(d) 関連するシグナルペプチドを欠いており、図2 (配列番号: 2), 図4 (配列番号: 4), 図6 (配列番号: 6), 図8 (配列番号: 8), 図10 (配列番号: 10), 図12 (配列番号: 12), 図14 (配列番号: 14), 図16 (配列番号: 16), 図18 (配列番号: 18), 図20 (配列番号: 20), 図22 (配列番号: 22), 図24 (配列番号: 24), 図26 (配列番号: 26), 図28 (配列番号: 28), 図30 (配列番号: 30), 図32 (配列番号: 32), 図34 (配列番号: 34), 図36 (配列番号: 36), 図38 (配列番号: 38), 図40 (配列番号: 40), 図42 (配列番号: 42), 図44 (配列番号: 44), 図46 (配列番号: 46), 図48 (配列番号: 48), 図50 (配列番号: 50), 図52 (配列番号: 52), 図54 (配列番号: 54), 図56 (配列番号: 56), 図58 (配列番号: 58), 図60 (配列番号: 60), 図62 (配列番号: 62), 図64 (配列番号: 64), 図66 (配列番号: 66), 図68 (配列番号: 68)

40

50

: 68), 図70 (配列番号: 70), 図72 (配列番号: 72), 図74 (配列番号: 74), 図76 (配列番号: 76), 図78 (配列番号: 78), 図80 (配列番号: 80), 図82 (配列番号: 82), 図84 (配列番号: 84), 図86 (配列番号: 86), 図88 (配列番号: 88), 図90 (配列番号: 90), 図92 (配列番号: 92), 図94 (配列番号: 94), 図96 (配列番号: 96), 図98 (配列番号: 98), 図100 (配列番号: 100), 図102 (配列番号: 102), 図104 (配列番号: 104), 図106 (配列番号: 106), 図108 (配列番号: 108), 図110 (配列番号: 110), 図112 (配列番号: 112), 図114 (配列番号: 114), 図116 (配列番号: 116), 図118 (配列番号: 118), 図120 (配列番号: 120), 図122 (配列番号: 122), 図124 (配列番号: 124), 図126 (配列番号: 126), 図128 (配列番号: 128), 図130 (配列番号: 130), 図132 (配列番号: 132), 図134 (配列番号: 134), 図136 (配列番号: 136), 図138 (配列番号: 138), 図140 (配列番号: 140), 図142 (配列番号: 142), 図144 (配列番号: 144), 図146 (配列番号: 146), 図148 (配列番号: 148), 図150 (配列番号: 150), 図152 (配列番号: 152), 図154 (配列番号: 154), 図156 (配列番号: 156), 図158 (配列番号: 158), 図160 (配列番号: 160), 又は 図162 (配列番号: 162) 中に示されるポリペプチドの細胞外ドメインをコードするヌクレオチド配列;

(e) 図1 (配列番号: 1), 図3 (配列番号: 3), 図5 (配列番号: 5), 図7 (配列番号: 7), 図9 (配列番号: 9), 図11 (配列番号: 11), 図13 (配列番号: 13), 図15 (配列番号: 15), 図17 (配列番号: 17), 図19 (配列番号: 19), 図21 (配列番号: 21), 図23 (配列番号: 23), 図25 (配列番号: 25), 図27 (配列番号: 27), 図29 (配列番号: 29), 図31 (配列番号: 31), 図33 (配列番号: 33), 図35 (配列番号: 35), 図37 (配列番号: 37), 図39 (配列番号: 39), 図41 (配列番号: 41), 図43 (配列番号: 43), 図45 (配列番号: 45), 図47 (配列番号: 47), 図49 (配列番号: 49), 図51 (配列番号: 51), 図53 (配列番号: 53), 図55 (配列番号: 55), 図57 (配列番号: 57), 図59 (配列番号: 59), 図61 (配列番号: 61), 図63 (配列番号: 63), 図65 (配列番号: 65), 図67 (配列番号: 67), 図69 (配列番号: 69), 図71 (配列番号: 71), 図73 (配列番号: 73), 図75A - 75B (配列番号: 75), 図77 (配列番号: 77), 図79 (配列番号: 79), 図81 (配列番号: 81), 図83 (配列番号: 83), 図85 (配列番号: 85), 図87 (配列番号: 87), 図89 (配列番号: 89), 図91 (配列番号: 91), 図93 (配列番号: 93), 図95 (配列番号: 95), 図97 (配列番号: 97), 図99 (配列番号: 99), 図101 (配列番号: 101), 図103 (配列番号: 103), 図105 (配列番号: 105), 図107 (配列番号: 107), 図109 (配列番号: 109), 図111 (配列番号: 111), 図113 (配列番号: 113), 図115 (配列番号: 115), 図117 (配列番号: 117), 図119 (配列番号: 119), 図121 (配列番号: 121), 図123 (配列番号: 123), 図125 (配列番号: 125), 図127 (配列番号: 127), 図129 (配列番号: 129), 図131 (配列番号: 131), 図133 (配列番号: 133), 図135 (配列番号: 135), 図137 (配列番号: 137), 図139 (配列番号: 139), 図141 (配列番号: 141), 図143 (配列番号: 143), 図145 (配列番号: 145), 図147 (配列番号: 147), 図149 (配列番号: 149), 図151 (配列番号: 151), 図153 (配列番号: 153), 図155 (配列番号: 155), 図157 (配列番号: 157), 図159 (配列番号: 159), 図161 (配列番号: 161) 中に示されるヌクレオチド配列;

(f) 図1 (配列番号: 1), 図3 (配列番号: 3), 図5 (配列番号: 5), 図7 (配列番号: 7), 図9 (配列番号: 9), 図11 (配列番号: 11), 図13 (配列番号: 13), 図15 (配列番号: 15), 図17 (配列番号: 17), 図19 (配列番号: 19), 図21 (配列番号: 21), 図23 (配列番号: 23), 図25 (配列番号: 25), 図2

10

20

30

40

50

7 (配列番号: 27), 図29 (配列番号: 29), 図31 (配列番号: 31), 図33 (配列番号: 33), 図35 (配列番号: 35), 図37 (配列番号: 37), 図39 (配列番号: 39), 図41 (配列番号: 41), 図43 (配列番号: 43), 図45 (配列番号: 45), 図47 (配列番号: 47), 図49 (配列番号: 49), 図51 (配列番号: 51), 図53 (配列番号: 53), 図55 (配列番号: 55), 図57 (配列番号: 57), 図59 (配列番号: 59), 図61 (配列番号: 61), 図63 (配列番号: 63), 図65 (配列番号: 65), 図67 (配列番号: 67), 図69 (配列番号: 69), 図71 (配列番号: 71), 図73 (配列番号: 73), 図s 75A - 75B (配列番号: 75), 図77 (配列番号: 77), 図79 (配列番号: 79), 図81 (配列番号: 81), 図83 (配列番号: 83), 図85 (配列番号: 85), 図87 (配列番号: 87), 図89 (配列番号: 89), 図91 (配列番号: 91), 図93 (配列番号: 93), 図95 (配列番号: 95), 図97 (配列番号: 97), 図99 (配列番号: 99), 図101 (配列番号: 101), 図103 (配列番号: 103), 図105 (配列番号: 105), 図107 (配列番号: 107), 図109 (配列番号: 109), 図111 (配列番号: 111), 図113 (配列番号: 113), 図115 (配列番号: 115), 図117 (配列番号: 117), 図119 (配列番号: 119), 図121 (配列番号: 121), 図123 (配列番号: 123), 図125 (配列番号: 125), 図127 (配列番号: 127), 図129 (配列番号: 129), 図131 (配列番号: 131), 図133 (配列番号: 133), 図135 (配列番号: 135), 図137 (配列番号: 137), 図139 (配列番号: 139), 図141 (配列番号: 141), 図143 (配列番号: 143), 図145 (配列番号: 145), 図147 (配列番号: 147), 図149 (配列番号: 149), 図151 (配列番号: 151), 図153 (配列番号: 153), 図155 (配列番号: 155), 図157 (配列番号: 157), 図159 (配列番号: 159), 図161 (配列番号: 161)中に示されるヌクレオチド配列の完全長コード化配列;

(g)表7に示すATCC登録番号のいずれかの下に登録されているか、又は表8に示す登録番号の下に利用可能なcDNAの完全長コード化配列; 或いは

(h)(a)、(b)、(c)、(d)、(e)、(f)又は(g)の相補鎖にハイブリダイズする単離された核酸。

4. ハイブリダイゼーションがストリンジェントな条件の下で起こる請求項3に記載の核酸。

5. 長さが少なくとも約5ヌクレオチドである請求項3に記載の核酸。

6. 請求項1に記載の核酸を含む発現ベクター。

7. 前記核酸が、ベクターで形質転換された宿主細胞により認識されるコントロール配列に作用可能に結合する請求項6に記載の発現ベクター。

8. 請求項7に記載の発現ベクターを含む宿主細胞。

9. CHO細胞、大腸菌、又は酵母細胞である請求項8に記載の宿主細胞。

10. 請求項8に記載の宿主細胞を前記ポリペプチドの発現に適する条件下で培養すること、及び細胞培地から前記ポリペプチドを回収することを含むポリペプチド生産法。

11. (a)図2 (配列番号: 2), 図4 (配列番号: 4), 図6 (配列番号: 6), 図8 (配列番号: 8), 図10 (配列番号: 10), 図12 (配列番号: 12), 図14 (配列番号: 14), 図16 (配列番号: 16), 図18 (配列番号: 18), 図20 (配列番号: 20), 図22 (配列番号: 22), 図24 (配列番号: 24), 図26 (配列番号: 26), 図28 (配列番号: 28), 図30 (配列番号: 30), 図32 (配列番号: 32), 図34 (配列番号: 34), 図36 (配列番号: 36), 図38 (配列番号: 38), 図40 (配列番号: 40), 図42 (配列番号: 42), 図44 (配列番号: 44), 図46 (配列番号: 46), 図48 (配列番号: 48), 図50 (配列番号: 50), 図52 (配列番号: 52), 図54 (配列番号: 54), 図56 (配列番号: 56), 図58 (配列番号: 58), 図60 (配列番号: 60), 図62 (配列番号: 62), 図64 (配列番号: 64), 図66 (配列番号: 66), 図68 (配列番号: 68), 図70 (配列番号: 70), 図72 (配列番号: 72), 図74 (配列番号: 74), 図76 (配列番号: 76), 図7

10

20

30

40

50

8 (配列番号: 78), 図80 (配列番号: 80), 図82 (配列番号: 82), 図84 (配列番号: 84), 図86 (配列番号: 86), 図88 (配列番号: 88), 図90 (配列番号: 90), 図92 (配列番号: 92), 図94 (配列番号: 94), 図96 (配列番号: 96), 図98 (配列番号: 98), 図100 (配列番号: 100), 図102 (配列番号: 102), 図104 (配列番号: 104), 図106 (配列番号: 106), 図108 (配列番号: 108), 図110 (配列番号: 110), 図112 (配列番号: 112), 図114 (配列番号: 114), 図116 (配列番号: 116), 図118 (配列番号: 118), 図120 (配列番号: 120), 図122 (配列番号: 122), 図124 (配列番号: 124), 図126 (配列番号: 126), 図128 (配列番号: 128), 図130 (配列番号: 130), 図132 (配列番号: 132), 図134 (配列番号: 134), 図136 (配列番号: 136), 図138 (配列番号: 138), 図140 (配列番号: 140), 図142 (配列番号: 142), 図144 (配列番号: 144), 図146 (配列番号: 146), 図148 (配列番号: 148), 図150 (配列番号: 150), 図152 (配列番号: 152), 図154 (配列番号: 154), 図156 (配列番号: 156), 図158 (配列番号: 158), 図160 (配列番号: 160), 又は 図162 (配列番号: 162)中に示されるアミノ酸配列;

(b) 関連するシグナルペプチドを欠いた、図2 (配列番号: 2), 図4 (配列番号: 4), 図6 (配列番号: 6), 図8 (配列番号: 8), 図10 (配列番号: 10), 図12 (配列番号: 12), 図14 (配列番号: 14), 図16 (配列番号: 16), 図18 (配列番号: 18), 図20 (配列番号: 20), 図22 (配列番号: 22), 図24 (配列番号: 24), 図26 (配列番号: 26), 図28 (配列番号: 28), 図30 (配列番号: 30), 図32 (配列番号: 32), 図34 (配列番号: 34), 図36 (配列番号: 36), 図38 (配列番号: 38), 図40 (配列番号: 40), 図42 (配列番号: 42), 図44 (配列番号: 44), 図46 (配列番号: 46), 図48 (配列番号: 48), 図50 (配列番号: 50), 図52 (配列番号: 52), 図54 (配列番号: 54), 図56 (配列番号: 56), 図58 (配列番号: 58), 図60 (配列番号: 60), 図62 (配列番号: 62), 図64 (配列番号: 64), 図66 (配列番号: 66), 図68 (配列番号: 68), 図70 (配列番号: 70), 図72 (配列番号: 72), 図74 (配列番号: 74), 図76 (配列番号: 76), 図78 (配列番号: 78), 図80 (配列番号: 80), 図82 (配列番号: 82), 図84 (配列番号: 84), 図86 (配列番号: 86), 図88 (配列番号: 88), 図90 (配列番号: 90), 図92 (配列番号: 92), 図94 (配列番号: 94), 図96 (配列番号: 96), 図98 (配列番号: 98), 図100 (配列番号: 100), 図102 (配列番号: 102), 図104 (配列番号: 104), 図106 (配列番号: 106), 図108 (配列番号: 108), 図110 (配列番号: 110), 図112 (配列番号: 112), 図114 (配列番号: 114), 図116 (配列番号: 116), 図118 (配列番号: 118), 図120 (配列番号: 120), 図122 (配列番号: 122), 図124 (配列番号: 124), 図126 (配列番号: 126), 図128 (配列番号: 128), 図130 (配列番号: 130), 図132 (配列番号: 132), 図134 (配列番号: 134), 図136 (配列番号: 136), 図138 (配列番号: 138), 図140 (配列番号: 140), 図142 (配列番号: 142), 図144 (配列番号: 144), 図146 (配列番号: 146), 図148 (配列番号: 148), 図150 (配列番号: 150), 図152 (配列番号: 152), 図154 (配列番号: 154), 図156 (配列番号: 156), 図158 (配列番号: 158), 図160 (配列番号: 160), 又は 図162 (配列番号: 162)中に示されるアミノ酸配列;

(c) 関連するシグナルペプチドを有しており、図2 (配列番号: 2), 図4 (配列番号: 4), 図6 (配列番号: 6), 図8 (配列番号: 8), 図10 (配列番号: 10), 図12 (配列番号: 12), 図14 (配列番号: 14), 図16 (配列番号: 16), 図18 (配列番号: 18), 図20 (配列番号: 20), 図22 (配列番号: 22), 図24 (配列番号: 24), 図26 (配列番号: 26), 図28 (配列番号: 28), 図30 (配列番号: 30), 図32 (配列番号: 32), 図34 (配列番号: 34), 図36 (配列番号: 3

10

20

30

40

50

6), 図38 (配列番号: 38), 図40 (配列番号: 40), 図42 (配列番号: 42), 図44 (配列番号: 44), 図46 (配列番号: 46), 図48 (配列番号: 48), 図50 (配列番号: 50), 図52 (配列番号: 52), 図54 (配列番号: 54), 図56 (配列番号: 56), 図58 (配列番号: 58), 図60 (配列番号: 60), 図62 (配列番号: 62), 図64 (配列番号: 64), 図66 (配列番号: 66), 図68 (配列番号: 68), 図70 (配列番号: 70), 図72 (配列番号: 72), 図74 (配列番号: 74), 図76 (配列番号: 76), 図78 (配列番号: 78), 図80 (配列番号: 80), 図82 (配列番号: 82), 図84 (配列番号: 84), 図86 (配列番号: 86), 図88 (配列番号: 88), 図90 (配列番号: 90), 図92 (配列番号: 92), 図94 (配列番号: 94), 図96 (配列番号: 96), 図98 (配列番号: 98), 図100 (配列番号: 100), 図102 (配列番号: 102), 図104 (配列番号: 104), 図106 (配列番号: 106), 図108 (配列番号: 108), 図110 (配列番号: 110), 図112 (配列番号: 112), 図114 (配列番号: 114), 図116 (配列番号: 116), 図118 (配列番号: 118), 図120 (配列番号: 120), 図122 (配列番号: 122), 図124 (配列番号: 124), 図126 (配列番号: 126), 図128 (配列番号: 128), 図130 (配列番号: 130), 図132 (配列番号: 132), 図134 (配列番号: 134), 図136 (配列番号: 136), 図138 (配列番号: 138), 図140 (配列番号: 140), 図142 (配列番号: 142), 図144 (配列番号: 144), 図146 (配列番号: 146), 図148 (配列番号: 148), 図150 (配列番号: 150), 図152 (配列番号: 152), 図154 (配列番号: 154), 図156 (配列番号: 156), 図158 (配列番号: 158), 図160 (配列番号: 160), 又は 図162 (配列番号: 162)中に示されるポリペプチドの細胞外ドメインのアミノ酸配列;

(d) 関連するシグナルペプチドを欠いた、図2 (配列番号: 2), 図4 (配列番号: 4), 図6 (配列番号: 6), 図8 (配列番号: 8), 図10 (配列番号: 10), 図12 (配列番号: 12), 図14 (配列番号: 14), 図16 (配列番号: 16), 図18 (配列番号: 18), 図20 (配列番号: 20), 図22 (配列番号: 22), 図24 (配列番号: 24), 図26 (配列番号: 26), 図28 (配列番号: 28), 図30 (配列番号: 30), 図32 (配列番号: 32), 図34 (配列番号: 34), 図36 (配列番号: 36), 図38 (配列番号: 38), 図40 (配列番号: 40), 図42 (配列番号: 42), 図44 (配列番号: 44), 図46 (配列番号: 46), 図48 (配列番号: 48), 図50 (配列番号: 50), 図52 (配列番号: 52), 図54 (配列番号: 54), 図56 (配列番号: 56), 図58 (配列番号: 58), 図60 (配列番号: 60), 図62 (配列番号: 62), 図64 (配列番号: 64), 図66 (配列番号: 66), 図68 (配列番号: 68), 図70 (配列番号: 70), 図72 (配列番号: 72), 図74 (配列番号: 74), 図76 (配列番号: 76), 図78 (配列番号: 78), 図80 (配列番号: 80), 図82 (配列番号: 82), 図84 (配列番号: 84), 図86 (配列番号: 86), 図88 (配列番号: 88), 図90 (配列番号: 90), 図92 (配列番号: 92), 図94 (配列番号: 94), 図96 (配列番号: 96), 図98 (配列番号: 98), 図100 (配列番号: 100), 図102 (配列番号: 102), 図104 (配列番号: 104), 図106 (配列番号: 106), 図108 (配列番号: 108), 図110 (配列番号: 110), 図112 (配列番号: 112), 図114 (配列番号: 114), 図116 (配列番号: 116), 図118 (配列番号: 118), 図120 (配列番号: 120), 図122 (配列番号: 122), 図124 (配列番号: 124), 図126 (配列番号: 126), 図128 (配列番号: 128), 図130 (配列番号: 130), 図132 (配列番号: 132), 図134 (配列番号: 134), 図136 (配列番号: 136), 図138 (配列番号: 138), 図140 (配列番号: 140), 図142 (配列番号: 142), 図144 (配列番号: 144), 図146 (配列番号: 146), 図148 (配列番号: 148), 図150 (配列番号: 150), 図152 (配列番号: 152), 図154 (配列番号: 154), 図156 (配列番号: 156), 図158 (配列番号: 158), 図160 (配列番号: 160)

10

20

30

40

50

0),又は図162(配列番号:162)中に示されるポリペプチドの細胞外ドメインのアミノ酸配列;

(e)図1(配列番号:1),図3(配列番号:3),図5(配列番号:5),図7(配列番号:7),図9(配列番号:9),図11(配列番号:11),図13(配列番号:13),図15(配列番号:15),図17(配列番号:17),図19(配列番号:19),図21(配列番号:21),図23(配列番号:23),図25(配列番号:25),図27(配列番号:27),図29(配列番号:29),図31(配列番号:31),図33(配列番号:33),図35(配列番号:35),図37(配列番号:37),図39(配列番号:39),図41(配列番号:41),図43(配列番号:43),図45(配列番号:45),図47(配列番号:47),図49(配列番号:49),図51(配列番号:51),図53(配列番号:53),図55(配列番号:55),図57(配列番号:57),図59(配列番号:59),図61(配列番号:61),図63(配列番号:63),図65(配列番号:65),図67(配列番号:67),図69(配列番号:69),図71(配列番号:71),図73(配列番号:73),図75A-75B(配列番号:75),図77(配列番号:77),図79(配列番号:79),図81(配列番号:81),図83(配列番号:83),図85(配列番号:85),図87(配列番号:87),図89(配列番号:89),図91(配列番号:91),図93(配列番号:93),図95(配列番号:95),図97(配列番号:97),図99(配列番号:99),図101(配列番号:101),図103(配列番号:103),図105(配列番号:105),図107(配列番号:107),図109(配列番号:109),図111(配列番号:111),図113(配列番号:113),図115(配列番号:115),図117(配列番号:117),図119(配列番号:119),図121(配列番号:121),図123(配列番号:123),図125(配列番号:125),図127(配列番号:127),図129(配列番号:129),図131(配列番号:131),図133(配列番号:133),図135(配列番号:135),図137(配列番号:137),図139(配列番号:139),図141(配列番号:141),図143(配列番号:143),図145(配列番号:145),図147(配列番号:147),図149(配列番号:149),図151(配列番号:151),図153(配列番号:153),図155(配列番号:155),図157(配列番号:157),図159(配列番号:159),図161(配列番号:161)中に示されるヌクレオチド配列によりコードされるアミノ酸配列;

(f)図1(配列番号:1),図3(配列番号:3),図5(配列番号:5),図7(配列番号:7),図9(配列番号:9),図11(配列番号:11),図13(配列番号:13),図15(配列番号:15),図17(配列番号:17),図19(配列番号:19),図21(配列番号:21),図23(配列番号:23),図25(配列番号:25),図27(配列番号:27),図29(配列番号:29),図31(配列番号:31),図33(配列番号:33),図35(配列番号:35),図37(配列番号:37),図39(配列番号:39),図41(配列番号:41),図43(配列番号:43),図45(配列番号:45),図47(配列番号:47),図49(配列番号:49),図51(配列番号:51),図53(配列番号:53),図55(配列番号:55),図57(配列番号:57),図59(配列番号:59),図61(配列番号:61),図63(配列番号:63),図65(配列番号:65),図67(配列番号:67),図69(配列番号:69),図71(配列番号:71),図73(配列番号:73),図s75A-75B(配列番号:75),図77(配列番号:77),図79(配列番号:79),図81(配列番号:81),図83(配列番号:83),図85(配列番号:85),図87(配列番号:87),図89(配列番号:89),図91(配列番号:91),図93(配列番号:93),図95(配列番号:95),図97(配列番号:97),図99(配列番号:99),図101(配列番号:101),図103(配列番号:103),図105(配列番号:105),図107(配列番号:107),図109(配列番号:109),図111(配列番号:111),図113(配列番号:113),図115(配列番号:115),図117(配列番号:117),図119(配列番号:119),図121(配列番号:121),図123(配列番号:123)

号：123), 図125 (配列番号：125), 図127 (配列番号：127), 図129 (配列番号：129), 図131 (配列番号：131), 図133 (配列番号：133), 図135 (配列番号：135), 図137 (配列番号：137), 図139 (配列番号：139), 図141 (配列番号：141), 図143 (配列番号：143), 図145 (配列番号：145), 図147 (配列番号：147), 図149 (配列番号：149), 図151 (配列番号：151), 図153 (配列番号：153), 図155 (配列番号：155), 図157 (配列番号：157), 図159 (配列番号：159), 図161 (配列番号：161)中に示されるヌクレオチド配列の完全長コード化配列によりコードされるアミノ酸；
或いは

(g) 表7に示すATCC登録番号のいずれかの下に登録されているか、又は表8に示す登録番号の下に利用可能なcDNAの完全長コード化配列によりコードされるアミノ酸配列

と少なくとも80%の核酸配列同一性を有する単離されたポリペプチド。

12. (a) 図2 (配列番号：2), 図4 (配列番号：4), 図6 (配列番号：6), 図8 (配列番号：8), 図10 (配列番号：10), 図12 (配列番号：12), 図14 (配列番号：14), 図16 (配列番号：16), 図18 (配列番号：18), 図20 (配列番号：20), 図22 (配列番号：22), 図24 (配列番号：24), 図26 (配列番号：26), 図28 (配列番号：28), 図30 (配列番号：30), 図32 (配列番号：32), 図34 (配列番号：34), 図36 (配列番号：36), 図38 (配列番号：38), 図40 (配列番号：40), 図42 (配列番号：42), 図44 (配列番号：44), 図46 (配列番号：46), 図48 (配列番号：48), 図50 (配列番号：50), 図52 (配列番号：52), 図54 (配列番号：54), 図56 (配列番号：56), 図58 (配列番号：58), 図60 (配列番号：60), 図62 (配列番号：62), 図64 (配列番号：64), 図66 (配列番号：66), 図68 (配列番号：68), 図70 (配列番号：70), 図72 (配列番号：72), 図74 (配列番号：74), 図76 (配列番号：76), 図78 (配列番号：78), 図80 (配列番号：80), 図82 (配列番号：82), 図84 (配列番号：84), 図86 (配列番号：86), 図88 (配列番号：88), 図90 (配列番号：90), 図92 (配列番号：92), 図94 (配列番号：94), 図96 (配列番号：96), 図98 (配列番号：98), 図100 (配列番号：100), 図102 (配列番号：102), 図104 (配列番号：104), 図106 (配列番号：106), 図108 (配列番号：108), 図110 (配列番号：110), 図112 (配列番号：112), 図114 (配列番号：114), 図116 (配列番号：116), 図118 (配列番号：118), 図120 (配列番号：120), 図122 (配列番号：122), 図124 (配列番号：124), 図126 (配列番号：126), 図128 (配列番号：128), 図130 (配列番号：130), 図132 (配列番号：132), 図134 (配列番号：134), 図136 (配列番号：136), 図138 (配列番号：138), 図140 (配列番号：140), 図142 (配列番号：142), 図144 (配列番号：144), 図146 (配列番号：146), 図148 (配列番号：148), 図150 (配列番号：150), 図152 (配列番号：152), 図154 (配列番号：154), 図156 (配列番号：156), 図158 (配列番号：158), 図160 (配列番号：160), 又は 図162 (配列番号：162)中に示されるアミノ酸配列；

(b) 関連するシグナルペプチドを欠いた、図2 (配列番号：2), 図4 (配列番号：4), 図6 (配列番号：6), 図8 (配列番号：8), 図10 (配列番号：10), 図12 (配列番号：12), 図14 (配列番号：14), 図16 (配列番号：16), 図18 (配列番号：18), 図20 (配列番号：20), 図22 (配列番号：22), 図24 (配列番号：24), 図26 (配列番号：26), 図28 (配列番号：28), 図30 (配列番号：30), 図32 (配列番号：32), 図34 (配列番号：34), 図36 (配列番号：36), 図38 (配列番号：38), 図40 (配列番号：40), 図42 (配列番号：42), 図44 (配列番号：44), 図46 (配列番号：46), 図48 (配列番号：48), 図50 (配列番号：50), 図52 (配列番号：52), 図54 (配列番号：54), 図56 (配列番号：56), 図58 (配列番号：58), 図60 (配列番号：60), 図62 (配列番号：62), 図64 (配列番号：64), 図66 (配列番号：66), 図68 (配列番号：68), 図70 (配列番号：70), 図72 (配列番号：72), 図74 (配列番号：74), 図76 (配列番号：76), 図78 (配列番号：78), 図80 (配列番号：80), 図82 (配列番号：82), 図84 (配列番号：84), 図86 (配列番号：86), 図88 (配列番号：88), 図90 (配列番号：90), 図92 (配列番号：92), 図94 (配列番号：94), 図96 (配列番号：96), 図98 (配列番号：98), 図100 (配列番号：100), 図102 (配列番号：102), 図104 (配列番号：104), 図106 (配列番号：106), 図108 (配列番号：108), 図110 (配列番号：110), 図112 (配列番号：112), 図114 (配列番号：114), 図116 (配列番号：116), 図118 (配列番号：118), 図120 (配列番号：120), 図122 (配列番号：122), 図124 (配列番号：124), 図126 (配列番号：126), 図128 (配列番号：128), 図130 (配列番号：130), 図132 (配列番号：132), 図134 (配列番号：134), 図136 (配列番号：136), 図138 (配列番号：138), 図140 (配列番号：140), 図142 (配列番号：142), 図144 (配列番号：144), 図146 (配列番号：146), 図148 (配列番号：148), 図150 (配列番号：150), 図152 (配列番号：152), 図154 (配列番号：154), 図156 (配列番号：156), 図158 (配列番号：158), 図160 (配列番号：160), 又は 図162 (配列番号：162)中に示されるアミノ酸配列；

図58 (配列番号：58), 図60 (配列番号：60), 図62 (配列番号：62), 図64 (配列番号：64), 図66 (配列番号：66), 図68 (配列番号：68), 図70 (配列番号：70), 図72 (配列番号：72), 図74 (配列番号：74), 図76 (配列番号：76), 図78 (配列番号：78), 図80 (配列番号：80), 図82 (配列番号：82), 図84 (配列番号：84), 図86 (配列番号：86), 図88 (配列番号：88), 図90 (配列番号：90), 図92 (配列番号：92), 図94 (配列番号：94), 図96 (配列番号：96), 図98 (配列番号：98), 図100 (配列番号：100), 図102 (配列番号：102), 図104 (配列番号：104), 図106 (配列番号：106), 図108 (配列番号：108), 図110 (配列番号：110), 図112 (配列番号：112), 図114 (配列番号：114), 図116 (配列番号：116), 図118 (配列番号：118), 図120 (配列番号：120), 図122 (配列番号：122), 図124 (配列番号：124), 図126 (配列番号：126), 図128 (配列番号：128), 図130 (配列番号：130), 図132 (配列番号：132), 図134 (配列番号：134), 図136 (配列番号：136), 図138 (配列番号：138), 図140 (配列番号：140), 図142 (配列番号：142), 図144 (配列番号：144), 図146 (配列番号：146), 図148 (配列番号：148), 図150 (配列番号：150), 図152 (配列番号：152), 図154 (配列番号：154), 図156 (配列番号：156), 図158 (配列番号：158), 図160 (配列番号：160), 又は 図162 (配列番号：162)中に示されるアミノ酸配列；

番号：56), 図58 (配列番号：58), 図60 (配列番号：60), 図62 (配列番号：62), 図64 (配列番号：64), 図66 (配列番号：66), 図68 (配列番号：68), 図70 (配列番号：70), 図72 (配列番号：72), 図74 (配列番号：74), 図76 (配列番号：76), 図78 (配列番号：78), 図80 (配列番号：80), 図82 (配列番号：82), 図84 (配列番号：84), 図86 (配列番号：86), 図88 (配列番号：88), 図90 (配列番号：90), 図92 (配列番号：92), 図94 (配列番号：94), 図96 (配列番号：96), 図98 (配列番号：98), 図100 (配列番号：100), 図102 (配列番号：102), 図104 (配列番号：104), 図106 (配列番号：106), 図108 (配列番号：108), 図110 (配列番号：110), 図112 (配列番号：112), 図114 (配列番号：114), 図116 (配列番号：116), 図118 (配列番号：118), 図120 (配列番号：120), 図122 (配列番号：122), 図124 (配列番号：124), 図126 (配列番号：126), 図128 (配列番号：128), 図130 (配列番号：130), 図132 (配列番号：132), 図134 (配列番号：134), 図136 (配列番号：136), 図138 (配列番号：138), 図140 (配列番号：140), 図142 (配列番号：142), 図144 (配列番号：144), 図146 (配列番号：146), 図148 (配列番号：148), 図150 (配列番号：150), 図152 (配列番号：152), 図154 (配列番号：154), 図156 (配列番号：156), 図158 (配列番号：158), 図160 (配列番号：160), 又は 図162 (配列番号：162)中に示されるアミノ酸配列；

(c) 関連するシグナルペプチドを有しており、図2 (配列番号：2), 図4 (配列番号：4), 図6 (配列番号：6), 図8 (配列番号：8), 図10 (配列番号：10), 図12 (配列番号：12), 図14 (配列番号：14), 図16 (配列番号：16), 図18 (配列番号：18), 図20 (配列番号：20), 図22 (配列番号：22), 図24 (配列番号：24), 図26 (配列番号：26), 図28 (配列番号：28), 図30 (配列番号：30), 図32 (配列番号：32), 図34 (配列番号：34), 図36 (配列番号：36), 図38 (配列番号：38), 図40 (配列番号：40), 図42 (配列番号：42), 図44 (配列番号：44), 図46 (配列番号：46), 図48 (配列番号：48), 図50 (配列番号：50), 図52 (配列番号：52), 図54 (配列番号：54), 図56 (配列番号：56), 図58 (配列番号：58), 図60 (配列番号：60), 図62 (配列番号：62), 図64 (配列番号：64), 図66 (配列番号：66), 図68 (配列番号：68), 図70 (配列番号：70), 図72 (配列番号：72), 図74 (配列番号：74), 図76 (配列番号：76), 図78 (配列番号：78), 図80 (配列番号：80), 図82 (配列番号：82), 図84 (配列番号：84), 図86 (配列番号：86), 図88 (配列番号：88), 図90 (配列番号：90), 図92 (配列番号：92), 図94 (配列番号：94), 図96 (配列番号：96), 図98 (配列番号：98), 図100 (配列番号：100), 図102 (配列番号：102), 図104 (配列番号：104), 図106 (配列番号：106), 図108 (配列番号：108), 図110 (配列番号：110), 図112 (配列番号：112), 図114 (配列番号：114), 図116 (配列番号：116), 図118 (配列番号：118), 図120 (配列番号：120), 図122 (配列番号：122), 図124 (配列番号：124), 図126 (配列番号：126), 図128 (配列番号：128), 図130 (配列番号：130), 図132 (配列番号：132), 図134 (配列番号：134), 図136 (配列番号：136), 図138 (配列番号：138), 図140 (配列番号：140), 図142 (配列番号：142), 図144 (配列番号：144), 図146 (配列番号：146), 図148 (配列番号：148), 図150 (配列番号：150), 図152 (配列番号：152), 図154 (配列番号：154), 図156 (配列番号：156), 図158 (配列番号：158), 図160 (配列番号：160), 又は 図162 (配列番号：162)中に示されるポリペプチドの細胞外ドメインのアミノ酸配列；

(d) 関連するシグナルペプチドを欠いた、図2 (配列番号：2), 図4 (配列番号：4), 図6 (配列番号：6), 図8 (配列番号：8), 図10 (配列番号：10), 図12 (

10

20

30

40

50

配列番号：12), 図14 (配列番号：14), 図16 (配列番号：16), 図18 (配列番号：18), 図20 (配列番号：20), 図22 (配列番号：22), 図24 (配列番号：24), 図26 (配列番号：26), 図28 (配列番号：28), 図30 (配列番号：30), 図32 (配列番号：32), 図34 (配列番号：34), 図36 (配列番号：36), 図38 (配列番号：38), 図40 (配列番号：40), 図42 (配列番号：42), 図44 (配列番号：44), 図46 (配列番号：46), 図48 (配列番号：48), 図50 (配列番号：50), 図52 (配列番号：52), 図54 (配列番号：54), 図56 (配列番号：56), 図58 (配列番号：58), 図60 (配列番号：60), 図62 (配列番号：62), 図64 (配列番号：64), 図66 (配列番号：66), 図68 (配列番号：68), 図70 (配列番号：70), 図72 (配列番号：72), 図74 (配列番号：74), 図76 (配列番号：76), 図78 (配列番号：78), 図80 (配列番号：80), 図82 (配列番号：82), 図84 (配列番号：84), 図86 (配列番号：86), 図88 (配列番号：88), 図90 (配列番号：90), 図92 (配列番号：92), 図94 (配列番号：94), 図96 (配列番号：96), 図98 (配列番号：98), 図100 (配列番号：100), 図102 (配列番号：102), 図104 (配列番号：104), 図106 (配列番号：106), 図108 (配列番号：108), 図110 (配列番号：110), 図112 (配列番号：112), 図114 (配列番号：114), 図116 (配列番号：116), 図118 (配列番号：118), 図120 (配列番号：120), 図122 (配列番号：122), 図124 (配列番号：124), 図126 (配列番号：126), 図128 (配列番号：128), 図130 (配列番号：130), 図132 (配列番号：132), 図134 (配列番号：134), 図136 (配列番号：136), 図138 (配列番号：138), 図140 (配列番号：140), 図142 (配列番号：142), 図144 (配列番号：144), 図146 (配列番号：146), 図148 (配列番号：148), 図150 (配列番号：150), 図152 (配列番号：152), 図154 (配列番号：154), 図156 (配列番号：156), 図158 (配列番号：158), 図160 (配列番号：160), 又は 図162 (配列番号：162)中に示されるポリペプチドの細胞外ドメインのアミノ酸配列;

(e) 図1 (配列番号：1), 図3 (配列番号：3), 図5 (配列番号：5), 図7 (配列番号：7), 図9 (配列番号：9), 図11 (配列番号：11), 図13 (配列番号：13), 図15 (配列番号：15), 図17 (配列番号：17), 図19 (配列番号：19), 図21 (配列番号：21), 図23 (配列番号：23), 図25 (配列番号：25), 図27 (配列番号：27), 図29 (配列番号：29), 図31 (配列番号：31), 図33 (配列番号：33), 図35 (配列番号：35), 図37 (配列番号：37), 図39 (配列番号：39), 図41 (配列番号：41), 図43 (配列番号：43), 図45 (配列番号：45), 図47 (配列番号：47), 図49 (配列番号：49), 図51 (配列番号：51), 図53 (配列番号：53), 図55 (配列番号：55), 図57 (配列番号：57), 図59 (配列番号：59), 図61 (配列番号：61), 図63 (配列番号：63), 図65 (配列番号：65), 図67 (配列番号：67), 図69 (配列番号：69), 図71 (配列番号：71), 図73 (配列番号：73), 図75A - 75B (配列番号：75), 図77 (配列番号：77), 図79 (配列番号：79), 図81 (配列番号：81), 図83 (配列番号：83), 図85 (配列番号：85), 図87 (配列番号：87), 図89 (配列番号：89), 図91 (配列番号：91), 図93 (配列番号：93), 図95 (配列番号：95), 図97 (配列番号：97), 図99 (配列番号：99), 図101 (配列番号：101), 図103 (配列番号：103), 図105 (配列番号：105), 図107 (配列番号：107), 図109 (配列番号：109), 図111 (配列番号：111), 図113 (配列番号：113), 図115 (配列番号：115), 図117 (配列番号：117), 図119 (配列番号：119), 図121 (配列番号：121), 図123 (配列番号：123), 図125 (配列番号：125), 図127 (配列番号：127), 図129 (配列番号：129), 図131 (配列番号：131), 図133 (配列番号：133), 図135 (配列番号：135), 図137 (配列番号：137), 図139 (配列番号：139)

10

20

30

40

50

9), 図 1 4 1 (配列番号: 1 4 1), 図 1 4 3 (配列番号: 1 4 3), 図 1 4 5 (配列番号: 1 4 5), 図 1 4 7 (配列番号: 1 4 7), 図 1 4 9 (配列番号: 1 4 9), 図 1 5 1 (配列番号: 1 5 1), 図 1 5 3 (配列番号: 1 5 3), 図 1 5 5 (配列番号: 1 5 5), 図 1 5 7 (配列番号: 1 5 7), 図 1 5 9 (配列番号: 1 5 9), 図 1 6 1 (配列番号: 1 6 1)中に示されるヌクレオチド配列によりコードされるアミノ酸配列;

(f) 図 1 (配列番号: 1), 図 3 (配列番号: 3), 図 5 (配列番号: 5), 図 7 (配列番号: 7), 図 9 (配列番号: 9), 図 1 1 (配列番号: 1 1), 図 1 3 (配列番号: 1 3), 図 1 5 (配列番号: 1 5), 図 1 7 (配列番号: 1 7), 図 1 9 (配列番号: 1 9), 図 2 1 (配列番号: 2 1), 図 2 3 (配列番号: 2 3), 図 2 5 (配列番号: 2 5), 図 2 7 (配列番号: 2 7), 図 2 9 (配列番号: 2 9), 図 3 1 (配列番号: 3 1), 図 3 3 (配列番号: 3 3), 図 3 5 (配列番号: 3 5), 図 3 7 (配列番号: 3 7), 図 3 9 (配列番号: 3 9), 図 4 1 (配列番号: 4 1), 図 4 3 (配列番号: 4 3), 図 4 5 (配列番号: 4 5), 図 4 7 (配列番号: 4 7), 図 4 9 (配列番号: 4 9), 図 5 1 (配列番号: 5 1), 図 5 3 (配列番号: 5 3), 図 5 5 (配列番号: 5 5), 図 5 7 (配列番号: 5 7), 図 5 9 (配列番号: 5 9), 図 6 1 (配列番号: 6 1), 図 6 3 (配列番号: 6 3), 図 6 5 (配列番号: 6 5), 図 6 7 (配列番号: 6 7), 図 6 9 (配列番号: 6 9), 図 7 1 (配列番号: 7 1), 図 7 3 (配列番号: 7 3), 図 s 7 5 A - 7 5 B (配列番号: 7 5), 図 7 7 (配列番号: 7 7), 図 7 9 (配列番号: 7 9), 図 8 1 (配列番号: 8 1), 図 8 3 (配列番号: 8 3), 図 8 5 (配列番号: 8 5), 図 8 7 (配列番号: 8 7), 図 8 9 (配列番号: 8 9), 図 9 1 (配列番号: 9 1), 図 9 3 (配列番号: 9 3), 図 9 5 (配列番号: 9 5), 図 9 7 (配列番号: 9 7), 図 9 9 (配列番号: 9 9), 図 1 0 1 (配列番号: 1 0 1), 図 1 0 3 (配列番号: 1 0 3), 図 1 0 5 (配列番号: 1 0 5), 図 1 0 7 (配列番号: 1 0 7), 図 1 0 9 (配列番号: 1 0 9), 図 1 1 1 (配列番号: 1 1 1), 図 1 1 3 (配列番号: 1 1 3), 図 1 1 5 (配列番号: 1 1 5), 図 1 1 7 (配列番号: 1 1 7), 図 1 1 9 (配列番号: 1 1 9), 図 1 2 1 (配列番号: 1 2 1), 図 1 2 3 (配列番号: 1 2 3), 図 1 2 5 (配列番号: 1 2 5), 図 1 2 7 (配列番号: 1 2 7), 図 1 2 9 (配列番号: 1 2 9), 図 1 3 1 (配列番号: 1 3 1), 図 1 3 3 (配列番号: 1 3 3), 図 1 3 5 (配列番号: 1 3 5), 図 1 3 7 (配列番号: 1 3 7), 図 1 3 9 (配列番号: 1 3 9), 図 1 4 1 (配列番号: 1 4 1), 図 1 4 3 (配列番号: 1 4 3), 図 1 4 5 (配列番号: 1 4 5), 図 1 4 7 (配列番号: 1 4 7), 図 1 4 9 (配列番号: 1 4 9), 図 1 5 1 (配列番号: 1 5 1), 図 1 5 3 (配列番号: 1 5 3), 図 1 5 5 (配列番号: 1 5 5), 図 1 5 7 (配列番号: 1 5 7), 図 1 5 9 (配列番号: 1 5 9), 図 1 6 1 (配列番号: 1 6 1)中に示されるヌクレオチド配列の完全長コード化配列によりコードされるアミノ酸; 或いは

(g) 表 7 に示す A T C C 登録番号のいずれかの下に登録されているか、又は表 8 に示す登録番号の下に利用可能な c D N A の完全長コード化配列によりコードされるアミノ酸配列

を有する単離されたポリペプチド。

1 3 . 請求項 1 1 に記載のポリペプチドが異種ポリペプチドに融合されてなるキメラポリペプチド。

1 4 . 前記異種ポリペプチドがイムノグロブリンの F c 領域又はエピトープタグ配列である請求項 1 3 に記載のキメラポリペプチド。

1 5 . (a) 図 2 (配列番号: 2), 図 4 (配列番号: 4), 図 6 (配列番号: 6), 図 8 (配列番号: 8), 図 1 0 (配列番号: 1 0), 図 1 2 (配列番号: 1 2), 図 1 4 (配列番号: 1 4), 図 1 6 (配列番号: 1 6), 図 1 8 (配列番号: 1 8), 図 2 0 (配列番号: 2 0), 図 2 2 (配列番号: 2 2), 図 2 4 (配列番号: 2 4), 図 2 6 (配列番号: 2 6), 図 2 8 (配列番号: 2 8), 図 3 0 (配列番号: 3 0), 図 3 2 (配列番号: 3 2), 図 3 4 (配列番号: 3 4), 図 3 6 (配列番号: 3 6), 図 3 8 (配列番号: 3 8), 図 4 0 (配列番号: 4 0), 図 4 2 (配列番号: 4 2), 図 4 4 (配列番号: 4 4), 図 4 6 (配列番号: 4 6), 図 4 8 (配列番号: 4 8), 図 5 0 (配列番号: 5 0), 図 5 2 (配列

10

20

30

40

50

番号：52), 図54 (配列番号：54), 図56 (配列番号：56), 図58 (配列番号：58), 図60 (配列番号：60), 図62 (配列番号：62), 図64 (配列番号：64), 図66 (配列番号：66), 図68 (配列番号：68), 図70 (配列番号：70), 図72 (配列番号：72), 図74 (配列番号：74), 図76 (配列番号：76), 図78 (配列番号：78), 図80 (配列番号：80), 図82 (配列番号：82), 図84 (配列番号：84), 図86 (配列番号：86), 図88 (配列番号：88), 図90 (配列番号：90), 図92 (配列番号：92), 図94 (配列番号：94), 図96 (配列番号：96), 図98 (配列番号：98), 図100 (配列番号：100), 図102 (配列番号：102), 図104 (配列番号：104), 図106 (配列番号：106), 図108 (配列番号：108), 図110 (配列番号：110), 図112 (配列番号：112), 図114 (配列番号：114), 図116 (配列番号：116), 図118 (配列番号：118), 図120 (配列番号：120), 図122 (配列番号：122), 図124 (配列番号：124), 図126 (配列番号：126), 図128 (配列番号：128), 図130 (配列番号：130), 図132 (配列番号：132), 図134 (配列番号：134), 図136 (配列番号：136), 図138 (配列番号：138), 図140 (配列番号：140), 図142 (配列番号：142), 図144 (配列番号：144), 図146 (配列番号：146), 図148 (配列番号：148), 図150 (配列番号：150), 図152 (配列番号：152), 図154 (配列番号：154), 図156 (配列番号：156), 図158 (配列番号：158), 図160 (配列番号：160), 又は 図162 (配列番号：162)中に示されるアミノ酸配列；

10

20

(b) 関連するシグナルペプチドを欠いた、図2 (配列番号：2), 図4 (配列番号：4), 図6 (配列番号：6), 図8 (配列番号：8), 図10 (配列番号：10), 図12 (配列番号：12), 図14 (配列番号：14), 図16 (配列番号：16), 図18 (配列番号：18), 図20 (配列番号：20), 図22 (配列番号：22), 図24 (配列番号：24), 図26 (配列番号：26), 図28 (配列番号：28), 図30 (配列番号：30), 図32 (配列番号：32), 図34 (配列番号：34), 図36 (配列番号：36), 図38 (配列番号：38), 図40 (配列番号：40), 図42 (配列番号：42), 図44 (配列番号：44), 図46 (配列番号：46), 図48 (配列番号：48), 図50 (配列番号：50), 図52 (配列番号：52), 図54 (配列番号：54), 図56 (配列番号：56), 図58 (配列番号：58), 図60 (配列番号：60), 図62 (配列番号：62), 図64 (配列番号：64), 図66 (配列番号：66), 図68 (配列番号：68), 図70 (配列番号：70), 図72 (配列番号：72), 図74 (配列番号：74), 図76 (配列番号：76), 図78 (配列番号：78), 図80 (配列番号：80), 図82 (配列番号：82), 図84 (配列番号：84), 図86 (配列番号：86), 図88 (配列番号：88), 図90 (配列番号：90), 図92 (配列番号：92), 図94 (配列番号：94), 図96 (配列番号：96), 図98 (配列番号：98), 図100 (配列番号：100), 図102 (配列番号：102), 図104 (配列番号：104), 図106 (配列番号：106), 図108 (配列番号：108), 図110 (配列番号：110), 図112 (配列番号：112), 図114 (配列番号：114), 図116 (配列番号：116), 図118 (配列番号：118), 図120 (配列番号：120), 図122 (配列番号：122), 図124 (配列番号：124), 図126 (配列番号：126), 図128 (配列番号：128), 図130 (配列番号：130), 図132 (配列番号：132), 図134 (配列番号：134), 図136 (配列番号：136), 図138 (配列番号：138), 図140 (配列番号：140), 図142 (配列番号：142), 図144 (配列番号：144), 図146 (配列番号：146), 図148 (配列番号：148), 図150 (配列番号：150), 図152 (配列番号：152), 図154 (配列番号：154), 図156 (配列番号：156), 図158 (配列番号：158), 図160 (配列番号：160), 又は 図162 (配列番号：162)中に示されるアミノ酸配列；

30

40

(c) 関連するシグナルペプチドを有する、図2 (配列番号：2), 図4 (配列番号：4), 図6 (配列番号：6), 図8 (配列番号：8), 図10 (配列番号：10), 図12 (

50

配列番号：12), 図14 (配列番号：14), 図16 (配列番号：16), 図18 (配列番号：18), 図20 (配列番号：20), 図22 (配列番号：22), 図24 (配列番号：24), 図26 (配列番号：26), 図28 (配列番号：28), 図30 (配列番号：30), 図32 (配列番号：32), 図34 (配列番号：34), 図36 (配列番号：36), 図38 (配列番号：38), 図40 (配列番号：40), 図42 (配列番号：42), 図44 (配列番号：44), 図46 (配列番号：46), 図48 (配列番号：48), 図50 (配列番号：50), 図52 (配列番号：52), 図54 (配列番号：54), 図56 (配列番号：56), 図58 (配列番号：58), 図60 (配列番号：60), 図62 (配列番号：62), 図64 (配列番号：64), 図66 (配列番号：66), 図68 (配列番号：68), 図70 (配列番号：70), 図72 (配列番号：72), 図74 (配列番号：74), 図76 (配列番号：76), 図78 (配列番号：78), 図80 (配列番号：80), 図82 (配列番号：82), 図84 (配列番号：84), 図86 (配列番号：86), 図88 (配列番号：88), 図90 (配列番号：90), 図92 (配列番号：92), 図94 (配列番号：94), 図96 (配列番号：96), 図98 (配列番号：98), 図100 (配列番号：100), 図102 (配列番号：102), 図104 (配列番号：104), 図106 (配列番号：106), 図108 (配列番号：108), 図110 (配列番号：110), 図112 (配列番号：112), 図114 (配列番号：114), 図116 (配列番号：116), 図118 (配列番号：118), 図120 (配列番号：120), 図122 (配列番号：122), 図124 (配列番号：124), 図126 (配列番号：126), 図128 (配列番号：128), 図130 (配列番号：130), 図132 (配列番号：132), 図134 (配列番号：134), 図136 (配列番号：136), 図138 (配列番号：138), 図140 (配列番号：140), 図142 (配列番号：142), 図144 (配列番号：144), 図146 (配列番号：146), 図148 (配列番号：148), 図150 (配列番号：150), 図152 (配列番号：152), 図154 (配列番号：154), 図156 (配列番号：156), 図158 (配列番号：158), 図160 (配列番号：160), 又は 図162 (配列番号：162)中に示されるポリペプチドの細胞外ドメインのアミノ酸配列;

(d) 関連するシグナルペプチドを欠いた、図2 (配列番号：2), 図4 (配列番号：4), 図6 (配列番号：6), 図8 (配列番号：8), 図10 (配列番号：10), 図12 (配列番号：12), 図14 (配列番号：14), 図16 (配列番号：16), 図18 (配列番号：18), 図20 (配列番号：20), 図22 (配列番号：22), 図24 (配列番号：24), 図26 (配列番号：26), 図28 (配列番号：28), 図30 (配列番号：30), 図32 (配列番号：32), 図34 (配列番号：34), 図36 (配列番号：36), 図38 (配列番号：38), 図40 (配列番号：40), 図42 (配列番号：42), 図44 (配列番号：44), 図46 (配列番号：46), 図48 (配列番号：48), 図50 (配列番号：50), 図52 (配列番号：52), 図54 (配列番号：54), 図56 (配列番号：56), 図58 (配列番号：58), 図60 (配列番号：60), 図62 (配列番号：62), 図64 (配列番号：64), 図66 (配列番号：66), 図68 (配列番号：68), 図70 (配列番号：70), 図72 (配列番号：72), 図74 (配列番号：74), 図76 (配列番号：76), 図78 (配列番号：78), 図80 (配列番号：80), 図82 (配列番号：82), 図84 (配列番号：84), 図86 (配列番号：86), 図88 (配列番号：88), 図90 (配列番号：90), 図92 (配列番号：92), 図94 (配列番号：94), 図96 (配列番号：96), 図98 (配列番号：98), 図100 (配列番号：100), 図102 (配列番号：102), 図104 (配列番号：104), 図106 (配列番号：106), 図108 (配列番号：108), 図110 (配列番号：110), 図112 (配列番号：112), 図114 (配列番号：114), 図116 (配列番号：116), 図118 (配列番号：118), 図120 (配列番号：120), 図122 (配列番号：122), 図124 (配列番号：124), 図126 (配列番号：126), 図128 (配列番号：128), 図130 (配列番号：130), 図132 (配列番号：132), 図134 (配列番号：134), 図136 (配列番号：136), 図138 (配列番号：138)

10

20

30

40

50

8), 図140 (配列番号: 140), 図142 (配列番号: 142), 図144 (配列番号: 144), 図146 (配列番号: 146), 図148 (配列番号: 148), 図150 (配列番号: 150), 図152 (配列番号: 152), 図154 (配列番号: 154), 図156 (配列番号: 156), 図158 (配列番号: 158), 図160 (配列番号: 160), 又は 図162 (配列番号: 162)中に示されるポリペプチドの細胞外ドメインのアミノ酸配列;

(e) 図1 (配列番号: 1), 図3 (配列番号: 3), 図5 (配列番号: 5), 図7 (配列番号: 7), 図9 (配列番号: 9), 図11 (配列番号: 11), 図13 (配列番号: 13), 図15 (配列番号: 15), 図17 (配列番号: 17), 図19 (配列番号: 19), 図21 (配列番号: 21), 図23 (配列番号: 23), 図25 (配列番号: 25), 図27 (配列番号: 27), 図29 (配列番号: 29), 図31 (配列番号: 31), 図33 (配列番号: 33), 図35 (配列番号: 35), 図37 (配列番号: 37), 図39 (配列番号: 39), 図41 (配列番号: 41), 図43 (配列番号: 43), 図45 (配列番号: 45), 図47 (配列番号: 47), 図49 (配列番号: 49), 図51 (配列番号: 51), 図53 (配列番号: 53), 図55 (配列番号: 55), 図57 (配列番号: 57), 図59 (配列番号: 59), 図61 (配列番号: 61), 図63 (配列番号: 63), 図65 (配列番号: 65), 図67 (配列番号: 67), 図69 (配列番号: 69), 図71 (配列番号: 71), 図73 (配列番号: 73), 図75A - 75B (配列番号: 75), 図77 (配列番号: 77), 図79 (配列番号: 79), 図81 (配列番号: 81), 図83 (配列番号: 83), 図85 (配列番号: 85), 図87 (配列番号: 87), 図89 (配列番号: 89), 図91 (配列番号: 91), 図93 (配列番号: 93), 図95 (配列番号: 95), 図97 (配列番号: 97), 図99 (配列番号: 99), 図101 (配列番号: 101), 図103 (配列番号: 103), 図105 (配列番号: 105), 図107 (配列番号: 107), 図109 (配列番号: 109), 図111 (配列番号: 111), 図113 (配列番号: 113), 図115 (配列番号: 115), 図117 (配列番号: 117), 図119 (配列番号: 119), 図121 (配列番号: 121), 図123 (配列番号: 123), 図125 (配列番号: 125), 図127 (配列番号: 127), 図129 (配列番号: 129), 図131 (配列番号: 131), 図133 (配列番号: 133), 図135 (配列番号: 135), 図137 (配列番号: 137), 図139 (配列番号: 139), 図141 (配列番号: 141), 図143 (配列番号: 143), 図145 (配列番号: 145), 図147 (配列番号: 147), 図149 (配列番号: 149), 図151 (配列番号: 151), 図153 (配列番号: 153), 図155 (配列番号: 155), 図157 (配列番号: 157), 図159 (配列番号: 159), 図161 (配列番号: 161)中に示されるヌクレオチド配列によりコードされるアミノ酸配列;

(f) 図1 (配列番号: 1), 図3 (配列番号: 3), 図5 (配列番号: 5), 図7 (配列番号: 7), 図9 (配列番号: 9), 図11 (配列番号: 11), 図13 (配列番号: 13), 図15 (配列番号: 15), 図17 (配列番号: 17), 図19 (配列番号: 19), 図21 (配列番号: 21), 図23 (配列番号: 23), 図25 (配列番号: 25), 図27 (配列番号: 27), 図29 (配列番号: 29), 図31 (配列番号: 31), 図33 (配列番号: 33), 図35 (配列番号: 35), 図37 (配列番号: 37), 図39 (配列番号: 39), 図41 (配列番号: 41), 図43 (配列番号: 43), 図45 (配列番号: 45), 図47 (配列番号: 47), 図49 (配列番号: 49), 図51 (配列番号: 51), 図53 (配列番号: 53), 図55 (配列番号: 55), 図57 (配列番号: 57), 図59 (配列番号: 59), 図61 (配列番号: 61), 図63 (配列番号: 63), 図65 (配列番号: 65), 図67 (配列番号: 67), 図69 (配列番号: 69), 図71 (配列番号: 71), 図73 (配列番号: 73), 図s 75A - 75B (配列番号: 75), 図77 (配列番号: 77), 図79 (配列番号: 79), 図81 (配列番号: 81), 図83 (配列番号: 83), 図85 (配列番号: 85), 図87 (配列番号: 87), 図89 (配列番号: 89), 図91 (配列番号: 91), 図93 (配列番号: 93), 図95 (配列番号: 95), 図97 (配列番号: 97), 図99 (配列番号: 99), 図101 (配列番号

10

20

30

40

50

: 101), 図103 (配列番号: 103), 図105 (配列番号: 105), 図107 (配列番号: 107), 図109 (配列番号: 109), 図111 (配列番号: 111), 図113 (配列番号: 113), 図115 (配列番号: 115), 図117 (配列番号: 117), 図119 (配列番号: 119), 図121 (配列番号: 121), 図123 (配列番号: 123), 図125 (配列番号: 125), 図127 (配列番号: 127), 図129 (配列番号: 129), 図131 (配列番号: 131), 図133 (配列番号: 133), 図135 (配列番号: 135), 図137 (配列番号: 137), 図139 (配列番号: 139), 図141 (配列番号: 141), 図143 (配列番号: 143), 図145 (配列番号: 145), 図147 (配列番号: 147), 図149 (配列番号: 149), 図151 (配列番号: 151), 図153 (配列番号: 153), 図155 (配列番号: 155), 図157 (配列番号: 157), 図159 (配列番号: 159), 図161 (配列番号: 161)中に示されるヌクレオチド配列の完全長コード化配列によりコード化されるアミノ酸配列; 或いは

(g) 表7に示すATCC登録番号のいずれかの下に登録されているか、又は表8に示す登録番号の下に利用可能なcDNAの完全長コード化配列によりコードされるアミノ酸配列

と少なくとも80%のアミノ酸配列同一性を有するポリペプチドに結合する単離された抗体。

16. (a) 図2 (配列番号: 2), 図4 (配列番号: 4), 図6 (配列番号: 6), 図8 (配列番号: 8), 図10 (配列番号: 10), 図12 (配列番号: 12), 図14 (配列番号: 14), 図16 (配列番号: 16), 図18 (配列番号: 18), 図20 (配列番号: 20), 図22 (配列番号: 22), 図24 (配列番号: 24), 図26 (配列番号: 26), 図28 (配列番号: 28), 図30 (配列番号: 30), 図32 (配列番号: 32), 図34 (配列番号: 34), 図36 (配列番号: 36), 図38 (配列番号: 38), 図40 (配列番号: 40), 図42 (配列番号: 42), 図44 (配列番号: 44), 図46 (配列番号: 46), 図48 (配列番号: 48), 図50 (配列番号: 50), 図52 (配列番号: 52), 図54 (配列番号: 54), 図56 (配列番号: 56), 図58 (配列番号: 58), 図60 (配列番号: 60), 図62 (配列番号: 62), 図64 (配列番号: 64), 図66 (配列番号: 66), 図68 (配列番号: 68), 図70 (配列番号: 70), 図72 (配列番号: 72), 図74 (配列番号: 74), 図76 (配列番号: 76), 図78 (配列番号: 78), 図80 (配列番号: 80), 図82 (配列番号: 82), 図84 (配列番号: 84), 図86 (配列番号: 86), 図88 (配列番号: 88), 図90 (配列番号: 90), 図92 (配列番号: 92), 図94 (配列番号: 94), 図96 (配列番号: 96), 図98 (配列番号: 98), 図100 (配列番号: 100), 図102 (配列番号: 102), 図104 (配列番号: 104), 図106 (配列番号: 106), 図108 (配列番号: 108), 図110 (配列番号: 110), 図112 (配列番号: 112), 図114 (配列番号: 114), 図116 (配列番号: 116), 図118 (配列番号: 118), 図120 (配列番号: 120), 図122 (配列番号: 122), 図124 (配列番号: 124), 図126 (配列番号: 126), 図128 (配列番号: 128), 図130 (配列番号: 130), 図132 (配列番号: 132), 図134 (配列番号: 134), 図136 (配列番号: 136), 図138 (配列番号: 138), 図140 (配列番号: 140), 図142 (配列番号: 142), 図144 (配列番号: 144), 図146 (配列番号: 146), 図148 (配列番号: 148), 図150 (配列番号: 150), 図152 (配列番号: 152), 図154 (配列番号: 154), 図156 (配列番号: 156), 図158 (配列番号: 158), 図160 (配列番号: 160), 又は 図162 (配列番号: 162)中に示されるアミノ酸配列;

(b) 関連するシグナルペプチドを欠いた、図2 (配列番号: 2), 図4 (配列番号: 4), 図6 (配列番号: 6), 図8 (配列番号: 8), 図10 (配列番号: 10), 図12 (配列番号: 12), 図14 (配列番号: 14), 図16 (配列番号: 16), 図18 (配列番号: 18), 図20 (配列番号: 20), 図22 (配列番号: 22), 図24 (配列番号

10

20

30

40

50

: 24), 図26 (配列番号: 26), 図28 (配列番号: 28), 図30 (配列番号: 30), 図32 (配列番号: 32), 図34 (配列番号: 34), 図36 (配列番号: 36), 図38 (配列番号: 38), 図40 (配列番号: 40), 図42 (配列番号: 42), 図44 (配列番号: 44), 図46 (配列番号: 46), 図48 (配列番号: 48), 図50 (配列番号: 50), 図52 (配列番号: 52), 図54 (配列番号: 54), 図56 (配列番号: 56), 図58 (配列番号: 58), 図60 (配列番号: 60), 図62 (配列番号: 62), 図64 (配列番号: 64), 図66 (配列番号: 66), 図68 (配列番号: 68), 図70 (配列番号: 70), 図72 (配列番号: 72), 図74 (配列番号: 74), 図76 (配列番号: 76), 図78 (配列番号: 78), 図80 (配列番号: 80), 図82 (配列番号: 82), 図84 (配列番号: 84), 図86 (配列番号: 86), 図88 (配列番号: 88), 図90 (配列番号: 90), 図92 (配列番号: 92), 図94 (配列番号: 94), 図96 (配列番号: 96), 図98 (配列番号: 98), 図100 (配列番号: 100), 図102 (配列番号: 102), 図104 (配列番号: 104), 図106 (配列番号: 106), 図108 (配列番号: 108), 図110 (配列番号: 110), 図112 (配列番号: 112), 図114 (配列番号: 114), 図116 (配列番号: 116), 図118 (配列番号: 118), 図120 (配列番号: 120), 図122 (配列番号: 122), 図124 (配列番号: 124), 図126 (配列番号: 126), 図128 (配列番号: 128), 図130 (配列番号: 130), 図132 (配列番号: 132), 図134 (配列番号: 134), 図136 (配列番号: 136), 図138 (配列番号: 138), 図140 (配列番号: 140), 図142 (配列番号: 142), 図144 (配列番号: 144), 図146 (配列番号: 146), 図148 (配列番号: 148), 図150 (配列番号: 150), 図152 (配列番号: 152), 図154 (配列番号: 154), 図156 (配列番号: 156), 図158 (配列番号: 158), 図160 (配列番号: 160), 又は 図162 (配列番号: 162)中に示されるアミノ酸配列;

(c) 関連するシグナルペプチドを有する、図2 (配列番号: 2), 図4 (配列番号: 4), 図6 (配列番号: 6), 図8 (配列番号: 8), 図10 (配列番号: 10), 図12 (配列番号: 12), 図14 (配列番号: 14), 図16 (配列番号: 16), 図18 (配列番号: 18), 図20 (配列番号: 20), 図22 (配列番号: 22), 図24 (配列番号: 24), 図26 (配列番号: 26), 図28 (配列番号: 28), 図30 (配列番号: 30), 図32 (配列番号: 32), 図34 (配列番号: 34), 図36 (配列番号: 36), 図38 (配列番号: 38), 図40 (配列番号: 40), 図42 (配列番号: 42), 図44 (配列番号: 44), 図46 (配列番号: 46), 図48 (配列番号: 48), 図50 (配列番号: 50), 図52 (配列番号: 52), 図54 (配列番号: 54), 図56 (配列番号: 56), 図58 (配列番号: 58), 図60 (配列番号: 60), 図62 (配列番号: 62), 図64 (配列番号: 64), 図66 (配列番号: 66), 図68 (配列番号: 68), 図70 (配列番号: 70), 図72 (配列番号: 72), 図74 (配列番号: 74), 図76 (配列番号: 76), 図78 (配列番号: 78), 図80 (配列番号: 80), 図82 (配列番号: 82), 図84 (配列番号: 84), 図86 (配列番号: 86), 図88 (配列番号: 88), 図90 (配列番号: 90), 図92 (配列番号: 92), 図94 (配列番号: 94), 図96 (配列番号: 96), 図98 (配列番号: 98), 図100 (配列番号: 100), 図102 (配列番号: 102), 図104 (配列番号: 104), 図106 (配列番号: 106), 図108 (配列番号: 108), 図110 (配列番号: 110), 図112 (配列番号: 112), 図114 (配列番号: 114), 図116 (配列番号: 116), 図118 (配列番号: 118), 図120 (配列番号: 120), 図122 (配列番号: 122), 図124 (配列番号: 124), 図126 (配列番号: 126), 図128 (配列番号: 128), 図130 (配列番号: 130), 図132 (配列番号: 132), 図134 (配列番号: 134), 図136 (配列番号: 136), 図138 (配列番号: 138), 図140 (配列番号: 140), 図142 (配列番号: 142), 図144 (配列番号: 144), 図146 (配列番号: 146), 図148 (配列番号: 148), 図150 (配列番号: 150), 図152 (配列番号: 152), 図154 (配列番号: 154), 図

10

20

30

40

50

156 (配列番号: 156), 図158 (配列番号: 158), 図160 (配列番号: 160), 又は 図162 (配列番号: 162)中に示されるポリペプチドの細胞外ドメインのアミノ酸配列;

(d) 関連するシグナルペプチドを欠いた、図2 (配列番号: 2), 図4 (配列番号: 4), 図6 (配列番号: 6), 図8 (配列番号: 8), 図10 (配列番号: 10), 図12 (配列番号: 12), 図14 (配列番号: 14), 図16 (配列番号: 16), 図18 (配列番号: 18), 図20 (配列番号: 20), 図22 (配列番号: 22), 図24 (配列番号: 24), 図26 (配列番号: 26), 図28 (配列番号: 28), 図30 (配列番号: 30), 図32 (配列番号: 32), 図34 (配列番号: 34), 図36 (配列番号: 36), 図38 (配列番号: 38), 図40 (配列番号: 40), 図42 (配列番号: 42), 図44 (配列番号: 44), 図46 (配列番号: 46), 図48 (配列番号: 48), 図50 (配列番号: 50), 図52 (配列番号: 52), 図54 (配列番号: 54), 図56 (配列番号: 56), 図58 (配列番号: 58), 図60 (配列番号: 60), 図62 (配列番号: 62), 図64 (配列番号: 64), 図66 (配列番号: 66), 図68 (配列番号: 68), 図70 (配列番号: 70), 図72 (配列番号: 72), 図74 (配列番号: 74), 図76 (配列番号: 76), 図78 (配列番号: 78), 図80 (配列番号: 80), 図82 (配列番号: 82), 図84 (配列番号: 84), 図86 (配列番号: 86), 図88 (配列番号: 88), 図90 (配列番号: 90), 図92 (配列番号: 92), 図94 (配列番号: 94), 図96 (配列番号: 96), 図98 (配列番号: 98), 図100 (配列番号: 100), 図102 (配列番号: 102), 図104 (配列番号: 104), 図106 (配列番号: 106), 図108 (配列番号: 108), 図110 (配列番号: 110), 図112 (配列番号: 112), 図114 (配列番号: 114), 図116 (配列番号: 116), 図118 (配列番号: 118), 図120 (配列番号: 120), 図122 (配列番号: 122), 図124 (配列番号: 124), 図126 (配列番号: 126), 図128 (配列番号: 128), 図130 (配列番号: 130), 図132 (配列番号: 132), 図134 (配列番号: 134), 図136 (配列番号: 136), 図138 (配列番号: 138), 図140 (配列番号: 140), 図142 (配列番号: 142), 図144 (配列番号: 144), 図146 (配列番号: 146), 図148 (配列番号: 148), 図150 (配列番号: 150), 図152 (配列番号: 152), 図154 (配列番号: 154), 図156 (配列番号: 156), 図158 (配列番号: 158), 図160 (配列番号: 160), 又は 図162 (配列番号: 162)中に示されるポリペプチドの細胞外ドメインのアミノ酸配列;

(e) 図1 (配列番号: 1), 図3 (配列番号: 3), 図5 (配列番号: 5), 図7 (配列番号: 7), 図9 (配列番号: 9), 図11 (配列番号: 11), 図13 (配列番号: 13), 図15 (配列番号: 15), 図17 (配列番号: 17), 図19 (配列番号: 19), 図21 (配列番号: 21), 図23 (配列番号: 23), 図25 (配列番号: 25), 図27 (配列番号: 27), 図29 (配列番号: 29), 図31 (配列番号: 31), 図33 (配列番号: 33), 図35 (配列番号: 35), 図37 (配列番号: 37), 図39 (配列番号: 39), 図41 (配列番号: 41), 図43 (配列番号: 43), 図45 (配列番号: 45), 図47 (配列番号: 47), 図49 (配列番号: 49), 図51 (配列番号: 51), 図53 (配列番号: 53), 図55 (配列番号: 55), 図57 (配列番号: 57), 図59 (配列番号: 59), 図61 (配列番号: 61), 図63 (配列番号: 63), 図65 (配列番号: 65), 図67 (配列番号: 67), 図69 (配列番号: 69), 図71 (配列番号: 71), 図73 (配列番号: 73), 図75A - 75B (配列番号: 75), 図77 (配列番号: 77), 図79 (配列番号: 79), 図81 (配列番号: 81), 図83 (配列番号: 83), 図85 (配列番号: 85), 図87 (配列番号: 87), 図89 (配列番号: 89), 図91 (配列番号: 91), 図93 (配列番号: 93), 図95 (配列番号: 95), 図97 (配列番号: 97), 図99 (配列番号: 99), 図101 (配列番号: 101), 図103 (配列番号: 103), 図105 (配列番号: 105), 図107 (配列番号: 107), 図109 (配列番号: 109), 図111 (配列番号: 111), 図

10

20

30

40

50

1 1 3 (配列番号: 1 1 3), 図 1 1 5 (配列番号: 1 1 5), 図 1 1 7 (配列番号: 1 1 7), 図 1 1 9 (配列番号: 1 1 9), 図 1 2 1 (配列番号: 1 2 1), 図 1 2 3 (配列番号: 1 2 3), 図 1 2 5 (配列番号: 1 2 5), 図 1 2 7 (配列番号: 1 2 7), 図 1 2 9 (配列番号: 1 2 9), 図 1 3 1 (配列番号: 1 3 1), 図 1 3 3 (配列番号: 1 3 3), 図 1 3 5 (配列番号: 1 3 5), 図 1 3 7 (配列番号: 1 3 7), 図 1 3 9 (配列番号: 1 3 9), 図 1 4 1 (配列番号: 1 4 1), 図 1 4 3 (配列番号: 1 4 3), 図 1 4 5 (配列番号: 1 4 5), 図 1 4 7 (配列番号: 1 4 7), 図 1 4 9 (配列番号: 1 4 9), 図 1 5 1 (配列番号: 1 5 1), 図 1 5 3 (配列番号: 1 5 3), 図 1 5 5 (配列番号: 1 5 5), 図 1 5 7 (配列番号: 1 5 7), 図 1 5 9 (配列番号: 1 5 9), 図 1 6 1 (配列番号: 1 6 1)中に示されるヌクレオチド配列によりコードされるアミノ酸配列;

(f) 図 1 (配列番号: 1), 図 3 (配列番号: 3), 図 5 (配列番号: 5), 図 7 (配列番号: 7), 図 9 (配列番号: 9), 図 1 1 (配列番号: 1 1), 図 1 3 (配列番号: 1 3), 図 1 5 (配列番号: 1 5), 図 1 7 (配列番号: 1 7), 図 1 9 (配列番号: 1 9), 図 2 1 (配列番号: 2 1), 図 2 3 (配列番号: 2 3), 図 2 5 (配列番号: 2 5), 図 2 7 (配列番号: 2 7), 図 2 9 (配列番号: 2 9), 図 3 1 (配列番号: 3 1), 図 3 3 (配列番号: 3 3), 図 3 5 (配列番号: 3 5), 図 3 7 (配列番号: 3 7), 図 3 9 (配列番号: 3 9), 図 4 1 (配列番号: 4 1), 図 4 3 (配列番号: 4 3), 図 4 5 (配列番号: 4 5), 図 4 7 (配列番号: 4 7), 図 4 9 (配列番号: 4 9), 図 5 1 (配列番号: 5 1), 図 5 3 (配列番号: 5 3), 図 5 5 (配列番号: 5 5), 図 5 7 (配列番号: 5 7), 図 5 9 (配列番号: 5 9), 図 6 1 (配列番号: 6 1), 図 6 3 (配列番号: 6 3), 図 6 5 (配列番号: 6 5), 図 6 7 (配列番号: 6 7), 図 6 9 (配列番号: 6 9), 図 7 1 (配列番号: 7 1), 図 7 3 (配列番号: 7 3), 図 s 7 5 A - 7 5 B (配列番号: 7 5), 図 7 7 (配列番号: 7 7), 図 7 9 (配列番号: 7 9), 図 8 1 (配列番号: 8 1), 図 8 3 (配列番号: 8 3), 図 8 5 (配列番号: 8 5), 図 8 7 (配列番号: 8 7), 図 8 9 (配列番号: 8 9), 図 9 1 (配列番号: 9 1), 図 9 3 (配列番号: 9 3), 図 9 5 (配列番号: 9 5), 図 9 7 (配列番号: 9 7), 図 9 9 (配列番号: 9 9), 図 1 0 1 (配列番号: 1 0 1), 図 1 0 3 (配列番号: 1 0 3), 図 1 0 5 (配列番号: 1 0 5), 図 1 0 7 (配列番号: 1 0 7), 図 1 0 9 (配列番号: 1 0 9), 図 1 1 1 (配列番号: 1 1 1), 図 1 1 3 (配列番号: 1 1 3), 図 1 1 5 (配列番号: 1 1 5), 図 1 1 7 (配列番号: 1 1 7), 図 1 1 9 (配列番号: 1 1 9), 図 1 2 1 (配列番号: 1 2 1), 図 1 2 3 (配列番号: 1 2 3), 図 1 2 5 (配列番号: 1 2 5), 図 1 2 7 (配列番号: 1 2 7), 図 1 2 9 (配列番号: 1 2 9), 図 1 3 1 (配列番号: 1 3 1), 図 1 3 3 (配列番号: 1 3 3), 図 1 3 5 (配列番号: 1 3 5), 図 1 3 7 (配列番号: 1 3 7), 図 1 3 9 (配列番号: 1 3 9), 図 1 4 1 (配列番号: 1 4 1), 図 1 4 3 (配列番号: 1 4 3), 図 1 4 5 (配列番号: 1 4 5), 図 1 4 7 (配列番号: 1 4 7), 図 1 4 9 (配列番号: 1 4 9), 図 1 5 1 (配列番号: 1 5 1), 図 1 5 3 (配列番号: 1 5 3), 図 1 5 5 (配列番号: 1 5 5), 図 1 5 7 (配列番号: 1 5 7), 図 1 5 9 (配列番号: 1 5 9), 図 1 6 1 (配列番号: 1 6 1)中に示されるヌクレオチド配列の完全長コード化配列によりコード化されるアミノ酸配列; 或いは

(g) 表 7 に示す A T C C 登録番号のいずれかの下に登録されているか、又は表 8 に示す登録番号の下に利用可能な c D N A の完全長コード化配列によりコードされるアミノ酸配列

を含むポリペプチドに結合する請求項 1 5 に記載の抗体。

1 7 . モノクローナル抗体である請求項 1 5 に記載の抗体。

1 8 . 抗体断片である請求項 1 5 に記載の抗体。

1 9 . キメラ抗体又はヒト化抗体である請求項 1 5 に記載の抗体。

2 0 . 成長阻害剤に結合する請求項 1 5 に記載の抗体。

2 1 . 細胞障害剤に結合する請求項 1 5 に記載の抗体。

2 2 . 細胞障害剤が、毒素、抗生物質、放射性同位体及び核酸分解酵素からなる群から選択される請求項 2 1 に記載の抗体。

10

20

30

40

50

23. 細胞障害剤が毒素である請求項21に記載の抗体。
24. 毒素がメイトンシノイド及びカリケアマイシンからなる群から選択される請求項23に記載の抗体。
25. 毒素がメイトンシノイドである請求項23に記載の抗体。
26. 細菌内で生産される請求項15に記載の抗体。
27. CHO細胞内で生産される請求項15に記載の抗体。
28. 結合先の細胞に死滅を誘発する請求項15に記載の抗体。
29. 検出可能に標識される請求項15に記載の抗体。
30. 請求項15に記載の抗体をコードするヌクレオチド配列を有する単離された核酸。
10
31. ベクターによって形質転換された宿主細胞により認識されるコントロール配列に作用可能に結合する請求項30に記載の核酸を有する発現ベクター。
32. 請求項31に記載の発現ベクターを有する宿主細胞。
33. CHO細胞、大腸菌又は酵母細胞である請求項32に記載の宿主細胞。
34. 請求項32に記載の宿主細胞を、前記抗体の発現に適した条件下で培養すること、及び細胞培地から前記抗体を回収することを含む抗体生産方法。
35. (a) 請求項11に記載のポリペプチド；
(b) 請求項13に記載のキメラポリペプチド；又は
(c) 担体と組み合わせた請求項15に記載の抗体
を含む材料の組成物。
20
36. 前記担体が製薬的に許容可能な担体である請求項35に記載の組成物。
37. (a) 容器；及び
(b) 前記容器に収容された請求項35に記載の組成物
を含む製造品。
38. 癌の薬物治療又は診断的検出のための前記組成物の使用について述べた、前記容器の貼付ラベル、又は前記容器に含まれるパッケージ挿入物をさらに含む請求項37に記載の製造品。
39. (a) 図2 (配列番号：2)，図4 (配列番号：4)，図6 (配列番号：6)，図8 (配列番号：8)，図10 (配列番号：10)，図12 (配列番号：12)，図14 (配列番号：14)，図16 (配列番号：16)，図18 (配列番号：18)，図20 (配列番号：20)，図22 (配列番号：22)，図24 (配列番号：24)，図26 (配列番号：26)，図28 (配列番号：28)，図30 (配列番号：30)，図32 (配列番号：32)，図34 (配列番号：34)，図36 (配列番号：36)，図38 (配列番号：38)，図40 (配列番号：40)，図42 (配列番号：42)，図44 (配列番号：44)，図46 (配列番号：46)，図48 (配列番号：48)，図50 (配列番号：50)，図52 (配列番号：52)，図54 (配列番号：54)，図56 (配列番号：56)，図58 (配列番号：58)，図60 (配列番号：60)，図62 (配列番号：62)，図64 (配列番号：64)，図66 (配列番号：66)，図68 (配列番号：68)，図70 (配列番号：70)，図72 (配列番号：72)，図74 (配列番号：74)，図76 (配列番号：76)，図78 (配列番号：78)，図80 (配列番号：80)，図82 (配列番号：82)，図84 (配列番号：84)，図86 (配列番号：86)，図88 (配列番号：88)，図90 (配列番号：90)，図92 (配列番号：92)，図94 (配列番号：94)，図96 (配列番号：96)，図98 (配列番号：98)，図100 (配列番号：100)，図102 (配列番号：102)，図104 (配列番号：104)，図106 (配列番号：106)，図108 (配列番号：108)，図110 (配列番号：110)，図112 (配列番号：112)，図114 (配列番号：114)，図116 (配列番号：116)，図118 (配列番号：118)，図120 (配列番号：120)，図122 (配列番号：122)，図124 (配列番号：124)，図126 (配列番号：126)，図128 (配列番号：128)，図130 (配列番号：130)，図132 (配列番号：132)，図134 (配列番号：134)，図136 (配列番号：136)，図138 (配列番号：138)，図140 (配列番号：140)
30
40
50

0), 図142 (配列番号: 142), 図144 (配列番号: 144), 図146 (配列番号: 146), 図148 (配列番号: 148), 図150 (配列番号: 150), 図152 (配列番号: 152), 図154 (配列番号: 154), 図156 (配列番号: 156), 図158 (配列番号: 158), 図160 (配列番号: 160), 又は 図162 (配列番号: 162)中に示されるアミノ酸配列; 又は

(b) 図1 (配列番号: 1), 図3 (配列番号: 3), 図5 (配列番号: 5), 図7 (配列番号: 7), 図9 (配列番号: 9), 図11 (配列番号: 11), 図13 (配列番号: 13), 図15 (配列番号: 15), 図17 (配列番号: 17), 図19 (配列番号: 19), 図21 (配列番号: 21), 図23 (配列番号: 23), 図25 (配列番号: 25), 図27 (配列番号: 27), 図29 (配列番号: 29), 図31 (配列番号: 31), 図33 (配列番号: 33), 図35 (配列番号: 35), 図37 (配列番号: 37), 図39 (配列番号: 39), 図41 (配列番号: 41), 図43 (配列番号: 43), 図45 (配列番号: 45), 図47 (配列番号: 47), 図49 (配列番号: 49), 図51 (配列番号: 51), 図53 (配列番号: 53), 図55 (配列番号: 55), 図57 (配列番号: 57), 図59 (配列番号: 59), 図61 (配列番号: 61), 図63 (配列番号: 63), 図65 (配列番号: 65), 図67 (配列番号: 67), 図69 (配列番号: 69), 図71 (配列番号: 71), 図73 (配列番号: 73), 図s 75A - 75B (配列番号: 75), 図77 (配列番号: 77), 図79 (配列番号: 79), 図81 (配列番号: 81), 図83 (配列番号: 83), 図85 (配列番号: 85), 図87 (配列番号: 87), 図89 (配列番号: 89), 図91 (配列番号: 91), 図93 (配列番号: 93), 図95 (配列番号: 95), 図97 (配列番号: 97), 図99 (配列番号: 99), 図101 (配列番号: 101), 図103 (配列番号: 103), 図105 (配列番号: 105), 図107 (配列番号: 107), 図109 (配列番号: 109), 図111 (配列番号: 111), 図113 (配列番号: 113), 図115 (配列番号: 115), 図117 (配列番号: 117), 図119 (配列番号: 119), 図121 (配列番号: 121), 図123 (配列番号: 123), 図125 (配列番号: 125), 図127 (配列番号: 127), 図129 (配列番号: 129), 図131 (配列番号: 131), 図133 (配列番号: 133), 図135 (配列番号: 135), 図137 (配列番号: 137), 図139 (配列番号: 139), 図141 (配列番号: 141), 図143 (配列番号: 143), 図145 (配列番号: 145), 図147 (配列番号: 147), 図149 (配列番号: 149), 図151 (配列番号: 151), 図153 (配列番号: 153), 図155 (配列番号: 155), 図157 (配列番号: 157), 図159 (配列番号: 159), 図161 (配列番号: 161)中に示されるヌクレオチド配列を含んでなるヌクレオチド配列によってコードされるアミノ酸配列;

と少なくとも80%の核酸配列同一性を有するポリペプチドを発現する細胞を死滅させる方法であって、前記細胞上の前記ポリペプチドに結合する抗体に前記細胞を接触させることにより前記細胞を死滅させることを含む方法。

40. 前記抗体がモノクローナル抗体である請求項39に記載の方法。

41. 前記抗体が抗体断片である請求項39に記載の方法。

42. 前記抗体がキメラ抗体又はヒト化抗体である請求項39に記載の方法。

43. 前記抗体が成長阻害剤に結合する請求項39に記載の方法。

44. 前記抗体が細胞障害剤に結合する請求項39に記載の方法。

45. 細胞障害剤が、毒素、抗生物質、放射性同位体及び核酸分解酵素からなる群から選択される請求項44に記載の方法。

46. 細胞障害剤が毒素である請求項44に記載の方法。

47. 毒素がメイトンシノイド及びカリケアマイシンからなる群から選択される請求項46に記載の方法。

48. 毒素がメイトンシノイドである請求項46に記載の方法。

49. 抗体が細菌内で生産される請求項39に記載の方法。

50. 抗体がCHO細胞内で生産される請求項39に記載の方法。

10

20

30

40

50

5 1 . 前記細胞にさらに放射線治療又は化学療法を施す請求項 3 9 に記載の方法。

5 2 . 前記細胞が潰瘍性大腸炎細胞及びクローン病細胞からなる群から選択される請求項 3 9 に記載の方法。

5 3 . 前記細胞が、同一組織器官の正常細胞と比較して前記ポリペプチドを過剰発現する請求項 3 9 に記載の方法。

5 4 . (a) 図 2 (配列番号 : 2) , 図 4 (配列番号 : 4) , 図 6 (配列番号 : 6) , 図 8 (配列番号 : 8) , 図 1 0 (配列番号 : 1 0) , 図 1 2 (配列番号 : 1 2) , 図 1 4 (配列番号 : 1 4) , 図 1 6 (配列番号 : 1 6) , 図 1 8 (配列番号 : 1 8) , 図 2 0 (配列番号 : 2 0) , 図 2 2 (配列番号 : 2 2) , 図 2 4 (配列番号 : 2 4) , 図 2 6 (配列番号 : 2 6) , 図 2 8 (配列番号 : 2 8) , 図 3 0 (配列番号 : 3 0) , 図 3 2 (配列番号 : 3 2) , 図 3 4 (配列番号 : 3 4) , 図 3 6 (配列番号 : 3 6) , 図 3 8 (配列番号 : 3 8) , 図 4 0 (配列番号 : 4 0) , 図 4 2 (配列番号 : 4 2) , 図 4 4 (配列番号 : 4 4) , 図 4 6 (配列番号 : 4 6) , 図 4 8 (配列番号 : 4 8) , 図 5 0 (配列番号 : 5 0) , 図 5 2 (配列番号 : 5 2) , 図 5 4 (配列番号 : 5 4) , 図 5 6 (配列番号 : 5 6) , 図 5 8 (配列番号 : 5 8) , 図 6 0 (配列番号 : 6 0) , 図 6 2 (配列番号 : 6 2) , 図 6 4 (配列番号 : 6 4) , 図 6 6 (配列番号 : 6 6) , 図 6 8 (配列番号 : 6 8) , 図 7 0 (配列番号 : 7 0) , 図 7 2 (配列番号 : 7 2) , 図 7 4 (配列番号 : 7 4) , 図 7 6 (配列番号 : 7 6) , 図 7 8 (配列番号 : 7 8) , 図 8 0 (配列番号 : 8 0) , 図 8 2 (配列番号 : 8 2) , 図 8 4 (配列番号 : 8 4) , 図 8 6 (配列番号 : 8 6) , 図 8 8 (配列番号 : 8 8) , 図 9 0 (配列番号 : 9 0) , 図 9 2 (配列番号 : 9 2) , 図 9 4 (配列番号 : 9 4) , 図 9 6 (配列番号 : 9 6) , 図 9 8 (配列番号 : 9 8) , 図 1 0 0 (配列番号 : 1 0 0) , 図 1 0 2 (配列番号 : 1 0 2) , 図 1 0 4 (配列番号 : 1 0 4) , 図 1 0 6 (配列番号 : 1 0 6) , 図 1 0 8 (配列番号 : 1 0 8) , 図 1 1 0 (配列番号 : 1 1 0) , 図 1 1 2 (配列番号 : 1 1 2) , 図 1 1 4 (配列番号 : 1 1 4) , 図 1 1 6 (配列番号 : 1 1 6) , 図 1 1 8 (配列番号 : 1 1 8) , 図 1 2 0 (配列番号 : 1 2 0) , 図 1 2 2 (配列番号 : 1 2 2) , 図 1 2 4 (配列番号 : 1 2 4) , 図 1 2 6 (配列番号 : 1 2 6) , 図 1 2 8 (配列番号 : 1 2 8) , 図 1 3 0 (配列番号 : 1 3 0) , 図 1 3 2 (配列番号 : 1 3 2) , 図 1 3 4 (配列番号 : 1 3 4) , 図 1 3 6 (配列番号 : 1 3 6) , 図 1 3 8 (配列番号 : 1 3 8) , 図 1 4 0 (配列番号 : 1 4 0) , 図 1 4 2 (配列番号 : 1 4 2) , 図 1 4 4 (配列番号 : 1 4 4) , 図 1 4 6 (配列番号 : 1 4 6) , 図 1 4 8 (配列番号 : 1 4 8) , 図 1 5 0 (配列番号 : 1 5 0) , 図 1 5 2 (配列番号 : 1 5 2) , 図 1 5 4 (配列番号 : 1 5 4) , 図 1 5 6 (配列番号 : 1 5 6) , 図 1 5 8 (配列番号 : 1 5 8) , 図 1 6 0 (配列番号 : 1 6 0) , 又は 図 1 6 2 (配列番号 : 1 6 2) 中に示されるアミノ酸配列 ; 又は

(b) 図 1 (配列番号 : 1) , 図 3 (配列番号 : 3) , 図 5 (配列番号 : 5) , 図 7 (配列番号 : 7) , 図 9 (配列番号 : 9) , 図 1 1 (配列番号 : 1 1) , 図 1 3 (配列番号 : 1 3) , 図 1 5 (配列番号 : 1 5) , 図 1 7 (配列番号 : 1 7) , 図 1 9 (配列番号 : 1 9) , 図 2 1 (配列番号 : 2 1) , 図 2 3 (配列番号 : 2 3) , 図 2 5 (配列番号 : 2 5) , 図 2 7 (配列番号 : 2 7) , 図 2 9 (配列番号 : 2 9) , 図 3 1 (配列番号 : 3 1) , 図 3 3 (配列番号 : 3 3) , 図 3 5 (配列番号 : 3 5) , 図 3 7 (配列番号 : 3 7) , 図 3 9 (配列番号 : 3 9) , 図 4 1 (配列番号 : 4 1) , 図 4 3 (配列番号 : 4 3) , 図 4 5 (配列番号 : 4 5) , 図 4 7 (配列番号 : 4 7) , 図 4 9 (配列番号 : 4 9) , 図 5 1 (配列番号 : 5 1) , 図 5 3 (配列番号 : 5 3) , 図 5 5 (配列番号 : 5 5) , 図 5 7 (配列番号 : 5 7) , 図 5 9 (配列番号 : 5 9) , 図 6 1 (配列番号 : 6 1) , 図 6 3 (配列番号 : 6 3) , 図 6 5 (配列番号 : 6 5) , 図 6 7 (配列番号 : 6 7) , 図 6 9 (配列番号 : 6 9) , 図 7 1 (配列番号 : 7 1) , 図 7 3 (配列番号 : 7 3) , 図 s 7 5 A - 7 5 B (配列番号 : 7 5) , 図 7 7 (配列番号 : 7 7) , 図 7 9 (配列番号 : 7 9) , 図 8 1 (配列番号 : 8 1) , 図 8 3 (配列番号 : 8 3) , 図 8 5 (配列番号 : 8 5) , 図 8 7 (配列番号 : 8 7) , 図 8 9 (配列番号 : 8 9) , 図 9 1 (配列番号 : 9 1) , 図 9 3 (配列番号 : 9 3) , 図 9 5 (配列番号 : 9 5) , 図 9 7 (配列番号 : 9 7) , 図 9 9 (配列番号 : 9 9) , 図 1 0 1 (配列番号 : 1 0 1) , 図 1 0 3 (配列番号 : 1 0 3) , 図 1 0 5 (配列番号 : 1 0 5) , 図 1 0 7 (

10

20

30

40

50

配列番号：107), 図109 (配列番号：109), 図111 (配列番号：111), 図113 (配列番号：113), 図115 (配列番号：115), 図117 (配列番号：117), 図119 (配列番号：119), 図121 (配列番号：121), 図123 (配列番号：123), 図125 (配列番号：125), 図127 (配列番号：127), 図129 (配列番号：129), 図131 (配列番号：131), 図133 (配列番号：133), 図135 (配列番号：135), 図137 (配列番号：137), 図139 (配列番号：139), 図141 (配列番号：141), 図143 (配列番号：143), 図145 (配列番号：145), 図147 (配列番号：147), 図149 (配列番号：149), 図151 (配列番号：151), 図153 (配列番号：153), 図155 (配列番号：155), 図157 (配列番号：157), 図159 (配列番号：159), 図161 (配列番号：161)中に示されるヌクレオチド配列を含んでなるヌクレオチド配列によってコードされるアミノ酸配列；

と少なくとも80%の核酸配列同一性を有するポリペプチドを発現する細胞を有するIBDを持つ哺乳動物の治療的処置方法であって、前記ポリペプチドに結合する抗体の治療的有効量を前記哺乳動物に投与することにより前記哺乳動物を有効に治療することを含む方法。

55. 前記抗体がモノクローナル抗体である請求項54に記載の方法。

56. 前記抗体が抗体断片である請求項54に記載の方法。

57. 前記抗体がキメラ抗体又はヒト化抗体である請求項54に記載の方法。

58. 前記抗体が成長阻害剤に結合する請求項54に記載の方法。

59. 前記抗体が細胞障害剤に結合する請求項54に記載の方法。

60. 細胞障害剤が、毒素、抗生物質、放射性同位体及び核酸分解酵素からなる群から選択される請求項59に記載の方法。

61. 細胞障害剤が毒素である請求項59に記載の方法。

62. 毒素がメイトンシノイド及びカリケアマイシンからなる群から選択される請求項61に記載の方法。

63. 毒素がメイトンシノイドである請求項61に記載の方法。

64. 抗体が細菌内で生産される請求項54に記載の方法。

65. 抗体がCHO細胞内で生産される請求項54に記載の方法。

66. 前記IBDにさらに放射線治療又は化学療法を施す請求項54に記載の方法。

67. 前記IBDが潰瘍性大腸炎細胞及びクローン病細胞からなる群から選択される請求項54に記載の方法。

68. (a) 図2 (配列番号：2), 図4 (配列番号：4), 図6 (配列番号：6), 図8 (配列番号：8), 図10 (配列番号：10), 図12 (配列番号：12), 図14 (配列番号：14), 図16 (配列番号：16), 図18 (配列番号：18), 図20 (配列番号：20), 図22 (配列番号：22), 図24 (配列番号：24), 図26 (配列番号：26), 図28 (配列番号：28), 図30 (配列番号：30), 図32 (配列番号：32), 図34 (配列番号：34), 図36 (配列番号：36), 図38 (配列番号：38), 図40 (配列番号：40), 図42 (配列番号：42), 図44 (配列番号：44), 図46 (配列番号：46), 図48 (配列番号：48), 図50 (配列番号：50), 図52 (配列番号：52), 図54 (配列番号：54), 図56 (配列番号：56), 図58 (配列番号：58), 図60 (配列番号：60), 図62 (配列番号：62), 図64 (配列番号：64), 図66 (配列番号：66), 図68 (配列番号：68), 図70 (配列番号：70), 図72 (配列番号：72), 図74 (配列番号：74), 図76 (配列番号：76), 図78 (配列番号：78), 図80 (配列番号：80), 図82 (配列番号：82), 図84 (配列番号：84), 図86 (配列番号：86), 図88 (配列番号：88), 図90 (配列番号：90), 図92 (配列番号：92), 図94 (配列番号：94), 図96 (配列番号：96), 図98 (配列番号：98), 図100 (配列番号：100), 図102 (配列番号：102), 図104 (配列番号：104), 図106 (配列番号：106), 図108 (配列番号：108), 図110 (配列番号：110), 図112 (配列番号：112), 図

10

20

30

40

50

1 1 4 (配列番号: 1 1 4), 図 1 1 6 (配列番号: 1 1 6), 図 1 1 8 (配列番号: 1 1 8), 図 1 2 0 (配列番号: 1 2 0), 図 1 2 2 (配列番号: 1 2 2), 図 1 2 4 (配列番号: 1 2 4), 図 1 2 6 (配列番号: 1 2 6), 図 1 2 8 (配列番号: 1 2 8), 図 1 3 0 (配列番号: 1 3 0), 図 1 3 2 (配列番号: 1 3 2), 図 1 3 4 (配列番号: 1 3 4), 図 1 3 6 (配列番号: 1 3 6), 図 1 3 8 (配列番号: 1 3 8), 図 1 4 0 (配列番号: 1 4 0), 図 1 4 2 (配列番号: 1 4 2), 図 1 4 4 (配列番号: 1 4 4), 図 1 4 6 (配列番号: 1 4 6), 図 1 4 8 (配列番号: 1 4 8), 図 1 5 0 (配列番号: 1 5 0), 図 1 5 2 (配列番号: 1 5 2), 図 1 5 4 (配列番号: 1 5 4), 図 1 5 6 (配列番号: 1 5 6), 図 1 5 8 (配列番号: 1 5 8), 図 1 6 0 (配列番号: 1 6 0), 又は 図 1 6 2 (配列番号: 1 6 2) 中に示されるアミノ酸配列; 又は

(b) 図 1 (配列番号: 1), 図 3 (配列番号: 3), 図 5 (配列番号: 5), 図 7 (配列番号: 7), 図 9 (配列番号: 9), 図 1 1 (配列番号: 1 1), 図 1 3 (配列番号: 1 3), 図 1 5 (配列番号: 1 5), 図 1 7 (配列番号: 1 7), 図 1 9 (配列番号: 1 9), 図 2 1 (配列番号: 2 1), 図 2 3 (配列番号: 2 3), 図 2 5 (配列番号: 2 5), 図 2 7 (配列番号: 2 7), 図 2 9 (配列番号: 2 9), 図 3 1 (配列番号: 3 1), 図 3 3 (配列番号: 3 3), 図 3 5 (配列番号: 3 5), 図 3 7 (配列番号: 3 7), 図 3 9 (配列番号: 3 9), 図 4 1 (配列番号: 4 1), 図 4 3 (配列番号: 4 3), 図 4 5 (配列番号: 4 5), 図 4 7 (配列番号: 4 7), 図 4 9 (配列番号: 4 9), 図 5 1 (配列番号: 5 1), 図 5 3 (配列番号: 5 3), 図 5 5 (配列番号: 5 5), 図 5 7 (配列番号: 5 7), 図 5 9 (配列番号: 5 9), 図 6 1 (配列番号: 6 1), 図 6 3 (配列番号: 6 3), 図 6 5 (配列番号: 6 5), 図 6 7 (配列番号: 6 7), 図 6 9 (配列番号: 6 9), 図 7 1 (配列番号: 7 1), 図 7 3 (配列番号: 7 3), 図 s 7 5 A - 7 5 B (配列番号: 7 5), 図 7 7 (配列番号: 7 7), 図 7 9 (配列番号: 7 9), 図 8 1 (配列番号: 8 1), 図 8 3 (配列番号: 8 3), 図 8 5 (配列番号: 8 5), 図 8 7 (配列番号: 8 7), 図 8 9 (配列番号: 8 9), 図 9 1 (配列番号: 9 1), 図 9 3 (配列番号: 9 3), 図 9 5 (配列番号: 9 5), 図 9 7 (配列番号: 9 7), 図 9 9 (配列番号: 9 9), 図 1 0 1 (配列番号: 1 0 1), 図 1 0 3 (配列番号: 1 0 3), 図 1 0 5 (配列番号: 1 0 5), 図 1 0 7 (配列番号: 1 0 7), 図 1 0 9 (配列番号: 1 0 9), 図 1 1 1 (配列番号: 1 1 1), 図 1 1 3 (配列番号: 1 1 3), 図 1 1 5 (配列番号: 1 1 5), 図 1 1 7 (配列番号: 1 1 7), 図 1 1 9 (配列番号: 1 1 9), 図 1 2 1 (配列番号: 1 2 1), 図 1 2 3 (配列番号: 1 2 3), 図 1 2 5 (配列番号: 1 2 5), 図 1 2 7 (配列番号: 1 2 7), 図 1 2 9 (配列番号: 1 2 9), 図 1 3 1 (配列番号: 1 3 1), 図 1 3 3 (配列番号: 1 3 3), 図 1 3 5 (配列番号: 1 3 5), 図 1 3 7 (配列番号: 1 3 7), 図 1 3 9 (配列番号: 1 3 9), 図 1 4 1 (配列番号: 1 4 1), 図 1 4 3 (配列番号: 1 4 3), 図 1 4 5 (配列番号: 1 4 5), 図 1 4 7 (配列番号: 1 4 7), 図 1 4 9 (配列番号: 1 4 9), 図 1 5 1 (配列番号: 1 5 1), 図 1 5 3 (配列番号: 1 5 3), 図 1 5 5 (配列番号: 1 5 5), 図 1 5 7 (配列番号: 1 5 7), 図 1 5 9 (配列番号: 1 5 9), 図 1 6 1 (配列番号: 1 6 1) 中に示されるヌクレオチド配列を含んでなるヌクレオチド配列によってコードされるアミノ酸配列;

と少なくとも 80% の核酸配列同一性を有するポリペプチドを有する疑いのある試料中において、前記ポリペプチドの存在を検出する方法であって、前記ポリペプチドに結合する抗体に前記試料を接触させること、及び前記試料中の前記ポリペプチドに対する前記抗体の結合を判断することを含む方法。

69. 前記試料が前記ポリペプチドを発現する疑いのある細胞を含む請求項 68 に記載の方法。

70. 前記細胞が I B D 細胞である請求項 69 に記載の方法。

71. 前記抗体を検出可能に標識する請求項 68 に記載の方法。

72. 哺乳動物における I B D の存在を診断する方法であって、前記哺乳動物から採取した組織細胞の試験試料中と、同一組織器官の既知の正常細胞の対照試料中とにおいて、

(a) 図 2 (配列番号: 2), 図 4 (配列番号: 4), 図 6 (配列番号: 6), 図 8 (配

10

20

30

40

50

列番号：8), 図10 (配列番号：10), 図12 (配列番号：12), 図14 (配列番号：14), 図16 (配列番号：16), 図18 (配列番号：18), 図20 (配列番号：20), 図22 (配列番号：22), 図24 (配列番号：24), 図26 (配列番号：26), 図28 (配列番号：28), 図30 (配列番号：30), 図32 (配列番号：32), 図34 (配列番号：34), 図36 (配列番号：36), 図38 (配列番号：38), 図40 (配列番号：40), 図42 (配列番号：42), 図44 (配列番号：44), 図46 (配列番号：46), 図48 (配列番号：48), 図50 (配列番号：50), 図52 (配列番号：52), 図54 (配列番号：54), 図56 (配列番号：56), 図58 (配列番号：58), 図60 (配列番号：60), 図62 (配列番号：62), 図64 (配列番号：64), 図66 (配列番号：66), 図68 (配列番号：68), 図70 (配列番号：70), 図72 (配列番号：72), 図74 (配列番号：74), 図76 (配列番号：76), 図78 (配列番号：78), 図80 (配列番号：80), 図82 (配列番号：82), 図84 (配列番号：84), 図86 (配列番号：86), 図88 (配列番号：88), 図90 (配列番号：90), 図92 (配列番号：92), 図94 (配列番号：94), 図96 (配列番号：96), 図98 (配列番号：98), 図100 (配列番号：100), 図102 (配列番号：102), 図104 (配列番号：104), 図106 (配列番号：106), 図108 (配列番号：108), 図110 (配列番号：110), 図112 (配列番号：112), 図114 (配列番号：114), 図116 (配列番号：116), 図118 (配列番号：118), 図120 (配列番号：120), 図122 (配列番号：122), 図124 (配列番号：124), 図126 (配列番号：126), 図128 (配列番号：128), 図130 (配列番号：130), 図132 (配列番号：132), 図134 (配列番号：134), 図136 (配列番号：136), 図138 (配列番号：138), 図140 (配列番号：140), 図142 (配列番号：142), 図144 (配列番号：144), 図146 (配列番号：146), 図148 (配列番号：148), 図150 (配列番号：150), 図152 (配列番号：152), 図154 (配列番号：154), 図156 (配列番号：156), 図158 (配列番号：158), 図160 (配列番号：160), 又は 図162 (配列番号：162)中に示されるアミノ酸配列；又は

(b) 図1 (配列番号：1), 図3 (配列番号：3), 図5 (配列番号：5), 図7 (配列番号：7), 図9 (配列番号：9), 図11 (配列番号：11), 図13 (配列番号：13), 図15 (配列番号：15), 図17 (配列番号：17), 図19 (配列番号：19), 図21 (配列番号：21), 図23 (配列番号：23), 図25 (配列番号：25), 図27 (配列番号：27), 図29 (配列番号：29), 図31 (配列番号：31), 図33 (配列番号：33), 図35 (配列番号：35), 図37 (配列番号：37), 図39 (配列番号：39), 図41 (配列番号：41), 図43 (配列番号：43), 図45 (配列番号：45), 図47 (配列番号：47), 図49 (配列番号：49), 図51 (配列番号：51), 図53 (配列番号：53), 図55 (配列番号：55), 図57 (配列番号：57), 図59 (配列番号：59), 図61 (配列番号：61), 図63 (配列番号：63), 図65 (配列番号：65), 図67 (配列番号：67), 図69 (配列番号：69), 図71 (配列番号：71), 図73 (配列番号：73), 図s 75 A - 75 B (配列番号：75), 図77 (配列番号：77), 図79 (配列番号：79), 図81 (配列番号：81), 図83 (配列番号：83), 図85 (配列番号：85), 図87 (配列番号：87), 図89 (配列番号：89), 図91 (配列番号：91), 図93 (配列番号：93), 図95 (配列番号：95), 図97 (配列番号：97), 図99 (配列番号：99), 図101 (配列番号：101), 図103 (配列番号：103), 図105 (配列番号：105), 図107 (配列番号：107), 図109 (配列番号：109), 図111 (配列番号：111), 図113 (配列番号：113), 図115 (配列番号：115), 図117 (配列番号：117), 図119 (配列番号：119), 図121 (配列番号：121), 図123 (配列番号：123), 図125 (配列番号：125), 図127 (配列番号：127), 図129 (配列番号：129), 図131 (配列番号：131), 図133 (配列番号：133), 図135 (配列番号：135), 図137 (配列番号：137), 図139 (配列番号：139)

10

20

30

40

50

9), 図141 (配列番号: 141), 図143 (配列番号: 143), 図145 (配列番号: 145), 図147 (配列番号: 147), 図149 (配列番号: 149), 図151 (配列番号: 151), 図153 (配列番号: 153), 図155 (配列番号: 155), 図157 (配列番号: 157), 図159 (配列番号: 159), 図161 (配列番号: 161)中に示されるヌクレオチド配列を含んでなるヌクレオチド配列によってコードされるアミノ酸配列;

と少なくとも80%の核酸配列同一性を有するポリペプチドをコードする遺伝子の発現レベルを検出することを含み、対照試料との比較において試験試料中の前記ポリペプチドの発現レベルの高低が、試験試料を採取した哺乳動物におけるIBDの存在を示す方法。

73. 前記ポリペプチドをコードする遺伝子の発現レベルを検出する段階が、インサイツハイブリダイゼーション又はRT-PCR分析におけるオリゴヌクレオチドの使用を含む請求項72に記載の方法。

74. 前記ポリペプチドをコードする遺伝子の発現レベルを検出する段階が、免疫組織化学法における抗体の使用を含む請求項72に記載の方法。

75. 哺乳動物におけるIBDの存在の診断方法であって、

(a) 図2 (配列番号: 2), 図4 (配列番号: 4), 図6 (配列番号: 6), 図8 (配列番号: 8), 図10 (配列番号: 10), 図12 (配列番号: 12), 図14 (配列番号: 14), 図16 (配列番号: 16), 図18 (配列番号: 18), 図20 (配列番号: 20), 図22 (配列番号: 22), 図24 (配列番号: 24), 図26 (配列番号: 26), 図28 (配列番号: 28), 図30 (配列番号: 30), 図32 (配列番号: 32), 図34 (配列番号: 34), 図36 (配列番号: 36), 図38 (配列番号: 38), 図40 (配列番号: 40), 図42 (配列番号: 42), 図44 (配列番号: 44), 図46 (配列番号: 46), 図48 (配列番号: 48), 図50 (配列番号: 50), 図52 (配列番号: 52), 図54 (配列番号: 54), 図56 (配列番号: 56), 図58 (配列番号: 58), 図60 (配列番号: 60), 図62 (配列番号: 62), 図64 (配列番号: 64), 図66 (配列番号: 66), 図68 (配列番号: 68), 図70 (配列番号: 70), 図72 (配列番号: 72), 図74 (配列番号: 74), 図76 (配列番号: 76), 図78 (配列番号: 78), 図80 (配列番号: 80), 図82 (配列番号: 82), 図84 (配列番号: 84), 図86 (配列番号: 86), 図88 (配列番号: 88), 図90 (配列番号: 90), 図92 (配列番号: 92), 図94 (配列番号: 94), 図96 (配列番号: 96), 図98 (配列番号: 98), 図100 (配列番号: 100), 図102 (配列番号: 102), 図104 (配列番号: 104), 図106 (配列番号: 106), 図108 (配列番号: 108), 図110 (配列番号: 110), 図112 (配列番号: 112), 図114 (配列番号: 114), 図116 (配列番号: 116), 図118 (配列番号: 118), 図120 (配列番号: 120), 図122 (配列番号: 122), 図124 (配列番号: 124), 図126 (配列番号: 126), 図128 (配列番号: 128), 図130 (配列番号: 130), 図132 (配列番号: 132), 図134 (配列番号: 134), 図136 (配列番号: 136), 図138 (配列番号: 138), 図140 (配列番号: 140), 図142 (配列番号: 142), 図144 (配列番号: 144), 図146 (配列番号: 146), 図148 (配列番号: 148), 図150 (配列番号: 150), 図152 (配列番号: 152), 図154 (配列番号: 154), 図156 (配列番号: 156), 図158 (配列番号: 158), 図160 (配列番号: 160), 又は 図162 (配列番号: 162)中に示されるアミノ酸配列; 又は

(b) 図1 (配列番号: 1), 図3 (配列番号: 3), 図5 (配列番号: 5), 図7 (配列番号: 7), 図9 (配列番号: 9), 図11 (配列番号: 11), 図13 (配列番号: 13), 図15 (配列番号: 15), 図17 (配列番号: 17), 図19 (配列番号: 19), 図21 (配列番号: 21), 図23 (配列番号: 23), 図25 (配列番号: 25), 図27 (配列番号: 27), 図29 (配列番号: 29), 図31 (配列番号: 31), 図33 (配列番号: 33), 図35 (配列番号: 35), 図37 (配列番号: 37), 図39 (配列番号: 39), 図41 (配列番号: 41), 図43 (配列番号: 43), 図45 (配列番号

10

20

30

40

50

： 45), 図 47 (配列番号： 47), 図 49 (配列番号： 49), 図 51 (配列番号： 51), 図 53 (配列番号： 53), 図 55 (配列番号： 55), 図 57 (配列番号： 57), 図 59 (配列番号： 59), 図 61 (配列番号： 61), 図 63 (配列番号： 63), 図 65 (配列番号： 65), 図 67 (配列番号： 67), 図 69 (配列番号： 69), 図 71 (配列番号： 71), 図 73 (配列番号： 73), 図 75A - 75B (配列番号： 75), 図 77 (配列番号： 77), 図 79 (配列番号： 79), 図 81 (配列番号： 81), 図 83 (配列番号： 83), 図 85 (配列番号： 85), 図 87 (配列番号： 87), 図 89 (配列番号： 89), 図 91 (配列番号： 91), 図 93 (配列番号： 93), 図 95 (配列番号： 95), 図 97 (配列番号： 97), 図 99 (配列番号： 99), 図 101 (配列番号： 101), 図 103 (配列番号： 103), 図 105 (配列番号： 105), 図 107 (配列番号： 107), 図 109 (配列番号： 109), 図 111 (配列番号： 111), 図 113 (配列番号： 113), 図 115 (配列番号： 115), 図 117 (配列番号： 117), 図 119 (配列番号： 119), 図 121 (配列番号： 121), 図 123 (配列番号： 123), 図 125 (配列番号： 125), 図 127 (配列番号： 127), 図 129 (配列番号： 129), 図 131 (配列番号： 131), 図 133 (配列番号： 133), 図 135 (配列番号： 135), 図 137 (配列番号： 137), 図 139 (配列番号： 139), 図 141 (配列番号： 141), 図 143 (配列番号： 143), 図 145 (配列番号： 145), 図 147 (配列番号： 147), 図 149 (配列番号： 149), 図 151 (配列番号： 151), 図 153 (配列番号： 153), 図 155 (配列番号： 155), 図 157 (配列番号： 157), 図 159 (配列番号： 159), 図 161 (配列番号： 161)中に示されるヌクレオチド配列を含んでなるヌクレオチド配列によってコードされるアミノ酸配列；

と少なくとも 80%の核酸配列同一性を有するポリペプチドに結合する抗体に、前記哺乳動物から採取した組織細胞の試験試料を接触させることと、試験試料中における前期抗体と前記ポリペプチドと複合体形成を検出することとを含み、複合体の形成が前記哺乳動物における IBD の存在を示す方法。

76. 前記抗体を検出可能に標識する請求項 75 に記載の方法。

77. 前記組織細胞の試験試料が、IBD を有する疑いのある個体から採取される請求項 75 に記載の方法。

78. IBD を有する哺乳動物の治療的処置方法であって、

(a) 図 16 (配列番号： 16)、図 18 (配列番号： 18)、又は図 106 (配列番号 106)中に示されるアミノ酸配列；又は

(b) 図 15 (配列番号： 15)、図 17 (配列番号： 17)、又は図 105 (配列番号 105)中に示されるヌクレオチド配列を含んでなるヌクレオチド配列によりコードされるアミノ酸配列

と少なくとも 80%のアミノ酸配列同一性を有するポリペプチドの治療的有効量を前記哺乳動物に投与することによる前記哺乳動物を有効に治療する方法。

79. 前記 IBD がクローン病である請求項 78 に記載の方法。

80. 哺乳動物における IBD の存在を診断する方法であって、前記哺乳動物から採取した組織細胞の試験試料中と、同一組織器官の既知の正常細胞の対照試料中とにおいて、

(a) 図 16 (配列番号： 16)、図 18 (配列番号： 18)、又は図 106 (配列番号 106)中に示されるアミノ酸配列；又は

(b) 図 15 (配列番号： 15)、図 17 (配列番号： 17)、又は図 105 (配列番号 105)中に示されるヌクレオチド配列を含んでなるヌクレオチド配列によりコードされるアミノ酸配列

と少なくとも 80%のアミノ酸配列同一性を有するポリペプチドをコードする遺伝子の発現レベルを検出することを含み、対照試料との比較において試験試料中の前記ポリペプチドの発現レベルの高低が、試験試料を採取した哺乳動物における IBD の存在を示す方法。

81. 前記ポリペプチドをコードする遺伝子の発現レベルを検出する段階が、インサイ

ツハイブリダイゼーション又はRT-PCR分析におけるオリゴヌクレオチドの使用を含む請求項80に記載の方法。

82. 前記ポリペプチドをコードする遺伝子の発現レベルを検出する段階が、免疫組織化学法における抗体の使用を含む請求項80に記載の方法。

83. IBDがクローン病である請求項80に記載の方法。

【図1】

```

CTGCAGCCGAGCGGGCCGGGGAAGGGCTCTCCTCCAGCGCCGAGCCTGGGCCCCGG
CAGACGCCCAAGATTGTTGGAGGAGTCTAGCCAGTTGGTGGAGCCGTGTAATCTGAACCC
AGCTGTGCCAGACTGAGGCCCATTTGCATTTGTTAAACATACTTAGAAAAATGAAGTGT
CATTTTTAACATTCTCCTCCAATTGTTTAACTGCTGAATTACTGAAGAGGGCTAAGCAA
AACCAGGTGCTTGGGCTGAGGGCTCTGCAGTGGCTGGGAGGACCCGGGGCTCTCCCGCT
GTCTCTCCAGACTGCTGCGGCCCTTGGGATAAAACACCCGGGAGCCCGGAGGGGCC
AGAGAGGCGCGCTGCCCCGAGCTCTCCGGGGTGGGGCCGGGAGCTTTCTCTCGCC
TTCCGATCTCCTCTCGCGGCTTTGGACATGGCCAGGAATAAAAGGATCTCACTGTTA
CCATTCGGCTCTCTGTCTCCAAGCCCTGGGATGCACAGCCACAGTGCACGAATGGCT
TTGACCTGGATCGCCAGTCAGGACAGTGTTAAGATATTGATGAATGCCGAACCACTCCCGG
AGGCTGGCGAGGAGACATGATGTGTTAACCAAAAATGGCGGGTATTTATGCACTCCCGC
GGACAAACCTGTGTATCGAGGGGCCACTCGAACCCCTACTCGACCCCTACTCAGGTC
GTAAGCCAGCACTGCCCCACCTCTGAGCTCCAAAGTATCCAGGATCTCCAGGGCTC
TTATGTGCGCTTTGGATACGATGATGATGAAGCAACCAATGTGTGGATGTGGACGAGT
GTGCAACAGATTCCACCAGTGCACCCCAACCCCACTGATCGATCAATCACTGAAGCGGGT
ACACCTGCTCCTGCACCCAGCGGATATTGGCTTCTGGAAGGCCAGTCTTAGACATTAAG
AATGTGCTATGTTACTGCCAGAGCTCTGTGCGAATGTTCTGGATCTCACTCTGTA
CATGCAACCCCTGGTTTACCCCTCAATGAGGATGGAAGTCTTGGCAAGATGTGAACGAGT
GTCCACCGAGAACCTTGGGTGCAACCTTGGCTCACACCTACGGCTCTCTCACTCGCC
GCTGTGACCCAGGATGAACTTGGGAGATGGGGCTTCTGCACTGATGATGAGAGGAT
GCAGCTTCTCTGAGTTCCTCTGCCAACAAGAGTGTGAACCGCCGGGACATCTCTCT
GCTCTGCCCCCAGGCTACATCTGCTGTGATGACAACCGAAGCTGCCAAGACATCAAG
AATGTGAGCAGGAAACACACCTGCAACCTGACAGAGCGTGTACAATTTACAAGGGG
GCTTCAAAATGCATCGACCCCTCCGCTGAGGAGCCCTTACTGAGGATCAGTGAATAACC
GCTGTATGTGTCTGTGAGAAACCTTGGCTGAGAGACCCGCCCTTACCATCTCTGACCC
GGGATATGGCTGTGTGAGAGCTCTGCTCCGCTGCACTGTTCCAAATGCAAGGCA
GCACCCGCTACCCCTGGGGCTATTGACTTTTCCAGTCAAACTCGGAATGGGGCAGAG
AATTTTACATGCGGCAACCGGGCCCTCAGTGCCACCCCTGGTGTGACACCGCCCAACA
AAGGGCCCCGGAAATCCAGCTGGACTTGGAAATGATCACTGCAACACTGTCACTCAACT
TCAGAGGCCAGCTCCGATCCGACTGGGATATATGTGTGGCAGTACCCATCTGAGCCT
CGGGCTGGAGCCTCCGAGCCTGCTCTCATTTGGCACCAGGGACAGGAGAAGAGAGGAAA
TACAGAGAGAAATGAGAGCGACACAGAGCTTAGGCATTTCTGCTGAAAGCTTCCCGAAA
GAGTGGCCCCGACTTCTGACTCTCACTGTACTTTGAGAGCTGTGACCTCCAGGAGAA
CTTGCCACCCCCAGTTCTTATGACACAGCTTACAAAAGATATATCACTTGTCTCCCGCAG
AGAGATTTGTTGGTAATTTTCAAGGCCCTCACTTTTCCACTATTTTCAAAGAAAAT
AGATTAGTTTGGGGGGCTGAGCTATGTTTCAAAGACTGTGAACAGCTTGTCTCACT
TCTTCACTCTTCCACTCTCTCTCACTGTGTACTGCTTGCAAAAGACCCGGGAGCCTG
CGGGGACCCCTGGAGTAgCTAgTTTGGTTTTTGGCTACACAGAGAGGGCTATGTAAC
AAACAGAGAGGATGAAAGGTTTTTGAAGATGTGTTCAAACCAAGCCCTGGATTT
TCACCAATAGAGAGTTCGGGTGCTTAAATTTTAAAGGTTTAACTCTGCTTGG
TTCAATTTGAGTATTTTAAAAAATATAGTGTGAAATTCCTTCGAAAGGCCCTCAGACAC
ATGCTATGTTGTCTTCCCAAACCCGAGCTCTCTCCATTTTAAAGCCAGTGTCTCTT
GAGGACCCCTTAACTTGGCTTCTTAAAGATTTTACCCAATGGATTGGAATGCAGAGG
TCTCCAACTGATTAATAATTTGAAGAGA

```

【図2】

```

MPGIKRIILTVILALCLPSPGNAQAQCTNGFDLDRQSGQCLDIDECRIFEAACRGDMMCV
NQNGYICIPRTNPNVYRGPYSPYSPYSPYSPYSPYSPYSPYSPYSPYSPYSPYSPYSPY
ESNQCVYVDECATDHRQCNFTQICINTEGGVTCSCCTDCVWLEGGQLDIDECRYGYYQL
CANVFGYSCTCNFGFTLNEGRSCQDVNECATENPCVQCVNCTVGLDIDECRYGYYQL
DGRVCSWDECSFSEFLQREKCNQVGTVEFCSCPPGYLLDDNRSCQDIDECRHRNHCN
LQOTCYLQGGFKCIDIFRCEEPYLRISDNRCMCPAENPGCRDQPFLLYRDMDVVSGRS
VFAOIFQWQATTRYFGAYYIFQIKSGNEGREPFYKRCQSPATLVMCRPDKGFRRIQLDL
EMITVNTVINFRGSSVIRLRIYVSYQYFF

```

シグナル配列
1-25

膜貫通ドメイン
なし

N-グリコシル化部位
283-286
296-299

N-ミリスチル化部位
21-26
64-69
149-154
186-191
226-231
242-247
267-272
310-315

アスハラギン酸及びアスハラギンヒドロキシ化部位
144-155
181-192
262-273

細胞接着配列
54-57

BGF-様ドメイン
131-166
177-205
211-245
251-286

【 図 19 】

AGATGGTCAACGACCGGTGGAAGACCATGGCGGGGCTGCCAACTTGAGGACCGCCCGC
CGGCAAGCCGCGAGCGCCGAGCTACGGGTACGTGCTGTGCACCGTGTCTGCTGGCCCTGG
CTGTGTGCTGGCTGTAGCTGTACCGGGTGGCGTCTTCTTCAACACCGCCCAAGCGCGC
CGGGACGCGCGCCCGACCTGTGTGAGCAGTGGGGCTGCCAGCGCAACAGCGCCCTGG
TCAGTGTGGAAAGGGGAGACAGCTGGGACCTTCAGATCTCATTGACCCCGCGCTGCCCGG
AGCTCACGAGACGCTTGGACGCGCTGGAGAGCGTCAAGGCTGGTGTGCGAGGCTGGA
CAGAGCCAGCGCCAGCTACCGGTGGTGGGGGAGCAGAGGAGAGGAGTCTGCGACAGCG
TGGCGCCAGCCTGCCCGGCTGTGCGGGTGGCGCTCAGAGCTGCGAGGAGGATGATGG
GGCTGGGAGGGGACGCGAGCTGGGGCGAGGCGTCAAGCGCCCTGCGAGGTGAGCAGG
CGCCCTCATCCAGCTTCTCTCAGAGCCAGCGCCACATGGCTCACTCGTGAAGCTCGG
TCAGCGACATCTTGGATGCCCTGACAGAGGAGACGGGGGCTGGGGCGGGCCCGCAACAAAGG
CGAGCTTCAGAGAGCGGCTTCCGCGGGGAGCCCGCCCGGGCTGTGCCATGAGTGGCTCC
GGCCCGAGAGCTGTGAGAGCTCTGCTTACCGGAGCGTCAAGCGAGGATGGCGTACTCTG
TCTTTCCACACACCGCCGCGGCTTCAGAGTGTACTGTGACATGGCGCAGGAGGGGG
CGGGCTGGAGCGGTCTTACGGCGGGGAGGACGGCTCGTGAACCTTCTCCGGGGCTGGG
ACGGCTACCGAGAGCGGCTTSSGACGGCTCACGGGGAGCAGCTGGCTAGGGCTCAAGAGGA
TCCACGGCCCTGACCCACAGSCTGCTTACGAGAGTACAGTGGACCTGGAGGACTTTGAGA
ATGAGCGGCTATGCGCCGCTACGGGAGCTTGGCGTGGGCTTGTCTCCGTGGAGCCCTG
AGGAGCGGCTTACCGCTTACCGTGGCTTATTCGGGACTGACGGGAGCTTCCCTG
TGAAGCAGGGGAGTGAAGTTCACAGCAGAGGAGCTGACGAGGAGCTTCAGAGAAC
ACTGTGGCCGCTTACCGCGGCTGGTGGTGGTGGCAGCTGGCGACGCTGCAAGCTCA
ATGGGAGTACTCCCGCGTGGCAGCCCTCTATGCGCAGCGGCTGCACTGGTCTCTCT
GGACCGCTGGCAGTACTCACTCAAGTCTCTCAGATGAAGATCCGGCCCGTCCGGGAGG
ACGACTGAGACTGGTGCACCTTGGCTTGGCCCTGTGTGTCTGTGGCCCATCCCGGAC
CCAGCTCACTCTTCCGTAATGTCTCCAGCGCCTTSTGGCTGGGGGAGCCACTCTCCA
GTAGGAGGGCGGGGCACTCCCTGACCGAGCTTCTTGGCGGTGAGGTACAGATC
GGCTTCTGGCGCTCCAGCCCGCTCCATTTGGAGCTCACTGATCTTGGCTTGTCTGA
TGGCGCTGGCAACTTGCAGCGCCCACTCTCGCTGGCCCGCCACTGTACTCCGGTGTCT
GTTTGGCGTCCCTGGCGAGTGTGGCTGGCCCGCAGCAGCCCTGCGCTGGCCCG
CAAAATACCGGCACTTATGGGAGAGAGAGAGGGGAGAGCAGCAGCAGCCCTGGAGTCTCT
CAGCAGATGCTGGGAAATGCAAGCTCTCTGAGGTAGGCTGGAGGCGAGTATCTCTCC
AGCCTCCCAATGCCAAGCCCGCGGCTTCCCTGGTSCCGAGGAGCCACTCTCCG
CCAGAGGCTTCCGCTGCTTGGCTGGGCTGGCTTCTTCCAGGCGCTGAGGCTGAG
GATGGGAGCTGCTGCTTTGGGAGACCGAGCTTCCAGAGCTGAGAGCAGTCCCTGGAGG
CCAGCCAGCTGTGGCGGGAGGGCTGGGGCTGCGAGTCTCTTACCTGCTGTGGCCAC
CTGCTCTGTCTCAAAATGAGCCCAAGCCCTCCCGCCAGCCTCCCGCGGCTCTCTCT
ACCTGGGGCAGCGGGGCTGCCATCCGATTTCTTCTCTCTGGAAGGTGGTGGGGCG
TGCACCGTGGGGTGGAGCTGGGCTAATGGGAGGCTTGGTCTTCTGGGCTGGGCGCTAG
CGAGGCTGGGAGCTGGAGTACCGGCTGGGAGCGGAGTGGAGCGGCTTCCAGAGGCT
CTGAGGCTTCCAGAGGCGCTTGGGGGCTGATGAGCCCTCTCTGAGGCTGGCTTCCCA
TGACAGCCCAAGCCCTGCAATTCACCTGCGCCAGCTGCAAGCCAGCCAGCCCGCCCGC
CGAGTGGTCAAGGAGAGGAGCAGCTCACCGGCAATGGGGTGGGGGAGCTGGGGC
ACGAGAGAGGACCACTTGGAGACTTCTTGTGAATCTTCCCAACCCAGCAAGCGTGT
TCATCCCACTCTCTGTGTGACACATGAGAGGAGTGGAGCCGAGGCTCCAGGAGCCAG
CAGCCAGAGGAGGAGGCTGGAGCGGAGTCTGAGCTGTCTCTGAGAGGCTGGAGGCT
GGTGGTGGTGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAG
TCCGAGAGGCTGGAGTACGCTTGGGAGGCTGGCTGAGCAGCTCTCTCTGGGAGGAGG
GGAGGTGGCTTCTCCAAAGGAGCAGCCGATGGGAGGCTTGGGGGGTGGGGTTCGCT
TCTCCCTTCCCTCCCACTGAAGTTTGTGCTTAAAGCAATAAATTTGACTTGGCAGCA
CTGGGGTGGTGGGAGAGGCGCTGTGACTGGCTCTCTGCTCCAGTGGCAGCAGGCTCAT
CCACATGGCAG

【 図 20 】

MVDRWKTMGAAQIIFDRPRDKPQFSGCYVICTVILAVLAVAVTAVLFLNHAF
STAPPVVTGGAASANSALVTVRHADSSLSLLDPRCPDLTDSARLESQASVWQAL
EHQACPRLVGQEQELDLTDLADQLPRLRLARASELQCCMGLRKHGHTLGGLSALQSEGG
RLIQLLESQGRMAHLVNSVSLDLDLQRDRGLRPRRMLDLQRAPARTRPPGATGSR
PRDCLDVLSSGQDDVYSVFTIYFAGQVYCDMRDGGGTVCRREDGVSNEFRGD
AYRDGFRITGRHIGLRTALHTTAAYVLEVDLDFPFGTAYRYGSGVGLFVDFP
EDSYULTVAJYSGTACUSLLKHSMMHTTKRJSLSHSENNCAAFTRGAWYKXCTSNLN
GQYLRGAHAYACQVSWSSWTGWYSLRFSMKAFVREDR

シグナル配列
1-48

膜貫通ドメイン
なし

N-グリコシル化部位
349-343

N-ミリスチル化部位
71-76
160-165
169-174
234-239
279-284
341-346
384-389
426-431
434-439

ロイシンジッパーハターン
149-161
147-168
154-175
161-182

フィブリノーゲンβ及びγ鎖 C末端 ドメインシグネチャ
409-421

フィブリノーゲンβ及びγ鎖 C末端 ドメインシグネチャ
409-421

ロイシンジッパーハターン
149-161
147-168
154-175
161-182

フィブリノーゲンβ及びγ鎖、C末端
240-457

【 図 21 】

CCGAGGCTGCGAGCGCCCTCCAGCCAGGCTGGCGCCCTGCCCGCAGCAGCGGCTCT
CCCGGGCTTCTGTTCTGAGCTGGTGCACAGATGCTGGCCAGCCAGTCCGCTCCCT
CAGGGGGCACCCACAGCTCAGGTAACCCACACTGCTACTCGGCTGAGGAACTGCGCCCT
CGGGCAGCGCCCGCCACAGCTGCTGGCTGAGGTCGCAAGTGGGGGAGGCTTGGCTGT
AGCCCTGTTCTCAGGCTGAGGCAAGCCAGCGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
TAGAGCCAGTGGCGGCTGCGGGCGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
CTCATCTCAGCTTGGAGTACCGGCTGGGAGCGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
GGCTGGTGGTGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
TGGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
GGAGG
TTCGAGG
ATTAACATGATGACACATCCCAAAA

【 図 24 】

MKLLMVLMLAALLLHYADSGCKLLEDMVEKTEINSDISIPYKELLQEFIDSDAAAEAMG
KFKQCFRLQSHLTKNFKGLMMHTVYSWCONMKSK

シグナル配列
1-18

膜貫通ドメイン
なし

N-グリコシル化部位
68-71

ウテグロビンファミリー
1-96

【 図 22 】

MPLIPGILFLTWIHTCIJAHJFSTIGHPHSHGTFPECYSAFFLPIGQAPPELARGAXWGQ
ALPVALYSLEAAHHRGRHRSATTCVPLRFBVLEALHWQRISIPWRFRVDTDSRY
PQLAFRELCRSGIDAKGRBTAAINLVRLQJLVLRRRPGSDGSGEFTPGAFKHT
EFLHVFVGTGCVLRPSV

シグナル配列
1-18

膜貫通ドメイン
なし

チロシinkinase-ゼリン酸化部位
112-120

N-ミリスチル化部位
32-37
55-60
133-138

ロイシンジッパーハターン
3-24

【 図 23 】

GGTCGAGCCCGCCAGCTGAACACAGACAGAGCGCCCTCGCCATGAAGCTCTGAT
GTCCTCATGCTGGGGGCGCTCTCTGCACTGTGATGAGATCTGGCTGCAAACTCTCT
GGAGGACATGGTTGAAAAGCCATCAATTCGAGATATCTATACCTGAATCAAAAGAGCT
TCTTCAAGAGTTCATAGACAGTGAAGCGCTGAGAGGCTATGGGAAATTCAGGAGTG
TTTTCCACCCAGTCACTAGAGCTTGAAAAACTTGGAGCTGGAGTGCATACAGTGTGA
CGACAGATTTGGTGAATGAGAGAAATTAACCTTACCGAAGGGCTTGGCTCGAGG
GGCTAGAGCTTGGCGAGACTGACTGTGTTGATGGCTAGAGAGCACTTTTCTTCTGT
GTGTCTTTTTTAGEGAACTGTGAGACAGCTTGAAGCCCTCAATTCATTTTCATTT
CAATAAATTAATGCAAACTCACT

【 図 25 】

AGAAGGGACACACCAGCAGCTGGTAGGCTACAGCAGCAAGTCTTAAAGAAAGGCTG
AGAAGCCAGCAGCAGCAGCAGCTTCAAGTCCAGGATGCCAGCCCTTCCCGTCTTACTG
CCAGCACTGGCTGCTGAGCCACTCTTGGAGAGAGCCCTGAGCAGCAGGCTGAGG
GATGGTGGCCGAGTTGGGAAAGCTCTGCTGTATTTCCGCAAGCTGGGAGGAGCA
TTCAGCCAGCCAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
ACCTCCAGCAACAAGATGGAACAAGCTTGGTACAGCATCAGAAATTCATCTCAATTTG
TCAGCAGAGCTGAAGAAACCTGTCTGAAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
TCCCGCAAAAAGAGAGTGGAGCTCACAGATTTGATTCATCTGTTGTGAGGATATTTGT
GAGGATGAAGCTTCAATTAATATGACATATGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
TCCATTCATATGATTTCTCAATGACAAATTCAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
TTATTT

【 図 26 】

KASLFRSYLPAWLLLSQLLRESLAARELGGCFRKHLLSYCFMPEKFTTCTPGWLLLE
SGRFFZHWISRWKQALGTTSEFIPNLSPELKKPLSEGGPFLKLLLSRKKKSSRKHK?
DFCCCVICDDSTSVKLT

シグナル配列
1-25

膜貫通ドメイン
なし

cAMP- 及び cGMP- 依存性プロテインキナーゼリン酸化部位
112-115

N-ミリスチル化部位
76-81

【 図 3 4 】

MFLPMALPSVSWMLLSCLMLLSQVGEZPQRELFPSARICPKSGKAYGSHCYALFLSPKS
WCDALACQKRPSONLVSVLGAECCGFVSLVKIGNSYSYVWGLHDPQCEPNEGBCM
EWS55VHMNYFAWEZNPSTISSPGHCLASLRSTALFRWKDYCNVRLPYVCKFTD

シグナル配列
1-26

膜貫通ドメイン
なし

cAMP- 及び cGMP- 依存性プロテインキナーゼリン酸化部位
70-73

N-ミリスチル化部位
74-79
82-87
85-90
96-101
112-117

c型レクチンドメインシグネチャー
146-171

レクチンc型ドメイン
57-173

【 図 3 6 】

NAGIMTIVTSILFLGVCAHHIIPVSGVSVFSGFCDFVSKRIFPMRVVSYQI.SSRSTCLX
AGVITTTKKGGQFCGDKPKQKRVRYKLNLDARQKXASPRARAVVKGQVRYRQNGQTC

シグナル配列
1-18

膜貫通ドメイン
なし

N-グリコシル化部位
115-118

cAMP- 及び cGMP- 依存性プロテインキナーゼリン酸化部位
94-97

N-ミリスチル化部位
67-67
70-75
114-119

小サイトカイン (intecrine/ケモカイン)
25-89

【 図 3 5 】

GAGCTATTTCATCCCTAGGTCCTTTKCCCTCCGACGTCAGCTTTGAGCCCGGAGCTPSYGC
TTCTGCTCCTGAGACATGGGAGGCGTGAIGACATAGTAACAGCCTTCTGTCTCTGG
TCTCTGTGCCACACCATCATCCCTACGGCTCTCTGCTCATCCCTCTCCCTGCTCAT
GTTCTTTGTTTCCAAAGAAATTTCTTGAGAACCGAGTGGTTCAGCTACCAAGCTGTCCAGCAG
GAGCACAATGCTCAGGGCAGGATGATCTTCCACCAAGAAAGGGCCAGCAGTCTGTGG
CCACCCCAACAGGATGGCTCCAGAGCTCATCAAGAACCTGGACCCCAAGCAGAGAA
GGCTTTCCCTTAGGGCAGGGCAGTGGCTGTCAAGGGCCCTGTCCAGAGATATCTCTGGCRA
CAAAACCCCTCATCCCTCCGACCTGGGACTACAGGTGTGTACCCAGCAGCCCACT
GCGGGCTACTCCGGCCCTGGAGAGCCACAGTATGGGGGAAGCAGCTAAATTTCCGTGT
TTCTTAGCACACTCTCCAGGATGTGTCTCTTCTATGAAAAACCGAGGGGACAGGTGA
TGTGGTTCGGGGGGCTGAGCAATGGCTCCAGCATCAAGGGCCCTTGCCTTTCTGGAG
CTGGGTGAGAAATCCCAAGAGGAGCAGTGGCACTCTTGGCTCTCTCTCTGACCT
GGTCTGATGCTTTTCTTTTTTTTTTTCTTGAGAGCGGAGTCTGGCTGTGTCACCCAG
GCTGGAGTGGAGTGGCAATCTCGGCTTCTGCAACTCCGCTCTGGTTCAGTGA
TTCTGTCCTCATCCCTCCGACCTGGGACTACAGGTGTGTACCCAGCAGCCCACT
AATTTTCTATTTTAGTAGAGATGAGGTTTCCACTTGTGGCCAGGCTGGTCTCAACT
CCTGGCTCAAGTATCTACTGCTGGCCCTCCCAAGGTGGGATTAGAGGACATGAG
CCACCACCCAGCTACTCAACTTTTATGTTGAAAAAATAAATCATTAATTTTTTTTT
TTTTAAAGAAATGAACTGGAGGACTGGGTGAAAGGGCCAGCTGGGTAGTTAATCTT
TTTTGGAGACATGACTTTAAAGAGATTTCCCTGCTTTGTGACAGGTTGCTCCATGCTGT
TTGGGGCAAGGGCTGTACTGCTTCAAACTGGGGCTCACCCCACTTTGGTGGAGGG
AAGATGGGTGGGGGATTTAGGGGAGAAAGACTTAACTTTTTTTTCTTAGCAATGAT
ATACTGTTGGGTTTATCAAGAGTGTAGACAGATTTGCTGTTTCAAAATATAGGCCAAA
TAAATGGCATCTTTTTTCTTTGA

【 図 3 7 】

GGGGAGCAGAGAGGAGGCAATGGCCACCAATGGGAAACAAAGTGTACTGGCCCTGGTCTT
GTTGCTCATGCTGGCCCTTGGGACCTTGGCCGAGGCCAGACAGAGAGCTGTACAGTGGC
CCCGCTGAAAGCAGCAATTTCTGTTGGTACAGCCCTCCAGCTGGCAAAATA
GGGCTGCTGTTGGAGCAGCCGTTGGTGGGTCCTTGGTGTCTTCTAATCCGACACT
CGAGCTCCCTCCCAAGAGGAGTGTGAATTTTAGACACTTCTGAGGGATCTGGCTGCAT
CTGACCGGTTGCCATCCCGACAGGTTGATTTGCCAGAGCTGGCTGCCACTCCAC
CGGACACTCAGACAGCTTCTGGAGCTGTGGCTGGCTCCACACACAGACTGACTGCC
TGACTTTGACTCAAAAATGGCCATAAATAAAGAGGCTGGATATAAAAA

【 図 3 8 】

MAEYKXKVICALVLYSMLAAGTLLAEAGTETCTVAPRERQKQSGFTGVTPSQCANVGGCCFDD
TVRCVWFQYFNTIDVPEEBCF

シグナル配列
1-24

膜貫通ドメイン
なし

N-ミリスチル化部位
45-50
64-69

c型「トレフォイル」ドメインシグネチャー
38-58

トレフォイル (2型) ドメイン
30-71

ガストリン/コレシストキニン ファミリー
6-26

【 図 3 9 A 】

GAATCCCGGGCCGCTTAGTGTGAATGTTCCCGACCGGAGGCCATGCTTGGGAAGCGA
GGCGAGAACCCGGGCCCCGAGCCGCGCCGCGGGGAGCAGGTTGCTGTGGCCGCGCTG
GGGCTCCCGACCGGCGGCCCTCAACCTGGACACTGAGAGCGGCTGCTTACAGGGC
CCCGACACACGCTGTTGGCTACTGGTCTGCTGGTCCAGCCACCGGGGCAACCGATGG
CTKTAGTGGGTGGCCACTTCCAACTGGCTGGCCAAAGCTTCAGTGAATCCCGGG
GGATTTACAGATGAGGATCGSAAAGAAATCCCGGCCAGAGCTGCGAAGCCCGAGCTG
GGTAGCCCTAATGGAGAACCTTGTGAAAGACTTGTGGAGAGAGAGCAACTCAGTGG
TTGGGGTCCACACTTTCCAGACAGCCAGGAGAAATGATCCATGCTGACTCTGGGCA
AGCTGGAAATATATTTTACATAAAGAACTGAAATTAAGCTCCCGCTGGTCTTCTAT
GGAGTCCCGCTGATTTCCAGACASACTGGTCAAAAGATAGCTGGCTGTGTATCAAGAT
TAGTGAANAATTTGGGANAATTTGGACTGATGACAGCTGGAATATCCAGTTTATAC
ACAAGAGCTTAAATGTGATGGGGCCCGCAGGATCATCTTACAGGCTGGCTCTCTTT
GTCTACATATACTACAAATAAATACAGGGCTTTTGTAGCAACAAAATCAAGTAAAA
TTTGGAGCTTATTAGGATATTCACTGGAGCTGGTCAATTTCCGAGCCAGCATACTACC
GAGCTCCGGGAGCCTCTCAACTGACAGATGCTTAAGCCATATATACTCAGGACTT
GATGAAAAAGAACTAAATATCTTACATGAAAAGAAAGGTAAGAAAGTCTGAACTT
GGAGCTCTGCTGTGCTGGGACTCAACTGAGAGATGGCTTCCAGATCTGCTGGGG
GCACCCAGCAGAGCCACTCAGAGAGAGGAGGAGTGTGGTGTACATCAACTCTGGC
TCCGAGCAGTARTGARTGCAATGAAACAAACTCTGTCGAGTGCACAAATCTGCTGCA
AGCTTCCGGAGTCTATGTTAATCTGGCCAGCTGCAATGATGATGATGATGATGATGAT
GCTTCCGGAGCTCCACAGAAATGACTGGAGAGCTGATTTATATTTCAGCTGGCTTAA
CCAGTCCGATCTCCTCAACTTCTCAGACAGATGAGAGCTTCCAGTCCACCAAACTG
TTAGTACTTGGAGAGTCTATATGAGGACAAATGATGCAGATAAATGGCTATGTA
GATGAGCAGTGGTCTTTTCCGCTGACTCTGCTGCTTGTCAAGSACAAGACCTGTA
GTAACTGCGAGCTTTTAAAGCCACCTGAGTCAATGATGATGATGATGATGATGATGAT
GTGAAATGGATGCTCTCTGCTGCTGACTTACACTTGGTCTTCTTCACTAAGGGC
AAGGAGCTCCAGGTTACATGTTTGTGTTTATACATGAGTGTGGATGAGCAGAAAG
GGAGGCTCCACCAAGATTTCTTCTCTCAATGGAATCTGAGCTGATACAGGGA
AGCAGCAGCTGTCCAGCAGAGAACTGACTGAGCTGAGAGCAGATCAAGGATTAACCGGAA
GATGTCGGGACATCTCAGCCAAITGAGTGAAGGTGTACAGCTGATGATGATGATGATGAT
GTGACTGCTCCACAGAAATGACTGGCTGGAGAGCTGAGAGCTGAGAGCTGAGAGCTGAGAG
AAGAAAGAGCATAATGAAANAACAAATTAATTTGGAGGTTTGTGGCCATGAAAT
TGTGCTGCTGATTTACAGGTTTTCGCAAGACTGGGTTTGGAGCCCAATGAAATAAA
ACAATCTTGTGTTGGGAGTATGAGACACTGATGTTGAAITGATGATGATGATGATGAT
GGAGTGAATGATATGAAACACTTACACTGCAAACTCCGCTGGCTTCTTCTTCTGAT
AAGATTTAGAGCTGGAGAGAGAAACAAATTAAGTGTGAGTCCAGATAACTCTGGGCTG
GTACAACTGACTGCAATGATGCTATATATCTGACTGATCTCTCAAGCATGATATT
AGTTTTCTTGGATGAGTCACTCACTGAGCAGGAGGAGGAGCTGAGTACAGAGT
CATGCTACTGTGAAATGAAAGSAACTGGACACTTAAAGCAGCAGAGCAGCTGATGTA
SCACTACTTTAAATATGAGGTTAAGCTGAGCTTCAAGGTTTGTAAAGCACTGCTA
TTTGTGCTGAGTCAATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGAT
TTACTTCCAGTGTATCAACTGGGACTGATGCTCCCAATTTAGTGGGAAATA
ATGGTACCAATTTTAAAGCCAACTGACTGATGATGATGATGATGATGATGATGATGAT
ACTACTCTGGAGATCCACTTTGAAATTAATCAAGACTGTGCTGATGAGCAGCAA
AAGAGTCAATGAGAGCTTGAAGSAACTGCTGGGTTCTTGTCCAGAGCTGAAGAGG
CTACTGACTGTCAAAAGCTGATCCAGACTGCTTAAATTTCTTGTGATTTCTGGGAAA
ATGAAAGTGGAAAGAGAGCCAGTGTCACTCACTCAACTGGAGGCCGCGCCATTTTA
GAAATGAGTGGACTTCAAGCTCAACTTGAATTAAGAGCAACAGGTTTCCAGAGGCA
AATCCAGAGTAAATGAACTAAACAGGATGAGATGTTGGCCTATGTTACTGGAGGGA
CTACACTCACTAAAGCCCAACCTGATGCTCACTGATGATGATGATGATGATGATGATGAT
GTGAGCTGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGAT
AGACACTCAAAATATCTTACAGAGAAACAGAGAGAGCAGTTGGAGTATATCAAC
AGTAAAGCAATGATGATTAAGSACTCTTCAATTTAGAGAGATGAGAAACAGACTGAG
GTGAGTAAAGAAATTAAGSACACTGTTAGAGAAATAATGAAITTTGTTGGACT
TCTTCTACTCATGATTTGTGACATATCTGCTCTCATGCAAGGGGAAAATCCAGCAAT
GATTTACTTTGAGATGAGAGACTGCAAGGCTAATAATCAGCCAAAGATAACTCTCA
GCTTTTAAATGGGTGAGAGAACTAAAGCACTCAATTTAATCAAGAAAGTAAAGCCCT
GAGACTACTTGAATGAAAGTATAACTGACTTAAATTTACTGAGAGCTTAAAGCTT
GAAATACTACTTCAATGATGCTTGGCTGAGTAAATGAACTCACTGGTGGGAGAG
GTCACTTCAAAATCACTTTGACTGCTGCTCAAAATGATGCTTTAAATAATGATTTT
TAGAGGCTGTTCCAAATTTTCAAGGAGTGGCCATCACTTTAAGGCCCTTAT

【 図 3 8 】

【 図 3 9 B 】

TTATAATACATTTCCTACGGGCTGTGTCCGAACAACCATTTTTCAGCAGACTATGAA
TATTATAGTATTATAGGCCAACCTGCAAACTCAGACTGAACAATGACACTGGTTTGGAG
CTTAGTGAATGACTTCGGAAATCT

【 図 4 0 A 】

MFPTESAWLCKRGNFGEAAVRETVMLLLCLGVPTGRFYNVDTESALYQGHNTLFGY
SVVLHSHGANRWLLVGAFTANMLLANASVIMPALYRCRCKGNPFGQCEQLQJGSPNGEFC
GRCTLFFRQNZWLVG... (truncated) ...

シグナル配列
1-37

膜貫通ドメイン
985-1005

N-グリコシル化部位
85-88
144-147
235-238
486-489
524-527
544-547
632-635
651-654
666-669
812-815
827-830

グリコシミノグリカン接着部位
351-354

cAMP- 及び cGMP- 依存性プロテインキナーゼリン酸化部位
596-599
1024-1027

チロシンキナーゼリン酸化部位
511-518
647-654

N-ミristol化部位
33-38
76-81
113-118
134-139
145-150
169-174
223-225
254-259
309-314
313-318
354-359
415-420

【 図 4 0 B 】

426-431
437-442
442-447
457-462
658-663

アミド化部位
9-12
304-307

インテグリンα鎖シグネチャー
1006-1013

FG-GAP リピート
55-117
254-306
309-368
371-430
433-485

インテグリンα インテグリンα 細胞質領域
1607-1621

【 図 4 1 】

TAAACACAGCTTTTCGCTTACCTGTCCAGGTAGCCTCTGTTTCAGTCTTAAAT
GAAAACCTTCTAAGCTTATACTCAAGTTCTTTTCAAGCAGCTGAAGTATTTAAAA
TGTTRAGCTCAGAGAAAGAGACTTTAACGATTTGACGCTTGTCTTCTAAGGCTGAA
GGTAAATTCATTTTTAATCGGCTCTGCAACAGCAAGACTGAACGAAATGGGATTAAGACT
GCTTTCGCTGTTTCTTCTAATTTCTAGGAAGGAATGATTCAGCTACAGGTTGCTGTCCT
GGGAGGTGCAGAAACCTGTGAAGACTGCTGCTTATTTGACCTCAGTGTGCTGCTGCTGTC
TCAGGAGAATTTTCTCATCCATCTGGAGTTGGCGAAGGTTGTGATACCCAGCAACCT
TTTTAGCTAAAGGATGTCAA-TAAACTTCATGCAAAACCCCTGCTTCCCAAGTAAAGATACT
TAAAAATAAGCCTCTCAGCTGAGGCAGACGAAATAATGTTCTGACATTTGTCAGATTGC
ACTTAAAGCTTGTCTTAAAGTTGAGCAGAGGCTGCTGCGCAGCTTGCAGGTTGCTGT
CGCAGCAGCTGAGGACTACCCGCTGGATTTGATTAACCTCATGGACCTCTCCGCTCCAA
GGATGACGACCTCAACACAAATAAAGGAGCTGGGCTCCGGGCTTCCAAAGAGATGCTAA
ATTAACGACAACTTTAGACTGGGCTTCGGATCTTTTGTGGAAAACCTGATCCCTCTTT
TGTGAAAACACACAGCAAGAAATGCGCAACCCCTGCGATGATTTCCATCTCTGTTT
ACCTACATTTGGATTCAAGCACATTTTSCCATTTGACAAATGATGCTGAAAGATTCAATGA
AATTTGGAAGAAACGAAAATTTCTGTAATATTGACACACCCGAGGTGGATTGATGC
AAATTAAGCAAGCTGCTCTGCTAAAGAAAATTTGGCTGGCGAATGAGCTCTCCCTCCCT
CCTGCTCTTTGTGAGTGAATGATTTCTCATTTTGGAAATGGACAGCAACTAGCAGGCACT
CGTCACTTCTAATGAGGGCTCTGTCACTTGGACAGCAAGAAATGAAATCTCCATGTCAAC
TGTCTTGGAAATCCCAACTTGGCAACTCATTTAATAGTGTGCAAAAACCAAGCTTT
ATTTGATCTTCTGCTGTAACCAAGAACAGTTTCAATTTATATGAGAAATTAACAAAACCTTAT
TCCTGGAGCTACAGTAGCTACTTCAAGAGGACTCCGGAACATTTCCAGCTGATGAT
CTCAGCTTATGAGAACTCCGGCTTGAAGTACTGAGAACTGGAGATATTGAGAGACTGAAAG
ACTCAATTTGCTAATTCAGGCTACTTGTAAAGAAAGCTTGTAAAGAAAGGTAAGCTTTTAAAG
ATGCTCTCACTGAAAGTGGGAGACACAGCTTCTTCCAGCGTACTGTAATATCCCAACA
CTGAGAGAGAGAAAGCAGGCACATTTATCATAAAGCTGTGGGCTGGGGATGCCCTGGA
ATTAATTTGTCAGCCAGAACTGCAACTGCGACTGCAAGAAAGCTGAAAGTGAACAGCTCA
CAAATGTCCACCAGGGAAAGGCTCTTTCCAGTGTGGGGTGTGTGCTGCCACCTGGCCA
CATGGGCTCTGCTGTGCTGTGGGAGAGCATCTGAGCACAGATTTCTGCAAGAGGGC
CGAGATTAACCTTCTGCTGAGGAAAGGAACTTACTTCTGGGAGTAACTTCTGCA
CTTCTGCTCCTTATGAAACATTTATGACCTTATTTGGCAGTGTGACAAATTTCTCTGCTG
GAGACAAAGGGCTGCTCTGGGAGGTAAGGGGACTGTGACTGTGTTGAAATGTGTGTG
CAGGAGCGGCTGGACTGGGAGTACTGCAACTGCACCACAGCAGGACTCTGCGTCTC
TGAAGATGGAGTCTCTGCGAGGGGCGGGGACTGTGTTTGGCAAGTGTGTTGTCAC
AAACCTGGAGCTCAGGACCAACTGTGAACGATGTCTACTCTGTTGAGCCCTGTAA
CTTAAAGCGAGCTGACTGAGTGGCACTGTGAGCAGCTGGCAGGCTGGAGAAAGTGT
TGTGCAAGTGTCAACTGCTGTGTCACCTGTAAGAAAGAGATTTCTCAAAGGA
TGGTCTGTTCTCTGCTCCCTGCAAGGAGAAATGATGTTTAAATACATTTCTCTAATAC
TACAGATAATGAGGGGAAACCATCATTCACAGCATCAATGAAAAGATTTGCGAAGCC
TCCAAACATTTCCATGATCATGTTAGGGSTTTCCCTGGCTACTCTCTCATCGGGTGTG
CTTACTGTGATCTGGAAGCTTCTGGTSCATTTTATGATCTAAAGAAATTTGCCAAAT
TGAAGCGAAGCATCAAAGCCAAAGTGGCAACCGGAAACCACTCCACTTCAAGAGGATC
CACAGTACTTTAAAACCTAATTTAARCAAGGAAAGAAACAAAGGATGAGCTTTT
CACAGATGCTAGAACTCTTATGCTAATAAAGAGTCTGTTCTCATGATGAAATGTT
AATG

【 図 5 1 】

CAGTCCCTGCTGCGAGTACAGAAATGAAATCTGACAGGCGCTCCGAGTCACCTAATCA
CTCTCCCTCTCTCTGTTCCATCTCAGAGAGGATCTGGCCGACCCCTGGGAGAAAATCCA
GCAGATGCAAGCGCTTCAAGATCTGGGATGTTAACCGAAGACCTCTATCTGAGGAACA
ACCAACTAGTTCGCGGATGCTGCAAGGACCAAAATCTCAATTAAGAAAAGATAGATG
TGGTACCCATTGAGCCTCATGCTCTGCTTGGAAATCATGGAGGGAAGATTTGCTGTG
CCTGTCTCAGGTGCTGATGACCAAGCAGCTCAGTGGAGCCTTACGATCACTCACTC
TGAGCCGACAGAAAGAGCAGACAGCCCTTCCCTTATCCCGCTCAGACAGTGGCCCA
CCACAGTTTGGAGTCTGCGGCTGCGCCGCTGTTCCATCTGACAGAGCATGGAACTG
ACCAGCCGTCAGCCTACCAATATGCTGACGAGGCGTCAATGGCCACCAAAATTTACT
TCAGGAGGAGAGTACTGCTGCGCCAGGCGCTGCTGTTCCATCTGCGATGGCAAGGAC
TCCAGGACTGCGAGTCCGCTGCGCCAGGCGCTGCGCTGCTGCGGCTGCGGCTGCGGCTG
CCTATGGAGGAGGAGCCTCAGAAAGGCGTCAACACACACTGCGGACAGGACTTTCCTCC
TCTTCACTGACCGCCTCCATGCTGCTGCTGCGAGAGGCTCTTCTAATCTGCTGAATCAGA
GCACGACGCCCTGCAAAAGCCCTCCATGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG
ACCACCTGCGCAACCTGCTCCTCCTGCGACTGCGCTCTTCTTCCCTGATTGCACTTCC
CATGCCCTGGATCCATGAGGCGACTGATGACCGCCCAACCAAGTGGTCCCAACCTGCT
TTTCAAAAAAGAAAAGACCAAGTCCATGAGGGAAGTTTTTAAGGGTTTGTGAAAAATGAA
AATTAGACTTTCATGATTTTCTTCTGAGTCCCGGTGAGGAGAGCCCTTCAATTTGGAG
ATTAATGCTTTTGGGGAGAGGCTGAGGCTTAAATAATTTCTGATTTGTAAGAAATG
GTGAAAGTAAAGTGGTACTTTCCCTCTTTTCTTCTTTTCTGAGTCCCAACTTG
TAAAAATTAAAGTTATGTTACTATGCT

【 図 5 2 】

MEICRGLRSELIITLLEFLHSETICRPSGRKSRKMQAFRIWVNDXQTFYLRNNQLVAGYL
QGVNVNLEEKIDVVPFZFAHLELGIHGKIKLCSVKRSGDETRLQLEAVNITDLSNRKQDF
KRFAFIRSDSGPTTFSFSAACPGWLCMTAMEADQFVSLTNMPDEGVMTKTFYQDEE
シグナル配列
1-25
膜貫通ドメイン
なし
N-グリコシル化部位
109-112
cAMP- 及び cGMP- 依存性プロテインキナーゼリン酸化部位
30-33
N-ミristol化部位
84-89
97-92
165-170
アミド化部位
28-31
インターロイキン-1 シグネチャー
136-156
インターロイキン-1 / 18
40-177

【 図 5 5 】

AGGAAAGGGTAAAGTTCTCTGAGGAGTGTGGTGCAGAGGCTGCTGCTCTGGGCACTGT
GGCTGCGAGACTCTCTGCAACCCGCGCGCTGCGCGAGCCGCGAGCGAGCCCTGGGAGGA
TGTGAAATGCCATCCAGGAGCCGCGCGTCTCTCTGAACTGAGTAGAGAGACTGCTGCTGA
GATGAATGAAACAGTAGAAGTCACTCAGAAAATTTTGAACCTCCAGGAGCGGACCTGCT
ACAGACCCGCTGGAGCTGTACAAGCAGGCGCTGCGGGCAGGCTCACCAAGCTCAAGGG
CCCTTTGACATGATGGCCAGCCACTGCAAGCAGCACTGCGCTCCAAACCCGGAAAACCTC
CTGTGCAATCCAGGACTTCAACTTTGAAAGCTTCAAGAGGAACTGCAAGGACTTTTGTG
TGTCACTCCCTTTGACTGCTGGGAGCGAGTCCAGGACTGAGACCGCCAGATGAGGCTGG
CCAGCCGSGGAGTSCCTCTCTCATGAAACAAGAGCTAGAAGCTCAGGAGGCTCATCTG
GAGGGACCAAGGSGTGGCCACAGCCATGTTGGGAGTGGCTGGACCTGCGCTGGGCGAC
ACTGACCTGATACAGGCTGCGCAGAAAGTGGGAATATTTTACTGACAGAACTCAGT
AATATTTATATATTTATTTTAAAAATTTTATTTATTTATTTAAGTTCATATCAATTA
CATATTTATCAAGATGTTTTACCGTAATATTTATTTAAAAATGCTCTCACTA

【 図 5 6 】

MWLSL...L...VACSTSA...P...S...P...R...H...N...A...I...Q...R...R...L...N...R...D...A...R...M...P...T...V...V...
S...K...F...J...Q...H...T...C...L...Q...R...L...E...Y...G...L...R...S...L...K...L...K...G...L...I...M...M...S...F...K...Q...E...C...H...P...T...S...C...A...I...Q...T...I...F...
E...S...F...K...E...N...L...K...D...F...L...L...V...P...P...D...E...V...Q...E
シグナル配列
1-17
膜貫通ドメイン
なし
N-グリコシル化部位
44-47
54-58
N-ミristol化部位
10-15
87-87
顆粒球-マクローファージコロニー刺激因子シグネチャー
105-113
顆粒球-マクローファージコロニー刺激因子
18-139

【 図 5 3 】

GCGGGAGGGAGCGAAGCAGCGCGGGCAGCGAGATGGAGCCCGGAGGCTTCCTCCTC
CTCACCTCTTGGCTTGGTGGGCTCACCTCCCGGGTGGCCAAAGAAAAGATAAGGTT
AGCAGTGGGGCGCGGGGAGGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG
AGCAGGATGGGGGCTGGCTTTCCCGCAGGCGACCTGGGGGGCGAGCCGAGCGGCTC
CGGTGAGGGTGGCTGCACTGGGAAGAGGATTTGAGCGCGCTGCAAGTACAAAGTT
GAGAATCGGGTGGTGTGATGGGGCAGGACCAAGTCCCGCAAGGACCTCGAAG
AAGGGCGCTACATGCTCAGTGGCAGGAGCCTCCGGCTCACCAGCGCTGCGACCC
AAGCCAAAGCAAGGCCAAAGCCAAAGAAAGGAAAGGATAGAGCCCAAGCGT
GATGCCAAGGAGGCTTGGTGTGACAAGGAGGCTGGCCGACGCTCTCTCTCCAGGCTC
CGAGTGTGAGCCAGCAGTGTCTCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG
CTTGTCTCTCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG
TCTGGGAGCTTGGGCTCCCGCAAGGAGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGT
CCCCAAATTCATTAAGAAACACATCAAATAAAGTGAATTTTCCCCCAAAAAA
AA

【 図 5 4 】

MQRHGFLLTLLALLALTSAVAKKDKVKKGGPGECAEWAWSPTFESSKCGVGFREGT
CGAQTQRTRCRVPCNWXKFFGADCKYKFNMGACDGGTGTRVCGTTRKARYAQCGRTI
RVTKPCTFKAKAXXKXKXKXK
シグナル配列
1-20
膜貫通ドメイン
なし
N-ミristol化部位
31-36
34-39
59-64
92-97
96-101
PTK/MK ヘパリン結合プロテインファミリーシグネチャー 1
35-59
PTK/MK ヘパリン結合プロテインファミリーシグネチャー 2
70-97
PTK/MK ヘパリン結合プロテインファミリー
1-143

【 図 5 7 】

AGGCTCGATTCACTCCCTCCGTTTGGATACCGGATCTGACAGCTCTCAAGCTCTCC
CTGTCGTCGACAGCAGAGGCTTCAATAGAGCCCTCCCTCCCTCCCTGGCAGGAGCC
AATGSGTGGGCTTGCATGACACACACCTCCCATGCTGTCTTCTGCTGCTGCTGCTGCTG
GAGCTGAGCTGGCAGGCGCCTTGCACCTGGGACCCCTGCGCGAAGCCTCCCTGAGAA
TCAATTTGACCTCCAGGCGCAGGCGCTGAGGAGCCTCAGGCGAGCCACCCAGCGCGG
GGGCGCGGCAAGAGGAGTGGGCGCAGGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG
GGTCAAGGCAAGGAGGCGCTCCAGGCTGCGAGGCTGAGGAGGCTGAGGAGGCTGAGGAG
GAGTCTTGGAGGCTGCTGAGGCAAGGAGCCTGCTGAGGAGGCTGAGGAGGCTGAGGAG
CGAGAGGAGGAGGAGGCTCCAGGCTGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAG
GAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
GCTGATGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
CTCCAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
AGAAGTCCCTGATCCTGCGGCTGACCTCCCTGCGGCGCGCAGGAGGAGGAGGAGGAGG
TGACCGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
CTTAAACCTGATGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
CAGTGAAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
CCTGCGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
CAACAAAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
CCACCGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
CGGCGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
GAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAG
GAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAG
AGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
AGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
CGGCGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
CGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
CCATACTGCTCGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
TGAGACTGCAAAAGAAATTAACCTCCCGAAGAGGCTCCACCATCAGGAGATCAATAT
GGAGATCTCTTGTGTCAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG

【 図 5 8 】

MAGPAIHTAKFLVLLPLELSLAGALPCTFARNLPEHNIDLPFGALWTPQASHERRR
GPKKEWPGLEPSQNDGNVNTATRCASRLPEAEGLLEPQSPAGLLDQKLLGLLALYLP
EKENRPGWERTFRKRSRSHRRRDLRLPQGRALVSGPSSLMKAELESAQVLDAMEES
STSLAPMTFLTFEAAFAEESLLELVTSLPQQAQPSDSVMEFLDMALDWDVYED
LKPDPGWSAKKKEKRRKLSLSDNETSFAEGEPCDHHQDCLPCTCDLREHLCTFHNRL
NKKCTUDCMCVGLRCYAKHHRKRVTRKGRGCVETANGDQSSFLNV
シグナル配列
1-25
膜貫通ドメイン
なし
N-グリコシル化部位
264-267
cAMP- 及び cGMP- 依存性プロテインキナーゼリン酸化部位
133-136
324-327
N-ミristol化部位
78-83
344-349
アミド化部位
62-65

【 図 5 9 】

GGGAGGGCTCTGTGCCAGCCCGATGAGGAGCGCTGACCATCTTGACTGTGGGATCCC
TGGCTGCTCAGCCCGCTGAGGACCCCTGGGATCTGCTCCAGCACCTGAAATTCAGTCCA
CCAACTTTAAAACATCCCTACCTCGGACCGCCCGCAGAGGCCACCCCAAGACCCCTCT
ACAGCATCGAGTAAAGAGCTACGGAGGAGGAGGACTGGGTGGCAAGAAGGGGCTGTGACG
GATCACCCGGAGTCTTCAAGACCTCCGAGAGCGGCGACCTCACGGAGCTCTACT
ATCCAGGTCAAGGCGCTAGTGGGAGCGGCGCTGAGCCACAGAGATGAGTCACTG
TCAGCTCTCTGACAGCACAACCTACCTGAGCCACCTGATGTGACCTCTACTCCAAAGTGA
GATCGATTCAGATGATTTGCTTACCTACCCGACCGCCAACTCGGTGACGGGATGGCCACC
GGCTAACCTGGAGACACTTCCATGACCTGCTTACCACCTTAGAGCTCCAGGTCAACC
GCACCTACCAATGACCTTGGAGGAGAGCAGAGAAATAGTGTCTTCGGGCTGACCC
CTGACACAGATTCCTTGGCAGCATCATGATTTGGCTTCCACCTCGGGCAGGAGGAGT
CCCCCTACATGTCCGAGCAGACACCTCCGAGAGCGGACCTGAGCTACTCTCTCCG
GGGCTCTCTGTTCCTGGGCTTCCCTGCGAGTCTGCTGGCTTGGCTTCCCTGCGAGT
ATGTCACCAAGCCCTGCACTTCCGACCTCCGACCTCCGAGCTCCAGCGAGGCTGACTTTCC
AGCCGCTGCGCTTCACTCAGGAGCAGTGTGCTCCCTGCTTTGACCTCAGCGGCCCA
GCGTCTGGCCAGCTTCCAGTACUAGAGTACAGGTTGCTTGGACCCAGGGAGCCCG
CAGGAGCTCCACAGCGCATAGCTTCCGAGTACCTACTTAGGGCAGCCAGAGATCT
CATCTCCAGGCTTCCAGCTGCGACCTCCGAGATCTCTCCGCTTGTCTTCTTATGGCC
CAACCTTCCGCTGGAGTGGGCTTCCCTTATGCACTCAGGACCTCAGCCCGGAGGCT
AATTCCTCTTCCGCCCCCAGCGGATCTTAGTCCAGGCTTCTCTCTATGCGGCTC
AAGCCACTCCGACAGCTGGCTCCCTCTGAGGCTTGCATGGAAGGTTCTGCGAAG
ACTCCCCACTGGGACACTTCTGATCTTAAACCTTAGGCTTAAAGTCAAGTTCAGA
AAGACCCAGCTGGAAGCTGATCTTAGTGGCTTCTCTGCGAGGCTGACTTCTCT
TGGCTATGGAGAAATCCCAAGCAAAATGATTCACACAGCCCTGGGGATTTCGACAG
ACAGATCTGACCCAAATGCTGACAGTGGGAGGAGGAGGACCCAGTACTTAA
AGGGCTGCTCCCTCTCTCTCTGCTGAGTCCAGGACCCCTTCTCTCTCTCT
TGCACCTCTCCGCTGCTTCCCTCTGAGCTGAGTCCAGGCTTCCCTCTCTCTCTCT
TGGAGTCTCTGCTGCTCCAGGATGAACAGGAGCCAGCCCTGAGACTCAGACC
TGGAGGACCCACAGACTGGATTCTCTTTCAGGAGGCTGGCCCTGACTGTGAGTGGG
AGTCTGAGGGAAATGGAAAGGCTTGTGCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCT
CCTTGGCTGTCAATCCGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCT
GTGCTTGGAGGAGTGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
ACCGGACAGAGCAGATGAGGAGTCCAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
AGCAGAGGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCT
AGCAGAGGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCT
AGCAGAGGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCT
GAAATTTGCTCTCTCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCT
AGCCCTTCTCTCTCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCT
CCGGAAAGAACAGAGGAGGCTGGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
CCGGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
CAGGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCT
CAGGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCT
ATGAGGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG
CTACTCTGAGATGGGTTTGAAGAGGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCT
AACACACTGTACTGATGCAACCTTTCGCAAGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG
GCAAGCAGAGTACCTGAAACAAAGTGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
AGAATGAAAGAGGATGAGTGAACCTTCAAGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
GGACTGAGGAGGATTTCCAGAGGATGAGCAATTTCTTCAAGGAGGAGGAGGAGGAGG
CTGTCTGAGGAGGATTTCCAGAGGATGAGCAATTTCTTCAAGGAGGAGGAGGAGGAGG
TACAGCTCTATTCAGGAGGATGAGTATAT

シグナル配列
1-30
膜貫通ドメイン
なし
N-グリコシル化部位
93-98
D-ミリスチル化部位
136-141

【 図 6 3 】

AATGAGCACAACCTGATATGATTCAAAAGTGTGTTGGCTTGAGATCCCTTATGGGTAAT
ATCATTTGCTGACCTTATGCTGCTGATTAATCTGAGAGTTCAGCTCGAAGAGT
GACCTGGCAATCTGAGACATCTCGATGATGATGAGCAATCTGCTCTGATGATGCT
ACGAGAAAGATAGCTTTTGGATGGCCCAAGAGTCTTCTGCAATACCAACCACTATGAA
GAGGACATCAAGAGGAGGCTCTATGAAATGCTCCACAGGCTTCAACATCTTACGCCA
ACACACTTCAATATGGAAGAGAGGACCTCAACAAATCCAAATAGGACTTATGATCA
GCAAGCAGAGTACCTGAAACAAAGTGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
AGAATGAAAGAGGATGAGTGAACCTTCAAGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
GGACTGAGGAGGATTTCCAGAGGATGAGCAATTTCTTCAAGGAGGAGGAGGAGGAGG
CTGTCTGAGGAGGATTTCCAGAGGATGAGCAATTTCTTCAAGGAGGAGGAGGAGGAGG
TACAGCTCTATTCAGGAGGATGAGTATAT

シグナル配列
1-17
膜貫通ドメイン
229-249
N-グリコシル化部位
80-83
87-90
172-175
N-ミリスチル化部位
11-16
47-52
102-107
531-536
565-570

【 図 6 0 】

MRTLLTLLVGSILAAHAPEDPSDLLQHVKFOSSNFENLITDWSGPESTPOTVYSIEKTY
GERDWARKEGGRITRKSCLNLTVEGNLELYYARVAVSAGRSATKMDRFSLSLQHTT
LKPDPVCTSKVRSIQMHTPTPTFRAGDGRLLDIDFHILFYHILVWRVYQMHIG
GKQREYEFYGLPTEELGTIMICVPTWAKESAPMCRVKLIDRVTWYSYSGAFLSMG
FLVAVCYLRYRYVTKPAPPNSLNVQVRLTFQPLRFQSHVLIYVFDLSPSSSLAQPVG
YSQIRVSGPZEPAGAPORRHSLEITYLQFPDISELQPSNVZPQILSLPSYAPNAAPFVG
PFSYAPQVTFEAPFPIAFCALSHYQFSSYAPQAPFPMFSSIVCMGSGSDSPGTLSS
SRHLRQKQKQEPAGSCHLQGLSLQVQFSSAMESSQKAKLILQICTDTRSDENV
LRSQEGCTPQYIKQLPLSSVQIEGHFMSLQPPSPGCSFSDQSPFNGLLESILVCPK
DEARSPAEZSDLEQTELDLSLFRGLALLVQWES

【 図 6 1 】

AGCCACAGGCGAACATGACATGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
CTGCTCGATATTTGGGCTTGGCTTTCGAGTGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
GTAGGACATACCTTTTCCAAAGGCTGGAGGTTGGCCCTGCTGCCAGGAGGATGATAT
AAGCTGACATCGGCTGATCAATGAACACAGCCGCTTCCGATGCTCACTAACATGAG
AGCGCTCCAGCTCCCTGGAATACACTGCTGCTGAGGACCCCAACCGGTACCCCTCG
GAACTGTACAGGCGCAGTGTAGGAACTTGGCTGCTGAGCTCAAGGAGGAGGAGGAGG
ATCTCCATGAACTTCCGCTTCCAGCAAGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
GGCTGCTGCTGCTTCTTCCAGTGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
ACCCCTGCTATCCACATGTGACGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG

cAMP- 及び cGMP- 依存性プロテインキナーゼリン酸化部位
38-41
176-179
N-ミリスチル化部位
19-24
インターフェロンα, 3及びβファミリーシグネチャー
165-183
インターフェロン インターフェロンβドメイン
1-207

【 図 6 4 】

MSIKPDH1QKLMLELLMSIYIAGTSLDCLMLNVLRRVTRQLRHLSSMSNSFFVECL
RENIAFELPQELQYTPQPKRIDIKKAFYEMSLQAFNIPSQHTFYKWRHLRQIQIGLDQ
QAEYLNQCLEBENENEDMKEMKENKFKPEARVQLSSLELRRYPHRLNFLEKKEYSD
CAWEIVRVEIRRLYYFYXFTALFPRK

シグナル配列
1-27
膜貫通ドメイン
なし
cAMP- 及び cGMP- 依存性プロテインキナーゼリン酸化部位
38-41
176-179
N-ミリスチル化部位
19-24
インターフェロンα, 3及びβファミリーシグネチャー
165-183
インターフェロン インターフェロンβドメイン
1-207

【 図 6 2 】

MTVKTLEGPAMVKYLLILSLGLAFI5EAAARKTKVGHVTFQKPFSC9PVPFGSSMKLDTG
IINENQVSMKRNIESRSTSPNVTYVTDNENYSEZVQAQRNLGCLINAQKEDILSMNS
VPTQQCTLVVRRKHG6CSVSFQIKPVLVTVGCTVPTVHHVQ

シグナル配列
1-30
膜貫通ドメイン
なし
N-グリコシル化部位
93-98
D-ミリスチル化部位
136-141

【 図 6 5 】

GTCCGGAGTTGGACCGGCGCGGAGCATTGTGAGGCTCGTCTCTGCGGAGAAATAC
GGAAATGAGCTGAGCATGGTGTATACACCTGTGGTCCCGGCTGCTGGGAGGCTGGGCT
GGGGGATGATTTGAGCCCGGAAATTCAGGCTGCAATGAGCTATGTTCGCGCCACGCA
ATCCAGCTTGGGCAACATAGCCAGGCTGTCTTGGAAAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
GGTTGTGABACAGAGGATCAATGCTGAGCTGGAGACTGGTGGGATGGGATGCTGAGT
ATATGTTCCATACCTGTGAGTCCAGGAGCTTCCAGGTYGKACACAAAGATGTGTTTT
GTTTTGTTTTTGGAGCTCGCTTAAACAGCAACAAACAAATTAACAAATTAATGCT
TTACAGTAGTGGCTGGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCT
TCTTCAAGAGGTYCCAGGACCTTAACTTGTGGGGATCTGTTGTGCTACCTTACCCTGG
CTTTTGGATATGGGTTTCTGCTCTGCGAGGTTGGAGACTTCTGCGCTCTGCTGCAA
TGATTTGACATTAAGCTGGGCACTGACCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG
TGGGACATGGAAAGGCTGSSGTGGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
ATAAGGAGGCTCAGCTTCTTCCAGGCGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
GGGGCAAGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
ATGGCCAGGACTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCT
CCGGAGCTGAGGCGCGGAGCAGCCTTACGGGCTCAGGCTTGGGCGGAGAAATTCATC
CGAGGACTGCTTCACTTCCGCTGGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
GAGGCTATGGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
CTGGATGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
TACAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
CTGGTGGGCTTCCAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
CTTTGCTAGTGTGAGGCTGGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
TCCACTCACTAGTGTGCTGGCTGGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
ATYTCACAGTCAACAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
CCCTCCCTTCCAGCCCTATCATGACCTGGGCTTCCAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
GTAGTGGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
GCTTGGCTTACACACTCCCTGCGACACTGGGCTTCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCT
AGAGCCCTTCCCTTCCAGCTCCAACTTGGGCTTCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG
CAAGGCTTGTCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCT
CTCTCCCTCCACTCCCTGCGAGGAGTCCAGGCTTCCAGGCTTCCAGGCTTCCAGGCTTCC
TGGGCGCTAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
TCGAGAGCTTGGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG

シグナル配列
1-27
膜貫通ドメイン
なし
cAMP- 及び cGMP- 依存性プロテインキナーゼリン酸化部位
38-41
176-179
N-ミリスチル化部位
19-24
インターフェロンα, 3及びβファミリーシグネチャー
165-183
インターフェロン インターフェロンβドメイン
1-207

【 図 7 2 】

MDCRKMVRFSYSVITWMTASKAFELGLVAG:GHQDFPARPSRGLDAPRDDSITWQRPFAIR
PKSSQKVLPMGIQHSKELNRTCLNGTCLLSEFCACPPSPYGRNCEHDVVRKNCGSVPH
DTWLPKKCLCKWHGGLRCPFGAFLPGCGDLWCEHLVASRTELPFPPSARTTFKLAG:
CLRISQSYV

シグナル配列
1-18

膜貫通ドメイン
なし

N-グリコシル化部位
79-82

cAMP- 及び cGMP- 依存性プロテインキナーゼリン酸化部位
126-129

N-ミリスチル化部位
26-31
71-76
136-141
179-184

細胞接着配列
41-43

EGF-様ドメインシステインパターンシグネチャー
95-106

【 図 7 3 】

GTGAGGGAGCCGGGATCACCCAGGGGCGAGCATGAGCCGAGGGAGGGAAGTCTGGAAAG
ACCCACAGACTGATCCCTCAGTCTCACTTCTCCGACTTGGAGCCACAGATCCCTCAGA
CACAGGCTTGGCCACCTCCCTCAACAAATACGCTGAGCAGCTGCTCCAGGAATATGTC
AGCTCAGSBAACCCCTTGGGCTGCCAGCTTCTGGCCGCGGGCTGGCGGTGGCGG
GCTGAGCCSCCCGCTCCGAGCCAGCGGGGCTGCCAGTCCAGCAGCGGCTGGGGCTGG
ACCGGGCGGCGCTGGCCGCTGCCCGCTGGACGCACTGCGCGCGCGAGGCCG
AGCTGAACCCGCGCCGCGCCGCTGCTGCGCCGCTGGAGGACCGCCGCGCCAGGCC
GGGCTTGGGCGCGCCCTGGAGGCTTGGCTGGCCGCTGGGCGCCGCGCAACCGGGG
CCCGGGCGAGCCCGCGCGCCAGCGGCTCAGCCGCTCCGCGCACCGGGGCTTCCCGG
CAGAGTCTGGGCGCGCGCTTGGCGGCTTACCGGAGTGGCTGAGCGCGCAGCCGAGG
GGACTTGGCGGCTGCTCCGCGCGGCTGCGCTGAGCGCGCGCGCGAGCTGCGCG
GCTTCTCCGCTGGCTGGGCTGGGCTTGGCTTGGCTTGGCTTGGCTTGGCTTGGCTTGG
GCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG
GGAGAGGGGAGGGGAGCGGGGCTGCTGCTGCGCCAGGCTGGGGTGCAGTGGCGGATC
CCAGCACTGCGAGCTCAACCTCCTGGGCTCAAGCCATCCTTCGCGCTCAGCTTCCCGAG
AGCTGGGACTACAGCGCGGGCCACACAGCGCGCTAATTTTTTAAATTTTTTGTAG
AGAGGAGTTTCCGCTGCTGCGCGGCTGCTTGAATCCGGGCTCAAGCGCTGCTGCTG
CCGCTTCCGCTCCCTAAGGCTGGATGGAGGCTGAGGCTGAGGCTTCCCGAGGCTTCTT
TGGCTTGGCTGCGCGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG
CTGAGTCAACATTTTCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG
CTCCCTTTACCGAGCTTGGGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG
TCGTGGCCCTGTGTAGACATGTGTGATCTCAGCCCTTATCTCAAGGAGGTGACGCTT
CTCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG
GCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG
CATCCCGACTGCGCACCGCATGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG
CTTCTTCCAGCCCTGCGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG

【 図 7 6 】

MACLGFQRHKAQLNLAARTWPTCLLFFLLFIPVFKAMHVAQPAVVLASSRGIASPVCEY
ASFGKATVAVVAVIRQAISGVTVCAATVMTGNELTFLDSDCTGTSGNQNVTIQGIR
AMDGLYICKVLEMYFPFYLLIGNGTQYVYIOPFPCPSDFLLWLLAAVSSGLFFYSFL
LTAVLSRMLKXRSFLTGVVYKMPPEPECEQPQPYFIPIN

シグナル配列
1-35

膜貫通ドメイン
163-183

N-グリコシル化部位
113-116
145-149

cAMP- 及び cGMP- 依存性プロテインキナーゼリン酸化部位
191-194

チロシンキナーゼリン酸化部位
120-127

N-ミリスチル化部位
92-97
105-110
109-114
125-130
142-147

【 図 7 7 】

ATGGGAGCCCGGCTCCGCGCTGAGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG
CAAGCCCAAGAAAGCCGGGAGGGGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG
CGGGCTGGCGGGAGCCCAAGGCTGCTCCCAACGCACTGTGAGGGAGCAGAGCTGCTG
ACGGATCAGCTCAGCGCCGCTCATCCGGGCTACCACTCTACAGCCGCAACAGCGGG
AAGCAGCTGAGGCTCTGGCCACAGGCTATGACGCTGAGGAGGAGCAGCGGAGCC
TTCCGCAAGGCTGCTGCGGAGCAGCTTGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
CACACGGGCTCTACATCTCCATCAACACAGCCGCAAGCTGATCCCAACAGCAACCGC
AAAGCCAGGACTGCTTTCACGGAGATTGCTGGAGAACACTACACAGCGCTGCGAG
AATGCCAAGTACGAGGCTGGTACATGGCTTCAACCCGAGGGGCGGCGCGCAAGGGC
TCCAGACCGCGGAGCAGCAGGCTGAGGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG
CAGACACCGGAGCAGGAGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG
CTG

【 図 7 4 】

MSPREGSLEDPTDSSVSLPHLEAKIQCHSLAHLTKYAEQLLQEQDQDFGLPS
FSPFLPVAGLSAPSPHAGLPEVHERLRLDAAALALPILLAVCRRCBELNPRAPRLLR
RLEDAARQARALGAVALLEALLAALGAANRPRAPPAATASASATGVPFAKVLGLRVCGL
YREWLSRTEGDLGQLLPGGSA

シグナル配列
なし

膜貫通ドメイン
84-104
126-146
159-179

N-ミリスチル化部位
166-171
174-179

ロイシンジッパーハターン
37-58

【 図 7 5 】

ATGGCTTGCCTGGATTGAGGGGACAGGCTCAGCTGAACTGGCTGGCGAGGCTGG
CCCTGCACCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG
GCCAGCCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG
GCATCCAGGCAAGGCTGAGGCTCGGGTGCAGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG
GTGACTGAAGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG
TCCATCTGCGCGGCACTCCAGTGGAAATCAAGTGAACCTCACTA'CCAGGACTGAGG
GCCATGGACAGGGACTCTACATCTGCAAGGTGGGCTCAGTACCCACCGCATACTAC
CTCGGCTGCGGAGCGGAGCCGATTTATATGCTGCGAGGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG
GACTTCCCTCTGATCTTGCAGCAGTATGCTGGGTTGTTTCTTATAGCTTTC
CTCACAGCTGTTTCTTGGAGAAAATGCTAAAGAAAAGAGCCCTTACACAGGGGTC
TATCTGAAAATGCCCCACAGAGCCAGATG'GAAAAGCAATTCAGCCTTATTTTATT
CCCATCAATGA

【 図 7 8 】

MSPRATSCILHLIHLVLCIQAGPGRCPAIGRPLAS:FRAGREFGVSQHVPRQSLV
TQLLSRMLKIVYQLYSRISKAVLVLAHSA:MMKAEQHPAKLIVETDTSRIVAVGA
ETGLYICMNMKXKLIANSNGKDCVPEI:VLENNHYTA:QMKHYEGVYMFTRKGRPRG
SKTRQHQRVHMKRPIRSHHTTQSLRFFPLVYPPPTRS:RGSQRTWAPRPR

シグナル配列
1-22

膜貫通ドメイン
なし

N-グリコシル化部位
155-158

cAMP- 及び cGMP- 依存性プロテインキナーゼリン酸化部位
178-181

チロシンキナーゼリン酸化部位
118-125

N-ミリスチル化部位
2-7
119-124
123-128
223-228

HBGF/FGF ファミリーシグネチャー
132-156

線維芽細胞増殖因子
68-196

【 図 7 9 】

GAAGGTTAAAGGCCCGCCGCTGCTGCCCCGCTGGCCCTGGGAAACCCCTGGCCCTGTGGG
 GACATGAACCTGTGTTGGCCGCTGGCCGCTGGTGGTGGTGGCCCTGGCCGAGATACAGCC
 GTCGCCCTGGGCCACCACTGGCCGCTGGGTTCCCAAGACCCCTGGGGCGAGCTG
 CACAGCACCGCTGCTCCTGACCCGCTGCTCCTGGGGACACCGCCGAGCTGGCTGCACAG
 CTGAGGGACAATTCACAGCTGACCGCCACCAACCTGGATCCCTGCCACCCCTGGCC
 ATGAGTGGGGGACCTGGGAGCTCTACAGCTCCAGGGTGGCTGACAAAGGCTGGGAGCCG
 GACCTACTGCTCCATCTGGGGACCTGGAGTGGCTGGCCGGGAGGTGGCTTCCCTG
 AAGCCCTGGGACCCCGAGCTGGGACCTCTGGCCCTGATTTACTATTTATTTTCAG
 CTGAGCTCTGATGTCGCCGCTGGCCCTGGCCACCACTGGCCGAGACCCGGAGCCGGGCGCC
 CCGTGGCCGCCCCCTCCTCAAGCTGGGGGGGACATGAGGGCCGCGCCAGCCATCTGGGG
 GGGCTGCACCTGACCTGACTGGCCGCTGGGGGAGCTGCTGCTGTAGAGACTCGGCTG
 TGACCGGGGCCCAAGGACCAAGCCCTCTCCAAAGCGAGACTTATTTATTTATTTAT
 TTCAGTCTGGGGGGAACAGCCAGGCTGATCCCCCGCATCTACTCCGCTTGTAGTATGAG
 GACAGCTCTCCGAGGGCTGGGGACATCTGGCTTATTTACTATTTATTTTCAG
 CAGCAGGGCTGGGAGGAGCTGGCTCTGGCTGGCCGAGGAGGGAGCTGGGCTCC
 CGATTTCCGCTTCCCAAGACTCTCTCCACACACTTCTGCCCTGGCTCTTCCGCTCTA
 GGCTGGGGAGAACATATATTTATTTATTTAAGCAATCTTCTCATGTTGGGGTGGGGA
 CGGAGGGGAAGGAACTGGTCTTCTCAAAAATGTGAGAACTTTGTGAGACAG
 AGAACAGGAAATTAATGTGTCTATCATATCCACTTGAAGGGGATTTGTCTGAGAGCTGG
 GCTGGTGGCTGGGTAATGGGGACAGGAGTGGAGGGGAGACTTCCATTCAGGTGGGA
 GTCCCGAGGGGGAGGACAGCTGGGAGAGTGGGCTGGCCAGCCAGACAGCTGGTGG
 AAGCAGGGCTGGAGCTGGCTGGGGCCCGGACTGGATAGGGCCGTTGTTGTTGTTT
 GAGTGGAGCTGGCTGGTGGCTGGAGGCTGGAGTGGAGGCAATCTAAGGTCACTG
 CAAGTCCACCTCCGGGTTCAAGCAATCTCTCTGCTCAGCCCTCCGATAGCTGGGAT
 CACAGCTGCTGCACCACTCCCACTTATTTATTTATTTCTTCTGATTTTACTAGAGA
 CAGGTTTCCACTGTTGGCCAGGCTGGTTTGAACCTTGACCTCAGGCTGATCTCTG
 CTCTGGCTCCCAAGGCTGGGATAGAGGTGGAGCCACACACTGACCCATAGGCT
 TTCAATAATTTTATGGAGGCTGGCAGGAGGCTGGTGGCCAGAGTACCTCTATG
 GGACAAAGCTGCAAGGTCAAGATGGTCTATTTAGGCTGGTTCACCATAGCAACTGGAA
 AGAATCAGATATCCAAAGTGGGGCTTAAGCAACTGGTGCATCTGGATAGAAGACC
 ACCAGCCCGCCGGAGCAGGACTGCTCATTGAGGGAGGCTAAGGAGAGGGCTTGGTGG
 GATATAGAAAGATATCTGACATGGCCAGGCTGGTGGCTCAAGCCCTGATCTCTGGCA
 CTTTGGAGGCGAGCCAGTGGATACAGTCCAAAGCTTCCAGACCCGCGCTGGCAG
 ACATGGCAAAAGCCCTGCTCAAAAAGCAAGATGAGTGGCTGGCAAGAAACAGAGGCT
 ACAAAACCTGCATGCTGGTGGTCAATTTGGTTTCTTCTGATATAGGATPAAA
 ACAAAAATCCAAAGGAAATAGCCAAAATGTTGACAATGACTGCTCCAGGTCAAAGG
 AGAGAGGTGGGATGTGGGTGACTTTTAAATGTATGATGTCGATTTTACAGAAAT
 CTGCCATGACTGTGATTTTGCATGACACATTTAAAAAATAAACAACATTTTATAGAA
 T

【 図 8 0 】

MNCVRLVLLVLSLWPDVAATGPPGPRVSPVDFRAELDSTVLLTRSLADTQQLAQL
 RDXFPADGHNLSLPLTAMSGALGALQLPVLTRLRADLLSLRHVWMLRRAGSSSLK
 TLFPPGTTQARLDRLRRLQLMSRLALPQVPPDPDPAPIAPPSSAWGGTRAHAHTGG
 LHLTLDWAVRGLLKLKTRL

シグナル配列
1-21

膜貫通ドメイン
175-195

チロシンキナーゼリン酸化部位
96-104

N-ミリスチン酸部位
83-88
121-132
169-174
170-175
180-185

ロイシジンジャーハターン
119-140
122-143
126-147
178-192

【 図 8 1 】

AGCTGCCAGCCAGAGGGGATCATTTCAATTTGGCGTTTGGTGCAGCAAAAGAGTCAAGAT
 GGCCAAAGTCCAGAGCACTTTGAGAGCTCGAAGACTGTTACAGTGAARATGAGNAGA
 CAGTCCCTCCATGACACCTGCTGCTGAATCAGAAATCTTCTATCATGTAAGCTAGGG
 CCCACTCCATGAGGGCTGGTGGCAATTTGGTGGTGGAGTATTTGAAACCTTAA
 AACATCCAAAGCTTACCTTCAAGGAGGACTGGTGGTGGTGGAGTGGTGGAGGTTCT
 GAAGAGAGAGCGGTTGAGTTAAGCCAACTCATCATGATGATGACCTGGAGGCGATCCG
 CAATGACTCAGAGGAAGAAATCATCAAGCTAGGTCATCACCTTTAGCTTCTGGAGCA
 TGTGAATACAACTTTAGAGGATCAAAATACGAATTCATCTGAAATGACGCCCTCAA
 TCBAAGTATTAATCGAGCTGATGAGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGG
 TGAAGCACTGAATTTGAGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGG
 CGTGAATTTCAAGAACTCAAAGACTGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATG
 AGTGTGGTGAAGGAGCTGGTGGATGCCAAAACCTCACAGGTAGTGGAGACCAACCT
 CCTCTCTCTGGGAACCTCAGGCACTAAGAACTATTTCACATCAGTTGGCCATCCAAA
 CTTGTTTATTTGCCAAAACCAACTACTGGGTGCTCTGGCAGCGGGCCACCCTCTAT
 CACTGACTTTCAGATCTGGAAAACAGGCGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGG
 TCGAGTGTGAGCAGCTTCAATGAGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGG
 TCAATTTGGTGGAGCTGCTGAGCTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGG
 GAGTGGAAACCACTCAACATATATGTTTATTTAAAGAACCCCTATATTTTGGATA
 GTACCAATCATTTTAATCTATTCTTCTGATAAACAATTTAGGAGGAGAGAGCTGAC
 TATGGCTACCAAAAAGACTCTACCCATATTTACAGATGGGCAAAATTAAGGCAATAGAAAC
 TAAGAAAATAGCAAAAGAGTGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
 CATTTCACTGTTTGGCTTCTGCTTTTAAAGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGG
 AGTTCCTGGACCTTCTGATTTTCAAAATGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
 TGGCCGACAGCTTCTTGGCTTAAAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
 CGAGCTCAAGATGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
 ATTTATAAATAATTTAAGATAAATATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATA
 CTGAGTGGAGCAGGCACTTCCAGCAATAGCAGAGCTGTTTCTGGGATAAGTAAAGTT
 GATTTCAATTAATAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
 TGCATCTGAGTGGTGGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
 CCGAATTTGGTGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
 CATTTCAATCCACTGCAATCAAGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGG
 AACCTGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
 GGTTCIAAAAAATTTGAGCAGAGCAATAAGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGG
 GAGTGGTATCAGTCAAACTAAATAAGGCTTGAACAAAATCTCTG

【 図 8 2 】

KAKVPMFEDLKNYSNEEDSSIDHLSLNOKSYHYVYGPHEGGQMDSVLSISETS
 KSKLTFKESMVAAGNGVLRKRLSLQSLITDUDLEAANDSEELIKRPSVPSFSL
 NVYNEFRIIKYVEFLNDALNQSIIIRANDQYLTAALHLDEAVKDMGAYKSKDQAKI
 TVLIRTSKTIYVTAQDFDQPVILKRPPTPKTITGSETNLFFWETHGKYFTVVAHP
 NLFATKQDYWVCAGGPPSITDFQLENQA

シグナル配列
なし

膜貫通ドメイン
なし

N-グリコシル化部位
102-105
141-144

cAMP-及び cGMP- 依存性プロテインキナーゼリン酸化部位
84-87

N-ミリスチン酸部位
169-174
216-221
256-261

Ten3-依存性シグナルプロテインシグネチャー
1-16

インターロイキン-1 シグネチャー
234-254

インターロイキン-1 / 18
136-270

インターロイキン-1 フロヘンチド
1-127

【 図 8 3 】

TTGAGGSCAAGGACACAGGGCTGCTTGGGATCTCTTCAAGCAACTCTGATTTGCC
 AAGTGTGAGGAGCCATGGGAGAGTACCTGAGCTCCCACTGAACTGATGGCTTAT
 ACASTGGCAATGAGGATGACTGTGTTTGAAGCTGATGGCCATAAGAGAGTGAAGTGGCT
 CCTTCCAGGACTGGACCTTGGCCCTGAGTGGGGCATCCAGCTACGAATCTCCGACC
 ACCACTACAGCAAGGGCTTCAGGCAAGCCGCGTCACTGTTGTTGGCCATGGCAAGCTGA
 GGAAGATGCTGGTTCCTGCCCCAGAGCTTCCAGGAGAAATGACCTGAGGACCTCTTCC
 CCTTGCATCTTGGAGAGAGCTTCTTCTTGGCACTGGGATAGCGGCTTACCGGCTTGGG
 ACGATGACCTGATGACTGAACTGACCTCCGAGCTCCAGCAAAAAGCCGCG
 TGATCTGCTCCATATGAAGTGAAGCTTCCCACTCCAGGAGGAGGAAATAGCAAAATACCTGG
 CCTGGGCTTCAAGGAAAAGAACTGTAACCTGCTGGCTTGGGATTTGAAAAGTGAAGGCCA
 CTCTAGCTGGAGAGTGGATCCCAAAAATTTCCCAAAAAGAGAGATGGAAAAGCCGAT
 TTGCTTCCAGCAAGATAGAACTAATAACAGCTGGAAATTTGAGTCTCCCGCTTCCCA
 ACTGGTACCTCAGCACTCTCAAGGAGAAAACATSCCTCTTCTGGGAGGAGCAAAAG
 GCGCCAGGATATACTGACTTCCCAATGCAATTTGTTGCTTCTCAAAAAGAGGCTGAC
 CAGAGAGTCTGCTGAAATTTGAGTCAATCCCTAGGGCTGGCAAAAAGGAGGAGAAA
 GGTTTTGGATAGGCTATAGCTGGACTTCCCTGCTGCTCAACCAATGCCAAGCTCC
 TGCTTAGGTTAGTGAAGAGGATCTCTGCTCATCAGCCAGGAGCTGAGCTCTCTCC
 TTTGAGGSCAATCCCAAGCCCTTTTGGTGGAGCCAGGCTCTCT

【 図 8 4 】

MAVPTLASFPMAYYSKFDLFFFAFDGPKMKCSFDJLJCPIDGGTQIRTSDEHYSKG
FRQASVVMVAMKLRKMLVLCIQTFFQNDLSFFPFIKBBPFFPFWHNEAYVHDAFVR
SLNCTLRSDQKSLVMSPPYELKALHFGQDMEOQVVFMSFVQGEESNDKIPEVALGLKE
KMLYLSCLVLRDKPTLQLESVDPKXYPKMKRKFVFNKIEINNKLEFESAQEPNHWIST
SQANMSPVLELGGTKGQIITDITMTCVSS

シグナル配列
なし

膜貫通ドメイン
なし

N-グリコシル化部位
123-126

チロシンキナーゼリン酸化部位
51-57

N-ミristol化部位
251-256
256-261

インターロイキン-1 シグネチャー
228-248

インターロイキン-1 フロヘフチド
1-122

インターロイキン-1 / 18
126-268

【 図 8 5 】

GAATTCCTGTGGTCCATCCAGGTGGGCGGGGAGGAGGTCGCCGAGAGAGGGGATAA
TGAAGATTCCTGCTGATGATCCCAAGATGTAACCTGCAGACCAAGCGGAAAGTGA
CTGAAGTACACTGCTGGCGGATCCTACGGGAATGTAGGAAAGGCAAAAGCGCAGGCA
CGCCGTACTGCTGCGCGCCCGCCCTGGGATGATGAATGCACTGCGCGCCCGCCGTAAG
AGGAACAGCTGCAGAGATCCCTGCGCAACACAGACTCGGCAACTCCCGGGGAGAGCA
GGCTGTGGAGATGACTATGGCGGTGAGAGCTTGTCTCTCCGCTCCGCTGGCTGCTAT
GACTACGCCCGCTCCCGCAGACATGTCCATGTTCTTTTAGTATATCTCTGGACCT
CCTCCCTGATCCTTGTCTGTGTGCCAGTAGCATCCTGATTTGCAATATCGGACGGC
GAIGGCAAAACAATAGAGAGTGTCTAAATGGTCAGCATCGATCAATATCGGACAGCATG
AAAGAAATGGTAGCAATGGCTGAATGAATGAATTTAACTTTTTTAAAGACATATCTGT
GATGCAATAGGAGAGATATGTTTTATTCGCTGCTGCTGCGCAGCTGAGGCAACTTCCT
AAATGATAGTACCTGGTATTTGATCTCCCTCTTTTAAATTTTCAAGGCGCAACA
ATACITFTGAACTGACATGCGCAGGTAAAGGAAGAAAGCAGCTGCGCTGGCGGAAGCC
CAACCAACAAGAGTTGGAAGAAATAAATCTTAAAGGACAGAAAGAACTGAATGAC
TTGTGTTTCTAAAGAGACTATACAGAGATATAAAACTTTTGGGAAAGAAACTTCGATG
CGCAATAAGACACTGAAAAATATGGATGGCAATATAGAACACCGAATCTTACCTGCA
TCTCCAGAAATCTATCTGCTTATGAGATTTTTGAGAGTGAATGCTTCCAGAGTAC
TGATGCAACATGCTCAAAAGATAGAGGACTTTGGAAATATGATCTGCTATCTAGCA
AGATGAATGAAGAAATGGAACTGAACTGCGAGTCAAGAACTATCTGCTGCTGCTGCT
GAGCATTTAACAATCAGTATAATCTGCTGCTGCTTTTTGAAAGCAATCAACTGAGGGA
TCAGTTGCAATAACTTCTCAAACTGTTTAAATTTTCAAGCAATCAAACTCATGAG
TATATAATGTTTCAAAAGTCAAAATGCAATCTGCTTACTGTCAAAATACTTCGATGG
CTCACTATGAAATCTTATGCTGATTAAGAGTGAATAATGCTTCTTCTGCTGCTGGAGA
TGTTTTAGAGTTAACAAATGATATGATATGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCT
TTAGTATGATGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG
TTAATCATGATGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG
AAAAAGGCAATTTCAAAAAATAAAT

【 図 8 6 】

MFHVSFRYIFQLPLLLVLPVASSDCLDQKDKQYVSLMVSIDLQLDSMKIECSNCL
NNEFNFRHICDANKGMLFRAARKLQFLKMSDGFDLHLKVSGETTLNCTGQ
VGRKPAALGSAQPTKLEAKSKLEQKLNLDLFLRLLQETKTCWNRIMQTRKH

シグナル配列
1-27

膜貫通ドメイン
なし

N-グリコシル化部位
95-96
116-119
141-144

N-ミristol化部位
119-126

アミド化部位
122-125

インターロイキン-7 シグネチャー
154-160

インターロイキン 7/9 ファミリー
28-173

【 図 8 7 A 】

CGCCCTCGCGCCCGCGCGCCCGCGCGCCCTTTGTGAGCAGATGGGGAGCGGATGGGAGG
GCGGAGCGCAGATGCGGGGCGCACAGCTGACTTCTGTGAGAGGAGGGCGGGAGGCGCGGAGC
GGCGGTGTGGTCTTGGCGCGCGACTTCTCCACTGGTCTCGGGACCAAGAAATAAAC
CTCTCATAAAGAAAGCGCGCGCTGGCACTGGCATCTCTGTGCTCTGTTTACCT
TGGTGCAGAGAGCAATGGGAGCTGTAAGAGAGAGCAATGAAATGTAAGATGAAATGTA
ATFTGAAATGATGAGCTTCCCAATCTCCAGCGGAAACCGCATCCAGAAATGCTATCTTC
ATGAGCATCACATTTCTGTTGGTCCACTAACAATGATGTTTTAAATGAGGAGACCC
TTCAGAAAGTTGCTGAGTACAGAGCTGGGCTGTGTGTGGAACACUCAGATGTTTCCCA
GTCAGGACTGCAGCAGCAAAAGCAATTTATCAGGAGGTGTTGGAAAGATAACATCAACA
TGGCTCTAGTTGTGCACACCTACTATGATGATCACTCATTAAGCTGTGCGCAGGCTCAACA
GAGGAGCTGCGCAGCGACATGTTTTCCCAAACTATCATCTGCTGACATGAGATGCGGAGG
TTCCTGCAATTTCCCGCAGATAGAGAGCGCACAGGCTGCTACTGTGTGAGTA
GGCCCTGGGCGCAAGTCTTCCACTGTGAAAGCGCGTTCATCAACTTCTTGTGAG
GCAATACCAATAAATCTCTTATTTCCAGATCATCCATGATGATGATATCAAGTAGAA
GGCTAAAGGAAACGAAAGATGCTTTGATGTTTTGACGGCAGCTCCATACATGATGTTT
TACCTGAGTTCAGASATTTTACCCCATTAAGATGTCCTATGCTTTTGAAGCAACAAT
TTAATTAATCTTGTGCGGCTCAAGGGAACCTCAGATGCTCAGACTTTTGCAGCAAGAA
TAATCAGGTTCTGTCCATAAATCTGGATGCTTCTCATGATGGAATGCTCTGGAGT
GATTTCTCAAGAAAGAAAGAGAGATCCCAAGAGAGAGATGCTCAACATGATGATGATG
AGGCTGCTGATGCTCAGCAAGCTTGGCGCCAGCTTGTGAGCAAAATGAGGAGCGCTGGA
ATGATGACATTTCTTGGGGTTCGACACAAGCAAGCCAGATTTGCGGAAACCAATGG
ATCGATCTGCCATGTGCTATCCCATCAATATGTCACAGACTTCTTCAACAGATGG
TCAACAAAACAATGTGAGATGCTCCAGCATTTTACGGACCAATGATGAGCACTGCT
TTAATAGGACATTTGAGAAATTCATCAGGCTGTGAGGCGCGGCTGATGAAATGCGAA
CAGAGTTTACACAGCTTGCAGCGCTGACTTATCATGGCTCAATTCAGCAGAGTCC
CTTTACATCTATATGACCTTGTGTAAGAGAGACTCACCATAAGTAAATGTTGAGAT
CAGAGGTCGCTTCAAGCAGGTTGCTGTTCTGATCAGGACCAACACCTTCAAGTGA
ATTTCTCTGGACTCCATCCAGGCTCCAGAAAGTATGTTGGAGCATACATTAACC
AAAAATGCTACACTGTTTATCCATGGGAGAGAGATCAGAAAGATCCATGAAATGGCT
TGGCTGCGAGCAATTTCCAGTCCGAGTCAATGCTCTCTGCGCCAACTTTGTTGAGT
GTGCTGTGTCACAGCAATGCTGGATCGGAGGAAATGCTGAGCGGACATGAGCTCC
AACAGATCTCTGCTGCTATCTAGAGGTTTTCCAAATGCTGCGCCCTTTCAGAGAG
GGCAAGGCTGAGCATATGTTGGCTGGACTTTGGATTTGGAGGAAATAAATAATTTGACT
TAAAGAAACTAGAGTCTCTGGAATGAGAGGCTGCACTTGAATTAAGTGAAGCA
CGATGAATACATGAAATGCAAGTGGTCTGCTGCAATGAATGAATGATTAATGTTCA
TAATTAATCAAAATGGCCAGGCAACCAATACAGTACATCTCTATGTGGATCCCTG
TAATAACAGTATTTCCCGGAAATCCGCTCATGCTGTGGACTTTACTTACTTTAA
CTGAAATTAACATAACAGTGGGAACTTCAAGACATTTCAATTTGGTGAAGAAATGCTGA
CTTTAAATGCTGCTCAACAGTACTTGTATGTTTATCCCGCAGCCAAACCTTTCA
CTGAGTTGCTGTAAATGAAATGCACTTGGCAACCGAGAGGAGCACTTCTTCACT
ACCGTGAAGATCCCATGCTGTAAGAAATCACTAACCAAACTTTTATTAAGTACTTGGT
GGAAAGAACCTCTCAACATTTGAGTCTTCTATTTGCTTTGCCAGTGGTGGAGCACAA
TAACAGGTTGTTGGAAAGAACTGAACTCAGTTAGTGGCCCGGAAATGCTCAATAATGTC
ATGAAAGAGGAAAGAACTTTAGAGTGGCATGTCAACATGCTCTAATTTCAAGAGATAATCT
GTTTACGCTCTCTGCTGACAGCTGATCTGCACTCCCGCTGAAAGCAAGGCTTCTG
TTTCTGATGATGAGTGGCTCTTCCAAAGACTTTGATCTCTTTATGATGATGATCTG
TGTTAAAGDCTTTGAAAGGAGGATGATGATCTCAATGGGCAATGAAATGATCTGAGAA
TTAAGGAAATGATATGACCTGAGCAGTAAAGGTAAGTGTAAAAGTTGGAATA
AGAGCTGTGAGAAATATACACTTACATCTGAAAGCCGTTTTATGCAAGGCTCCCAATGACC
TGCTGAAATGAAACAGCGAGCTAAATATAGAGTGGAGGCAAGCAATTTCTCAAGCTCC
TTGGAAAGTAAATATGCTCAACAGATCAGAAATTCAGAGGATTTGCTGCTGCTGCTGCT
CAATTCAGACAGCACTGTTATTCATCTCTGGGTTTTCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG
CAATTAAGATGATGAGGAGTGGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG
TGGATAGGCTTGTAGTGGCGGAGTGTAAAGGCACTCAGAAATGTTTCAATGAAAT
CTGTAGACTACCGAGCTACTTCCAGAGATCAGTTTCTCAATTCATCTCAGAAAGGCT
CATGCGCAAGTGCAGTATCTTCCAGAGCAATGCTCCCAATCTCACTAGTGGGAGCT
CTGATATATCCAGTCTTACTGCAAAATCTGCTGCACTTCACTCAGTCTGCTGCTGCTGCT
CAGAGCTGCTCAGGCACTGAGACTGAGTGTGGGCGGAGTGGGCGGAGTGGGCTGATTTG
TCAATTAAGTGTAGAGGAGGAGGAGTGGTGGTGTGATATGAGGAGCTTCTTGGAGCA
ATGATGGCAAGAAATTCAGCTCTCTGAAATCTTGAACAGAAATCAGTACAGAGGAG
AAGTTTCCCAATTTGAGCCAGGAGATCAGTATGAAAGATTTAGTCACTCCAGATGCTC

【 図 8 7 B 】

TCTGCTGCTGGGAATCTGCTGCGAAGCGAAGGCTTCCGCTGGTGTCTTACCATACA
TGAACNTGGAGATCTTGAATTTCACTGCAAAATGAGACTCATATCCACTGTAAAG
ATCTTATTTGGCTTTGGTCTTCAAGTAGCCAGGATGAAATATCTGGAACTAAAAGT
TTGTCAGAGAGACTTGGCTGCAAGAACTGATGCTGATGAAATTTCAAGTCAAGG
TTGCTGATTTTGGCTTGGCAGAGACTGATGATGAAAGAACTATGATGTAAGCAAGA
AAGAGGCTGAAAGCTGCTGCTGAGGAGGATGCTTGGAAAGCTGCAACTCAAAAGT
TTGCAACCAAGTGAATGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG
GAGCCCACTTATCTGAGCTAACACTTGGATTAATGATTTACTTGTGTTGCAAGGGA
GAGAGCTCTCAACCCGATCTGCCAGACCCCTTATATGAGTATGCTTAAATGCT
GGCCCTTAAAGCGAAATGCGCCACTCTTCTGACTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG
CTTCTTACTTCTTATTTGGGAGGACTATCTGCTGATGTAAGCTTACTTATGTAAGCTAA
AATGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG
ACAGAGAGGCTTCTTCTGAGGAGTCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG
TCCACACTTCTCCAAATGCTTTTCACTGCTGCTGCTTAAAGCCCACTCAATTTCTT
TGCTCTTGGCATAGGACTGATGCTTAAATTAATGCTGATTAAGGAAATTTCTTA
CTGACAGAGACTCAGAACCGAGGCTGGTCCCAAGGCGAGGAGCAATGCTGCTGCTG

【 図 8 7 A 】

【 図 8 7 B 】

【 図 1 0 4 】

MARLQALLVVLLVALVLAQTAECPANKEVSVCRRVRYRLPLRVVXFVFTSDSC
PRPQVVLFRDKEICADPRVAVXMKLHK:50

シグナル配列
1-24

膜貫通ドメイン
なし

小サイトカイン (intecrine/ケモカイン)
28-91

【 図 1 0 6 】

MAVGEPLVHIRVLLLLLWGLMFLSISGHSQARPSQYFTSPEVVIPLKVI:SRGRGAKAPGW
LSYSLRFGGQRYIVHMRVNLKFAAHLVETVTEGHALLQDFEIQDQWYHYGVYVGVVE
SLVALSTCSGGFLGKQINDVYZEXPIVSVATFELHVKYKIDSDQDQPPKRCGLTEBK
AHQMLQLSINYNTLQKSSVFGVWTHQRFVLLVVVXLRVLYLFSQSNATVQHEVNVVNI
VDSYHPLVVDVILTGIDVFCASNLPLFISDILLVLEDFSLWKNVNLNRPQRHVVALELI
KDTGSMKLGVAIVRIGIQNPFVDFEDRNLVVFATLGHLEHGLHGMQDHTQWCVCE
LQKCIHRYRVTFRFPMCSYADWNSITSSGICIGPFPYFGRIFRACGVNIVRFRGVE
QKCTIRGKADJPCCLMCTVHFAKAKFVJCKDKKFLSFTICRQVQVSDILFRKMG
TSHQCEDVVDQDQICNVNARFVETCNHDIQCKEIPGQDARSAQSCVQIHTQGR
FCHGIVCTTYVKKVTEPDMCCRVQCNVGVIPNLEHSTVQFHLNDCTCMOTVFLGM
ALFDIGEVKDVQGVPEKICIRKCSASVHLSQACQRKTCNMRGICNNRQCHCHNEWAP
PYCKDKVGGASDGGPPKNNMFGIMVNGKIRYISLICIILVAFPLFCVHLVFKKRTKS
KEDEEG

シグナル配列
1-27

膜貫通ドメイン
689-709

N-グリコシル化部位
191-194
226-229
378-381
438-441
479-482
587-590

cAMP- 及び cGMP- 依存性プロテインキナーゼリン酸化部位
370-373
715-718

N-ミリスチル化部位
20-25
117-122
130-135
305-310
444-449
494-499
538-543
545-550
570-575
644-649
670-675

4性ジンクメタロヘプターゼ、ジンク結合領域シグネチャー
339-348

Reprolysin (M12B) ファミリージンクメタロプロテアーゼ
207-209

Reprolysin ファミリーヘフチド
75-192

ディスインテグリン
416-491

【 図 1 0 5 】

CAGATGGCTCCATAATGACAGCTTCATATGGCAGTGGGTGAGCCCTGGTGCACATCAG
GGTCACTCTTCGTGCTCTGFTGGGGATGTTTTGTCTATTTCTGGCACTTCVAGCG
CAGGCCCCCGAGTATTTCCACTTCTCCAGAGAGTGGTGTATCCGTTTGAAGGTTGATCAGCAG
GGCCAGAGSIVCAAAAGTCTCTGATCTCCCTTAAGCTTCCGATTTGSGSAGCAGAG
AGCATTTCTCCAGATGAGGCTAATAGCTCTGTTTCTGCGACAGCTTCTCTGTTCCAC
CTACACAGAGCAGCATGCCCTGCTCCAGATCAGCCCTTCATCCAGGATGACTGGTACTA
CCATGGTATGTTGGAGGGGCTCCCTGAGTCTTGGTTCGCTTAGTACCTGTTCTGGGGG
TCTCTTGGATGCTACAGATAAATGACCTGCTTATGAAATCAAGCCAATTAGTGTTC
TGCCAGATTTGAACACCCTAGTATATAAAGTAGACAGTGATGATACACAGTTTCCACTAT
GAGATGSGTAAACAGAGAGAAAATGACACCCAGATGGAGTTGGCAATTTGTCATATAA
TTGCACTCAAAAGAGTCTTTTGGGCTGGTGGGCCCTCAAGCGGTTTGTGAGAG
GGTAGTGGTGGGATTAATATAGATATTTTCTCTCAAGIATGCAACAAGAGIGCA
GCATGAGATTTTACCTGTCAATATAGTGGATCTCTTATCATCTTTGGAGGTTGTA
TGTAAATTTGACTGGAATGATATATGACTCCATCAAAATCCACTCTACAGCTGGAGA
CCTAGATATGTTTTAGAGGACTTTTCTATTTGGAGAAATATAACCTTAAATACTGACT
AGAATGATGTTGCAACTTTTTCATAAAGACACACAGGCAATGAAGCTTGGTGTTC
CTAGTAAAGGATATGCGAGAACTCTTAAATACCTGAGGTTGATCTTTTGAAGACAA
ATGGTGTCTGTTTTGAGAGTCTTTTGGGCTCCAGGCTGGTCAATATTTGTTAGCA
ACACAGACCCAGTGGTGTGTTGCGAGCTACAGTGGTGCATATGCTATGCTATAGAAA
GGTGACAACTAAATTTAGCACTGCAATGATGCCAAATTTGGGACACTGATCAGTAT
TGGATATATATTTCAACCGCTCCATGATATGCGGAAATATATTAGACTGAACTACTGG
GAACTAGTGGTGAAGAGGGGAGGATGTCAGTCTGGAACACTACGGCAGTGTGCCAAA
AGTCCCTTGTCTCTTAACTGTACTCTACACTCTGGGCTGCTTGTCTTTTGGAAAT
AVTTCGAAGAGACTGCAATTTTCTGCTCAGGAACTTTATAGAGCAACAGTTGGTGA
ATGACCTCTCGAGTGGTAAATGGGACATCAATGAGGAGTGGTCAATATTTGTTAGCA
GCGAGACGGGATCTCTGCTATGTAATGCTCTGCTATGAAAGAGCTGTAATAACCA
TGACATAGATGTAAGAGATTTTGGCCAGATGCAAGGATGCTATGCAAGTTGCTA
CCAAGAAATCAACCCAGGAAACCGTTTGGTCACTGCTGATTTGTTAGGACACACATA
TGTAAATTTGGACCCCTGATATCATGTTGGGAGGTTTCACTGAAATTTGGGAGT
AACTCCAAATCTGATAGACATTTACAGTGGAGGATTTCACTCAATGACACACTTGG
CTGGGCACTGTATATCAATTTGGGATGCTACTCCCTGATATTTGGTGAAGTGAAGTGG
CAGATATTTGTTGCAAGAGATTTCAATGCTTCACTGATATTTGTTAGGAGTGAAGTGG
GTCAAGACCTGTCAGGCTGCACTGCAACTGCAACTGCAAGGATCTGCAACAACAACA
CTGCTCACTGCAAGCATGATGCGGACCCCTCACTGCAAGGACAAAGGCTATGGAGTAT
TGGTATATGTTGGCCACTCTTAAGAACAATGGAAGGATTAATGTTGATGGAAAGTT
GGTCACTGCTACTATTTGCTCTTCTCTTCTGTTGCTTTTTATTTATTTGCTTACA
TGTCTTTTAAAGAACGACAAAAGTAAAGAGATGAAAGGATGAAAGGATGAAAGGATGGA
AAAGAGGAGACTTAACTTAACTTCAATTTTAAATCAATTTTAAATAGAAAT
ATGAGCCATTTCTGCTCTTCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG
GCACTAGCTATCAGGCAAGGATTTCTAGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG
GCAATTAAGGTTCTCTTTCCCAAAAAAAAAAAAAAA

【 図 1 0 7 】

TATTTACCATAACAGATTCACATTCAGTCTCAGCAAAATGSAAGGCTCCATTTTCATC
TGTTTTTATTTCTGCTCTATTTCGCTCTCAGAGTCCGAGCAAGGAGTCTGTSAGAC
TCTTGGGCTATGACTACGAGAGTCTATCTATCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCT
GGCATCTGGAGGGGATCCCTCAAGCTCAGCAGAGTGGAGCAAGAACTCTTCCAGGCTCC
CAGCAAACTGAGTATTTCTGGGAAATCCAGCGCAAACTCTCGAAGGTGGATGCT
CAGGAGAGAGCCTCTTTGGGTTGACAGATGCCCACTGAAGAGCTTTGGAAGTCAAGA
AGCATTCAGTATGTCAGCAAGATTTACAAACTTTGTTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCT
TSACTGATTTGAGTCTCTTTGCTGAGACAGAGCAAAATCCCAATGGTGGCAAGCTT
TATCAAGTTTAATACAGTCTTTACTGCTGCTGAGAACCACTAATATTTGTTATTTAA
AATGATGCTTTTGGTATGCAAACTCTTTTCTAAGAGGATAGCTGAGCGGTTGAAA
CCACAGTATCTTATTTCTCTCTTTGCAAGTAAAGCACTGCTTTTCAAAATCT
ACTAATGCTTTGAAATTTCAAATGCTGCGCAAAATTTGCAATAAAAATGCTA
TAAA

【 図 1 0 8 】

MKGSIFTLFLVSVLFAISVRSKSEVRLQGLYIRTYIYICASSRWRRLHGLPIPOAQAE
TGNFQLPHKREFSBEPNQLNPKVDASGDRILWGGQMTBELAKSKKHSVMSRQDLQLT
CCTDGCSTMDLSALC

シグナル配列
1-18

膜貫通ドメイン
なし

cAMP- 及び cGMP- 依存性プロテインキナーゼリン酸化部位
107-110

N-ミリスチル化部位
3-8
52-57
96-101
125-130

インスリンファミリーシグネチャー
121-135

【 図 1 0 9 】

CCAGGCCGGGAGGCGAGCCGCCGCTCTAAAACGGGAACAGCCCTGGCTGAGGGAGCT
CGAGCCAGCAGAGATCTGACGGGCCAGGTTGCTGAGTCCGCGCACAGAGGATTTTCC
CCGACCGAGGAGGCTCTGCGACAGCCAGCCGAGGAGGAGGCTCTCCGCTGCTGCTG
CTGGCTCTGGAGCATCTCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCT
GGAGGAGGAGGCTGACTATGATCGATGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCT
AGAGATATCTGATTTCTGAGGAGGAAATGGCACTTTTACACATGATTTGAGAA
AGCCCAACAGAGATGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCT
AGCTGAGGAGGAGGAGGATCTTCTGAAATTTCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCT
CATCTGGCAGATCCAAAGCTGATCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCT
AGTTGTTCAAGTTGGTTTCCATGCTTGGAAACAGGATGGGTTGGCAGTTGAAAT
GGATGATTTGATGAAATCTGAGGAGCAACCCCTCTCAAAACACTCAAAATGCTAT
CTTCTTTAAACAGTCAACAGACTGAGTCCGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAG
TAAAGAAAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAG
CCTTTGTAACCCAGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGAT
CCCAGCTGGATCTATGGAGTGAATGAGCAAAAGCAACTGCTCAACCACTGCTTTAA
TGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAG
GCTGAAATCAGCAATTTCCCAACCTCTGAAATGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAG
CAATGTAAGTGTCCAAAGGATCTGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAG
TGGCTGTGCTGACATGAACTGCCATGAAACCAAAATGCAATGCTCAAGAGGTTG
GCATGGAAGACATGCAATAAAGGATGAAAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAG
AGGCGCCAGCTCAGGAGCAGCAGCCTTCACTTAAAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAG
ACTGAACTCAATTTCACTCTGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAG
TTCTGCTCTTTGTAAGCTCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCT
GAATCACTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCT
CTTTAAAGTTTCTAAGTCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCT
TTGGGAGAGATTTTATATTTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCT
AGATATTTCAAAATGCAATGATTTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCT
TTAAATTTGGCAAAATGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAG
TACAGATTTGAGATTTTATGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCT
TCTTAAATTTTAAACTCTCAATCAATATATTTGACCTTACCATTATCCAGAGATTTCA
GTATTAATAAAAAAAAAAATTAACATGTTGAGTGGCTTTAAACAATATATATATTTCTA
AACCAATGAAATGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAG
TAAATTTGGCAAAATGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAG
AAATAAAGGTTGCTGCTTATGTTTTTGGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
AA

【 図 1 1 0 】

MARRSAPFAALWLSILLCLLALRAEAGPPEEESLYLWIDAHQARVLIGFEEEDILIVSE
GKMAFFTHDFRKAQORMPAIVNTHSNFTKQAGQAEYFFFLSLRSLDKGIMADPTVN
VFLLEGTWPKASVYQYGFPLKQDGVAAPEVDVIVYNSSEGTLLQTPQNAIFPKKCOQA
BCPGGCRNGGFCNERRICEPDDGFHGHCEKALCTPRCMNGGLCVTPGFICPPGFYGVN
CDKAMCSTTCFNGGTCYFPGKICPPGLEEGQCEISKQPQCRNNGKCIKSKCKCKSKY
QDLSKPKVCEPQCGAHTGHEPNKQCQEGWGRHKNRYEASLHIALRPAGAQLRQHT
PSLKAEEERDPPESNTIW

シグナル配列
1-28

膜貫通ドメイン
なし

N-グリコシル化部位
88-91
245-248

チロシンキナーゼリン酸化部位
370-376

N-ミristol化部位
184-189
185-190
189-194
315-320

ATP/GTP 結合部位モチーフA (Pループ)
285-292

BGF様ドメインシステインハターニングメジャー
198-209
230-241
262-273
294-305
326-337

WIFドメイン
38-173

BGF様ドメイン
177-209
214-241
246-273
278-305
310-337

【 図 1 1 1 】

CCACGGCTCCGGCCACGGCTCCGGCCACGGTCCGCCACGGCTCCGGCCACGGAG
TTTGAGCCTCTTTGGTAGCAGGAGGCTGGAGAAAGGACAGAAAGTAGCTGGCTGTGAT
GGGGATCTTACTGGGCTGCTACTCTCTGGGCACTAACAGTGGACACTTATGGCCGTC
CATCTGGAGTCCAGAGAGTAAAGAGACCTTGGAAAGGGATGTGAATCTTCCCTG
CACCTATGACCCCTCGAAGGCTACACCAAGCTCTTGGTGAAGTSGCTGACCAAGCTG
CTCAGAGCCTGTCACACTTTCTAGCTGCTCTTCTGGAGACGATTTCCAGCAAGGCAAA
GTACCAGGCGCCCTGTCATGTGAGCCACAAAGTTCCAGGAGATGATCCCTCAATGGAG
CACCTGGAGATGGATGACCGGAGCCATACACCTGTGAAGTCAACTGGCAGCTCTGTA
TGGCAACCAAGCTCGTGGAGATAGATTAAGTCAAGCTCCGTTCCAGAAACTCTCTCTC
CAAGCCACAGTGACAACTCGCCAGGCTTATGGCTTCCAGGTCGCCAGGGAATGACGAT
TAGCCTTCAATGCCAGGCTCGGGGTTCTCTCCCTCAGTTATATTTGGTAAAGCAACA
GACTAATAACAGGAAOCCATCAAAGTAGCAACCTTAAGTACTTCTTCAAGGCTCC
GGTATAGCCAGCTCAGGCTCTATTTCTGACTGCCAGGAGCAGTGGCTGGCTGAGCA
GACAGGCAACTGTGAAGTTGGTGTCAAAGCTCTCAAGCTCTCAAGCAAGAC
TSAGGCACTACAACCAAGTACACTCCCTTGAAGCAACTCAAGTAGAGCAAGTCTCTG
GGACTGACCACTGACATGGATGGTACTCTTGGAGAGACCACTGCTGGCCAGGAGTACC
CTGCTGTCTTTCGCACTCATCTCATCTCTTGTGCTGATGGTGTGTTTACCAT
GGCTATATGCTCTGTGGAGAGACTCCCAAGAGGAGTGTCTACAGAGGAGCCAG
CTAAAGAACTCTCTCTCTCAATTTTGGCCCGTCCGCTCCATTTTGAATCTG
CGAGGAAATGTGGAGAAAGGGGGTGTGGCAAGCAAGCAACTCAAGGCGGGAGGCTTC
AGGTCAGGACATAGCTGCTTCCCTCTCAGGCACTCTGAGGTTGTTTGGCCCTC
TGAACACAAAGGATAATTTAGATCCATCTGCTTCCAGAAATCCCTGGTGGTAG
GATCTGATAATTAATTTGGAGAAATTTGAGGAGAGTCCCAAGAGGAGTGTCTACAGAGGAGCC
CCAAAGCTCTTCAAGGAGTGGCTCTTGGCCCTTGGCCACTTGGAGAGGAGTCA
ACGACTCTGGAGAAACATGAGGTTGGCCATCTTGGCAAGTGGCTGCTCAGTGTAGG
CAACTCCAGAACTGGGCAACCAACTCTGATGAGCCCTGATAGGAGCAGGAGTACC
AGATCATGGCCAGATCAATGGCAACTACGCCCGCTGCTGGACACAGTCTCTGGATT
ATGACTTCTGGCACTGAGGCAAAAGTGTCTTAAAGTCCCTCAAGGAGGAGT
CTCTGACATTAATTTGGTGTGCTCTTGGTGTGGCTCTTCTGCTGCTGCTGCTGCTGCT
CTCTCTGGATAGCCAAAGTGTCCGCTCAACAACCTGGAGCCGCTGGAGTCACTGG
CTTTGGCTGGAATTTGGCAGATGCACTCAAGTAAAGCCAGCTGCTGCTGCTGCTGCTG
GCCTCTGATATCTCTGCGGGGCTTCTGGTACTCTCTCAAAATACAGAGGAGAA
TGAAGTGTGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
GCCAAG
GATCAATTTCTTCTTCCAGGCGAGACAGCTTTAATTTGAAATTTGATTTTCCAGGCG
AGGGTTCAGTCTGCTCTCCACTAATAGTCAATGTTCTGACTCTCTCTGCTGCTCA
TAAATATCTAATCATAACAGC

【 図 1 1 2 】

MGILLGLLLLLGHLLVDTYGRPILEVPEVTPGWKGDVNLPCYDPLQGYTVLWKLWQR
GSDPVTIFLRDSSODHIQQAQYQGRHLVSHKVPDVSLLSLTEMDRSHYTCSEVWQTP
DGNQVVRDKITELRVQKLSVSKPTVTGSGYGTVEQGMRI SLQCQARSGSPFISYIWKQ
QTNHQBPVKVATLSTLFPKPAVIDAGSYFCTAKGVQVSEHSDIVKPVVVDSSKLLKTK
TEAPPTMYFLKATSTVKGQSDWTTMDMGLGETSAGPKSLPVFAILLIISLCCMVVTT
MAYIMLCRKTSTQGHVYEAAR

シグナル配列
1-19

膜貫通ドメイン
281-301

グリコサミノグリカン接着部位
149-152

cAMP-及び cGMP-依存性プロテインキナーゼリン酸化部位
308-311

N-ミristol化部位
2-7
148-153
158-163
207-212
215-220

イムノグロブリンドメイン
34-115
158-213

【 図 1 1 3 】

AGCCGCTGCCCCGGGCGGGGCGCCGGCGGCGGCACTGAGTCCCGCTCGTCTGCTG
TCGCTGCGCCTCTCGTCTGCGCGCTCTTCTCAGCCGCGGAGCAACTGGCTGTACTG
GCCAAGCTGTCTGCTCGTGGGAGCCTCAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAG
CTGATCCAGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
CGGGTGGCCAGTGGCCATTTAGGAGAGTCCAGTACAGGTTCCGAAACCGGCGCTGGAA
TGTCTGACCTGAGCTCTTCCGCTCTTGGCAAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
GCGGCTCTGCTGACCCACTCTCTGCGGAGGTTGGGCTTTGCACTGAGCCGCGGCTG
AGCAGTGGGAGCTGGAGAGTGGGCTGTGACAGGACAGTGCATGGGTCAGCCCAAG
GGCTTCCAGTGGTCAAGATGCTCTGACAACTGCTCAGCTGCTGCTCTTCAAGGAGG
TTTGTGATGTGCGGAG
CACACAAAGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
CAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAG
AAATTCAGTGGTCTGCTTCTGCAAGTGGGCTGCGGAGTGGCCAGGCTGCTGCTGCTG
ACGTCGCGATGACCGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG
CCGATAATTTAAACAGTCTCCACCACTACCCAGAGAGACTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG
CTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGG
GGCAACCAAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAG
CTTGGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG
GTCCGTTTTCTACTTGCAGACTAAGGTGGAGTAAAGGAGTATTAAGTCAAGTGTATCTGT
TACTGACCTGTGCTCATCGGAGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
ATGAGTGTGACCACTCTGCAAAAGAGACTTTAAGTGTGCAAGGAGGAGGAGGAGGAGG
CTCTGGCAGCTGAGCTGAGAGCACTGCTCTCAAAAGGCTTGGAGAAAGGAGGAGGAGG
AGATACAGGTCAGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
ATATCTGTGGTCTTCCAGGCAAGAGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
CACCTAGAAACAGGCTGCGCCAGGCTGCGCCCTGGGAGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
AGACCGCTGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
TGCAGTCAAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
ACCTG
GAGAGAGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
CTGTCTCT

【 図 1 1 4 】

MSPRSLRSLRLVFAVFAAANLWLVKLLSVGSISEEETCEKLGKLIQRQVQMKRN
LEVMSVVRGQLATECCQYFEMRNKSTLDELVFKVYVQSTRRAAFYATISAGV
AFVAVTRKSSSELEKCCDRIVRHVSPQGFWSGSDNIAYVAGFQSPVDRRBSKGS
SSRALMNLHNEAGRAKAILTHMRVECKHGVSGSEVKTWRVAVPPFRVQHALKEKFDG
ATEVPRRVSRRALVPRNAQFKPHDDELVLVLEPSPDFCEQDMRSGVLGTRGTCNKTS
KAIDGCELLCGRFHTAQLVLEBRCSKFKHCCVFKRCQRRLVELHTCR

シグナル配列
1-22

膜貫通ドメイン
なし

N-グリコシル化部位
88-91
297-300

N-ミリストイル化部位
70-75
105-110
119-124
137-142
154-159
162-167
178-183
210-215
250-255
267-292

アミド化部位
193-196

Wnt-1 ファミリーシグネチャー
206-215

wnt ファミリー
42-351

【 図 1 1 5 】

CTTAGATATAAAGCTGATAGAGATAAGATAAATAAATAAAGATTGAGATTGCTGATATAGTTT
TAAAAATAAATAAATTTGCTCAAGCATTGGACAAATTAACAGTTCAATTAAGGTTTAAAA
TTTAGAGTTTGTAGATTTTAAAGTTTAAAGTTTGGCCCTGAAATCTTTAAGGTGCTGATAAGC
CTTGGTTAAGTTTACTCCATGAAAGACTTTACTGAAABAATGTAATCTGATAAATAA
GAACTTAAATAAGCTTGAATAAATAAATAAGCAATTTGTTGTCAGTGAATCTTTGTA
TATAATGAATAAGATAAATAAAGATTATATGTTGATGACATGCTGTAAITGGCTCAAGGA
AAGCATCAATGAATAAGTTTATTTGGTACTTCTCAAAAATAGCCAAACAATAGGGAAA
TGGAGAAAATGTACTCTGAACACCAATGAAAGGGAACTTGAATAATTAATGTTAAACTT
GGCAAAATGACATTAAGAAAAGAAAGCAAAAAGCAAACTTCCAAATAATCTGAG
ATGCATGAAGGAAACATTTCACTAGAGCTGGAATTTCCCTAAGTCTATCGAGGATAAG
TAGCATATTTGACCTTACCACTGATTAACAAGCACTCTTTGGAATGTGTGGTGGCTGC
TGGCCTTACCACTATCTCTCTAGATTGAAACTGATTAATCTCCAGCAAGACAAG
TGAATCAAGAAAGTTTAAACTCTGAAATGTTGCAAACTTGTCAATTCAGCAGTGTCT
TACCAACAGAAATCTTTCTCTTCTGAGATTTTGGTCTCTGAGCTTCCAAACAAA
AAGGACACACTCTGGCCATTTCCATGAGATGCTTCAGAGATCTTCAAGCTTCCAGG
CAAAATTTCTCTGAGTGTGGGAGAAAACCAACCGGAGAAAATCTCTCAATCAACTTC
ATCAACAGCTAGAATACTAGAAGCACTCATGGGACTGGAAGCAGAGAACTAAGTGTA
CTTTGGGTAGTGATAACTTAGATTACAAGTTAAATGTAATCTTCCAGAGCACTCATGATT
ACCTGGAABACCAGGCTACAGCACCTGTGGCTGGGCAATGTGTCAAGTAGAATAACGCC
GATGCTCTTTCTTGTGTGCTTCCAGGAAACTGAGCAAAACAGGAAAGCTTGA
ACGCATGAAGCAAGACTTACTACAGATTTAGAAGCCGAGGAGTGGGAGGAGCTAG
AGGACTTCCAGACGATTTCTCATAGATGTGTAAATCAATTAATAGTCAACTACAT
TGCCTTAATTTTGTATATATATATTTACTGAGTTTAAAGATTTGTCATATGACCCAC
AATGGTTTTATTTGATATGAGCTTATATATGATTTTCAATTTAATTTTGTATG
TCMAATAAATTCATTAATGTTGATTTCTTCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
AA

【 図 1 1 6 】

MIKHFFGTVLLASSTIFSLDLKLIIFQOROVNQLSKLLNKLQTLISQQLFHRKNF
LLPKSLSPQVQKQHLAILHEMLQQIFSLFRANISLDMENHTEKFLIQHQQLBYL
EALMGLBAELKLSGLTGLSDNLRQVKMYFRRHDLNENQDSTCAWAVQVEISRCLPFPV
SLTEKLSKQRFELNDMKQELTTEFRSPR

シグナル配列
1-21

膜貫通ドメイン
なし

N-グリコシル化部位
95-98
104-107

N-ミリストイル化部位
133-138

インターフェロン α , β 及び γ ファミリーシグネチャー
147-165

インターフェロン α / β ドメイン
1-190

【 図 1 1 7 】

GACCCGGCCATGCGGGCCCTGGGCTCTGGCTGTGGCCGGGATGATCTGCCCTGGCATT
GCCCCAGCCGGCCCTGGGCTCTCATGGAGCAATGAGGTGCTGTGGCCGGGCTGCTG
CCAGGCCCCGAGTCCGCGGACTCTGGCCCTCCACTTGGGCTCGCACCCAGAGAGGGTG
AGTACGCTCTTGGGGCACBAGGGCACAACTTCACTCTCCACTGCGGAAAGACAGGGAC
CTCTGSGTTCGATACAGAGACTTACAGGCTGCAATGGCTGCAATGGCTGAGGGAG
CAGCTCTCGCGGGCAGCACCACTGCTTATACCAGGGCCACTAGAGGGGTACCAGACTCA
GCCGCCAGCTCAGCACTTGTGCCGCTCAGGGGTTCTCTCCAGTGGGGTCAAGCTG
CACTGTATCGAGCCCTGGATGAGGTTGGGAGGGGCGAAGGCAAGGCGTGTACAGGCT
GAGCACTCTGCGAGACGGCCGGGACTCTGGGGCTCAGGAGCAGCAGCTTGGGAGCTC
CTGGGAGCCCGGAGCGGAGCTTCTGAGGCTTGGCCGGGGGACTCTCTGCTCCTCGA
GAGACCCGCTACGTGAGGCTGATGTGGCTGGTGAACAATGAGATTCAGATGCTGGG
AGCGAAGCAGCCGTCGCTCATGGGTGCTGGAGTGGTGAATCACGTGGACAGCTATAT
CAGAACTCAACTTCCGTTGGTCTCTGCTGGCCCTGGAGATTTGGAAATGTCAGGACAG
TTCACTGTCAGCCCGGACCCGACTGACACTGGAGAACTCTCTGACCTGGCAGGCAAG
CAAGCCAGCCGGGCACTGCTGACAGAGTGAAGCTCACTCATAGGGTGTGACTTCAAG
GGACTACTGTGGGGTTTGGCCGGGTTCCGCTATGCTCCCAAGCTCAGGGGCTGTG
AACCAAGCACAGCAAGAACCCGCTGGGCTGGCCCTGACCACTGGCCCATGAGATGGGC
CACAACTGGGCCATGGACCATGATGAGAACTCCAGGCTGGCCCTGCGCAGGAAAGCTTC
GAGCCGGCCGCTGATCATGCGAGGCAAGTGGCTCCAGTTTCCGAGATGTTCACT
GACTCCAGCCAGGCTACTGCTGAGGCTTTTGGGAGGGCCGAGTGGTGGTGGTGGG
AAAGCCCTGACTCAGCCACTGGTGGGGCCCGCCCTGGTGGGAACTGTTTGGGAG
CGTGGGGCAGCTGCACTGGGCCCCCGAGGACTCCGGAACCCGCTGCTGCAACTCT
ACCACTGCGAGCTGGCTGAGGGGGCCAGTGTGCGCACAGTACCTGCTGCCAGGATGTC
AAGTGGAGCCGGCTGGTGGTGGCTCCGCTCCAGAGGACATGTTGACTCGAGGGAG
TTCTGAGCGGGCCGCTGATGAGTGGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
TGCTCGGGGGCTACTGCTCAAGAGGGGCTGTCACACTGGCCAGCAGTGGCCAGGCC
TTCTGGGGCCAGGTGGGCGAGGCTGGCCGAGGAGTCTGCTCTCTCATGACATCCTACCA
GGCTGCAAGGCCAGCCGCTACAGGGCTGACATGATGTTGGGCTTCTGCACTGCAAGGGTGG
CAGAGCCCTGGGGGCTGATGAGTGGTGGCTCCAGGCTGGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
GRTGCACTGCTGATGAACTCCAGGGCCAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
TGGAAAGAGCTGCGAGACTTACACTTACAGATCCAGCACTGCTGCGCCAGTGC
CAAACTATGGGCTGTCACCAAGCAGGAGTCCACTGCTCCAGCCGAGGCTGGGCCCCG
CCCCCTGCGAGGCTGCTGATGAGGTTGCAAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
CTGATGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGG
TACCGCAAGAGCCCGAGCCGACTCTGAGCAGGAGAGTGGCTCCAGAGCACTAAGGG
CGCTCCAAAGCCCTGTTCCACAGGCTGCGAGCCGCGTGGCCAGGGCCAGGGCCGGGCTCCA
GCCCCATCCAGGGGCCCAAGAGCTGGTCCCCACCAAGCCCGGGCCAGCCCGCCCGCA
CAGCCGAGCTCTTGGTGGGCTCTGAGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
AGCCCACTTCCAGGCTCTGCTGACAGCCGCGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
ACGTTGGCAGCCCGAGTGGCCAGTAAACCCGAGGCTGGTGGGCGCAACCTGGTCCA
GCTGAGGGTGTGTTGGCCAGAGGTTGGCTGAAAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
GCCGAGCTCCCAAGCAGCCAGGGGGCACTGCGCTGTGGGAAATTTGGAGAAAT
TGGCGCAGAGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
GACCTGACTTGGAGGCTGAGGCTCTTCCAGGCTTCCAGGCTGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
CTCCGCTGCTGCAAGGCTCAGCCAAATCTCTCCCGGCTTGGCCAGGCTGAGGAGGAGG
GCTGCTGCGAGGCAAGGCTGGGATGAGGCTGTGCTTGGGGTGGGTTGGTGGTGGTGGT
TGCTTCCAGGTGGGCTGCTCCGCTGCTTCCAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
CAGCCAGCAGCTGCGCTGCTGGGCGCTGGTGGAGCCGCTGGCTGGGAGGAGGAGGAGG
AGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
GTGCTCTGAGAGGGTGTGATGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
TTTTCTTGGAGCTCAGATGTTGTTTCAAGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
AGAAATGATATTTTCAATAAATTTATGGCCAGGTTCTGTAGATCTTGTGTA

【 図 1 1 8 】

MRGLGLWLLGAMMLPAIAPSPRWALMEQYEVVLFRRLLPGRVRRRLPSHLGLHFRVSVV
LGATGHNFTLHLKRNRLDLSGGYETVTAAGSSEVTEPQGGDCLYQGHVGGYPPDPAAS
LSTCAGLRGFPQVSSDLHLLEPLDEGGGGRHAYVQAEHLLDTAGTCVGSDDSLGSLGFP
RTAAVFRPFGDLSRRETRVELVYVVDNAEPFQMSBEAAVHRVRLVYVNDKLLQKL
NRYVYVLELEIRMSDRPHVSPVTELEMLLTPGACRTRKHLDHNVQLTVPDPTGTT
VGFARVSMCSHSSGAVNQDSKNVFPVCTMAHEMNGHNGMDHSHDNVQSCRCQERFAG
RCIMAGSIGSFFRPFMFCSDGAYLESFLERPGVQLANAPDLSHLVGGPVCNLPVFRGE
QCCGPPEDRNRNCCNTTQCLAEQAQCAHGTCCQCKVKPAGELCRPKKMDLLEBPCD
GHPPECPEADPQENGTFCGGYCTNGACPTLQOQCAFWPGQMBESGYSYDILPKCK
ASVYRADMCSVLQKGGQPLGRALCIYDVALHCTTEGCTAVEPVPECTCCRERVKWS
RCQDLHVYRSMCSAQCHNHGVCNHKCECHHAGWAPPHCAKLLTEVHAGSGLVPLVVV
VLLVAVLVVTLAIGIYVYKARSRLSRNVPKTTMGRSNPLFHQAAARVPAAGGAPAS
RGPOELVETHEGQPARHPASSVALKRPFPAPPVTVSSPFPVTVTRQPKQVTKPTFA
PPVPPVKGAGAAAGPBAAGVPGKVALKPPFQRKQAGAPATP

シグナル配列
1-19

膜貫通ドメイン
653-673

N-グリコシル化部位
67-70
81-94
436-439
612-615

チロシンキナーゼリン酸化部位
100-107
601-608

N-ミリストイル化部位
80-85
92-97

101-106
145-151
149-154
217-222
293-298
298-303
327-332
366-371
407-412
445-450
495-500
505-511
522-527
538-543
550-555
789-794

中性ジンクメタロヘプターゼ, ジンク結合領域シグネチャー
331-340

Reprolysin (M12B) ファミリージンクメタロプロテアーゼ
200-400

Reprolysin ファミリーヘプド
71-185

デイスインテグリン
417-492

【 図 1 1 9 】

GCTTGGCCACAGCCCGGGCCGCTCAGCTCCCTTGACCCAGTGAATCGGTGGCCCCG
TTATTCGTCCAGGTCCCGAGGAGGAGCCCGCTCCAGCAAGAACCTGGTCCCTGG
CTGGCTGGTGGCCGGCTTCTGGGAGCCCTGGGCCCCGCTGTCACACCCAAAGGTGTCT
TTAGAGACTGCTGCTGGCTTACCACTAGCCCAATTGSGTGGCTGGCTCCGGGCGCCCT
GGACTTACCSGATCCAGGGGTGACCCGACCAATGCTGGCTCCGATTTCTTACC
TCCCAAGAGACACAGGAGGTGTGGGAAACCCCAAAGCGAGGAGGTGCGAGAGCCA
TGAAGCTCCTGGATCTCGAAATGAAGTTTTTTCGAAAGCTCACCACAAACGCGAGACT
TCCAAGCCCTCATGCTGTAAGAAGTTAGTTCTTGGAAACTCAAAGTTATCATGTCCTA
AGTTTGAAGTCCATCAGCAGCAGCAGAGGAAATGTTCTCCCTCTGATATCAGCTAATT
CAGGACTTGGAGCCGCTCATTTGPGGCTCCATCGCACAGGAGGCGCGAGCTTTCT
CCGATAAAGCGTGCCTCAACAGCCAGCTCTGCCCGAGCCCTCTGTCTTTGGGTCAG
TCTTAACTCCCTGACCTGAGTGGTCTCCCTCTGACCCGCCACCTCTCTGGCCGCTCT
GGCACTGGAAAGAGGGATGGCCGCTGATTAAAGCCCTTTGCCGCTCCGGGACCGACA
GCAATCTGGGAGCCAGTGGCTCTTTAGAGAGAGACTTAGGATCTCTCTCACTTTCT
GTTTTCTGCCCTCCAGCCGGGCGGATGCGACTGTCTCCCTTGGGCTCCGCAAAACTCT
GGTCAGTTCCAGATGCCCCCTCCAGGCTATGCTTTTCTATAACTTTTAAATAAACTTG
GGGGGTGATGAGTCAAAAAAAGAAAAAAGAAAAAAGAAAAAAGAAAAAAGAAAAA
AA

【 図 1 2 0 】

MNLMLACLAVAGFLGAWAFVHTGQVFEDCCLAYHYPIGWAVLRRWYRIQEVSSGNL
PAAIFYLKRRHKVCGNPKSREVORAMKLLDARNKVFAKLHNTQTFQGHAVKXKSSGN
SKLSSKSNPISSSKRNVLISANSGL

シグナル配列
1-15

膜貫通ドメイン
なし

N-グリコシル化部位
138-141

cAMP- 及び cGMP- 依存性プロテインキナーゼリン酸化部位
114-117

N-ミリストイル化部位
76-81

小サイトカイン (intecrine/ケモカイン)
22-90

【 図 1 2 1 】

GAGCTATTTATCCCTAGTCCITTCCTCCTGCACCTCAGCTTTGAGCCCGAGCTGGTGC
TTCTGCTCTCTGAGACATGSCAGGCTGATGACCAATAGTAAACAGCCTTCTGTCTCTGG
TGTCTGTGSCCAGACATCATCCCTACGCGGCTGTGGTCTATCCCTCTCCCTGCTGAT
GTCTTTGTTCAGAGAAATTCGAGGAAACCGGCTCAGCTCCAGCTCTCCGAGG
GAGCACATGCTCAAGGCGAGGATGATCTTACCACCAAGAGAGGCGAGCATTTGTTGG
CGACCCCAAGCAGGAGTGGTCCAGAGGTACTAGAAACCTGACCGCCAAAGCAGAA
GGCTTCCCTTAGGGCCAGGGCAGTGGCTGTCAAGGGCCCTGTCCAGATATCTGGCAA
CBAACCACTCTAACTCCCGCCACACCTCCCGCCCTGGGCTTGGGCTGAGCTGCTT
GGCGGCTTCCGCTCCAGGAGAGCCAGGATGCTGAGGAGGAGGCTAATTTCTCTGT
TCTTAGCAACACTCTCCAGGATGTTCTTCTATGAAAACCCGAGGGAGCAGGTA
TGTGTTCCCGGGGCTGAGCAATGCTCCAGCATCAAAGCATCAAAGCCCTTGCCTTCTGGAG
CTGGTGGAGAGATCCCGAGAGGAGAGCAGTGGCAACTCTTTCCTCTCTGACTCT
GGTCTGATGCTTTTCTTTTCTTTTTCGAGAGCGAGTCTGCTCTGCTCCACCG
GCTGGGAGGAGTGGGAGCAATGCTGCTCCCACTCCGCTCTCGGTTCAAGTGA
TTCTGTCCTCAGCCTCCGAGTACCTGGGACTACAGGTGTGTACCACCAACCAACT
AACTTTGTATTTTGAAGAGTGGGTTTCAACATGTGTGCGAGGCTGGTCTCAAACT
CTGGCTCAAGTACTTACTGCTCCGCTCCGCTCCCAAAGTGGGATTAAGGCAATGAG
CCACCACTCAGCTACTCAACTTATGTTGAAAALAAATTAATTTTCTTTT
TTTTAAAGAAATGAGCTGGAGGACTGGGCTGAGGGCGGCGCTGGTGGTTATCTT
TTGGGAGACATGACTTTAAGGAGATCCCTGCTTTGTGACAGSTTGTCCATGCTGCT
TTGGGCAAGGGCTTACTGCTTCAAATCGGCTTCCCACTCCCAACTTTGGTGGGG
AAGATGGGTGGGGGATAGGGGGGAGAAAGACTCTGACTTTTTTTTCTATGATGAT
ATACTGTGGTTTATCAGAGTGTAGACAGTGTGCTGTCTCAAATAAAGGCCAAA
TAAATGGGATCTTTTTCTTTGA

【 図 1 2 2 】

MAGLMTIVTSLLEFLGVAHHIIPGTVVIVPSCMFFVSKRIENRVVQVLSRSTCLK
AGVIFTTKKGQFQGDPKQEWVQRVMKLDARQKKAAPRARAVKGVQVQVPGWTTTC

シグナル配列
1-18

膜貫通ドメイン
なし

N-グリコシル化部位
115-118

cAMP- 及び cGMP- 依存性プロテインキナーゼリン酸化部位
94-97

N-ミリストイル化部位
62-67
70-75
114-119

小サイトカイン (intecrine/ケモカイン)
25-89

【 図 1 2 3 】

CAGGAGTGACTTGGAACTCCATCTCTACTATGAAAGAAAGTGGTGTCTTTCTCTCTT
GGGCATCACTTCTGGTGTCTGATGGATGGAGAAACCCAGTATGAGAAAGGGTGG
CTGTCTGCATCAGCAACAAACAAAGGACTATCCACCTACAATCTCTGAAAGACTTAA
AAGTTTGGCCCAAGCCCTCTCCGAGAGAAATGAAATCATTTCTACTGAAAGAAATGG
AGTTCAAACTTCTTAAACCGATTTGGAGCAATGTSAGAGAACTATTAAGATGGAG
GAAACAGGCTCAGCCAAAGAAAGAAAGCAAAGAAATGGGAAAGAAATCAAAAAAAGAA
TCTGAAAGTCCAAAAATCTCAAGCTCTGCTCAAAAGAGACTACATAAGAGACCACTTC
ACCAATAGTATCTGTGTAAAGAAATGTTCTATTTAATTAACGCTATCATTCCAAAG
GAGGATGGCATATAACAAAGCTTATTAATTTGACTAGAAAATTTAAACACTACTCT
GAAATGTAACTAAAGTAAAGAGTTGATTTAAGAACTCAAAGCTTAAGAAATGTTAA
GGCTAA

【 図 1 2 6 】

MSLRDTPSCNSARPLHLQVLLLSLTLALASSTKQTKRNLKAKKESLSDLYAE
LRMCIKTSGIHPKNIQSLVEVIGKTHCNQVVIATLDRKIKLDPDAPRIKXVQK
LAGDESAD

シグナル配列
1-34

膜貫通ドメイン
なし

N-ミリストイル化部位
86-91

アミド化部位
100-103

小サイトカイン (intecrine/ケモカイン)
54-121

【 図 1 2 4 】

MKKSGLVFLGLILLVLIQVQGTVVVVKGRCSISTNQGTIHLQSLKDLKQFAPSPECK
IEI1ATLKNVQTCNLNPDADVKEIIRKWEKQVQKXKXKNGKXKXKXKXKXKXKXKX
QRKTT

シグナル配列
1-22

膜貫通ドメイン
なし

cAMP- 及び cGMP- 依存性プロテインキナーゼリン酸化部位
122-125

N-ミリストイル化部位
70-75

アミド化部位
101-104

小サイトカイン (intecrine/ケモカイン)
23-89

【 図 1 2 7 】

AAAAAACAATTTGAGAAACACGGCTCTAAACTCATGTAAGAGTGCATGAAGGAAAGC
AAACAGAAATGGAAGTGGCCAGAGACTTAGAAAGTGGAAATCAGTATGTTCTCCT
ATTTAAAGCATTTGCGAGAGCAAGGCTCTCAGAGAACTAGAGCCCAAGCTTCAAGTC
ACCCATCTCAGAAAGCCAGAGTACTCGAANTACTACATGSCCTCCGCTTCTGCTTT
ACTGATGGTCTGGTGGTCTCAGCTGCAAGTCAAGTCTCTCTGGCTGGATCTCC
TGAGACCCAGCCCTGGATAACAGAGGACCTGATGCTCTGGCAAAATGAGCAAGAT
CT
TGGGCAACAGTCCAGAGAGCTCAGGACTCTGTTCTCTCATGACTGATCAGAGAT
CTTCAACCTTTTACACAAAGATTCATCTGCTGCTTGGATGAGGACCTCTAGACNA
ATTCTGACCGAATCTACCAGGAGTGAATGACTTGGAGGCTGTGTGATGACGAGGAG
GAGGTTGGGAGAACTCCCTGATGAATGGGACTCATCTTGGCTGTGAGAAATCTT
CGAAGATCCT
CAGGACAGAAATCAGAGTCCCTCTCTTATCAAGAACTTGGCAAGAAATTAAGAG
GAGGAAATACACTGCTGGTCCAACTGAAACAACTTTTATGACTCATGACCAAGTCA
GCTTTCAATGATTTGTCATTTCAAAGACTCTCAACCTCTGATAACTATGACCAATGCT
ATAACGATTTATCTATTTAAATTTAATTTAATTTAATTTAATTTAATTTAATTTAATTT
GTCTAATGATGCTATGCACTTTAATCTGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGT
TATTTACTCAATCCATTTTGGTGTCTAATAACTTTTACTATAGGAACTTCCCTG
ATGTTGCTATTTAATATGAAATTCCTAGCTGAGTGGCAACCTGATTAGAGAAFA
AGGATATTTTATTTGCTTATCATTTATATATGTAAGA

【 図 1 2 5 】

GTAGGCAGCACTCAGCCCTCACTCAGAGCTCTCTGGTTCGGAAACAACCTTAGCTCAG
CCTTCTCCCACTAGAGCCTCAGACTGATACCCACCCCTTCTGTAAACAGTGGAGAACCA
TTCATGCTCTGAGGTGCTGCTGCTTCTGCTCATCTGCTGCTGCTCTCTGCTCTCTCCCA
CCAAAGACAAACTAAGAGAACTTGGCGAAGGCAAGAGAGAAAGTCTAGACAGTGA
TGTATCTGAACTCCCTGCAATGTTATAAAGCAACCTCTGAAATTCATCCAAAACA
TCCAAATTTGGAAATGATGGGAAAGAACTTCCAACTCAGACTGAGTGGAGTGGTGGCA
CACTGAAAGATGGAGAAATCTCCCTGGCCAGACTCTCCCGAATCCAGAAATTTG
TACAGAAATAATGGCAGTGAATCTGCTGATTAATTTGTTCTGTCTCTGCAACT
TCTTTAACTCCAGGAGGGTAAATTTGAAACCTTGAATTTCTAGAGTTCTCAITAT
TCAGAGTACTTCTTACTGATTAATAATTTGGATATGTTTCTCATCTGTCTCAAAAA
TCACATTTTATCTGAGAGGTTGGTAAAGAGTGGCAGAAAGAGAGTAAATAAATAA
GCCTGGTTTCAACCCCTCAATTCTGCCA

【 図 1 3 6 】

MTNKLLQLIALLCFSTTALSMSYNNLGFQFSSNFQCKLLWLNGLRLEYCLKDRMNFDP
IPEELKOLQDFQKEDAAALTYEMLQNIFAIPRODSSSTGWNETIVENLAVYHQINHLK
TVLEKLEKEDPTRGKMLSSLLKRYGRILHLKAKKEYSHCAWTIVRVSLIRNFYFINR
LTYGLRN

シグナル配列
1-21

膜貫通ドメイン
なし

N-グリコシル化部位
101-104

ロイシンジッパーパターン
6-27

インターフェロン α , β 及び β ファミリーシグネチャー
146-164

インターフェロン α/β ドメイン
1-187

【 図 1 3 7 】

GAAAGATCAGTTAAGTCCCTTGGAGCTGATCAGCTTGAACAAGAACTACTGATTTCAAC
TTCITGGCTTAATTCCTCGGAAACGATGAAATAACAAGTTATATCTGGCTTTTCAG
CTCTGCATCGTTTGGGTTCTCTGGCTGTTACTGCCAGGACCCATATGTAAGAAAGACGA
GAAACCTTAAGAAATATTTTAACTGCAGTCACTCAGATGTAGCCGATRAATGGAACCTT
TTCITAGGCTTTTGAAGAAATGGAAGAGGAGGTGACAGAAATATTCAGGGCCCA
ATGTCCTCTTTACTTCAAACCTTTTAAAAACTTAAAGATGACCAGAGCATCCAAAG
AGTGTGGAGACCATCAAGGAAGACATGAATGCAAGTTTTTCAATAGCAACAAAAGAAA
CGAGATGACTTCGAAAAGCTGACTAATTTTCGGTAACTGACTTGAATGCCAACGCAAA
GCATATCATGAACCTCATCCAGTGTAGGCTGAACTTCGCCAGCAGCTAAAACAGGGAG
CGAAAAGAGGTGATGATGCTCTCGAGGTGAGAGGATCCCGAGTGGTGGTCTGCTGC
CTGCAATTTGCAATTTTAAATCTAAATCTTTTAAATATTTTAAATATTTTAAATATTTG
GAAATATATTTTAGACTCATCAATCAAAATAAGTATTTAATAATAGCAACTTTTGTGTAA
GAAAATGAATATCTAATAATATATGATTTTAAATATTTTAAATATTTTAAATATTTTAA
ACTTAATCTTTGTTTTCGACTAATTAGGCAAGGCTATGTGATTACAGGCTTTATCTC
AGGGCCCAACTAGGAGCCCAACTTAGCAGAGATCCCATGGGTTGTGTGTTTATTTCACTT
GTHHKGATGAGACCTTTTAGTAGTAGTATGATATCCAGTACTCCGCGGTTGGA
TATGCTGCAATCTGAGCCAGTCTTTAATGGCATGTGACAGAGAACTTGAATGTGTGAG
GTGACCTGATGAAAACATAGCATCTCAGAGATTTCAATGCTGTGCTTCCAAATATTG
TTGACAACTGTGACTGTACCCAAATGGAAGTAACTCATTTGTTAAATATCAAAATATCT
AATATAATGAAATAAGTGTAGTTCAACTAA

【 図 1 3 8 】

MKYTSYLLAFQCLIVLGSGLCYQDFYVKEAENLKKYFNAGHSVDVNDGLFLGLRNK
EESDRKMQSIVSFFKLFKFNFDQSIQKSVETIKEDMVKFFNSKKARDDPEKLTN
YSVTDLNVQRKAIHELIQMAELSPAARTGKRRKSCMLFKRRASQ

シグナル配列
1-20

膜貫通ドメイン
なし

N-グリコシル化部位
48-51
120-123

cAMP- 及び cGMP- 依存性プロテインキナーゼリン酸化部位
152-155
162-165

N-ミリスチル化部位
17-22
54-59

アミド化部位
149-152
160-163

IFN- γ インターフェロン γ
15-152

【 図 1 3 9 】

GCTAGACCGAGCCCTGGGGGCTACGGCTCCCCCGAAACCTGCGAGGGAGCCGGT
TTTGAGCTCAGCGCCCTAGGGGGGCCCCAGAAATCTGACTCGGAGGCGCAGAGTTG
CAGGGCTGAAATAGCAAACTAGGCTGATGAGGAAACAGACCTAGGCTCAGTCGAGTCT
TTCCTCCCAATGCGCTTTGCTCTCTACTAGTTCGCAAACTGCTCTTAAGTCTCTT
GGCAAGATGTAATTTTACCCCTGAGGGAGGTTTGAATGATGAGGATCACTTCTCT
GAGAGCTGAGCTTCCGGAGGAGTGGAGGTTGCTCACTCCGCTCACTACTCTG
CAGTAAAAGGCAAGAGAGCTGCTCTTCTTGGCCAAAGAGACTCTGTTGGCCCGA
CATCTGCGCTTTTCTCTTCAACAAGACTGGGAAAGTCTCTGGAGGATCATCTACTATA
CAAAAGGACTGCAACTACATGGGCTCGTGAAGAGGCTCTCTGGACTTAAAGCTACTATA
AGCATGCAATGAGGGGCTCTCGAGGGTATTTAACATGATGCCAAACTTACAAATTT
GAGCCCTCAAGCCCTTCCCGATTTTGAACATGCTCTACTCTCTGAGAAAGAGCAG
TTTGGGATCAGGTTTGGCTTAGTATGATGAATGAAATGCAAGTGGCAAGTGGCCCTTAT
GAGAAATAGGCGAGGCTAAAGGACTTCTCGGATCTTAAACACCCAAAGTACTTGGAA
TTGATCCTACTCTTGTCAAAATGATGATAGGTTTGTGAACAACAACTTCTCTCAAGTC
ATCCTGATGCTCCTTTTGGACTGGGATTTAGCACCTACTTTCAAGATGTTGCTATG
AGTATCCTTAAGCCCTTGAAGTATGACAGATTTTAAACAATAGCCGTTGATAT
CCAGGTTAGCTAGATTTTAGGCGATTTCTAATAATAAAGAAAGCTTAAATATCT
GGCTGTATCAGATTTGGGCACTTATTTCTTCAAGAAATAAATATGATGCTCTTGC
TGGTGTGGAAAAGTGTCTCTAGAAATAGCTGGATCAGTGAGTACTTTACTAGAT
ACAAATATCCTTGGCCCTGTAACCTGCTGCTGCTGATGAGTGGGTCAGTGTGAGGAATG
TCACATGATGAACAATAGTCCAAATGAGGGTGGCTTAATTCATCATGAGCTAGGA
CCACCTGGGTTAGCAATGAGATTAATCTCTTTTAAACAATATCTCTCGGAGCA
ACATGCTAAATATATCCAGGACTAGTATATGCTTAAAGATGTGAAAACAATAAT
GTGGAGGCAATGAGGAATGACTGCTGGTCCACAGGAGGTTCCAGAAAGATCGGTGT
TGCCAACTCAAAATGATGATGATGAGCAACAGGTCACCTGAGCATTTGGACTTTGCTGAT
GATTTGGTGGTCTCTCTGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGAT
GCGAGTCTGCGAGCGGATTCAGTCTCTGCTCAAGTGGCTTTAATAGGATGATGAG
ACCCCTTGCAGATGAGAGCGGTTGTTTCCAGGAGGGGTCAGATCCAGATATATGAG
TGCCAAAGCATTTTGGACTGATGCAATGGAGGCTCTTGTGAGTGTATGATGATGATGAT
AACTTAATAGGTGATCAATTTGGTAACTGAGGATTAAGGAATTCGAAATTTAAAGAG
TGTGAAATGCAAAATCAATATGAGGCAAGCTCAGTGTATAAATGTTGAAACATCTCT
GATTTGCGAGGATAGCATGATATATTTCTCTTTTAAAGGCAAAATCTCATGTTGC
TGGGCGCAGGCTATCATCTATCAACCAACCCATGGGAACTCTGACCTAGTATGATA
AATGATGGCACTCTCTGAGGAAAGGCGGGTATGTTTTAAAAAAATTTGCTCAATAGC
TCAGTCTGAGTGTGATGATGATTTGCTGAGGAAATGCAATCCCGGGGTTTTCGAAACAC
AGAAACTGCGCACTGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGAT
GGAGAGCATTTAGCATGGCTCCAGGACTCTGCTCAGGAGGCGGTTTCTGCTCAAT
TGGTGTGTCATCATAATGTTTGGCTTTATTTAATCTTTCAAGTGGTTTTTGGT
TTTTCCGGCAAGTATAGGAAACCACTAAAACCCAAACAGGAAAAAATGCACTATCC
AAAGAAAACTGAAACAGAAATCTAAAACAAAACTGACAGAAAGAACTTAAACA
AAACTGAGCAGSAAATCTGAGSAAACTGAGSAAATCTGAGSAAATCTGAGSAAACT
GAGSAAATCTGAGSAAACTGAGSAAACTGAGSAAATCTGAGSAAACTGAGSAAACT
AAACAAAAAAGTAAACCGGCAATCACTACTTCACTAGTAAACAGGCTCAATTTTAA
CCAGCTAATCATTATCCAAAGGCTTCCATCTTCTCCCAATATTTTTCATCTAAT
TTTTCCACAAGTTTTGATCAGCAATAAACAGCATTCTTGTTTGGAAAC
AAAAA

【 図 1 4 0 】

MRSVQIFLSOCLRLLLVPTMLLKLSDGEDIHFHPGDFDYSBVTIPEKLSFRGVEGVS
FVSYLLQLKGGKHLVLPKRLLLPRLHVFSPFBHGLLEDHPYI PKDCNMGVSKESL
DEKATSTCMGGLRVPNDIAKHVI EPLKASPSFBHVVLLKRPQFNQVGLSDBIE
WMAPIFNKARLDFPGSHPKYLELLELFDGSRIRVFNWNLQSVIHDAILLGTIMDTY
FQVPMRHLKALEWDFPKIIVGYPELAEVLRVVIKKSVMNRSSWAHLVLRK
YNDLAWSPGRVCSLEVAGSVSTLDTNLLAPATWSAHLGHVMSHDBOYCOCGRIN
CIMSGRTGFSNCSYISFPKHISGATCLNNI PGLYVLRKGNKI VEDNEBCDGGSTEB
CQKDRCCSNCKLQPGANCSIGLCHDRCFRPSPGVVCRQEGNECDLAEYCDGNSSCPND
VFKGDTPCYVGRCPFGKRSRIMQCSIFGPDAMEAPSECYDAVNLIGDQFNGCEITG
TRNFKKESANSICGRLQIMVETTPDLPEHTTITSHLQANLKWOTYHLMKPMGI
FDLGMINDGTSGBGRVCFKKNVNSVQLDCLPEKCNTRGVNRRKNCHCMYGNAPFP
CEEVYGGSIDSGPPLRGAIPSSIVWVSIIMFRLLELILSVVFPVPRQVIGNHLKPKQ
EKMPLSKAKTQBESBKTQVBEBSKTQGBESBKTQGBESBKTQGBESKANI ESKR
KAKSVKQKQK

シグナル配列
1-27

膜貫通ドメイン
688-708

N-グリコシル化部位
222-225
372-375
438-441
473-476
625-628

N-ミリスチル化部位
131-136
168-173
235-240
319-324
364-369
436-441
472-477
609-614
642-647
668-673
676-681
680-685
749-754
758-763
767-772

アミド化部位
69-72

Reprolysin ファミリーヘフチド
76-193

Reprolysin (M12B) ファミリーシグメタロフコチナーゼ
203-393

ディスイネテグリン
408-483

【 図 1 5 2 】

MLSQLAMLQSSLLVVMATMSVAQQTRQADRGCEITLVVQHSCHSYTFLLPKSEPCPPGPE
VSRDNTLRBSLAMPHLHGLKPLTQCVKQLBQALQWNTQMLKXLERAIKTLIRSKLBPVQV
QMRNQTRPMLRLELSTLNGTITQIKRLTDMELQLANQTRSRMDQMPPELPTSKLLEW
LLLOKQLQOQLQONSALFKRLQALETKQOBEELASILSKAKLINTLSRQSAALNTEREG
LRGVRRHSSLLQDQOHSRLQLLVLLHRLVQBRANASAPAFIMAGBQVDFQCBABQRSGAS
ASGVYITVQSNATKRFKVFCDLQSSRWLTLQRRRENTVNFQKRWKDYKQPGDPAGEH
WLGNEVYHQLTRRAAYSLRVELQDWSGHEAAYQVHFPHLQSENLVRLSVVGYSGSAGEH
SSVILQNTSFTLRSDINRDLCKCAQVMSGGWFDACGLSNLNGVYVYHAFNPKYKMDGTR
WHYFKGPSYLSRASRMMIRPLDI

シグナル配列
1-24

膜貫通ドメイン
なし

N-グリコシル化部位
96-99
126-129
140-143
158-161
247-250
274-277
311-314
337-340
427-430

cAMP- 及び cGMP- 依存性プロテインキナーゼリン酸化部位
147-150

N-ミリスチル化部位
193-198
243-248
298-303
326-331

フィブリノーゲンβ及びγ鎖 C末端ドメインシグネチャー
452-464

フィブリノーゲンβ及びγ鎖、C末端
287-501

【 図 1 5 3 】

AAGCCACCAGCCTATGCATCCGCTCTCAATCCTCTCTGTTGACCTGGGCTCATGG
CGCTTTTGTGACCAOAGGTCATGTCTCACTTGGCTTGGCGGCTTGTGCTCCCAAGGCC
CTGTGCTCTCCCTACAGCCCTCAGGGAGCTCATGAGGAGCTGTCCACATCACCCAGA
ACCGAGACGCTCCGCTCTCGAATGGCAGAGTGTGTATGAGAGTCACTCACTGACGCTGCA
TGACTGTGACGCTCCGGAATCCCTGATCAACGCTGCAGGCTGCAGTCCACGGAAGA
CCCAAGAGGATGCTGAGCGGATTCGCCCCGACAGAGTCTCAGCTGGGCACTTTCACGCT
TGATGTCCGAGCACCAAAATCGAGTGGCCAGTGTGTAAGGACCTGCTTTCACATTT
TAAAGAACTTTTCCGAGGGAGCTTTCACCGAACTTCGAAAGCATCTTATTTTGA
GACACGACGCTGTGACTTATGAAATTTGCGMTTCTTTTCTTTCTATGTCAAAATGTC
TTGGTAGCGGGAGGAGGGTTAGSGAGGGGTAAATTCCTTAGCTTGAAGCTCAGGCT
GTGCTGCCGCTCTCAGCCTAGCCGACTCAGCCTCCCTTCCGAGGCTCAGGCTGG
TGGCCCTCTCTGCTCCAGGGCCCTGAGCTCGGTGGAACCCAGGATGACATGCTCCCTACAC
CCCTCCCTGCGCTAGAGCACACTGTAGATTAACAGTGGTGGCCCTTCCGAGACATG
TGTGTGACAGGACCACTTTCACACAGGAACTGAGGCGAGCAGCAGCTCAGGACAC
CTTCTCTGTGCTTATTTATTTATGTGTGTTTAAATGAGTGTGTGTCACGCTTG
GGATTTGGGAGAGACTGTGGCTGTGGCACTGGAGCCAGGGTTTCAAGACTCAGGCGC
CCAGCACTAAGCAGTGGACCCAGGAGTCCCTGTGATAAAGTCTGTGACAGAACTTCT
GCTACTCAGTGGGCTCTGGGGCTCGAGGCTCATCCGAGGCTCATCCGAGGAGGAGGGG
CAGACAGCCGCTCTTCTCCACCCAGCGGAGCTCTCAGGCAACAGTAAATTTATTT
GTTTTCTCCTGATTTAAATATAAATACTTAGCAAGAGTAAATATAAGAGGATAC
CTTGAACACTGGGGAGGGGACATGAAACAAGTGTTCATTGACTCAAACTGGAAGCC
AGAAATAAAGTTGGTACAGATA

【 図 1 5 4 】

MALLLTVIALTCLGGFASPGVFPFSTALRELIIEELVNIITQNKAPLNCMSMWSINLTA
GMYCABLESINIVSGCSAIEKTRMLSGFCPHKVSAGQFSSLRVRLTKIEVAGFKDKLLL
HLKFLFRGRFN

シグナル配列
1-15

膜貫通ドメイン
なし

N-グリコシル化部位
38-41
49-52
57-60
72-75

N-ミリスチル化部位
61-66
97-102

インターロイキン4 及び13 シグネチャー
29-56

インターロイキン13
1-43

【 図 1 5 5 】

TTCCCTTATGTTGACATTTCTACTCTTCCAAAGAGCAGCAAAAGCTGAAGTAGCAG
CAACACCCACGACACAGCAAAABACAAACAGAGTGTGAAAAGGCAATGGCTATGAGCC
TTGCGCTGTGATATTGTGTGCTACAGTGTTCAGGCTTCCOCCATGTTCAAAAGAGGAGCC
TGCTTTGCATAGGCCCTGGGGTAAAAGCAGTGAAGTGGCAGATATTGAGAAAGCCTCC
ATAATGTACCAAGTAAACAACTGTGACAAATAGAAGTATTACCTGAAAAGAAAAT
AAAGGACACAGATGCTAAATCCCAATTCGAAAGCAGGAGCTTATAATCAAAAAGAT
GAAAGAAAGATTTTAAALATTTCAAAACTGAAAGTGAAGTCTGAAAGAGGCTCTGAAA
AAGCTGAAACAGTTTAACTGTGACTACGAAATGACAGAAATCTACAGTAGGAACTG
AGACTTTCTATGTTTTGTGACTTTCACTTTGTACAGTATATGGAAGATGAAAGGT
GGTGAAGAGCAAAACAGAAATCAGTCTTCTGAATGAATGACAACTCAGAATTTCCA
CTGCCAAAGGAGCTCAGCAATTAAGTAGGATTTCTAGGAAAGCTACTTATGAAAGGGCT
GTTTACCATGGAATTTCAAAAGCTTTCAGCTTCTTACTTTGTATTTATACATTTCA
GCATTTCTAGSCTAGAGACCTTCTAGATTTGATGCTTACAACTATCTGTGTGACTAT
GAGAACATTTCTGTCTGAGAGATTTCTGTCTGTATTTATGCTATATTTACTAT
CTGTGGTTACAGTGGAGACTTGACATTTACTGGAGTCAAGCCCTTATAATCAAAAG
CATCTMTGTGTGTAAGCATTTCTCAACATTTTCTATGCAATACACATTTCTTCC
CCAAATTCATGAGCACATCAATTTGAGGAAACATTTCTATGCAATTTGTGTGT
TTTTAACAATTTCAATAAGTAAATCAAAAGTACTATGAAAAAATTTATAGCTTA
TGGGATCTGGCAACAGTGCAGATTTCTATAACAAATAGCAGCACGGTCTTAATTT
GATGTTTTCAACTTTTATTCATTGAGATGTTTTGAAGCAATTAGGATATGTGTTTTAC
TGTACTTTTTGTTTTGTTCGTTTGTATAAATGATAGCAATCTTTGGACACTTTGAAA
TACAAAATGTTTTGTCTACCAAAAGAAAATTTGAAAATAGCAAAATGATACCTAGC
ATCCCTTTGTGTTTTGGAATTTCTGCTGTTGAAAATACAAATCTATGATCTTTCT
TGTTCATGCTATATACTGTAATTTTAGTATACTCAAGACTAGTTTAAAGATCAAA
GTCATTTTTTCTATAAACTACCAACCCCTTCTTTTTTAAAAA

【 図 1 5 6 】

MSVKGMIALAVILCATVVGPFMFGRKRCICIGPVKAVKVDIEKASIMYPSNDCDI
EVIITLKENKGRCLNPKSKQARLIIKKVERKNF

シグナル配列
1-21

膜貫通ドメイン
なし

N-ミリスチル化部位
5-10

小サイトカイン (intecrine/ケモカイン)
22-89

【 図 1 5 7 】

GGACCAGGCTCCCTCCGTCGATCCACTCGGCTGGGAGGTTCTGATTTTGGCTGTGGA
GGGATTTCCCTGCTCTCCAGAGAAAGAGTCAAGAGGCCCCCTGTGAGTCTGCTTCT
CTGGAAAGCCCTACTTCCATTAAGTACTGTGGTGGCCAGGCTCAGCAAGTCTGGGG
CTGGTCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG
ATCTCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG
GTACATTTCCGCTTCTGGGCGGAGCCAGCTCACAGCAACTCAGCTGGGAGCTTGG
GCCTGGAGTCTGGAGCAGCGGCAACTTCTCCGTTGATGTTGACAAAGGGGCCA
CCCTGGACCCGAGCCTCCAGCTCAAGGTTGACGATGAGTGGCCAGGCTGGTGTGAC
AGTGTCTGCTGTTGAAAGAGTCTGCTGAGCCCTCAGAGCCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG
CTGTGGGCCCCCACTAGCAGAAATAACTATAGCTGGGCAAGGAGCAACCAATGGA
CTTTGGTATGAAACACACAGCCTTTCACAGAGGAGGAGTGTGAGCATTTCCGCGG
ACCAGGAGACAGAGATGTGGCTATTCTCCATTTGCTTCCAACTTGTGCTGAGGACT
GGCCACAGTCAAGCCCTGGGATAGCTGTGATCATGAGGAGCAGCAGGAGAGGCTCTTA
CAAGATITGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG
CTCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG
AGTGGTCTCAGAGACAGGAGACCCCTTGGCAGGATCTCCAGGATCCAGATCCAGGACTA
TGATGCTGACTATCAGTAAACCCACTGCAACAGGACACAGTACTCTGGGACATACTG
GTGCTGGAAATCAGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG
AGCAGCTTGGCAGCAGTACAGCACAGGAGCAGGAGCAGGAGCAGGAGTGTGAGCCTCC
CCCTTCCCTCTCCCACTTCTCATATCTGCTGCTTCTGCTGGGCAAGATGAGCCAAAG
AACATTCATCCAGGACACTGGAGTCTCCAGGATCCAGATCCAGGACTTATAGT
TCCAGGACTTCCCTCCCACTTCTCATAAAGATTAACCACTGGCAGCAGGAGGAA
TGGCTCCAGCTGAGTCTGAGCTTAAAGATTAAGATTAAGATTAAGATTAAGATTAAGAT
CTCCCTCAGCAGCAGTACAGTCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG
GCTCCTGAGGAGCAGGAGTGTGCTGAAAGAGGCTCAGAAATAGGTAAGAGGAGGAG
GTGGGGGACAGGGGTTCTCTTCTGGCTAAGGATCTCAGGTAATCAGGATCTGCTG
CCCTCAAGGTAAATGAGTGTGAGACAGGAGGATGTTGACAAACCAATGTTGAGAT
GGGACAGTTTTGCGGAAACACCATTAATAAGATCTCCACTTCCATCCGCTCTC
CACCTCTGCAAGATTTGGGAGTGGGAGGAGTGTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG
TGGCCAGGAAAGAAATCAAGATTTGGCCAGCAACAGGAGCTTCTGCAACACTCA
AGAAAGCAGCTCAGCTCAGGATGAGTCTTCTGCTGAAATGAGAGAGTATGAGATCT
TAAACGCTTAGCAGAGGAACTTATGAGAGAAAGGATCTGAGGCACTTGAATCT
GCCACTTCAITTTCAAAATGCAAAATGCAAGAGCTTACTTAAATGAGATCTCAGGAGGAGG
AGCAGCCACAGCAGCAGGAGGAGTGTGAGGAGTCTGAGTCTCAGTCTCACTCACTTTTA
TTGGGCACTTAGGAAATACATTTGCTCCCTGAAATGATTTGCTAGAAAGGCTGCTG
GAGTATTGATCACTAGGAAACACTTAAAGGAGTAAACTTACTTCCGAGATTTATA
GCTGATAAGGTTTCAAGTTTCTCTCAGCAGGTTAACTGGATTTTCTGGGCTCAA
TCCAGTCTTGTATACAGGAGGAGGAGGATTTGAAAGAAACAGGAGTGTGAAAGTAC
TTTTTCCAGGAGTGTCTCAATCTGCCACTGAGATGAGTCTGAGAGGAGCT
TCCCTTCTCCOCCAGTCCCTGGGCAATCACTTCCCTGGACAAAGGATCAGCAG
CTGGCTCCAGATCCACATCACACTTCCCTGAGTGTTCAGGATCTCCCTGCTGCT
GGCTGTCCAGAGGTTCCCTGTTGGTAACTGGCTTTATCAATTTCTCATCCCTTCCCA
CAGCCACTTCTCTCTTACCTTCCCAAGATTTACGAAAGGAGTCCATGGCCACTT
AACCTTCTGCTTGGAGTCTCCCACTGGCTGAGTCTGAGTCTCAGTCTCACTTCTT
TGAATCATGAAATAGGCTCAGTCCCTAAATGATGTGAAAGGAAAGCCAGGATC
TGCAATGAGCCCTGGGATTTGGGGGAAAAAATCACAGCACTCCCCACTTCTTT
CGTTCATCTCCAGGCCCCACTCAGTAAAGGAGCTCTGGATGAGATGGGACTCGAG
CTCTCCCTCAGCAGGAGTCTTGAAGACCTCATTTGAGAGTGTGTGAGGCTGGG
CAGCGGCTCTGCAAGTCTGCAAGTCTGCAAGTCTGCAAGTCTGCAAGTCTGCAAGTCTG
CACTTGTCACTAGTGAATTAACCTCCCAAAAACACAAAGTGTCTGTGA
GACCAATTTGGTGAATGAGCATTGAGACTGCTGCTTGTGAAGTCAACACAAAT
ATTGATGAGGCGCTGATGCTGGGTACATTTCTGGCACTGGGAATCAGTAGTCA
AGGAAACCTTGGCTTGGAGGTTTATGCTGGATATAAATAAACAAGTAGGAT
AAAAAAAAAAAAAAAA

【図 158】

MVMPLWLSLLLEALLPITVIGAVQLSKVGGVLLVAARFPFGVREAIMRSLWSPSEELL
ATFFRSLLETLVHRSPLGRAQLHNSLSLLELPLESDGSGNFSVLMVDTRQOPWQTTLQK
VYDAVFRPVVQVFAVBERDAQPSKTCQVFLSCWAPNISEITYSWRRETTMDPFGMEFHSLF
TQVQLSISLIGQEDRVAISCYGNVPSWDLATVFPDSCHHAARFGKASVKVLLVAVFV
VSLLLMLVTLPSAWHSCPCSGKXKVDHADRVPGETENPLVQDLP

シグナル配列
1-22

膜貫通ドメイン

233-253

N-グリコシル化部位
85-88
100-103
156-159

cAMP- 及び cGMP- 依存性プロテインキナーゼリン酸化部位
165-168

チロシンキナーゼリン酸化部位
65-72

N-ミリスチル化部位
66-71
110-115
183-188

アミド化部位
260-263

イムノグロブリンドメイン
145-203

【図 159】

GAATTCGTGTCGGCACTACCCTCCGGCCCGCCGAGCGAGGCTTCCTGGCCGCGCT
TGGCCCGGCAACGAGGAGGTTCCGGGCGCTCCATCTTGCCATCCCTCCGAGAGAAATACC
AGATCCCTCCGAGCTGAGGCTGAGGCGGCTCCGCTGGCGGCTCCCTCCGCTCCCTTCC
CCGCGCTCGGCGTAGAGCTATCACTGAGGCAAGGGAAGAAGCCAAAGCTTACCCTGAT
TCCCGGGACCTTTCCAGGGGAGCTGCAAACTGACCAACACCCGCTGTTATCCCTTCCTC
AGCGCATGGGTACACAGCTCCCTTGATTTTTACCCACCCAGCCCTGGAGAACACACATA
CGGAAACGTGGCGATCCGCCAGGTGACCTCTCGAATCAAAAGCCCTGACCGCCCTTGC
CCTTCAAAGCTTGGAGCAATATACTTCTGAACTAAAGGTGTCAATTTAATTT
GCTCAATCAATGTACTAATAATACACAGGACACCAAAATTTCTGGTGGAGAGATGGGA
AGGAATTCCTGGGGGACATCATCGAATACACAGTTTTATCCAGATGATGAAGTTACAG
CAATAATCGCTTCTCAGCATAAACAGTGTGCGGCTTCAGCAATGGTGTGATATCT
GTAGATGAAATAAACATGAAAGATGCTGCTGATCCCTCACTCACTGAAATCAAG
GACTCTCACTTTCAGGAGCTCGAGAGATGATGTCCAGAAACAGAGCTTCA
ACCTCACTGTGAGGCTGTGGGCCCGCTGAGCCGCTCAACATTTCTGGT2255ACA
GTAGCCGTGTAAACGAACGCTGAAAAATCCCCCGCGCTCACTGTTCCAGGCTGGA
CGAGATGGCGCTTTTCAAGTTGTAGGCCAACATGCAAAAGGCTGACCGGTGCCAGG
GATTCAGATCAAGATCAAGCAAAATCCCTCCCACTGAGTGCAGATCCCTAACA
CGACTGCACACAGCATCTGATCTCCGCGCTCCGCTTTTGTGTGATATCCCGCTTCA
GGAATTCGAGCATTGAGTCAAGCAAGAGCTGATCCGCTGGTAAATGGCTCAAGTATT
TTAACACCTTCGCTTACCACTCTGTACCAAAATCAAGCAGCTGCAAGCCCTGGCTAATT
ACAGCATGGTGTTCCTGCATGAATGAATAGGCTGGTCTGAGTGGCCCTTCCGATGTC
TAGCAAGACGACTGAGGAGCCCTCACTGAGCAGCTTAAATGTGCTGTGTTCTGA
ATGAATCTAGTAAATGTGGACATCAGATGATGAAGCTCCGACTCAACAGCAGGATG
GAGAACTGTGGCTACCCGATATCCCAAGTGTGGTGAATATGCTCCCTTCACTCCG
TCTTGGAGGAGTTGGCCAGAAATGGCAGAGCTGAGCTCGGATCTCTGTTCAAGTCCCAATG
CTACGTGCACAGTGGAGTTGACGCTGACAGCCCTGACAGAGGAGGAGTGGGCTTCAGTATGTC
CAGTGAATAATTTTCCCTCCAGCGTGGTGAATATGCTCCCTTCACTCCGCTTCCG
CGCTGCCAAGCAGATCCCTGTCTCATCATCTTTGGCTGCTTTTGTGATTTATTTGA
TTGGGTTGATTTATACATCTCCTTGGCCATCAGAAAGAGTCCAGGAAAGAAATCTT
GAAATGCAATCACAGAGGAGGATCTGAAATAGTGTGAATATATAGCAAAAGAAATCTT
CTGTCCGCGAGCATTGAGCTTACCTTACATAGCTTGGAGTCACTGAGGAGTACAAA
ATAACTGAGAGTGTGGTGTGACAGGATCTTCAATTTCTGGAAATTTCTGGT
AAGGAGAGTTGGGCTGTAAATGAAGAAATCTTAAAGCAGAGATGGGACCTCTTGA
AAGTGCAGTGAAGCCTAAGATTGGCAACTCTTCACTCGGAGATCCAGGAGATTTC
TCAGTGAAGCAGCCTGCATGAAAGACTTCAAGCCCAAAATGTCACTTCTAGGTG
TGATATGAAATGAGCTCTCAAGGCACTCCAAAGCCCAAGTGTGATTTTCCCTTCACTG
AATCCAGGACCTGCATGATGCTGATTTCCCTTCCAGTGAAGCAGCAAGCTGATG
TCTCTGCAGACACTATTGAGTTCATGTTGATGATTTCCCTGGGAATGGAGATCTGGA
GCAACAGGAAATTTCTTCACTGAGATTAGCTGCTGAAACTGATGAAATGATGAC
TGACTCTCTGTGGGACTTCGCGCTCTCTAAAGAAATTTACAGTGGCGATATTACC
GCCAAGGCCATTGCTAAGATGCTGTTAAATGATGCGCATGAAAGCTTCTGAGATG
GCTTCAACAGAGTGAAGTGTGATTTCCCTTCCAGTGGAGCAGCAAGCTGATG
CGCGGGAAATGACTCCCTATCTGGGCTCCAGAACCAATGAGATGATGACTATCTTCC
ATGGCCACAGTGTGAAGCAGCCGAAAGACTGCTGGTGAAGTGTATGAAATGATGACT
CTGTGAGAACCCGATCCCTTAGACCCCGCCACTTTTCAAGTATTAGGCTGCGAGTAG
AAAACCTTTAGAAAGTTTGCCTGACCTTCGAGACCAAGCAGACGTTATTTACCTGATG
CAGCTGTCTGGAGGCTCTGAGGCTGCGCCGAGCCGCTTCCCTGCTCCCTGAGATG
TGAACATGACCCCTGACTATAATATGCTCCTGACTCCCGCTGCCATCAGTGTGG
TCACAGCAGAAGTTTATGACAGCAAACTCATGAAGGAGCTACATCTGAATGGGGCA
GTGGAAGTGGAAAGTCTGACTTCTGCGCCCTCTGCTGAGTCAAGCTGAAAAGAACAT
GTTTATACCGGGGAGAGACTTGTAGAAATGGGCTTCCCTGCTCCCTGAGATG
CCCTCTTGGAAATGAACTTTCTTCACTTATCTGCACTTCAATTTCACTTAACTT
CAGAACTCCTGATGAGGAGGAGTGGCGGGAGACATCCAAAAATCAAGCCAAATCTTCT
TGCTGTAGGAGAAATCCAAATGACTGATGTTTTTGTGATTTGCTTCTTACCAAGTGA
ACTCCATGGCCCAAGCAGATGAAATGTTGTAAAGGAGTGTGATTAATAATACAT
AATATATATTAAAGAGAAATAATGTATATCATGAAAGAGCAAGGATATT
TAATAAAGCACTTTTCACTTATCTGCACTTCAATTTCACTTAACTTAACTT
TGCTCCTGATTAACCTTTGTACAGAGTTGAGTGTGTTTTTCAACTTTCTTTT
TCATTACTAATAAATGAAAAATTTGTAAAAATGAATGCCAATTTGACTTGGCTTCT
GGCTGTGATTTGATAAGAAATGATTAATTTTCTGATGCTTCCATAAATAAATGG
AAATAGGA

【図 160 A】

MGPAPLPLLLGLFLPALMRRRAITEARBEAKPYPLFPFGFPGSLQTDHTELLSLPHASGYO
PALMPSPTQGRPHTEGNVAIPQVTSVSEKPLPPLAPKHTVGHILSEHGKGVKFNCSINVP
NIYQDTTISWMDKSELGQHHRITQVYPDDEVTAIASPSTISVQRSDNGSYICKMKIN
NEEIVSDPYYEVQGLRPHFKQFESMNTVNTAFTNLTQAVGPPPEVNIIPWQNSRNVN
QPKKSPVITVPLTEMAVFSCEAHNKLTVSGGQINIKIIPSPVETSRMSYHNSI
LISWVPGFDGYSFPFNCSIQVKEADPLNGSVMIFNLSALPHLQIKQLQALANYSIGVS
CMNEIGNSAVSPWILASTTEGAFVAPLNVTVPLNESSDNVDIWMKPTKQDQDELVOY
RISHVQWSAGISKEELLEVOGNSRARIISVQVHNATCTVRIAATVTRGGVGFSDPVKIFI
PAHGWDVYAPSTPAPGNADPVLIIFGCFPGFILGLILYISLAIRKRVQETKFGNAFTB
EDESILVWYIARKSPCRRAIEHLHLSLGVRELNKLEEDVWIDRNLLILKILGSGEFGS
VMECNLQKRDQDLSLKVAKTKMLDNSHRRIEFLSEAAKMKDFSHPNVIRLLGVCTEMS
SQGIKPKMVLIPFMKYGDHLTYLLYSRLTGPKHIPLOTLKFMVDIALGMEVLSNRNPL
HRLAARNMCLRDMDTVYVADFGLSKIKIYSGDYRQRRIKMPYKVIASLESADRVTYTSK
SDVWAFQVWMEIRTRGMIFVQVONHEMYDILLRHLRQPELCLDELVEIMYSWRTD
PLDRFETSVVRLQLEKLESLIPDRVGRADIVYVNTOLLESSSGLAQPTLFLDLMDIPD
SIIASCTPRAAISVVTAEVHDSKPHGRIYILNGGSEWEDLTSAPSAAVTAEKNSMLPGR
RLVRNGVSWSHSMLPLGSSLPDELLFADDSSESGSEVL

シグナル配列
1-18

膜貫通ドメイン
503-523

N-グリコシル化部位
114-117
170-173
207-210
215-218
234-237
294-297
316-319
329-332
336-339
354-357
389-392
395-398
442-445
454-457
625-628

チロシンキナーゼリン酸化部位
675-682
865-872
923-929

N-ミリスチル化部位
41-46
110-115
171-176
269-274
275-280
440-445
507-512
535-540
966-971

チロシンプロテインキナーゼ特異的活性化部位シグネチャー
719-731

プロテインキナーゼドメイン
587-854

【図 160 B】

イムノグロブリンドメイン
108-177
211-264
フィブロネクチン III ドメイン
284-368
383-473

【図 161】

TACTGATGGGGTGAAGGGAATGCTGGTGAATTTCAATTTGAGGTGTGGGTTGCGTTA
GTCACTTGTCCTTGCCATGGCCAAAGCAACAGCAATCTTCCCTCACAAAAGTGTPTAC
CCAGGGGAAACATTGCCAAGCTGTTGACGCTCTTATATCAAAGCAGCATGGCTCAA
GCAACGATTCAGAGACCCGATAAAATAATACGATTTAAAAAAGAAAACAAAAG
CAGTATTGAAAACCTGTCAATTTCAAGAACAGCTTCTGCTTCTTCAAGGAAGCTT
TTTTGTCAAGCTCAATTCAGAGCTGAGAAATAGCTTTGTGGAGGCTTCTGTATG
CTTAGCCAGAAATGAGCCACTGATTTCTGCTGCTCATGCTGAGAGATGAAATCC
ATTACAGGATGAAAAGAAATTTTATAGGATTTGAAAACAAAGGAATTCAGAACCCAT
AGTGAACCTGATATCTTCTTCTTCCGATTAATAAATAATTTGGAAGCAGTCAAGGGCGC
GCCCATCACCATCACCATCAGTTA

【図 162】

MLVNFILRCGLLVLVLSLAIAKHKQSFYKSCYFRGTLSSQVDALYIAAWLKATIPEDR
IKMIRLLKXKTKPKMNCQDOLLFFMEVDLQQLQCKIKIIFVDFHSIRKLSH
CISCRASSAREMKSTIRMKRIFPIKNGKIYKAISELDDLMSWIKLLESQGRHHHHHHH

シグナル配列
1-21

膜貫通ドメイン
なし

cAMP- 及び cGMP- 依存性プロテインキナーゼリン酸化部位
68-71

N-ミリスチル化部位
148-153

インターロイキン10
5-169

【配列表】

2013140167000001.app

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I		テーマコード(参考)
C 1 2 N 15/09	(2006.01)	G 0 1 N 33/53	Y	
		G 0 1 N 33/48	P	
		C 1 2 N 15/00	A	

(72)発明者 ガーニー, オースティン エル.

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 0 2, ベルモント, デビー レーン 1

Fターム(参考) 2G045 AA25 CB01 DA14 DA36 FB01 FB02 FB03
4B024 AA11 CA01 CA12 CA20 HA08 HA12 HA15
4B063 QA01 QA19 QQ52 QQ79 QR08 QR48 QR62 QS25 QS33 QS34
QS36 QX02

【外国語明細書】

2013140167000001.pdf

2013140167000002.pdf

2013140167000003.pdf

2013140167000004.pdf

专利名称(译)	用于诊断和治疗炎性肠病的组合物和方法		
公开(公告)号	JP2013140167A	公开(公告)日	2013-07-18
申请号	JP2013027902	申请日	2013-02-15
[标]申请(专利权)人(译)	健泰科生物技术公司		
申请(专利权)人(译)	Genentech公司		
[标]发明人	ゴダードオードリー ガーニーオースティンエル		
发明人	ゴダード, オードリー ガーニー, オースティン エル.		
IPC分类号	G01N33/68 C12Q1/68 G01N33/50 G01N33/53 G01N33/48 C12N15/09 A61K A61K38/00 A61K38/17 A61K39/395 A61P1/04 C07H21/04 C07K14/47 C07K16/18 C07K19/00 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C12N9/00 C12N15/12 C12N15/13 C12P21/02 C12P21/08		
CPC分类号	A61K47/6843 A61K51/1018 A61P1/00 A61P1/04 A61P29/00 C07K14/4713 C12Q1/6883 C12Q2600 /136 C12Q2600/158 G01N2800/065 A61K51/1027 C07K14/705 C07K16/28 C12Q1/6876 G01N33/53		
FI分类号	G01N33/68.ZNA C12Q1/68.A G01N33/50.P G01N33/53.D G01N33/53.M G01N33/53.Y G01N33/48.P C12N15/00.A C12Q1/6876.C C12Q1/6876.Z C12Q1/6883.C C12Q1/6883.Z		
F-TERM分类号	2G045/AA25 2G045/CB01 2G045/DA14 2G045/DA36 2G045/FB01 2G045/FB02 2G045/FB03 4B024 /AA11 4B024/CA01 4B024/CA12 4B024/CA20 4B024/HA08 4B024/HA12 4B024/HA15 4B063/QA01 4B063/QA19 4B063/QQ52 4B063/QQ79 4B063/QR08 4B063/QR48 4B063/QR62 4B063/QS25 4B063 /QS33 4B063/QS34 4B063/QS36 4B063/QX02		
优先权	60/340083 2001-10-19 US		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明涉及用于诊断和治疗哺乳动物炎性肠病的物质组合物，以及使用这些物质组合物的方法。