

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公表特許公報 (A) (11)特許出願公表番号

特表2002 - 542774

(P2002 - 542774A)

(43)公表日 平成14年12月17日(2002.12.17)

(51) Int.Cl ⁷	識別記号	F I	テ-マコード (参考)
C 1 2 N 15/09		A 0 1 K 67/027	2 G 0 4 5
A 0 1 K 67/027		C 0 7 K 16/18	4 B 0 2 4
C 0 7 K 16/18		19/00 ZNA	4 B 0 6 4
19/00	ZNA	C 1 2 N 1/15	4 B 0 6 5
C 1 2 N 1/15		1/19	4 H 0 4 5

審査請求 未請求 予備審査請求 (全106数) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2000 - 614029(P2000 - 614029)

(86)(22)出願日 平成12年4月21日(2000.4.21)

(85)翻訳文提出日 平成13年10月22日(2001.10.22)

(86)国際出願番号 PCT/US00/10651

(87)国際公開番号 W000/65340

(87)国際公開日 平成12年11月2日(2000.11.2)

(31)優先権主張番号 60/130,389

(32)優先日 平成11年4月22日(1999.4.22)

(33)優先権主張国 米国(US)

(31)優先権主張番号 60/140,693

(32)優先日 平成11年6月24日(1999.6.24)

(33)優先権主張国 米国(US)

(71)出願人 ミリアド・ジェネティックス・インコーポ
レイテッド

アメリカ合衆国84108ユタ州ソルト・レイク
・シティ、ワカラ・ウェイ320番

(72)発明者 カレン・ハイチマン

アメリカ合衆国84102ユタ州ソルト・レイク
・シティ、サウス・1200・イースト173番

(72)発明者 ポール・エル・バーテル

アメリカ合衆国84105ユタ州ソルト・レイク
・シティ、ケンジントン・アベニュー1461
番

(74)代理人 弁理士 青山 葆 (外 1 名)

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 タンパク質 - タンパク質相互作用

(57)【要約】

本発明は、生理学的な障害または疾患を含む、哺乳動物の生理学的な経路に関する新規なタンパク質 - タンパク質相互作用の発見に関する。生理学的な障害および疾患の例には、非インスリン依存性真性糖尿病 (N I D D M)、アルツハイマー病 (A D) のごとき神経変性疾患等が含まれる。かくして、本発明は、これらのタンパク質および/またはそれらのフラグメントの複合体、該複合体に対する抗体、(疾患への素因の診断および該疾患の存在の診断を含む) 生理学的に発生する疾患の診断、本明細書に記載するタンパク質の相互作用を調節する剤についての薬剤スクリーニング、ならびに本明細書に記載するタンパク質に共通の経路におけるさらなるタンパク質の同定に指向される。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 2つのタンパク質を含む単離されたタンパク質複合体であつて、

- (a) 表1に記載された複合体：
- (b) 表2に記載された複合体：
- (c) 表3に記載された複合体：
- (d) 表4に記載された複合体：
- (e) 表5に記載された複合体：
- (f) 表6に記載された複合体：
- (g) 表7に記載された複合体：
- (h) 表8に記載された複合体：
- (i) 表9に記載された複合体：
- (j) 表10に記載された複合体：
- (k) 表11に記載された複合体：
- (l) 表12に記載された複合体：
- (m) 表13に記載された複合体：
- (n) 表14に記載された複合体：
- (o) 表15に記載された複合体：
- (p) 表16に記載された複合体：
- (q) 表17に記載された複合体：
- (r) 表18に記載された複合体：
- (s) 表19に記載された複合体：
- (t) 表20に記載された複合体：
- (u) 表21に記載された複合体：
- (v) 表22に記載された複合体：
- (w) 表23に記載された複合体：
- (x) 表24に記載された複合体：
- (y) 表25に記載された複合体：
- (z) 表26に記載された複合体：

- (a a) 表 2 7 に記載された複合体 :
- (a b) 表 2 8 に記載された複合体 :
- (a c) 表 2 9 に記載された複合体 :
- (a d) 表 3 0 に記載された複合体 :
- (a e) 表 3 1 に記載された複合体 :
- (a f) 表 3 2 に記載された複合体 :
- (a g) 表 3 3 に記載された複合体 :
- (a h) 表 3 4 に記載された複合体 :
- (a i) 表 3 5 に記載された複合体 :
- (a j) 表 3 6 に記載された複合体 :
- (a k) 表 3 7 に記載された複合体 :
- (a l) 表 3 8 に記載された複合体 :
- (a m) 表 3 9 に記載された複合体 :
- (a n) 表 4 0 に記載された複合体 :
- (a o) 表 4 1 に記載された複合体 :
- (a p) 表 4 2 に記載された複合体 :
- (a q) 表 4 3 に記載された複合体 :
- (a r) 表 4 4 に記載された複合体 :
- (a s) 表 4 5 に記載された複合体 :
- (a t) 表 4 6 に記載された複合体 :
- (a u) 表 4 7 に記載された複合体 :
- (a v) 表 4 8 に記載された複合体 :
- (a w) 表 4 9 に記載された複合体 :
- (a x) 表 5 0 に記載された複合体 :
- (a y) 表 5 1 に記載された複合体 :
- (a z) 表 5 2 に記載された複合体 :
- (b a) 表 5 3 に記載された複合体 :
- (b b) 表 5 4 に記載された複合体 :
- (b c) 表 5 5 に記載された複合体 :

- (b d) 表 5 6 に記載された複合体 :
- (b e) 表 5 7 に記載された複合体 :
- (b f) 表 5 8 に記載された複合体 :
- (b g) 表 5 9 に記載された複合体 :
- (b h) 表 6 0 に記載された複合体 :
- (b i) 表 6 1 に記載された複合体 :
- (b j) 表 6 2 に記載された複合体 :
- (b k) 表 6 3 に記載された複合体 :
- (b l) 表 6 4 に記載された複合体 :
- (b m) 表 6 5 に記載された複合体 :
- (b n) 表 6 6 に記載された複合体 :
- (b o) 表 6 7 に記載された複合体 :
- (b p) 表 6 8 に記載された複合体 :
- (b q) 表 6 9 に記載された複合体 :
- (b r) 表 7 0 に記載された複合体 :
- (b s) 表 7 1 に記載された複合体 :
- (b t) 表 7 2 に記載された複合体 : および
- (b u) 表 7 3 に記載された複合体

よりなる群から選択される該タンパク質複合体。

【請求項 2】 該タンパク質複合体が完全なタンパク質を含む請求項 1 記載のタンパク質複合体。

【請求項 3】 該タンパク質複合体が 1 つのタンパク質の断片およびもう 1 つのタンパク質の完全なタンパク質を含む請求項 1 記載のタンパク質複合体。

【請求項 4】 該タンパク質複合体がタンパク質の断片を含む請求項 1 記載のタンパク質複合体。

【請求項 5】 請求項 1 記載のタンパク質複合体と選択的に免疫反応性である単離された抗体。

【請求項 6】 該抗体がモノクローナル抗体である請求項 5 記載の抗体。

【請求項 7】 (a) 表 1 - 7 3 のうちの 1 つに記載されたタンパク質複合

体が組織抽出物に存在するか否か；

(b) 表1-73のうちのいずれか1つに記載されたタンパク質複合体を形成するタンパク質の能力；および

(c) 表1-73のうちのいずれか1つに記載されたタンパク質複合体のタンパク質をコードする遺伝子中の突然変異；

につきアッセイすることを特徴とする動物において生理学的障害を診断する方法。

【請求項8】 該動物がヒトである請求項7記載の方法。

【請求項9】 該診断が該生理学的障害に対する素因についてのものである請求項7記載の方法。

【請求項10】 該診断が該生理学的障害の存在についてのものである請求項7記載の方法。

【請求項11】 該アッセイが酵母2-ハイブリッドアッセイを含む請求項7記載の方法。

【請求項12】 該アッセイが、タンパク質複合体のタンパク質を合わせることによって形成された複合体をイン・ビトロで測定することを含み、該タンパク質が該動物から単離されたものである請求項7記載の方法。

【請求項13】 該複合体が該複合体に特異的な抗体と結合させることによって測定される請求項12記載の方法。

【請求項14】 該アッセイが、該タンパク質複合体に特異的な抗体を該動物からの組織抽出物と混合し、該抗体の結合を測定することを含む請求項7記載の方法。

【請求項15】 当該タンパク質複合体の他のタンパク質とで複合体を形成する当該突然変異を持つタンパク質の能力につきアッセイすることを含み、ここに、該複合体を形成できないことは、生理学的障害を診断するのに該突然変異が有用であることを示すことを特徴とする、表1-73のうちの1つに記載されたタンパク質複合体のタンパク質のうちの1つをコードする遺伝子中の突然変異が生理学的障害を診断するのに有用であるか否かを判定する方法。

【請求項16】 該遺伝子が動物遺伝子である請求項15記載の方法。

【請求項17】 該動物がヒトである請求項16記載の方法。

【請求項18】 該診断が生理学的障害に対する素因についてのものである請求項15記載の方法。

【請求項19】 該診断が生理学的障害の存在についてのものである請求項15記載の方法。

【請求項20】 該アッセイが酵母2-ハイブリッドアッセイを含む請求項15記載の方法。

【請求項21】 該アッセイが、タンパク質複合体のタンパク質を合わせることによって形成された複合体をイン・ビトロで測定することを含み、該タンパク質は動物から単離されたものである請求項15記載の方法。

【請求項22】 該動物がヒトである請求項21記載の方法。

【請求項23】 該複合体が、該複合体に特異的な抗体と結合させることによって測定される請求項21記載の方法。

【請求項24】 (a) 薬物の存在下で当該タンパク質複合体のタンパク質を合わせて第1の複合体を形成させ；

(b) 該薬物の不存在下でタンパク質を合わせて第2の複合体を形成させ；

(c) 該第1の複合体および第2の複合体の量を測定し；次いで、

(d) 該第1の複合体の量を該第2の複合体の量と比較する；

ことを含み、ここに、もし該第1の複合体の量が該第2の複合体の量より大であるかまたは小であれば、該薬物は該タンパク質複合体のタンパク質の相互作用を変調する薬物候補であることを特徴とする、表1-73のいずれか1つに記載されたタンパク質複合体のタンパク質の相互作用を変調できる薬物候補につきスクリーニングする方法。

【請求項25】 該スクリーニングがイン・ビトロスクリーニングである請求項24記載の方法。

【請求項26】 該複合体が、該タンパク質複合体に特異的な抗体と結合させることによって測定される請求項24記載の方法。

【請求項27】 もし該第1の複合体の量が該第2の複合体の量よりも大であれば、該薬物は該タンパク質の相互作用を促進する薬物候補である請求項24

記載の方法。

【請求項28】 もし該第1の複合体の量が該第2の複合体の量よりも小であれば、該薬物は該タンパク質の相互作用を阻害する薬物候補である請求項24記載の方法。

【請求項29】 生理学的障害についての非 - ヒト動物モデルであって、該動物またはその先祖のゲノムが、表1 - 73のいずれか1つに記載されたタンパク質複合体の形成が改変されてしまったように修飾された該モデル。

【請求項30】 該タンパク質複合体の形成が：

- (a) 該タンパク質複合体のタンパク質の少なくとも1つの過剰発現；
 - (b) 該タンパク質複合体のタンパク質の少なくとも1つについての遺伝子の、第2の動物からの遺伝子との置換および該タンパク質の発現；
 - (c) 該タンパク質複合体のタンパク質の少なくとも1つの突然変異形態の発現；
 - (d) 該タンパク質複合体のタンパク質の少なくとも1つの発現の欠如；または
 - (e) 該タンパク質複合体のタンパク質の少なくとも1つの減少した発現；
- の結果として改変されたものである請求項29記載の非 - ヒト動物モデル。

【請求項31】 請求項29記載の動物モデルから得られた細胞系。

【請求項32】 生理学的障害についての非 - ヒト動物モデルであって、表1 - 73のいずれか1に記載されたタンパク質複合体の生物学的活性が改変されている該モデル。

【請求項33】 該生物学的活性が、

- (a) 該複合体の形成の破壊；または
 - (b) 該複合体の作用の破壊；
- の結果として改変されている請求項32記載の非 - ヒト動物モデル。

【請求項34】 該複合体の形成が、該タンパク質複合体を形成するタンパク質の少なくとも1つに抗体を結合させることによって破壊される請求項32記載の非 - ヒト動物モデル。

【請求項35】 該複合体の作用が、抗体を該複合体に結合させることによ

って破壊される請求項32記載の非 - ヒト動物モデル。

【請求項36】 該複合体の形成が、該タンパク質複合体を形成するタンパク質の少なくとも1つに小さな分子を結合させることによって破壊される請求項32記載の非 - ヒト動物モデル。

【請求項37】 該複合体の作用が、該複合体に小さな分子を結合させることによって破壊される請求項32記載の非 - ヒト動物モデル。

【請求項38】 当該細胞系の細胞のゲノムが、表1-73のうちのいずれか1つに記載された少なくとも1つのタンパク質複合体を生産するように修飾されている細胞。

【請求項39】 当該細胞系の細胞のゲノムが、表1-73のいずれか1つに記載されたタンパク質複合体の少なくとも1つのタンパク質を排除するように修飾されている細胞系。

【請求項40】 (a) 薬物の存在下で、表1-73に記載されたタンパク質から選択されたタンパク質の活性を測定し、

(b) 該薬物の存在下で該タンパク質の活性を測定し、次いで、

(c) 工程(1)および(2)で測定された活性を比較する；

工程を含み、もし、活性に差があれば、該薬物は当該生理学的障害を治療する薬物候補であることを特徴とする、生理学的障害を治療するのに有用な薬物候補につきスクリーニングする方法。

【請求項41】 配列番号：4、6、8に記載されたアミノ酸配列よりなる群から選択されるアミノ酸配列を含むポリペプチドをコードする単離された核酸。

【請求項42】 配列番号：3、5、7および9に記載されたヌクレオチド配列よりなる群から選択されるヌクレオチド配列を含む請求項41記載の単離された核酸。

【請求項43】 配列番号：4、6、8および10に記載されたアミノ酸配列よりなる群から選択されるアミノ酸配列を含む単離されたポリペプチド。

【発明の詳細な説明】**【0001】****発明の背景**

本発明は、生理学的な障害または疾患を含む、哺乳動物の生理学的な経路に関する新規なタンパク質 - タンパク質相互作用の発見に関する。生理学的な障害および疾患の例には、非インスリン依存性真性糖尿病 (NIDDM)、アルツハイマー病 (AD) のごとき神経変性疾患等が含まれる。かくして、本発明は、これらのタンパク質および/またはそれらのフラグメントの複合体、該複合体に対する抗体、(疾患への素因の診断および該疾患の存在の診断を含む) 生理学的に発生する疾患の診断、本明細書に記載するタンパク質の相互作用を調節する剤についての薬剤スクリーニング、ならびに本明細書に記載するタンパク質に共通の経路におけるさらなるタンパク質の同定に指向される。

【0002】

本明細書中で用いる刊行物および他の材料は、本発明の背景を説明し、および特に実施に関するさらなる詳細を提供する場合は出典明示して本明細書の一部とみなし、簡便性のため、以下の明細書中で著者と日付によって示し、かつ添付する参考文献リストに各々グループ化する。

【0003】

転写、翻訳および代謝またはシグナル伝達の経路を含めた生物学における多数のプロセスは、非共有的に会合したタンパク質複合体によって媒介される。タンパク質 - タンパク質複合体またはタンパク質 - DNA 複合体の形成は、最も効果的な化学的な機構である。近代の生物学的研究のうちの多くは、細胞プロセスに関与するタンパク質の同定、それらの機能の決定、ならびにそれらが特定の経路にて関与する他のタンパク質と相互作用する方法、時期および場所に関連している。さらに、ゲノムシーケンシングにおける急速な進歩で、タンパク質リンケージマップ、すなわち、タンパク質またはタンパク質複合体の機能的なアセンブリを作成する、または生理学的な経路を作成するタンパク質相互作用の詳細な目録を規定するための要求が存在する。

ヒトゲノム研究における最近の進歩は、新規な遺伝子の同定における急速な進

歩に導いた。生物学および医薬上の研究における適用において、遺伝子産物の機能を決定する要求が存在する。新規な遺伝子の機能を規定する第一工程は、適当なコンテキストにおける他の遺伝子産物とのその相互作用を決定することである。すなわち、タンパク質が機能的なアセンブリまたは生理学的な経路の一部として他のタンパク質または他のバイオポリマーと特異的に相互作用するので、遺伝子の機能を調べる適当な方法は、他の遺伝子とのその物理的な関連性を決定することである。いくつかの系がは、タンパク質相互作用およびかくして遺伝子間の関連性を同定するために存在する。

哺乳動物の生理学的な経路に関連するさらなるタンパク質 - タンパク質相互作用の発見につき当該技術分野における要求が存在し続ける。哺乳動物の生理学的な障害または疾患に関与するタンパク質 - タンパク質相互作用を同定し、かくして、薬物標的を同定するためにも当該技術分野における要求が存在し続ける。

【0004】

発明の概要

本発明は、生理学的な障害または疾患を含めた哺乳動物の生理学的な経路に関与するタンパク質 - タンパク質相互作用の発見に関する。本明細書に記載された相互作用しているタンパク質の同定は、有用な医薬の同定に関する新たな標的、危険な状態にある (at risk) 個人の同定における診断ツールに関する新たな標的、形質転換セルラインを産生するための配列、細胞モデルおよび動物モデル、ならびにかかる生理学的な経路における治療介入のための新たなベースを提供する。

【0005】

かくして、本発明の1の態様はタンパク質複合体である。該タンパク質複合体は、(a) 2の相互作用タンパク質の、(b) 第1の相互作用タンパク質と第2の相互作用タンパク質のフラグメントとの、(c) 第1の相互作用タンパク質のフラグメントと第2の相互作用タンパク質との、または(d) 第1の相互作用タンパク質のフラグメントと第2の相互作用タンパク質のフラグメントとの、複合体である。相互作用タンパク質のフラグメントには、相互作用して複合体を形成するタンパク質の部分が含まれる。本発明のこの態様には、タンパク質相互作用

の検出および組換え技術によるタンパク質の作製が含まれる。後者の具体例には、クローン化配列、ベクター、トランスフェクトまたは形質転換宿主細胞ならびにトランスジェニック動物も含まれる。

【0006】

本発明の第2の態様は、上記の複合体と免疫反応性である抗体である。該抗体はポリクローナル抗体であってもモノクローナル抗体であってもよい。該抗体は該複合体とは免疫反応性であるが、該複合体の成分部分とは免疫反応性でない。すなわち、該抗体は第1の相互作用タンパク質、第1の相互作用タンパク質のフラグメント、第2の相互作用タンパク質または第2の相互作用タンパク質のフラグメントとは免疫反応性でない。かかる抗体を用いて、タンパク質複合体の存在または不存在を検出し得る。

【0007】

本発明の第3の態様は、ヒトまたは他の動物における生理学的な疾患に対する素因を診断するための方法である。かかる疾患の診断には、該疾患に対する素因の診断および該疾患の存在についての診断が含まれる。本法に従って、第1の相互作用タンパク質またはそのフラグメントが第2の相互作用タンパク質またはそのフラグメントと複合体を形成する能力をアッセイし、あるいは相互作用タンパク質をコードする遺伝子をタンパク質分子の相互作用部分中の突然変異についてスクリーニングする。第1の相互作用タンパク質またはそのフラグメントが複合体を形成する能力がないこと、または相互作用ドメイン内の遺伝子中の突然変異の存在は、疾患に対する素因またはその存在の指標である。本発明の1の具体例により、複合体を形成する能力をツーハイブリッドアッセイでアッセイする。この具体例の第1の態様において、複合体を形成する能力は酵母ツーハイブリッドアッセイによってアッセイする。第2の態様において、複合体を形成する能力は哺乳動物ツーハイブリッドアッセイによってアッセイする。第2の具体例において、複合体を形成する能力は、該第1のタンパク質と該第2のタンパク質とを合することによって形成される複合体をイン・ビトロ (in vitro) で測定することによってアッセイする。1の態様において、タンパク質はヒトまたは他の動物から単離する。第3の具体例において、複合体を形成する能力は、該複合体に対し

て特異的である抗体の結合性を測定することによってアッセイする。第4の具体例において、複合体を形成する能力は、ヒトまたは他の動物からの組織抽出物との複合体に対して特異的である抗体の結合性を測定することによってアッセイする。第5の具体例において、本明細書中に記載する相互作用タンパク質のコード配列を突然変異につきスクリーニングする。

【0008】

本発明の第4の態様は、第1の相互作用タンパク質と第2の相互作用タンパク質との相互作用を調節することができる薬剤候補についてスクリーニングする方法である。この方法においては、薬剤の存在下で形成された複合体の量を、薬剤の不存在下で形成された複合体の量と比較する。薬剤の存在下で形成された複合体の量が薬剤の不存在下で形成された複合体の量よりも多いかまたは少ない場合には、該薬剤は第1および第2の相互作用タンパク質の相互作用を調節することについての候補である。該薬剤は、薬剤の存在下で形成された複合体が多い場合には相互作用を促進し、薬剤の存在下で形成された複合体が少ない場合には相互作用を阻害する（または破壊する）。該薬剤は直接的に、すなわち、2のタンパク質の結合を調節することによって、または間接的に、例えばタンパク質の一方または両方の発現を調節することによって、直接的に相互作用に影響を及ぼし得る。

【0009】

本発明の第5の態様は、かかる生理学的な経路、障害または疾患のモデルである。該モデルは、本明細書中にさらに記載するごとく、細胞モデルであっても動物モデルであってもよい。本発明の1の具体例によれば、トランスジェニックまたは“ノックアウト”動物を創製することによって動物モデルを調製する。ノックアウトは、全体ノックアウト（すなわち、目的遺伝子が欠失している）、または条件ノックアウト（すなわち、所定の時間にノックアウトされるまで遺伝子が活性である）とし得る。第2の具体例において、セルラインはモデルとして使用するためのかかる動物由来である。第3の具体例において、本発明のタンパク質複合体の生物活性が変化している動物モデルを調製する。1の態様において、生物活性は、タンパク質複合体の形成を妨げる該タンパク質のうちの1に対する抗

体または小分子の結合によるごとき、タンパク質複合体の形成を破壊することによって変化される。第2の態様において、タンパク質複合体の生物活性は、本明細書に記載するタンパク質複合体の作用を妨げるタンパク質複合体に対する抗体または小分子の結合によるごとき、複合体の作用を破壊することによって変化される。第4の具体例において、細胞モデルは、セルライン中の細胞のゲノムを変化させることによって調製する。1の態様において、細胞のゲノムはを修飾して、本明細書に記載する少なくとも1のタンパク質複合体を生成させる。第2の態様において、細胞のゲノムを修飾して、本明細書に記載するタンパク質複合体の少なくとも1のタンパク質を排除する。

【0010】

本発明の第6の態様は、本発明により発見された新規なタンパク質をコードする核酸である。

【0011】

本発明の第7の態様は、生理学的疾患を治療するのに有用な薬剤候補についてスクリーニングする方法である。この具体例においては、タンパク質と特定の生理学的疾患との関連に基づいて薬剤をスクリーニングする。この関連は、タンパク質と特定の生理学的疾患との関係を同定することによって、本発明により確立される。薬剤は、当該薬剤の存在および不存在下のタンパク質の活性を比較することによってスクリーニングされる。活性における差異が見出された場合には、該薬剤は生理学的疾患についての薬剤候補である。タンパク質の活性は、本発明のトランスジェニック動物およびセルラインを含む、従来技術を用いてイン・ビトロ (in vitro) またはイン・ビボ (in vivo) でアッセイし得る。

【0012】

発明の詳細な説明

本発明は、本明細書に記載されたタンパク質間の新規な相互作用の発見である。これらのタンパク質をコードする遺伝子は以前にクローン化されているが、生理学的な経路または特定のタンパク質でのそれらの潜在的な関わり合いは知られていなかった。あるいは、これらのタンパク質のいくらかをコードする遺伝子は、従前にクローン化されていない、新規な遺伝子を表す。これらのタンパク質は

、より十分に後記するごとく、酵母ツーハイブリッド法を用い、ヒト全脳ライブラリーをサーチして同定される。

【0013】

本発明により、新たなタンパク質 - タンパク質相互作用が発見された。これらの相互作用の発見は、各々のタンパク質 - タンパク質相互作用についての幾つかのタンパク質複合体を同定した。これらの相互作用についてのタンパク質複合体を下記の表1 - 73に掲載し、これらは本発明の新たなタンパク質 - タンパク質相互作用も同定する。

【0014】

表 1

G l u t 4 /CARP相互作用のタンパク質複合体
 グルコーストランスポーター4 (G l u t 4)およびクローンC-193 (CARP)
 G l u t 4のフラグメントおよびCARP
 G l u t 4およびCARPのフラグメント
 G l u t 4のフラグメントおよびCARPのフラグメント

【0015】

表 2

G l u t 1 /D R A L (F H L 2)相互作用のタンパク質複合体
 グルコーストランスポーター1 (G l u t 1)およびD R A L (F H L 2)
 G l u t 1のフラグメントおよびD R A L (F H L 2)
 G l u t 1およびD R A L (F H L 2) のフラグメント
 G l u t 1のフラグメントおよびD R A L (F H L 2) のフラグメント

【0016】

表 3

G l u t 1 /ミオシン重鎖相互作用のタンパク質複合体
 グルコーストランスポーター1 (G l u t 1)およびミオシン重鎖
 G l u t 1のフラグメントおよびミオシン重鎖
 G l u t 1およびミオシン重鎖のフラグメント
 G l u t 1のフラグメントおよびミオシン重鎖のフラグメント

【0017】

表 4

Glut1/HSS相互作用のタンパク質複合体

グルコーストランスポーター1 (Glut1)およびヒト精子表面タンパク質(HSS)

Glut1のフラグメントおよびHSS

Glut1およびHSSのフラグメント

Glut1のフラグメントおよびHSSのフラグメント

【0018】

表 5

OGTアーゼ/ミオシン重鎖相互作用のタンパク質複合体

O-結合 N-アセチルグルコサミニルトランスフェラーゼ (OGTアーゼ)およびミオシン重鎖

OGTアーゼのフラグメントおよびミオシン重鎖

OGTアーゼおよびミオシン重鎖のフラグメント

OGTアーゼのフラグメントおよびミオシン重鎖のフラグメント

【0019】

表 6

IRAP/14-3-3ベータ相互作用のタンパク質複合体

インスリン調節膜スパニングアミノペプチダーゼ(IRAP)および14-3-3ベータ

IRAPのフラグメントおよび14-3-3ベータ

IRAPおよび14-3-3ベータのフラグメント

IRAPのフラグメントおよび14-3-3ベータのフラグメント

【0020】

表 7

IRAP/HSS相互作用のタンパク質複合体

インスリン調節膜スパニングアミノペプチダーゼ(IRAP)およびヒト精子表面タンパク質(HSS)

I R A PのフラグメントおよびHSS

I R A PおよびHSSのフラグメント

I R A PのフラグメントおよびHSSのフラグメント

【0021】

表 8

P I - 3 K 1 1 0 / 補体タンパク質C4相互作用のタンパク質複合体

P I - 3 キナーゼ p 1 1 0 サブユニット (P I - 3 K 1 1 0) および補体タンパク質

C4

P I - 3 K 1 1 0 のフラグメントおよび補体タンパク質C4

P I - 3 K 1 1 0 および補体タンパク質C4のフラグメント

P I - 3 K 1 1 0 のフラグメントおよび補体タンパク質C4のフラグメント

【0022】

表 9

P I - 3 K 1 1 0 / テネイシンXB相互作用のタンパク質複合体

P I - 3 キナーゼ p 1 1 0 サブユニット (P I - 3 K 1 1 0) およびテネイシンXB

P I - 3 K 1 1 0 のフラグメントおよびテネイシン XB

P I - 3 K 1 1 0 およびテネイシンXBのフラグメント

P I - 3 K 1 1 0 のフラグメントおよびテネイシンXBのフラグメント

【0023】

表 10

P I - 3 K 1 1 0 / GAA相互作用のタンパク質複合体

P I - 3 キナーゼ p 1 1 0 サブユニット (P I - 3 K 1 1 0) およびアルファ酸グル
コシダーゼ(GAA)

P I - 3 K 1 1 0 のフラグメントおよびGAA

P I - 3 K 1 1 0 およびGAAのフラグメント

P I - 3 K 1 1 0 のフラグメントおよびGAAのフラグメント

【0024】

表 11

MM- 1 / C - N a p 1 相互作用のタンパク質複合体

C-myc 結合タンパク質(MM-1)およびC-Nap1

MM-1のフラグメントおよびC-Nap1

MM-1およびC-Nap1のフラグメント

MM-1のフラグメントおよびC-Nap1のフラグメント

【0025】

表 12

MM-1/ベータスペクトリン(ベータスペクトリン)相互作用のタンパク質複合体

C-myc 結合タンパク質(MM-1)およびベータスペクトリン

MM-1のフラグメントおよびベータスペクトリン

MM-1およびベータスペクトリンのフラグメント

MM-1のフラグメントおよびベータスペクトリンのフラグメント

【0026】

表 13

MM-1/KIAA0477相互作用のタンパク質複合体

C-myc 結合タンパク質(MM-1)およびKIAA0477

MM-1のフラグメントおよびKIAA0477

MM-1およびKIAA0477のフラグメント

MM-1のフラグメントおよびKIAA0477のフラグメント

【0027】

表 14

ダイナミン/CALM相互作用のタンパク質複合体

ダイナミンおよびカルスリン(Calthrin)アセンブリータンパク質(CALM)

ダイナミンのフラグメントおよびCALM

ダイナミンおよびCALMのフラグメント

ダイナミンのフラグメントおよびCALMのフラグメント

【0028】

表 15

ダイナミン/Psme3相互作用のタンパク質複合体

ダイナミンおよびプロテオソーム・アクチベーター・サブユニット Psme 3 (Psm
e 3)

ダイナミンのフラグメントおよびPsme 3

ダイナミンおよびPsme 3 のフラグメント

ダイナミンのフラグメントおよびPsme 3 のフラグメント

【0029】

表 16

N a f 1 b / I - TRAF相互作用のタンパク質複合体

Nef-関連因子1ベータ(N a f 1 b)およびI-TRAF

N a f 1 bのフラグメントおよびI-TRAF

N a f 1 bおよびI-TRAFのフラグメント

N a f 1 bのフラグメントおよびI-TRAFのフラグメント

【0030】

表 17

A k t 1 / N u M A 1相互作用のタンパク質複合体

A k t キナーゼ 1 (A k t 1)およびN u M A 1

A k t 1のフラグメントおよびN u M A 1

A k t 1およびN u M A 1のフラグメント

A k t 1のフラグメントおよびN u M A 1のフラグメント

【0031】

表 18

A k t 2 / N u M A 1相互作用のタンパク質複合体

A k t キナーゼ 2 (A k t 2)およびN u M A 1

A k t 2のフラグメントおよびN u M A 1

A k t 2およびN u M A 1のフラグメント

A k t 2のフラグメントおよびN u M A 1のフラグメント

【0032】

表 19

A k t 2 / B A P 3 1相互作用のタンパク質複合体

Aktキナーゼ 2 (Akt2)およびBAP31

Akt2のフラグメントおよびBAP31

Akt2およびBAP31のフラグメント

Akt2のフラグメントおよびBAP31のフラグメント

【0033】

表 20

Akt2/ベーターアダプチン相互作用のタンパク質複合体

Aktキナーゼ 2 (Akt2)およびベーターアダプチン

Akt2のフラグメントおよびベーターアダプチン

Akt2およびベーターアダプチンのフラグメント

Akt2のフラグメントおよびベーターアダプチンのフラグメント

【0034】

表 21

OGTアーゼ/デスミン相互作用のタンパク質複合体

0-結合 N-アセチルグルコサミニルトランスフェラーゼ (OGTアーゼ)およびデスミン

OGTアーゼのフラグメントおよびデスミン

OGTアーゼおよびデスミンのフラグメント

OGTアーゼのフラグメントおよびデスミンのフラグメント

【0035】

表 22

OGTアーゼ/アルファ-カリオフィェリン (karyopherin) 相互作用のタンパク質複合体

0-結合 N-アセチルグルコサミニルトランスフェラーゼ (OGTアーゼ)およびアルファ-カリオフィェリン

OGTアーゼのフラグメントおよびアルファ-カリオフィェリン

OGTアーゼおよびアルファ-カリオフィェリンのフラグメント

OGTアーゼのフラグメントおよびアルファ-カリオフィェリンのフラグメント

【0036】

表 2 3

O G T アーゼ/グルタミニル (glutaminy l) tRNA シンターゼ相互作用のタンパク質複合体

0-結合 N-アセチルグルコサミニルトランスフェラーゼ (O G T アーゼ)およびグルタミニル tRNA シンターゼ

O G T アーゼのフラグメントおよびグルタミニル tRNA シンターゼ

O G T アーゼおよびグルタミニル tRNA シンターゼのフラグメント

O G T アーゼのフラグメントおよびグルタミニル tRNA シンターゼのフラグメント

【 0 0 3 7 】

表 2 4

O G T アーゼ/クローン 2 5 1 0 0 相互作用のタンパク質複合体

0-結合 N-アセチルグルコサミニルトランスフェラーゼ (O G T アーゼ)およびクローン 2 5 1 0 0

O G T アーゼのフラグメントおよびクローン 2 5 1 0 0

O G T アーゼおよびクローン 2 5 1 0 0 のフラグメント

O G T アーゼのフラグメントおよびクローン 2 5 1 0 0 のフラグメント

【 0 0 3 8 】

表 2 5

P T P 1 b / V A P - A 相互作用のタンパク質複合体

P T P 1 b および VAMP-関連タンパク質 A (V A P - A)

P T P 1 b のフラグメントおよび V A P - A

P T P 1 b および V A P - A のフラグメント

P T P 1 b のフラグメントおよび V A P - A のフラグメント

【 0 0 3 9 】

表 2 6

R a b 4 / アルファ-カテニン-様タンパク質相互作用のタンパク質複合体

R a b 4 および アルファ-カンテイン-様タンパク質

R a b 4 のフラグメントおよび アルファ-カンテイン-様タンパク質

R a b 4 およびアルファ-カンテイン-様タンパク質のフラグメント

R a b 4 のフラグメントおよびアルファ-カンテイン-様タンパク質のフラグメント

【0040】

表 27

R a b 4 / R a b 2 相互作用のタンパク質複合体

R a b 4 および R a b 2

R a b 4 のフラグメントおよび R a b 2

R a b 4 および R a b 2 のフラグメント

R a b 4 のフラグメントおよび R a b 2 のフラグメント

【0041】

表 28

G l u t 4 / P N 7 0 6 5 相互作用のタンパク質複合体

グルコーストランスポーター4 (G l u t 4) および Novel タンパク質フラグメント P N 7 0 6 5 (P N 7 0 6 5)

G l u t 4 のフラグメントおよび P N 7 0 6 5

G l u t 4 および P N 7 0 6 5 のフラグメント

G l u t 4 のフラグメントおよび P N 7 0 6 5 のフラグメント

【0042】

表 29

G l u t 4 / P N 7 3 8 6 相互作用のタンパク質複合体

グルコーストランスポーター4 (G l u t 4) および Novel タンパク質フラグメント P N 7 3 8 6 (P N 7 3 8 6)

G l u t 4 のフラグメントおよび P N 7 3 8 6

G l u t 4 および P N 7 3 8 6 のフラグメント

G l u t 4 のフラグメントおよび P N 7 3 8 6 のフラグメント

【0043】

表 30

O G T アーゼ / P N 6 9 3 1 相互作用のタンパク質複合体

0-結合 N-アセチルグルコサミニルトランスフェラーゼ (OGTアーゼ)およびNo
vel タンパク質フラグメントPN6931 (PN6931)

OGTアーゼのフラグメントおよびPN6931

OGTアーゼおよびPN6931のフラグメント

OGTアーゼのフラグメントおよびPN6931のフラグメント

【0044】

表 31

Naf1b/PN7582相互作用のタンパク質複合体

Nef-関連因子1ベータ(Naf1b)および新規なタンパク質フラグメントPN7
582 (PN7582)

Naf1bのフラグメントおよびPN7582

Naf1bおよびPN7582のフラグメント

Naf1bのフラグメントおよびPN7582のフラグメント

【0045】

表 32

OGTアーゼ/テーリン相互作用のタンパク質複合体

0-結合 N-アセチルグルコサミニルトランスフェラーゼ (OGTアーゼ)およびテ
ーリン

OGTアーゼのフラグメントおよびテーリン

OGTアーゼおよびテーリンのフラグメント

OGTアーゼのフラグメントおよびテーリンのフラグメント

【0046】

表 33

OGTアーゼ/MOP2 相互作用のタンパク質複合体

0-結合 N-アセチルグルコサミニルトランスフェラーゼ (OGTアーゼ)およびM
OP2

OGTアーゼのフラグメントおよびMOP2

OGTアーゼおよびMOP2のフラグメント

OGTアーゼのフラグメントおよびMOP2のフラグメント

【0047】

表 34

OGTアーゼ/クローン25100 相互作用のタンパク質複合体
0-結合 N-アセチルグルコサミニルトランスフェラーゼ (OGTアーゼ)およびク
ローン25100
OGTアーゼのフラグメントおよびクローン25100
OGTアーゼおよびクローン25100のフラグメント
OGTアーゼのフラグメントおよびクローン25100のフラグメント

【0048】

表 35

OGTアーゼ/KIAA0443 相互作用のタンパク質複合体
0-結合 N-アセチルグルコサミニルトランスフェラーゼ (OGTアーゼ)およびK
IAA0443
OGTアーゼのフラグメントおよびKIAA0443
OGTアーゼおよびKIAA0443のフラグメント
OGTアーゼのフラグメントおよびKIAA0443のフラグメント

【0049】

表 36

OGTアーゼ/ERG1 相互作用のタンパク質複合体
0-結合 N-アセチルグルコサミニルトランスフェラーゼ (OGTアーゼ)およびE
RG1
OGTアーゼのフラグメントおよびERG1
OGTアーゼおよびERG1のフラグメント
OGTアーゼのフラグメントおよびERG1のフラグメント

【0050】

表 37

OGTアーゼ/ダイナミン II 相互作用のタンパク質複合体
0-結合 N-アセチルグルコサミニルトランスフェラーゼ (OGTアーゼ)およびダ
イナミン II

OGTアーゼのフラグメントおよびダイナミン II

OGTアーゼおよびダイナミン IIのフラグメント

OGTアーゼのフラグメントおよびダイナミン IIのフラグメント

【0051】

表 38

OGTアーゼ/INT-6 相互作用のタンパク質複合体

0-結合 N-アセチルグルコサミニルトランスフェラーゼ (OGTアーゼ)およびINT-6

OGTアーゼのフラグメントおよびINT-6

OGTアーゼおよびINT-6のフラグメント

OGTアーゼのフラグメントおよびINT-6のフラグメント

【0052】

表 39

OGTアーゼ/HSPC028 相互作用のタンパク質複合体

0-結合 N-アセチルグルコサミニルトランスフェラーゼ (OGTアーゼ)およびHSPC028

OGTアーゼのフラグメントおよびHSPC028

OGTアーゼおよびHSPC028のフラグメント

OGTアーゼのフラグメントおよびHSPC028のフラグメント

【0053】

表 40

OGTアーゼ/BAP31 相互作用のタンパク質複合体

0-結合 N-アセチルグルコサミニルトランスフェラーゼ (OGTアーゼ)およびBAP31

OGTアーゼのフラグメントおよびBAP31

OGTアーゼおよびBAP31のフラグメント

OGTアーゼのフラグメントおよびBAP31のフラグメント

【0054】

表 41

O G Tアーゼ/インターフェロン非依存性タンパク質相互作用のタンパク質複合体

0-結合 N-アセチルグルコサミニルトランスフェラーゼ (O G Tアーゼ)およびインターフェロン非依存性タンパク質

O G Tアーゼのフラグメントおよびインターフェロン非依存性タンパク質

O G Tアーゼおよびインターフェロン非依存性タンパク質のフラグメント

O G Tアーゼのフラグメントおよびインターフェロン非依存性タンパク質のフラグメント

【0055】

表 4 2

G l u t 4 / ベータカテニン相互作用のタンパク質複合体

グルコーストランスポーター4 (G l u t 4)およびベータカテニン

G l u t 4 のフラグメントおよびベータカテニン

G l u t 4 およびベータカテニンのフラグメント

G l u t 4 のフラグメントおよびベータカテニンのフラグメント

【0056】

表 4 3

G l u t 4 / アルファ-S N A P 相互作用のタンパク質複合体

グルコーストランスポーター4 (G l u t 4)およびアルファ-S N A P

G l u t 4 のフラグメントおよびアルファ-S N A P

G l u t 4 およびアルファ-S N A P のフラグメント

G l u t 4 のフラグメントおよびアルファ-S N A P のフラグメント

【0057】

表 4 4

G l u t 4 / M A P K K K 6 相互作用のタンパク質複合体

グルコーストランスポーター4 (G l u t 4)およびM A P K K K 6

G l u t 4 のフラグメントおよびM A P K K K 6

G l u t 4 およびM A P K K K 6 のフラグメント

G l u t 4 のフラグメントおよびM A P K K K 6 のフラグメント

【0058】

表 45

G l u t 4 / トロポミオシン3 相互作用のタンパク質複合体
グルコーストランスポーター4 (G l u t 4) およびトロポミオシン3
G l u t 4 のフラグメントおよびトロポミオシン3
G l u t 4 およびトロポミオシン3 のフラグメント
G l u t 4 のフラグメントおよびトロポミオシン3 のフラグメント

【0059】

表 46

G l u t 1 / D R A L / F H L 2 相互作用のタンパク質複合体
グルコーストランスポーター1 (G l u t 1) およびD R A L / F H L 2
G l u t 1 のフラグメントおよびD R A L / F H L 2
G l u t 1 およびD R A L / F H L 2 のフラグメント
G l u t 1 のフラグメントおよびD R A L / F H L 2 のフラグメント

【0060】

表 47

G l u t 1 / M Y S A 相互作用のタンパク質複合体
グルコーストランスポーター1 (G l u t 1) および心筋ミオシン重鎖 (M Y S
A)
G l u t 1 のフラグメントおよびM Y S A
G l u t 1 およびM Y S A のフラグメント
G l u t 1 のフラグメントおよびM Y S A のフラグメント

【0061】

表 48

I R A P / S L A P - 2 相互作用のタンパク質複合体
インスリン調節膜スパニングアミノペプチダーゼ(I R A P) およびS L A P - 2
I R A P のフラグメントおよびS L A P - 2
I R A P およびS L A P - 2 のフラグメント
I R A P のフラグメントおよびS L A P - 2 のフラグメント

【0062】

表 49

I R A P / S G 2 N A 相互作用のタンパク質複合体
インスリン調節膜スパニングアミノペプチダーゼ(I R A P)およびS G 2 N A
I R A PのフラグメントおよびS G 2 N A
I R A PおよびS G 2 N Aのフラグメント
I R A PのフラグメントおよびS G 2 N Aのフラグメント

【0063】

表 50

O G T アーゼ/ 1 4 - 3 - 3 - イプシロンのタンパク質複合体
0-結合 N-アセチルグルコサミニルトランスフェラーゼ (O G T アーゼ)および1
4 - 3 - 3 - イプシロン
O G T アーゼのフラグメントおよび1 4 - 3 - 3 - イプシロン
O G T アーゼおよび1 4 - 3 - 3 - イプシロンのフラグメント
O G T アーゼのフラグメントおよび1 4 - 3 - 3 - イプシロンのフラグメント

【0064】

表 51

P I - 3 K 8 5 / クロモグラニン (Chromogranin) 相互作用のタンパク質複合体
P I - 3 キナーゼ p85サブユニット (P I - 3 K 8 5)およびクロモグラニン
P I - 3 K 8 5のフラグメントおよびクロモグラニン
P I - 3 K 8 5およびクロモグラニンのフラグメント
P I - 3 K 8 5のフラグメントおよびクロモグラニンのフラグメント

【0065】

表 52

P I - 3 K 8 5 / S L P - 7 6 相互作用のタンパク質複合体
P I - 3 キナーゼ p85サブユニット (P I - 3 K 8 5)およびS L P - 7 6
P I - 3 K 8 5のフラグメントおよびS L P - 7 6
P I - 3 K 8 5およびS L P - 7 6のフラグメント
P I - 3 K 8 5のフラグメントおよびS L P - 7 6のフラグメント

【0066】

表 5 3

PI-3K85/14-3-3-ゼータ 相互作用のタンパク質複合体
PI-3キナーゼ p85サブユニット (PI-3K85)および14-3-3-ゼータ
PI-3K85のフラグメントおよび14-3-3-ゼータ
PI-3K85および14-3-3-ゼータのフラグメント
PI-3K85のフラグメントおよび14-3-3-ゼータのフラグメント

【0067】

表 5 4

PI-3K85/14-3-3-エータ相互作用のタンパク質複合体
PI-3キナーゼ p85サブユニット (PI-3K85)および14-3-3-eta
PI-3K85のフラグメントおよび14-3-3-エータ
PI-3K85および14-3-3-エータのフラグメント
PI-3K85のフラグメントおよび14-3-3-エータのフラグメント

【0068】

表 5 5

PI-3K85/TACC2 相互作用のタンパク質複合体
PI-3キナーゼ p85サブユニット (PI-3K85)およびTACC2
PI-3K85のフラグメントおよびTACC2
PI-3K85およびTACC2のフラグメント
PI-3K85のフラグメントおよびTACC2のフラグメント

【0069】

表 5 6

Glut4/MM-1 相互作用のタンパク質複合体
グルコーストランスポーター4 (Glut4)およびC-Myc 結合タンパク質 (MM-1)
Glut4のフラグメントおよびMM-1
Glut4およびMM-1のフラグメント
Glut4のフラグメントおよびMM-1のフラグメント

【0070】

表 57

Glut1/KIAA0144 相互作用のタンパク質複合体

グルコーストランスポーター1 (Glut1)およびKIAA0144 (KIAA)

Glut1のフラグメントおよびKIAA

Glut1およびKIAAのフラグメント

Glut1のフラグメントおよびKIAAのフラグメント

【0071】

表 58

Glut1/ダイナミン 相互作用のタンパク質複合体

グルコーストランスポーター1 (Glut1)およびダイナミン

Glut1のフラグメントおよびダイナミン

Glut1およびダイナミンのフラグメント

Glut1のフラグメントおよびダイナミンのフラグメント

【0072】

表 59

Glut1/クローン25204 相互作用のタンパク質複合体

グルコーストランスポーター1 (Glut1)およびクローン25204

Glut1のフラグメントおよびクローン25204

Glut1およびクローン25204のフラグメント

Glut1のフラグメントおよびクローン25204のフラグメント

【0073】

表 60

IRAP/VAP-A 相互作用のタンパク質複合体

インスリン調節膜スパニングアミノペプチダーゼ(IRAP; oxytocinase)およ

びVAMP-関連タンパク質 A (VAP-A)

IRAPのフラグメントおよびVAP-A

IRAPおよびVAP-Aのフラグメント

IRAPのフラグメントおよびVAP-Aのフラグメント

【0074】

表 6 1

O G Tアーゼ/N a f 1 a 相互作用のタンパク質複合体
O-結合-N-アセチルグルコサミニルトランスフェラーゼ (O G Tアーゼ)およびNE
F-関連因子1 アルファ (N a f 1 a)
O G TアーゼのフラグメントおよびN a f 1 a
O G TアーゼおよびN a f 1 aのフラグメント
O G TアーゼのフラグメントおよびN a f 1 aのフラグメント

【0075】

表 6 2

O G Tアーゼ/アルファ-2-カテニン相互作用のタンパク質複合体
O-結合-N-アセチルグルコサミニルトランスフェラーゼ (O G Tアーゼ)およびア
ルファ-2-カテニン
O G Tアーゼのフラグメントおよびアルファ-2-カテニン
O G Tアーゼおよびアルファ-2-カテニンのフラグメント
O G Tアーゼのフラグメントおよびアルファ-2-カテニンのフラグメント

【0076】

表 6 3

P I-3K1 1 0/T R I P 1 5 相互作用のタンパク質複合体
P I-3キナーゼ p1 1 0サブユニット (P I-3K1 1 0)およびT R I P 1 5
P I-3K1 1 0のフラグメントおよびT R I P 1 5
P I-3K1 1 0およびT R I P 1 5のフラグメント
P I-3K1 1 0のフラグメントおよびT R I P 1 5のフラグメント

【0077】

表 6 4

G l u t 4/1 4-3-3 ゼータ 相互作用のタンパク質複合体
グルコーストランスポーター4 (G l u t 4)および1 4-3-3 ゼータ
G l u t 4のフラグメントおよび1 4-3-3 ゼータ
G l u t 4および1 4-3-3 ゼータのフラグメント

G l u t 4 のフラグメントおよび 1 4 - 3 - 3 ゼータのフラグメント

【 0 0 7 8 】

表 6 5

G l u t 4 / K I A A 0 2 8 2 相互作用のタンパク質複合体

グルコーストランスポーター 4 (G l u t 4) および K I A A 0 2 8 2 (e f p - 様タンパク質)

G l u t 4 のフラグメントおよび K I A A 0 2 8 2

G l u t 4 および K I A A 0 2 8 2 のフラグメント

G l u t 4 のフラグメントおよび K I A A 0 2 8 2 のフラグメント

【 0 0 7 9 】

表 6 6

G l u t 4 / タンキラーゼ (tankyrase) 相互作用のタンパク質複合体

グルコーストランスポーター 4 (G l u t 4) およびタンキラーゼ

G l u t 4 のフラグメントおよびタンキラーゼ

G l u t 4 およびタンキラーゼのフラグメント

G l u t 4 のフラグメントおよびタンキラーゼのフラグメント

【 0 0 8 0 】

表 6 7

I R A P / P T P Z 相互作用のタンパク質複合体

インスリン調節膜スパニングアミノペプチダーゼ (I R A P) およびタンパク質チロシンホスファターゼゼータ (P T P Z)

I R A P のフラグメントおよび P T P Z

I R A P および P T P Z のフラグメント

I R A P のフラグメントおよび P T P Z のフラグメント

【 0 0 8 1 】

表 6 8

I R A P / スペクトリン 相互作用のタンパク質複合体

インスリン調節膜スパニングアミノペプチダーゼ (I R A P) および - スペクトリン

I R A Pのフラグメントおよび -スペクトリン

I R A Pおよび -スペクトリンのフラグメント

I R A Pのフラグメントおよび -スペクトリンのフラグメント

【0082】

表 69

I R A P / P I - 3 K 8 5 相互作用のタンパク質複合体

インスリン調節膜スパニングアミノペプチダーゼ(I R A P)およびP I - 3 キナーゼ p85サブユニット (P I - 3 K 8 5)

I R A PのフラグメントおよびP I - 3 K 8 5

I R A PおよびP I - 3 K 8 5のフラグメント

I R A PのフラグメントおよびP I - 3 K 8 5のフラグメント

【0083】

表 70

PP5 / HSP 89 相互作用のタンパク質複合体

プロテインホスファターゼ5 (PP5)および熱ショックタンパク質89 (HSP 89)

PP5のフラグメントおよびHSP 89

PP5およびHSP 89のフラグメント

PP5のフラグメントおよびHSP 89のフラグメント

【0084】

表 71

PP5 / タンキラーゼ相互作用のタンパク質複合体

プロテインホスファターゼ5 (PP5)およびタンキラーゼ

PP5のフラグメントおよびタンキラーゼ

PP5およびタンキラーゼのフラグメント

PP5のフラグメントおよびタンキラーゼのフラグメント

【0085】

表 72

P I - 3 K 8 5 / タンキラーゼ相互作用のタンパク質複合体

P I - 3 キナーゼ p85 サブユニット (P I - 3 K 85) およびタンキラーゼ

P I - 3 K 85 のフラグメントおよびタンキラーゼ

P I - 3 K 85 およびタンキラーゼのフラグメント

P I - 3 K 85 のフラグメントおよびタンキラーゼのフラグメント

【 0 0 8 6 】

表 7 3

P I - 3 K 1 1 0 / APP 相互作用のタンパク質複合体

P I - 3 キナーゼ p110 サブユニット (P I - 3 K 1 1 0) およびアミロイドタン
パク質前駆体 (APP)

P I - 3 K 1 1 0 のフラグメントおよび APP

P I - 3 K 1 1 0 および APP のフラグメント

P I - 3 K 1 1 0 のフラグメントおよび APP のフラグメント

本明細書に記載された特異的な生理学的な経路と新しく関連するタンパク質を用いて、生理学的な疾患を治療するのに有用な薬物候補につきスクリーニングする。これらのタンパク質は、表 7 4 に記載されている。

【 0 0 8 7 】

表 7 4

薬物スクリーニング用のタンパク質および生理学的疾患

P I - 3 K 1 1 0 アルツハイマー病

P I - 3 K 1 1 0 糖尿病

T R I P 1 5 アルツハイマー病

T R I P 1 5 糖尿病

他の全て 糖尿病

【 0 0 8 8 】

特定の経路における上記相互作用の関連は以下の通りである。

非インスリン依存性糖尿病 (N I D D M) を理解し、治療するために答えるべき重要な疑問の一つは、いかにグルコース摂取が当該細胞中で調整されるかである。脂肪および筋組織中に、G l u t 4 と呼ばれ、ベシクル媒介エンドサイトシスおよびエクソサイトシスにより該細胞内部および血漿膜間を往復するインス

リン - 調整膜スパニンググルコーストランスポーターが存在することが知られている [Garvey et al., 1998; Haruta et al., 1995; Pessin et al., 1999]。糖尿病患者からの脂肪および筋細胞はこのタイプの調整されたグルコース輸送において欠如しているようである [Zierath et al., 1998]。該血漿膜への輸送および該細胞内部への戻りを調整するメカニズムはよく分らない。この目的に向かって、該 G l u t 4 タンパク質および脂肪および筋細胞中でグルコース摂取に参加するさらなる因子を解析することに一層の興味注がれてきた。以下に説明するごとく、酵母ツーハイブリッドアッセイが、G u l t 4 およびグルコースのインスリン依存性輸送に関係している他の分子と相互作用するタンパク質を同定する手段として用いられている。かくして、通常細胞中でのグルコース輸送の調整を理解することによって、糖尿病患者の細胞における糖摂取を増加させる働きをするであろう医療介入を発見し得る。

【0089】

いかにグルコース輸送が達成されるかを理解する一つのアプローチは、それと相互作用し得る他の分子を調査するための分子おとりとして該 G l u t 4 を使用することであった。このように、G l u t 4 の機能に影響する方法を見つけ、それが血漿膜に行き、引続きグルコースを細胞外から除去し、それを内部に運び込ませる方法をおそらく見つけることが可能であろう。該酵母ツーブリッドアッセイを用いて、本発明者らは、(他の系ではC A R Pとして知られる)クローンc - 193がG l u t 4 に結合し得ることの論証を可能にした。C A R Pはサイトカイン誘発性遺伝子であって、報じられるところによれば、それは心臓特異的遺伝子のネガティブレギュレータとして作用する。この相互作用は心臓疾患と糖尿病との結びつけとして働くのであろう。

【0090】

該酵母ツーハイブリッドアッセイを用いて、本発明者らは、G l u t 4 と、P N 7 0 6 5 およびP N 7 3 8 6 と名付けられた2つの新規なタンパク質との相互作用を検出することも可能にした。P N 7 0 6 5 はラット塩誘発性タンパク質キナーゼ (G e n B a n k 寄託番号A B 0 2 0 4 8 0) に著しく類似する。ラットにおける実験は、この塩誘発性キナーゼは高血漿中塩およびA C T H 刺激に対

する反応において副腎皮質機能の調整に重要な役割を演じているのであろう [Wang et al., 1999]。G l u t 4 は該キナーゼの基質として働いている可能性がある。P N 7 3 8 6 は 8 5 0 H 2 1 (G e n B a n k 寄託番号 A L 0 3 1 6 8 0) と呼ばれ、上記文献では特徴付けされていないヒト染色体 2 0 クローンと同一である。このクローンのタンパク質産物はタンパク質往復またはこのプロセスを調整するシグナル変換メカニズムに参加している可能性がある。

【0091】

該酵母ツーハイブリッドアッセイを用いて、本発明者らは、G l u t 4 に結合し得る4つのさらなるタンパク質、ベータ - カテニン、アルファ - S N A P、トポロミオシン3およびM A P K K K 6を検出することを可能にした。ベータ - カテニンは、2つの重要な細胞プロセス：ウィングレス経路(the Wingless pathway)によるシグナル変換および細胞付着に關与するいわゆるアルマジロ反復を含有するタンパク質である [Ben-Ze'ev et al., 1998]。G l u t 4 とベータ - カテニンとのこの相互作用は、インスリン反応性グルコース輸送を明らかにするであろう。何故ならば、それは、該輸送を重要なシグナリング経路に結びつけるからである。該アルファ - S N A P は、細胞内輸送の細胞プロセスにおいて重要なメディエータである [St-Denis, et al., 1998]。アルファ - S N A P と G l u t 4 とが相互作用するという発見は、グルコース輸送と、細胞の外部および内部カンヌグルコース輸送の移動を行うのに必要とされる仕組みとの結びつきを与える。G l u t 4 は、筋収縮に關与するタンパク質であるトポロミオシン3と相互作用することが論証されている [Squire et al., 1998]。この相互作用は、グルコース摂取と筋肉機能との結びつきを表すであろう。つまり、該 G l u t 4 グルコース輸送は、推定タンパク質キナーゼ、M A P K K K 6 と相互作用することが示された。この酵素はよく特徴付けられていないが、もう一つのタンパク質キナーゼに結合するその能力で同定された [Wang et al., 1998]。もう一度繰り返すが、これはグルコース輸送の調整のメカニズムの手掛りを与える。何故ならば、G l u t 4 はもう一つのタンパク質シグナル変換メディエータと相互作用し得るからである。

【0092】

該酵母ツーハイブリッドアッセイを用いて、本発明者らは、G l u t 4、14-3-3ゼータ、e f p様タンパク質(K I A A 0 2 8 2)およびタンキラーゼに結合し得る3つのタンパク質を検出することを可能にした。該14-3-3ゼータはホスフェリン残基と特異的に相互作用することが示されているシグナル変換タンパク質である[Thorson et al., 1998]。14-3-3ゼータは、細胞表面のインスリン受容体分子と、細胞内部もしくは、細胞表面にも位置するG l u t 4とを結び付ける経路の部分である。興味深いことに、14-3-3ゼータと相互作用するG l u t 4の同一の小領域は、これもまたグルコース摂取に関わっているキナーゼA k t - 2により、重要セリン残基でリン酸化されることが示されている[Kupriyama et al., 1999]。該e f p-様タンパク質は推定転写因子である[Orimo et al., 1995]。その機能は十分に記載されていないが、該G l u t 4タンパク質は様々な遺伝子の転写的活性化に影響し得、そのいくつかは細胞代謝に関与するであろう。タンキラーゼは既知のテロメア関連タンパク質である[Smith et al., 1998]。

【0093】

該酵母ツーハイブリッドアッセイを用いて、本発明者らは、G l u t 4に結合し得るさらなるタンパク質を検出することを可能にした。このたんぱく質はMM-1と呼ばれ、プロト-癌遺伝子c - m y cと相互作用するその能力で同定された[Mori et al., 1998]。この元来の特徴づけ以外に、MM-1について他のことはあまり知られていないが、本明細書において見出されて相互作用を基にすると、MM-1は癌および糖尿病の両方において重要な役割を演じているであろう。

【0094】

この元来の特徴づけ以外に、MM-1について他のことはあまり知られていないが、G l u t 4との関連および糖尿病との結びつきのため、本発明者らは、M M - 1をツーハイブリッドアッセイに用いた。該酵母ツーハイブリッドアッセイを用いて、本発明者らは、巨大な中心小体タンパク質C - N a p 1をM M - 1の相互作用体として同定した。C - N a p 1は、元々、N e k 2細胞周期レギュレータータンパク質キナーゼと相互作用し得るタンパク質として同定された[Fry

et al., 1998]。MM - 1がC - N a p 1と相互作用し得るという発見は、G l u t 4およびグルコース輸送を、一般的に、細胞周期の制御に結び付ける働きをする。MM - 1と相互作用するとして示された2番目のタンパク質はベータスペクトリンである。スペクトリンは細胞に柔軟性を与え、他の細胞タンパク質の骨格としても作用する [Grum et al., 1999]。興味深いことに、本発明者らは、ベータスペクトリンがベシクル関連タンパク質I R A pと相互作用し得ることを示した以前の発見において、ベータスペクトリンをグルコース輸送と糖尿病とに結び付けた。MM - 1がベータスペクトリンと相互作用するという発見は、ベータスペクトリンがグルコース輸送において役割を演じるという議論をさらに強化する。MM - 1は、知られた機能を有しない3番目のタンパク質K I A A 0 4 7 7と結合することが示された。K I A A 0 4 7 7は、元々、脳から単離されたが、その組織分布は知られていない。K I A A 0 4 7 7がMM - 1と相互作用するという発見は、K I A A 0 4 7 7がグルコース輸送またはベシクル輸送に関連するいくつかの細胞機能において役割を演じることを示唆する。

【0095】

グルコース輸送のメカニズムを理解するためのもう一つのアプローチは、G l u t 1分子 [Hresko et al., 1994]、G l u t 4に高度に関係する遺伝子および同様の生物学的機能のプロセッシングを、それと相互作用し得る他の分子を調査するための分子おとりとして使用することであった。該酵母ツーハイブリッドアッセイを用いて、本発明者らは、G l u t 1に結合し得る3つのさらなるタンパク質：D R A L、H S Sおよびミオシン重鎖を同定した。D R A Lは、F H L - 2またはS L I M 3としても知られるL I Mドメイン含有タンパク質である。D R A Lは、正常筋組織培養細胞中で発現されたが、横紋筋肉腫細胞においてダウンレギュレートされたタンパク質として同定された [Genini et al., 1997]。D R A Lは心筋のごとき筋細胞のターミナル分化 (terminal differentiation) において重要な役割を演じ、そのミスレギュレーションは未分化癌性発現型をもたらすという可能性がある。G l u t 1もH S Sまたはヒト精子表面タンパク質と相互作用することが示された。H S Sは、知られた機能を有しない精巣特異的タンパク質である [Shankar et al., 1998]。それは、推定経膜ドメインおよ

びロイシンジッパー二量化ドメインを含有しない。それは、G l u t 1 と相互作用し、おそらく膜結合するので、H S S は、可能性として、G l u t 1 または G l u t 4 と作用して、精巣におけるグルコース輸送に影響し得る。G l u t 1 は該ミオシン重鎖の形態と相互作用することも論証された。ミオシン重鎖は、筋肉の構造および収縮において重要な役割を演じる [Eddinger et al., 1998]。G l u t 1 とミオシンとの相互作用は、グルコース摂取および筋肉機能は、これら二つのタンパク質の会合により、相互に関連するであろう。

【0096】

該酵母ツーハイブリッドアッセイを用いて、本発明者らは、ダイナミンを G l u t 1 の相互作用体として同定した。ダイナミンは、ベシクル往復によるグルコース輸送体の移動に関わっており、エンドサイトーシスにおいて重要な役割を演じているようである（あるいは、該細胞表面から細胞内部への移動） [Kao et al., 1998]。糖尿病およびグルコース輸送へのダイナミンの結付きのため、本発明者らは、それをツーハイブリッドアッセイに用い、それに相互作用し得る2つのタンパク質を見出した。第1のタンパク質はC A L M と呼ばれ、アダプタータンパク質であるA P - 3 ファミリーに類似するクラスリンアッセンブリータンパク質である。C A L M は、元々、染色体転位を含有するリンパ様骨髄性白血球細胞株中に見出され、それはA F 1 0 遺伝子とC A L M との融合をもたらす [Dreying et al., 1996]。クラスリンおよびその関連タンパク質は、細胞表面から細胞内部へのベシクルの輸送に関与する長い歴史がある。ダイナミンとC A L M との関連は、さらにこの役割を指示し、C A L M をグルコース輸送と結び付ける。ダイナミンは、P s m e 3 というプロテオソームアクチベータサブユニットにも結合する。ヒトP s m e 3 遺伝子はB R C A 1 遺伝子領域に位置し、その機能は、K i 抗原とも称されるマウス遺伝子へのその類似性により推定された [Kohda et al., 1998]。該プロテオソームは転写後プロセッシングおよびある種のタンパク質の特異的崩壊に必要とされるので、P s m e 3 がダイナミンに結合し得るという発見は、このタイプのプロテアーゼ活性はグルコース輸送において重要な役割を演じることを示唆する。

【0097】

該酵母ツーハイブリッドアッセイを用いて、本発明者らは、G l u t 1 に結合し得る2つのさらなるタンパク質：D R A L / F H L 2 および心筋ミオシン重鎖を同定した。第1のタンパク質D R A L / F H L 2 は、横紋筋肉腫においてダウンレギュレートされることが示されたタンパク質である [Genini et al., 1997]。それは、完全に、L I Mドメイン、二本鎖亜鉛フィンガー(double zinc fingers)を形成するポリペプチドからなり、核酸または他のタンパク質と結合し易くすることによって機能するのであろう。G l u t 1 の同一領域は心筋ミオシン重鎖 (M Y S A) に結合することが示されている [Metzger et al., 1999]。この相互作用の重要性はグルコース輸送に関しては知られていないが、ミオシンは筋収縮および細胞構造において機能することが知られている。

【0098】

該酵母ツーハイブリッドアッセイを用いて、本発明者らは、該G l u t 1 に結合し得る3つのさらなるタンパク質：ダイナミン、および未知の機能の2つのタンパク質：K I A A 0 1 4 4 およびクローン25204を同定した。ダイナミンは、ベシクル往復によるグルコース輸送体の移動に関わっており、エンドサイトシスにおいて重要な役割を演じるようである（あるいは、該細胞表面から細胞内部への移動） [Kao et al., 1998]。該K I A A 0 1 4 4 遺伝子は現在まで特徴付けられていないが、G l u t 1 に接触するその領域は、高度にセリン、トレオニンおよびプロリン残基に富んでおり、おそらくその機能に対する手掛りを与える。同様の「S P T」ドメインを持つ他のタンパク質は、細胞表面受容体の細胞外の部分を含む。つまり、クローン25204の可能性のある転写産物はS E Z - 6 と呼ばれる以前同定されたマウス遺伝子に極似する。この遺伝子は発作を引き起こす薬物に暴露された後の脳組織中の増加した転写レベルにより見出された [Shimizu-Nishikawa et al., 1995]。

【0099】

インスリン調整膜スパニングアミノペプチダーゼ、すなわちI R A P (v p 1 6 5、g p 1 6 0 およびオキシトキナーゼとしても知られている) は、特定されたエンドサイティックベシクル中にG l u t 4 輸送体と共局在化する [Keller et al., 1995; Malide et al., 1997]。I R A P のN末端フラグメントの発現は

Glut 4の血漿膜への転位をもたらすことが示されているので、IRAPはグルコース輸送において重要な役割を演じると考えられる [Waters et al., 1997]。該ツ-ハイブリッド系を用いて、本発明者らは、IRAPと2つのタンパク質：14-3-3ベータおよびHSSとの相互作用を検出した。該14-3-3ファミリーのタンパク質はホスホセリン残基に結合する重要なシグナル変換タンパク質である [Jin et al., 1996]。IRAPと14-3-3ベータとの相互作用は、IRAPの機能はリン酸化および4-3-3ファミリーのメンバーによる引続く結合によって調整され得るであろうことを強く示唆する。IRAPおよびGlut 4グルコース輸送体は同一の細胞内ベシクル中に共局在化するので、Glut 4は、該14-3-3ベータのごとき14-3-3タンパク質により媒介されるシグナル変換メカニズムに参加している可能性がある。IRAPは、上記HSSタンパク質に結合することも示された。Glut 1およびGlut 4と同様に、IRAPは膜結合し、おそらく該膜中のHASAに結合するであろう。この発見は、HSSがグルコース輸送または細胞内ベシクルにおいて行われるたの重要な機能において役割を演じることを指摘する。

【0100】

該ツ-ハイブリッド系を用いて、本発明者らは、IRAPが2つのさらなるタンパク質と相互作用することを検出した。IRAPのN末端部分はSLAP-2と相互作用することが示された。SLAP-2のウサギホモログは肉腫または筋細胞の膜に局在化することが論証されているが、その機能はまだ証明されていない [Wigle et al., 1997]。SLAP-2はベシクル輸送において役割を演じるか、あるいは、少なくともそれに参加するのであろう。何故ならば、それは膜に会合し、細胞膜ならびに小胞体中の細胞内貯蔵の両方に局在化することが示されているからである。IRAPのC末端細胞外部分はSG2NAと相互作用することが論証された。SG2NAは、細胞周期核自己抗原であり、それは様々なシグナル変換タンパク質に存在するいわゆるWD-40反復を含有する [Muro et al., 1995]。もう一度繰返しになるが、この相互作用の重要性は不明であるが、IRAPへのSG2NA結合はより複雑な調整メカニズムの部分である。

【0101】

該ツ-ハイブリッド系を用いて、本発明者らは、IRAPが1以上のタンパク質と相互作用することを検出した。IRAPのN末端部分はVAMP関連タンパク質A (VAP-AまたはVAP-33)と相互作用することが示された。このタンパク質はA. californica中で細胞内輸送(特に、エクソサイトシスまたは細胞表面への移動に関わっており、ヒトにおいて同様に役割を演じるようである [Skehel et al., 1995; Weir et al., 1998])。

【0102】

該ツ-ハイブリッド系を用いて、本発明者らは、IRAPが3つのタンパク質と相互作用することを検出した。IRAPのN末端部分はもう一つのシグナル変換タンパク質、タンパク質チロシンホスファターゼのゼータポリペプチドと相互作用することが示された。このタンパク質は十分に特徴付けられていないが、グルコース輸送を引き起こすかまたは妨害する重要なタンパク質を脱リン酸化することによってグルコース輸送を調整することにおいて役割を演じ得る [Nishikawa et al., 1998]。IRAPのC末端部分は非赤血球ベータスペクリンと相互作用することが示された。このタンパク質は分泌に関与すると考えられ、IRAPによるGlut4ベシクルの移動において役割を演じ得る [Hu et al., 1992]。IRAPのC末端部分は、該ツ-ハイブリッド系において、ホスファチジルインジトール3 (PI-3) キナーゼのp85レギュレトリーサブユニットと相互作用することも示された。このタンパク質は、細胞シグナル変換における中心的なプレイヤーであり、細胞の外部から内部へのシグナル伝達に参加する。興味深いことに、PI-3キナーゼp85の機能の一つは、インスリン受容体を含む [Martin et al., 1996]。さらに、このキナーゼのインヒビターはGlut4の周期を妨害するので、血漿膜と細胞内部との間のGlut4の移動はPI-3キナーゼシグナル変換経路の作用に依存することがよく知られている。本発明者らは、PI-3キナーゼp85がタンキラーゼと相互作用することも見出した。ツ-ハイブリッド相互作用は、PI-3キナーゼのp110触媒性サブユニットを用いて検出され、これらは、同一酵素複合体のp85およびp55サブユニットとの相互作用、ならびに非サブユニット相互作用を含む。

【0103】

タンパク質ホスファターゼ5 (P P 5) は、いくつかの細胞機能を有するより大きな多重タンパク質複合体の部分らしいタンパク質を含有する T P R ドメインである [Silverstein et al., 1997]。本発明のツーハイブリッド研究は、タンパク質ホスファターゼ5 と H s p 9 0 との間の生化学的相互作用を確認し、これらのタンパク質の会合は生化学的方法を用いて以前に論証されている。本明細書において、該ツーハイブリッド系を用いて、 P P 5 がもう一つの関連するヒートショックタンパク質 H s p 9 0、およびタンキラーゼとも相互作用することも論証された。

【 0 1 0 4 】

ホスファチジルイノシトール - 3 キナーゼは非常に重要なシグナル変換タンパク質であり、 G l u t 4 媒介グルコース摂取において重要な役割を演じるようである [Shankar et al., 1998]。このタンパク質はシグナルを細胞の外部から内部へと伝達することに参加する。それは2つのサブユニット： p 8 5 レギュレトリーサブユニットおよび p 1 1 0 触媒性サブユニットからなり、細胞の外部から内部への信号の伝達を容易にすることによって機能する。 P K - 3 キナーゼは、その機能の一つがインスリン受容体を必要とするので、インスリン調整およびグルコース摂取に関わっている [Martin et al., 1996]。さらに、血漿膜と細胞外部との間の G l u t 4 の移動は該 P I - 3 キナーゼ信号変換経路の作用に依存する。何故ならば、このキナーゼノインヒビターは G l u t 4 の周期を妨害するからである。

【 0 1 0 5 】

P I - 3 キナーゼの p 8 5 レギュレトリーサブユニットは、該ツーハイブリッドアッセイにおいて、いくつかのタンパク質と相互作用することが示された。本明細書において、本発明者らは、 p 8 5 と相互作用し得る5つのさらなるタンパク質の同定を報告する。 S L P - 7 6 は T - 細胞シグナリングに参加するチロシン=リンタンパク質である [Clements et al., 1998; Jackman et al., 1995]。 S L P - 7 6 はいわゆるアダプタータンパク質として作用すると考えられている。何故ならば、それはシグナル変換の中間ステップにおいて役割を演じるからである。これは、血漿膜にて作用する因子と細胞の内部で機能を実行する他の分子

とを架橋することによって達成される。本発明の結果は、SLP-76は、該p85レグレトリーサブユニットに結合するその能力によるPI-3キナーゼシグナル変換経路において重要な役割を演じるであろう。PI-3キナーゼのp85サブユニットは2つのさらなる重要なシグナル変換タンパク質：13-3-3ゼータおよび14-3-3イータに結合することも論証された。これらのタンパク質は、多数のタンパク質中で、ホスホセリン残基に特異的に結合する [Oghira et al., 1997; Thorson et al., 1998; Yaffe et al., 1997]。興味深いことに、本発明の研究は、Glut4グルコース輸送体は14-3-3ゼータにも結合し得ることを示した。かくして、PI-3キナーゼは、該14-3-3シグナル変換タンパク質とのその相互作用により、グルコース摂取メカニズムとも関連する。PI-3キナーゼp85はクロモグラニンC、グラニンファミリーのニューロエンドクリンセクレトリー粒状タンパク質と相互作用することも示されている [Ozawa et al., 1995]。該グラニンファミリーのメンバーは特定化されたセクレトリーベシクルに局在化し、タンパク質選別および分泌において重要な機能を発揮すると考えられる [Leitner et al., 1999]。つまり、TACC2は、該酵母ツーハイブリッドアッセイにおいて、PI-3キナーゼp85と相互作用することが示された。TACC2は、細胞成長制御および癌に関わっている「トランスフォーミングコイルドコイル(transforming coiled coil)」タンパク質のファミリーのメンバーである [Still et al., 1999]。TACC2の機能は分らないままであるが、p85とのその相互作用は、それも重要なシグナル変換経路の部分であることを論証する。

【0106】

このタンパク質のp110サブユニットは、補体タンパク質C4、テナシンXBおよびアルファ酸グルコシダーゼ(GAA)と相互作用することが示されている。補体C4タンパク質は、古典的補体経路を活性化するのにおいてカギとなる役割を演じ、それは好塩基球および肥満細胞からのヒスタミン放出を刺激することに関与する。C4の天然に生じる欠陥は、全身性紅斑エリマトーシス、腎臓病、肝炎、痴呆症のごとき多数の免疫-関連ヒト病気および再発感染についての特性と関連付けられてきた (Nascart-Lemoneら, 1983; Ver

ganiら, 1985; Watersら, 1997; Nerlら, 1984; Lhottaら, 1990)。C4がPI-3キナーゼのp110サブユニットと相互作用するという知見は、C4の機能が、恐らくはいくらかの免疫学的刺激体に応答して、このシグナル変換によって幾分調節されることを示唆する。PI-3キナーゼのp110触媒サブユニットはテナシンXBと相互作用することが示されている。テナシンXBは細胞外構造タンパク質である。テナシンXBの欠損は、結合組織障害エーラー-ダンロス症候群に関連する(Burchら, 1997)。p110がテナシンXBに結合できるというこの知見は、テナシンXBの機能がPI-3キナーゼシグナル変換経路によって修飾または調節し得ることを示唆する。また、PI-3キナーゼp110はGAAまたはアルファ酸グルコシダーゼに結合することが示されている。GAAは、グリコシル化基質からのグルコースの放出を触媒するリソソーム酵素であり、GAAの欠損はグリコーゲン貯蔵疾患をもたらす(Rabenら, 1995)。PI-3キナーゼがGAAに結合できるという知見は、GAA活性がPI-3キナーゼシグナリングメカニズムによって影響され得ることを示唆する。我々の従前の2-ハイブリッド結果は、PI-3キナーゼを糖尿病およびアルツハイマー病のごときヒト疾患に関連付けた。従って、これらの新しい知見は補体タンパク質C4、テナシンXBおよびアルファ酸グルコシダーゼをこれらの疾患ならびにすでに記載した他の疾患に結びつける。

【0107】

このタンパク質のp110サブユニットは、2-ハイブリッドアッセイにおいて甲状腺ホルモン相互作用タンパク質TRIP15と相互作用することが示されている。TRIP15は、細胞シグナリングに関与するらしいシグナルソームと呼ばれる大きなマルチタンパク質複合体の一部である(Seegerら, 1998)。我々の2-ハイブリッド結果は、PI-3キナーゼを糖尿病およびアルツハイマー病のごときヒト疾患に結び付けた。

【0108】

我々は、PI-3キナーゼp110サブユニットと -アミロイド前駆体タンパク質(APP)との相互作用を検出した。簡単に述べると、APP代謝および

A 生成がAD病因に対して中枢的な事象であるいまや増大しつつある証拠がある。APPおよびAD病因のより多くのレビューについてはここに出典明示して本明細書の一部とみなす、1999年12月21日に出願された米国特許出願第09/466、139号および1999年12月21日に出願された国際出願PCT/US99/30396参照。いくつかの候補(カテプシンG、カテプシンD、キノトリプシンその他)が示唆されているが、 β -セクレターゼ酵素は未だ同定されていない。ましてや α -および γ -セクレターゼについては知られていない。プレゼニンおよびAPPプロセッシングの間の生化学的連結は確立されていない。sAPPの神経親和性および神経保護効果を媒介するタンパク質は知られていない。この最後の点は最も重要である。なぜならば、APP代謝の改変は、毒性生成物(A β)の生成およびsAPP親和性活性の損失をもたらす得るからである(Saitohら, 1994; Rochら, 1993; SaitohおよびRoch, 1995)。この点については、アルツハイマー病と関連する1つのAPP突然変異がsAPPの欠陥軸索延長活性をもたらすことは興味深い(Liら, 1997)。さらに、リン酸化カスケードの残りはアルツハイマー病脳でかなり変化している(SaitohおよびRoch, 1995; JinおよびSaitoh, 1995; Mook-JungおよびSaitoh, 1997; Saitohら, 1991; Shapiroら, 1991)。APPはアルツハイマー病の病因で主要な役割を演じると考えられるので、PI-3キナーゼおよびAPPの間の連結の解明は、この神経学的障害についての試料を見出すための新しい標的を提供する(Russoら, 1998)。

【0109】

O-結合N-アセチルグルコサミニルトランスフェラーゼまたはOGTaseは細胞内シグナル変換に関与する酵素である(Kreppelら, 1997)。OGTaseは、グルコース摂取でカギとなる役割を演じ、従って、糖尿病関連経路に参画できると推測されている(Cookseyら, 1999)。OGTaseはミオシン重鎖と相互作用することが示されている。ミオシン重鎖のOGTaseへの結合は、筋肉の構造または機能におけるミオシンの機能が、そのシグナル変換能力においてOGTaseによって影響され得ることを示唆する。これ

は、潜在的に、グルコース輸送を含めた筋肉細胞における多くの細胞プロセスに影響し得る。OGTaseは新規なPN6931と呼ばれるタンパク質に結合することが示されている。PN6931はマウスキネシン軽鎖遺伝子(GenBank受託番号AF055666)と非常に似ている。キネシンは細胞輸送および染色体移動に関連する分子モーターである(Kirchnerら, 1999)。おそらく、この新規なキネシン-様タンパク質を翻訳後に修飾することによってOGTaseはその機能に影響し得る。

【0110】

OGTaseのアミノ酸250ないし450は、14-3-3タンパク質ファミリーのメンバー、14-3-3イプシロンと相互作用することが知られている。該14-3-3タンパク質は、他の非常に重要なシグナリング分子上のホスホセリン残基に特異的に結合することによって細胞内シグナル変換経路で機能する(Ogiharaら, 1997; Yaffeら, 1997)。OGTaseおよび14-3-3イプシロンの間の相互作用を、2つの異なるシグナル変換経路を結びつけるように働くことができ、1つはリン酸化に関与し、第2のものはタンパク質修飾のもう1つのタイプに関連する。

【0111】

OGTaseのアミノ酸250ないし450は2つのタンパク質(アルファ-2カテニンおよびNaf1a)と相互作用することが示されている。アルファ-2カテニンは、カドヘリンへの結合によって細胞-細胞接触で機能するピンクリンに関連するタンパク質である(Rudigerら, 1998)。OGTaseの同一領域はNaf1b(2-ハイブリッドアッセイにおいてHIVのNef遺伝子産物に結合するその能力によって同定されたタンパク質)と相互作用することができる(Fukushiら, 1999)。Naf1の過剰発現は、CD4抗原の細胞表面発現の増加を引き起こすことが観察されており、従って、このタンパク質は細胞内トラフィッキングで機能することができ、潜在的に、糖尿病およびアルツハイマー病のごときこの一般的プロセスに関連する多数の病気に参画し得る。

【0112】

酵母2 - ハイブリッドアッセイを用い、我々は、OGTaseのインターアクターとしてNaf1bを同定した。Naf1bは、2 - ハイブリッドアッセイにおいてHIVのNef遺伝子産物と結合するその能力によって同定されたタンパク質である(Fukushiら, 1999)。Naf1bの過剰発現は、CD4抗原の細胞表面発現の増加を引き起こすことが観察されており、従って、このタンパク質は、細胞内トラフィッキングで機能することもでき、糖尿病およびアルツハイマー病のごときこの一般的プロセスに関連する多数の病気に潜在的に参画し得る。Naf1bをエサとして用いる2 - ハイブリッドサーチにおいて、TRAF - 相互作用タンパク質I - TRAFはインターアクターであることが判明した。I - TRAFは、TNF - 腫瘍壊死因子受容体ファミリーメンバーからのシグナルを伝達するTRAFシグナル変換経路のレギュレーターとして作用するように見える(Rotheら, 1996)。Naf1bがI - TRAFと相互作用するという観察は、グルコース輸送に関与するOGTase経路での細胞外刺激シグナル変換メカニズムを結びつけるように働く。エサとしてNaf1bを用いる2 - ハイブリッドサーチは、PN7582と呼ばれる新規なタンパク質断片を同定した。この小さなタンパク質断片が、公知のタンパク質に対していずれの強力な同様性も有するようには見えず、従って、その機能は容易には明らかとならない。それは、Naf1bとのその会合によってタンパク質トラフィッキングまたはシグナル変換に参画し得る可能性が高い。

【0113】

エサとしてOGTaseを用いる2 - ハイブリッドサーチにおいて、4つの新しいインターアクターが見出された。最初のインターアクターデスミンは、筋肉で見出された細胞質中間体フィラメントタンパク質である(Capetanakisら, 1998)。それは、ミオフィブリルをそれ自体と、および原形質膜と接触させることによって線条筋肉で機能する。デスミンは3つの機能的なドメイン(ヘッド、ロッドおよびテイル)に分解され、OGTaseはロッド構造に結合することができる。OGTaseと相互作用することが示された第2のタンパク質はアルファ - カリオフェリンと呼ばれる。アルファ - カリオフェリン(インポルチンおよびSRP1としても知られる)は、核ポアを通じて核局所化シグナル

- 含有タンパク質を核に輸送するにおいて役割を演じる普遍的に発現されるタンパク質である (Moroiianu, 1997)。OGTaseが結合することが示された第3のタンパク質はグルタニミル-tRNAシンテターゼである。アミノアシル-tRNAシンテターゼはタンパク質合成でカギとなる役割を演じるのみならず、最近の研究は、tRNAプロセッシング、RNAスプライシング、RNAトラフィッキング、アポトーシス、および転写および翻訳調節のごとき多数の他の細胞プロセスにインパクトを与えることが示されている (Martiniisら, 1999)。酵母2-ハイブリッドアッセイでOGTaseに結合することが示された第4のタンパク質はクローン25100と呼ばれ、それは既知の機能を有しない。クローン25100についての遺伝子はヒト幼児の脳から単離され、その機能がよく分かった構造的特徴を有しない小さなタンパク質をコードするように見える。これらのOGTase-相互作用タンパク質の全ての4つはOGTaseについての基質として作用できるか、あるいはいくつかの方法においてその機能に影響し得る。それらがOGTaseと相互作用するという知見は、それらがグルコース輸送または糖尿病の病因において役割を演じ得ることを示唆する。

【0114】

本発明者らの酵母2-ハイブリット研究は、OGTaseが、多数の機能的カテゴリーに入ることができる種々のタンパク質と相互作用できることを示した。小胞輸送に関係付けられてきた2つのタンパク質はOGTaseに結合する。最初のものはBAP31と呼ばれ、それは、細胞内区画の間で膜タンパク質を分類し輸送する非常に重要な役割を果たすようである (Annaertら, 1997)。第2のタンパク質はダイナミンIIと呼ばれ、それは、細胞の内部の部位に原形質膜からの輸送小胞を移動させることに関連付けられる (Sontagra, 1994)。OGTaseは、同様に、転写で機能する2つのタンパク質と相互作用することが示されている。第1のものは初期成長応答タンパク質1につきEGR1と呼ばれ、それは、有糸分裂刺激に続いて細胞で大いに誘導されることが示されている (Sukhatmeら, 1988)。それは亜鉛-フィンガー含有タンパク質であり、それ自身の刺激に続き、有糸分裂および分化に關与する遺伝

子の転写を活性化し続ける。加えて、OGTaseはMOP2（酸素調節遺伝子の誘導に關与する塩基性ラセン-ループ-ラセン含有転写因子）と相互作用することができる（Hogeneschら，1997）。OGTaseはタリンと呼ばれる構造タンパク質に結合する。タリンは、アクチン細胞骨格とでインテグリンを連結するように働く細胞質タンパク質である（Calderwoodら，1999）。最後に、OGTaseは、未知のまたは余り特徴付けされていない機能の5つのタンパク質に結合することが酵母2-ハイブリットアッセイで示されている。OGTaseはInt-6（やはりHTLV-I Taxトランスアクチベーターに結合することが示されているタンパク質）に結合し、それは前骨芽球白血病核体の成分である（Desboisら，1996）。OGTaseはインターフェロン-誘導タンパク質54（アルファ-およびベータ-インターフェロンでの処理に続きその転写体の大きな増加を示す特徴付けされていないタンパク質）に結合する（Levyら，1986）。最後に、HSPC028、KIAA0443およびクローン25100はOGTaseと相互作用する。

【0115】

Aktキナーゼは、インスリン-調節グルコース輸送および非-インスリン依存性糖尿病の発症に關連付けられているセリン/スレオニンプロテインキナーゼである（Krookら，1998）。このリンクのため、Aktキナーゼは、それがAktキナーゼの基質であるゆえに、あるいはそれが該キナーゼのレギュレーターであるゆえに、いかなるタンパク質がそれと相互作用するかを決定するために2-ハイブリッドアッセイで用いられてきた。2つの密接に關連するAktタンパク質が用いられた：Akt1およびそれに密接に關連するファミリー-メンバーAkt2。Akt1およびAkt2は、共に、核細胞分裂装置タンパク質NuMA1と相互作用することが示された。NuMA1は、細胞周期を通じて変化する免疫蛍光染色の區別されるパターンを示す。それは相間を通じて明瞭であるが、細胞分裂の間に紡錘装置に再度局在化する（Lydersenら，1980）。リン酸化はNuMA1機能で非常に重要な役割を演ずると考えられる。それは細胞分裂に丁度先立ってリン酸化され、細胞周期有糸分裂のG1相で有糸分裂が起こった後に脱リン酸化するようである（Sparkesら，1995）。A

k t 1 および A k t 2 は N u M A をリン酸化できる。これは特に、A k t 2 と相互作用する N u M A の領域 (アミノ酸 9 8 ないし 3 6 5) が 2 3 のセリンおよび 9 のスレオニンを含有するからである。また、A k t 2 は、小胞輸送に関与する 2 つのタンパク質と相互作用することが示されている。最初のタンパク質 B A P 3 1 は、膜 - 結合タンパク質のゴルジ装置から原形質膜への移動で役割を演じるようである (A n n a e r t ら , 1 9 9 7) 。 B A P 3 1 は我々の以前の実験で O G T a s e と相互作用することが示されたので、グルコース輸送に関係付けられている 2 つのシグナル変換タンパク質が B A P 3 1 に結び付けられた。A k t 2 は、ベータ - アダプチンまたは A P 2 - ベータと呼ばれるもう 1 の小胞輸送タンパク質に結合することが示されている。ベータ - アダプチンは、クラスリンを連結させ、コートされた小胞に存在する膜貫通受容体に結合する A P 2 コートアセンブリ複合体の一部である (P e a r s e , 1 9 8 9) 。この知見は、エンドサイトーシスの調節における A k t 2 についての役割を示唆し、他方、K k t 2 が B A P 3 1 に結合する知見は、A k t 2 およびエキソサイトーシスの間の結びつきを提供する。A k t キナーゼと相互作用できるタンパク質の全ては、A k t とのその会合によるグルコース輸送で役割を演じ得る。

【 0 1 1 6 】

P T P 1 b は、シグナル変換で非常に重要な役割を演じるタンパク質チロシンホスファターゼである。それは、インスリン - 応答性グルコース輸送の陰性レギュレーターとして関連付けられており (C h e n ら , 1 9 9 7) 、従って、それは、おそらくは基質として作用することによって、その機能に関与するより多くのタンパク質を見出す試みにおいて酵母 2 - ハイブリッドアッセイで用いられてきた。P T B 1 b は V A M P - 会合プロテイン A (V A P - A または V A P - 3 3) と相互作用することが知られている。このタンパク質は A . c a l i f o r n i c a において細胞内輸送 (特に、エキソサイトーシスおよび細胞表面への移動) と関連付けられており、ヒトにおいて同様の役割を演じるようである (S k e h e l ら , 1 9 9 5 ; v e i r ら , 1 9 9 8) 。 P T P 1 b および V A P - A の間の相互作用は P T P 1 b および I R A P の間の可能な結びつきとして働く。というのは、I R A P は 2 - ハイブリッド実験において V A P - A に結合する

ことが示されているからである。(vp165、gp160およびオキシトシナーゼとしても知られている)IRAP(インスリン-調節膜-スパンニングアミノペプチダーゼは、特定の細胞封入体小胞でのGlut4輸送体と共に局在化する(Kellerら,1995;Malideら,1997)。IRAPのN-末端断片の発現はGlut4の原形質膜への移動をもたらすことが示されているので、IRAPはグルコース輸送でカギとなる役割を果たすと考えられる(Watersら,1997)。かくして、PTP1bがVAP-Aと相互作用するという結果は、グルコース輸送および糖尿病に対するPTP1bおよびVAP-Aの間の結びつきを強化するように働く。

【0117】

小さなGTP-結合タンパク質Rab4は、インスリン-刺激グルコース摂取の調節に関連付けられているもう1つのシグナル変換因子である(Vollenweiderら,1997;Cormontら,1996)。従って、Rab4は、グルコース輸送および糖尿病に関与するさらなるタンパク質を見出すために酵母2-ハイブリッドアッセイで用いられてきた。2つのタンパク質がRab4に結合することが示されている(アルファ-カテニン-様タンパク質(時々、アルファ-カツリンと呼ばれる)およびRab2と呼ばれるもう1つの小さなGTP-結合タンパク質)。該アルファ-カテニン-様タンパク質はアルファ-カテニンおよびピンクリンと似ているが、その機能はいまだよく特徴付けされていない(Janssensら,1999)。アルファ-カテニンそれ自体は、カドヘリンへの結合によって細胞-細胞接触で機能するピンクリンに関連するタンパク質である(Rudingerら,1998)。興味深いことには、アルファ-カテニンは、我々の従前の研究では、OGTaseに結合することが見出されており、その結果、グルコース輸送に関連付けられた。Rab4に結合することが示されている第2のタンパク質はRab2である。これらの2つの小さなGTP-結合タンパク質が、50%アミノ酸同一性を持って高度に関連付けられている。Rab4とは異なり、Rab2はインスリン-刺激グルコース輸送で役割を演じると考えられていない(Uphuesら,1994)、それは細胞において小胞輸送で重要な役割を演じる(Tisdaleら,1998)。Rab4およびR

a b 2 が相互作用するという知見は、それらが他の細胞機能に影響でき、かくして、R a b 2 が、潜在的に、グルコース輸送においてR a b 4 の役割に影響し得ることを示唆する。

【0118】

本発明で開示されたタンパク質は、酵母2 - ハイブリッド系においてその対応するタンパク質と相互作用することが判明した。ここに開示する生理学的経路における対応するタンパク質の関与のため、ここに開示するタンパク質は同一の生理学的経路に参画する。従って、本発明は、生理学的経路で有用な診断および治療ツールの開発のためのこれらのタンパク質およびこれらのタンパク質をコードするDNAの使用のリストを提供する。このリストは、限定されるものではない、以下の例を含む。

2 - ハイブリッド系

【0119】

酵母2 - ハイブリッド系の原理および方法は、詳細に記載されている。例えば、BartelおよびFields, 1997; Bartelら, 1993; FieldsおよびSong, 1989; CheverおよびNathans, 1992)。以下は、注目するタンパク質と相互作用するタンパク質を同定するためのこの系の使用の記載である。

標的タンパク質は、酵母Gal4tのDNA - 結合ドメインに対する融合として酵母で発現される。標的タンパク質またはこのタンパク質の断片をコードするDNAはPCRによってcDNAから増幅されるか、あるいは利用可能なクローンから調製される。得られたDNA断片は、Gal4pおよび標的タンパク質配列の間のイン・フレーム融合が生じるように、DNA - 結合ドメインベクター（例えば、pGBT9、pGBT.C、pAS2 - 1）への連結または組換えによってクローンされる。

【0120】

標的遺伝子構築体は、形質転換によってハプロイド酵母株に導入される。活性化ドメイン融合のライブラリー（すなわち、活性化ドメインベクターにクローン

された成人の脳 cDNA) は、反対の接合タイプのハプロイド酵母株への形質転換によって導入される。活性化ドメイン構築体を担う酵母株は、その発現をモニターすることができる 1 以上の Gal4p - 応答性レポーター遺伝子を含有する。いくつかの酵母レポーター株の例は Y190、PJ69 および CBY14a を含む。標的遺伝子構築体を担う酵母のアリコットを、活性化ドメインライブラリーを担う酵母のアリコットと合わせる。2 つの酵母株は接合してジプロイド酵母を形成し、それを、1 以上の Gal4p - 応答性レポーター遺伝子の発現につき選択する培地上で平板培養する。インキュベーションの後に生じたコロニーを、さらなる特徴付けのために選択する。

【0121】

活性化ドメインプラスミドは、2 - ハイブリッドサーチで得られた各コロニーから単離する。この構築体中のインサートの配列は、ジデオキシヌクレオチド鎖停止法によって得られる。配列情報を用いて、公表されたヌクレオチドおよびタンパク質データベースの解析を介して、活性化ドメインインサートによってコードされた遺伝子 / タンパク質を同定する。活性化ドメイン融合の標的タンパク質との相互作用は、相互作用の特異性につきテストすることによって確認される。元の標的タンパク質構築体または種々の他の DNA - 結合ドメイン構築体いずれかを持つ酵母レポーター株に、活性化ドメイン構築体を共形質転換する。標的タンパク質の存在下における、しかしながら他のテストタンパク質のないレポーター遺伝子の発現は、相互作用は、真性なものであることを示す。

【0122】

酵母 2 - ハイブリッド系に加えて、タンパク質 - タンパク質相互作用の発見または検出に他の遺伝子方法を利用できる。例えば、酵母 2 - ハイブリッド系と同一原理で作動する哺乳動物 2 - ハイブリッド系が商業的に入手可能である (Clontech, Inc.) 酵母レポーター株を形質転換するに代えて DNA - 結合および活性化ドメイン融合をコードするプラスミドを適当なレポーター遺伝子 (例えば、lacZ) と共に哺乳動物組織培養細胞系にトランスフェクトする *Saccharomyces Cerevisiae* Gal4p のごとき転写因子は種々の異なる真核生物細胞型で機能するので、真核生物起源の実質的にいず

れの細胞系（例えば、昆虫細胞（SF9、菌類細胞、虫細胞）においても2-ハイブリッドアッセイを行うことができるであろうと予測される）。タンパク質-タンパク質相互作用の検出のための他の遺伝子系はいわゆるSOS動因系を含む（Aronheinら, 1997）。

【0123】

タンパク質-タンパク質相互作用

タンパク質相互作用は、酵母2-ハイブリッド系、アフィニティークロマトグラフィー、共免疫沈澱系、細胞下分画および大きな分子複合体の単離を含めた種々の系で検出された。これらの方法の各々はよく特徴付けされており、当業者によって容易に実施できる。ここに出典明示して本明細書の一部とみなす米国特許第4,622,852号および第4,773,218号、PCT公開出願WO97/27296およびPCT公開出願WO99/65939参照。

【0124】

注目するタンパク質（またはその相互作用ドメイン）は真核生物または原核生物系で生産させることができる。所望のタンパク質をコードするcDNAを適当な発現ベクターに導入し、（細菌、酵母細胞、昆虫細胞、または哺乳動物細胞でありうる）宿主細胞にトランスフェクトする。発現されたタンパク質の精製は、当業者によく知られた慣用的生化学および免疫化学方法によって達成される。次いで、精製されたタンパク質をアフィニティークロマトグラフィー実験で用い、それをマトリックスに固定化し、カラムに負荷する。培養された細胞またはホモゲナイズした組織試料からの抽出物を、次いで、適当な緩衝液にてカラムに負荷し、非結合タンパク質を溶出させる。徹底的に洗浄した後、pHのグラジエントまたは塩濃度のグラジエントのごとき種々の方法を用い、結合タンパク質またはタンパク質複合体を溶出させる。次いで、溶出したタンパク質を2次元ゲル電気泳動によって分離し、ゲルから溶出させ、マイクロ-配列決定によって同定することができる。また、ここに開示した相互作用タンパク質を精製するためにアフィニティークロマトグラフィーで該精製されたタンパク質を用いることもできる。これらの方法の全ては当業者によく知られている。

【0125】

同様に、注目する複合体の双方のタンパク質（または相互作用ドメイン）を真核生物または原核生物系で生産することができる。タンパク質（相互作用ドメイン）は、別々のプロモーター制御下に置くことができるが、あるいは融合タンパク質として生産することもできる。融合タンパク質は、1つの具体例において、タンパク質（または相互作用ドメイン）の相互作用を促進するように働くタンパク質または相互作用ドメインの間のペプチドリッカーを含むことができる。これらの方法の全ては当業者によく知られている。

【0126】

また、注目する精製タンパク質を個々に、または複合体を用いて、ウサギ、マウス、ラット、ニワトリ、ヤギ、ヒツジ、ブタ、モルモット、ウトおよびウマにおいて抗体を生じさせることができる。抗体の生成および特徴づけで用いる方法は当業者によく知られている。モノクローナル抗体は慣用的技術によって生じる。慣用的技術によって一本鎖抗体がさらに生産される。

【0127】

注目するタンパク質をコードするDNA分子を適当な発現ベクターに挿入し、当業者によく知られた方法に従い細菌、酵母、昆虫細胞または哺乳動物細胞のごとき真核生物細胞のトランスフェクションで用いることができる。次いで、注目する両タンパク質を発現するトランスフェクトされた細胞を適当な条件で溶解させ、2つのタンパク質の1つを特異的抗体を用いて免疫沈澱させ、ポリアクリルアミドゲル電気泳動によって分析する。（共免疫沈澱した）結合タンパク質の存在は、他のタンパク質に向けられた抗体を用いる免疫ブロッティングによって検出される。共免疫沈澱は当業者によく知られた方法である。

【0128】

トランスフェクトされた真核生物細胞または生物学的組織試料をホモゲナイズし、異なる細胞成分を分離する適当な条件で分画する。典型的には、細胞溶解物をスクロースグラジエント、サイズおよび密度に基づいて、細胞成分を分離する他の物質で泳動させる。免疫ブロッティングまたは免疫沈澱方法を用い、細胞下分画を、適当な抗体にて注目するタンパク質の存在につき分析する。これらの方法は当業者によく知られている。

【0129】

タンパク質 - タンパク質相互作用の破壊

タンパク質 - タンパク質相互作用を破壊する剤は、N I D D M、A Dおよび他のここに開示されたものを含めた多くの生理学的障害で有益でありうるが、それらに限定されるものではない。陽性タンパク質 - タンパク質相互作用の検出につき前記した方法の各々を用いて、該相互作用を破壊するであろう薬物を同定することができる。その例として、注目するタンパク質をコードするDNAでトランスフェクトされた細胞を種々の薬物で処理することができ、共免疫沈澱を行うことができる。別法として、逆酵母2 - ハイブリット系 (L e a n n a および H a n n i n k , 1 9 9 6) と呼ばれる酵母2 - ハイブリット系の誘導体を用いることができる。但し、2つのタンパク質はまっすぐな酵母2 - ハイブリット系で相互作用をするものとする。

【0130】

タンパク質 - タンパク質相互作用の変調

本明細書中に記載した相互作用は生理学的経路に関与するので、相互作用変調することができる剤の同定は、生理学的障害を追跡するか、あるいは治療剤の開発のためのリード化合物として使用するのに用いることができる剤を提供するであろう。剤は相互作用タンパク質の遺伝子の発現を変調することができ、かくして、タンパク質の相互作用に影響する。別法として、該剤はタンパク質の相互作用を変調することができる。該剤は、野生型タンパク質と野生型タンパク質との突然変異体タンパク質との、あるいは突然変異体タンパク質と突然変異タンパク質との相互作用を変調することができる。その各々を出典明示して本明細書の一部とみなす、米国特許第5,622,852号および第5,773,218号、PCT公開出願WO97/27296およびPCT公開出願WO99/65939に開示されたごとき当業者によく知られた技術によって、トランスフェクトされた宿主細胞、細胞系、細胞モデルまたは動物を用いて剤をテストすることができる。剤の変調効果はイン・ビボまたはイン・ビトロでスクリーニングすることができる。剤をスクリーニングする方法の例は、剤がタンパク質複合体の形成に対して有する効果を測定することである。

【0131】

突然変異スクリーニング

本発明で開示するタンパク質は、N I D D MまたはA Dにおけるごとき、生理学的経路に関与することが知られている1以上のタンパク質と相互作用する。相互作用タンパク質における突然変異は、例えば、タンパク質 - タンパク質相互作用の修飾、または酵素活性の修飾、受容体活性の修飾を介して、あるいは未知のメカニズムを介してM I D D MまたはA Dのごとき生理学的障害の発症に関与する。従って、突然変異は、インスリンおよび非 - 影響対照ごとき生理学的障害を有する患者において注目するタンパク質についての遺伝子を配列決定することによって見出すことができる。特に、生理学的経路中のタンパク質相互作用に関与する遺伝子のその部分における、これらの遺伝子の突然変異は診断ツールとして用いることができ、突然変異を理解するメカニズムは治療ツールを開発するのに助けることができる。

【0132】

危険性のある個体についてのスクリーニング

個体をスクリーニングして、本明細書中に開示されたタンパク質中の突然変異につきスクリーニングすることによって危険性のある個体をスクリーニングすることができ、前記したごとく、同定することができる。別法として、個体は、天然複合体を形成するここに開示した該個体のタンパク質の能力を分析することによってスクリーニングすることができる。さらに、個体は、複合体または複合体の個々のタンパク質あるいは複合体のタンパク質メンバーをコードするm R N Aのレベルを分析することによってスクリーニングすることができる。前記したものを含めた複合体の形成を検出する技術は当業者によく知られている。突然変異を検出する技術および方法は当業者によく知られている。複合体タンパク質またはm R N Aのレベルを検出する技術は当業者によく知られている。

【0133】

生理学的障害の細胞モデル

多くの生理学的障害または疾患の多数の細胞モデルは作成されている。これらのモデルの存在および使用は当業者によく知られている。その例として、注目の

るタンパク質（野生型タンパク質または突然変異タンパク質）をコードする発現ベクターで、初代細胞培養または確立された細胞系を確立された細胞系をトランスフェクトすることができる。その特定の生理学的障害または疾患に関連するパラメーターに対する本明細書中に開示されたタンパク質の効果は容易に測定することができる。さらに、これらの細胞系を用いて、それらのパラメーターに影響し、かくして、特定の生理学的障害または疾患のための優れた治療ツールとなるであろう薬物をスクリーニングすることができる。別法として、注目するタンパク質をコードするDNAをトランスフェクトする代わりに、注目する精製されたタンパク質を、調査中の細胞の培地に添加し、関連パラメーターを測定することができる。

【0134】

動物モデル

注目するタンパク質をコードするDNAを用いて、野生型または突然変異体配列を持つ、該タンパク質を過剰発現する動物（そのような動物を「トランスジェニック」という）、または、天然遺伝子を発現しないが、第2の動物の遺伝子を発現する動物（「トランス置換」という）、または該タンパク質を発現しない動物（「ノックアウト」という）を作出することができる。該ノックアウト動物は、遺伝子が所定の時点でノックアウトされる動物でありうるトランスジェニック、トランス置換およびノックアウト動物の作出（正常および条件付き）は、当業者によく知られた方法を用いる。

【0135】

これらの動物において、特定の生理学的障害に関連するパラメーターを、測定することができる。これらのパラメーターは、受容体機能、イン・ビボまたはイン・ビトロでのタンパク質分泌、培養された細胞の生存率、組織ホモゲネート中の特定のタンパク質の濃度、シグナル変換、挙動解析、タンパク質合成、細胞周期調節、細胞もしくは核膜を横切る化合物の輸送、酵素活性、酸化的ストレス、病理学的産物の生産などを含むことができる。生化学的および病理学的パラメーターで挙動パラメーターの測定は、適切であれば、当業者に良く知られた方法を用いて、行われる。これらのトランスジェニック、トランス置換およびノックア

ウト動物を用いて、調べるべき特定の生理学的障害に関連する生化学的、病理学のおよび挙動パラメーターに影響しうる薬物をスクリーニングすることもできる。細胞系は、生理学的障害の細胞モデルとして、または薬物スクリーニングにおいて用いられるこれらの動物に由来することができる。

【0136】

合理的薬物デザイン

合理的薬物デザインの目標は、例えば、ポリペプチドのより活性または安定な形態であり、または例えば、イン・ビボでポリペプチドの機能を増強し、またはそれに干渉する薬物を作成するために、それらが相互作用する注目する生物学的活性ポリペプチドまたは小分子の構造的アナログ（例えば、アゴニスト、アンタゴニスト、阻害剤）を作成することにある。合理的薬物デザインで用いるいくつかのアプローチは、三次元構造の解析、アラニン走査、分子モデリングおよび抗-id抗体の使用を含む。これらの技術は当業者によく知られている。

【0137】

ポリペプチド活性を変調し、またはそれに影響する物質の同定に続き、該物質をさらに調べることができる。さらに、それを製造しおよび/または調製、すなわち、医薬、医薬組成物、または薬物のごとき製造または処方、あるいは組成物で用いることができ、これらは、個体に投与することができる。ポリペプチド機能のモジュレーターと同定された物質は、天然のペプチドまたは非-ペプチドである。非-ペプチド「小分子」は、しばしば、多くのイン・ビボ医薬用途で好ましい。従って、物質（特にそれがペプチドであれば）のミメティックまたはミミックを医薬用途でデザインすることができる。

【0138】

公知の医薬上活性な化合物に対するミメティックスのデザインは、「リード」化合物に基づく医薬の開発に対する既知のアプローチである。このアプローチは、活性化合物が合成するのに困難であるかまたは費用がかかる場合、あるいは、特定の投与方法にそれが不適切である、例えば、それが消化管中でによって迅速に分解する傾向があるので純粋なペプチドが経口組成物で不適切な活性剤である場合に望ましい。ミメティックのデザイン、合成およびテストは、一般に、標的

特性につき非常に多数の分子をランダムにスクリーニングするのを回避するのに用いられる。

【0139】

一旦ファルマコフォアが見出されれば、その物理的特性、例えば、立体化学結合、サイズおよび/または電荷に従い、ある範囲の源、例えば、分光技術、x-線回折データおよびNMRからのデータを用い、その構造がモデリングされる。コンピュータ解析、同源性マッピング、(原子間の結合よりはむしろ、ファルマコフォアの電荷および/または陽性をモデリングする)および他の技術をこのモデリングプロセスで用いることができる。

【0140】

次いで、ファルマコフォアを模倣する化学基を植えることができる鑄型分子を選択すれば、鑄型分子およびそれに植えた化学基を、便利には、リード化合物の生物学的活性を保持しつつ、該ミメティックが合成するのに容易であり、薬理的に許容されるようであり、かつイン・ビトロ分解しないように選択することができる。別法として、ミメティックがペプチド-ベースである場合、当該ペプチドを環化し、その剛性を強化させる事によってさらなる安定性を達成することができる。次いで、このアプローチによって見出されたミメティックまたは複数ミメティックを、それが標的特性を有するが否かあるいはどの程度までそれが示されるかを見るためにスクリーニングすることができる。次いで、さらなる最適化または修飾を行ってイン・ビボまたは臨床テストのために1つ以上の最終ミメティックに到達することができる。

【0141】

診断アッセイ

本明細書中に開示した相互作用の同定は、生理学的障害の素因またはその存在を測定するのに用いることができる診断アッセイおよびキットの開発を可能とする。1つの態様において、相互作用のタンパク質のうちの1つを用いて、細胞抽出物または生物学的流体中の「正常」第2タンパク質(すなわち、第1のタンパク質と相互作用するその能力に関して正常)の存在を検出し、さらに、所望であれば、抽出物または生物学的流体中の第2のタンパク質の量的レベルを検出する

。「正常」第2タンパク質の不存在は、生理学的障害の素因または存在を示すであろう。第2の態様においてタンパク質複合体に対応する抗体を用いて、タンパク質複合体の存在および/または量的レベルを検出する。タンパク質複合体の不存在は、生理学的障害の素因または存在を示すであろう。

【0142】

実施例

以下の実施例で本発明をさらに詳細に記載するが、それは例示のために掲げるのであり、断じて本発明を限定する意図のものではない。当該分野でよく知られて標準的技術または以下に特記する技術を利用する。

【0143】

実施例1

酵母ツーハイブリッド系

酵母ツーハイブリッド系の原理および方法は、詳細に記載されている (Bartel およびField, 1997)。したがって、下記するものは、全てのタンパク質に適用した、用いた特定の手法の記載である。

バイト・タンパク質をコードするcDNAを脳cDNAからPCRによって作製した。ベクターpGBTQへの組換えを許容する5'末端に適当なテイルが付加された遺伝子特異的プライマーを合成した。前進プライマー用のテイルは、5'-GCAGGAAACAGCTATGACCATACAGTCAGCGCCGCCACC-3' (配列番号: 1) であって、逆進プライマー用のテイルは、5'-ACGCCAGTCGCGTGGAGTGTATGTCATGCGCCGCTA-3' (配列番号: 2) であった。ついで、テイル付加PCR産物を組換えによって酵母発現ベクターpGBTQに導入し、それはポリリンカー部位がM13シーケンシング部位を含むように改変されたpGBTc (Bartelら, 1996) の近い誘導体である。トリプトファン合成を作用するその能力につき、新たな構築物を酵母J693中で直接的に選抜した (この株の遺伝子型: Mat⁻, ade2, his3, leu2, trp1, URA3::GAL1-lacZ LYS2::GAL1-HIS3 gal4del gal80del cyhR2)。これらの酵母細胞中で、バイトは転写因子Gal4のDNA結合ドメイン (アミノ酸1-147) を有するC-末端融合タンパク質として産生される。酵母発現ベクターpACT2にクローン化した全ヒト脳 (37歳男性、カフカス人) のcDNAライ

ブラリーを、Clontech社から購入し（ヒト脳MATCHMAKER cDNA, カタログ番号HL4004AH）、酵母株J692（この株の遺伝子型：Mat a, ade2, his3, leu2, trp1, URA3::GAL1-lacZ LYS2::GAL1-HIS3 gal4del gal80del cyhR2）に形質転換し、ロイシン合成を作動する能力について選抜した。これらの酵母細胞において、各cDNAは転写因子Gal4の転写活性化ドメイン（アミノ酸768 - 881）および9アミノ酸のヘマグルチニン・エピトープタグを有する融合タンパク質として発現される。ついで、バイトを発現しているJ693細胞（Mat 型）を、脳ライブラリーからのタンパク質を発現しているJ692細胞（Mat a型）と接合させた。得られた、バイト・タンパク質と相互作用するタンパク質を発現しているディプロイド酵母細胞は、トリプトファン、ロイシン、ヒスチジンおよび - ガラクトシダーゼを合成する能力について選抜した。DNAを各クローンから調製し、エレクトロポレーションによってE.coli株KC8（Clontech社製KC8エレクトロコンピテントセル(electrocompetent cell), カタログ番号C2023-1）に形質転換し、細胞をトリプトファン（バイト・プラスミドについて選抜）またはロイシン（脳ライブラリー・プラスミドについて選抜）のいずれかを含まない、アンピシリン含有プレート上で選抜した。双方のプラスミド用のDNAを調製し、ジデオキシヌクレオチド鎖停止法によって配列決定した。バイトcDNAインサートの同一性を確認し、脳ライブラリー・プラスミドからのcDNAインサートを、公共ヌクレオチドおよびタンパク質データベースに対するBLASTプログラムを用いて同定した。ついで、脳ライブラリーからのプラスミド（プレイ）を、Gal4DNA結合ドメインに融合したラミンの合成を作動するプラスミドと一緒に酵母細胞に個々に形質転換した。 - ガラクトシダーゼアッセイ後にポジティブ・シグナルを供するクローンは偽ポジティブとみなして破棄した。残りのクローンについてのプラスミドを、元のバイト用のプラスミドと一緒に酵母細胞に形質転換した。 - ガラクトシダーゼアッセイ後にポジティブ・シグナルを供するクローンを真のポジティブとみなした。

【0144】

実施例2

Glut4 - CARP相互作用の同定

バイトとしてG l u t 4 (Swiss Protein (SP) 受入番号P14672) のアミノ酸 4 6 3 - 5 0 9 を用いて実施例 1 に記載した酵母ツーハイブリッド系を行った。この手法によって同定した 1 のクローンは、C A R P (GenBank(GB) 受入番号X83703) のヌクレオチド 3 1 2 - 1 1 5 5 によってコードされたアミノ酸を含んでいた。

【 0 1 4 5 】

実施例 3

G L U T 1 - D R A L (F H L 2) 相互作用の同定

バイトとしてG l u t 1 (SP受入番号P11166) のアミノ酸 4 4 8 - 4 9 2 を用いて実施例 1 に記載した酵母ツーハイブリッド系を行った。この手法によって同定した 1 のクローンは、D R A L (F H L 2) (SP受入番号Q13229) のアミノ酸 1 - 2 7 9 を含んでいた。

【 0 1 4 6 】

実施例 4

G L U T 1 - ミオシン重鎖相互作用の同定

バイトとしてG l u t 1 (SP受入番号P11166) のアミノ酸 4 4 8 - 4 9 2 を用いて実施例 1 に記載した酵母ツーハイブリッド系を行った。この手法によって同定した 1 のクローンは、ミオシン重鎖 (SP受入番号P13533) のアミノ酸 1 5 8 9 - 1 9 0 9 を含んでいた。

【 0 1 4 7 】

実施例 5

G L U T 1 - H S S 相互作用の同定

バイトとしてG l u t 1 (SP受入番号P11166) のアミノ酸 4 4 8 - 4 9 2 を用いて実施例 1 に記載した酵母ツーハイブリッド系を行った。この手法によって同定した 1 のクローンは、H S S (GB受入番号X91879) のヌクレオチド 1 - ? によってコードされたアミノ酸を含んでいた。

【 0 1 4 8 】

実施例 6

O G T 酵素 - ミオシン重鎖相互作用の同定

バイトとしてO G T酵素(GB受入番号U77413)のヌクレオチド1016-1349によってコードされたアミノ酸を用いて実施例1に記載した酵母ツーハイブリッド系を行った。この手法によって同定した1のクローンは、ミオシン重鎖(GB受入番号AF111785)のヌクレオチド1173-2283によってコードされたアミノ酸を含んでいた。

【0149】

実施例7

I R A P - 14-3-3ベータ相互作用の同定

バイトとしてI R A P(GB受入番号U62768)のヌクレオチド449-880によってコードされたアミノ酸を用いて実施例1に記載した酵母ツーハイブリッド系を行った。この手法によって同定した1のクローンは、14-3-3ベータ(SP受入番号P31946)のアミノ酸97-236を含んでいた。

【0150】

実施例8

I R A P - H S S相互作用の同定

バイトとしてI R A P(GB受入番号U62768)のヌクレオチド62-880によってコードされたアミノ酸を用いて実施例1に記載した酵母ツーハイブリッド系を行った。この手法によって同定した1のクローンは、H S S(GB受入番号X91879)のヌクレオチド726-1446によってコードされたアミノ酸を含んでいた。

【0151】

実施例9

P I - 3 K 1 1 0 - 補体タンパクC4相互作用の同定

バイトとしてP I - 3キナーゼp110サブユニット(SP受入番号P42338)のアミノ酸1-300を用いて実施例1に記載した酵母ツーハイブリッド系を行った。この手法によって同定した1のクローンは、補体タンパクC4(SP受入番号P01028)のアミノ酸1056-1277を含んでいた。

【0152】

実施例10

P I - 3 K 1 1 0 - テネイシン X B 相互作用の同定

バイトとして P I - 3 キナーゼ p 1 1 0 サブユニット (SP受入番号P42338) のアミノ酸 1 - 3 0 0 を用いて実施例 1 に記載した酵母ツーハイブリッド系を行った。この手法によって同定した 1 のクローンは、テネイシン X B (SP受入番号P78530) のアミノ酸 3 5 7 3 - 3 7 8 7 を含んでいた。

【 0 1 5 3 】

実施例 1 1

P I - 3 K 1 1 0 - G A A 相互作用の同定

バイトとして P I - 3 キナーゼ p 1 1 0 サブユニット (SP受入番号P42338) のアミノ酸 1 - 3 0 0 を用いて実施例 1 に記載した酵母ツーハイブリッド系を行った。この手法によって同定した 1 のクローンは、G A A (SP受入番号P10253) のアミノ酸 5 1 3 - ? を含んでいた。

【 0 1 5 4 】

実施例 1 2

M M - 1 - C - N a p 1 相互作用の同定

バイトとして M M - 1 (SP受入番号Q99471) のアミノ酸 2 7 - 1 7 5 を用いて実施例 1 に記載した酵母ツーハイブリッド系を行った。この手法によって同定した 1 のクローンは、C - N a p 1 (GB受入番号AF049105) のヌクレオチド 1 5 0 8 - 1 9 4 9 によってコードされたアミノ酸を含んでいた。

【 0 1 5 5 】

実施例 1 3

M M - 1 - ベータスペクトリン相互作用の同定

バイトとして M M - 1 (SP受入番号Q99471) のアミノ酸 1 - 1 7 5 を用いて実施例 1 に記載した酵母ツーハイブリッド系を行った。この手法によって同定した 1 のクローンは、ベータスペクトリン (SP受入番号Q01082) のアミノ酸 1 5 4 5 - 1 7 8 9 を含んでいた。

【 0 1 5 6 】

実施例 1 4

M M - 1 - K I A A 0 4 7 7 相互作用の同定

バイトとしてMM-1 (SP受入番号Q99471) のアミノ酸27-175を用いて実施例1に記載した酵母ツーハイブリッド系を行った。この手法によって同定した1のクローンは、K I A A 0 4 7 7 (GB受入番号AB007946) のヌクレオチド2448-3207によってコードされたアミノ酸を含んでいた。

【0157】

実施例15

ダイナミン - C A L M相互作用の同定

バイトとしてダイナミン (SP受入番号Q05193) のアミノ酸250-700を用いて実施例1に記載した酵母ツーハイブリッド系を行った。この手法によって同定した1のクローンは、C A L M (GB受入番号U45976) のヌクレオチド948-1599によってコードされたアミノ酸を含んでいた。

【0158】

実施例16

ダイナミン - P s m e 3相互作用の同定

バイトとしてダイナミン (SP受入番号Q05193) のアミノ酸250-700を用いて実施例1に記載した酵母ツーハイブリッド系を行った。この手法によって同定した1のクローンは、P s m e 3 (GB受入番号U11292) のヌクレオチド378-966によってコードされたアミノ酸を含んでいた。

【0159】

実施例17

N a f 1 b - I - T R A F相互作用の同定

バイトとしてN a f 1 b (GB受入番号Q05193) のヌクレオチド590-1610によってコードされたアミノ酸を用いて実施例1に記載した酵母ツーハイブリッド系を行った。この手法によって同定した1のクローンは、I - T R A F (GB受入番号U59863) のヌクレオチド209-1420によってコードされたアミノ酸を含んでいた。

【0160】

実施例18

A k t 1 - N u M A 1相互作用の同定

バイトとしてAkt1 (SP受入番号P31749) のアミノ酸1-118を用いて実施例1に記載した酵母ツーハイブリッド系を行った。この手法によって同定した1のクローンは、NuMA1 (GB受入番号Z11584) のヌクレオチド813-1341によってコードされたアミノ酸を含んでいた。

【0161】

実施例19

Akt2 - NuMA1相互作用の同定

バイトとしてAkt2 (SP受入番号P31751) のアミノ酸1-152を用いて実施例1に記載した酵母ツーハイブリッド系を行った。この手法によって同定した1のクローンは、NuMA1 (GB受入番号Z11584) のヌクレオチド552-1353によってコードされたアミノ酸を含んでいた。

【0162】

実施例20

Akt2 / BAP31相互作用の同定

バイトとして、Akt2 (GB受入番号 M95936) のヌクレオチド915-1311によってコード化されるアミノ酸を使用して、実施例1に記載した酵母ツーハイブリッド系を行なった。この手法によって同定した1のクローンは、BAP31 (GB受入番号 NM00574) のヌクレオチド469-877によってコード化されるアミノ酸を含んでいた。

【0163】

実施例21

Akt2 / ベータアダプチン相互作用の同定

バイトとして、Akt2 (GB受入番号 M95936) のヌクレオチド915-1311によってコード化されるアミノ酸を使用して、実施例1に記載した酵母ツーハイブリッド系を行なった。この手法によって同定した1のクローンは、ベータアダプチン (SP受入番号 P21851) のアミノ酸214-594を含んでいた。

【0164】

実施例22

OGターゼ / デスミン相互作用の同定

バイトとして、OGターゼ(GB受入番号 U77413)のヌクレオチド1016-1349によってコード化されるアミノ酸を使用して、実施例1に記載した酵母ツ-ハイブリッド系を行なった。この手法によって同定した1のクローンは、デスミン(SP受入番号 P17661)のアミノ酸219-449を含んでいた。

【0165】

実施例23

OGターゼ/アルファ-カリオフェリン相互作用の同定

バイトとして、OGターゼ(GB受入番号 U77413)のヌクレオチド1016-1349によってコード化されるアミノ酸を使用して、実施例1に記載した酵母ツ-ハイブリッド系を行なった。この手法によって同定した1のクローンは、アルファ-カリオフェリン(SP受入番号 P52294)のアミノ酸152-444を含んでいた。

【0166】

実施例24

OGターゼ/グルタミニルtRNAシンテターゼ相互作用の同定

バイトとして、OGターゼ(GB受入番号 U77413)のヌクレオチド1016-1349によってコード化されるアミノ酸を使用して、実施例1に記載した酵母ツ-ハイブリッド系を行なった。この手法によって同定した1のクローンは、グルタミニルtRNAシンテターゼ(SP受入番号 P47897)のアミノ酸36-161を含んでいた。

【0167】

実施例25

OGターゼ/クローン25100相互作用の同定

バイトとして、OGターゼ(GB受入番号 U77413)のヌクレオチド1016-1349によってコード化されるアミノ酸を使用して、実施例1に記載した酵母ツ-ハイブリッド系を行なった。この手法によって同定した1のクローンは、クローン25100(GB受入番号 AF131780)のアミノ酸11-338を含んでいた。

【0168】

実施例26

P T P 1 b / V A P - A相互作用の同定

バイトとして、P T P 1 b (SP受入番号 P18031)のアミノ酸280 - 436を使用して、実施例1に記載した酵母ツーハイブリッド系を行なった。この手法によって同定した1のクローンは、V A P - A (GB受入番号 AF086627)のヌクレオチド9 - ?によってコード化されるアミノ酸を含んでいた。

【0169】

実施例27

R a b 4 / アルファ - カテニン様タンパク質相互作用の同定

バイトとして、R a b 4 (SP受入番号 P20338)のアミノ酸1 - 214を使用して、実施例1に記載した酵母ツーハイブリッド系を行なった。この手法によって同定した1のクローンは、アルファ - カテニン様タンパク質(GB受入番号 U97067)のヌクレオチド1573 - 1987によってコード化されるアミノ酸を含んでいた。

【0170】

実施例28

R a b 4 / R a b 2相互作用の同定

バイトとして、R a b 4 (SP受入番号 P20338)のアミノ酸1 - 214を使用して、実施例1に記載した酵母ツーハイブリッド系を行なった。この手法によって同定した1のクローンは、R a b 2 (SP受入番号 P08886)のアミノ酸27 - 177を含んでいた。

【0171】

実施例29

G l u t 4 / P N 7 0 6 5相互作用の同定

バイトとして、G l u t 4 (Swiss Protein(SP)受入番号 P14672)のアミノ酸463 - 509を使用して、実施例1に記載した酵母ツーハイブリッド系を行なった。この手法によって同定した1のクローンは、新規タンパク質フラグメントP N 7 0 6 5を含んでいた。P N 7 0 6 5のDNA配列および予測タンパク質配列を、それぞれ75と76に示す。

【0172】

表75

PN7065のヌクレオチド配列(配列番号3)

cgccggtggatgcgggctgagccctgcttgccgggacccgcctgccccgccttctccgca
 cacagctacacctccaacctgggcgactacgatgagcaggcgctgggtatcatgcagacc
 ctgggctggaccggcagaggacgggtggagtcactgcaaacagcagctataaccacttt
 gctgccatttattacctcctccttgagcggctcaaggagtatcggaatgccagtgcgcc
 cgccccgggcctgccaggcagccgcgccctcggagctcggacctcagtggtttgagggtg
 cctcaggaaggtctttccaccgacctttccgacctgccttgctgtgcccgcagccgcag
 acctgggtgcagtcctcctccaggccgagatggactgtgggctccagagctcgctgcag
 tggcccttgttcttcccgggtggatgccagctgcagcggagtggtccggccccggccccgtg
 tcccaagcagcctgctggacacagccatcagtgaggaggccaggcaggggcccgggacct
 gaggaggagcaggacacgcaggagtcctgcccagcagcacgggcccgggggacacacctg
 gccgaggtctccaccgcctctccccactcaccgcgccag

【0173】

表76

PN7065の予測タンパク質配列(配列番号4)

RRWMRAEPCLPGPACPAFSAHSYTSNLGDYDEQALGIMQTLGVDRQRTVESLQNSSYNHF
 AAIIYLLLLERLKEYRNAQCARPQPARQPRRSDLSGLEVPQEGLSTDPFRPALLCPQPQ
 TLVQSVLQAEMDCGLQSSLQWPLFFPVDASCSGVFRPRPVSPSSLLDTAISEEARQGPGL
 EEEQDTQESLPSSTGRGHTLAEVSTRLSPLTAP

【0174】

実施例30

Glut4/PN7386相互作用の同定

バイトとして、Glut4 (SP受入番号 P14672) のアミノ酸 478 - 509 を使用して、実施例1に記載した酵母ツーハイブリッド系を行なった。この手法によって同定した1のクローンは、新規タンパク質フラグメントPN7386を含んでいた。PN7386のDNA配列および予測タンパク質配列を、それぞれ77と78に示す。

【0175】

表77

P N 7 3 8 6 のヌクレオチド配列(配列番号5)

GGCCAATGTTGACGTTTTGGTAGGCTATGCAGACATCCATGGAGACTTACTACCTATAAA
 TAATGATGATAATTATCACAAAGCTGTTTCAACGGCCAATCCACTGCTTAGGATATTTAT
 ACAAAGAAGGAAGAAGCAGACTACAGTGCCTTTGGTACAGACACGCTAATAAAGAAGAA
 GAATGTTTTAACCAACGTATTGCGTCCTGACAACCATAGAAAAAGCCACATATAGTCAT
 TAGTATGCCCCAAGACTTTAGACCTGTGTCTTCTATTATAGACGTGGATATTCTCCCAGA
 AACGCATCGTAGGGTACGTCTTTACAAATACGGCACGGAGAAACCCCTAGGATTCTACAT
 CCGGGATGGCTCCAGTGTGAGGGTAACACCACATGGCTTAGAAAAGTTCCAGGGATCTT
 TATATCCAGGCTTGTCCCAGGAGGTCTGGCTCAAAGTACAGGACTATTAGCTGTTAATGA
 TGAAGTTTTAGAAGTTAATGGCATAGAAGTTTCAGGGAAGAGCCTTGATCAAGTAACAGA
 CATGATGATTGCAAATAGCCGTAACCTCATCATAACAGTGAGACCGGCAAACCAGAGGAA
 TAATGTTGTGAGGAACAGTCGGACTTCTGGCAGTTCCGGTCAGTCTACTGATAACAGCCT
 TCTTGGCTACCCACAGCAGATTGAACCAAGCTTTGAGCCAGAGGATGAAGACAGCGAAGA
 AGATGACATTATCATTGAAGACAATGGAGTGCCACAGCAGATTCCAAAAGCTGTTCCCTAA
 TACTGAGAGCCTGGAGTCATTAACACAGATAGAGCTAAGCTTTGAGTCTGGACAGAATGG
 CTTTATTCCCTCTAATGAAGTGAGCTTAGCAGCCATAGCAAGCAGCTCAAACACGGAATT
 TGAAACACATGCTCCAGATCAAAAACCTTTAGAAGAAGATGGAACAATCATAACATTATG
 AAACCGTGGTTTGAATGTTTTGAGAGTGAGGATGCCATGAGGACTTGTACATTTGGCTAG
 TTTAGGCCAATGTTGACGTTTTGGTAGGCTATGCAGACATCCATG

【 0 1 7 6 】

表78

P N 7 3 8 6 の予測タンパク質配列(配列番号6)

ANVDVLVGYADIHGDLIPINDDNYHKAVSTANPLLRIFIQKKEEADYSAFGTDTLKKK
 NVLTVLVRPDNHRKKPHIVISMPQDFRPVSSIIDVDILPETHRRVRLYKYGTEKPLGFYI
 RDGSSVRVTPHGLEKVPVGFISRLVPGGLAQSTGLLAVNDEVLEVNGIEVSGKSLDQVTD
 MMIANSRNLIITVRPANQRNNVVRNSRTSGSSGQSTDNSLLGYPQQIEPSFEPEDEDSEE
 DDIIIEDNGVPQQIPKAVPNTESLESLESLTQIELSFESGQNGFIPSNEVSLAAIASSNTEF
 ETHAPDQKLLLEEDGTITL

【0177】

実施例31

OGターゼ/PN6931相互作用の同定

バイトとして、OGターゼ(GenBank(GB)受入番号 U77413)のヌクレオチド1016-1618によってコード化されるアミノ酸を使用して、実施例1に記載した酵母ツーハイブリッド系を行なった。この手法によって同定した1のクローンは、新規タンパク質フラグメントPN6931を含んでいた。PN6931のDNA配列および予測タンパク質配列を、それぞれ79と80に示す。

【0178】

表79

PN6931のヌクレオチド配列(配列番号7)

aggaggagaagctgagccaggatgagatcgtgctgggcaccaaggctgtcatccagggga
ctggagactctgctggtgggagcatcgtgccctgctggctcctctggttgcacctgaggcc
ggcgaagccgagcctggctcgcaggagcgtgcatcctcctgctcgtccctggaagcc
atgagcttgggctgggggaggcccaggatgcttggcatgtcgagccacctggggct
gtagaatcagagaagcagaagctgcgggagcaggtgcggcgtctggtgcaggagaaccag
tggctgctgaggagctgccggggacacagcakaagctgcagcgcagtgagcaggccgtg
gcccagctcgaggaggagaagcagcacttgctgttcatgarccagatccgcagttgga
aagacgcctyccctaacgaggagaagggggacgtccccaagacacactggatgacctgt
tcccaatgaggatgagcagagcccagcccctagcccaggaggaggggatgtgtctggtc
agcatgggggatacagatcccggcccggctccgcaccctgcacaactggtgatccaata
cgctcacaggccgctacgaggtagctgtgccactctgcaagcaggcactcgaagactg
gagaagacgtcaggccacgaccacctgacgttgccacatgctgaacatcctggcactg
gtctatcgggatcagaacaagtacaaggaggctgccacctgctcaatgatgctctggcc
atccgggagaaaacactgggcaaggaccaccagccgtggctgcgacactaacaacctg
gcagtcctgtatagcgagag

【0179】

表80

PN6931の予測タンパク質配列(配列番号8)

REEKLSQDEIVLGTKAVIQGLETLRGEHRALLAPLVAPEAGEAEPGSQERCILLRRSLEA
 IELGLGEAQVILALSSHLGAVESEKQKLRAQVRRLLVQENQWLREELPGTQXKLQRSEQAV
 AQLEEEKQHLLFMXQIRSWMKTPXLTRRRGTSPKTHWMTCSMRMSRAQPLAQEEGMCLV
 SMGDTRSRPGSAPCTTGDPIRLTGPLRGSCATLQAGTRRLEKTSGHDPDVATMLNILAL
 VYRDQNKYKEAAHLLNDALAIREKTLGKDHPAVAATLNNLAVLYSAE

【0180】

実施例32

N a f 1 b / P N 7 5 8 2 相互作用の同定

バイトとして、N a f 1 b (GB受入番号 AJ011896)のヌクレオチド233 - 1568によってコード化されるアミノ酸を使用して、実施例1に記載した酵母ツ-ハイブリッド系を行なった。この手法によって同定した1のクローンは、新規タンパク質フラグメントPN7582を含んでいた。PN7582のDNA配列および予測タンパク質配列を、それぞれ81と82に示す。

【0181】

表81

PN7582の予測タンパク質配列(配列番号8)

at t t c a a g g g g g c t g c t g t a c c c c c a g g c a t g t g t c t g t a t a t c g c a c a g g a a g a a g g a a
 a g t a a g g a c a t t g c c a g c a a a t a t c t t a c a t c t c a t c a g c c t a t a c t g t g t c t c c t g a c c
 a c t c c t a a c t g c a a a g g a t g c t g g g a a a a a a g a g c a t t g t a g c t t t t c c a g c c t c t g t g
 g t a g g c g c a g a t a a g g g a t t a g a g t t g g g t g t t a c t g a a t c a a t g t a t c a g a c a c t t c t c
 a g t c a g g c t a g a g c c a g a t t t a a c t a g a t t t a g c a g g a a a g t a t g t t t c t t t c a c c t g c
 a t g t a a t g a a g g a a a t c t a t g t c c t t c a t a c a c t t a a t a a c c t g t a a g t c t c t a c t a t g
 g g c a g g t a c t g t g c t a g c t a g a c a t t a c a a t g t g t g g g g c a g a c a c a a a g a t g g g a a c a
 g t a g a c a c t g g g g a a c c c t a g a g g g g g g a g g t t g g g a g t a g g g a a g g g t t g a a a a t g a
 t t g g g t a c t a t g c t c a c t a c c t g g g t g a t g g g a t c a t t t g t a c a c c a a a t g c c a g c a a c a
 c a c a a t t t a c c c g t g t a a c a c a c c g g c a c g t g t a c c c c t g a a c c t a a g a t g a a a g c c g a a

【0182】

表82

PN7582に関して予想されるアミノ酸配列(配列番号10)

ISRGLLYPQACVCI SHRKKESKDI ASKYLTS HQPILCLLTPNCKGCWEKKSIVAFPASV
VGADKGLELGVTESMYQTLLSQARARFN

【0183】

実施例33

OGTアーゼ/テーリン相互作用の同定

バイトとしてOGTアーゼ (Genbank (GB) 受入番号U77413) のヌクレオチド1016 - 1349によりコードされるアミノ酸を使用して、実施例1に記載した酵母ツーハイブリッド系を行った。この手法によって同定された1つのクローンには、テーリン (GB受入番号AF078828) のアミノ酸812 (以下参照) が含まれていた。

【0184】

実施例34

OGTアーゼ/MOP2相互作用の同定

バイトとしてOGTアーゼ (Genbank (GB) 受入番号U77413) のヌクレオチド1016 - 1349によりコードされるアミノ酸を使用して、実施例1に記載した酵母ツーハイブリッド系を行った。この手法によって同定された1つのクローンには、MOP2 (Swiss Protein (SP) 受入番号Q99814) のアミノ酸397 - 546が含まれていた。

【0185】

実施例35

OGTアーゼ/クローン25100相互作用の同定

バイトとしてOGTアーゼ (Genbank (GB) 受入番号U77413) のヌクレオチド1016 - 1349によりコードされるアミノ酸を使用して、実施例1に記載した酵母ツーハイブリッド系を行った。この手法によって同定された1つのクローンには、クローン25100 (GB受入番号AF121780) のヌクレオチド31 - 1014によりコードされるアミノ酸が含まれていた。

【0186】

実施例36

OGTアーゼ/KIAA0443相互作用の同定

バイトとしてOGTアーゼ (Genbank (GB) 受入番号U77413) のヌクレオチド1016 - 1349によりコードされるアミノ酸を使用して、実施例1に記載した酵母ツーハイブリッド系を行った。この手法によって同定された1つのクローンには、KIAA0443 (GB受入番号AB007903) のヌクレオチド3468 - 4106によりコードされるアミノ酸が含まれていた。

【0187】

実施例37

OGTアーゼ / EGR1相互作用の同定

バイトとしてOGTアーゼ (Genbank (GB) 受入番号U77413) のヌクレオチド1016 - 1349によりコードされるアミノ酸を使用して、実施例1に記載した酵母ツーハイブリッド系を行った。この手法によって同定された1つのクローンには、EGR1 (SP受入番号P18146) のアミノ酸415 - 544が含まれていた。

【0188】

実施例38

OGTアーゼ / ダイナミンII相互作用の同定

バイトとしてOGTアーゼ (Genbank (GB) 受入番号U77413) のヌクレオチド1016 - 1349によりコードされるアミノ酸を使用して、実施例1に記載した酵母ツーハイブリッド系を行った。この手法によって同定された1つのクローンには、ダイナミンII (SP受入番号P50570) のアミノ酸515 - 823が含まれていた。

【0189】

実施例39

OGTアーゼ / INT - 6相互作用の同定

バイトとしてOGTアーゼ (Genbank (GB) 受入番号U77413) のヌクレオチド1016 - 1349によりコードされるアミノ酸を使用して、実施例1に記載した酵母ツーハイブリッド系を行った。この手法によって同定された1つのクローンには、Int - 6 (GB受入番号U62962) のヌクレオチド824 - 1191によりコードされるアミノ酸が含まれていた。

【0190】

実施例40

OGTアーゼ/HSPC028相互作用の同定

バイトとしてOGTアーゼ (Genbank (GB) 受入番号U77413) のヌクレオチド1016 - 1349によりコードされるアミノ酸を使用して、実施例1に記載した酵母ツーハイブリッド系を行った。この手法によって同定された1つのクローンには、HSPC028 (GB受入番号AF083246) のヌクレオチド58 - 443によりコードされるアミノ酸が含まれていた。

【0191】

実施例41

OGTアーゼ/BAP31相互作用の同定

バイトとしてOGTアーゼ (Genbank (GB) 受入番号U77413) のヌクレオチド1016 - 1349によりコードされるアミノ酸を使用して、実施例1に記載した酵母ツーハイブリッド系を行った。この手法によって同定された1つのクローンには、BAP31 (SP受入番号P51572) のアミノ酸116 - 215が含まれていた。

【0192】

実施例42

OGTアーゼ/インターフェロン非依存性タンパク質相互作用の同定

バイトとしてOGTアーゼ (Genbank (GB) 受入番号U77413) のヌクレオチド1016 - 1349によりコードされるアミノ酸を使用して、実施例1に記載した酵母ツーハイブリッド系を行った。この手法によって同定された1つのクローンには、インターフェロン非依存性タンパク質 (SP受入番号P09913) のアミノ酸1 (以下参照) が含まれていた。

【0193】

実施例43

Glut4 / - カテニン相互作用の同定

バイトとしてGlut4 (Swiss Protein (SP) 受入番号P14672) のアミノ酸463 - 509を使用して、実施例1に記載した酵母ツーハイブリッド系

を行った。この手法によって同定された1つのクローンには、 - カテニン (S P 受入番号 P 3 5 2 2 2) のアミノ酸 5 7 9 - 7 8 2 が含まれていた。

【 0 1 9 4 】

実施例 4 4

Glut 4 / - S N A P 相互作用の同定

バイトとして Glut 4 (S P 受入番号 P 1 4 6 7 2) のアミノ酸 4 6 3 - 5 0 9 を使用して、実施例 1 に記載した酵母ツーハイブリッド系を行った。この手法によって同定された1つのクローンには、 - S N A P (S P 受入番号 P 5 4 9 2 0) のアミノ酸 3 6 - 2 4 1 が含まれていた。

【 0 1 9 5 】

実施例 4 5

Glut 4 / M A P K K K 6 相互作用の同定

バイトとして Glut 4 (S P 受入番号 P 1 4 6 7 2) のアミノ酸 4 6 3 - 5 0 9 を使用して、実施例 1 に記載した酵母ツーハイブリッド系を行った。この手法によって同定された1つのクローンには、 M A P K K K 6 (GenBank (G B) 受入番号 A F 1 0 0 3 1 8) のアミノ酸 8 2 4 - 1 0 1 2 が含まれていた。

【 0 1 9 6 】

実施例 4 6

G L U T 4 / トロポミオシン 3 相互作用の同定

バイトとして Glut 4 (S P 受入番号 P 1 4 6 7 2) のアミノ酸 4 3 4 - 5 0 9 を使用して、実施例 1 に記載した酵母ツーハイブリッド系を行った。この手法によって同定された1つのクローンには、トロポミオシン 3 (S P 受入番号 P 0 6 7 5 3) のアミノ酸 1 7 1 - 2 8 6 が含まれていた。

【 0 1 9 7 】

実施例 4 7

G L U T 1 / D R A L / F H L 2 相互作用の同定

バイトとして Glut 1 (S P 受入番号 P 1 1 1 6 6) のアミノ酸 4 4 8 - 4 9 2 を使用して、実施例 1 に記載した酵母ツーハイブリッド系を行った。この手法によって同定された1つのクローンには、 D R A L / F H L 2 (S P 受入番号 Q

13229)のアミノ酸1-280が含まれていた。

【0198】

実施例48

GLUT1/MYSA相互作用の同定

バイトとしてGlut1 (SP受入番号P11166)のアミノ酸448-492を使用して、実施例1に記載した酵母ツーハイブリッド系を行った。この手法によって同定された1つのクローンには、MYSA (SP受入番号P13533)のアミノ酸1589-1909が含まれていた。

【0199】

実施例49

IRAP/SG2NA相互作用の同定

バイトとしてIRAP (GB受入番号U62768)のヌクレオチド2311-3136によりコードされるアミノ酸を使用して、実施例1に記載した酵母ツーハイブリッド系を行った。この手法によって同定された1つのクローンには、SG2NA (SP受入番号P70483)のアミノ酸623-713が含まれていた。

【0200】

実施例50

IRAP/SLAP-2相互作用の同定

バイトとしてIRAP (GB受入番号U62768)のヌクレオチド62-880によりコードされるアミノ酸を使用して、実施例1に記載した酵母ツーハイブリッド系を行った。この手法によって同定された1つのクローンには、SLAP-2 (GB受入番号AF100750)のアミノ酸236-453が含まれていた。

【0201】

実施例51

OGTアーゼ/14-3-3 イプシロン相互作用の同定

バイトとしてOGTアーゼ (GB受入番号U77413)のヌクレオチド1016-1618によりコードされるアミノ酸を使用して、実施例1に記載した酵

母ツーハイブリッド系を行った。この手法によって同定された1つのクローンには、14-3-3 イプシロン (SP受入番号P29360) のアミノ酸21-232が含まれていた。

【0202】

実施例52

PI-3K85 / クロモグラニン相互作用の同定

バイトとしてPI-3 キナーゼ p85 サブユニット (SP受入番号P27986) のアミノ酸1-250を使用して、実施例1に記載した酵母ツーハイブリッド系を行った。この手法によって同定された1つのクローンには、クロモグラニン (SP受入番号P13521) のアミノ酸2-322が含まれていた。

【0203】

実施例53

PI-3K85 / SLP-76相互作用の同定

バイトとしてPI-3 キナーゼ p85 サブユニット (SP受入番号P27986) のアミノ酸320-440を使用して、実施例1に記載した酵母ツーハイブリッド系を行った。この手法によって同定された1つのクローンには、SLP-76 (GB受入番号U20158) のアミノ酸291-486が含まれていた。

【0204】

実施例54

PI-3K85 / SLP-76相互作用の同定

バイトとしてPI-3 キナーゼ p85 サブユニット (SP受入番号P27986) のアミノ酸600-724を使用して、実施例1に記載した酵母ツーハイブリッド系を行った。この手法によって同定された1つのクローンには、SLP-76 (GB受入番号U20158) のアミノ酸291-486が含まれていた。

【0205】

実施例55

PI-3K85 / 14-3-3 - ゼータ相互作用の同定

バイトとしてP I - 3 キナーゼ p 8 5 サブユニット (S P 受入番号 P 2 7 9 8 6) のアミノ酸 4 2 5 - 6 3 0 を使用して、実施例 1 に記載した酵母ツーハイブリッド系を行った。この手法によって同定された 1 つのクローンには、1 4 - 3 - 3 - ゼータ (A P 受入番号 P 2 9 2 1 3) のアミノ酸 7 9 - 2 4 6 が含まれていた。

【 0 2 0 6 】

実施例 5 6

P I - 3 K 8 5 / 1 4 - 3 - 3 - e t a 相互作用の同定

バイトとしてP I - 3 キナーゼ p 8 5 サブユニット (S P 受入番号 P 2 7 9 8 6) のアミノ酸 4 2 5 - 6 3 0 を用いて実施例 1 に記載した酵母ツーハイブリッド系を行った。この手法によって同定した 1 のクローンは、1 4 - 3 - 3 - e t a (S P 受入番号 Q 0 4 9 1 7) の残基 9 1 から開始するアミノ酸を含んだ。

【 0 2 0 7 】

実施例 5 7

P I - 3 K 8 5 / T A C C 2 相互作用の同定

バイトとしてP I - 3 キナーゼ p 8 5 サブユニット (S P 受入番号 P 2 7 9 8 6) のアミノ酸 6 0 0 - 7 2 4 を用いて実施例 1 に記載した酵母ツーハイブリッド系を行った。この手法によって同定した 1 のクローンは、T A C C 2 (S P 受入番号 A F 0 9 5 7 9 1) のアミノ酸 3 5 0 - 6 0 0 を含んだ。

【 0 2 0 8 】

実施例 5 8

G l u t 4 / M M - 1 相互作用の同定

バイトとしてG l u t 4 (S w i s s P r o t e i n (S P) 受入番号 P 1 4 6 7 2) のアミノ酸 4 6 3 - 5 0 9 を用いて実施例 1 に記載した酵母ツーハイブリッド系を行った。この手法によって同定した 1 のクローンは、M M - 1 (G e n B a n k (G B) 受入番号 D 8 9 6 6 7) のアミノ酸 2 7 - 1 6 8 を含んだ。

【 0 2 0 9 】

実施例 5 9

G l u t 1 / K I A A 0 1 4 4 相互作用の同定

バイトとしてG l u t 1 (SP受入番号P11166)のアミノ酸463-492を用いて実施例1に記載した酵母ツーハイブリッド系を行った。この手法によって同定した1のクローンは、K I A A 0 1 4 4 (GB受入番号D63478)の残基691から開始するアミノ酸を含んだ。

【0210】

実施例60

G l u t 1 / ダイナミン相互作用の同定

バイトとしてG l u t 1 (Swiss Protein (SP) 受入番号P11166)のアミノ酸463-492を用いて実施例1に記載した酵母ツーハイブリッド系を行った。この手法によって同定した1のクローンは、ダイナミン(GB受入番号L07807)のアミノ酸104-365を含んだ。

【0211】

実施例61

G l u t 1 / クローン25204相互作用の同定

バイトとしてG l u t 1 (Swiss Protein (SP) 受入番号P11166)のアミノ酸463-492を用いて実施例1に記載した酵母ツーハイブリッド系を行った。この手法によって同定した1のクローンは、クローン25204 (GB受入番号AF131749)の未決定アミノ酸残基を含んだ。

【0212】

実施例62

I R A P / V A P - A相互作用の同定

バイトとしてI R A P (GB受入番号U62768)のヌクレオチド62-880によりコードされるアミノ酸を用いて実施例1に記載した酵母ツーハイブリッド系を行った。この手法によって同定した1のクローンは、V A P - A (GB受入番号AF086627)のアミノ酸3-243を含んだ。

【0213】

実施例63

O G T a s e / N a f l a相互作用の同定

バイトとしてO G T a s e (GB受入番号U77413)のヌクレオチド1016-1

618によりコードされるアミノ酸を用いて実施例1に記載した酵母ツーハイブリッド系を行った。この手法によって同定した1のクローンは、N a f l a (GB受入番号AJ011895)のアミノ酸41-486を含んだ。

【0214】

実施例64

O G T a s e P P 5 / A l p h a - 2 - カテニンの同定

バイトとしてO G T a s e (GB受入番号U77413)のヌクレオチド1016-1618によりコードされるアミノ酸を用いて実施例1に記載した酵母ツーハイブリッド系を行った。この手法によって同定した1のクローンは、A l p h a - 2 - カテニン(GB受入番号M94151)のアミノ酸366-469を含んだ。

【0215】

実施例65

P I - 3 K 1 1 0 / T R I P 1 5 相互作用の同定

バイトとしてP I - 3 K 1 1 0 (SP受入番号P42338)のアミノ酸1-300を用いて実施例1に記載した酵母ツーハイブリッド系を行った。この手法によって同定した1のクローンは、T R I P 1 5 (GB受入番号L40388)のアミノ酸24-233を含んだ。

【0216】

実施例66

G l u t 4 / 1 4 - 3 - 3 Z e t a 相互作用の同定

バイトとしてG l u t 4 (Swiss Protein (SP) 受入番号P14672)のアミノ酸463-509を用いて実施例1に記載した酵母ツーハイブリッド系を行った。この手法によって同定した1のクローンは、14-3-3 z e t a (SP受入番号P29213)のアミノ酸1-121、1-200および1-209を含んだ。

【0217】

実施例67

G l u t 4 / K I A A 0 2 8 2 相互作用の同定

バイトとしてG l u t 4 (Swiss Protein (SP) 受入番号P14672)のアミノ酸463-509を用いて実施例1に記載した酵母ツーハイブリッド系を行った。

この手法によって同定した1のクローンは、efp様タンパク質であるKIAA0282 (GenBank (GB) 受入番号D87458) のアミノ酸229 - 379を含んだ。

【0218】

実施例68

Glut4 / タンキラーゼ相互作用の同定

バイトとしてGlut4 (Swiss Protein (SP) 受入番号P14672) のアミノ酸463 - 509を用いて実施例1に記載した酵母ツーハイブリッド系を行った。この手法によって同定した1のクローンは、タンキラーゼ(GB受入番号AF082557) のアミノ酸1110 - 1750を含んだ。

【0219】

実施例69

IRAP / PTPZ相互作用の同定

バイトとしてIRAP (GB受入番号U62768) のヌクレオチド62 - 880によりコードされるアミノ酸を用いて実施例1に記載した酵母ツーハイブリッド系を行った。この手法によって同定した1のクローンは、PTPZ (SP受入番号P23471) のアミノ酸1420 - 1780を含んだ。

【0220】

実施例70

IRAP / スペクトリン相互作用の同定

バイトとしてIRAP (GB受入番号U62768) のヌクレオチド2311 - 3136によりコードされるアミノ酸を用いて実施例1に記載した酵母ツーハイブリッド系を行った。この手法によって同定した1のクローンは、 β -スペクトリン(SP受入番号Q01082) のアミノ酸1487 - 1993を含んだ。

【0221】

実施例71

IRAP / PI-3K85相互作用の同定

バイトとしてIRAP (GB受入番号U62768) のヌクレオチド2311 - 3136によりコードされるアミノ酸を用いて実施例1に記載した酵母ツーハイブリッド系を行った。この手法によって同定した1のクローンは、PI-3キナーゼp

85サブユニット(SP受入番号P27986)のアミノ酸498-544を含んだ。

【0222】

実施例72

PP5/HSP89相互作用の同定

バイトとしてPP5(SP受入番号P53041)のアミノ酸1-150を用いて実施例1に記載した酵母ツーハイブリッド系を行った。この手法によって同定した1のクローンは、Hsp89(SP受入番号P07900)のアミノ酸517-681を含んだ。

【0223】

実施例73

PP5/タンキラーゼ相互作用の同定

バイトとしてPP5(SP受入番号P53041)のアミノ酸1-150を用いて実施例1に記載した酵母ツーハイブリッド系を行った。この手法によって同定した1のクローンは、タンキラーゼ(GB受入番号AF082557)のヌクレオチド1110-1750およびヌクレオチド1809-2257によりコードされるアミノ酸を含んだ。

【0224】

実施例74

PI-3K85/タンキラーゼ相互作用の同定

バイトとしてPI-3キナーゼp85(SP受入番号P27986)のアミノ酸320-440を用いて実施例1に記載した酵母ツーハイブリッド系を行った。この手法によって同定した1のクローンは、タンキラーゼ(GB受入番号AF082557)のヌクレオチド1110-1750によりコードされるアミノ酸を含んだ。

【0225】

実施例75

PI-3K110/APP相互作用の同定

バイトとしてPI-3キナーゼp110サブユニット(SP受入番号P42338)のアミノ酸1-300を用いて実施例1に記載した酵母ツーハイブリッド系を行った。この手法によって同定した1のクローンは、APP(SP受入番号P05067)の

アミノ酸374-546を含んだ。

【0226】

実施例76

タンパク質複合体に対するポリクローナル抗体の生成

上記に示したごとく、Glut4はCARPと相互作用して複合体を形成する。2のタンパク質の複合体は、例えば、2の各タンパク質の精製調製物を混合することによって調製する。望むなら、当業者に知られている方法によって、複合体中のタンパク質を架橋することによってタンパク質複合体を安定化し得る。Harlowら(1988)によって記載された方法に類似する手法を用いて、タンパク質複合体を用いてウサギおよびマウスを免疫化する。この手法は、種々の他のタンパク質に対するAbsを生成することが示されている(例えば、Kraemerら, 1993参照)。

【0227】

簡単には、精製タンパク質複合体をウサギにおける免疫原として用いる。ウサギを、完全フロイント・アジュバント中の100 μ gのタンパク質で免疫化し、3週間間隔で2回追加免疫し、その1回目は不完全フロイントアジュバント中の100 μ g免疫原で、つづいてPBS中の100 μ gの免疫原である。その後、2週間に抗体を含有する抗血清を収集する。残存する抗血清がGlut4-CARP複合体上には存在するが単量体上には存在しない立体構造エピトープ、すなわち複合体特異的エピトープに結合する抗体を含むように、抗血清をGlut4およびCARPに前吸着させる。

【0228】

表1-73に記載した各複合体に対するポリクローナル抗体は、特定したタンパク質と一緒に混合し、動物を免疫化してタンパク質複合体に特異的であるが個々のタンパク質には結合しない抗体を単離することによって、同様にして調製する。

【0229】

実施例77

タンパク質複合体に特異的なモノクローナル抗体の生成

モノクローナル抗体は、下記のプロトコールに従って生成する。マウスを、当該技術分野でよく知られているようにグルタルアルデヒドまたはEDCを用いてキーホール・リンペット・ヘモシアニンにコンジュゲートさせたG l u t 4 / C A R P複合体を含む免疫原で免疫化する。実施例76に記載したごとく調製し得る複合体も、架橋することによって安定化し得る。該免疫原はアジュバントと混合する。各マウスに、10 - 100 μ gの免疫原を4回注射し、4回目の注射の後に、マウスから血液試料を採取して血清が免疫原に対する抗体を含むかを判定する。血清価はE L I S AまたはR I Aによって決定する。免疫原に対する抗体の存在を示す血清を有するマウスを、ハイブリドーマ産生につき選抜する。

【0230】

免疫マウスから脾臓を取出し、単一細胞懸濁液を調製する(Harlowら, 1988)。細胞融合は、実質的にKohlerら(1975)によって記載されているごとく行う。簡単には、Harlowら(1988)によって記載されているごとく、ポリエチレングリコールを用いて、P3.65.3骨髄腫細胞(American Type Culture Collection, Rockville, MD)またはNS-1骨髄腫細胞を免疫脾臓細胞と融合させる。細胞を、96ウェル組織培養プレート中に 2×10^5 細胞/ウェルの密度で播く。個々のウェルを増殖につき調べ、増殖しているウェルの上清を、標的タンパク質としてのG l u t 4 / C A R P複合体を用いるE L I S AまたはR I Aによって、G l u t 4 / C A R P複合体 - 特異的抗体の存在につき試験する。ポジティブ・ウェル中の細胞を拡張し、サブクローン化してモノクローナル性を確立および確認する。

【0231】

望ましい特異性を有するクローンを、マウス中の腹水としてかまたは中空ファイバー系中で拡張させ、増殖させて特徴付けおよびアッセイ開発に十分な量の抗体を生成させる。抗体は、単独でのG l u t 4または単独でのC A R Pに対する結合性につき試験して、個々のタンパク質に結合するものとは反対にG l u t 4 / C A R P複合体に対して特異的であるものを決定する。

【0232】

表1-73に記載した各複合体に対するモノクローナル抗体は、特定のタンパ

ク質と一緒に混合し、動物を免疫化し、脾臓細胞とミエローム細胞とを融合させ、個々のタンパク質に特異的でないが、タンパク質複合体に対して特異的な抗体を生成するクローンを単離することによって、同様に調製する。

【0233】

実施例78

タンパク質 - タンパク質相互作用のモジュレーターのイン・ビトロ(in vitro)同定

本発明は、G l u t 4およびC A R Pの相互作用を調節する剤のスクリーニングに有用である。G l u t 4およびC A R Pが複合体を形成するという知識はかかるアッセイをデザインするのに有用である。候補剤は、G l u t 4とC A R Pを(a)候補剤の存在下および(b)候補剤の不存在下で混合することによってスクリーニングする。形成した複合体の量は、各試料について測定する。剤の存在下で形成される複合体の量が剤の不存在下で形成された複合体の量よりも多い(相互作用を促進する)かまたは少ない(相互作用を阻害している)場合には、剤はG l u t 4およびC A R Pの相互作用を調節する。複合体の量は、複合体の形成を示す結合アッセイによってか、または該複合体に免疫反応性の抗体を用いることによって測定する。

【0234】

簡単には、結合アッセイを行い、その中で、固定化G l u t 4を用いて、標識C A R Pに結合させる。標識化C A R Pを、2のタンパク質の特異的結合を許容して添加した試験剤の不存在下でG l u t 4 / C A R Pを形成することを許容する水性条件下で固定化G l u t 4と接触させる。従来の方法にしたがって、特定の水性条件を選択し得る。G l u t 4 / C A R Pの特異的結合が対照反応で起きる限り、いずれの反応条件をも用い得る。平行結合アッセイを行い、そこでは試験剤を反応混合物に添加する。固定化G l u t 4に結合した標識C A R Pの量は、試験剤の不存在または存在下での反応について決定する。試験剤の存在下の結合した標識C A R Pの量が試験剤の不存在下の結合した標識C A R Pの量と異なる場合には、該試験剤はG l u t 4とC A R Pの相互作用のモジュレーターである。

表1-73に記載した各タンパク質複合体の相互作用を調節する候補剤は、同様の方法でイン・ビトロ (in vitro) でスクリーニングした。

【0235】

実施例79

タンパク質 - タンパク質相互作用についてのモジュレーターのイン・ビボ (in vivo) 同定

実施例78に記載したイン・ビトロ (in vitro) 法に加えて、イン・ビボ (in vivo) アッセイを用いても、G l u t 4 と C A R P の相互作用を調節する剤についてスクリーニングし得る。簡単には、酵母細胞が (1) G l u t 4 またはそのフラグメントと第1の転写調節タンパク質配列、例えばG A L 4 活性化ドメイン、とを含む第1の融合タンパク質、(2) C A R P またはそのフラグメントと第2の転写調節タンパク質配列、例えばG A L 4 DNA - 結合ドメイン、とを含む第2の融合タンパク質、ならびに (3) レポーター遺伝子、例えば、第1の融合タンパク質および第2の融合タンパク質を含む分子間複合体が形成された場合に転写される - ガラクトシダーゼ、を発現する酵母ツーハイブリッド系を用いる。平行反応は、対照としての試験剤の不存在下および試験剤の存在下で行う。機能性G l u t 4 / C A R P 複合体は、発現したレポーター遺伝子の量を検出することによって検出する。試験剤の存在下のレポーター遺伝子の発現量が試験剤の不存在下のレポーター遺伝子の発現量と異なる場合には、該試験剤はG l u t 4 とC A R P の相互作用のモジュレーターである。

【0236】

表1-73に記載した各タンパク質複合体の相互作用を調節する候補剤は、同様の方法でイン・ビボ (in vivo) でスクリーニングする。

【0237】

本発明を本発明の好ましい具体例の詳細に参照することによって本特許出願に開示してきたが、本発明の趣旨および添付する請求の範囲の範囲内で当業者は変形を容易に気付くことが予想されるため、この開示が限定する意味でなく説明を意図することは理解される。

【0238】

参考文献リスト

- Annaert, W.G.ら (1997). *J Cell Biol.* 139:1397-410.
- Aronheimら, 1997. *Mol. Cell. Biol.* 17:3094-3102.
- Bartel, P.L.ら (1993). "Using the 2-hybrid system to detect protein-protein Interactions." In: *Cellular Interactions in Development: A Practical Approach*, Oxford University Press, pp. 153-179.
- Bartel, P.L.ら (1996). *Nat Genet* 12:72-77.
- Bartel, P.L.およびFields, S. (1997). *The Yeast Two-Hybrid System*. New York: Oxford University Press.
- Ben-Ze'ev, A.ら (1998). *Curr Opin Cell Biol.* 10:629-39.
- Burch, G.H.ら (1997). *Nat Genet.* 17:104-8.
- Calderwood, D.A.ら (1999). *J Biol Chem.* 274:28071-4.
- Capetanaki, Y.ら (1998). *Subcell Biochem.* 31:463-95.
- Chen, H.ら (1997). *J Biol Chem.* 272:8026-31.
- Chevray, P.M.およびNathans, D.N. (1992). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:5789-5793.

【 0 2 3 9 】

- Clements, J.L.ら (1998). *Science* 281:416-9.
- Cooksey, R.C.ら (1999). *Endocrinology* 140:1151-7.
- Cormont, M.ら (1996). *Mol Cell Biol.* 16:6879-86.
- Desbois, C.ら (1996). Exclusion of Int-6 from PML nuclear bodies by binding to the HTLV-I Tax oncoprotein. *Science* 273:951-3.
- Dreyling MHら (1996). *Proc Natl Acad Sci USA* 93:4804-9.
- Eddinger, T.J. (1998). *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol.* 119:425-34.
- Fields, S.およびSong, O-K. (1989). *Interactions. Nature* 340:245-246.
- Fukushi, M.ら (1999). *FEBS Lett* 442:83-8.
- Fry, A.M.ら (1998). *J Cell Biol.* 141:1563-74.
- Garvey, W.T.ら (1998). *J Clin Invest.* 101:2377-86.

- Genini, M.ら (1997). DNA Cell Biol. 16:433-42.
Grum, V.L.ら (1999). Cell 98:523-35.
Harlowら (1988). Antibodies: A Laboratory Manual (Cold Spring Harbor

【0240】

- Laboratory, Cold Spring Harbor, N.Y.).
Haruta, T.ら (1995). J Biol Chem. 270:27991-4.
Hogenesch, J.B.ら (1997) J Biol Chem. 272:8581-93.
Hresko, R.C.ら (1994). J Biol Chem. 269:32110-9.
Hu RJら (1992). J Biol Chem. 267:18715-22.
Jackman, J.K.ら (1995). J Biol Chem. 270:7029-32.
Janssens, B.ら (1999). Biochim Biophys Acta 1447:341-7.
Jeyaseelan, R.ら (1997). J Biol Chem. 272:22800-8.
Jin, D.Y.ら (1996). Nature 382:308.
Jin, L-W.およびSaitoh, T. (1995). Drugs Aging 6:136-149.
Kao, A.W.ら (1998). J Biol Chem. 273:25450-7.
Keller, S.R.ら (1995). J Biol Chem. 270:23612-8.
Kirchner, J.ら (1999). J. Biol Chem. 380:915-21.

【0241】

- Kohda, K.ら (1998). J Immunol. 160:4923-35.
Kohler, G.およびMilstein, C. (1975). Nature 256:495-497.
Kraemer, F.B.ら (1993). J. Lipid Res. 34:663-672.
Kreppel, L.K.ら (1997). J Biol Chem. 272:9308-15.
Krook, A.ら (1998). Diabetes 47:1281-6.
Kupriyanova TAら (1999). J Biol Chem. 1999 274:1458-64.
Leanna, C.A.およびHannink, M. (1996). Nucl. Acids Res. 24:3341-3347.
Leitner, B.ら (1999). J Neurochem. 72:1110-6.
Levy, D.ら (1986). Proc Natl Acad Sci USA 83:8929-33.
Lhotta, K.ら (1990). Nephron 56:206-211.
Lydersen, B.K.ら (1980). Cell 22:489-99.

Malide, D.ら (1997). FEBS Lett. 409:461-8.

Martin, S.S.ら (1996). J Biol Chem. 271:17605-8.

Martinis, S.A.ら (1999). Biochimie 81:683-700.

【0242】

Mascart-Lemone, F.ら (1983). Am. J. Med. 75:295-304.

Metzger, J.M.ら (1999). Circ Res. 84:1310-7.

Mook-Jung, I.およびSaitoh, T. (1997). Neurosci Lett 235:1-4 [published erratum appears in Neurosci Lett 239:131].

Mori, K.ら (1998). J Biol Chem 273:29794-29800.

Moroianu, J. (1997). Crit Rev Eukaryot Gene Expr. 7:61-72.

Muro, Y.ら (1995). Biochem Biophys Res Commun. 207:1029-37.

Neri, C.ら (1984). Neurology 34:310-314

Nishiwaki Tら (1998). J Biochem (Tokyo) 123:458-67.

Ogihara, T.ら (1997). J Biol Chem. 272:25267-74.

Ozawa, H.ら (1995). Cell Struct Funct. 20:415-20.

Orimo Aら (1995). J Biol Chem. 270:24406-13.

Pessin, J.E.ら (1999). J Biol Chem. 1999 274:2593-6.

Pearse, B.M. (1989). Methods Cell Biol. 31:229-46.

【0243】

Raben, N.ら (1995).. Muscle Nerve 3:S70-4.

Roch, J-M.ら (1993). Ann N Y Acad Sci 695:149-157.

Rothe, M.ら (1996). Proc Natl Acad Sci USA 93:8241-6.

Rudiger, M. (1998). Bioessays 20:733-40.

Russo Tら (1998). FEBS Lett. 434:1-7.

Saitoh, T.およびRoch, J-M. (1995). DN&P 8:206-215.

Saitoh, T.ら (1991). Lab Invest 64:596-616.

Saitoh, T.ら (1994). The Biological Function of Amyloid /A4 Protein Precursor. In: Amyloid Protein Precursor in Development, Aging, and Alzheimer's Disease (Masters CL, Beyreuther K, Trillet M, Christen Y eds), pp

90-99. Berlin: Springer-Verlag.

Seeger, M.ら (1998). FASEB J 12:469-78.

Shankar, S.ら (1998). Biochem Biophys Res Commun. 243:561-5.

【0244】

Shimizu-Nishikawa, K.ら (1995). Brain Res Mol Brain Res 28:201-10.

Silverstein AMら (1997). J Biol Chem. 272:16224-30.

Skehel, P.A.ら (1995). Science 269:1580-3.

Smith Sら (1998). Science 282:1484-7.

Sontag, J.M.ら (1994). J Biol Chem. 269:4547-54.

Sparks, C.A.ら (1995). J Cell Sci. 108:3389-96.

Squire, J.M.ら (1998). FASEB J. 12:761-71.

St-Denis, J.F.ら (1998). J Basic Clin Physiol Pharmacol. 9:153-65.

Sukhatme, V.P.ら (1988). Cell 53:37-43.

Thorson JAら (1998). Mol Cell Biol. 18:5229-38.

Tisdale, E.J.ら (1998). J Biol Chem. 273:17269-77.

Uphues, I.ら (1994). Biochem J. 301:177-82.

Vergani, D.ら (1985). Lancet II:294-298.

【0245】

Vollenweider, P.ら (1997). Endocrinology 138:4941-9.

Wang, X.S.ら (1998). Biochem Biophys Res Commun. 253:33-7.

Wang, Z.ら (1999). FEBS Lett. 453:135-9.

Waters, S.B.ら (1997). J Biol Chem. 272:23323-7.

Weir, M.L.ら (1998). Biochem J. 333:247-51.

Wigle, J.T.ら (1997). J Biol Chem. 272:32384-94.

Yaffe, M.B.ら (1997). Cell 91:961-71.

Zierath, J.R.ら (1998). Mol Cell Biochem. 182:153-60.

【0246】

PCT公開出願番号 WO 97/27296

PCT公開出願番号 WO 99/65939

米国特許第5,622,852号

米国特許第5,773,218号

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> Heichman, Karen
Bartel, Paul L.
Myriad Genetics, Inc.

<120> Protein-Protein Interactions

<130> Protein Interactions II

<140>

<141>

<150> US 60/130,389
<151> 1999-04-22

<150> US 60/140,693
<151> 1999-06-24

<150> US 60/156,947
<151> 1999-09-30

<150> US 60/163,073
<151> 1999-11-02

<150> US 60/168,376
<151> 1999-12-02

<150> US 60/168,378
<151> 1999-12-02

<160> 10

<170> PatentIn Ver. 2.0

<210> 1
<211> 40
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:tail for PCR primers

<400> 1
gcaggaaaca gctatgacca tacagtcagc ggccgccacc 40

<210> 2
<211> 39
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:tail for PCR primers

<400> 2
acggccagtc gcgtggagtg ttatgtcatg cgcccgcta 39

<210> 3
<211> 640
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(639)

<400> 3
 cgc cgg tgg atg cgg gct gag ccc tgc ttg ccg gga ccc gcc tgc ccc 48
 Arg Arg Trp Met Arg Ala Glu Pro Cys Leu Pro Gly Pro Ala Cys Pro
 1 5 10 15
 gcc ttc tcc gca cac agc tac acc tcc aac ctg ggc gac tac gat gag 96
 Ala Phe Ser Ala His Ser Tyr Thr Ser Asn Leu Gly Asp Tyr Asp Glu
 20 25 30
 cag gcg ctg ggt atc atg cag acc ctg ggc gtg gac cgg cag agg acg 144
 Gln Ala Leu Gly Ile Met Gln Thr Leu Gly Val Asp Arg Gln Arg Thr
 35 40 45
 gtg gag tca ctg caa aac agc agc tat aac cac ttt gct gcc att tat 192
 Val Glu Ser Leu Gln Asn Ser Ser Tyr Asn His Phe Ala Ala Ile Tyr
 50 55 60
 tac ctc ctc ctt gag cgg ctc aag gag tat ccg aat gcc cag tgc gcc 240
 Tyr Leu Leu Leu Glu Arg Leu Lys Glu Tyr Arg Asn Ala Gln Cys Ala
 65 70 75 80
 cgc ccc ggg cct gcc agg cag ccg cgg cct ccg agc tcg gac ctc agt 288
 Arg Pro Gly Pro Ala Arg Gln Pro Arg Pro Arg Ser Ser Asp Leu Ser
 85 90 95
 ggt ttg gag gtg cct cag gaa ggt ctt tcc acc gac cct ttc cga cct 336
 Gly Leu Glu Val Pro Gln Glu Gly Leu Ser Thr Asp Pro Phe Arg Pro
 100 105 110
 gcc ttg ctg tgc ccg cag ccg cag acc ttg gtg cag tcc gtc ctc cag 384
 Ala Leu Leu Cys Pro Gln Pro Gln Thr Leu Val Gln Ser Val Leu Gln
 115 120 125
 gcc gag atg gac tgt ggg ctc cag agc tcg ctg cag tgg ccc ttg ttc 432
 Ala Glu Met Asp Cys Gly Leu Gln Ser Ser Leu Gln Trp Pro Leu Phe
 130 135 140
 ttc ccg gtg gat gcc agc tgc agc gga gtg ttc ccg ccc ccg ccc gtg 480
 Phe Pro Val Asp Ala Ser Cys Ser Gly Val Phe Arg Pro Arg Pro Val
 145 150 155 160
 tcc cca agc agc ctg ctg gac aca gcc atc agt gag gag gcc agg cag 528
 Ser Pro Ser Ser Leu Leu Asp Thr Ala Ile Ser Glu Glu Ala Arg Gln
 165 170 175
 ggg ccg ggc cta gag gag gag cag gac acg cag gag tcc ctg ccc agc 576
 Gly Pro Gly Leu Glu Glu Glu Gln Asp Thr Gln Glu Ser Leu Pro Ser
 180 185 190
 agc acg ggc ccg ggg cac acc ctg gcc gag gtc tcc acc cgc ctc tcc 624
 Ser Thr Gly Arg Gly His Thr Leu Ala Glu Val Ser Thr Arg Leu Ser
 195 200 205
 cca ctc acc gcg cca g 640
 Pro Leu Thr Ala Pro
 210

<210> 4
 <211> 213
 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 4

```

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

```

<210> 5

<211> 1065

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (2)..(958)

<400> 5

```

g gcc aat gtt gac gtt ttg gta ggc tat gca gac atc cat gga gac tta 49
  Ala Asn Val Asp Val Leu Val Gly Tyr Ala Asp Ile His Gly Asp Leu
  1           5           10           15
cta cct ata aat aat gat gat aat tat cac aaa gct gtt tca acg gcc 97
Leu Pro Ile Asn Asn Asp Asp Asn Tyr His Lys Ala Val Ser Thr Ala
 20           25           30

```

aat cca ctg ctt agg ata ttt ata caa aag aag gaa gaa gca gac tac	145
Asn Pro Leu Leu Arg Ile Phe Ile Gln Lys Lys Glu Glu Ala Asp Tyr	
35 40 45	
agt gcc ttt ggt aca gac acg cta ata aag aag aag aat gtt tta acc	193
Ser Ala Phe Gly Thr Asp Thr Leu Ile Lys Lys Lys Asn Val Leu Thr	
50 55 60	
aac gta ttg cgt cct gac aac cat aga aaa aag cca cat ata gtc att	241
Asn Val Leu Arg Pro Asp Asn His Arg Lys Lys Pro His Ile Val Ile	
65 70 75 80	
agt atg ccc caa gac ttt aga cct gtg tct tct att ata gac gtg gat	289
Ser Met Pro Gln Asp Phe Arg Pro Val Ser Ser Ile Ile Asp Val Asp	
85 90 95	
att ctc cca gaa acg cat cgt agg gta cgt ctt tac aaa tac ggc acg	337
Ile Leu Pro Gln Thr His Arg Arg Val Arg Leu Tyr Lys Tyr Gly Thr	
100 105 110	
gag aaa ccc cta gga ttc tac atc cgg gat ggc tcc agt gtc agg gta	385
Glu Lys Pro Leu Gly Phe Tyr Ile Arg Asp Gly Ser Val Arg Val	
115 120 125	
aca cca cat ggc tta gaa aag gtt cca ggg atc ttt ata tcc agg ctt	433
Thr Pro His Gly Leu Glu Lys Val Pro Gly Ile Phe Ile Ser Arg Leu	
130 135 140	
gtc cca gga ggt ctg gct caa agt aca gga cta tta gct gtt aat gat	481
Val Pro Gly Gly Leu Ala Gln Ser Thr Gly Leu Leu Ala Val Asn Asp	
145 150 155 160	
gaa gtt tta gaa gtt aat ggc ata gaa gtt tca ggg aag agc ctt gat	529
Glu Val Leu Glu Val Asn Gly Ile Glu Val Ser Gly Lys Ser Leu Asp	
165 170 175	
caa gta aca gac atg atg att gca aat agc cgt aac ctc atc ata aca	577
Gln Val Thr Asp Met Met Ile Ala Asn Ser Arg Asn Leu Ile Ile Thr	
180 185 190	
gtg aga ccg gca aac cag agg aat aat gtt gtg agg aac agt cgg act	625
Val Arg Pro Ala Asn Gln Arg Asn Asn Val Val Arg Asn Ser Arg Thr	
195 200 205	
tct ggc agt tcc ggt cag tct act gat aac agc ctt ctt ggc tac cca	673
Ser Gly Ser Ser Gly Gln Ser Thr Asp Asn Ser Leu Leu Gly Tyr Pro	
210 215 220	
cag cag att gaa cca agc ttt gag cca gag gat gaa gac agc gaa gaa	721
Gln Gln Ile Glu Pro Ser Phe Glu Pro Glu Asp Glu Asp Ser Glu Glu	
225 230 235 240	
gat gac att atc att gaa gac aat gga gtg cca cag cag att cca aaa	769
Asp Asp Ile Ile Ile Glu Asp Asn Gly Val Pro Gln Gln Ile Pro Lys	
245 250 255	
gct gtt cct aat act gag agc ctg gag tca tta aca cag ata gag cta	817
Ala Val Pro Asn Thr Glu Ser Leu Glu Ser Leu Thr Gln Ile Glu Leu	
260 265 270	
agc ttt gag tct gga cag aat ggc ttt att ccc tct aat gaa gtg agc	865
Ser Phe Glu Ser Gly Gln Asn Gly Phe Ile Pro Ser Asn Glu Val Ser	
275 280 285	

tta gca gcc ata gca agc agc tca aac acg gaa ttt gaa aca cat gct 913
 Leu Ala Ala Ile Ala Ser Ser Ser Asn Thr Glu Phe Glu Thr His Ala
 290 295 300

cca gat caa aaa ctc tta gaa gaa gat gga aca atc ata aca tta 958
 Pro Asp Gln Lys Leu Leu Glu Glu Asp Gly Thr Ile Ile Thr Leu
 305 310 315

tgaaacctgt gtttgaatgt tttcagagtg aggatgccat gaggacttgt acatttggt 1018

agtttaggcc aatgttgacg ttttgtagg ctatgcagac atccatg 1065

<210> 6
 <211> 319
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 6
 Ala Asn Val Asp Val Leu Val Gly Tyr Ala Asp Ile His Gly Asp Leu
 1 5 10 15

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

Asn Pro Leu Leu Arg Ile Phe Ile Gln Lys Lys Glu Glu Ala Asp Tyr
 35 40 45

Ser Ala Phe Gly Thr Asp Thr Leu Ile Lys Lys Lys Asn Val Leu Thr
 50 55 60

Asn Val Leu Arg Pro Asp Asn His Arg Lys Lys Pro His Ile Val Ile
 65 70 75 80

Ser Met Pro Gln Asp Phe Arg Pro Val Ser Ser Ile Ile Asp Val Asp
 85 90 95

Ile Leu Pro Glu Thr His Arg Arg Val Arg Leu Tyr Lys Tyr Gly Thr
 100 105 110

Glu Lys Pro Leu Gly Phe Tyr Ile Arg Asp Gly Ser Ser Val Arg Val
 115 120 125

Thr Pro His Gly Leu Glu Lys Val Pro Gly Ile Phe Ile Ser Arg Leu
 130 135 140

Val Pro Gly Gly Leu Ala Gln Ser Thr Gly Leu Leu Ala Val Asn Asp
 145 150 155 160

Glu Val Leu Glu Val Asn Gly Ile Glu Val Ser Gly Lys Ser Leu Asp
 165 170 175

Gln Val Thr Asp Met Met Ile Ala Asn Ser Arg Asn Leu Ile Ile Thr
 180 185 190

Val Arg Pro Ala Asn Gln Arg Asn Asn Val Val Arg Asn Ser Arg Thr
 195 200 205

Ser Gly Ser Ser Gly Gln Ser Thr Asp Asn Ser Leu Leu Gly Tyr Pro
 210 215 220

Gln Gln Ile Glu Pro Ser Phe Glu Pro Glu Asp Glu Asp Ser Glu Glu
 225 230 235 240

Asp Asp Ile Ile Ile Glu Asp Asn Gly Val Pro Gln Gln Ile Pro Lys
 245 250 255

Ala Val Pro Asn Thr Glu Ser Leu Glu Ser Leu Thr Gln Ile Glu Leu
 260 265 270

Ser Phe Glu Ser Gly Gln Asn Gly Phe Ile Pro Ser Asn Glu Val Ser
 275 280 285

Leu Ala Ala Ile Ala Ser Ser Ser Asn Thr Glu Phe Glu Thr His Ala
 290 295 300

Pro Asp Gln Lys Leu Leu Glu Glu Asp Gly Thr Ile Ile Thr Leu
 305 310 315

<210> 7
 <211> 861
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> CDS
 <222> {1}..(861)

<400> 7
 agg gag gag aag ctg agc cag gat gag atc gtg ctg ggc acc aag gct 48
 Arg Glu Glu Lys Leu Ser Gln Asp Glu Ile Val Leu Gly Thr Lys Ala
 1 5 10 15

gtc atc cag gga ctg gag act ctg cgt ggg gag cat cgt gcc ctg ctg 96
 Val Ile Gln Gly Leu Glu Thr Leu Arg Gly Glu His Arg Ala Leu Leu
 20 25 30

gct cct ctg gtt gca cct gag gcc ggc gaa gcc gag cct ggc tcg cag 144
 Ala Pro Leu Val Ala Pro Glu Ala Gly Glu Ala Glu Pro Gly Ser Gln
 35 40 45

gag cgc tgc atc ctc ctg cgt cgc tcc ctg gaa gcc att gag ctt ggg 192
 Glu Arg Cys Ile Leu Leu Arg Arg Ser Leu Glu Ala Ile Glu Leu Gly
 50 55 60

ctg ggg gag gcc cag gtg atc ttg gca ttg tcg agc cac ctg ggg gct 240
 Leu Gly Glu Ala Gln Val Ile Leu Ala Leu Ser Ser His Leu Gly Ala
 65 70 75 80

gta gaa tca gag aag cag aag ctg cgg gcg cag gtg cgg cgt ctg gtg 288
 Val Glu Ser Glu Lys Gln Lys Leu Arg Ala Gln Val Arg Arg Leu Val
 85 90 95

cag gag aac cag tgg ctg cgt gag gag ctg ccg ggg aca cag cak aag 336
 Gln Glu Asn Gln Trp Leu Arg Glu Glu Leu Pro Gly Thr Gln Xaa Lys
 100 105 110

ctg cag cgc agt gag cag gcc gtg gcc cag ctc gag gag gag aag cag 384
 Leu Gln Arg Ser Glu Gln Ala Val Ala Gln Leu Glu Glu Glu Lys Gln
 115 120 125

cac ttg ctg ttc atg arc cag atc cgc agt tgg atg aag acg cct ycc 432
 His Leu Leu Phe Met Xaa Gln Ile Arg Ser Trp Met Lys Thr Pro Xaa
 130 135 140

cta acg agg aga agg ggg acg tcc cca aag aca cac tgg atg acc tgt 480
 Leu Thr Arg Arg Arg Gly Thr Ser Pro Lys Thr His Trp Met Thr Cys
 145 150 155 160

tcc cca atg agg atg agc aga gcc cag ccc cta gcc cag gag gag ggg 528
 Ser Pro Met Arg Met Ser Arg Ala Gln Pro Leu Ala Gln Glu Glu Gly
 165 170 175

atg tgt ctg gtc agc atg ggg gat acg aga tcc cgg ccc ggc tcc gca 576
 Met Cys Leu Val Ser Met Gly Asp Thr Arg Ser Arg Pro Gly Ser Ala
 180 185 190

ccc tgc aca act ggt gat cca ata cgc ctc aca ggg ccg cta cga ggt 624
 Pro Cys Thr Thr Gly Asp Pro Ile Arg Leu Thr Gly Pro Leu Arg Gly
 195 200 205

agc tgt gcc act ctg caa gca ggc act cga aga ctg gag aag acg tca 672
 Ser Cys Ala Thr Leu Gln Ala Gly Thr Arg Arg Leu Glu Lys Thr Ser
 210 215 220

ggc cac gac cac cct gac gtt gcc acc atg ctg aac atc ctg gca ctg 720
 Gly His Asp His Pro Asp Val Ala Thr Met Leu Asn Ile Leu Ala Leu
 225 230 235 240

gtc tat cgg gat cag aac aag tac aag gag gct gcc cac ctg ctc aat 768
 Val Tyr Arg Asp Gln Asn Lys Tyr Lys Glu Ala Ala His Leu Leu Asn
 245 250 255

gat gct ctg gcc atc cgg gag aaa aca ctg ggc aag gac cac cca gcc 816
 Asp Ala Leu Ala Ile Arg Glu Lys Thr Leu Gly Lys Asp His Pro Ala
 260 265 270

gtg gct gcg aca cta aac aac ctg gca gtc ctg tat agc gca gag 861
 Val Ala Ala Thr Leu Asn Asn Leu Ala Val Leu Tyr Ser Ala Glu
 275 280 285

<210> 8

<211> 287

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 8

Arg Glu Glu Lys Leu Ser Gln Asp Glu Ile Val Leu Gly Thr Lys Ala
 1 5 10 15

Val Ile Gln Gly Leu Glu Thr Leu Arg Gly Glu His Arg Ala Leu Leu
 20 25 30

Ala Pro Leu Val Ala Pro Glu Ala Gly Glu Ala Glu Pro Gly Ser Gln
 35 40 45

Glu Arg Cys Ile Leu Leu Arg Arg Ser Leu Glu Ala Ile Glu Leu Gly
 50 55 60

Leu Gly Glu Ala Gln Val Ile Leu Ala Leu Ser Ser His Leu Gly Ala
 65 70 75 80

Val Glu Ser Glu Lys Gln Lys Leu Arg Ala Gln Val Arg Arg Leu Val
 85 90 95

Gln Glu Asn Gln Trp Leu Arg Glu Glu Leu Pro Gly Thr Gln Xaa Lys
 100 105 110

Leu Gln Arg Ser Glu Gln Ala Val Ala Gln Leu Glu Glu Glu Lys Gln
 115 120 125

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

<210> 9
 <211> 601
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(264)

<400> 9
 att tca agg ggg ctg ctg tac ccc cag gca tgt gtc tgt ata tog cac 48
 Ile Ser Arg Gly Leu Leu Tyr Pro Gln Ala Cys Val Cys Ile Ser His
 1 5 10 15
 agg aag aag gaa agt aag gac att gcc agc aaa tat ctt aca tct cat 96
 Arg Lys Lys Glu Ser Lys Asp Ile Ala Ser Lys Tyr Leu Thr Ser His
 20 25 30
 cag cct ata ctg tgt ctc ctg acc act cct aac tgc aaa gga tgc tgg 144
 Gln Pro Ile Leu Cys Leu Leu Thr Thr Pro Asn Cys Lys Gly Cys Trp
 35 40 45
 gaa aaa aag agc att gta gct ttt cca gcc tct gtg gta ggc gca gat 192
 Glu Lys Lys Ser Ile Val Ala Phe Pro Ala Ser Val Val Gly Ala Asp
 50 55 60
 aag gga tta gag ttg ggt gtt act gaa tca atg tat cag aca ctt ctc 240
 Lys Gly Leu Glu Leu Gly Val Thr Glu Ser Met Tyr Gln Thr Leu Leu
 65 70 75 80
 agt cag gct aga gcc aga ttt aac tagatttagc aggaaaagta tgtttctttc 294
 Ser Gln Ala Arg Ala Arg Phe Asn
 85

acctgcatgt aatgaaggaa atctatgtcc ttcatacact taataaacct gtaagtctct 354
 actatgggca ggtactgtgc tagctagaca ttacaatgtg tgggggcaga cacaaagatg 414
 ggaacagtag aactgggga accctagagg ggggaggttg ggagtgggg aagggttgaa 474
 aatgattgg gtactatgct cactacctgg gtgatgggat catttgata ccaaatgcca 534
 gcaacacaca atttaccctg gtaacacacc ggcaagtga cccctgaac ctaagatgaa 594
 agccgaa 601

<210> 10
 <211> 88
 <212> FRT
 <213> Homo sapiens

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

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US00/10651
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(7) : Please See Extra Sheet. US CL : 800/3, 9, 14; 435/320.1, 325; 530/350, 387.1 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) U.S. : 800/3, 9, 14; 435/320.1, 325; 530/350, 387.1 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) STN, MEDLINE, BIOSIS, EMBASE, SCISEARCH, CAPLUS		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	AUSUBEL, et al., Short Protocols in Molecular Biology. US: Wiley and sons, Inc., 1995, 3rd ed., chapter 13, pages 53-61, all pages.	1-43
Y	GUNSTER et al. Identification and characterization of interactions between the vertebrate polycomb-group protein BMI1 and human homologs of polyhomeotic. Molecular Cell Biol. April 1997, Vol. 17, No. 4, pages 2326-2335, whole document.	1-43
Y	NAYA et al. Tissue-specific regulation of the insulin gene by a novel basic helix-loop-helix transcription factor. 15 April 1995, Vol. 9, pages 1009-1019, whole document.	1-43
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance *B* earlier document published on or after the international filing date *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention *X* document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone *Y* document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art *Z* document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 11 AUGUST 2000		Date of mailing of the international search report 29 AUG 2000
Name and mailing address of the ISA/US Commissioner of Patents and Trademarks Box PCT Washington, D.C. 20231 Facsimile No. (703) 305-3230		Authorized officer PETER PARAS Telephone No. (703) 308-8340

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US00/10651

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	ROMANOWSKI et al. XMCM7, a novel member of the Xenopus MCM family, interacts with XMCM3 and colocalizes with it throughout replication. Proc. Natl. Acad. Sci. September 1996, Vol. 93, pages 10189-10194, whole document.	1-43
Y	ZILBERMAN et al. Evolutionarily conserved promoter region containing CArG ⁺ -like elements is crucial for smooth muscle myosin heavy chain gene expression. Circ. Res. 23 March 1998, Vol. 82, No. 5, pages 566-575, whole document.	1-43

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US00/10651

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER:
IPC (7):

G01N 33/00; A01K 67/00, 67/027, 67/033; C12N 15/00, 15/02, 15/09, 15/63, 15/70, 15/74; C07K 1/00, 14/00, 16/00, 17/00

フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テ-マ-コ-ト' (参考)	
C 1 2 N	1/19	C 1 2 N	1/21	
	1/21	C 1 2 P	21/08	
	5/10	G 0 1 N	33/15	Z
C 1 2 P	21/08		33/50	Z
G 0 1 N	33/15		33/53	D
	33/50		33/566	
	33/53	C 1 2 N	15/00	A
	33/566		5/00	A
				B

- (31)優先権主張番号 6 0 / 1 5 6 , 9 4 7
(32)優先日 平成11年9月30日(1999 . 9 . 30)
(33)優先権主張国 米国 (U S)
(31)優先権主張番号 6 0 / 1 6 3 , 0 7 3
(32)優先日 平成11年11月2日(1999 . 11 . 2)
(33)優先権主張国 米国 (U S)
(31)優先権主張番号 6 0 / 1 6 8 , 3 7 6
(32)優先日 平成11年12月2日(1999 . 12 . 2)
(33)優先権主張国 米国 (U S)
(31)優先権主張番号 6 0 / 1 6 8 , 3 7 8
(32)優先日 平成11年12月2日(1999 . 12 . 2)
(33)優先権主張国 米国 (U S)
(81)指定国 E P (A T , B E , C H , C Y ,
D E , D K , E S , F I , F R , G B , G R , I E , I
T , L U , M C , N L , P T , S E) , O A (B F , B J
, C F , C G , C I , C M , G A , G N , G W , M L ,
M R , N E , S N , T D , T G) , A P (G H , G M , K
E , L S , M W , S D , S L , S Z , T Z , U G , Z W
) , E A (A M , A Z , B Y , K G , K Z , M D , R U ,
T J , T M) , A E , A L , A M , A T , A U , A Z ,
B A , B B , B G , B R , B Y , C A , C H , C N , C
R , C U , C Z , D E , D K , D M , D Z , E E , E S
, F I , G B , G D , G E , G H , G M , H R , H U ,
I D , I L , I N , I S , J P , K E , K G , K P , K
R , K Z , L C , L K , L R , L S , L T , L U , L V
, M A , M D , M G , M K , M N , M W , M X , N O ,
N Z , P L , P T , R O , R U , S D , S E , S G , S
I , S K , S L , T J , T M , T R , T T , T Z , U A
, U G , U Z , V N , Y U , Z A , Z W

Fターム(参考) 2G045 AA40 DA12 DA13 DA36 FB02
FB03
4B024 AA01 AA11 BA43 CA01 GA11
GA18 HA15
4B064 AG01 AG27 CA19 CC24 DA01
DA13
4B065 AB01 AC14 BA01 CA44 CA46
4H045 AA10 AA11 BA41 CA40 DA76
EA21 EA50 FA74

专利名称(译)	蛋白质 - 蛋白质相互作用		
公开(公告)号	JP2002542774A	公开(公告)日	2002-12-17
申请号	JP2000614029	申请日	2000-04-21
[标]申请(专利权)人(译)	美瑞德生物工程公司		
申请(专利权)人(译)	无数的遗传学公司		
[标]发明人	カレンハイチマン ポールエルバーテル		
发明人	カレン・ハイチマン ポール・エル・バーテル		
IPC分类号	A01K67/027 C07K14/47 C07K16/18 C07K19/00 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C12N15/09 C12P21/08 G01N33/15 G01N33/50 G01N33/53 G01N33/566		
CPC分类号	C07K14/47 A01K2217/05 A01K2217/075 C07K14/4711		
FI分类号	A01K67/027 C07K16/18 C07K19/00.ZNA C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12P21/08 G01N33/15.Z G01N33/50.Z G01N33/53.D G01N33/566 C12N15/00.A C12N5/00.A C12N5/00.B		
F-TERM分类号	2G045/AA40 2G045/DA12 2G045/DA13 2G045/DA36 2G045/FB02 2G045/FB03 4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/BA43 4B024/CA01 4B024/GA11 4B024/GA18 4B024/HA15 4B064/AG01 4B064/AG27 4B064/CA19 4B064/CC24 4B064/DA01 4B064/DA13 4B065/AB01 4B065/AC14 4B065/BA01 4B065/CA44 4B065/CA46 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/BA41 4H045/CA40 4H045/DA76 4H045/EA21 4H045/EA50 4H045/FA74		
优先权	60/130389 1999-04-22 US 60/140693 1999-06-24 US 60/156947 1999-09-30 US 60/163073 1999-11-02 US 60/168376 1999-12-02 US 60/168378 1999-12-02 US		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明涉及发现哺乳动物的生理途径，包括生理失常或疾病中涉及的新型蛋白质-蛋白质相互作用。生理失调和疾病的例子包括非胰岛素依赖性糖尿病 (NIDDM)，神经退行性疾病例如阿尔茨海默氏病 (AD) 等。因此，本发明提供了这些蛋白质和/或其片段的复合物，针对所述复合物的抗体，对生理发生的疾病的诊断 (包括对疾病的易感性的诊断和对所述疾病的存在的诊断)。，用于药物筛选，以调节本文所述蛋白的相互作用，并鉴定与本文所述蛋白共有的途径中的其他蛋白。