

【特許請求の範囲】

【請求項1】 (a) シーケンス認識番号13 (SEQ ID NO.13)、シーケンス認識番号15 (SEQ ID NO.15)、シーケンス認識番号17 (SEQ ID NO.17)、シーケンス認識番号19 (SEQ ID NO.19)、シーケンス認識番号21 (SEQ ID NO.21)、シーケンス認識番号23 (SEQ ID NO.23)、およびシーケンス認識番号25 (SEQ ID NO.25) から成る群から選択されるポリペプチドに対して少なくとも70%の同一性を有するタンパク質をコード化する核酸分子、

(b) 前記(a)の核酸に対して相補的である核酸分子、

(c) 前記(a)または(b)の核酸における少なくとも15個の連続的な塩基を含む核酸分子、および

(d) 前記(a)の核酸分子に対して厳密な条件下でハイブリッド形成する核酸分子から成る群から選択される単離および精製された分子。

【請求項2】 患者の健康を評価する方法において、ODC-pまたはスプライシング変異体に対応してコード化する核酸の発現量を検出する工程、および当該核酸分子の存在または量を機能不全の存在または非存在に対して関連させる工程を含む方法。

【請求項3】 患者の健康を評価する方法において、患者のサンプル中におけるODC-pまたはそのスプライシング変異体の量を検出する工程、およびODCの存在または量を機能不全の存在または非存在に対して関連させる工程を含む方法。

【請求項4】 ODC-pまたはそのスプライシング変異体の存在を決定するためのキットにおいて、

(a) ODC-pまたはそのスプライシング変異体に対して免疫学的に反応性を有する抗体、および(b)前記抗体の存在を検出するための試薬を含むキット。

【請求項5】 ODC-pおよびそのスプライシング変異体をコード化する第1の核酸分子の存在、またはシーケンス認識番号11 (SEQ ID NO.11)、シーケンス認識番号12 (SEQ ID NO.12)、シーケンス認識番号13 (SEQ ID NO.13)、シーケンス認識番号14 (SEQ ID NO.14)、シーケンス認識番号15 (SEQ ID NO.15)、シーケンス認識番号16 (SEQ ID NO.16)、シーケンス認識番号17 (SEQ ID NO.17)、シーケンス認識番号18 (SEQ ID NO.18)、シーケンス認識番号19 (SEQ ID NO.19)、シーケンス認識番号20 (SEQ ID NO.20)、シーケンス認識番号21 (SEQ ID NO.21)、シーケンス認識番号22 (SEQ ID NO.22)、シーケンス認識番号23 (SEQ ID NO.23)、シーケンス認識番号24 (SEQ ID NO.24)、およびシーケンス認識番号25 (SEQ ID NO.25) のアミノ酸を含むポリペプチドに対して少なくとも70%の同一性を有するタンパク質をコード化する第1の核酸分子の存在を決定するためのキットにおいて、

(a) ODC-pをコード化する核酸シーケンスの一部

分に対して相補的である第2の核酸分子を含み、当該第2の核酸分子が前記第1の核酸シーケンスにおける少なくとも15個の連続的な塩基を含み、さらに、

(b) 前記第2の核酸分子の存在を検出するための試薬を含むキット。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明はオルニチン・デカルボキシラーゼ(「ODC」)、当該ODCの関連タンパク質に対応してコード化する核酸、およびこれらの診断用および治療用の使用方法に関する。

【0002】

【従来技術】プトレシンに耐するオルニチンの脱炭酸化はスペルミジンおよびスペルミン等のポリアミン類の生合成における最初の段階である。動物組織および微生物において見られるポリアミン類は細胞の成長および増殖において重要な役割を果たすことが知られている。ODCはポリアミン類の生合成における律速酵素であり、有核細胞中において偏在的に発現される。ODCの高められた触媒作用は癌およびその他の迅速に増殖している細胞中において見られる。また、その低い活性は最少の細胞代謝回転を伴う休止組織において一般的である。

【0003】ODCは急速な生理学的代謝回転の形態における転写調節並びに転写後調節の影響を受けやすい。このODCの分解は抗酵素(AZ)に対する結合を介して行なわれ、この抗酵素は3種類の既知の相同体のタンパク質系統群の一要素である。このODC-AZ複合体はユビキチン化を伴わないプロテアーゼ分解に誘導される。上記AZの利用可能性はAZ結合性タンパク質である抗酵素抑制因子(AZI)により調節され、この抗酵素抑制因子はAZ結合部位を含む。

【0004】

【非特許文献1】ワトソン(Watson)他著、「モレキュラー・バイオロジー・オブ・ザ・ジーン(Molecular Biology of the Gene)」,第4版,ベンジャミン・カミングス出版社(Benjamin Cummings Pub. Co.)

【非特許文献2】マニアティス, T. (Maniatis), フリッシュ, E. F. (Fritsch, E. F.), サンプルック, J. (Sambrook, J.) 著, 「モレキュラー・クローニング: ア・ラボラトリー・マニュアル(Molecular Cloning: A Laboratory Manual)」, 第2版, コールド・スプリング・ハーバー・ラボラトリー・プレス(Cold Spring Harbor Laboratory Press), コールド・スプリング・ハーバー, ニュー・ヨーク, 1989年

【非特許文献3】「プロテインズ--ストラクチャー・アンド・モレキュラー・プロパティーズ(Proteins--Structure and Molecular Properties)」, 第2版, T. E. クレイトン, W. H. フリーマン・アンド・カンパニー(T. E. Creighton, W. H. Freeman and Company), ニュー・ヨーク, 1993年

【非特許文献4】「コンピューテーショナル・モレキュラー・バイオロジー (Computational Molecular Biology)」, レスク, A. M. (Lesk, A. M.) 編集, オックスフォード・ユニバーシティ・プレス (Oxford University Press), ニュー・ヨーク, 1988年

【非特許文献5】「バイオコンピューティング: インフォマティクス・アンド・ゲノム・プロジェクト (Biocomputing: Informatics and Genome Projects)」, スミス, D. W. (Smith, D. W.) 編集, アカデミック・プレス (Academic Press), ニュー・ヨーク, 1993年

【非特許文献6】「コンピューター・アナリシス・オブ・シーケンス・データ (Computer Analysis of Sequence Data)」, 第I部, グリフィン, A. M. (Griffin, A. M.), およびグリフィン, H. G. (Griffin, H. G.) 編集, フマナ・プレス (Humana Press), ニュー・ジャージー, 1994年

【非特許文献7】「シーケンス・アナリシス・イン・モレキュラー・バイオロジー (Sequence Analysis in Molecular Biology)」, フォン・ハインジェ, G. (von Heinje, G.), アカデミック・プレス, 1987年

【非特許文献8】「シーケンス・アナリシス・プライマー (Sequence Analysis Primer)」, グリブスコフ, M. (Gribskov, M.) およびデベルクス, J. (Devereux, J.) 編集, エム・ストックトン・プレス (M Stockton Press), ニュー・ヨーク, 1991年

【非特許文献9】カリロ, H. (Carillo, H.) およびリップマン, D. (Lipman, D.) 著, エスアイエーエム・ジャーナル・アプライド・マザマティクス (SIAM J. Applied Math.), 第48巻, p. 1073, 1988年

【非特許文献10】デベルクス, J. (Devereux, J.) 他著, ヌクレイック・アシッド・リサーチ (Nucleic Acid Research), 第12(1)巻, p 387, 1984年

【非特許文献11】アシュール, S. F. (Atschul, S. F.) 他著, ジャーナル・モレキュラー・バイオロジー (J. Molec. Biol.), 第215巻, p 403, 1990年

【非特許文献12】ケーラー (Kohler) およびマイルスタイン (Milstein) 著, ネイチャー (Nature), 第256巻, p 495 - 497, 1975年

【非特許文献13】「アンチボディズ: ア・ラボラトリー・マニュアル (Antibodies: A laboratory manual)」, コールド・スプリング・ハーバー・ラボラトリー・プレス (ColdSpring Harbor Laboratory Press) 出版, コールド・スプリング・ハーバー, ニュー・ヨーク (ISBN 0 8 7 9 6 9 3 1 4 2)

【非特許文献14】「ジーン・セラピー・プロトコルズ (Gene Therapy Protocols)」, ポールD. ロビンス

(Paul D. Robbins) 編集, ヒューマン・プレス (Human Press), トタワ, ニュー・ジャージー, 1996年

【非特許文献15】レミントン (Remington) 著, 「薬剤の化学 (Pharmaceutical Sciences)」

【非特許文献16】Tietz著, 「ファンダメンタルズ・オブ・クリニカル・ケミストリー (Fundamentals of Clinical Chemistry)」, 第4版, p. 143

【0005】

【発明が解決しようとする課題】ヒトODC類似タンパク質であるODC-pが現在までに単離および精製されている。このタンパク質は脳および生殖腺組織の中に分布している。8種類の異なる代替的にスプライシング処理されたcDNA変異体がこれまでにクローン化されている。ODC-pおよびそのスプライシング変異体の検出のためのアッセイ、特にODCの存在に関連しているアッセイは癌および神経変性性の疾患等の病気の検出およびモニターにおいて有用である。これらはまた上記の各病気の治療をモニターするためにも使用できる。

【0006】

【課題を解決するための手段】本発明の態様の一例において、精製および単離したODC-pおよび当該ODC-pの各変異体がこれらをコード化する核酸を有するものとして調製されている。これらのタンパク質の生物学的および構造的な各特性が、そのアミノ酸およびヌクレオチド・シーケンスであるとして、開示されている。組換えDNA分子、およびこれらの各部分はこれらのDNA分子の各相同体を単離すること、当該DNA分子の各ゲノム等価物を同定および単離すること、および当該DNA分子の各変異体の形態を同定、検出または単離することにおいて有用である。

【0007】本発明の別の態様において、ODC-pおよびその各スプライシング変異体に対応するアッセイが病気の進行および/または治療に対する応答をモニターするために用いられる。

【0008】

【発明の実施の形態】ODC-pおよびその各スプライシング変異体 (splice variants) は細胞分化に関連しているタンパク質である。ODC-pおよびそのスプライシング変異体を生成できる脊椎動物の細胞は各精巢の中並びに中枢神経系 (「CNS」) の中において見られる。

【0009】上記の遺伝子構造を定めるためにクローンRPI-11703 (遺伝子銀行受入番号: AL020995) によるヒト・ゲノムDNAシーケンスを用いた。また、プロサム62 (blosum62) スコアリング・マトリクスによるプロットシミュラリティ (Plot Similarity) 多数整合法、およびクラスタルW (ClustalW) プログラムを用いてODC-pおよびその各スプライシング変異体、およびODCおよびAZIの間のシーケンス比較を行なった。ODCおよびODC-pの各cDNAにおけるコード化領域の

間の相同性は59%である。また、タンパク質のレベルにおいて、ODCとODC-pとの間の相同性は54%であり、類似性は75%である。また、AZIおよびODC-pにおいてそれぞれ対応している数値は45%および66%である。

【0010】ODCおよびODC-pおよびそのスプライシング変異体の各コード化領域を比較した場合に、その相同性は5'-および3'-の各末端部分において最も低い、中央部分は保存されている。このことは、例えば、全体のコード化領域における各ヌクレオチドをカバーしている6種類のプライマーによりシーケンス化されているヒトの脳のODC-pにおけるコード領域シーケンス(CDS)により示されている。ODC-pのコード化領域(CDS)は11種類のエキソン(構造配列)を含むが、ODCのコード化領域は10種類のエキソンにより構成されていることが既に分かっている。これらODCおよびODC-p(並びにAZI)の各エキソンはその大きさにおいてほとんど同一である。しかしながら、ODC-pの全体の遺伝子シーケンスは39.3キロベース(kb)にわたる。一方、ODCの遺伝子

シーケンスは7.9kbにわたっている。

【0011】ODC-p遺伝子における9番目のエキソン(Exon no.9)は成熟前終止コドンを含む。このエキソンは脳または精巣からの最も豊富なRT-PCR生成物において転写されないが、ODC-pの各部分を含む各ESTから生成される種々のクローンがこのエキソンを含んだ状態で同定されている。

【0012】精巣および成人の脳からの6種類の異なる代替的にスプライシング処理されているODC-pの各変異体が上記エキソン9(9番目のエキソン)に特異的な各プライマーにより同定されている。さらに、各クローンをシーケンス化することにより、エキソン11に対して終結している別のスプライシング変異体も見出されている。従って、2個の異なる3'-末端部分を伴う合計で8個の異なる代替的にスプライシング処理されているイソ型のODC-pが得られている。ODC-pおよびSV2はODC-pにおける最長の変異体である。これらは以下の各エキソン、すなわち、エキソン1, 3乃至8および10乃至11により構成されており、SV2の場合においては、エキソン8番における5'-末端部分に対してさらに60個の塩基対(「BP」)が付加されている。これらのイソ型もまた精巣および成人の脳から最も容易にコピーされる。また、SV3はエキソン1, 3乃至9番を含み、SV4はエキソン1, 3乃至9番およびエキソン5番における付加的な開始部分を含み、SV5はエキソン1, 3, 5乃至9番、SV6はエキソン1, 3, 7乃至9番、SV7はエキソン1, 6乃至9番、およびSV8はエキソン1乃至9番を含む。図1(a), 1(b), 2(a), 2(b), 3(a), 3(b), 4(a), 4(b), 5(a), 5(b),

6(a), 6(b), 7(a), 7(b), 8(a)および8(b)はODC-pおよびその各スプライシング変異体に対応してコード化する各核酸シーケンス並びにそれぞれの対応するタンパク質における各アミノ酸シーケンスをそれぞれ示している図である。さらに、図9および図10は上記各エキソンをそれぞれ示している図である。

【0013】終止コドンはODC-pの異なるイソ型における種々の場所に見られる。比較的に短い種類はエキソン9においてそれぞれの終止コドンを有しており、その開始部分と終止部分との間の各エキソンにおいてかなりの変異部分を有している。エキソン1, 7、およびエキソン8の3'-末端部分は全てのイソ型において一貫して見られる。しかしながら、比較的に短い変異体はODC活性に対応する2個の部位、すなわち、C360およびD361を含まない。異なるイソ型は神経または精子の分化における異なる段階において発現する。実際に、成人の脳(この場所における分化は既に終結している)の細胞内において見られる場合に比して多量の比較的に短いイソ型が精巣のmRNAの中において見られる。

【0014】特異的な各アミノ酸に対応してコード化する種々のコドンにおいて実質的な量の重複性が存在している。それゆえ、本発明は権利が請求されている各アミノ酸の結果的な翻訳に対応してコード化する代替的な各コドンを含む核酸シーケンスにも関係する。さらに、このDNAシーケンスまたはその翻訳されたタンパク質のいずれかにおける変異もまた本発明の範囲に含まれ、これらは発現されたタンパク質の最終的な物理的特性を実質的に変化しない。例えば、脂肪族アミノ酸のアラニン、バリン、ロイシンおよびイソロイシンの置換、ヒドロキシ残基のセリンおよびトレオニンの交換、酸性残基のアスパラギン酸およびグルタミン酸の交換、アミド残基のアスパラギンおよびグルタミンの間の置換、塩基性残基のリジンおよびアルギニンの交換、および芳香族残基のフェニルアラニン、チロシンの間におけるODC-pはそのポリペプチドの機能における変化を生じない可能性がある。これらの置換は周知であり、例えば、ワトソン(Watson)他著、「モレキュラー・バイオロジー・オブ・ザ・ジーン(Molecular Biology of the Gene)」, 第4版, ベンジャミン・カミングス出版社(Benjamin Cummings Pub. Co.)において記載されている。

【0015】一定のペプチドに対応してコード化する各DNAシーケンスは天然に存在しているペプチドの特性と異なる特性を有する一定のペプチドに対応してコード化するように変更できる。このようなDNAシーケンスを変更する方法は部位特異的な変異誘発、キメラ置換、および遺伝子融合を含むがこれらに限らない。また、変更された特性の例は基質に対する酵素の親和性またはリガンドに対する受容体(レセプター)の親和性における変

化を含むがこれらに限らない。このようなポリヌクレオチドまたはポリペプチドにおける全ての変化が本発明の有用な変異体として期待される。

【0016】データバンクから見つけ出せるBAC-クローン・シーケンスを利用して、その遺伝子コード化ODC-pの染色体の局在化が染色体1p33乃至34.1であると決定した。また、このODC遺伝子は染色体2p25において見られる。

【0017】上記クローンRPI-11703(遺伝子銀行受入番号:AL020995)を使用してヒト・ゲノムODC-pのDNAを単離した。このODC-pの代替的にスプライシング処理した各変異体に対応する各cDNAを5'プライマーのCAGCTCCTCCTGCAAGGCATGG(シーケンス認識番号1)および3'プライマーのGAGGCCCACTCACATGCTCGCT(シーケンス認識番号2)、および鋳型としてのヒトの成人の脳および精巣組織の各ライブラリーによるRT-PCRにより増殖した。別の3'プライマーのCTACACGGCAATGAAATGAATGGAC(シーケンス認識番号3)もエキソンIXにおける成熟前終止コドンにおいて終結している各スプライシング変異体に対応して用いた。さらに詳細な説明が実施例1において行なわれている。さらに、別の細胞および細胞系もODC-pおよびそのスプライシング変異体のmRNAを単離するための使用に適している。適当な細胞の選択は細胞抽出物または全細胞のアクセシにおけるODC-pおよびそのスプライシング変異体のメッセージに対応するスクリーニングにより行なうことができる。ODC-pメッセージを有する各細胞はODC-pおよびそのスプライシング変異体に対応するmRNAの単離に適している。その後、このmRNAは一定のDNA鎖に逆転写することができ、得られたcDNAがPCRにより増殖できる。当業界において周知の方法がODC-pおよびその各スプライシング変異体に対応してコード化する核酸を分子的にクローン化してcDNAライブラリーを調製するために容易に使用できる。例えば、マニアティス, T. (Maniatis, T.), フリッシュ, E. F. (Fritsch, E. F.), サンプルック, J. (Sambrook, J.) 著, 「モレキュラー・クローニング: ア・ラボラトリー・マニュアル (Molecular Cloning: A Laboratory Manual)」, 第2版, コールド・スプリング・ハーバー・ラボラトリー・プレス (ColdSpring Harbor Laboratory Press), コールド・スプリング・ハーバー, ニュー・ヨーク, 1989年を参照されたい。

【0018】ポリヌクレオチドまたはポリペプチドの各変異体はそれぞれ基準のポリヌクレオチドまたはポリペプチドと異なるポリヌクレオチドまたはポリペプチドである。このポリヌクレオチドの変異体は天然に存在している対立変異体のような天然に存在している変異体であってもよく、天然に存在していることが知られていない変異体であってもよい。これらの変異体は本発明の範囲

に含まれており、ポリヌクレオチドまたはポリペプチドの機能的誘導体、変性変異体、フラグメント、類似体、および相同体を含むことができる。

【0019】ポリヌクレオチドは一般にポリリボヌクレオチドまたはポリデオキシリボヌクレオチドのいずれかを言い、これらは無修飾状態のRNAまたはDNAまたは修飾したRNAまたはDNAとすることができる。従って、例えば、本明細書において使用されているようなポリヌクレオチドは、とりわけ、一本鎖および二本鎖のDNA、一本鎖および二本鎖の領域または一本鎖、二本鎖および三本鎖の領域の混合体であるDNA、一本鎖および二本鎖のRNA、および一本鎖および二本鎖の領域の混合体であるRNA、および一本鎖、または、さらに一般的に二本鎖、または三本鎖、または一本鎖および二本鎖の領域の混合体であってもよいDNAおよびRNAを含むハイブリッド(混成)分子に言及している。上記の各領域における(ヌクレオチド)鎖は同一の分子により形成されていてもよく、異なる分子により形成されていてもよい。また、これらの領域は上記1種類以上の分子の全てを含むことができるが、さらに一般的にはこれらの分子の一部の領域のみを含んでいる。三本鎖らせん領域の分子の一例はオリゴヌクレオチドである場合が多い。本明細書において使用されているように、用語のポリヌクレオチドは1個以上の修飾した塩基部分を含む上述したような各DNAおよび各RNAを含む。従って、安定性またはその他の理由で修飾されている支軸部分を有するDNAまたはRNAが本明細書において目的とされている用語としての「ポリヌクレオチド(polynucleotides)」である。さらに、イノシン等の通常のでない塩基、またはトリチル化した塩基等の修飾した塩基を含むDNAまたはRNAが本明細書において使用されている用語としてのポリヌクレオチドである。当該技術分野における熟練者において知られている多くの有用な目的を果たす極めて多様な修飾がDNAおよびRNAに対して行なわれている。本明細書において採用されている用語のポリヌクレオチドは、ポリヌクレオチドの化学的、酵素的または代謝的に修飾された形態、並びに、中でも、単純な細胞および複合的な細胞を含む、ウイルスおよび細胞のDNAおよびRNAの特徴の化学的な形態を含む。また、このポリヌクレオチドはオリゴヌクレオチドとして言われる場合の多い短いポリヌクレオチドも含む。

【0020】本発明のポリペプチドはペプチド、オリゴペプチド、およびオリゴマー(例えば、タンパク質)として言われている物質並びにこれらの各変異体を含む。これらの変異体はアセチル化、アシル化、ADP-リボシル化、アミド化、フラビンの共役的結合、ヘム部分の共役的結合、ヌクレオチドまたはヌクレオチド誘導体の共役的結合、脂質または脂質誘導体の共役的結合、ホスファチジルイノシトールの共役的結合、架橋化、環化、

ジスルフィド結合形成、脱メチル化、共役的架橋の形成、シスチンの形成、ピログルタメートの形成、ホルミル化、ガンマ-カルボキシル化、グリコシル化、GPIアンカー形成、ヒドロキシル化、ヨウ素化、メチル化、ミリストイル化、酸化、タンパク質分解処理、ホスホリル化、プレニル化、ラセミ化、セレノイル化、硫酸化、アルギニル化のようなタンパク質に対するアミノ酸の転移RNA媒介による付加、およびユビキチン化を受けている変異体を含むがこれらに限らない。例えば、「プロテインズ - ストラクチャー・アンド・モレキュラー・プロパティーズ」, 第2版, T. E. クレイトン, W. H. フリーマン・アンド・カンパニー (T. E. Creighton, W. H. Freeman and Company), ニュー・ヨーク, (1993年)を参照されたい。

【0021】同一性および類似性の決定は「コンピュータショナル・モレキュラー・バイオロジー (Computational Molecular Biology)」, レスク, A. M. (Lesk, A. M.) 編集, オックスフォード・ユニバーシティ・プレス (Oxford University Press), ニュー・ヨーク, 1988年、「バイオコンピューティング: インフォーマティクス・アンド・ゲノム・プロジェクト (Bioinformatics and Genome Projects)」, スミス, D. W. (Smith, D. W.) 編集, アカデミック・プレス (Academic Press), ニュー・ヨーク, 1993年、「コンピューター・アナリシス・オブ・シーケンス・データ (Computer Analysis of Sequence Data)」, 第I部, グリフィン, A. M. (Griffin, A. M.) およびグリフィン, H. G. (Griffin, H. G.) 編集, フマナ・プレス (Humana Press), ニュー・ジャージー, 1994年、「シーケンス・アナリシス・イン・モレキュラー・バイオロジー (Sequence Analysis in Molecular Biology)」, フォン・ハインジェ, G. (von Heinje, G.), アカデミック・プレス, 1987年、「シーケンス・アナリシス・プライマー (Sequence Analysis Primer)」, グリブスコフ, M. (Gribskov, M.) およびデベルクス, J. (Devereux, J.) 編集, エム・ストックトン・プレス (M Stockton Press), ニュー・ヨーク, 1991年、およびカリロ, H. (Carillo, H.) およびリップマン, D. (Lipman, D.) 著, (1988年), エスアイイーエム・ジャーナル・アプライド・マザマティクス (SIAM J. Applied Math.), 第48巻, p. 1073において記載されている方法等の周知の方法に従って容易に行なえる。これらの同一性および類似性を決定するための方法はコンピューター・プログラム中に体系化される。2個のシーケンス間の同一性および類似性を決定するための好ましいコンピューター・プログラムの方法はGC Gプログラム・パッケージ (デベルクス, J. (Devereux, J.) 他著, (1984年), ヌクレイック・アシッド・リサーチ (Nucleic Acid Research), 第12(1)巻, p 387)、BLAST

P, BLASTIN、およびFASTA (アシュール, S. F. (Atschul, S. F.) 他, (1990年), ジャーナル・モレキュラー・バイオロジー (J. Molec. Biol.), 第215巻, p 403)等を含むがこれらに限らない。

【0022】本発明の好ましい実施形態はシーケンス認識番号11 (Seq. ID. No.11)、シーケンス認識番号13 (Seq. ID. No.13)、シーケンス認識番号15 (Seq. ID.No.15)、シーケンス認識番号17 (Seq. ID. No.17)、シーケンス認識番号19 (Seq. ID. No.19)、シーケンス認識番号21 (Seq. ID. No.21)、シーケンス認識番号23 (Seq. ID. No.23)、およびシーケンス認識番号25 (Seq. ID.No.25)において設定されているアミノ酸シーケンスを有するポリペプチドをコード化するポリヌクレオチドおよびこれらのポリヌクレオチドに対して相補的なポリヌクレオチドに対してそれぞれの全長にわたり少なくとも70%同一であるポリヌクレオチドである。あるいは、少なくとも80%同一である領域を含むポリヌクレオチドが極めて好ましく、少なくとも90%同一である領域を含むポリヌクレオチドがさらに好ましく、これらの好ましいポリヌクレオチドの中でも、少なくとも95%同一であるポリヌクレオチドが特に好ましい。さらに、少なくとも97%同一であるポリヌクレオチドが少なくとも95%同一であるポリヌクレオチドの中でも極めて好ましく、これらのポリヌクレオチドの中でも、少なくとも98%および少なくとも99%同一であるポリヌクレオチドが特に極めて好ましく、少なくとも99%同一であるポリヌクレオチドが最も好ましい。上記の各ポリヌクレオチドに対してハイブリッド形成する好ましいポリヌクレオチドはシーケンス認識番号10 (Seq. ID. No.10)、シーケンス認識番号12 (Seq. ID. No.12)、シーケンス認識番号14 (Seq. ID. No.14)、シーケンス認識番号16 (Seq. ID. No.16)、シーケンス認識番号18 (Seq. ID. No.18)、シーケンス認識番号20 (Seq. ID. No.20)、シーケンス認識番号22 (Seq. ID. No.22)、およびシーケンス認識番号24 (Seq. ID. No.24)の起源の分かっている各アミノ酸シーケンスにより特徴付けられるポリペプチドと実質的に同一の生物学的な機能または活性を維持しているポリペプチドをコード化する。さらに、この点において、好ましい各実施形態は上記シーケンス認識番号10、シーケンス認識番号12、シーケンス認識番号14、シーケンス認識番号16、シーケンス認識番号18、シーケンス認識番号20、シーケンス認識番号22、およびシーケンス認識番号24のDNAよりコード化される成熟した各ポリペプチドと実質的に同一の生物学的な機能または活性を維持しているポリペプチドをコード化するポリヌクレオチドである。本発明はさらに上記の各シーケンスに対してハイブリッド形成するポリヌクレオチドに関し、好ましくは、厳密な条件下 (各シー

ケンス間において少なくとも95%、好ましくは少なくとも97%の同一性が存在している場合にのみハイブリッド形成が生じる条件)においてハイブリッド形成するポリヌクレオチドに関する。

【0023】本発明のポリヌクレオチドは上記シーケンス認識番号11、シーケンス認識番号13、シーケンス認識番号15、シーケンス認識番号17、シーケンス認識番号19、シーケンス認識番号21、シーケンス認識番号23、およびシーケンス認識番号25の全長の各cDNAおよびゲノム・クローンを単離するため、および一定の高いシーケンス類似性を有する別の遺伝子の各cDNAおよびゲノム・クローンを単離するためのmRNA、cDNAおよびゲノムDNAに対応する各ハイブリッド形成プローブとして使用できる。これらのプローブは一般に少なくとも15個の塩基を含む。好ましくは、上記プローブは少なくとも30個の塩基を有しており、少なくとも50個の塩基を有することができる。特に好ましいプローブは少なくとも30個の塩基を有しており、50個またはそれ以下の塩基を有している。例えば、本発明の遺伝子のコード化領域はオリゴヌクレオチド・プローブを合成するための既知のDNAシーケンスによるスクリーニングにより単離できる。その後、本発明の遺伝子のシーケンスに対して相補的なシーケンスを有するラベル標識したオリゴヌクレオチドを用いてcDNA、ゲノムDNAまたはmRNAのライブラリーをスクリーニングすることによりこのライブラリーにおけるどの要素に対して上記プローブがハイブリッド形成するかを決定する。

【0024】本発明のポリペプチドは上記シーケンス認識番号11、シーケンス認識番号13、シーケンス認識番号15、シーケンス認識番号17、シーケンス認識番号19、シーケンス認識番号21、シーケンス認識番号23、およびシーケンス認識番号25(特に成熟したポリペプチドにおける)の各ポリペプチド並びにこれらのポリペプチドに対して少なくとも70%の同一性を有するポリペプチドを含む。しかしながら、好ましくは、本発明のポリペプチドは上記の各ポリペプチドに対して少なくとも80%の類似性、さらに好ましくは少なくとも90%の類似性(さらに好ましくは少なくとも90%の同一性)を有している。さらに好ましくは、本発明のポリペプチドは上記シーケンス認識番号11、シーケンス認識番号13、シーケンス認識番号15、シーケンス認識番号17、シーケンス認識番号19、シーケンス認識番号21、シーケンス認識番号23、およびシーケンス認識番号25の各ポリペプチドに対して少なくとも95%の類似性(さらに好ましくは少なくとも97%の同一性)を有していて、これらのポリペプチドの各部分も含んでおり、このポリペプチドの部分が一般に少なくとも30個のアミノ酸、さらに好ましくは少なくとも50個のアミノ酸を含む。

【0025】本明細書において記載されている各方法により得られるODC-pおよびそのスプライシング変異体に対応するクローン化したDNAは分子クローニングにより適当なプロモーターおよびその他の適当な転写調節要素を含む発現ベクターに組換えにより発現されて、多核または真核の宿主細胞内に転移されることにより組換えタンパク質が生成される。このような操作についての技法が上記文献のマニアティス, T. (Maniatis, T.) 他に完全に記載されている。

【0026】種々の哺乳類動物、バクテリア、および真菌類の発現ベクターが哺乳類動物の細胞における組換えODC-p(およびそのスプライシング変異体)を発現するために使用できる。この組換えODC-p(およびそのスプライシング変異体)の発現に適し得る市場において入手可能な哺乳類動物の発現ベクターはpMAMneo(クローンテック(Clontech))、pcDNA3(インビトロゲン(Invitrogen))、pMC1neo(ストラタジーン(Stratagene))、pXT1(ストラタジーン)、pSG5(ストラタジーン)、EB0-pSV2-neo(ATCC 37593)、pBPV-1(8-2)(ATCC 37110)、pdBPV-MMTneo(342-12)(ATCC 37224)、pRSVgpt(ATCC 37199)、pRSVneo(ATCC 37198)、pSV2-dhfr(ATCC 37146)、pUCtag(ATCC 37460)、およびIZD35(ATCC 37565)を含むがこれらに限らない。また、pETベクター(ノバゲン(Novagen))およびpQEベクター(キアゲン(Qiagen))は好ましいバクテリア発現ベクターである。さらに、pYES2(インビトロゲン(Invitrogen))およびピチア(Pichia)発現ベクター(インビトロゲン)は好ましい真菌類ベクターである。また、pBlueBac11(インビトロゲン)は好ましい昆虫細胞発現ベクターである。なお、インビトロゲン(Invitrogen)(グローエンインゲン, オランダ国)から入手可能なTOPO TA pCR 2.1およびプロメガ(Promega)(マディソン, ウィスコンシン州)から入手可能なpCIneoベクターが最も好ましいベクターである。

【0027】組換えの宿主細胞は多核または真核のいずれでもよい。適し得る市場において入手可能な哺乳類種から誘導した細胞系はCV-1(ATCC CCL 70)、COS-1(ATCC CRL 1650)、COS-7(ATCC CRL 1651)、CHO-K1(ATCC CCL 61)、3T3(ATCC CCL92)、NIH/3T3(ATCC CRL 1658)、HeLa(ATCC CCL 2)、C1271(ATCC CRL 1616)、BS-C-1(ATCC CCL 26)、MRC-5(ATCC CCL 171)、L-cells、およびHEK-293(ATCC CRL 1573)を含むがこれらに限らない。

【0028】上記発現ベクターは形質転換、トランスフェクション、プロトプラスト融合、リポフェクション、エレクトロポレーションを含むがこれらに限らない多数の技法のいずれか一つにより宿主細胞の中に導入できる。この発現ベクターを含有している細胞はクローンにより繁殖されて、個別に分析されることによりこれらがODC-pタンパク質およびそのスプライシング変異体

のタンパク質を生成するか否かが決定される。ODC - p発現性の宿主細胞クローンの同定は抗ODC - p抗体に対する免疫学的反応性、および宿主細胞付随のODC - p活性の存在等を含むがこれらに限らない幾つかの手段により行なうことができる。

【0029】また、上記ODC - p・DNAの発現およびそのスプライシング変異体の発現はイン・ビトロ(生体外)で生成した合成のmRNAを用いて行なうこともできる。この合成のmRNAまたはODC - p生成性細胞から単離したmRNAはコムギ胚芽抽出物および網状赤血球抽出物等を含むがこれらに限らない種々の無細胞システム内において効率的に翻訳されると共に、カエル卵母細胞内への微量注入を含むがこれに限らない細胞を基礎とするシステム内においても効率的に翻訳されることができ、カエル卵母細胞内への微量注入が一般に好ましい。

【0030】上記の発現に続いて、ODC - pおよびそのスプライシング変異体のタンパク質を回復して、種々の方法により、細胞の溶解産物および抽出物から、あるいは、順化した培養培地から、精製されたODC - pおよびそのスプライシング変異体のタンパク質を得ることができる。これらの方法は塩分画、イオン交換クロマトグラフィー、サイズ排除クロマトグラフィー、ヒドロキシアパタイト吸着クロマトグラフィーおよび疎水の相互作用クロマトグラフィー、レクチン・クロマトグラフィー、および抗体/リガンド・クロマトグラフィーの組み合わせ、または個別の適用を含むがこれらに限らない。

【0031】ODC - pおよびそのスプライシング変異体に対する単一特異性抗体は当該ODC - pおよびそのスプライシング変異体に対して反応性を有する抗体を含む哺乳類の抗血清から精製されるか、ケーラー(Kohler)およびマイルスタイン(Milstein)著、ネイチャー(Nature)、第256巻、p495乃至p497、(1975年)により最初に記載されている技法によりODC - pおよびそのスプライシング変異体に対して反応性を有するモノクローナル抗体として調製される。また、免疫学的技法が、例えば、「アンチボディズ：ア・ラボラトリー・マニュアル(Antibodies: A laboratory manual)」、コールド・スプリング・ハーバー・ラボラトリー・プレス(Cold Spring Harbor Laboratory Press)出版、コールド・スプリング・ハーバー、ニュー・ヨーク、ISBN0879693142において記載されている。これらの方法はODC - pポリペプチド・フラグメント(およびそのスプライシング変異体のポリペプチド・フラグメント)、または全長の未成熟ポリペプチド、または個々のODC - pサブユニットまたはそのスプライシング変異体のサブユニットに対して特異的な単一特異性抗体を生成するために利用できる。1個のODC - pサブユニットまたは完全機能性のODC - pタンパク質またはそのスプライシング変異体

のサブユニットまたはタンパク質のみに対して特異的である単一特異性の抗体が発生できる。さらに、ODC - pタンパク質の正常な機能またはそのスプライシング変異体の正常な機能を抑制する単一特異性の抗体が発生できる。

【0032】各抗体がゲル・ビーズ支持体に対して共役結合を形成するように上記の各抗体をゲル支持体に添加することによりODC - p抗体の親和性カラムが作成される。好ましい共役結合が各抗体に含まれているアミン、アルデヒド、またはスルフヒドリルの各残基により形成される。

【0033】上記ODC - pおよびそのスプライシング変異体のDNAまたはRNAを含む各キット、当該ODC - pおよびそのスプライシング変異体に対する各抗体、または当該ODC - pおよびそのスプライシング変異体のタンパク質もまた本発明の態様である。上記キットはODC - p(またはそのスプライシング変異体)のDNAに対してハイブリッド形成するDNAを検出するため、またはサンプル中におけるODC - pのタンパク質またはペプチドの各フラグメント(またはそのスプライシング変異体の各フラグメント)の存在を検出するために使用される。このような特徴付けは病気の診断およびモニター、治療のモニター、法医学的分析、診断用途、および疫学的調査を含むがこれらに限らない種々の用途において有用である。

【0034】本発明のDNA分子、RNA分子、組換えタンパク質および抗体はODC - pおよびそのスプライシング変異体のDNA、RNAまたはタンパク質をスクリーニングしてこれらの量を測定するために使用できる。これらの組換えタンパク質、DNA分子、RNA分子および抗体はそれ自体でODC - pの検出および分類に適するキットの処方に役立つ。このようなキットは少なくとも1個の容器を備えている。好ましくは、これらの容器は区画された容器および使用説明書に近接して保持されている。さらに、上記キットはODC - pの検出に適している組換えODC - pタンパク質または抗ODC - p抗体等の試薬を備えている。また、ラベル標識した抗原または酵素の各基質等の検出試薬も上記キット内に組み込むことができる。

【0035】上記ODC - pコード化用のDNAシーケンスに対して相補的なヌクレオチド・シーケンスはアンチセンス・療法に対応して合成できる。これらのアンチセンスDNA分子はDNA、ホスホロチオエートまたはメチルホスホネート等のようなDNAの安定な誘導体、RNA、2'-O-アルキルRNA等のようなRNAの安定な誘導体、またはその他のODC - pアンチセンス・オリゴヌクレオチド擬似体とすることができる。ODC - pアンチセンス分子は微量注入、リボソーム被包または当該アンチセンス・シーケンスを含むベクターからの発現により細胞内に導入できる。ODC - pアンチセ

ンス療法はODC-pの作用を減少するために有益である病気の治療において特に有用になり得る。ODC-pの遺伝子と共に使用するために適している遺伝子療法の分子的な方法論におけるプロトコルが「ジーン・セラピー・プロトコルズ (Gene Therapy Protocols)」, ポールD・ロビンス (Paul D. Robbins) 編集、ヒューマン・プレス (Human Press), トタワ, ニュー・ジャージー, 1996年において記載されている。

【0036】上記ODC-pおよびそのスプライシング変異体またはODC-p基質結合活性のモジュレーターまたは上記スプライシング変異体のモジュレーターの、DNA、RNA、またはタンパク質を含む薬剂的に有用な組成物が薬剂的に許容可能なキャリアーの混合等による既知の方法に従って配合できる。このようなキャリアーの例および配合方法はレミントン (Remington) の「薬剤の化学 (Pharmaceutical Sciences)」において見られる。効果的な混合に適している薬剂的に許容可能な組成物を形成するために、これらの組成物は有効量のタンパク質、DNA、RNA、またはモジュレーターを含有できる。

【0037】本発明の治療用または診断用の組成物はODC-p関連の活性の調節が示される疾患を治療または診断するために十分な量で各個人に投与される。これらの薬剤組成物は皮下、局所的、経口および筋肉内等の種々の経路により各個人に供給できる。

【0038】本発明の方法において、本明細書において記載されている各化合物またはモジュレーターは活性成分を形成することができ、適当な薬剤用の希釈剤、および経口用の錠剤、カプセル、エリクシル、シロップ等であって、従来の薬剤粒子と一致している目的の投与形態に関して適当に選択される賦形剤またはキャリアー (集合的に「キャリアー (carrier)」材料として本明細書において記載されている) との混合物の状態 で一般的に投与される。あるいは、上記の化合物またはモジュレーターは不活性な液体キャリアー中に溶解されている活性成分から成る配合物の注入により非経口的に投与できる。注入は筋肉内、内腔内、気管内、または皮下のいずれにすることもできる。この注入可能な配合物は適当な不活性液体のキャリアーと共に混合されている活性成分により構成されている。また、上記化合物またはモジュレーターの局所的な供給は本発明の各化合物またはモジュレーターを水性溶液または懸濁液として含有している液体の水薬またはシャンプーの使用により可能である。

【0039】実施例1

ODC-pの代替的にスプライシング処理されている各変異体に対応するcDNAを予測される開始コドンから10個のヌクレオチド分だけ上流側から開始している起源の分かっているODC-pのcDNAに従って設計されている5'-プライマーのTCAGCTCCTCCTGCAAGGCATGG

(シーケンス認識番号1)、エキソンXIにおける終止コドンから9個のヌクレオチド分だけ下流側において終結している3'プライマーのGAGGCCCACTCACATGATGCTCCGT (シーケンス認識番号4)、あるいはエキソンIXにおける成熟前終止コドンにおいて終結している別の3'プライマーのCTACACGGCAATGAAATGAATGGAC (シーケンス認識番号3)を用いるPCRにより、鋳型としてヒトの成人の脳および精巢の組織から誘導したcDNAライブラリーを用いて増殖した。

【0040】上記の各PCR生成物をTOPO TA pCR 2.1ベクター (インビトロゲン (Invitrogen), グローエインゲン, オランダ国) にクローン化して、自動化シーケンサー (ABI 3100ジェネテック・アナライザー (Genetic Analyzer), パーキン-エルマー (Perkin-Elmer), フォスター・シティー, カリフォルニア州, 米国) により両方のベクターおよび挿入誘導した各プライマーを用いてシーケンス化した。

【0041】実施例2 (予測的)

組換えにより生成したODC-pは抗体親和性クロマトグラフィーにより精製できる。

【0042】ODC-p抗体親和性カラムを抗体がアガロース・ゲル・ビーズ支持体に対して共役的な結合を形成するようにN-ヒドロキシスクシンイミド・エステルにより予め活性化されているアフィゲル-10 (Affigel-10) (パイオラド (Biorad)) に抗ODC-p抗体を添加することにより作成した。その後、これらの抗体はスパーサー・アームによるアミド結合を介して上記ゲルに連結した。次に、残りの活性化したエステルを1モル (1M) のエタノール・アミンHCL (pH8) によりクエンチ処理した。このカラムを水に続いて0.23Mのグリシン塩酸 (pH2.6) により洗浄してあらゆる非共役状態の抗体または無関係なタンパク質を除去した。その後、このカラムを洗浄剤等の適当な膜可溶化剤と共にリン酸塩緩衝化した塩類溶液 (pH7.3) の中で平衡状態にして、可溶化したODC-pを含有している細胞培養物の上澄み液または細胞抽出物を徐々にカラムの中に通した。次に、光学密度 (A280) がバックグラウンドに降下するまで、このカラムを洗浄剤と共にリン酸塩緩衝化した塩類溶液により洗浄した後に、タンパク質を0.23Mのグリシン塩酸 (pH2.6) および洗浄剤により溶出させた。その後、精製したODC-pのタンパク質をリン酸塩緩衝化した塩類溶液に対して透析した。

【0043】実施例3

生体外での翻訳およびCOS細胞トランスフェクションにおいて、ODC-pに対応する各cDNA、そのスプライシング変異体、およびODCに対応するcDNAをEcoRI部位においてpCIneoベクター (プロメガ (Promega), マディソン, ウィスコンシン州, 米国) にクローン化した。

【0044】ODC、ODC-pおよびそのスプライシング変異体(1 μgのpCIneo/挿入物)をプロメガ(Pr omega)(マディソン、ウィスコンシン州、米国)のティエヌティ・カップルド・レチキュロサイト・ライゼイト・システム(TnT Coupled Reticulocyte Lysate System)およびT7 RNAポリメラーゼにより各製造者の説明書に従って翻訳した。レディビュー(Redivue) L-[³⁵S]メチオニン(アメルシャム・ファーマシア・バイオテック・ユー・ケー・リミテッド(Amersham Pharmacia Biotech UK Limited))を用いて上記タンパク質をラベル標識することによりウエスタン・ブロット(Western blot)中において可視化した。これらの翻訳および標識化されたタンパク質を8% SDS-PAGEにより分離してオートラジオグラフィにより可視化した。

【0045】ODCおよびODC-pの各SV1, 2, 3, 5, 7および8に対応するcDNAを上記システムにおいて翻訳した。オートラジオグラフィによる可視化により、ODCおよびSV2においてほぼ同一の大きさ、すなわち、51 kDa(キログルトン)であることが分かり、このことは予測した各タンパク質シーケンスに一致している。また、各スプライシング変異体1, 3, 7および8はSDS-PAGE上において46 kd, 42 kd, 40 kdおよび44 kdの帯域をそれぞれ示し、それぞれcDNAから予測される各タンパク質シーケンスに一致していた。空のベクターを負の対照として使用した。

【0046】実施例4

ヒトの組織におけるODC-pおよびODCに対応するメッセージの存在を特定のプローブによるヒトのマルチプル・ティシュー・エクスペッション(Multiple Tissue Expression(MTE))アレイ(クローンテック(Clontech), パロ・アルト, カリフォルニア州, 米国)をハイブリッド形成することにより決定した。ODC-pに対応するメッセージを検出するために、ODCに対して低い相同性を有するODC-pのcDNA領域から選択した5'プライマーのCACTCCCTGAGCTGC(シーケンス認識番号5)および3'プライマーのCTGCTCCGTGGATGGT(シーケンス認識番号6)により増殖したPCR生成物をpCR 2.1-TOPOベクターにクローン化した。この挿入物(554 bp)をマルチプライム・ラベリング・キット(Multiprime Labeling Kit)(アメルシャム・ファーマシア・バイオテック, 英国)により無作為的にラベル標識した。また、ODCに対応するメッセージを検出するために、ODCのcDNAの全体を無作為的にラベル標識した。上記ODC-pプローブはODCまたはAZIに対して反応しないことが調べられ、ODCプローブは使用したハイブリッド形成条件下においてODC-pに対して陰性であることが調べられた。このハイブリッド形成は各製造者の説明書(クローンテック(Clontech))に従って行なった。この膜をX線フィルムおよび

ホスホイメージャー(phosphoimager)プレートの両方に対して露出して、それぞれの強度をMacBASプログラムにより分析した。

【0047】点の集まりから、比較的の高い量のODC-pのmRNAが成人の脳における異なる部分(大脳皮質、大脳葉、小脳、基底核、視床、黒質、海馬、脊髄)において見られたが、胎児の脳においては比較的に低い発現が見られた。ODC特異性プローブによる同一の膜のハイブリッド形成の場合において、下垂体を除いて、低い信号が脳内において検出されたが、その他のヒトの組織は全て一定の高い発現を示した。この成人の脳とその他のヒトの組織との間におけるODC-pおよびODCの相反する分布はODC-pが低い細胞の代謝回転を有する特定の器官においてODCに置き換わるという役割を示している。急速に成長中の未分化の腫瘍細胞系においてODC-pの発現は全く見られず、ODC-pが増殖に必要とされないことを示しており、ODC-pとODCとの機能の違いを強調している。

【0048】精巣においてODC-pおよびODCの両方の高い発現が見られる。進行中の精子形成は急速な細胞増殖および末期の分化の両方を含み、このことはこの器官における上記ODC類似タンパク質の両方の形成の必要性を示している。

【0049】ODCは増殖中の細胞にとって最も有用であるが、ODC-pおよびその各スプライシング変異体は細胞分化において最も有用である。

【0050】実施例5

細胞培養および一過性トランスフェクション
COS-7細胞を5%のウシ胎児血清(FCS)、抗体およびL-グルタミンを追加したダルベッコ(Dulbecco)の修飾したイーグルの培地(Eagle's medium)(DMEM)中において培養した。さらに、リポフェクタミン2000(Lipofectamine 2000)(ライフ・テクノロジーズ社(Life Technologies Inc.)), ギブコ・ビー・アール・エル(Gibco BRL), カリフォルニア州)を用いてCOS-7細胞を一過的にトランスフェクション処理してODCおよびODC-pのスプライシング変異体(pCIneo/挿入物)を発現した。上記トランスフェクション処理から24時間後に、細胞を採集して、この細胞の溶解産物のODC活性を測定した。

【0051】ODC活性の決定

上記トランスフェクション処理した細胞を機械的に分離し、25 mMのトリス塩酸(pH 7.4)、0.1 mMのEDTA、5 mMのジチオトレイトールおよび0.1 mMのピリドキサル-5-ホスフェート含有している溶解緩衝液中に集めて、この緩衝液中において繰り返しの凍結および解凍により細胞を溶解した。さらに、これらの生体外翻訳(ivt)生成物を上記と同一の緩衝液中に希釈した。上記各細胞溶解物の上澄み液および希釈した各ivtサンプルを0.2 Mのトリス塩酸(pH

7.7)、0.6 mMのEDTA、3.0 mMのDTT、0.4 mMのPLPおよび $[1-^{14}C]$ オルニチン塩酸(1.92 MBq/ミリモル、アメルシヤム・ファーマシア・バイオテック・ユー・ケー・リミテッド(Amersham Pharmacia Biotech UK Limited, 英国))を含有している反応緩衝液に加えた。37°Cで1時間にわたるインキュベーションの後に、ODC活性を上記 $[1-^{14}C]$ オルニチンからの $^{14}CO_2$ の放出量を決定することにより測定した。

【0052】予想通りに、上記生体外翻訳したODCは直ちに活性を示した。しかしながら、ODC-pのイソ型に対応する各cDNAの生体外翻訳生成物のいずれにおいてもODC活性は再現性良く検出されなかった。

【0053】上記ODCのcDNAプラスミドによるトランスフェクション処理物は従来のアッセイにおいて測定された高いODC活性を示した。また、ODC-pのSV2に対応するcDNAの発現はバックグラウンドよりも高いODC活性を誘発したが、ODCの場合の活性よりも劇的に低い。また、試験したODC-pの4種類の別の変異体(SV1, 3, 4および8)はトランスフェクション処理したCOS-7細胞中においてオルニチン・デカルボキシラーゼの活性を高めなかった。

【0054】実施例5(予想的)

酵素免疫定量法

上記ODC-pイソ型について免疫定量法を調製した。競合アッセイにおいて10フェモトモル(fmol)/Lの検出が可能であるので、このことが達成できる。非競合アッセイの感度は1zeptomol乃至2,000,000zeptomol(zeptomoles)(10^{-21} モル)の範囲で使用したラベル標識の検出の下限により決定される。Tietz著、「ファンダメンタルズ・オブ・クリニカル・ケミストリー(Fundamentals of Clinical Chemistry)」,第4版,p.143を参照されたい。

【0055】酵素免疫定量(EIA)法、すなわち、癩癩手術から得た正常な成人の脳組織(免疫ペルオキシダーゼ(immunoperoxidase)による抗原を含むものとして示されている)の消化を含む抗原標準法を採用した。ヒトの脳組織試料を集めて4°Cにおいて0.2%(重量/容量)のデオキシコール酸ナトリウムを含有している10倍容量の1.0 mMのトリス緩衝液(pH 7.4)中に均質化した。このホモジネートを速やかに37°Cにして、以下の試薬、すなわち、1 mMのシステイン(シグマ(Sigma))、1 mMのEDTA(シグマ(Sigma))、およびパピイン(0.8ユニット/ml)(ボーエリンガー・マンハイム(Boehringer-Mannheim)、インディアナポリス、インディアナ州)を攪拌しながら加えた。5分後に、5 mMのヨードアセトアミド(シグマ(Sigma))の添加により消化を停止した。このホモジネートを4°Cにおいて1時間にわたり100,000回/gにおいて遠心分離した後に、それぞれ1.0 mMで

弗化フェニルメチルスルホニルおよびアミノカプロン酸を含有している1.0 mMのトリス/0.9% NaCl溶液の緩衝液(pH 7.4)に対して大まかに透析した。このホモジネートを0.5 mgのタンパク質/mlの濃度における少量の各等分物において凍結した。

【0056】上記ODC-pのイソ型を測定する免疫定量法において発生する用量応答曲線は100 ng乃至100 µg/mlの抗原の投入量の間において線形性を示す。脳脊髄液分析において、上記範囲は1 ng乃至1000 ng/mlであり、この理由は、当該範囲がアッセイ用の緩衝液による希釈後に各サンプルが該当するタンパク質を含むと期待される範囲だからである。

【0057】上記ODC-pのスプライシング変異体1および2に対して培養した各ポリクローナル抗体の固相調製をCNBr活性化セファロース(Sephacrose)(ファーマシア(Pharmacia))により行なった。マイクロタイター・プレート(ヌンクI免疫プレート(Nunc Immunoplates)); グランド・アイランド・バイオロジカル社(Grand Island Biological Co.), グランド・アイランド, ニュー・ヨーク)を4°Cにおいて18時間にわたり50 mMの炭酸塩-炭酸水素塩緩衝液(pH 9.6)中における抗体(200 µl/ウェル(井戸))により塗布した。この抗体溶液を除去した後に、プラスチック上に残留している各タンパク質結合部位を200 µlのアッセイ緩衝液[1%(容量/容量)のラビット血清および1%(重量/容量)のウシ・アルブミンを含有しているPBS]により阻止(ブロック)した。室温におけるインキュベーションの1時間後に、上記の塗布した各プレートをこのアッセイの手順において速やかに用いた。

【0058】上記アッセイを行なうために、アッセイ緩衝液中に希釈した200 µlの各サンプルを37°Cにおいて1時間乃至5時間にわたり供給した。アッセイ緩衝液による3回の洗浄の後に、ホースラディッシュ・ペルオキシダーゼ(シグマ(Sigma)), タイプVI(Type VI))に共役的に接合している200 µlのモノクローナルの抗ODC-p抗体を37°Cにおいて1.5時間にわたり各ウェルに供給した。この接合体を10%(容量/容量)のネズミ血清を含有しているPBSの1 ml当たり0.5 µgの免疫グロブリンの濃度に希釈した。上述のような洗浄処理の後に、1個のウェル当たり200 µlの基質を室温において0.5時間にわたり供給した。この基質溶液はpH 5.0のクエン酸塩緩衝液の1 ml当たり0.4 mgのフェニレンジアミンと、0.003%の過酸化水素を含有している。この反応を50 µlの2規定(2N)硫酸の添加により停止して、酵素アッセイ・プレート読取装置(フィッシャー・サイエンティフィック社(Fisher Scientific Co.)), ピッツバーグ, ペンシルバニア州)により488 nmにおいて吸光度をモニターした。

【0059】結合した酵素接合体の割合を以下の式により計算した。

$$(B - B_0) / (B_1 - B_0) \times 100$$

この式において、 B = サンプルの吸光度、 B_1 = 最大吸光度、および B_0 = ブランクの吸光度である。各アッセイを標準の消化法およびアッセイ緩衝液中において希釈した26倍希釈の脳脊髄液サンプルを用いて3回ずつ行った。この免疫アッセイの特異性をCEAおよび非免疫性のラビット血清に対する抗体を含む種々の抗体試薬を上記固相において置き換えることにより調べた。これら

の固相の抗体の中で、ODC-pのスプライシング変異体1および2に対して培養した抗体のみが高い希釈率において抗原に結合した。

【0060】脳脊髄液のODC-pの各スプライシング変異体1および2の量を正常な対照用の被験体、良性および悪性の脳腫瘍を有する各患者、癲癇症を有する各患者、多発性骨髄腫を有する各患者、無酸素性脳傷害を有する各患者、多発脳梗塞性痴呆を有する各患者、およびアルツハイマー病およびパーキンソン病等の神経変性性の病気を有する各患者に対して検出した。

【0061】明らかに健康な各個人から得た脳脊髄液は約90ng/mlのODC-p/mlの平均値を示した。これらのサンプルの内の5%のみが300ng/ml以上における脳脊髄液の抗原を発現し、この値は上昇した脳脊髄液の量におけるカットオフ値として選択した。

【0062】良性または悪性の脳腫瘍を有する各患者から得た脳脊髄液は160ng/mlの平均値を示し、腫瘍に付随する細胞死の量により決まる、大きな範囲の変動を伴っている。

【0063】また、多発性骨髄腫から得た脳脊髄液は当該脳脊髄液における正常なODC-pの量に近い値を示した。

【0064】無酸素性脳傷害を有する各患者から得た脳脊髄液は急性の段階において500ng/mlのODC-pの平均値を示し、正常な値への速やかな低下を伴っていた。

【0065】また、臨床的な多発脳梗塞性痴呆を有する各患者からの脳脊髄液は300ng/mlのODC-pの平均値を示した。

【0066】さらに、神経変性性の病気を有する各患者からの脳脊髄液は600ng/mlのODC-pの平均値を示した。

【0067】上記アッセイは患者の治療の経過に沿って規則的な間隔で行なった。治療後に、脳脊髄液のODC-p値における有意差の有る減少が生じた。診断後において、それぞれの臨床的な能力を有意差をもって改善する各プログラムにより治療されていた限定数の患者を採用することにより、脳脊髄液のODC-pと中枢神経系における細胞死の量との間の定量的な関係が確立され

る。従って、上記の各測定は患者のモニターを容易にして、痴呆症の患者の診断、および臨床結果の予測を補助できる。

【0068】実施例6(予測的)

ODC-pの定量的なRT-PCRに基づくスクリーニングおよび精液中のODC発現量

上記の技法は三つの部分、すなわち、サンプルからの全RNAの抽出、逆転写(RT)によるRNAからのcDNAの合成、およびポリメラーゼ連鎖反応(PCR)による特異的cDNAの増殖により構成されている。

【0069】RNAを先ず射精液試料から抽出し、15分間にわたり1500rpmで遠心分離することにより液体中に含まれている細胞を集めた。アンピオン・アール・エヌ・エー・ウィッツ(Ambion RNAWiz)(カタログ番号9736)を用いて、全RNAを100μgの試料当たり100ngのRNAの収量で抽出した。このサンプルを1mlのアール・エヌ・エー・ウィッツ(RNAWiz)において均質化して、室温(RT)において5分間にわたりインキュベーションしてから、200μlのクロロホルムと混合した。さらに、この混合物を20秒間にわたり振盪し、RTにおいて10分間にわたりインキュベーションしてから、15分間にわたり12,000rpmにおいて+4で遠心分離した。その後、RNAを含む上相部分を別のエッペンドルフ(Eppendorf)管の中に移して、500μlの無RNA水と混合した。1mlのイソプロパノールを添加した後に、この溶液をRTで10分間にわたりインキュベーションした。その後、この混合物を15分間にわたり12,000rpmで遠心分離して、その上澄み液をピペットにより除去して、1mlの75%エタノールを加えた。混合の後に、このサンプルを10分間にわたり+4(12,000rpm)で遠心分離して、その上澄み液を除去してから、このペレットを空気乾燥した。その後、このRNAを水中に溶解して、その濃度を測定し、一定の分量をRT(逆転写)反応に用いた。

【0070】アンピオン(Ambion)のレトロスクリプト(RETROscript)(商標)キットを用いて、1時間にわたる42でのRT反応をレトロウイルス逆転写酵素により媒介させて行なった。

【0071】結果として得られたcDNAの一定の分量を変性、アニール、およびODC、およびODC-pスプライシング変異体1および2に対して設計されている各特異的プライマーによる延長(PCR)の各工程を介して指数関数的に増殖した。これらのプライマーは可能なDNA汚染を排除するために各イントロン・スパン領域(intron spanning areas)において選択した。これらのプライマーは各分子において最も異なっている領域をカバーして、その特異性を最適化するように設計されている。ODC-pは各プライマーの5'CTTTGCTTTCTGAAGTG(シーケンス認識番号7)(Seq. ID. No.7)お

よび3'CTGCTCCGTGGATGGT(シーケンス認識番号6)
(Seq. ID. No.6)により選択的に増殖され、ODCは
各プライマーの5'AAAGCAGTCTGTCGTCTC(シーケンス認
識番号8)(Seq. ID. No.8)および3'GCGCTCAACAAT
CCGAT(シーケンス認識番号9)(Seq. ID. No.9)により
選択的に増殖される。

【0072】サンプル標準化用の同時増殖した内部対照
としての18S・rRNAを用いて、多数のサンプルに
わたり異なるサンプルの転写のアバundanceを比較する
ために相対定量法を採用した。これらの結果は上記遺伝子
子特異性の信号の上記内部対照の信号に対する比率値と
して示される。このことにより、各サンプル中における
遺伝子特異性の生成物に対応する修正された相対値が得
られる。必要であれば、合成のRNA競合転写物を合成
して、関連する各分子のPCR生成物が検出可能になる
適合性を有する線形範囲の諸条件を明らかにするために
使用できる。

【0073】明らかに健康な各個人、前立腺癌を有する
各患者、精巣癌を有する各患者、良性の前立腺肥大を有
する各患者、前立腺炎を有する各患者、腎盂腎炎を有す
る患者、尿道炎を有する各患者、および精子過少症およ
び無精症を有する各患者から射精液のサンプルを集め
た。ODC対ODC-pの発現の比率は健康な各個人の
サンプルにおいて0.7乃至1.3であり、20を超えるか
0.4よりも低い値は病気の状態を示す。精巣にお
いて悪性で増殖性の病気を有する各患者のサンプルにお
いては、上記ODC対ODC-pの比率の平均値は10
0である。また、炎症性の病気を有する各患者のサン
プルにおいては、この比率の平均値は30である。また、
不完全な精子形成機能を有する各患者のサンプルにお
いては、このODC対ODC-pの比率の平均値は0.0
2である。また、尿生殖器道における上記以外の各器官
において病気を有する患者のサンプルにおいては、OD
C対ODC-pの発現の比率値は前立腺癌を有する患者
の場合においては、この比率値は20乃至100であ
り、その状態に応じて異なる。精巣における悪性およ
び炎症性の両方の病気、および前立腺における癌の有効な
治療は上記の比率を速やかに標準化する。従って、各射
精液中のODC対ODC-pの発現の比率値を測定する
ことは繁殖可能性の問題を有する各個人を正しく診断す
ることに役立ち、初期の精巣癌をスクリーニングでき
る。さらに、この測定は精巣の生検により行なうことも
できる。

【0074】本発明の実施態様は以下の通りである。
(1)シーケンス認識番号10(SEQ ID NO.10)、シー
ケンス認識番号12(SEQ ID NO.12)、シーケンス認識
番号14(SEQ ID NO.14)、シーケンス認識番号16
(SEQ ID NO.16)、シーケンス認識番号18(SEQ ID N
O.18)、シーケンス認識番号20(SEQ ID NO.20)、シ

*シーケンス認識番号22(SEQ ID NO.22)、およびシー
ケンス認識番号24(SEQ ID NO.24)から成る群から選
択されるヌクレオチド・シーケンスを有する請求項1に記
載の単離および精製された核酸分子。

(2)CNS(中枢神経系)の機能の診断、CNSの病
気モニター、またはCNSの病気の治療のモニターの
ために使用される請求項2に記載の方法。

(3)精巣の機能の診断、精巣の機能不全のモニター、
または精巣の機能不全の治療のモニターの目的のために
使用される請求項2に記載の方法。

(4)精巣の機能の診断、精巣の機能不全のモニター、
または精巣の機能不全の治療のモニターの目的のために
使用される請求項3に記載の方法。

(5)CNS(中枢神経系)の機能の診断、CNSの病
気モニター、またはCNSの病気の治療のモニターの
ために使用される請求項3に記載の方法。

【0075】

【発明の効果】従って、本発明によれば、オルニチン・
デカルボキシラーゼ(「ODC」)、当該ODCの関連
タンパク質に対応してコード化する核酸、およびこれら
の診断用および治療用の使用方法およびキット、および
これらに使用するための単離および精製された分子が提
供できる。

【図面の簡単な説明】

【図1】(a)は、ODC-pのヌクレオチド・シー
ケンスを示しているシーケンス図である。(b)は、OD
C-pのアミノ酸シーケンスを示しているシーケンス図
である。

【図2】(a)は、SV2のヌクレオチド・シー
ケンスを示しているシーケンス図である。(b)は、SV2
のアミノ酸シーケンスを示しているシーケンス図である。

【図3】(a)は、SV3のヌクレオチド・シー
ケンスを示しているシーケンス図である。(b)は、SV3
のアミノ酸シーケンスを示しているシーケンス図である。

【図4】(a)は、SV4のヌクレオチド・シー
ケンスを示しているシーケンス図である。(b)は、SV4
のアミノ酸シーケンスを示しているシーケンス図である。

【図5】(a)は、SV5のヌクレオチド・シー
ケンスを示しているシーケンス図である。(b)は、SV5
のアミノ酸シーケンスを示しているシーケンス図である。

【図6】(a)は、SV6のヌクレオチド・シー
ケンスを示しているシーケンス図である。(b)は、SV6
のアミノ酸シーケンスを示しているシーケンス図である。

【図7】(a)は、SV7のヌクレオチド・シー
ケンスを示しているシーケンス図である。(b)は、SV7
のアミノ酸シーケンスを示しているシーケンス図である。

【図8】(a)は、SV8のヌクレオチド・シー
ケンスを示しているシーケンス図である。(b)は、SV8
のアミノ酸シーケンスを示しているシーケンス図である。

【図9】エキソン(exon)I乃至エキソン11の各ヌ

レオチド・シーケンスを示しているシーケンス図である。

クレオチド・シーケンスを示しているシーケンス図である。

【図10】エキソン(exon) I乃至エキソン11の各ヌ

【図1】

(a)

ODC-p:

```

atggctggctacctgagtgaaatggactttgtgatgggtggaggagggttcagtacccgagacctgctgaaaggaactcactctggggccctcaca
ggccaccacggagaggtagctgccttcttcgtggctgacctgggtgccatagtgaggaagcacttttgccttctgaagtgcctgccacgagtcg
gcccctttatgctgtcaagtgaacagcagcccagggtgtgctgaaggcttctggccagctgggctggtttagctgtgccaacaaggcagagat
ggagtgtgtccagcatattggaatccctgccagtaagatcatctgcgcaaccctgtaaagcaaatgcaagatcaaatatgctgccaagcatgg
gatccagctgctgagctttgacaatgagatggagctggcaaggtgtaaaagagccacccagtgccaagatggttctgtgcatgtaccgatga
ctcccactcccagctgacctgacctaaagtggagtgctgactgaaatcctgcagacacctgctgaaaatgcgaaagcaccatgtggaggt
ggtgggtgtgagttttcacattggcagtgctgctgacctcaggcctatgctcagtcctcagcagcaccgctgctgtttgaaatggcacc
gagctgggtcacaagatgcagcttctggacctggtggtgcttccctggcacagaaggggccaaaagtgagattgaagagattgctccgtgatc
aactcagccttgacctgtactcccagagggtgtggcgtggacatcttctgagctgggctgactactgacctcggccttactgtgctgag
tcagcatattgccaagaggaggttctgtagaccagcctggcagggaggagaaaatggttccacctcaagaccatcgtgtaccacctgat
gaggcgctgtatggatcttcaactcagctctgttgacaacatctgcccctacccccatctgcagaagaaccatccacggagcagcccctgtac
agcagcagcctgtggggcccggcgggtgatggctgtattgcgtggctgagggcctgtggctgcccgaactacacgtaggggactggctggct
ttgacaacatggggccctacactgtggcatgggttccccctttgggggacccagcctgccacatcaccatgcccattgccgggtgacctggg
aagcctgcgaaaggcagctgatggctgcagaacaggaggtgactggagggtgtgtgcaagcctctgctgctgctggctggagatcacagaca
ccctgtgctggggccctgtcttcccccagcagcatcatgtga

```

(シーケンス認識番号：10)

(b)

```

MAGYLSESDFVMVEEGFSTRDLLKELTLGASQATTDEVA-AFFVADLGAIVRKHFCFLKCLPR
VRPFYAVKCNSSPGVLKVLALQLGLGFSCANKAEMELVQHIGIPASKIICANPCKQIAQIKYAA
KHGIQLLSFDNEMELAKVVKSHPSAKMVLCIATDDSHSLSCLSLKFGVSLKSCRHLLENAKK
HHVEVVGVSFHIGSGCPDPQAYAQSIADARLVFEMGTELGHKMHVLDLGGGFPGTEGAKV
RFEEIASVINSALDLYFPEGCGVDIFAELGRYYVTSFTVA-VSIIAKKEVLLDQPGREEENGST
SKTIVYHLDEGVYGFNSVLFDNICPTPILOKQPSTEQPLYSSSLWGPVAVDGCDCVAEGLWLP
QLHVGDWLVFDNMGAYTVGMGSPFWGTQACHITYAMSRVAWEALRRQLMAAEQEDDVE
GVCKPLSCGWEITDLCVGPVFTPASIM.

```

(シーケンス認識番号：11)

【図2】

(a)

SV2:

atggctggctacctgagtgaaatggactttgtgatggaggaggcttcagtacccgagacctgctgaaggaactcactctggggcctcaca
ggccaccacggacgaggtagctgccttctctgctgctgacctgggtgccatagtgaggaaagcacttttcttctgaagtgcctgccacgagtcgg
gccctttatctgtcaagtcaacagcagcccagggtgctgaaagttctggcccagctggggctgggctttagctgtccaacaaggcagagat
ggaagttgctccagcatattggaatccctgccagtaagatcatctgcgcaacccctgtaagcaaatgcacagatcaaatatgctccaagcatgg
gatccagctctgagccttgacaatgagatggagctggcaaaggtgtaagagccacccagtgccaagatggttctgtgctaccgatgga
ctcccactccctgagctgcctgagcctaaagtggagtgctgaaatcctgcagacacctgctgaaaatgcgaagagcaccatgtggaggt
gggggtgagtttcacatggcagtgctgctgacctcaggcctatgctcagtcacgcagacgcccggctggttgaatgggacc
gagctgggtcacaagatgcacgttctggacctgggtgcttccctggcacaaggggcaaaagtgaattgaagagattgctcctgctgac
aactcagcctggacctgacttccagaggctgtggctggacatcttctgagctggggcctactacgtgacctggccttactgtggcag
tcagcaatggccaagaaggaggttctgtagaccagcctggcagggaggcccactaccacccctcacttctactgtgctgccttgaac
cctcccctctgcagaggaatgggtccacctccaagaccatgctgaccacctgatgaggcgtgtatgggatcttcaactcagctgtttgac
aacatctgcccataccccatcctgcagaagaaccatccacggagcagcccctgtacagcagcagcctgtggggcccggcgttggatgctg
attgctggctgaggcctgtgctgccgaactacacgtaggggactgctggttcttgaacatgggcccctacactgtggcctggttcc
ccctttggggaccaggcctgcccacatcacctatgcatgctccgggtggcctgggaagcctgcgaaggcagctgatgctgcaaacag
gagatgacgtggaagggtgtgcaagcctctgctctcggctgggagatcacagacacctgtgctggggcctgtcttaccaccagcgagca
tcatgtga

(シーケンス認識番号：12)

(b)

MAGYLSEDFVMVEEGFSTRDLLKELTLGASQATTDEVAFFVADLGAIVRKHFCFLKCLPR
VRPFYA VKCNSSPGVLK VLAQLGLGFSCANKAEMELVQHIGIPASKIICANPCKQIAQIKYAA
KHGIQLLSFDNEMELAKVVKSHPSAKMVLCIATDDSHLSCLSLKFGVSLKSCRHLLENAKK
HHVEVVGVSFHHIGSGCPDPQAYA QSIADARLVFEMGTELGHKMHVLDLGGGFPGTEGAKV
RFEEIASVINSALDLYFPEGCGVDIFAELGRYYVTSFTVA VSIIAKKEVLLDQPGREAPLPPP
HIATCAASEPSPAENGSTSKTIVYHLDEGVYGFNSVLFDNICPTPILQKKPSTEQPLYSSSL
WGPAVDGDCDVAEGLWLPQLHVGDWLVFDNMGAYTVGMGSPFWGTQACHITYAMSRVA
WEALRRQLMAAEQEDDVEGVCKPLSCGWEITDTLCVGPVFTPASIM.

(シーケンス認識番号：13)

【図3】

(a)

SV3:

atggctggctacctgagtgaatcggactttgatggtggaggagggtcaglacccgagacctgctgaaggaactcactctggggcctcaca
ggccaccacggacgaggtagctgccttctcgtggctgacctgggtgccatagtgaggaagcacttttgccttctgaagtgcctgccacgagtcg
gccctttatgctgtcaagtgaacagcagcccagggtgctgaaggcttctggccagctgggctgggcttttagctgtccaacaaggcagagat
ggagttggctcagcatattggaatccctgccagtaagatcatctgcgccaaccctgtaagcaaatgcacagatcaaatatgctccaagcatgg
gatccagctgctgagccttgacaatgagatggagctggcaaaagggtgtaagagccacccagtgccaagatgggtctgtgattgctaccgatga
ctcccactccctgagctcctgagcctaaagtggagtgctgactgaaatcctgcagacacctgctgaaaatgcgaagaagcaccatgtggaggt
gggtgggtgtagtfttcacattggcagtggtgctgctgacctcagcctatgctcagtcacatcgacgacgcccggctggtttgaaatgggcacc
gagctgggtcacaagatgcacgttctggacctgggtggtgcttccctggcacagaaaggggccaaagtgagattgaagattgcttccgtgatc
aaactcagccttgacctgtactcccagaggctgtggcgtggacatcttctgagctggggcgtactactgacctcggccttactgtggcag
tcagcatattgccaagaaggaggtctgtagaccagcctggcaggaggagaaatggtccacctcaagaccatcgtgtaccacctgat
gagggcgtgtatgggatctcaactcagctctgttgacaacatctgacctacccccatctgcagaagtctaagaaccactcaccctgctacatct
tctagatccattcattcattgccgtgtag

(シーケンス認識番号：14)

(b)

MAGYLSESDFVMVEEGFSTRDLLKELTLGASQATTDEVA AFFVADLGAIVRKHFCFLKCLPR
VRPFYAVKCNSSPGVLKVL AQLGLGFSCANKAEMELVQHIGIPASKIICANPCKQIAQIKYAA
KHGIQLLSFDNEMELAKVVKSHPSAKMVL CIATDDSHLSLCLSLKFGVSLKSCRHLENAKK
HHVEVVGVSFHIGSGCPDQAY AQSIADARLVFEMGTELGHKMHVLDLGGGFPGTEGAKV
RFEEIASVINSALDLYFPEGCGVDIFAELGRYYV TSAFTVA VSHIAKKEVLLDQPGREEENGST
SKTIVYHLDEGVYGIFNSV LFDNICPTPILQSKNHSPCYMSLESIHFI AV.

(シーケンス認識番号：15)

【図4】

(a)

SV4:

atggctggctacctgagtgaaatcgactttgtgatgggtggaggagggttcagttaccggagacctgctgaaggaaactcactctggggcctcaca
ggccaccacggacgaggtagctgccttctctggtgacctgggtgccatagtgaggaagcacttttcttctgaagtgcctgccacgagtcgg
gccctttatgctgtcaagtcaacagcagcccaggtgtgtgtaagggtctggcccagctggggctgggctttaagctgtccaacaaggcagagat
ggagttggccagcatattggaatccctgccagtaagatcatctgcgccaaccctgtaagcaaatgcacagatcaaatagctgccaagcatgg
gatccagctgctgagcttgacaatgagatggagctggcaaaagggtgtaagagccacccagtgccaagtgttccagcagaggggactgctg
tgtctcatcaggatggtctgtgcatgctaccgatgactcccactccctgagctgcctgagcctaaagtgtgagtgactgaaatcctgcagacac
ctgcttgaataatgcgaagaagcacatgtggaggtgggtgggtgagtttccattggcagtggtctgacctcagcctatgctcagtcaca
tcgacagccccggctcgtgttgaatgggcaccgagctgggtcacaagatgcacgttctggacctgggtggctccctggcacagaaggg
gcaaaagtgaattgaagagattgctccgtgatcaactcagcctggacctgtacttccagaggctgtggcgtgacatcttctgagctgg
ggcgtactacgtgacctcggccttactgtggcagtcagcatcattgccaagaaggaggtctgtagaccagcctggcagggaggaggaaaa
tggttccacctcaagaccatcgtgtaccacctgatgaggcgtgtatgggatctcaactcagctctgttgacaacatctgcctaccctccatcct
gcagaagtctaagaaccactcaccctgctacatgtctctagatccattcattcattgctgtag

(シーケンス認識番号：16)

(b)

MAGYLSEDFVMVEEGFSTRDLLKELTLGASQATTDEVAFFVADLGAIVRKHFCFLKCLPR
VRPFYAVKCNSSPGVLKVLQAQLGLGFSCANKAEMELVQHIGIPASKIICANPCKQIAQIKYAA
KHGIQLLSFDNEMELAKVVKSHPSAKFVQQRGTA CLIRMVLCIATDDSHLSLCLSLKFGVSL
KSCRHLLENAKKHHVEVVGVSFHIGSGCPDPA YAQSIADARLVFEMGTELGHKMHVLDL
GGGFPGTEGAKVRFEEIASVINSALDLYFPEGCGVDIFAELGRYYVTSFTVA VSIKAKKEVLL
DQPGREEENGSTSKTIVYHLDEGVYGFNSVLFDNICPTPILQKSKNHSPCYMSLESIHFIIV.

(シーケンス認識番号：17)

【図5】

(a)

SV5:

atggctggctacctgagtgaaatcgactttgtgatgggtggaggagggtcagctaccgagacctgctgaaggaaactcactctggggcctcaca
ggccaccacggacgaggtagctgccttctcgtggctgacctgggtgccatagtgaggaaagcacttttcttctgaagtgcctgccacgagtcgg
gccctttatgctgcaagtcaacagcagccagggtgctgaagggtctggccagctggggctgggctttagctgtgccacaaggatggtct
gtcattgctaccgatgactcccactccctgagctgcctgagcctaagttggagtgctactgaaatcctgcagacacctgcttgaatgcgaag
aagcaccatgtggaagggtgggtgagttttcacattggcagtgctgctgacctcagcctatgctcagtcctcgcagacgcccggctc
gtgtttgaaatgggcaccgagctgggtcacaagatgcacgttctggacctgggtgggtcctccctggcacagaaggggccaagtgaattgaa
gagattgctccctgatcaactcagcctggacctgtacttccagaggctgtggcgtggacatcttctgagctggggcgtactactgacctc
ggccttactgtggcagtcagcatcattccaagaaggaggttctgtagaccagcctggcaggaggaggaaaatggtccacctccaagacc
atcgtgtaccacctgatgaggcgtgatggatctcaactcagtcctgtttgacaacatctgccctacccccatcctgcagaagtctaagaacca
ctcaccctgctacatgctctagatccattcattcattgccgtgtagcgctctttg

(シーケンス認識番号：18)

(b)

MAGYLSSEDFVMVEEGFSTRDLLKELTLGASQATTDEVAFFVADLGAIVRKHFCFLKCLPR
VRPFYAVKCNSSPGVLKVLALQLGLGFSCANKDGSVHCYR.LPLPELPEPKVWSVTEILQTPA.
KCEEAPCGGGGCEFSHWQWLS.PSGLCSVHRRRPARV.NGHRAGSQDARSQPWWWLPWHR
RGQSEI.RDCFRDQLSLGPVLPRLWRGHL.C.AGALLRDLGLHCGSQHHCQEGGSARPAWQG
GGKWFHLQDHRVPP..GRVWDLQLSPV.QHLPYPHPAEV.EPLTLLHVSrvHSFHCRVALF

(シーケンス認識番号：19)

【図6】

(a)

SV6:

atggctggctacctgagtgaatcggactttgatggaggaggggctcagtacccgagacctgctgaaggaactcactctggggcctcaca
ggccaccacggacgaggtagctgccctctcgtggctgacctgggtgccatagtgaggagcaacttttcttctgaagtgcctgccacgagtcgg
gccctttatgctgtcaagtcaacagcagcccaggtgtgctgaaggcttctggcccagctggggctgggcttagctgtgccaacaagattgcttcc
gtgatcaactcagccttggacctgtacttcccaggggctgtggcgtggacatcttctgctgagctggggcgtactactgacacctggccttactgt
ggcagtcagcatcattgccaaagagggttctgtagaccagcctggcaggaggaggaaaatggttccacctccaagaccatcgtgtaccac
cttgatgaggggcgtgatgggatctcaactcagtcctgtttgacaacatctgccctacccccatcctgcagaagtctaagaaccactcacctgcta
catgtctctagagtccattcattcattgccgtgtag

(シーケンス認識番号：20)

(b)

MAGYLSESDFMVEEGFSTRDLLKELTLGASQATTDEVAFFVADLGAIVRKHFCFLKCLPR
VRPFYAVKCNSSPGVLKVLQAQLGLGFSCANKIASVINSALDLYFPEGCGVDIFAELGRYYVTS
AFTVAVSIKKEVLLDQPGREEENGSTKTIVYHLDEGVYGIFNSVLFDNICPTPILQKSKNH
SPCYMSLESIHFIIV.

(シーケンス認識番号：21)

【図7】

(a)

SV7:

atggctggctacctgagtgaaatcgactttgatggaggaggcctcagtagccgagacctgctgaaggaaactcactctggggcctcaca
ggccaccacgtttcacattggcagtgctgcctgacctcaggcctatgctcagtcacgcagacgcccggctcgtttgaaatgggcaccg
agctgggtcacaagaatgcacgttctggacctgggtggctccctggcacagaaggggccaagtgaattgaagagattgctccgtgatca
actcagcctggacctgtacttccagaggcgtggtgcgtggacatcttctgagctggggcgtactacgtgacctcggcctcactgtggcagt
cagcatcattgccaagaaggaggtctgtagaccagcctggcagggaggagaaaatggtccacctccaagaccatcgtgtaccacctgatg
agggcgtgatgggatctcaactcagtcctgttgacaacatctgccctacccccatcctgcagaagtcataagaaccactcacctgctacatgtctc
tagagtcattcattcattgccgtgtagcgctcttttg

(シーケンス認識番号：22)

(b)

MAGYLSESDFVMVEEGFSTRDLLKELTLGASQATTFSHWQWLS.PSGLCSVHRRRPARV.NG
HRAGSQDARSGPWWWLFWHRRGQSEI.RDCFRDQLSLGPVLPRLWRGHLC.AGALLRDLG
LHCGSQHHCQEGGSARPAWQGGGKWFHLQDHRVPP..GRVWDLQLSPV.QHLPYPHPAEV.E
PLTLLHVSrvHSFHCrvALF

(シーケンス認識番号：23)

【図8】

(a)

SV8:

atggctggctacctgagtgatcggactttgtgatgggaggaggcttcagtacccgagacctgctgaaggaactcactctgggggcctcaca
ggccaccacgaaactgccatctaactctgctgaatggacttgacgaggtagctccctctctgctggctgacctgggtgccatagtgaggagcac
ttttctttctgaagtgcctgccacgagtcggcccttttatgctgtca
agtgaacagcagcccagggtgtctgaagggttctggcccagctggggctggctttagctgtgccaacaaggcagagatggagtgtccagca
tattggaatcccgcagtaagatcatctgcgccaccctgtaagcaaatgacagatcaaatatgctccaagcatgggatccagctgctgagc
ttgacaatgagatggagctggcaagggtgtaagagccacccagtgccaagatggtctgtgattgctaccgatgactcccactccctgagc
tgcctgagcctaaagtggagtgtcactgaaatcctgcagacacctgctgaaaatgcgaaagcaccatgtgaggtgggtgggtgtagtttc
acattggcagtggtctcctgaccctcaggcctatgctcagtcctcgcagacggcctcgtttgaaatgggcaccgagctgggtcacaag
atgcacgttctggacctggtggtggctccctggcacagaaggggccaagtgaattgaagagatgctccgtgatcaactcagccttgacc
tgtactcccagaggctgtggcgtggacatctttgctgagctggggcctactacgtgacctcgccttactgtggcagtcagcatcattgcca
gaaggaggttctctagaccagcctggcagggaggagaaaatggtccacctccaagaccatcgtgtacccttgatgaggcgtgtatggg
atctcaactcagtcctgttgacaacatctgccctacccccatctcgcaagagtcaagaaccactaccctgctacatgtctctagagtcattcatt
cattgccgtgtagcctcttttg

(シーケンス認識番号：24)

(b)

MAGYLSEDFVMVEEGFSTRDLLKELTLGASQATTKLPSNIC.MDLTR.LPSSWLTWVP..GST
FAF.SACHESGPFMLSSATAAQVC.RFWPSWGVALAVPTRQRWSWSSILES LPVRSSAPTPVS
KLHRSNMLPSMGSSC.ALTMRWSWQRW.RATPVPRWFALLPMTPTP.AA.A.SLECH.NPAD
TCLKMRRSTMWRWWW.VFTLAVAVLTLRPM LSPSQTPGSCLKWAPSWVTRCTFWTLVVAS
LAQKGPK.DLKRLLP.STQPWTCTSQRVAWTSLLSWGATT.PRPSLWQSASLPRRRFC.TSLA
GRRKMVPPRPSCTTLMRACMGSSSTQSCLTTSALPPSCRSLRTHPATCL.SPFISLPCSALL

(シーケンス認識番号：25)

【図9】

エキソン I:

TGTGTTGCATACTTTCTAAGGCGGGCTGCAGCAGCGGCTCCATCCAGC
CCGTCAGCTCCTCCTGCAAGGCATGGCTGGCTACCTGAGTGAATCGGAC
TTTGTGATGGTGGAGGAGGGCTTCAGTACCCGAGACCTGCTGAAGGAAC
TCACTCTGGGGCCTCACAGGCCACCACG

(シーケンス認識番号:26)

エキソン II:

AAACTGCCATCTAACATCTGCTGAATGGACTT

(シーケンス認識番号:27)

エキソン III:

GACGAGGTAGCTGCCTTCTTCGTGGCTGACCTGGGTGCCATAGTGAGGA
AGCACTTTTGCTTTCTGAAGTGCCTGCCACGAGTCCGGCCCTTTTATGCT
GTCAAGTGCAACAGCAGCCCAGGTGTGCTGAAGGTTCTGGCCCAGCTGG
GGCTGGGCTTTAGCTGTGCCAACAAG

(シーケンス認識番号:28)

エキソン IV:

GCAGAGATGGAGTTGGTCCAGCATATTGGAATCCCTGCCAGTAAGATCA
TCTGCGCCAACCCCTGTAAGCAAATTGCACAGATCAAATATGCTGCCAA
GCATGGGATCCAGCTGCTGAGCTTTGACAATGAGATGGAGCTGGCAAAG
GTGGTAAAGAGCCACCCAGTGCCAAG

(シーケンス認識番号:29)

エキソン V:

GATGGTTCTGTGCATTGCTACCGATGACTCCCACTCCCTGAGCTGCCTGA
GCCTAAAGTTTGGAGTGTCACTGAAATCCTGCAGACACCTGCTTGAAAA
TGCGAAGAAGCACCATGTGGAGGTGGTGGGTGTGAG

(シーケンス認識番号:30)

エキソン VI:

TTTTACATTGGCAGTGGCTGTCCTGACCCTCAGGCCTATGCTCAGTCCA
TCGCAGACGCCCGGCTCGTGTGTTGAAATGGGCACCGAGCTGGGTCAAA
GATGCACGTTCTGGACCTTGGTGGTGGCTCCCTGGCACAGAAGGGGCC
AAAGTGAGATTTGAAGAG

(シーケンス認識番号:31)

【図10】

エキソン VII :

ATTGCTTCCGTGATCAACTCAGCCTTGGACCTGTACTTCCCAGAGGGCTG
TGGCGTGGACATCTTTGCTGAGCTGGGGCGCTACTACGTGACCTCGGCCT
TCACTGTGGCAGTCAGCATCATTGCCAAGAAGGAGGTTCTGCTAGACCA
GCCTGGCAGGGAGG

(シーケンス認識番号 : 32)

エキソン VIII :

AGGAAAATGGTTCCACCTCCAAGACCATCGTGTACCACCTTGATGAGGG
CGTGTATGGGATCTTCAACTCAGTCCTGTTTGACAACATCTGCCCTACCC
CCATCCTGCAGAAG

(シーケンス認識番号 : 33)

エキソン IX :

TCTAAGAACCCTCACCCCTGCTACATGTCTCTAGAGTCCATTCATTTATTGCCGTGATG
CGCTCTTTTG

(シーケンス認識番号 : 34)

エキソン X :

AAACCATCCACGGAGCAGCCCTGTACAGCAGCAGCCTGTGGGGCCCGGCGGTTGATGG
CTGTGATTGCGTGGCTGAGGGCCTGTGGCTGCCGCAACTACACGTAGGGGACTGGCTGG
TCTTTGACAACATGGGCGCCTACACTGTGGGCATGGGTTCCCCCTTTGGGGGACCCAGG
CCTGCCACATCACCTATGCCATGTCCCGGTGGCCTG

(シーケンス認識番号 : 35)

エキソン XI :

GGAAGCGCTGCGAAGGCAGCTGATGGCTGCAGAACAGGAGGATGACGTGGAGGGTGTG
TGCAAGCCTCTGTCTGCGGCTGGGAGATCACAGACACCCTGTGCGTGGGCCCTGTCTTC
ACCCAGCGAGCATCATGTGAGTGGGCTCGTTCCCCCGGAGAATCCAGCGGGGCT
CAGAGATGCATCTGGGAGAGGTGGGGAAGATGGCAGGCAAGGGTACCCTTGGCCAGGA
CTCTGGTGGCCACCCTGCCACCCCGCGCTCCACCTGCAGTGTCTGCCCCTGTAATAG
GACCAGTCTTACACTCGCTGTAGTTC AAGTATGCAACATAAATCCTGTTCTCCAGCTG
TGTCTGCCTCCTCTGCAGTGCAAGGGGCTGGTCAGCCAGGTGTGGGGGTGTTCTTGGGG
TCTCCTTTGGTCTCCTTCCACCTTTGTAATATAATGCAAATAAATAAATATTTAGGTTT
TTAAAACTGCAGCGGAATCTGGCAGTTTGATTACAAAGCAGCCTGGGCTAGGCCTGG
GGCAGGATTTCCCATCACTCACTGATGAGCCACACCCTCTGCTTTA

(シーケンス認識番号 : 36)

フロントページの続き

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テ-マ-ド [*] (参考)
G 0 1 N 33/53		G 0 1 N 33/566	
	33/566	C 1 2 N 15/00	Z N A A
(71)出願人	501131014 100 Indigo Creek Drive, Rochester, NY 14626 - 5101, U. S. A.	(72)発明者	リーフ・クリスター・リーンダー・アンデルソン フィンランド国、エフアイエヌ - 00200 ヘルシングフォース、ノルドストパッサゲン・13・エイ・4
(72)発明者	マージャ・ヘイスカラ アメリカ合衆国、92130 カリフォルニア州、サン・ディエゴ、ピア・ニープ 12782	(72)発明者	ローラ・ピットカネン フィンランド国、エフアイエヌ - 00320 ヘルシンキ、リスタブーレンクジャ・3・エイ・9

Fターム(参考) 4B024 AA11 AA12 CA04 CA09 CA11
HA14
4B063 QA12 QA18 QA19 QQ38 QQ52
QR56 QR62 QS25 QS34

【外国語明細書】

1. Title of Invention

ORNITHINE DECARBOXYLASE RELATED PROTEIN
AND RELATED NUCLEIC ACIDS

2. Claims

1. An isolated and purified molecule selected from a group consisting of:
 - (a) a nucleic acid molecule encoding a protein having at least a 70% identity to a polypeptide selected from the group consisting of SEQ ID NO. 13, SEQ ID NO. 15, SEQ ID NO. 17, SEQ ID NO. 19, SEQ ID NO. 21, SEQ ID NO. 23, and SEQ ID NO. 25;
 - (b) a nucleic acid molecule which is complementary to the nucleic acid of (a);
 - (c) a nucleic acid molecule comprising at least 15 sequential bases of the nucleic acid of (a) or (b); and
 - (d) a nucleic acid molecule that hybridizes under stringent conditions to the nucleic acid molecule of (a)

2. A method of assessing the health of a patient comprising: detecting the expression level of the nucleic acid encoding for ODC-p or a splice variant and correlating the presence or quantity of such molecule with the presence or absence of dysfunction.

3 . A method of assessing the health of a patient comprising: detecting the amount of ODC-p or a splice variant thereof in a patient sample and correlating the presence or quantity of ODC with the presence or absence of dysfunction.

4 . A kit for determining the presence of ODC-p or a splice variant thereof comprising:

- a) antibody immunologically reactive with ODC-p or a splice variant thereof, and
- b) reagents for detecting the presence of the antibody.

5 . A kit for determining the presence of a first nucleic acid molecule which encodes ODC-p, splice variants thereof, or a first nucleic acid molecule encoding a protein having at least a 70% identity to a polypeptide comprising amino acids of SEQ ID NO. 11, SEQ ID NO. 12, SEQ ID NO. 13, SEQ ID NO. 14, SEQ ID NO. 15, SEQ ID NO. 16, SEQ ID NO. 17, SEQ ID NO. 18, SEQ ID NO. 19, SEQ ID NO. 20, SEQ ID NO. 21, SEQ ID NO. 22, SEQ ID NO. 23, SEQ ID NO. 24, and SEQ ID NO. 25, said kit comprising:

a) a second nucleic acid molecule that is complementary a portion of the nucleic acid sequences that encode ODC-p wherein said second nucleic acid molecule comprises at least 15 sequential bases of the first nucleic acid sequence;
and

- b) reagents for detecting the presence of the second nucleic acid molecule.

3. Detailed Description of Invention

BACKGROUND

The invention relates to proteins related to Ornithine Decarboxylase ("ODC"), nucleic acids that encode for the ODC related proteins, and diagnostic and therapeutic uses of them.

The decarboxylation of ornithine to putrescine is the first step in the biosynthesis of the polyamines such as spermidine and spermine. The polyamines, which are found in animal tissues and microorganisms, are known to play an important role in cell growth and proliferation. ODC is the rate limiting enzyme in the biosynthesis of polyamines and is ubiquitously expressed in nucleated cells. Elevated catalytic activity of ODC is found in cancer and other rapidly proliferating cells. A low activity is typical of quiescent tissues with minimal cellular turnover.

ODC is subject to elaborate transcriptional regulation as well as post translational control in the form of a rapid physiologic turn over. The degradation of ODC occurs via binding to antizyme (AZ), which is a member of a protein family of three known homologues. The ODC-AZ complex is directed to proteasomal degradation without ubiquitination. The availability of AZ is regulated by an AZ-binding protein, antizyme inhibitor (AZI), which contains an AZ-binding site.

A human ODC-like protein, ODC-p, has now been isolated and purified. This protein is distributed in brain and gonadal tissue. Eight different,

alternatively spliced cDNA variants have been cloned. Assays for the detection of ODC-p and its splice variants, particularly relative to the presence of ODC are useful in the detection and monitoring of diseases such as cancer and neurodegenerative disorders. They may also be used to monitor treatment of such diseases.

SUMMARY OF THE INVENTION

In one aspect of the invention, purified and isolated ODC-p and variants of ODC-p have been prepared as have nucleic acids that encode for them. The biological and structural properties of these proteins are disclosed, as is the amino acid and nucleotide sequence. The recombinant DNA molecules, and portions thereof, are useful for isolating homologues of the DNA molecules, identifying and isolating genomic equivalents of the DNA molecules, and identifying, detecting or isolating mutant forms of the DNA molecules.

In another aspect of the invention, an assay for ODC-p and its splice variants is used to monitor disease progression and/or response to therapy.

DETAILED DESCRIPTION

ODC-P and its splice variants are proteins involved in cell differentiation. Vertebrate cells capable of producing ODC-P and its splice variants are found in the testes as well as in the central nervous system ("CNS").

The human genomic DNA sequence from the clone RPI-11703 (Gene Bank Accession AL020995) was used to define the gene structure. Sequence comparisons between ODC-p and its splice variants, ODC and AZI were performed using PlotSimilarity multiple alignment with blosum62 scoring matrix, and the ClustalW program. The homology between coding regions of ODC and ODC-p cDNAs is 59%. At the protein level, the homology between ODC and ODC-p is 54% and the similarity is 75%. The corresponding figures for AZI and ODC-p are 45% and 66%, respectively.

Comparing the coding regions of ODC and ODC-p and its splice variants, the homology is lowest in the 5'- and 3'-ends, but the central portion is conserved. This was shown, for example, through the coding region sequence (CDS) of human brain ODC-p that was sequenced with six primers covering each nucleotide of the whole coding region. It has also been found that the coding region (CDS) of ODC-p contains 11 exons while that of ODC consists of 10 exons. The exons of ODC and ODC-p (as well as AZI) are almost identical in size. However, the entire gene sequence of ODC-p spans 39.3 kb. The ODC gene sequence spans 7.9 kb.

Exon no. 9 of the ODC-p gene contains a premature stop-codon. This exon is not transcribed in the most abundant RT-PCR product from brain or testes although various clones produced from ESTs containing parts of ODC-p have been identified containing this exon.

Six different alternatively spliced variants of ODC-p from testes and from adult brain were identified using primers specific to exon 9. By sequencing the clones another splicing variant terminating to exon 11 was also found. Thus, a total number of eight different, alternatively spliced isoforms of ODC-p with two different 3'-endings were obtained. ODC-p and SV2 are the longest variants of ODC-p. They are made up of the following exons: 1, 3-8, and 10-11, with an additional 60 base pair ("BP") addition to 5'-end of the exon no. 8 in the case of SV2. These isoforms are also the most easily copied from testis and adult brain. SV3 contains exons no. 1, 3-9; SV4 exons 1, 3-9 and an additive beginning in exon no. 5; SV5 exons 1, 3, 5-9; SV6 exons 1, 3, 7-9; SV7 exons 1, 6-9; and SV8 contains exons 1-9. Figures 1, 1a, 2, 2a, 3, 3a, 4, 4a, 5, 5a, 6, 6a, 7, 7a, 8, and 8a show the nucleic acid sequences that encode for ODC-p and its splice variants as well as the amino acid sequences of the corresponding proteins. Figure 9 shows the exons referred to above.

The stop codon is found at various locations in different isoforms of ODC-p. Shorter versions have their stop codon at exon 9 and have considerable variation in exons between start and stop. Exons 1, 7 and the 3'-end of exon 8 are consistently found in all isoforms. The shorter variants, however, do not include two sites for ODC-activity, C360 and D361. Different isoforms are expressed in different stages of neuronal or spermatozoal differentiation. Indeed, greater amounts of shorter isoforms are found in the mRNA of the testis compared to that found in cells of the adult brain (where differentiation has already terminated).

There is a substantial amount of redundancy in the various codons that code for specific amino acids. Therefore, this invention is also directed to those nucleic acid sequences that contain alternative codons that code for the eventual translation of the claimed amino acids. Also included within the scope of this invention are mutations either in the DNA sequence or the translated protein, which do not substantially alter the ultimate physical properties of the expressed protein. For example, substitution of aliphatic amino acids alanine, valine, leucine and isoleucine; interchange of the hydroxyl residues serine and threonine, exchange of the acidic residues aspartic acid and glutamic acid, substitution between the amide residues asparagine and glutamine, exchange of the basic residues lysine and arginine and ODC-p among the aromatic residues phenylalanine, tyrosine may not cause a change in functionality of the polypeptide. Such substitutions are well known and are described, for instance in Molecular Biology of the Gene, 4th Ed. Benjamin Cummings Pub. Co. by Watson *et al.*

DNA sequences coding for a peptide may be altered so as to code for a peptide having properties that are different than those of the naturally occurring peptide. Methods of altering the DNA sequences include, but are not limited to site directed mutagenesis, chimeric substitution, and gene fusions. Examples of altered properties include but are not limited to changes in the affinity of an enzyme for a substrate or a receptor for a ligand. All such changes of the polynucleotide or polypeptide sequences are anticipated as useful variants of the present invention.

Utilizing the BAC-clone sequence found from databanks, the chromosomal localization of the gene encoding ODC-p determined to be chromosome 1p33-34.1. The ODC gene is found on chromosome 2p25.

The clone RPI-11703 (Gene Bank Accession AL020995) was used to isolate human genomic ODC-p DNA. cDNAs for the alternatively spliced variants of ODC-p were amplified by RT-PCR using a 5' primer CAGCTCCTCCTGCAAGGCATGG (Seq. ID No. 1) and a 3' primer GAGGCCCACTCACATGCTCGCT (Seq. ID No. 2), and human adult brain and testis tissue libraries as templates. An alternative 3' primer CTACACGGCAATGAAATGAATGGAC (Seq. ID No. 3) was also used for splice variants ending in the premature stop codon in exon IX. Further details are provided in Example 1. Other cells and cell lines are also suitable for use to isolate ODC-p and its splice variants' mRNA. Selection of suitable cells can be done by screening for ODC-p and its splice variants' message in cell extracts or in whole cell assays. Cells that possess ODC-p message are suitable for the isolation of mRNA for ODC-p and its splice variants. This mRNA can then be reverse transcribed into a DNA strand, and the resulting cDNA can be amplified using PCR. Methods well-known in the art are readily used to molecularly clone nucleic acids encoding for ODC-p and its splice variants and prepare cDNA libraries. See, for example, Maniatis, T., Fritsch, E.F., Sambrook, J. Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY. 1989.

Variant(s) of polynucleotides or polypeptides are polynucleotides or polypeptides that differ from a reference polynucleotide or polypeptide, respectively. A variant of the polynucleotide may be a naturally occurring variant such as a naturally occurring allelic variant, or it may be a variant that is not known to occur naturally. Such variants are within the scope of the invention and can include polynucleotide or polypeptide functional derivatives, degenerate variants, fragments, analogues, and homologues.

Polynucleotide(s) generally refers to any polyribonucleotide or polydeoxyribonucleotide, which may be unmodified RNA or DNA or modified RNA or DNA. Thus, for instance, polynucleotides as used herein refers to, among others, single- and double-stranded DNA, DNA that is a mixture of single- and double-stranded regions or single-, double- and triple- stranded regions, single- and double-stranded RNA, and RNA that is mixture of single- and double-stranded regions, hybrid molecules comprising DNA and RNA that may be single-stranded or, more typically, double-stranded, or triple-stranded, or a mixture of single- and double-stranded regions. In addition, polynucleotide as used herein refers to triple-stranded regions comprising RNA or DNA or both RNA and DNA. The strands in such regions may be from the same molecule or from different molecules. The regions may include all of one or more of the molecules, but more typically involve only a region of some of the molecules. One of the molecules of a triple-helical region often is an oligonucleotide. As used herein, the term polynucleotide includes DNAs or RNAs as described above that contain one or more modified bases. Thus, DNAs or RNAs with backbones modified for stability or for other reasons are "polynucleotides" as that term is intended herein. Moreover, DNAs or RNAs comprising unusual bases, such as inosine, or modified bases, such as tritylated bases, to name just two examples, are polynucleotides as the term is used herein. A great variety of modifications have been made to DNA and RNA that serve many useful purposes known to those of skill in the art. The term polynucleotide as it is employed herein embraces such chemically, enzymatically or metabolically modified forms of polynucleotides, as well as the chemical forms of DNA and RNA characteristic of viruses and cells, including simple and complex cells, inter alia. Polynucleotides embraces short polynucleotides often referred to as oligonucleotide(s).

The polypeptides of the instant inventions include those referred to as peptides, oligopeptides, and oligomers (e.g., proteins) as well as their variants.

Variants include, without limitation, those that have been subject to acetylation, acylation, ADP- ribosylation, amidation, covalent attachment of flavin, covalent attachment of a heme moiety, covalent attachment of a nucleotide or nucleotide derivative, covalent attachment of a lipid or lipid derivative, covalent attachment of phosphatidylinositol, cross-linking, cyclization, disulfide bond formation, demethylation, formation of covalent cross-links, formation of cystine, formation of pyroglutamate, formylation, gamma-carboxylation, glycosylation, GPI anchor formation, hydroxylation, iodination, methylation, myristoylation, oxidation, proteolytic processing, phosphorylation, prenylation, racemization, selenoylation, sulfation, transfer-RNA mediated addition of amino acids to proteins such as arginylation, and ubiquitination. See, e.g., **PROTEINS-- STRUCTURE AND MOLECULAR PROPERTIES**, 2nd Ed., T. E. Creighton, W. H. Freeman and Company, New York (1993).

Determining identity and similarity are readily done according to well known methods such as those presented in *Computational Molecular Biology*, Lesk, A. M., ed., Oxford University Press, New York, 1988; *Biocomputing: Informatics and Genome Projects*, Smith, D. W., ed., Academic Press, New York, 1993; *Computer Analysis of Sequence Data, Part I*, Griffin, A. M., and Griffin, H. G., eds., Humana Press, New Jersey, 1994; *Sequence Analysis in Molecular Biology*, von Heinje, G., Academic Press, 1987; *Sequence Analysis Primer*, Gribskov, M. and Devereux, J., eds., M Stockton Press, New York, 1991; and Carillo, H., and Lipman, D., (1988) *SIAM J. Applied Math.*, 48, 1073. Methods to determine identity and similarity are codified in computer programs. Preferred computer program methods to determine identity and similarity between two sequences include, but are not limited to, GCG program package (Devereux, J., et al., (1984) *Nucleic Acids Research* 12(1), 387), BLASTP, BLASTN, and FASTA (Atschul, S. F. et al., (1990) *J. Molec. Biol.* 215, 403).

Preferred embodiments of the invention are polynucleotides that are at least 70% identical over their entire length to a polynucleotide encoding the polypeptide having the amino acid sequence set out in Seq. ID. No. 11, Seq. ID. No. 13, Seq. ID. No. 15, Seq. ID. No. 17, Seq. ID. No. 19, Seq. ID. No. 21, Seq. ID. No. 23, Seq. ID. No. 25 and polynucleotides which are complementary to such polynucleotides.

Alternatively, highly preferred are polynucleotides that comprise a region that is at least 80% identical, more highly preferred are polynucleotides that comprise a region that is at least 90% identical, and among these preferred polynucleotides, those with at least 95% are especially preferred. Furthermore, those with at least 97% identity are highly preferred among those with at least 95%, and among these those with at least 98% and at least 99% are particularly highly preferred, with at least 99% being the most preferred. The preferred polynucleotides which hybridize to the polynucleotides described above encode polypeptides which retain substantially the same biological function or activity as the polypeptide characterized by the deduced amino acid sequence of Seq. ID. No. 10, Seq. ID. No. 12, Seq. ID. No. 14, Seq. ID. No. 16, Seq. ID. No. 18, Seq. ID. No. 20, Seq. ID. No. 22, Seq. ID. No. 24___.

Preferred embodiments in this respect, moreover, are polynucleotides that encode polypeptides that retain substantially the same biological function or activity as the mature polypeptide encoded by the DNA of Seq. ID. No. 10___, Seq. ID. No. 12, Seq. ID. No. 14, Seq. ID. No. 16, Seq. ID. No. 18, Seq. ID. No. 20, Seq. ID. No. 22, Seq. ID. No. 24. The present invention further relates to polynucleotides that hybridize to the sequences described above, preferably to polynucleotides that hybridize under stringent conditions (those conditions in which hybridization will occur only if there is at least 95% and preferably at least 97% identity between the sequences).

Polynucleotides of the invention may be used as hybridization probes for mRNA, cDNA and genomic DNA to isolate full-length cDNAs and genomic clones

of Seq. ID. No. 11, Seq. ID. No. 13, Seq. ID. No. 15, Seq. ID. No. 17, Seq. ID. No. 19, Seq. ID. No. 21, Seq. ID. No. 23, Seq. ID. No. 25 and to isolate cDNA and genomic clones of other genes that have a high sequence similarity. Such probes generally will comprise at least 15 bases. Preferably, such probes will have at least 30 bases and may have at least 50 bases. Particularly preferred probes will have at least 30 bases and will have 50 bases or less. For example, the coding region of the gene of the invention may be isolated by screening using the known DNA sequence to synthesize an oligonucleotide probe. A labeled oligonucleotide having a sequence complementary to that of a gene of the present invention is then used to screen a library of cDNA, genomic DNA or mRNA to determine to which members of the library the probe hybridizes.

The polypeptides of the present invention include the polypeptide Seq. ID. No. 11, Seq. ID. No. 13, Seq. ID. No. 15, Seq. ID. No. 17, Seq. ID. No. 19, Seq. ID. No. 21, Seq. ID. No. 23, Seq. ID. No. 25 (in particular the mature polypeptide) as well as polypeptides which have at least 70% identity to such polypeptides. Preferably, however, the polypeptides of the present invention have at least 80% identity, and more preferably at least 90% similarity (more preferably at least 90% identity) to the polypeptides. Still more preferably they have at least 95% similarity (still more preferably at least 97% identity) to the polypeptide of Seq. ID. No. 11, Seq. ID. No. 13, Seq. ID. No. 15, Seq. ID. No. 17, Seq. ID. No. 19, Seq. ID. No. 21, Seq. ID. No. 23, Seq. ID. No. 25 and also include portions of such polypeptides with such portion of the polypeptide generally containing at least 30 amino acids and more preferably at least 50 amino acids.

The cloned DNA for ODC-p and its splice variants obtained through the methods described herein may be recombinantly expressed by molecular cloning into an expression vector containing a suitable promoter and other appropriate

transcription regulatory elements, and transferred into prokaryotic or eukaryotic host cells to produce recombinant protein. Techniques for such manipulations are fully described in Maniatis, T, *et al.*, *supra*.

A variety of mammalian, bacterial, and fungal expression vectors may be used to express recombinant ODC-p (and its splice variants) in mammalian cells. Commercially available mammalian expression vectors which may be suitable for recombinant ODC-p (and its splice variants) expression, include but are not limited to, pMAMneo (Clontech), pcDNA3 (Invitrogen), pMC1neo (Stratagene), pXT1 (Stratagene), pSG5 (Stratagene), EBO-pSV2-neo (ATCC 37593) pBPV-1(8-2) (ATCC 37110), pdBPV-MMTneo(342-12) (ATCC 37224), pRSVgpt (ATCC 37199), pRSVneo (ATCC 37198), pSV2-dhfr (ATCC 37146), pUCTag (ATCC 37460), and LZD35 (ATCC 37565). pET vectors (Novagen) and pQE vectors (Qiagen) are preferred bacterial expression vectors. pYES2 (Invitrogen) and Pichia expression vector (Invitrogen) are preferred fungal vectors. pBlueBacII (Invitrogen) is a preferred insect cell expression vector. TOPO TA pCR 2.1 available from Invitrogen (Groenigen, the Netherlands) and pCIneo vector available from Promega (Madison, WI) are most preferred vectors.

Recombinant host cells may be prokaryotic or eukaryotic. Cell lines derived from mammalian species which may be suitable and which are commercially available, include but are not limited to, CV-1 (ATCC CCL 70), COS-1 (ATCC CRL 1650), COS-7 (ATCC CRL 1651), CHO-K1 (ATCC CCL 61), 3T3 (ATCC CCL 92), NIH/3T3 (ATCC CRL 1658), HeLa (ATCC CCL 2), C1271 (ATCC CRL 1616), BS-C-1 (ATCC CCL 26), MRC-5 (ATCC CCL 171), L-cells, and HEK-293 (ATCC CRL1573).

The expression vector may be introduced into host cells via any one of a number of techniques including but not limited to transformation, transfection,

protoplast fusion, lipofection, and electroporation. The expression vector-containing cells are clonally propagated and individually analyzed to determine whether they produce ODC-p protein and the splice variant proteins. Identification of ODC-p expressing host cell clones may be done by several means, including but not limited to immunological reactivity with anti-ODC-p antibodies, and the presence of host cell-associated ODC-p activity.

Expression of ODC-p DNA and that of the splice variants may also be performed using *in vitro* produced synthetic mRNA. Synthetic mRNA or mRNA isolated from ODC-p producing cells can be efficiently translated in various cell-free systems, including but not limited to wheat germ extracts and reticulocyte extracts, as well as efficiently translated in cell based systems, including but not limited to microinjection into frog oocytes, with microinjection into frog oocytes being generally preferred.

Following expression, ODC-p and splice variant protein may be recovered to provide purified ODC-p and splice variant protein from cell lysates and extracts, or from conditioned culture medium, by various methods. These include, without limitation, combinations of, or individual application of salt fractionation, ion exchange chromatography, size exclusion chromatography, hydroxyapatite adsorption chromatography and hydrophobic interaction chromatography, lectin chromatography, and antibody/ligand chromatography.

Monospecific antibodies to ODC-p and its splice variants are purified from mammalian antisera containing antibodies reactive against ODC-p and its splice variants or are prepared as monoclonal antibodies reactive with ODC-p and its splice variants using the technique originally described by Kohler and Milstein, *Nature* 256: 495-497 (1975). Immunological techniques are described

in, for example, Antibodies: A laboratory manual published by Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, ISBN 0879693142. These methods may be utilized for producing monospecific antibodies specific for ODC-p polypeptide fragments (and those of its splice variants), or full-length nascent polypeptide, or the individual ODC-p subunits or those of its splice variants. Monospecific antibodies may be generated which are specific for only one ODC-p subunit or the fully functional ODC-p protein or those of its splice variants. Further, monospecific antibodies may be generated that inhibit normal function of ODC-p protein or that of its splice variants.

ODC-p antibody affinity columns are made by adding the antibodies to a gel support such that the antibodies form covalent linkages with the gel bead support. Preferred covalent linkages are made through amine, aldehyde, or sulfhydryl residues contained on the antibody.

Kits containing DNA or RNA of ODC-p and its splice variants, antibodies to ODC-p and its splice variants, or protein of ODC-p and its splice variants are also an aspect of the invention. Such kits are used to detect DNA which hybridizes to ODC-p (or its splice variants) DNA or to detect the presence of ODC-p protein or peptide fragments (or those of its splice variants) in a sample. Such characterization is useful for a variety of purposes including but not limited to disease diagnosis and monitoring, treatment monitoring, forensic analyses, diagnostic applications, and epidemiological studies.

The DNA molecules, RNA molecules, recombinant protein and antibodies of the present invention may be used to screen and measure levels of DNA, RNA or protein of ODC-p and its splice variants. The recombinant proteins, DNA molecules, RNA molecules and antibodies lend themselves to the formulation of kits suitable for the detection and typing of ODC-p. Such a kit

comprises at least one container. Preferably, the containers are held in close proximity with a compartmentalized container and instructions. The kit further comprises reagents such as recombinant ODC-p protein or anti-ODC-p antibodies suitable for detecting ODC-p. Detection reagents such as labeled antigen or enzyme substrates or the like can also be incorporated in such a kit.

Nucleotide sequences that are complementary to the ODC-p encoding DNA sequence can be synthesized for antisense therapy. These antisense molecules may be DNA, stable derivatives of DNA such as phosphorothioates or methylphosphonates, RNA, stable derivatives of RNA such as 2'-O-alkylRNA, or other ODC-p antisense oligonucleotide mimetics. ODC-p antisense molecules may be introduced into cells by microinjection, liposome encapsulation or by expression from vectors harboring the antisense sequence. ODC-p antisense therapy may be particularly useful for the treatment of diseases where it is beneficial to reduce ODC-p activity. Protocols for molecular methodology of gene therapy suitable for use with the ODC-p gene is described in Gene Therapy Protocols, edited by Paul D. Robbins, Human press, Totawa NJ, 1996.

Pharmaceutically useful compositions comprising DNA, RNA, or protein, of ODC-p and its splice variants or modulators of ODC-p substrate binding activity or that of its splice variants, may be formulated according to known methods such as by the admixture of a pharmaceutically acceptable carrier. Examples of such carriers and methods of formulation may be found in Remington's Pharmaceutical Sciences. To form a pharmaceutically acceptable composition suitable for effective administration, such compositions will contain an effective amount of the protein, DNA, RNA, or modulator.

Therapeutic or diagnostic compositions of the invention are administered to an individual in amounts sufficient to treat or diagnose disorders in which modulation of ODC-p-related activity is indicated. The pharmaceutical compositions may be provided to the individual by a variety of routes such as subcutaneous, topical, oral and intramuscular.

In the methods of the present invention, the compounds or modulators herein described can form the active ingredient, and are typically administered in admixture with suitable pharmaceutical diluents, excipients or carriers (collectively referred to herein as "carrier" materials) suitably selected with respect to the intended form of administration, that is, oral tablets, capsules, elixirs, syrups and the like, and consistent with conventional pharmaceutical practices. The compounds or modulators may alternatively be administered parenterally via injection of a formulation consisting of the active ingredient dissolved in an inert liquid carrier. Injection may be either intramuscular, intraluminal, intratracheal, or subcutaneous. The injectable formulation consists of the active ingredient mixed with an appropriate inert liquid carrier. Topical application of the compounds or modulators is possible through the use of a liquid drench or a shampoo containing the instant compounds or modulators as an aqueous solution or suspension.

EXAMPLE 1

cDNAs for the alternatively spliced variants of ODC-p were amplified by PCR using a 5'-primer TCAGCTCCTCCTGCAAGGCATGG (SEQ. ID. NO. 1) , designed according to the deduced ODC-p cDNA, beginning 10 nucleotides upstream from the predicted starting codon, and a 3'-primer GAGGCCCACTCACATGATGCTCGCT (SEQ. ID. NO. 4), ending nine nucleotides downstream from stop-codon in the exon XI, or an alternative 3'-primer

CTACACGGCAATGAAATGAATGGAC (SEQ. ID. NO 3) ending in the premature stop-codon in exon IX, and using human adult brain and testis tissue-derived cDNA libraries as templates.

The PCR products were cloned into the TOPO TA pCR 2.1 vector (Invitrogen, Groeningen, the Netherlands), and sequenced using both vector and insert-derived primers by an automated sequencer (ABI 3100 Genetic Analyzer, Perkin-Elmer, Foster City, CA, USA).

EXAMPLE 2 (Prophetic)

Recombinantly produced ODC-p may be purified by antibody affinity chromatography.

ODC-p antibody affinity columns are made by adding the anti-ODC-p antibodies to Affigel-10 (Biorad), a gel support which is pre-activated with N-hydroxysuccinimide esters such that the antibodies form covalent linkages with the agarose gel bead support. The antibodies are then coupled to the gel via amide bonds with the spacer arm. The remaining activated esters are then quenched with 1M ethanolamine HCl (pH 8). The column is washed with water followed by 0.23 M glycine HCl (pH 2.6) to remove any non-conjugated antibody or extraneous protein. The column is then equilibrated in phosphate buffered saline (pH 7.3) together with appropriate membrane solubilizing agents such as detergents and the cell culture supernatants or cell extracts containing solubilized ODC-p are slowly passed through the column. The column is then washed with phosphate- buffered saline together with detergents until the optical density (A280) falls to background, then the protein is eluted with 0.23 M glycine-HCl (pH 2.6) together with detergents. The purified ODC-p protein is then dialyzed against phosphate buffered saline.

EXAMPLE 3

For the *In Vitro* translation, and COS-cell transfection, the cDNAs for ODC-p, its splicing variants and the cDNA for ODC were cloned into the pCIneo vector (Promega, Madison, WI, USA) at EcoRI site. The inserts were verified by sequencing.

ODC, ODC-p and its splice variants (1 μ g of pCIneo/insert) were translated by Promega's (Madison, WI, USA) TnT Coupled Reticulocyte Lysate System with T7 RNA polymerase according to manufacturers instructions. Redivue L- 35 S] Methionine (Amersham Pharmacia Biotech UK Limited) was used to label the proteins for visualization in Western blot. Translated, labeled proteins were separated on 8% SDS-PAGE and visualized by autoradiography.

The cDNA for ODC and ODC-p SVs 1, 2, 3, 5, 7 and 8, were translated in the system. Autoradiographic visualization showed approximately the same size, 51kDa, for ODC and SV2 of ODC-p, which is in concordance with the predicted protein sequences. The splicing variants 1, 3, 7 and 8 showed bands of 46 kd, 42 kd, 40 and 44kd, respectively, on SDS PAGE, corresponding to the protein sequences predicted from their cDNAs. The empty vector was used as a negative control.

EXAMPLE 4

The presence of the message for ODC-p and ODC in human tissues was determined by hybridizing human Multiple Tissue Expression (MTE) arrays (Clontech, Palo Alto, CA, USA) with specific probes. For detecting the message for ODC-p, a PCR product amplified using a 5' primer CACTCCCTGAGCTGC (Seq. ID. No. 5), and a 3' primer CTGCTCCGTGGATGGT (Seq. ID. No. 6), selected from an ODC-p cDNA region with low homology to ODC, was cloned into pCR 2.1-TOPO vector. The insert (554 bp) was randomly labeled with Multiprime

Labeling Kit (Amersham Pharmacia Biotech, UK). For detecting the message for ODC, the whole cDNA of ODC was randomly labeled. ODC-p probe was tested not to react with ODC or AZI, and the ODC probe was tested to be negative against ODC-p under the hybridization conditions used. Hybridization was performed following the manufacturers instructions (Clontech). The membrane was exposed both to x-ray films and phosphoimager plates and the intensities were analyzed using a MacBAS-program.

Dot blot revealed relatively high amounts of ODC-p mRNA in different parts of adult brain (cerebral cortex, cerebral lobes, cerebellum, basal nuclei, thalamus, substantia nigra, hippocampus, spinal cord), while a lower expression was seen in fetal brain. When hybridizing the same membrane with an ODC-specific probe, low signals were detected in the brain, with the exception of the pituitary gland while all the other human tissues showed a constant high expression. This reciprocal distribution of ODC-p and ODC in adult brain versus other human tissues illustrates the role that ODC-p has in replacing ODC in certain organs with low cellular turnover. No expression of ODC-p was seen in the rapidly growing, undifferentiated tumor cell lines, demonstrating that ODC-p is not demanded for proliferation, and emphasizing the distinctions of the functions of ODC-p and ODC.

A high expression of both ODC-p and ODC was seen in the testes. The ongoing spermatogenesis includes both rapid cell proliferation and terminal differentiation, which illustrates the need for both forms of the ODC-like proteins in this organ.

ODC is most useful to proliferating cells while ODC-p and its splice variants are most useful in cellular differentiation.

EXAMPLE 5**Cell cultures and transient transfections:**

COS-7 cells were cultured in Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) supplemented with 5% fetal calf serum (FCS), antibiotics and L-glutamine. COS-7 cells were transiently transfected to express ODC and the splice variants of ODC-p (pCIneo/insert), using Lipofectamine 2000 (Life Technologies Inc., Gibco BRL, CA). Twenty four hours after being transfected the cells were harvested, and the ODC activity of the cell lysates was measured.

Determination of ODC-activity:

Transfected cells were mechanically detached and collected in a lysis buffer containing 25 mM Tris-HCl (pH 7.4), 0.1 mM EDTA, 5 mM dithiothreitol and 0.1 mM pyridoxal-5-phosphate in which the cells were lysed by repeated freezing and thawing. The *in vitro* translation (ivt) products were diluted into the same buffer. The supernatant of the cell lysates and the diluted ivt-samples were added to a reaction buffer containing 0.2 M Tris-HCl, pH 7.7, 0.6 mM EDTA, 30 mM DTT, 0.4 mM PLP and [1-¹⁴C]Ornithine hydrochloride (1.92 MBq/mmol; Amersham Pharmacia Biotech UK Limited, UK). After incubating for one hour at 37°C, the ODC activity was measured by determining the release of ¹⁴CO₂ from L-[1-¹⁴C] Ornithine.

As expected, the *in vitro* translated ODC was readily active. ODC-activity was not, however, reproducibly detected in any of the *in vitro* translation products of the cDNAs for ODC-p isoforms.

Transfectants with the ODC cDNA plasmid produced a high ODC activity measured by the conventional assay. Expression of the cDNA for the SV2 of ODC-p

induced an ODC activity, above the background yet dramatically lower than that of ODC. The four other variants of ODC-p that were tested (SV1, 3, 4 and 8) did not increase ornithine decarboxylase activity in transfected COS-7 cells.

EXAMPLE 5 (Prophetic)
Enzyme Immunoassay Procedure

Immunoassays are prepared for the ODC-p isoforms. This is achievable since detection of 10 fmol/L is possible in competitive assay. Sensitivity of noncompetitive assay is determined by lower limit of detection of the label used: 1 to 2,000,000 Zeptomoles (10^{-21} moles). Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry" 4th Edition, p143.

Enzyme Immunoassay (EIA) procedure, antigen standards comprising a digest of normal adult brain tissue from epilepsy surgery (shown to contain the antigen by immunoperoxidase staining) are used. Human brain tissue specimens are pooled and homogenized in 10 volumes of 10 mM Tris buffer, pH 7.4, containing 0.2% (w/v) sodium deoxycholate at 4°C. The homogenate is quickly brought to 37 C and the following reagents (final concentration) are added while stirring: 1 mM cysteine (Sigma), 1 mM EDTA (Sigma), and papain (0.8 unit/ml) (Boehringer-Mannheim, Indianapolis, Ind.). After 5 minutes digestion is stopped by the addition of 5mM iodoacetamide (Sigma). The homogenate is centrifuged at 100,000 times/g for 1 hour at 4C, then extensively dialyzed against 10 mM Tris/0.9% NaCl solution buffer, pH 7.4, containing phenylmethysulfonyl fluoride and aminocaproic acid, each at 10 mM. The homogenate is frozen in small aliquots at a concentration of 0.5 mg of protein/ml.

The dose response curve that will be generated for the immunoassay procedure measuring ODC-p isoforms demonstrates linearity between antigen input

of 100ng to 100 μ g/ml. For cerebrospinal liquor analysis, the range is 1ng to 1000ng/ml, since this is the range these samples are expected to contain the protein after dilution with the assay buffer.

Solid-phase preparations of polyclonal antibodies raised against the ODC-p splice variants 1 and 2 are prepared using CNBr-activated Sepharose (Pharmacia). Microtiter plates (Nunc I Immunoplates; Grand Island Biological Co., Grand Island, N.Y.) are coated with the antibodies (200 μ l /well) in 50 mM carbonate-bicarbonate buffer, pH 9.6, for 18 hours at 4C. After removal of the antibody solution, residual protein binding sites on the plastic are blocked by the addition of 200 μ l of assay buffer [PBS containing 1% (v/v) rabbit *serum* and 1% (w/v) bovine albumin]. After 1 hour of incubation at room temperature, the coated plates are used immediately for the assay procedure.

To perform the assay, 200 μ l samples, diluted in assay buffer, are applied for 1-5 hours at 37C. After 3 washes using assay buffer, 200 μ l of monoclonal anti-ODC-p antibody, covalently conjugated to horseradish peroxidase (Sigma, Type VI), is applied to each well for 1.5 hours at 37C. The conjugate is diluted to a concentration of 0.5 μ g of immunoglobulin per ml of PBS containing 10% (v/v) murine serum. Following a wash procedure as above, 200 μ l of substrate per well are applied for 0.5 hours at room temperature. Substrate solution contains 0.4 mg of o-phenylenediamine per ml of pH 5.0 citrate buffer and 0.003% hydrogen peroxide. The reaction is stopped by addition of 50 μ l of 2N sulfuric acid, and absorbance is monitored at 488 nM using an enzyme assay plate reader (Fisher Scientific Co., Pittsburgh, Pa.).

The percentage of bound enzyme conjugate is calculated by the formula:

$$(B-B_0)/(B_1-B_0)(100)$$

where B=absorbance of the sample, B_1 =maximal absorbance, and B_0 =absorbance of the blank. Each assay is performed in triplicate using a standard digest and 26-fold diluted cerebrospinal fluid samples diluted in assay buffer. Specificity of the immunoassay is examined by substituting various antibody reagents at the solid phase, including an antibody to CEA and nonimmune rabbit serum. Of the solid phase antibodies only antibodies raised against ODC-p splice variants 1 and 2 bind antigen at high dilutions.

Levels of cerebrospinal fluid ODC-p splice variants 1 and 2 are detected for normal control subjects, patients with benign and malignant brain tumors, patients with epilepsy, patients with multiple myeloma, patients with anoxic brain trauma, patients with multi-infarction dementia, and patients with neurodegenerative diseases, such as Alzheimer's disease and Parkinson's disease.

Cerebrospinal fluid obtained from apparently healthy individuals exhibits a mean value of approximately 90ng/ml of ODC-p/ml. Only 5% of the samples express cerebrospinal fluid antigen at 300ng/ml or above, and this value is chosen as cutoff for elevated cerebrospinal fluid levels.

Cerebrospinal fluid from patients with benign or malignant brain tumors exhibit a mean value of 160ng/ml, with a large range of variation, depending on the amount of cell death associated with the tumor.

Cerebrospinal fluid obtained from multiple myeloma exhibits close to normal levels of ODC-p in the cerebrospinal fluid.

Cerebrospinal fluid from patients with anoxic brain trauma exhibits the mean value of 500ng/ml of ODC-p at the acute phase, with a rapid decline to normal levels.

Cerebrospinal fluid from patients with clinical multi-infarction dementia exhibits a mean value of 300ng/ml of ODC-p.

Cerebrospinal fluid from patients with neurodegenerative diseases exhibits a mean value of 600ng/ml of ODC-p.

The assay is conducted at regular intervals over the course of treatment of a patient. After treatment, a significant decrease in cerebrospinal fluid ODC-p occurs. Using a limited number of patients who, after the diagnosis, have been treated with regimens that significantly improve their clinical performance, a quantitative relationship between cerebrospinal fluid ODC-p and the amount of cell death in the central nervous system is established. Such measurements thereby facilitate patient monitoring and can also assist in diagnosing, and predicting the clinical outcome, of dementia patients.

EXAMPLE 6 (Prophetic)

Quantitative RT-PCR Based Screening of ODC-p and ODC Expression Levels in Ejaculate

The technique consists of three parts: extraction of total RNA from the sample, synthesis of cDNA from RNA by reverse transcription (RT), and amplification of a specific cDNA by polymerase chain reaction (PCR).

RNA is first extracted from an ejaculate specimen, centrifuged at 1500 rpm for 15 minutes to harvest the cells shed in the fluid. Using Ambion RNAWiz (cat 9736), total RNA is extracted with a yield of 100ng of RNA per 100µg of specimen.

The sample is homogenized at 1ml of RNAWiz, incubated for 5 minutes at room temperature (RT), and mixed with 200 μ l of chloroform. The mixture is shaken for 20 seconds, incubated at RT for ten minutes, and centrifuged at +4°C at 12,000 rpm for 15 minutes. The upper phase, with the RNA, is then transferred into another Eppendorf tube, and mixed with 500 μ l of Rnase free water. After mixing 1ml of isopropanol is added, and the solution is incubated at RT for 10 minutes. Thereafter the mixture is centrifuged at 12,000 rpm for 15 minutes, the supernatant is removed with a pipet, and 1ml of 75% ethanol is added. After mixing the sample is centrifuged at +4°C (12,000 rpm) for 10 minutes, the supernatant is removed, and the pellet is air dried. The RNA is then dissolved in water, the concentration is measured, and an aliquot is used for the RT reaction.

Using Ambion's RETROscript™ Kit, the one-hour, 42°C RT reaction is mediated by a retroviral reverse transcriptase.

An aliquot of the resultant cDNA is exponentially amplified via cycles of denaturation, annealing and extension (PCR) using specific primers designed for ODC, and ODC-p splice variants 1 and 2. The primers are selected at intron spanning areas to eliminate possible DNA contamination. Primers are designed to cover those areas that are the most dissimilar in each of the molecules, in order to optimize specificity. ODC-p is selectively amplified by primers 5'CTTTTGCTTTCTGAAGTG (Seq. ID. No.7) and 3'CTGCTCCGTGGATGGT (Seq. ID. No. 6) and ODC by primers 5'AAAGCAGTCTGTCGTCTC (Seq. ID. No. 8) and 3'GCGCTCAACAATCCGAT (Seq. ID. No. 9).

Relative quantitation is used to compare different samples' transcript abundance across multiple samples, using a co-amplified internal control, 18S rRNA, for sample normalization. Results are expressed as ratios of the gene specific

signal to the internal control signal. This yields a corrected relative value for the gene specific product in each sample. If necessary, a synthetic RNA competitor transcript is synthesized and used to identify compatible linear range conditions where the PCR products of the molecules of interest are detectable.

Samples of ejaculates are collected from obviously healthy individuals, patients with prostate cancer, patients with testicular cancer, patients with benign prostate hyperplasia, patients with prostatitis, patients with pyelonephritis, patients with urethritis, and patients with oligozoospermia and azoospermia. The ratio of the expression of ODC versus ODC-p is from 0.7 to 1.3 in the samples of healthy individuals, with values exceeding 20 or being lower than 0.4 indicating a disease state. In samples of the patients with malignant proliferative diseases in the testes the mean value of the ratio of ODC to ODC-p is 100. In samples of the patients with inflammatory diseases the mean value of the ratio is 30. In samples of the patients with defective spermatogenesis the mean value of the ratio of ODC to ODC-p is 0.02. In the samples of patients with diseases in the other organs in the genitourinary tract the ratio of the expression of ODC to ODC-p is in the normal range, except for patients with prostate cancer, where the ratio is between 20 and 100, depending on the stage. Successful treatment of both malignant and inflammatory diseases of the testes, and carcinoma of the prostate, normalizes the ratio quickly. Measuring the ratio of the expression of ODC versus ODC-p in the ejaculates helps to diagnose correctly individuals with fertility problems, and screens for early testicular cancer. The measurement can also be made from testicular biopsy.

4. Preferred aspects are provided as stated in the followings

(1) The isolated and purified nucleic acid molecule of claim 1, having a nucleotide sequence selected from a group consisting of: SEQ ID.NO. 10, SEQ ID NO. 12, SEQ ID NO. 14, SEQ ID NO. 16, SEQ ID NO. 18, SEQ ID NO. 20, SEQ ID NO. 22, and SEQ ID NO. 24.

(2) The method of claim 2 used to diagnose CNS function, monitor CNS disease, or monitor the treatment of CNS disease.

(3) The method of claim 2 used for the purpose of diagnosing testicular function, monitoring testicular dysfunction, or monitoring the treatment of testicular dysfunction.

(4) The method of claim 3 used for the purpose of diagnosing testicular function, monitoring testicular dysfunction, or monitoring the treatment of testicular dysfunction.

(5) The method of claim 3 used to diagnose CNS function, monitor CNS disease, or monitor the treatment of CNS disease

5. Sequence Listing

<110> Heiskala, Marja
 Christer Leander Andersson, Leif
 Pitkanen, Laura

<120> ORNITHINE DECARBOXYLASE RELATED PROTEIN AND RELATED

<130> CDS-239

<140> 60/311,063
 <141> 2001-08-09

<160> 36

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Synthetic construct

<400> 1
 tcagctcctc ctgcaaggca tgg 23

<210> 2
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Synthetic construct

<400> 2
 gaggcccaact cacatgctcg ct 22

<210> 3
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Synthetic construct

<400> 3
 ctacacggca atgaaatgaa tggac 25

<210> 4
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Synthetic construct

<400> 4
 gaggcccaact cacatgatgc toget 25

<210> 5
 <211> 15
 <212> DNA
 <213> Synthetic construct

<400> 5
 cactcctga gctgc 15

<210> 6
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Synthetic construct

 <400> 6
 atgctccgtg gatggt 16

 <210> 7
 <211> 18
 <212> DNA
 <213> Synthetic construct

 <400> 7
 cttttgcttt ctgaagtg 18

 <210> 8
 <211> 18
 <212> DNA
 <213> Synthetic construct

 <400> 8
 aaagcagtct gtcgtctc 18

 <210> 9
 <211> 17
 <212> DNA
 <213> Synthetic construct

 <400> 9
 gcgctcaaca atccgat 17

 <210> 10
 <211> 1383
 <212> DNA
 <213> Human

 <400> 10
 atggtggtt acctgagtga atcggacttt gtgatggtgg aggagggctt cagtacccca 60
 gacctgctga aggaactcac tctggggggc tcacaggcca ccacggacga ggtagctgcc 120
 ttcttcgctg ctgacctggg tgccatagtg aggaagcact tctgctttct gaagtgcctg 180
 ccacgagtec ggcctttta tgctgtcaag tgcaacagca gccacaggtg gctgaaggtt 240
 ctggcccagc tggggctggg ctttagctgt gccacaagg cagagatgga gttggtccag 300
 cataraggaa tccctgccag taagatcacc tgcgccacc cctgtaagca aattgcacag 360
 atcaaatatg ctgccaaagca tgggatccag ctgctgagct ttgacaatga gatggagctg 420
 gcaaaggtgg taaagagcca cccagtgcc aagatggttc tgtgcattgc taccgatgac 480
 tcccactccc tgagctgctt gagcctaaag tttggagtgt cactgaaatc ctgcagacac 540

ctgcttgaaa atgcaagaa gcaccatgtg gaggtggtgg gtgtgagttt tcacattggc 600
 agtggctgtc ctgacctca ggcctatgct cagtecatcg cagacgcccg gotcgtgttt 660
 gaaatgggca cagagctggg tcacaagatg cagcttctgg accttgggtgg tggcttccct 720
 ggcacagaag gggccaaagt gagatttgaa gagattgctt ccgtgatcaa ctacagccttg 780
 gacctgtact tcccagaggg ctgtggcgtg gacatctttg ctgagctggg gcgctactac 840
 gtgacctcgg ccttcactgt ggcagtcagc atcattgccca agaaggaggt tctgctagac 900
 cagcctggca gggaggagga aaatggttc acctccaaga ccatcgtgta ccaccttgat 960
 gagggcgtgt atgggatcct caactcagto ctgtttgaca acatctgccc taccctcctc 1020
 ctgcagaaga aaccatccac ggagcagccc ctgtacagca gcagcctgtg gggcccggcg 1080
 gttgatggct gtgattgcgt ggctgagggc ctgtggctgc cgcaactaca cgtaggggac 1140
 tggctggctc ttgacaacat gggcgcctac actgtgggca tgggttcccc cttttggggg 1200
 acccagcct gccacatcac ctatgccatg tcccggttg cctgggaagc gctgcgaagg 1260
 cagctgatgg ctgcagaaca ggaggatgac gtggagggtg tgycaagoc tctgtcctgc 1320
 ggctgggaga tcacagacac cctgtgctg ggcctgtct tcaccocagc gagcatcatg 1380
 tga 1383

<210> 11
 <211> 460
 <212> PRT
 <213> Human

<400> 11

Met Ala Gly Tyr Leu Ser Glu Ser Asp Phe Val Met Val Glu Glu Gly
1 5 10 15

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

Ala Thr Thr Asp Glu Val Ala Ala Phe Phe Val Ala Asp Leu Gly Ala
35 40 45

Ile Val Arg Lys His Phe Cys Phe Leu Lys Cys Leu Pro Arg Val Arg
50 55 60

Pro Phe Tyr Ala Val Lys Cys Asn Ser Ser Pro Gly Val Leu Lys Val
65 70 75 80

Leu Ala Gln Leu Gly Leu Gly Phe Ser Cys Ala Asn Lys Ala Glu Met
85 90 95

Glu Leu Val Gln His Ile Gly Ile Pro Ala Ser Lys Ile Ile Cys Ala
 100 105 110

Asn Pro Cys Lys Gln Ile Ala Gln Ile Lys Tyr Ala Ala Lys His Gly
 115 120 125

Ile Gln Leu Leu Ser Phe Asp Asn Glu Met Glu Leu Ala Lys Val Val
 130 135 140

Lys Ser His Pro Ser Ala Lys Met Val Leu Cys Ile Ala Thr Asp Asp
 145 150 155 160

Ser His Ser Leu Ser Cys Leu Ser Leu Lys Phe Gly Val Ser Leu Lys
 165 170 175

Ser Cys Arg His Leu Leu Glu Asn Ala Lys Lys His His Val Glu Val
 180 185 190

Val Gly Val Ser Phe His Ile Gly Ser Gly Cys Pro Asp Pro Gln Ala
 195 200 205

Tyr Ala Gln Ser Ile Ala Asp Ala Arg Leu Val Phe Glu Met Gly Thr
 210 215 220

Glu Leu Gly His Lys Met His Val Leu Asp Leu Gly Gly Gly Phe Pro
 225 230 235 240

Gly Thr Glu Gly Ala Lys Val Arg Phe Glu Glu Ile Ala Ser Val Ile
 245 250 255

Asn Ser Ala Leu Asp Leu Tyr Phe Pro Glu Gly Cys Gly Val Asp Ile
 260 265 270

Phe Ala Glu Leu Gly Arg Tyr Tyr Val Thr Ser Ala Phe Thr Val Ala
 275 280 285

Val Ser Ile Ile Ala Lys Lys Glu Val Leu Leu Asp Gln Pro Gly Arg
 290 295 300

Glu Glu Glu Asn Gly Ser Thr Ser Lys Thr Ile Val Tyr His Leu Asp
 305 310 315 320

Glu Gly Val Tyr Gly Ile Phe Asn Ser Val Leu Phe Asp Asn Ile Cys
 325 330 335

Pro Thr Pro Ile Leu Gln Lys Lys Pro Ser Thr Glu Gln Pro Leu Tyr
 340 345 350

Ser Ser Ser Leu Trp Gly Pro Ala Val Asp Gly Cys Asp Cys Val Ala
 355 360 365

Glu Gly Leu Trp Leu Pro Gln Leu His Val Gly Asp Trp Leu Val Phe
 370 375 380

Asp Asn Met Gly Ala Tyr Thr Val Gly Met Gly Ser Pro Phe Trp Gly
 385 390 395 400

Thr Gln Ala Cys His Ile Thr Tyr Ala Met Ser Arg Val Ala Trp Glu
 405 410 415

Ala Leu Arg Arg Gln Leu Met Ala Ala Glu Gln Glu Asp Asp Val Glu
 420 425 430

Gly Val Cys Lys Pro Leu Ser Cys Gly Trp Glu Ile Thr Asp Thr Leu
 435 440 445

Cys Val Gly Pro Val Phe Thr Pro Ala Ser Ile Met
 450 455 460

<210> 12
 <211> 1443
 <212> DNA
 <213> Human

<400> 12
 atggctggct acctgagtga atcggacttt gtgatggtgg aggagggert cagtaccoga 60
 gacctgctga aggaactcac tctgggggac tcacaggcca ccacggacga ggtagctgcc 120
 ttctcgtgg ctgacctggg tgccatagtg aggaagcact tttgctttct gaagtgcctg 180
 ccacgagtcg ggcctttta tgctgtcaag tgcaacagea gccaggtgt gctgaaggtt 240
 ctggcccagc tggggctggg ctttagctgt gccacaagg cagagatgga gttggtccag 300
 catattgaa tccctgccag taagatcacc tggccaacc cctgtaagca aattgcacag 360
 atcaaatacg ctgccaaqca tgggatccag ctgctgagct ttgacaatga gatggagctg 420
 gcaaaggtgg taaagagcca ccccagrgcc aagatggttc tgtgcatrgc taccgatgac 480
 tcccactccc tgagctgctt ggcctaaag tttggagtgt cactgaaac ctgcagacac 540
 ctgcttgaaa atgogaqaa gcaccatgtg gaggtggtgg gtgtgagttt tcacattggc 600
 agtggctgtc ctgacctca ggcctatgct cagtcacatg cagacgcccg gctcgtgttt 660
 gaaatgggca cegagctggg tcacaagatg cacgttctgg accttgggtgg tgcttccct 720

ggcacagaag gggccaaagt gagattttaa gagattgctt ccgtgatcaa ctcagccttg 780
 gacctgtact tcccagaggg ctgtggcgtg gacatctttg ctgagctggg gcgctactac 840
 ytgacctcgg ccttcactgt ggcagtcagc atcattgccca agaaggaggt tctgctagac 900
 cagcctggca gggaggcccc actaccacc cctcacattg ctacttgtgc tgcctctgaa 960
 cctccccctc ctcgagagga aaatggttcc acctccaaga ccacctgtga ccaccttgat 1020
 gaggcgctgt atgggatctt caactcagtc ctgtttgaca acatctgccc taccctccatc 1080
 ctgcagaaga aaccatccac ggagcagccc ctgtacagca gcagcctgtg gggccccggc 1140
 gttgatggct gtgattgctt ggctgagggc ctgtggctgc cgcaactaca cgtaggggac 1200
 tggctggctt ttgacaacat gggcgccctac actgtgggca tgggttcccc cttttggggg 1260
 acccaggcct gccacatcac ctatgccatg tcccgggtgg cctgggaagc gctgcgaagg 1320
 cagctgatgg ctgcagaaca ggaggatgac gtggaggggt tgtgcaagcc tctgtcctgc 1380
 ggctgggaga tcacagacac cctgtgcgtg ggcctgtct tcaccccagc gagcatcatg 1440
 tga 1443

<210> 13
 <211> 480
 <212> PRT
 <213> Human

<400> 13

Met Ala Gly Tyr Leu Ser Glu Ser Asp Phe Val Met Val Glu Gly Gly
1 5 10 15

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

Ala Thr Thr Asp Glu Val Ala Ala Phe Phe Val Ala Asp Leu Gly Ala
35 40 45

Ile Val Arg Lys His Phe Cys Phe Leu Lys Cys Leu Pro Arg Val Arg
50 55 60

Pro Phe Tyr Ala Val Lys Cys Asn Ser Ser Pro Gly Val Leu Lys Val
65 70 75 80

Leu Ala Gln Leu Gly Leu Gly Phe Ser Cys Ala Asn Lys Ala Glu Met
85 90 95

Glu Leu Val Gln His Ile Gly Ile Pro Ala Ser Lys Ile Ile Cys Ala
100 105 110

Asn Pro Cys Lys Gln Ile Ala Gln Ile Lys Tyr Ala Ala Lys His Gly
 115 120 125

Ile Gln Leu Leu Ser Phe Asp Asn Glu Met Glu Leu Ala Lys Val Val
 130 135 140

Lys Ser His Pro Ser Ala Lys Met Val Leu Cys Ile Ala Thr Asp Asp
 145 150 155 160

Ser His Ser Leu Ser Cys Leu Ser Leu Lys Phe Gly Val Ser Leu Lys
 165 170 175

Ser Cys Arg His Leu Leu Glu Asn Ala Lys Lys His His Val Glu Val
 180 185 190

Val Gly Val Ser Phe His Ile Gly Ser Gly Cys Pro Asp Pro Gln Ala
 195 200 205

Tyr Ala Gln Ser Ile Ala Asp Ala Arg Leu Val Phe Glu Met Gly Thr
 210 215 220

Glu Leu Gly His Lys Met His Val Leu Asp Leu Gly Gly Gly Phe Pro
 225 230 235 240

Gly Thr Glu Gly Ala Lys Val Arg Phe Glu Glu Ile Ala Ser Val Ile
 245 250 255

Asn Ser Ala Leu Asp Leu Tyr Phe Pro Glu Gly Cys Gly Val Asp Ile
 260 265 270

Phe Ala Glu Leu Gly Arg Tyr Tyr Val Thr Ser Ala Phe Thr Val Ala
 275 280 285

Val Ser Ile Ile Ala Lys Lys Glu Val Leu Leu Asp Gln Pro Gly Arg
 290 295 300

Glu Ala Pro Leu Pro Pro Pro His Ile Ala Thr Cys Ala Ala Ser Glu
 305 310 315 320

Pro Ser Pro Pro Ala Glu Glu Asn Gly Ser Thr Ser Lys Thr Ile Val
 325 330 335

Tyr His Leu Asp Glu Gly Val Tyr Gly Ile Phe Asn Ser Val Leu Phe
 340 345 350

Asp Asn Ile Cys Pro Thr Pro Ile Leu Gln Lys Lys Pro Ser Thr Glu
 355 360 365

Gln Pro Leu Tyr Ser Ser Ser Leu Trp Gly Pro Ala Val Asp Gly Cys
 370 375 380

Asp Cys Val Ala Glu Gly Leu Trp Leu Pro Gln Leu His Val Gly Asp
 385 390 395 400

Trp Leu Val Phe Asp Asn Met Gly Ala Tyr Thr Val Gly Met Gly Ser
 405 410 415

Pro Phe Trp Gly Thr Gln Ala Cys His Ile Thr Tyr Ala Met Ser Arg
 420 425 430

Val Ala Trp Glu Ala Leu Arg Arg Gln Leu Met Ala Ala Glu Gln Glu
 435 440 445

Asp Asp Val Glu Gly Val Cys Lys Pro Leu Ser Cys Gly Trp Glu Ile
 450 455 460

Thr Asp Thr Leu Cys Val Gly Pro Val Phe Thr Pro Ala Ser Ile Met
 465 470 475 480

<210> 14
 <211> 1089
 <212> DNA
 <213> Human

<400> 14
 atggetggct acctgagtga atcggacttt gtgatggtgg aggagggctt cagtaccgga 60
 gacctgctga aggaactcac tctggggggc tcacaggcca ccacggacga ggtagctgcc 120
 ttcttcgtgg ctgacctggg tgccatagtg aggaagcact tttgctttct gaagtgcctg 180
 coaegagtcc ggccttttta tgcgtcctcaag tgcaacagca gcccaggtgt getgaagggt 240
 ctggcccagc tggggctggg ctttagctgt gccacaagg cagagatgga gtttgtccag 300
 catattggaa tccttgccag taagatcctc tgcgccaacc cctgtaagca aattgcacag 360
 atcaaatatg ctgccaaagca tgggatccag ctgctgagct ttgacaatga gatggagctg 420
 gcaaagggtg taaagagcca ccccagtgcc aagatggttc tgtgcattgc taccgatgac 480
 tcccactccc tgagctgctt ggcctaaag tttggagtgt cactgaaatc ctgcagacac 540
 ctgcttgaaa atgcgaagaa gcaccatgtg gaggtgggtg gtgtgagttt tcacattggc 600
 agtggetgtc ctgacctca ggcctatgct cagtccatcg cagacgcccg gctcgtgttt 660

gaaatgggca cccagctggg tcacaagatg cagcttctgg accttgggg tggcttccct 720
 ggcacagaag gggccaaagt gagattttaa gagattgctt ccgtgatcaa ctcagccttg 780
 gacctgtact tcccagaggg ctgtggcgtg gacatctttg ctgagctggg gcgctactac 840
 gtgacctcgg ccttcaactgt ggcagtcagc atcattgcca agaaggoggt tctgctagac 900
 cagcctggca gggaggagga aaatggttc acctcoaaga ccatcgtgta ccaccttgat 960
 gaggcctgt atgggatctt caactcagtc ctgtttgaca acatctgccc taccctcctc 1020
 ctgcagaagt ctaagaacca ctcacctgc tacatgtctc tagagtccat tcatttcatt 1080
 gccgtgtag 1089

<210> 15
 <211> 362
 <212> PRT
 <213> Human

<400> 15

Met Ala Gly Tyr Leu Ser Glu Ser Asp Phe Val Met Val Glu Glu Gly
1 5 10 15

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

Ala Thr Thr Asp Glu Val Ala Ala Phe Phe Val Ala Asp Leu Gly Ala
35 40 45

Ile Val Arg Lys His Phe Cys Phe Leu Lys Cys Leu Pro Arg Val Arg
50 55 60

Pro Phe Tyr Ala Val Lys Cys Asn Ser Ser Pro Gly Val Leu Lys Val
65 70 75 80

Leu Ala Gln Leu Gly Leu Gly Phe Ser Cys Ala Asn Lys Ala Glu Met
85 90 95

Glu Leu Val Gln His Ile Gly Ile Pro Ala Ser Lys Ile Ile Cys Ala
100 105 110

Asn Pro Cys Lys Gln Ile Ala Gln Ile Lys Tyr Ala Ala Lys His Gly
115 120 125

Ile Gln Leu Leu Ser Phe Asp Asn Glu Met Glu Leu Ala Lys Val Val
130 135 140

Lys Ser His Pro Ser Ala Lys Met Val Leu Cys Ile Ala Thr Asp Asp

atggctggct acctgagtga atcggacttt gtgatggtgg aggagggctt cagtacccega 60
 gacctgctga aggaactcac tctggggggc tcacaggcca ccacggacga ggtagctgcc 120
 ttcttcgtgg ctgacctggg tgccatagtg aggaagcact ttgtcttctt gaagtgcctg 180
 ccacgagtcc ggccttttta tgctgtcaag tgcacacgca gccacaggtg gctgaaggtt 240
 ctggcccagc tggggctggg ctttagctgt gccacaagg cagagatgga gttggtccag 300
 catattggaa tccctgccag taagatcacc tgcgccaacc cctgtaagca aattgcacag 360
 atcaaatatg ctgccaaagca tgggatccag ctgctgagct ttgacaatga gatggagctg 420
 gcaaaaggtg taaagagcca cccagtgcc aagtttgtcc agcagagggg cactgcgtgt 480
 ctcatcagga tggttctgtg cattgctacc gatgactccc actccctgag ctgctgagc 540
 ctaaagtctg gagtgtcact gaaatcctgc agacacctgc ttgaaaatgc gaagaagcac 600
 catgtggagg tgggtgggtg gaggttttcac attggcagtg gctgtccrta ccctcaggcc 660
 tatgtcaggt ccatcgcaga cgcctggctc gtgtttgaaa tgggcaccga gctgggtcac 720
 aagatgcacg ttctggacct tgggtgggtg tccctggca cagaaggggc caaagtgaga 780
 tttgaagaga ttgcttccgt gatcaactca gccttgacc tgtacttccc agagggtgt 840
 ggcgtggaca tctttgctga gctggggcgc tactacgtga cctcggcctt cactgtggca 900
 gtcagcatca ttgccaaagaa ggaggttctg ctgaccagc ctggcagga ggaggaaaat 960
 ggttccacct ccaagaccat cgtgtaccac cttgatgagg gcgtgtatgg gatcttcaac 1020
 tcagtctgt ttgacaacat ctgcctacc cccatcctgc agaagtctaa gaaccactca 1080
 ccctgtaca tgtctctaga gtccattcat ttcattgccg tgtag 1125

<210> 17
 <211> 374
 <212> PRT
 <213> Ruman

<400> 17

Met Ala Gly Tyr Leu Ser Glu Ser Asp Phe Val Met Val Glu Glu Gly
1 5 10 15

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

Ala Thr Thr Asp Glu Val Ala Ala Phe Phe Val Ala Asp Leu Gly Ala
35 40 45

Ile Val Arg Lys His Phe Cys Phe Leu Lys Cys Leu Pro Arg Val Arg
50 55 60

Pro Phe Tyr Ala Val Lys Cys Asn Ser Ser Pro Gly Val Leu Lys Val
 65 70 75 80

Leu Ala Gln Leu Gly Leu Gly Phe Ser Cys Ala Asn Lys Ala Glu Met
 85 90 95

Glu Leu Val Gln His Ile Gly Ile Pro Ala Ser Lys Ile Ile Cys Ala
 100 105 110

Asn Pro Cys Lys Gln Ile Ala Gln Ile Lys Tyr Ala Ala Lys His Gly
 115 120 125

Ile Gln Leu Leu Ser Phe Asp Asn Glu Met Glu Leu Ala Lys Val Val
 130 135 140

Lys Ser His Pro Ser Ala Lys Phe Val Gln Gln Arg Gly Thr Ala Cys
 145 150 155 160

Leu Ile Arg Met Val Leu Cys Ile Ala Thr Asp Asp Ser His Ser Leu
 165 170 175

Ser Cys Leu Ser Leu Lys Phe Gly Val Ser Leu Lys Ser Cys Arg His
 180 185 190

Leu Leu Glu Asn Ala Lys Lys His His Val Glu Val Val Gly Val Ser
 195 200 205

Phe His Ile Gly Ser Gly Cys Pro Asp Pro Gln Ala Tyr Ala Gln Ser
 210 215 220

Ile Ala Asp Ala Arg Leu Val Phe Glu Met Gly Thr Glu Leu Gly His
 225 230 235 240

Lys Met His Val Leu Asp Leu Gly Gly Gly Phe Pro Gly Thr Glu Gly
 245 250 255

Ala Lys Val Arg Phe Glu Glu Ile Ala Ser Val Ile Asn Ser Ala Leu
 260 265 270

Asp Leu Tyr Phe Pro Glu Gly Cys Gly Val Asp Ile Phe Ala Glu Leu
 275 280 285

Gly Arg Tyr Tyr Val Thr Ser Ala Phe Thr Val Ala Val Ser Ile Ile
 290 295 300

Ala Lys Lys Glu Val Leu Leu Asp Gln Pro Gly Arg Glu Glu Glu Asn
 305 310 315 320

Gly Ser Thr Ser Lys Thr Ile Val Tyr His Leu Asp Glu Gly Val Tyr
 325 330 335

Gly Ile Phe Asn Ser Val Leu Phe Asp Asn Ile Cys Pro Thr Pro Ile
 340 345 350

Leu Gln Lys Ser Lys Asn His Ser Pro Cys Tyr Met Ser Leu Glu Ser
 355 360 365

Ile His Phe Ile Ala Val
 370

<210> 18
 <211> 926
 <212> DNA
 <213> Human

<400> 18
 atggctggct accTgagtga atcggacttt gtgatggtgg aggagggctt cagtaccoga 60
 gacctgctga aggaactcac tctgggggcc tcacaggcca ccacggacga ggtagctgcc 120
 ttcttcgtgg ctgacctggg tgccatagtg aggaagcact cctgctttct gaagtgcctg 180
 ccacgagtc ccgccctttta tgctgtcaag tgcaacagca gccacaggtgt gctgaaggtt 240
 ctggcccagc tggggctggg ctttagctgt gccacaagg atggttctgt gcattgctac 300
 cgatgaactc cactccctga gctgcccag cccaagttt ggagtgtcac tgaactcctg 360
 cagacacctg cttgaaaatg cgaagaagca ccctgtggag gtggtgggtg tgagttttca 420
 cattggcagt ggctgtcctg accctcaggc ctatgctcag tccatcgcag acgcccggct 480
 cgtgtttgaa atgggcccgc agctgggtca caagatgcac gttctggacc ttggtgggtg 540
 cttccctggc acagaagggg ccaaagtgag atttgaagag attgcttccg tgatcaactc 600
 agccttggac ctgtacttcc cagagggctg tggcgtggac atctttgctg agctggggcg 660
 ctactacgtg acctggcctt tcactgtggc agtcagcacc attgccaaga aggaggttct 720
 gctagaccag cctggcaggg aggaggaaaa tggttccacc tccaagacca tcgtgtacca 780
 ccttgatgag ggcgtgtatg ggatcttcaa ctcagtcctg ttgacaaca tctgccctac 840
 ccccatcctg cagaagtera agaaccactc acctgctac atgtctctag agtccattca 900
 ttccattgcc gtgtagcgcct cttttg 926

<210> 19
 <211> 298

<212> PRT
<213> Human

<400> 19

Met Ala Gly Tyr Leu Ser Glu Ser Asp Phe Val Met Val Glu Glu Gly
1 5 10 15

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

Ala Thr Thr Asp Glu Val Ala Ala Phe Phe Val Ala Asp Leu Gly Ala
35 40 45

Ile Val Arg Lys His Phe Cys Phe Leu Lys Cys Leu Pro Arg Val Arg
50 55 60

Pro Phe Tyr Ala Val Lys Cys Asn Ser Ser Pro Gly Val Leu Lys Val
65 70 75 80

Leu Ala Gln Leu Gly Leu Gly Phe Ser Cys Ala Asn Lys Asp Gly Ser
85 90 95

Val His Cys Tyr Arg Leu Pro Leu Pro Glu Leu Pro Glu Pro Lys Val
100 105 110

Trp Ser Val Thr Glu Ile Leu Gln Thr Pro Ala Lys Cys Glu Glu Ala
115 120 125

Pro Cys Gly Gly Gly Gly Cys Glu Phe Ser His Trp Gln Trp Leu Ser
130 135 140

Pro Ser Gly Leu Cys Ser Val His Arg Arg Arg Pro Ala Arg Val Asn
145 150 155 160

Gly His Arg Ala Gly Ser Gln Asp Ala Arg Ser Gly Pro Trp Trp Trp
165 170 175

Leu Pro Trp His Arg Arg Gly Gln Ser Glu Ile Arg Asp Cys Phe Arg
180 185 190

Asp Gln Leu Ser Leu Gly Pro Val Leu Pro Arg Gly Leu Trp Arg Gly
195 200 205

His Leu Cys Ala Gly Ala Leu Leu Arg Asp Leu Gly Leu His Cys Gly
210 215 220

Ser Gln His His Cys Gln Glu Gly Gly Ser Ala Arg Pro Ala Trp Gln
225 230 235 240

Gly Gly Gly Lys Trp Phe His Leu Gln Asp His Arg Val Pro Pro Gly
245 250 255

Arg Val Trp Asp Leu Gln Leu Ser Pro Val Gln His Leu Pro Tyr Pro
260 265 270

His Pro Ala Glu Val Glu Pro Leu Thr Leu Leu His Val Ser Arg Val
275 280 285

His Ser Phe His Cys Arg Val Ala Leu Phe
290 295

<210> 20

<211> 615

<212> DNA

<213> Human

<400> 20

atggctggct acctgagtg atcggacttt gtgatgggtg aggagggctt cagtacccga 60
gacctgctga aggaactcac tctgggggcc tcacaggcca ccacggacga ggtagctgcc 120
ttctctgtgg ctgacctggg tgccatagtg aggaagcact ttgtcttct gaagtgaactg 180
ccacgagtcg gccctttta tgctgtcaag tgcaacagca gccaggtgt gctgaaggtt 240
ctggcccage tggggctggg ctttagctgt gccacaaga ttgcttccgt gatcaactca 300
gccttggacc tgtacttccc agagggtgt ggcgtggaca tctttgetga gotggggcgc 360
tactactgta cctcggcctt cactgtggca gtcagcatca tggccaagaa ggaggttctg 420
ctagaccagc ctggcagggg ggaggaaaat ggttccacct ccaagaccat cgtgtaccac 480
cttgatgagg gcgtgtatgg gatcttcaac tcagtcctgt ttgacaacat ctgccctacc 540
cccatcctgc agaagtcraa gaaccactca cctgctaca tgtctctaga gtocattcat 600
ttcattgccg tgtag 615

<210> 21

<211> 204

<212> PRT

<213> Human

<400> 21

Met Ala Gly Tyr Leu Ser Glu Ser Asp Phe Val Met Val Glu Glu Gly
1 5 10 15

Phe Ser Thr Arg Asp Leu Leu Lys Glu Leu Thr Leu Gly Ala Ser Gln

20 25 30

Ala Thr Thr Asp Glu Val Ala Ala Phe Phe Val Ala Asp Leu Gly Ala
35 40 45

Ile Val Arg Lys His Phe Cys Phe Leu Lys Cys Leu Pro Arg Val Arg
50 55 60

Pro Phe Tyr Ala Val Lys Cys Asn Ser Ser Pro Gly Val Leu Lys Val
65 70 75 80

Leu Ala Gln Leu Gly Leu Gly Phe Ser Cys Ala Asn Lys Ile Ala Ser
85 90 95

Val Ile Asn Ser Ala Leu Asp Leu Tyr Phe Pro Glu Gly Cys Gly Val
100 105 110

Asp Ile Phe Ala Glu Leu Gly Arg Tyr Tyr Val Thr Ser Ala Phe Thr
115 120 125

Val Ala Val Ser Ile Ile Ala Lys Lys Glu Val Leu Leu Asp Gln Pro
130 135 140

Gly Arg Glu Glu Glu Asn Gly Ser Thr Ser Lys Thr Ile Val Tyr His
145 150 155 160

Leu Asp Glu Gly Val Tyr Gly Ile Phe Asn Ser Val Leu Phe Asp Asn
165 170 175

Ile Cys Pro Thr Pro Ile Leu Gln Lys Ser Lys Asn His Ser Pro Cys
180 185 190

Tyr Met Ser Leu Glu Ser Ile His Phe Ile Ala Val
195 200

<210> 22
 <211> 617
 <212> DNA
 <213> Human

<400> 22
 atggctggct acctgagtga atcggacttt gtgatggtgg aggagggcct cagtaccgga 60
 gacctgetga aggaactcac tctgggggccc tcacaggcca ccacgttttc acattggcag 120
 tggctgtcct gaccctcagg cctatgtca gtccatgca gacgcccggc tcgtgtttga 180
 aatgggcacc gagctgggtc acaagatgca cgttetggac cttgggtggtg gcttccctgg 240

cacagaaggg gccaaagtga gatttgaaga gattgcttcc gtgatcaact cagccttggg 300
 cctgtacttc ccagagggct gtggcgtgga catctttgct gagctggggc gctactacgt 360
 gacctgggcc ttoactgtgg cagtcagcat cattgccaag aaggaggttc tgctagacca 420
 gcctggcagg gaggaggaaa atggttccac ctccaagacc atcgtgtacc accttgatga 480
 gggcgtgtat gggatcttca actcagtcct gtttgacaac atctgcocta cccccatcct 540
 gcagaagtct aagaaccact caccctgcta catgtctcta gagtcattc atttcattgc 600
 cgtgtagcgc tcttttg 617

<210> 23
 <211> 197
 <212> PRT
 <213> Human

<400> 23

Met Ala Gly Tyr Leu Ser Glu Ser Asp Phe Val Met Val Glu Glu Gly
1 5 10 15

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

Ala Thr Thr Phe Ser His Trp Gln Trp Leu Ser Pro Ser Gly Leu Cys
35 40 45

Ser Val His Arg Arg Arg Pro Ala Arg Val Asn Gly His Arg Ala Gly
50 55 60

Ser Gln Asp Ala Arg Ser Gly Pro Trp Trp Trp Leu Pro Trp His Arg
65 70 75 80

Arg Gly Gln Ser Glu Ile Arg Asp Cys Phe Arg Asp Gln Leu Ser Leu
85 90 95

Gly Pro Val Leu Pro Arg Gly Leu Trp Arg Gly His Leu Cys Ala Gly
100 105 110

Ala Leu Leu Arg Asp Leu Gly Leu His Cys Gly Ser Gln His His Cys
115 120 125

Gln Glu Gly Gly Ser Ala Arg Pro Ala Trp Gln Gly Gly Gly Lys Trp
130 135 140

Phe His Leu Gln Asp His Arg Val Pro Pro Gly Arg Val Trp Asp Leu
145 150 155 160

Gln Leu Ser Pro Val Gln His Leu Pro Tyr Pro His Pro Ala Glu Val
 165 170 175

Glu Pro Leu Thr Leu Leu His Val Ser Arg Val His Ser Phe His Cys
 180 185 190

Arg Val Ala Leu Phe
 195

<210> 24
 <211> 1131
 <212> DNA
 <213> Human

<400> 24
 atggetggc acctgagtga atcggacttc gtgatgggtg aggagggcct cagtaccocga 60
 gacctgctga aggaactcac tctgggggcc tcacaggcca ccacgaaact gccatetaac 120
 atctgctgaa tggacttgac gaggtagctg ccttcttctg ggctgaccrg ggtgccatag 180
 tgaggaagca cttttgcttt ctgaagtgcc tgccacgagt cgggcccttt tatgetgtca 240
 agtgcaacag cagcccaggt gtgetgaagg ttctggocca gctggggctg ggccttagct 300
 gtgccacaaa ggcagagatg gagttggccc agcatattgg aatccctgcc agtaagatca 360
 tctgcgccaa cccctgtaag caaattgcac agatcaata tgctgccaag catgggatcc 420
 agctgctgag ctttgacaat gagatggagc tggcaaaggc ggtaaagagc caccocagtg 480
 ccaagatggt tctgtgcatt getaccgatg actccactc cctgagctgc ctgagcctaa 540
 agtttgaggt gtcactgaaa tcttgcagac acctgcttga aaatgggaag aagcaccatg 600
 tggaggtggt ggggtgtgagc ttccacattg gcagtggctg tcttgaccct caggccatg 660
 ctcaqtccat cgcagacgcc cggctcgtgt ttgaaatggg caccgagctg ggtocacaaga 720
 tgcacgttct ggacccttggg ggtggcttcc ctggcacaga aggggccaaa gtagatattg 780
 aagagattgc tccctgatac aactcagcct tggacctgta cttcccagag gctgtggtcg 840
 tggacatctt tgctgagctg gggcgctact acgtgacctc ggccttcacl gtggcagtca 900
 gcatcattgc caagaaggag gttctgctag accagcctgg cagggaggag gaaaatggtt 960
 ccacctccaa gaccatcgtg taccaccttg atgagggcgt gtaggggata ttcaactcag 1020
 tctgttttga caacatctgc cctacccccca tcttgcagaa gtctaagaac cactcacctt 1080
 gctacatgto cctagagtcc attcatttca ttgcoctgta ggcctctttt g 1131

<210> 25
 <211> 359
 <212> PRT

<213> Human

<400> 25

Met Ala Gly Tyr Leu Ser Glu Ser Asp Phe Val Met Val Glu Glu Gly
 1 5 10 15

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

Ala Thr Thr Lys Leu Pro Ser Asn Ile Cys Met Asp Leu Thr Arg Leu
 35 40 45

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

Ala Cys His Glu Ser Gly Pro Phe Met Leu Ser Ser Ala Thr Ala Ala
 65 70 75 80

Gln Val Cys Arg Phe Trp Pro Ser Trp Gly Trp Ala Leu Ala Val Pro
 85 90 95

Thr Arg Gln Arg Trp Ser Trp Ser Ser Ile Leu Glu Ser Leu Pro Val
 100 105 110

Arg Ser Ser Ala Pro Thr Pro Val Ser Lys Leu His Arg Ser Asn Met
 115 120 125

Leu Pro Ser Met Gly Ser Ser Cys Ala Leu Thr Met Arg Trp Ser Trp
 130 135 140

Gln Arg Trp Arg Ala Thr Pro Val Pro Arg Trp Phe Cys Ala Leu Leu
 145 150 155 160

Pro Met Thr Pro Thr Pro Ala Ala Ala Ser Leu Glu Cys His Asn Pro
 165 170 175

Ala Asp Thr Cys Leu Lys Met Arg Arg Ser Thr Met Trp Arg Trp Trp
 180 185 190

Val Val Phe Thr Leu Ala Val Ala Val Leu Thr Leu Arg Pro Met Leu
 195 200 205

Ser Pro Ser Gln Thr Pro Gly Ser Cys Leu Lys Trp Ala Pro Ser Trp
 210 215 220

Val Thr Arg Cys Thr Phe Trp Thr Leu Val Val Ala Ser Leu Ala Gln

tttgacaatg agatggagct ggcaaaggtg gtaaagagcc acccagtgcc caag 174

<210> 30
 <211> 135
 <212> DNA
 <213> Human

<400> 30
 gatggttctg tgcattgcta ccgatgactc ccactccctg agctgctga gcctaagtt 60
 tggagtgtca ctgaaatcct gcagacacct gcttgaatat gcgaagaagc accatgtgga 120
 ggtggtgggt gtgag 135

<210> 31
 <211> 166
 <212> DNA
 <213> Human

<400> 31
 ttttcacatt ggcagtggct gtcctgacct tcaggcctat gctcagtcga tcgcagacgc 60
 ccggctcgtg tttgaaatgg gcaccgagct gggtcacaag atgcacgttc tggaccttgg 120
 tggtgcttc cctggcacag aaggggcca aagtgagattt gaagag 166

<210> 32
 <211> 163
 <212> DNA
 <213> Human

<400> 32
 attgcttccg tgatcaactc agccttggac ctgtacttcc cagagggctg tggcgtggac 60
 atctttgctg agctggggcg ctactaagtg acctcggcct tcactgtggc agtcagcacc 120
 attgccaaga aggaggttct gctagaccag cctggcaggg agg 163

<210> 33
 <211> 113
 <212> DNA
 <213> Human

<400> 33
 aggaaaatgg ttccacctcc aagaccatcg tgtaccacct tgatgagggc gtgtatggga 60
 tcttcaactc agtctctgtt gacaacatct gccctacccc catcctgcag aag 113

<210> 34
 <211> 70
 <212> DNA
 <213> Human

<400> 34
 tctaagaacc actcaccctg ctacatgtct ctagagtcca ttcatttcat tgcogtgtag 60

cgctcttttg 70

<210> 35
 <211> 215
 <212> DNA
 <213> Human

<400> 35
 aaaccatcca cggagcagcc cctgtacagc agcagcctgt ggggcccggc ggttgatggc 60
 tgtgatctgc tggctgaggg cctgtggctg ccgcaactac acgtagggga ctggctgttc 120
 tttgacaaca tgggcgccta cactgtgggc atgggttccc ccttttgggg gacccagggc 180
 tgcacatca cctatgcat gtcccgggtg gcctg 215

<210> 36
 <211> 583
 <212> DNA
 <213> Human

<400> 36
 ggaagcgctg cgaaggcagc tgatggctgc agaacaggag gatgacgtgg aggggtgtgtg 60
 caagcctctg tcttgcggct gggagatcac agacaccctg tgcgtgggcc ctgtcttcac 120
 cccagcgagc atcatgtgag tgggcctcgt tccccccgga gaatcccagc ggggcctcaq 180
 agatgcctct gggagagggtg gggaaagtgg caggcaaggg tacccttggc caggactctg 240
 gtcccaccc tgcaccccc gcgctccacc tgcagtgttt ctgccctgta aataggacca 300
 gtcttacact cgctgtagtt caagtatgca acataaetcc tgttcccttc agctgtgtct 360
 gcctcctctg cagtgcagg ggccctggta gccagggtgtg ggggtgttct tgggtctcc 420
 tttgtctcc tccccactt tgtaaatata atgcaataa ataaatattt aggtttttaa 480
 aaactgcagc ggaatctggc agtttgattc acaaagcagc ctgggctagg cctggggcag 540
 gatttcccca tcactcactg atgagccac accctctgct tta 583

6. Brief Description of the Drawings

Figure 1 - The nucleotide sequence of ODC-p is shown.

Figure 1a- The amino acid sequence of ODC-p is shown.

Figure 2 - The nucleotide sequence of SV2 is shown.

Figure 2a- The amino acid sequence of SV2 is shown.

Figure 3 - The nucleotide sequence of SV3 is shown.

Figure 3a- The amino acid sequence of SV3 is shown.

Figure 4 - The nucleotide sequence of SV4 is shown.

Figure 4a- The amino acid sequence of SV4 is shown.

Figure 5 - The nucleotide sequence of SV5 is shown.

Figure 5a- The amino acid sequence of SV5 is shown.

Figure 6 - The nucleotide sequence of SV6 is shown.

Figure 6a- The amino acid sequence of SV6 is shown.

Figure 7 - The nucleotide sequence of SV7 is shown.

Figure 7a- The amino acid sequence of SV7 is shown.

Figure 8 - The nucleotide sequence of SV8 is shown.

Figure 8a- The amino acid sequence of SV8 is shown.

Figure 9- The nucleotide sequences of exons 1-11 are shown.

【 図 2 】

FIG.2

SV2:

atggctggctaccigaggaatcggacttggatggtggaggaggggctcagfacccgagacctgctgaaggaaactcactctgggggacctcaca
ggccaccacggacgaggtagctgccttctcgtggctgacctgggtgccatagtgaggaaagcactttgcttctgaaagtgcctgccacgagctccg
gcccmtatgctgcaagtgcaacagcagcccaaggctgctgaaggctctgcccagctggggctgggctmaggctgtccaacaaggcagagat
ggaagtggctcagcatatggaaacccctgccagtagatcactctgpcacaacccctglaagcaaatgcacagatcaaalatgctccaagcatgg
gatccagctgctgagcttggacaaigagatggagctggcaaaaggtgtaaaagagccaccaagtgccaagatggctctgtgcaatgctaccgatga
ctcccactccctgagctgectgagcctuaagttggagtgctactgaatccctgcagacacctgcttgaatgcgaagaagcaccatgtggagggt
gggtgggtgtagtttcacatggcagtggtgctgacctcagccctatgctcagtcctcgcagacgcccggctcgtgttgaatgggcacc
gagctgggtcaagaatgcacgctgacccctgggtggtggctcccggcaagaaggggccaaagtgagatggaagagattgcttccgtgac
aactcagccttgaccigtactccagagggctgtggcgtggacatcttctgagctggggcgctactactgacccctggccttactgtggcag
tcagcatcattccaagaaggaggctctgtagaccagcctggcaggaggcccactaccacccctcacatgctactgtgctcctctgaac
ctcctccctctgcagaggaaaatggctccactccaagcactgctgaccacctgatgaggcctgctatgggacttcaactcagctccgtgac
aacatctgcccctacccctcctgcagaagaaccatccacggagcagccctgtacagcagcagccctgtggggcccggcgtgtagctgtg
atgctggtgctgaggccctgtgctgcccgaactacacgtaggggactggctggtcttggacaacatgggcgacctacactgtggcctggttcc
cccttgggggaccagcctgcccacatcaccctatgcatgctccgggtggcctgggaagcctgctgcaagcagctgtagctgcaaacag
gagatgacgtggagggtgtgcaagcctctgctctgctggctggagatcacagaccctgtgctggtggccctgtcttaccctcagcagca
tcatgtga

(Seq. ID. No: 12)

FIG.2a

MAGYLSSEDFVMVEEGFSTRDLLKELTLGASQATTDEVAFFVADLGAIVRKHFCFLKCLPR
VRPFYAVKCNSSPGVLKVLALQLGLGFSCANKAEMELVQHIGIPASKHCANPCKQIAQIKYAA
KHGIQLLSFDNEMELAKVVKSHPSAKMVLCIA TDDSHLSLCLSLKFGVSLKSCRHLENAKK
HHVEVVGVSFHHIGSGCPDFQA YAQSIADARLVFEMGTTELGHKMHVLDLGGGFPGTEGAKV
RFEELASVINSALDLYFPEGCGVDIFAELGRYYVTSFTVAVSIKAKKEVLLDQPGREAPIPPP
HIATCAASEPSPAENGSTSKTIVYHLDEGVYGFNSVLFDNICPTPILOKQPSTEQPLYSSSL
WGPAVDGCDCAEGLWLPQLHVGDWLVFDNMGAYTVGMGSPFWGTQACHITYAMSRVA
WEALRRQLMAAEQEDDVEGVCKPLSCGWEITDILCVGPVETPASIM.

(Seq. ID. No: 13)

【 図 3 】

FIG.3

SV3:

atggctggctacctgagtgaaatcgactttgtgatggtgaggagggttcaatgaccgagacctgctgaaaggaaactcactctggggcctcaca
ggccaccacggacgaggtagctgcttctcctggtgctgacctgggtgccatagtgaggaagcacttttcttctgnaatgcttccacgagtcgg
gccccttattgctgcaagtgcacaagcagcccagggtgtgctgaagggttctggcccagctggggctgggtttagctgtgccaacaaggcagagat
ggagttgggtccagcatattggaatccctgccagtaagatcatctgcgccaacccctgtaagcaasitgcaagatcaaatatgctgccaagcatgg
gatccagctgctgagcttgacaatgagatggagctggcaagggtgtaaggaccacccaatgccaaagatggtctgtgcatgctaccgatga
ctcccactccctgagctgctgagcctaaagtgtgaggttctactgaaatcctgcagacacctgctgaaatgccaagaagcaccatgtgggt
gggtgggtgtgagtttcacattggcagtggtctgctgacctcagccctatgctcagtcctcagatgcccggctcgtgtttgaaatgggcacc
gagctgggtcacaagatgacattcggaccttgggtgggtgctcctcggcacaagaaggggccaagtgagattgaagagattgcttccgtgac
aaactcagccttggaccgtgtacttcccaggggctgtggctggacatcttctgagctggggcgtactactcgtgacctggccttctggtgag
tcagcatattgccaagaaggaggttctgctagaccagcctggcaggggagggaaatggttccacctcaagaccatcgtgtaaccacctgar
gaggcgtgtatgggacttcaactcagctctgttgacaacaactgcccctaccccctcctctgcagaagcttaagaaccactcaacctgctacatg
tctagagttcaattcattcattgctgtag

(Seq. ID. No: 14)

FIG.3a

MAGYLSSEDFVMVEEGFSTRDLLKELTLGASQATTDEVA AFFVADLGAIVRKHFCFLKCLPR
VRPFYAVKCNSSPGVLKVLQQLGLGFSCANKAEMELVQHIGIPASKIICANPCKQIAQIKYAA
KHGIQLLSFDNEMELAKVVKSHPSAKMVL CIA TDDSHSL SCLSL KFGVSLKSCRH LLENAKK
HHVEVVGVSFHIGSGCPDQAY AQSIADARLVFEMGT ELGHKMHVLDLGGGFPGTGAKV
RFEEIASVINSALDLYFPEGCGVDIFAE LGRYYVTS AFTVA VSIIAKKEVL LDQPGREENGST
SKTIVYHLDEGVYGFNSV LFDNICPTPILQSKNHSPCYMSLESIHFI AV.

(Seq. ID. No: 15)

【 図 4 】

FIG.4

SV4:

atggctggctactgagtaatcggacttggatggtggaggagggttcagtacccgagacctgctgaaaggaactcacctggggccacaca
 ggcaccacggacgaggtactgccccttctgctgctgaccgggtgccaatgtagggaagcacttttgcctgaaagtgcctgccacxagatccg
 gcccmtatgctgcaagtgaacagcagcccagggtgctgaaagggttcgcccagctggggctgggcttttagctgtgccaacaaggcagat
 ggagltggtccagcatattggaatccctgccagtaagatcctctgccaaccctgtaagcaaaftgcacagatcaaatatgctccangcatgg
 gatccagctgctgagcttggacaatgagatggagctggcaagggtgtaaaagaccaccccaagtccaagttgiccagcagaggggactgctg
 tctctatcagggaaggctctgctctaccgatgacccccctgagctgctgagcctaaagtggagtgactgaaatccgagacac
 ctgctgaaatgcaagaaagcaccatgctgaggtggtggtgtaagtgttccatggcagtgctgctgaccctcaggcctatgctcagtcca
 tgcagacgccggctcgtgttgaatggcaccgagctggtgcaagatgcacgtctgaccctgggtggtgcttccctggcacaagaagg
 gccaaagtgagattgaagaattgcttccgtgacaaactagccttggacctgacttccagaaggctgtggcgggacatcttgcagctgg
 ggcgctactacgtgacctggccttactgtggcagtcagcaicattgccaagaaggaggttctgtagaccagcctggcagggaggggaa
 tggctcacciccaagaccatcgtgtaccaccugaaggcgtgtagggatctcaacitaggctgttgacaacatctgccctacccccatcct
 gcagaagctaaagaaccctaccctgctacagctctagagtcacacacattgctgtag
 (Seq. ID. No: 16)

FIG.4a

MAGYLSESDFVMVEEGFSTRDLLKELTLGASQATTDEVAFFVADLGAIVRKHFCLKCLPR
 VRPFYAVKCNSSPGVLK VLAQLGLGFSCANKAEMELVQHIGIPASKIICANPCKQIAQIKYAA
 KHGIQLLSFDNEMELAKVVKSHPSAKFVQQRGTACLIRMVLCIATDDSHSLSCLSLKFGVSL
 KSCRHLLENAKKHIVEVVGVSFHIGSGCPDPOAYAQSIADARLVFEMGTELGHKMHVLDL
 GGGFPGTEGAKVRFEEIASVINSALDLYFPEGCVDFIAELGRYYVTSFTVAVSHAKKEVLL
 DQPGREEENGSTSKTIVYHLDEGVYGFNSVLFDNICPTPIQSKNHSPCYMSLESIHFIIV.
 (Seq. ID. No: 17)

【 図 5 】

FIG.5

SV5:

atggctggctacctgagtgaaicggactttgfatggggaggaggcncagtaccgagacctgctgaaagaaicactctggggcctcaca
 ggccaccacggacgaggtagctgcccttcctggctgacctgggtgcatagtgaggagcactttgcttctgaagtgcctccacgagtcgg
 gccctttatgctgtcaagtgaacagcagcccaggctgctgaaggctcggccagctggggctgggctttagctgtgccaacaaggatggtct
 gtgcatgctaccgatgactcccactccctgagctgctgagcctaaggcttggagtgctacgaaatcctgcagacacctgctgaaaatgcgaa
 aagcaccatgtgagggtgtgggtgtgagtttccatggcagctggctgctgacccctaggcctatgctcagtcctcagpacgctcggcic
 gtgttgaatgggcaccgagctgggtcacaaagatgcacgtctggacctgggtgggtggtccctggccacagaaggggccaaaagtgagattgaa
 gagatgcttccgtgactcaactcagccctggacctgtactccagagggtggtggcgtggacatcttctgagctggggcctactacgtgacctc
 ggcttcaetgtgacagcagcaicattgccaaaggagggtctgtagaccagcctggcagggaggaggaaaatgttccacctccaagacc
 atcgtgtaccacctgatgagggtgtgtatgggacttcaactcagctcgtttgacaaatctgcccctaccctcctcagaaagtctaagaacca
 ctaccctgtctacatgctctagagtcctcattcattgcccgtgtatgctcctttt

(Seq. ID. No: 18)

FIG.5a

MAGYLSESDFVMVEEGFSTRDLLKELTLGASQATTDEVAFFVADLGAIVRKHFCFLKCLPR
 VRPFYA VKCNSSPGVLKVL AQLGLGFSCANKDGSVHCYR.LPLPELPEPKVWSVTEILQTPA.
 KCEEAPCGGGGCEFSHWQWLS.PSGLCSVHRRRPARV.NGHRAGSQDARSGPWWLPPWHR
 RGQSEI.RDCFRDQLSLGPVLPRLWRGHL.C.AGALLRDLGLHCGSQHHCQEGGSARPAWQG
 GKWFHLQDHRVPP..GRVWDLQLSPV.QHLPYPHPAEV.EPLTLLHVS RVHSFHCRVALF
 (Seq. ID. No: 19)

【図6】

FIG.6

SV6:

atggctggctacctgagtgaaatggacttggatgggaggaagggtcagracccgagacctgctgaaaggactcactctggggccctcaca
 ggccaccacggacgaggtagctgacctctctggctgacctgggtccatagtaggaaagcacttggcttctgaaagtccctgccacgagtcg
 gcccttatagtctcaagtgcacacagcagcccaggtgctgaaggctctggcccagctgggctggctttagctgtgccaacaagattgctcc
 gtgatcaactagccctggacctgacttcccaggggtgtggcgaggacaiccttctgagctggggcctactactgtgacctggccctcactgt
 ggcatcagcaltcctcacaagaaggaggtctgctagaccagctggcaggaggagaaaaggctccacctccaagacctcgtgtaccac
 ctgtagggcggtgtagggatctcaactcagctctgtagacaacatctgacctaccctcctgcagaagictaagaaccactcaccctgcta
 catgicctagagtcacatcattcattgcccgtgtag

(Seq. ID. No: 20)

FIG.6a

MAGYLSESDFVMVEEGFSTRDLLKELTLGASQATTDEVAFFVADLGAIVRKHFCFLKCLPR
 VRFYAVKCNSSPGVLKVLQGLGFSCANKIASVINSALDLYFPEGCGVDIFAEIAGRYYVTS
 AFTVAVSHAKKEVLLDQPGREEENGSTSKTIVYHLDEGVYGIENSVLFDNICPTPIILQSKNH
 SPCYMSLESIHFIAY.

(Seq. ID. No: 21)

【 図 7 】

FIG. 7

SV7:

atggciggctacctgagtgaaatcggactttgtaagggtggaggagggttcaglacccgagaccctgctgaaaggaaacttactctggggccctaca
 ggccaccacgtttcacatiggcagtggtctctcagccctcaggcctatgctcagtcctcgcagacgcccggctcgtgttgaatgggcaccg
 agctgggtcacaagaatgcacgttctggacctgggtgtggcttccctggcacagaaggggccaaagtgagatgaagagatgcttccgtgatca
 actcagcctggacctgtacttcccagaagggtgtggcgtggacatcttggctgagctggggcctactactgtacctggccctcactgtggcagt
 cagcactatgccaaagaaggagghrtgctagaccagccctggcaggaggaggaaaatggttccacctccaagaccatcgtgtaccacctgatg
 aggtcgtgtatgggacttcaactcagtcctgtttgacaacatctgccctaccctcctcctgcagaaatcagaaccactcaccctgctacatgtctc
 tagagtcattcattcattggcgtgtagcgcctttg
 (Seq. ID. No: 22)

FIG. 7a

MAGYLSSEDFVMVEEGFSTRDLLKELTLGASQATTFSHWQWLS.PSGLCSVHRRRPARV.NG
 HRAGSQDARSGPWWLFWHRRGQSELRDCFRDQLSLGPVLPRLWRGHL.C.AGALLRDLG
 LHCGSQHHCQEGGSARPAWQGGGKWFHLQDHRVPP.GRVWDLQLSPV.QHLPYPHPAEV.E
 PLTLHVSRVHSFHCRAVF
 (Seq. ID. No: 23)

【 図 8 】

FIG.8

SV8:

atggctggctacctgagtgaaacggactttgtaggtggaggaggcttcagtaaccgagacctgctgaagggaactracticggggcctcaca
 ggccaccacgaaactgccatcaacatcgtcgaatggactgacgaggtagctgcttcttctgggctgacctgggtgccatagtgagggaagcac
 ttgctttctgaaagtgcctggccacgagtcggccctttatgctgtca
 agtgcaacagcagcccagggtgctgaagggttctggcccagctggggctggggcttttagctgtgccaacaaggcagagatggaggtggccagca
 tattggaacctctgccagtaagatcaictggccaacctgtaagcaaatggcacagatcazaatgctgccaaageatgggatccagctgctgagc
 ttgacaatgagatggagctggcaagggtgtaagagccaccctgagcgaatggcttctgcatgctaccgatgactcccactcccctgagc
 tgcctgagccaaagtttggagtgctactgaaatcctgcagacacctgctgaaaatggcgaagaagcarrcatgtggaggtgggggtgagtttc
 acattggcagtgctgctgacctgaccctcaggcctatgctcagtcacgcagacgcccggctcgtgittgaaatgggcaaccgagctgggtcacaag
 atgcacgttctggaccttgggtggcttccctggcacagaaggggccaaagtgagattgaaagagattgcttccgtagcaactcagccttggacc
 gtacttcccagaggctgtggctggacatcttctgagctggggcgctactacgtgacctcggcctcactgtggcagtcagcatcattggcaa
 gaaggagggtctgtagaccgctggcaggaggagaaaatgggttccacctcaagaccatcgtgtacccttgatgaggcgtgtatggg
 atctcaactcagctgtttagacaacatcggcctaccctcctctgcagaagctaaagaccacaccctgctacatgctctagatgcccattcatt
 cattgccgtgtagcgtctttg
 (Seq. ID. No: 24)

FIG.8a

MAGYLSSEDFVMVEEGFSTRDLLKELTLGASQATTKLPSNIC.MDLTR.LPSSWLTWVP.GST
 FAF.SACHESGPFMLSSATAAQVC.RFWPSWGWALAVPTRQRWSWSSILESIPVRSSAPTPVS
 KLHRSNMLPSMGSSC.ALTMRWSWQRW.RATPVPRWFCALLPMTPTP.AA.A.SLECH.NPAD
 TCLKMRRSTMWRWWW.VFTLAVAVLTLRPMLSPSQTPGSCLKWAPSWVTRCTFWTLVVAS
 LAQKGPK.DLKRLP.STQPWTCTSQRVAVWTSLLSWGATT.PRPSLWQSASLPRRRFC.TSLA
 GRRKMVPPPRPSCITLMRACMGSSSTQSCLTTSALPPSCRSLRTHPATCL.SPFISLPSCALL
 (Seq. ID. No: 25)

【 図 9 】

FIG.9-1

Exon I:

TGTGTTGCATACTTTCTAAGGCGGGCGGCTGCAGCAGCGGCTCCATCCAGC
CCGTCAGCTCCTCCTGCAAGGCATGGCTGGCTACCTGAGTGAATCGGAC
TTTGTGATGGTGGAGGAGGGCTTCAGTACCCGAGACCTGCTGAAGGAAC
TCACTCTGGGGCCTCACAGGCCACCACG
(Seq. ID. No: 26)

Exon II:

AAACTGCCATCTAACATCTGCTGAATGGACTT
(Seq. ID. No: 27)

Exon III:

GACGAGGTAGCTGCCTTCTTCGTGGCTGACCTGGGTGCCATAGTGAGGA
AGCACTTTTGCTTTCTGAAGTGCCTGCCACGAGTCCGGCCCTTTTATGCT
GTCAAGTGCAACAGCAGCCCAGGTGTGCTGAAGGTTCTGGCCCAGCTGG
GGCTGGGCTTTAGCTGTGCCAACAAAG
(Seq. ID. No: 28)

Exon IV:

GCAGAGATGGAGTTGGTCCAGCATATTGGAATCCCTGCCAGTAAQATCA
TCTGCGCCAACCCCTGTAAGCAAATTGCACAGATCAAATATGCTGCCAA
GCATGGGATCCAGCTGCTGAGCTTTGACAATGAGATGGAGCTGGCAAAG
GTGGTAAAGAGCCACCCCAGTGCCAAG
(Seq. ID. No: 29)

Exon V:

GATGGTTCTGTGCATTGCTACCGATGACTCCCCTCCCTGAGCTGCCTGA
GCCTAAAGTTTGGAGTGTCACTGAAATCCTGCAGACACCTGCTTGAAAA
TGCGAAGAAGCACCATGTGGAGGTGGTGGGTGTGAG
(Seq. ID. No: 30)

Exon VI:

TTTTACATTGGCAGTGGCTGTCCTGACCCTCAGGCCTATGCTCAGTCCA
TCGCAGACGCCCGGCTCGTGTTTAAAATGGGCACCGAGCTGGGTCAAA
GATGCACGTTCTGGACCTTGGTGGTGGCTTCCCTGGCACAGAAGGGGCC
AAAGTGAGATTTGAAGAG
(Seq. ID. No: 31)

FIG.9-2

Exon VII:

ATTGCTTCCGTGATCAACTCAGCCTTGGACCTGTACTTCCCAGAGGGCTG
 TGGCGTGGACATCTTTGCTGAGCTGGGGCGCTACTACGTGACCTCGGCCT
 TCACTGTGGCAGTCAGCATCATTGCCAAGAAGGAGGTTCTGCTAGACCA
 GCCTGGCAGGGAGG

(Seq. ID. No: 32)

Exon VIII:

AGGAAAATGGTTCCACCTCCAAGACCATCGTGTACCACCTTGATGAGGG
 CGTGTATGGGATCTTCAACTCAGTCCTGTTTGACAACATCTGCCCTACCC
 CCATCCTGCAGAAG

(Seq. ID. No: 33)

Exon IX:

TCTAAGAACCACTCACCCCTGCTACATGTCTCTAGAGTCCATTCATTTATTGCCGTGTAG
 CGCTCTTTTG

(Seq. ID. No: 34)

Exon X:

AAACCATCCACGGAGCAGCCCCTGTACAGCAGCAGCCTGTGGGGCCCGCGGTTGATGG
 CTGTGATTGCGTGGCTGAGGGCCTGTGGCTGCCGCAACTACACGTAGGGGACTGGCTGG
 TCTTTGACAACATGGGGCGCTACACTGTGGGCATGGGTTCCCCCTTTTGGGGACCCAGG
 CCTGCCACATCACCTATGCCATGTCCCGGTTGGCCTG

(Seq. ID. No: 35)

Exon XI:

GGAAGCGCTGCGAAGGCAGCTGATGGCTGCAGAACAGGAGGATGACGTGGAGGGTGTG
 TGCAAGCCTCTGTCTGCGGCTGGGAGATCACAGACACCCTGTGCGTGGGCCCTGTCTTC
 ACCCAGCGAGCATCATGTGAGTGGGCCTCGTCCCCCGGAGAATCCCAGCGGGCCT
 CAGAGATGCATCTGGGAGAGGTGGGGAAGATGGCAGGCAAGGGTACCCTTGGCCAGGA
 CTCTGGTGCCACCCTGCCACCCCGCGCTCCACCTGCAGTGTTTCTGCCCTGTAATAG
 GACCAGTCTTACACTCGCTGTAGTTCAAGTATGCAACATAAATCCTGTTCTTCCAGCTG
 TGCTGCCTCCTCTGCAGTGCAAGGGCCTGGTCAGCCAGGTGTGGGGGTGTTCTTGGGG
 TCTCCTTTGGTCTCCTTCCACCTTTGTAATATAATGCAAAATAAATAAATATTTAGGTTT
 TAAAAACTGCAGCGGAATCTGGCAGTTTGATTCACAAAGCAGCCTGGGCTAGGCCTGG
 GGCAGGATTTCCCATCACTCACTGATGAGCCACACCCTCTGCTTA

(Seq. ID. No: 36)

1. Abstract

Purified and isolated ODC-p and variants of ODC-p have been prepared as have nucleic acids that encode for them. An assay for ODC-p is used to monitor disease progression and/or response to therapy.

2. Representative Drawing**Fig. 1**

