

(19)日本国特許庁(J P)

(12) 公表特許公報(A) (11)特許出願公表番号

特表2003 - 510024

(P2003 - 510024A)

(43)公表日 平成15年3月18日(2003.3.18)

(51) Int.Cl <sup>7</sup>	識別記号	F I	テ-マコード* (参考)
C 1 2 N 15/09	ZNA	A 6 1 K 45/00	2 G 0 4 5
A 6 1 K 45/00		A 6 1 P 43/00	4 B 0 2 4
A 6 1 P 43/00	111	C 0 7 K 16/40	4 B 0 5 0
C 0 7 K 16/40		C 1 2 N 1/15	4 B 0 6 3
C 1 2 N 1/15		1/19	4 B 0 6 5

審査請求 未請求 予備審査請求(全179数) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2001 - 515710(P2001 - 515710)

(86)(22)出願日 平成12年8月9日(2000.8.9)

(85)翻訳文提出日 平成14年2月8日(2002.2.8)

(86)国際出願番号 PCT/US00/21878

(87)国際公開番号 W001/010903

(87)国際公開日 平成13年2月15日(2001.2.15)

(31)優先権主張番号 60/147,986

(32)優先日 平成11年8月9日(1999.8.9)

(33)優先権主張国 米国(US)

(31)優先権主張番号 60/160,807

(32)優先日 平成11年10月21日(1999.10.21)

(33)優先権主張国 米国(US)

(71)出願人 インサイト・ゲノミックス・インコーポレイテッド

アメリカ合衆国カリフォルニア州94304・パロアルト・ポータードライブ 3160

(72)発明者 ユエ、ヘンリー

アメリカ合衆国カリフォルニア州94087・サニーバイル・ルイスアベニュー 826

(72)発明者 ラル、プリーティ

アメリカ合衆国カリフォルニア州95054・サンタクララ・ラスドライブ 2382

(74)代理人 弁理士 大島 陽一

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 プロテアーゼ及びプロテアーゼインヒビター

(57)【要約】

本発明は、プロテアーゼ及びプロテアーゼインヒビター(PPIM)と、PPIMを同定しコードするポリヌクレオチドとを提供する。本発明はまた、発現ベクター、宿主細胞、抗体、アゴニスト及びアンタゴニストを提供する。更に、本発明は、PPIMの発現に関連する疾患を診断、治療または予防する方法も提供する。

**【特許請求の範囲】**

**【請求項1】** 以下の(a)乃至(d)を有する群から選択した実質上単離されたポリペプチド。

(a) 配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号4、配列番号5、配列番号6、配列番号7、配列番号8、配列番号9、配列番号10、配列番号11、配列番号12、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26及び配列番号27を有する群から選択したアミノ酸配列

(b) 配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号4、配列番号5、配列番号6、配列番号7、配列番号8、配列番号9、配列番号10、配列番号11、配列番号12、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26及び配列番号27を有する群から選択したアミノ酸配列と少なくとも90%が同一であるようなアミノ酸配列を有する天然のアミノ酸配列

(c) 配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号4、配列番号5、配列番号6、配列番号7、配列番号8、配列番号9、配列番号10、配列番号11、配列番号12、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26及び配列番号27を有する群から選択したアミノ酸配列を有するアミノ酸配列の生物学的活性断片

(d) 配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号4、配列番号5、配列番号6、配列番号7、配列番号8、配列番号9、配列番号10、配列番号11、配列番号12、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26及び配列番号27を有する群から選択したアミノ酸配列を有する免疫抗原性断片

**【請求項2】** 配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号4、配列

番号5、配列番号6、配列番号7、配列番号8、配列番号9、配列番号10、配列番号11、配列番号12、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26及び配列番号27を有する群から選択した請求項1に記載の単離されたポリペプチド。

【請求項3】 請求項1のポリペプチドをコードする単離されたポリヌクレオチド。

【請求項4】 請求項2のポリペプチドをコードする単離されたポリヌクレオチド。

【請求項5】 配列番号28、配列番号29、配列番号30、配列番号31、配列番号32、配列番号33、配列番号34、配列番号35、配列番号36、配列番号37、配列番号38、配列番号39、配列番号41、配列番号42、配列番号43、配列番号44、配列番号45、配列番号46、配列番号47、配列番号48、配列番号49、配列番号50、配列番号51、配列番号52、配列番号53及び配列番号54を有する群から選択した請求項4に記載の単離されたポリヌクレオチド。

【請求項6】 請求項3に記載のポリヌクレオチドに機能的に結合したプロモーター配列を含む組換えポリヌクレオチド。

【請求項7】 請求項6に記載の組換えポリヌクレオチドを用いて形質転換した細胞。

【請求項8】 請求項6に記載の組換えポリヌクレオチドを含む遺伝形質転換体。

【請求項9】 請求項1に記載のポリペプチドを製造する方法であって、  
(a) 組換えポリヌクレオチドを用いて形質転換した細胞を前記ポリペプチドの発現に適した条件下で培養する過程と、  
(b) そのように発現した前記ポリペプチドを受容する過程とからなり、  
前記組換えポリヌクレオチドが、請求項1に記載の前記ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドに機能的に結合したプロモーター配列を有することを特徴とする方法。

【請求項10】 請求項1に記載のポリペプチドと特異結合するような単離された抗体。

【請求項11】 以下の(a)乃至(e)を有する群から選択した実質上単離されたポリヌクレオチド。

(a) 配列番号28、配列番号29、配列番号30、配列番号31、配列番号32、配列番号33、配列番号34、配列番号35、配列番号36、配列番号37、配列番号38、配列番号39、配列番号41、配列番号42、配列番号43、配列番号44、配列番号45、配列番号46、配列番号47、配列番号48、配列番号49、配列番号50、配列番号51、配列番号52、配列番号53及び配列番号54を有する群から選択したポリヌクレオチド配列

(b) 配列番号28、配列番号29、配列番号30、配列番号31、配列番号32、配列番号33、配列番号34、配列番号35、配列番号36、配列番号37、配列番号38、配列番号39、配列番号41、配列番号42、配列番号43、配列番号44、配列番号45、配列番号46、配列番号47、配列番号48、配列番号49、配列番号50、配列番号51、配列番号52、配列番号53及び配列番号54を有する群から選択したポリヌクレオチド配列と少なくとも70%が同一であるような天然のポリヌクレオチド配列

(c) (a)のポリヌクレオチドに相補的なポリヌクレオチド配列

(d) (b)のポリヌクレオチドに相補的なポリヌクレオチド配列

(e) (a)~(d)のRNA等価物

【請求項12】 請求項11に記載のポリヌクレオチドの少なくとも60の連続したヌクレオチドを含む単離されたポリヌクレオチド。

【請求項13】 請求項11に記載のポリヌクレオチドの配列を有する標的ポリヌクレオチドをサンプル中から検出する方法であって、

(a) 前記サンプル中の前記標的ポリヌクレオチドに相補的な配列を有する少なくとも20の連続したヌクレオチドを含むプローブを用いて前記サンプルをハイブリダイズする過程と、

(b) 前記ハイブリダイゼーション複合体の存在・不存在を検出し、該複合体が存在する場合にはオプションでその量を検出する過程からなり、

前記プローブと前記標的ポリヌクレオチドの間でハイブリダイゼーション複合体が形成されるような条件下で、前記プローブが前記標的ポリヌクレオチドに特異的にハイブリダイズすることを特徴とする方法。

【請求項14】 前記プローブが少なくとも60の連続したヌクレオチドを含むことを特徴とする請求項13に記載の方法。

【請求項15】 請求項11に記載のポリヌクレオチドの配列を有する標的ポリヌクレオチドをサンプル中から検出する方法であって、

(a) ポリメラーゼ連鎖反応増幅を用いて前記標的ポリヌクレオチドまたはその断片を増幅する過程と、

(b) 前記標的ポリヌクレオチドまたはその断片の存在・不存在を検出し、該標的ポリヌクレオチドまたはその断片が存在する場合にはオプションでその量を検出する過程を含むことを特徴とする方法。

【請求項16】 有効量の請求項1のポリペプチドと、薬剤として許容できる賦形剤とを有することを特徴とする成分。

【請求項17】 前記ポリペプチドが、配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号4、配列番号5、配列番号6、配列番号7、配列番号8、配列番号9、配列番号10、配列番号11、配列番号12、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26及び配列番号27を有する群から選択したアミノ酸配列を含むことを特徴とする請求項16に記載の成分。

【請求項18】 機能性PPIMの発現低下に関連する疾患又は病状を治療する方法であって、そのような治療を必要とする患者に対して請求項16に記載の成分を投与する過程を含むことを特徴とする方法。

【請求項19】 請求項1に記載のポリペプチドのアゴニストとして有効性を確認するために化合物をスクリーニングする方法であって、

(a) 請求項1に記載のポリペプチドを含むサンプルを化合物に曝す過程と、

(b) 前記サンプル中のアゴニスト活性を検出する過程とを含むことを特徴とする方法。

【請求項20】 請求項19に記載の方法によって同定したアゴニスト化合物と、薬剤として許容できる賦形剤とを含むことを特徴とする成分。

【請求項21】 機能性PPIMの発現低下に関連する疾患又は病状を治療する方法であって、そのような治療を必要とする患者に対して請求項20に記載の成分を投与する過程を含むことを特徴とする方法。

【請求項22】 請求項1に記載のポリペプチドのアンタゴニストとして有効性を確認するために化合物をスクリーニングする方法であって、

- (a) 請求項1に記載のポリペプチドを含むサンプルを化合物に曝す過程と、
- (b) 前記サンプル中のアンタゴニスト活性を検出する過程とを含むことを特徴とする方法。

【請求項23】 請求項22に記載の方法によって同定したアンタゴニスト化合物と、薬剤として許容できる賦形剤とを含むことを特徴とする成分。

【請求項24】 機能性PPIMの過剰発現に関連する疾患又は病状の治療方法であって、そのような治療を必要とする患者に対して請求項23に記載の成分を投与する過程を含むことを特徴とする方法。

【請求項25】 請求項1に記載のポリペプチドに特異結合する化合物をスクリーニングする方法であって、

- (a) 適切な条件下で請求項1に記載のポリペプチドを少なくとも1つの試験化合物に結合させる過程と、
- (b) 請求項1に記載のポリペプチドの試験化合物との結合を検出し、それによって請求項1に記載のポリペプチドに特異結合する化合物を同定する過程とを含むことを特徴とする方法。

【請求項26】 請求項1に記載のポリペプチドの活性を調節する化合物をスクリーニングする方法であって、

- (a) 請求項1に記載のポリペプチドの活性が許容された条件下で、請求項1に記載のポリペプチドを少なくとも1つの試験化合物に結合させる過程と、
- (b) 請求項1に記載のポリペプチドの活性を試験化合物の存在下で算定する過程と、
- (c) 試験化合物の存在下での請求項1に記載のポリペプチドの活性を、試験

化合物の不存在下での請求項1に記載のポリペプチドの活性と比較する過程とを含み、

試験化合物の存在下での請求項1に記載のポリペプチドの活性の変化が、請求項1に記載のポリペプチドの活性を調節する化合物を標示することを特徴とする方法。

【請求項27】 請求項5に記載の配列を有する標的ポリヌクレオチドの変異発現の有効性を確認するために化合物をスクリーニングする方法であって、

(a) 前記標的ポリヌクレオチドの発現に適した条件下で、該標的ポリヌクレオチドを含むサンプルを化合物に曝す過程と、

(b) 前記標的ポリヌクレオチドの変異発現を検出する過程とを含むことを特徴とする方法。

【請求項28】 試験化合物の毒性を算定する方法であって、

(a) 核酸を含む生物学的サンプルを前記試験化合物で処理する過程と、

(b) 請求項11に記載のポリヌクレオチドの少なくとも20の連続したヌクレオチドを含むプローブと、請求項11に記載のポリヌクレオチドまたはその断片のポリヌクレオチド配列を有する前記生物学的サンプルの標的ポリヌクレオチドとの間に、特定のハイブリタイゼーション複合体が形成されるような条件下で、前記処理されたサンプルの核酸を前記プローブでハイブリタイズする過程と、

(c) 前記ハイブリタイゼーション複合体の量を定量する過程と、

(d) 前記処理された生物学的サンプル中の前記ハイブリタイゼーション複合体の量を、処理されていない生物学的サンプル中の前記ハイブリタイゼーション複合体の量と比較する過程とを含み、

前記処理された生物学的サンプル中の前記ハイブリタイゼーション複合体の量の差が、前記試験化合物の毒性を標示することを特徴とする方法。

**【発明の詳細な説明】****【0001】**

## (技術分野)

本発明は、プロテアーゼ及びプロテアーゼインヒビターの核酸配列及びアミノ酸配列に関し、細胞増殖異常及び自己免疫/炎症性疾患の診断、治療並びに予防におけるこれらの配列の利用に関する。

**【0002】**

## (発明の背景)

タンパク質分解プロセッシングは、正常な細胞成長、分化、リモデリング及びホメオスタシスの必須構成要素である。細胞内でのペプチド結合の切断は、前駆タンパク質の活性形態への成熟、標的タンパク質からのシグナル配列の除去、正しく折り畳まれなかったタンパク質の分解及び細胞内でのペプチドの制御された代謝回転に必要である。プロテアーゼは、アポトーシス、炎症及び胚発生中の組織リモデリング、傷の治癒及び正常な成長に関与する。プロテアーゼは、宿主内での細菌、寄生虫及びウイルスの侵入及び複製の必要成分である。哺乳動物プロテアーゼの4つの主要カテゴリーは、活性部位構造、作用のメカニズム及び全体の3次元構造に基づき同定されてきた (Beynon, R. J. and J. S. Bond (1994) *Proteolytic Enzymes: A Practical Approach*, Oxford University Press, New York NY, pp. 1-5を参照)。

**【0003】**

セリンプロテアーゼ (SP) は、消化酵素、トリプシン及びキモトリプシンと、補体カスケード及び血液凝固カスケードの成分と、細胞外マトリックスの高分子の分解及び代謝回転を制御する酵素とを含むタンパク質分解酵素の大ファミリーである。SPは、タンパク質の切断のために活性触媒部位に見られるセリン残基の存在により、そのように名付けられた。全てのSPの活性部位は、前述のセリン、アスパラギン酸及びヒスチジン残基を含む3連構造の残基から構成される。SPは、広範囲の基質特異性を有しており、基質特異性に基づきSPをサブファミリーに細分することが可能である。主要なサブファミリーには、アルギニンまたはリジンを切断するトリパーゼ (trypase)、アスパラギン酸を切断するアスパーゼ (a

spase)、フェニルアラニンまたはロイシンを切断するキマーゼ、メチオニンを切断するメターゼ (metase) 及びセリンを切断するセラゼ (serase) がある。Clpプロテアーゼは、ATPを結合して加水分解する調節サブユニットによってその活性が調節されるので、セリンプロテアーゼファミリーのメンバーである。Clpプロテアーゼは、初めは植物の葉緑体において見つけれられたが、原核細胞にも真核細胞にも広く行きわたっていると信じられている (Maurizi, M. R. ら (1990) J. Biol. Chem. 266: 12546-12552)。細菌性Clp調節サブユニットの哺乳動物の相同体であるSKD3は、最近マウスにおいて同定された (Perier, F. ら (1995) Gene 152: 157-163)。

#### 【0004】

システインプロテアーゼは、多様な前駆タンパク質のプロセッシングから細胞内分解までの範囲に及ぶ細胞プロセスに関与している。哺乳動物のシステインプロテアーゼには、リソソームのカテプシンと、サイトゾルのカルシウムにより活性化されるプロテアーゼであるカルパインとがある。特に注目すべきは、炎症の部位に移動する単核細胞、マクロファージ及び免疫系のその他の細胞によりシステインプロテアーゼが産出され、その保護的役割において種々の分子を分泌して損傷した組織を修復することである。これらの細胞は、同一分子を過剰産生し、或る種の疾患において組織の破壊を引き起こし得る。リウマチ様関節炎等の自己免疫疾患において、システインプロテアーゼであるカテプシンCの分泌は、コラーゲン、ラミニン、エラスチン及び骨の細胞外マトリックスに見られるその他の構造タンパク質を分解する。リソソームのプロテアーゼのカテプシンファミリーには、システインプロテアーゼ、カテプシンB、H、K、L、O2、S、アスパルチルプロテアーゼ、カテプシンD及びGがある。エンドソームのプロテアーゼファミリーの様々なメンバーは、異なって発現される。カテプシンDなどのように広範な組織に分布するものもあるが、カテプシンLなどのように単核細胞、マクロファージ及び免疫系のその他の細胞にしか見られないものもある。

#### 【0005】

アスパラギン酸プロテアーゼには、細菌のペニシロペプシン、哺乳動物のペプシン、レニン、キモシン及び或る種の真菌プロテアーゼがある。アスパラギン酸

プロテアーゼの特徴的な活性部位残基は、1対のアスパラギン酸残基であり、例えばペニシロペプシンのAsp33及びAsp213である。アスパラギン酸プロテアーゼは、活性に対する至適pHが2～3であるため、酸プロテアーゼとも呼ばれる。このpH範囲では、1つのアスパラギン酸残基がイオン化され、その他は中性である。アスパラギン酸プロテアーゼの強力なインヒビターはヘキサペプチドペプスタチンであり、これは遷移状態では正常な基質に似ている。

#### 【0006】

カルボキシペプチダーゼA及びBは、メタロプロテアーゼファミリーの主要哺乳動物の代表的なものである。カルボキシペプチダーゼA及びBは共に、同様な構造及び活性部位構造のエキソペプチダーゼである。キモトリプシンのようなカルボキシペプチダーゼAは、疎水性のC末端芳香族及び脂肪族の側鎖を好むが、カルボキシペプチダーゼBは塩基性のアルギニン及びリジン残基に向けられる。活性部位成分には亜鉛が含まれ、これはタンパク質中で2つのグルタミン酸及び1つの前駆体残基を協調する。

#### 【0007】

ユビキチンプロテアーゼは、真核細胞及び幾つかの細菌における細胞タンパク質の分解のための主要経路であるユビキチン結合系(UCS)に関連している。UCSは、異常タンパク質の排除を媒介し、遺伝子転写及び細胞周期進行などの細胞プロセスを制御する重要な調節タンパク質の半減期を調整する。UCS経路では、分解のためにターゲティングされたタンパク質は、小熱安定タンパク質であるユビキチンに結合される。広く存在する(ubiquitinated)タンパク質は、大きな多サブユニットタンパク分解酵素複合体であるプロテアソームにより認識及び分解され、ユビキチンはユビキチンプロテアーゼにより再利用のために放出される。UCSは、分裂周期キナーゼ、腫瘍性タンパク質、p53などの腫瘍抑制遺伝子、ウイルスタンパク質、シグナル伝達に関連する細胞表面受容体、伝達制御因子及び突然変異または損傷したタンパク質の分解に結びつけられる(Ciechanover, A. (1994) Cell 79:13-21)。マウスの原型癌遺伝子Unplは、それが過剰発現するとNIH 3T3細胞の発癌性形質転換につながるような核ユビキチンプロテアーゼをコードし、この遺伝子のヒト相同体は肺の小細胞腫瘍及び腺癌において一貫して増加す

る (Gray, D. A. (1995) *Oncogene* 10: 2179-2183)。

【0008】

プロテアーゼインヒビター及びプロテアーゼ活性のその他の制御因子は、プロテアーゼの活性及び効果を制御する。プロテアーゼインヒビターは、タンパク分解疾患の動物モデルにおいて病原を制御することが示されてきた (Murphy, G. (1991) *Agents Actions Suppl.* 35: 69-76)。システインプロテアーゼの低分子量インヒビターである低レベルのシスタチンは、腫瘍の悪性進行と関連がある (Calkins, C. ら (1995) *Biol. Biochem. Hoppe Seyler* 376: 71-80)。

【0009】

血漿インター トリプシン (inter- trypsin) インヒビターファミリー分子は、少なくとも5種類の異なる糖タンパク質の240 kDa血漿タンパク質複合体を含むセリンプロテアーゼインヒビター (serpin) である。これらの糖タンパク質には、H1、H2、H3、H4及びLと名付けられた4つの重 (H) 鎖及び1つの30 kDa軽 (L) 鎖が含まれ、各々独立に合成されて前駆タンパク質からタンパク分解性に処理される (Daveau, M. ら. (1998) *Arch. Biochem. Biophys.* 350: 315-323、Salier, J. P. ら (1992) *Mamm. Genome* 2: 233-239)。血漿インター トリプシンインヒビター軽鎖は、全ての脊椎動物に存在するように見えるKunitz型トリプシンインヒビターとの配列類似性を有する (Salier, J. P. (1990) *Trends Biochem. Sci.* 15: 435-439)。Kunitz型トリプシンインヒビターの例としては、組織因子誘導凝固を制御する組織因子経路インヒビター、血清凝固XIa因子を制御するプロテアーゼネキシン2などがある (Broze, G. J. (1995) *Annu. Rev. Med.* 46: 103-112、Wagner, S. L. ら. (1993) *Brain Res.* 626: 90-98)。長鎖前駆体は、シグナルペプチド配列及び成熟鎖をコードする。その他の血漿インター トリプシンインヒビター重鎖については、ヒト及びげっ歯類において記述されてきた (Bourguignon, J. ら. (1993) *Eur. J. Biochem.* 212: 771-776、Salier, 1992, 前出、Salier, J. P. (1996) *Biochem. J.* 315: 1-9)。ラット血漿インター トリプシンインヒビター遺伝子の発現は、*in vivo*の炎症により制御される。遺伝子はラットの肝臓で優性に発現されるが、H2及びH3 mRNAは、脳、腸及び胃にも存在する (前出のDaveau)。

## 【0010】

カリスタチン (Kallistatin) は、セリンプロテアーゼインヒビターファミリーのメンバーである。カリスタチンは、特異的且つ共有結合的に組織カリクレインに結合した複合体を形成する。これは、キニノーゲンを切断して血管作動性キニンを放出することが可能なセリンプロテイナーゼである。組織カリクレイン - キニン系の成分には、組織カリクレイン、カリスタチン、キニノーゲン、キニン、ブラジキニンB1及びB2受容体、キニナーゼがある (Chao, J. and L. Chao (1995) Biol. Chem. Hoppe Seyler 376: 705-713)。

## 【0011】

プロテアーゼ及びプロテアーゼ抑制分子は、フォンウィルブランド因子A3型 (vWFA3) モチーフの潜在的金属結合部位、グリシン - アミノ酸 - セリン - アミノ酸 - セリンなどのタンパク質間相互作用を決定するアミノ酸配列モチーフを含み得る。このモチーフは、インテグリンCR3及びLFA-1の相同的な1型ドメインにおけるリガンド相互作用にも必要とされる (Huizinga, E. G. (1997) Structure 5 : 1147-1156)。

## 【0012】

プロテアーゼインヒビターは、プロテアーゼの活性及び効果の制御に主要な役割を果たす。プロテアーゼインヒビターは、タンパク分解疾患の動物モデル及びHIVの処理において病原を制御することが示されてきた (Murphy, G. (1991) Agents Actions Suppl. 35: 69-76、Pakyz, A. and D. Israel (1997) J. Am. Pharm. Assoc. (Wash.) NS37: 543-551)。

## 【0013】

新たなプロテアーゼ及びプロテアーゼインヒビター及びそれらをコードするポリヌクレオチドの発見は、細胞増殖異常及び自己免疫 / 炎症性疾患の診断、治療並びに予防において有用である新たな組成を提供することにより、当分野における要求を満たす。

## 【0014】

(発明の概要)

本発明は、集合的には「PPIM」、個別には「PPIM-1」、「PPIM-2」、「PPIM-3」、「P

PIM-4」、「PPIM-5」、「PPIM-6」、「PPIM-7」、「PPIM-8」、「PPIM-9」、「PPIM-10」、「PPIM-11」、「PPIM-12」、「PPIM-13」、「PPIM-14」、「PPIM-15」、「PPIM-16」、「PPIM-17」、「PPIM-18」、「PPIM-19」、「PPIM-20」、「PPIM-21」、「PPIM-22」、「PPIM-23」、「PPIM-24」、「PPIM-25」、「PPIM-26」及び「PPIM-27」と呼ばれるような実質上精製されたポリペプチドであるプロテアーゼ及びプロテアーゼインヒビターに特徴がある。或る実施態様において本発明は、(a) 配列番号1乃至27を有する群から選択したアミノ酸配列、(b) 配列番号1乃至27を有する群から選択したアミノ酸配列と少なくとも90%の相同性を有する天然のアミノ酸配列、(c) 配列番号1乃至27を有する群から選択したアミノ酸配列の生物学的活性断片、または(d) 配列番号1乃至27を有する群から選択したアミノ酸配列の免疫抗原性断片を含む、実質上単離されたポリペプチドを提供する。一実施態様では、配列番号1乃至27を有する群から選択したアミノ酸配列を含む実質上単離されたポリペプチドを提供する。

#### 【0015】

また、本発明は(a) 配列番号1乃至27を有する群から選択したアミノ酸配列、(b) 配列番号1乃至27を有する群から選択したアミノ酸配列と少なくとも90%の相同性を有する天然のアミノ酸配列、(c) 配列番号1乃至27を有する群から選択したアミノ酸配列の生物学的活性断片、または(d) 配列番号1乃至27を有する群から選択したアミノ酸配列の免疫抗原性断片を含むポリペプチドをコードするような実質上単離されたポリヌクレオチドを提供する。一実施態様では、ポリヌクレオチドは配列番号1乃至27を有する群から選択したポリペプチドをコードする。別の実施態様では、ポリヌクレオチドは配列番号28乃至54を有する群から選択される。

#### 【0016】

本発明は更に、(a) 配列番号1乃至27を有する群から選択したアミノ酸配列、(b) 配列番号1乃至27を有する群から選択したアミノ酸配列と少なくとも90%の相同性を有する天然のアミノ酸配列、(c) 配列番号1乃至27を有する群から選択したアミノ酸配列の生物学的活性断片、または(d) 配列番号1乃至27を有する群から選択したアミノ酸配列の免疫抗原性断片を含むポリペ

チドをコードするような実質上単離されたポリヌクレオチドと機能的に結合したプロモーター配列を有する組換えポリヌクレオチドを提供する。一実施態様では、本発明は組換えポリヌクレオチドを用いて形質転換した細胞を提供する。別の実施態様では、本発明は組換えポリヌクレオチドを含む遺伝形質転換体を提供する。

【0017】

また、本発明は（a）配列番号1乃至27を有する群から選択したアミノ酸配列、（b）配列番号1乃至27を有する群から選択したアミノ酸配列と少なくとも90%の相同性を有する天然のアミノ酸配列、（c）配列番号1乃至27を有する群から選択したアミノ酸配列の生物学的活性断片、または（d）配列番号1乃至27を有する群から選択したアミノ酸配列の免疫抗原性断片を含む実質上単離されたポリペプチドを製造する方法を提供する。製造方法は、（a）組換えポリヌクレオチドを用いて形質転換した細胞をポリペプチドの発現に適した条件下で培養する過程と、（b）そのように発現したポリペプチドを受容する過程とを有し、組換えポリヌクレオチドはポリペプチドをコードするポリヌクレオチドに機能的に結合したプロモーター配列を有する。

【0018】

本発明は更に、（a）配列番号1乃至27を有する群から選択したアミノ酸配列、（b）配列番号1乃至27を有する群から選択したアミノ酸配列と少なくとも90%の相同性を有する天然のアミノ酸配列、（c）配列番号1乃至27を有する群から選択したアミノ酸配列の生物学的活性断片、または（d）配列番号1乃至27を有する群から選択したアミノ酸配列の免疫抗原性断片を含むポリペプチドに特異結合するような実質上単離された抗体を提供する。

【0019】

本発明は更に、（a）配列番号28乃至54を有する群から選択したポリヌクレオチド配列、（b）配列番号28乃至54を有する群から選択したポリヌクレオチド配列と少なくとも70%の相同性を有する天然のポリヌクレオチド配列、（c）（a）に相補的なポリヌクレオチド配列、（d）（b）に相補的なポリヌクレオチド配列、または（e）（a）～（d）のRNA等価物を含む実質上単離さ

れたポリヌクレオチドを提供する。一実施態様では、ポリヌクレオチドは少なくとも60の連続したヌクレオチドを有する。

#### 【0020】

本発明は更に、サンプル中の標的ポリヌクレオチドを検出する方法を提供する。ここで、標的ポリヌクレオチドは(a)配列番号28乃至54を有する群から選択したポリヌクレオチド配列、(b)配列番号28乃至54を有する群から選択したポリヌクレオチド配列と少なくとも70%の相同性を有する天然のポリヌクレオチド配列、(c)(a)に相補的なポリヌクレオチド配列、(d)(b)に相補的なポリヌクレオチド配列、または(e)(a)~(d)のRNA等価物を含む実質上単離されたポリヌクレオチドを提供する。検出方法は、(a)サンプル中の標的ポリヌクレオチドに相補的な配列からなる少なくとも20の連続したヌクレオチドを含むプローブを用いて該サンプルをハイブリダイズする過程と、(b)ハイブリダイゼーション複合体の存在・不存在を検出し、複合体が存在する場合にはオプションでその量を検出する過程からなり、プローブと標的ポリヌクレオチドの間にハイブリダイゼーション複合体が形成されるような条件下で、プローブは標的ポリヌクレオチドに特異的にハイブリダイズする。一実施態様では、プローブは少なくとも60の連続したヌクレオチドを含む。

#### 【0021】

本発明はまた、サンプル中の標的ポリヌクレオチドを検出する方法を提供する。ここで、標的ポリヌクレオチドは(a)配列番号28乃至54を有する群から選択したポリヌクレオチド配列、(b)配列番号28乃至54を有する群から選択したポリヌクレオチド配列と少なくとも70%の相同性を有する天然のポリヌクレオチド配列、(c)(a)に相補的なポリヌクレオチド配列、(d)(b)に相補的なポリヌクレオチド配列、または(e)(a)~(d)のRNA等価物を含む実質上単離されたポリヌクレオチドを提供する。検出方法は、(a)ポリメラーゼ連鎖反応増幅を用いて標的ポリヌクレオチドまたはその断片を増幅する過程と、(b)標的ポリヌクレオチドまたはその断片の存在・不存在を検出し、該標的ポリヌクレオチドまたはその断片が存在する場合にはオプションでその量を検出する過程を含む。

## 【0022】

本発明は更に、有効量のポリペプチドと薬剤として許容できる賦形剤とを含む成分を提供する。有効量のポリペプチドは、(a)配列番号1乃至27を有する群から選択したアミノ酸配列、(b)配列番号1乃至27を有する群から選択したアミノ酸配列と少なくとも90%の相同性を有する天然のアミノ酸配列、(c)配列番号1乃至27を有する群から選択したアミノ酸配列の生物学的活性断片、または(d)配列番号1乃至27を有する群から選択したアミノ酸配列の免疫抗原性断片を含む。一実施態様では、成分は配列番号1乃至27を有する群から選択したアミノ酸配列を含む。更に本発明は、機能性PPIMの発現低下に関連する疾患又は病状を治療する方法であって、そのような治療を必要とする患者に対して成分を投与する過程を有する方法を提供する。

## 【0023】

本発明はまた、(a)配列番号1乃至27を有する群から選択したアミノ酸配列、(b)配列番号1乃至27を有する群から選択したアミノ酸配列と少なくとも90%の相同性を有する天然のアミノ酸配列、(c)配列番号1乃至27を有する群から選択したアミノ酸配列の生物学的活性断片、または(d)配列番号1乃至27を有する群から選択したアミノ酸配列の免疫抗原性断片を含むポリペプチドのアゴニストとしての有効性を確認するために化合物をスクリーニングする方法を提供する。スクリーニング方法は、(a)ポリペプチドを有するサンプルを化合物に曝す過程と、(b)サンプル中のアゴニスト活性を検出する過程とを含む。一実施態様では、本発明は機能性PPIMの発現低下に関連する疾患又は病状を治療する方法であって、そのような治療を必要とする患者に対して成分を投与する過程を含む方法を提供する。

## 【0024】

本発明は更に、(a)配列番号1乃至27を有する群から選択したアミノ酸配列、(b)配列番号1乃至27を有する群から選択したアミノ酸配列と少なくとも90%の相同性を有する天然のアミノ酸配列、(c)配列番号1乃至27を有する群から選択したアミノ酸配列の生物学的活性断片、または(d)配列番号1乃至27を有する群から選択したアミノ酸配列の免疫抗原性断片を含むポリペプ

チドのアンタゴニストとしての有効性を確認するために化合物をスクリーニングする方法を提供する。スクリーニング方法は、(a)ポリペプチドを含むサンプルを化合物に曝す過程と、(b)サンプル中のアンタゴニスト活性を検出する過程とを含む。一実施態様で本発明は、この方法によって同定したアンタゴニスト化合物と薬剤として許容できる賦形剤とを含む成分を提供する。別の実施態様では、機能性PPIMの過剰発現に関連する疾患又は病状を治療する方法であって、そのような治療を必要とする患者に対して成分を投与する過程を含む方法を提供する。

#### 【0025】

本発明は更に、(a)配列番号1乃至27を有する群から選択したアミノ酸配列、(b)配列番号1乃至27を有する群から選択したアミノ酸配列と少なくとも90%の相同性を有する天然のアミノ酸配列、(c)配列番号1乃至27を有する群から選択したアミノ酸配列の生物学的活性断片、または(d)配列番号1乃至27を有する群から選択したアミノ酸配列の免疫抗原性断片を含むポリペプチドに特異結合する化合物をスクリーニングする方法を提供する。スクリーニング方法は、(a)ポリペプチドを適切な条件下で少なくとも1つの試験化合物に結合させる過程と、(b)試験化合物とのポリペプチドの結合を検出し、それによってポリペプチドに特異結合する化合物を同定する過程とを含む。

#### 【0026】

本発明は更に、(a)配列番号1乃至27を有する群から選択したアミノ酸配列、(b)配列番号1乃至27を有する群から選択したアミノ酸配列と少なくとも90%の相同性を有する天然のアミノ酸配列、(c)配列番号1乃至27を有する群から選択したアミノ酸配列の生物学的活性断片、または(d)配列番号1乃至27を有する群から選択したアミノ酸配列の免疫抗原性断片を含むポリペプチドの活性を調節する化合物をスクリーニングする方法を提供する。スクリーニング方法は、(a)ポリペプチドの活性が許容された条件下で、ポリペプチドを少なくとも1つの試験化合物に結合させる過程と、(b)ポリペプチドの活性を試験化合物の存在下で算定する過程と、(c)試験化合物の存在下でのポリペプチドの活性を試験化合物の不存在下でのポリペプチドの活性と比較する過程とを

含み、試験化合物の存在下でのポリペプチドの活性の変化は、ポリペプチドの活性を調節する化合物を標示する。

【0027】

本発明は更に、標的ポリヌクレオチドの変異発現の有効性を確認するために化合物をスクリーニングする方法を提供する。標的ポリヌクレオチドは、配列番号28乃至54を有する群から選択した配列を含む。スクリーニング方法は、(a)標的ポリヌクレオチドを含むサンプルを化合物に曝す過程と、(b)標的ポリヌクレオチドの変異発現を検出する過程とを含む。

【0028】

本発明は更に、試験化合物の毒性を評価する方法を提供する。毒性評価方法は、(a)核酸を含む生物学的サンプルを試験化合物で処理する過程と、(b)(i)配列番号28乃至54を有する群から選択したポリヌクレオチド配列、(ii)配列番号28乃至54を有する群から選択したポリヌクレオチド配列と少なくとも70%の相同性を有する天然のポリヌクレオチド配列、(iii)(i)に相補的なポリヌクレオチド配列、(iv)(ii)に相補的なポリヌクレオチド配列、または(v)(i)~(iv)のRNA等価物を有する群から選択したポリヌクレオチド配列を有するポリヌクレオチドの少なくとも20の連続したヌクレオチドを含むプローブを用いて処理生物学的サンプルの核酸をハイブリダイズする過程とからなる。ハイブリダイゼーションは、生物学的サンプルにおいて前記プローブと標的ポリヌクレオチドの間に固有のハイブリダイゼーション複合体が形成されるような条件下で発生し、前記標的ポリヌクレオチドには、(i)配列番号28乃至54を有する群から選択したポリヌクレオチド配列、(ii)配列番号28乃至54を有する群から選択したポリヌクレオチド配列と少なくとも70%の相同性を有する天然のポリヌクレオチド配列、(iii)(i)に相補的なポリヌクレオチド配列、(iv)(ii)に相補的なポリヌクレオチド配列、及び(v)(i)~(iv)のRNA等価物が含まれる。或いは、標的ポリヌクレオチドは、上記ポリヌクレオチド配列の断片と、(c)ハイブリダイゼーション複合体の量を定量する過程と、(d)処理生物学的サンプル中のハイブリダイゼーション複合体の量を非処理生物学的サンプル中のハイブリダイゼーション複合体と比較する過程とを有し、

処理生物学的サンプル中のハイブリダイゼーション複合体の量の差は試験化合物の毒性を示す。

【0029】

(発明を実施するための形態)

本発明のタンパク質、ヌクレオチド配列及び方法について説明するが、その前に、説明した特定の装置、材料及び方法に本発明が限定されるものではなく、改変し得ることを理解されたい。また、ここで使用する専門用語は特定の実施例を説明する目的で用いたものに過ぎず、特許請求の範囲にのみ限定される本発明の範囲を限定することを意図したものではないことも併せて理解されたい。

【0030】

請求の範囲及び明細書中で用いている単数形の「或る」及び「その(この)」の表記は、文脈から明らかにそうでないとされる場合を除いて複数のものを指す場合もあることに注意しなければならない。従って、例えば「或る宿主細胞」と記されている場合にはそのような宿主細胞が複数あることもあり、「或る抗体」と記されている場合には単数または複数の抗体、及び、当業者に公知の抗体の等価物等についても言及しているのである。

【0031】

本明細書中で用いる全ての専門用語及び科学用語は、特に定義されている場合を除き、当業者に一般に理解されている意味と同じ意味を有する。本明細書で説明するものと類似あるいは同等の任意の装置、材料及び方法を用いて本発明の実施または試験を行うことができるが、ここでは好適な装置、材料、方法について説明する。本発明で言及する全ての刊行物は、刊行物中で報告されていて且つ本発明に関係があるであろう細胞、プロトコル、試薬及びベクターについて説明及び開示する目的で引用しているものである。本明細書のいかなる開示内容も、本発明が先行技術の効力によってこのような開示に対して先行する権利を与えられていないことを認めるものではない。

【0032】

定義

「PPIM」は、実質上精製されたPPIMのアミノ酸配列であって、任意の種、特に

ウシ、ヒツジ、ブタ、マウス、ウマ及びヒトを含む哺乳動物の種から得たもので、任意の天然物、合成物、半合成物或いは組換え物を起源とするものを指す。

#### 【0033】

「アゴニスト」の語は、PPIMの生物学的活性を強化または擬態する分子を指す。アゴニストの例として、タンパク質、核酸、糖質、小分子その他の任意の化合物や成分を挙げることができるが、これらはPPIMと直接相互作用することによって、或いはPPIMが関与する生物学的経路の構成エレメントに作用することによって、PPIMの活性を調節する。

#### 【0034】

「対立遺伝子変異体」は、PPIMをコードする遺伝子の別の形態である。対立遺伝子変異体は、核酸配列における少なくとも1の突然変異から作製し得る。また、変異RNAまたはポリペプチドからも作製し得る。ポリペプチドの構造または機能は、変異することもしないこともある。遺伝子は、天然の対立遺伝子変異体を全く有しないか、1若しくは数個の天然の対立遺伝子変異体を有し得る。一般に対立遺伝子変異体を生じさせる通常の突然変異性変化は、ヌクレオチドの自然欠失、付加または置換に帰するものである。これら各変化は、単独或いは他の変化と共に、所定の配列内で1若しくは数回生じ得る。

#### 【0035】

PPIMをコードする「変異(altered)」核酸配列は、種々のヌクレオチドを欠失、挿入または置換する核酸配列を有し、PPIMと同一またはPPIMの機能的特徴を少なくとも1つ有するポリペプチドを産出する。この定義に含まれるのは、PPIMをコードするポリヌクレオチドの特定のオリゴヌクレオチドプローブを用いて容易に検出可能或いは検出困難な多型現象と、PPIMをコードするポリヌクレオチド配列のための正常な染色体遺伝子座以外の遺伝子座に占めるような、対立遺伝子変異体に対する不適切或いは不測のハイブリダイゼーションである。コードされたタンパク質も「変異」し得るものであり、サイレント変化を生ぜしめて結果的に機能的に等価なPPIMとなるようなアミノ酸残基の欠失、挿入または置換を含み得る。計画的アミノ酸置換は、PPIMの生物学的または免疫学的活性が保持される限りにおいて、残基の極性、電荷、溶解度、疎水性、親水性及び/または両親媒性

特性の類似性に基づき行い得る。例えば、負に帯電したアミノ酸にはアスパラギン酸及びグルタミン酸があり、正に帯電したアミノ酸にはリジン及びアルギニンがある。親水性値が近似している非荷電極性側鎖を有するアミノ酸には、アスパラギンとグルタミン、セリンとスレオニンがある。親水性値が近似している非荷電側鎖を有するアミノ酸には、ロイシンとイソロイシンとバリン、グリシンとアラニン、フェニルアラニンとチロシンがある。

【0036】

「アミノ酸」または「アミノ酸配列」の語は、オリゴペプチド、ペプチド、ポリペプチド若しくはタンパク質の配列またはその断片を指し、天然または合成分子を指す。ここで、「アミノ酸配列」は天然のタンパク質分子のアミノ酸配列を指すものであり、「アミノ酸配列」及び類似の語は、アミノ酸配列を、列挙したタンパク質分子に会合する完全な本来のアミノ酸配列に限定しようとするものではない。

【0037】

「増幅」は、核酸配列の追加複製に関連する。増幅は通常、当業者によく知られたポリメラーゼ連鎖反応(PCR)技術を用いて行う。

【0038】

「アンタゴニスト」の語は、PPIMの生物学的活性を阻害或いは弱める分子を指す。アンタゴニストとしては、抗体などのタンパク質、核酸、糖質、小分子またはその他の任意の化合物や成分を挙げることができるが、これらはPPIMと直接相互作用することによって、或いはPPIMが関与する生物学的経路の構成エレメントに作用することによって、PPIMの活性を調節する。

【0039】

「抗体」の語は、無損傷免疫グロブリンやその断片、例えばFa、F(ab')<sub>2</sub>及びFv断片を指すが、これらはエピトープの決定基と結合することができる。PPIMポリペプチドを結合する抗体は、無損傷ポリペプチドを用いるか或いは免疫抗原として感心のある小ペプチドを含む断片を用いるかして調製することができる。動物(マウス、ラット、ウサギ等)を免疫化するために用いるポリペプチドまたはオリゴペプチドは、翻訳または化学合成されたRNAに由来し得るもので、好みに

応じて担体タンパク質に接合することも可能である。通常用いられる担体であってペプチドと化学結合するものは、ウシ血清アルブミン、サイログロブリン及びキーホールリンペットヘモシアニン (KLH) 等がある。結合ペプチドは、動物を免疫化するために用いる。

【0040】

「抗原決定基」の語は、特定の抗体と接触している分子の領域（即ちエピトープ）を指す。タンパク質またはタンパク質断片を用いて宿主動物を免疫化する場合、タンパク質の多数の領域が、抗原決定基（タンパク質の特定の領域または3次元構造）に特異結合する抗体の産生を誘導し得る。抗原決定基は、抗体に結合するための無損傷抗原（即ち免疫応答を誘導するために用いられる免疫原）と競合し得る。

【0041】

「アンチセンス」の語は、特定の核酸配列の「センス」鎖（コーディング鎖）と塩基対を形成することが可能な任意の成分を指す。アンチセンス成分には、DNAや、RNAや、ペプチド核酸（PNA）や、ホスホロチオ酸、メチルホスホン酸またはベンジルホスホン酸等の修飾されたバックボーン連鎖を有するオリゴヌクレオチドや、2'-メトキシエチル糖または2'-メトキシエトキシ糖等の修飾された糖類を有するオリゴヌクレオチドや、或いは5-メチルシトシン、2'-デオキシウラシルまたは7-デアザ-2'-デオキシグアノシン等の修飾された塩基を有するオリゴヌクレオチドがある。アンチセンス分子は、化学合成または転写を含む任意の方法で製造することができる。相補的アンチセンス分子は、ひとたび細胞に導入されたら、細胞が形成した天然の核酸配列と塩基対を形成し、転写または翻訳を妨害する二重鎖を形成する。「負」若しくは「マイナス（-）」の語がアンチセンス鎖を、「正」若しくは「プラス（+）」がセンス鎖を指すことがある。

【0042】

「生物学的に活性」の語は、天然分子の構造的機能、調節機能または生化学的機能を有するタンパク質を指す。同様に「免疫学的に活性」は、天然、組換えまたは合成のPPIM、或いはその任意のオリゴペプチドの能力であって、適切な動物または細胞において特定の免疫反応を誘導して特定の抗体と結合し得る能力を指

す。

【0043】

「相補(的)」または「相補性」の語は、塩基対形成によりアニールする2つの一本鎖分子間の関係を説明する。例として、「5'A-G-T3'」とその相補配列「3'T-C-A5'」がある。

【0044】

「所与のポリヌクレオチド配列からなる成分」及び「所与のアミノ酸配列からなる成分」は、大まかに所与のポリヌクレオチド配列またはアミノ酸配列を有する任意の成分を指す。この成分には、乾燥製剤または水溶液が含まれ得る。PPIMまたはPPIM断片をコードするポリヌクレオチドからなる成分は、ハイブリダイゼーションプローブとして利用することができる。このプローブは凍結乾燥状態で保存し得るものであり、糖質等の安定化剤と会合し得る。ハイブリダイゼーションにおいては、塩(例えばNaCl)、洗浄剤(例えばドデシル硫酸ナトリウム; SDS)及びその他の構成エレメント(例えばデンハート液、脱脂粉乳、サケの精子のDNA等)を含む水溶液中にプローブを分散させることができる。

【0045】

「コンセンサス配列」は、不必要な塩基を分離するために再配列し、XL-PCRキット(PE Biosystems, Foster City CA)を用いて5'方向及び/または3'方向に伸長させ、更に再配列した核酸配列を指す。或いは、断片アセンブルのコンピュータプログラムを用いて、1若しくは数個のIncyteクローンの、場合によっては1若しくは数個のパブリックドメインESTの、オーバーラップした配列から組み立てた核酸配列を指す。コンピュータプログラムの例としては、GELVIEW断片アセンブルシステム(GCG, Madison WI)やPhrap(University of Washington, Seattle WA)が挙げられる。伸長及びアセンブルを共に行ってコンセンサス配列を決定する配列もある。

【0046】

「保存的アミノ酸置換」は、置換がなされた時に元のタンパク質の特性を殆ど損なわないような置換、即ち、タンパク質の構造と特に機能が保存され、そのような置換による大きな変化がない置換を指す。下表は、タンパク質中で元のアミ

ノ酸と置換され得るアミノ酸と、保存的アミノ酸置換と認められるアミノ酸を示している。

元の残基	保存的な置換
Ala	Gly, Set
Arg	His, Lys
Asn	Asp, Gln, His
Asp	Asn, Glu
Cys	Ala, Ser
Gln	Asn, Glu, His
Glu	Asp, Gln, His
Gly	Ala
His	Asn, Arg, Gln, Glu
Ile	Leu, Val
Leu	Ile, Val
Lys	Arg, Gln, Glu
Met	Leu, Ile
Phe	His, Met, Leu, Trp, Tyr
Ser	Cys, Thr
Thr	Ser, Val
Trp	Phe, Tyr
Tyr	His, Phe, Trp
Val	Ile, Leu, Thr

保存的アミノ酸置換では通常、( a ) 置換領域におけるポリペプチドのバックボーン構造、例えば シートや 螺旋構造、( b ) 置換部位における分子の電荷または疎水性、及び/または ( c ) 側鎖の大部分を保持する。

【 0 0 4 7 】

「欠失」は、結果的に1若しくは数個のアミノ酸またはヌクレオチドが失われてなくなるようなアミノ酸またはヌクレオチド配列における変化を指す。

【 0 0 4 8 】

「誘導体」の語は、ポリペプチド配列またはポリヌクレオチド配列の化学修飾を指す。例えば、アルキル基、アシル基、ヒドロキシル基またはアミノ基による水素の置換は、ポリヌクレオチド配列の化学修飾に含まれ得る。ポリヌクレオチド誘導体は、天然分子の生物学的または免疫学的機能を少なくとも1つは保持しているポリペプチドをコードする。ポリペプチド誘導体は、グリコシル化、ポリエチレングリコール化(pegylation)、或いは任意の同様なプロセスであって誘導起源のポリペプチドから少なくとも1つの生物学的若しくは免疫学的機能を保持しているプロセスによって、修飾されたポリペプチドである。

【0049】

「検出可能な標識」は、測定可能な信号を生成することができ、ポリヌクレオチドまたはポリペプチドに共有結合または非共有結合するようなレポーター分子または酵素を指す。

【0050】

「断片」は、PPIMまたはPPIMをコードするポリヌクレオチドの固有部分であって、親配列と同一配列であるが親配列よりも長さが短い配列を指す。断片は、画定された配列の全長から1ヌクレオチド/アミノ酸残基を差し引いた長さよりも短い長さを有し得る。例えば或る断片は、5~1000の連続したヌクレオチドまたはアミノ酸残基を有し得る。プローブ、プライマー、抗原、治療用分子として、或いはその他の目的のために用いられる断片は、少なくとも5、10、15、16、20、25、30、40、50、60、75、100、150、250若しくは少なくとも500の連続したヌクレオチド或いはアミノ酸残基長さとし得る。断片は、分子の特定領域から優先的に選択し得る。例えば、ポリペプチド断片は、所定の配列に示すような最初の250または500アミノ酸(またはポリペプチドの最初の25%または50%)から選択された或る長さの連続したアミノ酸を有し得る。これらの長さは明らかに例として挙げているものであり、本発明の実施例では、配列表、表及び図面を含む明細書に裏付けされた任意の長さであってよい。

【0051】

配列番号28乃至54の断片には、固有のポリヌクレオチド配列領域が含まれ

る。この領域は、配列番号28乃至54を特異的に同定するものであり、例えば同一ゲノム中の配列番号28乃至54以外の配列とは異なるものである。配列番号28乃至54の断片は、例えば、ハイブリダイゼーション及び増幅技術において、或いは関連するポリヌクレオチド配列から配列番号28乃至54を区別する類似の方法において有用である。配列番号28乃至54の断片の正確な長さ及び断片に対応する配列番号28乃至54の領域は、断片に対する意図した目的に基づき当業者が慣例的に決定することが可能である。

#### 【0052】

配列番号1乃至27の断片は、配列番号28乃至54の断片によってコードされる。配列番号1乃至27の断片には、配列番号1乃至27を特異的に同定する固有のアミノ酸配列領域が含まれている。例えば、配列番号1乃至27の断片は、配列番号1乃至27を特異認識する抗体を産出するための免疫抗原性ペプチドとして有用である。配列番号1乃至27の断片及び断片に対応する配列番号1乃至27の領域の正確な長さは、断片に対する意図した目的に基づき当業者が慣例的に決定することが可能である。

#### 【0053】

「完全長」ポリヌクレオチド配列とは、少なくとも1つの翻訳開始コドン（例えばメチオニン）、オープンリーディングフレーム及び翻訳終止コドンを有する配列である。「完全長」ポリヌクレオチド配列は、「完全長」ポリペプチド配列をコードする。

#### 【0054】

「相同性」の語は、配列類似性即ち2つ以上のポリヌクレオチド配列または2つ以上のポリペプチド配列の配列間で互換可能な配列同一性である。

#### 【0055】

ポリヌクレオチド配列に適用される「一致率」または「一致%」の語は、標準化されたアルゴリズムを用いてアラインメントされた少なくとも2つ以上のポリヌクレオチド配列間で一致する残基の割合を意味する。このようなアルゴリズムは、両配列間のアラインメントを最適化するために比較する配列において、標準化された再現性のある方法でギャップを挿入するので、2つの配列をより有意に

比較できる。

【0056】

ポリヌクレオチド配列間の一致率は、MEGALIGN version 3.12e配列アラインメントプログラムに組込まれているようなCLUSTAL Vアルゴリズムのデフォルトパラメータを用いて決定できる。このプログラムはLASERGENEソフトウェアパッケージの一部であり、一式の分子生物学分析プログラム（DNASTAR, Madison WI）である。CLUSTAL Vについては、Higgins, D.G. and P.M. Sharp (1989) CABIOS 5:151-153及びHiggins, D.G. ら (1992) CABIOS 8:189-191の文献に記載されている。ポリヌクレオチド配列の対をなすアラインメントの場合、デフォルトパラメータは、Ktuple=2、gap penalty=5、window=4、「diagonals saved」=4と設定する。デフォルトとして「重みづけされた」残基の重みづけ表を選択する。CLUSTAL Vは、アラインメントされたポリヌクレオチド配列対間の「類似率」として一致率を報告する。

【0057】

或いは、通常用いられ且つ無料で入手可能な配列比較アルゴリズム一式が米国国立バイオテクノロジー情報センター（NCBI）のBasic Local Alignment Search Tool（BLAST）から提供されている（Altschul, S.F. ら (1990) J. Mol. Biol. 215:403-410）。このアルゴリズムは、メリーランド州ベセスダにあるNCBIを含めた幾つかの情報源から入手可能であり、インターネット（<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>）上でも入手可能である。BLASTソフトウェア一式には様々な配列分析プログラムが含まれており、既知のポリヌクレオチド配列を種々のデータベースから得た別のポリヌクレオチド配列とアラインメントする「blastn」もその1つである。その他にも、2つのヌクレオチド配列を対で直接比較するために用いる「BLAST 2 Sequences」と称されるツールも利用可能である。「BLAST 2 Sequences」は、<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gorf/bl2.html>にアクセスして対話形式で利用することが可能である。「BLAST 2 Sequences」ツールは、blastn と blastp（後述）の両者に用いることができる。BLASTプログラムは、一般的には、ギャップ及びデフォルト設定に設定された他のパラメータと共に用いる。例えば、2つのヌクレオチド配列を比較するために、デフォルトパラメータとし

て設定された「BLAST 2 Sequences」ツールVersion 2.0.12 (2000年4月21日) を用いてblastnを実行してもよい。デフォルトパラメータの設定例を以下に示す。

【0058】

Matrix: BLOSUM62

Reward for match: 1

Penalty for mismatch: -2

Open Gap: 5 及び Extension Gap: 2 penalties

Gap x drop-off: 50

Expect: 10

Word Size: 11

Filter: on

一致率は、完全に画定された(例えば特定の配列番号で画定された)配列長さと比較して測定し得る。或いは、より短い長さ、例えばより大きな画定された配列から得られた断片(例えば少なくとも20、30、40、50、70、100または200の連続したヌクレオチドの断片)の長さと比較して一致率を測定してもよい。ここに挙げた長さは単なる例示的なものに過ぎず、表、図及び配列リストを含めた本明細書に記載された配列に裏付けられた任意の配列長さの断片を用いて、一致率を測定し得る長さを説明し得ることを理解されたい。

【0059】

高度の一致率を示さない核酸配列が、それにもかかわらず遺伝子コードの縮重が原因で類似のアミノ酸配列をコードする場合がある。この縮重を利用して核酸配列内で変化を生じさせて、全ての核酸配列が実質上同一のタンパク質をコードするような多数の核酸配列を生成し得ることを理解されたい。

【0060】

ポリペプチド配列に適用される「一致率」または「一致%」の語は、標準化されたアルゴリズムを用いてアラインメントされた少なくとも2以上のポリペプチド配列間で一致する残基の割合を意味する。ポリペプチド配列アラインメントの方法は公知である。保存的アミノ酸置換を考慮するアラインメント方法もある。既に詳述したこのような保存的置換は通常、置換部位の酸性度及び疎水性を保存

するので、ポリペプチドの構造を（従って機能も）保存する。

#### 【0061】

ポリペプチド配列間の一致率は、MEGALIGN version 3.12e配列アラインメントプログラムに組込まれているようなCLUSTAL Vアルゴリズムのデフォルトのパラメータを用いて決定できる（既に説明したのでそれを参照されたい）。CLUSTAL Vを用いて、ポリペプチド配列を2つ1組でアラインメントする際のデフォルトパラメータは、Ktuple=1、gap penalty=3、window=5、「diagonals saved」=5と設定する。デフォルトの残基重み付け表としてPAM250マトリクスを選択する。ポリヌクレオチドアラインメントと同様に、CLUSTAL VIは、アラインメントされたポリペプチド配列対間の「類似率」として一致率を報告する。

#### 【0062】

或いは、NCBI BLASTソフトウェア一式を用いてもよい。例えばポリペプチド配列を2つ1組で比較をする場合、デフォルトパラメータとして設定されたblastpと共に「BLAST 2 Sequences」ツールVersion 2.0.12（2000年4月21日）を使用してもよい。デフォルトパラメータの設定例を以下に示す。

#### 【0063】

Matrix: BLOSUM62

Open Gap: 11 及び Extension Gap: 1 penalties

Gap x drop-off: 50

Expect: 10

Word Size: 3

Filter: on

一致率は、完全に画定された（例えば特定の配列番号で画定された）ポリペプチド配列の長さと比較して測定し得る。一致率は、配列或いは、より短い長さ、例えばより大きな画定されたポリペプチド配列から得られた断片（例えば少なくとも15、20、30、40、50、70または150の連続した残基の断片）の長さと比較して一致率を測定してもよい。ここに挙げた長さは単なる例示的なものに過ぎず、表、図及び配列リストを含めた本明細書に記載された配列に裏付けられた任意の配列長さの断片を用いて、或る長さであってその長さに対して一

致率を測定し得る長さを説明し得ることを理解されたい。

【0064】

「ヒト人工染色体」(HAC)は直鎖状の小染色体であり、6 kb ~ 10 MbのサイズのDNA配列を含み、安定した有糸分裂染色体の分離及び維持に必要な全てのエレメントが含まれている。

【0065】

「ヒト化抗体」の語は、非抗体結合領域におけるアミノ酸配列はヒト抗体により近づくように変異させた抗体分子であって、本来の結合能力はそのまま保持しているような抗体分子を指す。

【0066】

「ハイブリダイゼーション」は、所定のハイブリダイゼーション条件下で塩基対を形成することによって、一本鎖ポリヌクレオチドが相補的鎖とアニーリングするプロセスを指す。特異的ハイブリダイゼーションは、2つの核酸配列が高い相同性を共有することを示すものである。特異的ハイブリダイゼーション複合体は許容されるアニーリング条件下で形成され、「洗浄」ステップ後もハイブリダイズされたままである。洗浄ステップは、ハイブリダイゼーションプロセスのストリンジェンシーを決定する際に特に重要であり、更にストリンジェントな条件では、非特異結合(即ち完全には一致しない核酸鎖間の対の結合)が減少する。核酸配列のアニーリングに対する許容条件は、当分野における当業者が慣例的に決定する。許容条件はハイブリダイゼーション実験の間は一定でよいが、洗浄条件は所望のストリンジェンシーを得るように、従ってハイブリダイゼーション特異性も得るように実験中に変更することができる。アニーリング許容条件は、例えば約6 × SSC、約1% (w/v)のSDS及び約100 µg/mlの変性サケ精子DNAの存在下で温度68 において成立する。

【0067】

一般に、ハイブリダイゼーションのストリンジェンシーは、或る程度、洗浄ステップを実行する温度を基準にして表すことができる。このような洗浄温度は通常、所定のイオン強度及びpHにおける特異配列の融点( $T_m$ )より約5 ~ 20 低くなるように選択する。この $T_m$ は、所定のイオン強度及びpHの下で、完全に一致

するプローブに標的配列の50%がハイブリダイズする温度である。T<sub>m</sub>を計算する式及び核酸のハイブリダイゼーション条件はよく知られており、Sambrookら(1989) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 第2版, 1-3巻, Cold Spring Harbor Press, Plainview NYに記載されており、特に2巻の9章を参照されたい。

#### 【0068】

本発明のポリヌクレオチド間のハイブリダイゼーションに対する高ストリンジエンシー条件には、約0.2×SSC及び約1%のSDS存在下で約68℃において1時間の洗浄条件が含まれる。或いは、65℃、60℃、55℃または42℃の温度で行ってもよい。SSC濃度は、約0.1%のSDS存在下で、約0.1~2×SSCの範囲で変化し得る。通常は、遮断剤を用いて非特異ハイブリダイゼーションを阻止する。このような遮断剤には、例えば、約100~200 µg/mlの変性サケ精子DNAがある。特定条件下で、例えばRNAとDNAのハイブリダイゼーションに有機溶剤、例えば約35~50%v/vの濃度のホルムアミドを用いることもできる。洗浄条件の有用なバリエーションは、当業者には自明であろう。ハイブリダイゼーションは、特に高ストリンジエント条件下では、ヌクレオチド間の進化的な類似性を示唆し得る。このような類似性は、ヌクレオチド及びヌクレオチドにコードされるポリペプチドに対する類似の役割を強く示唆している。

#### 【0069】

「ハイブリダイゼーション複合体」の語は、相補的塩基対間の水素結合の形成力によって2つの核酸配列間に形成された複合体を指す。ハイブリダイゼーション複合体は、溶解状態で形成し得る(C<sub>0</sub>tまたはR<sub>0</sub>t解析等)。或いは、一方の核酸配列が溶解状態で存在し、もう一方の核酸配列が固体支持体(例えば紙、膜、フィルタ、チップ、ピンまたはガラススライド、或いは他の適切な基質であって細胞若しくはその核酸が固定される基質)に固定されているような2つの核酸配列間に形成され得る。

#### 【0070】

「挿入」及び「付加」の語は、1若しくは数個のアミノ酸残基またはヌクレオチド配列を各々付加するようなアミノ酸またはヌクレオチド配列における変化を

指す。

【0071】

「免疫応答」は、炎症、外傷、免疫異常症、伝染性疾患または遺伝性疾患に関連する症状を指し得る。これらの症状は、細胞及び全身の防御系に作用し得る種々の因子、例えばサイトカイン、ケモカイン、その他のシグナル伝達分子の発現によって特徴づけることができる。

【0072】

「免疫抗原性断片」とは、哺乳動物等の生命体に導入されると免疫応答を誘発し得るようなPPIMのポリペプチドまたはオリゴペプチド断片である。「免疫抗原性断片」の語には、本明細書中で開示したような或いは当分野で既知であるような任意の抗体産出方法において有用なPPIMの任意のポリペプチドまたはオリゴペプチド断片も含まれる。

【0073】

「マイクロアレイ」の語は、基質上の複数のポリヌクレオチド、ポリペプチドまたはその他の化合物の構成を指す。

【0074】

「エレメント」または「アレイエレメント」の語は、マイクロアレイの環境において、基質の表面上に配置されたハイブリダイズ可能なポリヌクレオチドを指す。

【0075】

「調節(する)」の語は、PPIMの活性の変化を指す。調節することによって例えば、PPIMのタンパク質活性、結合特性その他の生物学的、機能的または免疫学的特性が増大または低下し得る。

【0076】

「核酸」及び「核酸配列」の語は、ヌクレオチド、オリゴヌクレオチド、ポリヌクレオチドまたはこれらの断片を指す。「核酸」及び「核酸配列」の語は、ゲノム起源または合成起源のDNAまたはRNAであって一本鎖または二本鎖であるか或いはセンス鎖またはアンチセンス鎖を表し得るようなDNAまたはRNAや、ペプチド核酸(PNA)や、任意のDNA様またはRNA様物質を指すこともある。

## 【0077】

「機能的に結合した」は、第1核酸配列が第2核酸配列と機能的な関係があるように配置された状態を指す。例えば、プロモーターがコード配列の転写または発現に影響を及ぼす場合には、そのプロモーターはそのコード配列に機能的に結合している。同一のリーディングフレーム内で2つのタンパク質コード領域を結合する必要がある場合、一般に、機能的に結合したDNA配列は非常に近接するか、或いは連続し得る。

## 【0078】

「ペプチド核酸」(PNA)は、アンチセンス分子または抗遺伝子物質であって、リジンを末端とするアミノ酸残基のペプチドバックボーンに結合した、少なくとも約5ヌクレオチドの長さのオリゴヌクレオチドからなるものを指す。末端のリジンは、成分に溶解性を与える。PNAは、相補的一本鎖DNAまたはRNAに優先的に結合して転写の拡張を停止するものであり、ポリエチレングリコール化して細胞におけるPNAの寿命を延長し得る。

## 【0079】

PPIMの「翻訳後修飾」は、脂質化、グリコシル化、リン酸化、アセチル化、ラセミ化、タンパク分解性分割及びその他の当分野で既知の修飾を含み得る。これらのプロセスは、合成的または生化学的に発生し得る。生化学的修飾は、PPIMの酵素環境に依存し、細胞タイプによって変化し得る。

## 【0080】

「プローブ」は、PPIM、PPIMの相補配列またはこれらの断片をコードする核酸配列を指し、同一核酸配列、対立遺伝子核酸配列または関連する核酸配列の検出に用いられる。プローブは、単離されたオリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチドであって、検出可能な標識またはレポーター分子に結合したものである。典型的な標識には、放射性アイソトープ、リガンド、化学発光試薬及び酵素がある。「プライマー」は、短い核酸、通常はDNAオリゴヌクレオチドであり、相補的塩基対を形成することで標的ポリヌクレオチドにアニーリングされ得る。プライマーは次に、DNAポリメラーゼ酵素によって標的DNA鎖に延在し得る。プライマー対は、例えばポリメラーゼ連鎖反応(PCR)による核酸配列の増幅(及び同定)

に用い得る。

【0081】

本発明に用いるようなプローブ及びプライマーは通常、既知の配列の少なくとも15の連続したヌクレオチドを含んでいる。特異性を高めるために長めのプローブ及びプライマー、例えば開示した核酸配列の少なくとも20、25、30、40、50、60、70、80、90、100または少なくとも150の連続したヌクレオチドからなるようなプローブ及びプライマーを用いてもよい。これよりもかなり長いプローブ及びプライマーもある。表、図面及び配列リストを含む本明細書に裏付けされた任意の長さのヌクレオチドを用いることができるものと理解されたい。

【0082】

プローブ及びプライマーの調製及び使用方法については、Sambrook, J. ら (1989) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 第2版, 1-3巻, Cold Spring Harbor Press, Plainview NY、Ausubel, F.M. ら, (1987) Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publi. Assoc. & Wiley-Intersciences, New York NY、Innisら (1990) PCR Protocols, A Guide to Methods and Applications Academic Press, San Diego CA等を参照されたい。PCRプライマー対は、その目的のためのコンピュータプログラム、例えばPrimer (Version 0.5, 1991, Whitehead Institute for Biomedical Research, Cambridge MA) を用いるなどして既知の配列から得ることができる。

【0083】

プライマーとして用いるオリゴヌクレオチドは、そのような目的のために当分野でよく知られているソフトウェアを用いて選択する。例えばOLIGO 4.06ソフトウェアは、各100ヌクレオチドまでのPCRプライマー対の選択に有用であり、オリゴヌクレオチド及び最大5,000までの大きめのポリヌクレオチドであって32キロベースまでのインプットポリヌクレオチド配列から得たものを分析するのに有用である。類似のプライマー選択プログラムには、拡張能力のための追加機能が組込まれている。例えば、PrimOUプライマー選択プログラム(テキサス州ダラスにあるテキサス大学南西部医療センターのゲノムセンターから一般向

けに入手可能)は、メガベース配列から特定のプライマーを選択することが可能であり、従ってゲノム全体の範囲でプライマーを設計するのに有用である。Primer3プライマー選択プログラム(マサチューセッツ州ケンブリッジのWhitehead Institute/MITゲノム研究センターから一般向けに入手可能)ではユーザーが「ミスプライミング・ライブラリ」をインプットすることができ、ここでプライマー結合部位として避けたい配列はユーザーが指定する。Primer3は特に、マイクロアレイのためのオリゴヌクレオチドの選択に有用である(後二者のプライマー選択プログラムのソースコードは、各自のソースから得てユーザー固有のニーズを満たすように変更してもよい)。PrimerGenプログラム(英国ケンブリッジ市の英国ヒトゲノムマッピングプロジェクト-リソースセンターから一般向けに入手可能)は、多数の配列アラインメントに基づいてプライマーを設計し、それによって、アラインメントされた核酸配列の最大保存領域または最小保存領域の何れかとハイブリダイズするようなプライマーの選択を可能にする。従って、このプログラムは、固有であって保存されたオリゴヌクレオチド及びポリヌクレオチドの断片の同定に有用である。上記選択方法のいずれかによって同定したオリゴヌクレオチド及びポリヌクレオチドの断片は、ハイブリダイゼーション技術において、例えばPCRまたはシーケンシングプライマーとして、マイクロアレイエレメントとして、或いは核酸のサンプルにおいて完全または部分的相補的ポリヌクレオチドを同定する特異プローブとして有用である。オリゴヌクレオチドの選択方法は、上記の方法に限定されるものではない。

#### 【0084】

「組換え核酸」は天然配列ではない配列であるか或いは人為的に組み合わせなければ離隔しているような配列の2以上のセグメントを人為的に組み合わせで産出した配列を有する配列である。この人為的組合せはしばしば化学合成によって達成するが、より一般的には核酸の単離セグメントの人為的操作によって、例えば前出のSambrookらの文献に記載されているような遺伝子工学的手法によって達成する。組換え核酸の語は、単に核酸の一部を付加、置換または欠失した変異核酸も含む。しばしば組換え核酸には、プロモーター配列に機能的に結合した核酸配列が含まれる。このような組換え核酸は、ベクターの不可欠なエレメントであ

って例えばある細胞を形質転換するために用いられるようなものであり得る。

【0085】

或いはこのような組換え核酸は、ウイルスベクターの不可欠なエレメントであって例えばワクシニアウイルスに基づくものであり得る。ワクシニアウイルスは組換え核酸が発現される哺乳動物のワクチン接種に用いるもので、哺乳動物の防御免疫応答を誘導する。

【0086】

「調節エレメント」は、通常は遺伝子の非翻訳領域に由来する核酸配列であり、エンハンサー、プロモーター、イントロン及び5'及び3'の非翻訳領域(UTR)を含む。調節エレメントは、転写、翻訳またはRNA安定性を調節する宿主またはウイルスタンパク質と相互作用する。

【0087】

「レポーター分子」とは、核酸、アミノ酸または抗体を標識するのに用いられる化学的または生化学的成分である。レポーター分子には、放射性核種、酵素、蛍光剤、化学発光剤、発色剤、基質、補助因子、阻害因子、磁気粒子及びその他の当分野で既知の成分がある。

【0088】

DNA配列に関する「RNA等価物」は、発生した窒素塩基チミンが全てウラシルに置換されていることと、糖のバックボーンがデオキシリボースではなくリボースから構成されていることを除いて、参照DNA配列と同一のヌクレオチド線形配列から構成されている。

【0089】

「サンプル」の語は、その最も広い意味で用いられる。PPIMをコードする核酸若しくはその断片、またはPPIM自体を含む疑いのあるサンプルは、体液、細胞から単離された細胞、染色体、細胞小器官または膜からの抽出物、細胞、溶解しているか基質に結合しているゲノムDNA、RNAまたはcDNA、組織、組織プリント等から構成され得る。

【0090】

「特異結合」または「特異的に結合する」の語は、タンパク質またはペプチド

と、アゴニスト、抗体、アンタゴニスト、小分子、任意の天然成分または合成結合成分との間の相互作用を指す。この相互作用は、タンパク質の特定の構造（例えば抗原決定基即ちエピトープ）であって結合分子が認識するものが存在するか否かに依存していることを意味している。例えば、抗体がエピトープ「A」に対して特異的であれば、エピトープA即ち遊離の非標識A及び抗体を含む反応において、遊離の非標識Aを含むポリヌクレオチドの存在が、抗体に結合する標識Aの量を低減させることになる。

【0091】

「実質上精製された」の語は、自然環境から取り除かれ、或いは単離または分離された核酸またはアミノ酸配列であって、自然に会合するその他の構成エレメントの少なくとも約60%、好ましくは少なくとも約75%、最も好ましいのは少なくとも約90%が遊離しているものを指す。

【0092】

「置換」は、1若しくは数個のアミノ酸またはヌクレオチドを各々別のアミノ酸またはヌクレオチドに置換することを意味する。

【0093】

「基質」は、任意の好適な固体または半固体の支持体を指すものであって、膜、フィルタ、チップ、スライド、ウエハ、ファイバー、磁性非磁性ビーズ、ゲル、管、プレート、ポリマー、微細粒子、毛管が含まれる。基質は、壁、溝、ピン、チャンネル、孔等、様々な表面形態を有することができ、基質表面にはポリヌクレオチドやポリペプチドが結合する。

【0094】

「転写イメージ」は、所与の時間、条件での固有の細胞タイプまたは組織による遺伝子発現の集合的パターンを指す。

【0095】

「形質転換」は、外来性のDNAが宿主細胞に入り込み、宿主細胞を変化させるプロセスを表す。形質転換は、当分野で知られている種々の方法に従って自然条件または人工条件下で生じ得るものであり、外来性の核酸配列を原核または真核宿主細胞に挿入する任意の既知の方法を基にし得る。形質転換の方法は、形質転

換する宿主細胞の種類によって選択する。限定するものではないが形質転換方法には、ウイルス感染、電気穿孔法（エレクトロポレーション）、熱ショック、リポフェクション及び微粒子照射を用いる方法がある。「形質転換された」細胞の語には、限られた時間内に挿入されたDNAやRNAを発現するような一時的に形質転換された細胞のみならず、安定的に形質転換された細胞であってその中に挿入されたDNAが自律的に複製するプラスミドとして或いは宿主の染色体の一部として複製可能であるものも含まれる。

#### 【0096】

本明細書中で用いられる「遺伝形質転換体」とは任意の有機体であり、限定するものではないが動植物を含み、有機体の1若しくは数個の細胞が、ヒトの関与によって、例えば当分野でよく知られている形質転換技術によって導入された異種核酸を有する。核酸の細胞への導入は、直接または間接的に、細胞の前駆物質に導入することによって、計画的な遺伝子操作によって、例えば微量注射法によって或いは組換えウイルスの導入によって行う。遺伝子操作の語は、古典的な交雑育種或いはin vitro受精を指すものではなく、組換えDNA分子の導入を指すものである。本発明に基づいて予期される遺伝形質転換体には、バクテリア、シアノバクテリア、真菌及び動植物がある。本発明の単離されたDNAは、当分野で知られている方法、例えば感染、形質移入、形質転換またはトランス接合によって宿主に導入することができる。本発明のDNAをこのような有機体に移入する技術はよく知られており、前出のSambrookら（1989）等の参考文献に与えられている。

#### 【0097】

特定の核酸配列の「変異体」は、核酸配列1本全部の長さに対して特定の核酸配列と少なくとも40%の配列相同性を有する核酸配列であると定義する。その際、デフォルトパラメータに設定した「BLAST 2 Sequences」ツールVersion 2.0.9（1999年5月7日）と共にblastnを用いる。このような核酸対は、所定の長さに対して、例えば少なくとも50%、60%、70%、80%、85%、90%、95%、98%またはそれ以上の相同性を示し得る。或る変異体は、例えば「対立遺伝子」変異体（前述）、「スプライス」変異体、「種」変異体または「多型

」変異体として説明し得る。スプライス変異体は参照分子とかなりの相同性を有し得るが、mRNAプロセッシング中のエキソンの交互スプライシングによって通常多数の或いは僅かな数のポリヌクレオチドを有することになる。対応するポリペプチドは、追加機能ドメインを有するか或いは参照分子に存在するドメインが欠落していることがある。種変異体は、種相互に異なるポリヌクレオチド配列である。結果的に生じるポリペプチドは通常、相互にかなりのアミノ酸相同性を有する。多型変異体は、与えられた種の個体間で特定の遺伝子のポリヌクレオチド配列が異なる。また、多型変異体は、1つのヌクレオチド塩基によってポリヌクレオチド配列が変化する「一塩基多型」(SNP)を含み得る。SNPの存在は、例えば特定の個体群、病状または病状性向を示し得る。

#### 【0098】

特定のポリペプチド配列の「変異体」は、ポリペプチド配列の1本の長さ全体で特定のポリペプチド配列に対して少なくとも40%の相同性を有するポリペプチド配列として画定される。ここで、デフォルトパラメータに設定した「BLAST 2 Sequences」ツールVersion 2.0.9(1999年5月7日)を用いてblastpを実行する。このようなポリペプチド対は、所定の長さに対して、例えば少なくとも50%、60%、70%、80%、90%、95%、98%またはそれ以上の相同性を示し得る。

#### 【0099】

##### 発明

本発明は、新規なプロテアーゼ及びプロテアーゼインヒビター(PPIM)、PPIMをコードするポリヌクレオチド、及び、細胞増殖異常及び自己免疫/炎症性疾患の診断、治療並びに予防にこれらの配列を利用する方法の発見に基づくものである。

#### 【0100】

表1は、PPIMをコードする完全長のヌクレオチド配列の構築に用いたIncyteクローンを示す。列1及び列2は、ポリペプチド及びポリヌクレオチドの配列番号(SEQ ID NO)を各々示している。列3はIncyteクローンのクローンIDを示しており、各PPIMをコードする核酸はここで同定されたものである。列4はcDNAライ

ブラリを示しており、列3のクローンはここから単離したものである。列5は、Incyteクローン及びこれに対応するcDNAライブラリを示している。cDNAライブラリが示されていないIncyteクローンは、プールされているcDNAライブラリから得られたものである。列5のIncyteクローンを用いて各PPIMのコンセンサスヌクレオチド配列を構築した。列5のIncyteクローンは、ハイブリダイゼーション技術における断片として有用である。

#### 【0101】

表2の列は、本発明の各ポリペプチドの様々な特性を示している。列1は配列番号 (SEQ ID NO) を、列2は各ポリペプチド中のアミノ酸残基の数を、列3は潜在的リン酸化部位を、列4は潜在的グリコシル化部位を、列5はサイン (signature) 配列及びモチーフを有するアミノ酸残基を、列6はBLAST分析によって同定された相同配列、列7は分析方法と場合によってはその分析方法が利用できる検索可能なデータベースを示している。列7の分析方法を用いて、配列相同性及びタンパク質モチーフから各ポリペプチドの特徴付けを行った。

#### 【0102】

表3の列は、組織特異性と、PPIMをコードするヌクレオチド配列に関係がある疾患、障害または症状とを示している。表3の列1はヌクレオチドの配列番号を、列2は列1のヌクレオチド配列の断片を示している。これらの断片は、例えば配列番号28乃至54を同定し、配列番号28乃至54と関連するポリヌクレオチド配列とを区別するためのハイブリダイゼーションまたは増幅の技術において有用である。配列番号28、配列番号29、配列番号30、配列番号31、配列番号32、配列番号33、配列番号34、配列番号35、配列番号36、配列番号39、配列番号40、配列番号41、配列番号42、配列番号43、配列番号44、配列番号45、配列番号46、配列番号47、配列番号48、配列番号49、配列番号50、配列番号51、配列番号52、配列番号53、配列番号54から選択された断片によりコードされるポリヌクレオチドは、例えば免疫抗原性ペプチドとして有用である。列3は、PPIMを発現する組織カテゴリーを組織全体に対するPPIM発現割合として示している。列4は、PPIMを発現する組織に関連する疾患、障害または症状を、PPIMを発現する組織全体に対する割合として示して

いる。列5は、各cDNAライブラリをサブクローニングするために用いたベクターを示している。配列番号28の胃腸組織での発現は特筆すべきである。配列番号51の組織特異発現は特筆すべきである。配列番号51を発現する組織の83%以上は胃腸組織、特に肝臓に由来する。

#### 【0103】

表4の列では、cDNAライブラリの作製に用いた組織の説明を示している。PPIMをコードするcDNAのクローンは、このcDNAライブラリから単離したものである。列1は、ヌクレオチドの配列番号を、列2はクローン単離源であるcDNAライブラリを、列3は列2のcDNAライブラリに関連する組織の採取源その他の書誌的情報を示している。

#### 【0104】

配列番号30は、78.4～90.6センチモルガンの間隔内で染色体9にマッピングする。この間隔には、細胞増殖に関連する遺伝子も含まれる。

#### 【0105】

配列番号37は、116.6～118.9センチモルガンの間隔内で染色体12にマッピングする。この間隔には、神経疾患に関連する遺伝子も含まれる。

#### 【0106】

配列番号47は、99.2～105.2センチモルガンの間隔内で染色体12にマッピングする。この間隔には、心血管疾患に関連する遺伝子も含まれる。

#### 【0107】

本発明には、PPIMの変異体も含まれる。好適なPPIMの変異体のアミノ酸配列は、PPIMアミノ酸配列と少なくとも約80%、約90%、または約95%もの一致率を有し、PPIMの機能的若しくは構造的特徴を少なくとも1つ有するような変異体である。

#### 【0108】

本発明には、PPIMをコードするポリヌクレオチドも含まれる。一実施例では、本発明には、PPIMをコードする配列番号28乃至54を含む群から選択された配列を有するポリヌクレオチド配列が含まれている。配列表に示したような配列番号28乃至54のポリヌクレオチド配列は、配列表に示されているように等価RN

A配列と同等の価値を有しているが、窒素塩基チミンの出現はウラシルに置換され、糖のバックボーンはデオキシリボースではなくシリボースから構成されている。

#### 【0109】

本発明には、PPIMをコードするポリヌクレオチド配列の変異配列も含まれる。具体的には、そのようなポリヌクレオチド配列の変異配列は、PPIMをコードするポリヌクレオチド配列と少なくとも約70%、或いは少なくとも約85%、または少なくとも約95%もの一致率を有する。本発明の或る実施態様では、配列番号28乃至54からなる群から選択されたアミノ酸配列と少なくとも約70%、或いは少なくとも約85%、または少なくとも約95%もの一致率を有するような配列番号28乃至54からなる群から選択された配列を有するポリヌクレオチド配列の変異配列を含む。上記の任意のポリヌクレオチドの変異体は、PPIMの機能的若しくは構造的特徴を少なくとも1つ有するアミノ酸配列をコードし得る。

#### 【0110】

当業者であれば、遺伝暗号の縮重の結果、PPIMをコードする多数のポリヌクレオチド配列（既知の遺伝子または天然の遺伝子のポリヌクレオチド配列と最低限の類似性しか有しないポリヌクレオチド配列もある）を産出し得ることは理解できよう。従って本発明には、可能コドン選択に基づく組合せの選択によって産出し得るようなありとあらゆる可能性のあるポリヌクレオチド配列変異体を網羅し得る。これらの組合せは、天然のPPIMのポリヌクレオチド配列に適用されるような標準トリプレット遺伝暗号を基に作られるものであり、このような変異は全て明確に開示されているものと考えられる。

#### 【0111】

PPIM及びその変異体をコードするヌクレオチド配列は通常、好適に選択されたストリンジェントな条件下で天然のPPIMのヌクレオチド配列とハイブリダイズ可能であるが、PPIMまたはその誘導體であって実質上異なるコドンの使用法があるもの、例えば天然に存在しないコドンの封入があるものをコードするヌクレオチド配列を作り出すことは有益であろう。宿主が特定のコドンを利用する頻度に基づいて、特定の真核又は原核宿主に発生するペプチドの発現率を高めるようにコ

ドンを選択することが可能である。コードされたアミノ酸配列を変えることなくPPIM及びその誘導体をコードするヌクレオチド配列を実質上変更する別の理由には、天然の配列から作製される転写物より好ましい、例えば半減期が長いなどの特性を有するRNA転写物の作製がある。

#### 【0112】

本発明には、PPIM、PPIM誘導体及びこれらの断片をコードするDNA配列またはそれらの断片を完全に合成化学によって作製することも含まれる。作製後、当分野でよく知られている試薬を用いて、この合成配列を任意の様々な入手可能な発現ベクター及び細胞系中に挿入し得る。更に、合成化学を用いてPPIMまたはその任意の断片をコードする配列に突然変異を誘導し得る。

#### 【0113】

更に本発明には、種々のストリンジェントな条件下で、請求項に記載のポリヌクレオチド配列、特に配列番号28乃至54で示される配列及びそれらの断片にハイブリダイズ可能なポリヌクレオチド配列も含まれる (Wahl, G.M. and S.L. Berger (1987) *Methods Enzymol.* 152:399-407、Kimmel, A.R. (1987) *Methods Enzymol.* 152:507-511.等を参照)。アニーリング条件及び洗浄条件を含めたハイブリダイゼーション条件は、「定義」の項に記載されている。

#### 【0114】

DNAシーケンシングの方法は当分野でよく知られており、DNAシーケンシング方法を用いて本発明の任意の実施例を実施し得る。DNAシーケンシング方法には酵素を用いることができ、例えばDNAポリメラーゼIのクレノウ断片、SEQUENASE (US Biochemical, Cleveland OH)、Taqポリメラーゼ (PE Biosystems, Foster City CA)、熱安定性T7ポリメラーゼ (Amersham, Pharmacia Biotech, Piscataway NJ) を用いることができる。或いは、例えばELONGASE増幅システム (Life Technologies, Gaithersburg MD) において見られるように、ポリメラーゼと校正エキソヌクレアーゼを併用することができる。好適には、MICROLAB2200液体転移システム (Hamilton, Reno, NV)、PTC200サーマルサイクラー (MJ Research, Watertown MA) 及びABI CATALYST 800サーマルサイクラー (PE Biosystems) 等の装置を用いて配列の準備を自動化する。次に、ABI 373 或いは 377 DNAシー

クエンシングシステム (PE Biosystems)、MEGABACE 1000 DNAシーケンシングシステム (Molecular Dynamics, Sunnyvale CA) または当分野でよく知られている他の方法を用いてシーケンシングを行う。結果として得られた配列を当分野でよく知られている種々のアルゴリズムを用いて分析する。(Ausubel, F.M. (1997) Short Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, New York NY, unit 7.7、Meyers, R.A. (1995) Molecular Biology and Biotechnology, Wiley VCH, New York NY, pp. 856-853.等を参照)。

#### 【0115】

PPIMをコードする核酸配列を、部分的ヌクレオチド配列を利用し且つ当分野でよく知られているPCR法をベースにした種々の方法を用いて伸長させ、プロモーター及び調節要素等の上流配列を検出することができる。例えば、使用し得る方法の1つである制限部位PCR法は、ユニバーサルプライマー及びネステッドプライマーを用いてクローニングベクター内のゲノムDNAから未知の配列を増幅する方法である (Sarkar, G. (1993) PCR Methods Applic 2:318-322等を参照)。別の方法に逆PCR法があり、これは広範な方向に伸長させたプライマーを用いて環状化した鋳型から未知の配列を増幅する方法である。鋳型は、既知のゲノム遺伝子座及びその周辺の配列からなる制限断片から得る (Triglia, T.ら (1988) Nucleic Acids Res 16:8186等を参照)。第3の方法としてキャプチャPCR法があり、これはヒト及び酵母菌人工染色体DNAの既知の配列に隣接するDNA断片をPCR増幅する方法に関与している (Lagerstrom, M.ら (1991) PCR Methods Applic 1:111-119等を参照)。この方法では、PCRを行う前に多重制限酵素の消化及び連結反応を用いて未知の配列領域内に組換え二本鎖配列を挿入することが可能である。また、未知の配列を検索するために用い得る別の方法については当分野で知られている。(Parker, J.D.ら (1991) Nucleic Acids Res. 19:3055-3060等を参照)。更に、PCR、ネステッドプライマー及びプロモーターファインダーライブラリ (Clontech, Palo Alto CA) を用いてゲノムDNAをウォーキングすることができる。この手順は、ライブラリをスクリーニングする必要がなく、イントロン/エキソン接合部を見つけるのに有用である。全てのPCRベースの方法に対して、市販されているソフトウェア、例えばOLIGO 4.06プライマー分析ソフトウェア (

National Biosciences, Plymouth MN) 或いは別の好適なプログラムを用いて、長さが約22~30ヌクレオチド、GC含有率が約50%以上、温度約68~72で鋳型に対してアニーリングするようにプライマーを設計し得る。

#### 【0116】

完全長cDNAをスクリーニングする際は、より大きなcDNAを含むようにサイズ選択したライブラリを用いるのが好ましい。更に、ランダムに初回抗原刺激を受けたライブラリは、しばしば遺伝子の5'領域を有する配列を含み、オリゴd(T)ライブラリが完全長cDNAを作製できない状況に対して好適である。ゲノムライブラリは、5'非転写調節領域への配列の伸長に有用となり得る。

#### 【0117】

市販されているキャピラリー電気泳動システムを用いて、シーケンシングまたはPCR産物のサイズを分析し、またはそのヌクレオチド配列を確認することができる。具体的には、キャピラリーシーケンシングは、電気泳動による分離のための流動性ポリマーと、4つの異なるヌクレオチドに特異的であるような、レーザーで活性化される蛍光色素と、放出された波長の検出に用いるCCDカメラとを有し得る。出力/光の強度は、適切なソフトウェア(PE Biosystems社のGENOTYPER、SEQUENCE NAVIGATOR等)を用いて電気信号に変換し得る。サンプルのロードからコンピュータ分析及び電子データ表示までの全プロセスがコンピュータ制御可能である。キャピラリー電気泳動法は、特定のサンプルに少量しか存在しないようなDNA小断片のシーケンシングに特に適している。

#### 【0118】

本発明の別の実施例では、PPIMをコードするポリヌクレオチド配列またはその断片を、適切な宿主細胞内でPPIM、PPIMの断片またはその機能的等価物を発現させるような組換えDNA分子内でクローニングし得る。遺伝暗号固有の宿重に起因して実質的同一或いは機能的等価のアミノ酸配列をコードするような別のDNA配列を作製し、PPIMの発現に利用し得る。

#### 【0119】

種々の目的(限定するものではないが遺伝子産物のクローニング、プロセッシング、発現の調節を含む)のために、PPIMコード化配列を変えるための、当分野

で通常知られている方法を用いて、本発明のヌクレオチド配列を組み換えることが可能である。遺伝子断片及び合成オリゴヌクレオチドのランダムなフラグメンテーション及びPCR再アセンブリによるDNAシャッフリングを用い、ヌクレオチド配列を組み換えることが可能である。例えば、オリゴヌクレオチド媒介定方向突然変異誘導を利用して、新規な制限部位の生成、グリコシル化パターンの変更、コドン優先の変更、スプライス変異体の生成等を行う突然変異を導入し得る。

#### 【0120】

本発明のヌクレオチドは、MolecularBreeding (Maxygen Inc., Santa Clara CA、米国特許第5,837,458号、Chang, C.-C.ら (1999) Nat. Biotechnol. 17:793-797、Christians, F.C.ら (1999) Nat. Biotechnol. 17:259-264、Cramer, A.ら (1996) Nat. Biotechnol. 14:315-319 に記載)等のDNAシャッフリング技術の対象となり、PPIMの生物学的特性、例えば生物活性、酵素力、或いは他の分子や化合物との結合力等を変更または向上させ得る。DNAシャッフリングは、遺伝子断片のPCR媒介再組換えを用いて遺伝子変異体のライブラリを生成するプロセスである。ライブラリはその後、その遺伝子変異体を所望の特性に同定するような選択またはスクリーニングにかける。次にこれらの好適な変異体をプールし、更に反復してDNAシャッフリング及び選択/スクリーニングを行ってもよい。このように、遺伝の多様性は「人為的」品種改良及び急速な分子の進化を経て創生される。例えば、ランダムポイント突然変異を有する単一の遺伝子の断片を再結合し、スクリーニングし、その後所望の特性が最適化されるまでシャッフリングすることができる。或いは、所定の遺伝子を同種または異種のいずれかから得た同一遺伝子ファミリーの相同遺伝子と再結合し、それによって天然に存在する複数の遺伝子の遺伝多様性を、指図された制御可能な方法で最大化させることができる。

#### 【0121】

別の実施例によれば、当分野でよく知られている化学的方法を用いて、PPIMをコードする配列の全部或いは一部を合成し得る (Caruthers, M.H.ら (1980) Nucleic Acids Symp. Ser 7:215-223、Horn, T.ら (1980) Nucleic Acids Symp. Ser. 7:225-232等を参照)。或いは、化学的方法を用いてPPIMそれ自体またはそ

の断片を合成し得る。例えば、種々の液相または固相技術を用いてペプチド合成を行うことができる (Creighton, T. (1984) *Proteins, Structures and Molecular Properties*, WH Freeman, New York NY, pp. 55-60、Roberge, J.Y. ら (1995) *Science* 269:202-204等を参照)。自動合成はABI 431Aペプチドシンセサイザ (Perkin Elmer) を用いて達成し得る。更にPPIMのアミノ酸配列またはその任意の一部は、直接合成する間及び/または他のタンパク質から得た配列またはその任意の一部と結合する間に変更し、変異型ポリペプチドを生成し得る。

#### 【0122】

ペプチドは、分離用高速液体クロマトグラフィーを用いて実質上精製し得る (Chiez, R.M. and F.Z. Regnier (1990) *Methods Enzymol.* 182:392-421等を参照)。合成ペプチドの組成は、アミノ酸分析またはシーケンシングによって確認することができる (前出のCreighton, pp.28-53等を参照)。

#### 【0123】

生物学的に活性なPPIMを発現するために、PPIMをコードするヌクレオチド配列またはその誘導体を好適な発現ベクターに挿入することができる。好適な発現ベクターとは即ち好適な宿主内で挿入されたコーディング配列の転写及び翻訳の調節に必要な要素を含むベクターである。必要な要素には、ベクター及びPPIMをコードするポリヌクレオチド配列におけるエンハンサー、構成型及び発現誘導型プロモーター、5'及び3'の非翻訳領域などの調節配列がある。このような要素は、長さ及び特異性が様々である。固有開始シグナルを用いて、PPIMをコードする配列をより効果的に翻訳することが可能もある。このようなシグナルには、ATG開始コドンと、コザック配列などの近傍の配列が含まれる。PPIMをコードする配列及びその開始コドン、上流の調節配列が好適な発現ベクターに挿入された場合は、更なる転写調節シグナルや翻訳調節シグナルは必要なくなるであろう。しかしながら、コーディング配列或いはその断片のみが挿入された場合は、インフレームのATG開始コドンを含む外来性の翻訳調節シグナルが発現ベクターに含まれるようにすべきである。外来性の翻訳要素及び開始コドンは、様々な天然物及び合成物を起源とし得る。発現の効率は、用いられる特定の宿主細胞系に好適なエンハンサーを包含することによって高めることができる (Scharf, D. ら (1994)

Results Probl. Cell Differ. 20:125-162.等を参照)。

【0124】

当業者によく知られている方法を用いて、PPIMをコードする配列と、好適な転写及び翻訳調節要素とを含む発現ベクターを構築し得る。この方法には、in vitro組換えDNA技術、合成技術及びin vivo遺伝子組換え技術がある (Sambrook, J. ら (1989) Molecular Cloning. A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Press, Plainview NYの4, 8, 16-17章、Ausubel, F.M. ら. (1995) Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, New York NYの9, 13, 16章等を参照)。

【0125】

種々の発現ベクター/宿主系を利用して、PPIMをコードする配列を保持及び発現し得る。限定するものではないがこのような発現ベクター/宿主系には、組換えバクテリオファージ、プラスミドまたはコスミドDNA発現ベクターで形質転換させた細菌や、酵母菌発現ベクターで形質転換させた酵母菌や、ウイルス発現ベクター (例えばバキュロウイルス) に感染した昆虫細胞系や、ウイルス発現ベクター (例えばカリフラワーモザイクウイルスCaMVまたはタバコモザイクウイルスTMV) または細菌発現ベクター (例えばTiまたはpBR322プラスミド) で形質転換させた植物細胞系、動物細胞系などの微生物等がある (前出のSambrook、前出のAusubel、Van Heeke, G. and S.M. Schuster (1989) *J. Biol. Chem.* 264:5503-5509、Bitter, G.A. ら (1987) *Methods Enzymol.* 153:516-544; Scorer, C.A. ら (1994) *Bio/Technology* 12:18 1-184; Engelhard, E.K. ら (1994) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91:3224-3227、Sandig, V. ら (1996) *Hum. Gene Ther.* 7:1937-1945、タカマツ, N. (1987) *EMBOJ.* 6:307-311、Coruzzi, G. ら (1984) *EMBOJ.* 3:1671-1680、Broglie, R. ら (1984) *Science* 224:838-843、Winter, J. ら (1991) *Results Probl. Cell Differ.* 17:85-105、『マグローヒル科学技術年鑑』 (The McGraw Hill Yearbook of Science and Technology) (1992) McGraw Hill New York NY, pp.191-196、Logan, J. and T. Shenk (1984) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81:3655-3659、Harrington, J.J. ら (1997) *Nat. Genet.* 15:345-355等を参照)。レトロウイルス、アデノウイルス、ヘルペスウイルスまた

はワクシニアウイルス由来の発現ベクターまたは種々の細菌性プラスミド由来の発現ベクターを用いて、ポリヌクレオチド配列を標的器官、組織または細胞集団へ輸送することができる (Di Nicola, M. ら (1998) *Cancer Gen. Ther.* 5(6):350-356、Yu, M. ら (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90(13):6340-6344、Buller, R.M. ら (1985) *Nature* 317(6040):813-815; McGregor, D.P. ら (1994) *Mol. Immunol.* 31(3):219-226、Verma, I.M. and N. Somia (1997) *Nature* 389:239-242等を参照)。本発明は、使用する宿主細胞によって限定されるものではない。

#### 【0126】

細菌系では、PPIMをコードするポリヌクレオチド配列の使用目的に応じて多数のクローニングベクター及び発現ベクターを選択し得る。例えば、PPIMをコードするポリヌクレオチド配列の日常的なクローニング、サブクローニング及び増殖には、PBLUESCRIPT (Stratagene, La Jolla CA) またはPSPORT 1 プラスミド (Life Technologies) などの多機能大腸菌ベクターを用いることができる。PPIMをコードする配列の、ベクターの多数のクローニング部位への連結反応によって、lacZ 遺伝子が破壊され、組換え分子を含む形質転換された細菌を同定するための比色スクリーニング法が可能となる。更にこれらのベクターは、クローニングされた配列における *in vitro* 転写、ジデオキシのシーケンシング、ヘルパーファージによる一本鎖の救出、入れ子状態の欠失の生成にも有用であろう (Van Heeke, G. and S.M. Schuster (1989) *J. Biol. Chem.* 264:5503-5509. 等を参照)。多量のPPIMが必要な場合、例えば抗体を生成する場合などには、PPIMの発現をハイレベルで誘導するベクターが使用できる。例えば、強力な誘導性のT5またはT7バクテリオファージプロモーターを含むベクターを使用し得る。

#### 【0127】

酵母の発現系を使用してPPIMの産物を生成し得る。因子、アルコールオキシダーゼ、PGHプロモーター等の構成型或いは誘導型のプロモーターを含む多数のベクターが、酵母菌サッカロミセス - セレビジエまたは *Pichia pastoris* に使用可能である。更に、このようなベクターは、発現したタンパク質を分泌或いは細胞内への保持のいずれかに誘導し、安定した増殖のために外来配列の宿主ゲノム

への組込みを可能にする(前出のAusubel (1995)、前出のBitter、前出のScorer等を参照)。

#### 【0128】

植物系を使用してPPIMを発現することも可能である。PPIMをコードする配列の転写は、ウイルスプロモーター、例えば単独或いはTMV(タカマツ, N. (1987) E MBO J 6:307-311)由来のオメガリーダー配列と組み合わせて用いられるようなCaMV由来の35S及び19Sプロモーターによって促進される。或いは、RUBISCOの小サブユニット等の植物プロモーターまたは熱ショックプロモーターを用いてもよい(前出のCoruzzi、前出のBroglie、前出のWinter等を参照)。これらの構成物は、直接DNA形質転換または病原体を媒介とする形質移入によって、植物細胞内に導入可能である(『マグローヒル科学技術年鑑』(The McGraw Hill Yearbook of Science and Technology) (1992) McGraw Hill New York NY, pp.191-196等を参照)。

#### 【0129】

哺乳動物細胞においては、多数のウイルスベースの発現系を利用し得る。発現ベクターとしてアデノウイルスを用いる場合、PPIMをコードする配列は、後発プロモーター及び3連リーダー配列からなるアデノウイルス転写/翻訳複合体に連結反応され得る。可欠E1またはE3領域へウイルスのゲノムを挿入し、宿主細胞でPPIMを発現する感染ウイルスを得ることが可能である(Logan, J. and T. Shenk (1984) Proc. Natl. Acad. Sci. 81:3655-3659等を参照)。更に、ラウス肉腫ウイルス(RSV)エンハンサー等の転写エンハンサーを用いて、哺乳動物宿主細胞における発現を増大させ得る。SV40またはEBVをベースにしたベクターを用いてタンパク質を高レベルで発現させることもできる。

#### 【0130】

ヒト人工染色体(HAC)を用いて、プラスミドに含まれ且つプラスミドから発現するものより大きなDNAの断片を輸送することもできる。治療目的のために約6 kb ~ 10 MbのHACを作製し、従来の輸送方法(リポソーム、ポリカチオンアミノポリマーまたはベシクル)で供給する(Harrington, J.J. ら (1997) Nat Genet. 15:345-355.等を参照)。

## 【0131】

長期にわたり哺乳動物系内で組換えタンパク質を産出するためには、株化細胞内でのPPIMの安定発現が望ましい。例えば、発現ベクターであって複製及び/または内在性発現因子のウイルス起源を含むものと、同一或いは別のベクター上の選択可能マーカ―遺伝子とを用いて、PPIMをコードする配列を細胞株に形質転換することが可能である。ベクターの導入後、選択培地に移す前に強化培地で約1～2日間細胞を増殖させることができる。選択可能マーカ―の目的は選択培地への抵抗性を与えることであり、選択可能マーカ―が存在することにより、導入された配列をうまく発現するような細胞の成長及び回収が可能となる。安定的に形質転換された細胞の耐性クローンは、その細胞型に適した組織培養技術を用いて増殖可能である。

## 【0132】

任意の数の選択系を用いて、形質転換細胞株を回収できる。限定するものではないがこのような選択系には、*tk*<sup>-</sup>単純細胞のために用いられるヘルペスウイルスチミジンキナーゼ遺伝子と、*apr*<sup>-</sup>細胞のために用いられるアデニンホスホリボシルトランスフェラーゼ遺伝子がある(Wigler, M. ら (1977) *Cell* 11:223-232、Lowy, I. ら (1980) *Cell* 22:817-823等を参照)。また、選択の基礎として代謝拮抗物質、抗生物質或いは除草剤への耐性を用いることができる。例えば*dhfr*はメトトレキサートに対する耐性を与え、*neo*はアミノグリコシッドネオマイシン及びG-418に対する耐性を与え、*als*はクロルスルフロンに対する耐性を、*pat*はホスフィノトリシンアセチルトランスフェラーゼに対する耐性を各々与える(Wigler, M. ら (1980) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:3567-3570、Colbere-Garapin, F. ら (1981) *J. Mol. Biol.* 150:1-14 等を参照)。この他の選択可能遺伝子、例えば、代謝のための細胞要求を変える*trpB*及び*hisD*は、文献に記載されている(Hartman, S.C. and R.C. Mulligan (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:8047-8051等を参照)。可視マーカ―、例えばアノトシアニン、緑色蛍光タンパク質(GFP; Clontech)、グルクロニダーゼ及びその基質 グルクロニド、またはルシフェラーゼ及びその基質ルシフェリン等を用いてもよい。これらのマーカ―を用いて、トランスフォーマントを特定するだけでなく、特定のベ

クター系に起因する一過性或いは安定したタンパク質発現を定量することが可能である (Rhodes, C.A. (1995) *Methods Mol. Biol.* 55:121-131等を参照)。

#### 【0133】

マーカー遺伝子発現の存在 / 不存在によって目的の遺伝子の存在が示唆されても、その遺伝子の存在及び発現の確認が必要な場合もある。例えば、PPIMをコードする配列がマーカー遺伝子配列内に挿入された場合、PPIMをコードする配列を含む形質転換細胞は、マーカー遺伝子機能の欠落により同定することが可能である。または単一プロモーター制御下で、PPIMをコードする配列とタンデムにマーカー遺伝子を配置することも可能である。誘導または選択に応答したマーカー遺伝子の発現は通常、タンデム遺伝子の発現も示す。

#### 【0134】

通常は、当業者によく知られている種々の方法を用いて、PPIMをコードする核酸配列を含み且つPPIMを発現する宿主細胞を同定することが可能である。限定するものではないが当業者によく知られている方法には、DNA-DNA或いはDNA-RNAハイブリダイゼーション、PCR法、核酸或いはタンパク質の検出及び / または定量を行うための膜系、溶液ベース或いはチップベースの技術を含むタンパク質バイオアッセイまたはイムノアッセイ技術がある。

#### 【0135】

特異的ポリクローナル抗体または特異的モノクローナル抗体を用いてPPIMの発現の検出及び計測を行うための免疫学的方法は、当分野で公知である。このような技術の例としては、酵素に結合したイムノソルベントアッセイ (ELISA)、ラジオイムノアッセイ (RIA)、蛍光活性化細胞選別 (FACS) などが挙げられる。PPIM上の2つの非干渉エピトープに反応するモノクローナル抗体を用いた、2部位モノクローナルベースのイムノアッセイ (two-site, monoclonal-based immunoassay) が好ましいが、競合結合アッセイも用いることもできる。これらのアッセイ及びこれ以外のアッセイは、当分野で公知である (Hampton, R. ら (1990) *Serological Methods, a Laboratory Manual*. APS Press. St Paul. MN, Sect. IV, Coligan, J. E. ら (1997) *Current Protocols in Immunology*, Greene Publishing Associates and Wiley-Interscience, New York NY, Pound, J.D. (1998) *Imm*

unochemical Protocols, Humans Press, Totowa NJ等を参照 )。

#### 【0136】

多岐にわたる標識方法及び結合方法が当業者に既知であり、これらの方法は様々な核酸アッセイおよびアミノ酸アッセイに用い得る。PPIMをコードするポリヌクレオチドに関連する配列を検出するための、標識されたハイブリダイゼーションプローブ或いはPCRプローブを産出する方法には、オリゴ標識化、ニックトランスレーション、末端標識化、または標識されたヌクレオチドを用いるPCR法がある。或いは、PPIMをコードする配列またはその任意の断片を、mRNAプローブを産出するためのベクターにクローニングすることも可能である。このようなベクターは、当分野において知られており、市販もされており、T7、T3またはSP6等の好適なRNAポリメラーゼ及び標識されたヌクレオチドを加えて、in vitroでRNAプローブの合成に用いることができる。このような方法は、例えばAmersham Pharmacia Biotech、Promega (Madison WI)、U.S. Biochemical等から市販されている種々のキットを用いて実行することができる。検出を容易にするために用い得る好適なレポーター分子或いは標識には、基質、補助因子、インヒビター、磁気粒子のほか、放射性核種、酵素、蛍光剤、化学発光剤、発色剤等がある。

#### 【0137】

PPIMをコードするヌクレオチド配列を用いて形質転換した宿主細胞は、細胞培地からのタンパク質の回収及び発現に適した条件下で培養し得る。形質転換細胞から製造されたタンパク質が分泌されるか細胞内に留まるかは、使用される配列、ベクター、或いはその両者に依存する。当業者であれば理解し得るように、PPIMをコードするポリヌクレオチドを含む発現ベクターを、原核細胞膜または真核細胞膜を透過するPPIMの直接分泌を誘導するシグナル配列を含むように設計し得る。

#### 【0138】

更に、宿主細胞株の選択は、挿入した配列の発現を調節する能力または発現したタンパク質を所望の形に処理する能力によって行い得る。限定するものではないがこのようなポリペプチドの修飾には、アセチル化、カルボキシル化、グリコシル化、リン酸化、脂質化及びアシル化がある。タンパク質の「プレプロ」また

は「プロ」形を切断するような翻訳後処理を利用して、タンパク質のターゲティング、折りたたみ及び/または活性を特定することも可能である。翻訳後の活性のための固有の細胞装置及び特徴のある機構を有する種々の宿主細胞（例えばCHO、HeLa、MDCK、MEK293、WI38等）は、American Type Culture Collection（ATCC, Bethesda, VA）から入手可能であり、外来タンパク質の正しい修飾及び処理を確実にするように選択し得る。

#### 【0139】

本発明の別の実施例では、PPIMをコードする天然の核酸配列、修飾核酸配列または組換え核酸配列を、上記任意の宿主系において融合タンパク質の翻訳をもたらす異種配列に連結反応させることができる。例えば、市販されている抗体を用いて認識可能な異種部分を含むキメラPPIMタンパク質は、PPIM活性阻害剤に対するペプチドライブラリのスクリーニングを促進し得る。また、異種タンパク質部分及び異種ペプチド部分も、市販されている親和性基質を用いて融合タンパク質の精製を促進し得る。限定されるものではないがこのような部分には、グルタチオンSトランスフェラーゼ（GST）、マルトース結合タンパク質（MBP）、チオレドキシン（Trx）、カルモジュリン結合ペプチド（CBP）、6-His、FLAG、c-myc、赤血球凝集素（HA）がある。GSTは固定化グルタチオン上で、MBPはマルトース上で、Trxはフェニルアルシンオキシド上で、CBPはカルモジュリン上で、そして6-Hisは金属キレート樹脂上で、同族の融合タンパク質の精製を可能にする。FLAG、c-myc及び赤血球凝集素（HA）は、これらのエピトープ標識を特異的に認識する市販されているモノクローナル抗体及びポリクローナル抗体を用いて、融合タンパク質の免疫親和性精製を可能にする。また、融合タンパク質を遺伝子操作し、PPIMが精製後に異種部分から切断され得るように、PPIMコード配列と異種タンパク質配列の間にタンパク質分解切断部位を含めることもできる。融合タンパク質の発現及び精製方法は、前出のAusubel（1995）10章に記載されている。市販されている種々のキットを用いて融合タンパク質の発現及び精製を促進することもできる。

#### 【0140】

本発明の更に別の実施例では、TNTウサギ網状赤血球可溶化液またはコムギ胚

芽抽出系 (Promega) を用いて、放射能標識したPPIMの合成がin vitroで可能である。これらの系は、T7、T3またはSP6プロモーターと機能的に結合したタンパク質コード配列の転写及び翻訳を結合する。翻訳は、例えば<sup>35</sup>Sメチオニンのような放射能標識したアミノ酸前駆体の存在下で起こる。

#### 【0141】

本発明のPPIMまたはその断片を用いて、PPIMに特異結合する化合物をスクリーニングし得る。少なくとも1個から複数個の試験化合物を用いて、PPIMへの特異結合をスクリーニングし得る。試験化合物の例としては、抗体、オリゴヌクレオチド、タンパク質 (例えば受容体) または小分子が挙げられる。

#### 【0142】

一実施例では、このように同定された化合物は、例えばリガンドまたはその断片などのPPIMの天然リガンド、天然の基質、構造的または機能的な擬態性または自然結合パートナーに密接に関連している (Coligan, J.E. ら (1991) *Current Protocols in Immunology* 1 (2) の5章等を参照)。同様に化合物は、PPIMが結合する天然受容体に関連し得るか或いは例えばリガンド結合部位などの少なくとも受容体の断片に密接に関連し得る。いずれの場合にも、化合物は既知の技術を用いて合理的にデザインし得る。一実施例では、このような化合物に対するスクリーニングは、分泌タンパク質としてまたは細胞膜上のいずれかでPPIMを発現する好適な細胞の生成に関与している。好適な細胞には、哺乳動物、酵母、シヨウジョウバエまたは大腸菌からの細胞がある。PPIMを発現する細胞またはPPIMを含有する細胞膜断片を試験化合物と接触させ、PPIMまたは化合物のいずれかの結合、刺激または阻害を分析する。

#### 【0143】

アッセイは、試験化合物をポリペプチドに単純に試験結合し得る。ここで、結合は、フルオロフォア、放射性同位体、酵素抱合体またはその他の検出可能な標識により検出される。例えば、アッセイは少なくとも1つの試験化合物を溶液中でPPIMと結合するか固体支持体に固定するかのいずれかのステップ及びPPIMの化合物への結合を検出するステップを有し得る。或いはアッセイは、標識された競争相手の存在下で試験化合物の結合を検出または測定し得る。更にアッセイは、

細胞遊離製剤、化学ライブラリまたは天然の生成混合物を用いて実行することができ、試験化合物は、溶液中で遊離させるか固体支持体に固定し得る。

#### 【0144】

本発明のPPIMまたはその断片を用いて、PPIMの活性を調整する化合物をスクリーニングし得る。このような化合物には、アゴニスト、アンタゴニスト、或るいは部分的または逆アゴニスト等がある。一実施例においては、PPIMが少なくとも1つの試験化合物と結合しているような、PPIMの活性を許容する条件下でアッセイが実行され、試験化合物存在下でのPPIMの活性が試験化合物不存在下でのPPIMの活性と比較される。試験化合物存在下でのPPIMの活性の変化は、PPIMの活性を調整する化合物を示す。或いは、試験化合物はPPIMの活性に適した条件下で活性に適した条件下でPPIMを含むin vitroまたは細胞遊離系と結合し、アッセイが実行される。これらアッセイのいずれかにおいて、PPIMの活性を調整する試験化合物は間接的にそのようにすることができ、試験化合物と直接接触する必要がなくなる。少なくとも1個から複数個の試験化合物をスクリーニングし得る。

#### 【0145】

別の実施例では、PPIMまたはその哺乳類同族体をコードするポリヌクレオチドは、胚幹（ES）細胞において相同的組換えを用いて動物モデル系内で「ノックアウト」される。このような技術は当技術分野において公知であり、ヒト疾病の動物モデルの生成に有用である（米国特許第5,175,383号及び第5,767,337号等を参照）。例えば129/SvJ株化細胞等のマウスES細胞は、初期のマウス胎仔に由来し、培養液中で成長する。ES細胞は、ネオマイシンホスホトランスフェラーゼ遺伝子等のマーカー遺伝子により分裂させた対象遺伝子（gene of interest）を含むベクターを用いて形質転換される（neo: Capecchi, M.R. (1989) Science 244:1288-1292）。ベクターは、相同的組換えにより宿主ゲノムの対応する領域に統合される。或いは、組織特異的または発達段階特異的な様式で対象遺伝子をノックアウトするCre-loxP系を用いて相同的組換えが発生する（Marth, J.D. (1996) Clin. Invest. 97:1999-2002; Wagner, K.U. ら (1997) Nucleic Acids Res. 25:4323-4330）。形質転換されたES細胞を同定し、例えばC57BL/6マウス系統から採取したマウス細胞胚盤胞に微量注入する。胚盤胞を偽妊娠種雌に外科的に導入

し、結果として得られるキメラ子孫の遺伝形質を決め、これを繁殖させてヘテロ接合性系統またはホモ接合性系統を生成する。このようにして産出した遺伝子導入動物は、潜在的治療薬または毒性薬剤を用いて試験し得る。

【0146】

PPIMをコードするポリヌクレオチドは、ヒト胚盤胞由来のES細胞における *in vitro* でも操作し得る。ヒトES細胞は、内胚葉、中胚葉及び外胚葉の細胞タイプを含む少なくとも8つの別々の細胞系統に分化する可能性を有する。この細胞系統は、例えば神経細胞、造血系統及び心筋細胞に分化する (Thomson, J.A. ら (1998) Science 282:1145-1147)。

【0147】

PPIMをコードするポリヌクレオチドは、モデルヒト疾病への「ノックイン」ヒト化動物(ブタ)または遺伝子導入動物(マウスまたはラット)も生成し得る。ノックイン技術を用いて、PPIMをコードするポリヌクレオチドの或る領域を動物ES細胞に注入し、注入された配列は動物細胞ゲノムに統合する。形質転換された細胞を胞胚に注入し、胞胚を上記のように移植する。ヒトの疾病の治療に関する情報を得るために、遺伝子導入子孫または近交系について研究し、強力な医薬品を用いて遺伝子導入子孫または近交系を処理する。或いは、PPIMを過剰発現させるべく例えばPPIMを乳内に分泌するなどして同系交配させた哺乳動物は、タンパク質の簡便な源としても役立ち得る (Janne, J. ら (1998) Biotechnol. Annu. Rev. 4:55-74)。

【0148】

治療

PPIMの領域とプロテアーゼ及びプロテアーゼインヒビター間には、化学的及び構造的類似性、例えば配列及びモチーフとの関連における類似性が存在する。更にPPIMの発現は、造血/炎症系、神経系、胃腸系及び生殖系の癌に密接に関連している。従ってPPIMは、免疫系疾患、生殖障害、神経系疾患及び細胞シグナル伝達障害において或る役割を果たすものと考えられる。PPIMの発現または活性の増大に関連する疾患の治療においては、PPIMの発現または活性を低下させることが望ましい。また、PPIMの発現または活性の低下に関連する疾患の治療においては

、PPIMの発現または活性を増大させることが望ましい。

【0149】

従って、或る実施例において、PPIMの発現または活性の低下に関連した疾患の治療または予防のために、患者にPPIMまたはその断片や誘導体を投与することが可能である。限定するものではないがこのような疾患の例として細胞増殖異常が含まれ、その中には日光性角化症、動脈硬化症、アテローム性動脈硬化症、滑液包炎、硬変、肝炎、混合型結合組織病（MCTD）、骨髄線維症、発作性夜間ヘモグロビン尿症、真性多血症、乾癬、原発性血小板血症と、腺癌、白血病、リンパ腫、黒色腫、骨髄腫、肉腫、奇形癌を含む癌、具体的には副腎、膀胱、骨、骨髄、脳、乳房、頸部、胆嚢、神経節、消化管、心臓、腎臓、肝臓、肺、筋肉、卵巣、膵臓、副甲状腺、陰茎、前立腺、唾液腺、皮膚、脾臓、精巣、胸腺、甲状腺、子宮の癌等が含まれ、また及び自己免疫/炎症性疾患も含まれ、その中には後天性免疫不全症候群（AIDS）、アジソン病、成人呼吸窮迫症候群、アレルギー、強直性脊椎炎、アミロイド症、貧血、動脈硬化、喘息、アテローム性動脈硬化症、自己免疫性溶血性貧血、自己免疫性甲状腺炎、自己免疫多発性内分泌腺障害症（APCED）、気管支炎、滑液包炎、胆嚢炎、接触皮膚炎、クローン病、アトピー性皮膚炎、皮膚筋炎、糖尿病、肺気腫、胎児赤芽球症、結節性紅斑、萎縮性胃炎、糸球体腎炎、グッドパスチャー症候群、痛風、グレーブス病、橋本甲状腺炎、過好酸球増加症、過敏性大腸症候群、リンパ球毒素性一時性リンパ球減少症、多発性硬化症、重症筋無力症、心筋または心膜の炎症、骨髄線維症、変形性関節症、骨粗しょう症、膵炎、ライター症候群、リウマチ様関節炎、強皮症、シェーグレン症候群、全身性アナフィラキシー、全身性紅斑性狼瘡、全身性硬化症、血小板減少性紫斑病、潰瘍性大腸炎、ブドウ膜炎、ウェルナー症候群、癌の合併症、血液透析、体外循環、ウイルス感染、細菌感染、真菌感染、寄生虫感染、原虫感染、寄生虫性感染、及び外傷が含まれる。

【0150】

別の実施例では、PPIMまたはその断片や誘導体を発現し得るベクターを患者に投与して、限定するものではないが上記した疾患を含むPPIMの発現または活性の低下に関連した疾患を治療または予防することも可能である。

## 【0151】

更に別の実施例では、実質的に精製されたPPIMを含む成分を好適な医薬用担体と共に患者に投与して、限定するものではないが上記した疾患を含むPPIMの発現または活性の低下に関連した疾患を治療または予防することも可能である。

## 【0152】

更に別の実施例では、PPIMの活性を調節するアゴニストを患者に投与して、限定するものではないが上記した疾患を含むPPIMの発現または活性の低下に関連した疾患を治療または予防することも可能である。

## 【0153】

更に別の実施例では、患者にPPIMのアンタゴニストを投与して、PPIMの発現または活性の増大に関連した疾患を治療または予防することが可能である。限定するものではないがこのような疾患の例には、上記した免疫系疾患、生殖障害、神経系疾患及び細胞シグナル伝達障害がある。一実施態様においては、アンタゴニストとして直接的に、或いはPPIMを発現する細胞または組織に薬剤を輸送するターゲティングまたは輸送機構として間接的にPPIMと特異結合する抗体を用いることができる。

## 【0154】

別の実施例では、PPIMをコードするポリヌクレオチドの相補体を発現するベクターを患者に投与して、限定するものではないが上記した疾患を含むPPIMの発現または活性の増大に関連した疾患を治療または予防することも可能である。

## 【0155】

別の実施例では、本発明の任意のタンパク質、アンタゴニスト、抗体、アゴニスト、相補配列またはベクターを、別の好適な治療薬と組み合わせて投与することもできる。併用療法で用いる好適な治療薬は、当業者が従来 of 医薬原理に従ってを選択し得る。治療薬と組み合わせることにより、上記した種々の疾患の治療または予防に相乗効果をもたらす得る。この方法を用いることにより少量の各薬剤で医薬効果をあげることが可能となり、それによって副作用の可能性を低減し得る。

## 【0156】

PPIMのアンタゴニストは、当分野で一般的に知られている方法を用いて製造し得る。具体的には、精製されたPPIMを用いて抗体を作るか、治療薬のライブラリをスクリーニングして、PPIMと特異結合するものを同定することが可能である。PPIMの抗体も、当分野で一般的に知られている方法を用いて製造することが可能である。限定するものではないがこのような抗体には、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、キメラ抗体、一本鎖抗体、Fab断片及びFab発現ライブラリによって作られた断片が含まれ得る。中和抗体（即ち二量体の形成を阻害する抗体）は通常、治療用に好適である。

#### 【0157】

抗体を産生するために、PPIM、またはPPIMの任意の断片またはオリゴペプチドであって免疫抗原性の特性を有するものを注入することによって、ヤギ、ウサギ、ラット、マウス、ヒト、その他を含む種々の宿主を免疫化することができる。宿主の種に応じて、種々のアジュバントを用いて免疫応答を高めることもできる。限定するものではないがこのようなアジュバントには、フロイントアジュバントと、水酸化アルミニウム等のミネラルゲルアジュバントと、リゾレシチン、ブルニックポリオール、ポリアニオン、ペプチド、油性乳剤、キーホールリンペットヘモシニアン、ジニトロフェノール等の洗浄剤とがある。ヒトに用いられるアジュバントの中では、BCG（カルメット ゲラン杆菌）及びコリネバクテリウム パルヴムが特に好ましい。

#### 【0158】

PPIMに対する抗体を誘導するために用いるオリゴペプチド、ペプチドまたは断片は、少なくとも約5アミノ酸からなり、一般的には少なくとも約10アミノ酸からなるアミノ酸配列を有するものが好ましい。これらのオリゴペプチド、ペプチドまたは断片は、天然のタンパク質のアミノ酸配列の一部と同一であり且つ小さな天然の分子の全アミノ酸配列を含むことが望ましい。PPIMアミノ酸の短い伸長部を別のタンパク質（例えばKLH）の配列と融合し、キメラ分子に対する抗体を産生し得る。

#### 【0159】

PPIMに対するモノクローナル抗体は、抗体分子を産生する任意の技術を用いて

、培地内の連続した細胞株によって作製し得る。限定するものではないがこのような技術には、ハイブリドーマ技術、ヒトB細胞ハイブリドーマ技術及びEBV-ハイブリドーマ技術がある (Kohler, G. ら. (1975) Nature 256:495-497、Kozbor, D. ら (1985) J. Immunol. Methods 81:31-42、Cote, R.J. ら (1983) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 80:2026-2030、Cole, S.P. ら (1984) Mol. Cell Biol. 62:109-120等を参照)。

#### 【0160】

更に、「キメラ抗体」を作製するために開発した技術、例えば好適な抗原特異性及び生物学的活性を有する分子を得るためのマウス抗体遺伝子のヒト抗体遺伝子へのスプライシングを用いることが可能である (Morrison, S.L. ら. (1984) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:6851-6855、Neuberger, M.S. ら (1984) Nature 312:604-608、タケダ, S. ら (1985) Nature 314:452-454等を参照)。或いは、一本鎖抗体を産生するために説明された技術を適用し、当分野で知られている方法を用いて、PPIM特異性一本鎖抗体を産生し得る。関連特異性を有するガイデオタイプ組成が異なるような抗体を、ランダムな組合せの免疫グロブリンライブラリからチェーンシャッフリングによって産生することもできる (Burton D.R. (1991) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:10134-10137等を参照)。

#### 【0161】

抗体の産生は、リンパ球集団における *in vivo* 産生の誘導によって、或いは免疫グロブリンライブラリのスクリーニングまたは文献に開示されているような高特異結合試薬のパネルのスクリーニングによっても行い得る (Orlandi, R. ら (1989) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86: 3833-3837、Winter, G. ら (1991) Nature 349:293-299等を参照)。

#### 【0162】

PPIMのための特異結合部位を有する抗体断片を産生することもできる。例えば、限定するものではないがこのような断片には、抗体分子のペプシン消化によって作製されるF(ab')<sub>2</sub>断片と、F(ab')<sub>2</sub>断片のジスルフィド架橋を減らすことによって作製されるFab断片とがある。或いは、Fab発現ライブラリを作製することによって、モノクローナルFab断片を所望の特異性と迅速且つ容易に同定するこ

とが可能となる (Huse, W.D. ら (1989) Science 256:1275-1281等を参照)。

#### 【0163】

種々のイムノアッセイを用いてスクリーニングし、所望の特異性を有する抗体を同定することができる。確立された特異性を有するポリクローナル抗体またはモノクローナル抗体の何れかを用いる免疫放射線アッセイまたは競合結合アッセイに対する数々のプロトコルは、当分野において公知である。このようなイムノアッセイは通常、PPIMとその特異性抗体間の複合体形成の計測に關与している。2つの非干渉性PPIMエピトープに反応するモノクローナル抗体を用いるような、2部位モノクローナルベースのイムノアッセイが一般に利用されるが、競合結合アッセイを利用してもよい(前出のPound)。

#### 【0164】

ラジオイムノアッセイ技術と共に様々な方法、例えばスキャッチャード分析を用いて、PPIMに対する抗体の親和性を評価し得る。親和性は結合定数 $K_a$ で表す。 $K_a$ は、平衡状態においてPPIM抗体複合体のモル濃度を遊離抗体と遊離抗原のモル濃度で除した値であると定義する。ポリクローナル抗体は多様なPPIMエピトープに対する親和性が不均一であり、ポリクローナル抗体試薬のために決定した $K_a$ は、PPIM抗体の平均親和性または結合活性を表す。モノクローナル抗体は特定のPPIMエピトープに対して単一特異的であり、モノクローナル抗体試薬のために決定した $K_a$ は、親和性の真の測定値を表す。 $K_a$ 値が約 $10^9 \sim 10^{12}$  L/molの範囲にあるような高親和性抗体試薬は、PPIM抗体複合体が激しい操作に耐えなければならないイムノアッセイに用いるのが好ましい。 $K_a$ 値が約 $10^6 \sim 10^7$  L/molの範囲にあるような低親和性抗体試薬は、PPIMが抗体から最終的に活性化状態で解離する必要がある免疫精製及び類似の処理に用いるのが好ましい (Catty, D. (1988) Antibodies, Volume I: A Practical Approach, IRL Press, Washington, DC、Liddell, J. E. and Cryer, A. (1991) A Practical Guide to Monoclonal Antibodies, John Wiley & Sons, New York NY)。

#### 【0165】

ポリクローナル抗体試薬の抗体価及び結合活性を更に評価して、或る下流の適用例に対するこのような試薬の品質及び適性を決定することができる。例えば、

少なくとも1~2mg/ml、好ましくは5~10mg/mlの特異抗体を含むポリクローナル抗体試薬は、PPIM抗体複合体を沈殿させる必要がある処理において通常用いられる。抗体の特異性、抗体価、結合活性、様々な適用例における抗体の品質や使用に対する指針については、一般に入手可能である（前出のCatty、同Coliganらの文献等を参照）。

#### 【0166】

本発明の別の実施例では、PPIMをコードするポリヌクレオチド、PPIMの任意の断片またはその相補配列を治療目的で使用する事ができる。ある実施形態では、PPIMをコードする遺伝子のコード領域または調節領域に相補的な配列またはアンチセンス分子（DNA、RNA、PNAまたは修飾されたオリゴヌクレオチド）により遺伝子発現の修飾を達成することができる。このような技術は既に当分野ではよく知られており、センスまたはアンチセンスオリゴヌクレオチドまたは大きな断片を、PPIMをコードする配列のコード領域または制御領域に延在する様々な位置から設計することが可能である（Agrawal, S., ed. (1996) *Antisense Therapeutics*, Humana Press Inc., Totawa NJ等を参照）。

#### 【0167】

治療に用いる場合、アンチセンス配列を好適な標的細胞に導入するのに好適な任意の遺伝子送達系を用いることができる。アンチセンス配列は、転写時に標的タンパク質をコードする細胞配列の少なくとも一部に相補的な配列を発現する発現プラスミドの形で細胞内に輸送することが可能である（Slater, J.E. ら (1998) *J. Allergy Clin. Immunol.* 102(3):469-475、Scanlon, K.J. ら (1995)9(13):1288-1296.等を参照）。アンチセンス配列はまた、例えばレトロウイルスやアデノ関連ウイルスベクター等のウイルスベクターを用いて細胞内に導入することもできる（Miller, A.D. (1990) *Blood* 76:271、前出のAusubel、Uckert, W. and W. Walther (1994) *Pharmacol. Ther.* 63(3):323-347等を参照）。その他の遺伝子送達機構には、リポソーム系、人工的なウイルスエンベロープ及び当分野で公知のその他の系が含まれる（Rossi, J.J. (1995) *Br. Med. Bull.* 51(1):217-225; Boado, R.J.ら (1998) *J. Pharm. Sci.* 87(11):1308-1315、Morris, M.C. ら (1997) *Nucleic Acids Res.* 25(14):2730-2736.等を参照）。

## 【0168】

本発明の別の実施例では、PPIMをコードするポリヌクレオチドを、体細胞若しくは生殖細胞遺伝子治療に用いることが可能である。遺伝子治療を行うことにより、(i) 遺伝子欠損症(例えばX染色体鎖遺伝(Cavazzana-Calvo, M. ら (2000) Science 288:669-672)により特徴付けられる重度の複合型免疫欠損(SCID)-X1の場合)、先天性アデノシンデアミナーゼ(ADA)欠損症に関連する重度の複合型免疫欠損(Blaese, R.M. ら (1995) Science 270:475-480、Bordignon, C. ら (1995) Science 270:470-475)、嚢胞性繊維症(Zabner, J. ら (1993) Cell 75:207-216; Crystal, R.G. ら (1995) Hum. Gene Therapy 6:643-666、Crystal, R.G. ら (1995) Hum. Gene Therapy 6:667-703)、サラセミア(thalassamia)、家族性高コレステロール血症、第VIII因子若しくは第IX因子欠損に起因する血友病(Crystal, R.G. (1995) Science 270:404-410、Verma, I.M. and Somia, N. (1997) Nature 389:239-242)を治療し、(ii) 条件的致死性遺伝子産物を発現させ(例えば制御不能な細胞増殖に起因する癌の場合)、(iii) 細胞内の寄生虫(例えばヒト免疫不全ウイルス(HIV)(Baltimore, D. (1988) Nature 335:395-396、Poeschla, E. ら (1996) Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 93:11395-11399)、B型若しくはC型肝炎ウイルス(HBV、HCV)、カンジダアルビカンス及びブラジルパラコクシジオイデス等の真菌寄生虫、並びに熱帯熱マラリア原虫及びトリパノソーマ、クルーシ等の原虫寄生体に対する防御機能を有するタンパク質を発現させることができる。PPIMの発現若しくは調節に必要な遺伝子の欠損が疾患を発生させる場合、形質導入した細胞の好適な集団からPPIMを発現することにより、遺伝子欠損に起因する症状の発現を緩和し得る。

## 【0169】

本発明の更なる実施例では、PPIMをコードする哺乳動物発現ベクターを作製し、これらのベクターを機械的手段によってPPIM欠損細胞に導入することによって、PPIMの欠損による疾患や異常症を治療する。in vivo或いはex vitroの細胞に用いる機械的導入技術には、(i) 個々の細胞内への直接的なDNA微量注射法、(ii) バリスティック金粒子輸送(ballistic gold particle delivery)、(iii) リポソーム媒介形質移入、(iv) 受容体媒介遺伝子導入、及び(v) DNAトラン

スポソンの使用 (Morgan, R.A. and W.F. Anderson (1993) *Annu. Rev. Biochem.* 62:191-217、Ivics, Z. (1997) *Cell* 91:501-510、Boulay, J-L. and H. Recipon (1998) *Curr. Opin. Biotechnol.* 9:445-450) がある。

#### 【0170】

PPIMの発現に影響を及ぼし得る発現ベクターには、限定するものではないがPCDNA 3.1、EPITAG、PRCCMV2、PREP、PVAXベクター (Invitrogen, Carlsbad CA)、PCMV-SCRIPT、PCMV-TAG、PEGSH/PERV (Stratagene, La Jolla CA) 及びPTET-OFF、PTET-ON、PTRE2、PTRE2-LUC、PTK-HYG (Clontech, Palo Alto CA) がある。PPIMは、(i) 恒常的に活性なプロモーター (例えばサイトメガロウイルス (CMV)、ラウス肉腫ウイルス (RSV)、SV40ウイルス、チミジンキナーゼ (TK) または アクチン遺伝子)、(ii) 誘導性プロモーター (例えばテトラサイクリン調節性プロモーター (Gossen, M. and H. Bujard (1992) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 89:5547-5551、Gossen, M. ら (1995) *Science* 268:1766-1769、Rossi, F.M.V. and H.M. Blau (1998) *Curr. Opin. Biotechnol.* 9:451-456)、市販のInvitrogen社のT-REXプラスミドに含まれる)、エクジソン誘導性プロモーター (Invitrogen社のプラスミドPVGRXR及びPINDから得られる)、FK506 / ラパマイシン誘導性プロモーターまたはRU486 / ミフェプリストーン誘導性プロモーター (前出のRossi, F.M.V. and H.M. Blau)、または (iii) 正常個体由来の、PPIMをコードする内在性遺伝子の天然のプロモーター若しくは組織特異的プロモーターを用いて、発現させることができる。

#### 【0171】

市販のリポソーム形質転換キット (例えばInvitrogen社から入手可能なPerfect Lipid Transfection Kit) を用いれば、当業者は経験にそれほど頼らないでもポリヌクレオチドを培養中の標的細胞に導入することが可能になる。別の実施例では、リン酸カルシウム法 (Graham, F.L. and A.J. Eb (1973) *Virology* 52:456-467) 若しくは電気穿孔法 (Neumann, B. ら (1982) *EMBO J.* 1:841-845) を用いて形質転換を行う。初代細胞にDNAを導入するためには、標準化された哺乳動物の形質移入プロトコルの修飾が必要である。

#### 【0172】

本発明の別の実施例では、PPIMの発現に関連する遺伝子欠損によって起こる疾患や異常症は、(i)レトロウイルス末端反復配列(LTR)プロモーターまたは独立プロモーターの制御下でPPIMをコードするポリヌクレオチドと、(ii)好適なRNAパッケージングシグナルと、(iii)追加レトロウイルス・シス作用性RNA配列及び効率的なベクターの増殖に必要なコード配列を伴うRev応答性エレメント(RRE)とからなるレトロウイルスベクターを作製して治療することができる。レトロウイルスベクター(例えばPFB及びPFBNE0)は、Stratagene社から市販されており、刊行データ(Riviere, I. ら. (1995) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 92:6733-6737)に基づいている。上記データを引用することをもって本明細書の一部とする。ベクターは、好適なベクター産生細胞系(VPCL)において増殖され、VPCLは、標的細胞上の受容体に対する向性を有するエンベロープ遺伝子またはVSVg等の乱交雑エンベロープタンパク質を発現する(Armentano, D. ら (1987) J. Virol. 61:1647-1650、Bender, M.A. ら (1987) J. Virol. 61:1639-1646、Adam, M.A. and A.D. Miller (1988) J. Virol. 62:3802-3806、Dull, T. ら (1998) J. Virol. 72:8463-8471、Zufferey, R. ら (1998) J. Virol. 72:9873-9880)。Riggに付与された米国特許第5,910,434号("Method for obtaining retrovirus packaging cell lines producing high transducing efficiency retroviral supernatant")は、レトロウイルスパッケージング細胞系を得るための方法について開示しており、これを引用することをもって本明細書の一部とする。レトロウイルスベクターの増殖、細胞集団(例えばCD4<sup>+</sup> T細胞)の形質導入、及び形質導入した細胞の患者への戻しは、遺伝子治療の分野では当業者に公知の方法であり、多数の文献に記載されている(Ranga, U. ら. (1997) J. Virol. 71:7020-7029、Bauer, G. ら (1997) Blood 89:2259-2267、Bonyhadi, M.L. (1997) J. Virol. 71:4707-4716、Ranga, U. ら (1998) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 95:1201-1206、Su, L. (1997) Blood 89:2283-2290)。

### 【0173】

別の実施例では、アデノウイルス系遺伝子治療の輸送系を用いて、PPIMの発現に関連する1若しくは複数の遺伝子異常を有するような細胞にPPIMをコードするポリヌクレオチドを輸送する。アデノウイルス系ベクターの作製及びパッケージ

ングについては、当業者に公知である。複製欠損型アデノウイルスベクターは、免疫調節タンパク質をコードする遺伝子を脾臓の無損傷の脾島内に導入するために可変性であることが証明された (Csete, M.E. ら (1995) *Transplantation* 27:263-268)。使用できる可能性のあるアデノウイルスベクターは、Armentanoに付与された米国特許第5,707,618号 ("Adenovirus vectors for gene therapy") に記載されており、引用することをもって本明細書の一部とする。アデノウイルスベクターについては、Antinozzi, P.A. ら (1999) *Annu. Rev. Nutr.* 19:511-544 及び Verma, I.M. and N. Somia (1997) *Nature* 18:389:239-242も参照されたい。両文献は、引用することをもって本明細書の一部とする。

#### 【0174】

更に別の実施例では、ヘルペス系遺伝子治療の輸送系を用いて、PPIMの発現に関連する1若しくは複数の遺伝子異常を有する標的細胞にPPIMをコードするポリヌクレオチドを輸送する。HSVが向性を有するような中枢神経系の細胞にPPIMを導入する際には、単純ヘルペスウイルス (HSV) 系のベクターの使用は特に役立つ。ヘルペス系ベクターの作製及びパッケージングは、当業者に公知である。複製適格性単純ヘルペスウイルス (HSV) 1型系のベクターは、レポーター遺伝子を霊長類の眼に輸送するために用いられてきた (Liu, X. ら (1999) *Exp. Eye Res.* 169:385-395)。HSV-1ウイルスベクターの作製についても、DeLucaに付与された米国特許第5,804,413号 ("Herpes simplex virus swains for gene transfer") に開示されており、該特許の引用をもって本明細書の一部とする。米国特許第5,804,413号には、ヒト遺伝子治療を含む目的のために好適なプロモーターの制御下において細胞に導入される少なくとも1つの内在性遺伝子を有するゲノムを含む組換えHSV d92についての記載がある。上記特許はまた、ICP4、ICP27及びICP22のために除去される組換えHSV系統の作製及び使用について開示している。HSVベクターについては、Goins, W.F. ら (1999) *J. Virol.* 73:519-532 及び Xu, H. ら (1994) *Dev. Biol.* 163:152-161も参照されたい。両文献は、引用をもって本明細書の一部とする。クローン化ヘルペスウイルス配列の操作、巨大ヘルペスウイルスのゲノムの異なった部分を含む多数のプラスミドを形質移入した後の組換えウイルスの継代、ヘルペスウイルスの成長及び増殖、並びにヘルペスウイ

ルスの細胞への感染は、当業者に公知の技術である。

【0175】

別の実施例では、アルファウイルス（正の一本鎖RNAウイルス）ベクターを用いてPPIMをコードするポリヌクレオチドを標的細胞に輸送する。プロトタイプのアルファウイルスであるセムリキ森林熱ウイルス（SFV）の生物学的研究が広範に行われており、遺伝子導入ベクターがSFVゲノムに基づいていることが分かった（Garoff, H. and K.-J. Li (1998) *Cun. Opin. Biotech.* 9:464-469）。アルファウイルスのRNAを複製中に、通常はウイルスカプシドタンパク質をコードするサブゲノムRNAが産出される。このサブゲノムRNAは、完全長のゲノムRNAより高いレベルに複製されるため、酵素活性（例えばプロテアーゼ及びポリメラーゼ）を有するウイルスタンパク質に比べてカプシドタンパク質が過剰産生される。同様に、PPIMに対するコード配列をカプシドコード領域のアルファウイルスゲノムに導入することにより、ベクター導入細胞において多数のPPIMコードRNAが産生され、高レベルのPPIMが合成される。通常はアルファウイルスの感染が数日以内での細胞溶解に関係する一方で、シンドビスウイルス（SIN）の変異体を有するハムスター正常腎臓細胞（BHK-21）の持続的な感染を確立する能力は、アルファウイルスの溶解複製を遺伝子治療に適用できるように好適に変更可能であることを示唆している（Dryga, S.A. ら. (1997) *Virology* 228 :74-83）。アルファウイルスの宿主の範囲が広いことにより、様々な細胞タイプへのPPIMの導入が可能になる。或る集団におけるサブセットの細胞の特定形質導入は、形質導入前に細胞の選別を必要とし得る。アルファウイルスの感染性cDNAクローンの処置方法、アルファウイルスのcDNA及びRNAの形質移入方法及びアルファウイルスの感染方法は、当業者に公知である。

【0176】

例えば開始部位から数えて約 - 10 と約 + 10 の間にある転写開始部位に由来するオリゴヌクレオチドを用いて遺伝子発現を阻害することも可能である。同様に、三重らせん塩基対の形成方法を用いて阻害が可能となる。三重らせん塩基対形成は、ポリメラーゼ、転写因子または調節分子の結合のために十分に開くような二重らせんの能力を阻害するので、三重らせん塩基対形成は有用である。三重

らせんDNAを用いる最近の治療の進歩については文献に記載がある (Gee, J.E. ら (1994) in: Huber, B.E. and B.I. Carr, *Molecular and Immunologic Approaches*, Futura Publishing Co., Mt. Kisco, NY, pp.163-177等を参照)。相補配列またはアンチセンス分子もまた、転写物がリボソームに結合するのを阻止することによってmRNAの翻訳を阻止するべく設計することができる。

#### 【0177】

リボザイムは、酵素性RNA分子であり、RNAの特異的切断を触媒するために用い得る。リボザイム作用のメカニズムは、ヌクレオチド鎖切断に先立つ相補的標的RNAへのリボザイム分子の配列特異性ハイブリダイゼーションに關与している。例えば、組換え型のハンマーヘッド型リボザイム分子は、PPIMをコードする配列のヌクレオチド鎖切断を特異的且つ効果的に触媒する。

#### 【0178】

任意の潜在的RNAターゲット内の特異的リボザイム切断部位は、GUA、GUU、GUC配列を含めたりボザイム切断部位に対する標的分子をスキャンすることによって先ず同定される。一度同定されると、オリゴヌクレオチドを機能不全にするような2次構造の特徴に対して切断部位を含む標的遺伝子の領域に対応する15~20リボヌクレオチドの短いRNA配列を、評価することが可能になる。候補標的の適合性の評価も、リボヌクレアーゼ保護アッセイを用いて相補的オリゴヌクレオチドとのハイブリダイゼーションの実施容易性をテストすることによって行うことができる。

#### 【0179】

本発明の相補的リボ核酸分子及びリボザイムは、核酸分子合成のために当分野でよく知られている任意の方法を用いて作製し得る。任意の方法には、固相ホスホラミダイト化合物等のオリゴヌクレオチドを化学的に合成する方法がある。或いは、HRIPをコードするDNA配列のin vitro及びin vivo転写によってRNA分子を産出し得る。このようなDNA配列は、T7やSP6等の好適なRNAポリメラーゼプロモーターを用いて多様なベクター内に組み入れることが可能である。或いは、相補的RNAを構成的或いは誘導的に合成するようなこれらcDNA産物を、細胞系、細胞または組織内に導入することができる。

## 【0180】

細胞内の安定性を高め、半減期を長くするためにRNA分子を修飾し得る。限定するものではないが可能な修飾には、分子の5'末端及び/または3'末端においてフランキング配列を追加したり、分子の主鎖内においてホスホジエステラーゼ結合ではなくホスホロチオネートまたは2' Oメチルを使用したりすることが含まれる。この概念は、PNAの産出に固有のものであり、これら全ての分子に拡大することができる。それには、内在性エンドヌクレアーゼによって容易には認識されないアデニン、シチジン、グアニン、チミン、及びウリジンにアセチル-、メチル-、チオ-及び同様の修飾をしたものに加えて、非従来型塩基、例えばイノシン、クエオシン (queosine)、ワイプトシン (wybutosine) 等を包含することによる。

## 【0181】

本発明の追加実施例には、PPIMをコードするポリヌクレオチドの変異発現に有効な化合物をスクリーニングする方法が含まれる。限定するものではないが特異ポリヌクレオチドの変異発現に有効な化合物には、オリゴヌクレオチド、アンチセンスオリゴヌクレオチド、三重らせん形成オリゴヌクレオチド、転写因子その他のポリペプチド転写制御因子、及び特異ポリヌクレオチド配列と相互作用し得る非高分子化学的実体がある。有効な化合物は、ポリヌクレオチド発現のインヒビターまたはエンハンサーのいずれかとして作用することによりポリヌクレオチド発現を変異し得る。従って、PPIMの発現または活性の増加に関連する疾病の治療においては、PPIMをコードするポリヌクレオチドの発現を特異的に阻害する化合物が治療上有益であり、PPIMの発現または活性の低下に関連する疾病の治療においては、PPIMをコードするポリヌクレオチドの発現を特異的に促進する化合物が治療上有益であり得る。

## 【0182】

特異ポリヌクレオチドの変異発現における有効性に対して、少なくとも1個から複数個の試験化合物をスクリーニングし得る。試験化合物は、当分野で通常知られている任意の方法により得られる。このような方法には、ポリヌクレオチドの発現を変異させる場合と、既存の、市販のまたは専売の、天然または非天然の

化合物ライブラリから選択する場合と、標的ポリヌクレオチドの化学的及び/または構造的特性に基づく化合物を合理的にデザインする場合と、組合せ的にまたは無作為に生成した化合物のライブラリから選択する場合に有効であることが知られているような化合物の化学修飾がある。PPIMをコードするポリヌクレオチドを含むサンプルは、少なくとも1つの試験化合物に曝され、このように得られる。サンプルには例えば、無傷細胞、透過化処理した細胞、*in vitro*細胞遊離または再構成された生化学系を有し得る。PPIMをコードするポリヌクレオチドの発現における変化は、当分野で通常知られている任意の方法でアッセイする。通常、PPIMをコードするポリヌクレオチドの配列に相補的なヌクレオチド配列を有するプローブを用いたハイブリダイゼーションにより、特異ヌクレオチドの発現を検出する。ハイブリダイゼーション量を定量し、それによって1若しくは複数の試験化合物に曝露される及び曝露されないポリヌクレオチドの発現の比較に対する基礎を形成し得る。試験化合物に曝露されるポリヌクレオチドの発現における変化の検出は、ポリヌクレオチドの発現を変異する際に試験化合物が有効であることを示している。特異ポリヌクレオチドの変異発現に有効な化合物に対して、例えば分裂酵母 (*Schizosaccharomyces pombe*) 遺伝子発現系 (Atkins, D. ら (1999) 米国特許第5,932,435号、Arndt, G.M. ら (2000) *Nucleic Acids Res.* 28:E15) またはHeLa細胞等のヒト細胞系 (Clarke, M.L. ら (2000) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 268:8-13) を用いてスクリーニングを実行する。本発明の特定の実施例は、特異的ポリヌクレオチド配列に対するアンチセンス活性のためのオリゴヌクレオチド (デオキシリボヌクレオチド、リボヌクレオチド、ペプチド核酸、修飾オリゴヌクレオチド) の組合せライブラリをスクリーニングすることに関与している (Bruice, T.W. ら (1997) の米国特許第5,686,242号、Bruice, T.W. ら (2000) の米国特許第6,022,691号)。

### 【0183】

ベクターを細胞または組織に導入する多数の方法が利用可能であり、*in vivo*、*in vitro*及び*ex vivo*の使用に対して同程度に適している。*ex vivo*治療の場合、ベクターを患者から採取した肝細胞内に導入し、クローニング増殖して同一患者に自家移植で戻すことができる。トランスフェクション、リボソーム注入また

はポリカチオンアミノポリマーによる輸送は、当分野でよく知られている方法を用いて実行することができる (Goldman, C.K. ら (1997) Nat. Biotechnol. 15: 462-466.等を参照)。

【0184】

上記の治療方法はいずれも、例えば、ヒト、イヌ、ネコ、ウシ、ウマ、ウサギ、サル等の哺乳動物を含めて治療が必要な全ての対象に適用できる。

【0185】

本発明の追加実施例は、通常薬剤として許容できる賦形剤で処方される活性成分を有する成分の投与に関連する。賦形剤には例えば、セルロース、ゴム及びタンパク質がある。様々な処方が通常知られており、詳細はRemington's Pharmaceutical Sciences (Maack Publishing, Easton PA) の最新版に記載されている。このような成分は、PPIM、PPIMに対する抗体、擬態、アゴニスト、アンタゴニスト、またはPPIMインヒビターから構成し得る。

【0186】

本発明に用いられる成分は、任意の数の経路によって投与することができ、限定するものではないが経路には、経口、静脈内、筋肉内、動脈内、骨髄内、クモ膜下腔内、心室内、肺、経皮、皮下、腹腔内、鼻腔内、腸内、局所、舌下または直腸がある。

【0187】

肺から投与する成分は、液状または乾燥粉末状で調製し得る。このような成分は通常、患者が吸入する直前にエアロゾル化する。小分子 (例えば伝統的な低分子重量有機薬) の場合には、速効製剤のエアロゾル輸送は当分野で公知である。高分子 (例えばより大きなペプチド及びタンパク質) の場合には、当該分野において肺の肺胞領域を介しての肺輸送が最近向上したことにより、インスリン等の薬剤を実質的に血液循環へ輸送することが可能になった (Patton, J.S. らの米国特許第5,997,848号等を参照)。肺輸送は、針注射なしに投与する点で優れており、潜在的に有毒な浸透エンハンサーの必要性をなくす。

【0188】

本発明での使用に適した成分には、所定の目的を達成するために必要なだけの

量の活性成分を含有する成分が含まれる。有効投与量の決定は、当業者の能力の範囲内で行う。

#### 【0189】

成分の特殊形状は、PPIMまたはその断片を含む高分子を直接細胞内輸送するために調製される。例えば、細胞不透過性高分子を含むリポソーム製剤は、細胞融合及び高分子の細胞内輸送を促進し得る。或いは、PPIMまたはその断片をHIV Tat-1タンパク質から陽イオンN末端部に結合することもできる。このようにして生成された融合タンパク質は、マウスモデル系の脳を含む全ての組織の細胞に形質導入することがわかっている (Schwarze, S.R. ら (1999) Science 285:1569-1572)。

#### 【0190】

任意の化合物に対して、細胞培養アッセイ、例えば新生物性細胞の細胞培養アッセイにおいて、或いは、動物モデル、例えばマウス、ウサギ、イヌまたはブタ等において、先ず治療の有効投与量を推定することができる。動物モデルはまた、好適な濃度範囲及び投与経路を決定するためにも用い得る。このような情報を用いて、次にヒトに対する有益な投与量及び投与経路を決定することができる。

#### 【0191】

治療上の有効投与量は、症状や容態を回復させるような活性分量を参考にする。そのような活性成分の例としては、PPIMまたはその断片、PPIMの抗体、PPIMのアゴニスト、アンタゴニストまたはインヒビターがある。薬用有効度及び毒性は、細胞培養または動物実験における標準的な薬剤手法によって、例えばED<sub>50</sub> (集団の50%の医薬的有効量) またはLD<sub>50</sub> (集団の50%の致死量) を測定するなどして決定することができる。毒性効果の治療効果に対する投与量の比は、治療指数であり、LD<sub>50</sub> / ED<sub>50</sub> 比として表すことができる。高い治療指数を示すような成分が望ましい。細胞培養アッセイ及び動物実験から得られたデータは、ヒトに用いるための投与量の範囲を調剤するのに用いられる。このような組成物が含まれる投与量は、毒性を殆ど或いは全く含まず、ED<sub>50</sub> を含むような血中濃度の範囲にあることが好ましい。用いられる投与形態、患者の感受性及び投与の経路によって、投与量はこの範囲内で様々に変わる。

## 【0192】

正確な投与量は、治療が必要な被験者に関する要素を考慮して、現場の医者が決定することになる。効果的なレベルの活性成分を与え、或いは所望の効果を維持するべく、投与量及び投与を調節する。被験者に関する要素としては、疾患の重症度、患者の通常健康状態、患者の年齢、体重及び性別、投与の時間及び頻度、薬剤の配合、反応感受性及び治療に対する応答等を考慮する。作用期間が長い成分は、特定の製剤の半減期及びクリアランス率によって3～4日毎に1度、1週間に1度、或いは2週間に1度の間隔で投与し得る。

## 【0193】

通常の投与量は、投与の経路にもよるが約0.1～100,000 µgであり、合計で約1gまでとする。特定の投与量及び輸送方法に関するガイダンスは文献に記載されており、現場の医者は通常それを利用することができる。当業者は、タンパク質またはインヒビターに対する処方とは異なる、ヌクレオチドに対する処方を利用することになる。同様に、ポリヌクレオチドまたはポリペプチドの輸送は、特定の細胞、状態、位置等に特異的なものとなる。

## 【0194】

## 診断

別の実施例では、PPIMの発現によって特徴付けられる疾患の診断のために、或いはPPIMやPPIMのアゴニスト、アンタゴニストまたは阻害剤で治療を受けている患者をモニターするためのアッセイにおいて、PPIMを特異的に結合する抗体が用いられることがある。診断目的に有用な抗体は、上記の治療の箇所で記載した方法と同じ方法で調合される。PPIMの診断アッセイには、抗体及び標識を利用してヒトの体液において或いは細胞や組織のエキスにおいてPPIMを検出する方法が含まれる。抗体は、修飾して或いは修飾しないで使用し、レポーター分子の共有結合性或いは非共有結合性の接着によって標識化し得る。多様なレポーター分子が当分野で知られており、それらを用いることができる。幾つかのレポーター分子については上記した。

## 【0195】

PPIMを測定するための様々なプロトコル、例えばELISA、RIA、FACS等が当分野

において知られており、PPIM発現の修正レベル或いは異常レベルを診断する基準を提供する。複合体の形成に適した条件下でヒト対象等の正常な哺乳動物対象から採取した体液または細胞とPPIMに対する抗体とを結合させることにより、PPIM発現の正常値または標準値が決定される。標準複合体形成量は、種々の方法、例えば測光法で定量できる。対象内で発現したPPIMの量、制御、検体からの病変サンプルを標準値と比較する。標準値と対象との偏差が疾患を診断するパラメータとなる。

#### 【0196】

別の実施例によれば、PPIMをコードするポリヌクレオチドを診断目的に用いることもできる。用いられることができるポリヌクレオチドには、オリゴヌクレオチド配列、相補的RNA及びDNA分子、そしてPNAが含まれる。ポリヌクレオチドは、検体におけるPPIMの発現が疾患と相関し得るような該検体における遺伝子発現の検出及び定量に用いることができる。診断アッセイは、PPIMの不在、存在及び過剰発現を測定するために、そして治療インターベンション中にPPIMレベルの調製をモニターするために用いることができる。

#### 【0197】

一実施形態では、PPIMをコードする核酸配列を同定するために、PPIMまたは密接に関連している分子をコードする、ゲノム配列を含むポリヌクレオチド配列を検出可能なPCRプローブとのハイブリダイゼーションを用いることができる。プローブが、5'調節領域のような高特異領域を有するにせよ、保存されたモチーフのような低特異領域を有するにせよ、PPIM、突然変異体または関連配列をコードする天然の配列しか同定しないのかどうかは、プローブの特異性及びハイブリダイゼーション或いは増幅のストリンジェンシーが決定することになる。

#### 【0198】

プローブは、関連する配列の検出にも用いることができ、その配列はPPIMをコードする任意の配列と少なくとも50%の相同性をも有し得る。本発明のハイブリダイゼーションプローブはDNAまたはRNAとすることができ、配列番号28乃至54の配列、或いはPPIM遺伝子のプロモーター、エンハンサー、イントロンを含むゲノム配列に由来し得る。

## 【0199】

PPIMをコードするDNAに対する特異的ハイブリダイゼーションプローブを作製する手段には、PPIMまたはPPIM誘導体をコードするポリヌクレオチド配列を、mRNAプローブを作製するためのベクターにクローニングする方法が含まれる。mRNAプローブ作製のためのベクターは、当業者に知られており、市販されており、好適なRNAポリメラーゼ及び好適な標識されたヌクレオチドを加えることによって、in vitroでRNAプローブを合成するために用いられ得る。ハイブリダイゼーションプローブは、種々のレポーターの集団によって標識され得る。レポーター集団の例としては、 $^{32}\text{P}$ または $^{35}\text{S}$ 等の放射性核種、或いはアビジン/ビオチン結合系を介してプローブに結合されたアルカリホスファターゼ等の酵素標識などが挙げられる。

## 【0200】

PPIMをコードするポリヌクレオチド配列は、PPIMの発現に係る疾患の診断の為に用い得る。限定するものではないがこのような疾患の例として限定するものではないがこのような疾患の例として細胞増殖異常が含まれ、その中には日光性角化症、動脈硬化症、アテローム性動脈硬化症、滑液包炎、硬変、肝炎、混合型結合組織病(MCTD)、骨髄線維症、発作性夜間ヘモグロビン尿症、真性多血症、乾癬、原発性血小板血症と、腺癌、白血病、リンパ腫、黒色腫、骨髄腫、肉腫、奇形癌を含む癌、具体的には副腎、膀胱、骨、骨髄、脳、乳房、頸部、胆嚢、神経節、消化管、心臓、腎臓、肝臓、肺、筋肉、卵巣、膵臓、副甲状腺、陰茎、前立腺、唾液腺、皮膚、脾臓、精巣、胸腺、甲状腺、子宮の癌等が含まれ、また及び自己免疫/炎症性疾患も含まれ、その中には後天性免疫不全症候群(AIDS)、アジソン病、成人呼吸窮迫症候群、アレルギー、強直性脊椎炎、アミロイド症、貧血、動脈硬化、喘息、アテローム性動脈硬化症、自己免疫性溶血性貧血、自己免疫性甲状腺炎、自己免疫多発性内分泌腺障害症(APECED)、気管支炎、滑液包炎、胆嚢炎、接触皮膚炎、クローン病、アトピー性皮膚炎、皮膚筋炎、糖尿病、肺気腫、胎児赤芽球症、結節性紅斑、萎縮性胃炎、糸球体腎炎、グッドパスチャー症候群、痛風、グレーブス病、橋本甲状腺炎、過好酸球増加症、過敏性大腸症候群、リンパ球毒素性一時的リンパ球減少症、多発性硬化症、重症筋無力症、

心筋または心膜の炎症、骨髄線維症、変形性関節症、骨粗しょう症、膵炎、ライター症候群、リウマチ様関節炎、強皮症、シェーグレン症候群、全身性アナフィラキシー、全身性紅斑性狼瘡、全身性硬化症、血小板減少性紫斑病、潰瘍性大腸炎、ブドウ膜炎、ウェルナー症候群、癌の合併症、血液透析、体外循環、ウイルス感染、細菌感染、真菌感染、寄生虫感染、原虫感染、寄生虫性感染、及び外傷が含まれる。PPIMをコードするポリヌクレオチド配列は、サザン法、ノーザン法、ドットプロット法やその他の膜ベースの技術と、PCR法と、ディップスティック(dipstick)、ピン及びマルチフォーマットELISA様アッセイと、変異PPIMの発現を検出するために患者から採取した体液または組織を利用するマイクロアレイとにおいて使用し得る。このような定性方法または定量方法は、当分野で公知である。

#### 【0201】

或る形態では、関連する疾患、特に上記した疾患を検出するアッセイにおいて、PPIMをコードするヌクレオチド配列が有用であり得る。PPIMをコードするヌクレオチド配列は標準的な方法で標識化され、ハイブリダイゼーション複合体の形成に好適な条件下で、患者から採取した体液または組織のサンプルに添加することができる。好適なインキュベーション期間が経過したらサンプルを洗浄し、シグナルを定量して標準値と比較する。患者サンプルのシグナル量が制御サンプルと比べて著しく変化している場合は、サンプル内のPPIMをコードするヌクレオチド配列の変異レベルは関連する疾患の存在を示している。このようなアッセイは、動物実験、臨床試験における特定の治療効果を推定するため、或いは個々の患者の治療をモニターするために用いることもできる。

#### 【0202】

PPIMの発現に関連する疾患の診断基準を提供するために、発現のための正常あるいは標準概要を確立する。これは、ハイブリダイゼーション或いは増幅に好適な条件下で、動物或いはヒトの正常な対象から抽出した体液或いは細胞を、PPIMをコードする配列またはその断片と結合させることにより達成され得る。実質的に精製されたポリヌクレオチドを既知量用いて行った実験から得た値を正常な対象から得た値と比較することにより、標準ハイブリダイゼーションを定量するこ

とができる。このようにして得た標準値は、疾患の徴候を示す患者から得たサンプルから得た値と比較することができる。標準値からの偏差を用いて疾患の存在を証明する。

#### 【0203】

疾患の存在が証明されて治療プロトコルが開始されると、患者の発現レベルが正常な被検者に観察されるレベルに近づき始めたかどうかを測定するため、ハイブリダイゼーションアッセイを通常ベースで繰り返し得る。連続アッセイから得られた結果を用いて、数日から数ヶ月の期間にわたる治療の効果を示し得る。

#### 【0204】

癌に関しては、個体からの生体組織における異常な量の転写物（過少発現または過剰発現）の存在は、疾患の発生素質を示したり、実際に臨床的症状が現れる前に疾患を検出する方法を提供したりし得る。この種のより明確な診断により、医療の専門家が予防方法または積極的な治療法を早くから利用し、それによって癌の発生または更なる進行を防止することが可能となる。

#### 【0205】

PPIMをコードする配列から設計されたオリゴヌクレオチドを診断上追加的に利用することは、PCRの利用に關与し得る。これらのオリゴマーは、化学的に合成するか、酵素により生産するか、或いは*in vitro*で産出し得る。オリゴマーは、好ましくはPPIMをコードするポリヌクレオチドの断片、或いはPPIMをコードするポリヌクレオチドと相補的ポリヌクレオチドの断片を含み、最適条件下で特定の遺伝子や条件を識別するべく利用される。また、オリゴマーは、やや緩いストリンジェント条件下で、密接に関連しているDNA或いはRNA配列の検出または定量のため用いることが可能である。

#### 【0206】

或る態様において、PPIMをコードするポリヌクレオチド配列由来のオリゴヌクレオチドプライマーを用いて一塩基多型（SNP）を検出し得る。SNPは、多くの場合にヒトの先天性または後天性遺伝病の原因となるような置換、挿入及び欠失である。限定するものではないがSNPの検出方法には、制限酵素切断法（SSCP）及び蛍光SSCP（fSSCP）がある。SSCPでは、PPIMをコードするポリヌクレオチド配

列由来のオリゴヌクレオチドプライマーを用いて、ポリメラーゼ連鎖反応法 (PCR) を用いたDNAの増幅を行う。DNAは例えば、病変組織または正常組織、生検サンプル、体液その他に由来し得る。DNA内のSNPIは、一本鎖形状のPCR生成物の2次及び3次構造に差異を生じさせる。差異は非変性ゲル中でのゲル電気泳動法を用いて検出可能である。fSCCPでは、オリゴヌクレオチドプライマーを蛍光性に標識する。それによってDNAシーケンシング機などの高処理機器でアンプリマー (amplimer) の検出が可能になる。更に、インシリコSNP (in silico SNP, is SNP) と呼ばれる配列データベース分析法は、一般的なコンセンサス配列に配列されるような個々の重畳するDNA断片の配列を比較することにより、多型を同定し得る。これらのコンピュータベースの方法は、DNAの実験室での調整及び統計モデル及びDNA配列クロマトグラムの自動分析を用いたシーケンシングのエラーに起因する配列の変異をフィルタリングして除去する。別の態様では、例えば高処理MASSARRAYシステム (Sequenom, Inc., San Diego CA) を用いた質量分析によりSNPを検出し、特徴付ける。

#### 【0207】

PPIMの発現を定量するために用い得る方法には、ヌクレオチドの放射標識またはビオチン標識、調節核酸の相互増幅 (coamplification) 及び標準曲線から得た結果の補間もある (Melby, P.C.ら (1993) J. Immunol. Methods, 159:235-244、Duplaa, C.ら (1993) Anal. Biochem. 212:229-236等を参照)。目的のオリゴマーが種々の希釈液中に存在し、分光光度法または非色応答によって定量が迅速になるような高処理フォーマットのアッセイを行うことによって、複数のサンプルの定量速度を加速することができる。

#### 【0208】

更に別の実施例では、本明細書に記載した任意のポリヌクレオチド配列由来のオリゴヌクレオチドまたはより長い断片を、マイクロアレイにおける標的として用いることができる。多数の遺伝子の関連発現レベルを同時にモニターする転写イメージング技術にマイクロアレイを用いることが可能である。これについては、米国特許第5,840,484号のSeilhamer, J.J. らの "Comparative Gene Transcript Analysis" に記載されており、この引用を以って本明細書の一部となす。マイ

クロアレイはまた、遺伝変異体、突然変異及び多型の同定に用いることができる。この情報を用いることで、遺伝子機能を決定し、疾患の遺伝的根拠を理解し、疾患を診断し、遺伝子発現の機能としての疾病の進行/後退をモニターし、疾病治療における薬剤の活性を開発及びモニターすることができる。特に、患者にとって最もふさわしく、有効的な治療法を選択するために、この情報を用いて患者の薬理ゲノムプロファイルを開発することができる。例えば、患者の薬理ゲノムプロファイルに基づき、患者に対して高度に有効的で副作用を殆ど示さない治療薬を選択し得る。

#### 【0209】

別の実施例では、PPIMに特異的な抗体、PPIMまたはその断片をマイクロアレイ上で要素として用い得る。マイクロアレイを用いて、上記のようなタンパク質間相互作用、薬剤-標的相互作用及び遺伝子発現プロファイルをモニターまたは測定し得る。

#### 【0210】

一実施例は、組織または細胞タイプの転写イメージを生成する本発明のポリヌクレオチドの使用に関する。転写イメージは、特定の組織または細胞タイプによる遺伝子発現の全体的なパターンを表す。全体的な遺伝子発現パターンは、複数の発現された遺伝子及びその相対存在量を所与の条件及び時間で定量することにより分析する（Seilliamerらの米国特許第5,840,484号 "Comparative Gene Transcript Analysis" を参照。該特許の引用を以って本明細書の一部となす）。従って、特定の組織または細胞タイプの転写または逆転写の全体に本発明のポリヌクレオチドまたはその相補体をハイブリダイズすることにより転写イメージを生成し得る。一実施例では、本発明のポリヌクレオチドまたはその相補体が複数のマイクロアレイ上のエレメントのサブセットを有し、高処理フォーマットでハイブリダイゼーションが行われる。結果として生じる転写イメージは、遺伝子活性のプロファイルを提供することになる。

#### 【0211】

転写イメージは、組織、株化細胞、生検または生物学的サンプルから単離した転写物を用いて生成し得る。転写イメージは、組織または生検サンプルの場合に

はin vivoで、株化細胞の場合にはin vitroで遺伝子発現を反映し得る。

#### 【0212】

本発明のポリヌクレオチドの発現プロフィールを作成するような転写イメージは、工業的及び天然の環境化合物の毒性試験のみならずin vitroモデルシステム及び医薬品の前臨床評価と併せて用い得る。全ての化合物は、しばしばフィンガープリントまたは毒物サインと名付けられるような、作用及び毒性のメカニズムを示す特性遺伝子発現パターンを誘導する (Nuwaysir, E.F. ら (1999) Mol. Carcinog. 24:153-159; Steiner, S. and N.L. Anderson (2000) Toxicol. Lett. 112-113:467-471、特別に引用を以って本明細書の一部となす)。試験化合物が、既知の毒性を有する化合物のサインと類似のサインを有しているのであれば、毒性の特性を共有している可能性がある。これらのフィンガープリントまたはサインは、複数の遺伝子及び遺伝子ファミリーからの発現情報が含まれている場合には、最も有益且つ洗練されたものである。理想的には、発現をゲノム全体で測定することにより、最高品質のサインが与えられる。任意の試験化合物により発現が変異された遺伝子であっても、これらの遺伝子の発現レベルを用いて発現データの残りを規準化し得るので、同様に重要である。規準化手法は、異なる化合物で処理した後で発現データを比較するのに役立つ。毒物サインのエレメントに対する遺伝子機能の割当は毒性メカニズムの解釈に役立つが、毒性の予測を導くサインを統計学的に一致させるために遺伝子機能の知識は必ずしも必要ではない (例えば米国環境健康科学研究所 (National Institute of Environmental Health Sciences) から2000年2月29日に発行され、<http://www.niehs.nih.gov/oc/news/toxchip.htm>で利用可能なPress Release 00-02を参照)。従って、毒物サインを用いた毒物学的スクリーニングにおいては、発現された遺伝子配列を全て含めることは重要且つ望ましいことである。

#### 【0213】

一実施例では、試験化合物内で核酸を含有する生物学的サンプルを処理することにより、試験化合物の毒性を算定する。処理生物学的サンプル中で発現されたを、本発明のポリヌクレオチドに特異的な1若しくは数個のプロープにハイブリダイズし、それによって本発明のポリヌクレオチドに対応する転写レベルを定量

し得る。処理生物学的サンプルにおける転写レベルを非処理の生物学的サンプルのレベルと比較する。両サンプルの転写レベルの差は、処理サンプル中において試験化合物により引き起こされる毒性反応を示す。

#### 【0214】

別の実施例は、組織または細胞タイプのプロテオームを分析するための本発明のポリペプチド配列の使用に関連する。プロテオームの語は、特定の組織または細胞タイプにおけるタンパク質発現の全体パターンを指す。プロテオームの各タンパク質成分は、更なる分析のために個別に対象にすることができる。プロテオーム発現パターン即ちプロフィールは、所与の条件下で所与の時間で発現されたタンパク質の数及びその相対存在度を定量することにより分析する。従って、特定の組織または細胞タイプのポリペプチドを分離及び分析することにより、細胞のプロテオームのプロフィールを作成し得る。一実施例では、1次元でサンプルから得たタンパク質を等電点電気泳動により分離し、次に分子量に従って2次元でドデシル硫酸ナトリウムスラブゲル電気泳動により分離するような2次元ゲル電気泳動を用いて分離を達成し得る（前出のSteiner and Anderson）。タンパク質は、通常、クーマシーブルーまたはシルバーまたは蛍光染色などの物質でゲルを染色することにより、ゲル中で離散して独自に位置するスポットとして可視化される。各タンパク質スポットの光学密度は通常、サンプル中のタンパク質のレベルに比例する。異なるサンプル（例えば試験化合物または治療薬で処理した生物学的サンプル或いは非処理の生物学的サンプルのいずれか）から得た同等に位置するタンパク質スポットの光学密度を比較し、処理に関連するタンパク質スポット密度における任意の変化を同定する。スポットにおけるタンパク質は、例えば化学的または酵素的開裂を利用した標準的な方法を用いて部分的に配列し、質量分析する。スポットにおけるタンパク質の同定は、その部分配列（少なくとも5つの連続するアミノ酸残基が好ましい）を本発明のポリペプチド配列と比較することにより決定し得る。場合によっては、最終的なタンパク質同定のための配列データを更に得ることができる。

#### 【0215】

PPIMに特異的な抗体を用いてプロテオームのプロフィールを生成し、PPIM発現

のレベルを定量することもできる。一実施例では、マイクロアレイ上でエレメントとして抗体を用い、マイクロアレイをサンプルに曝して各アレイエレメントとのタンパク質結合のレベルを検出することによって、タンパク質発現レベルを同定する (Lueking, A. ら (1999) *Anal. Biochem.* 270:103-111; Mendozze, L.G. et al. (1999) *Biotechniques* 27:778-788)。検出は、当分野において知られている様々な方法により実行し得る。例えば、サンプル中のタンパク質をチオール反応性またはアミノ反応性蛍光化合物に反応させて各アレイエレメントでの蛍光結合の量を検出し得る。

#### 【0216】

プロテオームレベルでの毒性サインはまた、毒物学的スクリーニングに有益であり、転写レベルでの毒性サインと平行して分析すべきである。組織中のタンパク質には転写とタンパク質存在度との貧弱な相互関係があるものがあるので (Anderson, N.L. and J. Seilhamer (1997) *Electrophoresis* 18:533-537)、転写イメージに著しく影響するものではないがプロテオームのプロフィールを変化させるような化合物を分析する際には、プロテオーム毒性サインが有用であり得る。更に、mRNAの分解が速いために体液中の転写物の分析は困難であり、そのためプロテオームのプロフィールはそのような場合により信頼でき、情報価値がある。

#### 【0217】

別の実施例では、タンパク質を含む生物学的サンプルを試験化合物で処理することにより試験化合物の毒性を算定する。処理済みの生物学的サンプル中で発現されたタンパク質を分離し、各タンパク質の量を定量できるようにする。各タンパク質の量は、非処理の生物学的サンプルにおける対応するタンパク質の量と比較する。両サンプルのタンパク質量の差は、処理サンプル中の試験化合物に対する毒性反応を示す。個々のタンパク質の同定は、個々のタンパク質のアミノ酸残基をシーケンシングし、これら部分配列を本発明のポリペプチドと比較することにより行う。

#### 【0218】

別の実施例では、タンパク質を含む生物学的サンプルを試験化合物で処理する

ことにより試験化合物の毒性を算定する。生物学的サンプルから得たタンパク質は、本発明のポリペプチドに特異的な抗体を用いてインキュベートする。抗体により認識したタンパク質の量を定量する。処理済みの生物学的サンプルにおけるタンパク質の量を非処理の生物学的サンプルの量と比較する。両サンプルのタンパク質量の差は、処理サンプル中の試験化合物に対する毒性反応を示している。

#### 【0219】

マイクロアレイは、当分野でよく知られている方法を用いて調製し、使用し、そして分析する (Brennan, T.M. ら (1995) の米国特許第5,474,796号、Schena, M. ら (1996) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:10614-10619、Baldeschweiler らの (1995) PCT出願第W095/251116号、Shalon, D. らの (1995) PCT出願第W095/35505号、Heller, R.A. ら (1997) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94:2150-2155、Heller, M.J. らの (1997) 米国特許第5,605,662号等を参照)。様々なタイプのマイクロアレイが公知であり、詳細については、DNA Microarrays: A Practical Approach, M. Schena, ed. (1999) Oxford University Press, Londonに記載されている。該文献は、特別に引用することを以って本明細書の一部となす。

#### 【0220】

本発明の別の実施例では、天然のゲノム配列をマッピングする際に有効なハイブリダイゼーションプローブを産出するため、PPIMをコードする核酸配列を用いることが可能である。コード配列または非コード配列のいずれかを用いることができ、或る例では、コード配列全体で非コード配列が好ましい。例えば、多重遺伝子ファミリーのメンバー内でのコード配列の保存により、染色体マッピング中に望ましくないクロスハイブリダイゼーションが生じる可能性がある。核酸配列は、特定の染色体、染色体の特定領域または人工形成の染色体、例えば、ヒト人工染色体 (HAC)、酵母人工染色体 (YAC)、細菌人工染色体 (BAC)、細菌P1産物、或いは単一染色体cDNAライブラリに対してマッピングされる (Harrington, J.J. ら (1997) Nat Genet. 15:345-355、Price, C.M. (1993) Blood Rev. 7:127-134、Trask, B.J. (1991) Trends Genet. 7:149-154等を参照)。一度マッピングされた本発明の核酸配列は、例えば病状の遺伝を特定の染色体領域の遺伝または制限断片長多型 (RFLP) と関連させるような遺伝子連鎖地図を発生させるの

に用い得る。

#### 【0221】

蛍光原位置ハイブリッド形成法 (FISH) は、他の物理的及び遺伝地図データと関連し得る (前出のHeinz-Ulrich, ら (1995) in Meyers, pp. 965-968.等を参照)。遺伝地図データの例は、種々の科学雑誌あるいはOnline Mendelian Inheritance in Man (OMIM) のウェブサイトに見ることができる。物理的染色体地図上のPPIMをコードする遺伝子の位置と特定の疾患との相関性或いは特定の疾患に対する素因は、その疾患に関係するDNAの領域を画定するのに役立つものであり、従って更に位置クローニングする試みとなり得る。

#### 【0222】

確認された染色体マーカーを用いた結合分析等の物理的マッピング技術及び染色体標本原位置ハイブリッド形成法を用いて、遺伝地図を拡張することができる。例えばマウスなど別の哺乳動物の染色体上に遺伝子を配置することにより、特定のヒト染色体の数或いはアームが分かっていない場合でも関連するマーカーを明らかにし得る。この情報は、位置クローニングその他の遺伝子発見技術を用いて遺伝的疾患を調査する研究者にとって価値がある。疾患または症候群が、血管拡張性失調症の11q22-23領域等、特定の遺伝子領域への遺伝的結合によって大まかに位置決めがなされると、該領域に対するいかなるマッピングも、更なる調査のための関連遺伝子或いは調節遺伝子を表すことができる (Gatti, R.A.ら (1988) Nature 336:577-580等を参照)。転座、反転等に起因する、健常者、保有者、感染者の三者間における染色体位置の相違を発見するために、本発明のヌクレオチド配列を用いてもよい。

#### 【0223】

本発明の別の実施例では、種々の薬剤スクリーニング技術を以って化合物のライブラリをスクリーニングするために、PPIM、PPIMの触媒作用断片、免疫原断片、またはそのオリゴペプチドを用いることができる。薬剤スクリーニングに用いる断片は、溶液中に遊離しているか、固体支持物に固定されるか、細胞表面上に保持されるか、細胞内に位置することになる。PPIMとテストされる薬剤との結合複合の形成は計測できる。

## 【0224】

別の薬剤スクリーニング方法は、目的のタンパク質に対して好適な結合親和性を有する化合物を高い処理能力でスクリーニングするために用いられる（Geysen,らの（1984）PCT出願第W084/03564号等を参照）。この方法においては、多数の異なる小さな試験用化合物を固体基質上で合成する。試験用化合物は、PPIM或いはその断片と反応させ、洗浄する。次に、当分野でよく知られている方法で、結合したPPIMを検出する。精製したPPIMはまた、上記した薬剤のスクリーニング技術において用いるプレート上で直接コーティングすることもできる。別の実施例では、非中和抗体を用いてペプチドを捕捉し、ペプチドを固体支持物に固定することもできる。

## 【0225】

別の実施例では、競合薬スクリーニングアッセイを用いることができる。このアッセイでは、PPIMを結合することができる中和抗体が、PPIMを結合するための試験化合物と特異的に競合する。この方法では、抗体が、1若しくは数個の抗原決定因子をPPIMと共有するペプチドの存在を検出する。

## 【0226】

別の実施例では、新規技術が現在知られているヌクレオチド配列の特性（限定するものではないがトリプレット遺伝暗号及び特異的塩基対の相互作用等を含む）に依存するのであれば、依然として発展すべきいかなる分子生物学技術においても、PPIMをコードするヌクレオチド配列を用いることができる。

## 【0227】

更に詳細に説明せずとも、当業者であれば以上の説明を以って本発明を最大限に利用できるであろう。従って、これ以下に記載する実施例は単なる例示目的にすぎず、いかようにも本発明を限定するものではない。

## 【0228】

本明細書において開示した全ての特許、特許出願及び刊行物、特に米国特許第60/147,986号及び60/160,807号は、言及することをもって本明細書の一部となす。

## 【0229】

## (実施例)

### 1 cDNAライブラリの作製

RNAは、Clontech社から購入し、或いは表4に列記した組織から単離した。ホモジナイズしてグアニジニウムイソチオシアネート溶液に溶解した組織もあり、また、ホモジナイズしてフェノールまたは好適な変性剤の混合液に溶解した組織もある。変性剤の混合液は、例えばフェノールとグアニジニウムイソチオシアネートの単相溶液であるTRIZOL (Life Technologies) 等である。結果として得られた溶解物は、塩化セシウムにおいて遠心分離するかクロロホルムで抽出した。イソプロパノールか、酢酸ナトリウムとエタノールか、いずれか一方、或いは別の方法を用いて、溶解物からRNAを沈殿させた。

#### 【0230】

RNAの純度を高めるため、RNAのフェノール抽出及び沈殿を必要な回数繰り返した。場合によっては、DNアーゼでRNAを処理した。殆どのライブラリでは、オリゴd(T)連結常磁性粒子 (Promega)、OLIGOTEXラテックス粒子 (QIAGEN, Valencia CA) またはOLIGOTEX mRNA精製キット (QIAGEN) を用いて、ポリ(A+) RNAを単離した。別法では、別のRNA単離キット、例えばPOLY(A)PURE mRNA精製キット (Ambion, Austin TX) を用いて組織溶解物からRNAを直接単離した。

#### 【0231】

場合によってはStratagene社にRNAを提供し、対応するcDNAライブラリを同社が作製することもあった。そうでない場合は、当分野で公知の推奨方法または類似の方法を用いて、UNIZAPベクターシステム (Stratagene) またはSUPERSCRIPTプラスミドシステム (Life Technologies) を用いてcDNAを合成し、cDNAライブラリを作製した (前出のAusubel, 1997, unit 5.1-6.6等を参照)。逆転写は、オリゴd(T)またはランダムプライマーを用いて開始した。合成オリゴヌクレオチドアダプターを二本鎖cDNAに連結反応させ、好適な制限酵素でcDNAを消化した。殆どのライブラリに対して、cDNAのサイズ (300 ~ 1000 bp) 選択は、SEPHACRYL S1000、SEPHAROSE CL2BまたはSEPHAROSE CL4Bカラムクロマトグラフィー (Amersham Pharmacia Biotech)、或いは調製用アガロースゲル電気泳動法を用いて行った。cDNAは、好適なプラスミドのポリリンカーの適合性制限酵素部位に

連結反応させた。好適なプラスミドは、例えばPBLUESCRIPTプラスミド (Stratagene)、pSPORT1プラスミド (Life Technologies) またはpINCY (Incyte Pharmaceuticals, Palo Alto CA) 等である。組換えプラスミドは、Stratagene社のXL1-Blue、XL1-BlueMRFまたはSOLR、或いはLife Technologies社のDH5、DH10BまたはELECTROMAX DH10Bを含むコンピテント大腸菌細胞に形質転換した。

#### 【0232】

##### 2 cDNAクローンの単離

実施例1で説明したようにして得たプラスミドは、UNIZAPベクターシステム (Stratagene) を用いた in vivo 切除によって、或いは細胞溶解によって 宿主細胞から回収した。MagicまたはWIZARDミニプレップDNA精製システム (Promega)、AGTCミニプレップ精製キット (Edge Biosystems, Gaithersburg MD)、QIAGEN社のQIAWELL 8 Plasmid、QIAWELL 8 Plus Plasmid及びQIAWELL 8 Ultra Plasmid 精製システム、R.E.A.L. Prep 96プラスミドキットの中から少なくとも1つを用いて、プラスミドを精製した。沈殿させた後、0.1 mlの蒸留水に再懸濁して、凍結乾燥して或いは凍結乾燥せずに、4 で保管した。

#### 【0233】

別の実施例では、高処理フォーマットにおいて直接結合PCR法を用いて宿主細胞溶解物からプラスミドDNAを増幅した (Rao, V.B. (1994) Anal. Biochem. 216:1-14)。宿主細胞の溶解及び熱サイクリング過程は、単一反応混合液中で行った。サンプルを処理し、それを384穴プレート内で保管し、増幅したプラスミドDNAの濃度をPICOGREEN色素 (Molecular Probes, Eugene OR) 及びFluoroskan II蛍光スキャナ (Labsystems Oy, Helsinki, Finland) を用いて蛍光分析的に定量した。

#### 【0234】

##### 3 シークエンシング及び分析

実施例2で説明したようにして回収したIncyte cDNAは、以下のように配列決定した。cDNAのシーケンス反応は、標準的方法或いは高処理装置、例えばABI CATALYST 800 サーマルサイクラー (PE Biosystems) またはPTC-200 サーマルサイクラー (MJ Research) をHYDRAマイクロディスペンサー (Robbins Scientific

) またはMICROLAB 2200 (Hamilton) 液体転移システムと併用して処理した。cDNAのシーケンス反応は、Amersham Pharmacia Biotech社が提供する試薬またはABIシーケンシングキット、例えばABI PRISM BIGDYE Terminator cycle sequencing ready reaction kit (PE Biosystems) に与えられた試薬を用いて準備した。cDNAのシーケンス反応の電気泳動的分離及び標識したポリヌクレオチドの検出には、MEGABACE 1000 DNAシーケンシングシステム (Molecular Dynamics) が、標準ABIプロトコル及び塩基対呼び出しソフトウェアを用いるABI PRISM 373 または377シーケンシングシステム (PE Biosystems) が、或いはその他の当分野でよく知られている配列解析システムを用いた。cDNA配列内のリーディングフレームは、標準的方法 (前出のAusubel, 1997, unit 7.7に概説) を用いて決定した。幾つかのcDNA配列を選択して、実施例6で開示した方法を用いて配列を伸長させた。

#### 【0235】

cDNA配列に由来するポリヌクレオチド配列を構築し、当業者によく知られたアルゴリズムを利用するソフトウェアの組合せを用いて解析した。利用したツール、プログラム及びアルゴリズムの概略、適用可能な説明、引用文献、閾値パラメータを表5に示す。用いたツール、プログラム及びアルゴリズムを表5の列1に、それらの簡単な説明を列2に示す。列3は好適な引用文献であり、全ての文献はそっくりそのまま引用を以って本明細書の一部となす。適用可能な場合には、列4は2つの配列が一致する強さを評価するために用いたスコア、確率値その他のパラメータを示す (スコアが高ければ高いほど2配列間の相同性が高くなる)。配列の解析は、MACDNASIS PROソフトウェア (日立ソフトウェアエンジニアリング, South San Francisco CA) 及びLASERGENEソフトウェア (DNASTAR) を用いて行った。ポリヌクレオチド及びポリペプチド配列アラインメントは、整列させた配列間の一致率をも計算するようなMEGALIGNマルチシーケンスアラインメントプログラム (DNASTAR) に組み入れられた際に、clustalアルゴリズムにより特定されたデフォルトパラメータを用いて生成した。

#### 【0236】

ポリヌクレオチド配列は、ベクター、リンカー及びポリA配列を除去すること

により、またあいまいな塩基対をマスクすることによって有効性を確認した。その際、BLAST、動的プログラミング、及び隣接ジヌクレオチド頻度分析に基づくアルゴリズム及びプログラムを用いた。次に、BLAST、FASTA及びBLIMPSに基づくプログラムを用いて、プログラム中の注釈を得るべく、公共のデータベース、例えばGenBankの霊長類及びげっ歯類、哺乳動物、脊椎動物、真核生物のデータベースと、BLOCKS、PRINTS、DOMO、PRODOM及びPFAMの選択に対する配列を問い合わせた。配列はPhred、Phrap及びConsedに基づくプログラムを用いて完全長のポリヌクレオチド配列に構築し、GenMark、BLAST及びFASTAに基づくプログラムを用いてオープンリーディングフレームに対してスクリーニングした。対応する完全長アミノ酸配列を誘導するべく完全長ポリヌクレオチド配列を翻訳し、その後、GenBankデータベース(上記)、SwissProt、BLOCKS、PRINTS、DOMO、PRODOM及びProsite等のデータベース、PFAM等の隠れマルコフモデル(HMM)ベースのタンパク質ファミリーデータベースに対する問合せによって完全長配列を分析した。HMMは、遺伝子ファミリーのコンセンサス1次構造を解析する確率的アプローチである(Eddy, S.R. (1996) Curr. Opin. Struct. Biol. 6:361-365等を参照)。

#### 【0237】

完全長ポリヌクレオチド及びアミノ酸配列の構築及び分析に用いる上記のプログラムは、配列番号28乃至54からのポリヌクレオチド配列の断片を同定するためにも使用できる。ハイブリダイゼーション及び増幅に有用な約20~約4000のヌクレオチドの断片は、上記「発明」の項で説明した。

#### 【0238】

##### 4 ポリヌクレオチド発現の分析

ノーザン分析は、転写された遺伝情報の存在を検出するために用いられる実験技術であり、標識されたヌクレオチド配列の、特定の細胞種または組織からのRNAが結合される膜へのハイブリダイゼーションに参与している(前出のSambrook, 7章、同Ausubel, F.M. ら, 4章及び16章等を参照)。

#### 【0239】

BLASTに適用する類似のコンピュータ技術を用いて、GenBankやLifeSeq (Incyt

e Genomics)等のヌクレオチドデータベースにおいて同一または関連分子を検索する。ノーザン分析は、多数の膜系ハイブリダイゼーションよりも断然速い。更に、特定の同一を厳密な或いは相同的なものとして分類するか否かを決定するため、コンピュータ検索の感度を変更することができる。検索の基準はプロダクトスコアであり、次式で定義される。

【0240】

【数1】

$$\frac{(\text{BLASTスコア} \times \text{配列一致率})}{5 \times (\text{長さ(配列1)}, \text{長さ(配列2)}) \text{の最小値}}$$

【0241】

プロダクトスコアは、2つの配列間の類似度及び配列が一致する長さの両者を考慮している。プロダクトスコアは、0～100の規準化された値であり、次のようにして求める。BLASTスコアにヌクレオチドの配列一致率を乗じ、その積を2つの配列の短い方の長さの5倍で除する。高スコアリングセグメント対(HSP)に一致する各塩基に+5のスコアを割り当て、各不適性塩基対に-4を割り当てることにより、BLASTスコアを計算する。2つの配列は、2以上のHSPを共有し得る(ギャップにより離隔され得る)。2以上のHSPがある場合には、最高BLASTスコアの塩基対を用いてプロダクトスコアを計算する。プロダクトスコアは、断片的重畳とBLASTアラインメントの質とのバランスを表す。例えばプロダクトスコア100は、比較した2つの配列の短い方の長さ全体にわたって100%一致する場合のみ得られる。プロダクトスコア70は、一端が100%一致し、70%重畳しているか、他端が88%一致し、100%重畳しているかのいずれかの場合に得られる。プロダクトスコア50は、一端が100%一致し、50%重畳しているか、他端が79%一致し、100%重畳しているかのいずれかの場合に得られる。

【0242】

ノーザン分析の結果は、PPIMをコードする転写物が作出されたライブラリの分布パーセンテージとして報告される。分析は、器官/組織及び疾患によるcDNAラ

ライブラリのカテゴリ分類に關与している。器官/組織のカテゴリには、心血管、皮膚、発生、内分泌、胃腸、造血/免疫、筋骨格、神経、生殖及び泌尿器がある。疾患/病状のカテゴリには、癌、炎症、外傷、細胞増殖、神経、貯留 (pooled) が含まれる。カテゴリ毎に目的の配列を発現するライブラリ数を数え、それを全カテゴリのライブラリ数で除した。組織特異発現及び疾患/病状特異発現のパーセント値を表3に示す。

### 【0243】

#### 5 ポリヌクレオチドをコードするPPIMの染色体マッピング

配列番号28乃至54を配列するために用いたcDNA配列は、BLAST及びその他のスミス ウォーターマンアルゴリズムのインプリメンテーションを用いて、Incyte LIFESEQのデータベース及びパブリックドメインのデータベースから得た配列と比較した。配列番号28乃至54に適合するデータベースから得た配列は、Phrap (表5) 等のアセンブリアルゴリズムを用いて隣接する配列及びオーバーラップする配列のクラスタに配列した。スタンフォード・ヒトゲノムセンター (SHGC)、ホワイトヘッド・ゲノム研究所 (WIGR)、Genethon等の公的な情報源から入手可能な放射線ハイブリッド及び遺伝地図データを用いて、クラスタ化された配列が予めマッピングされたかを測定した。マッピングされた配列がクラスタに含まれている結果、個々の配列番号を含めてそのクラスタの全配列が地図上の位置に割り当てられた。

### 【0244】

配列番号30、配列番号37及び配列番号47の遺伝地図上の位置については、ヒト染色体の範囲または間隔として「発明」の項に記載されている。センチモルガン間隔の地図上の位置は、染色体のpアームの末端に關連して測定する (センチモルガン (cM) は、染色体マーカー間の組換え頻度に基づく計測単位である。平均すると、1 cMはヒト中のDNAの1メガベース (Mb) にほぼ等しい。尤も、この値は、組換えのホットスポット及びコールドスポットに起因して広範囲に変化する)。cM距離は、配列が各クラスタ内に含まれるような放射線ハイブリッドマーカーに対して境界を提供するようなGenethonによってマッピングされた遺伝マーカーに基づく。指示された間隔内に配置された公開配列及びIncyte配列に關

連する疾病は、利用可能な場合には「発明」においても報告されている。

#### 【0245】

##### 6 ポリヌクレオチドをコードするPPIMの伸長

配列番号28乃至54の完全長の核酸配列は、完全長分子の適切な断片から設計したオリゴヌクレオチドプライマーを用いて該断片を伸長させて生成した。一方のプライマーは既知の断片の5'伸長を開始するべく合成し、他方のプライマーは既知の断片の3'伸長を開始するべく合成した。開始プライマーの設計は、長さが約22~30ヌクレオチド、GC含有率が50%以上となり、約68~72の温度で標的配列にアニーリングするように、OLIGO 4.06ソフトウェア (National Biosciences) 或いは別の適切なプログラムを用いて、cDNAから設計した。ヘアピン構造及びプライマー-プライマー二量体を生ずるようなヌクレオチドの伸長は全て回避した。

#### 【0246】

選択したヒトcDNAライブラリを用いて配列を伸長させた。2段階以上の伸長が必要または望ましい場合には、付加的プライマー或いはプライマーのネステッドセットを設計した。

#### 【0247】

当業者によく知られている方法を利用したPCR法によって、高忠実度の増幅が得られた。PCRは、PTC-200サーマルサイクラー (MJ Research, Inc.) を用いて96穴プレート内で行った。反応混合液には、DNA鋳型、各プライマー200 nmo lと、 $Mg^{2+}$ 、 $(NH_4)_2SO_4$  及び  $\beta$ -メルカプトエタノールを含む反応緩衝液と、Taq DNAポリメラーゼ (Amersham Pharmacia Biotech) と、ELONGASE酵素 (Life Technologies) と、Pfu DNAポリメラーゼ (Stratagene) が含まれていた。プライマー対PCI A、PCI Bに対して用いたパラメータは次の通りである。

ステップ1： 94 で3分間

ステップ2： 94 で15秒

ステップ3： 60 で1分間

ステップ4： 68 で2分間

ステップ5： ステップ2、3、4を20回繰り返す

ステップ6 : 68 で5分間

ステップ7 : 4 で保存

プライマー対T7、SK+に対しては、上記パラメータに代えて以下のパラメータを用いた。

ステップ1 : 94 で3分間

ステップ2 : 94 で15秒

ステップ3 : 57 で1分間

ステップ4 : 68 で2分間

ステップ5 : ステップ2、3、4を20回繰り返す

ステップ6 : 68 で5分間

ステップ7 : 4 で保存

1X TEに溶解したPICOGREEN定量試薬(0.25%(v/v) PICOGREEN、Molecular Probes, Eugene OR) 100  $\mu$ lと、希釈していないPCR産物0.5  $\mu$ lとを不透明な蛍光光度計プレート(Coming Costar, Acton MA)の各穴に分配し、DNAを試薬と結合可能なようにさせることによって各穴内のDNA濃度の測定を行った。サンプルの蛍光を計測してDNAの濃度を定量するべくプレートをFluoroskan II (Labsystems Oy, Helsinki, Finland)でスキャンした。反応混合物のアリコート5~10  $\mu$ lを1%アガロースミニゲル上で電気泳動法によって解析し、どの反応が配列の伸長に成功したかを決定した。

#### 【0248】

伸長させたヌクレオチドは、脱塩及び濃縮して384穴プレートに移し、CviI コレラウイルスエンドヌクレアーゼ(Molecular Biology Research, Madison WI)を用いて消化し、pUC 18ベクター(Amersham Pharmacia Biotech)への再連結反応前に音波処理またはせん断した。ショットガン・シーケンシングのために、消化したヌクレオチドを低濃度(0.6~0.8%)のアガロースゲル上で分離し、断片を切除し、寒天をAgar ACE(Promega)で消化した。伸長させたクローンをT4リガーゼ(New England Biolabs, Beverly MA)を用いてpUC 18ベクター(Amersham Pharmacia Biotech)に再連結し、Pfu DNAポリメラーゼ(Stratagene)で処理して制限部位のオーバーハングを満たし、コンピテント大腸菌細胞

に形質移入した。形質移入した細胞を抗生物質含有培地上で選択し、個々のコロニーを選択してLB/2x carb液体培地の384穴プレート内において37℃で一晩培養した。

#### 【0249】

細胞を溶解し、Taq DNAポリメラーゼ (Amersham Pharmacia Biotech) 及びPfu DNAポリメラーゼ (Stratagene) を用いてPCRによってDNAを増幅した。その際用いたパラメータは次の通りである。

ステップ1: 94℃で3分間

ステップ2: 94℃で15秒

ステップ3: 60℃で1分間

ステップ4: 72℃で2分間

ステップ5: ステップ2、3、4を29回繰り返す

ステップ6: 72℃で5分間

ステップ7: 4℃で保存

DNAは、上記のPICOGREEN試薬 (Molecular Probes) によって定量した。DNAの回収率が低いサンプルは、上記と同一の条件を用いて再増幅した。サンプルは20%ジメチルスルホキシド (1:2, v/v) で希釈し、DYENAMIC energy transfer sequencing primer及びDYENAMIC DIRECT kit (Amersham Pharmacia Biotech) またはABI PRISM BIGDYE Terminator cycle sequencing ready reaction kit (PE Biosystems) を用いてシーケンシングした。

#### 【0250】

同様に、伸長のために設計されたオリゴヌクレオチド及び適切なゲノムライブラリと共に上記手順を用いて5'調節配列を得るために、配列番号28乃至54のヌクレオチド配列が用いられる。

#### 【0251】

##### 7 個々のハイブリダイゼーションプローブの標識化及び使用

配列番号28乃至54由来のハイブリダイゼーションプローブを利用して、cDNA、ゲノムDNAまたはmRNAをスクリーニングする。約20塩基対からなるオリゴヌクレオチドの標識について特に記載するが、より大きなヌクレオチド断片に対

しても事実上同一の手順が用いられる。オリゴヌクレオチドは、OLIGO 4.06ソフトウェア (National Biosciences) 等の最新ソフトウェアを用いて設計し、50 pmolの各オリゴマーと、250  $\mu$ Ciの[ $^{-32}$ P]アデノシン3リン酸 (Amersham Pharmacia Biotech) と、T4ポリヌクレオチドキナーゼ (DuPont NEN, Boston MA) とを結合することにより標識する。標識したオリゴヌクレオチドは、SEPHADEX G-25超細繊維分子サイズ排除デキストランビードカラム (Amersham Pharmacia Biotech) を用いて実質的に精製する。Ase I、Bgl II、Eco RI、Pst I、Xba IまたはPvu II (DuPont NEN) のいずれか1つのエンドヌクレアーゼで消化されたヒトゲノムDNAの典型的な膜ベースのハイブリダイゼーション解析において、毎分 $10^7$ カウントの標識されたプローブを含むアリコットを用いる。

#### 【0252】

各消化物から得たDNAは、0.7%アガロースゲル上で分画してナイロン膜 (Nytan Plus, Schleicher & Schuell, Durham NH) に移す。ハイブリダイゼーションは、40 $\times$ で16時間行う。非特異的シグナルを除去するため、例えば0.1 $\times$ クエン酸ナトリウム食塩水及び0.5%ドデシル硫酸ナトリウムに一致する条件下で、プロットを室温で順次洗浄する。オートラジオグラフィーまたはそれに代わるイメージング手段を用いてハイブリダイゼーションパターンを視覚化し、比較する。

#### 【0253】

### 8 マイクロアレイ

マイクロアレイの表面上でアレイエレメントの連鎖または合成は、フォトリソグラフィ、圧電印刷 (インクジェット印刷; 前出のBalteschweiler等を参照)、機械的マイクロスポッティング技術及びこれらから派生したものをを用いて達成することが可能である。上記各技術において基質は、均一且つ非多孔性の固体とするべきである (前出のSchemm (1999).)。推奨する基質には、シリコン、シリカ、スライドガラス、ガラスチップ及びシリコンウエハがある。或いは、ドットプロット法またはスロットプロット法に類似のアレイを利用して、熱的、紫外線の、化学的または機械的結合手順を用いて基質の表面にエレメントを配置及び結合させてもよい。通常のアレイは、手作業で、または利用可能な方法や機械を用い

て作製でき、任意の適正数のエレメントを有し得る (Schena, M. ら (1995) Science 270:467-470、Shalon, D. ら (1996) Genome Res. 6:639-645、Marshall, A. and J. Hodgson (1998) Nat. Biotechnol. 16:27-31.を参照)。

#### 【0254】

完全長cDNA、発現遺伝子配列断片 (EST)、またはその断片またはオリゴマーは、マイクロアレイのエレメントを構成し得る。ハイブリダイゼーションに好適な断片またはオリゴマーを、LASERGENEソフトウェア (DNASTAR) 等の当分野で公知のソフトウェアを用いて選択することが可能である。アレイエレメントは、生物学的サンプル中でポリヌクレオチドを用いてハイブリダイズされる。生物学的サンプル中のポリヌクレオチドは、検出を容易にするために蛍光標識またはその他の分子タグに接合される。ハイブリダイゼーション後、生物学的サンプルからハイブリダイズされていないヌクレオチドを除去し、蛍光スキャナを用いて各アレイエレメントにおいてハイブリダイゼーションを検出する。或いは、レーザ脱着及び質量スペクトロメトリを用いてもハイブリダイゼーションを検出し得る。マイクロアレイ上のエレメントにハイブリダイズする各ポリヌクレオチドの相補性の度合及び相対存在度は、算定し得る。一実施例におけるマイクロアレイの調整及び使用について、以下に詳述する。

#### 【0255】

##### 組織または細胞サンプルの準備

グアニジウムチオシアネート法を用いて組織サンプルから全RNAを単離し、オリゴ(dT)セルロース法を用いてポリ(A)<sup>+</sup>RNAを精製する。各ポリ(A)<sup>+</sup>RNAサンプルは、MMLV逆転写酵素、0.05 pg/μlのオリゴ(dT)プライマー (21mer)、1 × 第1鎖緩衝液、0.03 unit/μlのRNアーゼ阻害因子、500 μMのdATP、500 μMのdGTP、500 μMのdTTP、40 μMのdCTP、40 μMのdCTP-Cy3 (BDS) またはdCTP-Cy5 (Amersham Pharmacia Biotech) を用いて逆転写する。逆転写反応は、GEMBRIGHTキット (Incyte) を用いてポリ(A)<sup>+</sup>RNA含有の25体積ml内で行う。特異制御ポリ(A)<sup>+</sup>RNAは、370 で2時間インキュベートした後、in vitro転写により非コード酵母ゲノムDNAから合成する。各反応サンプル (1つはCy3、もう1つはCy5標識) は、2.5 mlの0.5 M水酸化ナトリウムで処理し、850 で2

0分間インキュベートし、反応を停止させてRNAを分解する。サンプルは、2つの連続するCHROMA SPIN 30ゲル濾過スピンカラム (CLONTECH Laboratories, Inc. (CLONTECH), Palo Alto CA) を用いて精製し、結合させた後に、1mlのグリコーゲン (1mg/ml)、60mlの酢酸ナトリウム及び300mlの100%エタノールを用いて両反応サンプルをエタノール沈殿させる。次に、SpeedVAC (Savant Instruments Inc., Holbrook NY) を用いてサンプルを乾燥して仕上げ、14  $\mu$ lの5  $\times$  SSC / 0.2% SDS中で再懸濁する。

#### 【0256】

##### マイクロアレイの準備

本発明の配列を用いて、アレイエレメントを作成する。各アレイエレメントは、クローン化cDNAインサートによりベクター含有細菌性細胞から増幅する。PCR増幅は、cDNAインサートの側面に位置するベクター配列に相補的なプライマーを用いる。30サイクルのPCRで1~2ngの初期量から5  $\mu$ gより大きい最終量までアレイエレメントを増幅する。増幅したアレイエレメントは、SEPHACRYL-400 (Amersham Pharmacia Biotech) を用いて精製する。

#### 【0257】

精製したアレイエレメントは、ポリマーコートされたスライドガラス上に固定する。処理中及び処理後に、大量の蒸留水洗液を用いて、0.1%のSDS及びアセトン中で、超音波により顕微鏡スライドガラス (Corning) を洗浄する。スライドガラスは、4%フッ化水素酸 (VWR Scientific Products Corporation (VWR), West Chester PA) 中でエッチングし、蒸留水中で広範囲にわたって洗浄し、95%エタノール中で0.05%アミノプロピルシラン (Sigma) を用いてコーティングする。

#### 【0258】

米国特許第5,807,522号で説明されている方法を用いて、コーティングしたガラス基板にアレイエレメントを付加する。該特許は、引用を以って本明細書の一部となす。平均濃度が100ng/ $\mu$ lのアレイエレメントDNA 1  $\mu$ lを高速ロボット装置により開口キャピラリープリントエレメントに充填する。装置はここで、スライド毎に約5nlのアレイエレメントサンプルをデポジットする。

## 【0259】

マイクロアレイには、STRATALINKER UV架橋剤 (Stratagene) を用いてUV架橋する。マイクロアレイは、室温において0.2% SDSで1度洗浄し、蒸留水で3度洗浄する。リン酸緩衝生理食塩水 (PBS) (Tropix, Inc., Bedford MA) 中の0.2% カゼイン中において60 で30分間マイクロアレイをインキュベートした後、前に行ったように0.2% SDS及び蒸留水で洗浄することにより、非特異結合部位をブロックする。

## 【0260】

ハイブリダイゼーション

ハイブリダイゼーション反応には、5 × SSC, 0.2% SDSハイブリダイゼーション緩衝液中にCy3及びCy5標識したcDNA合成生成物を各0.2 µg含む9 µlのサンプル混合液を用いる。サンプル混合液は、65 まで5分間加熱し、マイクロアレイ表面上で等分して1.8 cm<sup>2</sup> のカバーガラスで覆う。アレイは、顕微鏡スライドより僅かに大きいキャビティを有する防水チェンバーに移行させる。チェンバーのコーナーに140 µlの5 × SSCを加えることにより、チェンバー内部を湿度100%に保持する。アレイを含むチェンバーは、60 で約6.5時間インキュベートする。アレイは、第1洗浄緩衝液中 (1 × SSC, 0.1% SDS) において45 で10分間洗浄し、第2洗浄緩衝液中 (0.1 × SSC) において45 で10分間各々3度洗浄して乾燥させる。

## 【0261】

検出

レポーター標識ハイブリダイゼーション複合体は、Cy3の励起のためには488 nm、Cy3の励起のためには632 nmでスペクトル線を生成し得るInnova 70混合ガス10Wレーザ (Coherent, Inc., Santa Clara CA) を備えた顕微鏡で検出する。20 × 顕微鏡対物レンズ (Nikon, Inc., Melville NY) を用いて、アレイ上に励起レーザ光を集中させる。アレイを含むスライドを顕微鏡のコンピュータ制御X-Yステージに置き、対物レンズを通過してラスタスキャンする。本実施例で用いた1.8 cm × 1.8 cmのアレイは、20 µmの解像度でスキャンした。

## 【0262】

2つの異なるスキャンのうち、混合ガスマルチラインレーザは2つの蛍光体を連続的に励起する。放射された光は、2つの蛍光体に応じて波長に基づき2つの光電子増倍管検出器 (PMT R1477, Hamamatsu Photonics Systems, Bridgewater NJ) に分割される。アレイと光電子増倍管間に設置された好適なフィルタを用いて、シグナルをフィルタリングする。用いる蛍光体の最大発光は、Cy3では565 nm、Cy5では650 nmである。装置は両蛍光体からのスペクトルを同時に記録し得るが、レーザ源において好適なフィルタを用いて各アレイを通常2度スキャンし、蛍光体1つにつき1度スキャンする。

#### 【0263】

スキャンの感度は通常、既知濃度のサンプル混合液に添加されたcDNA対照種が発するシグナル強度を用いて較正する。アレイ上の特定の位置には相補的DNA配列が含まれ、その位置におけるシグナルの強度をハイブリダイジング種の重量比1:100,000に相関させる。異なる源からの2つのサンプル(例えば代表的な試験細胞及び制御細胞)であって各々異なる蛍光体で標識したものを単一のアレイにハイブリダイズし、他と異なって発現された遺伝子を同定する場合には、2つの蛍光体を有する較正cDNAの標識サンプルを標識し、各々等量をハイブリダイゼーション混合液に加えて較正を行う。

#### 【0264】

光電子増倍管の出力は、IBMコンパチブルPCコンピュータにインストールされた12ビットRTI-835Hアナログ-デジタル(A/D)変換ボード(Analog Devices, Inc., Norwood MA)を用いてデジタル化される。デジタル化されたデータは、或るイメージとして表示され、シグナル強度は、リニア20色変換を用いて、青色(低シグナル)から赤色(高シグナル)までに及ぶ擬似カラー範囲にマッピングされる。データは、定量的にも分析される。2つの異なる蛍光体の励起及び測定を同時に行う場合には、先ず、各蛍光体の発光スペクトルを用いて両蛍光体間の(重複発光スペクトルに起因する)光学クロストークにデータを補正する。

#### 【0265】

グリッドは蛍光シグナルイメージ上に重ねられ、それによって各スポットから

のシグナルはグリッドの各エレメントに集められる。各エレメント内の蛍光シグナルは統合され、シグナルの平均強度に応じた数値が得られる。シグナル分析に用いるソフトウェアは、GEMTOOLS遺伝子発現分析プログラム (Incyte) である。

#### 【0266】

### 9 相補的ポリヌクレオチド

PPIMをコードする配列或いはその任意の一部に対して相補的配列は、天然のPPIMの発現を検出し、低下させ、または阻害するために用いられる。約15~30塩基対を含むオリゴヌクレオチドの使用について記すが、これより小さな或いは大きな配列の断片の場合でも本質的に同じ方法を用いることができる。Oligo4.0ソフトウェア (National Biosciences)、及びPPIMをコードする配列を用いて、適切なオリゴヌクレオチドを設計する。転写を阻害するためには、最も独特な5'配列から相補的オリゴヌクレオチドを設計し、これを用いてプロモーターがコーディング配列に結合するのを阻害する。翻訳を阻害するためには、PPIMをコードする転写物にリボソームが結合しないように相補的オリゴヌクレオチドをデザインする。

#### 【0267】

### 10 PPIMの発現

PPIMの発現及び精製は、細菌またはウイルスをベースにした発現系を用いて行うことができる。細菌でPPIMを発現するために、抗生物質耐性及びcDNAの転写レベルを高める誘導性のプロモーターを含む好適なベクターにcDNAをサブクローニングする。このようなプロモーターには、lacオペレーター調節エレメントに関連するT5またはT7バクテリオファージプロモーター及びtrp-lac(tac)ハイブリッドプロモーターが含まれるが、これらに限定するものではない。組換えベクターを、BL21 (DE3) 等の好適な細菌宿主に形質転換する。抗生物質耐性をもつ細菌が、イソプロピル-Dチオガラクトピラノシド (IPTG) で誘導されるとPPIMを発現する。真核細胞でのPPIMの発現は、一般にバキュロウイルスとして知られている *Autographica californica* 核多面性ウイルス (AcMNPV) を昆虫細胞株または哺乳動物細胞株に感染させて行う。バキュロウイルスの可欠ポリヘドリン遺伝子を、相同的組換え、或いは転移プラスミドの媒介に關与する細菌媒介遺伝子転移の

どちらかによって、PPIMをコードするcDNAと置換する。ウイルスの感染力は維持され、強いポリヘドリンプロモーターによって高いレベルのcDNAの転写が行われる。組換えバキュロウイルスは、多くの場合は*Spodoptera frugiperda* (Sf9) 昆虫細胞に感染に用いられるが、ヒト肝細胞の感染にも用いられることもある。後者の感染の場合は、バキュロウイルスの更なる遺伝的変更が必要になる。(Engelhard, E. K.ら (1994) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91:3224-3227、Sandig, V.ら (1996) Hum. Gene Ther. 7:1937-1945.等を参照)。

#### 【0268】

殆どの発現系では、融合タンパク質としてPPIMを合成するのに例えばグルタチオンSトランスフェラーゼ (GST) またはペプチドエピトープ標識、例えばFLAGや6-Hisを用いる。これらを用いることにより、未精製細胞溶解物から組換え融合タンパク質の親和性ベースの精製を迅速に1ステップで行うことができる。GSTは日本住血吸虫からの26kDaの酵素であり、タンパク質の活性及び抗原性を維持した状態で、固定化グルタチオン上で融合タンパク質の精製を可能とする (Amersham Pharmacia Biotech)。精製後、GSTの部分を特定の開発部位においてPPIMからタンパク質分解的に切断することが可能である。FLAGは8アミノ酸のペプチドであり、市販されているモノクローナル及びポリクローナル抗FLAG抗体 (Eastman Kodak) を用いて免疫親和性精製を可能にする。6ヒスチジン残基が連続して伸長した6-Hisは、金属キレート樹脂 (QIAGEN) 上での精製を可能にする。タンパク質の発現及び精製の方法は、前出のAusubel (1995) 10章、16章に記載されている。これらの方法で精製したPPIMを直接用いて実施例11及び15のアクセシを行うことができる。

#### 【0269】

##### 1.1 PPIM活性の実証

種々の色素生産性分子に結合する好適な合成ペプチド基質の加水分解によりPPIMのプロテアーゼ活性を測定する。加水分解の程度は、放出された発色団の分光光度 (蛍光定量) 吸収により定量する (Beynon, R.J. and J.S. Bond (1994) *Proteolytic Enzymes: A Practical Approach*, Oxford University Press, New York NY, pp. 25-55)。ペプチド基質は、プロテアーゼ活性のカテゴリーに従って

、エンドペプチダーゼ（セリン、システイン、アスパラギン酸プロテアーゼ）、アミノペプチダーゼ（ロイシンアミノペプチダーゼ）またはカルボキシペプチダーゼ（カルボキシペプチダーゼA及びB、プロコラーゲンCプロテイナーゼ）としてデザインする。通常用いられる色素原は、2-ナフチルアミン、4-ニトロアニリン及びフリルアクリル酸（furylacrylic acid）である。アッセイは、PPIMのアリコート及び適切な緩衝液中の好適な基質を用いて外界温度で実行する。光キュベット中で反応を行い、ペプチド基質の加水分解中に放出された色素原の吸光度の増加/減少を測定する。アッセイにおける吸光度の変化はPPIM活性に比例する。

## 【0270】

### 1.2 機能的アッセイ

PPIM機能は、哺乳動物細胞培養系において生理学的に高められたレベルでのPPIMをコードする配列の発現によってアッセイする。cDNAを、cDNAを高いレベルで発現する強いプロモーターを含む哺乳動物発現ベクターにサブクローニングする。選り抜きのベクターには、pCMV SPORTプラスミド（Life Technologies）及びpCR 3.1プラスミド（Invitrogen）が含まれ、どちらもサイトメガロウイルスプロモーターを有する。リポソーム製剤或いは電気穿孔法を用いて、5～10 µgの組換えベクターをヒト細胞株、例えば内皮由来または造血由来の細胞株に一時的に形質移入する。更に、標識タンパク質をコードする配列を含む1～2 µgのプラスミドを同時に形質移入する。標識タンパク質の発現により、形質移入細胞と非形質移入細胞を区別する手段が与えられる。また、標識タンパク質の発現によって、cDNAの組換えベクターからの発現を正確に予想できる。標識タンパク質は、例えば緑色蛍光タンパク質（GFP；Clontech）、CD64またはCD64-GFP融合タンパク質から選択できる。自動化された、レーザ光学に基づく技術であるフローサイトメトリー（FCM）を用いて、GFPまたはCD64-GFPを発現する形質移入された細胞を同定し、その細胞のアポトーシス状態や他の細胞特性を評価する。FCMは、細胞死に先行するか或いは同時に発生する現象を診断する蛍光分子の取込を検出して計量する。このような現象として挙げられるのは、プロピジウムヨウ化物によるDNA染色によって計測される核DNA内容物の変化、プロモデオキシウリジンの

取込量の低下によって計測されるDNA合成の下方調節、特異抗体との反応性によって計測される細胞表面及び細胞内におけるタンパク質の発現の変化、及び蛍光複合アネキシンVタンパク質の細胞表面への結合によって計測される原形質膜組成の変化とがある。フローサイトメトリー法については、Ormerod, M. G. (1994) Flow Cytometry Oxford, New York, NY.に記述がある。

#### 【0271】

遺伝子発現におけるPPIMの影響は、PPIMをコードする配列とCD64またはCD64-GFPのいずれかが形質移入された高度に精製された細胞集団を用いて評価することができる。CD64またはCD64-GFPは、形質転換された細胞表面で発現し、ヒト免疫グロブリンG (IgG) の保存領域と結合する。形質転換細胞と非形質転換細胞は、ヒトIgGまたはCD64に対する抗体 (DYNAL, Lake Success, NY) で覆われた磁気ビーズを用いて有効に分離することができる。mRNAは、当分野で公知の方法で細胞から精製することができる。PPIMその他の目的の遺伝子をコードするmRNAの発現は、ノーザン分析或いはマイクロアレイ技術で分析することができる。

#### 【0272】

##### 1.3 PPIM特異抗体の産生

ポリアクリルアミドゲル電気泳動法 (PAGE ; Harrington, M.G. (1990) *Methods Enzymol.* 182:488-495等を参照) または他の精製技術を用いて実質上精製されたPPIMを用いて、ウサギを免疫化し、標準プロトコルを用いて抗体を産出する。

#### 【0273】

或いは、LASERGENEソフトウェア (DNASTAR) を用いてPPIMアミノ酸配列を解析し、免疫抗原性の高い領域を決定する。そして対応するオリゴペプチドを合成し、このオリゴペプチドを用いて当業者によく知られている方法で抗体を生成する。適切なエピトープ、例えばC末端付近或いは隣接する親水性領域にあるエピトープの選択については、当分野で公知である (前出のAusubel, 1995, 11章等を参照)。

#### 【0274】

通常は、長さ約15残基のオリゴペプチドを、Fmocケミストリを用いるABI 431A ペプチドシンセサイザ (PE Biosystems) を用いて合成し、N-マレイミドベン

ゾイル-N-ヒドロキシスクシンイミドエステル (MBS) を用いた反応によってKLH (Sigma-Aldrich, St. Louis MO) に結合させて、免疫抗原性を高める (前出のA usubel, 1995 等を参照)。完全フロイントアジュバントにおいてオリゴペプチド-KLM複合体を用いてウサギを免疫化する。得られた抗血清の抗ペプチド活性及び抗PPIM活性を検査するには、ペプチドまたはPPIMを基質に結合し、1%BSAを用いてブロックし、ウサギ抗血清と反応させて洗浄し、さらに放射性ヨウ素で標識したヤギ抗ウサギIgGと反応させる。

#### 【0275】

##### 1.4 特異抗体を用いた天然のPPIMの精製

天然または組換えPPIMを、PPIM特異抗体を用いたイムノアフィニティークロマトグラフィにより実質的に精製する。イムノアフィニティークラムは、抗PPIM抗体を活性化クロマトグラフィ用樹脂、例えばCNBr活性化セファロース (Amersham Pharmacia Biotech) と共有結合させることにより構築する。結合後に、製造者の使用説明書に従って樹脂をブロックし、洗浄する。

#### 【0276】

PPIMを含む培養液をイムノアフィニティークラムに通し、PPIMを優先的に吸着する条件下 (例えば洗浄剤が存在する高イオン強度緩衝液) でカラムを洗浄する。抗体とPPIMの結合を破壊する条件 (例えばpH2~3の緩衝液、或いは尿素またはチオシアン酸塩イオン等の高濃度のカオトロップ剤) でカラムを溶出させ、PPIMを回収する。

#### 【0277】

##### 1.5 PPIMと相互作用する分子の同定

PPIMまたは生物学的に活性であるPPIM断片を<sup>125</sup>Iボルトンハンター試薬で標識する (Bolton A.E. and W.M. Hunter (1973) Biochem. J. 133:529-539等を参照)。マルチウェルプレートの穴の中に予め配列しておいた候補分子を、標識したPPIMと共にインキュベートして洗浄し、標識したPPIM複合体を有する任意の穴をアッセイする。PPIM濃度を変えて得たデータを用いて、候補分子とのPPIMの数、親和性及び会合の値を計算する。

#### 【0278】

或いは、PPIMと相互作用する分子は、Fields, S. and O. Songの文献(1989, Nature 340:245-246)に記載されているような酵母2ハイブリッドシステムを用いて分析するか、またはMATCHMAKERシステム(Clontech)等の2ハイブリッドシステムに基づく市販のキットを用いて分析する。

【0279】

高処理の方法で酵母2ハイブリッドシステムを利用し、遺伝子の2大ライブラリにコードされるタンパク質間の全ての相互作用を決定するようなPATHCALLINGプロセス(CuraGen Corp., New Haven CT)にもPPIMを用い得る(Nandabalan, K.ら(2000)米国特許第6,057,101号)。

【0280】

当業者は、本発明の範囲及び精神から逸脱することなく本発明の記載した方法及びシステムの種々の改変を行い得る。本発明について説明するにあたり特定の好適実施例に関連して説明を行ったが、本発明の範囲が、そのような特定の実施例に不当に制限されるべきではないことを理解されたい。実際に、分子生物学または関連分野の専門家には明らかな、本明細書に記載されている本発明の実施方法の様々な改変は、特許請求の範囲内にあるものとする。

【0281】

(表の簡単な説明)

表1は、PPIMをコードする完全長の配列をアセンブルするために用いた、ポリペプチド配列及びヌクレオチド配列の配列番号(SEQ ID NO)、クローン識別番号(クローンID)、cDNAライブラリ及びcDNA断片を示す。

【0282】

表2は、潜在モチーフと、相同配列と、PPIMの解析に用いた方法、アルゴリズム及び検索可能なデータベースとを含む各ポリペプチド配列の特徴を示す。

【0283】

表3は、各核酸配列の選択された断片と、ノーザン分析によって決定された各核酸配列の組織特異的発現パターンと、これらの組織に関連した疾患、異常症または症状と、各DNAのクローニング先のベクターとを示す。

【0284】

表4は、cDNAライブラリの作製に用いた組織を示す。PPIMをコードするcDNAクローンはここから単離した。

【0285】

表5は、PPIMの分析に用いたツール、プログラム、アルゴリズムを、適用可能な説明、引用文献及び閾値パラメータと共に示す。

【表1】

表1-1

ポリペプチド SEQ ID NO:	ヌクレオチド SEQ ID NO:	クローンID	ライブラリ	断片
1	28	088718	LIVRNOT01	088718H1 (LIVRNOT01), 151754F1 (FIBRAGT01), 151754R1 (FIBRAGT01), SCEA00861V1, SCEA01403V1, SCEA03107V1, SCEA01683V1
2	29	114551	TESTNOT01	1273531F1 (TESTTUT02), 1498122F1 (SINTBST01), 1686926F6 (PROSNOT15), 1922870R6 (BRSTTUT01), 2270121R6 (UTRSNOT02), 3227104F6 (COFRNOT01)
3	30	1261376	SYNORAT05	428341R6 (BLADNOT01), 488402R6 (HNT2AGT01), 1261376H1 (SYNORAT05), 1261376T6 (SYNORAT05), 1413230F6 (BRAINOT12), 1448134F1 (PLACNOT02), 1869342F6 (SKINBIT01), 2263303H1 (UTRSNOT02), 2365444T6 (ADRENOT07), 2875019H1 (THYRNOT10), 2908347H1 (THYMNOT05), 3818352H1 (BONSTUT01), g3840298, g1965665, g848456
4	31	1299481	BRSTNOT07	1299481H1 (BRSTNOT07), 1302262F6 (PLACNOT02), 1596742X330D1 (BRAINOT14), 1725693F6 (PROSNOT14), 2125677X306D3 (BRSTNOT07), SCHA02258V1, SCHA00613V1, g1477302
5	32	1873139	LEUKNOT02	003818R1 (HMCINOT01), 1873139F6 (LEUKNOT02), 1873139X325D1 (LEUKNOT02), 1873139X326V1 (LEUKNOT02), 1899870F6 (BLADTUT06), 2510118F6 (CONUTUT01)
6	33	1903112	OVARNOT07	1903112H1 (OVARNOT07), 1905330T6 (OVARNOT07), 2509325H1 (CONUTUT01), 2621121R6 (KERANOT02)
7	34	1993044	CORPNOT02	1858513F6 (PROSNOT18), 1993044H1 (CORPNOT02), 3733554F6 (SMCCNOS01), 4749046H1 (SMCRUNT01), 4960159H1 (TLYMNOT05), 5397428H1 (LIVRUT13), SBCA07095F3
8	35	2292182	BRAINON01	2199554H1 (SPLNFET02), 2199554X305B1 (SPLNFET02), 2292182R6 (BRAINON01), 3480414T6 (OVARNOT11), 5427954H1 (THYMTUT03)
9	36	2331301	COLNNOT11	1253717H1 (LUNGFET03), 2331301H1 (COLNNOT11), 2331301R6 (COLNNOT11)
10	37	2517512	BRAITUT21	1222614R1 (COLNUT02), 1486943F6 (UCMCL5T01), 1486943T6 (UCMCL5T01), 1569195F1 (UTRSNOT05), 1813007F6 (PROSTUT12), 2517512H1 (BRAITUT21), 5847584H1 (BRAENOT04)
11	38	3489039	EPIGNOT01	2541141F6 (BONRTUT01), 3489039H1 (EPIGNOT01), 4871852H1 (COLDNOT01)

【表2】

表1-2

ポリペプチド SEQ ID NO.	ヌクレオチド SEQ ID NO.	クローンID	ライブラリ	断片
12	39	5432879	SPLANNOT17	1429082F6 (SINTBST01), 1807480F6 (SINTNOT13), 2303440H1 (BRSTNOT05), 2669584F6 (ESOGTUT02), 3073745H1 (BONEUNT01), 3190142R6 (THYMNON04), 4693457H2 (BRAENOT02), 4774453H1 (BRAQNOT01), 5432879H1 (SPLNNOT17), 9836070
13	40	5853753	FIBAUNT02	834033T1 (PROSNOT07), 1521711F6 (BLADTUT04), 1757751R6 (PITUNOT03), 2161634F6 (ENDCNOT02), SAEA01666R1, SCGA11716VL, SCGA05971VL, SCGA07285V1
14	41	411344	BRSTNOT01	411344F1 (BRSTNOT01), 411344H1 (BRSTNOT01), 411344R1 (BRSTNOT01), 1859850F6 (PROSNOT18), 2183379F6 (SININOT01), 2474963H1 (SMCANOT01), 2546619X300D1 (UTRSNOT11), 3728811H1 (SMCCNON03), 3932959H1 (PROSTUT09)
15	42	1256390	MENITUT03	1256390H1 (MENITUT03), SBAA04311F1, SBAA04104F1, SBAA03263F1, SBAA01188F1
16	43	1786774	BRAINOT10	857246H1 (NGANNOT01), 1786774F6 (BRAINOT10), 1786774H1 (BRAINOT10), 1810671T6 (PROSTUT12), 5202653H1 (STOMNOT08)
17	44	1911808	CONNTUT01	1255942F6 (MENITUT03), 1354692F6 (LUNGNOT09), 1354692T1 (LUNGNOT09), 1418156T1 (KIDNNOT09), 1436123F6 (PANCNOT08), 1498302T1 (SINTBST01), 1735923X304D1 (COLNNOT22), 1735923X318D4 (COLNNOT22), 1834236R6 (BRAINON01), 1911808F6 (CONNTUT01), 1911808H1 (CONNTUT01), 2360308H1 (LUNGFET05), 3075823H1 (BONEUNT01), 4106766H1 (BRSTTUT17), 5713020H1 (MASTTUT01)
18	45	1973875	UCMCL5T01	1220149R6 (NEUTGMT01), 1377281F1 (LUNGNOT10), 1377281T1 (LUNGNOT10), 1508602F6 (LUNGNOT14), 1973875H1 (UCMCL5T01), 5098879F6 (EPIMNON05)
19	46	2323917	OVARNOT02	1609987F6 (COLNTUT06), 2012426R6 (TESTNOT03), 2012426T6 (TESTNOT03), 2323917H1 (OVARNOT02), 2323917T6 (OVARNOT02), 4851027H1 (TESTNOT10)
20	47	2754960	THP1AZS08	039061R6 (HUVENOB01), 580098H1 (BRAVTXT05), 2025465H1 (KERANOT02), 2754960H1 (THP1AZS08), 2754960R6 (THP1AZS08), 2754960X11F1 (THP1AZS08), 2754960X15F1 (THP1AZS08), 2754960X310U1 (THP1AZS08), 2754960X50F1 (THP1AZS08), 3821989T6 (BONSTUT01), 93736615

【表3】

表 1-3

ポリペプチド SEQ ID NO:	スクレオチド SEQ ID NO:	クローンID	ライブラリ	断片
21	48	3092341	BRSTNOT19	3092341H1 (BRSTNOT19), 3092341T6 (BRSTNOT19)
22	49	3658034	ENDPNOT02	2623516R6 (KERANOT02), 3658034F6 (ENDPNOT02), 3658034H1 (ENDPNOT02), 3658034T6 (ENDPNOT02), 5216522H1 (BRSTNOT35), 5590053H1 (ENDINOT02)
23	50	3883861	UTRSNOT05	858111H1 (NGANNOT01), 858233H1 (NGANNOT01), 1364808R1 (SCORNON02), 1861181F6 (PROSNOT19), 1906985T6 (OVARNOT07), 2687868H1 (LUNGNOT23), 2687868X366D1 (LUNGNOT23), 2721116X369D1 (LUNGTUT10), 3883861H1 (UTRSNOT05), 5217169H1 (BRSTNOT35)
24	51	4993873	LIVRTUT11	4987943H1 (LIVRTUT10), 4993873H1 (LIVRTUT11), SCEA01665V1, SCEA00232V1, SXBC01625V1, SXBC01802V1, SCSA03627V1
25	52	5208004	BRAFNOT02	4696870F6 (BRALNOT01), 5208004H1 (BRAFNOT02)
26	53	5267783	BRAFDIT02	220636R1 (STOMNOT01), 679457R6 (UTRSNOT02), 1330537F6 (PANCNOT07), 1808720F6 (PROSTUT12), 1969475H1 (BRSTNOT04), 2697426F6 (UTRSNOT12), 2991180H1 (KIDNFET02), 3532849H1 (KIDNNOT25), 4992376F6 (LIVRTUT11), 5004695F6 (PROSTUT21), 5267783H1 (BRAFDIT02)
27	54	5583922	FIBAUNT01	726878R1 (SYNOCAT01), 956818X11 (KIDNNOT05), 1658964X12 (URETTUT01), 1658964X13 (URETTUT01), 2544879F6 (UTRSNOT11), 3748858H1 (UTRSNOT18), 4761921H1 (PLACNOT05), 5043801H1 (PLACFER01)

【表 4】

表 2-1

SEQ ID NO:	アミノ酸残基	リン酸化可能部位	グリコシレーション可能部位	サイン配列	ホモログ配列	分析方法及びデータベース
1	444	S91 T244 T251 S277 T386 T38 S182 T263 T373 Y346	N36 N180 N197 N295	シグナルペプチド: M1-A23 Serpins (セリンプロテアーゼインヒビター): M1-P441, I68-I444	G1397241 RASP1	Motifs BLAST-GenBank HMMER SPScan HMMER-PFAM BLIMPS-BLOCKS ProfileScan BLAST_PRODUM BLAST_DOMO
2	565	S9 S19 T343 T458 S5 S58 S82 S114 S184 S185 S295 T382 T432 T476 T495 T543 S2 S5 S12 S25 S42 T169 S307 T337 S352 T357 T426 S513 T523 Y220 Y514	N112 N494	ユビキチンカルボキシル 末端加水分解酵素ファミリー-2: G226-L243, Y235-I549	G2746775 ペプチダーゼファミリーC19に類似 (ユビキチンカルボキシル末端 ペプチダーゼ)	Motifs BLAST-GenBank HMMER-PFAM BLIMPS-BLOCKS BLAST_PRODUM BLAST_DOMO
3	589	T43 S71 S181 S200 S260 S304 S312 T506 T572 T40 S66	N55 N126 N136 N164 N167 N302 N501	ユビキチンファミリー-サイン: M37-K107 ユビキチン関連ドメイン: Q541-S586	G3873621 ユビキチンファミリーに類似	Motifs BLAST-GenBank HMMER-PFAM
4	775	T305 T2 S27 S43 S67 S392 S611 S615 T647 S665 S710 S729 S759 S96 T106 S217 S288 S301 S316 S432 S438 T443 S575 T719 S723 Y334	N49 N215 N322 N387 N468 N487 N497 N504 N508 N568 N600	ユビキチンカルボキシル 末端加水分解酵素ファミリー-2: G112-L129, G193-L202, V230-C244, Y354-V391, N380-S401 ユビキチン加水分解酵素 カルボキシル末端チオールエステラーゼ: G112-K211	G2739431 造血抗原IL-2 deubiquitinating enzyme	Motifs BLAST-GenBank HMMER-PFAM BLIMPS-BLOCKS BLAST_PRODUM BLAST_DOMO

【表 5】

表2-2

SEQ ID NO:	アミノ酸残基	リン酸化可能部位	グリコシル化可能部位	サイン配列	ホモログ配列	分析方法及びデータベース
5	351	S9 S41 S48 S194 S201 T203 T257 S278 T322 T324 S129 S162 S181 S194 S225 T226 S348 Y271	N46 N123 N317	ユビキチンカルボキシル 末端加水分解酵素ファミリー2: L49-L337	g5410230 ユビキチン特異プロテアーゼ3	Motifs BLAST-GenBank HMMER-PFAM BLIMPS-BLOCKS BLAST-PRODOM BLAST-DOMO
6	136	T30 S104 Y98		ジベプチジルセリンプロテアーゼIV: I9-S128 セリンファミリープロリルエンドペプチダーゼ: M4-I136	g577284 ジベプチジルペプチダーゼIV	Motifs BLAST-GenBank BLAST-PRODOM BLAST-DOMO
7	396	S24 S139 T168 T177 S198 S223 S279 T369 S26 S60 S223 S292	N166	ユビキチンカルボキシル末端加水分解酵素: E74-I283	g2854121 BRCA1関連タンパク質1	Motifs BLAST-GenBank BLIMPS-PRINTS BLAST-PRODOM BLAST-DOMO HMMER-PFAM
8	246	S87 Y65	N94 N156 N195 N225	亜鉛-結合メタロプロテアーゼドメイン: R121-H133		Motifs HMMER-PFAM
9	262	T32 S78 S85 T89 S125 S26 S170 S244	N168	インター- $\alpha$ -トリプシングリコプロテイン インヒビター前駆体: T32-T197		Motifs BLAST-PRODOM
10	406	S18 S37 T80 S98 S112 S178 T292 S298 T320 T391 S105 S212 S220 Y213	N14 N56 N176 N318		g3309170 COP9複合サブユニット	Motifs BLAST-GenBank

【表6】

表 2-3

SEQ ID NO.	アミノ酸残基	リン酸化可能部位	グリコシレーション可能部位	サイン配列	ホモログ配列	分析方法及びデータベース
11	172	T117 S135 S146		シグナルペプチドモチーフ: M1-G13 ATP結合キナーゼ: I6-E164 AAA-タンパク質ファミリー: P4-M69	G3875433 ATP結合タンパク質に類似	Motifs BLAST-GenBank SPScan BLAST-PRODOM BLAST-DOMO
12	517	S485 S4 T11 S128 T133 S155 S156 S171 S172 S278 T288 S485 S3 T57 T199 T204 S278 T455 S462 T480	N286	ユビキチンカルボキシル 末端加水分解酵素ファミリー 2: K61-E256, F436-V481, S470-S491	G2459395 ユビキチンプロテアーゼ	Motifs BLAST-GenBank HMMER-PFAM BLIMPS-BLOCKS BLAST-PRODOM
13	346	T237 S12 T64 T72 T124 T236 T261 S319 S150 T194 S226 T251 S319		ユビキチン活性化酵素サイン: S297-344, 11-163, 19-189, 7-174, 9-192, R35-G170 膜貫通タンパク質: 11-249	G3647283 ユビキチン活性化酵素	Motifs BLAST-GenBank HMMER BLAST-PRODOM BLAST-DOMO
14	151	T24 T47 S118 S61 Y131		ユビキチン共役酵素: M1-D148 Active site: F58-M115	G4090259 ユビキチン共役酵素E2	Motifs BLAST-GenBank HMMER-PFAM ProfileScan BLAST-PRODOM BLAST-DOMO
15	362	S199 S208 S212 S270 S281 T317 S327 S52 S122 T149	N120 N162 N175 N239	シグナルペプチド: M1-S26 亜鉛カルボキシペプチダーゼ: Y38-E320 亜鉛結合領域: E202-L258	G6013463 カルボキシペプチダーゼホモログ	Motifs BLAST-GenBank SPScan HMMER-PFAM ProfileScan BLAST-PRODOM BLAST-DOMO

【表 7】

表2-4

SEQ ID NO:	アミノ酸残基	リン酸化可能部位	グリコシル化可能部位	サイン配列	ホモログ配列	分析方法及びデータベース
16	123	S2 S9 T37 T46 T60 S112 T53 S112	N104	Kunitz型プロテアーゼインヒビター 活性化部位領域: C70-C120	g512802 Kunitz型 プロテアーゼインヒビター	Motifs BLAST-GenBank HMMEP-PFAM ProfileScan BLAST-DOMO
17	983	S87 S461 S531 T761 T123 T143 S191 S445 S634 S660 T789 T820 S879 S886 S888 T890 T17 S158 T280 T398 T549 S598 S601 S687 Y268 Y688	N278 N427 N625 N884 N922	ユビキチンカルボキシル 末端加水分解酵素ファミリー-2: G90-w107, Y336-I374	g1429371 ユビキチン特異プロテアーゼ	Motifs BLAST-GenBank HMMEP-PFAM BLAST-DOMO
18	227	S49 T101 T131 T157 S166 S49 S144 S194 T199		ユビキチンサイン: K159-H179, A180-D200 (P値 = 0.00032)	g9372 ユビキチン (P値 = 1.7e-08)	Motifs BLAST-GenBank BLIMPS-PRINTS
19	403	T47 S146 T261 T352 T381 S4 T119 S234 S291 S313	N117 N145 N232 N260 N289 N317	ユビキチンカルボキシル 末端加水分解酵素ファミリー-2: G221-L238	g4731026 カスパーゼ9及び NFBのMod1アクトチターター	Motifs BLAST-GenBank HMMEP-PFAM
20	372	T87 S291 S22 S197 T208 S343 T169 S185 S223 S260 T266	N188 N335	ユビキチンカルボキシル 末端加水分解酵素ファミリー-2: A166-Q348 活性化部位: Y302-C320	g4469352 ユビキチン特異プロテアーゼUBP43	Motifs BLAST-GenBank HMMEP-PFAM BLAST-DOMO
21	94	T9	N50	シグナルペプチド: V41-R55	g3687497 ミトコンドリア内膜の可能性のある プロテアーゼサブユニット	Motifs BLAST-GenBank

【表8】

表2-5

SFO ID NO:	アミノ酸残基	リン酸化可能部位	グリコシル化可能部位	サイン配列	ホモログ配列	分析方法及びデータベース
22	248	S77 S135 S156 S183 S205 T3 S71 S72 T139	N47 N158	アルファ-2-マクログロブリン ファミリー: T3-Y198 補体前駆体: E4-S206	G2073373 アルファ-2-マクログロブリン プロテアーゼインヒビター	Motifs BLAST-GenBank HMMER-PFAM BLAST-PRODOM
23	520	S166 S272 T301 S326 S379 S455 S56 T82 S136 S227 S498	N164 N355	シグナルペプチド: M1-R27 ペプチダーゼM10: F39-S225 Matrixinドメイン: F128-G288 中性亜鉛metallopeptidase 亜鉛結合領域: V237-L246 ヘモペキシンドメイン: I341-K400	G1731986 MMP-19マトリックス メタプロテイナーゼ	Motifs BLAST-GenBank SIGPEPT SPScan HMMER-PFAM ProfileScan BLAST-PRODOM BLAST-DOMO
24	422	T188 S156 S306 T386 S130 T176 T226 T295 S357 S365	N94 N106 N169 N350	シグナルペプチド: M1-G26 膜貫通ドメイン: F398-N418 Serpins (セリンプロテアーゼ インヒビター): P43-V420 プロテアーゼ"bait"領域: A371-G422	G425146 Kallistatin	Motifs BLAST-GenBank SIGPEPT SPScan HMMER HMMER-PFAM BLIMPS-BLOCKS ProfileScan BLAST-PRODOM BLAST-DOMO
25	114	S74 S16		真核生物チオール(システイン) プロテアーゼ活性化ドメイン: R71-S114		Motifs BLAST-GenBank ProfileScan

【表9】

表2-6

SEQ ID NO.	アミノ酸残基	リン酸化可能部位	グリコシル化可能部位	サイン配列	ホモログ配列	分析方法及びデータベース
26	742	T167 S186 S308 S337 S343 T360 S439 S578 S92 S172 S239 T256 T278 S329 T414 S504 S633 T656 T708 Y28 Y107 Y356		亜鉛カルボキシペプチターゼ、 亜鉛結合領域サイン：  H32-W42		Motifs BLAST-GenBank
27	734	T83 S128 S151 S223 S233 T523 S574 T616 T665 T688 T34 S122 S203 S340 T546 S547 T703	N57 N210 N220 N318 N428 N472	シグナルペプチド：M1-G20 亜鉛カルボキシペプチターゼ： H299-Y412, W421-Y678 エンケファリンコンパンターゼ： P458-V687 亜鉛結合領域： E478-F529	g4322263 メタロカルボキシペプチターゼ CPX-1	Motifs BLAST-GenBank SIGPEPT SPScan HMMER-PFAM ProfileScan BLIMPS-PRINTS BLAST-PRODOM BLAST-DMO

表3-1

ヌクレオチド SEQ ID NO.	選択断片	発現組織 (割合)	疾患または症状 (割合)	ペクター
28	164-208	胃腸 (1.000)	炎症 (0.500)	PBLUESCRIPT
29	57-101	生殖 (0.274) 神経 (0.202) 心血管 (0.119) 胃腸 (0.119)	癌 (0.524) 炎症 (0.273) 細胞増殖 (0.190)	PBLUESCRIPT
30	111-155	神経 (0.222) 生殖 (0.194) 胃腸 (0.139)	癌 (0.403) 炎症 (0.361)	PSPORT1
31	921-965	神経 (0.300) 生殖 (0.200) 心血管 (0.100) 皮膚 (0.100) 発達 (0.100) 胃腸 (0.100) 造血/免疫 (0.100)	癌 (0.400) 細胞増殖 (0.300) 神経 (0.100)	PINCY
32	809-853	造血/免疫 (0.194) 生殖 (0.239) 胃腸 (0.164)	癌 (0.403) 炎症 (0.269) 細胞増殖 (0.134)	PINCY
33	273-317	生殖 (0.500) 心血管 (0.125) 皮膚 (0.125) 胃腸 (0.125) 造血/免疫 (0.125)	癌 (0.625) 細胞増殖 (0.125) 炎症 (0.125)	PINCY
34	55-99	神経 (0.185) 心血管 (0.111) 胃腸 (0.111)	癌 (0.352) 炎症 (0.204) 細胞増殖 (0.204)	PINCY
35	218-262	胃腸 (0.313) 造血/免疫 (0.250) 生殖 (0.188)	癌 (0.630) 細胞増殖 (0.250)	PSPORT1
36	325-369	発達 (0.500) 胃腸 (0.500)	癌 (0.500) 細胞増殖 (0.500)	PSPORT1
37	99-143	神経 (0.198) 生殖 (0.165) 心血管 (0.154)	癌 (0.374) 炎症 (0.374) 細胞増殖 (0.154)	PINCY

【表 11】

表3-2

ヌクレオチド SEQ ID NO:	選択断片	発現組織 (割合)	疾患または症状 (割合)	ベクター
38	1-46	生殖 (0.278) 胃腸 (0.208) 心血管 (0.125)	癌 (0.347) 炎症 (0.306) 細胞増殖 (0.153)	P1NCY
39	109-153	胃腸 (0.280) 造血/免疫 (0.200) 筋骨格 (0.120)	炎症 (0.440) 癌 (0.280) 細胞増殖 (0.160)	P1NCY
40	489-533	神経 (0.209) 生殖 (0.203) 胃腸 (0.135)	癌 (0.473) 細胞増殖 (0.243) 炎症 (0.264)	P1NCY
41	589-633	生殖 (0.229) 心血管 (0.200) 胃腸 (0.171) 神経 (0.171)	癌 (0.314) 細胞増殖 (0.314) 炎症/外傷 (0.372)	PBLUESCRIPT
42	649-693	神経 (0.250) 生殖 (0.214) 心血管 (0.143)	癌 (0.500) 炎症/外傷 (0.321) 細胞増殖 (0.179)	P1NCY
43	164-208	神経 (0.333) 胃腸 (0.333) 生殖 (0.333)	癌 (0.444) 炎症/外傷 (0.444) 神経 (0.111)	P1NCY
44	271-208	生殖 (0.226) 発達 (0.151) 神経 (0.151)	癌 (0.377) 炎症/外傷 (0.358) 細胞増殖 (0.321)	P1NCY
45	784-828	生殖 (0.257) 造血/免疫 (0.171) 神経 (0.171)	癌 (0.486) 炎症/外傷 (0.486) 細胞増殖 (0.143)	PBLUESCRIPT
46	219-263	生殖 (0.444) 胃腸 (0.222) 神経 (0.222)	炎症/外傷 (0.666) 癌 (0.222)	PSPORT1
47	597-641	生殖 (0.364) 心血管 (0.212) 神経 (0.152)	癌 (0.545) 細胞増殖 (0.242) 炎症/外傷 (0.273)	PSPORT1

【表 1 2】

表3-3

スクレオチド SEQ ID NO:	選択断片	発現組織 (割合)	疾患または症状 (割合)	ベクター
48	271-315	胃腸 (0.278) 生殖 (0.278) 心血管 (0.111) 造血/免疫 (0.111) 神経 (0.111)	癌 (0.444) 炎症/外傷 (0.555) 細胞増殖 (0.167)	P1NCY
49	217-261	造血/免疫 (0.364) 生殖 (0.273)	細胞増殖 (0.364) 炎症/外傷 (0.364) 癌 (0.182)	P1NCY
50	164-208	生殖 (0.333) 神経 (0.222) 胃腸 (0.167)	癌 (0.611) 炎症/外傷 (0.223)	P1NCY
51	388-432	胃腸 (0.833) 生殖 (0.166)	癌 (0.666)	P1NCY
52	218-262	神経 (0.750) 造血/免疫 (0.250)	細胞増殖 (0.166) 炎症/外傷 (0.500) 神経 (0.250)	P1NCY
53	325-369	生殖 (0.289) 神経 (0.253) 胃腸 (0.120)	癌 (0.410) 炎症/外傷 (0.386) 細胞増殖 (0.145)	P1NCY
54	165-209	生殖 (0.352) 泌尿器 (0.185) 免疫 (0.130)	癌 (0.630) 細胞増殖 (0.167) 炎症/外傷 (0.204)	P1NCY

【表13】

【表 1 4】

ポリヌクレオチド配列 I D 番号	ライブラリ	ライブラリの説明
2 8	LIVRNOT01	ライブラリは、4 9 歳の男性の肝臓組織より単離した RNA を用いて、ストラタジーンで作製された。
2 9	TESTNOT01	ライブラリは、肝炎患者で死亡した 3 7 歳の白人男性の精巣組織より単離した RNA を用いて作製された。患者の病歴には、肝硬変、黄疸、及び肝機能不全があった。
3 0	SYNORAT05	ライブラリは、リウマチ様動脈炎の 6 2 歳の女性の膝滑液組織より単離した RNA を用いて作成された。
3 1	BRSTNOT07	ライブラリは、4 3 歳の白人女性の拡大単純片乳房切除の際に採取した病変乳房組織から単離した RNA を用いて作製した。病理学的には、過形成症、乳頭腫症、管拡張を伴う軽度の増殖性線維嚢胞の変化を示していた。関連腫瘍組織は、病理学的には、面皰の壊死を伴った浸潤性グレード 4、核グレード 3 の乳腺腫を示していた。家族歴には、癩癩、心血管疾患、及び II 型糖尿病があった。
3 2	LUEKNOT02	ライブラリは、血液型 O + の 4 5 歳の男性の白血球細胞より単離された RNA を用いて作成された。ドナーはサイトメガロウイルス (CMV) に対して陽性であった。
3 3	OVARNOT07	ライブラリは、28 歳の白人女性の膈式子宮摘出、並びに卵巣及び卵巣の切除の際に採取された左卵巣組織から単離した RNA を用いて作製した。その組織は、多発性脂肪嚢腫症、軽度の子宮内膜増殖期、及び扁平上皮化生を伴う慢性子宮頸管炎に関係していた。家族歴には、良性の高血圧症、高脂血症、及びアテローム硬化性冠動脈疾患があった。
3 4	CORPNOT02	ライブラリは、アルツハイマー病で死亡した 7 4 歳の白人男性の脳から脳梁を採取し、その脳梁から単離した RNA を用いて作製した。
3 5	BRAINON01	ライブラリは、脳細胞ライブラリからの独立したクローン 4、 $8.8 \times 10^6$ 個から作製され規準化された。RNA は、2 6 歳の白人男性の頭蓋形成病及び脳髓膜病変の切除の際に採取した脳組織から作製した。関連した腫瘍組織は病理学的には、右前頭頭頂のグレード 4 の乏星状細胞腫 (oligoastrocytoma) である。
3 6	COLNNOT11	ライブラリは、6 0 歳の白人男性の左結腸半切除中に結腸組織を採取し、その結腸組織から単離した RNA を用いて作製した。

ポリヌクレオチド配列ID番号	ライブラリ	ライブラリの説明
37	BRAITUT21	ライブラリは、61歳の白人女性の脳腫瘍病変の切除中に正中線前頭葉から脳腫瘍組織を採取し、その脳腫瘍組織から単離したRNAを用いて作製した。病理学的には、定型性前頭膜皮髄膜種を示していた。1つの篩骨及び粘膜炎組織サンプルは髄膜腫を示していた。家族歴には、脳血管疾患、老年痴呆、高脂血症、良性高血圧、アテローム硬化性冠動脈疾患、うっ血性心不全、及び乳癌が含まれた。
38	EPIGNOT01	ライブラリは、右副甲状腺生検を伴う喉頭摘出の際に71歳の男性から採取した喉頭蓋組織より単離したRNAを用いて作製された。関連主要組織の病理学的には、再発性グレード1の乳頭甲状腺癌を示した。
39	SPLNNOT17	ライブラリは、脳無酸素で死亡した2歳のヒスパニック系男児の脾臓組織より単離したポリA RNAを用いて作製された。
40	FIBAUNT02	ライブラリは、65歳の白人女性より取り除いた未処置大動脈外膜線維芽細胞より単離したRNAを用いて作製された。
41	BRSTNOT01	ライブラリは、自動車事故で死亡した56歳の白人女性の乳房組織から単離したRNAを用いて作製した。
42	MENITUT03	ライブラリは、35歳白人女性の脳髄膜の病変切除の際に採取した脳髄膜組織から単離したRNAを用いて作製した。病理学的には、脳の右小脳橋角の良性の新生物であった。患者の病歴には、甲状腺機能低下症があった。家族歴には、心筋梗塞及び乳癌があった。
43	BRAINOT10	ライブラリは、アルツハイマー病で死亡した74歳の白人男性の脳より取り除いた病変小脳組織より単離したRNAを用いて作製された。
44	CONNTUT01	ライブラリは、30歳の白人女性の頭骨の斜台領域から軟組織腫瘍を採取し、その軟組織腫瘍から単離したRNAを用いて作製した。病理学的には、ケラチンに反応性の腫瘍細胞を有する軟骨様脊索腫である。
45	UCMCL5T01	ライブラリは、12名の臍帯血から得られた単核細胞から単離されたRNAを用いて作製した。RNAをプールのされたライゼット前に細胞を12日間IL-5と共に培養した。
46	OVARNOT02	ライブラリは、心筋梗塞で死亡した59歳の白人女性より取り除いた卵巣組織より単離したRNAを用いて作製した。病歴には、心筋症、冠動脈疾患、前心筋梗塞、)高コレステロール血症、高血圧、及び関節炎があった。

【表 15】

ポリヌクレオチド配列 ID 番号	ライブラリ	ライブラリの説明
47	THP1AZS08	ライブラリは、5'-aza-2'-デオキシシチジン(AZ)処理 THP-1 前単核細胞株ライブラリよりの 5.76 × 10 <sup>6</sup> 個のクローンを用いて作製された。開始 RNA は、0.8 μM の AZ で 3 日間処理した THP-1 前単核細胞からなる。AZ 処理 THP-1 細胞ライブラリからの 5.76 × 10 <sup>6</sup> 個のクローンは、次に未処理の THP-1 細胞ライブラリよりの 5.0 × 10 <sup>6</sup> 個のクローンで、2 ラウンドの差し引きハイブリダクションにかけられた。差し引きハイブリダクションの条件は Swaroop ら (1991) の Nucleic Acids Res. 19:1954, 及び Bonaldo ら (1996) の Genome Research 6:791 の方法を基にした。THP-1 (ATCC TIB 202) は、急性単球白血病の 1 歳男児の末梢血液に由来するヒト前単核細胞株である (Int. J. Cancer (1980) 26:171 を参照)。
48	BRSTNOT19	ライブラリは、67 歳の白人女性から片側乳房切除の際に採取した乳房組織から単離した RNA を用いて作製した。関連する腫瘍組織は、病理学的には残存浸潤小葉癌を示していた。残存浸潤癌の細胞増殖率は、エストロゲン及びプロゲステロン双方に対して陽性であった。患者の病歴には、抑うつ障害及び良性大腸新生物が含まれる。家族歴には、心血管疾患、良性高血圧、うつ血性心不全、及び肺癌が含まれる。
49	ENDPNOT02	ライブラリは、10 歳の白人男性から採取した肺動脈内皮細胞から単離した RNA を用いて作製した。細胞は TNF α 及び IL-1β 各 10 ng/ml で 20 時間処理した。
50	UTRSNOT05	ライブラリは、45 歳白人女性から腹式子宮全摘出及び大腸全切除の際に採取した子宮組織から単離した RNA を用いて作製した。関連する腫瘍組織は、病理学的には子宮筋層の多数の平滑筋腫及び盲腸のグレード 2 大腸腺癌を示していた。患者の病歴には、多発性硬化病及びび腎臓障害が含まれる。家族歴には、I 型糖尿病、脳血管障害、アテローム性冠動脈疾患、悪性皮膚新生物、高血圧症及び悪性大腸新生物が含まれる。

【表 16】

ポリヌクレオチド配列 ID 番号	ライブラリ	ライブラリの説明
5 1	LIVRTUT11	ライブラリは、15歳の白人男性より取り除かれた肝芽細胞腫より誘導された HepG2 の誘導体である処理 C3A 肝細胞より単離した 1. 1 マイクログラムのポリ A-RNA を用いて作成された。細胞は、1mM を 48 時間、フェノバルビタール (PB) で処理された。cDNA の合成は、NotI-アンカーオリゴ(dT)プライマーを用いて開始された。2 本鎖 cDNA は揃えられ、EcoRI アダプタに対して結合され、NotI で消化され、サイズ選択され、pINCY ベクター (インサイト社) の NotI 及び EcoRI 部位へとクローン化された。
5 2	BRAFNOT02	ライブラリは、心不全で死亡した 35 歳の白人男性の上前頭皮質組織より単離した RNA を用いて作成された。病理学的には、中程度の軟膜線維症及び大脳新皮質の多発性梗塞 (microinfarctions) を示した。病歴には、拡張型心筋症、うっ血性心不全、心肥大症、及び脾腫及び肝臓肥大があった。
5 3	BRAFDIT02	ライブラリは、脳血管発作で死亡した病変右前頭葉組織より単離した RNA を用いて作成された。病歴には、ハンチントン病及び気腫があった。
5 4	FIBAUNT01	ライブラリは、48歳の白人男性より採取した未処置大動脈外膜線維芽細胞より単離した RNA を用いて作成された。

【表 17】

プログラム名	説明	引用文献	パラメーター閾値
ABI FACTURA	核酸配列においてベクター配列を除去して不定の塩基をマスクするプログラム。	P-E Biosystems, Foster City, CA.	
ABI/PARACEL FDF	Fast Data Finder は、アミノ酸または核酸配列の比較及び注釈付け (annotation) に有用である。	P-E Biosystems, Foster City, CA; Paracel Inc., Pasadena, CA.	不一致<50%
ABI AutoAssembler	核酸配列を構築するプログラム。	P-E Biosystems, Foster City, CA.	
BLAST	Basic Local Alignment Search Tool は、アミノ酸及び核酸配列の配列類似性検索に有用であり、blastp 及び blastn、blastx、tblastn、tblastx の5つのファンクションがある。	Altschul, S.F.他 (1990) J. Mol. Biol. 215:403-410; Altschul, S.F. 他 (1997)Nucleic Acids Res. 25: 3389-3402.	ESTs : 確率値=1.0E-8 以下 完全長配列 : 確率値=1.0E-10 以下
FASTA	Pearson 及び Lipman アルゴリズムは、問合わせの配列と同種の配列群との類似性を検索する。FASTA は、fasta 及び tfasta、fastx、tfastx、ssearch の少なくとも5つのファンクションを含む。	Pearson, W.R. and D.J. Lipman (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. 85:2444-2448; Pearson, W.R.(1990) Methods Enzymol. 183: 63-98; Smith, T.F. and M. S. Waterman (1981) Adv. Appl. Math. 2:482-489.	ESTs : fasta E 値=1.06E-6 構築された ESTs : fasta 同一性=95%以上、一致長さ=200 塩基以上、fastx E 値=1.0E-8 以下 完全長配列 : fastx スコア=100 以上
BLIMPS	BLOCKS IMProved Searcher は、BLOCKS 及び PRINTS、DOMO、PRODOM、PFAM データベースにおける配列に対して、ある配列の一致性を調べ、遺伝子ファミリー及び配列相同性、構造的フィンガープリント領域を探索する。	Henikoff, S and J.G. Henikoff, Nucl. Acid Res.,19:6565-72, 1991. J.Ci. Henikoff and S. Henikoff (1996) Methods Enzymol. 266:88-105; Artwood, T.K.他 (1997) J. Chem. Inf. Comput. Sci. 37: 417-424.	スコア=1000 以上 スコア/弾度=0.75 以上 該当する場合、確率値=1.0E-3 以下
HMMER	PFAM などのタンパク質ファミリーコンセンサス配列の隠れマルコフモデル(HMM)に基づいたデータベースに対して問合せ配列を検索するアルゴリズム。	Krogh, A. 他 (1994) J. Mol. Biol. 235:1501-1531; Sonnhammer, E.L.L. 他 (1988) Nucleic Acids Res. 26:320-322.	スコア=10-50 ビット、各タンパク質ファミリーによって異なる。

【表 18】

【配列表】

プログラム名	説明	引用文献	パラメータ-閾値
ProfileScan	Prosite で定義された配列パターンと一致するタンパク質配列における構造及び配列のモチーフを検索するアルゴリズム。	Gribskov, M.他 (1988) CABIOS 4:61-66; Gribskov, 他 (1989) Methods Enzymol. 183:146-159; Bairoch, A. 他 (1997) Nucleic Acids Res. 25:217-221	ノーマライズされた質のスコア $\geq$ 特定の Prosite モチーフに対する GCG 指定 "HIGH" 値 通常、スコア = 1.4-2.1
Phred	高い感度及び確率で自動配列決定機のトレースを調べる塩基読出しアルゴリズムである。	Ewing, B.他 (1998) Genome Res. 8:175-185; Ewing, B. and P. Green (1998) Genome Res. 8:186-194.	
Phrap	Smith-Waterman アルゴリズムの効率的なインプリメンテーションに基づく SWAT や CrossMatch を含む Phils Revised Assembly プログラムであって、配列相同性の検索及び DNA 配列の構築に有用である。	Smith, T.F. and M. S. Waterman (1981) Adv. Appl. Math. 2:482-489; Smith, T.F. and M.S. Waterman (1981) J. Mol. Biol. 147:195-197; Green, P., University of Washington, Seattle, WA.	スコア = 120 以上 一致長さ = 56 以上
Consed	Phrap で構築したものの表示及び編集をするためのグラフィックツールである。	Gordon, D.他 (1998) Genome Res. 8:195-202.	
SPScan	タンパク質配列をスキャンして分泌シグナルペプチドの存在を調べる重み付けマトリクス解析プログラムである。	Nielson, H.他 (1997) Protein Engineering 10: 1-6; Claverie, J.M. and S. Audic (1997) CABIOS 12: 431-439.	スコア = 3.5 以上
Motifs	Prosites で定義された配列と一致したパターンについてアミノ酸配列を検索するプログラムである。	Bairoch 他 (1997) Nucleic Acids Res. 25:217-221 前出; Wisconsin Package Program Manual, version 9, page M51-59, Genetics Computer Group, Madison, WI.	

## SEQUENCE LISTING

<110> INCYTE GENOMICS, INC.  
 YUE, Henry  
 TANG, Y. Tom  
 BANDMAN, Olga  
 LAL, Preeti  
 BAUGHN, Mariah R.  
 AZIMZAI, Yalda  
 LU, Dyung Aina M.  
 YANG, Junming

<120> PROTEASES AND PROTEASE INHIBITORS

<130> PF-0727 PCT

<140> To Be Assigned

<141> Herewith

<150> 60/147,986; 60/160,807

<151> 1999-08-09; 1999-10-21

<160> 54

<170> PERL Program

<210> 1

<211> 444

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc\_feature

<223> Incyte ID No: 088718CD1

<400> 1

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

```

                230                235                240
Lys Trp Leu Thr Pro Phe Asp Pro Val Phe Thr Glu Val Asp Thr
                245                250                255
Phe His Leu Asp Lys Tyr Lys Thr Ile Lys Val Pro Met Met Tyr
                260                265                270
Gly Ala Gly Lys Phe Ala Ser Thr Phe Asp Lys Asn Phe Arg Cys
                275                280                285
His Val Leu Lys Leu Pro Tyr Gln Gly Asn Ala Thr Met Leu Val
                290                295                300
Val Leu Met Glu Lys Met Gly Asp His Leu Ala Leu Glu Asp Tyr
                305                310                315
Leu Thr Thr Asp Leu Val Glu Thr Trp Leu Arg Asn Met Lys Thr
                320                325                330
Arg Asn Met Glu Val Phe Phe Pro Lys Phe Lys Leu Asp Gln Lys
                335                340                345
Tyr Glu Met His Glu Leu Leu Arg Gln Met Gly Ile Arg Arg Ile
                350                355                360
Phe Ser Pro Phe Ala Asp Leu Ser Glu Leu Ser Ala Thr Gly Arg
                365                370                375
Asn Leu Gln Val Ser Arg Val Leu Gln Arg Thr Val Ile Glu Val
                380                385                390
Asp Glu Arg Gly Thr Glu Ala Val Ala Gly Ile Leu Ser Glu Ile
                395                400                405
Thr Ala Tyr Ser Met Pro Pro Val Ile Lys Val Asp Arg Pro Phe
                410                415                420
His Phe Met Ile Tyr Glu Glu Thr Ser Gly Met Leu Leu Phe Leu
                425                430                435
Gly Arg Val Val Asn Pro Thr Leu Leu
                440
<210> 2
<211> 565
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 114551CD1

<400> 2
Met Ser Gly Arg Ser Lys Arg Glu Ser Arg Gly Ser Thr Arg Gly
  1      5      10      15
Lys Arg Glu Ser Glu Ser Arg Gly Ser Ser Gly Arg Val Lys Arg
  20     25     30
Glu Arg Asp Arg Glu Arg Glu Pro Glu Ala Ala Ser Ser Arg Gly
  35     40     45
Ser Pro Val Arg Val Lys Arg Glu Phe Glu Pro Ala Ser Ala Arg
  50     55     60
Glu Ala Pro Ala Ser Val Val Pro Phe Val Arg Val Lys Arg Glu
  65     70     75
Arg Glu Val Asp Glu Asp Ser Glu Pro Glu Arg Glu Val Arg Ala
  80     85     90
Lys Asn Gly Arg Val Asp Ser Glu Asp Arg Arg Ser Arg His Cys
  95    100    105
Pro Tyr Leu Asp Thr Ile Asn Arg Ser Val Leu Asp Phe Asp Phe
  110   115   120
Glu Lys Leu Cys Ser Ile Ser Leu Ser His Ile Asn Ala Tyr Ala
  125   130   135
Cys Leu Val Cys Gly Lys Tyr Phe Gln Gly Arg Gly Leu Lys Ser
  140   145   150
His Ala Tyr Ile His Ser Val Gln Phe Ser His His Val Phe Leu
  155   160   165
Asn Leu His Thr Leu Lys Phe Tyr Cys Leu Pro Asp Asn Tyr Glu
  170   175   180
Ile Ile Asp Ser Ser Leu Glu Asp Ile Thr Tyr Val Leu Lys Pro
  185   190   195
Thr Phe Thr Lys Gln Gln Ile Ala Asn Leu Asp Lys Gln Ala Lys
  200   205   210

```

Leu Ser Arg Ala Tyr Asp Gly Thr Thr Tyr Leu Pro Gly Ile Val  
 215 220 225  
 Gly Leu Asn Asn Ile Lys Ala Asn Asp Tyr Ala Asn Ala Val Leu  
 230 235 240  
 Gln Ala Leu Ser Asn Val Pro Pro Leu Arg Asn Tyr Phe Leu Glu  
 245 250 255  
 Glu Asp Asn Tyr Lys Asn Ile Lys Arg Pro Pro Gly Asp Ile Met  
 260 265 270  
 Phe Leu Leu Val Gln Arg Phe Gly Glu Leu Met Arg Lys Leu Trp  
 275 280 285  
 Asn Pro Arg Asn Phe Lys Ala His Val Ser Pro His Glu Met Leu  
 290 295 300  
 Gln Ala Val Val Leu Cys Ser Lys Lys Thr Phe Gln Ile Thr Lys  
 305 310 315  
 Gln Gly Asp Gly Val Asp Phe Leu Ser Trp Phe Leu Asn Ala Leu  
 320 325 330  
 His Ser Ala Leu Gly Gly Thr Lys Lys Lys Lys Lys Thr Ile Val  
 335 340 345  
 Thr Asp Val Phe Gln Gly Ser Met Arg Ile Phe Thr Lys Lys Leu  
 350 355 360  
 Pro His Pro Asp Leu Pro Ala Glu Glu Lys Glu Gln Leu Leu His  
 365 370 375  
 Asn Asp Glu Tyr Gln Glu Thr Met Val Glu Ser Thr Phe Met Tyr  
 380 385 390  
 Leu Thr Leu Asp Leu Pro Thr Ala Pro Leu Tyr Lys Asp Glu Lys  
 395 400 405  
 Glu Gln Leu Ile Ile Pro Gln Val Pro Leu Phe Asn Ile Leu Ala  
 410 415 420  
 Lys Phe Asn Gly Ile Thr Glu Lys Glu Tyr Lys Thr Tyr Lys Glu  
 425 430 435  
 Asn Phe Leu Lys Arg Phe Gln Leu Thr Lys Leu Pro Pro Tyr Leu  
 440 445 450  
 Ile Phe Cys Ile Lys Arg Phe Thr Lys Asn Asn Phe Phe Val Glu  
 455 460 465  
 Lys Asn Pro Thr Ile Val Asn Phe Pro Ile Thr Asn Val Asp Leu  
 470 475 480  
 Arg Glu Tyr Leu Ser Glu Glu Val Gln Ala Val His Lys Asn Thr  
 485 490 495  
 Thr Tyr Asp Leu Ile Ala Asn Ile Val His Asp Gly Lys Pro Ser  
 500 505 510  
 Glu Gly Ser Tyr Arg Ile His Val Leu His His Gly Thr Gly Lys  
 515 520 525  
 Trp Tyr Glu Leu Gln Asp Leu Gln Val Thr Asp Ile Leu Pro Gln  
 530 535 540  
 Met Ile Thr Leu Ser Glu Ala Tyr Ile Gln Ile Trp Lys Arg Arg  
 545 550 555  
 Asp Asn Asp Glu Thr Asn Gln Gln Gly Ala  
 560 565

<210> 3

<211> 589

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc\_feature

<223> Incyte ID No: 1261376CD1

<400> 3

Met Ala Glu Ser Gly Glu Ser Gly Gly Pro Pro Gly Ser Gln Asp  
 1 5 10 15  
 Ser Ala Ala Gly Ala Glu Gly Ala Gly Ala Pro Ala Ala Ala Ala  
 20 25 30  
 Ser Ala Asp Ala Lys Ile Met Lys Val Thr Val Lys Thr Pro Lys  
 35 40 45  
 Glu Lys Glu Glu Phe Ala Val Pro Glu Asn Ser Ser Val Gln Gln  
 50 55 60  
 Phe Lys Glu Glu Ile Ser Lys Arg Phe Lys Ser His Thr Asp Gln

				65					70					75
Leu	Val	Leu	Ile	Phe	Ala	Gly	Lys	Ile	Leu	Lys	Asp	Gln	Asp	Thr
				80					85					90
Leu	Ser	Gln	His	Gly	Ile	His	Asp	Gly	Leu	Thr	Val	His	Leu	Val
				95					100					105
Ile	Lys	Thr	Gln	Asn	Arg	Pro	Gln	Asp	His	Ser	Ala	Gln	Gln	Thr
				110					115					120
Asn	Thr	Ala	Gly	Ser	Asn	Val	Thr	Thr	Ser	Ser	Thr	Pro	Asn	Ser
				125					130					135
Asn	Ser	Thr	Ser	Gly	Ser	Ala	Thr	Ser	Asn	Pro	Phe	Gly	Leu	Gly
				140					145					150
Gly	Leu	Gly	Gly	Leu	Ala	Gly	Leu	Ser	Ser	Leu	Gly	Leu	Asn	Thr
				155					160					165
Thr	Asn	Phe	Ser	Glu	Leu	Gln	Ser	Gln	Met	Gln	Arg	Gln	Leu	Leu
				170					175					180
Ser	Asn	Pro	Glu	Met	Met	Val	Gln	Ile	Met	Glu	Asn	Pro	Phe	Val
				185					190					195
Gln	Ser	Met	Leu	Ser	Asn	Pro	Asp	Leu	Met	Arg	Gln	Leu	Ile	Met
				200					205					210
Ala	Asn	Pro	Gln	Met	Gln	Gln	Leu	Ile	Gln	Arg	Asn	Pro	Glu	Ile
				215					220					225
Ser	His	Met	Leu	Asn	Asn	Pro	Asp	Ile	Met	Arg	Gln	Thr	Leu	Glu
				230					235					240
Leu	Ala	Arg	Asn	Pro	Ala	Met	Met	Gln	Glu	Met	Met	Arg	Asn	Gln
				245					250					255
Asp	Arg	Ala	Leu	Ser	Asn	Leu	Glu	Ser	Ile	Pro	Gly	Gly	Tyr	Asn
				260					265					270
Ala	Leu	Arg	Arg	Met	Tyr	Thr	Asp	Ile	Gln	Glu	Pro	Met	Leu	Ser
				275					280					285
Ala	Ala	Gln	Glu	Gln	Phe	Gly	Gly	Asn	Pro	Phe	Ala	Ser	Leu	Val
				290					295					300
Ser	Asn	Thr	Ser	Ser	Gly	Glu	Gly	Ser	Gln	Pro	Ser	Arg	Thr	Glu
				305					310					315
Asn	Arg	Asp	Pro	Leu	Pro	Asn	Pro	Trp	Ala	Pro	Gln	Thr	Ser	Gln
				320					325					330
Ser	Ser	Ser	Ala	Ser	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser	Thr	Val	Gly	Gly	Thr
				335					340					345
Thr	Gly	Ser	Thr	Ala	Ser	Gly	Thr	Ser	Gly	Gln	Ser	Thr	Thr	Ala
				350					355					360
Pro	Asn	Leu	Val	Pro	Gly	Val	Gly	Ala	Ser	Met	Phe	Asn	Thr	Pro
				365					370					375
Gly	Met	Gln	Ser	Leu	Leu	Gln	Gln	Ile	Thr	Glu	Asn	Pro	Gln	Leu
				380					385					390
Met	Gln	Asn	Met	Leu	Ser	Ala	Pro	Tyr	Met	Arg	Ser	Met	Met	Gln
				395					400					405
Ser	Leu	Ser	Gln	Asn	Pro	Asp	Leu	Ala	Ala	Gln	Met	Met	Leu	Asn
				410					415					420
Asn	Pro	Leu	Phe	Ala	Gly	Asn	Pro	Gln	Leu	Gln	Glu	Gln	Met	Arg
				425					430					435
Gln	Gln	Leu	Pro	Thr	Phe	Leu	Gln	Gln	Met	Gln	Asn	Pro	Asp	Thr
				440					445					450
Leu	Ser	Ala	Met	Ser	Asn	Pro	Arg	Ala	Met	Gln	Ala	Leu	Leu	Gln
				455					460					465
Ile	Gln	Gln	Gly	Leu	Gln	Thr	Leu	Ala	Thr	Glu	Ala	Pro	Gly	Leu
				470					475					480
Ile	Pro	Gly	Phe	Thr	Pro	Gly	Leu	Gly	Ala	Leu	Gly	Ser	Thr	Gly
				485					490					495
Gly	Ser	Ser	Gly	Thr	Asn	Gly	Ser	Asn	Ala	Thr	Pro	Ser	Glu	Asn
				500					505					510
Thr	Ser	Pro	Thr	Ala	Gly	Thr	Thr	Glu	Pro	Gly	His	Gln	Gln	Phe
				515					520					525
Ile	Gln	Gln	Met	Leu	Gln	Ala	Leu	Ala	Gly	Val	Asn	Pro	Gln	Leu
				530					535					540
Gln	Asn	Pro	Glu	Val	Arg	Phe	Gln	Gln	Gln	Leu	Glu	Gln	Leu	Ser
				545					550					555
Ala	Met	Gly	Phe	Leu	Asn	Arg	Glu	Ala	Asn	Leu	Gln	Ala	Leu	Ile
				560					565					570

Ala Thr Gly Gly Asp Ile Asn Ala Ala Ile Glu Arg Leu Leu Gly  
 575 580 585  
 Ser Gln Pro Ser

<210> 4  
 <211> 775  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 1299481CD1

<400> 4  
 Met Thr Ile Val Asp Lys Ala Ser Glu Ser Ser Asp Pro Ser Ala  
 1 5 10 15  
 Tyr Gln Asn Gln Pro Gly Ser Ser Glu Ala Val Ser Pro Gly Asp  
 20 25 30  
 Met Asp Ala Gly Ser Ala Ser Trp Gly Ala Val Ser Ser Leu Asn  
 35 40 45  
 Asp Val Ser Asn His Thr Leu Ser Leu Gly Pro Val Pro Gly Ala  
 50 55 60  
 Val Val Tyr Ser Ser Ser Ser Val Pro Asp Lys Ser Lys Pro Ser  
 65 70 75  
 Pro Gln Lys Asp Gln Ala Leu Gly Asp Gly Ile Ala Pro Pro Gln  
 80 85 90  
 Lys Val Leu Phe Pro Ser Glu Lys Ile Cys Leu Lys Trp Gln Gln  
 95 100 105  
 Thr His Arg Val Gly Ala Gly Leu Gln Asn Leu Gly Asn Thr Cys  
 110 115 120  
 Phe Ala Asn Ala Ala Leu Gln Cys Leu Thr Tyr Thr Pro Pro Leu  
 125 130 135  
 Ala Asn Tyr Met Leu Ser His Glu His Ser Lys Thr Cys His Ala  
 140 145 150  
 Glu Gly Phe Cys Met Met Cys Thr Met Gln Ala His Ile Thr Gln  
 155 160 165  
 Ala Leu Ser Asn Pro Gly Asp Val Ile Lys Pro Met Phe Val Ile  
 170 175 180  
 Asn Glu Met Arg Arg Ile Ala Arg His Leu Arg Phe Gly Asn Gln  
 185 190 195  
 Glu Asp Ala His Glu Phe Leu Gln Tyr Thr Val Asp Ala Met Gln  
 200 205 210  
 Lys Ala Cys Leu Asn Gly Ser Asn Lys Leu Asp Arg His Thr Gln  
 215 220 225  
 Ala Thr Thr Leu Val Cys Gln Ile Phe Gly Tyr Leu Arg Ser  
 230 235 240  
 Arg Val Lys Cys Leu Asn Cys Lys Gly Val Ser Asp Thr Phe Asp  
 245 250 255  
 Pro Tyr Leu Asp Ile Thr Leu Glu Ile Lys Ala Ala Gln Ser Val  
 260 265 270  
 Asn Lys Ala Leu Glu Gln Phe Val Lys Pro Glu Gln Leu Asp Gly  
 275 280 285  
 Glu Asn Ser Tyr Lys Cys Ser Lys Cys Lys Lys Met Val Pro Ala  
 290 295 300  
 Ser Lys Arg Phe Thr Ile His Arg Ser Ser Asn Val Leu Thr Leu  
 305 310 315  
 Ser Leu Lys Arg Phe Ala Asn Phe Thr Gly Gly Lys Ile Ala Lys  
 320 325 330  
 Asp Val Lys Tyr Pro Glu Tyr Leu Asp Ile Arg Pro Tyr Met Ser  
 335 340 345  
 Gln Pro Asn Gly Glu Pro Ile Val Tyr Val Leu Tyr Ala Val Leu  
 350 355 360  
 Val His Thr Gly Phe Asn Cys His Ala Gly His Tyr Phe Cys Tyr  
 365 370 375  
 Ile Lys Ala Ser Asn Gly Leu Trp Tyr Gln Met Asn Asp Ser Ile  
 380 385 390  
 Val Ser Thr Ser Asp Ile Arg Ser Val Leu Ser Gln Gln Ala Tyr

```

Val Leu Phe Tyr Ile Arg Ser His Asp Val Lys Asn Gly Gly Glu 405
410 415 420
Leu Thr His Pro Thr His Ser Pro Gly Gln Ser Ser Pro Arg Pro
425 430 435
Val Ile Ser Gln Arg Val Val Thr Asn Lys Gln Ala Ala Pro Gly
440 445 450
Phe Ile Gly Pro Gln Leu Pro Ser His Met Ile Lys Asn Pro Pro
455 460 465
His Leu Asn Gly Thr Gly Pro Leu Lys Asp Thr Pro Ser Ser Ser
470 475 480
Met Ser Ser Pro Asn Gly Asn Ser Ser Val Asn Arg Ala Ser Pro
485 490 495
Val Asn Ala Ser Ala Ser Val Gln Asn Trp Ser Val Asn Arg Ser
500 505 510
Ser Val Ile Pro Glu His Pro Lys Lys Gln Lys Ile Thr Ile Ser
515 520 525
Ile His Asn Lys Leu Pro Val Arg Gln Cys Gln Ser Gln Pro Asn
530 535 540
Leu His Ser Asn Ser Leu Glu Asn Pro Thr Lys Pro Val Pro Ser
545 550 555
Ser Thr Ile Thr Asn Ser Ala Val Gln Ser Thr Ser Asn Ala Ser
560 565 570
Thr Met Ser Val Ser Ser Lys Val Thr Lys Pro Ile Pro Arg Ser
575 580 585
Glu Ser Cys Ser Gln Pro Val Met Asn Gly Lys Ser Lys Leu Asn
590 595 600
Ser Ser Val Leu Val Pro Tyr Gly Ala Glu Ser Ser Glu Asp Ser
605 610 615
Asp Glu Glu Ser Lys Gly Leu Gly Lys Glu Asn Gly Ile Gly Thr
620 625 630
Ile Val Ser Ser His Ser Pro Gly Gln Asp Ala Glu Asp Glu Glu
635 640 645
Ala Thr Pro His Glu Leu Gln Glu Pro Met Thr Leu Asn Gly Ala
650 655 660
Asn Ser Ala Asp Ser Asp Ser Asp Pro Lys Glu Asn Gly Leu Ala
665 670 675
Pro Asp Gly Ala Ser Cys Gln Gly Gln Pro Ala Leu His Ser Glu
680 685 690
Asn Pro Phe Ala Lys Ala Asn Gly Leu Pro Gly Lys Leu Met Pro
695 700 705
Ala Pro Leu Leu Ser Leu Pro Glu Asp Lys Ile Leu Glu Thr Phe
710 715 720
Arg Leu Ser Asn Lys Leu Lys Gly Ser Thr Asp Glu Met Ser Ala
725 730 735
Pro Gly Ala Glu Arg Gly Pro Pro Glu Asp Arg Asp Ala Glu Pro
740 745 750
Gln Pro Gly Ser Pro Ala Ala Glu Ser Leu Glu Glu Pro Asp Ala
755 760 765
Ala Ala Ser Leu Phe Pro Phe Ser Glu Gly
770 775
<210> 5
<211> 351
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 1873139CD1

<400> 5
Met Asn Ala Ile Leu Gln Ser Leu Ser Asn Ile Glu Gln Phe Cys
1 5 10 15
Cys Tyr Phe Lys Glu Leu Pro Ala Val Glu Leu Arg Asn Gly Lys
20 25 30
Thr Ala Gly Arg Arg Thr Tyr His Thr Arg Ser Gln Gly Asp Asn
35 40 45

```

```

Asn Val Ser Leu Val Glu Glu Phe Arg Lys Thr Leu Cys Ala Leu
  50 55 60
Trp Gln Gly Ser Gln Thr Ala Phe Ser Pro Glu Ser Leu Phe Tyr
  65 70 75
Val Val Trp Lys Ile Met Pro Asn Phe Arg Gly Tyr Gln Gln Gln
  80 85 90
Asp Ala His Glu Phe Met Arg Tyr Leu Leu Asp His Leu His Leu
  95 100 105
Glu Leu Gln Gly Gly Phe Asn Gly Val Ser Arg Ser Ala Ile Leu
  110 115 120
Gln Glu Asn Ser Thr Leu Ser Ala Ser Asn Lys Cys Cys Ile Asn
  125 130 135
Gly Ala Ser Thr Val Val Thr Ala Ile Phe Gly Gly Ile Leu Gln
  140 145 150
Asn Glu Val Asn Cys Leu Ile Cys Gly Thr Glu Ser Arg Lys Phe
  155 160 165
Asp Pro Phe Leu Asp Leu Ser Leu Asp Ile Pro Ser Gln Phe Arg
  170 175 180
Ser Lys Arg Ser Lys Asn Gln Glu Asn Gly Pro Val Cys Ser Leu
  185 190 195
Arg Asp Cys Leu Arg Ser Phe Thr Asp Leu Glu Glu Leu Asp Glu
  200 205 210
Thr Glu Leu Tyr Met Cys His Lys Cys Lys Lys Lys Gln Lys Ser
  215 220 225
Thr Lys Lys Phe Trp Ile Gln Lys Leu Pro Lys Val Leu Cys Leu
  230 235 240
His Leu Lys Arg Phe His Trp Thr Ala Tyr Leu Arg Asn Lys Val
  245 250 255
Asp Thr Tyr Val Glu Phe Pro Leu Arg Gly Leu Asp Met Lys Cys
  260 265 270
Tyr Leu Leu Glu Pro Glu Asn Ser Gly Pro Glu Ser Cys Leu Tyr
  275 280 285
Asp Leu Ala Ala Val Val Val His His Gly Ser Gly Val Gly Ser
  290 295 300
Gly His Tyr Thr Ala Tyr Ala Thr His Glu Gly Arg Trp Phe His
  305 310 315
Phe Asn Asp Ser Thr Val Thr Leu Thr Asp Glu Glu Thr Val Val
  320 325 330
Lys Ala Lys Ala Tyr Ile Leu Phe Tyr Val Glu His Gln Ala Lys
  335 340 345
Ala Gly Ser Asp Lys Leu
  350

<210> 6
<211> 136
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 1903112CD1

<400> 6
Met Ala Leu Met Gln Arg Ser Asp Ile Phe Arg Val Ala Ile Ala
  1 5 10 15
Gly Ala Pro Val Thr Leu Trp Ile Phe Tyr Asp Thr Gly Tyr Thr
  20 25 30
Glu Arg Tyr Met Gly His Pro Asp Gln Asn Glu Gln Gly Tyr Tyr
  35 40 45
Leu Gly Ser Val Ala Met Gln Ala Glu Lys Phe Pro Ser Glu Pro
  50 55 60
Asn Arg Leu Leu Leu Leu His Gly Phe Leu Asp Glu Asn Val His
  65 70 75
Phe Ala His Thr Ser Ile Leu Leu Ser Phe Leu Val Arg Ala Gly
  80 85 90
Lys Pro Tyr Asp Leu Gln Ile Tyr Pro Gln Glu Arg His Ser Ile
  95 100 105
Arg Val Pro Glu Ser Gly Glu His Tyr Glu Leu His Leu Leu His

```

```

Tyr Leu Gln Glu Asn Leu Gly Ser Arg Ile Ala Ala Leu Lys Val 110 115 120
      .           125      130      135
Ile

<210> 7
<211> 396
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 1993044CD1

<400> 7
Met Ser Leu Gly Trp Leu Glu Arg Pro Pro Ala Leu Ser Arg Ala
  1      5      10      15
Ala Gly Asp Gly Ala Arg Arg Leu Ser Gly Ser Met Arg Gly Asp
  20      25      30
Val Trp Leu Thr Ser Ser Ala Ala Gly Leu Leu Arg Ser Val Ala
  35      40      45
Gly Gly Ser Trp Cys Gly Gly Gln Leu Arg Ala Arg Gly Gly Ser
  50      55      60
Gly Arg Cys Val Ala Arg Ala Met Thr Gly Asn Ala Gly Glu Trp
  65      70      75
Cys Leu Met Glu Ser Asp Pro Gly Val Phe Thr Glu Leu Ile Lys
  80      85      90
Gly Phe Gly Cys Arg Gly Ala Gln Val Glu Ile Trp Ser Leu
  95      100      105
Glu Pro Glu Asn Phe Glu Lys Leu Lys Pro Val His Gly Leu Ile
  110      115      120
Phe Leu Phe Lys Trp Gln Pro Gly Glu Glu Pro Ala Gly Ser Val
  125      130      135
Val Gln Asp Ser Arg Leu Asp Thr Ile Phe Phe Ala Lys Gln Val
  140      145      150
Ile Asn Asn Ala Cys Ala Thr Gln Ala Ile Val Ser Val Leu Leu
  155      160      165
Asn Cys Thr His Gln Asp Val His Leu Gly Glu Thr Leu Ser Glu
  170      175      180
Phe Lys Glu Phe Ser Gln Ser Phe Asp Ala Ala Met Lys Gly Leu
  185      190      195
Ala Leu Ser Asn Ser Asp Val Ile Arg Gln Val His Asn Ser Phe
  200      205      210
Ala Arg Gln Gln Met Phe Glu Phe Asp Thr Lys Thr Ser Ala Lys
  215      220      225
Glu Glu Asp Ala Phe His Phe Val Ser Tyr Val Pro Val Asn Gly
  230      235      240
Arg Leu Tyr Glu Leu Asp Gly Leu Arg Glu Gly Pro Ile Asp Leu
  245      250      255
Gly Ala Cys Asn Gln Asp Asp Trp Phe Ser Ala Val Arg Pro Val
  260      265      270
Ile Glu Lys Arg Ile Gln Lys Tyr Ser Glu Gly Glu Ile Arg Phe
  275      280      285
Asn Leu Met Ala Ile Val Ser Asp Arg Lys Met Ile Tyr Glu Gln
  290      295      300
Lys Ile Ala Glu Leu Gln Arg Gln Leu Ala Glu Glu Glu Pro Met
  305      310      315
Asp Thr Asp Gln Gly Asn Ser Met Leu Ser Ala Ile Gln Ser Glu
  320      325      330
Val Ala Lys Asn Gln Met Leu Ile Glu Glu Val Gln Lys Leu
  335      340      345
Lys Arg Tyr Lys Ile Glu Asn Ile Arg Arg Lys His Asn Tyr Leu
  350      355      360
Pro Phe Ile Met Glu Leu Leu Lys Thr Leu Ala Glu His Gln Gln
  365      370      375
Leu Ile Pro Leu Val Glu Lys Ala Lys Glu Lys Gln Asn Ala Lys
  380      385      390

```

Lys Ala Gln Glu Thr Lys  
395

<210> 8

<211> 246

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc\_feature

<223> Incyte ID No: 2292182CD1

<400> 8

Met	Ala	Gly	Ala	Pro	Asp	Glu	Arg	Arg	Arg	Gly	Pro	Ala	Ala	Gly
1				5					10					15
Glu	Gln	Leu	Gln	Gln	Gln	His	Val	Ser	Cys	Gln	Val	Phe	Pro	Glu
				20					25					30
Arg	Leu	Ala	Gln	Gly	Asn	Pro	Gln	Gln	Gly	Phe	Phe	Ser	Ser	Phe
				35					40					45
Phe	Thr	Ser	Asn	Gln	Lys	Cys	Gln	Leu	Arg	Leu	Leu	Lys	Thr	Leu
				50					55					60
Glu	Thr	Asn	Pro	Tyr	Val	Lys	Leu	Leu	Leu	Asp	Ala	Met	Lys	His
				65					70					75
Ser	Gly	Cys	Ala	Val	Asn	Lys	Asp	Arg	His	Phe	Ser	Cys	Glu	Asp
				80					85					90
Cys	Asn	Gly	Asn	Val	Ser	Gly	Gly	Phe	Asp	Ala	Ser	Thr	Ser	Gln
				95					100					105
Ile	Val	Leu	Cys	Gln	Asn	Asn	Ile	His	Asn	Gln	Ala	His	Met	Asn
				110					115					120
Arg	Val	Val	Thr	His	Glu	Leu	Ile	His	Ala	Phe	Asp	His	Cys	Arg
				125					130					135
Ala	His	Val	Asp	Trp	Phe	Thr	Asn	Ile	Arg	His	Leu	Ala	Cys	Ser
				140					145					150
Glu	Val	Arg	Ala	Ala	Asn	Leu	Ser	Gly	Asp	Cys	Ser	Leu	Val	Asn
				155					160					165
Glu	Ile	Phe	Arg	Leu	His	Phe	Gly	Leu	Lys	Gln	His	His	Gln	Thr
				170					175					180
Cys	Val	Arg	Asp	Arg	Ala	Thr	Leu	Ser	Ile	Leu	Ala	Val	Arg	Asn
				185					190					195
Ile	Ser	Lys	Glu	Val	Ala	Lys	Lys	Ala	Val	Asp	Glu	Val	Phe	Glu
				200					205					210
Ser	Cys	Phe	Asn	Asp	His	Glu	Pro	Phe	Gly	Arg	Ile	Pro	His	Asn
				215					220					225
Lys	Thr	Tyr	Ala	Arg	Tyr	Ala	His	Arg	Asp	Phe	Glu	Asn	Arg	Asp
				230					235					240
Arg	Tyr	Tyr	Ser	Asn	Ile									
				245										

<210> 9

<211> 262

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc\_feature

<223> Incyte ID No: 2331301CD1

<400> 9

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

```

      80      85      90
Val Glu Thr Thr Asp Ala Ala Cys His Glu Ala Met Gln Trp Val
      95      100      105
Thr His Leu Gln Ala Gln Gly Ser Thr Ser Ile Leu Gln Ala Leu
      110      115      120
Leu Lys Ala Phe Ser Phe His Asp Leu Glu Gly Leu Tyr Leu Leu
      125      130      135
Thr Asp Gly Lys Pro Asp Thr Ser Cys Ser Leu Val Leu Asn Glu
      140      145      150
Val Gln Lys Leu Arg Glu Lys Arg Asp Val Lys Val His Thr Ile
      155      160      165
Ser Leu Asn Cys Ser Asp Arg Ala Ala Val Glu Phe Leu Arg Lys
      170      175      180
Leu Ala Ser Phe Thr Gly Gly Arg Tyr His Cys Pro Val Gly Glu
      185      190      195
Asp Thr Leu Ser Lys Ile His Ser Leu Leu Thr Lys Gly Phe Ile
      200      205      210
Asn Glu Lys Asp Arg Thr Leu Pro Pro Phe Glu Gly Asp Asp Leu
      215      220      225
Arg Ile Leu Ala Gln Glu Ile Thr Lys Ala Arg Ser Phe Leu Trp
      230      235      240
Gln Ala Gln Ser Phe Arg Ser Gln Leu Gln Lys Lys Asn Asp Ala
      245      250      255
Glu Pro Lys Val Thr Leu Ser
      260

<210> 10
<211> 406
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 2517512CD1

<400> 10
Met Ala Ala Ala Val Arg Gln Asp Leu Ala Gln Leu Met Asn Ser
      1      5      10      15
Ser Gly Ser His Lys Asp Leu Ala Gly Lys Tyr Arg Gln Ile Leu
      20      25      30
Glu Lys Ala Ile Gln Leu Ser Gly Ala Glu Gln Leu Glu Ala Leu
      35      40      45
Lys Ala Phe Val Glu Ala Met Val Asn Glu Asn Val Ser Leu Val
      50      55      60
Ile Ser Arg Gln Leu Leu Thr Asp Phe Cys Thr His Leu Pro Asn
      65      70      75
Leu Pro Asp Ser Thr Ala Lys Glu Ile Tyr His Phe Thr Leu Glu
      80      85      90
Lys Ile Gln Pro Arg Val Ile Ser Phe Glu Glu Gln Val Ala Ser
      95      100      105
Ile Arg Gln His Leu Ala Ser Ile Tyr Glu Lys Glu Glu Asp Trp
      110      115      120
Arg Asn Ala Ala Gln Val Leu Val Gly Ile Pro Leu Glu Thr Gly
      125      130      135
Gln Lys Gln Tyr Asn Val Asp Tyr Lys Leu Glu Thr Tyr Leu Lys
      140      145      150
Ile Ala Arg Leu Tyr Leu Glu Asp Asp Asp Pro Val Gln Ala Glu
      155      160      165
Ala Tyr Ile Asn Arg Ala Ser Leu Leu Gln Asn Glu Ser Thr Asn
      170      175      180
Glu Gln Leu Gln Ile His Tyr Lys Val Cys Tyr Ala Arg Val Leu
      185      190      195
Asp Tyr Arg Arg Lys Phe Ile Glu Ala Ala Gln Arg Tyr Asn Glu
      200      205      210
Leu Ser Tyr Lys Thr Ile Val His Glu Ser Glu Arg Leu Glu Ala
      215      220      225
Leu Lys His Ala Leu His Cys Thr Ile Leu Ala Ser Ala Gly Gln
      230      235      240

```

Gln Arg Ser Arg Met Leu Ala Thr Leu Phe Lys Asp Glu Arg Cys  
 245 250 255  
 Gln Gln Leu Ala Ala Tyr Gly Ile Leu Glu Lys Met Tyr Leu Asp  
 260 265 270  
 Arg Ile Ile Arg Gly Asn Gln Leu Gln Glu Phe Ala Ala Met Leu  
 275 280 285  
 Met Pro His Gln Lys Ala Thr Thr Ala Asp Gly Ser Ser Ile Leu  
 290 295 300  
 Asp Arg Ala Val Ile Glu His Asn Leu Leu Ser Ala Ser Lys Leu  
 305 310 315  
 Tyr Asn Asn Ile Thr Phe Glu Glu Leu Gly Ala Leu Leu Glu Ile  
 320 325 330  
 Pro Ala Ala Lys Ala Glu Lys Ile Ala Ser Gln Met Ile Thr Glu  
 335 340 345  
 Gly Arg Met Asn Gly Phe Ile Asp Gln Ile Asp Gly Ile Val His  
 350 355 360  
 Phe Glu Thr Arg Glu Ala Leu Pro Thr Trp Asp Lys Gln Ile Gln  
 365 370 375  
 Ser Leu Cys Phe Gln Val Asn Asn Leu Leu Glu Lys Ile Ser Gln  
 380 385 390  
 Thr Ala Pro Glu Trp Thr Ala Gln Ala Met Glu Ala Gln Met Ala  
 395 400 405  
 Gln

<210> 11  
 <211> 172  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 3489039CD1

<400> 11  
 Met Leu Leu Pro Asn Ile Leu Leu Thr Gly Thr Pro Gly Val Gly  
 1 5 10 15  
 Lys Thr Thr Leu Gly Lys Glu Leu Ala Ser Lys Ser Gly Leu Lys  
 20 25 30  
 Tyr Ile Asn Val Gly Asp Leu Ala Arg Glu Gln Leu Tyr Asp  
 35 40 45  
 Gly Tyr Asp Glu Glu Tyr Asp Cys Pro Ile Leu Asp Glu Asp Arg  
 50 55 60  
 Val Val Asp Glu Leu Asp Asn Gln Met Arg Glu Gly Gly Val Ile  
 65 70 75  
 Val Asp Tyr His Gly Cys Asp Phe Phe Pro Glu Arg Trp Phe His  
 80 85 90  
 Ile Val Phe Val Leu Arg Thr Asp Thr Asn Val Leu Tyr Glu Arg  
 95 100 105  
 Leu Glu Thr Arg Gly Tyr Asn Glu Lys Lys Leu Thr Asp Asn Ile  
 110 115 120  
 Gln Cys Glu Ile Phe Gln Val Leu Tyr Glu Glu Ala Thr Ala Ser  
 125 130 135  
 Tyr Lys Glu Glu Ile Val His Gln Leu Pro Ser Asn Lys Pro Glu  
 140 145 150  
 Glu Leu Glu Asn Asn Val Asp Gln Ile Leu Lys Trp Ile Glu Gln  
 155 160 165  
 Trp Ile Lys Asp His Asn Ser  
 170

<210> 12  
 <211> 517  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 5432879CD1

&lt;400&gt; 12

Met Leu Ser Ser Arg Ala Glu Ala Ala Met Thr Ala Ala Asp Arg  
 1 5 10 15  
 Ala Ile Gln Arg Phe Leu Arg Thr Gly Ala Ala Val Arg Tyr Lys  
 20 25 30  
 Val Met Lys Asn Trp Gly Val Ile Gly Gly Ile Ala Ala Ala Leu  
 35 40 45  
 Ala Ala Gly Ile Tyr Val Ile Trp Gly Pro Ile Thr Glu Arg Lys  
 50 55 60  
 Lys Arg Arg Lys Gly Leu Val Pro Gly Leu Val Asn Leu Gly Asn  
 65 70 75  
 Thr Cys Phe Met Asn Ser Leu Leu Gln Gly Leu Ser Ala Cys Pro  
 80 85 90  
 Ala Phe Ile Arg Trp Leu Glu Glu Phe Thr Ser Gln Tyr Ser Arg  
 95 100 105  
 Asp Gln Lys Glu Pro Pro Ser His Gln Tyr Leu Ser Leu Thr Leu  
 110 115 120  
 Leu His Leu Leu Lys Ala Leu Ser Cys Gln Glu Val Thr Asp Asp  
 125 130 135  
 Glu Val Leu Asp Ala Ser Cys Leu Leu Asp Val Leu Arg Met Tyr  
 140 145 150  
 Arg Trp Gln Ile Ser Ser Phe Glu Glu Gln Asp Ala His Glu Leu  
 155 160 165  
 Phe His Val Ile Thr Ser Ser Leu Glu Asp Glu Arg Asp Arg Gln  
 170 175 180  
 Pro Arg Val Thr His Leu Phe Asp Val His Ser Leu Glu Gln Gln  
 185 190 195  
 Ser Glu Ile Thr Pro Lys Gln Ile Thr Cys Arg Thr Arg Gly Ser  
 200 205 210  
 Pro His Pro Thr Ser Asn His Trp Lys Ser Gln His Pro Phe His  
 215 220 225  
 Gly Arg Leu Thr Ser Asn Met Val Cys Lys His Cys Glu His Gln  
 230 235 240  
 Ser Pro Val Arg Phe Asp Thr Phe Asp Ser Leu Ser Leu Ser Ile  
 245 250 255  
 Pro Ala Ala Thr Trp Gly His Pro Leu Thr Leu Asp His Cys Leu  
 260 265 270  
 His His Phe Ile Ser Ser Glu Ser Val Arg Asp Val Val Cys Asp  
 275 280 285  
 Asn Cys Thr Lys Ile Glu Ala Lys Gly Thr Leu Asn Gly Glu Lys  
 290 295 300  
 Val Glu His Gln Arg Thr Thr Phe Val Lys Gln Leu Lys Leu Gly  
 305 310 315  
 Lys Leu Pro Gln Cys Leu Cys Ile His Leu Gln Arg Leu Ser Trp  
 320 325 330  
 Ser Ser His Gly Thr Pro Leu Lys Arg His Glu His Val Gln Phe  
 335 340 345  
 Asn Glu Phe Leu Met Met Asp Ile Tyr Lys Tyr His Leu Leu Gly  
 350 355 360  
 His Lys Pro Ser Gln His Asn Pro Lys Leu Asn Lys Asn Pro Gly  
 365 370 375  
 Pro Thr Leu Glu Leu Gln Asp Gly Pro Gly Ala Pro Thr Pro Val  
 380 385 390  
 Leu Asn Gln Pro Gly Ala Pro Lys Thr Gln Ile Phe Met Asn Gly  
 395 400 405  
 Ala Cys Ser Pro Ser Leu Leu Pro Thr Leu Ser Ala Pro Met Pro  
 410 415 420  
 Phe Pro Leu Pro Val Val Pro Asp Tyr Ser Ser Ser Thr Tyr Leu  
 425 430 435  
 Phe Arg Leu Met Ala Val Val Val His His Gly Asp Met His Ser  
 440 445 450  
 Gly His Phe Val Thr Tyr Arg Arg Ser Pro Pro Ser Ala Arg Asn  
 455 460 465  
 Pro Leu Ser Thr Ser Asn Gln Trp Leu Trp Val Ser Asp Asp Thr  
 470 475 480  
 Val Arg Lys Ala Ser Leu Gln Glu Val Leu Ser Ser Ser Ala Tyr  
 485 490 495

Leu Leu Phe Tyr Glu Arg Val Leu Ser Arg Met Gln His Gln Ser  
 500 505 510  
 Gln Glu Cys Lys Ser Glu Glu  
 515  
 <210> 13  
 <211> 346  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
  
 <220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 5853753CD1  
  
 <400> 13  
 Met Val Glu Lys Glu Glu Ala Gly Gly Gly Ile Ser Glu Glu Glu  
 1 5 10 15  
 Ala Ala Gln Tyr Asp Arg Gln Ile Arg Leu Trp Gly Leu Glu Ala  
 20 25 30  
 Gln Lys Arg Leu Arg Ala Ser Arg Val Leu Leu Val Gly Leu Lys  
 35 40 45  
 Gly Leu Gly Ala Glu Ile Ala Lys Asn Leu Ile Leu Ala Gly Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Leu Thr Met Leu Asp His Glu Gln Val Thr Pro Glu Asp  
 65 70 75  
 Pro Gly Ala Gln Phe Leu Ile Arg Thr Gly Ser Val Gly Arg Asn  
 80 85 90  
 Arg Ala Glu Ala Ser Leu Glu Arg Ala Gln Asn Leu Asn Pro Met  
 95 100 105  
 Val Asp Val Lys Val Asp Thr Glu Asp Ile Glu Lys Lys Pro Glu  
 110 115 120  
 Ser Phe Phe Thr Gln Phe Asp Ala Val Cys Leu Thr Cys Cys Ser  
 125 130 135  
 Arg Asp Val Ile Val Lys Val Asp Gln Ile Cys His Lys Asn Ser  
 140 145 150  
 Ile Lys Phe Phe Thr Gly Asp Val Phe Gly Tyr His Gly Tyr Thr  
 155 160 165  
 Phe Ala Asn Leu Gly Glu His Glu Phe Val Glu Glu Lys Thr Lys  
 170 175 180  
 Val Ala Lys Val Ser Gln Gly Val Glu Asp Gly Pro Asp Thr Lys  
 185 190 195  
 Arg Ala Lys Leu Asp Ser Ser Glu Thr Thr Met Val Lys Lys Lys  
 200 205 210  
 Val Val Phe Cys Pro Val Lys Glu Ala Leu Glu Val Asp Trp Ser  
 215 220 225  
 Ser Glu Lys Ala Lys Ala Ala Leu Lys Arg Thr Thr Ser Asp Tyr  
 230 235 240  
 Phe Leu Leu Gln Val Leu Leu Lys Phe Arg Thr Asp Lys Gly Arg  
 245 250 255  
 Asp Pro Ser Ser Asp Thr Tyr Glu Glu Asp Ser Glu Leu Leu Leu  
 260 265 270  
 Gln Ile Arg Asn Asp Val Leu Asp Ser Leu Gly Ile Ser Pro Asp  
 275 280 285  
 Leu Leu Pro Glu Asp Phe Val Arg Tyr Cys Phe Ser Glu Met Ala  
 290 295 300  
 Pro Val Cys Ala Val Val Gly Gly Ile Leu Ala Gln Glu Ile Val  
 305 310 315  
 Lys Ala Leu Ser Gln Arg Asp Pro Pro His Asn Asn Phe Phe Phe  
 320 325 330  
 Phe Asp Gly Met Lys Gly Asn Gly Ile Val Glu Cys Leu Gly Pro  
 335 340 345  
 Lys  
  
 <210> 14  
 <211> 151  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

```

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 411344CD1

<400> 14
Met Ala Ser Met Gln Lys Arg Leu Gln Lys Glu Leu Leu Ala Leu
 1          5          10          15
Gln Asn Asp Pro Pro Pro Gly Met Thr Leu Asn Glu Lys Ser Val
 20          25          30
Gln Asn Ser Ile Thr Gln Trp Ile Val Asp Met Glu Gly Ala Pro
 35          40          45
Gly Thr Leu Tyr Glu Gly Glu Lys Phe Gln Leu Leu Phe Lys Phe
 50          55          60
Ser Ser Arg Tyr Pro Phe Asp Ser Pro Gln Val Met Phe Thr Gly
 65          70          75
Glu Asn Ile Pro Val His Pro His Val Tyr Ser Asn Gly His Ile
 80          85          90
Cys Leu Ser Ile Leu Thr Glu Asp Trp Ser Pro Ala Leu Ser Val
 95          100         105
Gln Ser Val Cys Leu Ser Ile Ile Ser Met Leu Ser Ser Cys Lys
110         115         120
Glu Lys Arg Arg Pro Pro Asp Asn Ser Phe Tyr Val Arg Thr Cys
125         130         135
Asn Lys Asn Pro Lys Lys Thr Lys Trp Trp Tyr His Asp Asp Thr
140         145         150
Cys

<210> 15
<211> 362
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 1256390CD1

<400> 15
Met Leu Val Pro Gly Gly Leu Gly Tyr Asp Arg Ser Leu Ala Gln
 1          5          10          15
His Arg Gln Glu Ile Val Asp Lys Ser Val Ser Pro Trp Ser Leu
 20          25          30
Glu Thr Tyr Ser Tyr Asn Ile Tyr His Pro Met Gly Glu Ile Tyr
 35          40          45
Glu Trp Met Arg Glu Ile Ser Glu Lys Tyr Lys Glu Val Val Thr
 50          55          60
Gln His Phe Leu Gly Val Thr Tyr Glu Thr His Pro Met Tyr Tyr
 65          70          75
Leu Lys Ile Ser Gln Pro Ser Gly Asn Pro Lys Lys Ile Ile Trp
 80          85          90
Met Asp Cys Gly Ile His Ala Arg Glu Trp Ile Ala Pro Ala Phe
 95          100         105
Cys Gln Trp Phe Val Lys Glu Ile Leu Gln Asn His Lys Asp Asn
110         115         120
Ser Ser Ile Arg Lys Leu Leu Arg Asn Leu Asp Phe Tyr Val Leu
125         130         135
Pro Val Leu Asn Ile Asp Gly Tyr Ile Tyr Thr Trp Thr Thr Asp
140         145         150
Arg Leu Trp Arg Lys Ser Arg Ser Pro His Asn Asn Gly Thr Cys
155         160         165
Phe Gly Thr Asp Leu Asn Arg Asn Phe Asn Ala Ser Trp Cys Ser
170         175         180
Ile Gly Ala Ser Arg Asn Cys Gln Asp Gln Thr Phe Cys Gly Thr
185         190         195
Gly Pro Val Ser Glu Pro Glu Thr Lys Ala Val Ala Ser Phe Ile
200         205         210
Glu Ser Lys Lys Asp Asp Ile Leu Cys Phe Leu Thr Met His Ser
215         220         225

```

Tyr Gly Gln Leu Ile Leu Thr Pro Tyr Gly Tyr Thr Lys Asn Lys  
 230 235 240  
 Ser Ser Asn His Pro Glu Met Ile Gln Val Gly Gln Lys Ala Ala  
 245 250 255  
 Asn Ala Leu Lys Ala Lys Tyr Gly Thr Asn Tyr Arg Val Gly Ser  
 260 265 270  
 Ser Ala Asp Ile Leu Tyr Ala Ser Ser Gly Ser Ser Arg Asp Trp  
 275 280 285  
 Ala Arg Asp Ile Gly Ile Pro Phe Ser Tyr Thr Phe Glu Leu Arg  
 290 295 300  
 Asp Ser Gly Thr Tyr Gly Phe Val Leu Pro Glu Ala Gln Ile Gln  
 305 310 315  
 Pro Thr Cys Glu Glu Thr Met Glu Ala Val Leu Ser Val Leu Asp  
 320 325 330  
 Asp Val Tyr Ala Lys His Trp His Ser Asp Ser Ala Gly Arg Val  
 335 340 345  
 Thr Ser Ala Thr Met Leu Leu Gly Leu Leu Val Ser Cys Met Ser  
 350 355 360  
 Leu Leu

<210> 16  
 <211> 123  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 1786774CD1

<400> 16  
 Met Ser Gly Glu Glu Leu Ser Glu Ser Thr Pro Glu Pro Gln Lys  
 1 5 10 15  
 Glu Ile Ser Glu Ser Leu Ser Val Thr Arg Asp Gln Asp Glu Asp  
 20 25 30  
 Asp Lys Ala Pro Glu Pro Thr Trp Ala Asp Asp Leu Pro Ala Thr  
 35 40 45  
 Thr Ser Ser Glu Ala Thr Thr Thr Pro Arg Pro Leu Leu Ser Thr  
 50 55 60  
 Pro Val Asp Gly Ala Glu Asp Pro Arg Cys Leu Glu Ala Leu Lys  
 65 70 75  
 Pro Gly Asn Cys Gly Glu Tyr Val Val Arg Trp Tyr Tyr Asp Lys  
 80 85 90  
 Gln Val Asn Ser Cys Ala Arg Phe Trp Phe Ser Gly Cys Asn Gly  
 95 100 105  
 Ser Gly Asn Arg Phe Asn Ser Glu Lys Glu Cys Gln Glu Thr Cys  
 110 115 120  
 Ile Gln Gly

<210> 17  
 <211> 983  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 1911808CD1

<400> 17  
 Met Ala Pro Arg Leu Gln Leu Glu Lys Ala Ala Trp Arg Trp Ala  
 1 5 10 15  
 Glu Thr Val Arg Pro Glu Glu Val Ser Gln Glu His Ile Glu Thr  
 20 25 30  
 Ala Tyr Arg Ile Trp Leu Glu Pro Cys Ile Arg Gly Val Cys Arg  
 35 40 45  
 Arg Asn Cys Lys Gly Asn Pro Asn Cys Leu Val Gly Ile Gly Glu  
 50 55 60  
 His Ile Trp Leu Gly Glu Ile Asp Glu Asn Ser Phe His Asn Ile

				65					70					75
Asp	Asp	Pro	Asn	Cys	Glu	Arg	Arg	Lys	Lys	Asn	Ser	Phe	Val	Gly
				80					85					90
Leu	Thr	Asn	Leu	Gly	Ala	Thr	Cys	Tyr	Val	Asn	Thr	Phe	Leu	Gln
				95					100					105
Val	Trp	Phe	Leu	Asn	Leu	Glu	Leu	Arg	Gln	Ala	Leu	Tyr	Leu	Cys
				110					115					120
Pro	Ser	Thr	Cys	Ser	Asp	Tyr	Met	Leu	Gly	Asp	Gly	Ile	Gln	Glu
				125					130					135
Glu	Lys	Asp	Tyr	Glu	Pro	Gln	Thr	Ile	Cys	Glu	His	Leu	Gln	Tyr
				140					145					150
Leu	Phe	Ala	Leu	Leu	Gln	Asn	Ser	Asn	Arg	Arg	Tyr	Ile	Asp	Pro
				155					160					165
Ser	Gly	Phe	Val	Lys	Ala	Leu	Gly	Leu	Asp	Thr	Gly	Gln	Gln	Gln
				170					175					180
Asp	Ala	Gln	Glu	Phe	Ser	Lys	Leu	Phe	Met	Ser	Leu	Leu	Glu	Asp
				185					190					195
Thr	Leu	Ser	Asn	Gln	Lys	Asn	Pro	Asp	Val	Arg	Asn	Ile	Val	Gln
				200					205					210
Gln	Gln	Phe	Cys	Gly	Glu	Tyr	Ala	Tyr	Val	Thr	Val	Cys	Asn	Gln
				215					220					225
Cys	Gly	Arg	Glu	Ser	Lys	Leu	Leu	Ser	Lys	Phe	Tyr	Glu	Leu	Glu
				230					235					240
Leu	Asn	Ile	Gln	Gly	His	Lys	Gln	Leu	Thr	Asp	Cys	Ile	Ser	Glu
				245					250					255
Phe	Leu	Lys	Glu	Glu	Lys	Leu	Glu	Gly	Asp	Asn	Arg	Tyr	Phe	Cys
				260					265					270
Glu	Asn	Cys	Gln	Ser	Lys	Gln	Asn	Ala	Thr	Arg	Lys	Ile	Arg	Leu
				275					280					285
Leu	Ser	Leu	Pro	Cys	Thr	Leu	Asn	Leu	Gln	Leu	Met	Arg	Phe	Val
				290					295					300
Phe	Asp	Arg	Gln	Thr	Gly	His	Lys	Lys	Lys	Leu	Asn	Thr	Tyr	Ile
				305					310					315
Gly	Phe	Ser	Glu	Ile	Leu	Asp	Met	Glu	Pro	Tyr	Val	Glu	His	Lys
				320					325					330
Gly	Gly	Ser	Tyr	Val	Tyr	Glu	Leu	Ser	Ala	Val	Leu	Ile	His	Arg
				335					340					345
Gly	Val	Ser	Ala	Tyr	Ser	Gly	His	Tyr	Ile	Ala	His	Val	Lys	Asp
				350					355					360
Pro	Gln	Ser	Gly	Glu	Trp	Tyr	Lys	Phe	Asn	Asp	Glu	Asp	Ile	Glu
				365					370					375
Lys	Met	Glu	Gly	Lys	Lys	Leu	Gln	Leu	Gly	Ile	Glu	Glu	Asp	Leu
				380					385					390
Ala	Glu	Pro	Ser	Lys	Ser	Gln	Thr	Arg	Lys	Pro	Lys	Cys	Gly	Lys
				395					400					405
Gly	Thr	His	Cys	Ser	Arg	Asn	Ala	Tyr	Met	Leu	Val	Tyr	Arg	Leu
				410					415					420
Gln	Thr	Gln	Glu	Lys	Pro	Asn	Thr	Thr	Val	Gln	Val	Pro	Ala	Phe
				425					430					435
Leu	Gln	Glu	Leu	Val	Asp	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Phe	Glu	Glu	Trp
				440					445					450
Cys	Ile	Glu	Met	Ala	Glu	Met	Arg	Lys	Gln	Ser	Val	Asp	Lys	Gly
				455					460					465
Lys	Ala	Lys	His	Glu	Glu	Val	Lys	Glu	Leu	Tyr	Gln	Arg	Leu	Pro
				470					475					480
Ala	Gly	Ala	Glu	Pro	Tyr	Glu	Phe	Val	Ser	Leu	Glu	Trp	Leu	Gln
				485					490					495
Lys	Trp	Leu	Asp	Glu	Ser	Thr	Pro	Thr	Lys	Pro	Ile	Asp	Asn	His
				500					505					510
Ala	Cys	Leu	Cys	Ser	His	Asp	Lys	Leu	His	Pro	Asp	Lys	Ile	Ser
				515					520					525
Ile	Met	Lys	Arg	Ile	Ser	Glu	Tyr	Ala	Ala	Asp	Ile	Phe	Tyr	Ser
				530					535					540
Arg	Tyr	Gly	Gly	Gly	Pro	Arg	Leu	Thr	Val	Lys	Ala	Leu	Cys	Lys
				545					550					555
Glu	Cys	Val	Val	Glu	Arg	Cys	Arg	Ile	Leu	Arg	Leu	Lys	Asn	Gln
				560					565					570

Leu Asn Glu Asp Tyr Lys Thr Val Asn Asn Leu Leu Lys Ala Ala  
 575 580 585  
 Val Lys Gly Ser Asp Gly Phe Trp Val Gly Lys Ser Ser Leu Arg  
 590 595 600  
 Ser Trp Arg Gln Leu Ala Leu Glu Gln Leu Asp Glu Gln Asp Gly  
 605 610 615  
 Asp Ala Glu Gln Ser Asn Gly Lys Met Asn Gly Ser Thr Leu Asn  
 620 625 630  
 Lys Asp Glu Ser Lys Glu Glu Arg Lys Glu Glu Glu Glu Leu Asn  
 635 640 645  
 Phe Asn Glu Asp Ile Leu Cys Pro His Gly Glu Leu Cys Ile Ser  
 650 655 660  
 Glu Asn Glu Arg Arg Leu Val Ser Lys Glu Ala Trp Ser Lys Leu  
 665 670 675  
 Gln Gln Tyr Phe Pro Lys Ala Pro Glu Phe Pro Ser Tyr Lys Glu  
 680 685 690  
 Cys Cys Ser Gln Cys Lys Ile Leu Glu Arg Glu Gly Glu Glu Asn  
 695 700 705  
 Glu Ala Leu His Lys Met Ile Ala Asn Glu Gln Lys Thr Ser Leu  
 710 715 720  
 Pro Asn Leu Phe Gln Asp Lys Asn Arg Pro Cys Leu Ser Asn Trp  
 725 730 735  
 Pro Glu Asp Thr Asp Val Leu Tyr Ile Val Ser Gln Phe Phe Val  
 740 745 750  
 Glu Glu Trp Arg Lys Phe Val Arg Lys Pro Thr Arg Cys Ser Pro  
 755 760 765  
 Val Ser Ser Val Gly Asn Ser Ala Leu Leu Cys Pro His Gly Gly  
 770 775 780  
 Leu Met Phe Thr Phe Ala Ser Met Thr Lys Glu Asp Ser Lys Leu  
 785 790 795  
 Ile Ala Leu Ile Trp Pro Ser Glu Trp Gln Met Ile Gln Lys Leu  
 800 805 810  
 Phe Val Val Asp His Val Ile Lys Ile Thr Arg Ile Glu Val Gly  
 815 820 825  
 Asp Val Asn Pro Ser Glu Thr Gln Tyr Ile Ser Glu Pro Lys Leu  
 830 835 840  
 Cys Pro Glu Cys Arg Glu Gly Leu Leu Cys Gln Gln Gln Arg Asp  
 845 850 855  
 Leu Arg Glu Tyr Thr Gln Ala Thr Ile Tyr Val His Lys Val Val  
 860 865 870  
 Asp Asn Lys Lys Val Met Lys Asp Ser Ala Pro Glu Leu Asn Val  
 875 880 885  
 Ser Ser Ser Glu Thr Glu Glu Asp Lys Glu Glu Ala Lys Pro Asp  
 890 895 900  
 Gly Glu Lys Asp Pro Asp Phe Asn Gln Ile Met His Ala Phe Ser  
 905 910 915  
 Val Ala Pro Phe Asp Gln Asn Leu Ser Ile Asp Gly Lys Ile Leu  
 920 925 930  
 Ser Asp Asp Cys Ala Thr Leu Gly Thr Leu Gly Val Ile Pro Glu  
 935 940 945  
 Ser Val Ile Leu Leu Lys Ala Asp Glu Pro Ile Ala Asp Tyr Ala  
 950 955 960  
 Ala Met Asp Asp Val Met Gln Val Cys Met Pro Glu Glu Gly Phe  
 965 970 975  
 Lys Gly Thr Gly Leu Leu Gly His  
 980

<210> 18

<211> 227

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc\_feature

<223> Incyte ID No: 1973875CD1

<400> 18

Met Gly Asn Cys Val Gly Arg Gln Arg Arg Glu Arg Pro Ala Ala

```

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

```

<210> 19  
<211> 403  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<220>  
<221> misc\_feature  
<223> Incyte ID No: 2323917CD1

```

<400> 19
Met Glu Lys Ser Gln Lys Ile Asn Pro Phe Ile Leu His Ile Leu
1           5           10           15
Gln Glu Val Asp Glu Glu Ile Lys Lys Gly Leu Ala Ala Gly Ile
20          25          30
Thr Leu Asn Ile Ala Gly Asn Asn Arg Leu Val Pro Val Glu Arg
35          40          45
Val Thr Gly Glu Asp Phe Trp Ile Leu Ser Lys Ile Leu Lys Asn
50          55          60
Cys Leu Tyr Ile Asn Gly Leu Asp Val Gly Tyr Asn Leu Leu Cys
65          70          75
Asp Val Gly Ala Tyr Tyr Ala Ala Lys Leu Leu Gln Lys Gln Leu
80          85          90
Asn Leu Ile Tyr Leu Asn Leu Met Phe Asn Asp Ile Gly Pro Glu
95          100         105
Gly Gly Glu Leu Ile Ala Lys Val Leu His Lys Asn Arg Thr Leu
110         115         120
Lys Tyr Leu Arg Met Thr Gly Asn Lys Ile Glu Asn Lys Gly Gly
125         130         135
Met Phe Phe Ala Ala Met Leu Gln Ile Asn Ser Ser Leu Glu Lys
140         145         150
Leu Asp Leu Gly Asp Cys Asp Leu Gly Met Gln Ser Val Ile Ala
155         160         165
Phe Ala Thr Val Leu Thr Gln Asn Gln Ala Ile Lys Ala Ile Asn
170         175         180
Leu Asn Arg Pro Ile Leu Tyr Gly Glu Gln Glu Glu Ser Thr Val
185         190         195

```

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

<210> 20

<211> 372

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc\_feature

<223> Incyte ID No: 2754960CD1

<400> 20

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

Ser Lys Cys Phe 215  
 Cys Glu Asn Cys Gly Lys Lys Thr Arg Gly Lys 225  
 230 235 240  
 Gln Val Leu Lys Leu Thr His Leu Pro Gln Thr Leu Thr Ile His 245  
 245 250 255  
 Leu Met Arg Phe Ser Ile Arg Asn Ser Gln Thr Arg Lys Ile Cys 260  
 265 270  
 His Ser Leu Tyr Phe Pro Gln Ser Leu Asp Phe Ser Gln Ile Leu 275  
 280 285  
 Pro Met Lys Arg Glu Ser Cys Asp Ala Glu Glu Gln Ser Gly Gly 290  
 295 300  
 Gln Tyr Glu Leu Phe Ala Val Ile Ala His Val Gly Met Ala Asp 305  
 310 315  
 Ser Gly His Tyr Cys Val Tyr Ile Arg Asn Ala Val Asp Gly Lys 320  
 325 330  
 Trp Phe Cys Phe Asn Asp Ser Asn Ile Cys Leu Val Ser Trp Glu 335  
 340 345  
 Asp Ile Gln Cys Thr Tyr Gly Asn Pro Asn Tyr His Trp Gln Glu 350  
 355 360  
 Thr Ala Tyr Leu Leu Val Tyr Met Lys Met Glu Cys 365  
 370

<210> 21  
 <211> 94  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 3092341CD1

<400> 21  
 Met Leu Arg Gly Val Leu Gly Lys Thr Phe Arg Leu Val Gly Tyr  
 1 5 10 15  
 Thr Ile Gln Tyr Gly Cys Ile Ala His Cys Ala Phe Glu Tyr Val  
 20 25 30  
 Gly Gly Val Val Met Val Pro Met Gly His Val Trp Leu Glu Gly  
 35 40 45  
 Asp Asn Leu Gln Asn Ser Thr Asp Ser Arg Cys Tyr Gly Pro Ile  
 50 55 60  
 Pro Tyr Gly Leu Ile Arg Gly Arg Ile Phe Phe Lys Ile Trp Leu  
 65 70 75  
 Leu Ser Asp Phe Gly Phe Leu Arg Ala Ser Pro Asn Gly His Arg  
 80 85 90  
 Phe Ser Asp Asp

<210> 22  
 <211> 248  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 3658034CD1

<400> 22  
 Met Asn Thr Glu Arg Thr Asn Ile Gln Val Thr Val Thr Gly Pro  
 1 5 10 15  
 Ser Ser Pro Ser Pro Val Lys Phe Leu Ile Asp Thr His Asn Arg  
 20 25 30  
 Leu Leu Leu Gln Thr Ala Glu Leu Ala Val Val Gln Pro Thr Ala  
 35 40 45  
 Val Asn Ile Ser Ala Asn Gly Phe Gly Phe Ala Ile Cys Gln Leu  
 50 55 60  
 Asn Val Val Tyr Asn Val Lys Ala Ser Gly Ser Ser Arg Arg Arg  
 65 70 75  
 Arg Ser Ile Gln Asn Gln Glu Ala Phe Asp Leu Asp Val Ala Val  
 80 85 90

Lys Glu Asn Lys Asp Asp Leu Asn His Val Asp Leu Asn Val Cys  
                   95                  100                  105  
 Thr Ser Phe Ser Gly Pro Gly Arg Ser Gly Met Ala Leu Met Glu  
                   110                  115                  120  
 Val Asn Leu Leu Ser Gly Phe Met Val Pro Ser Glu Ala Ile Ser  
                   125                  130                  135  
 Leu Ser Glu Thr Val Lys Lys Val Glu Tyr Asp His Gly Lys Leu  
                   140                  145                  150  
 Asn Leu Tyr Leu Asp Ser Val Asn Glu Thr Gln Phe Cys Val Asn  
                   155                  160                  165  
 Ile Pro Ala Val Arg Asn Phe Lys Val Ser Asn Thr Gln Asp Ala  
                   170                  175                  180  
 Ser Val Ser Ile Val Asp Tyr Tyr Glu Pro Arg Arg Gln Ala Val  
                   185                  190                  195  
 Arg Ser Tyr Asn Ser Glu Val Lys Leu Ser Ser Cys Asp Leu Cys  
                   200                  205                  210  
 Ser Asp Val Gln Gly Cys Arg Pro Cys Glu Asp Gly Ala Ser Gly  
                   215                  220                  225  
 Ser His His His Ser Ser Val Ile Phe Ile Phe Cys Phe Lys Leu  
                   230                  235                  240  
 Leu Tyr Phe Met Glu Leu Trp Leu  
                   245

<210> 23  
 <211> 520  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 3883861CD1

<400> 23  
 Met Val Ala Arg Val Gly Leu Leu Leu Arg Ala Leu Gln Leu Leu  
   1                  5                  10                  15  
 Leu Trp Gly His Leu Asp Ala Gln Pro Ala Glu Arg Gly Gly Gln  
                   20                  25                  30  
 Glu Leu Arg Lys Glu Ala Glu Ala Phe Leu Glu Lys Tyr Gly Tyr  
                   35                  40                  45  
 Leu Asn Glu Gln Val Pro Lys Ala Pro Thr Ser Thr Arg Phe Ser  
                   50                  55                  60  
 Asp Ala Ile Arg Ala Phe Gln Trp Val Ser Gln Leu Pro Val Ser  
                   65                  70                  75  
 Gly Val Leu Asp Arg Ala Thr Leu Arg Gln Met Thr Arg Pro Arg  
                   80                  85                  90  
 Cys Gly Val Thr Asp Thr Asn Ser Tyr Ala Ala Trp Ala Glu Arg  
                   95                  100                  105  
 Ile Ser Asp Leu Phe Ala Arg His Arg Thr Lys Met Arg Arg Lys  
                   110                  115                  120  
 Lys Arg Phe Ala Lys Gln Gly Asn Lys Trp Tyr Lys Gln His Leu  
                   125                  130                  135  
 Ser Tyr Arg Leu Val Asn Trp Pro Glu His Leu Pro Glu Pro Ala  
                   140                  145                  150  
 Val Arg Gly Ala Val Arg Ala Ala Phe Gln Leu Trp Ser Asn Val  
                   155                  160                  165  
 Ser Ala Leu Glu Phe Trp Glu Ala Pro Ala Thr Gly Pro Ala Asp  
                   170                  175                  180  
 Ile Arg Leu Thr Phe Phe Gln Gly Asp His Asn Asp Gly Leu Gly  
                   185                  190                  195  
 Asn Ala Phe Asp Gly Pro Gly Gly Ala Leu Ala His Ala Phe Leu  
                   200                  205                  210  
 Pro Arg Arg Gly Glu Ala His Phe Asp Gln Asp Glu Arg Trp Ser  
                   215                  220                  225  
 Leu Ser Arg Arg Arg Gly Arg Asn Leu Phe Val Val Leu Ala His  
                   230                  235                  240  
 Glu Ile Gly His Thr Leu Gly Leu Thr His Ser Pro Ala Pro Arg  
                   245                  250                  255  
 Ala Leu Met Ala Pro Tyr Tyr Lys Arg Leu Gly Arg Asp Ala Leu

Leu Ser Trp Asp	260	Val Leu Ala Val	265	Gln Ser Leu Tyr Gly	270
Asp	275	Val Ala Val Gln	280	Leu Pro Gly Lys Leu	285
Pro Leu Gly Gly Ser	290	Trp Asp Ser Tyr	295	Pro Gln Gly Arg	300
Thr Asp Phe Glu Thr	305	Pro Lys Tyr Cys	310	His Ser Ser Phe Asp	315
Pro Glu Thr Gln Gly	320	Gln Gln Gln Leu	325	Tyr Ile Phe Lys Gly	330
Ile Thr Val Asp Arg	335	Val Ala Asp Gly	340	Asn Val Ser Glu Pro	345
His Phe Trp Glu Val	350	Trp Val Gly Leu	355	Pro Pro Asn Ile Glu	360
Pro Leu Gln Glu Arg	365	Asn Asp Gly Asp	370	Phe Tyr Phe Phe Lys	375
Ala Ala Val Ser Leu	380	Arg Phe Arg Gly Pro	385	Lys Pro Val Trp Gly	390
Gly Arg Cys Trp Arg	395	Ala Gly Gly Leu	400	Pro Arg His Pro Asp	405
Pro Gln Leu Cys Arg	410	Pro Leu Arg Arg	415	Leu Ile Leu Phe Lys	420
Ala Leu Phe Phe Pro	425	Leu Ala Arg Gly	430	Gly Leu Gln Val Glu	435
Ala Arg Tyr Tyr Val	440	Leu Gln Asp Trp	445	Gly Gly Ile Pro Glu	450
Tyr Tyr Pro Arg Ser	455	Pro Arg Pro Asp	460	Gly Ser Ile Ile Phe	465
Val Ser Gly Ala Leu	470	Trp Arg Leu Asp	475	Gln Ala Lys Leu Gln	480
Arg Asp Asp Arg Tyr	485	Thr Ala Thr Glu	490	Leu Pro Trp Met Gly	495
Thr Thr Ser Gly Arg	500	Gly Ser Ala Leu	505	Phe	510
Trp His Ala Asn Ser	515		520		
<210>	24				
<211>	422				
<212>	PRT				
<213>	Homo sapiens				
<220>					
<221>	misc_feature				
<223>	Incyte ID No: 4993873CD1				
<400>	24				
Met Gly Pro Ala Trp	5	Leu Trp Leu Leu	10	Gly Thr Gly Ile Leu	15
1	5	Pro Leu Leu Ala	20	His Gly Asp Lys Ser	25
Ser Val His Cys Gln	20	Pro Arg His Gln	25	Leu Ser Glu Pro Ala	30
Gln Gly Pro Gln Pro	35	Thr Pro Thr Ile	40	Thr Asn Phe Ala Leu	35
Ala Tyr His Arg Ile	50	Ala Ala Asp Ala	55	Pro Gly Asn Ile Phe	40
Leu Tyr Lys Glu Leu	65	Pro Ala Asp Ala	70	Leu Leu Ser Leu	45
Ser Pro Val Ser Ile	80	Ser Thr Thr Leu	85	Ala Leu Leu Ser Leu	50
Ala Gln Ala Asn Thr	95	Leu Ala Leu Ile	100	Leu Glu Gly Leu Gly	55
Asn Leu Thr Glu Thr	110	Pro Glu Ala Asp	115	Ile His Gln Gly Phe	60
Ser Leu Leu His Thr	125	Leu Ala Leu Pro	130	Ser Pro Lys Leu Glu	65
Lys Val Gly Asn Ser	140	Leu Phe Leu Asp	145	Lys Arg Leu Lys Pro	70
Gln His Tyr Leu Asp	155	Ser Ile Lys Glu	160	Leu Tyr Gly Ala Phe	75
					80
					85
					90
					95
					100
					105
					110
					115
					120
					125
					130
					135
					140
					145
					150
					155
					160
					165

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

<210> 25  
 <211> 114  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 5208004CD1

<400> 25  
 Met Arg Trp Arg Gln Arg Ser Phe Leu Leu Arg Leu Phe Leu Gly  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Gly Gly Gln His His Pro Pro Leu Thr Leu Pro Ser  
 20 25 30  
 Ala Ser Ser Leu Pro Phe Ser Thr Leu Ser Leu Leu Leu Ala Ser  
 35 40 45  
 Ser Leu Ser Cys Cys Leu Val Ser Pro Cys Pro Lys Thr Pro Gly  
 50 55 60  
 Ser Phe Val Leu Leu Pro Trp Pro Pro Pro Arg Arg Arg Ser Gln  
 65 70 75  
 Ala Pro Ser Pro Pro Arg Gly Ile His Thr Thr Gly Ser Cys Trp  
 80 85 90  
 Gly Trp Gly Ser Pro Ala Gly Phe Leu Met Pro Cys Ala Gln Gly  
 95 100 105  
 Ser Ala Ala Val Ile Phe Gly Leu Ser  
 110

<210> 26  
 <211> 742  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 5267783CD1

<400> 26

Met	Pro	Ala	Gly	Gly	Lys	Gly	Ser	His	Pro	Ser	Ser	Thr	Pro	Gln
1				5					10					15
Arg	Val	Pro	Asn	Arg	Leu	Ile	His	Glu	Lys	Ser	Pro	Tyr	Leu	Leu
				20					25					30
Gln	His	Ala	Tyr	Asn	Pro	Val	Asp	Trp	Tyr	Pro	Trp	Gly	Glu	Glu
				35					40					45
Ala	Phe	Asp	Lys	Ala	Arg	Lys	Glu	Asn	Lys	Pro	Ile	Phe	Leu	Ser
				50					55					60
Val	Gly	Tyr	Ser	Thr	Cys	His	Trp	Cys	His	Met	Met	Glu	Glu	Glu
				65					70					75
Ser	Phe	Gln	Asn	Glu	Glu	Ile	Gly	Arg	Leu	Leu	Ser	Glu	Asp	Phe
				80					85					90
Val	Ser	Val	Lys	Val	Asp	Arg	Glu	Glu	Arg	Pro	Asp	Val	Asp	Lys
				95					100					105
Val	Tyr	Met	Thr	Phe	Val	Gln	Ala	Thr	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Trp
				110					115					120
Pro	Met	Asn	Val	Trp	Leu	Thr	Pro	Asn	Leu	Gln	Pro	Phe	Val	Gly
				125					130					135
Gly	Thr	Tyr	Phe	Pro	Pro	Glu	Asp	Gly	Leu	Thr	Arg	Val	Gly	Phe
				140					145					150
Arg	Thr	Val	Leu	Leu	Arg	Ile	Arg	Glu	Gln	Trp	Lys	Gln	Asn	Lys
				155					160					165
Asn	Thr	Leu	Leu	Glu	Asn	Ser	Gln	Arg	Val	Thr	Thr	Ala	Leu	Leu
				170					175					180
Ala	Arg	Ser	Glu	Ile	Ser	Val	Gly	Asp	Arg	Gln	Leu	Pro	Pro	Ser
				185					190					195
Ala	Ala	Thr	Val	Asn	Asn	Arg	Cys	Phe	Gln	Gln	Leu	Asp	Glu	Gly
				200					205					210
Tyr	Asp	Glu	Glu	Tyr	Gly	Gly	Phe	Ala	Glu	Ala	Pro	Lys	Phe	Pro
				215					220					225
Thr	Pro	Val	Ile	Leu	Ser	Phe	Leu	Phe	Ser	Tyr	Trp	Leu	Ser	His
				230					235					240
Arg	Leu	Thr	Gln	Asp	Gly	Ser	Arg	Ala	Gln	Gln	Met	Ala	Leu	His
				245					250					255
Thr	Leu	Lys	Met	Met	Ala	Asn	Gly	Gly	Ile	Arg	Asp	His	Val	Gly
				260					265					270
Gln	Gly	Phe	His	Arg	Tyr	Ser	Thr	Asp	Arg	Gln	Trp	His	Val	Pro
				275					280					285
His	Phe	Glu	Lys	Met	Leu	Tyr	Asp	Gln	Ala	Gln	Leu	Ala	Val	Ala
				290					295					300
Tyr	Ser	Gln	Ala	Phe	Gln	Leu	Ser	Gly	Asp	Glu	Phe	Tyr	Ser	Asp
				305					310					315
Val	Ala	Lys	Gly	Ile	Leu	Gln	Tyr	Val	Ala	Arg	Ser	Leu	Ser	His
				320					325					330
Arg	Ser	Gly	Gly	Phe	Tyr	Ser	Ala	Glu	Asp	Ala	Asp	Ser	Pro	Pro
				335					340					345
Glu	Arg	Gly	Gln	Arg	Pro	Lys	Glu	Gly	Ala	Tyr	Tyr	Val	Trp	Thr
				350					355					360
Val	Lys	Glu	Val	Gln	Gln	Leu	Leu	Pro	Glu	Pro	Val	Leu	Gly	Ala
				365					370					375
Thr	Glu	Pro	Leu	Thr	Ser	Gly	Gln	Leu	Leu	Met	Lys	His	Tyr	Gly
				380					385					390
Leu	Thr	Glu	Ala	Gly	Asn	Ile	Ser	Pro	Ser	Gln	Asp	Pro	Lys	Gly
				395					400					405
Glu	Leu	Gln	Gly	Gln	Asn	Val	Leu	Thr	Val	Arg	Tyr	Ser	Leu	Glu
				410					415					420
Leu	Thr	Ala	Ala	Arg	Phe	Gly	Leu	Asp	Val	Glu	Ala	Val	Arg	Thr
				425					430					435
Leu	Leu	Asn	Ser	Gly	Leu	Glu	Lys	Leu	Phe	Gln	Ala	Arg	Lys	His
				440					445					450
Arg	Pro	Lys	Pro	His	Leu	Asp	Ser	Lys	Met	Leu	Ala	Ala	Trp	Asn
				455					460					465

Gly Leu Met Val Ser Gly Tyr Ala Val Thr Gly Ala Val Leu Gly  
 470 475 480  
 Gln Asp Arg Leu Ile Asn Tyr Ala Thr Asn Gly Ala Lys Phe Leu  
 485 490 495  
 Lys Arg His Met Phe Asp Val Ala Ser Gly Arg Leu Met Arg Thr  
 500 505 510  
 Cys Tyr Thr Gly Pro Gly Gly Thr Val Glu His Ser Asn Pro Pro  
 515 520 525  
 Cys Trp Gly Phe Leu Glu Asp Tyr Ala Phe Val Val Arg Gly Leu  
 530 535 540  
 Leu Asp Leu Tyr Glu Ala Ser Gln Glu Ser Ala Trp Leu Glu Trp  
 545 550 555  
 Ala Leu Arg Leu Gln Asp Thr Gln Asp Arg Leu Phe Trp Asp Ser  
 560 565 570  
 Gln Gly Gly Gly Tyr Phe Cys Ser Glu Ala Glu Leu Gly Ala Gly  
 575 580 585  
 Leu Pro Leu Arg Leu Lys Asp Asp Gln Asp Gly Ala Glu Pro Ser  
 590 595 600  
 Ala Asn Ser Val Ser Ala His Asn Leu Leu Arg Leu His Gly Phe  
 605 610 615  
 Thr Gly His Lys Asp Trp Met Asp Lys Cys Val Cys Leu Leu Thr  
 620 625 630  
 Ala Phe Ser Glu Arg Met Arg Arg Val Pro Val Ala Leu Pro Glu  
 635 640 645  
 Met Val Arg Ala Leu Ser Ala Gln Gln Gln Thr Leu Lys Gln Ile  
 650 655 660  
 Val Ile Cys Gly Asp Arg Gln Ala Lys Asp Thr Lys Ala Leu Val  
 665 670 675  
 Gln Cys Val His Ser Val Tyr Ile Pro Asn Lys Val Leu Ile Leu  
 680 685 690  
 Ala Asp Gly Asp Pro Ser Ser Phe Leu Ser Arg Gln Leu Pro Phe  
 695 700 705  
 Leu Ser Thr Leu Arg Arg Leu Glu Asp Gln Ala Thr Ala Tyr Val  
 710 715 720  
 Cys Glu Asn Gln Ala Cys Ser Val Pro Ile Thr Asp Pro Cys Glu  
 725 730 735  
 Leu Arg Lys Leu Leu His Pro  
 740

<210> 27

<211> 734

<212> PRF

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc\_feature

<223> Incyte ID No: 5583922CD1

<400> 27

Met Trp Gly Leu Leu Leu Ala Leu Ala Ala Phe Ala Pro Ala Val  
 1 5 10 15  
 Gly Pro Ala Leu Gly Ala Pro Arg Asn Ser Val Leu Gly Leu Ala  
 20 25 30  
 Gln Pro Gly Thr Thr Lys Val Pro Gly Ser Thr Pro Ala Leu His  
 35 40 45  
 Ser Ser Pro Ala Gln Pro Pro Ala Glu Thr Ala Asn Gly Thr Ser  
 50 55 60  
 Glu Gln His Val Arg Ile Arg Val Ile Lys Lys Lys Val Ile  
 65 70 75  
 Met Lys Lys Arg Lys Lys Leu Thr Leu Thr Arg Pro Thr Pro Leu  
 80 85 90  
 Val Thr Ala Gly Pro Leu Val Thr Pro Thr Pro Ala Gly Thr Leu  
 95 100 105  
 Asp Pro Ala Glu Lys Gln Glu Thr Gly Cys Pro Pro Leu Gly Leu  
 110 115 120  
 Glu Ser Leu Arg Val Ser Asp Ser Arg Leu Glu Ala Ser Ser Ser  
 125 130 135  
 Gln Ser Phe Gly Leu Gly Pro His Arg Gly Arg Leu Asn Ile Gln

				140					145				150	
Ser	Gly	Leu	Glu	Asp	Gly	Asp	Leu	Tyr	Asp	Gly	Ala	Trp	Cys	Ala
				155					160					165
Glu	Glu	Gln	Asp	Ala	Asp	Pro	Trp	Phe	Gln	Val	Asp	Ala	Gly	His
				170					175					180
Pro	Thr	Arg	Phe	Ser	Gly	Val	Ile	Thr	Gln	Gly	Ser	Asn	Ser	Val
				185					190					195
Trp	Arg	Tyr	Asp	Trp	Val	Thr	Ser	Tyr	Lys	Val	Gln	Phe	Ser	Asn
				200					205					210
Asp	Ser	Arg	Thr	Trp	Trp	Gly	Ser	Arg	Asn	His	Ser	Ser	Gly	Met
				215					220					225
Asp	Ala	Val	Phe	Pro	Ala	Asn	Ser	Asp	Pro	Glu	Thr	Pro	Val	Leu
				230					235					240
Asn	Leu	Leu	Pro	Glu	Pro	Gln	Val	Ala	Arg	Phe	Ile	Arg	Leu	Leu
				245					250					255
Pro	Gln	Thr	Trp	Leu	Gln	Gly	Gly	Ala	Pro	Cys	Leu	Arg	Ala	Glu
				260					265					270
Ile	Leu	Ala	Cys	Pro	Val	Ser	Asp	Pro	Asn	Asp	Leu	Phe	Leu	Glu
				275					280					285
Ala	Pro	Ala	Ser	Gly	Ser	Ser	Asp	Pro	Leu	Asp	Phe	Gln	His	His
				290					295					300
Asn	Tyr	Lys	Ala	Met	Arg	Lys	Leu	Met	Lys	Gln	Val	Gln	Glu	Gln
				305					310					315
Cys	Pro	Asn	Ile	Thr	Arg	Ile	Tyr	Ser	Ile	Gly	Lys	Ser	Tyr	Gln
				320					325					330
Gly	Leu	Lys	Leu	Tyr	Val	Met	Glu	Met	Ser	Asp	Lys	Pro	Gly	Glu
				335					340					345
His	Glu	Leu	Gly	Glu	Pro	Glu	Val	Arg	Tyr	Val	Ala	Gly	Met	His
				350					355					360
Gly	Asn	Glu	Ala	Leu	Gly	Arg	Glu	Leu	Leu	Leu	Leu	Leu	Met	Gln
				365					370					375
Phe	Leu	Cys	His	Glu	Phe	Leu	Arg	Gly	Asn	Pro	Arg	Val	Thr	Arg
				380					385					390
Leu	Leu	Ser	Glu	Met	Arg	Ile	His	Leu	Leu	Pro	Ser	Met	Asn	Pro
				395					400					405
Asp	Gly	Tyr	Glu	Ile	Ala	Tyr	His	Arg	Gly	Ser	Glu	Leu	Val	Gly
				410					415					420
Trp	Ala	Glu	Gly	Arg	Trp	Asn	Asn	Gln	Ser	Ile	Asp	Leu	Asn	His
				425					430					435
Asn	Phe	Ala	Asp	Leu	Asn	Thr	Pro	Leu	Trp	Glu	Ala	Gln	Asp	Asp
				440					445					450
Gly	Lys	Val	Pro	His	Ile	Val	Pro	Asn	His	His	Leu	Pro	Leu	Pro
				455					460					465
Thr	Tyr	Tyr	Thr	Leu	Pro	Asn	Ala	Thr	Val	Ala	Pro	Glu	Thr	Arg
				470					475					480
Ala	Val	Ile	Lys	Trp	Met	Lys	Arg	Ile	Pro	Phe	Val	Leu	Ser	Ala
				485					490					495
Asn	Leu	His	Gly	Gly	Glu	Leu	Val	Val	Ser	Tyr	Pro	Phe	Asp	Met
				500					505					510
Thr	Arg	Thr	Pro	Trp	Ala	Ala	Arg	Glu	Leu	Thr	Pro	Thr	Pro	Asp
				515					520					525
Asp	Ala	Val	Phe	Arg	Trp	Leu	Ser	Thr	Val	Tyr	Ala	Gly	Ser	Asn
				530					535					540
Leu	Ala	Met	Gln	Asp	Thr	Ser	Arg	Arg	Pro	Cys	His	Ser	Gln	Asp
				545					550					555
Phe	Ser	Val	His	Gly	Asn	Ile	Ile	Asn	Gly	Ala	Asp	Trp	His	Thr
				560					565					570
Val	Pro	Gly	Ser	Met	Asn	Asp	Phe	Ser	Tyr	Leu	His	Thr	Asn	Cys
				575					580					585
Phe	Glu	Val	Thr	Val	Glu	Leu	Ser	Cys	Asp	Lys	Phe	Pro	His	Glu
				590					595					600
Asn	Glu	Leu	Pro	Gln	Glu	Trp	Glu	Asn	Asn	Lys	Asp	Ala	Leu	Leu
				605					610					615
Thr	Tyr	Leu	Glu	Gln	Val	Arg	Met	Gly	Ile	Ala	Gly	Val	Val	Arg
				620					625					630
Asp	Lys	Asp	Thr	Glu	Leu	Gly	Ile	Ala	Asp	Ala	Val	Ile	Ala	Val
				635					640					645

Asp Gly Ile Asn His Asp Val Thr Thr Ala Trp Gly Gly Asp Tyr  
 650 655  
 Trp Arg Leu Leu Thr Pro Gly Asp Tyr Met Val Thr Ala Ser Ala  
 665 670 675  
 Glu Gly Tyr His Ser Val Thr Arg Asn Cys Arg Val Thr Phe Glu  
 680 685 690  
 Glu Gly Pro Phe Pro Cys Asn Phe Val Leu Thr Lys Thr Pro Lys  
 695 700 705  
 Gln Arg Leu Arg Glu Leu Leu Ala Ala Gly Ala Lys Val Pro Pro  
 710 715 720  
 Asp Leu Arg Arg Arg Leu Glu Arg Leu Arg Gly Gln Lys Asp  
 725 730

<210> 28

<211> 2080

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc\_feature

<223> Incyte ID No: 088718CB1

<400> 28

tgaaggactt ttccaggacc caaggccaca cactggaagt cttgcagctg aagggaggca 60  
 ctccctggcc tccgcagccc atcacatgaa ggtggtgcca agtctcctgc tctccgtcct 120  
 cctggcacag gtgtggctgg taccggctt ggccccagt cctcagtcgc cagagacccc 180  
 agcccctcag aaccagacca gcagggtagt gcaggctccc agggagggaag aggaagatga 240  
 gcaggaggcc agcaggagaga aggccggtga ggaagagaaa gcctggctga tggccagcag 300  
 gcagcagctt gccaaaggaga cttcaaactt cggattcagc ctgctgcgaa agatctccat 360  
 gaggcacgat ggcaacatgg tcttctctcc atttggcatg tccttggcca tgacaggctt 420  
 gatgctgggg gccacagggc cgactgaaac ccagatcaag agagggtcc acttgcaggc 480  
 cctgaagccc accaagccc ggctcctgcc ttccctcttt aagggactca gagagaccct 540  
 ctcccgcaac ctggaaactgg gcctctcaca ggggagtttt gccttcaccc acaaggattt 600  
 tgatgtcaaa gagactttct tcaatttatc caagaggtat tttgatacag agtgcgtgcc 660  
 tatgaattht ccgaatgcct cacaggccaa aaggctcatg aatcattaca ttaacaaaga 720  
 gactcggggg aaaatttcca aactgtttga tgagattaat cctgaaacca aattaattct 780  
 tgtggattac atcttgytca aagggaaatg gttgacccca tttgaccctg tcttcaccga 840  
 agtcgacact ttccacctgg acaagtacaa gaccattaag gtgcccata tgtaacggtcg 900  
 agtcaagttt gccctccact ttgacaagaa tttctgttgt catgtcctca aactgcccta 960  
 ccaaggaaat gccaccatgc tgggtgtcct catggagaaa atgggtgacc acctgcacct 1020  
 tgaagactac ctgaccacag acttgggtga gacatggctc agaaacatga aaaccagaaa 1080  
 catggaagtt ttctttccga agttcaagct agatcagaag tatgagatgc atgagctgct 1140  
 taggcagatg ggaatcagaa gaatcttctc accctttgct gaccttagtg aactctcage 1200  
 taactggaaga aatctccaag tatccagggt tttcacaaga acagtgattg aagttagatga 1260  
 aaggggcact gaggcagtgg caggaatctt gtcagaaatt actgcttatt ccatgcctcc 1320  
 tgtcatcaaa gtggaccggc catttcattt catgatctat gaagaaacct ctggaatgct 1380  
 tctgtttctg ggcagggtgg tgaatccgac tctcctataa ttcaggacat gcataagcaa 1440  
 ctctgtgctg tagtagatgc tgaatctgag gtatcaaaaca cacacaggat accagcaatg 1500  
 gatggcaggg gagagtgttc cttttgttct taactagttht aggggtgttct caaataaata 1560  
 cagtagtccc cacttatctg agggggatac attcaaagac ccccagcaga tgcttgaaac 1620  
 ggtggacagt gctgaacctt atatataattt tttcctacac atacatacct atgataaagt 1680  
 ttaatttata aattaggcac agtaagagat taacaataat aacaacatta agtaaaatga 1740  
 gttactttaa cgcaagcact gcaataccat aacagtcaaa ctgattatag agaaggctac 1800  
 taagtgactc atgggcgagg agcatagaca gtgtggagac attgggcaag gggagaattc 1860  
 acatcctggg tgggacagag caggacgatg caagattcca tcccactact cagaatggca 1920  
 tgctgcttaa gactttttaga ttgtttattt ctggaatttt tcatttaatg tttttggacc 1980  
 atggttgacc atggttaact gagactgcag aaagcaaaac catggataag ggaggactac 2040  
 tacaaaagca ttaaattgat acatattttt taaaaaaaaa 2080

<210> 29

<211> 2225

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc\_feature

<223> Incyte ID No: 114551CB1

```

<400> 29
gtgcttggcg cctgcgctgg acgactcggc cggtagtgga gatgtccggc cgggtctaagc 60
gggagtctcg cggttccact cgggggaagc gagagtctga gtcgcggggc agctccggtc 120
gcgtcaagcg ggagcgagat cgggagcggg agcctgaggc ggcgagctcc cggggcagcc 180
ctgtgcgctg gaagcgggag ttgagcggg cgagcggcgg cgggccccg gcttctgttg 240
tcccgtttgt gcgggtgaag cgggagcggg aggtcgatga ggactcggag cctgagcggg 300
aggtagcgagc aaagaatggc cgagtggatt ctgaggaccg gaggagccgc cactgcccgt 360
acctggacac cattaacagg agtgtgctgg accttgactt tgagaaactg tgttctatct 420
ccctctcaca ctcaatgct tatgcctgtc tgggtgtgtg caagtacttt caaggcggg 480
gtttgaagtc tcacgcctac attcacagtg tccagtttag ccaccatggt tccctcagg 540
tccacaccct caagttttac tgccttcag acaactatga gatcatcgat tccctattgg 600
aggatatcac gtatgtgttg aagcccactt tcacaaagca gcaaattgca aacttggaca 660
agcaagccaa attgtcccgg gcatatgatg gtaccactta cctgcccgggt attgtgggg 720
tgaataacat aaaggccaat gattatgcca acgctgtcct tcaggctcta tctaattgtc 780
ctcctctccg gaactacttt ctggaagaag acaattataa gaacatcaaa cgtcctccag 840
gggatatcat gttcttgttg gtccagcgtt ttggagagct gatgagaaag ctctggaac 900
ctcgaaatct caaggcacat gtgtctcccc atgagatgct tcaggcagtt gtaacttggc 960
gtaagaagac ttttcagatc accaaacaag gagatggcgt tgactttctg tcttgggttc 1020
aagtgtctct gcactcagct ctggggggca caaagaagaa aaagaagact attgtgactg 1080
atgttttcca ggggtccatg aggatcttca ctaaaaagct tccccatcct gatctgcccag 1140
cagaagaaaa agagcagttg ctccataatg acgagtacca ggagacaatg gtggagtcca 1200
cttttatgta cctgacgctg gaccttctca ctgccccctt ctacaaggac gagaaggagc 1260
agctcatcat tcccgaagtg ccactcttca acatcctggt taagttcaat ggcatactg 1320
agaaggaata taagacttac aaggagaact tctgaagcg cttccagctt accaagttg 1380
ctccatatct aatcttttgt atcaagagat tctaagaa caacttcttt gttgagaaga 1440
atccaactat tgtcaatttc cctattacaa atgtggatct gagagaatac ttgtctgaag 1500
agttacaagc agtacacaag aataaccact atgacctcat tgccaacatc gtgcatgacg 1560
gcaagccctc cgagggtctc taccggtacc acgtgcttca tcatgggaca ggcaaatgg 1620
atgaattaca agacctccag gtgactgaca tccctcccca gatgatcaca ctgtcagagg 1680
cttacattca gatttggaa agcgagata atgatgaaac caaccagcag ggggctttaa 1740
ggagcgtctc agggccttgc tccaagggc tgtggctgat gatggtaaat aagaacacag 1800
aagctgtagc tgaacacagg ctggctgtgt ggcttccctag gccagcccag cttgtatggg 1860
ttctggctac accagagcac caagagccca ctgcccggg atggcccac actgtcactc 1920
agctgttctt tgatcatttt tttctagatt gatgtctctt tctcccacgc attgagctcc 1980
catctagctt cagcagggca gaacctctct ccagatgtgt gtaacttatg totttagtat 2040
ctgggagtag ttgaagaaca gataattcct tccaacatc aagccttggg attcttggag 2100
caagcagaaa gccagtaact tcgctctgtt agaggtggag gattttccca tggttccccc 2160
catttctctg tttgtatttt tagatggatt aaatagtctc ctgtttttaa accaaaaaaa 2220
aaaaa 2225

```

```

<210> 30
<211> 3287
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 1261376CB1

```

```

<400> 30
caggcgcggt acccggcgtg ctccgcgcgg cgcggcgaa gggacgtggg ggaaggggca 60
gggaggagga agcgggtggt gctgcggatg tcggtgtgag cgagcggcgc ctgaacacac 120
ggcggctgcc gagegectga cccgggctg cgccagagcc tgcaaccgagc tccggggccc 180
cacaccgcct acgggtggccc tggcggcctt gctactgagg cggcgtgctc tgcattcttc 240
getgtccagg cctgcccggc ctgggtgtctg ctggctctc cttgtctgcc tgcctccctc 300
tgcttgccctg agtcaccgcc gccgcccggc ccacagccat ggccgagagt ggtgaaagcg 360
gcggtcctec gggctcccag gatagcgcgg ccggagccga aggtgctggc gccccgcgg 420
ccgctgcctc cgcgagcgc aaaatcatga aagtccaggt gaagaccccg aaggaaaaag 480
aggaattcgc cgtgcccag aatagctccg tccagcagtt taaggaaaga atctctaac 540
gttttaaatc acatactgac caacttgtgt tgatatttgc tggaaaaatt ttgaaagatc 600
aagatacctt gagtcagcat ggaattcatg atggacttac tgttcacctt gtcattaaaa 660
cacaaaacag gcctcaggat cattcagctc agcaaacaaa tacagctgga agcaatgtta 720
ctacatcctc aactcctaata agtaactcta catctggttc tgctactagc aaccttttg 780
gtttaggtgg ccttggggga cttgcaggtc tgagtagctt gggtttgaat actaccaact 840
tctctgaact acagagtcag atgcagcgac aacttttctc taacctgaa atgatggtcc 900
agatcatgga aaatcccttt gttcagagca tgcctcctcaa tccctgacctg atgagacagt 960
taattatggc caatccacaa atgcagcagt tgatacagag aaatccagaa attagtcata 1020

```

tgttgaataa	tccagatata	atgagacaaa	cgttggaact	tgccaggaat	ccagcaatga	1080
tgcaggagat	gatgaggaac	caggaccgag	ctttgagcaa	cctagaaagc	atcccagggg	1140
gatataatgc	ttaagggcgc	atgtacacag	atattcagga	accaatgctg	agtgctgcac	1200
aagagcagtt	tgytggtaat	ccatttgctt	ccttggtgag	caatacatcc	tctggtgaag	1260
gtagtcaacc	ttcccgta	gaaaatagag	atccactacc	caatccatgg	gctccacaga	1320
cttcccagag	ttcatcagct	tccagcggca	ctgccagcac	tgtgggtggc	actactggta	1380
gtactgccag	tggcacttct	gggcagagta	ctactgcgcc	aaatttgggtg	cctggagtag	1440
gagctagtat	gttcaacaca	ccaggaatgc	agagcttgtt	gcaacaaata	actgaaaacc	1500
cacaacttat	gcaaaacatg	ttgtctgccc	cctacatgag	aagcatgatg	cagtcactaa	1560
gccagaatcc	tgaccttgc	gcacagatga	tgtgaataa	tcccatttt	gctggaaate	1620
ctcagcttca	agaacaaatg	agacaacagc	tcccacttt	cctccaacaa	atgcagaatc	1680
ctgatacaact	atcagcaatg	tcaaacccta	gagcaatgca	ggccttgta	cagattcagc	1740
agggtttaca	gacatttagca	acggaagccc	cgggctcat	cccaggggtt	actcctggct	1800
tgggggcatt	aggaagcact	ggaggctctt	caggaactaa	tggatctaac	gccacacct	1860
gtgaaaacac	aagtcccaca	gcaggaaacca	ctgaacctgg	acatcagcag	tttattcagc	1920
agatgcttca	ggctcttgc	ggagtaaaac	ctcagctaca	gaatccagaa	gtcagatttc	1980
agcaacaact	ggaacaactc	agtccaatgg	gatttttgaa	ccgtgaagca	aacttgcaag	2040
ctctaatagc	aacaggaggt	gatataatg	cagctatgga	aaggttactg	ggctcccagc	2100
catcatagca	gcatttctgt	atcttgaaaa	aatgtaattt	atttttgata	acggctctta	2160
aactttaaaa	taoctgcttt	atctcatttt	gactcttggg	attctgtgct	gttataaaca	2220
aacccaatat	gatgcatttt	aagggtggag	acagtaagat	gtgtgggttt	ttctgtattt	2280
ttctttctg	gaacagtggy	aattaaggct	actgcatgca	tcacttctgc	atttattgta	2340
attttttaaa	aacatcacct	tttatagttg	ggtgaccaga	tttgtctctg	catctgtcca	2400
gtttatttgc	tttttaaaaa	tttagcctatg	gtagtaattt	atgtagaata	aaagcattaa	2460
aaagaagcaa	atcatttgca	ctctataaatt	tgtggtacag	tattgcttat	tgtgactttg	2520
gcattgcattt	ttgcaaaaca	tgctgtaaga	tttatactac	tgataatttt	gttttatttg	2580
tatacaatat	agagtatgca	catttgggac	tgcatctctg	gaaacatact	gcaataggct	2640
ctctgagcaa	aacacctgta	actaaaaaag	tgaagataag	aaaatactct	taaagctgag	2700
tatttctcaa	ttgtatagaa	tcttacagca	tctttgacaa	acatctccca	gcaaaagtgc	2760
cggttagtca	ggtttgttga	aaatacagta	gaaaagctga	ttctggttat	ctctttaagg	2820
acaattaatt	gtacagacac	ataatgtaac	attgtctcaa	cattcattca	cagattgact	2880
gtaaattacc	ttaatctttg	tgacagactga	aggaacactg	tagtataccc	caaagtgc	2940
ttgcctagga	tctctcagct	tctccatag	gtagtttaac	aggcattaaa	atgttgaatt	3000
gaaatgttgc	tttcaactgaa	aaagtgtctt	gatgtttcag	ttatttttaa	tcgcoataaa	3060
aaaatagaac	tatcttttgg	gtttatctgt	tttctcatgc	acaggcaata	cacaaattta	3120
aaatagttg	tgagccaatt	gtttctgaag	tgttttggta	gttctattaa	gaaatagtta	3180
aatattgtgc	ttttcagagc	ctcagagaca	gggggacgcg	gtgccggggt	ggggcagcgg	3240
aatctgtct	ggtgggggcc	agcttaata	atactggcaa	ccaagat		3287

&lt;210&gt; 31

&lt;211&gt; 2412

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; misc\_feature

&lt;223&gt; Incyte ID No: 1299481CB1

&lt;400&gt; 31

gggctgtgtg	cggcggcggc	ggcggcggcc	gagggggatg	gagcggagcg	cgagccgggt	60
cagagttgaa	caatgaccat	agttgacaaa	gcttctgaat	cttcagacc	atcagcctat	120
cagaatcagc	ctggcagctc	cgaggcagtc	tcacctggag	acatggatgc	aggttctgce	180
agctgggggtg	ctgtgtcttc	attgaaatgat	gtgtcaaatc	acacacttct	tttaggacca	240
gtacctgggtg	ctgtagtttt	ttcaggttca	tctgtacctg	ataaatcaaa	accatcacca	300
caaaaggatc	aagccctag	tgatggcatc	gctctccac	agaaagttct	tttccatct	360
gagaagattt	gtcttaagt	gcaacaaact	catagagttg	gagctgggct	ccagaatttg	420
ggcaatacct	gttttgccaa	tgacagactg	cagtgtttaa	cctacacacc	acctcttggc	480
aattacatgc	tatcacatga	acactccaaa	acatgtcatg	cagaaggctt	ttgtatgatg	540
tgtacaatgc	aagcacatat	taccaggca	ctcagtaatc	ctggggacgt	tattaaacca	600
atgtttgtca	tcaatgagat	ggggcgtata	gctaggcacc	tccgttttgg	aaaccaagaa	660
gatgcccag	aatctcttca	atacactgtt	gatgctatgc	agaaagcag	cttgaatggc	720
agcaataaat	tagacagaca	caccaggcc	accactcttg	tttgcagat	atgtggagga	780
tacctaaagt	ctagagtcaa	atgtttaa	tgcaagggcg	tttcagatac	ttttgatcca	840
tatcttgata	taacattgga	gataaaggct	gctcagagtg	tcaacaaggc	atgtggagcag	900
tttgtgaagc	cggacaagct	tgatggagaa	aactcgtaca	agtgcagcaa	gtgtaaaaa	960
atggttccag	cttcaaaag	gttccatctc	catagatcct	ctaagtctct	tacactttct	1020
ctgaaacgtt	ttgcaaat	taccggtgga	aaaattgcta	aggatgtgaa	ataccctgag	1080

tatcttgata	ttcggccata	tatgtctcaa	cccaacggag	agccaattgt	ctacgtcttg	1140
tatgcagtyc	tggtccacac	tggttttaat	tgccatgctg	gccattactt	ctgctacata	1200
aaagctagca	atggcctctg	gtatcaaatg	aatgactcca	ttgtatctac	cagtgatatt	1260
agatcggtag	tcagccaaca	agcctatgtg	ctcttttata	tcaggtccca	tgatgtgaaa	1320
aatggagggtg	aacttactca	tcccaccocat	agccccggcc	agtcctctcc	ccgccccgtc	1380
atcagtcagc	gggttgctac	caacaaacag	gctgcgccag	gctttatcgg	accacagctt	1440
ccctctcaca	tgataaagaa	tccacctcac	ttaaattggga	ctggaccatt	gaaagacacg	1500
ccagcagtt	ccatgtcgag	tcctaacggg	aattccagtg	tcaacagggc	tagtccctgtt	1560
aatgcttcag	cttctgtcca	aaactggtca	gttaataggt	cctcagtgat	cccagaacat	1620
cctaagaaac	aaaaaattac	aatcagtatt	cacaacaagt	tgccctgttcg	ccagtgtcag	1680
tctcaaccta	accttcatag	taattctttg	gagaacctta	ccaagccctg	tccctcttct	1740
accattacca	attctgcagt	acagttctac	tcgaacgcat	ctacgatgtc	agtttctagt	1800
aaagtaacaa	aaccgatccc	ccgcatgtaa	tctgtctccc	agccccgtat	gaatggcaaa	1860
tccaagctga	actccagcgt	gctgggtccc	tatggcgccg	agtcctctga	ggactctgac	1920
gaggagtcaa	aggggctggg	caaggagaat	gggattggtt	cgattgtgag	ctccccctct	1980
ccgggccaag	atgccgaaga	tgaggaggcc	actccgcacg	agcttcaaga	acctatgacc	2040
ctaaacgggtg	ctaatagtg	agacagcgac	agtgaaccca	aagaaaacgg	cctagccctt	2100
gatgggtgcca	gctgccaagg	ccagcctgcc	ctgcactcag	aaaatccctt	tgctaaggca	2160
aaaggctctc	ctggaaagtt	gatgcctgtg	cttttctgtg	ctctcccaga	agacaaaatc	2220
ttagagacct	tcaggcttag	caacaaactg	aaaggctcga	cggatgaaat	gagtgcacct	2280
ggagcagaga	ggggccctcc	cgaggaccgc	gacggccgag	ctcagcctgg	cagccccgcc	2340
gccgaatccc	tggaggagcc	agatgcggcc	gcaagcttat	tcccccttag	tgagggttaa	2400
ttttagcttg	ca					2412

<210> 32  
 <211> 2286  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 1873139CB1

<400> 32						
gaaaaccggg	cgctccggaag	cccgtgcttt	ctttgacgca	agggctcgag	acgcagccgc	60
cgctccggcga	gcgcccggct	agaagcgaca	ccagacggag	cctccggagt	tcctcccgcc	120
ccacctcgcc	gggtcctgga	gcccagctcc	tcccagctgc	cctcctcggt	gccatggagt	180
gtccacacct	gagctccagc	gtctgcattg	ctccggactc	agccaagttc	cccaacggct	240
ccccgtcgtc	ctggtgctgc	agcgttatcg	ctgtgatgat	ttttgtggtt	atgacacca	300
gctgggactg	gtacagaaag	tcagagaaca	cttacagAAC	ttggaaaact	cagctttcac	360
agctgcacag	cataagaaaa	gaaaaacttt	ggaaaactca	acactaaaca	gcaagttatt	420
aaaagtaaat	ggaagcacca	ctgccatttg	tgccacaggc	cttcgggaat	tggggaaac	480
atgtttcatg	aatgccatcc	ttcagtcact	cagtaacatt	gagcagtttt	gctgttattt	540
caagaactg	cccgcctggg	agttaaaggaa	tgggaaaca	gcaggaaggc	ggacatacca	600
caccaggagc	caaggggata	acaatgtgtc	tttggtagaa	gagtttagaa	agacactctg	660
tgctttatgg	caaggcagcc	agactgcatt	tagcccagag	tccttatttt	atgtgttttg	720
gaagattatg	ccaaaacttta	ggggctatca	acagcaggac	gcccataaat	tcattgcgcta	780
ccttttggac	cacctacact	tggaaactca	gggagggttc	aacgggtgtt	cccgcctcagc	840
aattctgcag	gagaattcta	ctctgtctgc	aagtaacaag	tgttgcataa	atggagcacc	900
tactgtttgc	acggctatat	tccggagcat	ctccaaaat	gaggttaact	gctcatatg	960
tgggacagaa	tctagaaagt	ttgatccatt	cctagacctt	tcattagata	ttccaagtca	1020
gttcagaagt	aagcgtctca	agaatcaaga	aatggacca	gtttgttcgt	tacgagattg	1080
tcttgcagct	tttaccgact	tagaagaact	tgatgagaca	gagttatata	tgtgccataa	1140
atgcaaaaag	aaacaaaagt	ccacaaaaaa	gttttggatt	caaaaactac	ccaagtgctt	1200
atgcttacat	ttgaaaagat	ttcattggac	agcatattta	agaaataaag	ttgatacata	1260
cgtagaattd	ccactgagag	gcctagacat	gaaatgctac	ttactagagc	ctgagaacag	1320
tggcccggag	agctgcctgt	atgacctcgc	cgctgtggtg	gtgcaccatg	gttcccgggt	1380
tggttctgga	cattacacag	cataccgaac	tcacgaagc	cgctggttcc	acttcaatga	1440
cagtactgta	acactgactg	acgaggagag	tggtgtgaag	gcgaaggcct	acatcctttt	1500
ctacgtggaa	caccaggcca	aagctggatc	ggataaactt	taatactccc	tccaaatcat	1560
cattcaccaa	ccataccaga	gaaacatttc	cagttttcca	caaatacttg	atacaagatt	1620
taatttcatt	atgcactttt	caatttccta	ttttggattt	agttttgtca	atggtagtga	1680
cttactgaac	atgggcacca	actaattttg	ttgtgttctt	accagaaaac	ctcagcagat	1740
gtttttgatt	gctgcttttag	ttgtaataat	tcaattttta	taggtagttg	taagaactta	1800
gtcttatttg	acttttttat	tttatgttaa	tgttttcagt	tctcaactttg	agggcacattt	1860
acatcaatgc	ttttgttctt	ctcacatgct	gaaagcaaga	tgtgttccct	atgtgtgaaga	1920
gcgacacaac	tgccctgctgc	ctttccacag	ctataatgga	catcaggttg	actctaaatc	1980

```

aaggatcattg tgtgcacaat acttgtggcc cacaaaattt cacaatgact gctgaggaat 2040
cattcttttt gctgtataaa tataacaaaag ggcacatcatta agtagaccag gtaattactg 2100
cttgtctctc aaggctgctg tctttatcag cactaactaa ataaatttgt tgggttcagtt 2160
gtacttggcc tgcaaataca agaattactc tctttgttgg tttttttggt tttggggcat 2220
acttgtttgc ggggaggtaa gatgggagta aagaccaaat acatgtaatg tttaaaaaaa 2280
aaaaaa 2286

```

<210> 33  
 <211> 873  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 1903112CB1

```

<400> 33
taaaaacatt tatcatcttt gaaagcactc ttacgagact tttattcacc agaatcagtg 60
aaatgttctc ccttttttga cagggtcaaaa tagaaaattga cgtacaggtg gaaggactcc 120
aatatctagc ttctcgatat gatttcattg acttagatcg tgtgggcatc cacggctggt 180
cctatggagg ataactctcc ctgatggcat taatgcagag gtcagatata ttcagggttg 240
ctattgctgg ggcccagtc actctgtgga tcttctatga tacaggatac acggaacgtt 300
atatgggtca cctgaccag aatgaacagg gctattactt aggatctgtg gccatgcaag 360
cagaaaaagt ccctctgaa ccaaatcgtt tactgctctt acatggtttc ctggatgaga 420
atgtccattt tgacataacc agtataattac tgagtttttt agtgagggtc ggaaaacct 480
atgatttaca gatctatcct caggagagac acagcataag agttcctgaa tcggggagaac 540
attatgaact gcactctttt cactaccttc aagaaaacct tggatcacgt attgctgctc 600
taaaagtgat ataattttga cctgtgtaga actctctggt atacactggc tatttaacca 660
aatgaggagg tttaatcaat agaaaaacaca gaattgatca tcacattttg atacctgcca 720
tgtaacatct actcctgaaa ataaatgtgg tgccatgcag ggtctacgg tttgtggtag 780
taactaata ccttaacccc acatgctcaa aatcaaatga tacatattcc tgagagacc 840
agcaatacca taagaattac taaaaaaaaa aaa 873

```

<210> 34  
 <211> 1658  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 1993044CB1

```

<400> 34
ggaagagttt cgatgtctct aggggtggcta gagcgtcctc ccgcgctcag tcgcgctgca 60
ggtgacggcg cccggaggct gtcgggaagt atgcccgggt acgtgtggtt gacgagctcg 120
gcggcggtt tgctgagatc tgtggccggc ggcagctggt gcggggggca gctgagagcg 180
agagggtgat cggggcggtg tgtggccagg gccatgacgg gcaatgccgg ggagtgggtc 240
ctcatggaaa gcgacccgg ggtcttcacc gagctcatta aaggattcgg ttgccgagga 300
gcccaagtag aagaatatg gagtttagag cctgagaatt ttgaaaaatt aaagccagtt 360
catgggttaa ttttctttt caagtgccag ccaggagaag aaccagcagg ctctgtggtt 420
caggactccc gacttgacac gatatttttt gctaagcagg taattaataa tgcttgtgct 480
actcaagcca tagtgagtgt gttactgaac tgtaccacc aggatgtcca tttaggcgag 540
acattatcag agtttaaaga attttcacaa agttttgatg cagctatgaa aggccttgca 600
ctgagcaatt cagatgtgat tcgacaagta cacaacagtt tcgccagaca gcaaatgttt 660
gaatttgata cgaagacatc agcaaaagaa gaagatgctt ttcactttgt cagttatggt 720
cctgttaatg ggagactgta tgaattagat ggattaagag aaggaccgat tgatttaggt 780
gcatgcaatc aagatgattg gttcagtgca gtaaggcctg tcatagaaaa aaggatacaa 840
aagtacagtg aaggtgaaat tcgatttaat ttaatggcca ttgtgtctga cagaaaaatg 900
atatatgagc agaagatagc agagttacaa agacaacttg cagaggagga acccatggat 960
acagatcaag gtaatagtat gttaaagtct attcagtcag aagttgccc aaatcagatg 1020
cttattgaa gagaagtaca gaaattaaaa agatacaaga ttgagaatat cagaaggaa 1080
cataattatc tgcctttcat tatggaattg ttaaagactt tagcagaaca ccagcagtta 1140
ataccactag tagaaaaggc aaaagaaaaa cagaacgcaa agaaagctca ggaaaccaa 1200
tgaagatgtt ttcagatag tacacatttc tgcctctgca catattttca tggaaacct 1260
tatgtataaa gaacttagag caacatccta attggctcag tgcacgtttg gcaatagtgc 1320
cagcctgtct tgtctttaa gcatggatc ataaaactct tccctacctg catcatgtgc 1380
atgtagtgca tattaaatga aagtgatatt aagaatgctt tcccaattc cattatttga 1440

```

```

catttgagggt cctgaccact gtttaagttt tcctggggtg tcctaactaa ccattaatgg 1500
aggcctgaga aaatggcgcc aaacggatta ttgctttaat ctgtaaattt aaaataacgt 1560
aacaattttg cacattggtc agatccttgg attaaaccgg gttggtccta atttgcttcc 1620
tccatccata accgggaaaa aaaattccgg gttttccc 1658

```

<210> 35  
 <211> 1255  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 2292182CE1

```

<400> 35
gcctaacgtc ttcagcccag ccaggctgcc cttcttccct gcggaggag ggctggggcg 60
gtcgcgttgg cgggagggag gttacctttc ccagtctcgc tctggccgcc tgagccagga 120
ggaagcagcg gcgaggtctg cgggaggcat ggcgggagct cgggacgagc gccggcgggg 180
ccccgggca ggggagcagc tgcagcagca acacgtctct tgcaggtct tccccgagcg 240
tctggcccag gggaatcccc agcaagggtt cttctccagc ttcttccaca gcaaccagaa 300
gtgccagctt aggtcctctga agacgctgga gacaaatcca tatgtcaaac ttctgcttga 360
tgctatgaaa cactcaggtt gtgctgttaa caaagataga cacttttctt gcaagactg 420
taatggaaat gtcagtgagc gttttgatgc ttcaacatct cagatagttt tgtgccagaa 480
taatatccat aatcaggccc atatgaacag agtggtcaca cagcagctta ttcatgcatt 540
tgatcattgt cgtgcccatg tgcactgggt caccaacatc agacatttgg cgtgctcaga 600
ggttcgagct gctaacctta gtggagactg ctcaacttgc aatgaaatat tcaggttaca 660
ttttggatta aaacaacacc accagacttg tgtgcgagac agagccactc tttctatcct 720
ggctgttagg aatatcagca aagaagtagc taaaaaggct gttgatgaag tttttgaatc 780
ttgtttcaat gaccatgaac cttttggaag gatccacat aacaagactt atgcaagata 840
tgctcacaga gactttgaaa accgtgatcg gtattattca aatatatgag cacaatgaca 900
tttttatatt acagagcttc catcatcatg aagaaaaaaa aatttggttc tcaagtgaac 960
aaacatataa aatgtaaaaa atccctacaa tccagataaa acagagaaga ctgtgattct 1020
agcatattat cagaaaaagt aactatggca aaaaaatgaaa ctgctttaa ctccaaggca 1080
gaaattgtat ctttatagct aaccatttag taataaata cattacattt ttgtatttta 1140
gtcatttggc tttattacat gtgattattt taaaatttga ttatgaaacc tgtgaagtgt 1200
gctcttccat gatgttgata ggtgaccact gttggtattt acattaaatg taaag 1255

```

<210> 36  
 <211> 1139  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 2331301CB1

```

<400> 36
tgccctttaa aaaaaaaaaa gcttctaate ctctggggaa agatctgctt ccttccccat 60
ttgatgcaat gaaataaccgt gtgactcttc cccagcgttg agatccatgg agtggtgaga 120
cacatccagt ggcgcccag ggagatggag gtgtacatca ggcacttggg gaaggtgtta 180
aggcgcctatg tccagaggct gcagtggctg ctgtccggga gccgccgact gtttggcacc 240
gttttggaga gcaaagtatg catattgctg gacacgtcag ggtccatggg cccctacctg 300
cagcaggtga agacagagct ggttttgcctg atttgggaa agctgcggaa gtgctgtgac 360
agttttaacc tgcctcagctt tgcagagagc cttcagtcac ggcaggacac gctggtggag 420
accacagatg cagcgtgtca tgaggctatg caatgggtga ccacctgca agctcagggc 480
agcacctcca tcttgcaagc attgctgaaa gctttcagtt tccatgatct ggaaggattg 540
tacctcttga ccgacggaaa gccagacaca agctgcagcc ttgtcctaaa tgaagtccaa 600
aaactcaggg agaaaagaga tgtgaaagtg cacaccattt ccttgaactg ctcagacaga 660
gccccgggtg agttcctgag aaagctggct tccctcaccg gcggacgcta tcaactgcct 720
gtgggtgagg acacactctc caaaattcac agcctgctga ccaaggctt catcaatgaa 780
aaggatcgca cattgccacc atttgaagga gatgalltaa ggatcctggc ccaggaaate 840
accaaggcca gaagcttctc ctggcaggcc caatccttca gatoccaact ccagaagaaa 900
aatgatgcag aaccaaaggt cactctttcc tagagaagtg ttctcagaaa agtcatcctg 960
caaaggacca ctcactgagc aaatctcagc cccgagggca ggtggtgatg aaatgctgtg 1020
acctgcagga aacatgattc ctggtaccag gactctctgg aagctgagga aggaaagact 1080
ttgtcttttg tgtgaggggc cattccccgg tcttaatcta actctccagc cctgtccgg 1139

```

<210> 37  
 <211> 1753  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 2517512CB1

<400> 37  
 gtggcggact agcccaggct cccacaccog acgctctggc ccacacagac gctactctgt 60  
 agcatctcag gttccctctg gctgcaactt ggaggaccac actcgttttc tttttggctg 120  
 ccagaggccc cgcacaccac cgtgagctg ggagaaagat ggcggcagcc gtgcgacag 180  
 atttggccca cgtcatgaat tcgagcggct ctcataaaga tctggctggc aagtatcgtc 240  
 agatcctgga aaaagccatt cagttatctg gagcagaaca actagaagct ttgaaagctt 300  
 ttgtggaagc aatggtaaat gagaatgtca gtctcgtgat ctccggcagc ttgctgactg 360  
 atttttgcac acatcttccct aacttgcctg atagcacagc caaagaaatc tatcacttca 420  
 ccttggaaaa gatccagcct agagtcattt catttgagga gcaggttgcct tccataagac 480  
 agcatcttgc atctatatat gagaaagaag aagattggag aaatgcagcc caagtgttgg 540  
 tgggaattcc tttggaaca ggacaaaaac agtacaatgt agattataaa ctggagactt 600  
 acttgaagat tgctaggcta tatctggagg atgatgatcc agtccaggca gaggcttaca 660  
 taaatcgagc atcgttgctt cagaatgaat caaccaatga acaattacag atacattata 720  
 aggtatgcta tgcacgtggt cttgattata gaagaaaatt cattgaagct gcacaaaagt 780  
 acaatgagct ctcttacaag acaatagtcc acgaaagtga aagactagag gccttaaaac 840  
 atgctttgca ctgtacgac ttagcatcag cagggcagca gcttctcgg atgctagcta 900  
 ctcttttaa ggtgaaagg tgccagcaac ttgctgccta tgggatccta gagaaaatgt 960  
 atctagatag gatcatcaga ggaaatcaac ttcaagaatt tgctgccatg ctgatgcctc 1020  
 accaaaaagc aactacagct gatggttcca gcatcttggc cagagctggt attgaacaca 1080  
 atttgtgtgc tgcaagcaaa ttatataata atattacctt cgaagaactt ggagctcttt 1140  
 tagagatccc tgcagctaag gcggaaaaga tagcatctca aatgataacc gaaggacgta 1200  
 tgaatggatt tattgaccag attgatggaa tagttcattt tgaaacacga gaagccctgc 1260  
 caacgtggga taagcagatc caatcacttt gtttccaagt gaataacctt ttggagaaaa 1320  
 ttagtcaaac agcaccagaa tggacagcac aagccatgga agcccagatg gctcagttaa 1380  
 tccttgcaga acttctgtgc acatgacatc ttttccatg ttgtgcagat cagtttcact 1440  
 atctccaaag cattedcatc atgaccttat acatttcaat cctttttatg ctggatttccg 1500  
 tttaaagaag acattattag agcaggaagt acaagcattt aaaatatgta gttcccata 1560  
 atttcagggt ctctgtgtat taagctaact cagatgtttt gaaagctttt tctttaaaca 1620  
 gaggtgaaat atctgtggct aaaaagtttg agatttgtga taactttgta gtcagtgtaa 1680  
 acttaagtgc ttcatgcctc tccaaatgtg gttattctaa taaatggaga aatgagccaa 1740  
 aaaaaaaaaa aaa 1753

<210> 38  
 <211> 580  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 3489039CB1

<400> 38  
 cgaggcggcc gaagccgtcg cggcggggac catgttgctt ccgaacatcc tgctcaccgg 60  
 tacaccaggg gttggaaaaa ccacactagg caaagaactt gcgtcaaaa caggactgaa 120  
 atacattaat gtgggtgatt tagctcgaga agagcaattg tatgatggct atgatgaaga 180  
 gtatgactgt cccattttag atgaagacag agtagttgat gagttagata accaaatgag 240  
 agaaggtgga gttattgttg attaccatgg ttgtgatttc ttccctgaac gctggtttca 300  
 tatagttttt gtgctgagaa cagataccaa tgtattgtac gaaagacttg aaacaagggg 360  
 ttataatgag aagaaactaa cagacaatat tcagtgtgag atttttcaag ttctttatga 420  
 agaagccaca gcattctaca aggaagaaat cgtgcatcag ctgcccagta ataaaccaga 480  
 agagctagaa aataatgtag atcagatctt gaaatggatt gagcagtgga tcaaagatca 540  
 taactcttga cttataaggg tagctactta ataactctc 580

<210> 39  
 <211> 2186  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<220>  
<221> misc\_feature  
<223> Incyte ID No: 5432879CB1

<400> 39  
gtccggcggc gggggcggcg gtagcggagg agacggtttc aggcctccgg tgcggctgca 60  
atgctgagct cccgggcccga ggcggcgatg accgcggccc acagggccat ccagcgcttc 120  
ctgcggaccg gggcgcccggt cagatataaa gtcatgaaga actggggagt tataggtgga 180  
attgctgctg ctcttgcagc aggaatataat gttatttggg gtcccattac agaaagaaaag 240  
aagcgtagaa aagggccttg gcttggcctt gtttaatttag ggaacacctg ctccatgaac 300  
tccctgctac aaggcctgtc tgctgtctct gcttccatca ggtggctgga agagtccacc 360  
tcccagctact ccaggggatca gaaggagccc cctccacacc agtatttatc cttaacactc 420  
ttgcaccttc tgaaagcctt gtctgcccga gaagt tactg atgatgagg cttagatgca 480  
agctgcttgt tggatgtctt aagaatgtac agatggcaga tctcatcatt tgagaacag 540  
gatgctcacc aattattcca tgcattacc tctcattgg aagatgagcg agaccgccag 600  
cctcgggtca cacatttggg tgatgtgcat tccctggagc agcagtcaga aataactccc 660  
aaacaaatta cctgcgcgac aagagggtea cctcacccca catccaatca ctggaagtct 720  
caacatcctt ttcattggaag actcactagt aatatggctc gcaaacactg tgaaccaccag 780  
agtctgcttc gatttgatag ctttgatagc ctttacttaa gtattccagc cgccacatgg 840  
ggtcaccctt tgaccctgga ccaactgcct caccacttca tctcatcaga atcagtgccg 900  
gatgttgtgt gtgacaactg tacaagatt gaagccaagg gaacgttgaa cggggaaaag 960  
gtggaacacc agaggaccac ttttgttaa cagttaaaac tagggaagct ccctcagtg 1020  
ctctgcatac acctacagcg gctgagctgg tccagcccag gcacgcctct gaagcgcat 1080  
gagcagctgc agttcaatga gttcctgat atggacattt acaagtacca cctccttggg 1140  
cataaaccta gtcaacacaa cctaaaactg aacaagaacc cagggcctac actggagctg 1200  
caggatgggc cgggagcccc cacaccagt ctgaatcagc caggggcccc caaaacacag 1260  
atcttctatga atggcgctcg ctccccatct ttattgcca cgtctgcagc gccgatgcc 1320  
ttccctctcc cagttgttcc cgaactacag tctccacat acctctccg gctgatgca 1380  
gtttctgtcc accatggaga catgcactct ggacactttg tcaactaccg acggtcccc 1440  
cctctgcca ggaacctct ctcaactagc aatcagtggt tgtgggtctc cgatgacact 1500  
gtccgcaagg ccagcctgca ggaggctctg tctccagcg cctacctgct gttctacag 1560  
cgctccttt ccaggatgca gcaccagagc caggagtgca agtctgaaga atgactgtc 1620  
cctctgcaa ggctagagct gatggcactg tctgcactgt ccaggaaaaa agtaaaactg 1680  
tactgttgcg tgtgcaagcg gccccactag agccttccag ccttctggtg tgttctaaga 1740  
gcaggctcca cctgggagcc agccccagt cacaccaaac caggctcctt gaacagtct 1800  
gttctatggt gtaggtggt ctgttgtgtt aagaaagcat tcattatgct cggagtgtct 1860  
ttttactcat ctgatacagg taattaaag aactcagatt cttgaagcca cggttttcat 1920  
attgtaatgt taggtgttct cagaggggag gtaccttgt ctaatcaacg ttccactta 1980  
gatcttttat ttttaataag cagggccata aaaattggtt acaagaatta atgaaattat 2040  
taaaggcaac aatttagaag aaaaagtgcc tttcactttc gattgctttt gtagcacgtc 2100  
catttgtaaa tattccttcc aggtactca aaggatagca agagaacagg taaatgatgc 2160  
ctaaagaaca ccttcctttt tctatg 2186

<210> 40  
<211> 2522  
<212> DNA  
<213> Homo sapiens

<220>  
<221> misc\_feature  
<223> Incyte ID No: 5853753CB1

<400> 40  
ctccggcggc gctgccggcg gcggtagggt gcgcgggggt ccggcggggc gttggcttga 60  
gcgggaccgg agctgaggca ggaagagccg gcgccatggt ggagaaggag gaggctggcg 120  
gcggcattag cgaggaggag gcggcacagt atgaccggca gatccgcctg tggggactgg 180  
aggccacgaa acggctcggg gctctcgggg tgctctctgt cggtctgaaa ggacttgggg 240  
ctgaaattgc caagaatctc atcttggcag gagtgaagg actgacctg ctggatcacg 300  
aacaggtaac tccagaagat cccggagctc agttcttgat tctgactggg tctgttggcc 360  
gaaatagggc tgaagcctct ttggagcgag ctcaagaatc caacccccatg gtggatgtga 420  
aggtggacac tgaggatata gagaagaac cagagtcatt tttcactcaa ttcgatgctg 480  
tgtgtctgac ttgtctgctc agggatgtca tagttaaagt tgaccagatc tgcacaaaa 540  
atagcatcaa gttctttaca ggagatggtt ttggctacca tggatacaca ttgccaatc 600  
taggagagca tgagtttcta gaggagaaaa ctaaaagtgc caaagttagc caaggagttag 660  
aagatggggc cgacaccaag agagcaaaaac ttgattcttc tgagacaaag atggtcaaaa 720  
agaaggtggt cttctgcctt gttaaagaag ccctggagggt ggactggagc agtgagaaaag 780  
caaaggctgc tctgaagcgc acgacctccg actactttct ccttcaagtg ctcttaaagt 840

```

tccgtacaga  taaggaaga  gatcccagtt  ctgatacata  tgaggaagat  tctgagttgt  900
tgctccagat  acgaaatgat  gtgctlgact  cactgggtat  tagtcctgac  ctgcttctctg  960
aggactttgt  caggacttgc  ttctccgaga  tggccccagt  gtgtgctgtg  gttggaggga  1020
ttttggcaca  ggaattgtg  aaggccctgt  ctcagcggga  cctcctcac  aacaacttct  1080
tcttcttoga  tggcatgaag  gggaaatggga  ttgtggagtg  ccttggcccc  aagtgaactc  1140
aagatttggc  agccccagag  atgccaactg  cagcatgccc  acctgtattc  cctgtcccct  1200
tccttcatga  aggcattctc  aggcaaggaa  aactgaagtc  attggccccg  taaaaaacat  1260
ttcctgcaac  gaaggagggtg  gtgcccagct  gctgcttccc  atcaccagca  gctgctcgac  1320
aagggggcga  ggggtgctgt  ctttgttcca  gcactgttca  ggctgcctgt  catcccgggc  1380
ctgcccagctc  ccttgagtga  tgagcacttc  caagcaccoc  tctgcccctt  ctctgtcctt  1440
atgctgtccc  ggctcgcca  gccctctggg  gcattgtggg  agatgcctgc  caggaatgag  1500
caagctctgt  tgctcgggag  cctcttgtca  ccttcttggg  cttattcccc  acctgatacc  1560
ttatagagaa  aagtgtgaa  tcaggtggag  agtaggccc  ggccccatga  ggcaccagt  1620
gaagcacagc  tccaagttca  gacaggtgcc  cttagagagg  aaaaccatga  caggcaaatg  1680
catttctctc  ggagtttgag  accctgacaa  acaacagggtg  gcatctgggtg  tgctgttctt  1740
gagtttctgt  ttaggattag  ttgagtcca  gctgggtttt  gggagaaagg  agatgtacc  1800
aagtcttggg  tgttagggcg  agaccctgca  agttgagtat  tagagagctt  gtcttcaag  1860
gcaggttctc  tgggcttcag  ggctaggagg  gaggagcctg  ccttttaac  agaaccagc  1920
tcacatgogg  tccaagtcac  tcagaggctg  ttgcatttca  gggctatgtt  ggctcttctg  1980
ttacctccta  aaccacagct  gtttgtgttt  cacatatgtt  gtgaattttc  cttgttctt  2040
tttaaaggaa  tgataataaa  gttacttctg  ttaggatttg  cttgttttct  ttccacttca  2100
gaagcttctg  agagggaaatg  ggatgatcct  accagttgcc  ttttcagacc  tgaggctcta  2160
actcaagaga  ttctctctct  ccctcaccat  tctgcccacc  atttttctg  ggtgatgcag  2220
caagagttaa  attgttcaca  ttctagaatg  tgtagaagct  tctggctcca  gttgtcta  2280
ggataattca  gctaaatagt  ggctattttc  agtggcaaga  attataataa  taaaggggag  2340
tcaaaagtga  tgcttcatat  gcccaagtg  ccacagccgc  tacgggtcag  agcttttatt  2400
ggaagaccag  gtttgccttg  atgcagccaa  agtgcgttcc  agttcaccoc  actctgtctt  2460
gtgtttcttc  tttatgtaaa  ttgtgtgatg  tttcaataaa  tcagtctctt  tcctaaaaaa  2520
aa

```

```

<210> 41
<211> 2167
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 411344CB1

```

```

<400> 41
cgccggtctt  ggggggatgg  ttccatcatg  gctcaatgc  agaaacgact  acagaaagaa  60
ctgttggctt  tgcaaatga  cccacctcct  ggaatgacct  taaatgagaa  gagtgtcaa  120
aattcaatta  cacagtggat  tgtagacatg  gaaggtycac  caggtaacct  atatgaaggc  180
gaaaaatttc  aacttctatt  taaatttagt  agtcgatata  cttttgactc  tcctcaggtc  240
atgtttactg  gtgaaaatat  tctgttctat  cctcatgttt  atagcaatgg  tcatatctgt  300
ttatccatct  taacagaaga  ctggtcocca  gcctctcag  tccaatcagt  ttgtcttagc  360
attattagca  tgctttccag  aagagacgac  caccggataa  ttctttttat  ttctttttat  420
gtgcgaacat  gtaacaagaa  tccaaagaaa  acaaaatggt  ggtatcatga  tgatacttgt  480
tgatgccact  gttatcatcc  tcttagcaga  agatagtcct  actgagaaaa  tgagcacttt  540
gatcattcag  tctttgaact  ttaacctttg  actggaagtg  acctataggc  aatgaagact  600
acttcccttt  actgcatttt  tactcgtgtg  cattctgggc  gcatgttgat  cgctggttca  660
gtccaggcaa  ctgacatgct  tttattagtc  atacagtatt  aatgcagggtg  tcaggaaatg  720
tcaaatataa  ttccattttt  tatttttatt  tttttaagct  tttgaaaag  ctccaggctc  780
tcatgtattg  tgcaataaca  atgaacttct  tggcggtttt  ggtacgttca  ttgcccggca  840
tggcggtgtg  aacaggaaaa  gttttcatta  actcctgcca  ttcaatgatt  aatgcattgt  900
agggcctatg  aaatgaacct  actggttata  gtggyaatat  aaataaagtg  agggatccaa  960
cattacttta  aaagtcacc  caactgttta  tatttggatt  ctatgcactg  tgatcctaag  1020
gttaacagca  tgaattaaca  tgcgtcttta  aaggactgta  atgaaagatc  attgcatatt  1080
tattgaattg  tttatatcta  ctgtcaagtt  gttttgacat  ggaagatttt  caagtaacct  1140
tggcagagag  gtacagtatg  ttatccctat  ggtgaaaata  aattaatttg  ttgtatatag  1200
ttctcaatc  tctgaagtaa  aggtatgagt  aatatagggt  atgaatgggt  taatcaaggc  1260
tttattttgg  aagtaagaaa  aatggcagtg  atgattaaat  tgctgcagtc  cataatttgg  1320
gcttgttatt  tgtacattaa  agatttttct  actgcctaaa  cactatttca  tttatttatg  1380
tagccatcag  catgagccct  aatcttgttt  cttttgttat  aagtcaagtt  tgaatgttac  1440
aatactttta  ttgaaacttt  tgtaagttt  tttcttgtaa  attttcttta  cttgtgagta  1500
tcacttctgc  ctttaactct  gtaccctaaa  ataagaaata  catttttgac  agaggcttaa  1620

```

```

tgttttaaca aaagagtgtg gacatthtta ttttaaaatt taggcaaaag tcactatcaa 1680
atggttgctt atttgtctca cacagccata tagthtttcc tggagggttt tgthttgttg 1740
ttgthgaaaa gactthtgctt acagctagat gaaactthct atagaaaaaa aaaatthgtg 1800
aaaggtccag ttctcagtac catgtgagtt aatgatacta caactaagtt cthtttaaaa 1860
agtgatthaa gtatthttata aattaccttt tcacataatg aaaatctgtt tctactacaa 1920
tgthatttht actaatgcct tathgtggca ctctthttga aacatctctg agthaatata 1980
tgaatcaatt tgggctthaa actgaaagcc agthgggctg aaaggtthga aatagctacc 2040
ccagthaaaac cattcaatcc athaattggt aataatthtt taaaaatggt thtaatctgt 2100
atagatgaca thttgtagct thggacatgg thgthaattaa ggggcattaa thttacactc 2160
caagtha

```

```

<210> 42
<211> 1826
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 1256390CB1

```

```

<220>
<221> unsure
<222> 1755
<223> a, t, c, g, or other

```

```

<400> 42
ccccgcctt tctatagcat agttctcttt aggtggaatg atctctataa gatttctcat 60
tattaaatca tgcattthtc aagatggaat caatctthga thtaatctaa gctgatattc 120
tcatttgtha gaagaacaac ctacatgcta gagagagagg aggaaatata cccacgacca 180
cacagccagt tagtatccag ttggtgctgg actccagcca ggtgtctctg ctcatggtag 240
thaaatgata tatagaaaag gthaaattht aaagaaatat thattaatat atctctataa 300
aacatthtaa aggttaaccac athaaaaatg thaatthttc cattccaaag thaatgctaa 360
gcatgthtat thaatgaagca gtactthtga thagtatatg acattctgaa gthaatthaa 420
ctcattgcac thaatgtgtc thctthggta tagthggagga thtgaggatt gthaatataga 480
gtagagtgct tgctthaaacc thctgctthga accctthtct ththggggat gctggttctc 540
ggagggtctg gatathgatag atctthtagc caacacagac aagagattgt ggacaagtca 600
gtgagthccat ggagcctgga gactthtcc tataacatat accacccat gggagagatc 660
tatgagthgga thgagagagat cagthgagaag tacaaggaa ggtgacaca gcatthtcta 720
ggagthgacct atgagaccca ccccatgtat thtctgaaaga tcaagccaacc atctggtaat 780
cccaagaaaa thcatthggat ggactgtgga atthcacgcca gagaatggat tgctctgtct 840
ththtgcaat ggtthctcaa agaaatthta caaaaaccata aagacaactc aagthatacgc 900
aagctcttha ggaacctgga ctthctatgtc ctthccagthc thaacataga thgthtatct 960
tacactthgga caactgatcg thctthggagg aatgcactct ggtgtagtat thgthgctct 1020
tghththggga cggatctcaa thgaaatthc aatgcactct ggtgtagtat thgthgctct 1080
agaaactgcc aagatcaaac atthctgtggg acagggccag thgtctgaaac agagactthaa 1140
gctgthtgcca gctthcataga gagcaagaag gatgathatt thgtctctct gaccatgca 1200
ththtatggg agthtaattct cacacctthc ggctacacca aaaaataatc aagthaacca 1260
ccagaatgta thcaagthgg acagaaggca gcaaatgcat thgaaagcaaa gthtggaacc 1320
aattatagag thggatcgag thcagatatt thtatgtctc catcagggtc thcaagagat 1380
thggcccgag acathgggat thctthtctca tatacgtthg agctgagtha cagthggaaca 1440
thtggtthtg thctgcccaga agctcagatc cagcccacct gthgaggagac catgagggtc 1500
gtgctgtcag thctggatga thgtgatgag aaacactggc actcggacag thctggaagg 1560
gtgacatctg ccactatgct gctgggctcg ctgggtctct ccatgtctct thctaaagt 1620
cattctgccc aggtththtt ctgcccagaaa thctctthta ththctctcc thgthaaagt 1680
thctcttgat actaattctg acathactcg thggaatthtt gctgactthc acagaththt 1740
thctctctcc thctnthaact gththgtcac actthaatgt aataatthac agactthgtg 1800
agthgagatg gatathacat gcccgtg

```

```

<210> 43
<211> 1371
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 1786774CB1

```

```

<400> 43
gcaaaaaattg ttcaaaaaa tttgtgagga ttttgattcc tatctcgttc aaatTTTTTg 60
ttcatcgtca cctcaacctg gatttgggat gtcaggggaa gaactcagtg aatctactcc 120
agagcctcaa aaagaaattt ctgagtcatt gagtgcacc agagaccagg atgaagatga 180
taaggctcca gagccaactg gggctgatga tctgcctgcc actacctcat ctgaggccac 240
caccaccccc aggccactgc tcagcaccoc tgtggatggg gcagaggatc ctagatgttt 300
ggaagccttg aagcctggaa actgtggtga atatgtggtt cgatggtatt atgacaaa 360
ggtcaactct tgtgcccgat tttggttcag tggctgtaat ggctcaggaa atagattcaa 420
cagtgaaaag gaatgtcaag aaacctgcat tcaaggatga gcaagtaa 480
ctatcaaaag catagaactc cctaatttcc acatattcac ccaatacaaa tacagcacta 540
tatttgagtg tatactgagt atttacaact tatacatgta attgaattct cactacagcc 600
ctaggatgta catattatta accacttata taggtaagaa agctgaggct ctgagaagtt 660
tagtaacttg tcaactgtca cccaactaaa aagtttcaga gctgaggatt tagacttaga 720
gctgtgtaac ttcaatacac agactctatc tacttcaaaa cctgcaatgt gattctgatt 780
cctttaattc ctgttgtatg tactatgtca gctcaaaacc ctaccctgt cctgcccatt 840
acctccacco actcacctcc ctaacctcct tatgtccctc acagtagcaa gatgtagggt 900
ataggaagga ctccggtgtg agaattagaa atgatgtaaa tgtttacgca ggagtctgg 960
gataggagtc gggatggtga gggtagttag atttttgcct cacttgcctt gaaagtggt 1020
atagggagaa accaatctga attacaatta cttaaatgta tcacagactg tcactttgta 1080
ttcctccaac atgtttggtg acaagtgcct aatgtatggt aaaataaaga aggtttttt 1140
accttccat taaaatatgt cagtgggccc ttccatttta tggagtggaa tgggaaggcc 1200
cttgacagcc aggaaccact tgaagctggc atccactctt gaacagagag tattaagac 1260
aggattcaca ctgaaaagtg agccacaaa ttgaaatgcg agtaatggag agtaacggag 1320
aatcgcttga cctggggaag cagaggttgc agagagccgg gattgcccga g 1371

```

<210> 44

<211> 3634

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc\_feature

<223> Incyte ID No: 1911808CB1

<400> 44

```

cggcgccagc tggcgccgac aggtgattga ctggccagct gcctgaagga gcgccaggtc 60
ctccttctg gcaggtggcg aagccattg gggcgccggt gcagaccgag gcgccggctg 120
cggcggtctg gctcgggagg cgttcctggg gcccaaggcca tggccccgag gctgcagctg 180
gagaagggcg cctggcgctg ggcggagacg gtgcggcccg aggaggtgtc gcaggagcat 240
atcgagaccg cttaccgcat ctggctggag ccoctgcatto cggcgctgtg cagacgaaac 300
tgcaaaagga atccgaattg cttggtgggt attggtgagc atatttgggt aggagaaata 360
gatgaaaaa gttttcataa catcgatgat cccaactgtg agaggagaaa aaagaaactca 420
tttctgggce tgactaacct tggagccact tgttatgtca acacatttct tcaagtgtgg 480
tttctcaact tggagcttcg gcaggcactc tacttatgtc caagcacttg tagtgactac 540
atgctgggag acggcatcca agaagaaaaa gattatgagc ctcaacaat ttgtgagcat 600
ctccagtact tgtttgcctt gttgcaaaac agtaataggc gatacattga tccatcagga 660
tttgttaaa ccttgggccc ggacactgga caacagcagg atgctcaaga attttcaaa 720
ctctttatgt ctctatttgg agatactttg tetaacccaaa agaateccaga tgtcgcgcaat 780
attgttcaac agcagttctg tggagaatat gcctatgtaa ctgtttgcaa ccagtgtggc 840
agagagtcta agcttttgtc aaaaatttat gagctggagt taaatatcca aggccacaaa 900
cagttaacag attgtatctc ggaatttttg aaggaagaaa aattagaagg agacaatcgc 960
tatttttggc agaactgtca aagcaaacag aatgcaacaa gaaagattcg acttcttagc 1020
cttcccttgc ctctgaactt gcagctaatt cgttttgtct ttgacaggca aactggacat 1080
aagaaaaagc tgaataceta cattggcttc tcagaaattt tggatatgga gccttatgtg 1140
gaacataaag gtgggtccta cgtgtatgaa ctcagcagcag tccatcatac cagaggagtg 1200
agtgttatt ctggccacta catcgcacc gtgaaagatc cacagtctgt tgaatgggtat 1260
aagtttaatg atgaagacat agaaaagatg gaggggaaga aattacaact agggatgtgag 1320
gaagatctag cagaaccttc taagtctcag acacgtaaac ccaagtgttg caaaggaact 1380
cattgtcttc gaaatgcata tatgttgggt tatagactgc aaactcaaga aaagcccaac 1440
actactgttc aagtccagc ctttcttcaa gagctggtag atcgggataa ttccaaattt 1500
gaggagtggg gtatgaaat ggctgagatg cgtaagcaaa gtgtggataa aggaaaagca 1560
aaacacgaag aggttaagga gctgtaccaa aggttacctg ctggagctga gccctatgag 1620
tttgtctctc tggaaatggc gcaaaagtgg ttggatgaa caacacctac caaacctatt 1680
gataatcacg cttgctgtg ttcccatgac aagcttcacc cggataaaat atcaattatg 1740
aagaggatat ctgaaatagc agctgacatt ttctatagta gatatggagg aggtccaaga 1800
ctaactgtga aaagcctgtg taaggaatgt gtagtagaac gttgtcgcac attgctctg 1860
aagaaccaac taaatgaaga ttataaaact gttataaatc tgctgaaagc agcagtaaa 1920

```

```

ggcagcgatg gattttgggt ggggaagtec tccttgogga gttggcgcca gctagctctt 1980
gaacagctgg atgagcaaga tgggtgatgca gaacaaaagca acggaaaagat gaacggtagc 2040
accttaaata aagatgaatc aaaggaagaa agaaaagaag agggaggaatt aaattttaat 2100
gaagatattc tgtgtccaca tgggtgagtta tgcatactcg aaaatgaaag aaggcttggt 2160
tctaagagg cttggagcaa actgcagcag tactttccaa aggcctctga gtttccaagt 2220
tacaaagagt gctgttcaca gtgcaagatt ttagaaagag aaggggaaga aaatgaagcc 2280
ttacataaga tgattgcaaa cgagcaaaaag acttctctcc caaatttggt ccaggataaa 2340
caaaagctct ttgttggtga gaaatttggt agaaagccta caagatgcag ccctgtgtca 2400
ttctttgtag aagagtggcg gaaatttggt agaaagccta caagatgcag ccctgtgtca 2460
tcagttggga acagtgcctc tttgtgtccc cacgggggcc tcatgtttac atttgcttcc 2520
atgaccaaaag aagattctaa acttatagct ctcatatggc ccagtgagtg gcaaatgata 2580
caaaagctct ttgttggtga aaaatcacga gaattgaagt ggggatgta 2640
aaccttcoag aaacacagta tattcttgag cccaaactct gtccagaatg cagagaaggc 2700
ttattgtgtc agcagcagag ggacctgcgt gaatacactc aagccaccat ctatgtccat 2760
aaagttgtgg ataataaaaa ggtgatgaag gattcggctc cggaaactga tgtgagtagt 2820
tctgaaacag agggagacaa ggaagaagct aaaccagatg gagaaaaaga tccagatttt 2880
aatcaaatca tgcattgcatt ttcagttgct ccttttgacc agaatttgte aattgatgga 2940
aagattttaa ttgatgactg tgccacccta ggcacccttg gcgtcattcc tgaatctgtc 3000
attttattga aggtgatgta accaattgca gattatgctg caatggatga tgtcatgcaa 3060
gtttgtatgc cagaagaagg gttaaaaggt actggtcttc ttggacatta atctttgaa 3120
acttgctgac tgtaagaaa tgaccagagg ggaagaggag tttgacatgt tagggcatta 3180
aagtaaaagt ggatttaaga attaaacctc tacatgccc ttccaaaagg cagaaaatcca 3240
ttcaaacgtg actgtcccaa atgccttatg tcaaaataag cagattgcac tgatggacat 3300
cagactgtaa ggaatgttt ccaattttat atttaagggg ggtggtgggt gggagggggc 3360
aagtaaaagc gaaacaagtt tagtagcagt aatagtaaat catgtttaca tatgagattt 3420
atagtcgtgg gaggggaata aagttctggt atatttccct gctcaggttt cataccagat 3480
gcgttggtcc ataaaggatt gtatcaagta gatgggacaa cattctgctc tgaacgaaaa 3540
gtaattttag agacataacc tgcttaccaa tgctgtctt tgatccatat tctactttca 3600
ataaagcatg aaagtgaaga acttgtaaaa aaaa 3634

```

```

<210> 45
<211> 1661
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 1973875CB1

```

```

<400> 45
ctcagaccga ttccgctcga ggcggactgg tctccggcgg ggcaccgtcg cgggcccccc 60
tggccccggc acctgggacc gtgctgggga gtctgcccact tcctctctc ccctggcccg 120
caaagttttg gcgaccatcg cgctggggct gaggcgcgcc ccggggggag atcggggagc 180
gcccgatgcc ggcggccggg agccattgac ccgggacgcc ccgctccgct gagcagccga 240
ccacccccgc gctcgggtg catggggact ggctgaggag ccagcatggg caactgcgtg 300
gggagacagc gcggggagag gccggcagcc ccgggacacc ccgcaagcg agcaggacgc 360
aatgagcccc tgaagaaaga ggggcttaag tggaaagagc actaccctat gactgacggg 420
cagctgcgga gcaaacggga tgagttctgg gacacagcgc ctgctctcga gggccgcaag 480
gagatctggg atgcctcaa ggetgocgcc fatgctgctg aagccaacga ccacgagctg 540
gcccaggcca tctggatgg agccagcctc acctgcctc atggcaacct ctgtgaaatg 600
tacgatgagc tgggcaatcg ctaccagctg cccatctact gcctgtcacc gccggtgaac 660
ctgctgctgg agcacacgga ggaggagagc ctggagcccc ccgagcctcc acccagcgtg 720
gcgctgagtg tcccctgtaa ggtgcgcttg tccacgggca aggacgtgag gctcagcgc 780
agcctgcccc acacagtggg gcagctcaag aggcagctgc acgcccagga gggcatcgag 840
ccatcgtggc agcgggtggt cttctccggg aagctgctca cagaccgcac acggctccag 900
gagaccaaga tccagaaaga ttttgcctc cagggtcata tcaaccagcc cccaccacc 960
caggactgat gggcccacgg acccctggga agaggcccc cctggagcac taggccccca 1020
ccctgctgct gcctccagtg gctgtcattt tottcagggg cctcccccctc ggtgtggctg 1080
gtgggtgagc cgtgaaggga ccctgccttt oagggcacta cgcgccacca gttcccggta 1140
cccagggagc aggcagccac acacgggctt tgcaaccttg tcagagaaaa ggcgaaacag 1200
gccctcacc ctgctgtctc ccgaagcagg ttcgagccac aagggccaac caggagccc 1260
ctggagcccc gatctgtcat ctggtgctgc cagctgtgct cactctggtt ttctgtctag 1320
ggtctgaagc agctgctgtc tccctctctc gcccccctcc cctggctctc ccctgggca 1380
agtgccactc ccttgggaagg gagggaaacca ccgctgagcc ccagggcttg ggaagcctga 1440
ggcgggctct tgccctctcc tgccccagc acaattggca gagatgagge ggggtggtgga 1500
cggctggctc gtctggtgag ggtctgcaca gggccatgct ctggctgtaa cccaggcagt 1560
gggaggctct cagcctggctc atggcctcca cagcaggtcc ctgtggacag acatatctgc 1620

```

atatttatca ataaagcctt ttgctccttc aaaaaaaaaa a 1661

<210> 46
<211> 1910
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc\_feature
<223> Incyte ID No: 2323917CB1

<400> 46
gtactccgcg cgcagccctg gcggtccagc gccaatctcc agaactctgt ctccagaaac 60
attattctaa tctgtgtatg gaaaaatccc agaaaattaa tccttttata ttgcatatac 120
tccaagaagt ggatgaagaa attaaaaagg ggctagcagc aggaatcaca ttaaacattg 180
ctggtaacaa tcgcttagtg ccagtagaaa gagttacagg tgaagatttt tggattcttt 240
ccaaaatfff aaagaattgt ctgtatatta atgggttggg tgttggatat aaccttctat 300
gtgatgttgg tgcatactat gctgcgaaac tgcttcagaa acaacttaat ctcatctact 360
actgtgatct gggaatgcaa agtgtgatag catttgcctc agtactaact caaaaccaag 420
ataagaatcg gactctgaaa tacctaagaa tgactggaaa caaaattgaa aataaagggt 480
gaatgttttt tctgtcaatg ctgcaaatca attcatcatt agagaaatta gatctgggtg 540
actgtgatct gggaatgcaa agtgtgatag catttgcctc agtactaact caaaaccaag 600
caattaaagg aataaaccta aaccgacctc tactgtacgg tgaacaggaa gagtctacag 660
tccatgtagg cctcatgttg aaagaaaatc actgtcttgt tgcactacac atgtgtaagc 720
atgataataa aaacagtgtt atacaacagt tatgtgatgc actgtatctg aacagttagc 780
tgcgctacct tgatgtcagc tgcaacaaaa taactcatga tggaatgggt tatttggctg 840
atgtactgaa aagcaaacct accctgggaag taatagatct tcctttaaac agaatagaaa 900
atgcagggcg aaactatctc agtgaactc ttacttcaca caacaggagt cttaaagcgt 960
tgctcagtag cagcaacaac atagagggag aaggacttgt tgcactttca caatcaatga 1020
aaacaaatct ccttttctct catatctaca tttggggaaa caaatttgat gaggctacgt 1080
gtatagcata ttcagactta attcaaattg gttgtctaaa accagacaat acagatgtgg 1140
agccatttgt ggtagatgga cgtgtatatc ttgcagaagt ctccaatggc cttaaaaaag 1200
attattattg gacatcaact tatggagaat ctatgacca ctcatctaat gcaggttttg 1260
ctcttgttcc agtaggtcaa cagccatgaa aaagtagctg taaaataatt ttcatacact 1320
tgtcttattg ttcacagag attaatattc tatagcctat tttcttttat aaattaaaac 1380
aagttacttt ttcaaaatgt gtaaagata atgactgtat taaactttgt ataactgtca 1440
aaaaaaaaaa aaagggggcg gccccgatta gtgagctcgt ccccggggtt atttactccc 1500
ggggcccggt ccttggggg gggttaacca gtctttccgc caaggggtgt gtcctgtata 1560
tacaggcgct ttggaaagag aagtcgtgct gtcctggggc tcttctctct gtcggagggc 1620
atcttactcg tctgtcccgc ctggtgtaat atagtaccgc cacgctgttg gtccgtggta 1680
tgttgaaaat aagtgtcttg tggagtctcg ctcggtgttg gacgtaggta gatcctcgca 1740
gacgttctca tatcggttg gcgttggctg tggccccgt tcccgtggtt gtgttgtcga 1800
ggtagtgttg ttgcacctgt atttatattg gtcctccgc cgcgggggtt ggaggcgtgg 1860
ttggtttagt agctcgtggc ggttgttgtg ttcctcaacc cacacacaat 1910

<210> 47
<211> 2162
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc\_feature
<223> Incyte ID No: 2754960CB1

<400> 47
gacagcgcaa cgcactcca gcctggacga cagaatgaga ctccgtctca aaaaaaaaaa 60
aaaaaaaaaa aagcaggggc tggaagtctg gagcaggtgc gcggctgcaa cggcagccgc 120
gggaagctcg gcccgccagg gtttcccgc acgctggcgc ccagctcccg gcgcgaggc 180
cgctgtaagt ttcgctttcc attcagtgga aaacgaaagc tggcggggtt gccacgagc 240
cggggccaga ccaaggcggg ccgggagcgg aacttcggtc ccagctcggg cccccgctca 300
gtcccagcgt ggaactcagc agcggaggct ggacgcttgc atggcgcttg agagattcca 360
tsgtgcctgg ctacataag cgcttccctg aagtgaagtc gtgctgtcct gaacgcgggc 420
caggcagctg cggcctgggg gttttggagt gatcacgaaat gagcaaggcg tttgggctcc 480
tgaggcaaat ctgtcagtc atcctggctg agtctctgca gtccccgca gatcctgaag 540
aaaagaagga agaagacagc aacatgaaga gagagcagcc cagagagcgt cccagggcct 600
gggactacc tcatggcctg gttgttttac acaacattgg acagacctgc tgccttaact 660
ccttgattca ggtgttcgta atgaatgtgg acttcaccag gatattgaag aggatcacgg 720

```

tgcccagggg agctgacgag cagaggagaa gcgtcccttt ccagatgctt ctgctgctgg 780
agaagatgca ggacagccgg cagaaaagcag tgcggccctt ggagctggcc tactgcoctgc 840
agaagtgcaa cgtgcccttg tttgtccaac atgatgctgc ccaactgtac ctcaaactct 900
ggaacctgat taaggaccag atcaactgatg tgcacttgggt ggagagactg caggccctgt 960
atacgatccg ggtgaaggac tccttgattt gcgttgactg tgccatggag agtagcagaa 1020
acagcagcat gctcaccctc ccactttctc tttttgatgt ggactcaaag ccctgaaga 1080
cactggagga cgcctgcac tgcttcttcc agcccaggga gttatcaagc aaaagcaagt 1140
gcttctgtga gaactgtggg aagaagacc gtgggaaaca ggtctgaag ctgacctt 1200
tgcccagac cctgacaatc cacctcatgc gattctccat caggaattca cagacgagaa 1260
agatctgcca ctccctgtac tccccccaga gcttggattt cagccagatc ctccaatga 1320
agcgagagtc ttgtgatgct gaggagcagt ctggagggca gtatgagctt tttgctgtg 1380
ttgcgcacgt gggaatggca gactccggtc attactgtgt ctacatccgg aatgctgtgg 1440
atggaaaatg gttctgcttc aatgactcca atatttgcct ggtgtcctgg gaagacatcc 1500
agtgtaccta cggaaatcct aactaccact ggcaggaaac tgcatactt ctggtttaca 1560
tgaagatgga ctgctaattg aatgcccaa aaccttcaga gattgacacg ctgtcatttt 1620
ccatttccgt tcctggatct acggagtctt ctaagagatt ttgcaatgag gagaagcatt 1680
gttttcaaac tatataactg agccttattt ataattaggg atattatcaa aatattgtaac 1740
catggagccc ctcaagtcct gatcagtcag aatggatgct ttcaccagca gaccggcca 1800
tgtggctgct cggctcctggg tgctcgtctg tgtgcaagac attagccctt tagttatgag 1860
cctgtgggaa cttcaggggt tcccagtggt gagagcagtg gcagtgaggag gcatctgggg 1920
gccaaaggtc atgtggcagg ggtatttccag tattatacaa ctgctgtgac cagactgtga 1980
tactggctga agtcatgtgc tgtttgtaat ttttccctt gagaaccaac attaattcca 2040
tatgaaatcaa gtgttttgta actgctatcc atttattcag caaatattta ttgatcatct 2100
cttctccata agatagtgtg ataaacacag tcatgaataa agttattttc cacaaaaaaa 2160
aa

```

<210> 48  
<211> 578  
<212> DNA  
<213> Homo sapiens

<220>  
<221> misc\_feature  
<223> Incyte ID No: 3092341CB1

```

<400> 48
gaaaggccca cctgtgtcct ggttgagggt ctccagggtt ctttggggcc cgaggaattt 60
cagacctgaa caatcagggt gacaactctt tgtgactttg ggtattctga aattactcat 120
ctgactctta ctgtgcctgg atgtagctgt gtgttttgtg tgtatcctgt tcatggccaa 180
tggtgccaga gtctacatag aactatgctt cgtgggtgtt tggggaaaac ctttcgactt 240
gttggtctata ctattcaata tggctgtata gctcattgtg cttttgaata cgttgggtgt 300
gttgtcatgg tgccaatggg tcatgtttgg ttagaagggtg acaatctaca gaattctaca 360
gattccaggt gctatggacc tattccatat ggactaataa gaggacgaat cttctttaag 420
atltggcctc tgagtgattt tggattttta cgtgccagcc ctaatggcca cagattttct 480
gatgattagt aagcatttat tcttttgact tgattattgt ctcttttca tgtgaattta 540
ttactccgct tgaaacctgt tacttaccaa taaactat
578

```

<210> 49  
<211> 1300  
<212> DNA  
<213> Homo sapiens

<220>  
<221> misc\_feature  
<223> Incyte ID No: 3658034CB1

```

<400> 49
agggatccc aattatgagg cggttaagca ggcaaagaaa tagcttgggt ggttttgcatt 60
ctactcagga taccactgtg gotttaaagg ctgtctgaat ttgcagccct aatgaatata 120
gaaaggacaa atatccaagt gaccgtgacg gggcctagct caccaagtc tgtaaagt 180
ctgattgaca cacacaaccg ctactcctt cagacagcag agcttctctg ggtacagcca 240
acggcagtta atatttccgc aaatggtttt ggatttgcata tttgtcagct caatgttcta 300
tataatgtga aggcctctgg gtcttctaga agacgaagat ctatccaaaa tcaagaagcc 360
tttgatttag atgttctgtg aaaagaaaaa aaagatgatc tcaatcatgt ggatttgaat 420
gtgtgtacaa gcttttccgg cccgggtagg agtggcatgg ctcttatgga agttaacct 480
ttaaagtgct ttatggtgcc ttcagaagca atttctctga gcgagacagt gaagaaagt 540
naatatgatc atgaaaaact caacctctat ttagattctg taaatgaaac ccagtttctg 600

```

```

gttaatatc ctgctgtgag aaactttaaa gtttcaaata cccaagatgc ttcagtgtcc 660
atagtggtt actatgagcc aaggagacag gcggtgagaa gttacaactc tgaagtgaag 720
ctgtcctcct gtgacctttg cagtgatgtc cagggctgcc gtccctgtga ggatggagct 780
tcaggctccc atcaccactc ttcagtcatt ttatatttct gtttcaagct tctgtacttt 840
atggaaactt ggctgtgatt tatttttaaa ggactctgtg taacactaac atttccagta 900
gtcacatgtg attgttttgt tttcgtagaa gaatactgct tctattttga aaaaagagtt 960
ttttttcttt ctatgggggt gcagggatgg tgtacaacag gtccctagcat gtatagctgc 1020
atagatttct tcacctgac tttgtgtgga agatcagaat gaatgcagtt gtgtgtctat 1080
attttccctt ctcaaaatct tttagaattt ttttggaggt gtttgttttc tccagaataa 1140
aggattactt ttagaatagg tattctcctc attttgtgaa agaaatgaac ctgattctct 1200
aagcattatt acacatccat gtttgcctaa agatggattt ccttgggaat gggagaaaaa 1260
agccagcagg aggagcttca tctgttccct tcccactcc 1300

```

```

<210> 50
<211> 2241
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 3883861CB1

```

```

<400> 50
gtccccgag ccgggtgca ccggaggcgg cgagatggtc gcgcgctcg gcctcctgtc 60
gcgcgcccctg cagctgctac tgtggggcca cctggagcgc cagcccgcgg agcgcggagg 120
ccaggagctg cgcaaggagg cggaggcatt cctagagaag tacggatacc tcaatgaaca 180
ggtccccaaa gctcccacct ccactcgatt cagcagatgcc atcagagcgt ttcagtgggt 240
gtcccagcta cctgtcagcg gcgtgttggg ccgcgccacc ctgcgccaga tgactcgtcc 300
ccgctgcggg gttacagata ccaacagtta tgcggcctgg gctgagagga tcagtgactt 360
gtttgctaga caccggacca aaatgagggc taagaaacgc tttgcaaacg aaggtaacaa 420
atgggtacaag cagcacctct cctaccgctt ggtgaactgg cctgagcctc tgccggagcc 480
ggcagttcgg ggcgcctgct gcgcccctt ccagttgtgg agcaacgtct cagcgttggg 540
gttctgggag gcccagccca caggcccgcg tgcacctctc tccaagggga 600
ccacaacgat gggctgggca atgccttga tggcccaggg ggcgccttgg cgcacgctt 660
cctgcccgcg cgcggcgaag cgcacttcga ccaagatgag cgctggctcc tgagccgccg 720
ccgcgggcgc aacctgttcc tgggtgctgg gcacagatc ggtcacacgc ttggcctcac 780
cactcgcctc ggcgcgcgct cgtctatggc gccctactac aagaggtggg gccgcgacgc 840
gctgctcagc tgggacgacg tgcctggcctg gcagagcctg latgggaagc cctagggggc 900
ctcagtgccc gtcagctccc caggaaaact gttcactgac tttgagacct gggactccta 960
cagcccccaa ggaaggcgcc ctgaaaacga gggccctaaa tactgccact cttccttcca 1020
tgccatcact gtagacagcc aacagcaact gtacatttt aaagggagcc atttctggga 1080
ggtggcagct gatggcaacc tctcagagcc cgtccactg caggaaagat gggctcgggt 1140
gcccccaaac attgaggctg cggcagtgct attgaatgat ggagatttct acttcttcaa 1200
agggggctga tgcctggaggt tccggggccc caagccagtg tgggtctcc cacagctgtg 1260
ccgggcaggg ggctgcccc gccatcctga cgcgcctc ttttccctc ctctgcgccg 1320
cctcatcctc ttcaaggggt cccgctacta cgtgctggcc cgagggggac tgcaagtggg 1380
gcctactac cccgaagtc tgcaggactg gggaggatc cctgaggagg tcagcggcg 1440
cctgcccagg cccgatggct ccatcatctt ctccagatg gaccgctact ggcgcctcga 1500
ccaggccaaa ctgcaggcaa ccacctcggg ccgctgggcc accgagctgc cctggatggg 1560
ctgctggcat gccaactcgg ggagcgcctt gttctgaagg cactcctca cctcagaaac 1620
tggtgggtgct ctcagggcaa aatcatgttc ccaccccgg gggcagaacc cctcttagaa 1680
gctctgagct ccctctgcag aagaccgggc agcaaaagct ccatctggaa gtctgtctgc 1740
ctttgttctt tgaagaatgc agcattgtct ttgtctgtcc ccaccacatg gaggtggggg 1800
tgggatcaat cttaggaaaa gcaaaaaagg gtcccagatc ccttggccct tctctccgag 1860
gacttctatc ctcccagggc ctttgttctc tcggctaaag gtacagttcc tttcaagagg 1920
taacagcact gggatccaag cagggggatg aaaaactcag cagagaaatt cgagaccatt 1980
ttgcaagact gtgcccctct cctcaggacc cctggctca gttcttgaaa aacggtgtca 2040
tatttagtca gaggccccac cccaggaag catggatggg gatgaaggca caggcgtctc 2100
caacctcaga ggccctttgt ggggtcagga cacagagtgg gaggagact gatgcaggcc 2160
taccagtcct tggctttttg tctggggctg gaataaagag gtgccttcag ctggtgggcc 2220
gagaggcagg aaaaaaaaaa a 2241

```

```

<210> 51
<211> 1860
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 4993873CB1

<400> 51  
 agaattgacc tgacaaatat tgaccagggt gctgtgatct tcaaacacca ttttctgtg 60  
 ggtagagggt atgcagtgt gaagacctgg gcccctgtct agtgcctttg ctctagaatg 120  
 ggtccagctt ggctttggct actgggaaca gggatcctgg cctctgtcca ctgtcagccc 180  
 cttcttggcc atggagataa aagtctgcag gggcctcaac cccccaggca tcagctctca 240  
 gagccagccc cgcctacca cagaatcaca cccaccatta ccaattttgc tttgcgtttg 300  
 tataaagagc tggcagcaga cgcctccgga aacatcttct tctcgcagc gagcatctcc 360  
 accaccctgg cctctgtctc tcttggggcc caagctaac cctcagctct gatcctggag 420  
 ggctgggat tcaacctcac agaaaccct gaagccgaca tccaccaggg ctccggagc 480  
 ctctccaca ccttgcctt gccagcccc aaactcgaac taaaagtagg aaactcctg 540  
 ttcttagaca agcactaaa gcctcggcag cactatttgg acagatcaa ggagctttat 600  
 ggagcttttg cttttctgtc caacttcaca gattctgtta caactgggag gcagattaat 660  
 gactatttga gaaggcaaac atacgggcaa gtcgtggact gcctccgga gttcagccag 720  
 gacacgttca tggttctgtc caattacatc ttcttcaaag ccaagtggaa gcaccctttc 780  
 agtcgctacc agaccagaaa gcaggcaagt ttctttgtgg atgagaggac ttctctccag 840  
 gtcccatga tgcacaaaa ggaatgcac agattcctct atgaccagga tttggcttg 900  
 actgtctctc agatagaata cagaggaaat gccttggcgc tgcctggctc ctctgaccg 960  
 gggaaaaatga agcaggttga ggctgtctct cagccacaga ccttgagaaa atggggccaa 1020  
 ttgtctctgc ccagtctgtt ggatttgcac ttgccaagt tttcaatttc tggaaatat 1080  
 aacctggaag acatacttcc ccaaatggg ctcaaccaca tactcaactt agaagctgac 1140  
 ttctcaggag tcaactggca gctcaacaaa accatctcca aggtgtcaca caaggcagatg 1200  
 gtggacatga gtgagaagg gaccagggcc ggggtctgtt caggcctct ctcccagccc 1260  
 ccctctctga acaccatgtc agaccacat gcccaactca acaggccttt cctcttctc 1320  
 ctttgggagg tcaccacca gagcttactc ttctgggaa aagtgttcaa cccagttgca 1380  
 gggtaacat gttgggaggc caggagttat cttatctcat cctggaccaa acagatagtc 1440  
 cagaaccagc ctgcctctg gggctgtctat gtggttcagt taatcagttt gccaaagattc 1500  
 taataaagtt gaccttgggt tctgtgaaaa aaaaaaaaaag aacaaccaac gcataaagtt 1560  
 gcgccgtaaa ggatgctgaa agcaaatacc cgggtttgcc cgtccaaatt taacataagg 1620  
 ggggggcccg agtacagaa ggtccctcag agtgtgtttg atggcctgc actgatggc 1680  
 gggggggcgg agagagtttt tacgcatctt tgcacgtgtt agcaccggg gggggggggc 1740  
 ccataggacc cccggagctg gaggtttgtt ttgcgcccgc actcttgggg ggggttttat 1800  
 gaccgacttt tagtggcaca aactgtgggg cttctcatat gtgtgcgcgc gcttctgttt 1860

<210> 52  
 <211> 550  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 5208004CB1

<400> 52  
 ggcgggtggc tggaggacac ggtgtaggcc ttgccgctgt ctgggttctt cggcactgca 60  
 ggagcaggac tgtttctgga aacctgggc tgcgtgtgac cgtcaaact tctcccaca 120  
 attctgaatc cgagaaagt aaggaaggat ggtggggaag tgaggaggca ggagcagagg 180  
 ccacagggac cgaccagaga tgcggtggag acagaggagc ttcttctca ggctgtttct 240  
 gggaaagcctg agaggcggcc agcaccacc tccgctcact ctcccctcag cctctctgct 300  
 tcccttctca accctttctc tctctctgct ctcttccctt tcttctgtc ttgttagtcc 360  
 ctgtcccaaa actcctggct cctttgttct gctgcctgtg cccccacca ggaggaggtc 420  
 tcaggcacca tccccccac gagggatcca cacaacaggt tcatgctggg gctgggggag 480  
 ccccgctggg ttctgatgc cttgtgcaca ggaagtgtc gcagtcattt ttggaactctc 540  
 ctgaatgtgt 550

<210> 53  
 <211> 2597  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 5267783CB1

```

<400> 53
gcctggttgg gcgcgctcct tctgctgccc cgcgcgggtg caggcctcgc cgcgagccgc 60
aggtgtcctg gagtctggcc caggacctgg cccacagga gtcccagcag gggtagctcc 120
tcccgggaca aggaccgaag tgcgacggtc agtagttcag tgcccatgcc tgctggaggg 180
aaaggaaagg atccttcac taccaccagc aggggtccca accgcctgat ccacgagaag 240
tcaccatacc tctacaaca tgcctacaat cctgtggact ggtaccctcg gggagaggaa 300
gccttcgaca aggccaggaa gaaaacaag ccgattttcc tctcagtcgg gtactccacc 360
tgccactggt gccacatgat ggaagaggag tccttcacaga atgaggagat tggcgcctcg 420
ctcagtgagg actttgtgag tgtgaaggta gacctgagg agcggcctga cgtggacaag 480
gtgtacatga cgttcgtgca ggccaccagc agcggcgggg gctggcccat gaatgtgtgg 540
ctgactccca acctccagcc ctltgtcggg ggcacctatt tccctcctga ggatggcttg 600
acccgagtcg gcttccgcac agtgttgctg agaatacgag aacagtgga acagaacaag 660
aacaccctgc tagaaaaatg ccagcgtgtc accactgccc tgctggcccc atcagagatc 720
agcgtgggtg accgccagct gccgccctct gccgccaccg tgaacaatcg ctgcttcag 780
cagctggatg agggctatga tgaggaatac ggtggcttcg ctgaggcccc caagtttccc 840
acgcgggtg tctgagctt cctgttctcc tactggctca gccatcgact gactcagat 900
ggctctcggg cccagcagat ggccttgcac accctgaaaa tgatggctaa cgggggcatc 960
cgggaccatg tggggcaggg ctltcaccgc tactccacag accgccagtg gcacgtccct 1020
cactttgaga agatgctcta tgaccaggca cagctcgtcg tggcctattc gcaggccttc 1080
cagctcctcg gtgatgaatt ctactctgac gtggccaaa gcatcctgca gtactgtgct 1140
cggagcctga gccaccggtc cggaggcttc tatagcgcag aagatgcaga ctgccccca 1200
gagcggggcc agcggcccaa agagggcgcc tactatgtgt ggacggtaa agaggttcag 1260
cagctcctcc cggagcctgt gttgggtgce accgagccgc tgacctcagg ccagctcctc 1320
atgaagcact accgacctca agaggtggt aacatcagcc ccagtcagga cccaagggg 1380
gatgctcagg gccagaatgt gctgaccgtc cggtactcgc tggagctgac tgctgcccgc 1440
tttggcttgg atgtggaggc cgtgcggacc ttgctcaatt cagggtgga gaagctcttc 1500
caggcccgga agcatcgcc caagccgcac ctggacagca agatgctggc tgctggaat 1560
ggcttgatgg tgtcaggcta tgcctgtgact ggggtctgccc tgggccaaga caggctgatc 1620
aacttgcca ccaatggtgc caagttctcg aagcggcaca tgtttgatgt ggcagtggc 1680
cgctgatgc ggacctgcta caccggcctc ggggggacty tggagcacag caaccacc 1740
tgctggggct tctggagga ctaccgcttc gtgggtcggg gctgctgga cctgtatgag 1800
gcctcacagg agagtgcgtg gctcgagtgg gctctcgccc tgcaggacac acaggacagg 1860
ctcttttggg actcccaggg tggcggctac ttctgcagtg aggctgagct gggggctggc 1920
ctgcccctgc gtctgaagga cgaccaggat ggagcagagc ccagcccaa ttcctgtgca 1980
gccacaacc tgctccgct gcatggcttc accggccaca aggactggat ggacaagtgt 2040
gtgtgcctat agcagcctt ttccgagcgc atgcgtcgtg tcccgtggc gttgcccgag 2100
atggtccggc cctctcagc ccagcagcag acctcaagc agatcgtgat ctgtggagac 2160
cgtcaggcca aggacacca ggcctggtg cagtcgctcc actctgtcta cattcctaac 2220
aagggtctga tctggctga tgggaccctc tcgagctcc tgtcccga gctgccttc 2280
ctgagtacc tccgacggtt ggaagaccag gccactgcat atgtgtgtga gaatcaagcc 2340
tgctcagtcg coactactga tccctgcgaa ttaccgaaa tactacatcc atgactgccc 2400
caaccctctt ggggtgggc agaaggtgaa gcatcccac tgactagaga ctcaggcct 2460
gcagggcctt atagaacctg tggccatccc tgagcaccct gccaccaggt gacctggcc 2520
atactactg ccccccttg gcacccactc acctagaat aaacttaaca gtgtcccgtg 2580
gtaaaaaaaa aaaaaaa 2597

```

```

<210> 54
<211> 2385
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 5583922CB1

```

```

<400> 54
gaccgaccgg ccaccgcgg tagccggcgc gccctggca ctcaatcccc gccatgtggg 60
ggctcctgct gcacctggcc gcttcggcgc cggcctcgg cccggctctg ggggcgcca 120
ggaaactcgg gctgggctc gcgcagcccg ggaccacca ggtcccaggc tgcacccg 180
ccctgcatag cagcccgca cagcccgcg cggagacagc taaccggacc tcagaacagc 240
atgtccggat tgcagtcac aagaagaaaa aggtcattat gaagaagcgg aagaagctaa 300
ctctaactcg cccaccoca ctggtgactg cggggccctc tgtgacccc actccagcag 360
ggacctcga ccccgctgag aaacaagaaa caggctgtcc tctttgggt ctggagtccc 420
tgcgagtctc agatagccgg cttgaggcat ccagcagcca gtcccttgggt cttggaccac 480
accgagcagc gctcaacatt cagtcaggcc tggaggacgg cgatctatat gatggagcct 540
gggtgtcctga ggagcaggac gccgatccat ggtttcaggt ggacgctggg caccaccacc 600
gcttctcggg tgttatcaca cagggcagta actctgtctg gaggatgac tgggtccatc 660

```

catacaaggt	ccagttcagc	aatgacagtc	ggacctggtg	gggaagtagg	aaccacagca	720
gtgggatgga	cgcagtatth	cctgccaatt	cagaccocaga	aactccagtg	ctgaacctcc	780
tgccgggagcc	ccaggtggcc	cgcttcattc	gcctgctgcc	ccagacctgg	ctccaggggag	840
gcgcgccttg	cctccgggca	gagatcctgg	cctgcccagt	ctcagacccc	aatgacctat	900
tccttgaggc	ccctgcgtcg	ggatcctctg	accctctaga	ctttcagcat	cacaattaca	960
aggccatgag	gaagctgatg	aagcaggtac	aagagcaatg	ccccaacatc	acccgcatct	1020
acagcattgg	gaagagctac	cagggcctga	agctgtatgt	gatggaaatg	tgggacaagc	1080
ctggggagca	tgagctgggg	gagcctgagg	tgcgctacgt	ggctggcatg	catgggaaag	1140
aggccctggg	gcgggagttg	cttctgctcc	tgatgcagtt	cctgtgccat	gagttcctgc	1200
gagggaaacc	acgggtgacc	cggctgctct	ctgagatgcg	cattcacctg	ctgcccctcca	1260
tgaacctgga	tggctatgag	atgcctacc	acoggggttc	agagctggtg	ggctgggccc	1320
agggccgctg	gaacaaccag	agcctcgatc	ttaaccataa	ttttgctgac	ctcaacacac	1380
cactgtggga	agcacaggac	gatgggaagg	tgccccacat	cgcccccaac	catcacctgc	1440
cattgcccac	ttactacacc	ctgcccattg	ccaccgtggc	tcctgaaacg	cgggcagtaa	1500
tcaagtggat	gaagcggatc	ccctttgtgc	taagtgccaa	cctccacggg	ggtgagctcg	1560
tgggtgccta	ccattcgac	itgactcgca	cccgtgggc	tgcccggcag	ctcacgccc	1620
caccagatga	tgctgtgttt	cgctggctca	gcactgtcta	tgctggcagt	aatctggcca	1680
tgaggacac	cagccgcccga	ccctgccaca	gccaggactt	ctccgtgcac	ggcaacatca	1740
tcaacggggc	tgactggcac	acggctcccg	ggagcatgaa	tgacttcagc	tacctacaca	1800
ccaactgctt	tgaggtcact	gtggagctgt	cctgtgacaa	gttccctcac	gagaatgaat	1860
tgcccagga	gtgggagaac	aacaaagacg	ccctcctcac	ctacctggag	caggtgcgca	1920
tgggcattgc	aggagtgggtg	agggacaagg	acacggagct	tgggattgct	gacgctgtca	1980
ttgccgtgga	tgggattaac	catgacgtga	ccacggcgtg	ggggggggat	tattggcgtc	2040
tgetgacccc	aggggactac	atgggtgactg	ccagtgcoga	gggctaccat	tcagtacac	2100
ggaactgtcg	ggtcaccttt	gaagagggcc	ccttcccctg	caatttcgtg	ctcaccaaga	2160
ctcccaaaaca	gaggtctggc	gagctgctgg	cagctggggc	caaggtgccc	ccggaccttc	2220
gcagggccct	ggagcggcta	aggggacaga	aggattgata	cctgcggttt	aagagcccta	2280
gggcaggctg	gacctgtcaa	gacgggaagg	ggaagagtag	agagggaggg	acaaagttag	2340
gaaaaggtgc	tcattaaagc	taccgggcac	cttaaaaaaa	aaaaa		2385

## 【國際調查報告】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No PCT/US 00/21878
---

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER					
IPC 7	C12N15/57	C12N15/15	C12N9/64	C07K14/81	C12N15/63
	C12N5/10	A61K38/48	A61K38/57	A01K67/027	
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC					
B. FIELDS SEARCHED					
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)					
IPC 7 C07K C12N					
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched					
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)					
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT					
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages			Relevant to claim No.	
X	HILLIER ET AL.: "WashU-NCI human EST Project" EMBL SEQUENCE DATABASE, 22 December 1997 (1997-12-22), XP002157648 HEIDELBERG DE Ac AA700364 the whole document			1,3,12	
X	NCI-CGAP: "National cancer institute, Cancer genome anatomy project" EMBL SEQUENCE DATABASE, 13 June 1998 (1998-06-13), XP002157649 HEIDELBERG DE Ac AI052207 the whole document			1,3,12	
	---				
	-/--				
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.					
* Special categories of cited documents:					
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance		"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention			
"E" earlier document but published on or after the international filing date		"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone			
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)		"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.			
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means		"S" document member of the same patent family			
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed					
Date of the actual completion of the international search			Date of mailing of the international search report		
17 January 2001			20. APR. 2001		
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016			Authorized officer  CEDER O.		

2,

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1999)

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No PCT/US 00/21878
---

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 97 14797 A (DANA FARBER CANCER INST INC) 24 April 1997 (1997-04-24) abstract; claims ---	1-19,22, 25-28
A	EP 0 736 302 A (STICHTING REGA V Z W) 9 October 1996 (1996-10-09) ---	
P,X	HAN X ET AL: "The protein Z-dependent protease inhibitor is a serpin" BIOCHEMISTRY, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY. EASTON, PA, US, vol. 38, 24 August 1999 (1999-08-24), pages 11073-11078, XP002127083 ISSN: 0006-2960 the whole document ---	1-9, 11-14
P,X	WO 99 60126 A (BROZE GEORGE J JR ;UNIV WASHINGTON (US)) 25 November 1999 (1999-11-25) abstract; figure 6 -----	1-9,11, 12,16-18

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/US 00/21878**Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)**

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1.  Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  
see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210
2.  Claims Nos.: 20, 21, 23, 24  
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:  
see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210
3.  Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

**Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)**

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1.  As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.
2.  As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3.  As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4.  No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:  
1-28 partially

**Remark on Protest**

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

## FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Continuation of Box I.1

Although claim 18 is directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.

-----  
Rule 39.1(iv) PCT - Method for treatment of the human or animal body by therapy

-----  
Continuation of Box I.2

Claims Nos.: 20,21,23,24

Claims 20,21,23 and 24 refers to agonists/antagonists of the polypeptide of claim 1 and their use in a method for treating a disease without giving a true technical characterization of the agonists/antagonists. Moreover, no such compounds are specifically defined in the description. It is only indicated that they "may include proteins" (such as antibodies)", nucleic acids, carbohydrates, small molecules, or any other compound or composition which modulates the activity of PPIM either by directly interacting with PPIM or by acting on components of the biological pathway in which PPIM participates." (page 9 lines 32-34; page 10 lines 32-35). In consequence the scope of said claims is ambiguous and vague, and their subject-matter is not sufficiently disclosed and supported (Art. 5 and 6 PCT). No search can be carried out for such claims whose wording is, in fact, a mere recitation of the results to be achieved.

The applicant's attention is drawn to the fact that claims, or parts of claims, relating to inventions in respect of which no international search report has been established need not be the subject of an international preliminary examination (Rule 66.1(e) PCT). The applicant is advised that the EPO policy when acting as an International Preliminary Examining Authority is normally not to carry out a preliminary examination on matter which has not been searched. This is the case irrespective of whether or not the claims are amended following receipt of the search report or during any Chapter II procedure.

## FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

## 1. Claims: 1-28 partially

Polypeptide comprising SEQ ID NO 1 and variants thereof; polynucleotide (SEQ ID NO 28) encoding the same and variants thereof; expression vector, host cell and transgenic organism comprising the same; use thereof for producing the polypeptide; antibody against the polypeptide; agonist and antagonist of the polypeptide; methods and pharmaceutical compositions using them.

## 2. Claims: 1-28 partially

Subject matter as defined for invention 1 above, but limited to SEQ ID NOS 2 and 29.

## 3. Claims: 1-28 partially

Subject matter as defined for invention 1 above, but limited to SEQ ID NOS 3 and 30.

## 4. Claims: 1-28 partially

Subject matter as defined for invention 1 above, but limited to SEQ ID NOS 4 and 31.

## 5. Claims: 1-28 partially

Subject matter as defined for invention 1 above, but limited to SEQ ID NOS 5 and 32.

## 6. Claims: 1-28 partially

Subject matter as defined for invention 1 above, but limited to SEQ ID NOS 6 and 33.

## 7. Claims: 1-28 partially

Subject matter as defined for invention 1 above, but limited to SEQ ID NOS 7 and 34.

## 8. Claims: 1-28 partially

Subject matter as defined for invention 1 above, but limited to SEQ ID NOS 8 and 35.

## 9. Claims: 1-28 partially

Subject matter as defined for invention 1 above, but limited to SEQ ID NOS 9 and 36.

## 10. Claims: 1-28 partially

## FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Subject matter as defined for invention 1 above, but limited to SEQ ID NOS 10 and 37.

11. Claims: 1-28 partially

Subject matter as defined for invention 1 above, but limited to SEQ ID NOS 11 and 38.

12. Claims: 1-28 partially

Subject matter as defined for invention 1 above, but limited to SEQ ID NOS 12 and 39.

13. Claims: 1-28 partially

Subject matter as defined for invention 1 above, but limited to SEQ ID NOS 14 and 41.

14. Claims: 1-28 partially

Subject matter as defined for invention 1 above, but limited to SEQ ID NOS 15 and 42.

15. Claims: 1-28 partially

Subject matter as defined for invention 1 above, but limited to SEQ ID NOS 16 and 43.

16. Claims: 1-28 partially

Subject matter as defined for invention 1 above, but limited to SEQ ID NOS 17 and 44.

17. Claims: 1-28 partially

Subject matter as defined for invention 1 above, but limited to SEQ ID NOS 18 and 45.

18. Claims: 1-28 partially

Subject matter as defined for invention 1 above, but limited to SEQ ID NOS 19 and 46.

19. Claims: 1-28 partially

Subject matter as defined for invention 1 above, but limited to SEQ ID NOS 20 and 47.

20. Claims: 1-28 partially

Subject matter as defined for invention 1 above, but limited to SEQ ID NOS 21 and 48.

21. Claims: 1-28 partially

## FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Subject matter as defined for invention 1 above, but limited to SEQ ID NOS 22 and 49.

22. Claims: 1-28 partially

Subject matter as defined for invention 1 above, but limited to SEQ ID NOS 23 and 50.

23. Claims: 1-28 partially

Subject matter as defined for invention 1 above, but limited to SEQ ID NOS 24 and 51.

24. Claims: 1-28 partially

Subject matter as defined for invention 1 above, but limited to SEQ ID NOS 25 and 52.

25. Claims: 1-28 partially

Subject matter as defined for invention 1 above, but limited to SEQ ID NOS 26 and 53.

26. Claims: 1-28 partially

Subject matter as defined for invention 1 above, but limited to SEQ ID NOS 27 and 54.

For the sake of conciseness, the first subject matter is explicitly defined, the other subject matters are defined by analogy thereto.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No  
PCT/US 00/21878

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9714797 A	24-04-1997	AU 7457996 A	07-05-1997
EP 0736302 A	09-10-1996	EP 0733369 A	25-09-1996
WO 9960126 A	25-11-1999	AU 3860299 A	06-12-1999
		EP 1078061 A	28-02-2001

## フロントページの続き

(51) Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	テ-マ-コ-ト' (参考)		
C 1 2 N	1/19	C 1 2 N	9/64	Z	4 C 0 8 4
	5/10	C 1 2 Q	1/02		4 H 0 4 5
	9/64		1/37		
C 1 2 Q	1/02		1/68	A	
	1/37	G 0 1 N	33/15	Z	
	1/68		33/50	Z	
G 0 1 N	33/15		33/53	D	
	33/50		33/566		
	33/53	C 1 2 N	15/00	Z N A A	
	33/566		5/00	A	

(81) 指定国 E P ( A T , B E , C H , C Y ,  
 D E , D K , E S , F I , F R , G B , G R , I E , I  
 T , L U , M C , N L , P T , S E ) , O A ( B F , B J  
 , C F , C G , C I , C M , G A , G N , G W , M L ,  
 M R , N E , S N , T D , T G ) , A P ( G H , G M , K  
 E , L S , M W , M Z , S D , S L , S Z , T Z , U G  
 , Z W ) , E A ( A M , A Z , B Y , K G , K Z , M D ,  
 R U , T J , T M ) , A E , A G , A L , A M , A T ,  
 A U , A Z , B A , B B , B G , B R , B Y , B Z , C  
 A , C H , C N , C R , C U , C Z , D E , D K , D M  
 , D Z , E E , E S , F I , G B , G D , G E , G H ,  
 G M , H R , H U , I D , I L , I N , I S , J P , K  
 E , K G , K P , K R , K Z , L C , L K , L R , L S  
 , L T , L U , L V , M A , M D , M G , M K , M N ,  
 M W , M X , M Z , N O , N Z , P L , P T , R O , R  
 U , S D , S E , S G , S I , S K , S L , T J , T M  
 , T R , T T , T Z , U A , U G , U S , U Z , V N ,  
 Y U , Z A , Z W

- (72) 発明者 タング、ワイ・トム  
 アメリカ合衆国カリフォルニア州95118・  
 サンノゼ・ランウィックコート 4230
- (72) 発明者 バンドマン、オルガ  
 アメリカ合衆国カリフォルニア州94043・  
 マウンテンビュー・アンナアベニュー  
 366
- (72) 発明者 ボーゲン、マライア・アール  
 アメリカ合衆国カリフォルニア州94577・  
 サンレアンドロ・サンティアゴロード  
 14244
- (72) 発明者 アジムザイ、ヤルダ  
 アメリカ合衆国カリフォルニア州94545・  
 ハイワード・ロックスプリングスドライブ  
 2045
- (72) 発明者 リュ、デュング・アイナ・エム  
 アメリカ合衆国カリフォルニア州95136・  
 サンノゼ・パークベルモントプレイス 55

(72)発明者 ヤング、ジュンミング  
アメリカ合衆国カリフォルニア州95129  
サンノゼ・パークレーン 7125

F ターム(参考) 2G045 AA40 BA11 BB50 DA12 DA13  
DA14 DA36 FB02  
4B024 AA01 AA11 BA14 CA04 CA09  
CA20 DA02 DA03 DA06 EA02  
EA04 FA02 GA11 GA13 HA03  
HA04 HA11 HA13 HA14  
4B050 CC01 CC04 CC05 DD11 FF14E  
LL01 LL03 LL05  
4B063 QA01 QA05 QA13 QA17 QQ21  
QQ41 QQ43 QQ53 QQ61 QQ79  
QQ89 QQ95 QQ99 QR08 QR16  
QR24 QR32 QR35 QR40 QR42  
QR56 QR58 QR62 QR77 QR80  
QR84 QS16 QS25 QS28 QS34  
QS36 QX01 QX02 QX10  
4B065 AA26X AA58X AA72X AA90X  
AA93X AA93Y AB01 AC14  
BA02 BA05 CA33 CA44 CA46  
4C084 AA17 ZC202  
4H045 AA11 CA40 DA75 EA20 EA50  
FA74 GA26

专利名称(译)	蛋白酶和蛋白酶抑制剂		
公开(公告)号	<a href="#">JP2003510024A</a>	公开(公告)日	2003-03-18
申请号	JP2001515710	申请日	2000-08-09
[标]申请(专利权)人(译)	洞察Genomics公司		
申请(专利权)人(译)	洞察基因组公司		
[标]发明人	ユエヘンリー ラルプリーティ タングワイトム バンドマンオルガ ボーグンマライアール アジムザイヤルダ リュデュングアイナエム ヤングジュンミング		
发明人	ユエ、ヘンリー ラル、プリーティ タング、ワイトム バンドマン、オルガ ボーグン、マライアール アジムザイ、ヤルダ リュ、デュング・アイナ・エム ヤング、ジュンミング		
IPC分类号	G01N33/50 A61K38/00 A61K45/00 A61P43/00 C07K14/81 C07K16/40 C12N1/15 C12N1/19 C12N5/10 C12N9/48 C12N9/64 C12N15/09 C12Q1/02 C12Q1/37 C12Q1/68 G01N33/15 G01N33/53 G01N33/566		
CPC分类号	A01K2217/05 A61K38/00 A61P43/00 C07K14/81 C12N9/48 C12N9/6421		
FI分类号	A61K45/00 A61P43/00.111 C07K16/40 C12N1/15 C12N1/19 C12N9/64.Z C12Q1/02 C12Q1/37 C12Q1/68.A G01N33/15.Z G01N33/50.Z G01N33/53.D G01N33/566 C12N15/00.ZNA.A C12N5/00.A		
F-TERM分类号	2G045/AA40 2G045/BA11 2G045/BB50 2G045/DA12 2G045/DA13 2G045/DA14 2G045/DA36 2G045/FB02 4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/BA14 4B024/CA04 4B024/CA09 4B024/CA20 4B024/DA02 4B024/DA03 4B024/DA06 4B024/EA02 4B024/EA04 4B024/FA02 4B024/GA11 4B024/GA13 4B024/HA03 4B024/HA04 4B024/HA11 4B024/HA13 4B024/HA14 4B050/CC01 4B050/CC04 4B050/CC05 4B050/DD11 4B050/FF14E 4B050/LL01 4B050/LL03 4B050/LL05 4B063/QA01 4B063/QA05 4B063/QA13 4B063/QA17 4B063/QQ21 4B063/QQ41 4B063/QQ43 4B063/QQ53 4B063/QQ61 4B063/QQ79 4B063/QQ89 4B063/QQ95 4B063/QQ99 4B063/QR08 4B063/QR16 4B063/QR24 4B063/QR32 4B063/QR35 4B063/QR40 4B063/QR42 4B063/QR56 4B063/QR58 4B063/QR62 4B063/QR77 4B063/QR80 4B063/QR84 4B063/QS16 4B063/QS25 4B063/QS28 4B063/QS34 4B063/QS36 4B063/QX01 4B063/QX02 4B063/QX10 4B065/AA26X 4B065/AA58X 4B065/AA72X 4B065/AA90X 4B065/AA93X 4B065/AA93Y 4B065/AB01 4B065/AC14 4B065/BA02 4B065/BA05 4B065/CA33 4B065/CA44 4B065/CA46 4C084/AA17 4C084/ZC202 4H045/AA11 4H045/CA40 4H045/DA75 4H045/EA20 4H045/EA50 4H045/FA74 4H045/GA26		
优先权	60/147986 1999-08-09 US 60/160807 1999-10-21 US		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		
摘要(译)			

