

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2006-504641

(P2006-504641A)

(43) 公表日 平成18年2月9日(2006.2.9)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C O 7 K 14/46 (2006.01)	C O 7 K 14/46 Z N A	2 G O 4 2
C O 7 K 16/18 (2006.01)	C O 7 K 16/18	2 G O 4 5
C O 7 K 19/00 (2006.01)	C O 7 K 19/00	2 G O 6 0
C 1 2 N 1/15 (2006.01)	C 1 2 N 1/15	4 B O 2 4
C 1 2 N 1/19 (2006.01)	C 1 2 N 1/19	4 B O 6 3
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 170 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2004-517551 (P2004-517551)	(71) 出願人	500226339
(86) (22) 出願日	平成15年5月13日 (2003.5.13)		カリフォルニア インスティテュート オブ テクノロジー
(85) 翻訳文提出日	平成17年2月25日 (2005.2.25)		CALIFORNIA INSTITUTE OF TECHNOLOGY
(86) 国際出願番号	PCT/US2003/015004		アメリカ合衆国 91125 カリフォルニア州 パサデナ イースト カリフォルニア ブルバード 1200
(87) 国際公開番号	W02004/003133	(74) 代理人	100100549
(87) 国際公開日	平成16年1月8日 (2004.1.8)		弁理士 川口 嘉之
(31) 優先権主張番号	10/183,116	(74) 代理人	100090516
(32) 優先日	平成14年6月26日 (2002.6.26)		弁理士 松倉 秀実
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100098268
			弁理士 永田 豊
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 痛みのシグナル伝達分子

(57) 【要約】

本発明は概して、最近同定された痛みの感覚に關与する G タンパク質共役受容体 (図 6 B) のファミリーの 1 つであるヒト Mr g D ポリペプチドに關する。痛みの感覚を变化させる際にアゴニストおよびアンタゴニストを利用する方法とともに、ヒト Mr g D のアゴニストおよびアンタゴニストを同定する特定の方法が提供される。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

配列番号 35 のヒト M r g D ポリペプチドと少なくとも 80 % 配列同一性を有する単離 M r g D ポリペプチド。

【請求項 2】

配列番号 35 の単離ヒト M r g D ポリペプチド。

【請求項 3】

請求項 1 に記載の M r g D ポリペプチドを発現する宿主細胞。

【請求項 4】

前記宿主細胞は、原核細胞である、請求項 3 に記載の宿主細胞。

10

【請求項 5】

前記宿主細胞は、エシェリヒア・コリである、請求項 4 に記載の宿主細胞。

【請求項 6】

前記宿主細胞は、真核細胞である、請求項 3 に記載の宿主細胞。

【請求項 7】

前記宿主細胞は、ハムスター胚腎 (H E K) 細胞である、請求項 6 に記載の宿主細胞。

【請求項 8】

異種アミノ酸配列に融合された請求項 1 に記載の M r g D ポリペプチドを含むキメラ分子。

【請求項 9】

20

前記異種アミノ酸配列は、エピトープタグ配列である、請求項 8 に記載のキメラ分子。

【請求項 10】

前記異種アミノ酸配列は、免疫グロブリン定常ドメイン配列である、請求項 8 に記載のキメラ分子。

【請求項 11】

請求項 1 に記載の単離 M r g D ポリペプチド [の c 末端内のエピトープ] に特異的に結合する単離抗体。

【請求項 12】

前記抗体は、モノクローナル抗体、抗体断片およびヒト化抗体からなる群から選択される抗体である、請求項 11 に記載の単離抗体。

30

【請求項 13】

前記抗体は、アゴニスト抗体および中和抗体からなる群から選択される抗体である、請求項 11 に記載の単離抗体。

【請求項 14】

薬学的に許容可能なキャリアと混合した、請求項 1 に記載の M r g D ポリペプチドを含む組成物。

【請求項 15】

薬学的に許容可能なキャリアと混合した、請求項 11 に記載の抗 M r g D 抗体を含む組成物。

【請求項 16】

40

容器、

薬学的に許容可能なキャリアと混合した請求項 1 の単離 M r g D ポリペプチド、および哺乳類において痛みを治療する組成物の使用説明書を含む製品。

【請求項 17】

哺乳類から得られる組織試料において、請求項 1 に記載の M r g D ポリペプチドの発現を確認する方法であって、前記試料を抗 M r g D 抗体と接触させること、および前記試料への前記抗体の結合を決定することを含む方法。

【請求項 18】

前記組織試料は、後根神経節から得られる試料である、請求項 17 に記載の方法。

50

【請求項 19】

哺乳類において痛みの感知を変化させるために使用することができる化合物を同定する方法であって、

a) 試験化合物を請求項 1 に記載の Mr g D ポリペプチドと接触させる工程と、
b) 前記 Mr g D ポリペプチドと複合体を形成する試験化合物を同定する工程と、
c) 痛みを患う動物モデルにおいて、b) で同定された試験化合物の効果を測定する工程と、

d) 哺乳類において痛みの感知を変化させるために有用であるとして、動物モデルにおいて痛みの感知を変化させる化合物を同定する工程と

を含む方法。

10

【請求項 20】

前記 Mr g D ポリペプチドは、天然型ヒト Mr g D ポリペプチドである、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 21】

前記 Mr g D ポリペプチドは、配列番号 35 のアミノ酸配列を含むポリペプチドである、請求項 20 に記載の方法。

【請求項 22】

前記化合物は、痛みの感知を増大させる化合物である、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 23】

前記化合物は、痛みの感知を減少させる化合物である、請求項 19 に記載の方法。

20

【請求項 24】

工程 a) において前記試験化合物の少なくとも 1 つ、または前記 Mr g D ポリペプチドが、固体支持体に結合されている、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 25】

前記固体支持体は、マイクロタイタープレートである、請求項 24 に記載の方法。

【請求項 26】

工程 a) において前記 Mr g D ポリペプチドは、細胞膜に存在するポリペプチドである、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 27】

前記 Mr g D ポリペプチドは、イムノアドヘシンに存在するポリペプチドである、請求項 19 に記載の方法。

30

【請求項 28】

工程 a) において、前記 Mr g D ポリペプチドは、Mr g D ポリペプチドを発現する細胞から調製される細胞膜の画分に存在するポリペプチドである、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 29】

前記試験化合物は、ペプチド、ペプチド擬似体、抗体、有機低分子および無機低分子からなる群から選択される化合物である、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 30】

前記試験化合物は、ペプチドである、請求項 29 に記載の方法。

40

【請求項 31】

工程 a) において前記試験化合物は、固定化された抗体に特異的に結合することにより固体支持体に固着される化合物である、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 32】

前記 Mr g D ポリペプチドは、標識されたポリペプチドである、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 33】

前記試験化合物は、標識された化合物である、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 34】

前記試験化合物は、細胞抽出物中に含有された化合物である、請求項 19 に記載の方法

50

。

【請求項 35】

前記細胞抽出物は、Mr g Dポリペプチドを発現することが知られている細胞から調製された抽出物である、請求項 34 に記載の方法。

【請求項 36】

前記細胞抽出物は、後根神経節細胞から調製された抽出物である、請求項 34 に記載の方法。

【請求項 37】

Mr g Dポリペプチドを結合する化合物を同定する方法であって、

a) 請求項 1 に記載の Mr g Dポリペプチドまたはそれらの断片を、試験化合物および R F アミドペプチドリガンドと、結合が起こり得る条件下で接触させる工程と、 10

b) 前記試験化合物の、前記 Mr g Dポリペプチドへの前記 R F アミドペプチドの結合を妨害する能力を決定する工程とを含む方法。

【請求項 38】

前記 Mr g Dポリペプチドは、天然型ヒト Mr g Dポリペプチドである、請求項 37 に記載の方法。

【請求項 39】

前記 Mr g Dポリペプチドは、配列番号 35 のアミノ酸配列を含むポリペプチドである、請求項 38 に記載の方法。 20

【請求項 40】

前記 Mr g Dポリペプチドを、前記試験化合物と接触させる前に、前記 R F アミドペプチドと接触させる、請求項 37 に記載の方法。

【請求項 41】

Mr g D アゴニストを同定する方法であって、

a) セカンドメッセンジャー応答を生じることが可能な宿主細胞において、請求項 1 に記載の Mr g Dポリペプチドを発現させる工程と、

b) 前記宿主細胞を、1 つまたはそれ以上の試験化合物と接触させる工程と、

c) 前記宿主細胞においてセカンドメッセンジャー応答を測定する工程と、

d) 哺乳類において感覚認識を変化させる際に有用であるアゴニストとして、前記測定したセカンドメッセンジャー応答を増大させる化合物を同定する工程と 30
を含む方法。

【請求項 42】

前記 Mr g Dポリペプチドは、配列番号 35 のヒト Mr g Dポリペプチドである、請求項 41 に記載の方法。

【請求項 43】

前記宿主細胞は、真核細胞である、請求項 41 に記載の方法。

【請求項 44】

前記宿主細胞は、ハムスター胚腎 (H E K) 細胞である、請求項 43 に記載の方法。

【請求項 45】

前記 H E K 細胞は、G α 15 を発現する、請求項 44 に記載の方法。 40

【請求項 46】

セカンドメッセンジャー応答を測定することは、細胞内カルシウム濃度の変化を測定することを含む、請求項 41 に記載の方法。

【請求項 47】

前記細胞内カルシウム濃度の変化は、F U R A - 2 カルシウム指示色素を用いて測定される、請求項 46 に記載の方法。

【請求項 48】

セカンドメッセンジャー応答を測定することは、前記細胞の膜を通る電流の流れを測定することを含む、請求項 41 に記載の方法。 50

【請求項 49】

前記感覚認識は、痛みの感知である、請求項 41 に記載の方法。

【請求項 50】

MrgD ポリペプチドアンタゴニストを同定する方法であって、

- a) セカンドメッセンジャー応答を生じることが可能な宿主細胞において、請求項 1 に記載の MrgD ポリペプチドを発現させる工程と、
- b) 前記宿主細胞を、RF アミドペプチドと接触させる工程と、
- c) 前記宿主細胞を、1 つまたはそれ以上の試験化合物と接触させる工程と、
- d) 前記宿主細胞においてセカンドメッセンジャー応答を測定する工程と、
- e) MrgD アンタゴニストとして、前記 RF アミドペプチドに対する前記測定したセカンドメッセンジャー応答を変化させる化合物を同定する工程とを含む方法。

10

【請求項 51】

前記 MrgD ポリペプチドは、配列番号 35 のヒト MrgD ポリペプチドである、請求項 50 に記載の方法。

【請求項 52】

抗 MrgD アゴニスト抗体を同定する方法であって、

- a) 請求項 1 に記載の MrgD ポリペプチドに特異的に結合する候補抗体を調製する工程と、
- b) セカンドメッセンジャー応答を生じることが可能であることが知られている宿主細胞において、ヒト MrgD (配列番号 35) を発現させる工程と、
- c) 前記宿主細胞を、候補抗体と接触させる工程と、
- d) 前記宿主細胞においてセカンドメッセンジャー応答を測定する工程と、
- e) アゴニスト抗体として、前記測定したセカンドメッセンジャー応答を増大させる抗体を同定する工程とを含む方法。

20

【請求項 53】

工程 a) において、前記候補抗体は、配列番号 35 のヒト MrgD に特異的に結合する抗体である、請求項 52 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

30

【技術分野】

【0001】

[発明の分野]

本発明は包括的には、正常な動物では発現されるが、ニューロゲニン - 1 欠損動物では発現されない新規の遺伝子に関する。本発明は特に、後根神経節 (dorsal root ganglion) 中で発現される、G タンパク質共役受容体の新規のファミリーおよび 2 つの膜貫通セグメントタンパク質の新規のファミリー、ならびに侵害受容感覚ニューロン中で特異的に発現される遺伝子に関するスクリーニング方法に関する。

【0002】

[関連技術の説明]

40

急性および慢性の難治性の痛みの治療は、製薬産業における薬剤開発の主要な目的である。痛みの感知は、末梢的には皮膚に、かつ中枢的には脊髄に向けて突出する後根神経節 (DRG) 中の一次感覚ニューロンにより媒介される。これらのニューロンは、痛みの感知に關与するシグナル伝達分子、例えば受容体、イオンチャネルおよび神経ペプチドを発現している。

その例の一つとして、いわゆるバニロイド受容体 (Vanilloid Receptor) - 1 (VR - 1) が挙げられ、これはカプサイシン (チリペッパー) ならびに熱および酸により活性化される。このような痛みのシグナル伝達分子は、感知経路の陽性または陰性モジュレーターとして作用することにより、間接的に痛みの感知に影響を及ぼし得る。このようなシグナル伝達分子と相互作用する薬剤、例えば受容体アゴニストまたはアンタゴニストなどの探

50

索は、痛みの治療のための新規の療法の発見への重要なアプローチである。したがって痛みの感知性（「侵害受容」）感覚ニューロンによって伝達される新規の候補シグナル伝達分子は、新規の薬剤スクリーニングおよび薬剤発見の試みのための非常に望ましい標的である。本発明者等は、以前に、ニューロゲニン（Ngn）と呼ばれる塩基性ヘリックス-ループ-ヘリックス（bHLH）転写因子の新規のファミリーを同定したが、これはDRGにおける感覚ニューロンの発達に不可欠である。種々のNgnは、感覚ニューロンの種々のサブセットの発達に必要とされる。特にNgn1は、すべてでないとしてもほとんどの侵害受容感覚ニューロンの発達に必要である。Ngn1^{-/-}突然変異マウスでは、DRGは存在し続けるものの、サイズが縮小し、侵害受容ニューロンの大多数がなくなっていることが、trkAおよびVR-1のようなマーカーにより確認される（Ma et al. *Genes & Development*, 13:1717-1728, (1999)）。これらの結果により、野生型（正常）のDRG中で発現されるがNgn1^{-/-} DRG中では発現されない遺伝子を単離することができれば、分化中のまたは成熟侵害受容感覚ニューロン中で発現される、新規の薬剤標的分子の同定につながり得ることが示唆された。

【0003】

痛みは、通常は組織損傷の天然型の影響であるが、治癒過程が開始すると、損傷に関連した痛みおよび圧痛が消散する。しかしながら、明白な損傷を伴わずに痛みが生じたり、初期傷害後に痛みが長引くために苦しんだりする患者もいる。さらに慢性または難治性の痛みは、ある種の疾病、例えば骨変性疾患、末期癌、AIDSおよび反射性交感神経性ジストロフィー（RSD）などに関連して起こり得る。このような患者は、依存性および耐容性のような問題があるために、オピオイド化合物、例えばモルヒネ等の現在利用可能な痛み軽減（抗侵害受容）薬による軽減処置を受けることができない可能性がある。したがって、痛み、特に慢性の痛みを治療するための新規治療薬の需要が高くなっている。

【0004】

[発明の概要]

本発明者等は、ディファレンシャルハイブリダイゼーションを用いてポジティブ選択を行い、野生型DRGで発現されるが、Ngn1^{-/-} DRGでは発現されない遺伝子のスクリーニングを実行した。このスクリーニングによって、VR-1などの侵害受容ニューロンの機能に関与する既知のシグナル伝達分子及び侵害受容感覚ニューロン中で高い特異性で発現される新規のシグナル伝達分子の両方を同定した。したがって本発明は、正常マウス中で発現されるが、Ngn1^{-/-}マウスにおいては発現されない新規の遺伝子の発見を含む。スクリーニングにより単離された新規遺伝子のファミリーは、Gタンパク質共役受容体の特徴である7つの膜貫通セグメントを有する受容体タンパク質mr gをコードしている。その後の染色実験（図2、図2A～図2D参照）によって、mr g遺伝子がDRG中の侵害受容ニューロンのサブセット中で特異的に発現することを確認した。このスクリーニングで単離される別の新規の遺伝子ファミリーdr g-12は、2つの膜貫通セグメントを有するタンパク質をコードする。

【0005】

特に、本発明は、配列番号49のアミノ酸配列を有するMr gDポリペプチドをコードする核酸分子に対して少なくとも70%の配列同一性を有する配列を含む単離核酸分子、配列番号49のアミノ酸配列を有するMr gDポリペプチドをコードする核酸分子に対して少なくとも70%の配列同一性を有する配列を含む核酸分子の相補体にハイブリダイズする単離核酸分子、配列番号49のMr gDポリペプチドをコードする核酸分子にストリンジェントな条件下でハイブリダイズする単離核酸分子、および配列番号49のMr gDポリペプチドをコードする核酸分子の相補体にハイブリダイズする単離核酸分子からなる群から選択される単離核酸分子を包含する。

【0006】

本発明はまた、1つまたはそれ以上の発現調節エレメントに、制御要素の発現を調節することができるように連結された上述の核酸分子を含み、さらに単離された上記核酸分子を含むベクターを含む。本発明はさらに、本発明の核酸分子を含有するように形質転換

した宿主細胞、およびタンパク質が発現される条件下で本発明の核酸分子で形質転換した宿主細胞を培養する工程を含むタンパク質の産生方法を含む。宿主細胞は、原核細胞（例えば、大腸菌）または真核細胞（例えば、ハムスター胚腎臓（HEK）細胞または酵母細胞）を用いることができる。

【0007】

本発明はさらに、上述の単離核酸分子によりコードされる単離ポリペプチド、および配列番号35のヒトMr g Dポリペプチドからなる群から選択される単離Mr g Dポリペプチドを提供する。

【0008】

Mr g Dポリペプチドは、エピトープタグ配列または免疫グロブリン定常領域配列のような異種アミノ酸配列に融合させることができる。

【0009】

本発明はさらに、モノクローナル抗体およびポリクローナル抗体、抗体断片ならびにヒト化抗体を含む、本発明のポリペプチドに特異的に結合する単離抗体を提供する。

【0010】

別の態様では、本発明は、薬学的に許容可能なキャリアと混合したMr g Dポリペプチドまたは抗Mr g D抗体を含む組成物を提供する。また、組成物、容器、および哺乳類において感知を変化させるための組成物の使用に関する指示書を含む製品も提供する。

【0011】

さらなる態様では、本発明は、哺乳類において痛みの感知の変化に使用することができる化合物を同定する方法を提供する。試験化合物を本発明のMr g Dポリペプチドの少なくとも一部において接触させる。Mr g Dポリペプチドまたは試験化合物は、マイクロタイタープレートのような固体支持体に結合させてもよい。さらに、好ましくは、試験化合物またはMr g Dポリペプチドのいずれかを標識する。

【0012】

Mr g Dポリペプチドとの複合体の形成が可能な試験化合物が同定される。これらの化合物の影響を、痛みを患う動物モデルで測定し、動物モデルにおいて痛みの感知を変化させる化合物は、哺乳類において痛みの感知を変化させる際に有用なものとして同定される。化合物は、痛みの感知を増大、または減少させ得る。

【0013】

一実施形態では、Mr g Dポリペプチドは、天然型ヒトMr g Dポリペプチド、好ましくは配列番号35のMr g Dポリペプチドである。

【0014】

別の実施形態では、Mr g Dポリペプチドは、Mr g Dポリペプチドを発現する細胞から調製される細胞膜または細胞膜の分画中に存在し得る。さらなる実施形態では、Mr g Dポリペプチドは、イムノアドヘシン (immunoadhesin) 中に存在する。

【0015】

試験化合物は、好ましくは、ペプチド、ペプチド擬似体、抗体、有機低分子および無機低分子からなる群から選択される。好ましい実施形態では、試験化合物はペプチドである。ペプチドは、固定化抗体への特異的結合により固体支持体に固着させることができる。さらに、試験化合物は、細胞抽出物、特に、後根神経節細胞のようなMr g Dポリペプチドを発現することが知られている細胞から調製される細胞抽出物中に含有させることができる。

【0016】

別の態様では、本発明は、Mr g Dポリペプチドまたは断片を、試験化合物、およびRFアミドペプチドのようなリガンドと結合が起こり得る条件下で接触させることにより、Mr g Dポリペプチドを結合する化合物を同定する方法を提供する。好ましくは、Mr g Dポリペプチドは、試験化合物と接触させる前に、RFアミドペプチドと接触させる。試験化合物の、Mr g DポリペプチドへのRFアミドペプチドの結合を妨げる能力が決定される。

10

20

30

40

50

【 0 0 1 7 】

一実施形態では、M r g Dポリペプチドは、天然型ヒトM r g Dポリペプチド、好ましくは配列番号35のM r g Dポリペプチドである。

【 0 0 1 8 】

本発明はまた、哺乳類において感知を変化させるために使用することができるM r g Dアゴニストを同定する方法を提供する。例えば、アゴニストは、痛みの感知を増大または減少させるために使用され得る。M r g Dポリペプチドを、セカンドメッセンジャー応答が可能な宿主細胞中で発現させる。一実施形態では、宿主細胞は、真核細胞、好ましくはハムスター胚腎臓（H E K）細胞、より好ましくはG α 1 5を発現するH E K細胞である。

10

【 0 0 1 9 】

宿主細胞を、1つまたはそれ以上の試験化合物と接触させ、セカンドメッセンジャー応答を測定する。測定したセカンドメッセンジャー応答を増大させる化合物は、哺乳類において感知を変化させるために使用することができるアゴニストとして同定される。一実施形態として、細胞内カルシウム濃度の変化を測定することにより、セカンドメッセンジャー応答を測定する。これには、例えば、F U R A - 2指示薬色素を使用することができる。別の実施形態では、セカンドメッセンジャー応答は、細胞膜を通る電流の流れを測定することにより測定される。

【 0 0 2 0 】

別の態様では、本発明は、哺乳類において感覚認識障害を治療する際に有用であるM r g Dポリペプチドアンタゴニストを同定する方法を提供する。特に、上記方法は、痛みの感知を変化させるアンタゴニストを同定するために有用である。

20

【 0 0 2 1 】

一実施形態では、M r g Dポリペプチド、好ましくは配列番号35のM r g Dポリペプチドを、セカンドメッセンジャー応答を示すことができる宿主細胞中で発現させる。次に、宿主細胞を、R Fアミドペプチド、および1つまたはそれ以上の試験化合物と接触させる。例えば上述の方法によりセカンドメッセンジャー応答を測定し、R Fアミドペプチドに対するセカンドメッセンジャー応答を変化させる化合物が、痛みのような感覚認識障害を治療する際に有用であるアゴニストとして同定される。

【 0 0 2 2 】

さらに別の態様では、本発明は、哺乳類において痛みの感知を変化させるために使用することができる抗M r g Dアゴニスト抗体を同定する方法を提供する。一実施形態では、上記方法は、痛みを患う哺乳類において痛みを治療するために使用することができる抗M r g Dアゴニスト抗体を同定するために使用される。

30

【 0 0 2 3 】

好ましい実施形態では、M r g Dポリペプチド、より好ましくは配列番号35のM r g Dポリペプチドに特異的に結合する候補抗体が調製される。M r g Dポリペプチド、好ましくは配列番号35のM r g Dポリペプチドを、セカンドメッセンジャー応答を示すことが知られている宿主細胞中で発現させる。次に、宿主細胞を、候補抗体と接触させて、セカンドメッセンジャー応答を測定する。セカンドメッセンジャー応答を増大させる抗体は、哺乳類において痛みを治療するために使用することができるアゴニスト抗体として同定される。

40

【 0 0 2 4 】

本発明はまた、M r g Dアゴニストの哺乳類への投与により、哺乳類において痛みを治療する方法を提供する。一実施形態では、アゴニストは、配列番号35のヒトM r g Dポリペプチドのアゴニストである。

【 0 0 2 5 】

[好ましい実施形態の詳細な説明]

I . 概要

上記のように、本発明は、正常マウスのD R G中で発現されるが、N g n 1ヌル突然変

50

異マウスにおいては発現されない新規の遺伝子の発見に基づいている。スクリーニングにより単離される新規の遺伝子ファミリーの1つは、Gタンパク質共役受容体の特徴である7つの膜貫通セグメントを有する受容体タンパク質をコードする。この新規の7つの膜貫通受容体は癌遺伝子masに最も密接に関連しており、したがって暫定的にmas関連遺伝子-3(mrg3)と呼ばれた。mrg3は、現在はMrgA1として既知であり、この用語は本明細書中では互換的に用いられる。Mas関連遺伝子(Mrg)ファミリーのほぼ50の遺伝子が同定されており、その多くは非ペプチド作動性侵害受容器中で特異的に発現する。Gタンパク質共役受容体の大ファミリーは、他の種類の感覚ニューロン、例えば嗅覚および味覚ニューロン中でも発現される。

【0026】

GPCRのマウスMrgファミリーは、3つの主要サブファミリー(MrgA、BおよびC)を含有し、その各々が10より多い高重複遺伝子、ならびにMas1、Rta、MrgDおよびMrgEなどの単一コピー遺伝子から成る(図6B)。MrgAサブファミリーは、マウスにおいては少なくとも20の遺伝子:MrgA1(配列番号2);MrgA2(配列番号4);MrgA3(配列番号6);MrgA4(配列番号11);MrgA5(配列番号21);MrgA6(配列番号23);MrgA7(配列番号25);MrgA8(配列番号27);MrgA9(配列番号53);MrgA10(配列番号55);MrgA11(配列番号57);MrgA12(配列番号59);MrgA13(配列番号61);MrgA14(配列番号63);MrgA15(配列番号65);MrgA16(配列番号67);MrgA17(配列番号69);MrgA18(配列番号71);MrgA19(配列番号73);およびMrgA20(配列番号75)から成る。MrgAサブファミリーに最も密接に関連する4つのヒト配列:MrgX1(配列番号16);MrgX2(配列番号18);MrgX3(配列番号31);およびMrgX4(配列番号33)も同定されている。

【0027】

MrgBサブファミリーは、マウスにおいては少なくとも12の遺伝子:MrgB1(配列番号39);MrgB2(配列番号41);MrgB3(配列番号43);MrgB4(配列番号45);MrgB5(配列番号47);MrgB6(配列番号77);MrgB7(配列番号79);MrgB8(配列番号81);MrgB9(配列番号83);MrgB10(配列番号85);MrgB11(配列番号87);およびMrgB12(配列番号89)から成る。

【0028】

MrgCサブファミリーの10の遺伝子:MrgC1(配列番号91);MrgC2(配列番号93);MrgC3(配列番号95);MrgC4(配列番号97);MrgC5(配列番号99);MrgC6(配列番号101);MrgC7(配列番号103);MrgC8(配列番号105);MrgC9(配列番号107);およびMrgC10(配列番号109)がマウスにおいて同定されている。

【0029】

MrgDサブファミリーの一つの遺伝子、mMrgD(配列番号49)がマウスにおいて同定されており、そのオーソログ遺伝子、hMrgD(配列番号35)がヒトにおいて同定されている。同様に、MrgEサブファミリーの一つの遺伝子、マウスにおいてmMrgE(配列番号51)、ならびにヒトにおいてhMrgE(配列番号37)が同定されている。

【0030】

他のGPCRサブファミリーの場合と同様に、MrgCサブファミリーのすべての遺伝子を含む多数のMrgが偽遺伝子であると思われる。いくつかのMrg遺伝子近くのL1レトロトランスポゾンエレメントの存在は、偽遺伝子拡張がL1媒介性形質導入により促進された可能性を高める(Goodier et al. Hum Mol Genet 9:653-7(2000))。

【0031】

全体としてほぼ40の無傷コード配列を含むマウスMrgAおよびBサブファミリーと

10

20

30

40

50

は対照的に、4つのみの無傷ヒトMr g X配列が同定された。残りの10のヒトMr g配列は、偽遺伝子であると思われる。他の関連受容体、例えばhMr g DおよびhMas 1を含めると、このファミリーにおける無傷ヒトコード配列の総数は9になる(図6B)。

【0032】

本発明がされる前までは、第一侵害受容感覚ニューロンは異なる化学的刺激を特異的に識別せず、むしろVR 1のような広範に反応する受容体によって種々の有害な刺激を検出すると考えられていた(Tominaga et al. Neuron 21:531 - 43 (1998))。Mr gの発現は、侵害受容感覚ニューロン間の分子多様化が予期しない程度に起こることを明示する。感覚ニューロンの約13 ~ 14 %がMr g A 1を発現し、一方17 ~ 18 %がMr g Dを発現し、そしてこれら2つの集団間の重複は15 %だけである。Mr g A 1⁺集団は、Mr g A 2 ~ 8を発現するニューロンのほとんどまたはすべてを含むと思われる。しかしながら、これらの後者のMr g A遺伝子は、同一ニューロン中ですべて発現されるというわけではない。したがって、8つのMr g A遺伝子およびMr g Dは、少なくとも6つの異なるニューロンサブ集団を規定し、残りの16 Mr g A遺伝子はさらに多くの多様性を付加する。

10

【0033】

Mr g AおよびDがともにIB 4⁺、VR 1⁻感覚ニューロン中で発現されるということは顕著である。IB 4⁺ニューロンは、ラミナII iに向けて突出することが知られており(Snider and McMahon Neuron 20:629 - 32 (1998))、これは、神経損傷を伴うような慢性の痛みに関与する(Malmberg et al. Science 278:279 - 83 (1997))。VR 1は、熱刺激、およびカプサイシンのような化学的刺激の両方により活性化される(Caterina et al. Nature 389:816 - 824 (1997); Tominaga et al. Neuron 21:531 - 43 (1998))が、VR 1⁺ニューロンは有害機械的刺激の感知には必要でない(Caterina et al. Science 288:306 - 13 (2000))。これは、Mr g A⁺ニューロンの機能のうちの1つによって、神経障害性または炎症性の痛みを伴う有害な機械的刺激が感知されていることを示す。

20

【0034】

侵害受容感覚ニューロン中で特異的に発現される推定Gタンパク質共役受容体のファミリーの存在は、これらの分子が痛みの感知の主要媒介物質またはモジュレーターであることを示唆する。したがって、慢性難治性の痛みの管理のために、これらの受容体の活性を調節する内因性および合成の両方のリガンドを同定することは非常に興味深い。実際、異種細胞発現系におけるリガンドスクリーニングは、これらの受容体が、その原型リガンドが軟体動物心臓興奮性ペプチドFMRF - アミドであるRF - アミド神経ペプチドと相互作用し得ることを示す(Price and Greenberg Science 197:670 - 671 (1977))。哺乳動物RF - アミドペプチドとしては、NPFFおよびNPAFが挙げられるが、これらは、後脊髄のIおよびII層のニューロン中で発現される共通のプロペプチド前駆物質に由来する(Vilim et al. Mol Pharmacol 55:804 - 11 (1999))。Mr g発現感覚ニューロンのシナプス末端部におけるこの神経ペプチドFF前駆物質の発現、機能性アッセイにおいてこれらの受容体を活性化し得るNPAFおよびNPFFの能力、ならびに背側角における第一感覚求心神経上にこのようなペプチドのための結合部位が存在すること(Gouardes et al. Synapse 35:45 - 52 (2000))は、これらの神経ペプチドが*in vivo*でのMr g受容体に関するリガンドであることを示す。NPFF / NPAFペプチドの鞘内注射は、例えば神経障害性の痛み(Xu et al. Peptides 20:1071 - 7 (1999))を含めたいくつかの慢性の痛みを患うモデルにおいて長期残存性抗侵害受容作用を生じる(Panula et al Brain Res. 848:191 - 6 (1999))で論評されている)ので、これらのデータはさらに、Mr gが痛みの調節に直接関与することを示す。

30

40

【0035】

マウス侵害受容器により発現されるMr g間の多様性の範囲は、異なる末梢標的、例えば腸、皮膚、毛包、血管、骨および筋肉を神経支配する感覚ニューロンにより、異なるMr gが発現されるという可能性を示唆する。これらの標的は、異なるMr gごとに異なるリガンドを分泌し得る。別の可能性として、異なるMr gを発現するニューロンは末梢侵

50

害受容器感受性の共通のモジュレーターに応答するが異なる親和性を有することも考えられる。このようなメカニズムにより、例えば、このようなモジュレーターの濃度が徐々にベースラインに戻るにつれて、創傷治癒中の侵害受容器の集団における正常刺激感受性は徐々に回復する。このような段階的応答は、異なるサブセットの侵害受容器の活性化閾値と結びつけられ得るか、あるいは活性化閾値を決定さえし得る。このスクリーニングで単離される別の新規の遺伝子ファミリー *dr g - 1 2* は、2つの推定膜貫通セグメントを有するタンパク質をコードする。*dr g - 1 2* は、マウス（配列番号 1 4）、およびヒト（配列番号 2 9）において同定された。*in situ* ハイブリダイゼーションにより、*m r g* 遺伝子と同様に、この遺伝子が DRG 感覚ニューロンのサブセット中でも特異的に発現されることが示される。これは膜タンパク質であるので、これらのニューロンによるシグナル伝達にも関与し得る。このタンパク質と他の既知のタンパク質との間に明白な相同性は認められないが、侵害受容感覚ニューロン中で特異的に発現される2つのプリン受容体 (P_2X_2 および P_2X_3) は同様の二回膜貫通トポロジーを有するという事は注目に値する。したがって、ファミリー *dr g - 1 2* は侵害受容感覚形質導入またはその調節に関与する受容体またはイオンチャネルもコードする可能性がある。

10

【0036】

本発明のタンパク質は、例えば慢性難治性の痛みおよび神経障害性の痛みの治療において、それらの発現または活性を調整する治療薬として、および作用物質の標的として役立つ可能性がある。例えば、痛みのシグナルの受容、伝達および伝送のような侵害受容性に関連した生物学的プロセスを調節する作用物質を同定することができる。

20

【0037】

II. 特定の実施形態

A. 定義

別記しない限り、本明細書中で用いられる技術的および科学的用語は、本発明が属する技術分野の当業者に一般に理解されるのと同じの意味を有する。例えば、Singleton et al., Dictionary of Microbiology and Molecular Biology 2nd ed., J. Wiley & Sons (New York, NY 1994); Sambrook et al., Molecular Cloning, A Laboratory Manual, Cold Springs Harbor Press (Cold Springs Harbor NY 1989) を参照されたい。本発明の目的のために、以下の用語は下記のように定義される。

【0038】

本明細書中で用いる場合、「タンパク質」または「ポリペプチド」とは、ひとつには、配列番号 2、4、6、8、10、12、14、16、18、19、21、23、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、71、73、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107 および 109 で示されるアミノ酸配列を有するタンパク質を指す。本用語は、天然のアレル変異体、ならびに上記で具体的に列挙したアミノ酸配列とわずかに異なるアミノ酸配列を有するタンパク質も指す。アレル変異体は、上記で引用したものとわずかに異なるアミノ酸配列を保有するが、依然としてそのタンパク質に対して同一または類似の生物学的機能を有する。

30

40

【0039】

本願明細書において、アミノ酸配列に関する同一性または相同性は、最大パーセンテージの相同性を達成するために、必要な場合は配列をアラインし、ギャップを導入した後に、既知のペプチドと同一である候補配列中のアミノ酸残基のパーセンテージによって定義される。この際、配列同一性の一部としていかなる保存的置換も考慮しない（関連パラメーターに関してはセクション B を参照）。融合タンパク質、あるいはペプチド配列における N 末端、C 末端または内部配列の伸長、欠失または挿入は、相同性に影響を及ぼさないと解釈するものとする。

【0040】

タンパク質は、C L U S T A L W (Thompson et al. Nucleic Acids Res 22:4673 - 80

50

(1994))を用いてアラインすることができ、ヌクレオチドまたはアミノ酸配列レベルでの相同性または同一性は、配列類似性検索用に作成されたプログラム `blastp`、`blastn`、`blastx`、`tblastn` および `tblastx` (Karlin, et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:2264 - 2268 (1990) および Altschul, S.F. J. Mol. Evol. 36:290 - 300 (1993)、これらの記載内容全体が、参照により本明細書中に援用される)により用いられるアルゴリズムを用いて `BLAST` (基本局所アラインメント検索ツール; Basic Local Alignment Search Tool) 分析することにより決定され得る。`BLAST` プログラムにより用いられるアプローチは、まずクエリー配列およびデータベース配列間の類似セグメントを考察し、次に同定されたすべての対の統計学的有意性を評価し、最後に有意性のある予め選択した閾値を満たす対のみを集約する。配列データベースの類似性検索における基本的問題を考察するためには、Altschul et al. (Nature Genetics 6:119 - 129 (1994)) (この記載内容全体が、参照により本明細書中に援用される)を参照されたい。ヒストグラム、記述、アラインメント、予測 (すなわち、データベース配列に対する対となる塩基を報告するための統計学的有意閾値)、カットオフ、マトリックスおよびフィルターの検索パラメータは、デフォルト設定である。`blastp`、`blastx`、`tblastn` および `tblastx` により用いられるデフォルト評価マトリックスは、`BLOSUM62` マトリックスである (Henikoff, et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:10915 - 10919 (1992)、この記載内容全体が、参照により本明細書中に援用される)。 `blastn` に関しては、評価マトリックスは、 M (すなわちマッチング残基対に関する報酬スコア) 対 N (すなわちミスマッチング残基に関するペナルティスコア) の比率により設定され、この場合、 M および N に関するデフォルト値はそれぞれ 5 および -4 である。4つの `blastn` パラメータは以下のように調整された: $Q = 10$ (gap creation penalty); $R = 10$ (gap extension penalty); $wink = 1$ (クエリーに沿ったすべての $wink$ 番目の位置でワードヒットを生成する); および $gapw = 16$ (ギャップ化アラインメントが生成される幅内でウィンドウ幅を設定)。等価 `blastp` パラメータ環境は、 $Q = 9$; $R = 2$; $wink = 1$; および $gapw = 32$ であった。`GCG` パッケージバージョン 10.0 で利用可能な配列間の最適適合比較は、`DNA` パラメータ $GAP = 50$ (gap creation penalty) および $LEN = 3$ (gap extension penalty) を使用し、タンパク質比較における等価設定は $GAP = 8$ および $LEN = 2$ である。

10

20

30

【0041】

「変異体」は、天然型配列内の1つまたはそれ以上のアミノ酸残基の挿入、欠失、修飾および/または置換によって、例えば `mr g 3` (配列番号2) に関して図1に示したような、本発明の天然型配列ポリペプチドの配列とは異なるアミノ酸配列を有しつつも、生物学的に活性なポリペプチドである。変異体としては、少なくとも5個のアミノ酸の、好ましくは少なくとも10個のアミノ酸の、さらに好ましくは少なくとも15個のアミノ酸の、さらにより好ましくは少なくとも20個のアミノ酸を有し、対応する天然型配列ポリペプチドの生物学的活性を保有するペプチド断片が挙げられる。変異体は、1つまたはそれ以上のアミノ酸残基が天然型配列のNまたはC末端に、または天然型配列内に付加されたポリペプチドも含む。さらに変異体としては、多数のアミノ酸残基が欠失し、1つまたはそれ以上の異なるアミノ酸残基により任意に置換されたポリペプチドも含む。

40

【0042】

本明細書中で用いる場合、「保存的変異体」とは、タンパク質の生物学的機能に悪影響を及ぼさないアミノ酸配列の変化が生じたものを指す。置換、挿入または欠失は、変化した配列が、タンパク質に関連する生物学的機能を妨げるかまたは崩壊させる場合、タンパク質に悪影響を及ぼすという。例えばタンパク質の全体的電荷、構造または疎水性/親水性特性は、生物学的活性に悪影響を及ぼさずに変化し得る。したがって、アミノ酸配列は、例えばペプチドをより疎水性または親水性にするなどして、タンパク質の生物学的活性に悪影響を及ぼさないように変化し得る。

【0043】

50

本明細書中で用いる場合、配列番号 2、4、6、8、10、12、14、16、18、19、21、23、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、71、73、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107 および 109 のアミノ酸配列に関連した「タンパク質ファミリー」としては、マウスおよびヒトに加えて、ほかの生物体の後根神経節から単離されたタンパク質が挙げられる。開示されたマウスおよびヒトタンパク質のようなこれらのタンパク質に関連したタンパク質のファミリーの他のタンパク質を同定および単離するために用いられる方法は以下で説明する。

【0044】

別記しない限り、「Mr g」という用語は、本明細書中で用いる場合、任意の 1 つまたはそれ以上の哺乳動物 mas 関連遺伝子 (Mr g) 受容体 (すなわち、Mr g A 1 ~ 8、Mr g B、Mr g C、Mr g D、Mr g E、Mr g X 1 ~ 4、およびすでに既知であるか、または将来同定される mas 関連遺伝子 (Mr g) ファミリーの任意のその他の受容体)、例えばマウスまたはヒトなどの哺乳動物の天然型配列 Mr g 受容体、Mr g 受容体変異体；Mr g 受容体細胞外ドメイン；ならびにキメラ Mr g 受容体 (これらの各々は本明細書中で定義されている) を指す。本用語は特に、Mr g A ファミリーの天然型配列マウス Mr g 受容体、例えば配列番号 2、4、6、12、21、23、25、27、53、55、57、59、61、63、65、67、69、71、73 および 75；Mr g B ファミリーの天然型配列マウス Mr g 受容体、例えば配列番号 39、41、43、45、47、77、79、81、83、85、87 および 89；Mr g C ファミリーの天然型配列マウス Mr g 受容体、例えば配列番号 91、93、95、97、99、101、103、105、107 および 109；Mr g D ファミリーの天然型配列マウス Mr g 受容体、例えば配列番号 49；Mr g E ファミリーの天然型配列マウス Mr g 受容体、例えば配列番号 51；それらのヒト相同体、並びに配列番号 16、18、31 および 33 の「Mr g X」と呼ばれる天然型配列ヒト Mr g 受容体を含む。

【0045】

「mas 関連遺伝子」、「mr g」および「Mr g」という用語は、本明細書中では互換的に用いられる。さらに用語 mr g 3、Mr g A 1 および mMr g A 1、用語 mr g 4、Mr g A 2 および mMr g A 2、用語 mr g 5、Mr g A 3 および mMr g A 3、用語 mr g 8、Mr g A 4 および mMr g A 4、用語 mr g 9、Mr g A 5 および mMr g A 5、用語 mr g 10、Mr g A 6 および mMr g A 6、用語 mr g 11、Mr g A 7 および mMr g A 7、用語 mr g 12、Mr g A 8 および mMr g A 8、用語 ヒト 1、Mr g X 1 および hMr g X 1、用語 ヒト 2、Mr g X 2 および hMr g X 2、用語 ヒト 4、Mr g X 3 および hMr g X 3 ならびに用語 ヒト 5、Mr g X 4 および hMr g X 4 は、それぞれ互換的に用いられる。これらの用語はすべて、本明細書中に記載された天然型配列 Mr g タンパク質、ならびに機能的誘導体、例えばそのアミノ酸配列変異体を指す。

【0046】

「天然型」または「天然型配列」の Mr g 受容体または dr g - 12 受容体は、その調製方式に関係なく、任意の哺乳動物種 (ヒトを含む) における天然 Mr g 受容体または天然 dr g - 12 受容体のアミノ酸配列を有する。したがって、天然型 Mr g 受容体または天然型配列 Mr g 受容体、もしくは天然型 dr g - 12 受容体または天然型配列 dr g - 12 受容体は、天然から単離されるか、組換え DNA 技術の技術により生成されるか、化学的に合成されるか、もしくはこれらの方法、または同様の方法の任意の組合せにより生成することができる。天然型 Mr g 受容体および天然型 dr g - 12 受容体には、特に、天然に生じたアレル変異体のアミノ酸配列を有するポリペプチド、当該技術分野で既知である、もしくは以下に発見されたこれらの受容体のアイソフォームまたはスプライシングされた変異体のアミノ酸配列を有するポリペプチドが含まれる。

【0047】

「細胞外ドメイン」(ECD) は、膜貫通ドメインおよび細胞質ドメインを本質的に含

10

20

30

40

50

有しない、すなわちそれらのドメインが1%未満、好ましくはそれらのドメインが0.5~0%、さらに好ましくはそれらのドメインが0.1~0%であるMr g受容体またはd r g - 12受容体の形態をいう。通常は、E C Dは、例えばm r g 3に関して図1Aに示されているような(E 1、E 2等)、天然型Mr gタンパク質またはd r g - 12タンパク質の1つまたはそれ以上のE C Dのアミノ酸配列と、少なくとも約60%、好ましくは少なくとも約65%、さらに好ましくは少なくとも約75%、さらにより好ましくは少なくとも約80%、さらにより好ましくは少なくとも約90%、よりいっそう好ましくは95%から少なくとも99%までのアミノ酸配列同一性を、そして最終的には100%の同一性を有するアミノ酸配列を有し、したがって下記のようなポリペプチド変異体を含む。

【0048】

第一予測細胞外ドメイン(E C D 1)は、およそMr g A 1に関しては1~21、Mr g A 2に関しては1~21、Mr g A 3に関しては1~21、Mr g A 4に関しては1~21、Mr g A 5に関しては1~3、Mr g A 6に関しては1~17、Mr g A 7に関しては1~21、およびMr g A 8に関しては1~21のアミノ酸からなる。第二予測細胞外ドメイン(E C D 2)は、およそMr g A 1に関しては70~87、Mr g A 2に関しては70~88、Mr g A 3に関しては70~88、Mr g A 4に関しては70~88、Mr g A 5に関しては52~70、Mr g A 6に関しては66~84、Mr g A 7に関しては70~88、Mr g A 8に関しては70~88のアミノ酸からなる。第三予測細胞外ドメイン(E C D 3)は、およそMr g A 1に関しては149~160、Mr g A 2に関しては150~161、Mr g A 3に関しては150~161、Mr g A 4に関しては150~161、Mr g A 5に関しては132~144、Mr g A 6に関しては146~157、Mr g A 7に関しては150~161、およびMr g A 8に関しては150~161のアミノ酸からなる。第四予測細胞外ドメイン(E C D 4)は、およそMr g A 1に関しては222~2244、Mr g A 2に関しては223~245、Mr g A 3に関しては223~242、Mr g A 4に関しては223~245、Mr g A 5に関しては205~225、Mr g A 6に関しては219~241、Mr g A 7に関しては223~245、およびMr g A 8に関しては223~245のアミノ酸からなる。

【0049】

「d r g - 12」という用語は、本明細書中で用いる場合、目下既知のまたは将来同定される任意の1つまたはそれ以上の哺乳動物(マウスやヒト等の天然型配列哺乳動物を含む)のd r g - 12受容体、d r g - 12受容体変異体; d r g - 12受容体細胞外ドメイン; ならびにキメラd r g - 12受容体を指す(これらは各々、本明細書中で定義されている)。本用語は特に、天然型配列マウスd r g - 12受容体、例えば配列番号14、ならびに任意のヒト相同体、例えばヒトd r g - 12受容体(配列番号29)を含む。

【0050】

本明細書中で用いる場合、「核酸」は、上記のようなタンパク質またはペプチドをコードするか、このようなペプチドをコードする核酸配列と相補的であるか、このような核酸とハイブリダイズし、かつ適当にストリンジェントな条件下でそれと安定的に結合を維持できるか、オープンリーディングフレーム全体で少なくとも約50%、60%、70%、75%、85%、90%または95%のヌクレオチド配列同一性を示すか、あるいはペプチド配列との少なくとも約50%、60%、70%、または75%、好ましくは少なくとも約80%、さらに好ましくは少なくとも約85%、さらにより好ましくは少なくとも約90%または95%またはそれより高い同一性を有するポリペプチドをコードするRNAまたはDNAとして定義される。特に意図されるのは、ゲノムDNA、cDNA、mRNAおよびアンチセンス分子、ならびに代替的な主鎖を基礎とする核酸であり、天然由来のものか、合成されたものかにかかわらず、代替的塩基を含むものを含む。しかしながら、さらに、このようなハイブリダイズ用または相補的核酸は、新規なものであり、かつ、従来の核酸と比較して非自明であるものとして定義され、これをコードするか、適当にストリンジェントな条件下でこれとハイブリダイズするか、または本発明のタンパク質をコードする核酸と相補的である配列を含む。

10

20

30

40

50

【 0 0 5 1 】

本明細書中で用いる場合、核酸、ポリヌクレオチドおよびヌクレオチドという用語は互換可能であり、ホスホジエステル結合で構成される場合、または修飾結合、例えばホスホトリエステル、ホスホロアミデート、シロキサン、カルボネート、カルボキシメチルエステル、アセトアミデート、カルバメート、チオエーテル、架橋ホスホロアミデート、架橋メチレンホスホネート、架橋ホスホロアミデート、架橋ホスホロアミデート、架橋メチレンホスホネート、ホスホロチオエート、メチルホスホネート、ホスホロジチオエート、架橋ホスホロチオエートまたはスルトン結合で構成される場合、およびこのような結合の組合せで構成される場合に関係なく、任意の核酸を指す。

【 0 0 5 2 】

核酸、ポリヌクレオチドおよびヌクレオチドという用語は特に、5つの生物学的生成塩基（アデニン、グアニン、チミン、シトシンおよびウラシル）以外の塩基を含む核酸も含む。例えば本発明のポリヌクレオチドは、5 - フルオロウラシル、5 - プロモウラシル、5 - クロロウラシル、5 - ヨードウラシル、ヒポキサンチン、キサンチン、4 - アセチルシトシン、5 - (カルボキシヒドロキシメチル)ウラシル、5 - カルボキシメチルアミノメチル - 2 - チオウリジン、5 - カルボキシメチルアミノメチル - ウラシル、ジヒドロウラシル、 β - D - ガラクトシルクエオシン、イノシン、N 6 - イソペンテニルアデニン、1 - メチルグアニン、1 - メチルイノシン、2 , 2 - ジメチルグアニン、2 - メチルアデニン、2 - メチルグアニン、3 - メチルシトシン、5 - メチルシトシン、N 6 - アデニン、7 - メチルグアニン、5 - メチルアミノメチルウラシル、5 - メトキシアミノメチル - 2 - チオウラシル、 β - D - マンノシルクエオシン、5' - メトキシカルボキシメチルウラシル、5 - メトキシウラシル、2 - メチルチオ - N 6 - イソペンテニルアデニン、ウラシル - 5 - オキシ酢酸 (v)、ワイプトキソシン、シュードウラシル、クエオシン、2 - チオシトシン、5 - メチル - 2 - チオウラシル、2 - チオウラシル、4 - チオウラシル、5 - メチルウラシル、ウラシル - 5 - オキシ酢酸メチルエステル、ウラシル - 5 - オキシ酢酸 (v)、5 - メチル - 2 - チオウラシル、3 - (3 - アミノ - 3 - N - 2 - カルボキシプロピル)ウラシル、(acp3)w、および2 , 6 - ジアミノプリンを含むがこれらに限定されない群から選択される少なくとも1つの修飾塩基部分を含み得る。

【 0 0 5 3 】

さらに本発明に用いられるポリヌクレオチドは、アラビノース、2 - フルオロアラビノース、キシロースおよびヘキソースを含むがこれらに限定されない群から選択される少なくとも1つの修飾糖部分を含み得る。

【 0 0 5 4 】

「ストリンジェントな条件」とは、(1)洗浄のために低イオン強度および高温の条件、例えば0 . 0 1 5 MのNaCl / 0 . 0 0 1 5 Mのクエン酸ナトリウム / 0 . 1 % SDS、50 を用いるか、あるいは(2)ハイブリダイゼーション中に変性剤、例えばホルムアミドを、例えば50 % (v o l / v o l)ホルムアミド(0 . 1 % ウシ血清アルブミン / 0 . 1 % フィコール / 0 . 1 % ポリビニルピロリドン / pH 6 . 5 の50 m Mの燐酸ナトリウム緩衝液を含む)を、750 m MのNaCl、75 m Mのクエン酸ナトリウムと共に42 で用いる条件である。別の例は、50 %ホルムアミド、5 × SSC (0 . 7 5 MのNaCl、0 . 0 7 5 Mのクエン酸ナトリウム)、50 m Mのリン酸ナトリウム(pH 6 . 8)、0 . 1 %ピロリン酸ナトリウム、5 × デンハルト溶液、超音波処理サケ精子DNA (50 μ g / ml)、0 . 1 % SDSおよび10 %硫酸デキストランの42 での使用、さらに0 . 2 × SSCおよび0 . 1 % SDS中で42 での洗浄という条件である。明白かつ検出可能なハイブリダイゼーションのシグナルを適切に得るために、当業者はストリンジェントな条件を容易に決定し、かつ変更し得る。

【 0 0 5 5 】

本明細書中で用いる場合、核酸分子は、他のポリペプチドをコードする夾雑核酸分子から当該核酸分子が実質的に分離される場合に、「単離される」といわれる。

【 0 0 5 6 】

本明細書中で用いる場合、コード核酸分子の断片とは、完全長タンパク質をコードする配列の一部分を指す。断片のサイズは、意図された用途により決定される。例えば断片がタンパク質の活性部分をコードするために選択される場合、断片はタンパク質の機能性領域（単数または複数）をコードするために十分な大きさである必要がある。例えば、予測抗原領域に対応するペプチドをコードする断片が調製され得る（図3および図4参照）。断片が核酸プローブまたはPCRプライマーとして用いられる場合には、断片長は、プロービング/プライミング中に相対的に少数の擬陽性を得るように選択される（セクションHの考察参照）。

【0057】

高度関連遺伝子相同体とは、Mr g A 1（配列番号2）のような本発明の天然型配列ポリヌクレオチドのアミノ酸配列と少なくとも約60%、好ましくは少なくとも約65%、70%、75%、80%、よりいっそう好ましくは、1%の増分で少なくとも約85%から少なくとも約99%までのアミノ酸配列同一性を有するタンパク質をコードするポリヌクレオチドである。

【0058】

「哺乳動物」という用語は、哺乳動物種に属する個体として定義され、その例としては、ヒト、家畜および農場動物、ならびに動物園、スポーツまたはペット用の動物、例えばヒツジ、イヌ、ウマ、ネコまたはウシが挙げられるが、これらに限定されない。好ましくは本明細書中の哺乳動物はヒトである。

【0059】

「機能的誘導体」としては、アミノ酸配列変異体、ならびに対応する天然型ポリペプチドの定性的生物学的活性を保有する限り天然型ポリペプチドの共有結合誘導体を含む。

【0060】

「Mr g リガンド」とは、Mr g 受容体と特異的に結合し、好ましくはMr g 受容体を活性化する分子を意味する。Mr g リガンドの例としては、Mr g A 受容体、例えばMr g A 1に対するRF-アミド神経ペプチド、例えばFMRF、FLRF、NP AF、NP FFおよびRFRP-1が挙げられるが、これらに限定されない。分子のMr g との結合能は、例えばMr g を発現する細胞から調製される膜分画とに対する推定リガンドの結合能により決定され得る。

【0061】

同様に、dr g - 12 リガンドは、dr g - 12 受容体と特異的に結合し、好ましくはdr g - 12 受容体を活性化する分子である。

【0062】

「キメラ」分子は、異種ポリペプチドに融合または結合された本発明の完全長ポリペプチド、変異体、あるいは本発明のポリペプチドの1つまたはそれ以上のドメインを含むポリペプチドである。キメラ分子は一般に、天然型配列ポリペプチドと共通の少なくとも1つの生物学的特性を有する。キメラ分子の例として、精製目的のためにエピトープタグ付けされた分子が挙げられる。他に、キメラ分子として、イムノアドヘシンが挙げられる。

【0063】

「エピトープタグ付け」という用語は、本明細書中で用いる場合、「タグポリペプチド」に融合されたMr g またはdr g - 12 を含むキメラポリペプチドを指す。タグポリペプチドは、抗体を生成することができるエピトープを提供するために十分な残基を有するが、それはMr g またはdr g - 12 の生物学的活性と相互作用しないよう十分に短い。タグポリペプチドは、好ましくは、それに対する抗体が実質的に他のエピトープと交差反応しないよう、かなり独特である。適切なタグポリペプチドは、一般に少なくとも6つのアミノ酸残基を、通常は約8~50アミノ酸残基（好ましくは約9~30残基）を有する。好ましいのはポリヒスチジン配列であり、これはニッケルを結合して、記載されたようなNi-NTAクロマトグラフィーによるタグ付けタンパク質の単離を可能にする（例えばLindsay et al. Neuron 17:571-574 (1996) 参照）。

【0064】

10

20

30

40

50

「アゴニスト」は、本発明のポリペプチドの1つまたはそれ以上の生物学的特性を刺激する分子または化合物である。これらの例としては、有機低分子および無機低分子、ペプチド、ペプチド擬似体およびアゴニスト抗体が挙げられるが、これらに限定されない。

【0065】

「アンタゴニスト」という用語は最も広範な意味で用いられ、そしてアゴニストの結合を阻止することにより、本発明の受容体により媒介される生物学的活性を、部分的にまたは全体的に、遮断、抑制または中和する任意の分子または化合物を指す。アンタゴニストとしては、有機低分子および無機低分子、ペプチド、ペプチド擬似体および中和抗体が挙げられるが、これらに限定されない。

【0066】

本発明のタンパク質は、好ましくは単離形態である。本明細書中で用いる場合、タンパク質は、物理的、機械的または化学的方法により、普通はタンパク質と会合している細胞構成成分を当該タンパク質から除去した場合に、単離されたという。単離タンパク質を得るための標準精製方法を、当業者は容易に用いることができる。場合によっては、本発明の単離タンパク質は多数の細胞構成成分から単離または精製されているものの、依然として細胞膜断片または膜構成成分と会合している。

【0067】

したがって「単離 Mr g」および「単離 dr g - 12」は、それぞれ、タンパク質供給源から精製されるか、または組換え方法または合成方法により調製され、精製された Mr g または dr g - 12 ポリペプチドを意味する。精製 Mr g または dr g - 12 は、他のポリペプチドまたはペプチドを実質的に含まない。「実質的に含まない」とは、ここでは、約5%未満、好ましくは約2%未満、さらに好ましくは約1%未満、さらにより好ましくは約0.5%未満、最も好ましくは約0.1%未満の他の供給源のタンパク質の混入を意味する。

【0068】

「本質的に純粋な」タンパク質とは、組成物の総重量を基礎にして少なくとも約90重量%のタンパク質を、好ましくは少なくとも約95重量%、さらに好ましくは少なくとも約90重量%、さらにより好ましくは少なくとも約95重量%のタンパク質を含む組成物を意味する。「本質的に均質な」タンパク質とは、組成物の総重量を基礎にして少なくとも約99重量%のタンパク質を含む組成物を意味する。

【0069】

「生物学的特性」とは、生物学的活性または免疫学的活性であって、この場合、生物学的活性は、ポリペプチド中のエピトープに対する抗体の産生を誘導する機能以外の、天然型配列または本明細書中の変異体ポリペプチド分子により引き起こされる生物学的機能（抑制性または刺激性のいずれか）を指し、抗体の産生を誘導する機能の特性は免疫学的活性と呼ばれる。生物学的特性としては特に、本明細書中の受容体分子の天然リガンドを結合する能力、好ましくは特異的結合、さらに好ましくは高親和性を伴う特異的結合をする機能が挙げられる。

【0070】

「抗体」(Ab)および「免疫グロブリン」(Ig)は、同一の構造的特徴を有する糖タンパク質である。抗体は特定の抗原に対する結合特異性を示すが、一方、免疫グロブリンは抗体、および抗原特異性を欠くその他の抗体様分子の両方を含む。抗原特異性を欠くその他の抗体様分子のポリペプチドは、例えばリンパ系により低レベルで産生され、そして骨髄腫により高レベルで産生される。

【0071】

「天然型抗体」および「天然型免疫グロブリン」は、通常は、2つの同一の軽(L)鎖および2つの同一の重(H)鎖から成るヘテロ四量体糖タンパク質である。各軽鎖は、1つの共有ジスルフィド結合により重鎖に連結される。ジスルフィド結合の連結の数は異なる免疫グロブリンアイソタイプの重鎖間で変わる。各重鎖および軽鎖は、規則正しい間隔の鎖内ジスルフィド架橋も有する。各重鎖は、一端に可変ドメイン(V_H)を、それに続

10

20

30

40

50

いて多数の定常ドメインを有する。各軽鎖は、一端に可変ドメイン (V_L) を、その他方の端に定常ドメインを有する。軽鎖の定常ドメインは重鎖の第一定常ドメインと直線状に並び、軽鎖可変ドメインは重鎖の可変ドメインと直線状に並ぶ。特定のアミノ酸残基は、軽鎖可変ドメインおよび重鎖可変ドメイン間に界面を形成すると考えられる。

【0072】

「抗体」という用語は、本明細書中では最も広範な意味で用いられ、特にヒト、非ヒト（例えばマウス）およびヒト化モノクローナル抗体（完全長モノクローナル抗体を含む）、ポリクローナル抗体、多重特異性抗体（例えば二特異性抗体）およびそれらが所望の生物学的活性を示す限り抗体断片を含む。

【0073】

「抗体断片」は、完全長抗体の一部分、一般的にはそれらの抗原結合性ドメインまたは可変ドメインを含む。抗体断片の例としては、Fab、Fab'、F(ab')₂およびFv断片、最小组み換え二重特異性抗体、線状抗体、一本鎖抗体分子、および抗体断片から生成される多特異性抗体が挙げられる。

【0074】

「モノクローナル抗体」という用語は、本明細書中で用いる場合、一集団を構成する個々の抗体が、少量で存在し得ると考え得る天然突然変異体をのぞいて同一である抗体の集団から得られる抗体を指す。モノクローナル抗体は、特異性が高く、単一の抗原部位に特異的である。さらにモノクローナル抗体は、当該技術分野で既知の任意の方法により調製され得る。例えば本発明に従って用いられるモノクローナル抗体は、Kohler et al., Nature 256:495 (1975) に最初に記載されたハイブリドーマ法により作製され得るか、あるいは組換えDNA法により作製され得る（例えば米国特許第4,816,567号参照）。「モノクローナル抗体」は、例えばClackson et al., Nature 352:624-628 (1991) およびMarks et al., J. Mol. Biol. 222:581-597 (1991) に記載された技術を用いて、ファージ抗体ライブラリーからも単離され得る。

【0075】

モノクローナル抗体は、本明細書中では特に、重鎖および/または軽鎖の一部分が特定の種に由来する抗体中の、または特定の抗体クラスまたはサブクラスに属する抗体中の対応する配列と同一であるかまたは相同である「キメラ」抗体（免疫グロブリン）を含むが、一方、鎖（単数または複数）の残り部分は、別の種に由来する抗体中の、または別の抗体クラスまたはサブクラスに属する抗体中の対応する配列と同一であるかまたは相同である。キメラ抗体の断片も含まれるが、但しそれらは所望の生物学的活性を示す（米国特許第4,816,567号およびMorrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:6851-6855 (1984)）。

【0076】

「ヒト化」型非ヒト（例えばマウス）抗体は、非ヒト免疫グロブリンに由来する最小配列を含む抗体である。ヒト化抗体とは一般に、その超可変領域残基が、所望の特異性、親和性および容量を有する非ヒト種、例えばマウス、ラット、ウサギまたは非ヒト霊長類からの超可変領域残基により置き換えられたヒト免疫グロブリンである。ヒト免疫グロブリンの枠組み構造領域（FR）の残基は、対応する非ヒト残基により置き換えられ得る。さらにヒト化抗体は、レシピエント抗体中にまたはドナー抗体中に見出されない残基を含み得る。概して、ヒト化抗体は、少なくとも1つの、典型的には2つの可変ドメインを実質的にすべて含むが、この場合、すべてのまたは実質的にすべての超可変領域が非ヒト免疫グロブリンのものに対応するか、あるいはすべてのまたは実質的にすべてのFRはヒト免疫グロブリン配列を有するものである。ヒト化抗体は、典型的にはヒト免疫グロブリンのものである免疫グロブリン定常領域（Fc）の少なくとも一部も任意に含む。さらなる詳細に関しては、Jones et al., Nature 321:522-525 (1986) ; Reichmann et al., Nature 332:323-329 (1988) およびPresta, Curr. Op. Struct. Biol. 2:593-596 (1992) を参照されたい。

【0077】

10

20

30

40

50

「エピトープ」という用語は、タンパク質抗原上にあり、（モノクローナルまたはポリクローナル）抗体のための結合部位を指すために用いる。

【0078】

「アゴニスト抗体」とは、本発明の受容体のためのリガンドであり、したがって天然型配列 Mr g または d r g - 1 2 の 1 つまたはそれ以上のエフェクター機能を活性化かつ / または刺激し得る抗体を意味する。

【0079】

「中和抗体」とは、本発明のポリペプチドのエフェクター機能を遮断するかまたは有意に低減し得る、本明細書中で定義されるような抗体分子を意味する。例えば中和抗体は、既知のリガンドにより Mr g または d r g - 1 2 活性化を抑制または低減し得る。

10

【0080】

「Mr g イムノアドヘシン」という用語は、Mr g または d r g - 1 2 分子（天然または変異体）および免疫グロブリン配列の少なくとも一部分を含むキメラ分子を指す。免疫グロブリン配列は、好ましくは免疫グロブリン定常ドメインであるが、必ずしもそうである必要はない。イムノアドヘシンは、ヒト抗体の特性の多くを保有し得る。イムノアドヘシンは、適切なヒト免疫グロブリンヒンジおよび定常ドメイン（Fc）配列に連結された所望の特異性を有するヒトタンパク質配列から構築され得るため、当該結合特異性は、全ヒト構成成分を用いて達成され得る。このようなイムノアドヘシンは患者に対する免疫原性が最小限であり、長期または反復使用に対しても安全である。イムノアドヘシン構造の 2 つの機能部位が異なる特異性を有する場合、イムノアドヘシンは、二重特異性抗体との類似性により、「二特異性イムノアドヘシン」と呼ばれる。

20

【0081】

本明細書中で用いる場合、「治療」とは、患者が表す疾患、障害または生理学的状態に対応して行う臨床的診療行為である。治療の目的としては、症状の軽減または予防、疾患、障害または状態の進行または悪化の遅延または停止、ならびに疾患、障害または状態の寛解が挙げられる。「治療」とは、治療上の処置および予防的または防止的手段の両方を指す。治療を必要とするものとしては、疾患または障害または望ましくない生理学的状態の影響を受けたもの、及び疾患または障害または望ましくない生理学的状態が防止されるべきものが含まれる。特に治療には、既存の状態または障害に起因する痛みを含めた痛みの軽減、あるいは痛みが発生するであろうと考えられる状況において痛みの防止を含み得る。

30

【0082】

本発明の方法において、「制御」という用語およびその文法的に変形した用語は、例えば痛みの存在、または発生のような望ましくない事象の防止、部分または完全抑制、軽減、遅延または減速を指すために用いられる。

【0083】

「有効量」という用語は、有益なまたは望ましい臨床結果をもたらすために十分な量を指す。アゴニストまたはアンタゴニストの有効量は、疾患、障害または望ましくない生理学的状態を治療するために有効である量である。

【0084】

「痛み」とは、接触、圧力、熱および寒冷の感知とは区別される、神経組織により認識される感覚の経験である。痛みの感覚の範囲、ならびに個体による痛みの感知は変動するため、痛みの明確な定義はほぼ不可能である。本発明の状況では、「痛み」は、考え得る最も広範な意味で用いられ、その例としては組織損傷および組織炎症に関連した痛みのような侵害受容の痛み、有害刺激に関連した痛み、急性の痛み、慢性の痛みおよび神経障害性の痛みが含まれる。

40

【0085】

「急性の痛み」はしばしば、特定の原因および目的に伴って一時的であり、一般に持続性心理学的反応を生じない。急性の痛みは、柔組織損傷中に、感染および炎症を伴って起こり得る。それは、その原因を処置することにより、かつ痛みを治療するための鎮痛薬お

50

よび感染を治療するための抗生物質を用いた併用方法により、調節および除去され得る。

【0086】

「慢性の痛み」とは、急性の痛みとは明瞭に異なり、より複雑である。慢性の痛みは時間制限を有さず、しばしば明らかな原因を有さず、明白な生物学的効果を示さないことがある。慢性の痛みは、患者および医療提供者の両者を困惑させる多数の心理学的問題を誘発して、無力感、絶望感といった感情をもたらし得る。慢性の痛みの最も一般的な原因としては、下背部痛、頭痛、再発性顔面痛、癌に関連した痛みおよび関節炎痛が挙げられる。

【0087】

痛みは、それが神経学的機能不全を伴う場合、「神経障害性」と呼ばれる。「神経障害性の痛み」には、複雑で変動性の病因がある。それは典型的には、痛覚過敏（痛みの閾値低下および痛みの感知増強）により、ならびに異痛（無害な機械的または熱刺激からの痛み）により特徴付けられる。神経障害性の痛みは、通常は慢性であり、「通常の痛み」（障害受容性の痛み）のための同一の治療薬剤は効果を示さない傾向があり、したがって治療は非常に困難である。神経障害性の痛みは、外傷、糖尿病、帯状ヘルペスまたは後期癌のような疾患、あるいは化学的損傷（例えば擬似ヌクレオチド抗HIV薬を含めた作用物質の副作用のような）により神経が損害を受けた場合、いつでも発症し得る。それは、切断術（例えば乳房切除）後にも発症し得る。神経障害性の痛みの例としては、単一神経根障害、三叉神経痛、ヘルペス後神経痛、複合局所性の痛み症候群および種々の末梢神経障害が挙げられる。これは、正常術後痛、外傷関連の痛みおよび関節炎の慢性の痛みを含む「通常の痛み」または「侵害受容の痛み」と対照を成す。

【0088】

「末梢神経障害」は、末梢神経に影響を及ぼす神経変性障害であって、しばしば運動機能障害、感覚機能障害、感覚運動機能障害または自律神経性機能不全のうちの1つまたはそれらの組合せとして表徴される。末梢神経障害は、例えば糖尿病（糖尿病性神経障害）、アルコール症および後天性免疫不全症候群（AIDS）のような疾患または障害、癌における細胞増殖抑制薬療法のような治療法、あるいは遺伝的疾患素質に起因し得る末梢感覚ニューロンの変性により特徴付けられる。遺伝的後天性末梢神経障害としては、例えばクラッペ病、異染性白質ジストロフィーおよびシャルコー-マリー-トゥース（CMT）病が挙げられる。末梢神経障害はしばしば痛みを伴う。

【0089】

「薬学的に許容可能な」キャリア、例えば賦形剤または安定剤は、用いられる投与量および用いられる濃度でそれに暴露される細胞または哺乳動物に対して非毒性である。しばしば生理学的に許容可能なキャリアは、リン酸緩衝液またはクエン酸緩衝液のような水性pH緩衝溶液である。生理学的に許容可能なキャリアは、1つまたはそれ以上の以下の物質を含み得る：酸化防止剤（例えばアスコルビン酸）、低分子量（約10残基未満）ポリペプチド、タンパク質（例えば血清アルブミン、ゼラチン、免疫グロブリン）、親水性ポリマー（例えばポリビニルピロリドン）、アミノ酸、炭水化物（例えばグルコース、マンノースまたはデキストリン）、キレート化剤（例えばEDTA）、糖アルコール（例えばマンニトールまたはソルビトール）、塩生成対イオン（例えばナトリウム）、ならびに非イオン性界面活性剤（例えばTween（商標）、ポリエチレングリコール（PEG）およびプルロニックス（商標））。

【0090】

「ペプチド擬似体」は、本発明の受容体との相互作用において、ペプチドの代わりとして作用する分子である（Morgan et al., Ann. Reports Med. Chem. 24:243 - 252 (1989)）。ペプチド擬似体は本明細書中で用いる場合、ペプチドの構造的および機能的特徴を有する合成体を含む。ペプチド擬似体は、アミノ酸および/またはペプチド結合を含むことも含まないこともある。「ペプチド擬似体」という用語は、ペプトイドおよびオリゴペプトイドも含み得るが、これらは、N置換アミノ酸のペプチドまたはオリゴマーである（Simon et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:9367 - 9371 (1972)）。さらにペプチド擬

似体として含まれるのはペプチドライブラリーであり、これは規定アミノ酸長を有するよう設計されたペプチドの集合であり、それに対応するアミノ酸のすべての考え得る配列を意味する。

【0091】

A．後根神経節の一次感覚ニューロン中で発現されるタンパク質

本発明は、単離 m r g タンパク質および単離 d r g - 1 2 タンパク質、それらのタンパク質のアレル変異体およびそれらのタンパク質の保存的アミノ酸置換体を提供する。本発明のいくつかの M r g タンパク質のポリペプチド配列は、配列番号 2、4、6、8、10、12、16、18、21、23、25、27、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、71、73、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107 および 109 で提供される。本発明のいくつかの d r g - 1 2 タンパク質のポリペプチド配列は、配列番号 14、19 および 29 で提供される。

10

【0092】

本発明のタンパク質はさらに、配列番号 2、4、6、8、10、12、14、16、18、19、21、23、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、71、73、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107 および 109 で記述される配列の挿入変異体、欠失変異体または保存的アミノ酸置換変異体を含む。

20

【0093】

通常、変異体、アレル変異体、保存的置換変異体および他の種における対応する相同体を含むタンパク質ファミリーに属するタンパク質は、配列番号 2、4、6、8、10、12、14、16、18、19、21、23、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、71、73、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107 および 109 で記述される配列と少なくとも約 50 % または約 60 ~ 75 % のアミノ酸配列同一性を、さらに好ましくは少なくとも約 80 %、さらにより好ましくは少なくとも約 90 %、最も好ましくは少なくとも約 95 % の上記の配列との配列同一性を有するアミノ酸配列を有する。

30

【0094】

本発明のタンパク質としては、配列番号 2、4、6、8、10、12、14、16、18、19、21、23、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、71、73、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107 および 109 で開示されたアミノ酸配列を有する分子、タンパク質の少なくとも約 3、4、5、6、10、15、20、25、30、35 またはそれ以上のアミノ酸残基の連続配列を有するそれらの断片、1 つまたはそれ以上のアミノ酸残基が、開示したコード配列の N または C 末端またはその内部に挿入されているアミノ酸配列変異体、1 つまたはそれ以上のアミノ酸残基が別の残基により置換されている開示した配列のアミノ酸配列変異体、あるいは上記のようなそれらの断片が挙げられる。このような断片は、ペプチドまたはポリペプチドとも呼ばれ、抗原領域、既知のタンパク質ドメインに対応するアミノ酸配列の領域として同定されたタンパク質の機能性領域、ならびに顕著な親水性の領域を含み得る。それらの領域は、市販のタンパク質配列分析ソフトウェア、例えば M A C V E C T O R (商標) (Oxford Molecular) を用いることにより、すべて容易に同定することが可能である。

40

【0095】

意図される変異体としてはさらに、例えば相同組換え、部位特異的または P C R 突然変異誘発により、予定の突然変異を起こした変異体、他の動物種、例えばウサギ、ラット、

50

ブタ、ウシ、ヒツジ、ウマ、ヒトおよび非ヒト霊長類種（これらに限定されない）の対応するタンパク質やタンパク質ファミリーのアレル変異体またはその他の天然の変異体、ならびに天然に存在するアミノ酸以外の部分（例えば酵素または放射性同位元素のような検出可能部分）においてタンパク質が置換、化学的、酵素的またはその他の適切な手段により共有的に修飾された誘導体が挙げられる。

【0096】

タンパク質ドメイン（例えばリガンド結合ドメイン、細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン（例えば7つの膜貫通セグメントおよびサイトゾルループ、または2つの膜貫通ドメインおよびサイトゾルループを含む）、膜貫通ドメインおよび細胞質ドメイン）、ならびに活性部位はすべて、本発明のタンパク質またはポリペプチド中に見出され得る。このようなドメインは、キメラタンパク質作製のために、および本発明の *in vitro* アッセイのために有用である。

10

【0097】

本発明の天然型配列タンパク質の、あるいは本発明で同定された種々のドメインの変異は、例えば当該技術分野で既知の任意の技術を用いてなされ得る。変異は、例えばタンパク質の1つまたはそれ以上のドメイン中において、他の任意のアミノ酸により少なくとも1つのアミノ酸を置換することにより達成することができる。天然型配列タンパク質と比較した場合の本発明のタンパク質のアミノ酸配列の変化は、タンパク質をコードする1つまたはそれ以上のコドンの置換、欠失または挿入により產生することができる。相同の既知のタンパク質分子の配列と、変化した *Mrg* または *drg* - 12 ポリペプチドの配列との比較により、どのアミノ酸残基が所望の生物学的活性に影響を及ぼすことなく、挿入、置換または欠失され得るかについての指針を提供することができる。特に、相同性が高い領域で起こるアミノ酸配列変化の数を最小限に抑えることは、有益であるだろう。アミノ酸置換は、あるアミノ酸を、同様の構造的特性および/または化学的特性を有する別のアミノ酸で置き換えること、例えばセリンによるロイシンの置換、すなわち保存的アミノ酸置換の結果であり得る。挿入または欠失は、任意に約1~5アミノ酸の範囲であり得る。許容可能な変異は、配列中にアミノ酸の挿入、欠失または置換を系統的に起こし、その結果生じた変異体の活性を、完全長配列または成熟天然型配列により示される活性に対して試験することにより決定することができる。

20

【0098】

ポリペプチド断片は、本発明の方法においても有用である。このような断片は、例えば完全長天然型タンパク質と比較した場合に、N末端またはC末端が切断されているか、あるいは内部残基を欠くこともある。ある種の断片は、*Mrg* または *drg* - 12 ポリペプチドの所望の生物学的活性に不可欠でないアミノ酸残基を欠く。

30

【0099】

Mrg 断片または *drg* - 12 断片は、多数ある従来技術のいずれかにより調製することができる。所望のペプチド断片は、化学的に合成されるか、または、特定のアミノ酸残基により規定される部位でタンパク質を切断する既知の酵素を用いてタンパク質を処理するなどの酵素消化により生成することができる。あるいは、タンパク質をコードするDNAは、適切な制限酵素を用いて消化され、所望の断片が単離され得る。さらに別の適切な技術は、ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）により、所望のポリペプチド断片をコードするDNA断片を単離し、増幅することを含む。DNA断片の所望の末端を規定するオリゴヌクレオチドは、PCRにおいて5'および3'プライマーとして用いられる。好ましくは *Mrg* または *drg* - 12 ポリペプチド断片は、天然型 *Mrg* または *drg* - 12 ポリペプチドとそれぞれ少なくとも1つの生物学的活性および/または免疫学的活性を共有する。

40

【0100】

それぞれ天然型配列に対応した必要な生物学的特性を有するアミノ酸配列変異体を作製する場合、アミノ酸の疎水親水指数が検討され得る。例えば、ある種のアミノ酸は、生物学的活性が有意に変化することなく、同様の疎水親水指数またはスコアを有する他のアミ

50

ノ酸に置換し得ることが既知である。したがって、+ 4 . 5 の疎水親水指数を有するイソロイシンは一般に、バリン (+ 4 . 2) またはロイシン (+ 3 . 8) に置換することができ、ポリペプチドの生物学的活性に有意の影響を及ぼすことはないと予測される。同様に、通常は、リシン (- 3 . 9) はアルギニン (- 4 . 5) に置換することができ、基礎的なポリペプチドの生物学的特性における任意の有意の変化はないと予測される。アミノ酸置換の選択に関するその他の考察としては、側鎖置換基の類似性、例えば種々のアミノ酸のサイズ、求電子性、電荷が挙げられる。概して、アラニン、グリシンおよびセリン；アルギニンおよびリシン；グルタミン酸およびアスパラギン酸；セリンおよびトレオニン；ならびにバリン、ロイシンおよびイソロイシンは互換可能性であり、生物学的特性における任意の有意の変化はないと予測される。このような置換は、一般に保存的アミノ酸置換と呼ばれ、本発明のポリペプチド内での好ましい種類の置換である。 10

【 0 1 0 1 】

非保存的置換は、あるクラスのアミノ酸が、別のクラスのアミノ酸によって必然的に交換されることである。このような置換残基は、保存的置換部位にも、さらに好ましくは残りの (非保存) 部位にも導入され得る。

【 0 1 0 2 】

変異は、部位特異的突然変異誘発、アラニン走査突然変異誘発、および P C R 突然変異誘発などの当該技術分野で既知の方法を用いて起こすことができる。M r g または d r g - 1 2 変異体 D N A を産生するために、部位特異的突然変異誘発 (Carter et al., Nucl. Acids Res., 13:4331 (1986) ; Zoller et al., Nucl. Acids Res., 10:6487 (1987)) 20、カセット突然変異誘発 (Wells et al., Gene, 34:315 (1985))、制限選択突然変異誘発 (Wells et al., Philos. Trans. R. Soc. London SerA, 317:415 (1986)) またはその他の既知の技術をクローン化 D N A に対して用いることができる。

【 0 1 0 3 】

走査アミノ酸分析は、生物学的活性に有意の影響を及ぼすことなく置換できる 1 つまたはそれ以上のアミノ酸を同定するために用いられ得る。好ましい走査アミノ酸のうちの 1 つは、比較的小さい中性アミノ酸である。このようなアミノ酸としては、アラニン、グリシン、セリンおよびシステインが挙げられる。アラニンは、最も一般的なアミノ酸であることのほかに、それが β 炭素の向こうに側鎖を排除し、変異体の主鎖立体配座を変更することはないと考えられるため好ましい (Cunningham and Wells, Science, 244:1081 - 108 30 5 (1989))。さらにアラニンはしばしば、内側または外側の位置の両方に見出される (Creighton, The Proteins, (W.H. Freeman & Co., N.Y.) ; Chothia, J. Mol. Biol., 15 0:1 (1976))。アラニン置換が十分な量の変異を生じない場合、等比体積アミノ酸を用いることができる。

【 0 1 0 4 】

下記のように、タンパク質ファミリーに属するタンパク質が： 1) タンパク質の少なくとも 1 つの活性を調節する作用物質を同定するために、 2) タンパク質に関する結合パートナーを同定するために、 3) ポリクローナルまたはモノクローナル抗体を生成するための抗原として、 4) 治療上の標的として、 5) 痛みの感覚ニューロンの特定集団に対する診断マーカーとして、ならびに 6) 構造に基づくリガンド同定のための標的として用いら 40 れ得る。

【 0 1 0 5 】

B . 核酸分子

本発明はさらに、配列番号 2、4、6、8、10、12、14、16、18、19、21、23、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、71、73、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107 または 109 を有する m r g または d r g - 1 2 タンパク質、および本明細書中に記載された関連ポリペプチドをコードする核酸分子を、好ましくは単離形態で提供する。M r g 受容体の 8 つの完全長変異体 (m M r g A 1 ~ 8) をコー 50

ドする cDNA は、図 6 A (配列番号 1、3、5、11、20、22、24、26) に提示される。

【0106】

好ましい分子は、配列番号 1、3、5、7、9、11、13、15、17、20、22、24、26 または 28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、70、72、74、76、78、80、82、84、86、88、90、92、94、96、98、100、102、104、106 または 108 の相補体と上記で定義したストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、そして機能的ペプチドをコードするものである。好ましいハイブリダイズ分子は、配列番号 1、3、5、7、9、11、13、15、17、20、22、24、26、または 28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、70、72、74、76、78、80、82、84、86、88、90、92、94、96、98、100、102、104、106 または 108 のオープンリーディングフレームまたはコード配列の相補鎖と上記条件下でハイブリダイズするものである。

10

【0107】

本発明の方法は、ポリヌクレオチドの供給源によって限定されない。ポリヌクレオチドは、ヒトまたは非ヒト哺乳動物由来のもの、任意の組換え体が供給源のもの、*in vitro* でまたは化学合成により合成されるものであってよい。ヌクレオチドは DNA または RNA であり得るし、二本鎖、一本鎖または部分的二本鎖形態で存在し得る。

20

【0108】

本発明で有用な核酸としては、例えば、アンチセンス DNA および / または RNA のようなオリゴヌクレオチド、リボザイム、遺伝子療法のための DNA、DNA および / または RNA キメラ、種々の構造的形態の DNA (例えば一本鎖 DNA、二本鎖 DNA、超らせん DNA および / または三重らせん DNA)、Z-DNA 等が挙げられるが、これらに限定されない。核酸は、大量に核酸を調製するために典型的に用いられる任意の従来手段により、調製することができる。例えば DNA および RNA は、当該技術分野で既知の方法により、市販の試薬および合成機を用いて化学的に合成することができる (例えば Gait, 1985, Oligonucleotide Synthesis: A Practical Approach, IRL Press, Oxford, England 参照)。

30

【0109】

Mrg 核酸配列または drg - 12 核酸配列によりコードされる任意の mRNA 転写体、特に mRNA 前駆物質の選択的スプライシングまたはプロセシングの産物である mRNA 転写体を、本発明の方法に用いることができる。

【0110】

修飾ヌクレオシド結合を有する核酸も、本発明の方法に用いることができる。核酸を修飾することにより、例えば分解に対してより強い耐性を有し得る。このような核酸は、当該技術分野で既知の試薬および方法を用いて合成することができる。例えばホスホネート、ホスホロチオエート、ホスホロジチオエート、ホスホルアミデート、メトキシエチルホスホルアミデート、ホルムアセタール、チオホルムアセタール、ジイソプロピルシリル、アセトアミデート、カルバメート、ジメチレンスルフィド (- CH₂ - S - CH₂)、ジメチレン - スルホキシド (- CH₂ - SO - CH₂)、ジメチレン - スルホン (- CH₂ - SO₂ - CH₂)、2' - O - アルキルおよび 2' - デオキシ - 2' - フルオロホスホロチオエートヌクレオシド結合を含む核酸の合成方法が、当該技術分野でよく知られている。

40

【0111】

本発明のいくつかの実施形態では、用いられるヌクレオチドは α - アノマーヌクレオチドである。 α - アノマーヌクレオチドは、相補的 RNA と特異的二重鎖ハイブリッドを形成するが、この場合、通常の β 単位とは逆に、その鎖は互いに平行に結合する (Gautier et al., 1987, Nucl. Acids Res. 15:6625 - 6641)。ヌクレオチドは、2' - O - メチルリボヌクレオチド (Inoue et al., 1987, Nucl. Acids Res. 15:6131 - 6148) またはキメ

50

ラ R N A - D N A 類縁体 (Inoue et al., 1987, FEBS Lett. 215:327 - 330) であり得る。

【 0 1 1 2 】

本発明の核酸を精製するための手段は当該技術分野で既知であり、当業者は、特定の状況下で最適な精製方法を選択することができる。このような選択は、ひとつには D N A のサイズ、精製される量および所望の純度に基づいてすることができる。例えば核酸は、逆相 H P L C またはイオン交換 H P L C、サイズ排除クロマトグラフィーまたはゲル電気泳動により精製することができる。

【 0 1 1 3 】

M r g または d r g - 1 2 コード配列の少なくとも 1 0 ヌクレオチド (すなわちハイブリダイズ可能部分) を有する単離ポリヌクレオチドまたは精製ポリヌクレオチド、またはその相補体も、本発明の方法に用いることができる。他の実施形態では、ポリヌクレオチドは M r g コード配列のうちの、少なくとも 2 5 個の (連続) ヌクレオチド、5 0 個のヌクレオチド、1 0 0 個のヌクレオチド、1 5 0 個のヌクレオチドまたは 2 0 0 個のヌクレオチド、または完全長 M r g コード配列を含む。核酸は、一本鎖または二本鎖であり得る。さらに本発明は、上記のコード配列の相補体と選択的にハイブリダイズするポリヌクレオチドに関する。好ましい実施形態では、ポリヌクレオチドは、M r g コード配列の少なくとも 1 0、2 5、5 0、1 0 0、1 5 0 または 2 0 0 個のヌクレオチド、あるいは完全長 M r g コード配列を含む。

10

【 0 1 1 4 】

M r g タンパク質の突然変異体、M r g のペプチド断片、M r g の切断形態および M r g 融合タンパク質をコードするヌクレオチド配列も、本発明の方法に有用であり得る。融合タンパク質をコードするヌクレオチドとしては、完全長 M r g 配列、切断形態の M r g、または非関連タンパク質またはペプチドに融合された M r g のペプチド断片をコードするヌクレオチド (例えばマーカーとして用いられ得る蛍光タンパク質または発光タンパク質のような例えば I g F c ドメインに融合されたまたは酵素に融合されたドメイン) が挙げられるが、これらに限定されない。

20

【 0 1 1 5 】

さらに、少なくとも一部において、誘導された進化の形態、例えば遺伝子シャッフリングまたは反復配列組み換えが起こった結果、生成されたポリヌクレオチド変異体を、本発明の方法に用いることができる。例えばこのような技術を用いることにより、M r g または d r g - 1 2 と類似のタンパク質をコードするが、機能的または構造的特徴が変化した新規の配列を生成することができる。

30

【 0 1 1 6 】

上記のポリヌクレオチド配列をコードする M r g の高度関連遺伝子相同体も、本発明に有用であろう。高度関連相同体は、M r g タンパク質と機能的活性を共有するタンパク質をコードし得る。

【 0 1 1 7 】

本発明はさらに、コード核酸分子の断片を提供する。ポリメラーゼ連鎖反応 (P C R) のためのプローブまたは特異的プライマーとして、あるいは本発明のタンパク質をコードする遺伝子配列を合成するために用いられる本発明のコード核酸分子の断片 (すなわち合成オリゴヌクレオチド) は、化学的技術により、例えば Matteucci 等 (J. Am. Chem. Soc. 103:3185 - 3191, 1981) のホスホトリエステル法により、または自動合成法を用いて容易に合成され得る。さらに、既知の方法により、例えば遺伝子の種々の調節セグメントを規定する一群のオリゴヌクレオチドの合成と、その後のオリゴヌクレオチドの連結反応とにより、完全修飾遺伝子を構築し、より大きい D N A セグメントを容易に調製することができる。

40

【 0 1 1 8 】

本発明のコード核酸分子はさらに、診断目的および試験目的のための検出可能標識を含むように修飾することができる。種々のこのような標識は当該技術分野で既知であり、本

50

明細書中に記載された配列分子とともに容易に用いることができる。適切な標識としては、ビオチン、放射能標識ヌクレオチド等が挙げられるが、これらに限定されない。本発明の核酸分子の標識された変異体を生成するために、当業者は任意のこのような標識を容易に用いることができる。

【0119】

本発明のタンパク質のアミノ酸配列をコードする任意のヌクレオチド配列を用いて、以下でさらに詳細に説明するように、タンパク質を発現する組換え分子を生成することができる。さらに本発明の方法は、M r gまたはd r g - 1 2コード配列および異種タンパク質の第二コード配列を含む融合ポリヌクレオチドも利用することができる。

【0120】

C. その他の関連核酸分子の単離

上記のように、m r gまたはd r g - 1 2タンパク質をコードする核酸分子の同定および特徴付けをすることにより、本明細書中に記載された配列のほかに、同一タンパク質ファミリーのその他のタンパク質をコードする核酸分子を、当業者は単離することができる。

【0121】

本質的に、適切な細胞から調製された発現ライブラリーをスクリーニングするための抗体プローブを生成するために、当業者は、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、19、21、23、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、71、73、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107あるいは109のアミノ酸配列を容易に用いることができる。典型的には、精製タンパク質（下記のような）で免疫化したウサギのような哺乳動物からのポリクローナル抗血清、あるいはモノクローナル抗体を用いて、哺乳動物c D N Aまたはゲノム発現ライブラリー（例えばラムダg t I Iライブラリー）をプローブして、タンパク質ファミリーの他のタンパク質に関する適切なコード配列を得ることができる。クローン化c D N A配列は、融合タンパク質として発現され、それ自体の制御配列を用いて直接発現され、あるいはタンパク質の発現に用いられる特定の宿主に適した制御配列を用いた構築により発現され得る。

【0122】

あるいは、本明細書中に記載されたコード配列の一部は、合成され、任意の哺乳動物生物体由来の細胞からの、特にM r gタンパク質を発現すると考えられる細胞からのM r gタンパク質ファミリーに属するタンパク質をコードするD N Aを検索するためのプローブとして用いられ得る。約18～20ヌクレオチドを含有する（約6～7アミノ酸長をコードする）オリゴマーが調製され、ゲノムD N Aまたはc D N Aライブラリーをスクリーニングするために用いられ、ストリンジェントな条件下で、または過度のレベルの擬陽性を排除するために十分にストリンジェントな条件下でハイブリダイズさせる。コード配列の5'または3'末端に対応するオリゴヌクレオチドを用いて、より長いヌクレオチド配列を生成し得る。

【0123】

完全長c D N Aを生成するためには、複数のc D N Aライブラリーをスクリーニングすることが必要とされ得る。さらに、完全5'末端コード領域を生成するためにR A C E（c D N A末端の迅速増幅）技術のような技術を用いることが必要であり得る。R A C Eは、不完全c D N Aの5'末端を増幅するためのP C Rを基にした戦略の一つである。c D N Aの5'末端を生成するために、アンカープライマーおよび3'プライマーを用いて5'-R A C E-Ready c D N A上でP C Rは実行される。次に、アンカープライマーおよびネステッド3'プライマーを用いて、二次P C Rが実施される。いったん完全長c D N A配列が生成されれば、それはアミノ酸配列に翻訳されて、同定可能領域、例えば翻訳開始および終結部位が側面に位置する連続オープンリーディングフレーム、潜在的シグナル配列、そして最後は本明細書中に開示されたタンパク質配列との全体的構造的類似

10

20

30

40

50

性に関して検査することができる。

【0124】

関連核酸分子は、ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）におけるオリゴヌクレオチドプライマー対を用いることにより検索されて、コード核酸分子を選択的にクローニングすることができる。オリゴヌクレオチドプライマーは、本明細書中に開示されたタンパク質コード配列を基礎にして設計された変性オリゴヌクレオチドプライマープールであり得る。反応のための鋳型はcDNAでもよく、該cDNAは、例えばMr gまたはdr g - 12遺伝子のアレルを発現することが既知であるかまたは考えられる、ヒトまたは非ヒト細胞株または組織、例えばDRG組織から調製されたmRNAの逆転写（RT）により得られる。このようなPCRプライマーを用いたPCR変性/アニーリング/伸長サイクルは当該技術分野に既知であり、他のコード核酸分子を単離する用途に容易に適応させることができる。

10

【0125】

増幅配列がMr gまたはdr g - 12コード配列の配列を表していることを確認するために、PCR産物はサブクローニングされ、シーケンシングされ得る。次にPCR断片は、種々の方法により完全長cDNAクローンを単離するために用いられ得る。例えば増幅断片は標識され、cDNAライブラリーをスクリーニングするために用いることができる。あるいは標識断片を用いて、ゲノムライブラリーをスクリーニングすることによりゲノムクローンを単離することができる。

【0126】

20

PCR技術は、完全長cDNA配列を単離するために利用することができる。RNAは、適切な細胞または組織供給源、例えば後根神経節（DRG）から単離され、RT反応は、一次鎖合成を誘導するために、増幅断片のほとんどの5'末端に特異的なオリゴヌクレオチドプライマーを用いて実行することができる。次に、その結果生じたRNA/DNAハイブリッドを、末端トランスフェラーゼ反応によってグアニンを用いて「末端伸長」し、ハイブリッドをRNAアーゼHで消化し、次に、ポリCプライマーを用いて、二次鎖合成を誘導することができる。これにより、増幅断片の上流のcDNA配列の単離が可能になる。

【0127】

mr gおよびdr g - 12ファミリーの他のタンパク質をコードする核酸分子は、既存のゲノム情報またはその他の配列情報において、任意の利用可能なコンピュータを用いた方法、例えばPSI-BLAST (Altschul, et al. (1997) Nucleic Acids Res. 25:3389 - 3402)、PHI-BLAST (Zhang, et al. (1998), Nucleic Acids Res. 26:3986 - 3990)、3D-PSM (Kelly et al. J. Mol. Biol. 299(2):499 - 520 (2000))、ならびにその他のコンピュータを用いた分析法 (Shi et al. Biochem. Biophys. Res. Commun. 262(1):132 - 8 (1999) およびMatsunami et al. Nature 404 (6778):601 - 4 (2000)) (これらに限定されない) を用いて同定することができる。

30

【0128】

Mr gまたはdr g - 12遺伝子の突然変異体またはアレル変異体のcDNAクローンも単離することができる。突然変異体または変異体タンパク質の考えられる供給源は、DRG組織のようなMr gまたはdr g - 12を発現することが既知の組織であって、Mr gまたはdr g - 12の突然変異体または変異体の形態を保有すると推定される個体から得られる組織である。このような個体は、例えば痛みの刺激に対する応答性の増大または低減を実証することにより同定され得る。一実施形態では、突然変異体あるいは変異Mr gまたはdr g - 12遺伝子はPCRによって同定することができる。第一のcDNA鎖は、変異体を保有すると推定される組織から単離されたmRNAとオリゴ-dTオリゴヌクレオチドをハイブリダイズし、逆転写酵素により新規の鎖を伸長することにより合成することができる。次に、第二のcDNA鎖は、正常遺伝子の5'末端と特異的にハイブリダイズするオリゴヌクレオチドを用いて合成される。次に、これら2つのプライマーを用いて、生成物をPCRにより増幅し、適切なベクター中でクローニングし、当業者に既知

40

50

の方法によりDNA配列の分析を行う。突然変異Mr gアレルのDNA配列を、正常Mr gアレルのDNA配列と比較することにより、突然変異Mr g遺伝子産物の機能のあらゆる損失または変化の原因となる突然変異（単数または複数）を突き止めることができる。

【0129】

あるいはゲノムライブラリーは、突然変異Mr gアレルを保有すると考えられるかまたはそれが既知である個体から得られるDNAを用いて構築されるか、あるいは、突然変異Mr gアレルを発現することが既知のまたはそれが考えられる組織からのRNAを用いて構築され得る。次に、非損傷Mr g遺伝子またはその任意の適切な断片を標識し、このようなライブラリー中の対応する突然変異Mr gアレルを同定するためのプローブとして用いることができる。次に、突然変異Mr g遺伝子配列を含有するクローンを精製し、当業者

10

【0130】

さらに、例えばこのような突然変異Mr gアレルを保有すると考えられる個体中で突然変異Mr gアレルを発現することが既知の組織、またはそれが考えられる組織から単離されたRNAから合成されるcDNAを利用して、発現ライブラリーを構築することができる。このようにして、推定突然変異組織により作製される遺伝子産物を、以下に記載するように、正常Mr g遺伝子産物に対して産生される抗体を用いて、標準抗体スクリーニング法によって発現させ、スクリーニングすることができる。

【0131】

D. 核酸分子を含む組換えDNA分子

20

本発明はさらに、コード配列を含有する組換えDNA分子（rDNA）を提供する。本明細書で使用する場合、rDNA分子は、in situにて分子操作を施したDNA分子である。rDNA分子を生成する方法は、当該技術分野で既知であり、例えば、Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd edition, 1989; Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NYを参照されたい。好ましいrDNA分子において、コードDNA配列を発現制御配列および/またはベクター配列に、これが機能するように連結することができる。

【0132】

したがって、本発明はまた、任意にコード配列の発現を誘導する調節エレメントと結合している、Mr gまたはdr g - 12コード配列および/またはそれらの相補体のいずれか1つを含むDNAベクターを企図する。本発明の配列をコードするタンパク質ファミリーの一つが、これが機能するように結合したベクターおよび/または発現制御配列の選択は、当該技術分野で既知のように、タンパク質発現、形質転換されるべき宿主細胞などの所望の機能特性に直接依存する。本発明により意図されるベクターは、少なくともrDNA分子に含まれる構造遺伝子の複製、または該遺伝子の宿主染色体への挿入、好ましくは該遺伝子の発現をも誘導することが可能である。

30

【0133】

クローニングベクターおよび発現ベクターの両方は、ベクターが1つまたはそれ以上の選択宿主細胞において複製することを可能にする核酸配列を含む。クローニングベクターにおいて、この配列は、ベクターが宿主染色体DNAとは独立して複製することを可能にして、かつ複製起点または自己複製配列を含むものである。かかる配列は、様々な細菌、酵母およびウイルスに関して既知である。プラスミドpBR322の複製起点は、ほとんどのグラム陰性菌に適しており、2μプラスミド起点は、酵母に適しており、様々なウイルス起点（SV40、ポリオーマ、アデノウイルス、VSVまたはBPV）は、哺乳動物細胞におけるクローニングベクターに有用である。

40

【0134】

生物体の少なくとも1つの種類にて複製可能であることに加えて、ほとんどの発現ベクターは、発現用の別の生物体にトランスフェクトすることができる。例えば、ベクターは、大腸菌にて複製された後、同一ベクターが発現用の酵母または哺乳動物細胞にトランスフェクトされる。

50

【 0 1 3 5 】

DNAはまた、宿主ゲノムへの挿入により増幅され得る。例えば、バシラス属ゲノム配列に相補的なDNA配列を含むベクターを用いたバシラス属のトランスフェクションは、ゲノムによる相同組換えおよびベクター由来のDNAの挿入をもたらす。このタイプの系の1つの欠点は、DNAを切除するために制限酵素消化が必要であるため、所定のタンパク質をコードするゲノムDNAの回収が、外因的に複製されたベクターのDNAの回収よりも複雑であることである。

【 0 1 3 6 】

発現の調節が可能のように連結される、タンパク質コード配列の発現を調節するために使用される発現制御エレメントは、当該技術分野で既知であり、誘導性プロモーター、構成的プロモーター、分泌シグナル、および他の調節エレメントが挙げられるが、これらに限定されない。好ましくは、誘導性プロモーターは、例えば、宿主細胞培地における栄養分に応答するように容易に制御される。

10

【 0 1 3 7 】

一実施形態では、コード核酸分子を含有するベクターは、原核生物レプリコン、すなわち、組換えDNA分子で形質転換した原核宿主細胞（例えば細菌宿主細胞）の染色体外で、組換えDNA分子の自己複製および維持を誘導する能力を有するDNA配列を含み得る。かかるレプリコンは、当該技術分野で既知である。さらに、原核生物レプリコンを含むベクターはまた、その発現が薬剤耐性のような検出可能なマーカーを付与する遺伝子を含んでもよい。典型的な細菌薬剤耐性遺伝子は、アンピシリンまたはテトラサイクリンに対する耐性を付与するものである。

20

【 0 1 3 8 】

原核生物レプリコンを含むベクターは、大腸菌のような細菌宿主細胞においてコード遺伝子配列の発現（転写および翻訳）を誘導することが可能な原核生物またはバクテリオファージのプロモーターをさらに含み得る。プロモーターは、RNAポリメラーゼの結合および転写の開始を可能にするDNA配列により形成される発現制御エレメントである。細菌宿主に適合するプロモーター配列は、典型的に、本発明のDNAセグメントを挿入するために便利な制限部位を含むプラスミドベクターにて提供される。典型的なかかるベクタープラスミドは、BioRad Laboratories（Richmond, CA）から入手可能なpUC8、pUC9、pBR322およびpBR329、ならびにPharmacia（Piscataway, NJ）から入手可能なpPLおよびpKK223である。

30

【 0 1 3 9 】

真核細胞と適合する発現ベクター、好ましくは脊椎動物細胞と適合する発現ベクターもまた、コード配列を含むrDNA分子を形成するために使用することができる。真核細胞発現ベクターは、当該技術分野で既知であり、幾つかの商業的供給元から入手可能である。典型的に、所望のDNAセグメントを挿入するために便利な制限部位を含むかかるベクターが提供される。典型的に、かかるベクターは、pSVLおよびpKSV-10（Pharmacia）、pBPV-1/pML2d（International Biotechnologies, Inc.）、pTDT1（ATCC, #31255）、アデノウイルスベクターまたはレトロウイルスベクターのような真核生物ウイルスベクター、および同様の真核発現ベクターである。

40

【 0 1 4 0 】

本発明のrDNA分子を構築するために使用される真核細胞発現ベクターは、真核細胞にて有効な選択マーカー、好ましくは薬剤耐性選択マーカーをさらに含んでもよい。この遺伝子は、選択培地にて培養する形質転換宿主細胞の生存または成長に必要な因子をコードする。選択遺伝子を含むベクターで形質転換されていない宿主細胞は、培地で生存しないであろう。典型的な選択遺伝子は、抗生物質または他の毒素（例えばアンピシリン、ネオマイシン、メトトレキセートまたはテトラサイクリン）に対する耐性を付与するか、栄養要求株の欠損を補完するか、あるいは培地から与えられていない重要な栄養分を供給するタンパク質をコードする。好ましい薬剤耐性マーカーは、その発現がネオマイシン耐性、すなわちネオマイシンホスホトランスフェラーゼ（neo）遺伝子をもたらす遺伝子で

50

ある (Southern et al., J. Mol. Anal. Genet. 1:327 - 341, 1982)。選択可能なマーカーは任意に、個々のプラスミド上に配置することができ、また同時トランスフェクションにより導入することができる。

【0141】

選択系の一例にて、哺乳動物細胞形質転換体は、ベクター (複数可) を取り込んだおかげで、形質転換体のみが生存することが可能であるような選択強制条件下に置かれる。選択強制条件は、培地における選択作用物質の濃度を徐々に増加することにより強くされ、それにより選択遺伝子および所望のタンパク質をコードする DNA の両方の増幅を刺激する。増幅は、成長に不可欠なタンパク質の産生のために要求される遺伝子が、組換え細胞の続く世代の染色体内でタンデムに反復されるプロセスである。Mr g のようなさらに高いレベルの所望のタンパク質は、増幅 DNA から合成される。増幅可能な遺伝子の例としては、DHFR、チミジンキナーゼ、メタロチオネイン - I および II、アデノシンデアミナーゼ、およびオルニチンデカルボキシラーゼが挙げられる。

10

【0142】

したがって、一実施形態では、Urlaub et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77:4216 (1980) に記載されるように、DHFR 活性を欠損したチャイニーズハムスター卵巣 (CHO) 細胞を調製および増殖する。次に、CHO 細胞を DHFR 選択遺伝子で形質転換し、DHFR の競合アンタゴニストであるメトトレキセート (Mtx) を含有する培地にて培養することにより、形質転換体を同定する。次に、形質転換細胞を、増大したレベルのメトトレキセートに曝露する。これにより、DHFR 遺伝子の多重コピーの合成、同時に所定のタンパク質をコードする DNA (例えば、Mr g をコードする DNA) のような、発現ベクターを含む他の DNA の多重コピーの合成が引き起こされる。

20

【0143】

あるいは、宿主細胞は、Mr g のような所定のタンパク質、野生型 DHFR タンパク質、およびアミノグリコシド 3' - ホスホトランスフェラーゼ (APH) のような別の選択可能なマーカーをコードする DNA 配列で形質転換または同時形質転換され得る。次に、形質転換体は、アミノグリコシド系抗生物質 (例えばカナマイシン、ネオマイシンまたは G418) のような、選択マーカーとしての選択作用物質を含む培地での増殖により選択することができる。

【0144】

上述のように、発現ベクターおよびクローニングベクターは通常、宿主生物体により認識され、かつ所定のタンパク質をコードする核酸の発現を調節することができるように関連されたプロモーターを含む。プロモーターは、構造遺伝子の開始コドンの上流 (5') に位置する非翻訳配列 (一般に約 100 ~ 1000 bp 内) であり、そのプロモーターが発現を調節することができるように関連している、Mr g 核酸配列のような特定の核酸配列の転写および翻訳を制御する。そのプロモーターは、誘導性であっても、または構造的であってもよい。誘導性プロモーターは、温度変化のような、培養条件の一定の変化に回答して、それらの制御下にて DNA から増大したレベルの転写を開始する。所定のタンパク質をコードする DNA の発現を調節することができるようプロモーターを連結する方法が、多種のプロモーターについて当該技術分野で既知である。天然型 Mr g プロモーター配列または drg - 12 プロモーター配列、および多くの異種プロモーターの両方が、Mr g DNA または drg - 12 DNA の増幅および / または発現を誘導するために使用され得る。しかしながら、異種プロモーターは、天然型プロモーターと比較して、一般に所望のタンパク質のより高い転写および高収率を達成するため、好ましく用いられる。

30

40

【0145】

原核生物宿主について使用するために適したプロモーターとしては、例えば、β - ラクタマーゼプロモーター系およびラクトースプロモーター系が挙げられる (Chang et al., Nature, 275:615 (1978); Goeddel et al., Nature, 281:544 (1979))。しかしながら、他の細菌プロモーターが当該技術分野で既知であり、適切である。細菌系で使用するためのプロモーターはまた、所定のタンパク質をコードする DNA の発現を調節すること

50

ができるように連結され得るシャイン・ダルガーノ (S・D・) 配列を含むであろう。

【0146】

真核細胞において使用することが可能なプロモーター配列もまた既知である。実質的にすべての真核生物遺伝子が、転写開始部位の約25～30塩基上流に位置するATリッチ領域を有する。多くの遺伝子の転写開始部位の70～80塩基の上流に見出される別の配列は、CXCAAT領域(ここで、Xは任意のヌクレオチドでよい)である。たいていの真核生物遺伝子の3'末端に、コード配列の3'末端へのポリA尾鎖の付加のためのシグナルであり得るAATAA配列が存在する。これらの配列すべてが、真核生物発現ベクターに挿入され得る。

【0147】

酵母宿主について使用するために適切なプロモーター配列の例としては、3-ホスホグリセレートキナーゼ用のプロモーター(Hitzeman et al., J. Biol. Chem., 255:2073 (1980))、または他の解糖系酵素(Hess et al., J. Adv. Enzyme Reg., 7:149 (1968); Holland, Biochemistry, 17:4900 (1978))が含まれる。

【0148】

酵母において使用するための誘導性プロモーターもまた既知であり、アルコールデヒドロゲナーゼ2、イソシトロムC、酸ホスファターゼ、窒素代謝に関連した分解酵素、メタロチオネイン、グリセルアルデヒド-3-リン酸デヒドロゲナーゼ、ならびにマルトースおよびガラクトースの利用を担う酵素のためのプロモーター領域が含まれる。酵母発現に使用するための適切なベクターおよびプロモーターは、欧州特許第73,657号にさらに記載されている。酵母エンハンサーも、酵母プロモーターとともに使用するのも好ましい。

【0149】

哺乳動物宿主細胞のベクターからのMr gまたはdr g-12転写はまた、ウイルス(ポリオマウイルス、鶏痘ウイルス、アデノウイルス、ウシパピローマウイルス、トリ肉腫ウイルス、サイトメガロウイルス、レトロウイルス、B型肝炎ウイルス、最も好ましくはサルウイルス40(SV40)など)のゲノムから得られるプロモーター、異種哺乳動物プロモーター(例えば、アクチンプロモーターまたは免疫グロブリンプロモーター)から得られるプロモーター、熱ショックプロモーターから得られるプロモーター、および天然型配列に一般に関連したプロモーターから得られるプロモーターにより制御され、かかるプロモーターは宿主細胞系に適合する性質を有する。

【0150】

転写は、ベクターにエンハンサー配列を挿入することにより活性化され得る。エンハンサーは、その転写を増加するようにプロモーターに作用する、通常約10～300bp長のDNAのシス作用性エレメントである。哺乳動物遺伝子由来の多くのエンハンサー配列(グロビン、エラスターゼ、アルブミン、 α -フェトプロテイン、およびインスリン)が現在既知である。好ましくは、真核細胞ウイルス由来のエンハンサーが使用されるであろう。例としては、複製起点の末端に位置するSV40エンハンサー(bp100～270)、サイトメガロウイルス初期プロモーターエンハンサー、複製起点の末端に位置するポリオマエンハンサー、およびアデノウイルスエンハンサーが挙げられる。エンハンサーは、タンパク質コード配列に対して5'位または3'位にあるベクターに結合され得るが、プロモーターからの部位5'に位置されることが好ましい。

【0151】

真核宿主細胞(酵母、真菌、昆虫、植物、動物、ヒト、または他の多細胞生物体由来の有核細胞)にて使用される発現ベクターはまた、転写の終結およびmRNAの安定化に必要な配列を含むであろう。これらの配列は多くの場合、真核生物のDNAまたはcDNA、もしくはウイルスのDNAまたはcDNAの5'、および時折3'非翻訳領域に見出され、当該技術分野で既知である。

【0152】

上述の成分の1つまたはそれ以上を含むプラスミドベクターは、当該技術分野で既知の

10

20

30

40

50

標準技術を用いて容易に構築される。

【0153】

構築したプラスミドにおいて正確な配列を確認するための分析に関して、プラスミドを、大腸菌にて複製し、精製して、制限エンドヌクレアーゼ消化により分析して、および/または従来法により配列決定する。

【0154】

本発明のタンパク質の調製において特に有用なのは、Mr gまたはdr g - 12をコードするDNAの哺乳動物細胞での一過性の発現を提供する発現ベクターである。一過性発現は、宿主細胞が発現ベクターの多くのコピーを蓄積し、次に発現ベクターによりコードされる高レベルのポリペプチドを合成するように、宿主細胞にて効率的に複製することが可能な発現ベクターの使用を含む(上述のSambrook et al., pp. 16.17 - 16.22)。一過性の発現系は、クローニングされたDNAによりコードされるポリペプチドのポジティブ識別に便利であり、所望の生物学的特性または生理学的特性によるかかるポリペプチドのスクリーニングを可能にする。したがって、一過性の発現系は、本発明のポリペプチドの生物学的に活性な類似体および変異体の同定のために、ならびにそれらのアゴニストおよびアンタゴニストの同定のために、本発明において特に有用である。

【0155】

組換え脊椎動物細胞培養におけるMr gまたはdr g - 12の合成への応用に適切な他の方法、ベクターおよび宿主細胞は、当該技術分野で既知であり、特定の状況に応じて容易に応用される。

【0156】

E. 外因的に供給されるコード核酸分子を含む宿主細胞

本発明は、本発明のタンパク質をコードする核酸分子で形質転換した宿主細胞をさらに提供する。宿主細胞は、原核生物系または真核生物系であり得るが、好ましくは真核生物系である。

【0157】

本発明のタンパク質の発現に有用な真核細胞は、細胞系が細胞培養法に適合性であり、発現ベクターの増殖および遺伝子産物の発現と適合性である限りは限定されない。かかる宿主細胞は、複合体プロセッシングおよびグルコシル化活性能力がある。原則として、脊椎動物培養由来であろうと無脊椎動物培養由来であろうと、任意のより高度な真核細胞培養が実行可能である。好ましい真核生物宿主細胞としては、酵母細胞、昆虫細胞、および哺乳動物細胞、好ましくはマウス、ラット、サルまたはヒト細胞系に由来するもののような脊椎動物細胞が挙げられるが、これらに限定されない。好ましい真核生物宿主細胞としては、CCCL61としてATCCから入手可能なチャニーズハムスター卵巣(CHO)細胞、CRL 1658としてATCCから入手可能なNIHスィスマウス胚細胞(NIH/3T3)、仔ハムスター腎細胞(BHK)、HEK293細胞、および同様の真核組織培養細胞系が挙げられる。

【0158】

培養における脊椎動物細胞の増殖は、日常的な手法である。例えば、Tissue Culture, Academic Press, Kruse and Patterson, editors (1973)を参照されたい。容易に培養され得る有用な哺乳動物宿主細胞系のさらなる例は、SV40で形質転換したサル腎臓CV1系(COS-7、ATCC CRL 1651)、マウスセルトリ細胞(TM4、Mather, Biol. Reprod., 23:243 - 251 (1980))、サル腎細胞(CV1 ATCC CCL 70)、アフリカグリーンモンキー腎細胞(VERO-76、ATCC CRL - 1587)、ヒト子宮頸癌腫細胞(HELA、ATCC CCL 2)、イヌ腎細胞(MDCK、ATCC CCL 34)、バッファローラット肝臓細胞(BRL 3A、ATCC CRL 1442)、ヒト肺細胞(W138、ATCC CCL 75)、ヒト肝臓細胞(Hep G2、HB 8065)、およびマウス乳腺腫瘍(MMT 060562、ATCC CCL 51)である。

【0159】

10

20

30

40

50

アフリカツメガエル卵母細胞には、標準的手法により *m r g* タンパク質または *d r g* - 1 2 タンパク質のいずれかを発現することが可能な *R N A* を直接注入してもよい (Tomina ga et al. Jpn J. Pharmacol. 83 (1) :20 - 4 (2000) ; Tominaga et al. Neuron 21 (3) :531 - 43 (1998)、および Bisogno et al. Biochem, Biophys. Res. Commun. 262 (1) 275 - 84 (1999) を参照)。

【 0 1 6 0 】

宿主細胞として使用することができる無脊椎細胞の例としては、植物細胞および昆虫細胞が挙げられる。数多くのバキュロウイルス株および変異体、ならびに相当する許容昆虫宿主細胞が当該技術分野で既知であり、本発明の方法において使用することができる。さらに、植物細胞培養物が既知であり、例えば *M r g* または *d r g* - 1 2 コード *D N A* を含むように操作されたアグロバクテリウム・チュメファシエンスとのインキュベーションによりトランスフェクトされてもよい。

10

【 0 1 6 1 】

本発明のタンパク質またはタンパク質断片をコードする *r D N A* 分子を発現させるために、任意の原核生物宿主を使用することができる。適切な原核生物としては、グラム陰性細菌またはグラム陽性細菌のような真正細菌、例えば腸内細菌科 (Enterobacteriaceae) (例えば、エシェリヒア属 (例えば、大腸菌)、エンテロバクター属、エルウィニア属、クレブシエラ属、プロテウス属、サルモネラ属 (例えば、ネズミチフス菌)、セラチア属 (例えば、霊菌)、および赤痢菌属)、ならびに桿菌属 (例えば枯草菌およびバシラス・リシェニフォルミス (*B. licheniformis*) (例えば、1989年4月12日に公開された *DD* 第 2 6 6 , 7 1 0 号に開示されるバシラス・リシェニフォルミス 4 1 P のような桿菌))、緑膿菌のようなシュードモナス属、およびストレプトマイセス属が挙げられる。好ましい原核細胞宿主は、大腸菌である。さらに、宿主細胞は、最小量のタンパク質分解酵素を分泌することが好ましい。

20

【 0 1 6 2 】

原核生物のほかに、糸状菌または酵母のような真核微生物は、*M r g* または *d r g* - 1 2 コードベクター用の適切なクローニング宿主または発現宿主である。例えば、サッカロミセス・セレビシエ (*Saccharomyces cerevisiae*) を使用することができる。さらに、分裂酵母属 (*Schizosaccharomyces pombe*) (Beach et al. Nature, 290:140 (1981)、欧州特許第 1 3 9 , 3 8 3 号)、クルイベロマイセス属 (*Kluyveromyces*) 宿主 (米国特許第 4 , 9 4 3 , 5 2 9 号、上述の Fleer et al.) (例えば *K* . ラクティス (*lactis*) (*M W* 9 8 - 8 C、*C B S* 6 8 3、*C B S* 4 5 7 4、Louvencourt et al., J. Bacteriol., 7 37 (1983))、*K* . フラギリリス (*fragilis*) (ATCC 1 2 , 4 2 4)、*K* . ブルガリクス (*bulgaricus*) (ATCC 1 6 , 0 4 5)、*K* . ウィッケラミイ (*wickeramii*) (ATCC 2 4 , 1 7 8)、*K* . ワルチイ (*waltii*) (ATCC 5 6 , 5 0 0)、*K* . ドロソフィラルム (*dr osophil arum*) (ATCC 3 6 , 9 0 6、上述の Van den Berg et al.)、*K* . サーモトレランス (*thermotolerans*)、および *K* . マルキシアヌス (*marxianus*)、ヤロウシア (*yar rowia*) (欧州特許第 4 0 2 , 2 2 6 号)、ピチア・パストリス (*Pichia pastoris*) (欧州特許第 1 8 3 , 0 7 0 号、Sreekrishna et al. J. Basic Microbiol., 28:265 - 278 (1988))、カンジダ属、トリコデルマ・レエシア (*Trichoderma reesia*) (欧州特許第 2 4 4 , 2 3 4 号)、アカパンカビ属 *Neurospora crassa* (Case et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 76:5259 - 5263 (1979))、シュワンニオマイセス・オクシデンタリス (*Sch wanniomyces occidentalis*) (欧州特許第 3 9 4 , 5 3 8 号) のようなシュワンニオマイセス属、ならびに糸状菌 (例えばアカパンカビ属、ペニシリン属、トリボクラジウム属 (*Tolypocladium*) (国際公開第 9 1 / 0 0 3 5 7 号)、および *A* . ニドゥランス (*nidulan s*) (Ballance et al. Biochem. Biophys. Res. Commun., 112:284 - 289 (1983) ; Tilb urn et al., Gene, 26:205 - 221 (1983) ; Yelton et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA , 81: 1470 - 1474 (1989)) および *A* . ニガー (*niger*) (Kelly et al. EMBO J., 4:47 5 - 479 (1985)) のようなアスペルギルス宿主) のような多数の他の属、種および株が一般に利用可能であり、本明発明にて有用である。

30

40

50

【0163】

本発明のrDNA分子による適切な細胞宿主の形質転換は、典型的に使用するベクター型および用いる宿主系によって決まる既知の方法により達成される。原核宿主細胞の形質転換に関して、エレクトロポレーションおよび塩処理法が典型的に使用され、例えばCohe n et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 69:2110, (1972)、およびManiatis et al., Molecular Cloning, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY (1982)を参照されたい。rDNAを含有するベクターでの脊椎動物細胞の形質転換に関して、エレクトロポレーション、陽イオン性脂質または塩処理法が典型的に用いられ、例えば、Graham et al. Virology 52:456, (1973)、Wigler et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 76:1373-76, (1979)を参照されたい。リン酸カルシウム沈殿法は 10 好ましく用いられる。しかしながら、核マイクロインジェクションおよび細菌原形質融合を含む細胞にDNAを導入する他の方法もまた使用することができる。

【0164】

組換えチャネルの一過性の発現に関して、 Na^+ 電流または細胞内 Na^+ レベルの測定用の形質転換宿主細胞は典型的に、リン酸カルシウム沈殿技術(Ukomadu et al. Neuron 8, 663-676 (1992))を用いて、HEK293細胞のような細胞に、蛍光レポータープラスミド(例えばpGreenLantern-1、Life Technologies)と構築物を同時にトランスフェクトすることにより調製される。48時間後、緑色の蛍光を伴う細胞が、記録用に選択される(Dib-Hajj et al. FEBS Lett. 416, 11-14 (1997))。同様に、実施例4に記載するように、Mr g受容体の一過性発現の測定および受容体活性化に 20 応答した細胞内 Ca^{2+} の変化の測定においても、HEK細胞は、Mr g発現構築物および蛍光レポータープラスミドを同時にトランスフェクトし得る。HEK293細胞は典型的に、10%ウシ胎児血清(Life Technologies)を補充した高グルコースDMEM培地(Life Technologies)において増殖される。

【0165】

本発明のポリペプチドを生産するために使用される原核細胞は、上述のSambrook等 一般に記載されるように、適切な培地にて培養される。

【0166】

本発明のポリペプチドを生産するために使用される哺乳動物宿主細胞は、Ham's F 10 (Sigma)、最小必須培地(MEM)、Sigma)、RPMI-1640 (Sigma)、 30 およびダルベッコ変法イーグル培地(DMEM)、Sigma)のような市販の培地を含むが、これらに限定されない、様々な培地にて培養することができる。さらに、Ham et al. Meth. Enz., 58:44 (1979)、Barnes et al. Anal. Biochem. 102:255 (1980)、米国特許第4,767,704号、米国特許第4,657,866号、米国特許第4,927,762号、米国特許第4,560,655号、または米国特許第5,122,469号、国際公開第90/03430号、国際公開第87/00195号、または米国特許再審査第30,985号に記載される培地のいずれも、宿主細胞用培地として使用することができる。これらの培地のいずれも、必要な場合にホルモンおよび/または他の成長因子(例えば、インシュリン、トランスフェリン、または上皮成長因子)、塩(例えば、塩化ナトリウム、カルシウム、マグネシウム、およびリン酸塩)、緩衝液(例えば、HEPES 40)、ヌクレオシド(例えば、アデノシンおよびチミジン)、抗生物質、微量元素、およびグルコースまたは等価エネルギー源を補充してもよい。任意の他の必要なサプリメントはまた、当業者により決定されるように、適切な濃度で含入され得る。培養条件は、発現に関して選択した宿主細胞ですでに使用したものであり、当業者には明らかであろう。

【0167】

本開示にて言及される宿主細胞は、培養細胞、ならびに宿主動物内にある細胞を含む。

【0168】

形質転換に成功した細胞、すなわち、本発明のrDNA分子を含む細胞は、選択マーカーを用いた選択を含む既知の技術により同定することができる。例えば、本発明のrDNAの導入により生じる細胞をクローニングして、単一コロニーを生産することができる。 50

これらのコロニーからの細胞を収集し、溶解して、Southern, J. Mol. Biol. 98:503, (1975) または Berent et al., Biotech. 3:208, (1985) により記載されるような方法を用いて、rDNA の存在についてそれらのDNA 内容物を検査するか、または以下に記載のような免疫学的方法により細胞から生産されるタンパク質をアッセイすることができる。

【0169】

遺伝子増幅および/または遺伝子発現は、本明細書中に提供する配列に基づいて、適切な標識プローブを用いた、サザンブロッティング、mRNA の転写を定量化するためのノーザンブロッティング (Thomas, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77:5201 - 5205 (1980))、ドットブロッティング (DNA 分析)、または *in situ* ハイブリダイゼーションを含む当該技術分野で既知の任意の技術により測定することができる。様々な標識、最も一般的には放射性同位体、特に³²P を用いることができる。遺伝子発現を測定する免疫学的方法としては、組織切片または培養液中の細胞の免疫組織化学的染色、ならびに培地または体液におけるタンパク質レベルをアッセイすることが挙げられる。免疫組織化学的染色技術を用いる場合、脱水および固定化により細胞試料を調製した後、遺伝子産物に特異的な標識抗体を結合させるが、酵素標識、蛍光標識、発光標識などは通常視覚的に検出可能である。

10

【0170】

試料液の免疫組織化学的染色および/またはアッセイに有用な抗体は、モノクローナルまたはポリクローナルのいずれかであり、本明細書中に記載するように調製することができる。

20

【0171】

F. rDNA 分子を用いた組換えタンパク質の生産

本発明はさらに、本明細書中に記載の核酸分子を用いて本発明のタンパク質を生産する方法を提供する。包括的には、組換え型のタンパク質の生産は典型的に、以下の工程を含む。

【0172】

第一に、本発明の *mrg* タンパク質または *drg* - 12 タンパク質をコードする核酸分子 (例えば、配列番号1のヌクレオチド115 ~ 1026、配列番号1のヌクレオチド115 ~ 1029、配列番号3のヌクレオチド137 ~ 1051、配列番号3のヌクレオチド137 ~ 1054、配列番号5のヌクレオチド165 ~ 1070、配列番号5のヌクレオチド165 ~ 1073、配列番号7のヌクレオチド1 ~ 450、配列番号9のヌクレオチド1 ~ 459、配列番号11のヌクレオチド1820 ~ 2734、配列番号13のヌクレオチド170 ~ 574、配列番号13のヌクレオチド170 ~ 577、配列番号15のヌクレオチド328 ~ 1293、配列番号15のヌクレオチド328 ~ 1296、配列番号17のヌクレオチド171 ~ 1160、配列番号17のヌクレオチド171 ~ 1163、配列番号20のヌクレオチド83 ~ 943、配列番号20のヌクレオチド83 ~ 946、配列番号22のヌクレオチド16 ~ 918、配列番号22のヌクレオチド16 ~ 921、配列番号24のヌクレオチド106 ~ 1020、配列番号24のヌクレオチド106 ~ 1023、配列番号26のヌクレオチド45 ~ 959、配列番号26のヌクレオチド45 ~ 962、配列番号28のヌクレオチド1 ~ 405、および配列番号28のヌクレオチド1 ~ 408) を得る。これらの配列のように、コード配列がイントロンにより中断されない場合、それは任意の宿主における発現にまさに適している。

30

40

【0173】

次に、核酸分子を、好ましくは上述のように適切な制御配列によって発現が調節できるように連結して、タンパク質オープンリーディングフレームを含む発現ユニットを形成する。発現ユニットを用いて、適切な宿主を形質転換し、形質転換した宿主を、組換えタンパク質の生産が可能な条件下にて培養する。任意に、組換えタンパク質を、培地または細胞から単離する。タンパク質の回収および精製は、不純物が許容される場合、または組換え細胞が例えばハイスループットアッセイにて使用される場合、必ずしも必要でない。

50

【0174】

先述の工程のそれぞれは、様々な態様で実行することができる。例えば、所望のコード配列を、ゲノム断片から得て、適切な宿主に直接使用してもよい。様々な宿主にて発現を調整することができる発現ベクターの構築は、上述のように、適切なレプリコンおよび制御配列を用いて達成される。制御配列、発現ベクターおよび形質転換の方法は、遺伝子を発現するために使用される宿主細胞型により決定されることは、上述した。適切な制限部位が、一般に利用可能でない場合、コード配列の末端に付加され、これらのベクターに挿入するための切除可能な遺伝子を提供し得る。当業者は、組換えタンパク質を生産するために、本発明の核酸分子とともに使用するための当該技術分野で既知の任意の宿主/発現系を容易に適合させることができる。

10

【0175】

一実施形態では、Mr gまたはdr g - 12は、相同組換えにより生じ得る。簡潔に述べると、Mr gまたはdr g - 12コード遺伝子を含む初代ヒト細胞をベクターで形質転換し、該ベクターは増幅を可能にする遺伝子（例えば、ジヒドロ葉酸レダクターゼ（DHFR））およびMr gまたはdr g - 12遺伝子のコード領域の遺伝子座にてDNA配列と相同的な少なくとも約150bp長の少なくとも1つのフランキング領域を含む。増幅を可能にする遺伝子は、Mr gまたはdr g - 12遺伝子の発現を妨害しないように位置しなければならない。形質転換時に、構築物は、初代細胞のゲノムに相同的に組み込まれるようになり、増幅を可能にする領域を規定する。

【0176】

次に、構築物中に存在する増幅を可能にする遺伝子マーカーまたは他のマーカーに基づいて、形質転換細胞を選択する。マーカー遺伝子の存在は、宿主ゲノムに構築物が存在することおよび組込まれていることを証明する。PCR、これに続くシーケンシングまたは制限断片分析を用いて、相同組換えが生じたことを確認することができる。

20

【0177】

次に、増幅可能領域の全体を、同定した初代細胞から単離して、宿主細胞を形質転換する。次に、増幅可能領域を含むクローンを選択した後、増幅作用物質との処理により増幅する。最終的に、遺伝子を発現させ、所望のタンパク質を生産するために、宿主細胞を増殖させる。

【0178】

本発明のタンパク質は、直接的に生産するだけでなく、異種ポリペプチドとの融合ポリペプチドとして、組換え的に生産してもよい。一実施形態では、異種ポリペプチドは、シグナル配列であってもよい。一般に、シグナル配列は、ベクターの成分であり得るか、または、ベクターに挿入されるMr gもしくはdr g - 12DNAの一部であり得る。選択される異種シグナル配列は、好ましくは、宿主細胞により認識され、プロセッシングされる（すなわち、シグナルペプチドにより切断される）配列である。原核宿主細胞における発現に関して、シグナル配列は、例えば、アルカリホスファターゼ、ペニシリナーゼ、lpp、および熱安定性エンテロトキシンIIリーダーからなる群から選択される原核生物シグナル配列であってもよい。酵母分泌に関して、天然型シグナル配列は、例えば酵母インベルターゼリーダー、 α 因子リーダー（サッカロミセス属およびクルイベロマイセス属 α 因子リーダー、または酸性ホスファターゼリーダー、およびC₁アルビカンズグルコアミラーゼリーダーを含む）により置換されてもよい。任意の天然型シグナル配列は、哺乳動物細胞発現に適している。あるいは、それは、関連タンパク質からのシグナル配列、ならびにウイルス分泌リーダー（例えば、単純ヘルペスgDシグナル）により置換されてもよい。かかる前駆物質領域のためのDNAは、リーディングフレーム内で、成熟タンパク質またはその可溶性変異体をコードするDNAに連結される。

30

【0179】

異種ポリペプチドはまた、例えば融合タンパク質の発現位置を同定するために使用され得るマーカーポリペプチドであり得る。蛍光タンパク質のようなマーカーポリペプチドが当該技術分野にて既知であるだろう。好ましいマーカータンパク質は、グリーン蛍光タン

40

50

パク質 (G F P) である。

【 0 1 8 0 】

G . M r g ポリペプチドの修飾

M r g および d r g - 1 2 ならびにそれらの各変異体の共有結合的修飾は本発明の範囲に含まれる。一つの実施形態では、本発明のポリペプチドの特定アミノ酸残基を、誘導体化する有機試薬と反応させる。二官能性作用物質による誘導体化は、例えば非水溶性支持マトリックスまたはその表面に、M r g または M r g 断片もしくは誘導体を架橋するために有用であり、抗 M r g 抗体の精製、ならびに結合パートナーおよびリガンドを同定する方法として使用することができる。さらに、M r g または M r g 断片は、結合特異性およびエフェクター機能を調節するために、互いに架橋されてもよい。多くの架橋剤が当該技術分野で既知であり、1, 1 - ビス (ジアゾアセチル) - 2 - フェニルエタン、グルタルアルデヒド、N - ヒドロキシスクシンイミドエステル、ビス - N - マレイミド - 1, 8 - オクタンのような二官能性マレイミド、およびメチル - 3 - [(p - アジドフェニル) ジチオ] プロピオイミデートのような作用物質が挙げられるが、これらに限定されない。

10

【 0 1 8 1 】

他の意図される修飾としては、グルタミル残基およびアスパラギン残基の、それぞれ相当するグルタミル残基およびアスパルチル残基への脱アミド化、プロリンおよびリシンのヒドロキシル化、セリル残基またはトレオニル残基の水酸基のリン酸化、リシン、アルギニンおよびヒスチジン側鎖の α アミノ基のメチル化 (T.E. Creighton, Proteins: Structure and Molecular Properties, W.H. Freeman & Co., San Francisco, pp. 79 - 86 (1983))、N - 末端アミンのアセチル化、および任意の C 末端カルボキシル基のアミド化が挙げられる。

20

【 0 1 8 2 】

本発明のポリペプチドのグリコシル化型の修飾も意図される。ポリペプチドのグリコシル化型の改変方法が当該技術分野で既知である。例えば、天然型配列 M r g または d r g - 1 2 に見られる 1 つまたはそれ以上の炭水化物部分は、化学的に、酵素的に、またはグリコシル化部位の修飾により除去されてもよい。あるいは、例えば直接的に炭水化物部分の組成を操作することより、あるいはアミノ酸配列を改変することで天然型配列 M r g または d r g - 1 2 に存在しないグリコシル化部位を付加することにより、さらにグリコシル化することもできる。

30

【 0 1 8 3 】

本発明のポリペプチドの別のタイプの共有結合的修飾は、米国特許第 4, 6 4 0, 8 3 5 号、米国特許第 4, 4 9 6, 6 8 9 号、米国特許第 4, 3 0 1, 1 4 4 号、米国特許第 4, 6 7 0, 4 1 7 号、米国特許第 4, 7 9 1, 1 9 2 号、または米国特許第 4, 1 7 9, 3 3 7 号に記載された方法で、ポリペプチドまたはその断片もしくは誘導体を、様々な非タンパク質ポリマー (例えばポリエチレングリコール (P E G)、ポリプロピレングリコールまたはポリオキシアルキレン) の 1 つに連結することを含む。

【 0 1 8 4 】

本発明のポリペプチドはまた、別の異種ポリペプチドまたはアミノ酸配列に融合された M r g または d r g - 1 2 を含むキメラ分子を形成する方法にて修飾することができる。

40

【 0 1 8 5 】

一実施形態では、かかるキメラ分子は、抗タグ抗体が選択的に結合され得るエピトープを有するタグポリペプチドと、M r g または d r g - 1 2 との融合を含む。エピトープタグは、ポリペプチドのアミノ末端またはカルボキシル末端に置かれるのが一般である。エピトープタグは、キメラタンパク質の同定を可能にし、ならびにエピトープタグに結合する抗タグ抗体または別のタイプのアフィニティマトリックスを用いたアフィニティ精製によるキメラタンパク質の精製を可能にする。多数のタグポリペプチドおよびそれらに対するそれぞれの抗体は、当該技術分野で既知である。既知のタグとしては、ポリヒスチジン (p o l y - h i s) タグまたはポリヒスチジン - グリシン (p o l y - h i s - g l y) タグ、f l u e H A タグポリペプチド (Field et al., Mol. Cell. Biol., 8:2159 - 2

50

165 (1988))、c-myc タグ (Evan et al., Molecular and Cellular Biology, 5:3610-3616 (1985))、単純ヘルペスウイルス糖タンパク質 D (gD) タグ (Paborsky et al., Protein Engineering, 3(6):547-553 (1990))、および Flag ペプチド (Hopp et al., Bio Technology, 6:1204-1210 (1988)) が挙げられる。

【0186】

別の実施形態では、キメラ分子は、免疫グロブリンまたは免疫グロブリンの特定領域と、Mr g または dr g - 12 との融合を含む。イムノアドヘシンを生産するために、本発明のポリペプチドまたはそれらの断片もしくは特定ドメイン (複数可) は、Ig G 分子のFc 領域と融合され得る。典型的に、免疫グロブリン重鎖定常領域配列と融合される。本発明における使用のための Mr g または dr g - 12 免疫グロブリンキメラは一般的に、免疫グロブリン定常ドメイン配列の N 末端をコードする核酸に C 末端で融合した Mr g または dr g - 12 受容体の、1 つまたはそれ以上の細胞外ドメインをコードする核酸、またはそれらの断片から調製される。N 末端融合もまた可能である。

10

【0187】

本発明のイムノアドヘシンにおいては必要ではないが、免疫グロブリン軽鎖は、Mr g または dr g - 12 免疫グロブリン重鎖融合ポリペプチドに共有結合されているか、あるいは Mr g または dr g - 12 に直接融合されて、存在してもよい。共有結合させるために、免疫グロブリン軽鎖をコードする DNA が、Mr g または dr g - 12 免疫グロブリン重鎖融合タンパク質をコードする DNA と同時に発現されてもよい。ハイブリッド重鎖およびハイブリッド軽鎖は、2 つのジスルフィド連結免疫グロブリン重鎖 - 軽鎖対を含む免疫グロブリン様構造を与えるために、分泌時に共有結合される。

20

【0188】

二重特異性イムノアドヘシンもまた作製することができる。二重特異性イムノアドヘシンは、Mr g または dr g - 12 ドメイン、および別の受容体由来の細胞外ドメインのようなドメインと組み合わせることができる。あるいは、本明細書中のイムノアドヘシンは、それぞれが免疫グロブリン重鎖定常ドメイン配列に融合した 2 つの異なる Mr g 受容体部分を含んでもよい。

【0189】

さらに別の実施形態では、本発明のキメラ分子は、Mr g または dr g - 12 あるいはその断片もしくはドメイン (複数可) と、異種受容体またはその断片もしくはドメイン (複数可) との融合を含む。異種受容体は、関連 Mr g または dr g - 12 ファミリーのタンパク質であってもよく、あるいは完全に関連のないものであってもよい。特定リガンドに関する所望のリガンド特異性または所望の親和性を有する融合タンパク質を得るために、あるいは所望のエフェクター機能を有する融合タンパク質を得るために、Mr g タンパク質または dr g - 12 タンパク質に融合される異種タンパク質が選択され得る。

30

【0190】

H. 分子プローブもしくは診断プローブとして mr g または dr g を使用する方法

本発明の配列および抗体、タンパク質およびペプチドは、感覚の認識、特に痛みの感知に関連もしくは関与した細胞または組織の検出のための分子プローブとして使用することができる。多くの方法が、in situ において本発明の核酸またはタンパク質を検出するために使用され得るが、好ましいプローブとしては、アンチセンス分子および抗 mr g または抗 dr g - 12 抗体が挙げられる。

40

【0191】

本発明の核酸またはタンパク質の検出用プローブは、緑内障または慢性の痛みのような特定の病状のために、あるいは感覚の認識を増大または抑制するために、Mr g または dr g - 12 タンパク質の関与を同定するために使用することができる。特に、例えば異痛症、痛覚過敏または慢性の痛みを有する患者、または緑内障のような疾患もしくは障害を有する患者のような、感覚認識の変化を示す患者において、本発明のプローブは、Mr g または dr g - 12 発現が増加または減少しているかどうかを決定する際に有用であり得る。本発明のポリペプチドの発現の減少または過剰発現を決定することは、例えば、Mr

50

gもしくはd r g - 1 2 アゴニストまたはアンタゴニストを投与するような、障害を治療する治療上のアプローチを特定する際に有用であり得る。

【0192】

また、病状、特に痛みを患う動物モデルでのM r gまたはd r g - 1 2 発現レベルの変化の決定は、その発現または活性を調整する化合物によって、効果的に治療することができる障害の種類を特定する際に有用であり得る。

【0193】

さらに、本発明のプロープ、例えばアンチセンス分子および抗体は、M r g 変異体またはd r g - 1 2 変異体の突然変異体または変異体形態の発現を検出するために使用することができる。かかる変異体を検出する能力は、特定の病状、および特定の患者が感じている症状における変異体の関与を特定する際に有用であり得る。疾患もしくは障害におけるM r g 変異体またはd r g - 1 2 の変異体の関与を特定することにより、遺伝子治療、または受容体変異体に結合することが知られているアゴニストもしくはアンタゴニストを投与するような、疾患または障害の治療のための治療上のアプローチを提案することができる。

【0194】

さらに、本発明のプロープは、互いの関係を含めた様々なM r g およびd r g - 1 2 ファミリーのタンパク質の正確な発現パターンを決定するために使用することができる。例えば、図2のi n s i t u ハイブリダイゼーションの検鏡画像によると、新生野生型(W T)マウスおよびニューロゲニン1ヌル突然変異(N g n 1^{-/-})マウス由来の後根神経節(D R G)の横断切片における配列番号2(「m r g 3」)および配列番号4(「m r g 4」)のヌクレオチドに対するアンチセンス染色が局在化していることを示す。白点線は、D R Gの輪郭を描いており、黒点線は、脊髄の輪郭を描いている。N g n 1^{-/-}突然変異体にて、D R Gの大きさが、3つの他の別個のマーカー(t r k A、V R - 1 およびS N S - T T X i (M a e t a l., (1999))を用いて同定した場合、侵害受容感覚ニューロンの損失に起因して、激しく減少していることに留意されたい。m r g 3は、W TマウスにてD R Gサブセットで発現される(A)が、N g n 1^{-/-}D R Gには存在しない(B)。m r g 4は、m r g 3よりも小さいD R Gサブセットで発現される(C)。m r g 4もまた、N g n 1^{-/-}D R Gには存在しない(D)。N g n 1^{-/-}D R Gにおけるm r g 発現ニューロンの損失は、これらのニューロンが侵害受容性である可能性が高いことを示す。

【0195】

後根神経節(D R G)ニューロンのサブセットでのm r gの発現を図2 Aに示す。野生型マウス(a ~ i)およびn g n 1^{-/-}(j)突然変異新生マウス由来のD R Gの凍結した横断切片をアンチセンスジゴキシゲニンRNAプロープを用いてアニーリングして、アルカリホスファターゼ結合抗体を用いてハイブリダイゼーションを可視化した。陽性シグナルを濃紫染色として示す。T r k Aは、野生型D R Gニューロンの大部分で発現される(a)が、n g n 1^{-/-}のニューロンでは存在しない(データを示さず)。8個のm r g 遺伝子のそれぞれが、野生型D R Gにおけるニューロンの小さなサブセットで発現され(b ~ i)、n g n 1^{-/-}D R Gでは完全に存在しない(j以外にデータを示さず)。黒点線は、n g n 1^{-/-}突然変異D R Gの輪郭を描いている。

【0196】

図2 Bでは、m r gは、T r k A⁺侵害受容ニューロンにより発現される。二重標識技術を用いて、D R GニューロンにおけるT r k A(緑、[b、e])およびm r g(赤、[a、d])を同時局在化した。二重標識実験中、m r g 3(a ~ c)またはm r g 5(d ~ f)フルオレセイン標識アンチセンスRNAプロープのいずれかを用いて、野生型D R Gの凍結切片をi n s i t u ハイブリダイズした後、抗T r k A抗体免疫染色した。同一の2つの枠(aおよびb、dおよびe)は、同時局在化の程度を明らかにするためにデジタル方式で重ね合わせた(c、f)。m r g 3またはm r g 5のいずれかとのT r k Aの同時局在化は、合併画像にて黄色のように見える(それぞれ、c、f)。白矢頭は、

10

20

30

40

50

二重陽性細胞の例を示す。

【0197】

図2Cでは、mr gおよびVR 1が、DRGにおける2つの異なる侵害受容ニューロンの集団を規定する。mr g 3またはmr g 5フルオレセイン標識アンチセンスRNAプローブのいずれかを用いたin situハイブリダイゼーション(赤)と抗VR - 1抗体免疫染色(緑)との組合せにより、mr g 3(a ~ c)もmr g 5(d ~ f)も、VR - 1陽性ニューロンにより発現されないことを実証した。併合画像(c、f)では、mr g 3またはmr g 5のいずれかとのVR 1の同時局在化は存在しなかった。白矢頭は、mr g発現侵害受容ニューロンであるが、VR 1陰性の侵害受容ニューロンを指し示す。

【0198】

図2Dでは、mr gが、IB 4⁺侵害受容ニューロンにより発現されることがわかる。二重標識技術を用いて、DRGニューロンにおけるIB 4(緑、[b、e])およびmr g(赤、[a、d])を同時局在化した。mr g 3およびmr g 5の発現は、上述のように、in situハイブリダイズすることにより可視化した。続いて同一DRG切片をFITC結合レクチンによりIB 4結合を施した。併合画像(c、f)では、mr gおよびIB 4染色との間に広範囲の重なりが存在した(矢頭で示した黄色いニューロン)。

【0199】

正常組織における、および疾患の動物モデルから、あるいは疾患または障害を患う患者から摂取した組織における本発明の受容体の発現パターンに関する情報は、受容体の生物学的機能をさらに規定する際に、および特定の疾患または障害に關与する特定受容体または受容体の組合せに対して、治療方法を適合させる際に有用であろう。

【0200】

I. 結合パートナーの同定方法

以下により詳述するように、数個のペプチドが、Mr g受容体の内因性リガンドとして推定的に同定された。特に、NP AFおよびNP FFを含むRF - アミドペプチドは、幾つかのMr g受容体を効果的に刺激することがわかった。Mr g受容体のさらなる新規リガンドおよびdr g - 12のリガンドを同定するために、これらの受容体に結合する化合物を同定することがまず必要である。したがって、本発明の別の実施形態は、本発明のタンパク質の結合パートナーまたはリガンドを単離および同定する方法を提供する。Mr gと相互作用する巨大分子は、この議論のために「結合パートナー」と名付ける。以下の議論は具体的には、Mr g受容体に関する結合パートナーを同定することに関するが、本発明のアッセイは同様にdr g - 12に関する結合パートナーを同定するために使用することができると意図される。

【0201】

受容体結合は、天然の供給源から単離されるか、または直接合成されるMr g受容体を用いて試験することができる。しかしながら、上述の組換え法により得られるMr g受容体が好ましい。

【0202】

本発明によりスクリーニングし得る化合物としては、ポリペプチド、ペプチド(ランダムペプチドライブラリーのペプチド(例えば、Lam, K.S. et al., 1991, Nature 354:82 - 84; Houghten, R. et al., 1991, Nature 354:84 - 86を参照)、およびDおよび/またはL配置アミノ酸から作製されるコンビナトリアルケミストリー由来の分子ライブラリーを含むが、これに限定されない)、ホスホペプチド(ランダムまたは部分的縮重指向性ホスホペプチドライブラリーを含むが、これに限定されない、例えばSongyang, Z. et al., 1993, Cell 72:767 - 778を参照)、ペプチド擬似体、抗体(ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、ヒト化抗体、抗イディオタイプ抗体、キメラ抗体または単鎖抗体、F Ab、F(a b')₂およびF Ab発現ライブラリー断片、ならびにそれらのエピトープ結合断片を含むが、これらに限定されない)、および有機低分子または無機低分子が挙げられるが、これらに限定されない。

【0203】

10

20

30

40

50

候補または試験化合物のMr g受容体との結合能力は、例えば競合的結合アッセイにて、直接的または間接的に測定することができる。競合結合実験では、受容体に結合した別の化合物の50%が置換するために必要な試験化合物濃度(IC₅₀)が、結合親和性の尺度として用いられる。これらの実験では、受容体に結合した別の化合物とは、RF-アミドペプチドのような、高親和性でMr g受容体に結合することが知られているリガンドである。

【0204】

生化学的スクリーニングアッセイ、免疫アッセイ、細胞ベースのアッセイおよびタンパク質-タンパク質結合アッセイを含む様々なアッセイ形式を用いることができ、それらのすべてが当該技術分野で十分に特徴づけされている。一実施形態では、アッセイは、試験化合物を固相上に固着すること、Mr g受容体を含む非固定化成分を添加すること、反応終了時に固相上に固着したMr g / 試験化合物複合体を検出することを含む。代替的实施形態では、試験化合物を固着するのではなく、Mr gを固体表面上へ固着させることもできる。両方の状況にて、複合体の同定を可能にするために、試験化合物またはMr g受容体のいずれかが、直接的あるいは間接的に標識される。例えば、Mr g-Igイムノアデヒンゲンを固体支持体に固着し、1つまたはそれ以上の試験化合物と接触させることもできる。

10

【0205】

マイクロタイタプレートは、好ましくは、固相として利用され、固着成分は、非共有結合または共有結合により固定化され得る。非共有結合は、タンパク質溶液で固体表面を単にコーティングして、乾燥することにより達成することができる。あるいは、固定化されるべきタンパク質に特異的な固定化抗体、好ましくはモノクローナル抗体を用いて、タンパク質を固体表面に固着することもできる。

20

【0206】

また、反応は、液相で行うことができ、反応産物を未反応成分から分離し、複合体を検出することができる。例えば、溶液中で形成される任意の複合体を固着するためのMr gポリペプチド、ペプチドまたは融合タンパク質、あるいは試験化合物に特異的な固定化抗体、および固着した複合体を検出するための考え得る複合体以外の成分に特異的な標識抗体を用いることにより複合体を検出することができる。

【0207】

これらの方法の一実施形態では、潜在的結合パートナーが本発明のタンパク質と会合できる条件下にて、本発明のタンパク質または本発明のタンパク質断片(例えば、細胞外ドメイン断片)を、1つまたはそれ以上の潜在的結合パートナー、または細胞の抽出物もしくは分画と混合する。混合後、本発明のタンパク質と会合したペプチド、ポリペプチド、タンパク質または他の分子を混合物から分離する。次に、本発明のタンパク質に結合した結合パートナーを取り出し、同定し、さらに分析する。結合パートナーを同定および単離するために、全Mr gタンパク質、例えば、配列番号2、4、6、8、10、12、16、18、21、23、25、27、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、71、73、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107または109の全アミノ酸配列を含むタンパク質が使用され得る。あるいは、Mr gポリペプチド断片が使用され得る。

30

40

【0208】

本明細書で使用する場合、細胞抽出物は、溶解細胞または破壊細胞から作製される調製物あるいは分画である。細胞抽出物の好ましい供給源は、DRGに由来する細胞であろう。あるいは、細胞抽出物は、正常ヒト腎組織を含む任意の組織、または利用可能な細胞系、特に腎臓由来細胞系に由来する細胞から調製することができる。

【0209】

様々な方法を用いて、細胞抽出物を得ることができる。細胞は、物理的または化学的な破壊方法を用いて破壊することができる。物理的破壊方法としては、超音波処理および機

50

械的剪断が挙げられるが、これらに限定されない。化学的溶解方法としては、洗浄剤溶解および酵素溶解が挙げられるが、これらに限定されない。本方法で使用するための抽出物を得るために、当業者は、細胞抽出物を調製する方法を容易に選択することができる。

【0210】

細胞抽出物がいったん調製されると、その抽出物は、タンパク質が結合パートナーと会合し得る条件下にて、本発明のタンパク質と混合される。あるいは、1つまたはそれ以上の既知の化合物または分子を本発明のタンパク質と混合することができる。様々な条件を使用することができ、最も好ましいのは、ヒト細胞の細胞質において見られる条件に非常に近い条件である。モル浸透圧濃度、pH、温度および使用する細胞抽出物濃度のような条件は、結合パートナーとタンパク質との会合を最適化するために変化させることができる。

10

【0211】

適切な条件下で混合した後、結合した複合体を混合物から分離する。混合物を分離するために、様々な技術を利用することができる。例えば、本発明のタンパク質に特異的な抗体は、結合パートナー複合体を免疫沈降するために使用することができる。あるいは、クロマトグラフィーおよび密度/沈降物遠心分離のような標準的な化学的分離技術を使用することができる。

【0212】

抽出物中に見られる非会合細胞構成成分および/または未結合化合物または分子を除去した後、従来法を用いて、複合体から結合パートナーを解離することができる。例えば、解離は、混合物の塩濃度またはpHを変えることにより達成され得る。

20

【0213】

混合抽出物から、会合した結合パートナー対を分離するのに補助するために、本発明のタンパク質を固体支持体上に固定化することができる。例えば、タンパク質を、ニトロセルロースマトリックスまたはアクリルビーズに結合することができる。固体支持体へのタンパク質の結合は、抽出物中に見られる他の構成成分から、ペプチド/結合パートナー対を分離するために役立つ。同定した結合パートナーは、単一タンパク質、または2つもしくはそれ以上のタンパク質または任意の他の高分子から構成される複合体のいずれかであり得る。

【0214】

あるいは、結合パートナーは、Takayama et al. *Methods Mol. Biol.* 69:171-84 (1997) または Sauder et al. *J. Gen. Virol.* 77(5): 991-6 の手順にしたがってファウエスタンアッセイを用いて同定することもでき、あるいはエピトープでタグ付けしたタンパク質または GST 融合タンパク質を使用して同定することもできる。

30

【0215】

結合パートナーはまた、当該技術分野で既知の全細胞結合アッセイによって同定することができる。一実施形態では、Mr g 受容体は、COS 細胞のような、Mr g 受容体が通常は発現されない細胞において発現される。次に、Mr g を発現する細胞を、好ましくは放射性マーカーまたは蛍光マーカーであらかじめ標識した潜在的結合パートナーと接触させる。続いて、細胞を洗浄して、未結合物質を除去し、潜在的結合パートナーの細胞との結合を評価する。例えば、フィルター上で細胞を収集し、放射活性を計数することにより評価する。トランスフェクトしていない細胞または見せかけのトランスフェクトした細胞に潜在的結合パートナーが結合する量をバックグラウンドとして減算する。

40

【0216】

このタイプのアッセイは、幾つかの代替的様式で実行することができる。例えば、一実施形態では、全細胞ではなく、Mr g でトランスフェクトした細胞からの、または Mr g を発現することが既知の細胞からの細胞膜分画を用いて、アッセイが行われる。別の実施形態では、精製 Mr g は、アッセイにおいて使用される膜を生産するために脂質にてリフォールディングされる。

【0217】

50

あるいは、本発明の核酸分子は、タンパク質 - タンパク質相互作用を検出するために、細胞ベースの系にて使用することができる（国際公開第 99 / 55356 号を参照）。これらの系を用いて、他のタンパク質パートナー対を同定し、本明細書中に記載の核酸分子を使用するために容易に適応させることができる。

【0218】

M r g 受容体と相互作用する溶解性タンパク質、膜貫通タンパク質、または細胞内タンパク質を含むが、これらに限定されないタンパク質を同定するために、タンパク質 - タンパク質相互作用を検出するために適切な任意の方法を用いてもよい。M r g と相互作用するタンパク質を同定するために使用され得る伝統的な方法には、免疫共沈降、架橋、およびグラジエントまたはクロマトグラフィーカラムによる共精製がある。かかるアッセイに 10

【0219】

M r g と相互作用することが可能なタンパク質をコードする遺伝子を同時同定する方法を使用することもできる。これらの方法としては、例えば標識 M r g またはそれらの変異体を用いて、発現ライブラリーを精査することが挙げられる。

【0220】

M r g 結合パートナーを同定するために使用することができる *in vivo* でタンパク質相互作用を検出する一方法は、酵母ツーハイブリッドシステムである。このシステムは、当該技術分野で既知であり、Clontech (Palo Alto, CA) から市販されている。 20

【0221】

簡潔に言うと、一方が M r g 受容体、あるいはそれらに由来するポリペプチド、ペプチドまたは融合タンパク質に融合された転写活性化因子タンパク質の DNA 結合ドメインを含み、他方は未知の標的タンパク質に融合された転写活性化因子タンパク質の活性化ドメインを含むツーハイブリッドタンパク質が用いられる。これらのタンパク質は、調節領域が転写活性化因子の結合部位を含有するレポーター遺伝子（例えば、H B S または *lacZ* ）を含有する酵母サッカロミセス・セレビシエ (*Saccharomyces cerevisiae*) の株にて発現される。どちらかのハイブリッドタンパク質のみでは、レポーター遺伝子の転写を活性化することはできないが、二つのハイブリッドタンパク質の相互作用により、機能的活性化因子タンパク質が再構成され、レポーター遺伝子の発現をもたらし、それはレポーター 30

【0222】

標的タンパク質は、好ましくは、D R G 細胞のような、M r g 受容体を発現することが知られている組織または細胞から得られる。例えば、D R G 細胞から調製される c D N A ライブラリーを使用することができる。

【0223】

結合パートナーはまた、既知のリガンドの相互作用を妨害または崩壊するそれらの能力により同定することができる。M r g 受容体を活性化しない結合パートナーであっても、既知のリガンドとの相互作用を妨害する結合パートナーは、身体中の M r g 活性を調節または増大する際、および / または M r g 活性（またはそれらの欠損）に関連した障害を制御する際に有用であり得る。 40

【0224】

M r g および既知のリガンドとの間の相互作用を妨害する化合物は、M r g、あるいはそれらのある種の変異体または断片、および R F - アミドペプチドのような既知の結合パートナーを含む反応混合物を、この 2 つを相互作用および結合させるために十分な条件かつ十分な時間で調製し、複合体を形成することにより同定され得る。抑制活性に関して化合物を試験するために、試験化合物の存在下および非存在下にて、反応混合物を調製する。試験化合物は、反応混合物中に初めから含入することもでき、あるいは M r g およびその結合パートナーの添加の後に、続いて添加することもできる。対照反応混合物を試験混合物なしでインキュベートする。次に、M r g および結合パートナー間の任意の複合体の 50

形成を検出する。対照反応中で複合体を形成する一方、試験化合物を含有する反応混合物中ではその複合体を形成しないことは、化合物がMr gおよび既知の結合パートナーの相互作用を妨害していることを示す。さらに、試験化合物および正常なMr gタンパク質を含む反応混合物内の複合体形成と、試験化合物および突然変異Mr gを含む反応混合物内の複合体形成とを比較することができる。この比較は、突然変異体、すなわち突然変異したMr gの相互作用を特異的に崩壊するが、正常なMr gタンパク質の相互作用は崩壊しない化合物を同定しようとする場合に重要であるだろう。

【0225】

反応物の添加の順序は、試験される化合物に関する種々の情報を得るために変化させることができる。例えば、競合により相互作用を妨害する試験化合物は、試験物質の存在下にて結合反応を実施することにより同定することができる。この場合、試験化合物は、Mr gおよび既知の結合パートナーが添加されるよりも前に、あるいはそれと同時に反応混合物に添加される。あるいは、予め形成した複合体を崩壊する能力を有する試験化合物は、複合体が形成された後に、反応混合物に試験化合物を添加することにより同定することができる。

10

【0226】

本発明の代替的实施形態では、Mr gと相互作用性結合パートナーの予備形成複合体を調製し、この場合、Mr gまたはその結合パートナーのいずれかが標識されているが、その標識が発生するシグナルは、複合体の形成により抑えられる（例えば、米国特許第4,109,496号（Rubenstein）を参照、これはイムノアッセイのためにこのアプローチを利用する）。予備形成複合体を形成するグループの1つと競合して置換する試験化合物を添加すると、バックグラウンドを超えるシグナルが発生する結果となる。このようにして、相互作用を崩壊する試験物質を同定することができる。

20

【0227】

Mr gを発現する全細胞、Mr gを発現する細胞から調製される膜分画、またはリフォールディングされたMr gを含む膜は、上述のアッセイにおいて使用することができる。しかしながら、これらと同じアッセイが、完全長タンパク質の一方または両方の代わりに、Mr gの結合ドメインおよび/または相互作用性パートナーもしくは結合パートナー（結合パートナーがタンパク質である場合）に相当するペプチド断片を用いて行うことができる。当該技術分野で通常用いられる任意の多数の方法を用いて、結合部位を同定および単離することができる。これらの方法としては、Mr gタンパク質をコードする遺伝子の突然変異誘発、および既知のリガンドの結合崩壊に関するスクリーニングが挙げられるが、これらに限定されない。

30

【0228】

同定した化合物は、例えば、野生型Mr gおよび/または突然変異Mr gの活性を調節する際に有用であったり、Mr g受容体の生物学的機能を詳しく調べる際に有用であったり、正常なMr g受容体相互作用を崩壊、またはそれ自体かかる相互作用を崩壊もしくは活性化し得る化合物を同定するためのスクリーニングにて利用することができる可能性があり、かつ治療上有用であり得る。

【0229】

J. 核酸の発現を調節する作用物質の同定方法

本発明の別の実施形態は、本発明のmr gまたはdr g - 12タンパク質、あるいはmr gまたはdr g - 12媒介経路に関与する別のタンパク質をコードする核酸の発現を調節する作用物質の同定方法を提供する。これらの作用物質は、適切な細胞へ（例えば、DRGの細胞へ）侵入して、遺伝子の発現に影響を及ぼすことが可能なペプチド、ペプチド擬似体、および有機低分子であり得るが、これらに限定されない。Mr gもしくはdr g - 12、またはmr g媒介経路におけるタンパク質の発現を調節する作用物質は、例えば、痛みの感知のような感覚を増大または減少させるために、緑内障を治療するために、あるいは創傷治癒を増大または減少させるために、治療上有用であり得る。

【0230】

40

50

かかるアッセイは、本発明の核酸の発現レベルの変化をモニターすることができる任意の利用可能な手段を利用することができる。本明細書中で使用する場合、作用物質は、細胞中の遺伝子もしくはmRNAレベルの核酸の発現を増大または減少する調節が可能である場合に、本発明の核酸、例えば、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、19、21、23、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、71、73、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107または109の配列を有するタンパク質をコードする核酸の発現を調節するという。

【0231】

ーアッセイ形式では、本発明の遺伝子のオープンリーディングフレームおよび/または5'または3'調節配列と、任意のアッセイ可能な融合パートナーとの間でのレポーター遺伝子融合を含む細胞系を調製してもよい。ホタルルシフェラーゼ遺伝子およびクロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼをコードする遺伝子を含む数多くのアッセイ可能な融合パートナーが既知であり、容易に利用可能である(Alam et al. Anal. Biochem. 188:245 - 254 (1990))。次にレポーター遺伝子融合を含む細胞系を、適切な条件下および時間で、試験されるべき作用物質に曝露する。作用物質に曝露した試料と対照試料との間のレポーター遺伝子の発現の差異は、mr gまたはdr g - 12タンパク質をコードする核酸の発現を調節する作用物質を同定する。

【0232】

さらなるアッセイ形式は、本発明のmr gまたはdr g - 12タンパク質をコードする核酸の発現を調節する作用物質の能力をモニターするために使用することができる。例えば、mRNA発現は、本発明の核酸へのハイブリダイゼーションにより直接的にモニターすることができる。適切な条件下および時間で、細胞系を試験されるべき作用物質に曝露して、Sambrook et al. (Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd Ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989)に開示されるような標準的手順により、全RNAまたはmRNAが単離される。

【0233】

作用物質に曝露した細胞および対照細胞間のRNA発現レベルの差異を検出するためのプローブは、本発明の核酸から調製することができる。高ストリンジェンシー条件下で、標的核酸とのみハイブリダイズするプローブを設計することが好ましいが、必ずしも必要ではない。高ストリンジェンシー条件下では、非常に相補性の高い核酸のみハイブリッド形成が起こる。したがって、アッセイ条件のストリンジェンシーによって、ハイブリッドを形成するために2つの核酸鎖間に存在すべき相補性の量が決定される。ストリンジェンシーは、プローブ：標的ハイブリッド、および潜在的プローブ：非標的ハイブリッドとの間の安定性の差異が最大になるように選択されるべきである。

【0234】

プローブは、当該技術分野で既知の方法により、本発明の核酸から設計することができる。例えば、プローブのG+C含有量、およびプローブ長は、その標的配列へのプローブ結合に影響を及ぼし得る。プローブの特異性を最適化する方法は一般に、Sambrook et al. (Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd Ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, NY, 1989)、またはAusubel et al. (Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing Co., NY, 1995)にて利用可能である。

【0235】

ハイブリダイゼーションの条件は、各プローブに応じて、Sambrook et al.およびAusubel et al.に記載されるような既知の方法を用いて変更される。全細胞RNAまたはポリA RNAに関して濃縮したRNAのハイブリダイゼーションは、任意の利用可能な形式で達成することができる。例えば、全細胞RNAまたはポリA RNAに関して濃縮したRNAは、固体支持体に固定され、その固体支持体は、プローブが特異的にハイブリダイズすると考えられる条件下で、本発明の配列の少なくとも1つ、または少なくともその1

10

20

30

40

50

つの一部を含む、少なくとも1つのプローブに曝露され得る。あるいは、本発明の配列の少なくとも1つ、あるいはその1つの一部を含む核酸断片は、シリコンチップまたは多孔質ガラスウェハーのような固体支持体に固定され得る。次に、そのウェハーは、固定した配列が特異的にハイブリダイズすると考えられる条件下にて、試料由来の全細胞RNAまたはポリA RNAに曝露され得る。かかるウェハーおよびハイブリダイゼーションを用いる方法は、広範に利用可能であり、それらは例えばBeattieにより開示される（国際公開第95/11755）。所定のプローブが、未処理細胞集団、および作用物質に曝露した細胞集団のRNA試料に特異的にハイブリダイズする能力を有するかを検査することにより、mr gまたはdr g - 12をコードする核酸の発現を増大または減少の方向に調節する作用物質が同定される。

10

【0236】

mRNAの定性的および定量的分析のためのハイブリダイゼーションもまた、RNAaseプロテクションアッセイ（すなわち、RPA、Ma et al. Methods 10: 273 - 238 (1996)を参照）を用いて実施することができる。簡潔に言うと、遺伝子産物をコードするcDNAおよびファージ特異的DNA依存性RNAポリメラーゼプロモーター（例えば、T7、T3またはSP6RNAポリメラーゼ）を含む発現媒体を、ファージプロモーターの下流にあるcDNA分子の3'末端にて線状化し、続いてかかる線状化分子は、in vitro転写によるcDNAの標識アンチセンス転写物の合成のための鋳型として使用される。次に、80%ホルムアミド、40mM Pipes、pH6.4、0.4M NaClおよび1mM EDTAを含む緩衝液中で一晩、45℃にてインキュベートすることにより、標識転写物を単離RNA（すなわち、全または分画mRNA）の混合物にハイブリダイズさせる。次に、得られたハイブリッドを、40μg/mlのリボヌクレアーゼAおよび2μg/mlのリボヌクレアーゼを含む緩衝液中で消化させる。外来性タンパク質を不活性化し、さらに抽出後、分析用に試料を尿素/ポリアクリルアミドゲル上に載せる。

20

【0237】

別のアッセイ形式では、mr gまたはdr g - 12遺伝子産物を生理学的に発現する産物、細胞または細胞系がまず同定される。そのように同定された細胞および/または細胞系は、適切な表面伝達メカニズムおよび/またはサイトゾルカスケードと、作用物質との外因性の接触に関して、転写装置の調節の忠実度が維持されるために必要な細胞機構を含むことが予想される。次に、かかる細胞または細胞系は、本遺伝子産物に特有な1つまたはそれ以上の抗原断片に融合された本遺伝子産物をコードする構造遺伝子の末端を含む制御能力がある非翻訳5'または3'プロモーターを含む発現媒体（例えば、プラスミドまたはウイルスベクター）構築物を用いて形質導入またはトランスフェクトされるが、ここで上記断片は、上記プロモーターの転写制御下にあり、分子量が天然に存在するポリペプチドと区別することができるポリペプチド、あるいは免疫学的に明瞭なタグをさらに含み得るポリペプチドとして発現する。かかるプロセスは、当該技術分野で既知である。

30

【0238】

次に、上記に概説した形質導入もしくはトランスフェクトした細胞または細胞系を適切な条件下にて作用物質と接触させて、例えば作用物質は、薬学的に許容可能な賦形剤を含み、生理学的pHにあるリン酸緩衝生理食塩水（PBS）、生理学的pHにあるイーグル平衡塩溶液（BSS）、血清を含むPBSもしくはBSS、あるいは37℃でインキュベートしたPBSもしくはBBSおよび/または血清を含む条件培地のような、生理学的緩衝水溶液に含まれる細胞と接触させる。上記条件は、当業者により必要と思われる場合に調節され得る。作用物質との細胞の接触に続いて、ポリペプチド分画をプールし、免疫学的アッセイ（例えば、ELISA、免疫沈降またはウェスタンブロット）によりさらに処理されるべき抗体と接触できるように、上記細胞を破壊して、可溶化液のポリペプチドを分画する。「作用物質に接触させた」試料から単離されるタンパク質プールは、賦形剤のみを細胞と接触させた対照試料と比較され、対照試料と比較した「作用物質に接触させた」試料から免疫学的に発生されるシグナルの増加または減少が、作用物質の有効性の識別に用いられるであろう。

40

50

【0239】

適用した作用物質に応答したMr g mRNAの発現の差異を同定するための上述のプロープはまた、哺乳動物集団、例えば感覚認識レベルの異なる集団におけるMr g mRNAの発現の差異を同定するために使用することができる。遺伝子の発現の差異を同定する方法は、当該技術分野で既知である。一実施形態では、mRNAは、神経障害性の痛みを感じている患者、あるいはMr g受容体が役割を果たし得る疾患または障害を患う患者、例えば緑内障を患う患者のように、変化した感覚認識を示す患者から採取した組織または細胞から調製され、Mr g発現レベルは、上述のプロープを用いて定量化される。次に、Mr g発現レベルを他の集団の発現レベルと比較して、Mr g発現が感覚認識の変化において果たす役割を決定することができ、かつMr g発現レベルの増加および減少を目的とした治療が適切であるかどうかを決定することができる。

10

【0240】

K、DRG一次感覚ニューロンのタンパク質レベルまたはタンパク質の少なくとも1つの活性を調節する作用物質の同定方法。

本発明の別の実施形態は、アゴニストおよびアンタゴニストを含む、本発明のmr gまたはdr g - 12タンパク質のタンパク質レベルおよび/または少なくとも1つの活性を調節する作用物質あるいは条件を同定する方法を提供する。かかる方法またはアッセイは、所望の活性をモニターまたは検出する任意の手段を利用し得る。

【0241】

一形式では、試験されるべき作用物質に曝露されていない対照細胞集団と比較した、試験されるべき作用物質に曝露された細胞集団の本発明のタンパク質の相対量がアッセイされ得る。この形式で、特定抗体のようなプロープは、異なる細胞集団におけるタンパク質の発現の差異をモニターするために用いられる。細胞系または集団を適切な条件下および時間で試験されるべき作用物質に曝露する。曝露細胞系または集団、および対照の非曝露細胞系または集団から、細胞可溶化液を調製することができる。次に細胞可溶化液をプロープを用いて分析する。

20

【0242】

別の実施形態では、Mr gまたはdr g - 12受容体を発現することが知られている動物を、特定の環境的刺激にさらし、刺激にさらすことにより、Mr gまたはdr g - 12タンパク質の発現において生じる変化を測定する。特定位置にて特定のMr gを発現するように生産されたトランスジェニックマウスのようなトランスジェニック動物を使用してよい。環境的刺激は、例えば、ストレスを引き起こす条件への曝露、あるいは有害な刺激または痛みを伴う刺激への曝露であり得るが、これらに限定されない。環境的刺激に回答したMr g受容体発現レベルの差異は、Mr gの生物学的役割、および使用した刺激に関連する疾患または障害の治療可能性に対する洞察を提供する。

30

【0243】

抗体プロープは、本発明のペプチド、ポリペプチドまたはタンパク質が、免疫原性を高めるために十分な長さである場合、あるいはそれが望ましい場合またはそれが必要である場合に、適切なキャリアと結合させて、それらの結合体を用いて、適切な免疫化プロトコルにて適切な哺乳動物宿主を免疫化することにより調製される。BSA、KLHまたは他のキャリアタンパク質のようなキャリアとの免疫原性結合体を調製する方法は、当該技術分野で既知である。場合によっては、例えばカルボジイミド試薬を用いた直接的な結合が効果的である。他の場合では、ハプテンへの接近を提供するためにPierce Chemical Co. (Rockford, IL) により供給されるような連結試薬が望ましい。ハプテンペプチドは、アミノ末端またはカルボキシ末端のいずれかにてシステイン残基によって伸長させることができ、あるいは例えばキャリアへの連結を容易にするためにシステイン残基を点在させることもできる。免疫原の投与は、当該技術分野で一般に理解されているように、一般に適切な期間にわたる注入により、かつ適切なアジュバントを用いて実施される。免疫化スケジュール中、抗体形成の妥当性を決定するために抗体力価が調べられる。

40

【0244】

50

このようにして生産したポリクローナル抗血清は、幾つかの用途に満足なものであり得るが、薬学的組成物においては、モノクローナル調製物を使用するのが好ましい。所望のモノクローナル抗体を分泌する不死化細胞系は、一般に知られているように、Kohler and Milstein Nature 256:495 - 497 (1975) の標準的方法、あるいはリンパ球または脾細胞の不死化をもたらす変法を用いて調製され得る。所望の抗体を分泌する不死化細胞系は、抗原がペプチドハプテン、ポリペプチドまたはタンパク質であるイムノアッセイによりスクリーニングされる。所望の抗体を分泌する適切な不死化細胞培養が同定されると、*in vitro*で、あるいは腹水液中生産のいずれかにより、細胞を培養することができる。

【0245】

次に、所望のモノクローナル抗体を培養上清から、または腹水上清から回収する。免疫学的に有意な部分を含有するモノクローナル抗血清またはポリクローナル抗血清の断片をアンタゴニスト、ならびに無傷抗体として使用することができる。Fab、Fab'またはF(ab')₂断片のような免疫学的に反応性の断片の使用は、これらの断片が免疫グロブリン全体よりも免疫原性が一般に低いため、特に治療上の状況で多くの場合好ましい。

【0246】

抗体または断片はまた、現在の技術を用いて、組換え手段により生産することができる。タンパク質の所望の領域に特異的に結合する抗体領域はまた、以下に詳述するように、ヒト化抗体のような複数種起源を有するキメラの状況で生産することもできる。

【0247】

1. アゴニストおよびアンタゴニストの同定

本発明は、Mrgおよび/またはdrg-12の1つまたはそれ以上の生物学的特性を有するアゴニストあるいはアンタゴニストとして作用する化合物を同定するためのアッセイを提供する。Mrgアゴニストおよびアンタゴニストは、感覚認識、特に侵害受容に関連した問題を防止または治療するために有用であり得る。Mrgアゴニストおよびアンタゴニストは、感覚認識、特に痛みの感知を変更させ得る。例えば、Mrg受容体アゴニストとして同定された化合物は、Mrg受容体の活性化を刺激するために使用することができる、したがって、痛みの感知を低減することにより、痛みを患う哺乳動物を治療するために有効であり得る。Mrg受容体アンタゴニストとして同定された化合物は、例えば、Mrg受容体のエフェクター機能を減少するために使用され得る。これは、Mrg受容体の応答性が増大している突然変異を含む場合に、またはMrg受容体が過剰発現している場合に有用であり得る。例えば、Mrg受容体アンタゴニストは、糖尿病の幾つかの形態のような、感覚応答性が低減する疾患のように、適切な場合に哺乳動物の痛みに対する感受性を増大するために有用であり得る。

【0248】

アゴニストまたはアンタゴニストを同定するためのアッセイは、受容体にリガンドが結合した後の細胞応答をモニタリングすることにより、*in vitro*または*in vivo*で実施することができる。アゴニストは細胞性応答をもたらす一方で、アンタゴニストは、細胞性応答に対して影響しないが、既知のアゴニストに対する細胞性応答を防止することが可能であろう。

【0249】

a. 小分子

小分子は、Mrgアゴニストまたはアンタゴニストとして作用する能力を有することができる、したがって、Mrgの生物学的活性上の影響によってスクリーニングすることができる。小分子は、好ましくは、10 kD未満、より好ましくは5 kD未満、さらに好ましくは2 kD未満の分子量を有する。かかる小分子は、天然の小分子、合成有機化合物または合成無機化合物、ペプチドおよびペプチド擬似体を含み得る。しかしながら、本発明における小分子は、これらの形態に限定されない。小分子の広範なライブラリーが市販され、所望の活性によってこれらの分子をスクリーニングするための各種アッセイは、当該技

10

20

30

40

50

術分野で既知である。

【0250】

Mr g アゴニストおよびアンタゴニストの小分子の候補は、好ましくは、潜在的アゴニストおよびアンタゴニストの迅速な同定を可能にするアッセイにてまず同定される。かかるアッセイの例は、結合アッセイであり、ここで上述のように、Mr g 受容体への候補分子の結合能力が測定される。別の例では、Mr g A 1 に対する FMRF アミドのような、既知のリガンドの結合を妨害する候補分子の能力を測定する。続いて、Mr g タンパク質に結合する能力、または既知のリガンドの結合を妨害する能力により同定される候補分子は、1 つまたはそれ以上の生物学的活性を刺激する能力に関して試験される。

【0251】

本発明のタンパク質の活性は、試験されるべき作用物質（単数または複数）へ曝露した際の細胞における生理学的変化をアッセイすることにより、本発明の mr g および / または dr g - 12 タンパク質を発現する細胞においてモニターされ得る。かかる生理学的変化としては、細胞膜を通過する電流の流れが挙げられるが、これに限定されない。

【0252】

一実施形態では、タンパク質は、セカンドメッセンジャー応答を生じることができる細胞であって、かつ Mr g または dr g - 12 を正常に発現しない細胞において発現させる。次に、細胞を所定の化合物と接触させて、セカンドメッセンジャー応答の変化を測定する。これらの変化をモニターまたはアッセイする方法は、容易に利用可能である。例えば、本発明の mr g 遺伝子は、G タンパク質 α サブユニットである $G\alpha 15$ を発現する細胞にて発現され得るが、該 G タンパク質 α サブユニットは、Chandrashekar et al. Cell 100: 703 - 711, (2000) に開示されるように、FURA - 2 カルシウム指示色素を用いて、単一細胞レベルにてモニターされ得る細胞内カルシウム [Ca^{2+}] を増加させる受容体の活性化に関連する。このアッセイは、実施例 5 にてより詳述する。

【0253】

同様のアッセイもまた、Mr g もしくは dr g - 12 活性化の阻害剤またはアンタゴニストを同定するために用いることができる。例えば、Mr g または dr g - 12 を発現する細胞であって、かつ受容体活性化に対する定量可能な応答をもたらし得る細胞を、既知の Mr g または dr g - 12 活性化因子、および試験されるべき化合物と接触させる。一実施形態では、 $G\alpha 15$ および Mr g A 1 を発現する HEK 細胞を、FMRF アミドおよび試験されるべき化合物と接触させる。細胞性応答、この場合には [Ca^{2+}] の増加が測定される。既知の活性化因子だけで処理した場合と比較した、減少した応答は、その化合物が活性化の阻害剤として作用していること示す。

【0254】

かかるアッセイは、任意の方法で構成されてもよいが、特に好ましい形式は、ハイスループットスクリーニング (HTP) が可能なものである。本発明の HTP アッセイでは、一日に、数千もの異なるモジュレーターまたはリガンドをスクリーニングすることが可能である。例えば、マイクロタイタープレートの各ウェルを用いて、別個のアッセイ、例えば上述のように分子内カルシウムの増加によって、受容体活性を調節する試験化合物の能力に基づいたアッセイを実行することができる。

【0255】

上述の方法にてアッセイされる作用物質は、ランダムに選択され得るか、あるいは合理的に選択または設計され得る。本明細書で使用する場合、作用物質が、本発明のタンパク質の単独での会合に関与した特定配列、またはその会合基質（結合パートナー等）の会合に関与した特定配列を考慮せずにランダムに選択される場合に、作用物質は、ランダムに選択されると言われる。ランダムに選択した作用物質の例は、化学的ライブラリー、またはペプチドコンビナトリアルライブラリー、あるいは生物体の成長プロスの使用である。

【0256】

本明細書で使用する場合、作用物質が、作用物質の作用に関連した標的部位の配列および / またはその立体配座を考慮する非ランダムな基礎に基づいて選択される場合に、作用

10

20

30

40

50

物質は、合理的に選択または設計されと言われる。所定の部位は、膜貫通領域内のペプチド、これらの膜貫通領域間の細胞質および細胞外ペプチドループ、あるいはN末端細胞外ドメインまたはC末端細胞内ドメイン内の選択配列であってもよい。作用物質は、これらの部位を構成するペプチド配列を利用することにより合理的に選択、または合理的に設計され得る。

【0257】

本発明の作用物質は、例えば、ペプチド、小分子、ビタミン誘導体、ならびに炭水化物であり得る。優勢阻害タンパク質、これらのタンパク質をコードするDNA、これらのタンパク質に対する抗体、これらのタンパク質のペプチド断片、またはこれらのタンパク質の擬似体を細胞に導入して、機能に影響を及ぼし得る。本明細書で使用する「擬似体」は、親ペプチドと化学的には異なる構造であるが、親ペプチドと組織分布的および機能的に類似した構造を提供するための、ペプチド分子の一つのまたは幾つかの領域の修飾体を指す (Grant GA. in: Meyers (ed.) Molecular Biology and Biotechnology (New York, VCH Publishers, 1995), pp. 659 - 664を参照)。当業者は、本発明の作用物質の構造的性質に関して限定されないことを容易に理解することができる。

【0258】

本発明のペプチド作用物質は、従来技術で既知であるように、標準的な固相（または溶液相）ペプチド合成法を用いて調製することができる。さらに、これらのペプチドをコードするDNAは、市販のオリゴヌクレオチド合成装置を用いて合成してもよく、また標準的な組換え生産系を用いて組換え的に生産してもよい。遺伝子によりコードされないアミノ酸が含まれる場合には、固相ペプチド合成を用いた生産が必要である。

【0259】

b. 抗体

本発明の別の種類の作用物質は、本発明のタンパク質の非常に重要な位置での免疫反応性を有する抗体である。これらの抗体は、ヒトもしくは非ヒトのポリクローナル抗体またはモノクローナル抗体であり得て、アゴニスト抗体または中和抗体として作用し得る。それらには、抗体のアミノ酸配列変異体、抗体のグリコシル化変異体および抗体の断片が含まれる。抗体作用物質は、抗原領域として、抗体により標的とされることを目的とするタンパク質部分を含むペプチドで、適切な哺乳動物被験体を免疫化することにより得られる。かかる抗体産生の一般的技術、およびアゴニスト抗体または中和抗体の選択は、当該技術分野で既知である。

【0260】

本発明の抗体は、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体、異種複合抗体、または抗体断片であり得る。さらに、抗体は、組換え方法を含む当該技術分野で既知の任意の方法により作製することができる。

【0261】

Mrgアゴニスト抗体および中和抗体は、Mrg受容体に結合する能力に基づいて予備的に同定することができる。例えば、当該技術分野で既知のウェスタンブロット技術を用いて、様々な抗体をMrgに結合する能力によってスクリーニングを行うことができる。次に、Mrgアゴニスト抗体および中和抗体は、それらの生物活性に基づいて、候補とした抗体の群から同定される。一実施形態では、Mrgアゴニスト抗体は、Mrgタンパク質を発現し、かつセカンドメッセンジャー系を有する細胞において、セカンドメッセンジャー系の活性化を誘発するそれらの能力により同定される。例えば、Gα15を過剰発現し、かつmrgでトランスフェクトしたHEK細胞を、潜在的Mrgアゴニスト抗体と接触させてもよい。実施例5に記載するように測定される細胞内カルシウムの増加は、その候補とした抗体がアゴニスト抗体であることを示すであろう。

【0262】

中和抗体の同定は、Mrgを発現する細胞を、RF-アミドペプチドのような既知のMrgリガンド、ならびに候補とした抗体と接触させること、およびMrg活性化に対する抗体の効果を観察することを含む。一実施形態では、Gα15を過剰発現するHEK細胞

にて発現されるM r g受容体を、F M R FアミドのようなM r gリガンド、および候補とした中和抗体と接触させる。実施例5に記載するように測定されるリガンドに対する応答性の減少は、その候補とした抗体が中和抗体であることを示すであろう。

【0263】

c. 他のアンタゴニスト

M r gまたはd r g - 12アンタゴニストは、M r gまたはd r g - 12リガンドに限定されない。他のアンタゴニストには、内因性リガンドを結合する能力を保持するが、生物学的応答を媒介することができない天然型M r g受容体または天然型d r g - 12受容体の変異体が含まれる。M r gリガンドまたはd r g - 12リガンドを結合する可溶性受容体およびイムノアドヘシンは、結合部位付近のリガンドを特異的に結合し、天然型受容体との相互作用を阻害する抗体であり得るため、アンタゴニストとして用いることができる。これらのアンタゴニストは、上述のアッセイにて同定することができる。

10

【0264】

d. コンピュータモデリング

コンピュータモデリングおよび検索技術は、M r g受容体の発現または活性を調節することができる化合物の同定またはすでに同定した化合物の改良を可能にする。いったんアゴニストまたはアンタゴニストが同定されれば、リガンド結合部位のような活性部位または領域が決定される。活性部位は、当該技術分野で既知の方法を用いて（例えばリガンド結合に対する様々なアミノ酸置換または欠失の影響を決定することにより、あるいはX線結晶学のような、その天然リガンドとの関連化合物または組成物の複合体の研究から）同定することができる。

20

【0265】

次に、活性部位の三次元幾何学構造は、例えば、X線結晶学、NMR、化学的架橋または当該技術分野で既知の他の方法により決定される。コンピュータモデリングを利用して、実験結果が明確でない構造に関する予測を立てることができる。分子モデリングシステムの例は、C H A R M mおよびQ U A N T Aプログラム（Polygen Corporation, Waltham, MA）である。いったん予測構造が決定されると、活性部位と相互作用することが可能な構造を有する化合物を見つけ出すために、それらの分子構造に関する情報とともに化合物を含むデータベースを検索することにより、候補とする調節化合物が同定され得る。この検索から見つけ出される化合物は、本発明のタンパク質の活性の潜在的モジュレーターであり、上述のアッセイにて試験することができる。

30

【0266】

上述するように細胞ベースのアッセイにて同定される試験化合物のアゴニスト活性またはアンタゴニスト活性は、動物、例えば以下に詳述するようなM r g受容体を過剰発現するトランスジェニック動物を用いたアッセイにてさらに解明され得る。一実施形態では、潜在的M r gアンタゴニストまたはアゴニストの投与が、有害な刺激または痛みを伴う刺激のような感覚刺激に対するトランスジェニック動物の応答性に及ぼす効果を測定する。かかる化合物の治療上の有用性は、上記のタイプの実験により、あるいは特定障害の動物モデル（例えば、神経障害性の痛みを患う動物モデル）にて試験することにより確認することもできる。

40

【0267】

L. タンパク質の少なくとも1つの活性を調節する作用物質の使用。

実施例にて提供されるように、本発明のm r gまたはd r g - 12のタンパク質および核酸は、D R Gの一次侵害受容感覚ニューロンにて発現される。さらに、M r g受容体は、創傷修復の役割を果たす特殊皮膚細胞にて発現される。さらに、M r g受容体に相同的なタンパク質は、眼の小柱網にて発現され、眼圧の調節において役割を果たすと提唱されてきた（Gonzalez et al. Invest. Ophth. Vis. Sci. 41: 3678 - 3693（2000））。したがって、本発明はさらに、本発明のタンパク質の発現または少なくとも1つの活性を調節する、1つまたはそれ以上の作用物質を含む組成物を提供する。例えば、本発明は、M r g受容体を直接活性化するリガンドを提供する。

50

【0268】

アゴニストやアンタゴニストのようなタンパク質や作用物質の発現を増加または減少の方向に調節する作用物質を用いて、タンパク質の機能および活性に関連した生物学的プロセスおよび病理学的プロセスを調節することができる。R F - アミドペプチドを含むM r g 受容体を活性化する幾つかの作用物質が、実施例にて同定される。したがって、本発明は、神経障害性の痛みを含む痛みのような感覚認識障害を治療する方法、ならびに創傷治癒を促進する方法、損傷後に正常感受性を回復する方法、および眼の症状、特に緑内障のような圧力に関連した症状を治療する方法を提供する。

【0269】

図および実施例に記載するように、本発明のタンパク質の発現は、侵害受容の生物学的プロセスに関連し、それらはまた、病理学的プロセスとみなすこともできる。本明細書中で使用する場合、作用物質が、プロセスの度合い、厳格性または種類を変化させる場合、作用物質は、生物学的または病理学的プロセスを調節すると言われる。例えば、痛みのシグナルの神経伝達は、本発明のタンパク質の発現もしくは少なくとも1つの活性を、何らかの方法で、増加、減少、または調節する作用物質の投与により阻止あるいは調節することができる。

10

【0270】

本発明のタンパク質ならびにそれらのアゴニストおよびアンタゴニストにより治療することができる痛みは、いかなる場合においても限定されず、該痛みとしては、疾患または障害に関連した痛み、組織損傷に関連した痛み、炎症に関連した痛み、任意の種類の有害な刺激に関連した痛み、および末梢神経障害に関連した痛みを含む神経障害性の痛み、ならびに原因が同定できない痛みが含まれる。痛みは、主観的であってもよく、客観的に同定可能な作用または応答と関連する必要はない。

20

【0271】

痛みの治療のほかに、本発明の化合物および方法は、感覚応答を増加または減少させるために有用であり得る。刺激に対する応答性の減少を特徴とする幾つかの病状にて、例えば糖尿病にて、有害な刺激および痛みを伴う刺激を含む刺激に対する応答性を増加させるために有用であり得る。

【0272】

痛みおよび末梢神経障害に関連した慢性病状のようなある種の症状、特に欠損M r g 遺伝子に起因する症状は、M r g 受容体リガンドに対する応答性を増加させることにより利益を得ることができる。したがって、これらの症状は、かかる症状を患う患者の細胞において機能的M r g 受容体の数を増加させることによって治療することができる。これは、M r g コード核酸を用いた遺伝子治療により細胞中のM r g 受容体の発現を増加することができる。これには、単一治療により持続性効果が達成される遺伝子治療、および発現の増加が一過性である遺伝子治療の両方が含まれる。適切な細胞中のM r g の選択的発現は、組織特異的に、もしくは誘導性プロモーターにより制御されるM r g 遺伝子を使用することにより、または組換えM r g 遺伝子を保有する複製欠陥ウイルスを用いて限局性感染を生じることにより、あるいは当該技術分野において既知の任意の他の方法により達成され得る。

30

40

【0273】

さらなる実施形態では、過剰なM r g、M r g リガンドに対する過敏症、またはM r g の過剰な活性化を患う患者は、M r g 遺伝子コード領域に相当するアンチセンスRNAまたはアンチセンスオリゴデオキシリボヌクレオチドを有効量投与することにより、したがってM r g の発現を減少させることにより治療され得る。

【0274】

本明細書中で使用する場合、哺乳動物が本発明のタンパク質により媒介される病理学的または生物学的プロセスの調節を必要とする限り、治療されるべき被験体は、任意の哺乳動物であり得る。例えば、被験体は、痛みを感じていてもよく、あるいは手術のような痛みを伴う事象を控えている状態であってもよい。本発明は、ヒト被験体の治療にて特に有

50

用である。

【0275】

本発明の治療方法にて、本発明のMr gタンパク質、ペプチド断片、Mr g変異体、Mr gアゴニスト、Mr gアンタゴニストまたは抗Mr g抗体のような本発明の組成物を有効量、患者に投与する。

【0276】

本発明の作用物質は、単独で、あるいは特定の生物学的または病理学的プロセスを調節する他の作用物質と併用して提供され得る。例えば、本発明の作用物質を、他の既知の薬剤と併用して投与することができ、あるいは1つもしくはそれ以上の他の病理学的プロセスの存在または非存在下にて生じる痛みの治療中に使用される鎮痛薬あるいは非鎮痛薬と併用してもよい。本明細書中で使用する場合、2つまたはそれ以上の作用物質は、2つの作用物質が同時投与されるか、あるいは作用物質が同時に作用するような方法で別個に投与される場合に、併用して投与されると言われる。

10

【0277】

本発明の作用物質は、既知の方法にしたがって、哺乳動物、好ましくはヒト患者に投与される。したがって、本発明の作用物質は、非経口、皮下、静脈内、筋内、腹腔内、脳脊髄内、関節内、滑液包内、鞘内、経皮、局所、吸入または頬経路により投与され得る。それらは、輸液またはボラス注射により連続的に投与してもよい。一般に、作用物質は、障害が認められる部位へ部位特異的な方法で供給されるべきである。あるいは、経口経路投与を併用してもよい。投与される投薬量は、レシピエントの年齢、健康状態、および体重、もし存在するのであれば同時に施されている治療の種類、治療頻度、および所望の効果の性質に依存するであろう。

20

【0278】

本発明の作用物質の毒性および治療上の有効性は、細胞培養または実験動物にて標準的薬学的手法により決定することができる。有毒な副作用を示す作用物質が使用され得る限りは、副作用を低減するために、所望の作用部位へかかる化合物を特異的に供給できる供給系を設計することに注意を払うべきである。

【0279】

個々の必要性が様々であると同時に、各成分の有効量の最適範囲の決定は、当該既知技術の範囲内である。疾患の予防または治療に関して、作用物質の適切な投薬量は、治療されるべき疾患の型、疾患の重篤性および経過、作用物質が予防目的または治療目的で投与されるかどうか、これまでの治療、患者の臨床的病歴および作用物質に対する応答、ならびに主治医の判断に依存するであろう。治療上の薬剤は、一度に、または一連の治療にわたって、患者に適切に投与される。典型的な投薬量は、 $0.1 \sim 100 \mu\text{g} / \text{kg}$ 体重よりなる。好ましい投薬量は、 $0.1 \sim 10 \mu\text{g} / \text{kg}$ 体重よりなる。最も好ましい投薬量は、 $0.1 \sim 1 \mu\text{g} / \text{kg}$ よりなる。症状によっては、数日またはそれ以上にわたる反復投与によって、病状の望ましい抑制が起きるまで治療が続けられる。この療法の経過は、従来の技術および従来のアッセイにより簡単にモニターされる。

30

【0280】

薬理学的に活性な作用物質のほかに、本発明の組成物は、作用部位へ供給するために薬学的に使用され得る調製物へと活性化化合物を加工しやすくする賦形剤および助剤を含む、薬学的に許容可能な適切なキャリアを含み得る。非経口投与のための適切な配合物としては、水溶性形態、例えば水溶性塩のような活性化化合物の水性溶液が挙げられる。さらに、適切な油状注射懸濁液としての活性化化合物の懸濁液を投与してもよい。適切な親油性溶媒または媒質としては、脂肪油（例えば、ゴマ油）、または合成脂肪酸エステル（例えば、オレイン酸エチルまたはトリグリセリド）が挙げられる。水性注射懸濁液は、懸濁液の粘度を増加させる物質を含有してもよく、例えばカルボキシメチルセルロースナトリウム、ソルビトール、および/またはデキストランが挙げられる。任意に、懸濁液はまた、安定剤を含有してもよい。細胞へ供給するために、作用物質を被包するためのリポソームを使用することもできる。作用物質はまた、タンパク質を含む固形疎水性ポリマーの半透性支

40

50

持体を含む、持続的放出性配合物として調製することもできる。持続的放出性調製物は、ゲル、フィルムまたはカプセルの形態をとり得る。

【0281】

本発明による全身投与のための薬学的配合物は、経腸、非経口または局所投与用に配合され得る。実際には、3つのタイプすべての配合物は、有効成分の全身投与を達成するために同時に使用され得る。

【0282】

経口投与に適切な配合物としては、硬質または軟質ゼラチンカプセル、丸剤、被覆錠剤を含む錠剤、エリキシル、懸濁液、シロップまたは吸入薬、およびそれらの制御放出性形態が挙げられる。

10

【0283】

本発明の方法を実施する際、本発明の化合物は、単独で、あるいは他の治療薬または診断薬と併用して使用することができる。ある好ましい実施形態では、本発明の化合物は、一般に受け入れられている医学上の実践にしたがって、これらの症状のために典型的に処方される他の化合物と一緒に同時投与されてもよい。本発明の化合物は、*in vivo*にて、通常、ヒト、ヒツジ、ウマ、ウシ、ブタ、イヌ、ネコ、ラットおよびマウスのような哺乳動物にて、あるいは*in vitro*にて利用され得る。*in vivo*で 사용되는場合、化合物は、滅菌性でなくてはならない。これは、滅菌濾過膜を通した濾過により容易に達成される。

【0284】

20

a. 製品

本発明の別の実施形態では、上述の障害の治療に有用な物質を含有する製品が提供される。製品は、容器および、容器上のまたは容器に付随したラベルもしくは添付文書（複数可）を含む。適切な容器としては、例えば、ボトル、バイアル、シリンジ等が挙げられる。容器は、ガラスまたはプラスチックのような様々な材料から形成され得る。容器は、症状を治療するために効果的な組成物を収容し、滅菌アクセスポートを有し得る（例えば、容器は、皮下注射針により突き刺すことが可能なストッパーを有する静脈溶液バッグまたはバイアルであってもよい）。組成物中の少なくとも1つの活性な作用物質は、Mr gアゴニストである。ラベルまたは添付文書は、組成物が、感覚認識障害を治療する、例えば神経障害性の痛みを低減するような選ばれた症状を治療するために使用されることを示す。一実施形態では、ラベルまたは添付文書は、Mr gアゴニストを含む組成物が、痛み、緑内障を治療するために、あるいは創傷治癒を促進するために使用できることを示す。

30

【0285】

M. トランスジェニック動物

mr gおよび/またはdr g - 12配列に相当する突然変異遺伝子、ノックアウト遺伝子または改変遺伝子を含有するトランスジェニック動物もまた本発明に含まれる。トランスジェニック動物は、組換え遺伝的物質、外因性遺伝的物質またはクローン化遺伝的物質を実験的に移入した遺伝子改変動物である。かかる遺伝的物質は、多くの場合「導入遺伝子」と命名される。導入遺伝子の核酸配列、この場合、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、20、22、24、26または28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、70、72、74、76、78、80、82、84、86、88、90、92、94、96、98、100、102、104、106または108の形態が、特定の核酸配列が他の位置では通常は見出されないゲノムの位置にて、あるいは導入遺伝子用の正常な位置にて組み込まれ得る。さらに導入遺伝子は、非機能性変異体をコードし得る。導入遺伝子は、標的動物種と同一種または異種のゲノムに由来する核酸配列から構成され得る。

40

【0286】

「生殖細胞系トランスジェニック動物」という用語は、遺伝的改変または遺伝情報が生殖細胞系に導入され、それによりトランスジェニック動物が遺伝情報を子孫に伝えるため

50

の能力が付与されたトランスジェニック動物を指す。実際にかかる子孫がその改変または遺伝情報のいくらかまたは全てを保有する場合、それらもまたトランスジェニック動物である。

【0287】

改変または遺伝情報は、レシピエントが属する動物種にとって外来性であってもよく、特定の個々のレシピエントにとってのみ外来性であってもよく、あるいはレシピエントがすでに保有している遺伝情報であってもよい。最後の場合では、改変遺伝子または導入遺伝子は、天然型遺伝子と異なって発現され得る。

【0288】

トランスジェニック動物は、トランスフェクション、エレクトロポレーション、マイクロインジェクション、胚幹細胞における遺伝子ターゲティング、ならびに組換えウイルス感染および組換えレトロウイルス感染を含む種々様々な方法により生産され得る（例えば、米国特許第4,736,866号、米国特許第5,602,307号、Mullins et al. Hypertension 22(4):630-633 (1993)、Brenin et al. Surg. Oncol. 6(2)99-110 (1997)、Tuan (ed.), Recombinant Gene Expression Protocols, Methods in Molecular Biology No. 62, Humana Press (1997)を参照）。

【0289】

活性発癌遺伝子配列を発現するマウス（米国特許第4,736,866号）、サルSV40 T抗原を発現するマウス（米国特許第5,728,915号）、インターフェロン調節因子1（IRF-1）の発現を欠如したマウス（米国特許第5,731,490号）、ドーパミン作動性機能不全を示すマウス（米国特許第5,723,719号）、血圧制御に関与した少なくとも1つのヒト遺伝子を発現するマウス（米国特許第5,731,489号）、天然のアルツハイマー病に現れる症状に対して非常に類似性を示すマウス（米国特許第5,720,936号）、細胞接着を媒介する能力が低減したマウス（米国特許第5,602,307号）、ウシ成長ホルモン遺伝子を保有するマウス（Clutter et al. Genetics 143(4):1753-1760 (1996)）、または完全ヒト抗体反応を生じることが出来るマウス（McCarthy The Lancet 349 (9049):405 (1997)）を含む多くの組換えマウスまたはトランスジェニックマウスが生産されている。

【0290】

マウスおよびラットは、ほとんどのトランスジェニック実験にとって一般的に好まれる動物であるものの、場合によっては、代替的動物種を使用することが好ましいか、あるいは代替的動物種の使用が必要でさえある。トランスジェニック手法は、例えば、ヒツジ、ヤギ、ブタ、イヌ、ネコ、サル、チンパンジー、ハムスター、ウサギ、ウシおよびモルモットを含めた種々の非マウス動物において首尾よく利用されてきた（例えば、Kim et al. Mol. Reprod. Dev. 46(4):515-526 (1997)、Houdebine Reprod. Nutr. Dev. 35(6)609-617 (1995)、Petters Reprod. Fertil. Dev. 6(5):643-645 (1994)、Schnieke et al. Science 278 (5346):2130-2133 (1997) およびAmoah J. Animal Science 75(2):578-585 (1997)を参照）。

【0291】

組換えコンピテント哺乳動物細胞に核酸断片を導入する方法は、複数の核酸分子を同時に形質転換するために好都合な任意の方法を用いることができる。米国特許第5,489,743号および米国特許第5,602,307号での開示を含むトランスジェニック動物を生産する詳細な手法は、当業者に容易に利用可能である。

【0292】

特定のMr gまたはdr g-12遺伝子を欠如したマウス、あるいは特定のMr gまたはdr g-12の発現が増加または減少したマウスは、Mr gが感覚応答、特に痛みを伴う刺激に対する応答を含む行動にどのように影響を及ぼすかを決定するためのアッセイにて使用することを企図する。特に、トランスジェニックマウスは、Mr gが機械的、熱的または化学的といった特定型の有害な刺激に対する応答を媒介するかどうかを決定するために使用されるであろう。したがって、一実施形態では、天然型Mr g受容体を欠如した

10

20

30

40

50

トランスジェニックマウス、またはM r g 受容体発現レベルが改変されたトランスジェニックマウスは、圧力、温度、および他の有害な刺激に対するそれらの感受性を決定するために試験されるであろう。刺激に対する感受性を決定するためのアッセイは、当該技術分野で既知である。これらとしては、機械的な痛み（フォン・フライ毛またはテイルピンチ）、熱による痛み（ホットプレートアッセイにて全速力で動くか、または飛び回るための潜伏期間）、化学的な痛み（カプサイシンまたはホルマリンのような有害な物質が脚に注射される場合の、全速力で動くための潜伏期間）、内臓の痛み（酢酸の腹腔内注射に応答した腹部ストレッチング）、および神経障害性の痛みに対する応答性を測定するアッセイが挙げられるが、これらに限定されない。例えば、1つまたはそれ以上のM r g が欠失されたマウスは、様々な強度の様々な痛みを伴う刺激に対するそれらの応答性に関して試験されるであろう。M r g 受容体により媒介される感覚応答を決定することにより、M r g 受容体を刺激または抑制することが知られている治療薬が、これらのタイプの応答を含むことが知られている病状の治療のために選択され得る。さらに、これらの応答を含む疾患の治療を特異的にねらった治療薬は、M r g 受容体を標的とすることにより開発され得る。

10

20

30

40

50

【0293】

一実施形態では、1つまたはそれ以上のヒトM r g タンパク質を発現するトランスジェニックマウスが生産される。次に、ヒトM r g タンパク質の発現パターンを決定することができ、様々な感覚様式に対するヒトM r g タンパク質の発現の効果を研究することが可能である。さらに、これらのマウスにおいて、潜在的治療薬の有効性を研究することができる。

【0294】

さらに、特定のM r g タンパク質の発現レベルの変化の影響は、病状の動物モデルにて研究することができる。M r g 受容体レベルおよび活性化を増加または減少させることによる影響を同定することにより、疾患を治療するために有用な治療方法を開発することができる。一実施形態では、M r g 受容体発現レベルが増加または減少したマウスは、神経障害性の痛みのモデルにて試験される。

【0295】

さらに、M r g 発現レベルを操作したマウスは、鎮痛薬のような、痛みに対する応答性を調節することが知られている化合物に対する応答能力に関して試験することができる。このようにして、さらに、痛みの感知におけるM r g の役割が解明され得る。例えば、M r g を欠如したトランスジェニックマウスにおける既知の鎮痛薬に対して応答がなければ、M r g 受容体が鎮痛薬の作用を媒介する役割を果たすことを示すであろう。

【0296】

別の好ましいトランスジェニックマウスは、M r g 遺伝子がグリーン蛍光タンパク質（GFP）のようなマーカーまたはトレーサーを発現するように改変されるものである。マーカーまたはトレーサーの発現パターンを検査することにより、M r g を含有するニューロンおよび他の細胞の正確な位置および投影がマッピングされ得る。この情報を、特定の病状における関与がすでに同定されているニューロンおよび他の細胞の位置および投影と比較する。このようにして、本発明の化合物が治療において使用される可能性がさらに高まり得る。

【0297】

N. 診断方法

実施例にて記載するように、本発明の遺伝子およびタンパク質は、感覚ニューロン、および感覚ニューロンにおける生物学的もしくは病理学的活性の存在または非存在を診断あるいはモニターするために使用することができる。例えば、本発明の遺伝子またはタンパク質の発現を観察して、急性の痛み、慢性難治性の痛み、または異痛症に関連した感覚神経活性が正常か異常かを区別することができる。発現レベルは、神経異常の様々な段階または重篤性を区別するために使用することができる。本発明の核酸分子またはタンパク質を用いて、痛みの伝達に関与した感覚ニューロンの病理学的状態を診断する一手段は、生

存被験体から組織を得ることを含む。これらの被験体は、痛みを患う非ヒト動物モデルであり得る。

【0298】

分子生物学的ツールの使用は、法医学的技術において日常的になってきた。例えば、核酸プローブは、法医学的／病理学的検体において、本発明の配列のすべてまたは少なくとも一部を含む核酸分子の発現を決定するために使用してもよい。さらに、核酸アッセイは、転写プロファイリング分析を実施する任意の手段により実行され得る。核酸分析のほか、本発明の法医学的方法は、遺伝子発現の増大または減少の調節を決定するために、本発明のタンパク質を標的とし得る (Shiverick et al., Biochim Biophys Acta 393 (1) : 124 - 33 (1975))。

10

【0299】

本発明の方法は、組織をコラゲナーゼまたは他のプロテアーゼで処理し、細胞溶解しやすい組織を作製することを含み得る (Semenov et al., Biull Eksp Biol Med 104 (7) : 113 - 6 (1987))。さらに、分析用の腎組織または他の組織の種々の領域から生検試料を得ることが可能である。

【0300】

本発明の核酸またはタンパク質分子を検出するためのアッセイは、任意の利用可能な形式であり得る。核酸分子用の典型的なアッセイとしては、ハイブリダイゼーションベース、またはPCRベースのアッセイが含まれる。本発明のタンパク質、ポリペプチドまたはペプチドの検出のための典型的なアッセイには、*in situ*結合アッセイ等のような任意の利用可能な形式での抗体プローブの使用が含まれる。Harlow et al., Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, 1988 and Section Gを参照されたい。好ましい実施形態では、アッセイは、適切な対照とともに実行される。

20

【0301】

上記方法はまた、他の組織または器官における病状を検出するためのプロトコルおよび方法を含む他の診断プロトコルにおいて使用することもできる。

【0302】

O、一次侵害受容感覚ニューロンにおいて発現される他の遺伝子を同定する方法。

実施例に記載するように、本発明のmr g遺伝子およびdr g - 12遺伝子は、野生型のDRGにて発現されるが、Ng n 1突然変異マウスのDRGでは発現されない遺伝子を濃縮させ、抑制PCRベースの方法 (Clontech) を用いて、RNA同定した。この一般的な方法を用いて、DRGニューロンの侵害受容サブセットの発達または存在に必要な他の遺伝子を発現しないトランスジェニックマウスを生産することにより他のDRG特異的遺伝子を同定および単離することができる。例えば、Tr k A^{+/+}マウスは、侵害受容DRGニューロンに関連した他の遺伝子を単離するために、本発明の方法において使用することができる (Lindsay Philos. Trans R. Soc. Lond. B. Biol. Sci. 351 (1338) : 365 - 73 (1996)、およびWalsh et al. J. Neurosci. 19 (10) : 4155 - 68を参照)。

30

【0303】

さらなる説明がなくても、先述の説明および以下の例示的な実施例を用いて、当業者は、本発明の化合物を作製および利用することができ、また特許請求した方法を実施することができると考えられる。したがって、以下の実用的な実施例は、本発明の好ましい実施形態を具体的に指摘し、いかなる場合においても本開示の残部を限定するものと解釈されるべきではない。

40

【実施例1】

【0304】

侵害受容に關与する候補遺伝子を同定するための、野生型DRGおよびNg n 1^{+/+} DRG間のポジティブ選択によるディファレンシャルハイブリダイゼーション。

これまでの研究は、b H L H転写因子であるニューロゲニン1 (Ng n 1) (Ma et al. Cell 87: 43 - 52 (1996)) が、後根神経節 (DRG) における侵害受容感覚ニューロンの細胞の予定運命の決定に必要であることを示した (Ma et al. Genes & Dev. 13: 171

50

7-1728 (1999))。N g n 1^{-/-}突然変異マウス胚において、全部ではないがほとんどの t r k A⁺ニューロン (これは、侵害受容サブクラスを含む) は生成されていない。この突然変異体の表現型を利用して、新生児野生型 D R G および N g n 1^{-/-} D R G から c D N A をとることにより、かかるニューロンにて特異的に発現される遺伝子を単離した。野生型 D R G の c D N A 集団では発現されるが、N g n 1^{-/-} D R G の c D N A 集団では発現されない遺伝子は、t r k A⁺侵害受容ニューロンに特異的である。

【0305】

新生児野生型マウスまたは N g n 1^{-/-}マウスの後根神経節 (D R G) から全 R N A を単離した (Ma et al. Genes Develop. 13: 1717 - 1728 (1999) , Fode et al. Neuron 20: 483 - 494 (1988) 、および Ma et al. Neuron 20:469 - 482 (1988) を参照)。次に、抑制 P C R ベースの方法 (Clontech) を用いて、野生型 D R G では発現されるが、N g n 1 突然変異 D R G では発現されない遺伝子を濃縮した。簡潔に述べると、S u p e r s c r i p t 逆転写酵素 (Gibco) を使用して、オリゴ d T プライマーを用いて R N A から c D N A を合成し、S m a r t P C R 増幅キット (Clontech) を用いて増幅した。増幅した野生型 D R G c D N A および N g n 1^{-/-} D R G c D N A を、P C R セレクトサブトラクティブハイブリダイゼーションプロトコル (Clontech) にて、それぞれテスターおよびドライバーとして使用した。ドットプロット分析によるディファレンシャルスクリーニングにより、N g n 1^{-/-} D R G 由来の c D N A と比べて、野生型 D R G 由来の c D N A が濃縮された幾つかのクローンを同定した。これらのクローンを、ヌクレオチドシーケンシングおよび i n s i t u ハイブリダイゼーションによりさらに分析した。

【0306】

約 1 , 6 0 0 個の陽性の遺伝子が、最初のスクリーニングによって同定され、これらのうち 1 4 2 個をシーケンシングした。これらのうち 5 0 個が既知の遺伝子を表し、9 2 個が新規遺伝子を表した (表 2 を参照)。既知の遺伝子の中に、侵害受容感覚ニューロンにて特異的に発現される幾つかのシグナル伝達分子が存在した。これらには、V R - 1、カルシトニン遺伝子関連ペプチド (C G R P)、テトロドトキシン非感受性ナトリウムチャネル (S N S - T T X i) およびジアシルグリセロールキナーゼが含まれていた。新規遺伝子の中には、イオンチャネルまたは受容体に特徴的な構造的特徴を有する幾つかのコードタンパク質が存在し、i n s i t u ハイブリダイゼーションにより D R G 感覚ニューロンのサブセットにて特異的に発現されることが明らかとなった。これらの分子について実施例 2 および 3 にてさらに詳述する。

【0307】

【表 1】

表2. 痛みの感知に関与する遺伝子のディファレンシャルハイブリダイゼーションスクリーニングの結果の概要

スクリーニングにより単離した回数	名称
A. 既知の遺伝子	
13	NaN
9	ジアシルグリセロールキナーゼ
7	シナプトフィジン IIa
5	パニロイド受容体 1
3	GluR5-2c
2	CGRP
2	CLIM1
1	SNS-TTXi
1	α -N-カテニン I
1	脳 Naチャネル III
1	NICA6
1	セクレトグラニン
B. 新規遺伝子	
2	Mrg3(新規Gタンパク質共役受容体)
2	DRG12

注釈:従来の研究は太文字の遺伝子が侵害受容器で特異的に発現されることを示す。

【実施例 2】

【0308】

侵害受容感覚ニューロンにおいて特異的に発現される推定 G タンパク質共役受容体の新規ファミリー。

スクリーニングにより単離された新規遺伝子の中に、G タンパク質共役受容体の特徴である 7 つの膜貫通セグメント (配列番号 1) を有する受容体タンパク質をコードする 2 つの別個のクローンが存在した。単離した新規の 7 つの膜貫通受容体は、発癌遺伝子 (mas) に最も密接に関連しており、したがって、mas 関連遺伝子 - 3 (mrg3) と命名した。mrg3 はまた、mas 関連遺伝子 A1、すなわち MrgA1 としても知られている。mrg3 に関する完全コード配列を、ゲノム DNA 配列から推定した (図 1A および配列番号 2)。MrgA1 は、MAS1 に対して有意な相同性 (35% 同一性) を示す (Young et al. Cell 45: 711-9 (1986))。それはまた、Mas 関連遺伝子 1 (MRG1) (Monnot et al. Mol Endocrinol 5: 1477-87 (1991)) およびラット胸大動脈 (RTA) (Ross et al. Proc Natl Acad Sci USA 87:3052-6 (1990)) と呼ばれる 2 つの他の哺乳動物 GPCR と有意な相同性 (30~35% 同一性) を共有する。

【0309】

かかる G タンパク質共役受容体は、嗅覚ニューロンおよび味覚ニューロンのような他の種類の感覚ニューロンにて発現されるが、この種類の分子は、プロテアーゼ活性化受容体 (PAR) を除いて、DRG 感覚ニューロンに関して、これまでに報告されてない。

【0310】

プローブとして mrg3 DNA を用いて、マウス DRG cDNA ライブラリーおよびマウスゲノムライブラリーをさらにスクリーニングすることにより、mrg4 (MrgA2)、mrg5 (MrgA3)、mrg6、mrg7、mrg8 (MrgA4)、mrg9 (MrgA5)、mrg10 (MrgA6)、mrg11 (MrgA7)、および mrg12 (MrgA8) と命名される、密接に関連した 9 個の遺伝子をさらに同定した。それらのうち、mrg4、mrg5 および mrg8~12 は、完全長オープンリーディングフレームを含む (図 1 を参照)。プラストプログラムを用いてデータベースを検索することにより、2 つのヒト相同体が見出された。8 個の mrg 遺伝子、すなわち mrg3~8 およびヒト 1~2 のタンパク質アラインメントは、それらが新規 G タンパク質共役受容体遺伝子ファミリーを規定することを示唆した (図 1A)。

【0311】

特に、P0マウスDRG cDNAライブラリーからMr g A 1 ~ 4を単離し、フィルター上に配列したマウスゲノムBACライブラリー (Incyte Genomics) からMR G A 5 ~ 8の全ORFを含有するクローンを単離した。図6Aは、Mr g A 1 ~ 8のポリペプチド配列のアラインメントを示し、膜貫通ドメインならびに細胞質および細胞外ループを示す。さらに、クエリーとしてMr g A 1を用いて、TB L A S T Nプログラムを使用してCeleraマウスおよびヒト (Venter et al. Science 291: 1304 - 51 (2001)) ゲノムデータベースを検索することにより、他のマウスMr g A配列、ならびに他のヒトMr g配列を同定した。表3は、Mr g A遺伝子が互いに高度に相同性であることを示す。ある特徴的な保存残基の存在と組み合わせで、高度の相同性は、それらがGPCRのMASファミリーの新規サブファミリーを規定することを示す。 10

【0312】

マウスMr gファミリーの遺伝子をさらに同定するために、クエリーとしてMR G A 1およびMR G A 4タンパク質配列を用いて、Celeraマウス断片データベース (2001年1月7日掲載、18,251,375個の断片) に対してTB L A S T N検索を実行した。これらの検索により、299個の特有のマウスゲノムDNA断片を同定した。これらの断片の配列をダウンロードし、ストリンジェントな条件下でG E L M E R G E (GCG Wisconsin Package) を用いてコンティグを構築した (90%同一性、20nt最小重複)。G E L M E R G Eを再び実行して (80%同一性、20nt最小重複)、さらにデータセットを絞りこんだ。次に、各コンティグからのコンセンサヌクレオチド配列を、B L A S T Nを用いてCeleraマウス断片データベースに対して照会し、構築のためのさらなる配列を同定した (最終n = 536の断片)。最終構築からのコンセンサス配列をF A S T Aフォーマット済データベースに入れた。次に、クエリーとしてMR G A 1を用いてT F A S T Yによりこのデータベースを検索して、変異性のゲノム配列がタンパク質へ終止コドンまたはフレームシフトを導入したかどうかに関わらず、各コンセンサス配列からの潜在的コード領域を同定した (Pearson, W.R. (1999). Flexible similarity searching with the FASTA3 program package. In Bioinformatics Methods and Protocols, S. Misener and S.A. Krawetz, eds. (Totowa, NJ: Humana Press), pp. 185 - 219)。次に、これらの検索からのタンパク質配列を、系統学的分析のために単一F A S T Aフォーマット済ファイルに結集させた。 20 30

【0313】

この分析を用いて、マウスMr g Aサブファミリーの16個のさらなる遺伝子を同定した (図6B)。このサブファミリーのほかに、Mr g BおよびMr g Cと呼ばれる2つの密接に関連したMr gサブファミリーもまた発見された (図6B)。マウスMr g B遺伝子におけるORFの存在を確認するために、高性能のPCRを用いて、C57Bl/6マウスゲノムDNAからmMr g B 1 ~ 5、mMr g D、およびmMr g Eを増幅した。幾つかの別個のクローンをシーケンシングし、ORF予測を確認した。構築したCelera配列における数多くの終止コドンおよびフレームシフトの存在は、mMr g C遺伝子が偽遺伝子であることを示した。

【0314】

Mr g Bサブファミリーが14個の遺伝子を含むのに対し、Mr g Cは12個の遺伝子を有する。これらのサブファミリーそれぞれの間の配列同一性パーセントは、50%よりも大きい (表3)。際立って、12個のMr g Cの遺伝子すべてが、複数の早発性終止コドン、早発性フレームシフト突然変異、またはその両方を含有するため、すべて偽遺伝子のようなものである (図1B、“Ψ”)。したがって、総合して、Mr g AおよびMr g Bサブファミリーは、36個の完全長ORFを含む。 40

【0315】

【表 2】

表 3. マウスMRGサブファミリー間の類似性および同一性

	mMRG A1	mMRG A2	mMRG A3	mMRG B1	mMRG B2	mMRG B3	mMRG C1	mMRG C2	mMRG C3
MMRGA1	-----	77.9	73.1	48.1	46.3	43.6	44.9	46.7	47.8
MMRGA2	87.5	-----	71.8	42.4	45.4	42.7	41.5	44.5	43.5
MMRGA3	85.1	83.1	-----	47.9	46.8	44.2	46.0	49.8	46.6
MMRGB1	72.1	66.8	70.2	-----	57.6	50.0	42.9	47.1	45.3
MMRGB2	68.7	67.7	69.4	72.7	-----	53.5	41.8	44.4	43.1
MMRGB3	65.2	65.7	64.6	69.5	73.5	-----	37.0	38.8	36.4
MMRGC1	69.5	65.2	70.9	64.4	67.0	63.3	-----	76.0	79.1
MMRGC2	69.8	72.5	74.2	69.4	70.8	65.7	81.4	-----	78.8
MMRGC3	70.9	67.2	71.0	66.2	69.5	64.6	86.1	86.3	-----

【0316】

タンパク質配列間の同一性パーセント（右上、太字）および類似性パーセント（左下）を示す。「hMRG」は、ヒトMRGアミノ酸配列を示し、「mMRG」は、マウスMRG配列を示す。「hMRGX」は、mMRGAおよびmMRGB配列のヒト相同体を示すために使用される（図1B）。値は、GCGパッケージ中のGAPプログラムを用いた包括的なアラインメントから得た値である。

【0317】

10

20

30

40

50

B L A S T (Altschul et al. Journal of Molecular Biology 215: 403 - 410 (1990)) およびHidden Markovモデル (H M M (Eddy. Bioinformatics 14, 755 - 63 (1998)) の両方を用いたCelera (Venter et al. Science 291: 1304 - 51 (2001)) およびパブリック (Consortium. Nature 409: 860 - 921 (2001)) ゲノム配列データベースの検索により、4 個の密接に関連した (「～50% 同一性」) 完全長ヒト遺伝子、および少なくとも10 個のヒト偽遺伝子が明らかとなった。簡潔に述べると、クエリーとしてm M r g A 1 タンパク質配列を用いて、Celeraヒトゲノムデータベース (Venter et al. Science 291: 1304 - 51 (2001)) に対してT B L A S T N 検索を実行した。この検索にて同定されるゲノム配列をダウンロードし、F A S T A フォーマット済データベースに入れて、T F F A S T Y を用いて検索して、タンパク質の非重複性セットを同定した。h M r g X 3、h M r g E、およびh M r g Ψ 8 を除いて、パブリックヒトゲノム配列 (Consortium. Nature 409: 860 - 921 (2001)) の同様の分析から、すべてのヒトM r g が別個に同定された。ヒトM r g X 1 ～ 4 配列は、遺伝子を含むヒトB A C クローンに由来するP C R 増幅産物から別個に立証された。

10

【0318】

明確なオルソログ対がない状態にて、ヒト遺伝子は、系統樹によるとM r g B サブファミリーよりもマウスM r g A サブファミリーに類似しているように見える (図6 B、h M r g X 1 ～ 4) が、本発明者等は、現段階でヒト遺伝子をh M r g X 遺伝子と称する。M r g A、B およびC サブファミリーのほかに、本発明者等がM r g D ～ F と命名したものを含む多数のさらなるM a s - 1 関連オーファンG P C R がこの検索により同定された (図6 B)。M r g D のようなこれらの配列の幾つかは、明確なヒトオルソログを有する (図6 B、h M r g D)。h M r g D およびm M r g D は、タンパク質レベルでは58% の同一性を有し、73% の類似性を有していて、一方、ヌクレオチドレベルでは73% の同一性を有する。まとめて、本発明者等は、このファミリーに属するほぼ45 個のマウスの、および9 個のヒトの完全コード配列を同定した。

20

【0319】

【表3】

表4. ヒトおよびマウスMRG間の類似性および同一性

	hMRG X2	hMRG E	mMRG A1	mMRG B4	mMRG B1	mMRG D	mMRG E
hMRGX2	-----	40. 2	55. 6	50. 1	53. 4	40. 5	38. 8
hMRGE	62. 8	-----	36. 6	32. 8	32. 8	33. 9	76. 5
mMRGA1	74. 8	57. 7	-----	48. 1	48. 1	37. 1	39. 7
mMRGB4	71. 0	58. 0	70. 4	-----	54. 5	34. 8	36. 6
mMRGB1	73. 5	60. 5	72. 1	74. 1	-----	36. 5	33. 8
MMRGD	61. 1	57. 6	59. 5	64. 2	61. 3	-----	35. 1
MMRGE	59. 0	84. 0	62. 5	63. 7	59. 1	59. 3	-----

30

【0320】

タンパク質配列間の同一性パーセント (右上、太字) および類似性パーセント (左下) を示す。「h M R G」は、ヒトM R G アミノ酸配列を示し、「m M R G」は、マウスM R G 配列を示す。「h M R G X」は、m M R G A およびm M R G B 配列のヒト相同体を示すために使用される (図1 B)。値は、G C G パッケージ中のG A P プログラムを用いた包括的なアラインメントから得られた。

40

【0321】

M R G 受容体は、外見上シグナルペプチドのない、短い (3 ～ 21 アミノ酸) N 末端を有し、細胞外に位置すると予測される。膜貫通ドメインおよび細胞内ドメインは、高度に保存され、受容体が共有機能を有することを示唆する。M R G A ファミリー受容体のほとんどの多岐にわたる領域は、細胞外ループに局在化しているようであり (図6 A)、これらの受容体が、異なるリガンド、あるいは同一リガンドであっても異なる親和性を有する

50

リガンドを認識することを示唆する。興味深いことに、本発明者等は、マウス株 C 5 7 B L / 6 J および 1 2 9 S v J 間の M r g A 1 コード配列において 1 2 個の一塩基多型を同定した。これらの 1 2 個の変化は、6 個のアミノ酸置換を生じる結果となり、それらすべては、保存的であるか、または他のファミリー遺伝子により同じ位置にて発現される置換残基であった。

【0322】

巨大マウスゲノムコンティグを、M r g A 配列を含有する重複 B A C クローンを分析することにより構築した (図 6 C)。このコンティグには、3 個の偽遺伝子を含む 7 個の M r g A 遺伝子が存在していた。かかるクラスター形成は、G P C R コード遺伝子ファミリーの共通の特徴である (Xie et al. Mamm Genome 11: 1070 - 8 (2000))。際立って、ヒト M r g 遺伝子すべて (M a s 1 および M r g 1 を除く) は、第 1 1 番目染色体に位置し、それらはまた、ヒト嗅覚受容体遺伝子すべての 5 0 % を含有する。マウス B A C コンティグ (図 6 C) における M r g A 遺伝子の全ては、多くの他の G P C R コード遺伝子と同様に、N 末端メチオニンを有する完全長 O R F をコードする。Celera マウスゲノムデータベースを用いて、各 M r g A コード領域に隣接する配列を獲得および分析した。この分析により、少なくとも 6 個の M r g A 遺伝子がそれらのコード配列の ~ 6 5 0 b p 下流に位置する L 1 レトロトランスポゾン配列を有することが明らかとなった (図 6 B、「L 1」で示す)。

10

【0323】

8 個の完全長 m a s 関連遺伝子 m r g 3 ~ 5、および m r g 8 ~ 1 2 のすべては、n g n 1^{+/+} 突然変異 D R G にて排除される D R G 感覚ニューロンのサブセットにおいてそれらが発現されることから示されるように、侵害受容感覚ニューロンにて濃縮される (図 2 および図 2 A)。

20

【実施例 3】

【0324】

侵害受容感覚ニューロンにて特異的に発現される新規の 2 つの膜貫通セグメントタンパク質。

このスクリーニングにて単離される別の新規遺伝子 d r g 1 2 (配列番号 1 3) は、2 つの推定膜貫通セグメントを有するタンパク質をコードする (配列番号 1 4)。i n s i t u ハイブリダイゼーションは、m r g 遺伝子と同様に、この遺伝子 d r g 1 2 もまた D R G 感覚ニューロンのサブセットにおいて特異的に発現されることを示す。このタンパク質とデータベース中の他の配列との間に明白な相同性は存在しないが、侵害受容感覚ニューロンにて特異的に発現される 2 つのプリン受容体 (P₂X₂ および P₂X₃) が、類似した二連膜貫通トポロジーを有することは注目に値する。したがって、d r g 1 2 はまた、侵害受容感覚伝達またはその調節に関与した受容体あるいはイオンチャネルをコードすると思われる。d r g 1 2 ヒト配列 (配列番号 1 9) の相同領域の疎水性を、図 4 の d r g 1 2 マウス配列の相同領域の疎水性と比較する。

30

【実施例 4】

【0325】

m r g および d r g - 1 2 遺伝子は、侵害受容感覚ニューロンにて特異的に発現される。

40

m r g ファミリー遺伝子および d r g - 1 2 遺伝子に関する機能は、以下に記載するようなりガンドの同定を考慮しつつ、それらの構造および発現パターンに基づいて、予測される。M r g タンパク質が D R G ニューロンにて発現されるかどうかを決定するために、ジオキシゲニン (dioxxygenin) 標識リボプローブを用いた i n s i t u ハイブリダイゼーションを実施した。簡潔に述べると、P 0 マウスの子から組織を得て、4 % パラホルムアルデヒド中にて 4 時間で一晚固定し、3 0 % ショ糖中で一晚凍結保護し、O C T 中に包埋した。組織切片を 1 8 μ m にて低温維持装置上で横方向に切断した。c R N A プローブを用いて、これまでに記載されたように、凍結切片に関して非同位体性 i n s i t u ハイブリダイゼーションを実施した (Ma et al. Cell 87: 43 - 52 (1996); Perez et al. D

50

development 126: 1715 - 1728 (1999))。8個のMr g A、5個のMr g BおよびMr g Dをプローブとして使用した。少なくとも10個のDRGを分析して、各プローブに関して陽性であるニューロン数を計数した。

【0326】

8個のMr g A (Mr g A 1 ~ 8)すべてを含むMr gおよびdr g 1 2遺伝子は、マウスの後根神経節 (DRG)における小径感覚ニューロンのサブセットにて発現される (図7B ~ 図7I)。重要なことに、8個すべてのMr g Aの発現は、差し引きハイブリダイゼーションスクリーニングのパターンと合致して、Ngn1^{-/-}動物のDRGにて事実上存在しなかった (図7J)。検査した8個のMr g Aクローンの中で、Mr g A 1は、DRG中の感覚ニューロン内で最も広範に発現する (13.5%)。他のMr g Aは、DRG切片中の数個の細胞にて発現されるだけである (0.2 ~ 1.5%の範囲のDRGニューロン)。この存在量の差によって、Mr g A 1のみがオリジナルのスクリーニングによって単離された理由が説明できる。Mr g A 1 ~ 8の発現パターンの明らかな差異は、異なる軸レベルからのDRGにて認められなかった。身体のいかなる他の組織においても、またはこれまで検査した神経系のいかなる他の領域においても、これらの遺伝子の発現がこれまでは検出されなかったという点で、この発現は非常に特異的である。

10

【0327】

Mr g A遺伝子と同様に、Mr g Dもまた、DRG感覚ニューロンのサブセットにて特異的に発現する (以下を参照、図15)。対照的に、Mr g B 1 ~ 5は、DRGにて発現が検出できなかった。しかしながら、mMr g B 1発現は、新生児マウスの皮膚の表皮層中の、ならびに脾臓および顎下腺中の散乱細胞にて観察された (図13および図14)。これらの細胞は、創傷修復において役割を果たす免疫細胞のようである。mMr g B 2もまた、この発現パターンを示す。対照的に、mMr g B 3、mMr g B 4およびmMr g 5は、これらの組織のいずれにおいても発現されないようである。

20

【0328】

ノーザンブロット分析を用いて、ヒトMr g Dは、ヒト後根神経節ニューロンにおいて発現されることが見出された。ヒトDRGニューロン由来の総RNA 20 μgを含有するノーザンブロットを、ヒトMr g Dプローブとハイブリダイズさせて、4.4 kbの転写物が検出された。さらなる分析により、ヒトMr g Dは、ヒト脳、心臓、骨格筋、胸腺、結腸、脾臓、腎臓、肝臓、小腸、胎盤、肺または末梢血白血球では発現されないことが示された。したがって、mMr g Dと同様に、ヒトMr g Dは、痛みの感覚ニューロンに非常に制限された発現を示す。さらに、データは、マウスMr g DおよびヒトMr g Dが機能的オルソログであることを示す。

30

【0329】

これらの結果は、Mr gおよびdr g 1 2遺伝子が一次感覚ニューロンにて発現されることを示す。しかしながら、DRGは、種々のタイプの感覚 (例えば、熱、痛み、触覚および体位)を助長する種々の種類のニューロンを含む。Ngn1突然変異は、個々のマーカーtr k A、VR - 1およびSNS - TT Xiの発現により同定されるDRGニューロンの侵害受容 (有害な刺激感覚) サブセットのそれぞれを独立して、大部分または完全に排除することが知られている (Ma et al. Genes & Dev. 13:1717 - 1728 (1999)) ため、mr gファミリーおよびdr g 1 2遺伝子を発現するニューロンがNgn1^{-/-} DRGにおいて大部分または完全に排除されるという事実により個々の同定がされる (図2)。したがって、Ngn1^{-/-}突然変異DRGにおけるmr gおよびdr g - 1 2発現ニューロンの損失は、これらの遺伝子が侵害受容感覚ニューロンにて発現される可能性が非常に高いことを示す。他の種類の少数の感覚ニューロン (tr k B⁺およびtr k C⁺) は、同様にNgn1^{-/-}突然変異体にて排除されるものの、mr gおよびdr g 1 2遺伝子は、これらの種類の感覚ニューロンにて発現されないと思われる。なぜならば、それらがmr gおよびdr g 1 2発現感覚ニューロンの大部分である場合にNgn1^{-/-}突然変異体にて残されると予測されるが、その予測が事実とは異なるからである。

40

【0330】

50

N g n 1^{+/+}マウスからのDRGにおけるMr g Aの発現の欠如は、それらが皮膚感覚ニューロンにおいて発現されるという概念と合致する。さらに、Mr g A⁺細胞の分布は、侵害受容感覚ニューロンのマーカーであるtr k Aを発現するニューロンの分布と類似していた (McMahon et al. Neuron 12: 1161 - 71 (1994); Snider and Silos - Santiago Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci 351:395 - 403 (1996)) (図7A、図7B)。Mr g A遺伝子がtr k A⁺細胞にて発現されるかどうかを直接決定するために、新生期DRGにおいて、抗tr k A抗体を用いた免疫標識と合わせて、Mr g A⁺、A³⁺およびA⁴⁺に関してin situハイブリダイゼーションを実施した。フルオレセイン - UTP標識cRNAプローブを、アルカリホスファターゼ (AP) 結合抗フルオレセイン抗体 (1:2000、Roche) を用いて検出し、ファストレッド (Roche) を用いて発色させて、赤色蛍光シグナルを発生させた。蛍光in situハイブリダイゼーションを実施した後、切片をTr k Aに対する一次抗体 (1:5000、Louis Reichardt博士から寄贈)、VR1 (1:5000、D. Julius博士から寄贈)、CGRP (1:500、Chemicon)、またはサブスタンスP (1:1000、Diasorin) にてインキュベートした。すべての抗体は、1%正常ヤギ血清および0.1%トリトンX-100を含有する1×PBSにて希釈した。一次抗体インキュベーションを4に overnight 実施した。使用した二次抗体は、Alexa 488に結合したヤギ抗ウサギIgG (1:250、Molecular Probes) であった。Griffonia simplicifolia IB4レクチンでの二重標識のために、in situハイブリダイゼーション後に、12.5 μg/mlのFITC結合IB4レクチン (Sigma) とともに切片をインキュベートした。

【0331】

抗tr k A抗体とmr g アンチセンスRNAプローブを用いた二重標識実験により、mr g、具体的にはMr g Aが、DRGにてtr k A⁺侵害受容ニューロンにより同時発現されることが確認された (図7Bおよび図8A~Cを参照)。同様の結果がMr g Dに関して得られた (図8D)。合わせて、これらのデータは、Mr g AおよびMr g DがDRGにおいて侵害受容感覚ニューロンにより特異的に発現されることを示す。

【0332】

侵害受容器の特定のサブセットにてMr gが発現されるかどうかを決定するために、さらなる実験を行った。上述するように、抗VR1標識、およびイソレクチンB4 (IB4) 標識した、mr g アンチセンスRNAプローブを用いたさらなる二重標識実験により、mr gはIB4⁺侵害受容ニューロンにより選択的に発現されるが、一方、VR-1発現侵害受容ニューロンにおいては発現されないことを示した (図2Cおよび図2D)。特に、Mr g A⁺、A³⁺、A⁴⁺およびMr g Dプローブを用いたin situハイブリダイゼーションと共に用いたIB4による併用蛍光標識により、これらの受容体がIB4⁺ニューロンにより発現され (図8E~図8H)、このサブセットに対する発現が制限され得ることを明確に示した。この結果は、これらのMr gがII層に突き出た非ペプチド作動性侵害受容ニューロンにより発現されることを示す (Snider and McMahon Neuron 20: 629 - 32 (1998))。この結果に合致して、Mr g A⁺の大部分 (90%)、およびMr g A³⁺、A⁴⁺およびMr g D⁺全ての細胞が、物質Pの発現を欠如する (図8I~図8L)。同様に、Mr g A⁺の大部分の細胞 (70%)、およびMr g A³⁺、A⁴⁺およびMr g D⁺の全ての細胞が、C線維侵害受容器により発現される別の神経ペプチドであるCGRPを発現しない (図8M~図8P)。これまでの研究は、IB4⁺侵害受容ニューロンが、神経損傷に起因する神経障害性痛みに関与することを示した (Malmberg, A. B. et al. Science 278: 279 - 83 (1997))。疱疹後神経痛、反射性交感神経性ジストロフィー、および幻肢痛を含む神経障害性の痛みは、最も管理しにくい痛みである。Mr gは、神経障害性の痛みを媒介する本質的な役割を果たし、神経障害性の痛みを管理するための代替的解決法を提供し得る。

【0333】

最近の研究によると、IB4⁺侵害受容器の神経化学的および機能的に異なった2つのサブ集団：パニロイド受容体VR1を発現するもの (Caterina et al. Science 288: 306 50

- 13 (1997))、および発現しないもの (Michael and Priestley J Neurosci 19: 1844 - 54 (1999) ; Stucky and Lewin J Neurosci 19: 6497 - 505 (1999)) の存在に関する証拠が提供されている。抗 V R 1 抗体免疫染色と合わせた M r g A プローブおよび M r g D プローブを用いた *in situ* ハイブリダイゼーションにより、M r g A 1、A 3、A 4 および M r g D を発現する細胞集団が、V R 1⁺ (V R 1 を発現する) 細胞と相容れないことが顕著に示された (図 8 Q ~ 図 8 T)。まとめると、これらの発現データにより、M r g A 遺伝子および M r g D 遺伝子が、I B 4⁺ および V R 1⁻ である非ペプチド作動性皮膚感覚ニューロンのサブクラスにおいて発現されることが示される (図 9)。

【0334】

M r g A 1 は、他の M r g A 遺伝子とともに同時発現される

10

M r g A 1 は、他の M r g A 遺伝子よりも広く発現され (図 2)、M r g A 1 および M r g A 2 ~ 8 は、侵害受容器の異なるサブセットまたは重複サブセットにより発現されることを示唆する。ジゴキシゲニンおよびフルオレセインで標識したプローブを用いた二重標識 *in situ* ハイブリダイゼーションによる研究は、M r g A 3 または M r g A 4 を発現するほとんどのニューロンもしくは全部のニューロンが M r g A 1 を同時発現することを示した (図 10 A ~ 図 10 F)。興味深いことに、チラミド増幅を用いた M r g A 3 および M r g A 4 に関する *in situ* ハイブリダイゼーションシグナルにおける蛍光は多くの場合、ファストレッドにより検出される M r g A 1 m R N A の細胞質発現により区切られる核内ドットとして出現した (図 10 F)。かかるドットは、低感度ファストレッド検出方法を用いると観測されず、M r g A 1⁺ 細胞の核にてのみ観察された。同様の核内ドットが、フェロモン受容体遺伝子発現の研究にてこれまでに観察されており、転写部位を表すことが示唆されてきた (Pantages and Dulac Neuron 28: 835 - 845 (2000))。M r g A 1、3 および 4 に関する結果は、より稀な M r g A 遺伝子 (M r g A 2 ~ 8) を発現するニューロンは、M r g A 1 をも発現するニューロンのサブセットであることを示す。

20

【0335】

M r g A 2 ~ A 8 が同一のニューロンにて発現されるのか、または異なるニューロンにて発現されるのかどうかの問題に取り組むために、単一プローブにより標識されるニューロン数を、7 つ全てのプローブの混合物により標識されるニューロン数と比較した (Buck and Axel Cell 65: 175 - 187 (1991))。M r g A 4 に対する別個のプローブによる標識よりも、約 3 倍以上のニューロン (4.5 % 対 1 %) が混合プローブにより標識され (図 10 J、図 10 K)、これらの遺伝子が、同一のニューロン集団にてすべて同時発現されるわけではないことを示す。しかしながら、混合プローブにより標識されるニューロンのパーセント (4.5 %) は、7 つの別個のプローブのそれぞれにより標識されるニューロンのパーセントの総計 (6.6 %) よりは小さかったので、M r g A 2 ~ A 8 の発現は、一定の重複が存在することを示す。さらに、単一プローブを用いる場合よりも混合プローブを用いた場合に、より高いシグナル強度が個々のニューロンにて観察された。

30

【0336】

M r g A 1 および M r g D プローブを用いた二重標識実験もまた実施した。これらのタンパク質は、図 6 B および表 3 に示すように、60 % だけの配列類似性を共有する。これらの実験の結果によって、これら 2 つの受容体を発現するニューロン間の重複は、ほんの部分的であることを示した (図 10 G ~ 図 10 I)。M r g A 1 または M r g D を発現するニューロンの約 15 % (118 / 786) は両遺伝子を同時発現した。M r g A 1⁺ 細胞の 34 % (118 / 344) が M r g D を同時発現したのに対して、M r g D⁺ 細胞の 26.7 % (118 / 442) が M r g A 1 を同時発現した。

40

【0337】

合わせて、これらのデータは、I B 4⁺、V R 1⁻ 感覚ニューロンの少なくとも 3 つの別個のサブ集団：M r g A 1⁺ M r g D⁺、M r g A 1⁺ M r g D⁻、および M r g A 1⁻ M r g D⁺ の存在を示す。M r g A 1⁺ サブセットはさらに、1 つまたはそれ以上の M r g A 2 ~ A 8 を発現する異なるサブセットに分割される。

50

【0338】

Mr gファミリー遺伝子は、推定Gタンパク質共役受容体(GPCR)をコードするmr gファミリー遺伝子のコードアミノ酸配列の疎水性プロットは、7つの膜貫通セグメントを有する膜タンパク質を予測する。かかる構造は、「Gタンパク質」を通じてシグナル伝達する受容体に特徴的である。Gタンパク質は、環状ヌクレオチド(cAMP、cGMP)、IP₃および細胞内遊離カルシウム(Ca⁺⁺)のような「セカンドメッセンジャー」分子の生成または減少に関与する酵素を活性化あるいは抑制する細胞質分子のファミリーである。続いて、かかるセカンドメッセンジャー分子は、イオンチャネルおよび他の受容体のような細胞内シグナル伝達に関与する他の分子を活性化あるいは抑制する。

【0339】

Gタンパク質共役受容体(GPCR)は、膜受容体の最大のスーパーファミリーの1つを構成し、異なるリガンドに特異的な受容体の多くのサブファミリーを含む。これらのリガンドには、身体により製造される神経伝達物質および神経ペプチド(例えば、それぞれノルアドレナリン、アドレナリン、ドーパミン、およびサブスタンスP、スマトスタチン)、ならびに外界に存在する感覚分子(臭気物質、風味物質)が含まれる。

【0340】

mr gファミリー遺伝子は高度に相同性であるが、最も多岐にわたる領域は、細胞外ドメインであった(図6A参照)。mr gファミリーの細胞外ドメインの可変性は、それらが異なるリガンドを認識し得ることを示唆する。

【0341】

mr gファミリー遺伝子がGPCRをコードし、侵害受容感覚ニューロンにて特異的に発現されるという事実は、これらの受容体が、痛み、熱もしくは他の有害な刺激の感知または調節に、直接的あるいは間接的に関与することを示唆する。したがって、mr gコード受容体は、痛み、熱もしくは他の有害な刺激の感知または調節をするために効果のある薬剤を同定するための標的として有用である。最も有用な型の薬剤(アゴニスト性またはアンタゴニスト性)の性質は、かかる有害な刺激の感覚に対してこれらの受容体が受ける一般的な影響の性質に依存するであろう。例えば、mr gコード受容体が一般に負に作用する場合、痛みを抑制または抑圧するために、アゴニスト性薬剤が有用な治療薬となり、反対に、受容体が一般に正に作用する場合、痛みを促進または増大するために、アンタゴニスト性薬剤が有用な治療薬となるであろう。ある種の臨床場面において、例えば糖尿病に関連した抹消神経感覚神経障害において、有害な刺激に対する感受性を高めるために有用であり得る。

【0342】

痛みの感知に対するmr gコードGPCRの影響の性質は、マウスにおけるこれらの遺伝子の標的突然変異の表現型の結果により明らかとなり得る。例えば、かかるマウスが有害な刺激に対する感受性が増大した場合、受容体は一般に痛みに対する応答を抑制または抑圧するために機能し、またその逆においても機能することを結論付けることができた。あるいは、ハイスループットスクリーニングを用いて、mr gコード受容体に強固に結合する小分子を同定してもよい。かかる分子は、2つのカテゴリー：アゴニストおよびアンタゴニストに分類されると予測される。アゴニストが、受容体依存性様式で細胞内セカンドメッセンジャー経路を活性化する能力により同定される一方で、アンタゴニストは、それらを抑制する能力により同定されるであろう。次に、痛みの感受性の動物モデルでのかかる薬剤の試験は、GPCRの機能に関するさらなる情報を明らかにするであろう。例えば分子が*in vitro*にて受容体アンタゴニストとして作用し、かつ、それらが*in vivo*で有害な刺激に対する感受性または応答性を抑圧する場合に、受容体は一般に、痛みの感覚を促進または増大するために機能することが結論付けられ得る。逆に、受容体アゴニストが*in vivo*にて痛みの感覚を抑圧し、一方アンタゴニストがそれを増大する場合、受容体は一般に、痛みの感覚を抑圧または抑制するために機能すると結論付けることができる。

【0343】

d r g 1 2 は、推定膜貫通シグナル伝達分子をコードする

d r g 1 2 遺伝子のコードアミノ酸配列の疎水性プロットは、膜タンパク質が2つの膜貫通セグメントを有していることを予測させる。このタンパク質は、ポリペプチドのエピトープタグ付け様式でトランスフェクトした培養細胞の免疫染色により膜局在化していることが立証された。D R G 1 2 アミノ酸配列はタンパク質の既知のファミリーに対して相対性はなかったものの、その二連膜貫通構造は、それが細胞内シグナル伝達のいくつかの局面において、例えば受容体、イオンチャネルまたは別の受容体のモジュレーターもしくはイオンチャネルのモジュレーターに関与することを強く示唆する。この予測は、類似した二連膜貫通トポロジーであるプリン作動性 P_2X_2 および P_2X_3 受容体を有する2つの既知の受容体が、D R G 1 2 と同様に侵害受容感覚ニューロンにて特異的に発現されるとい 10
う公知の知見により支持される。

【0344】

この構造データ、および侵害受容感覚ニューロンにおいて特異的に発現することを考慮すれば、M R G 1 2 が、有害な刺激の感知または調節に、直接的あるいは間接的に関与する可能性がある。したがって、d r g 1 2 コードタンパク質は、痛みの治療のための新規治療薬の開発用の有用な標的である。

【実施例5】

【0345】

M r g タンパク質は、神経ペプチドのための受容体である。

上述のように、M r g 遺伝子によりコードされるタンパク質の構造は、それらが受容体 20
として機能することを示す。M r g 受容体に関するリガンドを同定するために、選択した M r g A 遺伝子を、カルシウム放出アッセイにて試験した。M r g A 1 および M r g A 4 を含む M r g A 遺伝子を真核生物発現ベクターにクローニングし、ヒト胚腎 (H E K) 2 9 3 細胞にトランスフェクトした。H E K 2 9 3 細胞は、A T C C から得られ、10%ウシ胎児血清を補充した D M E M 中で培養した。Aurora Biosciences Corporation から $G\alpha_{15}$ を安定に発現する H E K 2 9 3 - $G\alpha_{15}$ 細胞系が提供され、Matrigel (商標) (成長因子を減じた Matrigel、Becton Dickinson、血清を含まない D M E M で 1 : 200 希釈) で被覆したフラスコ上で成長させ、10%熱不活性化ウシ胎児血清、2 m M の L - グルタミン、0.1 m M の非必須アミノ酸、1 m M のピルビン酸ナトリウム、2 5 m M の H E P E S、および $3 \mu g / m l$ のブラストジジン S を補充した D M E M (Gibco 30
BRL) 中で 37 °C にて維持した。トランスフェクションのために、Matrigel で被覆した 35 m m のガラス底皿 (Bioptech Inc., Butler, PA) 上に細胞を播種した。16 ~ 24 時間後、F u G E N E 6 (Roche) を用いて細胞をトランスフェクトした。トランスフェクション効率は、M r g A 1 および A 4 の C 末端に融合した G F P の可視化により概算され、典型的に 60% を超えた。さらに、M r g A コード配列の C 末端に対して G F P を融合することにより、受容体の細胞内分布およびトランスフェクトした細胞におけるそれらの膜組込みを可視的に確認することが可能になった (図 11 D)。

【0346】

カルシウム放出アッセイの感受性を増加するために、幾つかの実験にて、M R G A - G F P 融合タンパク質が、 $G\alpha_{15}$ を発現するように改質された H E K 2 9 3 細胞にて発現され、細胞内遊離 Ca^{2+} の放出を誘発するシグナル伝達経路に G P C R を連結する (Offermann and Simon J Biol Chem 270: 15175 - 80 (1995))。このカルシウム放出は、蛍光指示色素として F u r a - 2 を用いて比較測定的に (ratiometrically) にモニターされ得る (Tsien et al. Cell Calcium 6: 145 - 57 (1985)) (図 11 A ~ 図 11 C)。この異種発現系は、味覚受容体用のリガンドを同定するためにこれまで使用されてきた (Chandrashekar et al. Cell 100: 703 - 11 (2000))。 40

【0347】

M R G A は、ペプチドホルモン受容体に対して最高の配列類似性を示すので、細胞内 Ca^{2+} 放出アッセイを用いて、M R G A 1 を活性化する能力に関して約 45 個の候補ペプチドをスクリーニングした。簡潔に述べると、トランスフェクトした細胞を、11 m M の D 50

- グルコースおよび 10 mM の HEPES、を有するハンスの平衡塩溶液 (pH 7.4) (アッセイ緩衝液) で一度洗浄し、2 μ M の Fura-2 AM (Molecular Probes) を室温にて 90 分間、回転させながら負荷した。負荷した細胞をアッセイ緩衝液で 2 回洗浄し、微小灌流チャンバ (Biotech) に入れた。チャンバを Olympus IMT2 倒立顕微鏡の最上部に置き、Olympus DPlanApo40X 油浸対物レンズにより結像した。75 W のキセノン球で試料を照射し、コンピュータ制御フィルター交換器 (Lambda-10; Shutter Instruments) を用いて、励起波長を切替えた。蛍光を検出する際に、冷却 CCD カメラ (Photometric) を使用した。励起波長 400 nm、2 色 505 nm ロングパスフィルター、および 535 nm のエミッターバンドパス (Chroma Technology) を用いて、フィールド内の GF P 陽性細胞を同定した。同じフィールド内で、励起波長 340 nm および 380 nm、ならびに発光波長 510 nm にてカルシウム測定を実施した。アッセイ緩衝液でアゴニストを希釈し、微小灌流ポンプ (Biotech) により溶液変化が達成された。GF P 陽性細胞から生じる Fura-2 蛍光シグナル (340 nm、380 nm および 340 / 380 比) を、Axon Imaging Workbench 4.0 ソフトウェア (Axon) を用いて、0.4 または 1 秒間隔で連続的にモニターおよび収集した。計装の較正は、ガラス底皿 (MatTek Corp.) にて標準カルシウム溶液 (Molecular probes) を用いて実施した。

【0348】

濃度 1 μ M にて、数多くの神経ペプチドにより、Mr g A 1 発現細胞が、幾分か活性化された (図 12 A)。これらの神経ペプチドの中には、ACTH、CGRP-I および CGRP-II、NPY ならびにソマトスタチン (SST) が含まれていた。それにもかかわらず、多くの他のペプチドホルモン (アンギオテンシン I ~ III ならびにニューロキニン A および B、 α -MSH および γ 2-MSH を含む) は、MRGA1 を活性化しなかった (図 12 A 以外にデータを示さず)。Mr g A 1 は、プロスタグランジン E1 およびアラキドン酸のようなエコサノイドリガンドによっては、わずかに活性化されただけであった (データを示さず)。

【0349】

Mr g A 1 発現 HEK 細胞における最も効果的な応答は、FLRF および軟体動物心臓作用性神経ペプチド FMRF アミドを含む RF アミドペプチドにより誘発された (Price and Greenberg Science 197:670 - 671 (1977)) (Phe-Met-Arg-Phe-アミド) (図 11 C、図 12 A)。次に、共通のプロペプチド前駆物質から切断される (Vilim et al. Mol Pharmacol 55: 804 - 11 (1999)) 2 つの哺乳動物 RF アミドペプチド、NPAF および NPFF を試験した。1 μ M での NPFF に対する Mr g A 1 発現細胞の応答は、FMRF アミドを用いた場合に見られる応答と類似している一方で、NPAF に対する応答は、有意に低かった (図 12 A)。Mr g A 1 はまた、2 つの他の RF アミドリガンド、 γ_1 -MSH および sc h i s t o F L R F によってもわずかに活性化された (データは示さず)。

【0350】

Mr g A 1 および A 4 の活性化の特異性をさらに検査するために、初期スクリーニングによって見いだした最良の候補リガンドを、RF アミドペプチドに対する応答を保持するこの系にて発現される $G\alpha_{15}$ -Mr g A 1 および A 4 が欠如した HEK 細胞にて発現されるこれらの同一受容体に関して試験し (図 12 B、図 12 C)、初期スクリーニングにおいて見られる細胞内 Ca^{2+} 放出応答が、外因性 $G\alpha_{15}$ の存在に依存していないことを実証する。このことは、Mr g A が Gq または Gi を介して HEK 細胞にて作用することを示す。NPFF に対する Mr g A 1 発現 HEK 細胞の応答は、FLRF に対する応答より低く、NPAF に対しては応答しなかった (図 12 B)。反対に、Mr g A 4 発現細胞は、NPAF に対して応答したが、NPFF または FLRF には応答しなかった (図 12 C)。両方の場合において、 $G\alpha_{15}$ 発現細胞において見られる NPY に対する応答 (図 11 A) は完全に失われる一方で、CGRP-I および ACTH に対する応答は相当減少した。

【0351】

Mr g A 1 および A 4 を活性化することが可能な R F アミドリガンドの最低濃度を決定するために、より大きな感受性をもたらす $G\alpha_{15}$ を発現する H E K 細胞にて、用量応答実験を実施した (図 1 2 D、図 1 2 E)。これらの実験は、Mr g A 1 がナノモル濃度の F L R F により (図 1 2 D、 EC_{50} 約 20 nM)、および概してそれよりもより高濃度の N P F F により (図 1 2 D、 EC_{50} 約 200 nM) 活性化され得る一方で、N P A F はかなり効果が少ないことを示す。対照的に、Mr g A 4 は、N P A F により十分に活性化され (図 1 2 E、 EC_{50} 約 60 nM)、F L R F および N P F F によりかなり弱く活性化された。どちらの受容体も、異なる前駆物質から生産される一連の R F アミドリガンドである R F R P - 1、2 または 3 に応答した強力な活性化を示さなかった (Hinuma et al. Nat Cell Biol 2: 703 - 8 (2000))。これらのデータにより、Mr g A 1 および Mr g A 4 が、この系における種々の R F アミドリガンドに対する種々の選択性を示すことが確認される。対照的に、これらの受容体は、A C T H に対しては同様に応答した (それぞれ、Mr g A 1 および A 4 に関して EC_{50} ~ 60 および 200 nM、データは示さず)。

10

【0352】

最終的に、M R G A 受容体および M A S 1 との間の配列類似性を考えて、N P F F、N P A F および F L R F に対する外因性 M a s 1 を発現する細胞の応答性を試験した。M A S 1 は、Mr g A 1 および Mr g A 4 のいずれとも異なるプロフィールを示した (図 1 2 F)。Mr g A 1 と同様に、それは、ペプチドの同程度の濃度 (EC_{50} 約 400 nM) にて N P F F により活性化されたが、Mr g A 1 と異なり、それは、F L R F によりあまり活性化されなかった。Mr g A 4 とは対照的に、M A S 1 は、N P A F に対して十分に応答しなかった。この受容体を活性化するとこれまでに報告されていたリガンドであるアンギオテンシン I および I I に対して曝露しても、M A S - 1 発現細胞にて応答は検出されなかった (Jackson, T. R., et al. Nature 335: 437 - 40 (1988))。M A S 1 はまた A C T H に対しても応答しなかった。したがって、この異種系で発現される M A S 1、Mr g A 1 および Mr g A 4 は、R F アミドファミリーリガンドによりすべて活性化されるが、異なるリガンド感受性および選択性を有する (表 4)。

20

【0353】

【表 4】

表 4. HEK細胞におけるRF-アミドリガンドによるMas関連GPCRの活性化の選択性

30

受容体	A. リガンド		
	FLRF	NPFF	NPAF
MRGA1	+++	++	+/-
MRGA4	+/-	+/-	+++
MAS1	+/-	++	+/-

【0354】

示したリガンドによる示した受容体の活性化の相対的有効性を示す。定量化に関しては、図 6 を参照されたい。「+++」は、 $10\text{ nM} < EC_{50} < 100\text{ nM}$ を示し、「++」は、 $100\text{ nM} < EC_{50} < 500\text{ nM}$ を示し、「+/-」は、 $1\text{ }\mu\text{M}$ にて見られる弱い応答を示す。詳細に関しては、図 6 を参照されたい。

40

【0355】

約 50 個の M A S 1 関連 G タンパク質共役受容体から構成される新規ファミリーが同定された。侵害受容感覚ニューロンのサブセットにおいて、これらの受容体の幾つかの種類が特異的に発現することは、これらの受容体が痛みの感知または調節にて役割を果たすことを示す。一貫して、これらの受容体は、無痛覚を媒介することが知られている R F アミド神経ペプチドにより活性化されることがわかった。結果として、これらの受容体は、抗侵害受容薬剤のための新規標的を提供する。

【0356】

50

本発明は、上述の例を参照して詳細に記載してきたが、各種変更は、本発明の思想を逸脱することなくなされ得ることが理解される。したがって、本発明は、添付の特許請求の範囲によってのみ制限される。本出願にて参照したすべての引用特許、特許出願および刊行物は、その全体が参照により本明細書に援用される。

【図面の簡単な説明】

【0357】

【図1】配列番号2、4、6、8、10および12、ならびにm r gファミリーの2つのヒトタンパク質（配列番号16および18）のアミノ酸配列の相同領域のアラインメントを示す。

【図1A-1】m r gが新規のGタンパク質共役受容体遺伝子ファミリーを規定することを示す。C l u s t a l Wを用いて8つのマウス完全長m r g遺伝子のアミノ酸配列をアラインした。予測タンパク質の50%より大きい同一残基を暗色陰影で示す。保存的置換は明灰色で目立たせている。予測膜貫通ドメイン1~7のおよその位置をT M 1~T M 7として配列の上部に示す。予測細胞外ドメインおよび細胞質ドメインは、それぞれE 1~E 7およびC 1~C 7として示す。

10

【図1A-2】m r gが新規のGタンパク質共役受容体遺伝子ファミリーを規定することを示す。C l u s t a l Wを用いて8つのマウス完全長m r g遺伝子のアミノ酸配列をアラインした。予測タンパク質の50%より大きい同一残基を暗色陰影で示す。保存的置換は明灰色で目立たせている。予測膜貫通ドメイン1~7のおよその位置をT M 1~T M 7として配列の上部に示す。予測細胞外ドメインおよび細胞質ドメインは、それぞれE 1~E 7およびC 1~C 7として示す。

20

【図1A-3】m r gが新規のGタンパク質共役受容体遺伝子ファミリーを規定することを示す。C l u s t a l Wを用いて8つのマウス完全長m r g遺伝子のアミノ酸配列をアラインした。予測タンパク質の50%より大きい同一残基を暗色陰影で示す。保存的置換は明灰色で目立たせている。予測膜貫通ドメイン1~7のおよその位置をT M 1~T M 7として配列の上部に示す。予測細胞外ドメインおよび細胞質ドメインは、それぞれE 1~E 7およびC 1~C 7として示す。

【図2】図2におけるi n s i t uハイブリダイゼーションの顕微鏡像は、新生野生型（W T）マウスおよびニューロゲニン1ヌル突然変異（N g n 1^{-/-}）マウスからの後根神経節（D R G）の横断切片中の配列番号2（「m r g 3」）および配列番号4（「m r g 4」）のヌクレオチドに対するアンチセンス染色の局在化を示す。白点線はD R Gの輪郭を描き、黒点線は脊髄の輪郭を描く。3つの他の別々のマーカー（t r k A、V R - 1およびS N S - T T X i（Ma et al., (1999)））を用いて同定した場合、N g n 1^{-/-}突然変異体において、D R Gの大きさが侵害受容感覚ニューロンの損失に起因して、激しく減少することに留意されたい。m r g 3はW TマウスにおけるD R Gのサブセット中では発現される（A）が、N g n 1^{-/-} D R G中には存在しない（B）。m r g 4は、m r g 3が発現されるD R Gのサブセットよりさらに小さいD R Gのサブセット中で発現される（C）。これはまたN g n 1^{-/-} D R Gの中には存在しない（D）。N g n 1^{-/-} D R G中にm r g発現ニューロンが存在しないことは、これらのニューロンが侵害受容性である可能性が高いことを示す。

30

40

【図2A】後根神経節（D R G）ニューロンのサブセット中のm r gの発現を示す。野生型（a~i）およびn g n 1^{-/-}（j）突然変異新生マウスからのD R Gの凍結横断切片をアンチセンスジゴキシゲニンRNAプローブを用いてアニーリングして、アルカリホスファターゼ-結合抗体を用いてハイブリダイゼーションを可視化した。陽性シグナルを濃紫染色として示す。T r k Aは、野生型D R Gニューロンの大部分において発現される（a）が、しかしn g n 1^{-/-}中には存在しない（データは示さず）。8つのm r g遺伝子（b~i）の各々は、野生型D R G中のニューロンの小サブセット中で発現され、n g n 1^{-/-} D R G中では完全に存在しない（j以外のデータは示さず）。黒点線は、n g n 1^{-/-}突然変異D R Gの輪郭を描く。

【図2B】m r gがT r k A⁺侵害受容ニューロンにより発現されることを示す。二重標

50

識技術を用いて、DRGニューロン中のTrkA (b、e) およびmr g (a、d) を同時局在化した。二重標識実験中、mr g 3 (a ~ c) またはmr g 5 (d ~ f) フルオロセイン標識アンチセンスRNAプローブのどちらかを用いて、in situハイブリダイゼーションを行った後、抗TrkA抗体免疫染色を野生型DRGの凍結切片にて施した。同一の2つのフレーム (a および b、d および e) をデジタル方式で重ね合わせて、同時局在化の程度を明示した (c、f)。白矢頭は、二重陽性細胞の例を示す。

【図2C】mr g およびVR1が、DRG中の侵害受容ニューロンの2つの異なる集団を規定することを示す。mr g 3 またはmr g 5 フルオレセイン標識アンチセンスRNAプローブを用いたin situハイブリダイゼーションおよび抗VR1抗体免疫染色の組合せは、mr g 3 (a ~ c) およびmr g 5 (d ~ f) 共にVR1 - 陽性ニューロンにより発現されないことを実証した。併合画像 (c、f) では、mr g 3 またはmr g 5 とのVR1の同時局在化は認められない。白矢頭は、mr g を発現するが、VR1陰性である侵害受容ニューロンを指す。

【図2D】mr g がIB4⁺侵害受容ニューロンにより発現されることを示す。二重標識技術を用いて、DRGニューロン中のIB4 (b、e) およびmr g (a、d) を同時局在化した。上記と同様にin situハイブリダイゼーションにより、mr g 3 およびmr g 5 の発現を可視化した。その後、同一DRG切片にFITC結合レクチンによりIB4結合を施した。併合画像 (c、f) では、mr g 染色およびIB4染色間の広範な重複が認められた (黄色ニューロンを矢頭で示す)。

【図3】(A) mr g 3 (配列番号2)、(B) ヒト1遺伝子 (配列番号15)、および (C) ヒト2遺伝子 (配列番号17) のアミノ酸配列の膜貫通領域を予測する疎水性プロットを比較する。陽性値が高いほどより疎水性であることを示す。

【図4】(A) マウスdr g 1 2 (配列番号14) ; (B) ヒトdr g 1 2 (配列番号19) のアミノ酸配列の膜貫通領域を予測する疎水性プロットを比較する。

【図5】mr g 9 (配列番号21)、mr g 10 (配列番号23)、mr g 11 (配列番号25)、およびmr g 12 (配列番号27) のアミノ酸配列の膜貫通領域を予測する疎水性プロットを比較する。

【図6A - 1】株C57BL/6JマウスからのcDNAおよびBACクローンのヌクレオチド配列から推定されるMRGA1 ~ A8のアミノ酸配列のアラインメントである。膜貫通 (TM1 ~ TM7)、細胞外 (E1 ~ E4) および細胞質 (C1 ~ C4) ドメインの予測位置を、アラインした配列上に示す。

【図6A - 2】株C57BL/6JマウスからのcDNAおよびBACクローンのヌクレオチド配列から推定されるMRGA1 ~ A8のアミノ酸配列のアラインメントである。膜貫通 (TM1 ~ TM7)、細胞外 (E1 ~ E4) および細胞質 (C1 ~ C4) ドメインの予測位置を、アラインした配列上に示す。

【図6A - 3】株C57BL/6JマウスからのcDNAおよびBACクローンのヌクレオチド配列から推定されるMRGA1 ~ A8のアミノ酸配列のアラインメントである。膜貫通 (TM1 ~ TM7)、細胞外 (E1 ~ E4) および細胞質 (C1 ~ C4) ドメインの予測位置を、アラインした配列上に示す。

【図6B】データベース検索から同定されたMRGファミリー成員の系統発生的分析を示す。CLUSTALWを用いて、MRGすべてのタンパク質配列をアラインした (Thompson et al. Nucleic Acids Res 22:4673 - 80 (1994))。Neighbor - Joining法および1,000ブートストラップ試験を用いたPHYLPソフトウェアパッケージにより、樹状図を作成した。枝の水平長は、アミノ酸の数の変化に比例する。垂直距離は任意である。それらの停止コドンのレトロトランスポゾン配列 ~ 650 nt 3' を有するマウス (m) Mr g 遺伝子を強調表示する (L1)。偽遺伝子をコードすると予測される遺伝子はすべて、プサイ (Ψ) の記号で示す。

【図6C】重複BACクローンの分析から推定されたマウスMr g クラスターの染色体構成を示す。クラスターは、4つの完全長ORFおよび3つの偽遺伝子を含む。

【図7】図7Aは、NGF受容体trkAの発現により明示されるような生後0日目 (P

10

20

30

40

50

0) DRG中の侵害受容感覚ニューロンの分布を示す。この集団は、Ngn1^{-/-}突然変異体において選択的に排除される(Ma et al. Genes & Dev. 13:1717-1728 (1999))。

図7Bは、Mr g A 1を検出するcRNAプローブを用いたin situハイブリダイゼーションを示す。Mr g A 1は、図7Aに示した隣接切片上のtr k A⁺ニューロンと同様のパターンで発現される。図7Cは、Mr g A 2~Mr g A 8を検出するcRNAプローブを用いたin situハイブリダイゼーションを示す。図7Jは、Mr g A 1発現が、他のMr g A遺伝子の発現(示されていない)と同様に、Ngn1^{-/-}マウス中で排除されることを示す。残りのDRGニューロンは点線で境界を画する領域中に存在し、一般的ニューロンマーカーの発現により可視化され得る。

【図8】Mr g Aの発現が、内部II層に向かって突出する非ペプチド作動性侵害受容器に制限されることを示す。tr k A(A~D)、サブスタンスP(I~L)、CGRP(M~P)、VR1(Q~T)の蛍光抗体検出または蛍光イソレクチンIB4(IB4; E~H)による染色と組合せた、指示Mr g プローブを用いたin situハイブリダイゼーションの共焦点顕微鏡像を示す。Mr g A⁺またはMr g D⁺細胞はtr k AおよびIB4を同時発現する(A~H、矢頭)が、ほとんどがsub P、CGRPまたはVR1を発現しない(I~T、矢頭; I、Mの矢印は、Sub PおよびCGRPを同時発現するMr g A 1⁺ニューロンのマイナーのサブセットを示す)。

【図9】II層に向けて突出する非ペプチド作動性IB4⁺、VR1⁻感覚ニューロンへのMr g A(およびMr g D)発現の制限の模式図である(Snider and McMahon Neuron 20: 629-32 (1998))。II層中のシナプス後ニューロンはPKC γ を発現する。

【図10】個々の感覚ニューロンが複数のMr g Aを同時発現することを示す。(A~C) Mr g A 1(A)およびA 3(B)を用いた二重標識in situハイブリダイゼーション。(D~F) Mr g A 1(D)およびA 4(E)を用いた二重標識。両方の場合に、Mr g A 3またはA 4を発現する細胞は、Mr g A 1を発現するもののサブセットである(C、F、矢頭)。(F)の矢印は、転写の部位を表し得るMr g A 4発現の核内ドットを示す。(G~I) Mr g A 1およびMr g Dを用いたin situでの二重標識。2つの集団間の多少の重複が観察される(I、矢頭)が、一方、ほとんどの細胞はある受容体は発現するが、他のものは発現しない(I、矢印)。Mr g A 1またはMr g Dを発現する細胞のうち、約15%が、両遺伝子を同時発現する。パネル(C、F、I)の右に付した垂直バーは、Y軸に沿って見られるzシリーズを表し、パネルの下に付した水平バーはx軸に沿って見られるzシリーズを表す。(J、K)それぞれの単一Mr g Aプローブ(J)および7つのMr g Aプローブの混合物(K)を用いて得られたin situハイブリダイゼーションシグナルの比較。約1%のニューロンがMr g A 4プローブにより標識され、一方、~4.5%が混合プローブにより標識された。個々のMr g A 2~8プローブにより標識されたニューロンのパーセンテージの和は~6.6%であり、これは、この集団内に部分重複が存在することを示唆する。(L) in situ分析により明示された遺伝子発現の組合せを示すベン図。例えばMr g A 2~8がMr g Dと部分的に重複するかどうか、われわれには分からないため、図は、サブセットの数の控えめの概算である。円の大きさは比例していない。

【図11】MRGA 1を発現するHEK細胞のFLRFにより引き出される細胞内遊離Ca⁺⁺の増大を示す。(A、B)および(E、F)は、MRGA 1-GFP融合タンパク質(A~D)またはGFP単独(E~H)を発現するHEK-G α_{15} 細胞中での340nm(A、E)および380nm(B、F)でのFura-2蛍光を示す。画像は、1 μ MのFLRFアミドの添加の2分後に撮った。内在性GFP蛍光により明示されたMRGA 1-GFPの核周囲斑点状分布(D、矢頭)はER-ゴルジ網状構造に特徴的であり、これは受容体の膜取込みおよび細胞内輸送を示す。これに対比して、対照GFPタンパク質は細胞質である(H)。細胞内Ca²⁺([Ca²⁺]_i)放出は、FURA-2 340nm/380nm発光比から決定された(C、G)。MRGA 1発現細胞(しかし周囲の非トランスフェクト細胞ではない)は340/380nmでのFura-2蛍光の比率の増大を示す(C、矢頭)が、これは[Ca²⁺]_iの増大を示すことに留意されたい。これに対比

10

20

30

40

50

して、対照 G F P 発現細胞においてはこのような増大は観察されない (G)。M R G A 1 発現細胞において観察された 3 4 0 / 3 8 0 n m の蛍光の増大は、リガンドの付加に依存した (図示せず)。

【図 1 2 A】神経ペプチドリガンドにより異種細胞中で発現される M R G A 受容体の活性化を示す。1 μ M の濃度で指示リガンドを用いて、M R G A 1 を発現する H E K - G α_{15} 細胞 (Offermanns and Simon. J Biol Chem 270:15175 - 80 (1995)) を試験した。データは、カルシウム応答を示す G F P 陽性 (すなわちトランスフェクトされた) 細胞の平均パーセンテージを示す。指示されたアゴニストで、トランスフェクトされていない細胞中の内因性受容体による任意の応答を示したものはなかった。R F アミド神経ペプチドである F M R F、F L R F および N P F F、ならびに N P Y、A C T H、C G R P - I および I I そしてソマトスタチン (S S T) が最強応答を生じたことに留意されたい。 10

【図 1 2 B】G α_{15} を欠く H E K 細胞中で発現された M R G A 1 のリガンド選択性を示す。(A) の場合と同様に、1 μ M の濃度で細胞をリガンドに曝露した。

【図 1 2 C】M R G A 4 のリガンド選択性を示す。図 1 2 B および 1 2 C に提示したデータは、ほとんどの有効リガンドに対する応答が G α_{15} の存在に依存しないことを示す。M R G A 1 発現細胞は F L R F および N P F F に応答するが、N P A F には応答せず、一方逆に M R G A 4 発現細胞は N P A F に応答するが、N P F F または F L R F に応答しないことに留意されたい。

【図 1 2 D】選択 R F アミド神経ペプチドに対して H E K - G α_{15} 細胞中で発現される M R G A 1 に関する用量 - 応答曲線を示す。各データ点は、少なくとも 3 つの個々の決定の平均 ($\pm$) S . E . M . を表す。各決定に関して、少なくとも 2 0 の G F P ⁺ 細胞を分析した。その後、5 μ M 濃度の F L R F に対して同一細胞により示される最大応答に、各リガンド濃度での応答を標準化した。M R G A 1 (D) は F L R F (四角、E C ₅₀ 約 2 0 n M) に対して最高感受性を、そして N P F F (丸、E C ₅₀ 約 2 0 0 n M) に対してはより低い感受性を示す。 20

【図 1 2 E】選択 R F アミド神経ペプチドに対して H E K - G α_{15} 細胞中で発現される M R G A 4 に関する用量 - 応答曲線を示す。各データ点は、少なくとも 3 つの個々の決定の平均 ($\pm$) S . E . M . を表す。各決定に関して、少なくとも 2 0 の G F P ⁺ 細胞を分析した。その後、5 μ M 濃度の N P A F に対して同一細胞により示される最大応答に、各リガンド濃度での応答を標準化した。M R G A 4 は、N P A F (三角、E C ₅₀ 約 6 0 n M) により優先的に活性化される。 30

【図 1 2 F】選択 R F アミド神経ペプチドに対して H E K - G α_{15} 細胞中で発現される M A S 1 に関する用量 - 応答曲線を示す。各データ点は、少なくとも 3 つの個々の決定の平均 ($\pm$) S . E . M . を表す。各決定に関して、少なくとも 2 0 の G F P ⁺ 細胞を分析した。その後、5 μ M 濃度の N P F F に対して同一細胞により示される最大応答に、各リガンド濃度での応答を標準化した。M A S 1 は、M R G A 1 と同様に、同様の効果を有する N P F F (E C ₅₀ 約 4 0 0 n M) により活性化されるが、F L R F (四角) により同様に活性化されるわけではない。

【図 1 3】新生マウスの矢状断面における、m M r g B 1 の発現パターンを示す。染色パターンは、m M r g B 1 遺伝子が、皮膚の上皮層中、脾臓中および顎下腺中の分散細胞中で発現されることを示す。 40

【図 1 4】図 1 3 に示した脾臓および皮膚中での m M r g B 1 発現の高倍率図である。

【図 1 5】成体後根神経節中での m M r g D の発現を示す。

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> California Institute of Technology

Anderson, David J.

Dong, Xinzhong

Zylka, Mark

Simon, Melvin

Han, Sang-kyou

<120> PAIN SIGNALING MOLECULES

<130> CALTE.4C1QPC

<150> US 10/183,116

<151> 2002-06-26

<160> 109

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1

<211> 1088

<212> DNA

<213> Mus Musculus

<220>

<221> CDS

<222> (115)...(1026)

<400> 1

acagaagcca gagagctaca tccagcaaga ggaatggggg aaagcagcac ctgtgcaggg 60
 tttctagccc taaacacatc ggctctgcca acagcaccca caacaactaa tcca atg 117
 Met
 1

gac aat acc atc cct gga ggt atc aac atc acg att ctg atc cca aac 165
 Asp Asn Thr Ile Pro Gly Gly Ile Asn Ile Thr Ile Leu Ile Pro Asn
 5 10 15

ttg atg atc atc atc ttc gga ctg gtc ggg ctg aca gga aat ggc att 213
 Leu Met Ile Ile Ile Phe Gly Leu Val Gly Leu Thr Gly Asn Gly Ile
 20 25 30

gtg ttc tgg ctg ctg ggc ttc tgt ttg cac agg aac gcc ttc tca gtc 261
 Val Phe Trp Leu Leu Gly Phe Cys Leu His Arg Asn Ala Phe Ser Val
 35 40 45

tac atc cta aac tta gct cta gct gac ttc ttc ttc ctg cta ggt cac 309
 Tyr Ile Leu Asn Leu Ala Leu Ala Asp Phe Phe Phe Leu Leu Gly His
 50 55 60 65

atc ata gat tcc ata ctg ctt ctt ctg aat gtt ttc tac cca att acc 357
 Ile Ile Asp Ser Ile Leu Leu Leu Leu Asn Val Phe Tyr Pro Ile Thr
 70 75 80

ttt ctg ttg tgc ttt tac acg atc atg atg gtt ctg tat atc gca ggc 405
 Phe Leu Leu Cys Phe Tyr Thr Ile Met Met Val Leu Tyr Ile Ala Gly
 85 90 95

10

20

30

```

ctg agc atg ctc agt gcc atc agc act gag cgc tgc ctg tct gta ctg 453
Leu Ser Met Leu Ser Ala Ile Ser Thr Glu Arg Cys Leu Ser Val Leu
      100                      105                      110

tgc ccc atc tgg tat cac tgt cac cgc cca gaa cac aca tca act gtc 501
Cys Pro Ile Trp Tyr His Cys His Arg Pro Glu His Thr Ser Thr Val
      115                      120                      125

atg tgt gct gtc atc tgg gtc ctg tcc ctg ttg atc tgc att ctg aat 549
Met Cys Ala Val Ile Trp Val Leu Ser Leu Leu Ile Cys Ile Leu Asn
130                      135                      140                      145

agt tat ttc tgc ggt ttc tta aat acc caa tat aaa aat gaa aat ggg 597
Ser Tyr Phe Cys Gly Phe Leu Asn Thr Gln Tyr Lys Asn Glu Asn Gly
      150                      155                      160

tgt ctg gca ttg aac ttc ttt act gct gca tac ctg atg ttt ttg ttt 645
Cys Leu Ala Leu Asn Phe Phe Thr Ala Ala Tyr Leu Met Phe Leu Phe
      165                      170                      175

gtg gtc ctc tgt ctg tcc agc ctg gct ctg gtg gcc agg ttg ttc tgt 693
Val Val Leu Cys Leu Ser Ser Leu Ala Leu Val Ala Arg Leu Phe Cys
      180                      185                      190

ggg act ggg cag ata aag ctt acc aga ttg tat gta acc att att ctg 741
Gly Thr Gly Gln Ile Lys Leu Thr Arg Leu Tyr Val Thr Ile Ile Leu
      195                      200                      205

agc att ttg gtt ttt ctc ctt tgc gga ttg ccc ttt ggc atc cac tgg 789
Ser Ile Leu Val Phe Leu Leu Cys Gly Leu Pro Phe Gly Ile His Trp
210                      215                      220                      225

ttt ctg tta ttc aag att aag gat gat ttt cat gta ttt gat ctt gga 837
Phe Leu Leu Phe Lys Ile Lys Asp Asp Phe His Val Phe Asp Leu Gly
      230                      235                      240

ttt tat ctg gca tca gtt gtc ctg act gct att aat agc tgt gcc aac 885
Phe Tyr Leu Ala Ser Val Val Leu Thr Ala Ile Asn Ser Cys Ala Asn
      245                      250                      255

ccc atc att tac ttc ttc gtg gga tcc ttc agg cat cgg ttg aag cac 933
Pro Ile Ile Tyr Phe Phe Val Gly Ser Phe Arg His Arg Leu Lys His
      260                      265                      270

cag acc ctc aaa atg gtt ctc cag aat gca ctg caa gac act cct gag 981
Gln Thr Leu Lys Met Val Leu Gln Asn Ala Leu Gln Asp Thr Pro Glu
      275                      280                      285

aca gcc aaa atc atg gtg gag atg tca aga agc aaa tca gag cca 1026
Thr Ala Lys Ile Met Val Glu Met Ser Arg Ser Lys Ser Glu Pro
290                      295                      300

tgatgaagag cctttgcctg gcccttagaa gtggctttgg ggtgagcatt gccctgctgc 1086
ac 1088

```

<210> 2
 <211> 304
 <212> PRT
 <213> Mus Musculus

<400> 2

10

20

30

40

```

Met Asp Asn Thr Ile Pro Gly Gly Ile Asn Ile Thr Ile Leu Ile Pro
1      5      10      15
Asn Leu Met Ile Ile Ile Phe Gly Leu Val Gly Leu Thr Gly Asn Gly
20      25      30
Ile Val Phe Trp Leu Leu Gly Phe Cys Leu His Arg Asn Ala Phe Ser
35      40      45
Val Tyr Ile Leu Asn Leu Ala Leu Ala Asp Phe Phe Phe Leu Leu Gly
50      55      60
His Ile Ile Asp Ser Ile Leu Leu Leu Leu Asn Val Phe Tyr Pro Ile
65      70      75      80
Thr Phe Leu Leu Cys Phe Tyr Thr Ile Met Met Val Leu Tyr Ile Ala
85      90      95
Gly Leu Ser Met Leu Ser Ala Ile Ser Thr Glu Arg Cys Leu Ser Val
100     105     110
Leu Cys Pro Ile Trp Tyr His Cys His Arg Pro Glu His Thr Ser Thr
115     120     125
Val Met Cys Ala Val Ile Trp Val Leu Ser Leu Leu Ile Cys Ile Leu
130     135     140
Asn Ser Tyr Phe Cys Gly Phe Leu Asn Thr Gln Tyr Lys Asn Glu Asn
145     150     155     160
Gly Cys Leu Ala Leu Asn Phe Phe Thr Ala Ala Tyr Leu Met Phe Leu
165     170     175
Phe Val Val Leu Cys Leu Ser Ser Leu Ala Leu Val Ala Arg Leu Phe
180     185     190
Cys Gly Thr Gly Gln Ile Lys Leu Thr Arg Leu Tyr Val Thr Ile Ile
195     200     205
Leu Ser Ile Leu Val Phe Leu Leu Cys Gly Leu Pro Phe Gly Ile His
210     215     220
Trp Phe Leu Leu Phe Lys Ile Lys Asp Asp Phe His Val Phe Asp Leu
225     230     235     240
Gly Phe Tyr Leu Ala Ser Val Val Leu Thr Ala Ile Asn Ser Cys Ala
245     250     255
Asn Pro Ile Ile Tyr Phe Phe Val Gly Ser Phe Arg His Arg Leu Lys
260     265     270
His Gln Thr Leu Lys Met Val Leu Gln Asn Ala Leu Gln Asp Thr Pro
275     280     285
Glu Thr Ala Lys Ile Met Val Glu Met Ser Arg Ser Lys Ser Glu Pro
290     295     300

```

10

20

```

<210> 3
<211> 1234
<212> DNA
<213> Mus musculus

```

```

<220>
<221> CDS
<222> (137)...(1051)

```

30

```

<400> 3
totgtagtga ctgtatcttt cttctacac aagccagtga gctacatcca acaagaggat 60
tggggaaagc aatgggtgaag catttcttgc cttaagacc tcagcctcac caacagcacc 120
agtgacaaca aatcca atg gac gaa acc ctc cct gga agt atc aac att agg 172
          Met Asp Glu Thr Leu Pro Gly Ser Ile Asn Ile Arg
                1              5              10

att ctg atc cca aaa ttg atg atc atc atc ttc gga ctg gtc gga ctg 220
Ile Leu Ile Pro Lys Leu Met Ile Ile Ile Phe Gly Leu Val Gly Leu
      15              20              25

atg gga aac gcc att gtg ttc tgg ctc ctg ggc ttc cac ttg cgc aag 268

```

40

```

Met Gly Asn Ala Ile Val Phe Trp Leu Leu Gly Phe His Leu Arg Lys
  30          35          40

aat gac ttc tca ctc tac atc cta aac ttg gcc cgg gct gac ttc ctt 316
Asn Asp Phe Ser Leu Tyr Ile Leu Asn Leu Ala Arg Ala Asp Phe Leu
  45          50          55          60

ttc ctc ctc agt agt atc ata gct tcc acc ctg ttt ctt ctc aaa gtt 364
Phe Leu Leu Ser Ser Ile Ile Ala Ser Thr Leu Phe Leu Leu Lys Val
          65          70          75

tcc tac ctc agc atc atc ttt cac ttg tgc ttt aac acc att atg atg 412
Ser Tyr Leu Ser Ile Ile Phe His Leu Cys Phe Asn Thr Ile Met Met
          80          85          90

gtt gtc tac atc aca ggg ata agc atg ctc agt gcc atc agc act gag 460
Val Val Tyr Ile Thr Gly Ile Ser Met Leu Ser Ala Ile Ser Thr Glu
          95          100          105

tgc tgc ctg tct gtc ctg tgc ccc acc tgg tat cgc tgc cac cgt cca 508
Cys Cys Leu Ser Val Leu Cys Pro Thr Trp Tyr Arg Cys His Arg Pro
          110          115          120

gta cat aca tca act gtc atg tgt gct gtg atc tgg gtc cta tcc ctg 556
Val His Thr Ser Thr Val Met Cys Ala Val Ile Trp Val Leu Ser Leu
          125          130          135          140

ttg atc tgc att ctg aat agc tat ttc tgt gct gtc tta cat acc aga 604
Leu Ile Cys Ile Leu Asn Ser Tyr Phe Cys Ala Val Leu His Thr Arg
          145          150          155

tat gat aat gac aat gag tgt ctg gca act aac atc ttt acc gcc tgc 652
Tyr Asp Asn Asp Asn Glu Cys Leu Ala Thr Asn Ile Phe Thr Ala Ser
          160          165          170

tac atg ata ttt ttg ctt gtg gtc ctc tgt ctg tcc agc ctg gct ctg 700
Tyr Met Ile Phe Leu Leu Val Val Leu Cys Leu Ser Ser Leu Ala Leu
          175          180          185

ctg gcc agg ttg ttc tgt ggc gct ggg cag atg aag ctt acc aga ttt 748
Leu Ala Arg Leu Phe Cys Gly Ala Gly Gln Met Lys Leu Thr Arg Phe
          190          195          200

cat gtg acc atc ttg ctg acc ctt ttg gtt ttt ctc ctc tgc ggg ttg 796
His Val Thr Ile Leu Leu Thr Leu Leu Val Phe Leu Leu Cys Gly Leu
          205          210          215          220

ccc ttt gtc atc tac tgc atc ctg tta ttc aag att aag gat gat ttc 844
Pro Phe Val Ile Tyr Cys Ile Leu Leu Phe Lys Ile Lys Asp Asp Phe
          225          230          235

cat gta tta gat gtt aat ttt tat cta gca tta gaa gtc ctg act gct 892
His Val Leu Asp Val Asn Phe Tyr Leu Ala Leu Glu Val Leu Thr Ala
          240          245          250

att aac agc tgt gcc aac ccc atc atc tac ttc ttc gtg ggc tct ttc 940
Ile Asn Ser Cys Ala Asn Pro Ile Ile Tyr Phe Phe Val Gly Ser Phe
          255          260          265

aga cat cag ttg aag cac cag acc ctc aaa atg gtt ctc cag agt gca 988
Arg His Gln Leu Lys His Gln Thr Leu Lys Met Val Leu Gln Ser Ala

```

10

20

30

40

270 275 280

ctg cag gac act cct gag aca gct gaa aac atg gta gag atg tca agt 1036
 Leu Gln Asp Thr Pro Glu Thr Ala Glu Asn Met Val Glu Met Ser Ser
 285 290 295 300

aac aaa gca gag cct tgatgaagag cctctacctg gacctcagag gtggccttgg 1091
 Asn Lys Ala Glu Pro
 305

agtgagcact gccctgctgc acttgaccac tgtccactct tctctcagct tactgatttg 1151
 acatgcctca gtggccacc aacaacttca acatctctcc actaacttag ttttctacc 1211
 cctcctgaat aaaagcatta atc 1234

<210> 4
 <211> 305
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

10

<400> 4

Met Asp Glu Thr Leu Pro Gly Ser Ile Asn Ile Arg Ile Leu Ile Pro
 1 5 10 15
 Lys Leu Met Ile Ile Ile Phe Gly Leu Val Gly Leu Met Gly Asn Ala
 20 25 30
 Ile Val Phe Trp Leu Leu Gly Phe His Leu Arg Lys Asn Asp Phe Ser
 35 40 45
 Leu Tyr Ile Leu Asn Leu Ala Arg Ala Asp Phe Leu Phe Leu Leu Ser
 50 55 60
 Ser Ile Ile Ala Ser Thr Leu Phe Leu Leu Lys Val Ser Tyr Leu Ser
 65 70 75 80
 Ile Ile Phe His Leu Cys Phe Asn Thr Ile Met Met Val Val Tyr Ile
 85 90 95
 Thr Gly Ile Ser Met Leu Ser Ala Ile Ser Thr Glu Cys Cys Leu Ser
 100 105 110
 Val Leu Cys Pro Thr Trp Tyr Arg Cys His Arg Pro Val His Thr Ser
 115 120 125
 Thr Val Met Cys Ala Val Ile Trp Val Leu Ser Leu Leu Ile Cys Ile
 130 135 140
 Leu Asn Ser Tyr Phe Cys Ala Val Leu His Thr Arg Tyr Asp Asn Asp
 145 150 155 160
 Asn Glu Cys Leu Ala Thr Asn Ile Phe Thr Ala Ser Tyr Met Ile Phe
 165 170 175
 Leu Leu Val Val Leu Cys Leu Ser Ser Leu Ala Leu Leu Ala Arg Leu
 180 185 190
 Phe Cys Gly Ala Gly Gln Met Lys Leu Thr Arg Phe His Val Thr Ile
 195 200 205
 Leu Leu Thr Leu Leu Val Phe Leu Leu Cys Gly Leu Pro Phe Val Ile
 210 215 220
 Tyr Cys Ile Leu Leu Phe Lys Ile Lys Asp Asp Phe His Val Leu Asp
 225 230 235 240
 Val Asn Phe Tyr Leu Ala Leu Glu Val Leu Thr Ala Ile Asn Ser Cys
 245 250 255
 Ala Asn Pro Ile Ile Tyr Phe Phe Val Gly Ser Phe Arg His Gln Leu
 260 265 270
 Lys His Gln Thr Leu Lys Met Val Leu Gln Ser Ala Leu Gln Asp Thr
 275 280 285
 Pro Glu Thr Ala Glu Asn Met Val Glu Met Ser Ser Asn Lys Ala Glu
 290 295 300
 Pro
 305

20

30

40

<210> 5
 <211> 1312
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<220>
 <221> CDS
 <222> (165)...(1070)

<400> 5
 cgcgggcgcg tgcacaagaa atattctgta gtgactgtat ccttccttct acacaagcca 60
 gcaagctaca tccagcaaga ggaatgggag aaagcaacac cagtgcaggg ttictggccc 120
 gaaacacctc agcctcgaca atgacacca caacaacaaa ttca atg aac gaa acc 176
 Met Asn Glu Thr
 1 10

atc cct gga agt att gac atc gag acc ctg atc cca gac ttg atg atc 224
 Ile Pro Gly Ser Ile Asp Ile Glu Thr Leu Ile Pro Asp Leu Met Ile
 5 10 15 20

atc atc ttc gga ctg gtc ggg ctg aca gga aat gcg att gtg ttc tgg 272
 Ile Ile Phe Gly Leu Val Gly Leu Thr Gly Asn Ala Ile Val Phe Trp
 25 30 35

ctc ctt ggc ttc cgc atg cac agg act gcc ttc tta gtc tac atc cta 320
 Leu Leu Gly Phe Arg Met His Arg Thr Ala Phe Leu Val Tyr Ile Leu
 40 45 50

aac ttg gcc ctg gct gac ttc ctc ttc ctt ctc tgt cac atc ata aat 368
 Asn Leu Ala Leu Ala Asp Phe Leu Phe Leu Leu Cys His Ile Ile Asn
 55 60 65 20

tcc aca gtg gat ctt ctc aag ttt acc cta ccc aaa gga att ttt gcc 416
 Ser Thr Val Asp Leu Leu Lys Phe Thr Leu Pro Lys Gly Ile Phe Ala
 70 75 80

ttt tgt ttt cac act atc aaa agg gtt ctc tat atc aca ggc ctg agc 464
 Phe Cys Phe His Thr Ile Lys Arg Val Leu Tyr Ile Thr Gly Leu Ser
 85 90 95 100

atg ctc agt gcc atc agc act gag cgc tgc ctg tct gtc ctg tgc ccc 512
 Met Leu Ser Ala Ile Ser Thr Glu Arg Cys Leu Ser Val Leu Cys Pro
 105 110 115

atc tgg tat cac tgc cgc cgc cca gaa cac aca tca act gtc atg tgt 560
 Ile Trp Tyr His Cys Arg Arg Pro Glu His Thr Ser Thr Val Met Cys
 120 125 130 30

gct gtg atc tgg gtc ctg tcc ctg ttg atc tgc att ctg gat ggt tat 608
 Ala Val Ile Trp Val Leu Ser Leu Leu Ile Cys Ile Leu Asp Gly Tyr
 135 140 145

ttc tgc ggt tac tta gat aac cat tat ttc aat tac tct gtg tgt cag 656
 Phe Cys Gly Tyr Leu Asp Asn His Tyr Phe Asn Tyr Ser Val Cys Gln
 150 155 160

gca tgg gac atc ttt atc gga gca tac ctg atg ttt ttg ttt gta gtc 704
 Ala Trp Asp Ile Phe Ile Gly Ala Tyr Leu Met Phe Leu Phe Val Val
 165 170 175 180

```

ctc tgt ctg tcc acc ctg gct cta ctg gcc agg ttg ttc tgt ggt gct 752
Leu Cys Leu Ser Thr Leu Ala Leu Leu Ala Arg Leu Phe Cys Gly Ala
185 190 195

agg aat atg aaa ttt acc aga tta ttc gtg acc atc atg ctg acc gtt 800
Arg Asn Met Lys Phe Thr Arg Leu Phe Val Thr Ile Met Leu Thr Val
200 205 210

ttg gtt ttt ctt ctc tgt ggg ttg ccc tgg ggc atc acc tgg ttc ctg 848
Leu Val Phe Leu Leu Cys Gly Leu Pro Trp Gly Ile Thr Trp Phe Leu
215 220 225

tta ttc tgg att gca cct ggt gtg ttt gta cta gat tat agc cct ctt 896
Leu Phe Trp Ile Ala Pro Gly Val Phe Val Leu Asp Tyr Ser Pro Leu
230 235 240

ctg gtc cta act gct att aac agc tgt gcc aac ccc att att tac ttc 944
Leu Val Leu Thr Ala Ile Asn Ser Cys Ala Asn Pro Ile Ile Tyr Phe
245 250 255 260

ttc gtg ggc tcc ttc agg caa cgg ttg aat aaa cag acc ctc aaa atg 992
Phe Val Gly Ser Phe Arg Gln Arg Leu Asn Lys Gln Thr Leu Lys Met
265 270 275

gtt ctc cag aaa gcc ctg cag gac act cct gag aca cct gaa aac atg 1040
Val Leu Gln Lys Ala Leu Gln Asp Thr Pro Glu Thr Pro Glu Asn Met
280 285 290

gtg gag atg tca aga aac aaa gca gag cgg tgatgaagag cctctgccta 1090
Val Glu Met Ser Arg Asn Lys Ala Glu Pro
295 300

gaattcagag gtggatttgg agtgagcact gccctgctgc acttgaccac tgtccactct 1150
cctctcagct tactgacttg acatgcctca ctgggtccacc aacaccttcc aaagctctcc 1210
actgacttag tatttatacc tctcccaaac aatagcatta ttcaaaaaact ataatttctg 1270
catccttctt tacattaata aaattcccat actaagttca aa 1312

```

<210> 6
 <211> 302
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

```

<400> 6
Met Asn Glu Thr Ile Pro Gly Ser Ile Asp Ile Glu Thr Leu Ile Pro
1 5 10 15
Asp Leu Met Ile Ile Ile Phe Gly Leu Val Gly Leu Thr Gly Asn Ala
20 25 30
Ile Val Phe Trp Leu Leu Gly Phe Arg Met His Arg Thr Ala Phe Leu
35 40 45
Val Tyr Ile Leu Asn Leu Ala Leu Ala Asp Phe Leu Phe Leu Leu Cys
50 55 60
His Ile Ile Asn Ser Thr Val Asp Leu Leu Lys Phe Thr Leu Pro Lys
65 70 75 80
Gly Ile Phe Ala Phe Cys Phe His Thr Ile Lys Arg Val Leu Tyr Ile
85 90 95
Thr Gly Leu Ser Met Leu Ser Ala Ile Ser Thr Glu Arg Cys Leu Ser
100 105 110
Val Leu Cys Pro Ile Trp Tyr His Cys Arg Arg Pro Glu His Thr Ser
115 120 125
Thr Val Met Cys Ala Val Ile Trp Val Leu Ser Leu Leu Ile Cys Ile
130 135 140

```

10

20

30

40

eu Asp Gly Tyr Phe Cys Gly Tyr Leu Asp Asn His Tyr Phe Asn Tyr
 45 150 155 160
 er Val Cys Gln Ala Trp Asp Ile Phe Ile Gly Ala Tyr Leu Met Phe
 165 170 175
 eu Phe Val Val Leu Cys Leu Ser Thr Leu Ala Leu Leu Ala Arg Leu
 180 185 190
 he Cys Gly Ala Arg Asn Met Lys Phe Thr Arg Leu Phe Val Thr Ile
 195 200 205
 fet Leu Thr Val Leu Val Phe Leu Leu Cys Gly Leu Pro Trp Gly Ile
 210 215 220
 thr Trp Phe Leu Leu Phe Trp Ile Ala Pro Gly Val Phe Val Leu Asp
 225 230 235 240
 Tyr Ser Pro Leu Leu Val Leu Thr Ala Ile Asn Ser Cys Ala Asn Pro
 245 250 255
 Ile Ile Tyr Phe Phe Val Gly Ser Phe Arg Gln Arg Leu Asn Lys Gln
 260 265 270
 Thr Leu Lys Met Val Leu Gln Lys Ala Leu Gln Asp Thr Pro Glu Thr
 275 280 285
 Pro Glu Asn Met Val Glu Met Ser Arg Asn Lys Ala Glu Pro
 290 295 300

10

<210> 7
 <211> 450
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)...(450)

20

<400> 7
 ctg tgc cgg atc tgg tat cac tgc cgc cgc cca gaa cac aca tca act 48
 Leu Cys Arg Ile Trp Tyr His Cys Arg Arg Pro Glu His Thr Ser Thr
 1 5 10 15

gtc atg tgt gct gtc atc tgg gtc ctg tcc ctg ttg atc tgc att ctg 96
 Val Met Cys Ala Val Ile Trp Val Leu Ser Leu Leu Ile Cys Ile Leu
 20 25 30

aat agt tat ttc tgc ggt ttc tta aat acc caa tat aaa aat gaa aat 144
 Asn Ser Tyr Phe Cys Gly Phe Leu Asn Thr Gln Tyr Lys Asn Glu Asn
 35 40 45

ggg tgt ctg gca ttg agc ttc ttt act gct gca tac ctg atg ttt ttg 192
 Gly Cys Leu Ala Leu Ser Phe Phe Thr Ala Ala Tyr Leu Met Phe Leu
 50 55 60

30

ttt gtg gtc ctc tgt ctg tcc agc ctg gct ctg gtg gcc agg ttg ttc 240
 Phe Val Val Leu Cys Leu Ser Ser Leu Ala Leu Val Ala Arg Leu Phe
 65 70 75 80

tgt ggt gct agg aat atg aaa ttt acc aga tta ttc gtg acc atc atg 288
 Cys Gly Ala Arg Asn Met Lys Phe Thr Arg Leu Phe Val Thr Ile Met
 85 90 95

ctg acc gtt ttg gtt ttt ctt ctc tgt ggg ttg ccc tgg ggc atc acc 336
 Leu Thr Val Leu Val Phe Leu Leu Cys Gly Leu Pro Trp Gly Ile Thr
 100 105 110

tgg ttc ctg tta ttc tgg att gca cct ggt gtg ttt gta cta gat tat 384

40

Trp Phe Leu Leu Phe Trp Ile Ala Pro Gly Val Phe Val Leu Asp Tyr
 115 120 125
 agc cct ctt ctg gtc cta act gct att aac agc tgt gcc aac ccc att 432
 Ser Pro Leu Leu Val Leu Thr Ala Ile Asn Ser Cys Ala Asn Pro Ile
 130 135 140
 att tac ttc ttc gtc ggc 450
 Ile Tyr Phe Phe Val Gly
 145 150

<210> 8
 <211> 150
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

10

<400> 8
 Leu Cys Arg Ile Trp Tyr His Cys Arg Arg Pro Glu His Thr Ser Thr
 1 5 10 15
 Val Met Cys Ala Val Ile Trp Val Leu Ser Leu Leu Ile Cys Ile Leu
 20 25 30
 Asn Ser Tyr Phe Cys Gly Phe Leu Asn Thr Gln Tyr Lys Asn Glu Asn
 35 40 45
 Gly Cys Leu Ala Leu Ser Phe Phe Thr Ala Ala Tyr Leu Met Phe Leu
 50 55 60
 Phe Val Val Leu Cys Leu Ser Ser Leu Ala Leu Val Ala Arg Leu Phe
 65 70 75 80
 Cys Gly Ala Arg Asn Met Lys Phe Thr Arg Leu Phe Val Thr Ile Met
 85 90 95
 Leu Thr Val Leu Val Phe Leu Leu Cys Gly Leu Pro Trp Gly Ile Thr
 100 105 110
 Trp Phe Leu Leu Phe Trp Ile Ala Pro Gly Val Phe Val Leu Asp Tyr
 115 120 125
 Ser Pro Leu Leu Val Leu Thr Ala Ile Asn Ser Cys Ala Asn Pro Ile
 130 135 140
 Ile Tyr Phe Phe Val Gly
 145 150

20

<210> 9
 <211> 459
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)...(459)

30

<400> 9
 ctg tgc cgg acg tgg tat cgc tgc cac cgt cca gta cat aca tca act 48
 Leu Cys Pro Thr Trp Tyr Arg Cys His Arg Pro Val His Thr Ser Thr
 1 5 10 15
 gtc atg tgt gct gtg atc tgg gtc cta tcc ctg ttg atc tgc att ctg 96
 Val Met Cys Ala Val Ile Trp Val Leu Ser Leu Leu Ile Cys Ile Leu
 20 25 30
 aat agc tat ttc tgt gct gtc tta cat acc aga tat gat aat gac aat 144
 Asn Ser Tyr Phe Cys Ala Val Leu His Thr Arg Tyr Asp Asn Asp Asn
 35 40 45

gag tgt ctg gca act aac atc ttt acc gcc tcg tac atg ata ttt ttg 192
 Glu Cys Leu Ala Thr Asn Ile Phe Thr Ala Ser Tyr Met Ile Phe Leu
 50 55 60
 ctt gtg gtc ctc tgt ctg tcc agc ctg gct ctg ctg gcc agg ttg ttc 240
 Leu Val Val Leu Cys Leu Ser Ser Leu Ala Leu Leu Ala Arg Leu Phe
 65 70 75 80
 tgt ggc gct ggg cag atg aag ctt acc aga ttt cat gtg acc atc ttg 288
 Cys Gly Ala Gly Gln Met Lys Leu Thr Arg Phe His Val Thr Ile Leu
 85 90 95
 ctg acc ctt ttg gtt ttt ctc ctc tgc ggg ttg ccc ttt gtc atc tac 336
 Leu Thr Leu Leu Val Phe Leu Leu Cys Gly Leu Pro Phe Val Ile Tyr
 100 105 110
 tgc atc ctg tta ttc aag att aag gat gat ttc cat gta tta gat gtt 384
 Cys Ile Leu Leu Phe Lys Ile Lys Asp Asp Phe His Val Leu Asp Val
 115 120 125
 aat ctt tat cta gca tta gaa gtc ctg act gct att aac agc tgt gcc 432
 Asn Leu Tyr Leu Ala Leu Glu Val Leu Thr Ala Ile Asn Ser Cys Ala
 130 135 140
 aac ccc atc atc tac ttc ttc gtc gga 459
 Asn Pro Ile Ile Tyr Phe Phe Val Gly
 145 150

10

<210> 10
 <211> 153
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

20

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

30

<210> 11
 <211> 2853
 <212> DNA

40

<213> Mus musculus

<220>

<221> CDS

<222> (1820)...(2734)

<400> 11

```

caaggattct acaaacccaa gtatgcaagt caacaatcta aatataattt gttccttttg 60
aagtttagtgg ttcaatataa cagacaaata catcatgccc tgaasttagc tttgaacaat 120
gctaagccca taatgggaag taaaagattt gcttggttcc cactttcttc cttttctatt 180
ccgtttggac catagtggct agtgtctctt acaagatcac aagaaggagg ctctgcattt 240
atttctgagt gcctgtctgc atcctccttt ggcttgaggg tctctatga aatcctgaag 300
taagaaagaa atgttccaga ctctgatttt tcttctaga ccaatgctat tcccttccat 360
gttgccaaca acttctcctc actctttctg tactttcttt tagctgggtg gtttcttaat 420
ctacagtatt gactgtcatg tcaaagttgg gtattttttg gcttttagata tttcttctct 480
ggcttttctc ccatccacac ataatacaaaa cactgaggtg atgacactaa gggactgctc 540
aaaggaaaag ggtgggttcc tgggcttttg ggttattaat aatttgcctg tcccttgcca 600
gcctctatca acttctcctc aacacaaaaa taattgttcc tagcaggcaa gcacgacctg 660
acaattaatt aatgatcata aaaagtgcac tataaacatc tgaaacctc ataataaac 720
tcaacacctt atacagttag tatgttggg ggtctgcata aatccaacaa aactccaatg 780
gagtggtagt cagctattaa aatgaggaa ttcacgaaat tcttagccaa atgattagaa 840
gtagaaaata gcttctctag tgagaaaaga acagggttgg tatgtactca ctgataagtg 900
gatactagcc caaaagctgc aaataatcag gataaaattc acagaccaca tgaacctcaa 960
taagaaggaa gaccaaagta tgggcgtttc ggtccttctt agaaggagaa caaaatactc 1020
ccaagagcaa atatggagat aaagtgtaga acaggcacta aaggaaaagt caccagaga 1080
atgttccacc tggggattca tcccatata agttaccaaa cccagacact cttatggatg 1140
ccaaggagtg aatgctgaca tagctgtttc ctaaggaggc atgccagaca cttacaata 1200
cagaggccca agttagcaac caaccattag actgagcaca gggttcctaa tagaggagtc 1260
agagaaagga ctgagggagt tgaagggtt tgcattccca taagaaaaac aacaacatga 1320
accaacaaga cactctcccc accaaccccc tgaactccta gggactaagc catcaacaaa 1380
agagtacaca tggctccaga tgcataatgt gcagaggatg gccatatcat gcattgatgg 1440
aagaggtcct tgaacctatg aaggttctat tgatgcccc gtgtaaggga atcgagggca 1500
gagaggtgga agtgggtgtg tgggttgagc aacacctca cagaagcagg gggaggagg 1560
atgagatggg ggtttccagg aaggggggaa gcaggaagg ggataacatt ttaattttaa 1620
atatagaaaa tatccaatac aaaaattttt gaacaaacaa caaaaaactc aaaaaacaa 1680
caacaacaaa aaaaagaaat taaaagtgtt gttcatagtg aaggcctcat ttcttctttg 1740
tgttcccagc aacaccagtg cagggtttct ggcctaaac acctcagcct cggcaatggc 1800
accacaaca acaaatcca atg aac gaa acc atc cct gga agt att gac atc 1852
Met Asn Glu Thr Ile Pro Gly Ser Ile Asp Ile
1 5 10

gag acc ctg atc cca aac ttg atg atc atc atc ttc gga ctg gtc ggg 1900
Glu Thr Leu Ile Pro Asn Leu Met Ile Ile Ile Phe Gly Leu Val Gly
15 20 25

ctg aca gga aat gtc att ttg ttt tgg ctc ctg ggc ttc cac ttg cac 1948
Leu Thr Gly Asn Val Ile Leu Phe Trp Leu Leu Gly Phe His Leu His
30 35 40

agg aat gcc ttc tta gtc tac atc cta aac ttg gcc ctg gct gac ttc 1996
Arg Asn Ala Phe Leu Val Tyr Ile Leu Asn Leu Ala Leu Ala Asp Phe
45 50 55

ctc ttc ctt ctc tgt cac atc ata aat tcc aca atg ctt ctt ctc aag 2044
Leu Phe Leu Leu Cys His Ile Ile Asn Ser Thr Met Leu Leu Leu Lys
60 65 70 75

gtt cac cta ccc aac aat att ttg aac cat tgc tit gac atc atc atg 2092
Val His Leu Pro Asn Ile Leu Asn His Cys Phe Asp Ile Ile Met
80 85 90

```

10

20

30

40

```

aca gtt ctc tac atc aca ggc ctg agc atg ctc agt gcc atc agc act 2140
Thr Val Leu Tyr Ile Thr Gly Leu Ser Met Leu Ser Ala Ile Ser Thr
          95                100                105

gag cgc tgc ctg tct gtc ctg tgc ccc atc tgg tat cgg tgc cgc cgc 2188
Glu Arg Cys Leu Ser Val Leu Cys Pro Ile Trp Tyr Arg Cys Arg Arg
          110                115                120

cca gaa cac aca tca act gtc ctg tgt gct gtg atc tgg ttc ctg ccc 2236
Pro Glu His Thr Ser Thr Val Leu Cys Ala Val Ile Trp Phe Leu Pro
          125                130                135

ctg ttg atc tgc att ctg aat gga tat ttc tgt cat ttc ttt ggt ccc 2284
Leu Leu Ile Cys Ile Leu Asn Gly Tyr Phe Cys His Phe Phe Gly Pro
140                145                150                155

aaa tat gta att gac tct gtg tgt ctg gca acg aac ttc ttt atc aga 2332
Lys Tyr Val Ile Asp Ser Val Cys Leu Ala Thr Asn Phe Phe Ile Arg
          160                165                170

aca tac ccg atg ttt ttg ttt ata gtc ctc tgt ctg tcc acc ctg gct 2380
Thr Tyr Pro Met Phe Leu Phe Ile Val Leu Cys Leu Ser Thr Leu Ala
          175                180                185

ctg ctg gcc agg ttg ttc tgt ggt ggt ggg aag acg aaa ttt acc aga 2428
Leu Leu Ala Arg Leu Phe Cys Gly Gly Gly Lys Thr Lys Phe Thr Arg
          190                195                200

tta ttc gtg acc atc atg ctg acc gtt ttg gtt ttt ctt ctc tgt ggg 2476
Leu Phe Val Thr Ile Met Leu Thr Val Leu Val Phe Leu Leu Cys Gly
205                210                215

ttg ccc ctg ggc ttc ttc tgg ttt ctg gtg ccg tgg att aac cgt gat 2524
Leu Pro Leu Gly Phe Phe Trp Phe Leu Val Pro Trp Ile Asn Arg Asp
220                225                230                235

ttc agt gta cta gat tat ata ctt ttt cag aca tca ctt gtc cta act 2572
Phe Ser Val Leu Asp Tyr Ile Leu Phe Gln Thr Ser Leu Val Leu Thr
          240                245                250

tct gtt aac agc tgt gcc aac ccc atc att tac ttc ttt gtg ggc tcc 2620
Ser Val Asn Ser Cys Ala Asn Pro Ile Ile Tyr Phe Phe Val Gly Ser
          255                260                265

ttc agg cat cgg ttg aag cac aag acc ctc aaa atg gtt ctc cag agt 2668
Phe Arg His Arg Leu Lys His Lys Thr Leu Lys Met Val Leu Gln Ser
          270                275                280

gca ttg cag gac act cct gag aca cct gaa aac atg gtg gag atg tca 2716
Ala Leu Gln Asp Thr Pro Glu Thr Pro Glu Asn Met Val Glu Met Ser
          285                290                295

aga agc aaa gca gag ccg tgatgaagag cctctacctg gacctcagag 2764
Arg Ser Lys Ala Glu Pro
300                305

gtggctttgg attgagcaact gccctgctgc acttgaccac tgtccactct cctctcagct 2824
tactgacttt ggatgcctca gtggtccaa 2853

```

<210> 12

<211> 305

10

20

30

40

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 12

Met Asn Glu Thr Ile Pro Gly Ser Ile Asp Ile Glu Thr Leu Ile Pro
 1 5 10 15
 Asn Leu Met Ile Ile Ile Phe Gly Leu Val Gly Leu Thr Gly Asn Val
 20 25 30
 Ile Leu Phe Trp Leu Leu Gly Phe His Leu His Arg Asn Ala Phe Leu
 35 40 45
 Val Tyr Ile Leu Asn Leu Ala Leu Ala Asp Phe Leu Phe Leu Leu Cys
 50 55 60
 His Ile Ile Asn Ser Thr Met Leu Leu Leu Lys Val His Leu Pro Asn
 65 70 75 80
 Asn Ile Leu Asn His Cys Phe Asp Ile Ile Met Thr Val Leu Tyr Ile
 85 90 95
 Thr Gly Leu Ser Met Leu Ser Ala Ile Ser Thr Glu Arg Cys Leu Ser
 100 105 110
 Val Leu Cys Pro Ile Trp Tyr Arg Cys Arg Arg Pro Glu His Thr Ser
 115 120 125
 Thr Val Leu Cys Ala Val Ile Trp Phe Leu Pro Leu Leu Ile Cys Ile
 130 135 140
 Leu Asn Gly Tyr Phe Cys His Phe Phe Gly Pro Lys Tyr Val Ile Asp
 145 150 155 160
 Ser Val Cys Leu Ala Thr Asn Phe Phe Ile Arg Thr Tyr Pro Met Phe
 165 170 175
 Leu Phe Ile Val Leu Cys Leu Ser Thr Leu Ala Leu Leu Ala Arg Leu
 180 185 190
 Phe Cys Gly Gly Gly Lys Thr Lys Phe Thr Arg Leu Phe Val Thr Ile
 195 200 205
 Met Leu Thr Val Leu Val Phe Leu Leu Cys Gly Leu Pro Leu Gly Phe
 210 215 220
 Phe Trp Phe Leu Val Pro Trp Ile Asn Arg Asp Phe Ser Val Leu Asp
 225 230 235 240
 Tyr Ile Leu Phe Gln Thr Ser Leu Val Leu Thr Ser Val Asn Ser Cys
 245 250 255
 Ala Asn Pro Ile Ile Tyr Phe Phe Val Gly Ser Phe Arg His Arg Leu
 260 265 270
 Lys His Lys Thr Leu Lys Met Val Leu Gln Ser Ala Leu Gln Asp Thr
 275 280 285
 Pro Glu Thr Pro Glu Asn Met Val Glu Met Ser Arg Ser Lys Ala Glu
 290 295 300
 Pro
 305

10

20

<210> 13

<211> 3391

<212> DNA

<213> Mus musculus

<220>

<221> CDS

<222> (170)...(574)

<400> 13

cgaacaaacca acaaaataga acgcggggtg cctttctcca gctgggatga aggacttgag 60
 cagaaactca ttgccagctt cctccctacg cgagagccga ctgagtcoca ggtccccagt 120
 cttccccggg gacgttgtgc acggtgccca ttcttgagca gccacaaca atg gag gtg 178
 Met Glu Val
 1

30

40

ctc ccc aag gcc ctg gag gta gac gag agg tct cca gag tcc aag gac 226
 Leu Pro Lys Ala Leu Glu Val Asp Glu Arg Ser Pro Glu Ser Lys Asp
 5 10 15

ctg ctg ccc agc cag aca gcc agc tcc ctg tgc atc agt tcc aga agt 274
 Leu Leu Pro Ser Gln Thr Ala Ser Ser Leu Cys Ile Ser Ser Arg Ser
 20 25 30 35

gag tct gtc tgg acc acc aca ccc aaa agc aac tgg gaa atc tac cac 322
 Glu Ser Val Trp Thr Thr Thr Pro Lys Ser Asn Trp Glu Ile Tyr His
 40 45 50

aag ccc atc atc atc atg tca gtg gga gct gcc att ctg ctc ttt ggc 370
 Lys Pro Ile Ile Ile Met Ser Val Gly Ala Ala Ile Leu Leu Phe Gly
 55 60 65

gtg gcc atc acc tgt gtg gcc tac atc ttg gaa gag aag cat aaa gtt 418
 Val Ala Ile Thr Cys Val Ala Tyr Ile Leu Glu Glu Lys His Lys Val
 70 75 80

gtg caa gtg ctc agg atg ata ggg cct gcc ttc ctg tcc ctg gga ctc 466
 Val Gln Val Leu Arg Met Ile Gly Pro Ala Phe Leu Ser Leu Gly Leu
 85 90 95

atg atg ctg gtg tgt ggg ctg gtg tgg gtc ccc ata atc aaa aag aag 514
 Met Met Leu Val Cys Gly Leu Val Trp Val Pro Ile Ile Lys Lys Lys
 100 105 110 115

cag aag caa agg cag aag tcc aac ttc ttc caa agc ctc aag ttc ttc 562
 Gln Lys Gln Arg Gln Lys Ser Asn Phe Phe Gln Ser Leu Lys Phe Phe
 120 125 130

ctc ctg aac cgc tgatgactgg ttgtccagaa gatctgctaa ccaataagca 614
 Leu Leu Asn Arg
 135

gcctcctacc ttctcttcgg gtaccacaaa gttgatccag gcaaacccctc ctcttgcccc 674
 tgtggacagg atagagctca gggcttcacc ctcatacaac ctagcagcat tctgactga 734
 gtctcacctg gtttccatag ctgtggatgc tgtgcccctg gatactttca ttaccctcat 794
 ccctggcacc tgcattcagc catcagccat cccattctct ctgccaaggg caatgtgtgc 854
 atgctaggaa attctttggg ggttgactac attcccaagg agaacttgta tgttacgggt 914
 gtgtgcctga tcttagattc ccatctacat ccttctggaa ccaaaagtga ccaagcagat 974
 aaggctgact tcagtcccat tgggtttgac agccttggtt ccctccttgg atgggacatt 1034
 gactaacatt acaagagaaa ggatattgtct catgtatcac acattccaaa atctggacag 1094
 tgatggggct ggggttgagg gaaacactgt cttagagtaaa ccattcctct gggagtaatc 1154
 tggaaacttat acagtgaagg aagtttagct ctaaataatat gatattggca caagaggcaa 1214
 tatgcaggct aagaggatc aacacttccc cttgatccct caatgcgctt cttgcagaat 1274
 gcctttatat tagcaattag ccaagaacaa atgctctttg ttctaaactt cttccccacc 1334
 acatctctgc gtctacacag ctccagaaca gaaggacggg agggcacaga tgtgacctgt 1394
 aagatcatct ccttctcctg tcaatcaaga cctaacctga aattgaatgc catgtccgac 1454
 tcacgtctga tggggtttta gagatagggt caactggaaaa aaggaaatct cagcctocct 1514
 cctccctgtt cctccctacc aaacaagcaa gtattttatt agtttccctt tctaggccta 1574
 cgttgggaac agccagaccc agtctctgat gtcattttat ttccaaaagt gaaagaggga 1634
 aaaaatggc caagccaact ggcaatactc catactgagt tcttaggggt gccatgggaa 1694
 cacatggatc taacaaatgt acaggaagat agatttctgg agaccatgtt cacccttct 1754
 gaatatgaag ggggaaggag tgtttggaat gagcaagatg tgcaaggtag tcagcaactg 1814
 ccttgcattg ggagaagcta aggggaaaga gacaggggtg ggttaggatt ccgcatagct 1874
 cccggatgct attccatcct ctcttgccca cttccccctt gcttcccag gtaccttaca 1934
 tccagctact ccttgggtaca ctgcaggctt ctggggtcaa tagggactgg gaggggcac 1994
 tccagagggc ctaacaagta gatataacco aagaggtaag taccctcaaa acttcattat 2054

10

20

30

40

```

agtcaccaag acaccttttag gcaaaagacc gggcacctat aagaaatttc caaagctggt 2114
ccaggcaagg ccaggccaga gagcagagga aggtacotag tagcaaaagt aatgacaaga 2174
gctgcatttg ttacgggttg ctcttcatcc ttaacctttg ggcattttgg aacactatgg 2234
caacaacact ccaacaggtc tccagatata tcaaccattc acagtacttc tataggcagt 2294
tagaatccac cacccttggc cctgttgcat tgtgggacat tccctggagg aagtatttgt 2354
tttctggaat caacacacac acacacacgc acagagagag agagagagag agagagagag 2414
agagagagag agagagagag agagaaagaa agagaaagaa agaaagaaag agaaagagac 2474
tgactcccta actaaaaagt cagagtttgg gaagcctgtg gcctttcaaa gctcacttaa 2534
gaatatcatg ttccctcatta agactcacat catcgagccc aggccttgca gtccacccat 2594
tccctgaata caggcagctc aggaccaacc ctgggggtgt tgaaatactg cctagtgtct 2654
ccacgaatgt ctaatgcctc catgacaggg ctttcagacc actcctttct cctgacatgg 2714
aaggacagcc ctgggggtga gcctctcaat cttctgtgcc ttcataagaa ggaacacaca 2774
gatgagctca cagccagctc acttgggaatc cgcaccccat gcacctcatt gtcctgagag 2834
ctcattgtct gggcacagct gtgggaagac ctttgcagat ctcaacttca agtatgtctc 2894
aacagaaggg agtttgggga taatcacgat gccaggaaat cttcaagttc tagacatctt 2954
tcatagccac atcagtacct gttccccaac ccctgcccct caaggtaagt acttagcaaa 3014
caaaatcaaa gagcctttga gaaaatatcc caaatactgg ttaactcccc cggccttgca 3074
ccaaactccc caaaaaagtg atagtcagga agtgagcaga gtcacacca acatcttgga 3134
aaattttgcc aaagaccatt gcctcatgaa aactgggggtg gggataacct gtgagtgcag 3194
ccgggttgga tgccgtgtct ctgcaacaaa gcattctggg tagtgatttc agtcatctca 3254
gaagacaaga gcaacatcca cagcacatc ccacgggact gtattacggg cttctgtcgc 3314
tcttctgttt tggagaattt aatctaacc c aacgccta at ggaatcaatg tcgtattgaa 3374
ctgtattctg tttaaaa 3391

```

<210> 14
 <211> 135
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

10

```

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

```

20

30

<210> 15
 <211> 2040
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> CDS
 <222> (328)...(1293)

```

<400> 15
gcccaggata gagtaatcat cgggtccaca gccctggcta gatgagtggg ggtgttttga 60

```

40

tccataatggtt attcccatgt tagcacagaa cttgtgtggc agtagagaga ggtagggtt 120
 cagagtcagc aagaactgga tticaaactg gatttgagga ccccccactt ttgatagggtg 180
 acttattctc tgtgagtctc tgatctgccc tctttaaatg aggaagttaa tcccacatgg 240
 cagggtgggtg gggagaatca gagatcatat agctggtgat cacaactggg ttctgtttcc 300
 agggtcacca gactagggtt totgagc atg gat cca acc atc tca acc ttg gac 354
 Met Asp Pro Thr Ile Ser Thr Leu Asp

1

5

aca gaa ctg aca cca atc aac gga act gag gag act ctt tgc tac aag 402
 Thr Glu Leu Thr Pro Ile Asn Gly Thr Glu Glu Thr Leu Cys Tyr Lys
 10 15 20 25

cag acc ttg agc ctc acg gtg ctg acg tgc atc gtt tcc ctt gtc ggg 450
 Gln Thr Leu Ser Leu Thr Val Leu Thr Cys Ile Val Ser Leu Val Gly
 30 35 40

10

ctg aca gga aac gca gtt gtg ctc tgg ctc ctg ggc tgc cgc atg cgc 498
 Leu Thr Gly Asn Ala Val Val Leu Trp Leu Leu Gly Cys Arg Met Arg
 45 50 55

agg aac gcc ttc tcc atc tac atc ctc aac ttg gcc gca gca gac ttc 546
 Arg Asn Ala Phe Ser Ile Tyr Ile Leu Asn Leu Ala Ala Ala Asp Phe
 60 65 70

ctc ttc ctc agc ggc cgc ctt ata tat tcc ctg tta agc ttc atc agt 594
 Leu Phe Leu Ser Gly Arg Leu Ile Tyr Ser Leu Leu Ser Phe Ile Ser
 75 80 85

atc ccc cat acc atc tct aaa atc ctc tat cct gtg atg atg ttt tcc 642
 Ile Pro His Thr Ile Ser Lys Ile Leu Tyr Pro Val Met Met Phe Ser
 90 95 100 105

20

tac ttt gca ggc ctg agc ttt ctg agt gcc gtg agc acc gag cgc tgc 690
 Tyr Phe Ala Gly Leu Ser Phe Leu Ser Ala Val Ser Thr Glu Arg Cys
 110 115 120

ctg tcc gtc ctg tgg ccc atc tgg tac cgc tgc cac cgc ccc aca cac 738
 Leu Ser Val Leu Trp Pro Ile Trp Tyr Arg Cys His Arg Pro Thr His
 125 130 135

ctg tca gcg gtg gtg tgt gtc ctg ctc tgg gcc ctg tcc ctg ctg cgg 786
 Leu Ser Ala Val Val Cys Val Leu Leu Trp Ala Leu Ser Leu Leu Arg
 140 145 150

agc atc ctg gag tgg atg tta tgt ggc ttc ctg ttc agt ggt gct gat 834
 Ser Ile Leu Glu Trp Met Leu Cys Gly Phe Leu Phe Ser Gly Ala Asp
 155 160 165

30

tct gct tgg tgt caa aca tca gat ttc atc aca gtc gcg tgg ctg att 882
 Ser Ala Trp Cys Gln Thr Ser Asp Phe Ile Thr Val Ala Trp Leu Ile
 170 175 180 185

ttt tta tgt gtg gtt ctc tgt ggg tcc agc ctg gtc ctg ctg atc agg 930
 Phe Leu Cys Val Val Leu Cys Gly Ser Ser Leu Val Leu Leu Ile Arg
 190 195 200

att ctc tgt gga tcc cgg aag ata ccg ctg acc agg ctg tac gtg acc 978
 Ile Leu Cys Gly Ser Arg Lys Ile Pro Leu Thr Arg Leu Tyr Val Thr
 205 210 215

atc ctg ctc aca gta ctg gtc ttc ctc ctc tgt ggc ctg ccc ttt ggc 1026

40

```

Ile Leu Leu Thr Val Leu Val Phe Leu Leu Cys Gly Leu Pro Phe Gly
  220                      225                      230

att cag ttt ttc cta ttt tta tgg atc cac gtg gac agg gaa gtc tta 1074
Ile Gln Phe Phe Leu Phe Leu Trp Ile His Val Asp Arg Glu Val Leu
  235                      240                      245

ttt tgt cat gtt cat cta gtt tct att ttc ctg tcc gct ctt aac agc 1122
Phe Cys His Val His Leu Val Ser Ile Phe Leu Ser Ala Leu Asn Ser
  250                      255                      260                      265

agt gcc aac ccc atc att tac ttc ttc gtg ggc tcc ttt agg cag cgt 1170
Ser Ala Asn Pro Ile Ile Tyr Phe Phe Val Gly Ser Phe Arg Gln Arg
  270                      275                      280

caa aat agg cag aac ctg aag ctg gtt ctc cag agg gct ctg cag gac 1218
Gln Asn Arg Gln Asn Leu Lys Leu Val Leu Gln Arg Ala Leu Gln Asp
  285                      290                      295

gcg tct gag gtg gat gaa ggt gga ggg cag ctt cct gag gaa atc ctg 1266
Ala Ser Glu Val Asp Glu Gly Gly Gly Gln Leu Pro Glu Glu Ile Leu
  300                      305                      310

gag ctg tcg gga agc aga ttg gag cag tgaggaagag cctctgccct 1313
Glu Leu Ser Gly Ser Arg Leu Glu Gln
  315                      320

gtcagacagg accttgagag caacactgcc ctgccaccct tgacaattat atgogttttt 1373
cttagccttc tgcctcagaa atgtctcagt ggttcctcaa ggtcttcaaa tagatgttta 1433
tctaacctga cagttgcggt ttccacccat ggaaagcatt agtctgacag tacaatgttt 1493
agattctcct tgatattaac aacacatttt ccctgttctc tcacactgaa tctttcctac 1553
agaacacttt ttctgcaatt ttctttgtaa taaaaggagt tctgtacaa aacctaaaa 1613
cactctttat acttctttcc tacctgatag catcaaaaag gaagattcct tattaatctc 1673
tcagactatg ttcccttgaa aatcatgttc ccttctatga ctggaggcat taetgcagtt 1733
agaagctcga ttcttaataa gtgagttctg ctatctctac attccattga attctcagat 1793
acagagcaaa ataatgtcct tagagacaga ctctctcttc ataaaaacac tctcacctat 1853
tggttttata aaaagtcttc ccctgtcatt tgttcacagc atgggtgatat gttggccttg 1913
gtttctagta aagacaactg tggccccttc cccttgagaa cttttaagtg cttatttagc 1973
tcttcctgga ctaatggacc agtgaggagc ccataaatgt gccccagttc tattttggcc 2033
attggaa 2040

```

<210> 16
 <211> 322
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

```

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

```

10

20

30

40

Leu Ser Ala Val Ser Thr Glu Arg Cys Leu Ser Val Leu Trp Pro Ile
 115 120 125
 Trp Tyr Arg Cys His Arg Pro Thr His Leu Ser Ala Val Val Cys Val
 130 135 140
 Leu Leu Trp Ala Leu Ser Leu Leu Arg Ser Ile Leu Glu Trp Met Leu
 145 150 155 160
 Cys Gly Phe Leu Phe Ser Gly Ala Asp Ser Ala Trp Cys Gln Thr Ser
 165 170 175
 Asp Phe Ile Thr Val Ala Trp Leu Ile Phe Leu Cys Val Val Leu Cys
 180 185 190
 Gly Ser Ser Leu Val Leu Leu Ile Arg Ile Leu Cys Gly Ser Arg Lys
 195 200 205
 Ile Pro Leu Thr Arg Leu Tyr Val Thr Ile Leu Leu Thr Val Leu Val
 210 215 220
 Phe Leu Leu Cys Gly Leu Pro Phe Gly Ile Gln Phe Phe Leu Phe Leu
 225 230 235 240
 Trp Ile His Val Asp Arg Glu Val Leu Phe Cys His Val His Leu Val
 245 250 255
 Ser Ile Phe Leu Ser Ala Leu Asn Ser Ser Ala Asn Pro Ile Ile Tyr
 260 265 270
 Phe Phe Val Gly Ser Phe Arg Gln Arg Gln Asn Arg Gln Asn Leu Lys
 275 280 285
 Leu Val Leu Gln Arg Ala Leu Gln Asp Ala Ser Glu Val Asp Glu Gly
 290 295 300
 Gly Gly Gln Leu Pro Glu Glu Ile Leu Glu Leu Ser Gly Ser Arg Leu
 305 310 315 320
 Glu Gln

10

<210> 17
 <211> 1300
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

20

<220>
 <221> CDS
 <222> (171)...(1160)

<400> 17
 tccctggccc ttaataaatg acttaatatc ttcaagcctc tgatttcctc tectgtaaaa 60
 caggggagggt aattaccaca taacaggctg gtcattgaaaa tcagtgaaca tgcagcaggt 120
 gctcaagtct tgtttttgtt tccaggggca ccagtggagg tttctgagc atg gat 176
 Met Asp
 1

cca acc acc ccg gcc tgg gga aca gaa agt aca aca gtg aat gga aat 224
 Pro Thr Thr Pro Ala Trp Gly Thr Glu Ser Thr Thr Val Asn Gly Asn
 5 10 15

30

gac caa gcc ctt ctt ctg ctt tgt ggc aag gag acc ctg atc ccg gtc 272
 Asp Gln Ala Leu Leu Leu Leu Cys Gly Lys Glu Thr Leu Ile Pro Val
 20 25 30

ttc ctg atc ctt ttc att gcc ctg gtc ggg ctg gta gga aac ggg ttt 320
 Phe Leu Ile Leu Phe Ile Ala Leu Val Gly Leu Val Gly Asn Gly Phe
 35 40 45 50

gtg ctc tgg ctc ctg ggc ttc cgc atg cgc agg aac gcc ttc tct gtc 368
 Val Leu Trp Leu Leu Gly Phe Arg Met Arg Arg Asn Ala Phe Ser Val
 55 60 65

tac gtc ctc agc ctg gcc ggg gcc gac ttc ctc ttc ctc tgc ttc cag 416
 Tyr Val Leu Ser Leu Ala Gly Ala Asp Phe Leu Phe Leu Cys Phe Gln
 70 75 80

att ata aat tgc ctg gtg tac ctc agt aac ttc ttc tgt tcc atc tcc 464
 Ile Ile Asn Cys Leu Val Tyr Leu Ser Asn Phe Phe Cys Ser Ile Ser
 85 90 95

atc aat ttc cct agc ttc ttc acc act gtg atg acc tgt gcc tac ctt 512
 Ile Asn Phe Pro Ser Phe Phe Thr Thr Val Met Thr Cys Ala Tyr Leu
 100 105 110

gca ggc ctg agc atg ctg agc acc gtc agc acc gag cgc tgc ctg tcc 560
 Ala Gly Leu Ser Met Leu Ser Thr Val Ser Thr Glu Arg Cys Leu Ser
 115 120 125 130

gtc ctg tgg ccc atc tgg tat cgc tgc cgc cgc ccc aga cac ctg tca 608
 Val Leu Trp Pro Ile Trp Tyr Arg Cys Arg Arg Pro Arg His Leu Ser
 135 140 145

gcg gtc gtg tgt gtc ctg ctc tgg gcc ctg tcc cta ctg ctg agc atc 656
 Ala Val Val Cys Val Leu Leu Trp Ala Leu Ser Leu Leu Leu Ser Ile
 150 155 160

ttg gaa ggg aag ttc tgt ggc ttc tta ttt agt gat ggt gac tct ggt 704
 Leu Glu Gly Lys Phe Cys Gly Phe Leu Phe Ser Asp Gly Asp Ser Gly
 165 170 175

tgg tgt cag aca ttt gat ttc atc act gca gcg tgg ctg att ttt tta 752
 Trp Cys Gln Thr Phe Asp Phe Ile Thr Ala Ala Trp Leu Ile Phe Leu
 180 185 190

ttc atg gtt ctc tgt ggg tcc agt ctg gcc ctg ctg gtc agg atc ctc 800
 Phe Met Val Leu Cys Gly Ser Ser Leu Ala Leu Leu Val Arg Ile Leu
 195 200 205 210

tgt ggc tcc agg ggt ctg cca ctg acc agg ctg tac ctg acc atc ctg 848
 Cys Gly Ser Arg Gly Leu Pro Leu Thr Arg Leu Tyr Leu Thr Ile Leu
 215 220 225

ctc aca gtg ctg gtg ttc ctc ctc tgc ggc ctg ccc ttt ggc att cag 896
 Leu Thr Val Leu Val Phe Leu Leu Cys Gly Leu Pro Phe Gly Ile Gln
 230 235 240

tgg ttc cta ata tta tgg atc tgg aag gat tct gat gtc tta ttt tgt 944
 Trp Phe Leu Ile Leu Trp Ile Trp Lys Asp Ser Asp Val Leu Phe Cys
 245 250 255

cat att cat cca gtt tca gtt gtc ctg tca tct ctt aac agc agt gcc 992
 His Ile His Pro Val Ser Val Val Leu Ser Ser Leu Asn Ser Ser Ala
 260 265 270

aac ccc atc att tac ttc ttc gtg ggc tct ttt agg aag cag tgg cgg 1040
 Asn Pro Ile Ile Tyr Phe Phe Val Gly Ser Phe Arg Lys Gln Trp Arg
 275 280 285 290

ctg cag cag ccg atc ctc aag ctg gct ctc cag agg gct ctg cag gac 1088
 Leu Gln Gln Pro Ile Leu Lys Leu Ala Leu Gln Arg Ala Leu Gln Asp
 295 300 305

10

20

30

att gct gag gtg gat cac agt gaa gga tgc ttc cgt cag ggc acc ccg 1136
 Ile Ala Glu Val Asp His Ser Glu Gly Cys Phe Arg Gln Gly Thr Pro
 310 315 320

gag atg tcg aga agc agt ctg gtg tagagatgga cagcctctac ttccatcaga 1190
 Glu Met Ser Arg Ser Ser Leu Val
 325 330

tatatgtggc tttagagagc aactttgccc ctgtctgtot gatttgctga actttctcag 1250
 tcctgatttt aaaacagtta agagagtcct tgtgaggatt aagttagaca 1300

<210> 18
 <211> 330
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10

<400> 18
 Met Asp Pro Thr Thr Pro Ala Trp Gly Thr Glu Ser Thr Thr Val Asn
 1 5 10 15
 Gly Asn Asp Gln Ala Leu Leu Leu Leu Cys Gly Lys Glu Thr Leu Ile
 20 25 30
 Pro Val Phe Leu Ile Leu Phe Ile Ala Leu Val Gly Leu Val Gly Asn
 35 40 45
 Gly Phe Val Leu Trp Leu Leu Gly Phe Arg Met Arg Arg Asn Ala Phe
 50 55 60
 Ser Val Tyr Val Leu Ser Leu Ala Gly Ala Asp Phe Leu Phe Leu Cys
 65 70 75 80
 Phe Gln Ile Ile Asn Cys Leu Val Tyr Leu Ser Asn Phe Phe Cys Ser
 85 90 95
 Ile Ser Ile Asn Phe Pro Ser Phe Phe Thr Thr Val Met Thr Cys Ala
 100 105 110
 Tyr Leu Ala Gly Leu Ser Met Leu Ser Thr Val Ser Thr Glu Arg Cys
 115 120 125
 Leu Ser Val Leu Trp Pro Ile Trp Tyr Arg Cys Arg Arg Pro Arg His
 130 135 140
 Leu Ser Ala Val Val Cys Val Leu Leu Trp Ala Leu Ser Leu Leu Leu
 145 150 155 160
 Ser Ile Leu Glu Gly Lys Phe Cys Gly Phe Leu Phe Ser Asp Gly Asp
 165 170 175
 Ser Gly Trp Cys Gln Thr Phe Asp Phe Ile Thr Ala Ala Trp Leu Ile
 180 185 190
 Phe Leu Phe Met Val Leu Cys Gly Ser Ser Leu Ala Leu Leu Val Arg
 195 200 205
 Ile Leu Cys Gly Ser Arg Gly Leu Pro Leu Thr Arg Leu Tyr Leu Thr
 210 215 220
 Ile Leu Leu Thr Val Leu Val Phe Leu Leu Cys Gly Leu Pro Phe Gly
 225 230 235 240
 Ile Gln Trp Phe Leu Ile Leu Trp Ile Trp Lys Asp Ser Asp Val Leu
 245 250 255
 Phe Cys His Ile His Pro Val Ser Val Val Leu Ser Ser Leu Asn Ser
 260 265 270
 Ser Ala Asn Pro Ile Ile Tyr Phe Phe Val Gly Ser Phe Arg Lys Gln
 275 280 285
 Trp Arg Leu Gln Gln Pro Ile Leu Lys Leu Ala Leu Gln Arg Ala Leu
 290 295 300
 Gln Asp Ile Ala Glu Val Asp His Ser Glu Gly Cys Phe Arg Gln Gly
 305 310 315 320
 Thr Pro Glu Met Ser Arg Ser Ser Leu Val
 325 330

20

30

<210> 19
 <211> 135
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

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

10

<210> 20
 <211> 970
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

20

<220>
 <221> CDS
 <222> (83)...(943)

<400> 20
 gtgtcaccac cagcaccac aacaaatcca atggacaaac ctctttggaa gtatggacat 60
 ctggattctg acccgaaact ag atg atc atc ata ttc aga ctg gtt ggg atg 112
 Met Ile Ile Ile Phe Arg Leu Val Gly Met
 1 5 10
 aca gga aat gcc att gtg ttc tgg ctc ctg ggc ttc agc ttg cac agg 160
 Thr Gly Asn Ala Ile Val Phe Trp Leu Leu Gly Phe Ser Leu His Arg
 15 20 25
 aat gcc ttc tca gtc tac att tta aac ttg gcc ctt gct gac ttc gtc 208
 Asn Ala Phe Ser Val Tyr Ile Leu Asn Leu Ala Leu Ala Asp Phe Val
 30 35 40
 ttc ctc ctc tgt cac atc ata gat tcc atg ctg ctt ctt ctc act gtt 256
 Phe Leu Leu Cys His Ile Ile Asp Ser Met Leu Leu Leu Leu Thr Val
 45 50 55
 ttc tac ccc aac aat atc ttt tct ggg tac ttt tac acc atc atg acg 304
 Phe Tyr Pro Asn Asn Ile Phe Ser Gly Tyr Phe Tyr Thr Ile Met Thr
 60 65 70
 gtt ccc tac atc gca ggc ctg agc atg ctc agt gcc atc agc act gag 352
 Val Pro Tyr Ile Ala Gly Leu Ser Met Leu Ser Ala Ile Ser Thr Glu
 75 80 85 90

30

```

ctc tgc ctg tct gtc ctg tgc ccc atc tgg tat cgc tgc cac cac cca 400
Leu Cys Leu Ser Val Leu Cys Pro Ile Trp Tyr Arg Cys His His Pro
          95                      100                      105

gaa cac aca tca act gtc atg tgt gct gcg ata tgg gtc ctg ccc ctg 448
Glu His Thr Ser Thr Val Met Cys Ala Ala Ile Trp Val Leu Pro Leu
          110                      115                      120

ttg gtc tgc att ctg aat agg tat ttc tgc agt ttc tta gat atc aat 496
Leu Val Cys Ile Leu Asn Arg Tyr Phe Cys Ser Phe Leu Asp Ile Asn
          125                      130                      135

tat aac aat gac aaa cag tgt ctg gca tca aac ttc ttt act aga gca 544
Tyr Asn Asn Asp Lys Gln Cys Leu Ala Ser Asn Phe Phe Thr Arg Ala
          140                      145                      150

tac ctg atg ttt ttg ttt gtg gtc ctt tgt ctg tcc agc atg gct ctg 592
Tyr Leu Met Phe Leu Phe Val Val Leu Cys Leu Ser Ser Met Ala Leu
          155                      160                      165                      170

ctg gcc agg ttg ttc tgt ggc act ggg cag atg aag ctt acc aga ttg 640
Leu Ala Arg Leu Phe Cys Gly Thr Gly Gln Met Lys Leu Thr Arg Leu
          175                      180                      185

tac gtg acc atc atg ctg act gtt ttg ggt ttt ctc ctc tgt ggg ttg 688
Tyr Val Thr Ile Met Leu Thr Val Leu Gly Phe Leu Leu Cys Gly Leu
          190                      195                      200

ccc ttt gtc atc tac tac ttc ctg tta ttc aat att aag gat ggt ttt 736
Pro Phe Val Ile Tyr Tyr Phe Leu Leu Phe Asn Ile Lys Asp Gly Phe
          205                      210                      215

tgt tta ttt gat ttt aga ttt tat atg tca aca cat gtc ctg act gct 784
Cys Leu Phe Asp Phe Arg Phe Tyr Met Ser Thr His Val Leu Thr Ala
          220                      225                      230

att aac aac tgt gcc aac ccc ata att tac ttt ttc gag ggc tcc ttc 832
Ile Asn Asn Cys Ala Asn Pro Ile Ile Tyr Phe Phe Glu Gly Ser Phe
          235                      240                      245                      250

agg cat cag ttg aag cac cag acc ctc aaa atg gtt ctc cag agt gta 880
Arg His Gln Leu Lys His Gln Thr Leu Lys Met Val Leu Gln Ser Val
          255                      260                      265

ctg cag gac act cct gag ata gct gaa aat atg gtg gag atg tca aga 928
Leu Gln Asp Thr Pro Glu Ile Ala Glu Asn Met Val Glu Met Ser Arg
          270                      275                      280

aac ata cca aag cca tgatgaaaag cctttgcctg gacctca 970
Asn Ile Pro Lys Pro
          285

```

10

20

30

<210> 21
 <211> 287
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

```

<400> 21
Met Ile Ile Ile Phe Arg Leu Val Gly Met Thr Gly Asn Ala Ile Val
  1           5           10           15

```

40

Phe Trp Leu Leu Gly Phe Ser Leu His Arg Asn Ala Phe Ser Val Tyr
 20 25 30
 Ile Leu Asn Leu Ala Leu Ala Asp Phe Val Phe Leu Leu Cys His Ile
 35 40 45
 Ile Asp Ser Met Leu Leu Leu Thr Val Phe Tyr Pro Asn Asn Ile
 50 55 60
 Phe Ser Gly Tyr Phe Tyr Thr Ile Met Thr Val Pro Tyr Ile Ala Gly
 65 70 75 80
 Leu Ser Met Leu Ser Ala Ile Ser Thr Glu Leu Cys Leu Ser Val Leu
 85 90 95
 Cys Pro Ile Trp Tyr Arg Cys His His Pro Glu His Thr Ser Thr Val
 100 105 110
 Met Cys Ala Ala Ile Trp Val Leu Pro Leu Leu Val Cys Ile Leu Asn
 115 120 125
 Arg Tyr Phe Cys Ser Phe Leu Asp Ile Asn Tyr Asn Asn Asp Lys Gln
 130 135 140
 Cys Leu Ala Ser Asn Phe Phe Thr Arg Ala Tyr Leu Met Phe Leu Phe
 145 150 155 160
 Val Val Leu Cys Leu Ser Ser Met Ala Leu Leu Ala Arg Leu Phe Cys
 165 170 175
 Gly Thr Gly Gln Met Lys Leu Thr Arg Leu Tyr Val Thr Ile Met Leu
 180 185 190
 Thr Val Leu Gly Phe Leu Leu Cys Gly Leu Pro Phe Val Ile Tyr Tyr
 195 200 205
 Phe Leu Leu Phe Asn Ile Lys Asp Gly Phe Cys Leu Phe Asp Phe Arg
 210 215 220
 Phe Tyr Met Ser Thr His Val Leu Thr Ala Ile Asn Asn Cys Ala Asn
 225 230 235 240
 Pro Ile Ile Tyr Phe Phe Glu Gly Ser Phe Arg His Gln Leu Lys His
 245 250 255
 Gln Thr Leu Lys Met Val Leu Gln Ser Val Leu Gln Asp Thr Pro Glu
 260 265 270
 Ile Ala Glu Asn Met Val Glu Met Ser Arg Asn Ile Pro Lys Pro
 275 280 285

10

20

<210> 22
 <211> 1024
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<220>
 <221> CDS
 <222> (16)...(918)

<400> 22
 ccagtgcacg aaacc atg cat aga agt atc agc atc agg att ctg ata aca 51
 Met His Arg Ser Ile Ser Ile Arg Ile Leu Ile Thr
 1 5 10
 aac ttg atg atc gtc atc ctc gga cta gtc ggg ctg aca gga aac gcc 99
 Asn Leu Met Ile Val Ile Leu Gly Leu Val Gly Leu Thr Gly Asn Ala
 15 20 25
 att gtg ttc tgg ctc ctg ctc ttc cgc ttg cgc agg aac gcc ttc tca 147
 Ile Val Phe Trp Leu Leu Leu Phe Arg Leu Arg Arg Asn Ala Phe Ser
 30 35 40
 atc tac atc cta aac ttg gcc ctg gct gac ttc ctc ttc ctc ctc tgc 195
 Ile Tyr Ile Leu Asn Leu Ala Leu Ala Asp Phe Leu Phe Leu Leu Cys
 45 50 55 60

30

40

cac atc ata gct tcc aca gag cat att ctc acg ttt tcc tcc ccc aac 243
 His Ile Ile Ala Ser Thr Glu His Ile Leu Thr Phe Ser Ser Pro Asn
 65 70 75

agt atc ttt atc aat tgc ctt tac acc ttc agg gtg ctt ctc tac atc 291
 Ser Ile Phe Ile Asn Cys Leu Tyr Thr Phe Arg Val Leu Leu Tyr Ile
 80 85 90

gca ggc ctg agc atg ctc agt gcc atc agc att gag cgc tgc ctg tct 339
 Ala Gly Leu Ser Met Leu Ser Ala Ile Ser Ile Glu Arg Cys Leu Ser
 95 100 105

gtc atg tgc ccc atc tgg tat cgc tgc cac agc cca gaa cac aca tca 387
 Val Met Cys Pro Ile Trp Tyr Arg Cys His Ser Pro Glu His Thr Ser
 110 115 120

act gtc atg tgt gct atg atc tgg gtc ctg tot cta ttg ctc tgc att 435
 Thr Val Met Cys Ala Met Ile Trp Val Leu Ser Leu Leu Leu Cys Ile
 125 130 135 140

ctg tat agg tat ttc tgc ggc ttc ttg gat acc aaa tat gaa gat gac 483
 Leu Tyr Arg Tyr Phe Cys Gly Phe Leu Asp Thr Lys Tyr Glu Asp Asp
 145 150 155

tat ggg tgt cta gca atg aac ttc ctt act acc gca tac ctg atg ttt 531
 Tyr Gly Cys Leu Ala Met Asn Phe Leu Thr Thr Ala Tyr Leu Met Phe
 160 165 170

ttg ttt gta gtc ctc tgt gtg tcc agc ctg gct ctg ctg gcc agg ttg 579
 Leu Phe Val Val Leu Cys Val Ser Ser Leu Ala Leu Leu Ala Arg Leu
 175 180 185

ttc tgt ggc gct gga cgg atg aag ctt acc aga tta tac gtg acc atc 627
 Phe Cys Gly Ala Gly Arg Met Lys Leu Thr Arg Leu Tyr Val Thr Ile
 190 195 200

acg ctg acc ctt ttg gtt ttt ctc ctc tgc ggg ttg ccc tgt ggc ttc 675
 Thr Leu Thr Leu Leu Val Phe Leu Leu Cys Gly Leu Pro Cys Gly Phe
 205 210 215 220

tac tgg ttc ctg tta tcc aaa att aag aat gtt ttt act gta ttt gaa 723
 Tyr Trp Phe Leu Leu Ser Lys Ile Lys Asn Val Phe Thr Val Phe Glu
 225 230 235

ttt agt ctt tat ctg gca tca gtt gtc ctg act gct att aac agc tgt 771
 Phe Ser Leu Tyr Leu Ala Ser Val Val Leu Thr Ala Ile Asn Ser Cys
 240 245 250

gcc aac ccc atc att tac ttc ttt gtg ggc tca ttc agg cat cgg ttg 819
 Ala Asn Pro Ile Ile Tyr Phe Phe Val Gly Ser Phe Arg His Arg Leu
 255 260 265

aag cac cag acc ctc aaa atg gtt ctc cag agt gca ctg cag gac act 867
 Lys His Gln Thr Leu Lys Met Val Leu Gln Ser Ala Leu Gln Asp Thr
 270 275 280

cct gag aca cct gaa aac atg gtg gag atg tca aga aac aaa gca gag 915
 Pro Glu Thr Pro Glu Asn Met Val Glu Met Ser Arg Asn Lys Ala Glu
 285 290 295 300

10

20

30

40

ctg tgatgaagag cctctgcccc gacctcagag gtggctttgg agtgagcact 968
Leu

gcctgtctgc acttggtccac tgtccactct cctctcagct tactcacttg gcatgc 1024

<210> 23
<211> 301
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 23

Met His Arg Ser Ile Ser Ile Arg Ile Leu Ile Thr Asn Leu Met Ile
1 5 10 15
Val Ile Leu Gly Leu Val Gly Leu Thr Gly Asn Ala Ile Val Phe Trp
20 25 30
Leu Leu Leu Phe Arg Leu Arg Arg Asn Ala Phe Ser Ile Tyr Ile Leu
35 40 45
Asn Leu Ala Leu Ala Asp Phe Leu Phe Leu Leu Cys His Ile Ile Ala
50 55 60
Ser Thr Glu His Ile Leu Thr Phe Ser Ser Pro Asn Ser Ile Phe Ile
65 70 75 80
Asn Cys Leu Tyr Thr Phe Arg Val Leu Leu Tyr Ile Ala Gly Leu Ser
85 90 95
Met Leu Ser Ala Ile Ser Ile Glu Arg Cys Leu Ser Val Met Cys Pro
100 105 110
Ile Trp Tyr Arg Cys His Ser Pro Glu His Thr Ser Thr Val Met Cys
115 120 125
Ala Met Ile Trp Val Leu Ser Leu Leu Leu Cys Ile Leu Tyr Arg Tyr
130 135 140
Phe Cys Gly Phe Leu Asp Thr Lys Tyr Glu Asp Tyr Gly Cys Leu
145 150 155 160
Ala Met Asn Phe Leu Thr Thr Ala Tyr Leu Met Phe Leu Phe Val Val
165 170 175
Leu Cys Val Ser Ser Leu Ala Leu Leu Ala Arg Leu Phe Cys Gly Ala
180 185 190
Gly Arg Met Lys Leu Thr Arg Leu Tyr Val Thr Ile Thr Leu Thr Leu
195 200 205
Leu Val Phe Leu Leu Cys Gly Leu Pro Cys Gly Phe Tyr Trp Phe Leu
210 215 220
Leu Ser Lys Ile Lys Asn Val Phe Thr Val Phe Glu Phe Ser Leu Tyr
225 230 235 240
Leu Ala Ser Val Val Leu Thr Ala Ile Asn Ser Cys Ala Asn Pro Ile
245 250 255
Ile Tyr Phe Phe Val Gly Ser Phe Arg His Arg Leu Lys His Gln Thr
260 265 270
Leu Lys Met Val Leu Gln Ser Ala Leu Gln Asp Thr Pro Glu Thr Pro
275 280 285
Glu Asn Met Val Glu Met Ser Arg Asn Lys Ala Glu Leu
290 295 300

<210> 24
<211> 1045
<212> DNA
<213> Mus musculus

<220>
<221> CDS
<222> (106)...(1020)

10

20

30

40

<400> 24

tttgtgttca tagtgaatga ctaatttctt ctttgtgttc ccagtgcaga gtttctggcc 60
 ctaaaccact cagctcagc aatgtcacc acgacaacaa gtcca atg gac gaa acc 117
 Met Asp Glu Thr

1

agc cct aga agt att gac atc gag tca ctg atc cca aac ttg atg atc 165
 Ser Pro Arg Ser Ile Asp Ile Glu Ser Leu Ile Pro Asn Leu Met Ile
 5 10 15 20

atc atc ttt gga ctg gtt ggg ctg aca gga aat gcc att gtg ctc tgg 213
 Ile Ile Phe Gly Leu Val Gly Leu Thr Gly Asn Ala Ile Val Leu Trp
 25 30 35

ctc ctg ggc ttc tgc ttg cac agg aat gcc ttc tta gtc tac atc cta 261
 Leu Leu Gly Phe Cys Leu His Arg Asn Ala Phe Leu Val Tyr Ile Leu
 40 45 50

10

aac ttg gcc ctg gct gac ttc ctc ttc ctt ctc tgt cac ttc ata aat 309
 Asn Leu Ala Leu Ala Asp Phe Leu Phe Leu Leu Cys His Phe Ile Asn
 55 60 65

tca gca atg ttt ctt ctc aag gtt cct ata ccc aac ggt atc ttt gtc 357
 Ser Ala Met Phe Leu Leu Lys Val Pro Ile Pro Asn Gly Ile Phe Val
 70 75 80

tat tgc ttt tac acc atc aaa atg gtt ctc tac atc aca ggc ctg agc 405
 Tyr Cys Phe Tyr Thr Ile Lys Met Val Leu Tyr Ile Thr Gly Leu Ser
 85 90 95 100

atg ctc agt gcc atc agc act gag cgc tgc ctt tct gtc ctg tgc ccc 453
 Met Leu Ser Ala Ile Ser Thr Glu Arg Cys Leu Ser Val Leu Cys Pro
 105 110 115

20

atc tgg tat cac tgc cgc cgc cca gaa cac aca tca act gtc atg tgt 501
 Ile Trp Tyr His Cys Arg Arg Pro Glu His Thr Ser Thr Val Met Cys
 120 125 130

gct gtg att tgg atc ttt tcc gtg ttg atc tgc att ctg aaa gaa tat 549
 Ala Val Ile Trp Ile Phe Ser Val Leu Ile Cys Ile Leu Lys Glu Tyr
 135 140 145

ttc tgt gat ttc ttt ggt acc aaa ttg gga aat tac tat gtg tgt cag 597
 Phe Cys Asp Phe Phe Gly Thr Lys Leu Gly Asn Tyr Tyr Val Cys Gln
 150 155 160

gca tcc aac ttc ttt atg gga gca tac cta atg ttt ttg ttt gta gtc 645
 Ala Ser Asn Phe Phe Met Gly Ala Tyr Leu Met Phe Leu Phe Val Val
 165 170 175 180

30

ctc tgt ctg tcc acc ctg gct ctg ctg gcc agg ttg ttc tgt ggt gct 693
 Leu Cys Leu Ser Thr Leu Ala Leu Leu Ala Arg Leu Phe Cys Gly Ala
 185 190 195

gag aag atg aaa ttt acc aga tta ttc gtg acc atc atg ctg acc att 741
 Glu Lys Met Lys Phe Thr Arg Leu Phe Val Thr Ile Met Leu Thr Ile
 200 205 210

ttg gtt ttt ctc ctc tgt ggg ttg cca tgg ggc ttc ttc tgg ttc ctg 789
 Leu Val Phe Leu Leu Cys Gly Leu Pro Trp Gly Phe Phe Trp Phe Leu
 215 220 225

40

tta atc tgg att aag ggt ggt ttt agt gta cta gat tat aga ctt tat 837
 Leu Ile Trp Ile Lys Gly Gly Phe Ser Val Leu Asp Tyr Arg Leu Tyr
 230 235 240

ttg gca tca att gtc cta act gtt gtt aac agc tgt gcc aac ccc atc 885
 Leu Ala Ser Ile Val Leu Thr Val Val Asn Ser Cys Ala Asn Pro Ile
 245 250 255 260

att tac ttc ttc gtg gga tca ttc agg cat cgg ttg aag cac cag acc 933
 Ile Tyr Phe Phe Val Gly Ser Phe Arg His Arg Leu Lys His Gln Thr
 265 270 275

ctc aaa atg gtt ctc cag agt gca ctg cag gac act cct gag aca cat 981
 Leu Lys Met Val Leu Gln Ser Ala Leu Gln Asp Thr Pro Glu Thr His
 280 285 290

gaa aac atg gtg gag atg tca aga atc aaa gca gag cag tgatgaagag 1030
 Glu Asn Met Val Glu Met Ser Arg Ile Lys Ala Glu Gln
 295 300 305

cctctgcctg gacct 1045

<210> 25
 <211> 305
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

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

10

20

30

40

[illegible]

40

Phe Cys Asn Phe Ser Ser Pro Lys Tyr Val Asn Asn Ser Val Cys Gln
 150 155 160
 gca tca cac atc ttt atc aga aca tac cca ata ttt ttg ttt gta ctc 584
 Ala Ser His Ile Phe Ile Arg Thr Tyr Pro Ile Phe Leu Phe Val Leu
 165 170 175 180
 ctc tgt ctg tcc acc ctt gct ctg ctg gcc agg ttg ttc tct ggt gct 632
 Leu Cys Leu Ser Thr Leu Ala Leu Leu Ala Arg Leu Phe Ser Gly Ala
 185 190 195
 ggg aag agg aaa ttt acc aga tta ttc gtg acc atc atg ctg gcc att 680
 Gly Lys Arg Lys Phe Thr Arg Leu Phe Val Thr Ile Met Leu Ala Ile
 200 205 210
 ttg gtt ttt ctt ctc tgt ggg tta ccc ctg ggc ttc ttc tgg ttt ctg 728
 Leu Val Phe Leu Leu Cys Gly Leu Pro Leu Gly Phe Phe Trp Phe Leu
 215 220 225
 tca ccc tgg att gag gat cgt ttc att gta cta gat tat aga ctt ttt 776
 Ser Pro Trp Ile Glu Asp Arg Phe Ile Val Leu Asp Tyr Arg Leu Phe
 230 235 240
 ttt gca tca gtt gtc cta act gtt gtt aac agc tgt gcc aac ccc atc 824
 Phe Ala Ser Val Val Leu Thr Val Val Asn Ser Cys Ala Asn Pro Ile
 245 250 255 260
 att tac ttc ttt gtg ggc tcc ttc agg cat cgg ttg aag caa cag acc 872
 Ile Tyr Phe Phe Val Gly Ser Phe Arg His Arg Leu Lys Gln Gln Thr
 265 270 275
 ctc aaa atg ttt ctc cag aga gca ctg cag gac acc cct gag aca cct 920
 Leu Lys Met Phe Leu Gln Arg Ala Leu Gln Asp Thr Pro Glu Thr Pro
 280 285 290
 gaa aac atg gtg gag atg tca aga agc aaa gca gag ccg tgatgaagag 969
 Glu Asn Met Val Glu Met Ser Arg Ser Lys Ala Glu Pro
 295 300 305
 cctcttccag g 980

<210> 27
 <211> 305
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 27
 Met Asp Lys Thr Ile Leu Gly Ser Ile Asp Ile Glu Thr Leu Ile Arg
 1 5 10 15
 His Leu Met Ile Ile Ile Phe Gly Leu Val Gly Leu Thr Gly Asn Ala
 20 25 30
 Ile Val Phe Trp Leu Leu Gly Phe His Leu His Arg Asn Ala Phe Leu
 35 40 45
 Val Tyr Ile Ile Asn Leu Ala Leu Ala Asp Phe Phe Tyr Leu Leu Cys
 50 55 60
 His Ile Ile Asn Ser Ile Met Phe Leu Leu Lys Val Pro Ser Pro Asn
 65 70 75 80
 Ile Ile Leu Asp His Cys Phe Tyr Thr Ile Met Ile Val Leu Tyr Ile
 85 90 95
 Thr Gly Leu Ser Met Leu Ser Ala Ile Ser Thr Glu Arg Cys Leu Ser
 100 105 110

10

20

30

40

Val Leu Cys Pro Ile Trp Tyr Arg Cys His Arg Pro Glu His Thr Ser
 115 120 125
 Thr Val Met Cys Ala Val Ile Trp Val Met Ser Leu Leu Ile Ser Ile
 130 135 140
 Leu Asn Gly Tyr Phe Cys Asn Phe Ser Ser Pro Lys Tyr Val Asn Asn
 145 150 155 160
 Ser Val Cys Gln Ala Ser His Ile Phe Ile Arg Thr Tyr Pro Ile Phe
 165 170 175
 Leu Phe Val Leu Leu Cys Leu Ser Thr Leu Ala Leu Leu Ala Arg Leu
 180 185 190
 Phe Ser Gly Ala Gly Lys Arg Lys Phe Thr Arg Leu Phe Val Thr Ile
 195 200 205
 Met Leu Ala Ile Leu Val Phe Leu Leu Cys Gly Leu Pro Leu Gly Phe
 210 215 220
 Phe Trp Phe Leu Ser Pro Trp Ile Glu Asp Arg Phe Ile Val Leu Asp
 225 230 235 240
 Tyr Arg Leu Phe Phe Ala Ser Val Val Leu Thr Val Val Asn Ser Cys
 245 250 255
 Ala Asn Pro Ile Ile Tyr Phe Phe Val Gly Ser Phe Arg His Arg Leu
 260 265 270
 Lys Gln Gln Thr Leu Lys Met Phe Leu Gln Arg Ala Leu Gln Asp Thr
 275 280 285
 Pro Glu Thr Pro Glu Asn Met Val Glu Met Ser Arg Ser Lys Ala Glu
 290 295 300
 Pro
 305

10

<210> 28
 <211> 408
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

20

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)...(405)

<400> 28
 atg gag act ctc ccc aag gtt cta gag gtc gat gag aag tct cca gaa 48
 Met Glu Thr Leu Pro Lys Val Leu Glu Val Asp Glu Lys Ser Pro Glu
 1 5 10 15
 gcc aag gac ctg ctg ccc agc cag acc gcc agc tcc ctg tgc atc agc 96
 Ala Lys Asp Leu Leu Pro Ser Gln Thr Ala Ser Ser Leu Cys Ile Ser
 20 25 30
 tcc agg agc gag tct gtc tgg acc acc acc ccc agg agt aac tgg gaa 144
 Ser Arg Ser Glu Ser Val Trp Thr Thr Thr Pro Arg Ser Asn Trp Glu
 35 40 45
 atc tac cgc aag ccc atc gtt atc atg tca gtg ggc ggt gcc atc ctg 192
 Ile Tyr Arg Lys Pro Ile Val Ile Met Ser Val Gly Gly Ala Ile Leu
 50 55 60
 ctt ttc ggc gtg gtc atc acc tgc ttg gcc tac acc ttg aag ctg agt 240
 Leu Phe Gly Val Val Ile Thr Cys Leu Ala Tyr Thr Leu Lys Leu Ser
 65 70 75 80
 gac aag agt ctc tcc atc ctc aaa atg gta ggg cct gcc ttc ctg tcc 288
 Asp Lys Ser Leu Ser Ile Leu Lys Met Val Gly Pro Gly Phe Leu Ser
 85 90 95

30

40

ctg gga ctc atg atg ctg gtg tgc ggg ctg gtg tgg gtg ccc atc atc 336
 Leu Gly Leu Met Met Leu Val Cys Gly Leu Val Trp Val Pro Ile Ile
 100 105 110

aaa aag aaa cag aag cac aga cag aag tgc aat ttc tta cgc agc ctc 384
 Lys Lys Lys Gln Lys His Arg Gln Lys Ser Asn Phe Leu Arg Ser Leu
 115 120 125

aag tcc ttc ttc ctg act cgc tga 408
 Lys Ser Phe Phe Leu Thr Arg
 130 135

<210> 29
 <211> 135
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10

<400> 29
 Met Glu Thr Leu Pro Lys Val Leu Glu Val Asp Glu Lys Ser Pro Glu
 1 5 10 15
 Ala Lys Asp Leu Leu Pro Ser Gln Thr Ala Ser Ser Leu Cys Ile Ser
 20 25 30
 Ser Arg Ser Glu Ser Val Trp Thr Thr Thr Pro Arg Ser Asn Trp Glu
 35 40 45
 Ile Tyr Arg Lys Pro Ile Val Ile Met Ser Val Gly Ala Ile Leu
 50 55 60
 Leu Phe Gly Val Val Ile Thr Cys Leu Ala Tyr Thr Leu Lys Leu Ser
 65 70 75 80
 Asp Lys Ser Leu Ser Ile Leu Lys Met Val Gly Pro Gly Phe Leu Ser
 85 90 95
 Leu Gly Leu Met Met Leu Val Cys Gly Leu Val Trp Val Pro Ile Ile
 100 105 110
 Lys Lys Lys Gln Lys His Arg Gln Lys Ser Asn Phe Leu Arg Ser Leu
 115 120 125
 Lys Ser Phe Phe Leu Thr Arg
 130 135

20

<210> 30
 <211> 1400
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> CDS
 <222> (332)...(1297)

30

<400> 30
 tcaggcccag gatagagtaa tcatcgggtc cacagcactg gctagatgag tgggggtgtt 60
 ttgatacctaa tgttatcccc atgttagcac agaacttgtg tggcagtaga gagaggtcag 120
 gcttcagagt cagcaagaac tggatttcaa actggatttg aggaccccca ctttttgata 180
 ggtgacttat tctctgtgag tctctgatct gccctcttta aatgaggaag taaatccac 240
 atggcagggt ggtggggaga atcagagatc atacagctgg tgatcacaac tggttttgt 300
 ttccagggtc accagactgg ggttttgtgag c atg gat tca acc atc cca gtc 352
 Met Asp Ser Thr Ile Pro Val
 1 5

ttg ggt aca gaa ctg aca cca atc aac gga cgt gag gag act cct tgc 400
 Leu Gly Thr Glu Leu Thr Pro Ile Asn Gly Arg Glu Glu Thr Pro Cys

40

10	15	20		
tac aag cag acc ctg agc ttc acg ggg ctg acg tgc atc gtt tcc ctt			448	
Tyr Lys Gln Thr Leu Ser Phe Thr Gly Leu Thr Cys Ile Val Ser Leu				
25	30	35		
gtc gcg ctg aca gga aac gcg gtt gtg ctc tgg ctc ctg ggc tgc cgc			496	
Val Ala Leu Thr Gly Asn Ala Val Val Leu Trp Leu Leu Gly Cys Arg				
40	45	50	55	
atg cgc agg aac gct gtc tcc atc tac atc ctc aac ctg gtc gcg gcc			544	
Met Arg Arg Asn Ala Val Ser Ile Tyr Ile Leu Asn Leu Val Ala Ala				
60	65	70		
gac ttc ctc ttc ctt agc ggc cac att ata tgt tgc ccg tta cgc ctc			592	10
Asp Phe Leu Phe Leu Ser Gly His Ile Ile Cys Ser Pro Leu Arg Leu				
75	80	85		
atc aat atc cgc cat ccc atc tcc aaa atc ctc agt cct gtg atg acc			640	
Ile Asn Ile Arg His Pro Ile Ser Lys Ile Leu Ser Pro Val Met Thr				
90	95	100		
ttt ccc tac ttt ata ggc cta agc atg ctg agc gcc atc agc acc gag			688	
Phe Pro Tyr Phe Ile Gly Leu Ser Met Leu Ser Ala Ile Ser Thr Glu				
105	110	115		
cgc tgc ctg tcc atc ctg tgg ccc atc tgg tac cac tgc cgc cgc ccc			736	
Arg Cys Leu Ser Ile Leu Trp Pro Ile Trp Tyr His Cys Arg Arg Pro				
120	125	130	135	
aga tac ctg tca tgc gtc atg tgt gtc ctg ctc tgg gcc ctg tcc ctg			784	20
Arg Tyr Leu Ser Ser Val Met Cys Val Leu Leu Trp Ala Leu Ser Leu				
140	145	150		
ctg cgg agt atc ctg gag tgg atg ttc tgt gac ttc ctg ttt agt ggt			832	
Leu Arg Ser Ile Leu Glu Trp Met Phe Cys Asp Phe Leu Phe Ser Gly				
155	160	165		
gct gat tct gtt tgg tgt gaa acg tca gat ttc att aca atc gcg tgg			880	
Ala Asp Ser Val Trp Cys Glu Thr Ser Asp Phe Ile Thr Ile Ala Trp				
170	175	180		
ctg gtt ttt tta tgt gtg gtt ctc tgt ggg tcc agc ctg gtc ctg ctg			928	
Leu Val Phe Leu Cys Val Val Leu Cys Gly Ser Ser Leu Val Leu Leu				
185	190	195		
gtc agg att ctc tgt gga tcc cgg aag atg ccg ctg acc agg ctg tac			976	30
Val Arg Ile Leu Cys Gly Ser Arg Lys Met Pro Leu Thr Arg Leu Tyr				
200	205	210	215	
gtg acc atc ctc ctc aca gtg ctg gtc ttc ctc ctc tgt ggc ctg ccc			1024	
Val Thr Ile Leu Leu Thr Val Leu Val Phe Leu Leu Cys Gly Leu Pro				
220	225	230		
ttt ggc att cag tgg gcc ctg ttt tcc agg atc cac ctg gat tgg aaa			1072	
Phe Gly Ile Gln Trp Ala Leu Phe Ser Arg Ile His Leu Asp Trp Lys				
235	240	245		
gtc tta ttt tgt cat gtg cat cta gtt tcc att ttc ctg tcc gct ctt			1120	
Val Leu Phe Cys His Val His Leu Val Ser Ile Phe Leu Ser Ala Leu				
250	255	260		

```

aac agc agt gcc aac ccc atc att tac ttc ttc gtg ggc tcc ttt agg 1168
Asn Ser Ser Ala Asn Pro Ile Ile Tyr Phe Phe Val Gly Ser Phe Arg
265 270 275

cag cgt caa aat agg cag aac ctg aag ctg gtt ctc cag agg gct ctg 1216
Gln Arg Gln Asn Arg Gln Asn Leu Lys Leu Val Leu Gln Arg Ala Leu
280 285 290 295

cag gac acg cct gag gtg gat gaa ggt gga ggg tgg ctt cct cag gaa 1264
Gln Asp Thr Pro Glu Val Asp Glu Gly Gly Gly Trp Leu Pro Gln Glu
300 305 310

acc ctg gag ctg tcg gga agc aga ttg gag cag tgaggaagaa cctctgccct 1317
Thr Leu Glu Leu Ser Gly Ser Arg Leu Glu Gln
315 320

gtcagacagg actttgagag caatgctgcc ctgccaccct tgacaattat atgcattttt 1377
cttagccttc tgcctcagaa atg 1400

```

10

```

<210> 31
<211> 322
<212> PRT
<213> Homo sapiens

```

```

<400> 31
Met Asp Ser Thr Ile Pro Val Leu Gly Thr Glu Leu Thr Pro Ile Asn
1 5 10 15
Gly Arg Glu Glu Thr Pro Cys Tyr Lys Gln Thr Leu Ser Phe Thr Gly
20 25 30
Leu Thr Cys Ile Val Ser Leu Val Ala Leu Thr Gly Asn Ala Val Val
35 40 45
Leu Trp Leu Leu Gly Cys Arg Met Arg Arg Asn Ala Val Ser Ile Tyr
50 55 60
Ile Leu Asn Leu Val Ala Ala Asp Phe Leu Phe Leu Ser Gly His Ile
65 70 75 80
Ile Cys Ser Pro Leu Arg Leu Ile Asn Ile Arg His Pro Ile Ser Lys
85 90 95
Ile Leu Ser Pro Val Met Thr Phe Pro Tyr Phe Ile Gly Leu Ser Met
100 105 110
Leu Ser Ala Ile Ser Thr Glu Arg Cys Leu Ser Ile Leu Trp Pro Ile
115 120 125
Trp Tyr His Cys Arg Arg Pro Arg Tyr Leu Ser Ser Val Met Cys Val
130 135 140
Leu Leu Trp Ala Leu Ser Leu Leu Arg Ser Ile Leu Glu Trp Met Phe
145 150 155 160
Cys Asp Phe Leu Phe Ser Gly Ala Asp Ser Val Trp Cys Glu Thr Ser
165 170 175
Asp Phe Ile Thr Ile Ala Trp Leu Val Phe Leu Cys Val Val Leu Cys
180 185 190
Gly Ser Ser Leu Val Leu Leu Val Arg Ile Leu Cys Gly Ser Arg Lys
195 200 205
Met Pro Leu Thr Arg Leu Tyr Val Thr Ile Leu Leu Thr Val Leu Val
210 215 220
Phe Leu Leu Cys Gly Leu Pro Phe Gly Ile Gln Trp Ala Leu Phe Ser
225 230 235 240
Arg Ile His Leu Asp Trp Lys Val Leu Phe Cys His Val His Leu Val
245 250 255
Ser Ile Phe Leu Ser Ala Leu Asn Ser Ser Ala Asn Pro Ile Ile Tyr
260 265 270
Phe Phe Val Gly Ser Phe Arg Gln Arg Gln Asn Arg Gln Asn Leu Lys

```

20

30

40

```

      275          280          285
Leu Val Leu Gln Arg Ala Leu Gln Asp Thr Pro Glu Val Asp Glu Gly
      290          295          300
Gly Gly Trp Leu Pro Gln Glu Thr Leu Glu Leu Ser Gly Ser Arg Leu
      305          310          315          320
Glu Gln

```

<210> 32
 <211> 1604
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> CDS
 <222> (433)...(1398)

10

```

<400> 32
tgcattgtct tctttcctgt ccatggatga ccagtcctag tcacgagtgt gtcacaacca 60
cctctttgtg tatctgaatt cctccaactg aaagaaaatt tcagaccag gatagattaa 120
tcacgggtgc caaagccctg gccggatgag tgggggtgtt ttgatcctaa tggtattccc 180
atgtcagcac agaacttgtg tggcagtaga gagatgtcag gottcagagt caacaagaac 240
tggatttcaa actggatttg aggaccoca cttttggtaa gtgacttatt atotgcgagc 300
ctctgtttct ctcttcttta aatgaggaca gtaaatccca tacggcaggg tgggtggggag 360
aatcagagat gatacagctg gtgatcacat ctggtttgtg ttcccagggg caccagacta 420
gagtttctga gc atg gat cca acc gtc oca gtc ttc ggt aca aaa ctg aca 471
      Met Asp Pro Thr Val Pro Val Phe Gly Thr Lys Leu Thr
      1              5              10

```

```

cca atc aac gga cgt gag gag act cct tgc tac aat cag acc ctg agc 519
Pro Ile Asn Gly Arg Glu Glu Thr Pro Cys Tyr Asn Gln Thr Leu Ser
      15              20              25

```

20

```

ttc acg gtg ctg acg tgc atc att tcc ctt gtc gga ctg aca gga aac 567
Phe Thr Val Leu Thr Cys Ile Ile Ser Leu Val Gly Leu Thr Gly Asn
      30              35              40              45

```

```

gcg gta gtg ctc tgg ctc ctg ggc tac cgc atg cgc agg aac gct gtc 615
Ala Val Val Leu Trp Leu Leu Gly Tyr Arg Met Arg Arg Asn Ala Val
      50              55              60

```

```

tcc atc tac atc ctc aac ctg gcc gca gca gac ttc ctc ttc ctc agc 663
Ser Ile Tyr Ile Leu Asn Leu Ala Ala Ala Asp Phe Leu Phe Leu Ser
      65              70              75

```

```

ttc cag att ata cgt tgc cca tta cgc ctc atc aat atc agc cat ctc 711
Phe Gln Ile Ile Arg Ser Pro Leu Arg Leu Ile Asn Ile Ser His Leu
      80              85              90

```

30

```

atc cgc aaa atc ctc gtt tct gtg atg acc ttt ccc tac ttt aca ggc 759
Ile Arg Lys Ile Leu Val Ser Val Met Thr Phe Pro Tyr Phe Thr Gly
      95              100              105

```

```

ctg agt atg ctg agc gcc atc agc acc gag cgc tgc ctg tct gtt ctg 807
Leu Ser Met Leu Ser Ala Ile Ser Thr Glu Arg Cys Leu Ser Val Leu
      110              115              120              125

```

```

tgg ccc atc tgg tac cgc tgc cgc cgc ccc aca cac ctg tca gcg gtc 855
Trp Pro Ile Trp Tyr Arg Cys Arg Arg Pro Thr His Leu Ser Ala Val
      130              135              140

```

40

gtg tgt gtc ctg ctc tgg ggc ctg tcc ctg ctg ttt agt atg ctg gag 903
Val Cys Val Leu Leu Trp Gly Leu Ser Leu Leu Phe Ser Met Leu Glu
145 150 155

tgg agg ttc tgt gac ttc ctg ttt agt ggt gct gat tct agt tgg tgt 951
Trp Arg Phe Cys Asp Phe Leu Phe Ser Gly Ala Asp Ser Ser Trp Cys
160 165 170

gaa acg tca gat ttc atc cca gtc gcg tgg ctg att ttt tta tgt gtg 999
Glu Thr Ser Asp Phe Ile Pro Val Ala Trp Leu Ile Phe Leu Cys Val
175 180 185

gtt ctc tgt gtt tcc agc ctg gtc ctg ctg gtc agg atc ctc tgt gga 1047
Val Leu Cys Val Ser Ser Leu Val Leu Leu Val Arg Ile Leu Cys Gly
190 195 200 205

tcc egg aag atg ccg ctg acc agg ctg tac gtg acc atc ctg ctc aca 1095
Ser Arg Lys Met Pro Leu Thr Arg Leu Tyr Val Thr Ile Leu Leu Thr
210 215 220

gtg ctg gtc ttc ctc ctc tgc ggc ctg ccc ttc ggc att ctg ggg gcc 1143
Val Leu Val Phe Leu Leu Cys Gly Leu Pro Phe Gly Ile Leu Gly Ala
225 230 235

cta att tac agg atg cac ctg aat ttg gaa gtc tta tat tgt cat gtt 1191
Leu Ile Tyr Arg Met His Leu Asn Leu Glu Val Leu Tyr Cys His Val
240 245 250

tat ctg gtt tgc atg tcc ctg tcc tct cta aac agt agt gcc aac ccc 1239
Tyr Leu Val Cys Met Ser Leu Ser Ser Leu Asn Ser Ser Ala Asn Pro
255 260 265

atc att tac ttc ttc gtg ggc tcc ttt agg cag cgt caa aat agg cag 1287
Ile Ile Tyr Phe Phe Val Gly Ser Phe Arg Gln Arg Gln Asn Arg Gln
270 275 280 285

aac ctg aag ctg gtt ctc cag agg gct ctg cag gac aag cct gag gtg 1335
Asn Leu Lys Leu Val Leu Gln Arg Ala Leu Gln Asp Lys Pro Glu Val
290 295 300

gat aaa ggt gaa ggg cag ctt cct gag gaa agc ctg gag ctg tgc gga 1383
Asp Lys Gly Glu Gly Gln Leu Pro Glu Glu Ser Leu Glu Leu Ser Gly
305 310 315

agc aga ttg ggg cca tgagggagag cctctgccct gtcagtcaga cgggactttg 1438
Ser Arg Leu Gly Pro
320

agagcaacac tgtcctgcca cccttgacaa ttacatgcgt ttttcttagc gtttgcctc 1498
agaaatgtct cagtggtaac tcaaggtctt caataaatg tttatctaac ctgacagttg 1558
cagttttcac ccatggaaag cattagtctg acagtacaat gtttgg 1604

<210> 33
<211> 322
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 33
Met Asp Pro Thr Val Pro Val Phe Gly Thr Lys Leu Thr Pro Ile Asn
1 5 10 15

10

20

30

40

Gly Arg Glu Glu Thr Pro Cys Tyr Asn Gln Thr Leu Ser Phe Thr Val
 20 25 30
 Leu Thr Cys Ile Ile Ser Leu Val Gly Leu Thr Gly Asn Ala Val Val
 35 40 45
 Leu Trp Leu Leu Gly Tyr Arg Met Arg Arg Asn Ala Val Ser Ile Tyr
 50 55 60
 Ile Leu Asn Leu Ala Ala Ala Asp Phe Leu Phe Leu Ser Phe Gln Ile
 65 70 75 80
 Ile Arg Ser Pro Leu Arg Leu Ile Asn Ile Ser His Leu Ile Arg Lys
 85 90 95
 Ile Leu Val Ser Val Met Thr Phe Pro Tyr Phe Thr Gly Leu Ser Met
 100 105 110
 Leu Ser Ala Ile Ser Thr Glu Arg Cys Leu Ser Val Leu Trp Pro Ile
 115 120 125
 Trp Tyr Arg Cys Arg Arg Pro Thr His Leu Ser Ala Val Val Cys Val
 130 135 140
 Leu Leu Trp Gly Leu Ser Leu Leu Phe Ser Met Leu Glu Trp Arg Phe
 145 150 155 160
 Cys Asp Phe Leu Phe Ser Gly Ala Asp Ser Ser Trp Cys Glu Thr Ser
 165 170 175
 Asp Phe Ile Pro Val Ala Trp Leu Ile Phe Leu Cys Val Val Leu Cys
 180 185 190
 Val Ser Ser Leu Val Leu Leu Val Arg Ile Leu Cys Gly Ser Arg Lys
 195 200 205
 Met Pro Leu Thr Arg Leu Tyr Val Thr Ile Leu Leu Thr Val Leu Val
 210 215 220
 Phe Leu Leu Cys Gly Leu Pro Phe Gly Ile Leu Gly Ala Leu Ile Tyr
 225 230 235 240
 Arg Met His Leu Asn Leu Glu Val Leu Tyr Cys His Val Tyr Leu Val
 245 250 255
 Cys Met Ser Leu Ser Ser Leu Asn Ser Ser Ala Asn Pro Ile Ile Tyr
 260 265 270
 Phe Phe Val Gly Ser Phe Arg Gln Arg Gln Asn Arg Gln Asn Leu Lys
 275 280 285
 Leu Val Leu Gln Arg Ala Leu Gln Asp Lys Pro Glu Val Asp Lys Gly
 290 295 300
 Glu Gly Gln Leu Pro Glu Glu Ser Leu Glu Leu Ser Gly Ser Arg Leu
 305 310 315 320
 Gly Pro

10

20

<210> 34
 <211> 966
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

30

<400> 34
 atgaaccaga ctttgaatag cagtgggacc gtggagtcag ccctaaacta ttccagaggg 60
 agcacagtgc acacggccta cctgggtgctg agctccctgg ccatgttcac ctgcctgtgc 120
 gggatggcag gcaacagcat ggtgatctgg ctgctgggct ttogaatgca caggaacccc 180
 ttctgcatct atactctcaa cctggcggca gccgacctoc tcttctcttt cagcatggct 240
 tccacgctca gcctggaaac ccagccctg gtcaatacca ctgacaaggt ccacgagctg 300
 atgaagagac tgatgtactt tgcctacaca gtgggcctga gcctgctgac ggccatcagc 360
 acccagcgt gtctctctgt cctcttccct atctggttca agtgtcaccc gccaggoac 420
 ctgtcagcct ggggtgtgtg cctgctgtgg acactctgtc tctgatgaa cgggttgacc 480
 tcttctcttt gcagcaagtt cttgaaattc aatgaagatc ggtgcttcag ggtggacatg 540
 gtccaggcgc cctcatcat ggggtctta accccagtga tgactctgtc cagcctgacc 600
 ctctttgtct ggggtcggag gagctccag cagtggcggc ggcagccac acggctgttc 660
 gtggtggtcc tggcctctgt cctggtgttc ctcactgttt cctgcctct gagcatctac 720
 tgggttctgc tctactggtt gagcctgccg cccgagatgc aggtcctgtg cttcagcttg 780

40

tcacgcctct cctcgctcgt aagcagcagc gccaaccccg tcatctactt cctgggtggc 840
 agccggagga gccacaggct gccaccagg tccctgggga ctgtgctcca acaggcgctt 900
 cgcgaggagc ccgagctgga aggtggggag acgcccaccg tgggcaccaa tgagatggg 960
 gcttga 966

<210> 35
 <211> 321
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

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

<210> 36
 <211> 767
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>

10

20

30

40

<221> CDS

<222> (2)...(716)

<400> 36

c cac atg gtg gcc atc gtc ccc gac ttg ctg caa ggc cgg ctg gac ttc 49
 His Met Val Ala Ile Val Pro Asp Leu Leu Gln Gly Arg Leu Asp Phe
 1 5 10 15

cgg gcc ttc gtg cag acc agc ctg gca acg ctg cgc ttc ttc tgc tac 97
 Pro Gly Phe Val Gln Thr Ser Leu Ala Thr Leu Arg Phe Phe Cys Tyr
 20 25 30

atc gtg ggc ctg agt ctc ctg gcg gcc gtc agc gtg gag cag tgc ctg 145
 Ile Val Gly Leu Ser Leu Leu Ala Ala Val Ser Val Glu Gln Cys Leu
 35 40 45

gcc gcc ctc ttc cca gcc tgg tac tgg tgc cgc cgc cca cgc cac ctg 193
 Ala Ala Leu Phe Pro Ala Trp Tyr Ser Cys Arg Arg Pro Arg His Leu
 50 55 60

acc acc tgt gtg tgc gcc ctc acc tgg gcc ctc tgc ctg ctg ctg cac 241
 Thr Thr Cys Val Cys Ala Leu Thr Trp Ala Leu Cys Leu Leu Leu His
 65 70 75 80

ctg ctg ctc agc agc gcc tgc acc cag ttc ttc ggg gag ccc agc cgc 289
 Leu Leu Leu Ser Ser Ala Cys Thr Gln Phe Phe Gly Glu Pro Ser Arg
 85 90 95

cac ttg tgc cgg acg ctg tgg ctg gtg gca gcg gtg ctg ctg gct ctg 337
 His Leu Cys Arg Thr Leu Trp Leu Val Ala Ala Val Leu Leu Ala Leu
 100 105 110

ctg tgt tgc acc atg tgt ggg gcc agc ctt atg ctg ctg ctg cgg gtg 385
 Leu Cys Cys Thr Met Cys Gly Ala Ser Leu Met Leu Leu Leu Arg Val
 115 120 125

gag cga ggc ccc cag cgg ccc cca ccc cgg ggc ttc cct ggg ctc atc 433
 Glu Arg Gly Pro Gln Arg Pro Pro Pro Arg Gly Phe Pro Gly Leu Ile
 130 135 140

ctc ctc acc gtc ctc ctc ttc ctc ttc tgc ggc ctg ccc ttc ggc atc 481
 Leu Leu Thr Val Leu Leu Phe Leu Phe Cys Gly Leu Pro Phe Gly Ile
 145 150 155 160

tac tgg ctg tcc cgg aac ctg ctc tgg tac atc ccc cac tac ttc tac 529
 Tyr Trp Leu Ser Arg Asn Leu Leu Trp Tyr Ile Pro His Tyr Phe Tyr
 165 170 175

cac ttc agc ttc ctc atg gcc gcc gtg cac tgc gcg gcc aag ccc gtc 577
 His Phe Ser Phe Leu Met Ala Ala Val His Cys Ala Ala Lys Pro Val
 180 185 190

gtc tac ttc tgc ctg gcc agt gcc cag gcc cgc agg ctg ccc ctc cgg 625
 Val Tyr Phe Cys Leu Gly Ser Ala Gln Gly Arg Arg Leu Pro Leu Arg
 195 200 205

ctg gtc ctc cag cga gcg ctg gga gac gag gct gag ctg ggg gcc gtc 673
 Leu Val Leu Gln Arg Ala Leu Gly Asp Glu Ala Glu Leu Gly Ala Val
 210 215 220

agg gag acc tcc cgc cgg gcc ctg gtg gac ata gca gcc tga g 716

10

20

30

40

Arg Glu Thr Ser Arg Arg Gly Leu Val Asp Ile Ala Ala *
 225 230 235

ccctggggcc cccgacccca gctgcagccc ccgtgaggca agaggggtgac t 767

<210> 37
 <211> 237
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 37
 His Met Val Ala Ile Val Pro Asp Leu Leu Gln Gly Arg Leu Asp Phe
 1 5 10 15
 Pro Gly Phe Val Gln Thr Ser Leu Ala Thr Leu Arg Phe Phe Cys Tyr
 20 25 30
 Ile Val Gly Leu Ser Leu Leu Ala Ala Val Ser Val Glu Gln Cys Leu
 35 40 45
 Ala Ala Leu Phe Pro Ala Trp Tyr Ser Cys Arg Arg Pro Arg His Leu
 50 55 60
 Thr Thr Cys Val Cys Ala Leu Thr Trp Ala Leu Cys Leu Leu Leu His
 65 70 75 80
 Leu Leu Leu Ser Ser Ala Cys Thr Gln Phe Phe Gly Glu Pro Ser Arg
 85 90 95
 His Leu Cys Arg Thr Leu Trp Leu Val Ala Ala Val Leu Leu Ala Leu
 100 105 110
 Leu Cys Cys Thr Met Cys Gly Ala Ser Leu Met Leu Leu Arg Val
 115 120 125
 Glu Arg Gly Pro Gln Arg Pro Pro Pro Arg Gly Phe Pro Gly Leu Ile
 130 135 140
 Leu Leu Thr Val Leu Leu Phe Leu Phe Cys Gly Leu Pro Phe Gly Ile
 145 150 155 160
 Tyr Trp Leu Ser Arg Asn Leu Leu Trp Tyr Ile Pro His Tyr Phe Tyr
 165 170 175
 His Phe Ser Phe Leu Met Ala Ala Val His Cys Ala Ala Lys Pro Val
 180 185 190
 Val Tyr Phe Cys Leu Gly Ser Ala Gln Gly Arg Arg Leu Pro Leu Arg
 195 200 205
 Leu Val Leu Gln Arg Ala Leu Gly Asp Glu Ala Glu Leu Gly Ala Val
 210 215 220
 Arg Glu Thr Ser Arg Arg Gly Leu Val Asp Ile Ala Ala
 225 230 235

10

20

<210> 38
 <211> 1361
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

30

<220>
 <221> CDS
 <222> (48)...(1064)

<400> 38
 tctttttttt ttttcattgc agaactgaga ttgcaccact cctgaaa atg gac tta 56
 Met Asp Leu
 1

gtc atc caa gac tgg acc att aat att aca gca ctg aaa gaa agc aat 104
 Val Ile Gln Asp Trp Thr Ile Asn Ile Thr Ala Leu Lys Glu Ser Asn
 5 10 15

gac aat gga ata tca ttt tgt gaa gtt gtg tct cgt acc atg act ttt 152
 Asp Asn Gly Ile Ser Phe Cys Glu Val Val Ser Arg Thr Met Thr Phe
 20 25 30 35
 ctt tcc ctc atc att gcc tta gtt ggg ctg gtt gga aat gcc aca gtg 200
 Leu Ser Leu Ile Ile Ala Leu Val Gly Leu Val Gly Asn Ala Thr Val
 40 45 50
 tta tgg ttt ctg ggc ttc cag atg agc agg aat gcc ttc tct gtc tac 248
 Leu Trp Phe Leu Gly Phe Gln Met Ser Arg Asn Ala Phe Ser Val Tyr
 55 60 65
 atc ctc aac ctt gct ggt gct gac ttt gtc ttc atg tgc ttt caa att 296
 Ile Leu Asn Leu Ala Gly Ala Asp Phe Val Phe Met Cys Phe Gln Ile
 70 75 80
 gta cat tgt ttt tat att atc tta gac atc tac ttc atc ccc act aat 344
 Val His Cys Phe Tyr Ile Ile Leu Asp Ile Tyr Phe Ile Pro Thr Asn
 85 90 95
 ttt ttt tca tct tac act atg gtg tta aac att gct tac ctt agt ggt 392
 Phe Phe Ser Ser Tyr Thr Met Val Leu Asn Ile Ala Tyr Leu Ser Gly
 100 105 110 115
 ctg agc atc ctc act gtc att agc act gaa cgc ttc cta tct gtc atg 440
 Leu Ser Ile Leu Thr Val Ile Ser Thr Glu Arg Phe Leu Ser Val Met
 120 125 130
 tgg occ atc tgg tac cgc tgc caa cgc cca agg cac aca tca gct gtc 488
 Trp Pro Ile Trp Tyr Arg Cys Gln Arg Pro Arg His Thr Ser Ala Val
 135 140 145
 ata tgt act gtg ctt tgg gtc ttg tcc ctg gtg ttg agc ctc ctg gaa 536
 Ile Cys Thr Val Leu Trp Val Leu Ser Leu Val Leu Ser Leu Leu Glu
 150 155 160
 gga aag gaa tgt ggc ttc cta tat tac act agt ggc cct ggt ttg tgt 584
 Gly Lys Glu Cys Gly Phe Leu Tyr Tyr Thr Ser Gly Pro Gly Leu Cys
 165 170 175
 aag aca ttt gat tta atc act act gca tgg tta att gtt tta ttt gtg 632
 Lys Thr Phe Asp Leu Ile Thr Thr Ala Trp Leu Ile Val Leu Phe Val
 180 185 190 195
 gtt ctc ttg gga tcc agt ctg gcc ttg gtg ctt acc atc ttc tgt ggc 680
 Val Leu Leu Gly Ser Ser Leu Ala Leu Val Leu Thr Ile Phe Cys Gly
 200 205 210
 tta cac aag gtt cct gtg acc agg ttg tat gtg acc att gtg ttt aca 728
 Leu His Lys Val Pro Val Thr Arg Leu Tyr Val Thr Ile Val Phe Thr
 215 220 225
 gtg ctt gtc ttc ctg atc ttt ggt ctg ccc tat ggg atc tac tgg ttc 776
 Val Leu Val Phe Leu Ile Phe Gly Leu Pro Tyr Gly Ile Tyr Trp Phe
 230 235 240
 ctc tta gag tgg att agg gaa ttt cat gat aat aaa cct tgt ggt ttt 824
 Leu Leu Glu Trp Ile Arg Glu Phe His Asp Asn Lys Pro Cys Gly Phe
 245 250 255
 cgt aac gtg aca ata ttt ctg tcc tgt att aac agc tgt gcc aac ccc 872

10

20

30

40

```

Arg Asn Val Thr Ile Phe Leu Ser Cys Ile Asn Ser Cys Ala Asn Pro
260                265                270                275

atc att tac ttc ctt gtt ggc tcc att agg cac cat cgg ttt caa cgg 920
Ile Ile Tyr Phe Leu Val Gly Ser Ile Arg His His Arg Phe Gln Arg
                280                285                290

aag act ctc aag ctt ctt ctg cag aga gcc atg caa gac tct cct gag 968
Lys Thr Leu Lys Leu Leu Leu Gln Arg Ala Met Gln Asp Ser Pro Glu
                295                300                305

gag gaa gaa tgt gga gag atg ggt tcc tca aga aga cct aga gaa ata 1016
Glu Glu Glu Cys Gly Glu Met Gly Ser Ser Arg Arg Pro Arg Glu Ile
                310                315                320

aaa act gtc tgg aag gga ctg aga gct gct ttg atc agg cat aaa tag 1064
Lys Thr Val Trp Lys Gly Leu Arg Ala Ala Leu Ile Arg His Lys *
                325                330                335

ctttgaagag aactatgttt ttatcacttt gtggcatttt cataatgttg tttagttgat 1124
gacccaaggt taactcagtt ggggaagtag tcaatgttgt agaagttgat tgatattgaa 1184
cttggtataa atactgagta cagtattttt gcagctatct tgctcagagc tttaccaact 1244
ccatttgatg ggactcctta taagctctat ggggtccagg agagggtgtg accacaattg 1304
acaaatccct cttcagaaga aaactcaaga aagtgcattg aaaagttata tttctttt 1361

```

```

<210> 39
<211> 338
<212> PRT
<213> Mus musculus

```

```

<400> 39
Met Asp Leu Val Ile Gln Asp Trp Thr Ile Asn Ile Thr Ala Leu Lys
1      5      10      15
Glu Ser Asn Asp Asn Gly Ile Ser Phe Cys Glu Val Val Ser Arg Thr
20     25     30
Met Thr Phe Leu Ser Leu Ile Ile Ala Leu Val Gly Leu Val Gly Asn
35     40     45
Ala Thr Val Leu Trp Phe Leu Gly Phe Gln Met Ser Arg Asn Ala Phe
50     55     60
Ser Val Tyr Ile Leu Asn Leu Ala Gly Ala Asp Phe Val Phe Met Cys
65     70     75     80
Phe Gln Ile Val His Cys Phe Tyr Ile Ile Leu Asp Ile Tyr Phe Ile
85     90     95
Pro Thr Asn Phe Phe Ser Ser Tyr Thr Met Val Leu Asn Ile Ala Tyr
100    105    110
Leu Ser Gly Leu Ser Ile Leu Thr Val Ile Ser Thr Glu Arg Phe Leu
115    120    125
Ser Val Met Trp Pro Ile Trp Tyr Arg Cys Gln Arg Pro Arg His Thr
130    135    140
Ser Ala Val Ile Cys Thr Val Leu Trp Val Leu Ser Leu Val Leu Ser
145    150    155    160
Leu Leu Glu Gly Lys Glu Cys Gly Phe Leu Tyr Tyr Thr Ser Gly Pro
165    170    175
Gly Leu Cys Lys Thr Phe Asp Leu Ile Thr Thr Ala Trp Leu Ile Val
180    185    190
Leu Phe Val Val Leu Leu Gly Ser Ser Leu Ala Leu Val Leu Thr Ile
195    200    205
Phe Cys Gly Leu His Lys Val Pro Val Thr Arg Leu Tyr Val Thr Ile
210    215    220
Val Phe Thr Val Leu Val Phe Leu Ile Phe Gly Leu Pro Tyr Gly Ile
225    230    235    240

```

10

20

30

40

10

20

30

40

```

<400> 41
Met Ser Gly Asp Phe Leu Ile Lys Asn Leu Ser Thr Ser Ala Trp Lys
 1          5          10          15
Thr Asn Ile Thr Val Leu Asn Gly Ser Tyr Tyr Ile Asp Thr Ser Val
          20          25          30
Cys Val Thr Arg Asn Gln Ala Met Ile Leu Leu Ser Ile Ile Ile Ser
          35          40          45
Leu Val Gly Met Gly Leu Asn Ala Ile Val Leu Trp Phe Leu Gly Ile
          50          55          60
Arg Met His Thr Asn Ala Phe Thr Val Tyr Ile Leu Asn Leu Ala Met
65          70          75          80

```

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

10

20

<210> 42
 <211> 1009
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<400> 42
 ttttctaagc atggctotaa gaacctcact aataaccacc acagcacccg ataaaaaccag 60
 ccttccaatt tcaatttgta tcatcaagtt ccaagtcacg aatttgcttt ccatcaccat 120
 ttccccgtgt gggatggtag tgaatatcat agtgctgtgg ttccctgggct tcagatatg 180
 cagggaatgcc ttctctgcct acatcctcaa cctggctgtg gctgattttc tcttctgtg 240
 ttctcattct atattttctt ttcttattgt ctgcaaacct cactattttt tattctacat 300
 tagacagctt ttggatactg tgacaatggt tgcttatggt ttggcctga gcattaccac 360
 catcattagc attgagtgtt gctgtctat catgtggccc atctgggtac actgccaacg 420
 tccaagacac acatcagctg tcatttgtgt cttgctttgg gctctatctc tgcgttttcc 480
 tgctctgcag atggaaaaat gtagcgtcct gtttaatact ttggaatatt cttggtgtgg 540
 gataatcaat ataactctct gtgcattggt agttgtttta ttgtgggttc tctgtgggtt 600
 cagcctcact ctgctcctca ggatctcctg tggatcacag cagattcctg tgaccaggct 660
 gaatgtaact attgcaacta gaggctact cctcctgac tttggtattc cctttgggat 720
 cttctggata gttgacaaat ggaatgaaga aaattttttc gtttagagctt gtgggttttc 780
 acatcatata ctatacgtat actgtattaa catctgtgtc aatgctacca tatacttctt 840
 tgttggctcc attagcactg gcaagtttca gaagatgact ctgaagctga ttctgcagag 900
 agctatacag ggcacccccg aggaagaagg tggagagagg ggtccttaag gaaatactga 960
 agaactggga acagtctagt gcagcaaccg agagctgctt taataataa 1009

30

<210> 43

40

<211> 312
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 43

```
Met Ala Leu Arg Thr Ser Leu Ile Thr Thr Thr Ala Pro Asp Lys Thr
  1          5          10          15
Ser Leu Pro Ile Ser Ile Cys Ile Ile Lys Phe Gln Val Met Asn Leu
  20          25          30
Leu Ser Ile Thr Ile Ser Pro Val Gly Met Val Leu Asn Ile Ile Val
  35          40          45
Leu Trp Phe Leu Gly Phe Gln Ile Cys Arg Asn Ala Phe Ser Ala Tyr
  50          55          60
Ile Leu Asn Leu Ala Val Ala Asp Phe Leu Phe Leu Cys Ser His Ser
  65          70          75          80
Ile Phe Ser Phe Leu Ile Val Cys Lys Leu His Tyr Phe Leu Phe Tyr
  85          90          95
Ile Arg Gln Leu Leu Asp Thr Val Thr Met Phe Ala Tyr Val Phe Gly
  100          105          110
Leu Ser Ile Thr Thr Ile Ile Ser Ile Glu Cys Cys Leu Ser Ile Met
  115          120          125
Trp Pro Ile Trp Tyr His Cys Gln Arg Pro Arg His Thr Ser Ala Val
  130          135          140
Ile Cys Val Leu Leu Trp Ala Leu Ser Leu Leu Phe Pro Ala Leu Gln
  145          150          155          160
Met Glu Lys Cys Ser Val Leu Phe Asn Thr Phe Glu Tyr Ser Trp Cys
  165          170          175
Gly Ile Ile Asn Ile Ile Ser Gly Ala Trp Leu Val Val Leu Phe Val
  180          185          190
Val Leu Cys Gly Phe Ser Leu Ile Leu Leu Arg Ile Ser Cys Gly
  195          200          205
Ser Gln Gln Ile Pro Val Thr Arg Leu Asn Val Thr Ile Ala Leu Arg
  210          215          220
Val Leu Leu Leu Leu Ile Phe Gly Ile Pro Phe Gly Ile Phe Trp Ile
  225          230          235          240
Val Asp Lys Trp Asn Glu Glu Asn Phe Phe Val Arg Ala Cys Gly Phe
  245          250          255
Ser His His Ile Leu Tyr Val Tyr Cys Ile Asn Ile Cys Val Asn Ala
  260          265          270
Thr Ile Tyr Phe Leu Val Gly Ser Ile Arg His Gly Lys Phe Gln Lys
  275          280          285
Met Thr Leu Lys Leu Ile Leu Gln Arg Ala Ile Gln Gly Thr Pro Glu
  290          295          300
Glu Glu Gly Gly Glu Arg Gly Pro
  305          310
```

10

20

<210> 44
 <211> 1219
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<400> 44

```
tttatggacc tgtgccagat attcctacat aatcacatgg tcttgactga gactatcttg 60
tggtcatatc tcgatttctt tgcaggaatg ccagtggaag attcctaagc atgggtacaa 120
ccaccctggc ctggaacatt aacaacaccc ctgaaaaatg aagttacact gaaatgttct 180
cctgtatcac caagttcaat accctgaatt ttcttactgt catcatagct gtggttgcc 240
tggcaggaaa cggcatagtg ctatggcttc tagccttcca cctgcatagg aatgccttct 300
ctgtctatgt cctcaatctg gctgggtgctg atttcttgta ccttttact caagttgtgc 360
attccctgga atgtgtcctt cagttagata ataactcctt ttatattctc ctcatgttaa 420
caatgtttgc ttaccttgca ggtttgtgta tgattgcagc catcagtgcg gaacgctgcc 480
```

30

40

```

tattctgttat gtggcctatc tgggtatcact gccaaagacc aagacacaca tcagccatca 540
tgtgtgctctt ggtctggggtt tccctctctat tgttgagcct cgtggtaggg ctaggctgtg 600
gttttctgtt cagttattat gattattatt totgtattac tttgaatttt atcactgtgt 660
catttttaat agtgttatct gtgggtcttt ctgtatctag cctggccctg ttggtgaaga 720
ttgtgtgggg gtcacacagg attcctgtga ccagggttctt tgtgaccatt gctctcacag 780
tgggtggtctt catatacttt ggcatgccct ttgggtatctg ctgggttctc ttatcaagga 840
ttatggagatt tgatagcatt ttctttaaca atgtttatga aataatagaa ttcctgtcct 900
gtgttaacag ctgtgccaat cccatcattt acttccttgt tggctccatt agacaacaca 960
ggttgcgatg gcagtctctg aagctacttc ttcagagagc catgcaggac actcctgagg 1020
aagagagtgg agagaggggt ccttcgcaaa ggtctgggga actggaaaca gtctagtaca 1080
gtagttagt gagtcctgg tcaaacatag tttctgtgag agtcaatttt gcctttatct 1140
atataagcaa ttttcataat ttgtttaatc agtagagaat atagtcattt tatagaaatt 1200
aggagaaatg agcttgtaa 1219

```

<210> 45
 <211> 321
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

10

```

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

```

20

30

40

<210> 46
 <211> 1281
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<400> 46
 atggtcctga cagagagtat catgtgttca tatctctatt tttttgcggg aacaccactg 60
 gaaacttcoo aaacatgggt ctaaccactc cagcctggaa cattaacaac acagtagtga 120
 atggaagtaa caatactgaa cttttctcoo gtgtcagcaa gttcaatacc ctgaactttc 180
 ttactgtcat cattgccatg tttggcctgg caggaaatgc catagtccta tggcttctag 240
 ctttccacct gcctaggaat gccttctctg tctatgtctg caacttggct tgtgctgatt 300
 tottgcaact ttgcaactcag attttaggtt ccctggaatg tttccttcag ttaaatagga 360
 gacacacttt ttttctcacc gttgtattta tgtttgctta ccttgcaggt ttgtgtatga 420
 ttgcagccat cagtgttgag cgctctctat ctgttatgtg gcccatctgg tatcactgcc 480
 aaagaccaag acatacatca tccatcatgt gtgctctgct ctgggctttc tgtctactgt 540
 tgaatttcoo attaggggaa ggctgtggcc ttctgttcag tgatcctaaa tattatttct 600
 gtattacttg tgccttaatc actactgcac ttataatatt attaactgtg gtctctctg 660
 tgtccagcct ggccctgttg gtcaagatga tctgtggatc acacaggatt cctgtgacca 720
 gggtctatgt gaccattgct ctcacattgg tggctctcat attcttgggt ctgcccttgg 780
 ggatttaact atctttcttg ataattgtta aggagtttca aagcattttc tcttaccatg 840
 tcttgaagt gacaatattc ctgtcctgtg ttaacagctg tgccaatccc atcatttact 900
 ttctgttggt ctccattagg cagcacaggt tgcaatggca gtctctgaag ctacttcttc 960
 agagagccat gcaggacact cctgagggaag atagtggaga gaggggtccc tcacaaaggt 1020
 ctggggaaact ggaaagtgtt tagtgcagta gttgagttag tctttgatca gacatgggta 1080
 ctctgagagt cagttttgcc tttgtttatg taagcaattt tcacaatctt gtacaatttg 1140
 taaagaaata gtcattttat agaaattggg agaagggggc ttgttacaca gaaactgagt 1200
 gcaacaccat aaagctgtct tatgtgggtc tcattacatt ctcttgtgat ataagccttg 1260
 taatcacttg ggaacaaaac t 1281

10

<210> 47
 <211> 322
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

20

<400> 47
 Met Gly Leu Thr Thr Pro Ala Trp Asn Ile Asn Asn Thr Val Val Asn
 1 5 10 15
 Gly Ser Asn Asn Thr Glu His Phe Ser Cys Val Ser Lys Phe Asn Thr
 20 25 30
 Leu Asn Phe Leu Thr Val Ile Ile Ala Met Phe Gly Leu Ala Gly Asn
 35 40 45
 Ala Ile Val Leu Trp Leu Leu Ala Phe His Leu Pro Arg Asn Ala Phe
 50 55 60
 Ser Val Tyr Val Cys Asn Leu Ala Cys Ala Asp Phe Leu Gln Leu Cys
 65 70 75 80
 Thr Gln Ile Leu Gly Ser Leu Glu Cys Phe Leu Gln Leu Asn Arg Arg
 85 90 95
 His Thr Phe Phe Leu Thr Val Val Phe Met Phe Ala Tyr Leu Ala Gly
 100 105 110
 Leu Cys Met Ile Ala Ala Ile Ser Val Glu Arg Ser Leu Ser Val Met
 115 120 125
 Trp Pro Ile Trp Tyr His Cys Gln Arg Pro Arg His Thr Ser Ser Ile
 130 135 140
 Met Cys Ala Leu Leu Trp Ala Phe Cys Leu Leu Leu Asn Phe Leu Leu
 145 150 155 160
 Gly Glu Gly Cys Gly Leu Leu Phe Ser Asp Pro Lys Tyr Tyr Phe Cys
 165 170 175
 Ile Thr Cys Ala Leu Ile Thr Thr Ala Leu Ile Ile Leu Leu Thr Val

30

```

180      185      190
Val Pro Ser Val Ser Ser Leu Ala Leu Leu Val Lys Met Ile Cys Gly
195      200      205
Ser His Arg Ile Pro Val Thr Arg Phe Tyr Val Thr Ile Ala Leu Thr
210      215      220
Leu Val Val Phe Ile Phe Leu Gly Leu Pro Phe Gly Ile Tyr Ser Ser
225      230      235      240
Phe Leu Ile Met Phe Lys Glu Phe Gln Ser Ile Phe Ser Tyr His Val
245      250      255
Leu Glu Val Thr Ile Phe Leu Ser Cys Val Asn Ser Cys Ala Asn Pro
260      265      270
Ile Ile Tyr Phe Leu Val Gly Ser Ile Arg Gln His Arg Leu Gln Trp
275      280      285
Gln Ser Leu Lys Leu Leu Leu Gln Arg Ala Met Gln Asp Thr Pro Glu
290      295      300
Glu Asp Ser Gly Glu Arg Val Pro Ser Gln Arg Ser Gly Glu Leu Glu
305      310      315      320
Ser Val

```

10

```

<210> 48
<211> 1280
<212> DNA
<213> Mus musculus

```

```

<400> 48
ccccactagt tcataacaca gaatttaaca tgggttcttc ttccacccat aggaatgaac 60
tccactcttg acagcagccc agctccaggt ctgaccatca gtcccacccat ggacottgtg 120
acctggatct acttttcagt gacattcctc gccatggcca cgtgtgtggg gggggatggc 180
aggcaactca ttgggtgattt ggctcctgag ctgcaatggc atgcagaggt ctcccttctg 240
tgtctatgtg ctcaacctgg cgggtggctga cttcctcttc ttattctgca tggcctccat 300
gctcagcctg gaaacagggc ccctgctcat agtcaacatt tctgccccaa tctatgaagg 360
gatgaggaga atcaagtact ttgcctatac agcaggcctg agcctgctga cagccatcag 420
caccagcgc tgccctctccg tgcctttccc catctgggtat aagtgccacc ggccccggca 480
cctgtcatca gtggtatctg gtgcactctg ggcactggcc ttctctgatga acttctggc 540
ttctttcttc tgcgtccaat tctggcatcc caacaaacac cagtgcctca aggtggacat 600
tgttttcaac agtcttatcc tggggatctt catgccggtc atgacctga ccagcaccat 660
cctcttcatc cgggtgcgga agaacagcct gatgcagaga cggcggcccc ggcggtgta 720
cgtggtcatc ctgaactcca tccttgictt cctcaactgt tctctgccct tgggcatcaa 780
ctggttctta ctctactggg tggatgtgaa acgggatgtg aggcactttt atagctgcgt 840
atcacgcttc tcttctgttt tgagcagcag tgccaaccog gtcatttact tcctcgtggg 900
cagccagaag agccaaccgc tgcaggagtc cctgggtgct gtgctggggc gggcactgcg 960
ggatgagcct gagccagagg gcagagagac gccatccacg tgtactaatg atggggtctg 1020
aaggagagccc aaccaggaac tcctccaaag cccaccccag cccttcccta aaagtaccca 1080
gcaagcctgc aatgcaaagg ccttgcacct caaaatgttt gggtcacgtt cctctctgcc 1140
agggggggtt caccactatc acctgtgttt octaatctaa actaagaggt gaggaatat 1200
atctttctgt tttacotgtt tagacacaga tcttaacttt gggteccatc atgggcaagg 1260
ctgtctggga aatggagttt
1280

```

20

30

```

<210> 49
<211> 281
<212> PRT
<213> Mus musculus

```

```

<400> 49
Met Ala Gly Asn Ser Leu Val Ile Trp Leu Leu Ser Cys Asn Gly Met
1      5      10      15
Gln Arg Ser Pro Phe Cys Val Tyr Val Leu Asn Leu Ala Val Ala Asp
20      25      30
Phe Leu Phe Leu Phe Cys Met Ala Ser Met Leu Ser Leu Glu Thr Gly

```

40

35 40 45
 Pro Leu Leu Ile Val Asn Ile Ser Ala Lys Ile Tyr Glu Gly Met Arg
 50 55 60
 Arg Ile Lys Tyr Phe Ala Tyr Thr Ala Gly Leu Ser Leu Leu Thr Ala
 65 70 75 80
 Ile Ser Thr Gln Arg Cys Leu Ser Val Leu Phe Pro Ile Trp Tyr Lys
 85 90 95
 Cys His Arg Pro Arg His Leu Ser Ser Val Val Ser Gly Ala Leu Trp
 100 105 110
 Ala Leu Ala Phe Leu Met Asn Phe Leu Ala Ser Phe Phe Cys Val Gln
 115 120 125
 Phe Trp His Pro Asn Lys His Gln Cys Phe Lys Val Asp Ile Val Phe
 130 135 140
 Asn Ser Leu Ile Leu Gly Ile Phe Met Pro Val Met Ile Leu Thr Ser
 145 150 155 160
 Thr Ile Leu Phe Ile Arg Val Arg Lys Asn Ser Leu Met Gln Arg Arg
 165 170 175
 Arg Pro Arg Arg Leu Tyr Val Val Ile Leu Thr Ser Ile Leu Val Phe
 180 185 190
 Leu Thr Cys Ser Leu Pro Leu Gly Ile Asn Trp Phe Leu Leu Tyr Trp
 195 200 205
 Val Asp Val Lys Arg Asp Val Arg Leu Leu Tyr Ser Cys Val Ser Arg
 210 215 220
 Phe Ser Ser Ser Leu Ser Ser Ser Ala Asn Pro Val Ile Tyr Phe Leu
 225 230 235 240
 Val Gly Ser Gln Lys Ser His Arg Leu Gln Glu Ser Leu Gly Ala Val
 245 250 255
 Leu Gly Arg Ala Leu Arg Asp Glu Pro Glu Pro Glu Gly Arg Glu Thr
 260 265 270
 Pro Ser Thr Cys Thr Asn Asp Gly Val
 275 280

10

20

<210> 50
 <211> 1170
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<400> 50
 gactttctgca gacatcagcc atgacgtccc tgagcgtgca cacagattct cccagcacc 60
 agggagaaat ggctttcaac ctgacccatcc tgcctctcac agagctcctc agcctgggag 120
 ggctgctggg caatggagtg gccctctggc tgcctcaacca aaatgtctac aggaaccct 180
 tctccatcta tctcttgat gtggcctgag ccgacctcat ctctctctgc tgccacatgg 240
 tggccatcat ccctgagctg ctgcaggacc agctgaactt cctgaattt gtacatatca 300
 gcctgaccat gctgcggttc ttctgtaca ttgtgggct gagcctcctg gcggccatca 360
 gcacggagca gtgcctggcc actctcttcc ctgcctggta cctgtgccgc cgcacagct 420
 acctgaccac ctgtgtgtgt gcctcatct ggggtgctctg cctgctactg gacctgctgc 480
 tgagcggcgc ctgcaccag ttctttggag caccagcta ccacctgtgt gacatgctgt 540
 ggctgtgtgt ggcagttctc ctggctgccc tgtgtgtgac catgtgtgtg accagcctgc 600
 tctgtgtgt ggggttgag cgtggtccag agagacacca gcctcggggc ttccccacc 660
 tggctctgct ggccgtctct ctcttctct tctgcggcct gccctttggc atcttctgga 720
 tgtccaagaa cctgtcctgg caccatcccc tctacttcta tcatttcagc ttcttcatgg 780
 ccagtgtgca cagtgcagcc aagcctgcca tctactttt cttgggcagc acacctggcc 840
 agaggtttcg ggaaccctc cggctgtgtc tccagcgggc acttgagat gaggtgagc 900
 tgggagctgg gagagaggct tcccaagggg gacttgtgga catgaactgt taagcacagt 960
 gggtcacaac tgcagcttca gccatgggg gtccagggga gctgcctgat gtaggtaaag 1020
 ctgggatoag agctccatca gtaagactct tgaggacat ctttgcctgat gacctgagc 1080
 tgtgtcccct gggaggattc tgggaagggg caagcagaga gtgatgcttc tgtggagggc 1140
 ctggggttgt gtgtgttagg cagagctcct 1170

30

<210> 51

40

<211> 310
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 51

```

Met Thr Ser Leu Ser Val His Thr Asp Ser Pro Ser Thr Gln Gly Glu
1      5      10      15
Met Ala Phe Asn Leu Thr Ile Leu Ser Leu Thr Glu Leu Leu Ser Leu
20      25      30
Gly Gly Leu Leu Gly Asn Gly Val Ala Leu Trp Leu Leu Asn Gln Asn
35      40      45
Val Tyr Arg Asn Pro Phe Ser Ile Tyr Leu Leu Asp Val Ala Cys Ala
50      55      60
Asp Leu Ile Phe Leu Cys Cys His Met Val Ala Ile Ile Pro Glu Leu
65      70      75      80
Leu Gln Asp Gln Leu Asn Phe Pro Glu Phe Val His Ile Ser Leu Thr
85      90      95
Met Leu Arg Phe Phe Cys Tyr Ile Val Gly Leu Ser Leu Leu Ala Ala
100     105     110
Ile Ser Thr Glp Gln Cys Leu Ala Thr Leu Phe Pro Ala Trp Tyr Leu
115     120     125
Cys Arg Arg Pro Arg Tyr Leu Thr Thr Cys Val Cys Ala Leu Ile Trp
130     135     140
Val Leu Cys Leu Leu Leu Asp Leu Leu Leu Ser Gly Ala Cys Thr Gln
145     150     155     160
Phe Phe Gly Ala Pro Ser Tyr His Leu Cys Asp Met Leu Trp Leu Val
165     170     175
Val Ala Val Leu Leu Ala Ala Leu Cys Cys Thr Met Cys Val Thr Ser
180     185     190
Leu Leu Leu Leu Arg Val Glu Arg Gly Pro Glu Arg His Gln Pro
195     200     205
Arg Gly Phe Pro Thr Leu Val Leu Leu Ala Val Leu Leu Phe Leu Phe
210     215     220
Cys Gly Leu Pro Phe Gly Ile Phe Trp Leu Ser Lys Asn Leu Ser Trp
225     230     235     240
His Ile Pro Leu Tyr Phe Tyr His Phe Ser Phe Phe Met Ala Ser Val
245     250     255
His Ser Ala Ala Lys Pro Ala Ile Tyr Phe Phe Leu Gly Ser Thr Pro
260     265     270
Gly Gln Arg Phe Arg Glu Pro Leu Arg Leu Val Leu Gln Arg Ala Leu
275     280     285
Gly Asp Glu Ala Glu Leu Gly Ala Gly Arg Glu Ala Ser Gln Gly Gly
290     295     300
Leu Val Asp Met Thr Val
305     310

```

10

20

<210> 52
 <211> 1519
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<400> 52

```

tgtgttccca gcagcaccga gtgcagggtt tctggcccta aacatytyma gctccacaa 60
tggcactcac aacaacaaaa tccaatggac gaaacccatc ccctggaagt accagcatca 120
agattctgat cccaaaacttg atgacatca tctttggact ggtcggtctg acaggaaaacg 180
ccattgtgtt ctggctcctg ggcttcact tgcgcaggaa tgccttctca gtctacatcc 240
taaaactggc cctggctgac ttcctcttcc tctctgtctg catcatagct tccacgcaga 300
aacttctcac gttctctcca cccaacatta cctttctcat ttgcctttac accttcaggg 360
tgattctcta catcgaggc ctgagcatgc tcactgccat cagcattgag cgctgcctgt 420
ctgtcctgtg ccccatctgg tatcgtgcc accgccaga acacacatca actgtcatgt 480

```

30

40

```

gtgctgcaat ctgggtcctg tccctgttga tctgcattct gaataggtat ttctgcgggt 540
tcttagatac caaatatgta aatgactatg ggtgtatggc atcaaatctt tttaatgctg 600
catacctgat gtttttgttt gtagtcctct gtgtgtccag cctggctctg ctggccaggt 660
tggtctgtgg cactggggcg atgaagctta ccagattgta cgtgaccatc atgctgacca 720
ttttgggttt tctcctctgc ggggtgocct gtggcttata ctgggttctg ttattctgga 780
ttaagaatgg ttttctgtga tttgatttta acttttatct agcatcaact gtcctgagtg 840
ctattaatag ctctgccaac cccatcattt acttcttctg gggctcattc aggcctcggt 900
tgaagcacca gacctcaaaa atggttctcc agagtgcact gcaggatact cctgagacag 960
ctgaaaacat ggtggagatg tcaagaagca aagcagagcc gtgatgaaga gcctctgcct 1020
ggacctcgga ggtagctttg gagtgcacac ttccctgctg caattgacca ctgtccactc 1080
tctctcagc ttactgactc aacatgcctc agtgggtccac caacatcttc aacagctctc 1140
cattgattta gtttttctaa ctctcccaag taatagcatt aatcagaaag tatcatgtct 1200
gcactcctct tgacattaat caaattctca aactaacttc ctctgaagct ttcttgctga 1260
ttcttttgaa cttttgttgc catggaacta gccagggtcc agaaccatga ctctcgtatc 1320
tgtgatgggt ctgtacctga atataaagac aaaggagcct agagatgac ctgtccattc 1380
ccaaatacca cctagagagc tggctctcca ggattgcaga caagcctgtg agcacaggta 1440
agaccaccac ttctgctcaa agggacatgc ctggaactac tcaggacaca ggtacagagg 1500
agcatttttg gacaagata 1519

```

<210> 53

<211> 303

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 53

```

Asn Pro Ser Pro Gly Ser Thr Ser Ile Lys Ile Leu Ile Pro Asn Leu
1          5          10          15
Met Ile Ile Ile Phe Gly Leu Val Gly Leu Thr Gly Asn Ala Ile Val
20          25          30
Phe Trp Leu Leu Gly Phe His Leu Arg Arg Asn Ala Phe Ser Val Tyr
35          40          45
Ile Leu Asn Leu Ala Leu Ala Asp Phe Leu Phe Leu Leu Cys Arg Ile
50          55          60
Ile Ala Ser Thr Gln Lys Leu Leu Thr Phe Ser Pro Asn Ile Thr
65          70          75          80
Phe Leu Ile Cys Leu Tyr Thr Phe Arg Val Ile Leu Tyr Ile Ala Gly
85          90          95
Leu Ser Met Leu Thr Ala Ile Ser Ile Glu Arg Cys Leu Ser Val Leu
100         105         110
Cys Pro Ile Trp Tyr Arg Cys His Arg Pro Glu His Thr Ser Thr Val
115         120         125
Met Cys Ala Ala Ile Trp Val Leu Ser Leu Leu Ile Cys Ile Leu Asn
130         135         140
Arg Tyr Phe Cys Gly Phe Leu Asp Thr Lys Tyr Val Asn Asp Tyr Gly
145         150         155         160
Cys Met Ala Ser Asn Phe Phe Asn Ala Ala Tyr Leu Met Phe Leu Phe
165         170         175
Val Val Leu Cys Val Ser Ser Leu Ala Leu Leu Ala Arg Leu Phe Cys
180         185         190
Gly Thr Gly Arg Met Lys Leu Thr Arg Leu Tyr Val Thr Ile Met Leu
195         200         205
Thr Ile Leu Val Phe Leu Leu Cys Gly Leu Pro Cys Gly Leu Tyr Trp
210         215         220
Phe Leu Leu Phe Trp Ile Lys Asn Gly Phe Ala Val Phe Asp Phe Asn
225         230         235         240
Phe Tyr Leu Ala Ser Thr Val Leu Ser Ala Ile Asn Ser Ser Ala Asn
245         250         255
Pro Ile Ile Tyr Phe Phe Val Gly Ser Phe Arg His Arg Leu Lys His
260         265         270
Gln Thr Leu Lys Met Val Leu Gln Ser Ala Leu Gln Asp Thr Pro Glu
275         280         285

```

10

20

30

40

Thr Ala Glu Asn Met Val Glu Met Ser Arg Ser Lys Ala Glu Pro
 290 295 300

<210> 54
 <211> 2093
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<400> 54
 tgggtatgcac tcaactgataa ggggatatag cccaaaagct gcaaaacaacc aggataaaat 60
 tcacagacca catgaagctc aataagaagg aagaacaaag tgtaggtgtt tcagtccttc 120
 ttagaaggag aacaaaatac tcacaggagc aaatatggag atacagtata gaggagagac 180
 taagggaagg gtcattcaga gactgtccca actggggatt cattccatat agagatacca 240
 aaccagact ctaaatggga tgcaacaag tgcattgcaa aaggagctag ataaggtaac 300
 cctgtctcaa aaaaaaaaaa aaggctgtca cctgaaaggc cctgtcaaag gcttacaaat 360
 acagaagcag atgttagtag tcaacaattg gacagagcat ggggttccta atagaggagt 420
 tagaggaagg aattaggagg ttgaagggat ttgcagcccc ataagaacaa caatatcaac 480
 caaccggaca cccccccaga tatcacaggg totaagccat caacaaggga gtacacatgg 540
 ctccagatgc acatatagca gaggacggcc atgtcatgca tcaatggaag aagagatcct 600
 tgtacctatg aaggatcgat agatgaccca gtgtagggga atcaaggaca gaaagggttg 660
 agtggatgtg tggactggcc ggactgacag gaaatgccat tgtgttctgg ctccctgtct 720
 tccacttgca caggaatgct ttctcaatct acatcttaaa tttggtcata gctgacttcc 780
 ttttctctct tggtcacatc atagcttcca caatgcaact tctcaagggt tccctacctc 840
 acattatttt tctttaccgt ttttacacaa tcatgatggt gctctacaac acaggcctga 900
 ccatgctcag tgccatcaac actaagcaact gcctgtctgt cctgtgtccc atctgggtatc 960
 gctccactg cacaacacac acatcaactg tcatatgtgc tgcatacagg gacctgtccc 1020
 tgttgatctg ctttttgaat acgtatttct gtgggtctct agataccaaa tataaaaatg 1080
 acaatgggtg totggcatcg aatttcttta ttaatgcata ccctgatgtt tttgtttgta 1140
 gtctactgt ctgtccactc tggctctgct ggccagggtt ttctgtgggt ctgggaagat 1200
 gaaatttaca agattattcg tgaccatcat gctgacagtt ttagtttttc tctctgtgg 1260
 gttgcccctc gccatctact ggttctctgt aatctggatt aagattgatt atgggtgatt 1320
 tgcttatgat gtttttctgg catcactcgt cctgagtgtt gttaacagct gtgccaaccc 1380
 catcatttac ttcttcgtgg gctctttcag gcatcggttg aagcaccaaa cctcctcaaat 1440
 ggttctccag aatgtactgc aggacactcc tgagacagct gaaaacatgg tagagatgtc 1500
 aagaggcaaa gcagagccat gatgaagagc ctctgcctgg agctcagagg tggctttgga 1560
 gtgagcactg ccctgatgta cttgaccact gtccactctc ctctcagctt actgactaga 1620
 catgcctcag tgggtccacca tctccaagag ctctccactg actttgtttt ctacctctcc 1680
 tgaataatag cattaatcag aaagtatcat gtctacatcc ttcttgacat taatcaaat 1740
 ctcactgtat cttcccctga agctttcttg ctgtttcttt gggacttttt gttgccatgg 1800
 aaataacaaa ggtccagaac catgactctc ttgctgtgta ttgtttgtga cctgaatgta 1860
 aagataaagg agccaggaga tgatcctgta tcacgggtgt ccataccaaa ataccaccaa 1920
 gagagctggt ctccaggag tgacagacaag cctgtgagca caggtaagac caccatttct 1980
 gctcaagggt acatgcctgg aacctcagt acacaggaac agaggagcct ggaactggat 2040
 atttccagtt tccatctgca cccagagct gactctgtac cacagctctc cat 2093

<210> 55
 <211> 282
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

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

10

20

30

40

```

65          70          75          80
Ala Ile Asn Thr Lys His Cys Leu Ser Val Leu Cys Pro Ile Trp Tyr
      85          90          95
Arg Ser His Cys Thr Lys His Thr Ser Thr Val Ile Cys Ala Ala Ile
      100        105        110
Arg Asp Leu Ser Leu Leu Ile Cys Phe Leu Asn Thr Tyr Phe Cys Gly
      115        120        125
Leu Leu Asp Thr Lys Tyr Lys Asn Asp Asn Gly Cys Leu Ala Ser Asn
      130        135        140
Phe Phe Ile Asn Ala Tyr Leu Met Phe Leu Phe Val Val Leu Cys Leu
      145        150        155        160
Ser Thr Leu Ala Leu Leu Ala Arg Leu Phe Cys Gly Ala Gly Lys Met
      165        170        175
Lys Phe Thr Arg Leu Phe Val Thr Ile Met Leu Thr Val Leu Val Phe
      180        185        190
Leu Leu Cys Gly Leu Pro Ser Ala Ile Tyr Trp Phe Leu Leu Ile Trp
      195        200        205
Ile Lys Ile Asp Tyr Gly Val Phe Ala Tyr Asp Val Phe Leu Ala Ser
      210        215        220
Leu Val Leu Ser Ala Val Asn Ser Cys Ala Asn Pro Ile Ile Tyr Phe
      225        230        235        240
Phe Val Gly Ser Phe Arg His Arg Leu Lys His Gln Thr Leu Lys Met
      245        250        255
Val Leu Gln Asn Val Leu Gln Asp Thr Pro Glu Thr Ala Glu Asn Met
      260        265        270
Val Glu Met Ser Arg Gly Lys Ala Glu Pro
      275        280

```

10

```

<210> 56
<211> 2401
<212> DNA
<213> Mus musculus

```

20

```

<400> 56
acttgctaac ttctgtaatt gatggccccc aaacaggaaa catcattata tctcacatga 60
ctataattaa tcaccactcg tgttcataatc tttgactcaa aatctttccc ttgtagttaa 120
cttcagacga gcaactcgata gattatagta agatctgaga cttctcagag ttatgaccat 180
gttgggaatt tggtttttccc aagctcagga atctgtccaa atggattgcc acaactacac 240
agagaaggaa ggaaggtag agaactttcc cagtgccatt acattctaca ggctacagga 300
gccttggtcg gtcagaatgc aactttggtt ggcactcaga acaatgttaa ttttcctttt 360
caattctctc ctatctcttt ccaactctgt cattttgtct gttgcagcac atctgtgact 420
tccatgtatg aaagtagttt ctttttctac tctactctct caattatctt ttttaattcta 480
ctattttctac tcacacatta aaatgtgtgt atgtgtgttt gtgttcatac gtgtgtgttg 540
aggctgattt tttccttatt tgctgtatat gaaactctac attctgttgt acaccccaga 600
tgtcatgtgt taaattgtat ttcattgtct gctctctaaa acctacattc aggtacagaa 660
caatcacaga caagagagtc atggtttttg acctgggcta tttccatgac aacaaaagtt 720
tcaaagaaac agcaagaaag cttcagagga agttagcaag acaatttgat taatgtcaag 780
aaggatgcag acatgatact ttctgattaa tgcttttact caggagatgg agaaaaacta 840
agttatggaa gagctgttga aggtgttggg agaccactga ggcatgccaa gtaggtcagc 900
tgaaaggaga gtggacagtg tgggtcaagt cagcagggca gtgtcactc caaaactacc 960
tctgaaatcc aggcagaggc tcttcacatc ggctctgctt tgctttttga catctccact 1020
atgttttcag gtgtctcagg aatgtctctg agtgactctt ggataaccat tttgagggtc 1080
tggtgtctga atcgatgcct gaaggagccc acgaagaagt aaatgatggg gttggcacag 1140
ctgttaagag cagtcaggac acttgatgcc ataaaaagac taaaatcaaa tacaataaaa 1200
acattcttaa tcttgataaa caggaaccag tagatgccac agggcaaccc gcagaggaga 1260
aaaacccaaa tggtcagcat gatgggtcag tacaatctgg taagtttcat acgcccagcg 1320
ccacagaaca acctggccag cagagccagg ctggatagac agaggaccac aaacaaaaac 1380
atcaggtatg cagcagtaaa gaagtttgat gccatacatc catagtcatt tacatatattg 1440
gtatctaaga aaacgcagaa atacttatcc agaattgctg tcaacaggga caggaccagc 1500
atcatagcac acgtgacagt tgatgtgtgt tctgggcggt ggcagcgata ccagatgggg 1560

```

30

40

```

cacagtacag acagacaccg ttcagtgccg atggcaactga gtatgctcag gcctgcaatg 1620
tagagaacca gcatgatgct gaagaagcac ctgcgaaaga taatgttagg gtaggaaacc 1680
ttgagaagaa acagagtggg agctatgatg tgacagagga ggaagaggaa gtcagccaga 1740
gccaagttaa ggatgtagac tgagaaggca ttcttgcgca agcggaagcc caggagccag 1800
aacacaatgg catttccctgt catoccaaacc agtccgaaga tgatgatcat caagtgtggg 1860
atcagggtgc tgatgtcaat acttccaggg atggtttcgt ccattagatt tgtgtgcgac 1920
ggtgccattg atgaggcaga ggtgtttagg gccagaaacc ctgcaccggt gctgctggga 1980
acacaaagaa gaaatgaggg ttccctatg aacacacott ttgtttttct ttccctttt 2040
ttgtttttgt tgtgtttttt aaaaattttt ttctatttga tattttcttt atttaaattt 2100
caaatgttat cccctttcct gcttttccct ctccaggaaa tccccatctc atcctccctc 2160
cttctgcttc tatgatgggtg ttctcaacc cacacacca ctccacctc tctgccctcg 2220
attcccatat actggagcat ctattgagcc ttcaaagggt ctaggacctt tttttccatt 2280
gatgcatgac acagcaattc tctcatatcat atacagctgg agccatgttt acttwctttg 2340
ttgatggctt attccatgga ggctggggcc agggggkgtg tctgatttgt tgatatttgt 2400
t

```

10

```

<210> 57
<211> 305
<212> FRT
<213> Mus musculus

```

```

<400> 57
Met Asp Glu Thr Ile Pro Gly Ser Ile Asp Ile Ser Thr Leu Ile Pro
1      5      10      15
His Leu Met Ile Ile Ile Phe Gly Leu Val Gly Met Thr Gly Asn Ala
20     25     30
Ile Val Phe Trp Leu Leu Gly Phe Arg Leu Arg Lys Asn Ala Phe Ser
35     40     45
Val Tyr Ile Leu Asn Leu Ala Leu Ala Asp Phe Leu Phe Leu Leu Cys
50     55     60
His Ile Ile Ala Ser Thr Leu Phe Leu Leu Lys Val Ser Tyr Pro Asn
65     70     75     80
Ile Ile Phe Arg Arg Cys Phe Phe Ser Ile Met Leu Val Leu Tyr Ile
85     90     95
Ala Gly Leu Ser Ile Leu Ser Ala Ile Gly Thr Glu Arg Cys Leu Ser
100    105    110
Val Leu Cys Pro Ile Trp Tyr Arg Cys His Arg Pro Glu His Thr Ser
115    120    125
Thr Val Thr Cys Ala Met Ile Trp Val Leu Ser Leu Leu Ile Ser Ile
130    135    140
Leu Asn Lys Tyr Phe Cys Val Phe Leu Asp Thr Lys Tyr Val Asn Asp
145    150    155    160
Tyr Gly Cys Met Ala Ser Asn Phe Phe Thr Ala Ala Tyr Leu Met Phe
165    170    175
Leu Phe Val Val Leu Cys Leu Ser Ser Leu Ala Leu Leu Ala Arg Leu
180    185    190
Phe Cys Gly Ala Gly Arg Met Lys Leu Thr Arg Leu Tyr Val Thr Ile
195    200    205
Met Leu Thr Ile Leu Val Phe Leu Leu Cys Gly Leu Pro Cys Gly Ile
210    215    220
Tyr Trp Phe Leu Leu Ser Lys Ile Lys Asn Val Phe Ile Val Phe Asp
225    230    235    240
Phe Ser Leu Phe Met Ala Ser Ser Val Leu Thr Ala Leu Asn Ser Cys
245    250    255
Ala Asn Pro Ile Ile Tyr Phe Phe Val Gly Ser Phe Arg His Arg Leu
260    265    270
Gln His Gln Thr Leu Lys Met Val Ile Gln Ser Ala Leu Gln Asp Ile
275    280    285
Pro Glu Thr Pro Glu Asn Ile Val Glu Met Ser Lys Ser Lys Ala Glu
290    295    300
Pro

```

20

30

40

305

<210> 58
 <211> 2110
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<400> 58
 agaggtgtaa gtgggtatgt ggggttgagga acacccttca tagaagcagg gggagggagg 60
 atgagatggg gttttctggg aaggggcaaa agcaggaaag tggataacat ttgtaattta 120
 aataaagaaa atatccaata caaaaaattt aaaaaaaaac acacaaaacc acacaaaaaa 180
 aagacaaaaa aaaagaaatt aaaagtgtgt ttcatagtta atgcctcatt ttctttgtgt 240
 ttcccagcaa aaccagtgcg ggggtttctg ccctaaacac cttcagcctt ttcaatggca 300
 cccaacgaca accaatacaa tggacgaaac catccctgga cgtattgaca tcgagaccc 360
 gatcccaaac ttgatgatca tcatcttcgg actggtcggg ctgacaggaa atggcattgt 420
 gttctggctc ctgggcttcc gcatgcacag gaatgccttc ttagtctaca tccctaaact 480
 ggccctggct gactttctct tcttctctgt tcacatcatt aattccacaa tgccttctct 540
 caaggttctc ccactcaact ggatscttgt tccattgctt taacaccatc agaacgggtc 600
 tatacatcac aggcctgagc atgctcagcg ccacagcac tgagcctgct ctgtctgtcc 660
 tgtgccccat ctggtatcga tgcctgcgca gagaaaacac atcagctgtc atgtgtgtct 720
 ttgatctggg cctgtccctg ttgatctgta ttctgaatag ttatttctgt tattactctg 780
 gtcccaaaaga tgtaataaac tctgtgtgtc tggatctgaa attcttctac agtacatacc 840
 caatgttttt gtttgtatgc ctctgtctgt ccaccctgac tctgtctggc aggttgttct 900
 gtggtgctgg gaagaggaaa tttaccagat tattcgtgac catcactact accatcttgg 960
 tttttcttct gtgtgggttg cccctgggct tctactggtt cctgttaccac tgtattaagg 1020
 gtagtttcag tgtaactacat aatagacttt ttcaggcatc acttgcctta acttctgtta 1080
 acagctgtgc caaccccatc atttacttct tctggtgctc cttcagggat cgggtgaagc 1140
 accagaccct caaaatggtg ctccagaatg cactgcagga cactcctgag acacctgaaa 1200
 acaaggtgga gatgtcaaga agtaagcag agccatgatg aagagactcg gccaggacct 1260
 cagaggtgag tttggagtsa gwactgccct gctreacttg accactgtcc actctcctct 1320
 cagcttacts acttyggatg cctcagtggg ccaacaacac cttcaaaawc tctccactga 1380
 cttagtattt atacctctcc caagtaatag cattaatcag aaagtatcat gtctgcatcc 1440
 ttcttgacat taatccaatt ctcatactaa ctctcatctg aactttcttg atgttctctt 1500
 ggaacttttg ttgccatggt aatagccyag gtccagcacc atgactctct tgtctgtgat 1560
 tkttctgtac ctgaatgtaa agtcaaaagg gccaggagat gatcctgtgt cacagtgtc 1620
 attaccctaa caccaccaac agagcttctc tcccaggagt gcagacacgc ctgtgaacac 1680
 aggtaagacc accacttctg cttaaaggga catgcctgga accctcagaa cacaggaaga 1740
 aaagagcagc ctgggacagg atacttccag ttcccaactg caccocggag ctgaccctgt 1800
 gccacagctc tccataccca aattctctcc agaaagaacy ggtowaccaa gactactgac 1860
 acayaggctt gcaggaggga caagccacmg tcagagatag caaggaccag ctaacaccag 1920
 agataaccag atggcaagag gcaagggcaa aaatataagc aatgggaacc aagactatit 1980
 ggcatcatca gaacctagt ctctcaacat ggtgagccat ggctactcca acagacaaga 2040
 aaagcatgac tctgatitaa tgtcacagat gatgatgatg atgatgatga tgatgatgat 2100
 gatgatgatg 2110

<210> 59
 <211> 305
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 59
 Met Asp Glu Thr Ile Pro Gly Arg Ile Asp Ile Glu Thr Leu Ile Pro
 1 5 10 15
 Asn Leu Met Ile Ile Ile Phe Gly Leu Val Gly Leu Thr Gly Asn Gly
 20 25 30
 Ile Val Phe Trp Leu Leu Gly Phe Arg Met His Arg Asn Ala Phe Leu
 35 40 45
 Val Tyr Ile Leu Asn Leu Ala Leu Ala Asp Phe Leu Phe Leu Leu Cys
 50 55 60
 His Ile Ile Asn Ser Thr Met Leu Leu Leu Lys Val Leu Pro Pro Thr

10

20

30

40

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

10

20

<210> 60
 <211> 740
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<400> 60
 cagggtttct ggccctaaac acctcagcct cggcaatgac acccagcaca aacaattcaa 60
 tggacgaaac catccctgga agtattggca ctgagaccct gattcaaaac ttgatgatca 120
 tcatcttcgg actggtcggg ctgacaggaa atgccattgt gttctggctc ctgggcttcc 180
 acctgcacag gaatgccttt ttagtctaca tctaaactt ggccctggct gatttccctc 240
 tccttctctg tcacatcata gattccacag tgtttcttct caaggttccc ccaccaacc 300
 ggatcttggc ccattgcttt aacatcatca gaattgtact ctacatcaca ggcttgagca 360
 tgcctcagtg catcagcatg gagcgtgcc tgtctgtcct gtgccccatc tggatatcgt 420
 gccgccgcc agaaaacaca tcaactgtca tttgtgtgt gatctggatc ctgtccctgt 480
 tgtctgcat tctgaatgga tatttctgt atttctctgg tcccaactat gtaaatgact 540
 atgtgtgttt tgcacgggac atctttatca gaacataccc aatgtttttg tttgtagtcc 600
 tctgtctgtc cactctggct ctgctggcca ggttgttctg tgggtgtggg aagacgaaat 660
 ttaccagatt attcgtcacc atcactactga ccgttttggg ttttcttctc tgtgggttgc 720
 ccctgggctt cttctgttgc 740

30

<210> 61
 <211> 227
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 61
 Met Asp Glu Thr Ile Pro Gly Ser Ile Gly Thr Glu Thr Leu Ile Gln
 1 5 10 15

40

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

10

<210> 62
 <211> 1979
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

20

<400> 62
 aatacacaaa attaaaaaca acaacaacaa caacacgccc cacaaaaaaa gaaaacaaaa 60
 acaaaaaaga aattaaaagt tgtggtcata gtaaaggcct cacttcttct ttgtgttccc 120
 agcaacacca gtgcagggtt tctggcccga aacacctcag cctogacaat gacaccacca 180
 acaacaatc caatgaacga aaccatccct ggaagtattg acatcgagac cctgatacca 240
 aacttgatga tcatcatctt cggactggtc gggctgacag gaaatgccat ttgtgttctgg 300
 ctctctgggt tccgcatgca caggactgcc ttctcagtct acatccctaaa cttggccctg 360
 gctgaacttc tcttcttct ctgtcacatc ataaattcca cagtgttct tctccagggt 420
 tccccacca acagtacctt ggtccattgc tttagacca tcagaatggt tctctacatc 480
 gcaggcctga gcatgctcag tgccattagc actgagcact gcctgtctgt cctgtgcccc 540
 atctggtatc gctgcccgcg cccagaacat acttcaactg tcatgtgtgc tgtgatctgg 600
 gtcctgtccc tgttgatctg cattctaagt ggatatttct gtaatttttt tcttcacaaa 660
 tatgtatatt actctgtgtg tcgggcattg gaattctgta tcggaacata ccccgatgtt 720
 tttgttttgt agtctctgt ctgtccaccc tggctctgct ggtaggttg ttctgtggta 780
 ctgggaaggc aaaattttacc agattattcg tgaccatcat gctgactgtt ttgggttttc 840
 ttctctgtgg gttgcccctg tgtttcttct ggttcctggt agtctggatt aagcgtcctc 900
 tcagtgtact aaatattaca ttttattttg catccattgt cctaactgtt gttacagct 960
 gtgccaaccc catcatttac ttctctgtgg gctccttcag gcatcggttg aagcaacaga 1020
 acctcaaat ggttctccag aatgcactgc aggacactgc tgagacacct gaaaacgtgg 1080
 cagagatttc aagaagcaaa gcagagccct gatgaggagc ctctgcctgg acctcagagg 1140
 tggctttggc actgagcact gccctgctgc acttgcccac tgtccactct cctctcagct 1200
 tactgactgg caataactca gtggtacaac aacaccttca aaagctcacc actgacttag 1260
 tatttctacc tatccaagt aatagcatta atcagaaagt atcatgtctg catccttcta 1320
 gacattattc aaattctcat ccaacttcat ctgaaaactt cttgctattt ctttgggaaca 1380
 ttttttgcca tggtaatagc ccaggtccag catcatgcct ctcttacctt tgattgttct 1440
 gtacctgaat gtaaaagaaa aggagagaga agatgatcct ctgtcacagt gctcattacc 1500

30

40

caagcaccac taagagagct tgtctcccag gactgcagac aaacctgtga gcacaggtaa 1560
 gactaccact totgottaaa ggggcatgcc tggaacccac aggacacagg taaagaggag 1620
 cagcctgaga aaggatactt tccagtttcc aactgcaccc tggagctgac cctgtgccac 1680
 agctctcccc accttaattc ttcccagaaa gaactggtct mccaggaagt actgacacat 1740
 agccttgacg gaggtacaag acactgtcac agatagcaag accagctaac accagagata 1800
 accagatggc aagaggcaag ggcaaaaaca taagcaatgg gaaccaaggc tacttggcat 1860
 catcagaacc tagttctctc aacaaagtga gccctggata ctccaacaca caagaaaagt 1920
 atgactgtga ttaaaagtca ccgatgatga tgatgatgat gatgatgatg atgatgatg 1979

<210> 63
 <211> 305
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 63
 Met Asn Glu Thr Ile Pro Gly Ser Ile Asp Ile Glu Thr Leu Ile Pro
 1 5 10 15
 Asn Leu Met Ile Ile Phe Gly Leu Val Gly Leu Thr Gly Asn Ala
 20 25 30
 Ile Val Phe Trp Leu Leu Gly Phe Arg Met His Arg Thr Ala Phe Ser
 35 40 45
 Val Tyr Ile Leu Asn Leu Ala Leu Ala Asp Phe Leu Phe Leu Leu Cys
 50 55 60
 His Ile Ile Asn Ser Thr Val Leu Leu Leu Gln Val Ser Pro Pro Asn
 65 70 75 80
 Ser Thr Leu Val His Cys Phe Asp Thr Ile Arg Met Val Leu Tyr Ile
 85 90 95
 Ala Gly Leu Ser Met Leu Ser Ala Ile Ser Thr Glu His Cys Leu Ser
 100 105 110
 Val Leu Cys Pro Ile Trp Tyr Arg Cys Arg Arg Pro Glu His Thr Ser
 115 120 125
 Thr Val Met Cys Ala Val Ile Trp Val Leu Ser Leu Leu Ile Cys Ile
 130 135 140
 Leu Ser Gly Tyr Phe Cys Asn Phe Phe Leu His Lys Tyr Val Tyr Tyr
 145 150 155 160
 Ser Val Cys Arg Ala Leu Glu Phe Cys Ile Gly Thr Tyr Pro Met Phe
 165 170 175
 Leu Phe Val Val Leu Cys Leu Ser Thr Leu Ala Leu Leu Val Arg Leu
 180 185 190
 Phe Cys Gly Thr Gly Lys Ala Lys Phe Thr Arg Leu Phe Val Thr Ile
 195 200 205
 Met Leu Thr Val Leu Val Phe Leu Leu Cys Gly Leu Pro Leu Cys Phe
 210 215 220
 Phe Trp Phe Leu Val Val Trp Ile Lys Arg Pro Leu Ser Val Leu Asn
 225 230 235 240
 Ile Thr Phe Tyr Phe Ala Ser Ile Val Leu Thr Val Val Asn Ser Cys
 245 250 255
 Ala Asn Pro Ile Ile Tyr Phe Phe Val Gly Ser Phe Arg His Arg Leu
 260 265 270
 Lys Gln Gln Asn Leu Lys Met Val Leu Gln Asn Ala Leu Gln Asp Thr
 275 280 285
 Ala Glu Thr Pro Glu Asn Val Ala Glu Ile Ser Arg Ser Lys Ala Glu
 290 295 300
 Pro
 305

<210> 64
 <211> 1485
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

10

20

30

40

<400> 64

```

aacaacacaa aaccctgaaa aaaaaaaaga aattaaaagt tttgttcata gtaaaggcct 60
cattttcttct ttgtgtttcac agcaacatca gtgcacgggt aatggcaata aacacctcag 120
cctcgggaat ggcacccacg acaacaaatc caaaggggag caaacaatcc ctgggaagta 180
ttgacatcga gaccctgatc tcaaaactga tgatcatcat tttcgggctg gtagggctgc 240
caggaaatgc cattgtgttc tggctcctgg gottctgctt gcacaggaat gccttcttag 300
tctacatcct aaacttggcc ctggctgacg tctcttctct tctctgtcac atcataaatt 360
ccacagtgtc tcttctcaag gttccccac ccaacggtaa tatttggtcca ttgcttcaac 420
atcatcagaa ttgtttctta catcacaggc ctgagcatgc tcagtgccat catcactgag 480
cgctgcctgt ctatcctgtg ccccatctgg tatcgtctgc accgccaga acacacatca 540
actgccatgt gtgctgtgat ctgggtcctg tctctgttga tctgcattct tggaagaata 600
tttctgtaat tttttcttcc acaaatatgt aaattactct gtgtgtcttg cattggactc 660
ctttatcgga acatacccaa tgtttttgct tgtagtcttc tgtctgtcca ccatggctct 720
gctggccagg ttgttctgtg gttctgggaa gacgaaattt accagattat ttgtgacct 780
catgcttacc gttttgggtt ttcttctctg ctgtgtttgc ccctgggctt ctctgtgttc 840
ctgttactct ggattaaggg tgcttacagt gtactagggt atagatttta ttttgcac 900
attgtcctaa ctgctgttaa cagctgtgcc aaccccatca tttacttctt catgggctca 960
ttcaggcaac gattgcagca caagaccctc aaaatcgttc tcacagagtgc actgcacgac 1020
actcctgaga cactgaaaaa catggtggag atgtcaagaa gcaagcaga gccataatga 1080
agagcctctg cctggacctc agaggtggat ttggagtggg aactgcccta cgcttgacca 1140
ctgtccactc tctctcagc ttactgactt tggatgccta agtgggtcca caacaacttc 1200
aaaaatctct cactgactta gtatttatac ctctcccaag taatagcatt aatcagaaag 1260
tatcatgtct gcaccttctt tgacattaat ccaattctca tactaacttc atctgaaact 1320
ttcttgtgtt ttctttggaa cttttgttgc catagtaata gccagatcc agcaccatga 1380
ctcacttgct tgtgattatt ctgtacctga atgtaaagaa aaaggcagga gatgatctg 1440
tatcacagtg ctcatcacac aaacaccacc aagaagctc gtctc 1485

```

<210> 65

<211> 300

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 65

```

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

```

10

20

30

40

```

      210              215              220
Leu Trp Ile Lys Gly Ala Tyr Ser Val Leu Gly Tyr Arg Phe Tyr Phe
225              230              235              240
Ala Ser Ile Val Leu Thr Ala Val Asn Ser Cys Ala Asn Pro Ile Ile
      245              250              255
Tyr Phe Phe Met Gly Ser Phe Arg Gln Arg Leu Gln His Lys Thr Leu
      260              265              270
Lys Ile Val Leu Gln Ser Ala Leu His Asp Thr Pro Glu Thr Pro Glu
      275              280              285
Asn Met Val Glu Met Ser Arg Ser Lys Ala Glu Pro
      290              295              300

```

<210> 66
 <211> 1518
 <212> DNA
 <213> Mus musculus .

10

```

<400> 66
aacaacaaaa aaaaaaaca gaaaaagaaa taaaaagttg tgtccatagt gaaggcctca 60
tttcttcttt gtgtttccag caacaccagt gcagggtttc tggacctaaa cacctcagcc 120
tcggcaatag caccacacaac aaccaaacca atggacgaaa ccatccctgg aagtattgac 180
actgagaccc tgtatccaac aottgatgat catcatcttc ggactggtcg ggctgacagg 240
aaatggcatt gtgtgtgtggc tcctgggctt ccacttgcaa aggaatgcct ttttagtcta 300
catcctaaac ttggccctag ctgacttcc taccctctc tgtcacatca tagattccac 360
aatgcttctt ctcaagggttc cccacaccaa ctggatcttg gtccattgct ttaggaccat 420
ccaaattttt ctctacatca caggcctgag catgctcagt gccatcagca cagagcgtg 480
octgtctgtc ctgtgcccc tctggtatcg ctgccgcgcg ccagaaaaca catcaactgt 540
gatgtgtgct gtgatctggg tcctgtcctt gttgatctgc attctgcatt gatatttttc 600
tgttatttct ctggtctcag ttatgaaaa tactctgtgt gttttgcatt agcgatcatt 660
atcagttcat acccaacggt ttgtcttgta gtctctgtc tgtccacct ggctctgctg 720
gccaggttgt tctgtggtgc tgggaagagg aaattttcca gattattcgt gaccatcata 780
cttaccgttt tgggttttct tctctgtggg ttgccctggg gagccctctg gttccatta 840
ctctggatcc aggggtggtt ctggaaaaga ctttttcagg catcaattgt octatcttct 900
gttaacagct gtgccaaccc catcatttat ttcttcgttg gctcattcag gcategattg 960
aagcaccaga cctttaaact ggttctccag aatgcactgc aggacactcc tgagacaact 1020
gaaaacatgg tggagatgtc aagaagtaaa gcagagccat gatgaagagc ctctgcctgg 1080
acctcagagg tggatttgga gtgagcactg ccctgctgca cttgaccact gtccactctc 1140
ctctcagctt actgacttgg aatgcctcag tgggtccaaa acaccttcaa aagctctcca 1200
ctgactaagt atttctacct atoccaaagta atagcattaa tcagaaaagta coatgtctgc 1260
atccttcttg acattaatca aattctctta ctatcttcat ctgaaacttt cttgttggtt 1320
ctttggaact ttgttgcca tggtaatagc ccaagtcag caccatgact ttcttatctg 1380
tgattgttct atacctgaat gtaaaggcaa aggagccagg agatgatcct gtgttacagt 1440
gtcattacc caaacaccac caagagagct tgtctcccag gagtgcagac acgcctgtga 1500
acacaggtaa gaccacca
1518

```

20

<210> 67
 <211> 303
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

30

```

<400> 67
Met Asp Glu Thr Ile Pro Gly Ser Ile Asp Thr Glu Thr Leu Tyr Pro
1      5      10      15
Asn Leu Met Ile Ile Ile Phe Gly Leu Val Gly Leu Thr Gly Asn Gly
20      25      30
Ile Val Leu Trp Leu Leu Gly Phe His Leu Gln Arg Asn Ala Phe Leu
35      40      45
Val Tyr Ile Leu Asn Leu Ala Leu Ala Asp Phe Leu Tyr Leu Leu Cys
50      55      60
His Ile Ile Asp Ser Thr Met Leu Leu Lys Val Pro Pro Pro Asn

```

40

```

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

```

10

```

<210> 68
<211> 1500
<212> DNA
<213> Mus musculus

```

20

```

<400> 68
catttttcgga ctggtcgggc tgacaggaaa taccattgtg ttctggctcc tgggcttctg 60
cttgacacag aatgcctttt tagtctacat cctaaacttg gccctggctg acttccctct 120
ccttctctgc cacatcataa attccacagt acttcttctc aagggtcccc taccacactg 180
gatcttggtc catgctttta acaccatcag aattgttctt tacatcacag gcctgaacat 240
gctcagtgcc atcaacatgg agcactgcct gtctgtcctg tgcccatctt ggtatcactg 300
ctgocgccca gaacacacat caactgtcat gtgtgtctgt atctgggtcc tgtccctgtt 360
gatctgcatt ctgaatgaat atttctgtga tttctttggg accaaattgg taaattacta 420
tgtgtgtctg gcctcgaact tctttatggg agcatacctg ttgtttttgt ttgtagtctt 480
ctgtctgtcc accctggctc tgctggccag gttgttctgt ggtgctggga atacgaaatt 540
taccagattt cacatgacca tcttctgtgac cctttgttct tttctccctt gcgggttgcc 600
ctttgccatc taatgcttcc tgttattcaa gattaaggat gatttccatg tattttatat 660
taaccttttt ctgacattag aagtcctgac ttctattaac agctgtgaca accccatcat 720
ctatttcttc ctggaactct tcagacatca ggagaagcac cagaccctca aaatggttct 780
ccagagtgc a ctgcaggata ctctygagac acctgaaaac atggcagaga tgtcaagaag 840
caaagcagag ccgtgatgaa gagcctctgc ctggatgtca gaggtggctt tggagtgagc 900
actgccttgc tgcaacttgac cactgtcaac tctactctca gcttactgac ttgtcatgcc 960
tcagtgggtc aacaacacct tcaaaagctc tccactgact tagtattttt acctctccca 1020
agtagtagca ttaatcagaa agtatcatgt ctgcacctt cttagacatta ttcaaattct 1080
catctaactt catctgaaac tttctcccta tttcttttga acttttggtg ccatggkkaat 1140
agcccagatc cagcaccatg actctcttct ctgtgattgt tctgaacctg aatgtaaaga 1200
caaaggagag agaagatgat cctgtgtcac agtgcctatt acccaagcac cgccaagaga 1260
tcttgtctcc caggagtgc gacaagcctg tgcgcactgg taagaccacc acttttgctt 1320
aaagggacat gcttggaact ttcaagacag agtaacagag gagcaccctg gaacaggata 1380
cttccagttt ccaactgcac accggagctg accctatgca acagctctcc ataccacact 1440

```

30

40

tcttcccaca aagaactgggt gctaccagga gtactgacac acagggttttc aggaaggaca 1500

<210> 69
 <211> 283
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 69
 Ile Phe Gly Leu Val Gly Leu Thr Gly Asn Thr Ile Val Phe Trp Leu
 1 5 10 15
 Leu Gly Phe Cys Leu His Arg Asn Ala Phe Leu Val Tyr Ile Leu Asn
 20 25 30
 Leu Ala Leu Ala Asp Phe Leu Phe Leu Cys His Ile Ile Asn Ser
 35 40 45
 Thr Val Leu Leu Leu Lys Val Pro Leu Pro Asn Trp Ile Leu Phe His
 50 55 60
 Cys Phe Asn Thr Ile Arg Ile Val Leu Tyr Ile Thr Gly Leu Asn Met
 65 70 75 80
 Leu Ser Ala Ile Asn Met Glu His Cys Leu Ser Val Leu Cys Pro Ile
 85 90 95
 Trp Tyr His Cys Cys Arg Pro Glu His Thr Ser Thr Val Met Cys Ala
 100 105 110
 Val Ile Trp Val Leu Ser Leu Leu Ile Cys Ile Leu Asn Glu Tyr Phe
 115 120 125
 Cys Asp Phe Phe Gly Thr Lys Leu Val Asn Tyr Tyr Val Cys Leu Ala
 130 135 140
 Ser Asn Phe Phe Met Gly Ala Tyr Leu Leu Phe Leu Phe Val Val Leu
 145 150 155 160
 Cys Leu Ser Thr Leu Ala Leu Leu Ala Arg Leu Phe Cys Gly Ala Gly
 165 170 175
 Asn Thr Lys Phe Thr Arg Phe His Met Thr Ile Leu Leu Thr Pro Leu
 180 185 190
 Phe Phe Leu Leu Cys Gly Leu Pro Phe Ala Ile Cys Phe Leu Leu Phe
 195 200 205
 Lys Ile Lys Asp Asp Phe His Val Phe Tyr Ile Asn Leu Phe Leu Ala
 210 215 220
 Leu Glu Val Leu Thr Ser Ile Asn Ser Cys Asp Asn Pro Ile Ile Tyr
 225 230 235 240
 Phe Phe Leu Asp Ser Phe Arg His Gln Glu Lys His Gln Thr Leu Lys
 245 250 255
 Met Val Leu Gln Ser Ala Leu Gln Asp Thr Pro Glu Thr Pro Glu Asn
 260 265 270
 Met Ala Glu Met Ser Arg Ser Lys Ala Glu Pro
 275 280

10

20

30

<210> 70
 <211> 2504
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<400> 70
 gtgtgtgcct tgggtttttat tgcttatgtt tttgtccttg catcttgcca tctggttatc 60
 tctggtatta gctggtcttg atgtctctga ttgtccttgt ccctcctgca agcctgtgtg 120
 tcattttctcc tgggagacca gttattttcta gaagaaattt aggtatgggg agttgtggca 180
 cagggtcagc cccagggtgc agatgaaaac tggaaggatc ctgtcccagg tgcctcctct 240
 atttctgtgt cctgcegggtt ctgggcatgt ccctttgagc agaagtgttg gtcttacctg 300
 tgctcacagg ctgtctctgca ctgtggcaca agatcatctc ctggctcctt tgtctttaca 360
 ttcaggtaca gamcaatcmc cagacaagag agtcatgctt ctggacttgg gctattttcca 420
 tggcaacaaa agttccaaag aaacamcaag aaagggttcag aggaagttag catgagaatt 480

40

```

tgattaatgt cataaaggat gcagacatga tactttctga ttaatgatat tactcgagag 540
aggtagaataa tctaagtcag tggagagcctt ttgaagatgt tgggtggacca ctgaggcatg 600
tcaagtcagt cagcggagag cagagtggac agtgataaag tgcagcaggg cattcttcac 660
tccaaagcca cctctgaggt ccaggcagag gctcttcac atggctctgc tttacttctt 720
gacatcccca ccatgttttc aggtgtctca ggagtgtcct acattgtcct ctggagaacc 780
attttcagtg tctgggtgctg caaccgaagc ctgaaggagc ccgtgaagaa gtaaatgatg 840
gagttggcac aactgttaat agcagtoatg acaagtgatt ccagataaaa tacaagagta 900
aatacatgaa aagcatcctt aatcttgcac aacagaaacc agtagatgcc aaagttcaat 960
ctgcaaagga gaaaaccaga gcagtcagca ggatgggcac atactatctg gtaagcttca 1020
tttgcccaac atcacagaac aacctggcca gcagagccag gctggaaaga cagagatcca 1080
caaacaaaac atcaggtatg cagaagttaa gaagtccaat gccagacacc cattgtcatt 1140
ttcatatttg ctatgtaaga aacctcagaa ataactatct agaattgcaga tcaacaggga 1200
cagtacccag atcacagcac acatggcagc tgatgtatgt tctgggtggt gacagcaatc 1260
ccagatgggc acagtacaga caggccgtgc tcagtgtctg tggcagtgag catgctcagg 1320
cctgcgatgt agagaacctat catgatgatg taaaagcaca agataaagat aatggggtag 1380
aaaacattga gaagaagcag tatggaatct atggtgtgac ctaggaggaa gaagaagtca 1440
gccagggtcca agtttaggat gtagaccttg aaagcattcc tgcgcaaggg gaagtgcagg 1500
atccagaaga caatggaatt tcctgtcagc ccaaccagtc cgaagatgat ggttatcaag 1560
tttgggatca gaatcctgat gttgatacct ccagggatgg ttttgtocat tggatttgct 1620
gttgggtggg ctgttgggtg ggtgatgtg ttttagggcca gaaactctgc accagtgtctg 1680
ctgggaacac aaagaaaaaa tgaggccttc cctatgaact caccttttgt tttccttttt 1740
gttggatttt taattttcttc tattgcatac tttaaattat ttgtcttctt gtgtccccc 1800
ccctcccttt cctgaaaacc cctatccac cctccctcta ccttgcctac tattgaggat 1860
attcctccac ccaactccac ctctctgccc tctattggcc tacactgggg caactatcaa 1920
gccttcatag atccatagaa ctctctcccc atttattcat gacagggcca tctctgtcta 1980
catatgcagc tggagccatg tgtacttctt tgctgatggc ttgtccctgt ggtgtgggg 2040
gattgggtact ggttgggtga tattgttttt cttacctatg ggcttgcaaa ccccttcaac 2100
tcctttagtc ctttctctaa ttctctatatt agggaccctg ttctcagtcct aatggctgga 2160
tgctaacatc tgctctgtga tttgtaaggc tctgacagtg cctctcaaga aacagccata 2220
ttagggtcct gtcagcatgc acttcttgca atccacaata gtgtctgggt ttggttaactg 2280
tatatggtac gaatccccag gtgggacagt gtctgtgtga tctttccttt agtctttgct 2340
ctagacttta tctccataaa aagtattttt ttctccttct aaaaagcact gaagcaccga 2400
ctotttggtc tttcttcttc atggacttca tgtggtctgt gaattttaac ctggttattt 2460
ttcagttttt gagctcctat tcacttatca gtgagtgcac acca 2504

```

<210> 71
 <211> 301
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

```

<400> 71
Met Asp Lys Thr Ile Pro Gly Gly Ile Asn Ile Arg Ile Leu Ile Pro
1          5          10          15
Asn Leu Ile Thr Ile Ile Phe Gly Leu Val Gly Leu Thr Gly Asn Ser
20          25          30
Ile Val Phe Trp Ile Leu His Phe Pro Leu Arg Arg Asn Ala Phe Lys
35          40          45
Val Tyr Ile Leu Asn Leu Asp Leu Ala Asp Phe Phe Phe Leu Leu Gly
50          55          60
His Thr Ile Asp Ser Ile Leu Leu Leu Leu Asn Val Phe Tyr Pro Ile
65          70          75          80
Ile Phe Ile Leu Cys Phe Tyr Ile Ile Met Met Val Leu Tyr Ile Ala
85          90          95
Gly Leu Ser Met Leu Thr Ala Ile Ser Thr Glu His Gly Leu Ser Val
100         105         110
Leu Cys Pro Ile Trp Asp Cys Cys His His Pro Glu His Thr Ser Ala
115         120         125
Ala Met Cys Ala Val Ile Trp Val Leu Ser Leu Leu Ile Cys Ile Leu
130         135         140
Asn Ser Tyr Phe Gly Phe Leu His Ser Lys Tyr Glu Asn Asp Asn Gly
145         150         155         160

```

10

20

30

40

Cys Leu Ala Leu Asn Phe Phe Thr Ser Ala Tyr Leu Met Phe Leu Phe
 165 170 175
 Val Asp Leu Cys Leu Ser Ser Leu Ala Leu Leu Ala Arg Leu Phe Cys
 180 185 190
 Asp Val Gly Gln Met Lys Leu Thr Arg Tyr Val Thr Ile Leu Leu Thr
 195 200 205
 Ala Leu Val Phe Leu Leu Cys Arg Leu Asn Phe Gly Ile Tyr Trp Phe
 210 215 220
 Leu Leu Cys Lys Ile Lys Asp Ala Phe His Val Phe Thr Leu Val Phe
 225 230 235 240
 Tyr Leu Glu Ser Leu Val Met Thr Ala Ile Asn Ser Cys Ala Asn Ser
 245 250 255
 Ile Ile Tyr Phe Phe Thr Gly Ser Phe Arg Leu Arg Leu Gln His Gln
 260 265 270
 Thr Leu Lys Met Val Leu Gln Arg Thr Met Asp Thr Pro Glu Thr Pro
 275 280 285
 Glu Asn Met Val Gly Met Ser Arg Ser Lys Ala Glu Pro
 290 295 300

<210> 72
 <211> 2758
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<400> 72
 aatttttgtg tttcctcttt aagggtctct accaatttat ctgtgttctc ctgtattatt 60
 ttaagggagt tatitatgtc tttcttaatg tctctatca tcatcatcat catccttata 120
 attttcatca tcatcaccag aggtgacttt aaatcagagt catgcttttc tgggtgtgtg 180
 gagtatccag ggctcaccat gttgagagaa ctagggttctg atgatgccaa gttagccttg 240
 ttcccatgtc ttatgttttt gcccttgccct ctggccatct gattatctct ggagtaagct 300
 ggtcttgctc tctctaactg tggcttgctc ctctgcaag cctatgtgtc agtactcctg 360
 gtagaccagt tctttctggg agaaatttgg gtatggagag ctgtggcaca gggtcagctc 420
 cggggtacag ttggaactg gaagtatcct gtcccaggct gctcctctgt tctgtgtgct 480
 tgaggattcc aggcattgtc atttaagcag aagtgggtgt cttacctatg ttcacaggca 540
 tatctgcact cctgggagac aagctttctt ggtgtgtgtt gggtaatgag cactgggaca 600
 caggaaacatc tctgtgctcc tttgtcttta catttgggta cagaacaatc acagacaaga 660
 gtagtaattgt gctgaacctc agctattacc atggcaacaa aagttccaaa gaaacagcaa 720
 gaatgtttca gatgaagtta gtatgagaat tggattaatg tcaggaagga tgcagacatg 780
 gtactttctg attaatgcta ttacttggga gaggtagaaa tactaagtca gtggagagct 840
 tttgaagggt ttgttggacc actgaggaat gccaaagtcag taagctgaga ggaagtgga 900
 cagtgtgtca gtgcagcatg gcagtgtcct ctccaaagcc acctctgagg tccaggcaga 960
 ggctcttcat catggctctg ctttgcctct tgatatatcc accatgtttt cagggtgtctc 1020
 aggagtgtcc tgcaatgcac tctggagaac cattttgagg gtcttgtgct tcaacggatg 1080
 cctgtatgag ccacagaaga agtaaatgat ggggttggca cagctgttaa cagcagttag 1140
 gacaagtgat gccagaaaaga atctatagtc tagtatactg aaaccacct caatccaggg 1200
 taacaggaac cagaggaagc ccaggggcaa cccacagaga agaaaaacca aaatggctac 1260
 catgatggtc atgaataatc tggtaaaatt cttctttcca gcaccacaga acaacctggc 1320
 cagcagagtc agggtagaaa aacagaggac tacaacaaaa aaaataggg atattctgat 1380
 gaagaattct gatgcctgac acacagagtt aatttcatat ttgggaccaa ataaatcaca 1440
 gaaatatctg ttcagaagggc agatcaacag gggacaggac ccagatcacg acacacatga 1500
 tgggtgatgt gtgttmtggg cgggtggcagc gataccagat ggggacagg acagacaggg 1560
 agcgmctcagt gctgatggca ctgagcatgc tcaggcctgt gatgtagaga accgttctga 1620
 tgggtgtcaaa gcaatggatg aagatactgt tgtgtgggag aaccttgaaa agatgcattg 1680
 tgggaatttat gatgtgacag agaagaaaga aggaagtcag ccagggccaa gtttaggatg 1740
 tagactaaga tggcattcct gtgaaatcgg aagccaggga tccagaatac aatggcattt 1800
 ccaatcagcc caaccagtcc gaagatgatg atcatcaagt gtgggataag ggtctcgatt 1860
 tcaatacttc cagagatggg ttcattccatt ggatttgttg tcgtgggtgc cattgctgag 1920
 gctgaggtgt ttaggggccag aaacctgca ctggtattgc tggaaacaca aacaagaaat 1980
 gaggccttca ctgtgaacac aacttttaat ttctttcttt ttgtttgttt gtttgtttgt 2040
 ttgtgggggt ttgttttttt ttttaatttt tttttgtatt agatatcttc ttcatttaat 2100

10

20

30

40

```

tttcaaagt tatccctttt cctgggtttt cccctccca gaaacccctt tctgactctc 2160
ccaccctctt caaccacac acccacttcc acctctctgc ccctgattcc cttacactgg 2220
agcatctata gaaccttcat aggttcaagg acctcttctt ccatccatgc aagacatggc 2280
catcatctgc tacatatgca tctggagcca cactgtactcc tttgttgatg gcttagtccc 2340
tgaggagttca ggggggtggg gtgggggtgg gggcagtggt ctcttggttc atactgttgc 2400
tcttcttatg gagcttcaaa ccacttcaac tccctcaggc ctttctctaa ctccctctatt 2460
agggaccctg tgcctcagttt aattgttggc tgctaaccatc agactctgca tttgaaaggc 2520
cctgacatgg cctcttagga aacagctata tcaggttcct gtcagcattc actccttgac 2580
atccacaata gtgtctgcat ttggttaactg tgtatgagat gaatccccag gtggaacatt 2640
ctctgggtga ctttctctt agtgtctgtt ctacacatta tctccatatt tgctcttgtg 2700
agtattttgt tcttcttcta agaaggtctg aaacaccac actttogtct tcttgtt 2758

```

<210> 73
 <211> 304
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

10

```

<400> 73
Met Asp Glu Thr Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Glu Thr Leu Ile Pro
 1          5          10          15
His Leu Met Ile Ile Ile Phe Gly Leu Val Gly Leu Thr Gly Asn Ala
 20          25          30
Ile Val Phe Trp Ile Leu Gly Phe Arg Phe His Arg Asn Ala Ile Leu
 35          40          45
Val Tyr Ile Leu Asn Leu Ala Leu Ala Asp Phe Phe Phe Leu Leu Cys
 50          55          60
His Ile Ile Asn Ser Thr Met His Leu Phe Lys Val Arg Pro His Asn
 65          70          75          80
Ser Ile Phe Ile His Cys Phe Asp Thr Ile Arg Thr Val Leu Tyr Ile
 85          90          95
Thr Gly Leu Ser Met Leu Ser Ala Ile Ser Thr Asp Arg Cys Leu Ser
100          105          110
Val Leu Cys Pro Ile Trp Tyr Arg Cys His Arg Pro His Thr Ser Thr
115          120          125
Ile Met Cys Val Val Ile Trp Val Leu Ser Leu Leu Ile Cys Leu Leu
130          135          140
Asn Arg Tyr Phe Cys Asp Leu Phe Gly Pro Lys Tyr Glu Ile Asn Ser
145          150          155          160
Val Cys Gln Ala Ser Glu Phe Phe Ile Arg Ile Tyr Pro Ile Phe Leu
165          170          175
Phe Val Val Leu Cys Phe Ser Thr Leu Thr Leu Leu Ala Arg Leu Phe
180          185          190
Cys Gly Ala Gly Lys Lys Lys Phe Thr Arg Leu Phe Met Thr Ile Met
195          200          205
Val Thr Ile Leu Val Phe Leu Leu Cys Gly Leu Pro Leu Gly Phe Leu
210          215          220
Trp Phe Leu Leu Pro Trp Ile Glu Gly Gly Phe Ser Ile Leu Asp Tyr
225          230          235          240
Arg Phe Phe Leu Ala Ser Leu Val Leu Thr Ala Val Asn Ser Cys Ala
245          250          255
Asn Pro Ile Ile Tyr Phe Phe Val Gly Ser Tyr Arg His Pro Leu Lys
260          265          270
His Lys Thr Leu Lys Met Val Leu Gln Ser Ala Leu Gln Asp Thr Pro
275          280          285
Glu Thr Pro Glu Asn Met Val Asp Ile Ser Arg Ser Lys Ala Glu Pro
290          295          300

```

20

30

<210> 74
 <211> 1738
 <212> DNA

40

<213> Mus musculus

<400> 74

caccacacac aaccaaatcc aatggacgaa accatcccct ggaagtattg acatcaagac 60
 cctgatcgca aatttgatga tcatcatctt cggactggtc gggctgacag aaactgcctt 120
 tgtgttctga ctccctgggt tccacttgca caggaacgcc ttcttagtct acatcctaaa 180
 cttggccctg actgaactcc tcttctctct ctgtcacatc ataaattcca cagtgtattct 240
 tctcaatgtt cccctaccta acatgatctt ggtccattgc tttagcacca tcagaatatt 300
 tctcaacatc acaggcctaa gcattctcag tgcacatcag actgagcgct gcctgtctgt 360
 cctgtgcccc atctggatc gctgccacca ccagaaacac acatcaactg tcatgtgtgc 420
 tgtgatctga gtccctgtcc tgttgatttg cactotgtat agatatttct gttttttctt 480
 tgggtccaaa tatgtatttg actctgtgtg tctggcaacg acctacttta tcagaacata 540
 cccaatgttt ttgtttatgg tctctgtctt gtccactctg gctctgctgg ccagggttgtt 600
 ctgtggtgct gggaagamra aattttaccag gattattcgt gaccatcatg ctgacygttt 660
 tgggtttttct tctctgtggg atgcccctag gcttcttctg gttcgtgttc ccatggatta 720
 actgtgattt cagtgtacta gattatagac tttttctggc atcaattgta ctaactgctg 780
 ttaacagtta tggcaacccc atcatttact tcttcgtggg ctcttcagg aatcgggtga 840
 agcaccagac cctccaaaag gttctccaga gtgcactgca cgacactcct gagacacctg 900
 aaaacatggt agagatgtca agaagcaaag cagagccatg atgaagagtc tctgacagga 960
 cttcagaggt ggcttttgag tgagcactgc cctgctgcac ttaaccacac tccactctcc 1020
 tctcagctta ctgactatgg atgcctcagt ggtccaacaa tgccttcaaa agctctccac 1080
 tgacttagta tttctacctc tcccaagtaa tagcattaat cagaaagtac catgtctgca 1140
 tcttcttga catiaatcca attctcatc taacttcac tgtaacttct ttgctgtttc 1200
 tttggaactt ttgttaccat agtaaatgccc taggtccagc accatgattc ccttgtctgt 1260
 gattgttctg taactacctg aatgtaaagc aaagtagcca ggagatgttc ctgtgttycca 1320
 gtgctcatta cccaaacacc accaagaaag cttgtctccc aggagtgcag acaagcctgt 1380
 gaacacaggt aagaccacca cttctgctta aaggggcatg cctggaaccc tcaggacaca 1440
 ggaacagagg agcagcctgg gacaggatc ttccagtttc caactgcact ccagagctga 1500
 cctgtgtcca cagctctcca tacccaaatt cctccagaa agaattggtg taccaggagt 1560
 actgacacac aggccttcag aaggaacaag ccacagtcaa agttagcaag acctgtctaac 1620
 accagagata accagatggc aagacacaag ggcaaaaaa taagcaatgg gaaccaagac 1680
 tacttggcat catcagaaac tagttctctc aacatggtga gccatggata cttcaaca 1738

<210> 75

<211> 303

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 75

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

10

20

30

40

Met Val Leu Cys Leu Ser Thr Leu Ala Leu Leu Ala Arg Leu Phe Cys
 180 185 190
 Gly Ala Gly Lys Lys Lys Phe Thr Arg Leu Phe Val Thr Ile Met Leu
 195 200 205
 Thr Val Leu Val Phe Leu Leu Cys Gly Met Pro Leu Gly Phe Phe Trp
 210 215 220
 Phe Val Phe Pro Trp Ile Asn Cys Asp Phe Ser Val Leu Asp Tyr Arg
 225 230 235 240
 Leu Phe Leu Ala Ser Ile Val Leu Thr Ala Val Asn Ser Tyr Gly Asn
 245 250 255
 Pro Ile Ile Tyr Phe Phe Val Gly Ser Phe Arg Asn Arg Leu Lys His
 260 265 270
 Gln Thr Leu Gln Lys Val Leu Gln Ser Ala Leu His Asp Thr Pro Glu
 275 280 285
 Thr Pro Glu Asn Met Val Glu Met Ser Arg Ser Lys Ala Glu Pro
 290 295 300

10

<210> 76
 <211> 1011
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<400> 76
 aagaggaaac acatatattt gggatgttaa ccaagggttt ctatagggaa caatggaaaa 60
 ctgttcactt caagattaca gtttagctgc atgattaaac tttaaattga cattaacatt 120
 taattactgg gtittataaa ggtcctgaga tatttaaggt tggattgtct ttatatattat 180
 gatattaata tgcttagaac aaagaaagaa aagtttattg ttcaatgggt aagtgtcttt 240
 taaatagaag tgggcagagt gtcctggcaa acctcaattt ttaccttgac acagattaaa 300
 gtcgtatgag aggagaaatc acaacagcag aaatgacaac tgaggaattg tctagattat 360
 cttggcctgt gggcatgatt atgaggaatt atctttaaca taaattaatg taagcaaaca 420
 tggctcatgg taggttgcac caataagcta cttaagcagg acctgtaatc atccagaatt 480
 ggagcttgga aggagtgttt cttgtagata ctgttccttg tgttccttga gttcctgaca 540
 tgacttccct cactgatgga gtctgtacta agagtataag ccagataaacc ctttttattt 600
 tctaggatgt ttgtgggtcaa aatgttttcc catgaaacag aaaaggaaac tagaacatgc 660
 acaaattacc taacagatat ttattaagtt agagaatatt ctaagttata caaatactaa 720
 aggaactac aaatgtggat ctattaaatt cttattttaa caaatctgt agagatgata 780
 aattgtttaa aatgtcataa attttcaatc actatcaagt tcagttacca atgaaattca 840
 gttattaact gaaaactcct gatctttgga tgaagaagg gcttgtcaaa aatgggagca 900
 gtcttggacc tataattatt acagtgggtc tcattctcaag gggatccagt gaagtgtcat 960
 taagaggaga gtaggaaagt tcaacatagt atttctatta aaagtgggtg a 1011

20

<210> 77
 <211> 274
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

30

<400> 77
 Leu Leu Ser Ile Ile Ile Ala Phe Ile Gly Leu Ala Glu Asn Ala Ile
 1 5 10 15
 Val Leu Trp Leu Leu Gly Phe His Met His Arg Asn Ala Phe Ser Val
 20 25 30
 Tyr Ile Leu Asn Ala Gly Ala Asn Phe Leu Phe Leu Cys Pro Tyr Ile
 35 40 45
 Val Phe Ser Leu Val Thr Ile Thr Val Asn Phe His Ser Ile Asn Ser
 50 55 60
 His Ile Ile Leu Phe Leu Asn Thr Val Phe Thr Leu Ala Tyr Leu Ala
 65 70 75 80
 Gly Val Ser Met Ile Thr Ala Ile Ser Val Glu Tyr Trp Leu Ser Val
 85 90 95
 Ile Trp Ser Asn Trp Tyr His Gly Arg His Pro Lys His Thr Ser Ala

40

```

      100      105      110
Phe Ile Cys Thr Leu Leu Trp Ala Val Ser Leu Leu Leu Ser Leu Pro
      115      120      125
His Glu Ile Ile Cys Gly Leu Leu Asp His Ile Tyr Asn Trp Asp Met
      130      135      140
Cys Trp Lys Cys Lys Leu Ile Ile Val Val Trp Leu Leu Ile Glu Phe
      145      150      155      160
Val Val Leu Ser Gln Ser Asn Gln Ala Met Met Phe Arg Ile Phe Cys
      165      170      175
Gly Ser Gln Gln Thr Pro Met Thr Arg Leu Phe Val Thr Ile Val Leu
      180      185      190
Thr Ala Leu Val Val Leu Ile Cys Gly Phe Pro Leu Gly Ile Tyr Ile
      195      200      205
Tyr Phe Leu Tyr Trp Thr Thr Asp Val Tyr Phe Ile Met Pro Cys Asn
      210      215      220
Ser Phe His Glu Thr Ile Leu Leu Leu Ser Ala Val Asn Ser Cys Ala
      225      230      235      240
Asn Pro Ile Ile Cys Leu Leu Val Gly Ser Ile Lys His Cys Gln Phe
      245      250      255
Gln Cys Gly Thr Leu Arg Leu Ile Leu Gln Arg Ala Ile Gln Asp Thr
      260      265      270
Pro Glu

```

```

<210> 78
<211> 1358
<212> DNA
<213> Mus musculus

```

```

<400> 78
taaattactg aatctctgtg atcctgattc cctctcttta tggacctgtg cctgacatac 60
ccacatagtc acatggctcct gacagaaact atcatgtgtt catatctcta tgtcttttca 120
ggaatgtcag tggaaaattc ctaagcatgg gtacaactag cctggcctgg aacattaaca 180
acacagctga aatggaagc tacactgaaa tgtctcctg tatcaccacg ttcaataccc 240
tgaattttct tactgtcabc attgctgtgg ttgtcctggc aggaaattcc atagtgcctat 300
ggcttctagc cttccacctg cacaggaatg ccttcttctg ctatgtcctc aatctggctg 360
gtgctgattt cttgtacctt tgcactcaga ttgtgtattc cctggagtggt gtcattcagt 420
ttgataaaag ctctctttat attctcctca ttttatcaat gtttgcttac cttgcaggat 480
tgagtatgat tgcaaccatc agtactgagc gctgcctate tgttatgtgg cccatctggt 540
atcactgccca aagaccaaga cacacatcag ccatcatgtc tgttctgctc tgggtttttc 600
ctatactggt gagcctcctg gtaggactag gctgtggttt tctgttcaga tattctgaat 660
attatttctg tattactttg aactttatca ctgctgcatt tatcataggg tttatctgtg 720
ttctttctgt atctagcctg accctgttgg tcaagatcat ctgtggatca cacaggatac 780
ctgtgaccag gttgtttgtt accatttgcct ctcacagtgg tgggtcttcat aatcttttggc 840
atgccctctg gaatctgctg gttcctcttt ccaagtatta ttgagtttca taaaattttc 900
totaacaatt tttatgaaat gatagcattc ctgtcatgta ttaatagttg tgccaatccc 960
atcatttact tccttgttgg ctctattagg caccacaggt tgaaatggca gtctcttaag 1020
ctacttcttc agagagccat gcaggacact cctgaggaag tgagtggaga gaggggtcct 1080
tcagaaaggt ctggggaact ggaaagagtc tagtgcaagta gtggagttag tccttgatca 1140
gatatagttt ctctgagagt caattttgac tttatctatt taggcaattt tcacagcttt 1200
gttcaatcag tagagaaaat agtcatttta tagaaattag gaggaacagg cttgtttacac 1260
agaaactgac ttgcagcacc ataaagctgc cttatgtggt gctcagtcca tcccctcgtg 1320
atataagcct tgtaatcact tggggccaga acagctcc 1358

```

```

<210> 79
<211> 268
<212> PRT
<213> Mus musculus

```

```

<400> 79

```

10

20

30

40

Phe Leu Thr Val Ile Ile Ala Val Val Val Leu Ala Gly Asn Ser Ile
 1 5 10 15
 Val Leu Trp Leu Leu Ala Phe His Leu His Arg Asn Ala Phe Phe Val
 20 25 30
 Tyr Val Leu Asn Leu Ala Gly Ala Asp Phe Leu Tyr Leu Cys Thr Gln
 35 40 45
 Ile Val Tyr Ser Leu Glu Cys Val Ile Gln Phe Asp Lys Ser Ser Phe
 50 55 60
 Tyr Ile Leu Leu Ile Leu Ser Met Phe Ala Tyr Leu Ala Gly Leu Ser
 65 70 75 80
 Met Ile Ala Thr Ile Ser Thr Glu Arg Cys Leu Ser Val Met Trp Pro
 85 90 95
 Ile Trp Tyr His Cys Gln Arg Pro Arg His Thr Ser Ala Ile Met Ser
 100 105 110
 Val Leu Leu Trp Val Phe Ser Ile Leu Leu Ser Leu Leu Val Gly Leu
 115 120 125
 Gly Cys Gly Phe Leu Phe Arg Tyr Ser Glu Tyr Tyr Phe Cys Ile Thr
 130 135 140
 Leu Asn Phe Ile Thr Ala Ala Phe Ile Ile Gly Leu Ser Val Val Leu
 145 150 155 160
 Ser Val Ser Ser Leu Thr Leu Leu Val Lys Ile Ile Cys Gly Ser His
 165 170 175
 Arg Ile Pro Val Thr Arg Leu Phe Val Thr Ile Cys Phe Thr Val Val
 180 185 190
 Val Phe Ile Ile Phe Gly Met Pro Leu Gly Ile Cys Trp Phe Leu Phe
 195 200 205
 Pro Ser Ile Ile Glu Phe His Lys Ile Phe Ser Asn Asn Phe Tyr Glu
 210 215 220
 Met Ile Ala Phe Leu Ser Cys Ile Asn Ser Cys Ala Asn Pro Ile Ile
 225 230 235 240
 Tyr Phe Leu Val Gly Ser Ile Arg His His Arg Leu Lys Trp Gln Ser
 245 250 255
 Leu Lys Leu Leu Leu Gln Arg Ala Met Gln Asp Thr
 260 265

10

20

<210> 80
 <211> 2387
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<400> 80
 gggcctgagg cacaaacctc tcgggctggc agatccctgc gcactcacca tgtaagggtg 60
 ccggttgctt ggacgaggaa ttatctttaa cacatgttaa tgcaagcaaa catggcctat 120
 ggtaagttgc accaaaaagc tacctaagca ggacctgtaa ccaatccaga attgcagcta 180
 ggaaggagag ttctctgtag acaactgttc ttgtgctgct tgagtittctg acatgacttc 240
 cttcactgat ggactctgta ctgagaggat aagccagata acccatttta tctcctagga 300
 tgtttgtggt caaaatgttt tcccatgaaa tagaaaagga aactagaaca ggcacaaatt 360
 gcctaaaaga tatttattaa gttagagaat attctaagtc atacaaatac taaaggaaac 420
 tacaaatgtg gatctattaa attcttattt atcatctgta gagatgataa attgttaaaa 480
 atgtcatata cctttcatca ctatcaagtt cagtgaccaa tgataatcag ttattacctg 540
 aagactattg atctttggat gaagaagggg cttgtcaaaa atgggagcag tcttggaacc 600
 ataattatta cagtgggtct catctcaagg ggatccagtg aagcgtcatt aagaggagag 660
 taggaacggt caacacacta ttctatttaa aagtgtgtga ctgacttact ttcaaggga 720
 tggttaatat cccaactgat ttacacctcag gccatcaact cagcagggtt gtagaaatgc 780
 cccaaaagga taagggcaaa ttgttctat aagttctctt gtgtatcatc acagcagctc 840
 tcagttgcat cactagagtg tagtactctc ttcatcttct tcaactcctt cttgttttac 900
 aacttcttca acttcttcat cttcttctct agggctctct tgaatggctc tctgaagaat 960
 cagcctgaga gtccacacact ggaattggca gtgcttaatt gagccaacaa ataagcaaat 1020
 gataggattg gcacagctgt taacaccgga tagtaggaga attgtctcat aaaaataacc 1080
 acaaggcata attgaattct cttcttctct ccagtaaaag aagcatatgc caatcccaaa 1140

30

40

```

gccacagatc aagacgacca gtgctgtaag cataatggtc acaagcagcc tggtcacagg 1200
tgtctgtctgt gaaccacaga agaccctgaa cagcagggct tgattggatc tagaaagaac 1260
cacaataaaa acaagtaacc atacaactat gatgagagca agtttccaac acatatccca 1320
gttataaata taatccagca ctttacaat tatccaattc caaaggggtca acagaagggg 1380
aaaaaaccca gagcagagta caaatgacag ttgatgtgtg ttttgggctg tgggcatgat 1440
accaagttgg ccaaaggaca gacaaccagt actccacact aatggctgtg atcatgctca 1500
cccttgcaag gtatgccagt atggtcacat tgacagaaaa caacgcccac gtgaatgtcg 1560
atgtagtgaa actgcctaata gagattttcc agggaaaata caatgtgagt gcagaggaag 1620
aggaagtttg cccagacag gtgaagatg tagacagaga aggcattcct gtgcattgtg 1680
aagcccagaa gctgcagcac tatgacattt cctgtcagtc caatgatggc aatgataatg 1740
gaaagcaaac tcatggcaag ggacatgtca caagatgaag attccatgaa gtagctttca 1800
ttctgtttct tgaattcaat attccagtct gggaagcttg aatccatgtt tgggaacact 1860
cctggaataa aaaacaagac ataatcgcat gctttgcatt ctctaattca caagaccacc 1920
ctgatatttg taagctgata tggcacaaaa tgatggaaaa tgagcttaag aaatttatca 1980
aaaccagtat gtttagagac ttctttttaa accagtctga atttatttgg gttatctaca 2040
atccatgtca tgtactaaca cgaatgtagt tgatgggtcca agtatacacc ccaagtgtct 2100
catgttgtgt ggagaaatga aatggaacac tgaacctgta ggggtttgag tataatggca 2160
tccatcaatc catacatttg aatatacagt cactgttttg tggaaactgt tggagaaggg 2220
ttatatgtag ggtaattct gatgctaagg tcctgctccc caatcagtta ttgatattgt 2280
gctaagaaa gacattggcc ctctgctggt caggggggag ggcaaagggg gatttacagg 2340
actttgggta cctggagtca agcagagaga tgcaagagag gaaagga 2387

```

```

<210> 81
<211> 273
<212> PRT
<213> Mus musculus

```

```

<400> 81
Leu Leu Ser Ile Ile Ile Ala Ile Ile Gly Leu Thr Gly Asn Val Ile
1 5 10 15
Val Leu Gln Leu Leu Gly Phe His Met His Arg Asn Ala Phe Ser Val
20 25 30
Tyr Ile Phe Asn Leu Ser Gly Ala Asn Phe Leu Phe Leu Cys Thr His
35 40 45
Ile Val Phe Ser Leu Glu Ile Ser Leu Gly Ser Phe Thr Thr Ser Thr
50 55 60
Phe Thr Trp Ala Leu Phe Ser Val Asn Val Thr Ile Leu Ala Tyr Leu
65 70 75 80
Ala Gly Val Ser Met Ile Thr Ala Ile Ser Val Glu Tyr Trp Leu Ser
85 90 95
Val Leu Trp Pro Thr Trp Tyr His Ala Gln Arg Pro Lys His Thr Ser
100 105 110
Thr Val Ile Cys Thr Leu Leu Trp Val Phe Ser Leu Leu Thr Leu
115 120 125
Trp Asn Trp Ile Ile Cys Lys Val Leu Asp Tyr Ile Tyr Asn Trp Asp
130 135 140
Met Cys Trp Lys Leu Ala Leu Ile Ile Val Val Trp Leu Leu Val Leu
145 150 155 160
Phe Val Val Leu Ser Arg Ser Asn Gln Ala Leu Leu Phe Arg Val Phe
165 170 175
Cys Gly Ser Gln Gln Thr Pro Val Thr Arg Leu Leu Val Thr Ile Met
180 185 190
Leu Thr Ala Leu Val Val Leu Ile Cys Gly Phe Gly Ile Gly Ile Cys
195 200 205
Phe Phe Tyr Trp Lys Lys Glu Asn Ser Ile Met Pro Cys Gly Tyr
210 215 220
Phe Tyr Glu Thr Ile Leu Leu Leu Ser Gly Val Asn Ser Cys Ala Asn
225 230 235 240
Pro Ile Ile Cys Leu Phe Val Gly Ser Ile Lys His Cys Gln Phe Gln
245 250 255
Cys Gly Thr Leu Arg Leu Ile Leu Gln Arg Ala Ile Gln Glu Ser Pro

```

10

20

30

40

260 265 270

Glu

<210> 82
 <211> 1319
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<400> 82

```

tttataaacc aggtcagtaa ttaccacata gcaggatggt cctgaatcag aaagaacata 60
gcatgtgctc attgttttgt ttatttttgt ccagaaatag tactggagac ttcctaaaca 120
aggatctaag catctcaacc ttggaagcta actccagaac atctactgaa occaatgata 180
cttcagggttg tggcatcaag ttccaaacca agatgttgct ttcctcatt tccctgtttg 240
ggatgggtact aaatcccata gtgctgtgat tgctgagcct ccagggtgcac aggaatgcct 300
tgtttgtcta catcctcaac cttgctgtgg ttgacathtt cttccgggtt gatcagtttg 360
catttttgtt ttttgttatt atttacctt tcaagtcctat ttccaatgat atccatcat 420
tttttatttt tgtgccagca tttctgtatc ttttaagcct gagcattctc ataaccatta 480
gcattgaacg atgcctgtat gtcattgtgg ccactctgga tcaactgtcaa tgtccaagac 540
acacatcagc tgtcatttgt gtctgtgctt gggctctgtc ccttgtgttt atgtttcttg 600
atgggaaggc atattttttta ctgttttctg accctaactc tttttggtat cagacatttg 660
atatcatcat tactgtatag acaattgttt tatttgggtt tctctgtggg tccagcttaa 720
tctacttgtt cagaatcttc tgtggctccc agcagatccc tgtaaccagg ctggatgtga 780
tcattgcact cagagtgcct ttcttcttga tatttagttt tcccttttgg atctactggc 840
tccttgacca acggattggg agacgttgta attttttgat gaaatgattt tcttatcctg 900
tattaagagc tgtgtcaact ccatcattta ctttctgttt gcctccatta tgcacagtag 960
tggattcaag gtgaagagtc tcaaaactatt tocagagaga gccatgcagg acattcctga 1020
agaaggagaa ggtgttgaga atagttctta aggaatcat gaagaactgg agaaatctag 1080
tgcagcagac gacagctact ttgattagac agagtggctg tttttcttat ctttgtggac 1140
taatttaatg accttattca gtttgttact taatcttcaa tcagttaaaa atgacaatca 1200
tttttgtaat agttgaaaga tacagtactt gtcacacaaa tattaactgt gccatttctc 1260
ttgctgtgtt tttgaggcct ttaccatttc cttttgatgg gagtacttgc aagtattct 1319

```

10

20

<210> 83
 <211> 264
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 83

```

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

```

30

40

```

      165      170      175
Pro Val Thr Arg Leu Asp Val Ile Ile Ala Leu Arg Val Leu Phe Phe
      180      185      190
Leu Ile Phe Ser Phe Pro Phe Trp Ile Tyr Trp Leu Leu Asp Gln Arg
      195      200      205
Ile Gly Arg Arg Cys Asn Phe Leu Asn Glu Met Ile Phe Leu Ser Cys
      210      215      220
Ile Lys Ser Cys Val Asn Ser Ile Ile Tyr Phe Leu Val Ala Ser Ile
      225      230      235      240
Met His Ser Ser Gly Phe Lys Val Lys Ser Leu Lys Leu Phe Pro Glu
      245      250      255
Arg Ala Met Gln Asp Thr Pro Glu
      260

```

```

<210> 84
<211> 2349
<212> DNA
<213> Mus musculus

```

```

<400> 84
tttctttctg agaatagtt tgttttaaaa taggaatttt aaaacagctt gagacactga 60
gagttttatac tgggaaccatc aactactcta atgtcaatac aggataatggg ttgtagataa 120
cccaaatata tatgaatgat atattttaa ataggctcca gaaatattga ttttgataaa 180
ttgtctcatg tctaccaccc tgtttcaccoa ttttaagaac taggtaaacc gtaacatct 240
ataatgggtga tcttaagaat cagagaacaa aaagcatgtg ttcattgtctt gtttttcttt 300
ccagaacatc cagtgggaagg gatctaagag tggattcaaa cataacatac tggggaacaa 360
acatcacagc tgtgaatgaa agcaaccaya ctggaatgtc attttgtgaa gtctgtgtctt 420
gtaccatgkt ttttctttcc ctcatgtgtg ccctagttgg gctgggttgg aatgccacag 480
tgctgtgggt cctgggcttc cagatgcgca ggaatgcatt ctctgtttac atcctcaacc 540
tcgtgtgtgc tgactttctc ttcatttgct tcaaaattgg atattgtttt cacatgatct 600
tggacattga ttccatcccc attgaaattg atctgtttta ccttgttgtg ttaaaacttc 660
cttatttttg tggcctgagt atcctcagtg ctattagcat tgaacgttgc ctgtctgtca 720
tgtggcccat ttggtatcac tgccaacgcc caaggcacac atcagctgtc atatgtaccc 780
tgctttgggt ctgttcccca gtgtgtagcc tcttgggaagg gaaggaaagt ggcttccbat 840
attacactag tgacctgggt tgggtgaaga catttgattt aatcactgct acatggttaa 900
ttgttttatt tgtagctctc ttgggatcca gtctggcctt agtgattacc atcttctggg 960
gcttacacaa gattcctgtg accaggctgt atgtggccat tgtgttcaca gtgcttgttt 1020
tcctgtctct ttgtctgccc tatggatctt actgggtctt cttagtgtgg attgagaaat 1080
tttattatgt ttaccttgtt agtatatac cggtcacagt atttctctcc tgtgttaaca 1140
gctctgcaaa acccatcatt tattgccttg taggctccat taggcatcat cgatttcaac 1200
ggaagactct caagctattt ctgcagagag ccattgcaaga cactcctgag gaggaagaat 1260
gtggagagat gggttctcca ggaagatcta gagaaataaa aacaatctgg aaaggactga 1320
gagctgcttt gatcaggcat aaagagctct gaagagaact atgtttttat cactttgttg 1380
cattttcata acgttggtta gttgatgacc caagggttaac tcagttggga aagtagtcaa 1440
tgttgtagaa gttgattgat attggacttg ttacaataac tgggtacaac atttctgcag 1500
ctatcttgct cagggtttta ccaacttctt ttgatgttac tcttgcgaag ctctgtgggg 1560
tccaggaaag ctgttgacca caattgataa atcccttctt cagaagaaag cttaagaaag 1620
tacaggaaag ggttgcatth cttaactcac ttaacttgat agtggataaa ttcatgttat 1680
attttgcaaa aaaattatth tgtttcaagg caaacttttc ttcagtgttg aagggttaa 1740
tagatacatt atataatccc agactttatt aatttctgta tgttttaaa aatatgtgga 1800
gcaatagttt ttcttatata catttcttaa taaagaagta aacattctca agagaagtgt 1860
taaacatcca tgtacatagg aagggtgcagt gtctctgtgt gttctattca cagtttctct 1920
tttagcatcc catagttgag tattgtcttt gatatgatcc tcatgtctc tgactgtgta 1980
atccctcatg aaaagtttcc aatgaggtcc tctataaaga ctcccttgaa atacaactta 2040
ttttaaattt ataccatttc aaggagccca cagcatctat taacttagct atatgcacag 2100
tttagtaaaa tttttataaa aataatattc cttttataaa gctgcagtaa taatttcaat 2160
ttttctacaa ttaagagaat aaaatatcaa caaattaaat aaaactaatc agtaggtttt 2220
cttaagttaa tgtagctgca tgactctgta cctaatacaag acacaaaata ctacactata 2280
tcttttaatt ttcatttctt ctctgtcat aattttatat cacagataaa tatgataacc 2340
atacttctg
2349

```

10

20

30

40

<210> 85
 <211> 273
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 85
 Phe Leu Ser Leu Ile Val Ala Leu Val Gly Leu Val Gly Asn Ala Thr
 1 5 10 15
 Val Leu Trp Phe Leu Gly Phe Gln Met Arg Arg Asn Ala Phe Ser Val
 20 25 30
 Tyr Ile Leu Asn Leu Ala Gly Ala Asp Phe Leu Phe Ile Cys Phe Gln
 35 40 45
 Ile Gly Tyr Cys Phe His Met Ile Leu Asp Ile Asp Ser Ile Pro Ile
 50 55 60
 Glu Ile Asp Leu Phe Tyr Leu Val Val Leu Asn Phe Pro Tyr Phe Cys
 65 70 75 80
 Gly Leu Ser Ile Leu Ser Ala Ile Ser Ile Glu Arg Cys Leu Ser Val
 85 90 95
 Met Trp Pro Ile Trp Tyr His Cys Gln Arg Pro Arg His Thr Ser Ala
 100 105 110
 Val Ile Cys Thr Leu Leu Trp Val Leu Ser Leu Val Cys Ser Leu Leu
 115 120 125
 Glu Gly Lys Glu Cys Gly Phe Leu Tyr Tyr Thr Ser Asp Pro Gly Trp
 130 135 140
 Cys Lys Thr Phe Asp Leu Ile Thr Ala Thr Trp Leu Ile Val Leu Phe
 145 150 155 160
 Val Ala Leu Leu Gly Ser Ser Leu Ala Leu Val Ile Thr Ile Phe Trp
 165 170 175
 Gly Leu His Lys Ile Pro Val Thr Arg Leu Tyr Val Ala Ile Val Phe
 180 185 190
 Thr Val Leu Val Phe Leu Leu Phe Gly Leu Pro Tyr Gly Ile Tyr Trp
 195 200 205
 Phe Leu Leu Val Trp Ile Glu Lys Phe Tyr Tyr Val Leu Pro Cys Ser
 210 215 220
 Ile Tyr Pro Val Thr Val Phe Leu Ser Cys Val Asn Ser Ser Ala Lys
 225 230 235 240
 Pro Ile Ile Tyr Cys Leu Val Gly Ser Ile Arg His His Arg Phe Gln
 245 250 255
 Arg Lys Thr Leu Lys Leu Phe Leu Gln Arg Ala Met Gln Asp Thr Pro
 260 265 270
 Glu

10

20

<210> 86
 <211> 1313
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

30

<400> 86
 tttatattaat tatittgtta ttgttgtttc aggtagcaag tatttcctaa gcatgggata 60
 tagacatttc gagcctgggc atttacatca tagcaccgaa tggaagcagc tacactaata 120
 gtgttgattg ttctttcaaa atccaagtca tgggttttct ttccctcatc atttccctg 180
 ttgggatggg attaaattcc acagtgtgtt ggtttctggg cttccagata cgtaggaatg 240
 ccttctctgt ctacatcctc aacctggccg gggctgactt tctcttctg cactctcagt 300
 ttttatttta ccttcttgct atttttccct ccatttctat ccagatccct ctcttttttg 360
 atatgttgac aaaatttgca tatctttctg ggctgagcat tctcagcacc attagcattg 420
 agcgctgcct gtgtgtcatg tggcccatct ggtaccgctg tcaaagacca agacacacat 480
 catctgtaac ctgttctctg ctttgggctt tgtccctgtt gtttgctctt ctggatggga 540
 tgggatgtgg cttactgttt aatagttttg accagtcttg gtgtttgaaa tttgatttaa 600

40

```

tcatttgtgc gtggtcaatt gttttatttg tgggtctctg tgggtccagt ctcacccac 660
ttgttaggat cttctgtggc tccagcaga tccctgtgac caggctgtat gtgaccattg 720
cactcacagt gttattcttc ctaatctgct gtctccctt tggaaatctc tggatcatcc 780
aatggagtga aactttgata tatgttgat tttgtgatta ttttcacgag gaactattcc 840
tatctgttat taacagctgt gccaaccccta tcatttactt cttgttggg tttattcgtc 900
agcgaagatt ccaacagaag tctctgaagg tgcttcttca aagagcgatg gaggacactc 960
ctgaagaaga aaatgaagac atgggtcctt caagaaatcc agaagaattt gaaacagtct 1020
gtagcaactg agaggttctt tgatcagaca gaaatgggtt ttttagagaaa aaaatttttt 1080
ctcatttctg tgggcccattt toacagtttt gyacagtttg tttcctgata ttcaatcagt 1140
taaaaaataa gcatttttgt gaaagtggat agatacaaga cttgtcatac aaatactgac 1200
tgtagtattt ttggagctgt tactcagact ttcacatctt ctttttgatg ggattccatg 1260
taagtgtctg gagttgagga gatgtgttga ccactattga caaagccctc att 1313

```

<210> 87

<211> 270

<212> PRT

<213> Mus musculus

10

<400> 87

```

Phe Leu Ser Leu Ile Ile Ser Pro Val Gly Met Val Leu Asn Ser Thr
1      5      10      15
Val Leu Trp Phe Leu Gly Phe Gln Ile Arg Arg Asn Ala Phe Ser Val
20      25      30
Tyr Ile Leu Asn Leu Ala Gly Ala Asp Phe Leu Phe Leu His Ser Gln
35      40      45
Phe Leu Phe Tyr Leu Leu Ala Ile Phe Pro Ser Ile Pro Ile Gln Ile
50      55      60
Pro Leu Phe Phe Asp Met Leu Thr Lys Phe Ala Tyr Leu Ser Gly Leu
65      70      75      80
Ser Ile Leu Ser Thr Ile Ser Ile Glu Arg Cys Leu Cys Val Met Trp
85      90      95
Pro Ile Trp Tyr Arg Cys Gln Arg Pro Arg His Thr Ser Ser Val Thr
100     105     110
Cys Ser Leu Leu Trp Ala Leu Ser Leu Leu Phe Ala Leu Leu Asp Gly
115     120     125
Met Gly Cys Gly Leu Leu Phe Asn Ser Phe Asp Gln Ser Trp Cys Leu
130     135     140
Lys Phe Asp Leu Ile Ile Cys Ala Trp Ser Ile Val Leu Phe Val Val
145     150     155     160
Leu Cys Gly Ser Ser Leu Ile Leu Leu Val Arg Ile Phe Cys Gly Ser
165     170     175
Gln Gln Ile Pro Val Thr Arg Leu Tyr Val Thr Ile Ala Leu Thr Val
180     185     190
Leu Phe Phe Leu Ile Cys Cys Leu Pro Phe Gly Ile Ser Trp Ile Ile
195     200     205
Gln Trp Ser Glu Thr Leu Ile Tyr Val Gly Phe Cys Asp Tyr Phe His
210     215     220
Glu Glu Leu Phe Leu Ser Cys Ile Asn Ser Cys Ala Asn Pro Ile Ile
225     230     235     240
Tyr Phe Leu Val Gly Phe Ile Arg Gln Arg Lys Phe Gln Gln Lys Ser
245     250     255
Leu Lys Val Leu Leu Gln Arg Ala Met Glu Asp Thr Pro Glu
260     265     270

```

20

30

<210> 88

<211> 1883

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 88

40

```

cgtgtgccac caccaccaac aggtgggaca tttcttaaag tatactattc atttaattctt 60
tatcaagttt aattaccaaa gcaattotga cacttcttgc actaccttga tcttttctct 120
gagggaggca tttgttccca gtgagagctg ttctgacccc aagagattac aagggttaca 180
tcacaagggg gtgcagtaag gcatacataa ggcagtttga tgggtgctga gtgaatttct 240
gagtaacaag ctccatttct cctaatttga ataaaaatgac tattttctctt accaattaaa 300
caagattgtg aaaactgcct acatagataa aagcaaaaatt gactctcaga gaaactatgt 360
ctcatcaagt actctttcaa agcctgcact agactcttct cagttcccta gcctttgtga 420
aggacccctc tctctctctt tttctcact actgtcctac atgggttctct gcagaagttg 480
cttcaaacctc tgacatttga acctacgggtg cctaacagag ccaaggagag agtaataaat 540
gggatttgca cagctgttaa cacaggaatg ctatcacttc aaaaacattg tatgagaaca 600
tgctatgtaa gtccataaac attgtcaaga ggaatgtgca gattccaatg ggcataccaa 660
agaatatgaa gaccatcaat gtgagggcaa tggacacata gaacatgggtc acaggaatcc 720
tgagtgtatc acagaacatt tgacaaacag ggccaggcta gacacaaaak aaaccacaga 780
taatactatt atcaatgcag tagygatata gtggcatrta atacagaaat tgtgttcwta 840
ataacttaac agaagccac agccttgttc aaasrgaagg atcarcagta tagagaaaac 900
ccagagcaga gcacacatga cagctgatgt gtgtcttgggt cttcagcagt .gataccagat 960
gggacacata acagataggc agtgcctcagc actgattgtt gmaatcatac acaaacctgc 1020
aagtttaagca atcataaatc ctgtgaggat aaaatgatag tagatcataa gtatcttaag 1080
gaaacactgc aggggaatgt acaaactgtg tgcaaatttg caagaaatca gcacaagaca 1140
ggtttaagac atagacagag aaggcattcc tatgcagggtg gaaggctaga agccatagca 1200
ctatggcatt tctgtccagg ccaagcacag caatgatgac aataagaaaa ttgaatgtgg 1260
tgaaacagga taaatttttc agtgcattaa ctccatttga cttctgtgtt tttaaatttc 1320
cattccagggt tgggttgatc catgcttagg aattttccac tggcattcct gcaaagaaat 1380
agagatatga atctagggtg ctctttgtag ggactatgtg actatgtagg aatgtatggc 1440
acaggtacat aaggaggagag aaacaggatc acagagatta agtaatttac caacattcca 1500
aaagtgtctc acatttttga aatccatttt gtactattca gtctaactgc agaccagtat 1560
gatgtaagggt agtttgatgt ccagttacag ttgctagcca tttatttcag gttatgtgag 1620
gaagagacag aactctgaaa ccaacattct ttttgttcta gggctgagat ttcttctctg 1680
gtgtaggaaa atggaagttc ttggtgcaag ccatactctc cctcagtcac tgggaggaat 1740
ctatcaaaaa ggcaaaatag aatcatgaat gagagtcatg aatgagattc acgaagggaa 1800
tggtacttgc tatgaagacc tgtaggggaa tagccatgct tcttatgctt gaaagggtag 1860
ttgtctcattt aacaatttta aaa

```

<210> 89

<211> 263

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 89

```

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

```

10

20

30

40

Pro Val Thr Met Phe Tyr Val Ser Ile Ala Leu Thr Leu Met Val Phe
 180 185 190
 Ile Phe Phe Gly Met Pro Ile Gly Ile Cys Thr Phe Leu Leu Thr Met
 195 200 205
 Phe Met Asp Leu His Ser Ser His Thr Met Phe Leu Lys His Ser
 210 215 220
 Cys Val Asn Ser Cys Ala Asn Pro Ile Ile Tyr Ser Leu Leu Gly Ser
 225 230 235 240
 Val Arg His Arg Arg Leu Gln Cys Gln Ser Leu Lys Gln Leu Leu Gln
 245 250 255
 Arg Thr Met Asp Ser Ser Glu
 260

<210> 90
 <211> 1219
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

10

<400> 90
 ttataaatga ttttattaag ccatattgac aataatatct atattatatg atgattgccca 60
 gaagaagggt aaatgttaag gtgatcaaat atgggtctgtg ttctcagaga caccactgga 120
 agattttgtga gcatggatcc aaccatctca tcccacaaca cagaatctac accactgaat 180
 gaaactgggtc attccaaatg cagtcacaac ctgactctgt cctttctggg cctcatcact 240
 gtccctgggtg aactaggagg aagcaccatt gtactctggc tccctggaatt cagcatgccc 300
 aggaaagcca tctcagctca tgtcctcaat ctggctctgg cagactcctt cttcctcggc 360
 tgcgatttca ttgaatttct gctacggatc attgacttca tctatgcccc taaattaagc 420
 aaagatatct taggcaatac agcaatcatt ccttatatcg caggacagaa cgttctcagt 480
 gctatttagca tggagcactg cctgtctgta ttgtggccaa tctgggtacca ctaccaccac 540
 ccaagaaaca tgcagctat catatgtgcc ctaatctggg ttctgtactt tctcatgggc 600
 atccctccatt ggttcttctc agtattcctg ggtgaggctc atcatcattt gaggaanaag 660
 gttgacttta ctataactgc atttctgaat ttttatttat gcttcaactc gtgtccagtc 720
 tggccctact gctgaggatc ctctgtggct ccaggaggaa acccctgtcc aggotgtatg 780
 ttaccatgc tctcacagtg atggctcaact catctctggc ctgcctcttg ggctttactt 840
 gttcctgtta tactggtttg ggttccattt gcatoatccc tcttgtcaca attaccaagt 900
 tacttccagtc ctgcctgtg taaacagcta taacaacccc atcatttact' tcattgtagg 960
 ctoccttagg cctcttagaa agcatttaac cctccaaact attcttaaga gggctctgga 1020
 ggacactcct gaggagcatg aatataacagc cagccatctt cagaaaacca ctgagatgtc 1080
 agaaagcatt tttagagtc aaacaacat taacttaate ttctctcaga aaccctcag 1140
 tgattgcact gctttcaatt gattattttt tatccaattt tcttatactt ctcaaagtag 1200
 tcataaataa gaatttctc 1219

20

<210> 91
 <211> 270
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

30

<400> 91
 Phe Leu Val Leu Ile Thr Val Leu Val Glu Leu Gly Gly Ser Thr Ile
 1 5 10 15
 Val Leu Trp Leu Leu Glu Phe Ser Met Pro Arg Lys Ala Ile Ser Val
 20 25 30
 Tyr Val Leu Asn Leu Ala Leu Ala Asp Ser Phe Phe Leu Gly Cys Asp
 35 40 45
 Phe Ile Glu Phe Leu Leu Arg Ile Ile Asp Phe Ile Tyr Ala His Lys
 50 55 60
 Leu Ser Lys Asp Ile Leu Gly Asn Thr Ala Ile Ile Pro Tyr Ile Ala
 65 70 75 80
 Gly Gln Asn Val Leu Ser Ala Ile Ser Met Glu His Cys Leu Ser Val
 85 90 95
 Leu Trp Pro Ile Trp Tyr His Tyr His His Pro Arg Asn Met Ser Ala

40

```

      100      105      110
Ile Ile Cys Ala Leu Ile Trp Val Leu Tyr Phe Leu Met Gly Ile Leu
      115      120      125
His Trp Phe Phe Ser Val Phe Leu Gly Glu Ala His His His Leu Arg
      130      135      140
Lys Lys Val Asp Phe Thr Ile Thr Ala Phe Leu Ile Phe Leu Phe Met
      145      150      155      160
Leu His Ser Val Ser Ser Leu Ala Leu Leu Leu Arg Ile Leu Cys Gly
      165      170      175
Ser Arg Arg Lys Pro Leu Ser Arg Leu Tyr Val Thr Ile Ala Leu Thr
      180      185      190
Val Met Val Tyr Leu Ile Ser Gly Leu Pro Leu Gly Leu Tyr Leu Phe
      195      200      205
Leu Leu Tyr Trp Phe Gly Val His Leu His His Pro Ser Cys His Asn
      210      215      220
Tyr Gln Val Thr Ser Val Leu Pro Cys Val Asn Ser Tyr Asn Asn Pro
      225      230      235      240
Ile Ile Tyr Phe Ile Val Gly Ser Phe Arg Pro Leu Arg Lys His Ser
      245      250      255
Leu Gln Thr Ile Leu Lys Arg Ala Leu Glu Asp Thr Pro Glu
      260      265      270

```

<210> 92
 <211> 1178
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

```

<400> 92
ttaaggtgat gaaatatggt ctgtgtttctc agggacacca ctggaagatt tgtgagcatg 60
gatccaatca tctcatccca caacagagaa tcacaccact gaatgaaact gcaatcattc 120
caactgcagt ccaatcctga ctctgtcctt tctggctctc atcactatcc tggtggaact 180
ggcaggaaac accattgtcc tctggctctt gggattccgc atgcacagga aagccatctc 240
agtttatgtc ctcaatctgg ctctggcaga ctccgtattc ctctgtgtgc atttcattga 300
ctctctgcta tgcattcatt acttcatcta tgcccataaa ttaagcagat acctaggca 360
atgcagaaat cattccctat atcacagggc tgagcatcct cagtgtctatt agcatggagg 420
actacotgtc tgtattgtgg ccaatctggt accactgcc aaccccaagg aacatgtcaa 480
ctatcctatg tgccctaate tgggtttctat cctttctcat gggcatcctc gattggttct 540
tctcaggatt cctgggtgag actcatcatt atttgtgaaa aaatgttgac tttattataa 600
ctgcatttct gatTTTTTTT tttatttatg cttctctctg ggtccagtc ggcctactg 660
ctgaggatcc tctgtggctc caggaggaaa ccaactgtcc ggttgtatgc taccatctca 720
ctcacagtga tgggtctacct catctgtggc ctacctcttg ggctttaact gtttctgtta 780
cactcctttg gggttaattt goatcatccc ttttgtcacc tttaacaaagt tactgcagtc 840
ctgtcctgtg taaacatctc taccaacccc atcaatcatt taattcattg gcatttcttt 900
tttttttaat taggtatttt cctcgtttac attttcaatg ctatcccaaa ggtcccccac 960
accacacccc cccaatccct accaccccac tgcccctttt tggcactggc gttcccctgt 1020
actggggcat ataaagtgtg caagtccaat gggcctctct ttgcagtgat gaccgactag 1080
gccatctttt gatacatatg cagctaaaaga catgagctcc cgggtactgg ttagttcata 1140
ttgttgttcc acctataggg ttgcagttcc ctttagct 1178

```

<210> 93
 <211> 243
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

```

<400> 93
Phe Leu Val Leu Ile Thr Ile Leu Val Glu Leu Ala Gly Asn Thr Ile
1      5      10      15
Val Leu Trp Leu Leu Gly Phe Arg Met His Arg Lys Ala Ile Ser Val
20      25      30
Tyr Val Leu Asn Leu Ala Leu Ala Asp Ser Val Phe Leu Cys Cys His

```

10

20

30

40

```

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

```

10

```

<210> 94
<211> 2416
<212> DNA
<213> Mus musculus

```

20

```

<400> 94
atggaggggac ccatggctcc agttgcatgt gtagcagagg atggccttgt agtcatcaa 60
tgggagggaga gacttttgggt cctgtgaagg coctataccc cagtgttggg ggttgccagg 120
gagaagaagt gggagtgggt gggtttgggt acagaggggag ggcgataatg ggttttcaaa 180
ggaaaaatca ggaaggga taacatttga aatgtaaata aagaaaatat ttaataaaaa 240
gcaaaaatga aaaaaaagt caaaaacatg ttctattatg ggagtgggtg tgttgaggag 300
cagtggggga gggttaaata gagaggggac tgttgaggag gaaactagga aaggggataa 360
cattggaaat gtaataaaag aaaatatcta ataaaaata aaataaaaaa ttttggaaga 420
tatttgaaaa attcattgac aagggaaga atgttgaga aattcttatt ttgactact 480
ttgagaagta taagaaaatt agattaaaaa taatcaattg aaagcactgc aatcactgag 540
gcgtttctga gagaagagta agttaatgtt gtcttgactc tcaacatatg cttctgaca 600
tctcagtggt tttctgaaga tggctgtctg tatattcact ctcttcagga gtgtctttca 660
gagccctatt aagaatagtt tggaaaggaac aacactttct acaatgccta aaggagccta 720
caatgaagta aatgatggga ttggcagagc tgtttacaca ggacaggact gcagttactt 780
ggtaaatgtg acaagaggga taatgcaaat gaaccccaaa ccagtgtagc aggaaaaagt 840
aaagcccaag aggcaggcca cagatgagat agaccatcac tgtgagagag atggttaactt 900
acagcctgga caggggtttc ttctaggac cacagaggat cctcagcagt agggccagac 960
tggacacaga gagaagcata aataaaaaaa tcagaaatgc agttataata aaggcaacat 1020
tttccacaaa tgaatgattg tctcaccag gaatcctaag aagaaccaat ccaggatgcc 1080
tatgagaatg gacagaacct agattagggc atataggata gctgacatgt tactttgggtg 1140
gtggaagtca taccagattg gccacaatac agacaggcag tgcctcatgc taatagcact 1200
gagcaggctg tgcctgccca tatagggaat gattgctgca ttgcctaaga tatctttgtt 1260
taatttatgg gcatagatga agtcaatgat ccatagcaga gactcaatga aatggcagca 1320
gaggaagaag gactcgcca gagccagatt gaggacatag cctgagatgg gtttctctgt 1380
cattcagaat ccaggagacc agagaacaat cgtgtttcct gccagttcca ccaggacagt 1440
gatgaggacc agaaaggacg gactcaggat tggactgcag ttgggatgac cagtttcatt 1500
cagtggatg attcctgtgt tgtgtgatga gatgattgga tccatgctca caaatctttc 1560

```

30

40

```

agtgggtgta ctgagaacac agaccacatt taatcacctt aaaattgacc cttcttctgg 1620
aaatcataat ataatataga tatttttgtc aatatgcctt aataaaatca ttataaata 1680
aaaggaaagt aacatgacca tatggatcaa gaattctggg ctgtgaattc aaattcagag 1740
cttgtgtata ctctatagtg tgggtcatac ttctgtgta taactcagga ctttttaatc 1800
gcgtggaaat ggttccattc tctcatggac aagggttgat ccatttcctg ctctcctgta 1860
acccagaaa ggaagcacc agatttgcct cccagggct taaaataaca caggaaagat 1920
gaagatatca gggatttgtc gaggtacatt aagggaata tccttctgca tggcaaaaag 1980
aatgtattct gagttatgca cctaactctc ggtcgagaca tgacactggt ctgtgcaaca 2040
gattacagat cacatgcatt tacctcctcc ctgagatga ccaagctgca cctatcagtc 2100
acttoaccag gggatttctg aggtggcaga aggaatgaca actcactcat ctttcacagg 2160
agttatacct tctctgcagc catctctgac ctocctcag ctggtacagt taagcctgtc 2220
tgcttttctg aaagcactta aggttctctt ttctttcttt agatctcctt ttcttttgaa 2280
catgggtcaa aagaccaagc aacattttcc tgagagtctg gactctctca atcatttctg 2340
aaacccacat ctctttccac catgaaagtt ttttcccaac ttccattgct ggacatacca 2400
gcttttctgg ggatgt 2416

```

10

```

<210> 95
<211> 269
<212> PRT
<213> Mus musculus

```

```

<400> 95
Phe Leu Val Leu Ile Thr Val Leu Val Glu Leu Ala Gly Asn Thr Ile
 1          5          10          15
Val Leu Trp Leu Leu Gly Phe Met His Arg Lys Pro Ile Ser Gly Tyr
 20          25          30
Val Leu Asn Leu Ala Leu Gly Asp Ser Phe Phe Leu Cys Cys His Phe
 35          40          45
Ile Asp Ser Leu Leu Trp Ile Ile Asp Phe Ile Tyr Ala His Lys Leu
 50          55          60
Asn Lys Asp Ile Leu Gly Asn Ala Ala Ile Ile Pro Tyr Met Ala Gly
 65          70          75          80
His Ser Leu Leu Ser Ala Ile Ser Met Glu His Cys Leu Ser Val Leu
 85          90          95
Trp Pro Ile Trp Tyr Asp Phe His His Gln Ser Asn Met Ser Ala Ile
100          105          110
Leu Tyr Ala Leu Ile Trp Val Leu Ser Ile Leu Ile Gly Ile Leu Asp
115          120          125
Trp Phe Phe Leu Gly Phe Leu Gly Glu Thr Asn His His Leu Cys Glu
130          135          140
Asn Val Ala Phe Ile Ile Thr Ala Phe Leu Ile Phe Leu Phe Met Leu
145          150          155          160
Leu Ser Val Ser Ser Leu Ala Leu Leu Leu Arg Ile Leu Cys Gly Pro
165          170          175
Arg Lys Lys Pro Leu Ser Arg Leu Val Thr Ile Ser Leu Thr Val Met
180          185          190
Val Tyr Leu Ile Cys Gly Leu Pro Leu Gly Leu Tyr Phe Phe Leu Leu
195          200          205
His Trp Phe Gly Val His Leu His Tyr Pro Ser Cys His Ile Tyr Gln
210          215          220
Val Thr Ala Val Leu Ser Cys Val Asn Ser Ser Ala Asn Pro Ile Ile
225          230          235          240
Tyr Phe Ile Val Gly Ser Phe Arg His Cys Arg Lys Cys Cys Ser Phe
245          250          255
Gln Thr Ile Leu Asn Arg Ala Leu Lys Asp Thr Pro Glu
260          265

```

20

30

```

<210> 96
<211> 1954
<212> DNA

```

40

<213> Mus musculus

<400> 96

```

tggcattogg tacctgcctc ctggcagaag atgaaggccc gaaatagggc atgtcccagt 60
aagctgttag cttctgtatt ccaaactctc acctacacag actagtctca gagggatcgg 120
ggaaccaaga tggcttcccc atggtactcc agcaaaacac tcccagggtga ggtggacacc 180
tctctctga cagggaaggt gcccgatat ctggagcctg aaacggggtc tgccctcagaa 240
gctgttagct tctgtagtcc acactctcac atgtgttaggc tagtctcagc aggatccagg 300
aaccaagatc agaaggggtca atgttcagggt gatcaaatgt agtctgtgtt cacagggata 360
ccactggaag atttgtgagc atggatccaa tcatctcatc ccacaacaca gaatcacacc 420
actgaatgaa actgggtcatc ccaactgcag tacaatcctg actccatcct tctgggtcct 480
catcactgtc ctggtggaac tggcaggaaa taccattgta ctctggctcc tgagattcca 540
catgcacagg atagcccac tcagactatg tctcaaatct ggctctggca gattccttct 600
tctctctctg ccagttcatt gactctctgc tatggatcct tgacttcac taggcccata 660
aattaagcaa agatatctta tggaatgcag caatcattcc caataatgca gggctgagct 720
acctcagtcg tatttagcatg gagcactgcc tgctgtatt gtggccaatc tggcaccact 780
gccaccacac aagaaacatg tcagctatca tatgtgccct aatctgggtt ctgtcctttc 840
tcattggcat cctcgattag tacttctcag gattcctggg tgagactcat catcagttgt 900
ggaanaatgt tgattttatt ctaactgcat ttctgatttc tttttttttt tatttatgct 960
tctctctctg tccagtctgg ccctacgact gaggatcctc tgtggctcca ggaggaaacc 1020
cctgtccttg ctgtatgtta tcatctctct cacagtgtat gtctacctca tctgtggcct 1080
acctgttggg ctttacttgt tctgtttaa ctggtttggg gttcatttgc atcatcccat 1140
ttgtcacatt tatcaagtta ctgcactcct gccctttgta aacagctttg ccaaacccat 1200
catttccttc attgtaggct cctttaggca ttgtagaaag cattgggtccc gccaaactat 1260
tattaagagg gctctggagg acactcctga ggaggatgaa tatacagata gccatcttca 1320
gaaaactact gagatgtcag aaagcagatg ttgagagtca agacaacatt aacttaatct 1380
tctctcagaa acacctcact ggttgcaagt ctttcaattg attatttttt aatccaattt 1440
tcttataagt ctcaaagtag tcataaataa gaatttctcc aacattcttg gcttgtcaa 1500
tgaatttctc aaatatcctc caaaacattt tgtatataat ttaatttttt tagatatatt 1560
ctatatattt atttccaatg ttatcccttt ycccttagtt cccctccaaa agccccctct 1620
ccccctcccc cccccactgc tctcaatat actcaactcc ataattgaac acctttttgc 1680
acttttttct tttttttcac tttttgtttt ttattagata ttttctttat ttacatttca 1740
aatgttgtcc cttttcctga ttttccctct gaaaacccat tactgtcatc cccctgtaca 1800
ccatccctcc cacttctact tctatcctag gcattccctt acactggggt atagggcctt 1860
cacaggacca agagtctctc ctcccattga tgagctacaa ggccatcctc tgctacacat 1920
ggcaactgga gccatgggtc cctccatgtg tact 1954

```

<210> 97

<211> 272

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 97

```

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

```

10

20

30

40

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

10

<210> 98
 <211> 1893
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<400> 98
 tttagcaatcc cctggccagg tgactgacag gtgcagctta gtctttctca agggatgagg 60
 taattgcatg tgatctgtaa tctgttgac agaccagtgt catgtctcaa cccagagtta 120
 ggtgtataac tcagaatcca tttttttgac catgcagaag catctttcct ttaatgtact 180
 tcaacaaaac cctgatatct tcatcttttc tgcgttattt taagccctgg ggaggcaaat 240
 atgatgcttc ccttttctag gggttacagg ggagcaggaa atggatgcag cctgacccat 300
 gatagtaggg aatcattttc atgtgattta aaggctctga gttatacaca ggaagaatga 360
 ccagactag agtatgtaca agctctgaat ttgaatccaa atccagaatt cttgatccac 420
 atggctcatgt tattctcctt tttttataaa tgattttatt aagccatatt gacaacaata 480
 tctatattac attatgattg ccagaagaag ggtcaatgtt aaggatgatga aatatggtct 540
 gtgttctca ggcacaacac tggagagatt ttgagcatgg atccaacccat ctcatccac 600
 aacacagaat ctacaccact gaatgaaact tgcacatcaa atacagtcca atcctgactc 660
 cgtcctttct ggtcctcatc actgtcctgg tggacctggc aggaaacacc attgttctct 720
 ggctcctggg attccgcatg cacaggaaac ccactctcagt ctatgtctct aacctggctc 780
 tgggcgactc cttcttctgc tgcattttca ttgactctct gctatggatc attgacttca 840
 tctatgcccc taaattaagc aaagatatct taggcaatgt agcaatcgtt cctatatcgt 900
 cagggctgag cgtcctcagt gctattagca tggagaactg actgtttata ttgtggccaa 960
 tctgttacca ctgccaccac ccaagaaaca tgcagctat cctatgtgcc ctaactctggg 1020
 ttctgttctt tctcatgggc atcctcgggt ggttcttctt aagatttttg ggtgaaactc 1080
 atcattgact ttattatacc tgcatttctg attttttttt tatttatgct tctctctggg 1140
 tccattctgg cctactgct gaggatcctc tatggttcca ggaggaaatc cctgtccagg 1200
 ttgtatgtta acatctctct cacagtgatg gtctacctca tctgtggcct gctcttggga 1260
 ctttacttgg tctgtttata ctgctttggg gtccattttac atcatccctc tctcacatt 1320
 taccagttta ctgtgttctt gtccatgtg gacagctctg ccaaccacat cttttatttc 1380
 cttgcagggt ccttttaggt ttgtagaag cattggtccc tccaaactct tctaaagagg 1440
 actctagagg acactcctgg ggaggatgaa tatacagaca gccattttca gaaaaccact 1500
 gagatgtcag aaagcagatg ttgagagtca acacattaac ttactcttct ctaagaaacg 1560
 cctcagtgat tgcattgctt tcaattgggt tttcttttta atcaaatatt cttatacttc 1620
 tcaaatgagt cagaaatgag aatttctcga aaattcttgg cactgtcaat gaatttttca 1680
 aatatcttcc aaaactttct tattttattt tattttattt ttattagaca ttttctttat 1740
 ttacatttca aatgttatcc cctttactag tttccctccc aaaaaagcac tatccctcca 1800
 cccctctacc tgcctccccc attaccact cccataattg aacacttttt tottttttta 1860
 acttattatt tttattagat attttcttta ttt 1893

20

30

<210> 99
 <211> 262
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

40

<400> 99
 Phe Leu Val Leu Ile Thr Val Leu Val Asp Leu Ala Gly Asn Thr Ile
 1 5 10 15
 Val Leu Trp Leu Leu Gly Phe Arg Met His Arg Lys Pro Ile Ser Val
 20 25 30
 Tyr Val Leu Asn Leu Ala Leu Gly Asp Ser Phe Phe Cys Cys His Phe
 35 40 45
 Ile Asp Ser Leu Leu Trp Ile Ile Asp Phe Ile Tyr Ala His Lys Leu
 50 55 60
 Ser Lys Asp Ile Leu Gly Asn Val Ala Ile Val Pro Tyr Ile Ala Gly
 65 70 75 80
 Leu Ser Val Leu Ser Ala Ile Ser Met Glu Asn Leu Phe Ile Leu Trp
 85 90 95
 Pro Ile Trp Tyr His Cys His His Pro Arg Asn Met Ser Ala Ile Leu
 100 105 110
 Cys Ala Leu Ile Trp Val Leu Phe Phe Leu Met Gly Ile Leu Gly Gly
 115 120 125
 Ser Ser Asp Phe Trp Val Lys Leu Ile Ile Asp Phe Ile Ile Pro Ala
 130 135 140
 Phe Leu Ile Phe Phe Leu Phe Met Leu Leu Ser Gly Ser Ile Leu Ala
 145 150 155 160
 Leu Leu Leu Arg Ile Leu Tyr Gly Ser Arg Lys Ser Leu Ser Arg
 165 170 175
 Leu Tyr Val Asn Ile Ser Leu Thr Val Met Val Tyr Leu Ile Cys Gly
 180 185 190
 Leu Pro Leu Gly Leu Tyr Leu Val Leu Leu Tyr Cys Phe Gly Val His
 195 200 205
 Leu His His Pro Ser Pro His Ile Tyr Gln Val Thr Val Val Leu Ser
 210 215 220
 Tyr Val Asp Ser Ser Ala Asn His Ile Phe Tyr Phe Leu Ala Gly Ser
 225 230 235 240
 Phe Arg Tyr Cys Arg Lys His Trp Ser Leu Gln Thr Leu Leu Lys Arg
 245 250 255
 Thr Leu Glu Asp Thr Pro
 260

10

20

<210> 100
 <211> 1290
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<400> 100
 cctctggcta ggtgactgac aggtgcagct tggatcatctc aaggaggagg gttactgcat 60
 ttgatctata atctgttgca cagaccagtg tcttgtctctg acccagagtt aggtgtataa 120
 ctccagaatcc attcttttga ccgtgcaaaa gtatctttct cttgatgtac ctcaacaaaa 180
 ccctgatata ttcatctttc ctgtgttatt ttaagccctg ggggagtaca aatctgatgc 240
 ttccctttct gtggttacag gtagagcagg aaatggatcc taccctgacc atgagagaag 300
 ggaatcattt ccatgtgatt aaaaggtcct gagttataca ctggaagtat gaccagact 360
 acagagtata cacaagctct gaatttgaat ccacagtcca gaattcttga tcaatgtagt 420
 catgttactc tctttttttt tataaatgat tttagcaagc catattgaca acaatatcta 480
 tattacatta tgatogccag aagaaaggct aatgttaagg tgatcaaaca tgggtttgtt 540
 ctccagggaca ccaactggaag atttgtgcgc atggatccaa tcatcttatt ccacaacaca 600
 gaatcacact gctgaatgaa actggtcaac ccaacttcag tccaatcctg actctgtctc 660
 tctggtcctc atcactgtcc tgtttgaact ggcaggaaac accattgtac tctggctcct 720
 gggattccac atgcacaagg aaagtcactc cagtctatgt cctcaatctg gctcttgacg 780
 actccttctt cctcagctgc caattcattg actctctgct ttgaagcatt gacttcctct 840
 atgcatataa attaagcaaa gatattcttag gcaatgcagc aatcggtccc tatatcgacg 900
 ggctgagtat cctcagtgct attagcatgg agcactgcct gtctgtatag tggcaaatgc 960
 ggtaccactg ccactaccca agaacatgt cagctatcct atgtgcccta atctgggttc 1020

30

40

tgtcttttct catggacatc ctggattggg totttctcagg attcctgggt gagactcatc 1080
 atcatttatg gaaaaatatt gacttcatta taactgcatt tctgattttt ttatttatgc 1140
 ttctctctgg ctccagtctg gccctactgc tgaggattct ttatggcttc aagaggaaac 1200
 cccgtgtccag gctatatatt atcatctctc tcacagtgat ggtctacctc atctgggcct 1260
 gcccttggg ctttcatttt tctgtttaca 1290

<210> 101
 <211> 207
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 101
 Leu Val Leu Ile Thr Val Leu Phe Glu Leu Ala Gly Asn Thr Ile Val
 1 5 10 15
 Leu Trp Leu Leu Gly Phe His Met Thr Arg Lys Val Ile Ser Val Tyr
 20 25 30
 Val Leu Asn Leu Ala Leu Ala Asp Ser Phe Phe Leu Ser Cys Gln Phe
 35 40 45
 Ile Asp Ser Leu Leu Ser Ile Asp Phe Leu Tyr Ala Tyr Lys Leu Ser
 50 55 60
 Lys Asp Ile Leu Gly Asn Ala Ala Ile Val Pro Tyr Ile Ala Gly Leu
 65 70 75 80
 Ser Ile Leu Ser Ala Ile Ser Met Glu His Cys Leu Ser Val Trp Gln
 85 90 95
 Met Arg Tyr His Cys His Tyr Pro Arg Asn Met Ser Ala Ile Leu Cys
 100 105 110
 Ala Leu Ile Trp Val Leu Ser Phe Leu Met Asp Ile Leu Asp Trp Phe
 115 120 125
 Phe Ser Gly Phe Leu Gly Glu Thr His His His Leu Trp Lys Asn Ile
 130 135 140
 Asp Phe Ile Ile Thr Ala Phe Leu Ile Phe Leu Phe Met Leu Leu Ser
 145 150 155 160
 Gly Ser Ser Leu Ala Leu Leu Leu Arg Ile Leu Tyr Gly Phe Lys Arg
 165 170 175
 Lys Pro Leu Ser Arg Leu Tyr Ile Ile Ile Ser Leu Thr Val Met Val
 180 185 190
 Tyr Leu Ile Leu Gly Leu Pro Leu Gly Leu Ser Phe Phe Leu Leu
 195 200 205

10

20

<210> 102
 <211> 1389
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<400> 102
 ttaagggtgat caaatatggc ctgttttctc agggacacca ctggaagatt ttttaacatg 60
 gatccaaaaca tctcatocca caacacagaa tctactccac tgaatgaaac tggatcatcca 120
 aacttcagta caatactcac gctgtccttt ctggtctctg tcaactgtcct cgtggaactg 180
 gcaggaaaaca ccattgtact ctggctcctg ggattccgca tgcacaggaa agccatctca 240
 gtctatgtcc tcaatctggc tctggcagac tccttcttct gctgccattt cattgactct 300
 ctgctatgga tcaactgact catctatacc cataaattaa gcaaagatat cttacgcaat 360
 gcagcaattg ttccctatat cgcaagactg agcgtcctca gtgctattag aatggagcac 420
 ttactgttta tattgtggcc aatctggtag cactgccacc acccaagaaa catatcagct 480
 atcctatgtg cctaactctg ggtctgttct tttctcatgg gcatccttga ttggttcttc 540
 ttaggattcc tgggtgagac tcatcatcat ttgtggaaaa atattgactt tattatacct 600
 gcattttctga ttttttaat gctgctttct gggccactc tggccctact gctgaggata 660
 ctttgtgtgt ccaggaggaa actcctgtcc aggtgtatg ttaccatctc tctcacagt 720
 atgggtctacc tcatctgtgg catgcctctt gggctttact tgttctgtt atactgggtt 780
 gggattcatt tacactatcc ctctgtcac atttaccag ttactgcact cttgtcctat 840
 gtggacagct ctgccaacca catcttttat ttcctttag gctcctttag gcattttaga 900

30

40

aagcattgggt ccctctaaac tattctaaag aggacctgg agaacattcc tgaggaggat 960
 gaatatacag acagctatct tcagaatacc actgagatgt cagaaatcag atgttgagag 1020
 tcaacacatt aacttactct tctctcagaa acgcctcagt gattgcaacg ctttcaattt 1080
 ttttgtttgt ttgttttttt ttttttttga ttgtttttaa ttaggtatatt tggtatttta 1140
 catttccaaa tttatattta tacttccaaa agtcccccat accttccctt gccaatcccc 1200
 taccacattt ttggccctgg cgtttccctg tactggggca tataaagttt gcaagtccag 1260
 tgggcctctc tttccagtga tggcctacta agccatcttt tgatacatat gcagctagag 1320
 tcaagagctc cagggtactg attaatcat aatgttgttc cacctatagg gttgcagatc 1380
 ccttttagca 1389

<210> 103

<211> 206

<212> PRT

<213> Mus musculus

10

<400> 103

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

20

<210> 104

<211> 1420

<212> DNA

<213> Mus musculus

30

<400> 104

aaaaaggaac cttacacttt tctgagttag tgtgcattca gagaatcaga cagtcttaac 60
 tgtacccctt gagggaggt cagagatggc tgcataagagg gtgcaactcc tgtgaaggat 120
 gagtgaattg tcattccctt tgccatctta gcaatccctt ggccagggtg ctgacaggta 180
 caacattgtc aactcaaggg aggakrtaaa tgyrtgtgat ccttaattcta gagcacagac 240
 cagagtcaca tmtcaaccca gagttagggg tagaaytcag aatccattct tttgatgatg 300
 aggaagtatc tttcccttaa tatgcctcaa caaaaccctg atatcatcat cttttctgtg 360
 tcatttttaag ccttggggag gtaaatgtga tgcttccctt tctggagtta ccaaggtggc 420
 aggaaatgga tccaaccctg accatgaaaa aaggaaatcg tttccatgtg aattaaagat 480
 cctgagttat acacaggaag aatgatgcag actatagagt aaacacaagc tctaaatttg 540
 aatccacagt ccagaattct taatcccatg tggatcatgtt actttccctt tattttataa 600
 tcattttatt taataatgtt gacaagaata tctatattay rttatgattg ccagaagaag 660

40

```

ggtcagtggt aatgtgctca aatatgggtc gtgtttctcag ggacacaact ggaagatttg 720
tgagcatgga ttcaaccatc toatcccaca acacaawatc tacacaactg aatgaaactg 780
stratccctaa ctgcagtgcca atcctgacmc tgyoccttcct ggccctcact actgccctgg 840
tttgactggc agaaaaacact attatactct gactcctggg attccccatg cacaggaaaag 900
ccatctcagt ctatatactc aaccaggctc tggcagactc cttcttctc tgctgtcact 960
tccttgactc tatgtctacag atcattgact tctatggcat ctatggccat aaattaagca 1020
aagatatctt aggcaatgca gcaatcattc cctatatcac agggctgagc gtcctcagtg 1080
ctattagcac tgcctgtcta tattgtggcc aatctgggtac cattgccacc acccaagaaa 1140
catgtcaggt atcatatgtg ccctaactct gggttctgtc tttctcatgg gcatccttga 1200
ttggttcttc tcaggattcc tgggtgagac tcattatcat ttgtgggaaa atgttgactt 1260
tattataact gcatttttta tttatgcttc tctctgggtc tactcatgag gatcctctgt 1320
ggaggaaaacc cctgtccagg ctgtatgita ccatctctct cacagtgatg ggctacctca 1380
tctgtggcct gcctcttggg ctttacttgt ctctgttaca 1420

```

<210> 105
 <211> 200
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

10

```

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

```

20

30

<210> 106
 <211> 730
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

```

<400> 106
tgtgatctgt gttctcaggg acaccgctgg aagcatttgt gagcatggat ccaatcatct 60
catcccacaa cacagaatca caccactgaa tgaaactggt catcccaact gcagtccaat 120
cctgacacca ttctttctgg tcctcatcac tgtactgggt gaattggcag gggaaacacca 180
ttatactctg gctcctggga ttctgcataga acaggaaagc aatctcagtt tatgtcctca 240
atctggctct ggcagactcc ttcttttctc ctgttgccat ttcattgact ctctgtctaca 300
gaacattgac ttcatcaatg ccataaatt aagcaaacat atcttaggaa atgcagcaat 360
cattccctat attgcagggc tgagcctcct cagtgtctatt agcatggagc actgcctgtt 420

```

40

tatattatgg ccaatctggg accactgcc aacatgtca gctatcatat gtgcccta 480
 ctgggttcog tctttctca agggcatcct caatttggtc ttctcaggat tctgggtga 540
 gactcatcat catttggtgg aaaatattga ctttattata actgcatttc tgattttttt 600
 atttatgctt ctctgtgggt gcactttggc cctagagctg aggatactct gtggctccag 660
 gaagaaaccc ctgtccaggc tgtaagttac catctctctc acagogatgg tctacctcat 720
 ctgtggcctg 730

<210> 107

<211> 198

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 107

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

10

20

<210> 108

<211> 847

<212> DNA

<213> Mus musculus

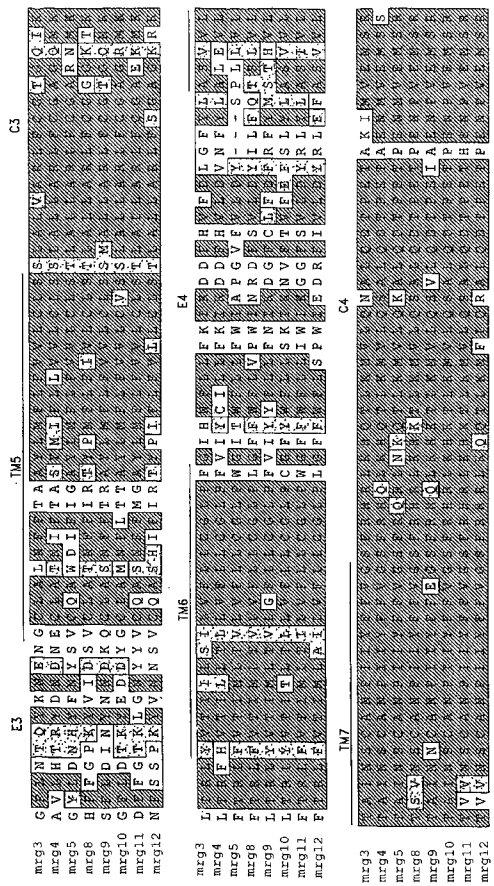
<400> 108

ttcagaattc ttgatccatg tggatcatggt actccccctt tattaataaa tgagtacatt 60
 aagccatatt gaaaacaata tctatattat attatgattg cccgaagaag ggtcaatggt 120
 aagggtgatca aatatggcct gttttctctc gggacaccaa tgggtgattt gtttagcatg 180
 gatccaacca tctcatccca caacacagaa tcacaccact gaatgaacct ggcccatccc 240
 gactgcaatc caatcctggg tctgtctctt ctgggtctca tgcgtgtcct ggtggaactg 300
 gcaggaaca ccattgttct ctgggtcctg ggattccgca tgcacaggaa acccatctca 360
 gtctatgtcc tcaatctggc tctggcagac tctttcttcc tctgctgcca ttccattgac 420
 tctctgtctc aaatcattga ctccacctat gccataaat taagcaaaga tatcttagac 480
 aatgcagcaa ttgttccctt tatcacaggg ctgagggtcc tcaagtgtat tagcatggag 540
 cactgcctgt ctgtattgtg gctaattctg taccactgcc accacctgag aaatatgtca 600
 gctatcctat gtgccctaatt ctgggttctg tctttctc tgtccatcct ggactagtgc 660
 ttctcagaat tctgcatga gactcatcat catttggtgg aaaatgttga ctttattata 720
 actgcatttc tgattttttt atttatgctt ctctttaggt ccagtctggc cctactgagg 780
 aggatcctcc tgtggctcca ggaggaaata cctgtccacg ctatatgtta tcatttctct 840

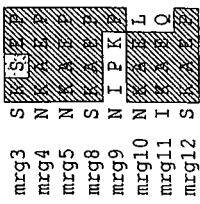
30

40

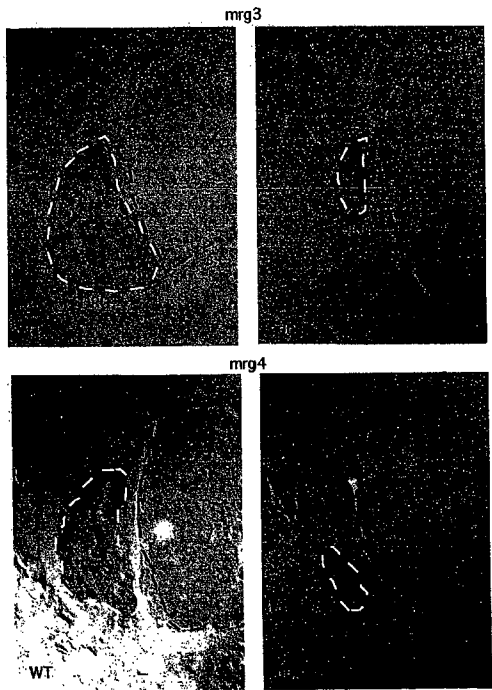
【 図 1 A - 2 】



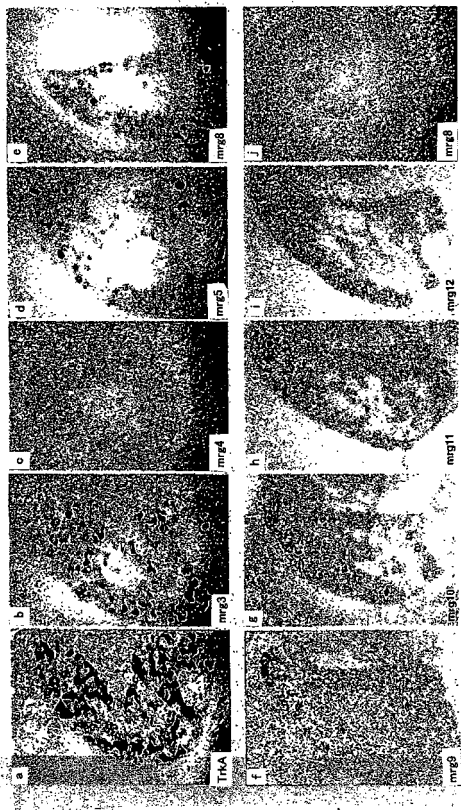
【 図 1 A - 3 】



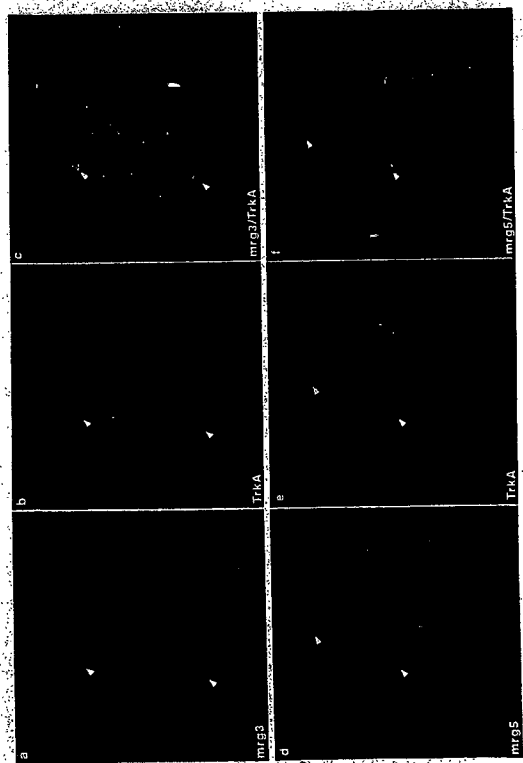
【 図 2 】



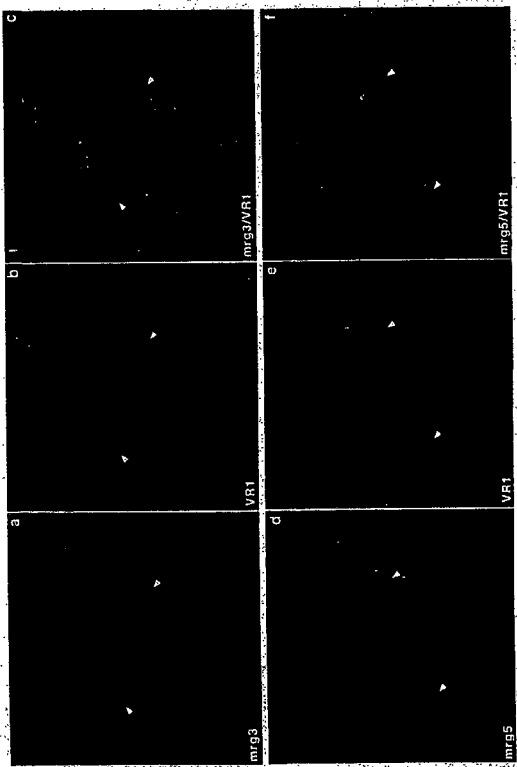
【 図 2 A 】



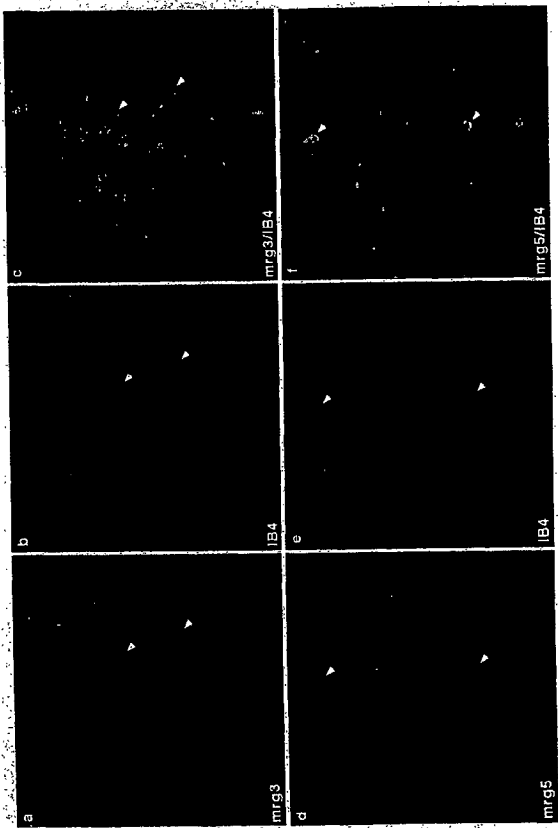
【 図 2 B 】



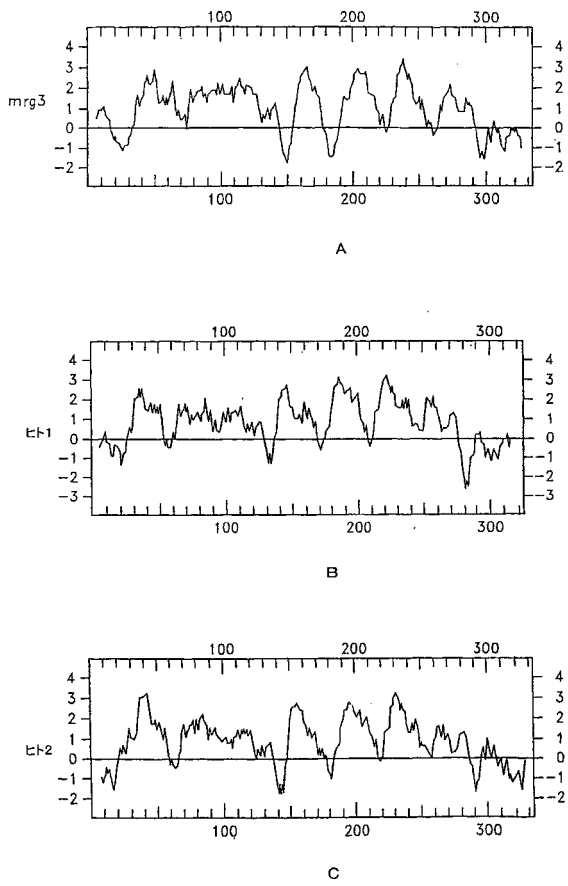
【 図 2 C 】



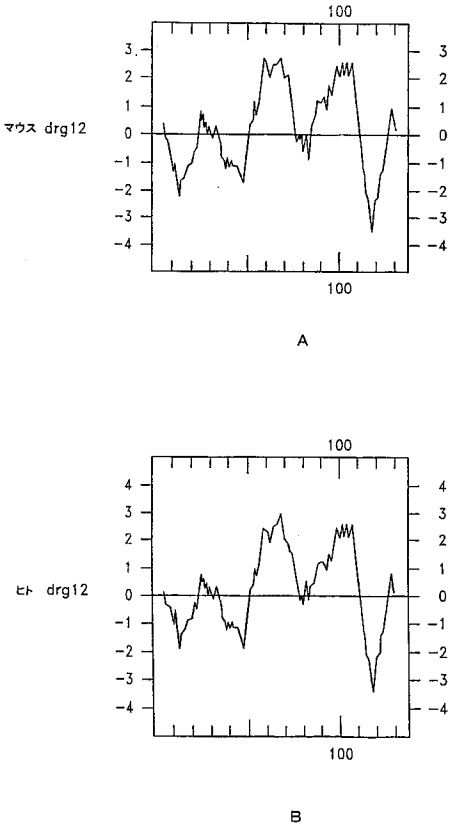
【 図 2 D 】



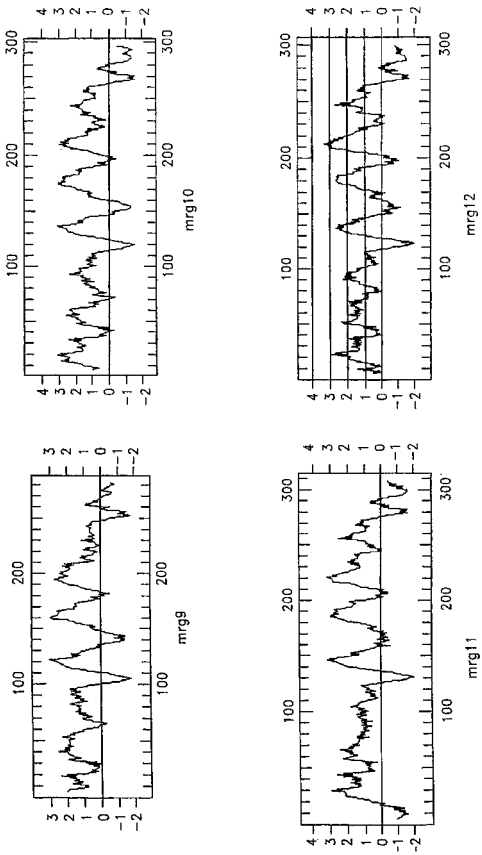
【 図 3 】



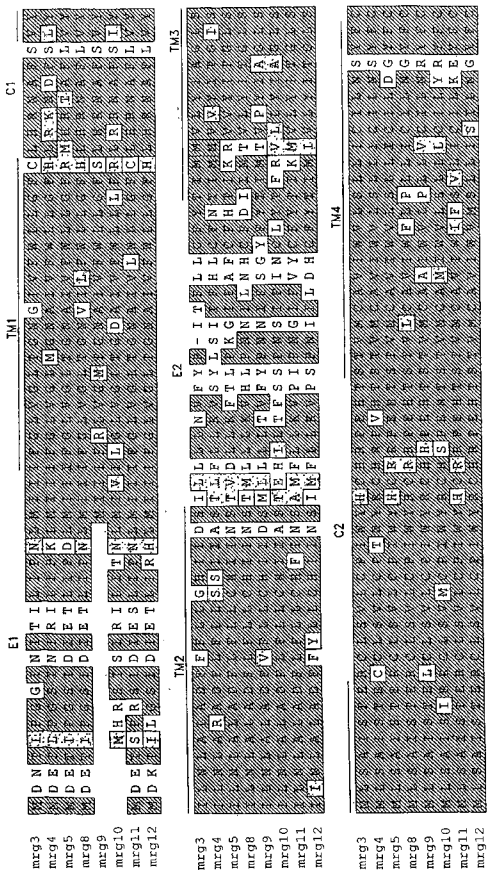
【図 4】



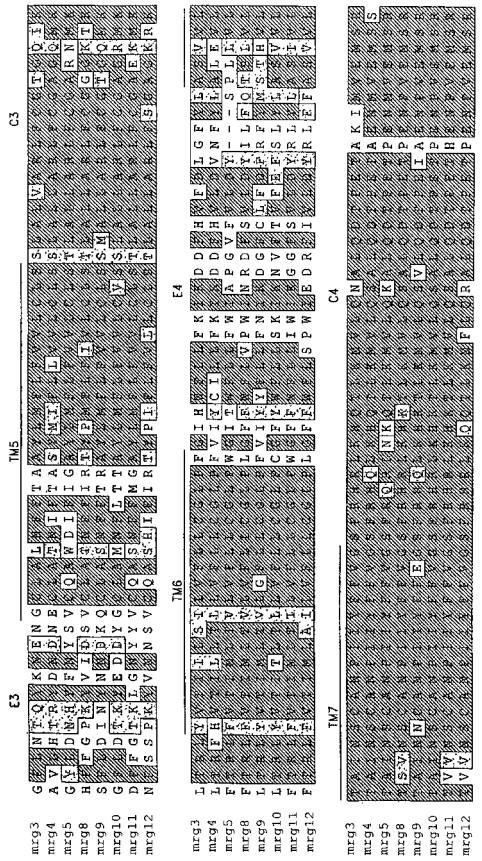
【図 5】



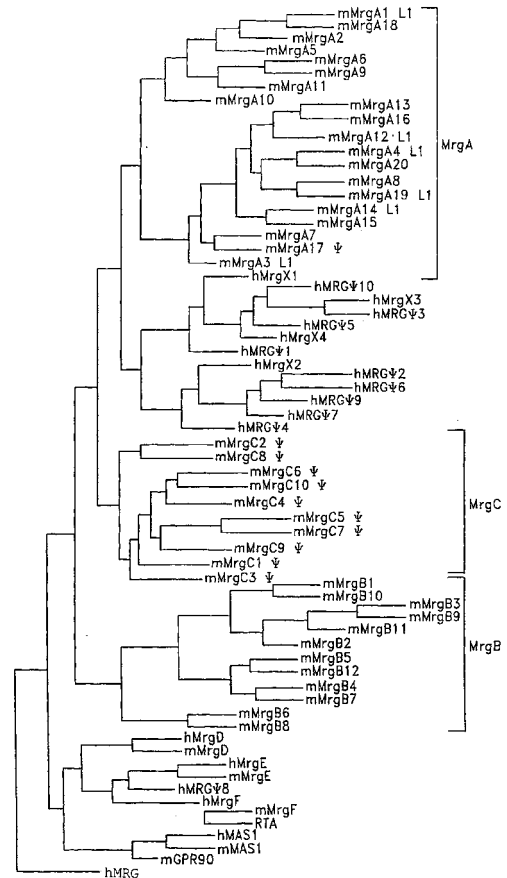
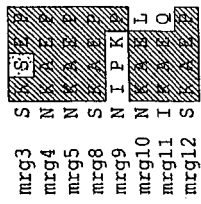
【図 6 A - 1】



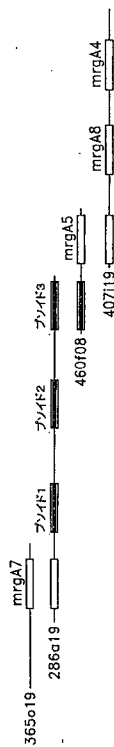
【図 6 A - 2】



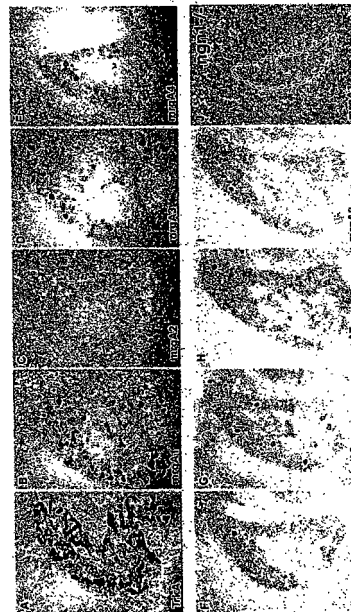
【 図 6 B 】



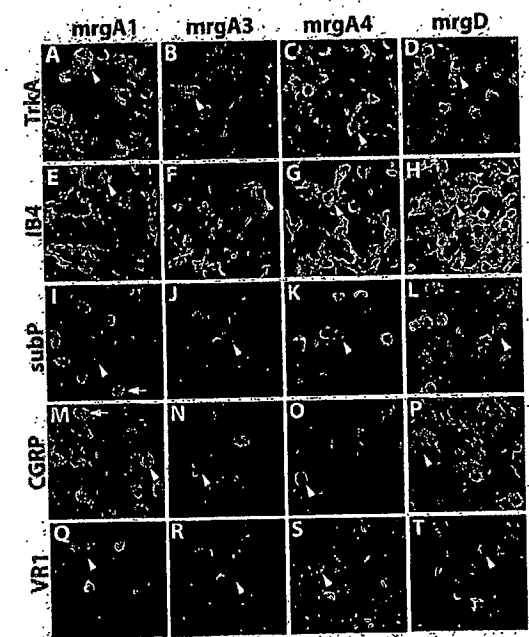
【 図 6 C 】



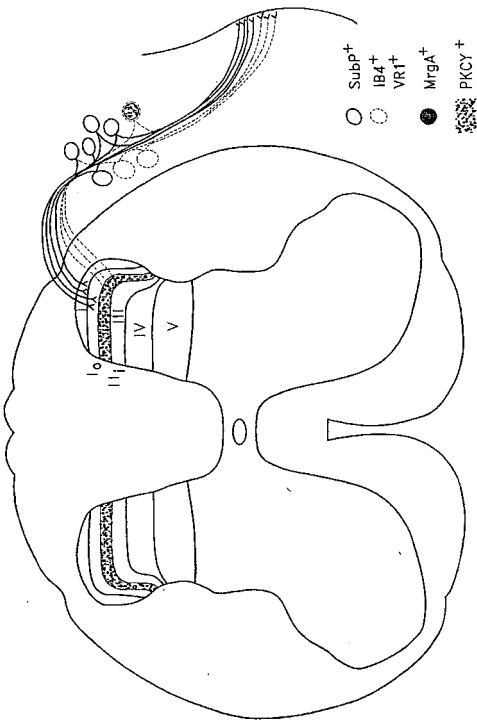
【圖 7】



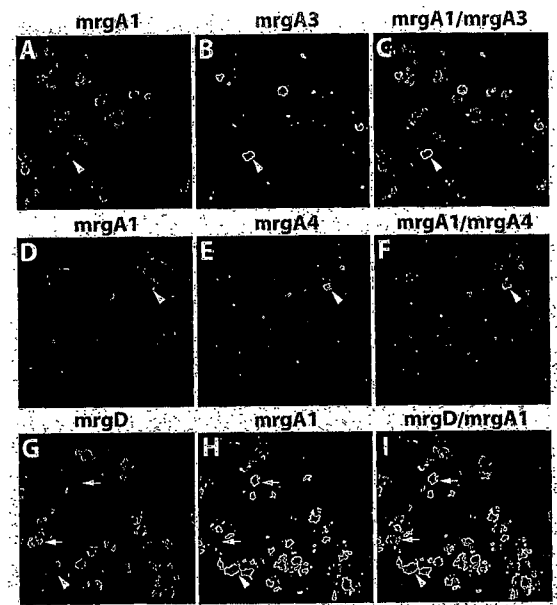
【 図 8 】



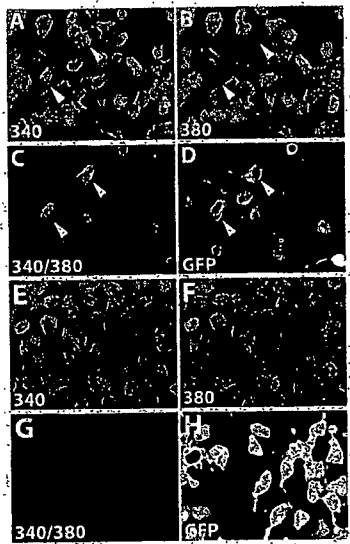
【 図 9 】



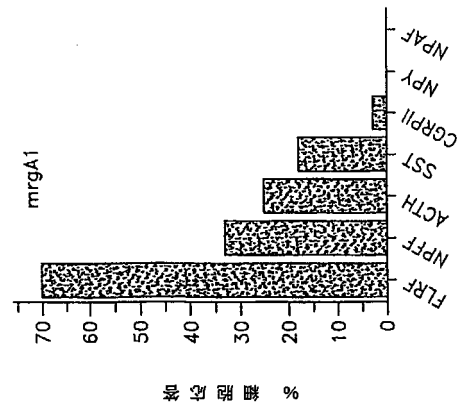
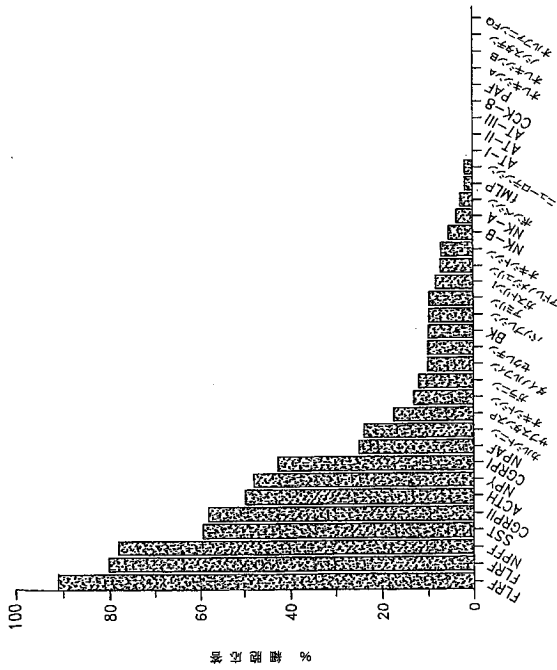
【 図 10 】



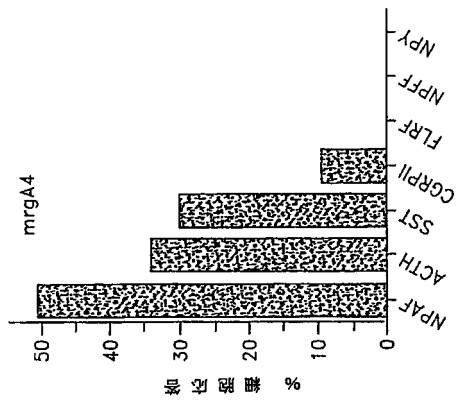
【 図 11 】



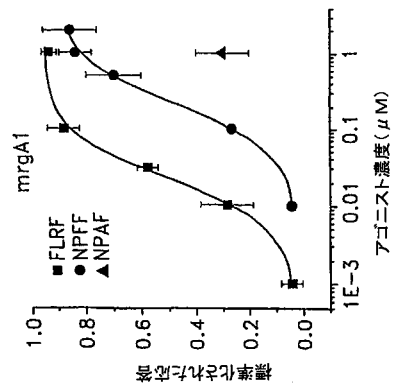
【 図 1 2 B 】



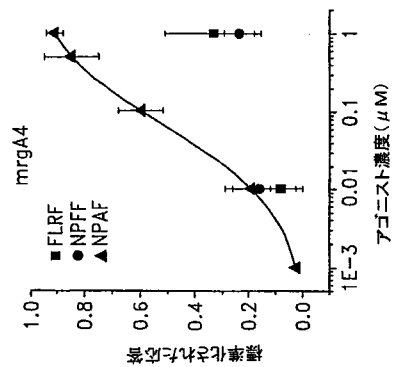
【 図 1 2 C 】



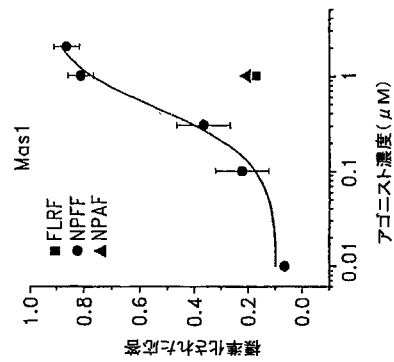
【 図 1 2 D 】



【 図 1 2 E 】



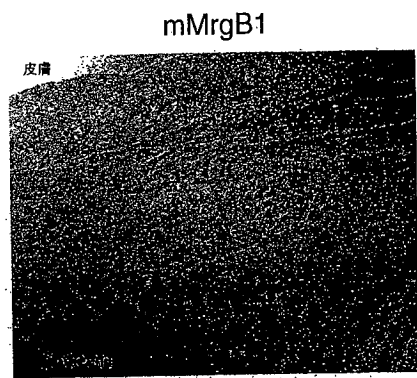
【 図 1 2 F 】



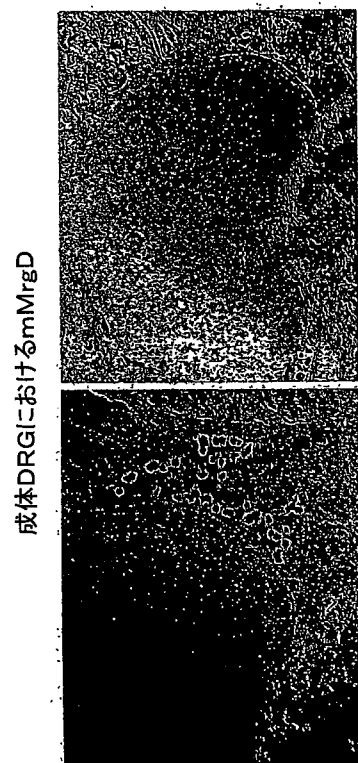
【 図 1 3 】



【 図 1 4 】



【 図 1 5 】



【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US03/15004
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(7) : C07K 14/705, 16/28; C12N 15/12 US CL : 435/7.21, 69.1, 252.3, 320.1; 530/350, 388.22; 536/23.5 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) U.S. : 435/7.21, 69.1, 252.3, 320.1; 530/350, 388.22; 536/23.5 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) Please See Continuation Sheet		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 01/57085 A2 (INCYTE GENOMICS, INC.) 09 August 2001 (09.08.2001), see especially SEQ ID NO:18.	1-53
X	WO 01/70814 A2 (BAYER AKTIENGESELLSCHAFT) 27 September 2001 (27.09.2001), see especially SEQ ID NO:2.	1-53
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents:		
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"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 application or patent 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	"&" 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 15 April 2004 (15.04.2004)	Date of mailing of the international search report 27 APR 2004	
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US Commissioner for Patents P.O. Box 1450 Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. (703) 305-3230	Authorized officer John D. Ulm <i>J. Roberts</i> Telephone No. (703) 308-0196	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

PCT/US03/15004

Continuation of B. FIELDS SEARCHED Item 3:
GeneSeq, Published Applications PIR 78, SwissProt, SPTREMBL, Issued Patents
searche SEQ ID NO:35

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
C 1 2 N 1/21 (2006.01)	C 1 2 N 1/21	4 B 0 6 4
C 1 2 P 21/08 (2006.01)	C 1 2 P 21/08	4 B 0 6 5
C 1 2 Q 1/02 (2006.01)	C 1 2 Q 1/02	4 H 0 4 5
G 0 1 N 27/04 (2006.01)	G 0 1 N 27/04	Z
G 0 1 N 31/00 (2006.01)	G 0 1 N 31/00	S
G 0 1 N 31/22 (2006.01)	G 0 1 N 31/22	1 2 2
G 0 1 N 33/15 (2006.01)	G 0 1 N 33/15	Z
G 0 1 N 33/50 (2006.01)	G 0 1 N 33/50	Z
G 0 1 N 33/53 (2006.01)	G 0 1 N 33/53	D
G 0 1 N 33/84 (2006.01)	G 0 1 N 33/84	Z
C 1 2 N 5/10 (2006.01)	C 1 2 N 5/10	A
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	C 1 2 N 15/09	A

(81)指定国 AP(GH,GM,KE,LS,MW,MZ,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT, BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HU,IE,IT,LU,MC,NL,PT,RO,SE,SI,SK,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA, GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ, EC,EE,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KP,KR,KZ,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LV,MA,MD,MG,MK,MN,M W,MX,MZ,NI,NO,NZ,OM,PH,PL,PT,RO,RU,SC,SD,SE,SG,SK,SL,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,YU,ZA,ZM,ZW

(74)代理人 100089244

弁理士 遠山 勉

(72)発明者 アンダーソン, デイビッド ジェイ.

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 1 0 0 1 アルタデナ グレンビュー テラス 2 1 0 8

(72)発明者 ドン, シンジョン

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 1 1 0 6 パサデナ ナンバー 3 0 5 サウス メンター
アベニュー 1 4 0

(72)発明者 ジルカ, マーク

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 1 1 0 6 パサデナ スチューベン 1 1 5 6

(72)発明者 ハン, サン - キョウ

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 1 0 0 6 アルカディア ナンバービー ダイヤモンド ス
トリート 1 5 7

(72)発明者 シモン, メルピン アイ.

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 1 1 0 6 パサデナ サンパスカル ストリート ナンバー
2 0 1 9 6 0

F ターム(参考) 2G042 AA01 BC02 DA08 FA11

2G045 AA40 CB01 DA36 DA37 DB07 FB03 FB05 FB11 FB15 GC20

2G060 AA20 AD06 AE40 AF01 AF07 GA01 HC06 HC18 HD03 KA09

4B024 AA01 AA11 BA43 BA63 CA02 DA01 DA02 DA05 DA06 DA11

EA04 GA01 GA11 HA08 HA12

4B063 QA18 QQ08 QQ13 QQ89 QQ91 QR41 QR51 QR66 QR77 QR80

QS36 QS39 QX01 QX04

4B064 AG27 CA10 CA20 CC24 DA01 DA13

4B065 AA01X AA26X AA57X AA87X AA90X AA90Y AB01 AB02 BA02 BA08

CA24 CA25 CA44 CA46

4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 BA09 BA41 CA40 DA50 DA75 DA76

EA20 EA21 EA50 FA74

专利名称(译)	疼痛信号分子		
公开(公告)号	JP2006504641A	公开(公告)日	2006-02-09
申请号	JP2004517551	申请日	2003-05-13
[标]申请(专利权)人(译)	加州理工学院		
申请(专利权)人(译)	加州理工学院		
[标]发明人	アンダーソンデイビッドジェイ ドンシンジョン ジルカマーク ハンサンキョウ シモンメルビンアイ		
发明人	アンダーソン,デイビッド ジェイ. ドン,シンジョン ジルカ,マーク ハン,サン-キョウ シモン,メルビン アイ.		
IPC分类号	C07K14/46 C07K16/18 C07K19/00 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12P21/08 C12Q1/02 G01N27/04 G01N31/00 G01N31/22 G01N33/15 G01N33/50 G01N33/53 G01N33/84 C12N5/10 C12N15/09 A61K38/00 C07K14/705 C12N15/12		
CPC分类号	C07K14/70571 A61K38/00 C07K14/705 G01N33/5041 G01N33/5058 G01N33/5082 G01N33/54366 G01N2333/726 G01N2500/02		
FI分类号	C07K14/46.ZNA C07K16/18 C07K19/00 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12P21/08 C12Q1/02 G01N27/04.Z G01N31/00.S G01N31/22.122 G01N33/15.Z G01N33/50.Z G01N33/53.D G01N33/84.Z C12N5/00.A C12N15/00.A		
F-TERM分类号	2G042/AA01 2G042/BC02 2G042/DA08 2G042/FA11 2G045/AA40 2G045/CB01 2G045/DA36 2G045/DA37 2G045/DB07 2G045/FB03 2G045/FB05 2G045/FB11 2G045/FB15 2G045/GC20 2G060/AA20 2G060/AD06 2G060/AE40 2G060/AF01 2G060/AF07 2G060/GA01 2G060/H006 2G060/H018 2G060/H0D03 2G060/KA09 4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/BA43 4B024/BA63 4B024/CA02 4B024/DA01 4B024/DA02 4B024/DA05 4B024/DA06 4B024/DA11 4B024/EA04 4B024/GA01 4B024/GA11 4B024/HA08 4B024/HA12 4B063/QA18 4B063/QQ08 4B063/QQ13 4B063/QQ89 4B063/QQ91 4B063/QR41 4B063/QR51 4B063/QR66 4B063/QR77 4B063/QR80 4B063/QS36 4B063/QS39 4B063/QX01 4B063/QX04 4B064/AG27 4B064/CA10 4B064/CA20 4B064/CC24 4B064/DA01 4B064/DA13 4B065/AA01X 4B065/AA26X 4B065/AA57X 4B065/AA87X 4B065/AA90X 4B065/AA90Y 4B065/AB01 4B065/AB02 4B065/BA02 4B065/BA08 4B065/CA24 4B065/CA25 4B065/CA44 4B065/CA46 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA09 4H045/BA41 4H045/CA40 4H045/DA50 4H045/DA75 4H045/DA76 4H045/EA20 4H045/EA21 4H045/EA50 4H045/FA74		
代理人(译)	川口义行 永田豊 远山 勉		
优先权	10/183116 2002-06-26 US		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

技术领域本发明一般涉及人MrgD多肽，其是参与最近鉴定的疼痛感觉的G蛋白偶联受体家族之一（图6B）。提供了鉴定人MrgD的激动剂和拮抗剂的具体方法，以及利用激动剂和拮抗剂改变疼痛感的方法。

表2. 痛みの感知に関する遺伝子のディファレンシャルハイブリダイゼーションスクリーニングの結果の概要

スクリーニングにより単離した回数	名称
A. 既知の遺伝子	
13	NaN
9	ジアシルグリセロールキナーゼ
7	シナプトフィジン IIa
5	パニロイド受容体 1
3	GluR5-2c
2	CGRP
2	CLIM1
1	SNS-TTXi
1	α -N-カテニン I
1	脳 Naチャネル III
1	NICA6
1	セクレタグラニン
B. 新規遺伝子	
2	Mrg3 (新規Gタンパク質共役受容体)
2	DRG12

注釈: 従来の研究は太文字の遺伝子が侵害受容器で特異的に発現されることを示す。