

(19)日本国特許庁 ( J P )

(12) **公表特許公報** ( A ) (11)特許出願公表番号

**特表2003 - 516750**

(P2003 - 516750A)

(43)公表日 平成15年5月20日 (2003.5.20)

(51) Int.Cl <sup>7</sup>	識別記号	F I	テ-マコード* (参考)
C 1 2 N 15/09	ZNA	A 0 1 K 67/027	2 G 0 4 5
A 0 1 K 67/027		A 6 1 K 45/00	4 B 0 2 4
A 6 1 K 38/00		A 6 1 P 3/00	4 B 0 5 0
45/00		5/00	4 B 0 6 3
A 6 1 P 3/00		15/00	4 B 0 6 5

審査請求 未請求 予備審査請求 (全181数) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2001 - 545526(P2001 - 545526)

(86) (22)出願日 平成12年12月7日 (2000.12.7)

(85)翻訳文提出日 平成14年6月14日 (2002.6.14)

(86)国際出願番号 PCT/US00/33158

(87)国際公開番号 W001/044448

(87)国際公開日 平成13年6月21日 (2001.6.21)

(31)優先権主張番号 60/172,367

(32)優先日 平成11年12月16日 (1999.12.16)

(33)優先権主張国 米国 (US)

(71)出願人 インサイト・ゲノミックス・インコーポレイテッド

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

(72)発明者 ユエ、ヘンリー

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

(72)発明者 ラル、プリーティ

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

(74)代理人 弁理士 大島 陽一

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 ヒト酸化還元酵素タンパク質

(57)【要約】

本発明は、ヒト酸化還元酵素タンパク質 (ORP) と、ORPを同定及びコードするポリヌクレオチドとを提供する。本発明はまた、発現ベクター及び宿主細胞、抗体、アゴニスト、アンタゴニストを提供する。更に、本発明は、ORPの発現に関連する疾患の診断・治療・予防方法を提供する。

**【特許請求の範囲】**

**【請求項1】** 単離されたポリペプチドであって、

(a) SEQ ID NO:1乃至SEQ ID NO:27 (SEQ ID NO:1 - 27) からなる群から選択されたアミノ酸配列と、

(b) SEQ ID NO:1 - 27からなる群から選択されたアミノ酸配列と少なくとも90%の配列同一性を有する天然のアミノ酸配列と、

(c) SEQ ID NO:1 - 27からなる群から選択されたアミノ酸配列の生物学的に活性な断片と、

(d) SEQ ID NO:1 - 27からなる群から選択されたアミノ酸配列の免疫原性断片とで構成される群から選択されたアミノ酸配列を含むことを特徴とする単離されたポリペプチド。

**【請求項2】** SEQ ID NO:1 - 27からなる群から選択された請求項1の単離されたポリペプチド。

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

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

**【請求項5】** SEQ ID NO:28 - 54からなる群から選択された請求項4の単離されたポリヌクレオチド。

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

**【請求項7】** 請求項6の組換えポリヌクレオチドで形質転換された細胞。

**【請求項8】** 請求項6の組換えポリヌクレオチドを含む遺伝子組換え生物。

**【請求項9】** 請求項1のポリペプチドを生産する方法であって、

(a) 前記ポリペプチドの発現に好適な条件下で、請求項1のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドに機能的に結合されたプロモーター配列を含む組換えポリヌクレオチドで形質転換された細胞を培養するステップと、

(b) そのように発現したポリペプチドを回収するステップとを含むことを特徴とする請求項1のポリペプチドの生産方法。

【請求項10】 請求項1のポリペプチドに特異的に結合する単離された抗体。

【請求項11】 単離されたポリヌクレオチドであって、

(a) SEQ ID NO:28 - 54からなる群から選択されたポリヌクレオチド配列と、

(b) SEQ ID NO:28 - 54からなる群から選択されたポリヌクレオチド配列と少なくとも70%の配列同一性を有する天然のポリヌクレオチド配列と、

(c) 前記(a)に相補的なポリヌクレオチド配列と、

(d) 前記(b)に相補的なポリヌクレオチド配列と、

(e) 前記(a)乃至(d)のRNA等価物とで構成される群から選択されたポリヌクレオチド配列を含む単離されたポリヌクレオチド。

【請求項12】 請求項11のポリヌクレオチドの少なくとも60個の連続するヌクレオチドを含む単離されたポリヌクレオチド。

【請求項13】 サンプルにおいて、請求項11に記載のポリヌクレオチド配列を有する標的ポリヌクレオチドを検出する方法であって、

(a) 前記サンプルをプローブでハイブリダイズするステップであって、前記プローブが、前記サンプル内の前記標的ポリヌクレオチドと相補的な配列を含む少なくとも20個の連続するヌクレオチドを含み、前記プローブと前記標的ポリヌクレオチドまたはその断片との間でハイブリダイゼーション複合体が形成される条件下で、前記プローブが前記標的ポリヌクレオチドと特異的にハイブリダイズする、該ステップと、

(b) 前記ハイブリダイゼーション複合体が存在するか否かを検出し、存在する場合には随意選択でその収量を測定するステップとを含むことを特徴とする標的ポリヌクレオチドの検出方法。

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

【請求項15】 サンプルにおいて、請求項11のポリヌクレオチド配列を有する標的ポリヌクレオチドを検出する方法であって、

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

(b) 増幅された前記標的ポリヌクレオチドまたはその断片が存在するか否かを検出し、存在する場合には随意選択でその収量を測定するステップとを含むことを特徴とする標的ポリヌクレオチドの検出方法。

【請求項16】 有効量の請求項1のポリペプチド及び医薬的に容認できる賦形剤を含む組成物。

【請求項17】 前記ポリペプチドが、SEQ ID NO:1-27からなる群から選択されたアミノ酸配列を含むことを特徴とする請求項16の組成物。

【請求項18】 機能的なORP(新規の酸化還元酵素タンパク質)の発現の低下に関連する疾患や病態の治療方法であって、そのような治療が必要な患者に請求項16の組成物を投与することを含むことを特徴とする治療方法。

【請求項19】 請求項1のポリペプチドのアゴニストとして効果的な化合物をスクリーニングする方法であって、

(a) 請求項1のポリペプチドを含むサンプルを化合物に曝露するステップと、

(b) 前記サンプルにおいてアゴニスト活性を検出するステップとを含むことを特徴とするスクリーニング方法。

【請求項20】 請求項19のスクリーニング方法によって同定されたアゴニスト化合物及び医薬的に容認できる賦形剤を含む組成物。

【請求項21】 機能的なORPの発現の低下に関連する疾患や病態の治療方法であって、そのような治療が必要な患者に請求項20の組成物を投与することを含むことを特徴とする治療方法。

【請求項22】 請求項1のポリペプチドのアンタゴニストとして効果的な化合物をスクリーニングする方法であって、

(a) 請求項1のポリペプチドを含むサンプルを化合物に曝露するステップと、

(b) 前記サンプルにおいてアンタゴニスト活性を検出するステップとを含むことを特徴とするスクリーニング方法。

【請求項23】 請求項22のスクリーニング方法によって同定されたアントゴニスト化合物及び医薬的に容認できる賦形剤を含む組成物。

【請求項24】 機能的なORPの過剰な発現に関連する疾患や病態の治療方法であって、そのような治療が必要な患者に請求項23の組成物を投与することを含むことを特徴とする治療方法。

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

(a) 請求項1のポリペプチドを好適な条件下で少なくとも1つの試験化合物と結合させるステップと、

(b) 請求項1のポリペプチドと前記試験化合物との結合を検出して、請求項1のポリペプチドと特異的に結合する化合物を同定するステップとを含むことを特徴とするスクリーニング方法。

【請求項26】 請求項1のポリペプチドの活性を変化させる化合物をスクリーニングする方法であって、

(a) 請求項1のポリペプチドを、その活性が許容される条件下で少なくとも1つの試験化合物と結合させるステップと、

(b) 前記試験化合物の存在下での請求項1のポリペプチドの活性を評価するステップと、

(c) 前記試験化合物の存在下での請求項1のポリペプチドの活性と、前記試験化合物の不在下での請求項1のポリペプチドの活性とを比較するステップとを含み、

前記試験化合物の存在下での請求項1のポリペプチドの活性の変化が、請求項1のポリペプチドの活性を変化させる化合物の存在を示唆すること特徴とするスクリーニング方法。

【請求項27】 請求項5の配列を含む標的ポリヌクレオチドの発現を変化させるのに効果的な化合物をスクリーニングする方法であって、

(a) 前記標的ポリヌクレオチドの発現に好適な条件下で、前記標的ポリヌクレオチドを含むサンプルを化合物に曝露するステップと、

(b) 前記標的ポリヌクレオチドの発現の変化を検出するステップと、

(c) 様々な量の前記化合物の存在下での前記標的ポリヌクレオチドの発現と、前記化合物の不在下での前記標的ポリヌクレオチドの発現とを比較するステップを含むことを特徴とするスクリーニング方法。

【請求項28】 試験化合物の毒性を評価する方法であって、

(a) 核酸を含む生体サンプルを前記試験化合物で処理するステップと、

(b) 処理した前記生体サンプルの核酸と、請求項11のポリヌクレオチドの少なくとも20の連続するヌクレオチドを含むプローブをハイブリダイズさせるステップであって、このハイブリダイゼーションが、前記プローブと前記生体サンプルの標的ポリヌクレオチドとの間で特異的なハイブリダイゼーション複合体が形成される条件下で行われ、前記標的ポリヌクレオチドが、請求項11のポリヌクレオチドのポリヌクレオチド配列またはその断片を含むポリヌクレオチドである、前記ステップと、

(c) ハイブリダイゼーション複合体の収量を定量するステップと、

(d) 前記処理した生体サンプルにおけるハイブリダイゼーション複合体の収量を、未処理の生体サンプルにおけるハイブリダイゼーション複合体の収量と比較するステップとを含み、

前記処理した生体サンプルにおけるハイブリダイゼーション複合体の収量の差が試験化合物の毒性を示唆することを特徴とする試験化合物の毒性評価方法。

**【発明の詳細な説明】****【0001】**

## (技術分野)

本発明は、酸化還元酵素タンパク質の核酸配列及びアミノ酸配列に関する。本発明はまた、癌を含む細胞増殖異常、内分泌障害、代謝異常、生殖障害、神経の疾患、ウイルス感染症、および自己免疫/炎症性の疾患の診断・治療・予防へのこれらの配列の利用に関する。本発明はさらに、酸化還元酵素タンパク質の核酸配列及びアミノ酸配列の発現における外来性化合物の効果についての評価に関する。

**【0002】**

## (発明の背景)

生合成および生分解の多くの経路は、与体または受容体の補助因子の酸化または還元を伴う酸化還元酵素(脱水素酵素または還元酵素)の活性を必要とする。潜在的な補助因子には、チトクローム、酸素、ジスルフィド、鉄 硫黄タンパク質、フラビンアデニンヌクレオチド(FAD)、およびニコチンアミドアデニンジヌクレオチドNADおよびNADPがある(Newsholme, E. A. および Leech, A. R. (1983) *Biochemistry for the Medical Sciences*, John Wiley and Sons, Chichester, U. K. pp. 779-793)。

**【0003】**

還元酵素活性が、補助因子の酸化と同時に起こる基質と補助因子との間の電子の移動を触媒する。脱水素酵素の逆反応は、補助因子の還元およびそれに続く基質の酸化を触媒する。酸化還元酵素は、タンパク質の幅広いスーパーファミリーであって、細菌から植物およびヒトに至る生物の全ての細胞における様々な反応を触媒する。これらの反応には、糖の代謝、肝臓における或る種の解毒反応や、脂肪酸、アミノ酸、糖質コルチコイド、エストロゲン、アンドロゲン、およびロスタグランジンの生合成および生分解が含まれる。異なったファミリーメンバーは、反応が通常に触媒される方向に従って命名されるため、酸化還元酵素、酸化酵素、還元酵素、または脱水素酵素と呼ばれ得る。更に、ファミリーメンバーは、細胞質、細胞膜、ミトコンドリア内膜および外膜、およびペルオキシソームを

含むその酵素固有の細胞内部位に局在化する場合が多い。

#### 【0004】

テトラヒドロ葉酸は担体として作用するグルタミン酸分子の誘導体であって、活性化した1炭素単位をプリン、ピリミジン、およびアミノ酸メチオニンの生合成を含む様々な生合成反応に提供する。テトラヒドロ葉酸は、テトラヒドロ葉酸脱水素酵素、テトラヒドロ葉酸シクロヒドラーゼ、およびテトラヒドロ葉酸合成酵素の3つの酵素活性を含むテトラヒドロ葉酸合成酵素と呼ばれるホロ酵素複合体の活性によって生成される。従って、テトラヒドロ葉酸脱水素酵素は、細胞増殖に必須である核酸およびアミノ酸のブロック形成において重要な役割を果たしている。

#### 【0005】

細胞内の酸化還元状態がタンパク質の構築に重要である。タンパク質の折り畳みにおける主な律速段階は、適切なタンパク質の構築に必要なチオール-ジスルフィド交換である。所定の比率の酸化型チオールおよび還元型チオールを含むバッファーにおいて折り畳まれていない還元されたタンパク質をインキュベートすると天然の構造に折り畳まれるが、その速度は遅く、しかもタンパク質の大きさとシステイン残基の数に比例して天然構造への達成率が低下する。真核生物の小胞体および原核生物の細胞周辺腔などの或る種の細胞内区画は、周囲の細胞質よりも強い酸化状態に維持されている。適切なジスルフィド形成がこれらの区画で起こり得るが、その速度は通常の細胞プロセスおよび分泌タンパク質の合成には十分ではない。

#### 【0006】

タンパク質ジスルフィドイソメラーゼ(PDI)、チオレドキシン、およびglutaredoxinはジスルフィド結合の形成を触媒して細胞内の還元環境を調節することができ、必須のチオール-ジスルフィド交換を可能にする。これらの分子のクラスそれぞれのやや異なった機能を有するが、その全てが、保存された活性部位配列を含むジスルフィド含有酸化還元タンパク質群に属し、真核生物および原核生物に遍在している。PDIは、真核生物の小胞体および原核生物の細胞周辺腔に見られる。PDIは、折り畳まれたペプチド鎖において自身のジスルフィドをチオ

ールと交換して機能する。これとは対照的に、還元型チオレドキシシンおよびglutaredoxinは通常細胞質に見られ、基質タンパク質のジスルフィドを直接還元して機能する。熱耐性酸化還元活性タンパク質であるチオレドキシシン(Trx)は、活性部位システイン・ジスルフィド/ジチオールを含む。酸化型チオレドキシシンであるTrx-Sは、NADPHと特定のフラボプロテイン酵素(チオレドキシシン還元酵素)によってジチオール型に還元され得る。還元型チオレドキシシンであるTrx-(SH)は、殆どがタンパク質ジスルフィドの還元に関連する幾つかの酸化還元反応に関与する。Trxおよびチオレドキシシン還元酵素(TR)はNADPHと共に、NADPHからTrxへの電子の移動をTRが触媒する酸化還元複合体を形成する。従って、還元型チオレドキシシンは、多種多様な代謝プロセスにおける電子供与体として機能する。

#### 【0007】

ジスルフィド含有酸化還元タンパク質はジスルフィド形成を促進するだけではなく、様々な生理学的なプロセスを調節してそのプロセスに関与する。チオレドキシシン系は、例えばリボヌクレオチド還元酵素に対する水素供与体として働き、酸化還元反応によって酵素の活性を調節する。哺乳動物チオレドキシシン(MT)は、リボヌクレオチド還元酵素およびメチオニンスルホキシド還元酵素に対する水素供与体として働き、ジスルフィド含有タンパク質の再折り畳みを促進し、糖質コルチコイド受容体およびインターロイキン-2受容体を活性化する。MTはまた、或る種の転写因子のDNA結合活性を直接的(TFIIIC、BZLF1、およびNF- $\kappa$ B)或いは核因子Ref-1を介して間接的(AP-1)に調節する。転写因子の酸化還元調節の重要性は、チオレドキシシン調節性システイン残基の点変異がAP-1複合体の恒常的な活性化につながるv-fosオンコジーンによって実証されている。リーダーの存在しない経路を用いる細胞から分泌されるチオレドキシシンは、リンパ細胞、線維芽細胞、および様々なヒト充実性腫瘍細胞系の増殖を刺激する。更に、チオレドキシシンは初期妊娠因子の必須成分であって、マクロファージにおけるヒト免疫不全ウイルスの発現を阻害したり、 $H_2O_2$ を還元したり、またフリーラジカルを除去したり、更に酸化ストレスに対して細胞を保護したりする(Abate, C. ら (1990) Science 249 : 1157-1161 ; Rosen, A. ら (1995) Int. Immunol. 7 : 625-633 ; Tagaya, Y. ら (1989) EMBO J. 8 : 757-764 ; Newman, G. W. (1994) J.

Expt. Med. 180 : 359-363 ; および Makino, Y. (1996) J. Clin. Invest. 98 : 2469-2477)。

#### 【0008】

短鎖アルコール脱水素酵素 (SCAD) は、わずか15%~30%の配列同一性を共有する脱水素酵素のファミリーであって、その類似性が主に補酵素結合ドメインおよび基質結合部位に存在する。よく知られているエタノール分解の役割に加えて、SCADは脂肪酸、ステロイド、および或る種のプロスタグランジンの生合成および生分解にも関与することから、脂質貯蔵病、筋障害、SCAD欠乏症、および或る種の遺伝病などの様々な疾患に関与する。例えば、レチノール脱水素酵素は、レチノールをレチノイン酸の前駆体であるレチナールに変換するSCADファミリーのメンバーである (Simon, A. ら (1995) J. Biol. Chem. 270 : 1107-1112)。分化およびアポトーシスのレギュレーターであるレチノイン酸は、細胞増殖および炎症に関与する遺伝子をダウンレギュレートすることが分かっている (Chai, X. ら (1995) J. Biol. Chem. 270 : 3900-3904)。更に、レチノール脱水素酵素は、小児期発生常染色体劣性重症網膜ジストロフィなどの先天性の眼の疾患に関与する (Simon, A. ら (1996) Genomics 36 : 424-430)。

#### 【0009】

神経インパルスの伝達、細胞増殖および分化の調節、免疫反応の誘導、および組織恒常性には、神経伝達物質の代謝が伴う (Weiss, B. (1991) Neurotoxicology 12 : 379-386 ; Collins, S. M. ら (1992) Ann. N. Y. Acad. Sci. 664 : 415-424 ; Brown, J. K. および Imam, H. (1991) J. Inherit. Metab. Dis. 14 : 436-458)。神経伝達物質の代謝の多くの経路には、 $\text{NAD}^+$  /  $\text{NADH}$ などの補助因子の酸化または還元を伴う酸化還元酵素の活性が必要である (Newsholme, E. A. および Leech, A. R. (1983) Biochemistry for the Medical Sciences, John Wiley and Sons, Chichester, U. K. pp. 779-793)。カテコールアミン (エピネフリンまたはノルエピネフリン) の分解には、脳におけるアルコール脱水素酵素または末梢組織におけるアルデヒド脱水素酵素が必要である。 $\text{NAD}^+$ 依存性アルデヒド脱水素酵素は、脳、血小板、肺、および肺内皮における5-ヒドロキシインドール-3-酢酸 (5-ヒドロキシトリプタミン (セロトニン) の代謝産物) を酸

化する (Newsholme, E. A. および Leech, A. R. 前出 p. 786)。NAD<sup>+</sup>/NADH依存性酸化還元酵素活性を利用する他の神経伝達物質の分解経路には、L-DOPA (ドーパミンの前駆体、神経興奮化合物 (neuronal excitatory compound))、グリシン (脳および脊髄における抑制性伝達物質)、ヒスタミン (炎症反応の際に肥満細胞から遊離)、およびタウリン (脳幹、脊髄、および網膜の抑制性伝達物質) の分解経路がある (Newsholme, E. A. および Leech, A. R. supra, pp. 790, 792)。神経伝達物質の代謝経路における後成的または遺伝的な障害は、パーキンソン病や遺伝性ミオクローヌスを含む様々な組織における或る範囲の病態につながり得る (McCance, K. L. および Huether, S. E. (1994) Pathophysiology, Mosby-Year Book, Inc., St. Louis, MO pp. 402-404 ; Gundlach, A. L. (1990) FASEB J. 4 : 2761-2766)。

#### 【0010】

3-ヒドロキシアシル-CoAデヒドロゲナーゼ (3HACD) は脂肪酸の代謝に関与する。3HACDは、真核生物細胞のミトコンドリアおよびペルオキシソームにおいて、NADのNADHへの酸化が同時に生じる3-ヒドロキシアシル-CoAの3-オキソアシル-CoAへの還元を触媒する。ペルオキシソームでは、3HACDおよびエノイル-CoAヒドラーターゼが2機能酵素 (bifunctional enzyme) と呼ばれる酵素複合体を形成し、この複合体の欠損がペルオキシソーム2機能酵素の欠損症に関連する。この脂肪酸代謝の中断によって、脳、骨、および副腎の発達を阻害する超長鎖脂肪酸が生成される。この欠損症の症状をもって生まれる乳児は、通常6ヶ月以内に死亡する (Watkins, P. ら (1989) J. Clin. Invest. 83 : 771-777 ; Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM), #261515)。アルツハイマー病の特徴である神経変性は、脳の或る領域における細胞外プラークを伴う。これらのプラークの主なタンパク質成分は、アミロイド前駆体タンパク質 (APP) の幾つかの分解産物の1つであるアミロイドペプチド (A $\beta$ ) である。A $\beta$  と結合することが実証されている3HACDが、アルツハイマー病に感染したニューロンで過剰に発現されている。更に、抗3HACD抗体はアルツハイマー病の培養細胞モデルにおけるA $\beta$ の毒作用を遮断し得る (Yan, S. ら (1997) Nature 389 : 689-695 ; OMIM, #602057)。

## 【0011】

17 $\beta$ -ヒドロキシステロイド脱水素酵素 (17 HSD6) は、男性ホルモンであるジヒドロテストステロン (DHTT) の調節に重要な役割を果たしている。17 HSD6 は、DHTTの前駆体である3 $\beta$ -ジオールを容易にグルクロン酸化して組織から除去されるアンドロステロンに酸化してDHTTのレベルを低下させるように作用する。17 HSD6はまた、胚腎293細胞で発現されるとアンドロゲン基質およびエストロゲン基質の両方で活性である。異なったステロイド基質に特異的であって、様々な組織における酸化反応および/または還元反応を触媒する17 HSDの少なくとも5つの他のイソ酵素が同定された (Biswas, M. G. および Russell, D. W. (1997) J. Biol. Chem. 272 : 15959-15966)。例えば17 HSD1はエストラジオールを選択的に還元し、卵巣および胎盤に豊富である。17 HSD2はアンドロゲンの酸化を触媒し、子宮内膜および胎盤に存在する。17 HSD3は、精巣のみに存在する還元酵素である (Geissler, W. M. ら (1994) Nature Genet. 7 : 34-39)。DHTTなどのアンドロゲンの過剰な存在は、良性前立腺肥大および前立腺癌などの或る種の病態を引き起こし得る。

## 【0012】

エストロゲン、テストステロン、およびコルチコステロンなどのステロイドは、共通の前駆体であるコレステロールから生成され、互いに相互変換される。幾つかの脱水素酵素を含む様々な酵素がコレステロールに作用する。このような脱水素酵素の例には、前立腺およびほかのアンドロゲン応答性組織に高発現するミクロソーム膜タンパク質である3-オキソ-5 $\beta$ -ステロイド脱水素酵素 (OSAD) がある。OSADは、テストステロンのジヒドロテストステロンへの変換を触媒する。ジヒドロテストステロンは、最も強力なアンドロゲンである。ジヒドロテストステロンは、胚発生時の男性表現型の形成、並びに適切なアンドロゲン仲介性の組織 (前立腺や男性生殖器など) の成長に必須である。テストステロンのジヒドロテストステロンへの変換を阻害するOSADの欠損は、外性器の不完全形成によって特徴付けられる稀に見られる男性偽雌雄同体型を引き起こす (Andersson, S., ら (1991) Nature 354 : 159-161 ; Labrie, F., ら (1992) Endocrinology 131 : 1571-1573 ; OMIM #264600)。従って、OSADは性分化およびアンドロゲン

の生理機能に中心的な役割を果たす。

#### 【0013】

新規の酸化還元酵素タンパク質、およびそれらをコードするポリヌクレオチドの発見により、新規の組成物を提供することで当分野の要望に応えることができる。この新規の組成物は、癌を含む細胞増殖異常、内分泌障害、代謝異常、生殖障害、神経の疾患、ウイルス感染症、および自己免疫/炎症性の疾患の診断・治療・予防において有用であり、また、酸化還元酵素タンパク質の核酸配列及びアミノ酸配列の発現における外来性化合物の効果についての評価にも有用である。

#### 【0014】

(発明の要約)

本発明は、総称して「ORP」、個別にはそれぞれ「ORP-1」、「ORP-2」、「ORP-3」、「ORP-4」、「ORP-5」、「ORP-6」、「ORP-7」、「ORP-8」、「ORP-9」、「ORP-10」、「ORP-11」、「ORP-12」、「ORP-13」、「ORP-14」、「ORP-15」、「ORP-16」、「ORP-17」、「ORP-18」、「ORP-19」、「ORP-20」、「ORP-21」、「ORP-22」、「ORP-23」、「ORP-24」、「ORP-25」、「ORP-26」、および「ORP-27」と呼ぶ酸化還元酵素タンパク質である精製されたポリペプチドを提供する。本発明の一実施態様では、(a) SEQ ID NO:1乃至21 (SEQ ID NO:1 - 27) からなる一群から選択されたアミノ酸配列と、(b) SEQ ID NO:1 - 27からなる一群から選択されたアミノ酸配列と90%以上の配列同一性を有する天然のアミノ酸配列と、(c) SEQ ID NO:1 - 27からなる一群から選択されたアミノ酸配列の生物学的に活性な断片と、(d) SEQ ID NO:1 - 27とからなる一群から選択されたアミノ酸配列の免疫原性断片とで構成される一群から選択されたアミノ酸配列を含む単離されたポリペプチドを提供する。別法では、SEQ ID NO:1 - 27のアミノ酸配列を含む単離されたポリペプチドを提供する。

#### 【0015】

更に本発明は、(a) SEQ ID NO:1 - 27からなる一群から選択されたアミノ酸配列と、(b) SEQ ID NO:1 - 27からなる一群から選択されたアミノ酸配列と90%以上の配列同一性を有する天然のアミノ酸配列と、(c) SEQ ID NO:1 - 27からなる一群から選択されたアミノ酸配列の生物学的に活性な断片と、(d) SEQ ID NO

:1 - 27からなる一群から選択されたアミノ酸配列の免疫原性断片とで構成される一群から選択されたアミノ酸配列を含むポリペプチドをコードする単離されたポリヌクレオチドを提供する。別法では、このポリヌクレオチドは、SEQ ID NO:1 - 27からなる一群から選択されたポリペプチドをコードする。別法では、このポリヌクレオチドは、SEQ ID NO:28 - 54からなる一群から選択される。

【0016】

更に、本発明は、(a) SEQ ID NO:1 - 27からなる一群から選択されたアミノ酸配列と、(b) SEQ ID NO:1 - 27からなる一群から選択されたアミノ酸配列と90%以上の配列同一性を有する天然のアミノ酸配列と、(c) SEQ ID NO:1 - 27からなる一群から選択されたアミノ酸配列の生物学的に活性な断片と、(d) SEQ ID NO:1 - 27からなる一群から選択されたアミノ酸配列の免疫原性断片とで構成される一群から選択されたアミノ酸配列を含むポリペプチドをコードするポリヌクレオチドと機能的に結合されたプロモーター配列を含む組換えポリヌクレオチドを提供する。別法では、本発明は、この組換えポリヌクレオチドで形質転換された細胞を提供する。更なる別法では、本発明は、この組換えポリヌクレオチドを含む遺伝子組換え生物を提供する。

【0017】

また、本発明は、(a) SEQ ID NO:1 - 27からなる一群から選択されたアミノ酸配列と、(b) SEQ ID NO:1 - 27からなる一群から選択されたアミノ酸配列と90%以上の配列同一性を有する天然のアミノ酸配列と、(c) SEQ ID NO:1 - 27からなる一群から選択されたアミノ酸配列の生物学的に活性な断片と、(d) SEQ ID NO:1 - 27とからなる一群から選択されたアミノ酸配列の免疫原性断片とで構成される一群から選択されたアミノ酸配列を含むポリペプチドの生産方法を提供する。この方法は、(a) このポリペプチドの発現に好適な条件下で、このポリペプチドをコードするポリヌクレオチドと機能的に結合されたプロモーター配列を含む組換えポリヌクレオチドで形質転換された細胞を培養するステップと、(b) このように発現したポリペプチドを回収するステップとを含む。

【0018】

更に、本発明は、(a) SEQ ID NO:1 - 27からなる一群から選択されたアミノ酸

配列と、(b) SEQ ID NO:1 - 27からなる一群から選択されたアミノ酸配列と90%以上の配列同一性を有する天然のアミノ酸配列と、(c) SEQ ID NO:1 - 27からなる一群から選択されたアミノ酸配列の生物学的に活性な断片と、(d) SEQ ID NO:1 - 27とからなる一群から選択されたアミノ酸配列の免疫原性断片とで構成される一群から選択されたアミノ酸配列を含むポリペプチドに特異的に結合する単離された抗体を提供する。

#### 【0019】

更に、本発明は、(a) SEQ ID NO:28 - 54からなる一群から選択されたポリヌクレオチド配列と、(b) SEQ ID NO:28 - 54からなる一群から選択されたポリヌクレオチド配列と70%以上の配列同一性を有する天然のポリヌクレオチド配列と、(c) 前記(a)に相補的なポリヌクレオチド配列と、(d) 前記(b)に相補的なポリヌクレオチド配列と、(e) 前記(a)乃至(d)のRNA等化物とで構成される一群から選択されたポリヌクレオチド配列を含む単離されたポリヌクレオチドを提供する。別法では、このポリヌクレオチドは、少なくとも60個の連続するヌクレオチドを含む。

#### 【0020】

更に本発明は、(a) SEQ ID NO:28 - 54からなる一群から選択されたポリヌクレオチド配列と、(b) SEQ ID NO:28 - 54からなる一群から選択されたポリヌクレオチド配列と70%以上の配列同一性を有する天然のポリヌクレオチド配列と、(c) 前記(a)に相補的なポリヌクレオチド配列と、(d) 前記(b)に相補的なポリヌクレオチド配列と、(e) 前記(a)乃至(d)のRNA等化物とで構成される一群から選択されたポリヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド配列を有する標的ポリヌクレオチドをサンプルにおいて検出する方法を提供する。この方法は、(a) 前記サンプル内の標的ポリヌクレオチドと相補的な配列を構成する少なくとも20個の連続するヌクレオチドを含むプローブと前記サンプルをハイブリダイズさせるステップであって、前記プローブと前記標的ポリヌクレオチドまたはその断片とでハイブリダイゼーション複合体が形成される条件下で、前記プローブが前記標的ポリヌクレオチドに特異的にハイブリダイズする、該ステップと、(b) 前記ハイブリダイゼーション複合体の存在するか否かを検出し、存在

する場合には随意選択でその収量を測定するステップとを含む。別法では、前記プローブは、少なくとも60個の連続するヌクレオチドを含む。

#### 【0021】

更に本発明は、(a) SEQ ID NO:28-54からなる一群から選択されたポリヌクレオチド配列と、(b) SEQ ID NO:28-54からなる一群から選択されたポリヌクレオチド配列と70%以上の配列同一性を有する天然のポリヌクレオチド配列と、(c) 前記(a)に相補的なポリヌクレオチド配列と、(d) 前記(b)に相補的なポリヌクレオチド配列と、(e) 前記(a)乃至(d)のRNA等化物とで構成される一群から選択されたポリヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド配列を有する標的ポリヌクレオチドをサンプルにおいて検出する方法を提供する。この方法は、(a) ポリメラーゼ連鎖反応増幅を用いて、前記標的ポリヌクレオチドまたはその断片を増幅するステップと、(b) 増幅された前記標的ポリヌクレオチドまたはその断片が存在するか否かを検出し、存在する場合には随意選択でその収量を測定するステップとを含む。

#### 【0022】

更に本発明は、(a) SEQ ID NO:1-27からなる一群から選択されたアミノ酸配列と、(b) SEQ ID NO:1-27からなる一群から選択されたアミノ酸配列と90%以上の配列同一性を有する天然のアミノ酸配列と、(c) SEQ ID NO:1-27からなる一群から選択されたアミノ酸配列の生物学的に活性な断片と、(d) SEQ ID NO:1-27とからなる一群から選択されたアミノ酸配列の免疫原性断片とで構成される一群から選択されたアミノ酸配列を含む効果的な量のポリペプチド及び好適な医薬用賦形剤を含む組成物を提供する。一実施例では、SEQ ID NO:1-27からなる一群から選択されたアミノ酸配列を含む組成物を提供する。更に、本発明は、患者にこの組成物を投与することを含む、機能的ORPの発現の低下に関連した疾患やその症状の治療方法を提供する。

#### 【0023】

更に本発明は、(a) SEQ ID NO:1-27からなる一群から選択されたアミノ酸配列と、(b) SEQ ID NO:1-27からなる一群から選択されたアミノ酸配列と90%以上の配列同一性を有する天然のアミノ酸配列と、(c) SEQ ID NO:1-27からなる

る一群から選択されたアミノ酸配列の生物学的に活性な断片と、(d) SEQ ID NO:1-27とからなる一群から選択されたアミノ酸配列の免疫原性断片とで構成される一群から選択されたアミノ酸配列を含むポリペプチドのアゴニストとして効果的な化合物をスクリーニングする方法を提供する。この方法は、(a)このポリペプチドを含むサンプルを化合物に曝露するステップと、(b)このサンプルのアゴニスト活性を検出するステップとを含む。別法では、本発明は、この方法によって同定されたアゴニスト化合物と好適な医薬用賦形剤とを含む組成物を提供する。更なる別法では、本発明は、この組成物の患者への投与を含む、機能的ORPの発現の低下に関連した疾患やその症状の治療方法を提供する。

#### 【0024】

更に、本発明は、(a) SEQ ID NO:1-27からなる一群から選択されたアミノ酸配列と、(b) SEQ ID NO:1-27からなる一群から選択されたアミノ酸配列と90%以上の配列同一性を有する天然のアミノ酸配列と、(c) SEQ ID NO:1-27からなる一群から選択されたアミノ酸配列の生物学的に活性な断片と、(d) SEQ ID NO:1-27とからなる一群から選択されたアミノ酸配列の免疫原性断片とで構成される一群から選択されたアミノ酸配列を含むポリペプチドのアンタゴニストとして効果的な化合物をスクリーニングする方法を提供する。この方法は、(a)このポリペプチドを含むサンプルを化合物に曝露するステップと、(b)このサンプルのアンタゴニスト活性を検出するステップとを含む。別法では、本発明は、この方法によって同定されたアンタゴニスト化合物と好適な医薬用賦形剤とを含む組成物を提供する。更なる別法では、本発明は、この組成物の患者への投与を含む、機能的ORPの過剰な発現に関連した疾患やその症状の治療方法を提供する。

#### 【0025】

更に本発明は、(a) SEQ ID NO:1-27からなる一群から選択されたアミノ酸配列と、(b) SEQ ID NO:1-27からなる一群から選択されたアミノ酸配列と90%以上の配列同一性を有する天然のアミノ酸配列と、(c) SEQ ID NO:1-27からなる一群から選択されたアミノ酸配列の生物学的に活性な断片と、(d) SEQ ID NO:1-27とからなる一群から選択されたアミノ酸配列の免疫原性断片とで構成され

る一群から選択されたアミノ酸配列を含むポリペプチドに特異的に結合する化合物をスクリーニングする方法を提供する。この方法は、(a)このポリペプチドを好適な条件下で少なくとも1つの化合物と結合させるステップと、(b)このポリペプチドとこの試験化合物との結合を検出して、このポリペプチドと特異的に結合する化合物を同定するステップとを含む。

#### 【0026】

更に本発明は、(a)SEQ ID NO:1-27からなる一群から選択されたアミノ酸配列と、(b)SEQ ID NO:1-27からなる一群から選択されたアミノ酸配列と90%以上の配列同一性を有する天然のアミノ酸配列と、(c)SEQ ID NO:1-27からなる一群から選択されたアミノ酸配列の生物学的に活性な断片と、(d)SEQ ID NO:1-27とからなる一群から選択されたアミノ酸配列の免疫原性断片とで構成される一群から選択されたアミノ酸配列を含むポリペプチドの活性を調節する化合物をスクリーニングする方法を提供する。このスクリーニング方法は、(a)このポリペプチドを、その活性が許容される条件下で少なくとも1つの化合物と結合させるステップと、(b)この試験化合物の存在下でのこのポリペプチドの活性を評価するステップと、(c)この試験化合物の存在下でのこのポリペプチドの活性と、この試験化合物の不在下でのこのポリペプチドの活性とを比較するステップとを含み、この試験化合物の存在下でのこのポリペプチドの活性の変化が、このポリペプチドの活性を調節する化合物の存在を示唆するという特徴を有する。

#### 【0027】

更に本発明は、SEQ ID NO:28-54からなる一群から選択された配列を含む標的ポリヌクレオチドの発現を変化させるのに効果的な化合物をスクリーニングする方法であって、(a)この標的ポリヌクレオチドを含むサンプルを化合物に曝露するステップと、(b)この標的ポリヌクレオチドの発現の変化を検出するステップとを含む、該スクリーニング方法を提供する。

#### 【0028】

本発明はさらに、試験化合物の毒性を評価する方法を提供する。この方法は、(a)核酸を含む生体サンプルを前記試験化合物で処理するステップと、(b)処理した前記生体サンプルの核酸をプローブとハイブリダイズするステップと、

(c) ハイブリダイゼーション複合体の収量を測定するステップと、(d) 前記処理した生体サンプルにおけるハイブリダイゼーション複合体の収量を、未処理の生体サンプルにおけるハイブリダイゼーション複合体の収量とを比較するステップとを含み、前記処理した生体サンプルにおけるハイブリダイゼーション複合体の収量の差異が試験化合物の毒性を示唆する。この方法における前記プローブは、(1) SEQ ID NO:28-54からなる一群から選択されたポリヌクレオチド配列と、(2) SEQ ID NO:28-54からなる一群から選択されたポリヌクレオチド配列と少なくとも70%の配列同一性を有する天然のポリヌクレオチド配列と、(3) 前記(1)に相補的なポリヌクレオチド配列と、(4) 前記(2)に相補的なポリヌクレオチド配列と、(5) 前記(1)乃至(4)のRNA等価物とで構成される一群から選択されたポリヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドの連続する少なくとも20個のヌクレオチドを含む。また、前記ハイブリダイゼーションは、前記プローブと前記生体サンプルの標的ポリヌクレオチドとの間で特異的なハイブリダイゼーション複合体が形成される条件下で行われる。また、前記標的ポリヌクレオチドが、(1) SEQ ID NO:28-54からなる一群から選択されたポリヌクレオチド配列と、(2) SEQ ID NO:28-54からなる一群から選択されたポリヌクレオチド配列と少なくとも70%の配列同一性を有する天然のポリヌクレオチド配列と、(3) 前記(1)に相補的なポリヌクレオチド配列と、(4) 前記(2)に相補的なポリヌクレオチド配列と、(5) 前記(1)乃至(5)のRNA等価物とを含む。代替的に前記標的ポリヌクレオチドは前記ポリヌクレオチド配列の断片である。

#### 【0029】

(本発明の記載について)

本発明のタンパク質及び核酸配列、方法について説明する前に、本発明は、ここに開示した特定の装置及び材料、方法に限定されず、その実施形態を変更できることを理解されたい。また、ここで用いられる用語は、特定の実施例のみを説明する目的で用いられたものであり、後述の請求の範囲によってのみ限定され、本発明の範囲を限定することを意図したものではないということも理解されたい。

。

## 【0030】

本明細書及び請求の範囲において単数形を表す「或る」、「その(この等)」は、文脈で明確に示していない場合は複数形を含むことに注意されたい。従って、例えば「或る宿主細胞」は複数の宿主細胞を含み、その「抗体」は複数の抗体は含まれ、当業者には周知の等価物なども含まれる。

## 【0031】

本明細書で用いた全ての科学技術用語は、別の方法で定義されていない限り、本発明の属する技術分野の一般的な技術者が普通に解釈する意味と同じである。本明細書で記述したものと類似、或いは同等の全ての装置及び材料、方法は本発明の実施及びテストに使用できるが、好適な装置及び材料、方法をここに記す。本明細書に記載の全ての文献は、本発明に関連して使用する可能性のある文献に記載された細胞系、プロトコル、試薬、ベクターを記述し開示するために引用した。従来の発明を引用したからと言って、本発明の新規性が損なわれると解釈されるものではない。

## 【0032】

(定義)

用語「ORP」は、天然、合成、半合成或いは組換え体など全ての種(特にウシ、ヒツジ、ブタ、マウス、ウマ及びヒトを含む哺乳動物)から得られる実質的に精製されたORPのアミノ酸配列を指す。

## 【0033】

用語「アゴニスト」は、ORPの生物学的活性を強めたり、模倣する分子を指す。このアゴニストは、ORPに直接相互作用するか、或いはORPが関与する生物学的経路の成分と作用して、ORPの活性を調節するタンパク質、核酸、糖質、小分子、任意の他の化合物や組成物を含み得る。

## 【0034】

用語「アレル変異配列」は、ORPをコードする遺伝子の別の形を指す。アレル変異配列は、核酸配列における少なくとも1つの変異によって生じ、変異mRNA若しくは変異ポリペプチドになり、これらの構造や機能は変わる場合もあれば変わらない場合もある。ある遺伝子は、天然型のアレル変異配列が存在しないもの、

1つ或いは多数存在するものがある。一般にアレル変異配列を生じる変異は、ヌクレオチドの自然な欠失、付加、或いは置換による。これらの各変異は、単独或いは他の変異と同時に起こり、所定の配列内で一回或いはそれ以上生じる。

#### 【0035】

ORPをコードする「変異」核酸配列は、様々なヌクレオチドの欠失、挿入、或いは置換が起こっても、ORPと同じポリペプチド或いはORPの機能特性の少なくとも1つを備えるポリペプチドを指す。この定義には、ORPをコードするポリヌクレオチド配列の正常な染色体の遺伝子座ではない位置でのアレル変異配列との不適合或いは予期しないハイブリダイゼーション、並びにORPをコードするポリヌクレオチドの特定のオリゴヌクレオチドプローブを用いて容易に検出可能な或いは検出困難な多形性を含む。コードされたタンパク質も変異され得り、サイレント変化を生じORPと機能的に等価となるアミノ酸残基の欠失、挿入、或いは置換を含み得る。意図的なアミノ酸置換は、生物学的或いは免疫学的にORPの活性が保持される範囲で、残基の極性、電荷、溶解度、疎水性、親水性、及び/または両親媒性についての類似性に基いて成され得る。例えば、負に荷電したアミノ酸にはアスパラギン酸及びグルタミン酸が含まれ、正に荷電したアミノ酸にはリシン及びアルギニンが含まれ得る。類似の親水性の値をもち極性非荷電側鎖を有するアミノ酸には、アスパラギン、グルタミン、セリン、トレオニンが含まれ得る。類似の親水性の値をもち非荷電側鎖を有するアミノ酸には、ロイシン、イソロイシン、バリン、グリシン、アラニン、フェニルアラニン及びチロシンが含まれ得る。

#### 【0036】

用語「アミノ酸」及び「アミノ酸配列」は、オリゴペプチド、ペプチド、ポリペプチド、タンパク質配列、或いはそれらの任意の断片を指し、天然の分子及び合成分子を含む。「アミノ酸配列」が天然のタンパク質分子の配列を指す場合、「アミノ酸配列」及び類似の用語は、アミノ酸配列を記載したタンパク質分子に関連する完全で元のままのアミノ酸配列に限定するものではない。

#### 【0037】

用語「増幅」は、核酸配列の複製物を作製することに関連する。一般に増幅は

、この技術分野で周知のポリメラーゼ連鎖反応（PCR）技術によって行われる。

【0038】

用語「アンタゴニスト」は、ORPの生物学的活性を阻害或いは減弱する分子である。アンタゴニストは、ORPに直接相互作用するか、或いはORPが関与する生物学的経路の成分と作用して、ORPの活性を調節する抗体、核酸、糖質、小分子、任意の他の化合物や組成物などのタンパク質を含み得る。

【0039】

用語「抗体」は、抗原決定基と結合可能なFab及びF(ab')<sub>2</sub>、及びそれらの断片、Fv断片などの無傷の分子を指す。ORPポリペプチドと結合する抗体は、抗体を免疫する小ペプチドを含む無傷の分子またはその断片を用いて作製可能である。動物（例えば、マウス、ラット、若しくはウサギ）を免疫化するのに使用されるポリペプチド或いはオリゴペプチドは、RNAの翻訳から、或いは化学的に合成可能であり、必要に応じて担体タンパク質と結合させることも可能である。ペプチドと化学的に結合した一般に用いられる担体は、ウシ血清アルブミン、チログロブリン、及びキーホールリンペットヘモニアン（KLH）を含む。次ぎに、この結合したペプチドを用いて動物を免疫化する。

【0040】

用語「抗原決定基」は、特定の抗体と接触する分子の領域（即ちエピトープ）を指す。タンパク質或いはタンパク質の断片が、宿主動物を免疫化するのに用いられるとき、このタンパク質の種々の領域は、抗原決定基（タンパク質上の特定の領域或いは三次元構造体）に特異的に結合する抗体の産生を誘発し得る。抗原決定基は、抗体と結合するために無傷の抗原（即ち、免疫応答を引き出すために用いられる免疫原）と競合し得る。

【0041】

本明細書において「アンチセンス」は、特定の核酸配列のセンス（コーディング）鎖と塩基対を形成し得る任意の組成物を指す。アンチセンス成分には、DNAと、RNAと、ペプチド核酸（PNA）と、ホスホロチオネートやメチルホスホネート、ベンジルホスホネート（benzylphosphonate）などの修飾された骨格（backbone linkage）を有するオリゴヌクレオチドと、2'-メトキシエチル糖または2'-メ

トキシエトキシ糖などの修飾された糖を有するオリゴヌクレオチドと、5-メチルシトシンまたは2'-deoxyuracil、7-deaza-2'-deoxyguanosineなどの修飾された塩基を有するオリゴヌクレオチドを含み得る。アンチセンス分子は、化学合成や転写を含む任意の方法で作ることができる。相補的アンチセンス分子は、一度細胞に導入されると、細胞によって作られた天然の核酸配列と塩基対となって二重鎖を形成し、転写や翻訳を阻害する。「負」または「マイナス」という表現はアンチセンス鎖であり、「正」または「プラス」という表現はセンス鎖である。

#### 【0042】

用語「生物学的に活性」は、天然分子の構造的、調節的、或いは生化学的な機能を有するタンパク質を指す。同様に、用語「免疫学的に活性」または「免疫原性」は、天然或いは組換え体のORP、合成のORPまたはそれらの任意のオリゴペプチドが、適当な動物或いは細胞の特定の免疫応答を誘発して特定の抗体と結合する能力を指す。

#### 【0043】

用語「相補的」は、塩基対合によってアニールする2つの一本鎖核酸配列間の関係を指す。例えば、配列「5'AGT3'」が相補的な配列「3'TCA5'」と対をなす。

#### 【0044】

「所定のポリヌクレオチド配列を含む組成物」または「所定のアミノ酸配列を含む組成物」は広い意味で、所定のヌクレオチド配列若しくはアミノ酸配列を含む任意の組成物を指す。この組成物は、乾燥した製剤或いは水溶液を含み得る。ORP若しくはORPの断片をコードするポリヌクレオチド配列を含む組成物は、ハイブリダイゼーションプローブとして使用され得る。このプローブは、凍結乾燥状態で保存可能であり、糖質などの安定化剤と結合させることが可能である。ハイブリダイゼーションにおいて、プローブは、塩（例えば、NaCl）及び界面活性剤（例えば、SDS：ドデシル硫酸ナトリウム）、その他の物質（例えば、デンハート液、乾燥ミルク、サケ精子DNAなど）を含む水溶液に展開され得る。

#### 【0045】

「コンセンサス配列」は、不要な塩基を分離するためにDNA配列の解析を繰り返し行い、XL-PCRキット (PE Biosystems, Foster City CA) を用いて5'及び/または3'の方向に伸長され、再度シーケンシングされた核酸配列、またはGEL VIEW 断片構築システム (GCG, Madison, WI) またはPhrap (University of Washington, Seattle WA)等の断片構築用のコンピュータプログラムを用いて1つ或いはそれ以上の重複するcDNAやEST、またはゲノムDNA断片から構築された核酸配列を指す。伸長及び重複の両方によって構築されるコンセンサス配列もある。

【0046】

用語「保存的なアミノ酸置換」は、元のタンパク質の特性を殆ど変えない置換を指す。即ち、置換によってそのタンパク質の構造や機能が大きくは変わらず、そのタンパク質の構造、特にその機能が保存される。以下に、あるタンパク質の元のアミノ酸が別のアミノ酸に置換される保存的なアミノ酸置換を示す。

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

Trp	Phe, Tyr
Tyr	His, Phe, Trp
Val	Ile, Leu, Thr

一般に、保存されたアミノ酸置換の場合は、a) 置換された領域のポリペプチドの骨格構造、例えば、シートやヘリックス高次構造、b) 置換された部位の分子の電荷または疎水性、及び/または、c) 側鎖の大半が維持される。

【0047】

用語「欠失」は、1個以上のアミノ酸残基が欠如するアミノ酸配列の変化、或いは1個以上のヌクレオチドが欠如する核酸配列の変化を指す。

【0048】

用語「誘導体」は、化学修飾されたポリヌクレオチドまたはポリペプチドを指す。ポリヌクレオチド配列の化学修飾には、例えば、アルキル基、アシル基、ヒドロキシル基、或いはアミノ基による水素の置換がある。誘導体ポリヌクレオチドは、自然分子（未修飾の分子）の生物学的或いは免疫学的機能の少なくとも1つを維持するポリペプチドをコードする。誘導体ポリペプチドとは、もとのポリペプチドの生物学的機能、或いは免疫学的機能の少なくとも1つを維持する、グリコシル化、ポリエチレングリコール化、或いは任意の同様のプロセスによって修飾されたポリペプチドのことである。

【0049】

「検出可能な標識」は、測定可能な信号を生成し得る、ポリヌクレオチドやポリペプチドに共有結合或いは非共有結合するレポーター分子や酵素を指す。

【0050】

用語「断片」は、ORPまたはORPをコードするポリヌクレオチドの固有の部分であって、その親配列（parent sequence）と同一であるがその配列より長さが短いものを指す。「断片」の最大の長さは、親配列から1つのヌクレオチド/アミノ酸残基を差し引いた長さである。例えば、ある断片は、5～1000個の連続するヌクレオチド或いはアミノ酸残基を含む。プローブ、プライマー、抗原、治療用分子、またはその他の目的に用いる断片は、少なくとも5、10、15、16、20、25、30、40、50、60、75、100、150、250若し

くは500個の連続するヌクレオチド或いはアミノ酸残基の長さである。断片は、優先的に分子の特定の領域から選択される場合もある。例えば、ポリペプチド断片は、所定の配列に示された最初の250若しくは500のアミノ酸（或いは、ポリペプチドの最初の25%または50%）から選択された連続するアミノ酸の所定の長さを含み得る。これらの長さは一例であり、配列表及び表、図面を含む明細書に記載の任意の長さが、本発明の実施例に含まれ得る。

#### 【0051】

SEQ ID NO:28 - 54の断片は、例えば、この断片を得たゲノム内の他の配列とは異なる、SEQ ID NO:28 - 54を明確に同定する固有のポリヌクレオチド配列の領域を含む。SEQ ID NO:28 - 54のある断片は、例えば、ハイブリダイゼーションや増幅技術、またはSEQ ID NO:28 - 54を関連ポリヌクレオチド配列から区別する類似の方法に有用である。ある断片と一致するSEQ ID NO:28 - 54の正確な断片の長さや領域は、その断片の目的に基づいて当分野で一般的な技術によって日常的に決定できる。

#### 【0052】

SEQ ID NO:1 - 27のある断片は、SEQ ID NO:28 - 54のある断片によってコードされる。SEQ ID NO:1 - 27のある断片は、SEQ ID NO:1 - 27を特異的に同定する固有のアミノ酸配列の領域を含む。例えば、SEQ ID NO:1 - 27のある断片は、SEQ ID NO:1 - 27を特異的に認識する抗体の開発における免疫原性ペプチドとして有用である。ある断片と一致するSEQ ID NO:1 - 27の正確な断片の長さや領域は、その断片の目的に基づいて当分野で一般的な技術によって日常的に決定できる。

#### 【0053】

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

#### 【0054】

「相同性」は、2つ以上のポリヌクレオチド配列間または2つ以上のポリペプチド配列間の配列類似性である。この配列類似性は配列同一性と言い換えること

ができる。

【0055】

SEQ ID NO:1 - 27のある断片は、SEQ ID NO:28 - 54のある断片によってコードされる。SEQ ID NO:1 - 27のある断片は、特異的にSEQ ID NO:1 - 27を同定する固有のアミノ酸配列の領域を含む。例えば、SEQ ID NO:1 - 27のある断片は、特異的にSEQ ID NO:1 - 27を認識する抗体の作製用の免疫原性ペプチドとして有用である。ある断片と一致するSEQ ID NO:1 - 27の正確な断片の長さや領域は、その断片の目的に基づいて当分野で一般的な技術によって日常的に測定できる。

【0056】

用語「類似性」は相補性の程度を表す。これには、部分的類似性と完全な類似性とがある。用語「同一性」を「類似性」とも言える。同一の配列と標的の核酸とのハイブリダイゼーションが少なくとも部分的に阻止される部分的に相補的な配列は、「実質的に類似」と呼ばれる。完全に相補的な配列と標的の配列とのハイブリダイゼーションの阻止は、緩いストリンジェントな条件の下、ハイブリダイゼーションアッセイ（サザンブロットニング或いはノーザンブロットニング法、溶液ハイブリダイゼーション等）を用いて検査される。実質的に類似の配列或いはハイブリダイゼーションプローブは、緩いストリンジェントな条件の下、完全に類似（同一）の配列と標的の配列との結合に対して競合して抑制する。これは、緩いストリンジェントな条件下では非特異的な結合が許容されるということではなく、緩いストリンジェントな条件では、2つの配列の互いへの結合が特異的（即ち、選択的）に相互作用しなければならない。部分的な相補性ともいえない（例えば、30%未満の類似性或いは同一性）第2の標的配列を用いて、非特異的結合が存在しないことの検査が可能である。非特異的結合が存在しない場合は、実質的に類似配列或いはプローブが第2の非相補的標的配列とハイブリダイズしない。

【0057】

ポリヌクレオチド配列についての用語「パーセントの同一性」または「%の同一性」とは、標準化されたアルゴリズムを用いてアラインメントされる、2つ以上のポリヌクレオチド配列間の一致する残基の百分率のことである。このような

アルゴリズムは、標準化され再現できる方法で、2つの配列間のアラインメントを最適化すべく、配列にギャップを挿入して、より意味をもつ2つの配列間の比較を行うことができる。

#### 【0058】

ポリヌクレオチド配列間の同一性のパーセントは、MEGALIGN version 3.12e配列アラインメントプログラムに組込まれるCLUSTAL Vアルゴリズムのデフォルトパラメータを用いて決定可能である。このプログラムはLASERGENEソフトウェアパッケージの一部であり、分子生物学分析プログラム一式 (DNASTAR, Madison WI) である。このCLUSTAL Vは、Higgins, D.G. 及び P.M. Sharp (1989) CABIOS 5:151-153、Higgins, D.G. 他 (1992) CABIOS 8:189-191に記載されている。ポリヌクレオチド配列の対のアライメントの場合、デフォルトパラメータは、Ktuple=2、gap penalty=5、window=4、「diagonals saved」=4と設定する。「重み付けされた」残基重み付け表が、デフォルトとして選択された。同一性のパーセントは、アラインメントされたポリヌクレオチド配列間の「類似性のパーセント」としてCLUSTAL Vによって報告される。

#### 【0059】

別法では、National Center for Biotechnology Information (NCBI) Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) (Altschul, S.F. 他 (1990) J. Mol. Biol. 215:403-410)が提供する、広く用いられている無料の配列比較アルゴリズム一式が、NCBI (Bethesda, MD) を含む幾つかのソース及びインターネット (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>) で入手可能である。このBLASTソフトウェア一式には、既知のポリヌクレオチド配列と様々なデータベースの別のポリヌクレオチド配列とのアラインメントに用いられる「blastn」を含む、様々な配列分析プログラムが含まれる。「BLAST 2 Sequences」と呼ばれるツールが入手可能であり、2つのヌクレオチド配列の対を直接比較するために用いられる。「BLAST 2 Sequences」は、<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gorf/b12.html> にアクセスして、対話形式で利用ができる。「BLAST 2 Sequences」ツールは、blastn 及び blastp (以下に記載) の両方に用いることができる。BLASTプログラムは、一般的には、デフォルトを設定するギャップ及び他のパラメーターと共に用いられる。例

例えば、2つのヌクレオチド配列を比較する場合、ある者は、デフォルトパラメータに設定された「BLAST 2 Sequences」ツールVersion 2.0.12 (April-21-2000) でblastnを使用するであろう。そのようなデフォルトパラメータは、例えば、以下のようにする。

**【0060】**

Matrix: BLOSUM62

Reward for match: 1

Penalty for mismatch: -2

Open Gap: 5 及び Extension Gap: 2 penalties

Gap x drop-off: 50

Expect: 10

Word Size: 11

Filter: on

同一性のパーセントは、例えば、特定の配列番号で決められた、所定の配列の全長に対して測定してもよいし、それより短い長さに対して、例えば、ある大きな所定の配列から得られた断片、例えば、連続する少なくとも、20または30、40、50、70、100、200のヌクレオチドの断片の長さに対して測定してもよい。このような長さは単なる例であり、配列表及び表、図面を含む明細書に記載の配列の任意の長さの断片を用いて、同一性のパーセントが測定される長さを示すことができる。

**【0061】**

高い同一性を示さない核酸配列でも、遺伝子コードの縮重によって類似のアミノ酸配列をコードし得る。縮重を利用して核酸配列を変え、それぞれが実質的に同じタンパク質をコードする様々な核酸配列を作製できることを理解されたい。

**【0062】**

ポリペプチド配列に用いられる用語「パーセントの同一性」または「%の同一性」とは、標準化されたアルゴリズムを用いてアラインメントされる2つ以上のポリペプチド配列間の一致する残基の百分率のことである。ポリペプチド配列アラインメントの方法は周知である。アラインメント方法の中には、保存的なアミ

ノ酸置換を考慮したものもある。詳細に上述したこのような保存的な置換は、一般に、置換部位の電荷や疎水性が保存され、ポリペプチドの構造（従って機能も）が保存される。

#### 【0063】

ポリペプチド配列間の同一性のパーセントは、MEGALIGN バージョン3.12e配列アラインメントプログラム（上記）に組込まれるCLUSTAL Vアルゴリズムのデフォルトパラメータを用いて決定可能である。CLUSTAL Vを用いる対方式のポリペプチド配列のアライメントの場合、デフォルトパラメータは、Ktuple=1、gap penalty=3、window=5、及び「diagonals saved」=5と設定する。PAM250マトリクスが、デフォルトの残基重み付け表として選択される。ポリヌクレオチドアラインメントと同様に、アラインメントされたポリペプチド配列の対の同一性のパーセントは、「類似性のパーセント」としてCLUSTAL Vによって報告される。

#### 【0064】

別法では、NCBI BLASTソフトウェア一式が用いられる。例えば、2つのポリペプチド配列を対で比較をする場合、ある者は、デフォルトパラメータで設定された「BLAST 2 Sequences」ツールVersion 2.0.12 (Apr-21-2000)でblastpを使用するであろう。そのようなデフォルトパラメータは、例えば、以下のようにする。

#### 【0065】

Matrix: BLOSUM62

Open Gap: 11 及び Extension Gap: 1 penalties

Gap x drop-off: 50

Expect: 10

Word Size: 3

Filter: on

同一性のパーセントは、例えば、特定の配列番号で決められた、所定のポリペプチド配列の全長に対して測定してもよいし、それより短い長さに対して、例えば、ある大きな所定のポリペプチド配列から得られた断片、例えば、連続する少なくとも15、20または30、40、50、70、150の残基の断片の長さ

に対して測定してもよい。このような長さは単なる例であり、配列表及び表、図面を含む明細書に記載の配列の任意の長さの断片を用いて、同一性のパーセントが測定される長さを示すことができる。

【0066】

「ヒト人工染色体 (HAC)」は、約 6 kb (キロベース) ~ 10 Mb のサイズの DNA 配列を含み得る、安定した有糸分裂染色体の分離及び維持に必要な全てのエレメントを含む直鎖状の小染色体である。

【0067】

用語「ヒト化抗体」は、もとの結合能力を保持しつつよりヒトの抗体に似せるために、非抗原結合領域のアミノ酸配列が変えられた抗体分子を指す。

【0068】

「ハイブリダイゼーション」とは、所定のハイブリダイゼーション条件下で、ある一本鎖ポリヌクレオチドがある相補的な一本鎖と塩基対を形成するアニーリングのプロセスである。特異的なハイブリダイゼーションとは、2つの核酸配列が高い相同性を有することを意味する。アニーリングが許容される条件下で、特異的なハイブリダイゼーション複合体が形成され、洗浄過程の後もハイブリダイズしたままである。洗浄過程は、ハイブリダイゼーションプロセスの厳密性即ちストリンジェント (stringency) の決定において特に重要であり、よりストリンジェントな条件では、非特異的な結合、即ち完全には一致しない核酸鎖間の対の結合が減少する。核酸配列間のアニーリングが許容される条件は、当業者によって日常的に決定され、ハイブリダイゼーションの間は一定であるが、洗浄過程は、目的のストリンジェントにするためにその最中に条件の変更が可能であり、ハイブリダイゼーション特異性が得られる。アニーリングが許容される条件は、例えば、温度が 68 °C で、約 6 × SSC、約 1 % (w/v) の SDS、並びに約 100 µg / ml のせん断して変性したサケ精子 DNA が含まれる。

【0069】

一般に、ハイブリダイゼーションのストリンジェンシーは、洗浄過程を行う際の温度によっても左右される。この洗浄温度は通常、所定のイオン強度と pH における特定の配列の熱融点 ( $T_m$ ) より約 5 ~ 20 °C 低く選択される。この  $T_m$  は、

(所定のイオン強度とpHの下) 標的の配列の50%が完全に一致するプローブとハイブリダイズする温度である。T<sub>m</sub>を計算する式及び核酸のハイブリダイゼーションの条件は、周知であり、Sambrook, J. 他による, 1989, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 第2版の1-3巻, Cold Spring Harbor Press, Plainville NY; 特に2巻の9章に記載されている。

#### 【0070】

本発明のポリヌクレオチド間の高いストリンジェンシーのハイブリダイゼーションでは、約0.2x SSC及び約1%のSDSの存在の下、約68℃で1時間の洗浄過程を含む。別法では、65℃、60℃、55℃、42℃の温度で行う。SSCの濃度は、約0.1%のSDSが存在の下、約0.1~2x SSCの範囲である。通常は、ブロッキング試薬を用いて非特異的なハイブリダイゼーションを阻止する。このようなブロッキング試薬には、例えば、約100~200 µg/mlの切断され変性したサケ精子DNAが含まれる。約35~50%v/vの濃度のホルムアミドなどの有機溶剤が、例えば、RNAとDNAのハイブリダイゼーションなどの特定の場合に用いることができる。これらの洗浄条件の有用な改変は、当業者には周知である。特に高いストリンジェントな条件でのハイブリダイゼーションは、ヌクレオチド間の進化における類似性を示唆し得る。このような類似性は、それらのヌクレオチド及びコードされたポリペプチドが類似の役割を果たしていることを強く示唆する。

#### 【0071】

用語「ハイブリダイゼーション複合体」は、相補的な塩基間の水素結合によって、形成された2つの核酸配列の複合体を指す。ハイブリダイゼーション複合体は溶液中(例えば、C<sub>0</sub>tまたはR<sub>0</sub>t分析)で形成されるか、或いは溶液中の1つの核酸配列と固体の支持物(例えば、紙、膜、フィルター、チップ、ピン、或いはスライドガラス、または細胞及びその核酸を固定する任意の適当な基板)に固定されたもう一つの核酸配列とで形成され得る。

#### 【0072】

用語「挿入」或いは「付加」は、1個以上のアミノ酸残基或いはヌクレオチドがそれぞれ追加されるアミノ酸配列或いは核酸配列の変化を指す。

## 【0073】

「免疫応答」は、炎症性疾患及び外傷、免疫異常、感染症、遺伝病などに関連する症状を指す。これらの症状は、細胞系及び全身防衛系に影響を及ぼすサイトカイン及びケモカイン、別の情報伝達分子などの様々な因子の発現という特徴をもつ。

## 【0074】

用語「免疫原性断片」は、例えば哺乳動物などの生きている動物に導入すると、免疫反応を引き起こすGVREDのポリペプチド断片またはオリゴペプチド断片を指す。用語「免疫原性断片」はまた、本明細書で開示するまたは当分野で周知のあらゆる抗体生産方法に有用なGCRECのポリペプチド断片またはオリゴペプチド断片を含む。

## 【0075】

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

## 【0076】

用語「エレメント」または「アレイエレメント」は、マイクロアレイ上に固有の指定された位置を有する、ポリヌクレオチド、ポリペプチドまたはその他の化合物を指す。

## 【0077】

用語「変調」は、ORPの活性の変化を指す。例えば、変調によって、ORPのタンパク質活性、或いは結合特性、またはその他の生物学的特性、機能的特性或いは免疫学的特性の変化が起こる。

## 【0078】

用語「核酸」及び「核酸配列」は、ヌクレオチド、オリゴヌクレオチド、ポリヌクレオチド、或いはそれらの断片を指し、一本鎖若しくは二本鎖であって、センス鎖或いはアンチセンス鎖であるゲノム起源若しくは合成起源のDNA或いはRNA、ペプチド核酸(PNA)、任意のDNA様物質、及びRNA様物質である。

## 【0079】

「機能的に結合した」は、第1の核酸配列と第2の核酸配列が機能的な関係に

ある状態を指す。例えば、プロモーターがコード配列の転写または発現に影響を与える場合、そのプロモーターはそのコード配列に機能的に結合している。一般に、機能的に結合したDNA配列は、同じ読み枠内で2つのタンパク質をコードする領域が結合する必要がある場合は、非常に近接或いは連続する。

#### 【0080】

「ペプチド核酸(PNA)」は、末端がリシンで終わるアミノ酸残基のペプチド骨格に結合した、少なくとも約5ヌクレオチドの長さのオリゴヌクレオチドを含む、アンチセンス分子または抗遺伝子剤を指す。この末端のリシンにより、この組成物が溶解性となる。PNAは、相補的な一本鎖DNAやRNAに優先的に結合して転写物の伸長を止め、ポリエチレングリコール化して細胞における寿命を延ばし得る。

#### 【0081】

ORPの「翻訳後修飾」には、脂質化、グリコシル化、リン酸化、アセチル化、ラセミ化、蛋白分解性切断及びその他の当分野で既知の修飾を含まれ得る。これらのプロセスは、合成或いは生化学的に生じ得る。生化学的修飾は、ORPの酵素環境に依存し、細胞の種類によって異なり得る。

#### 【0082】

「プローブ」とは、同一配列或いはアレル核酸配列、関連する核酸配列の検出に用いる、ORPやそれらの相補配列、またはそれらの断片をコードする核酸配列のことである。プローブは、検出可能な標識またはレポーター分子が結合され単離されたオリゴヌクレオチドやポリヌクレオチドである。典型的な標識には、放射性アイソトープ及びリガンド、化学発光試薬、酵素がある。「プライマー」とは、相補的な塩基対を形成して標的のポリヌクレオチドにアニーリング可能な、通常はDNAオリゴヌクレオチドである短い核酸である。プライマーがポリヌクレオチドにアニーリングした後、あるDNAポリメラーゼ酵素によって、標的のDNA一本鎖に沿って伸長される。プライマーの組は、例えば、PCR法における核酸配列の増幅(及び同定)に用いることができる。

#### 【0083】

本発明に用いられるプローブ及びプライマーは、既知の配列の少なくとも15

の連続するヌクレオチドを含む。特異性を高めるために、より長いプローブ及びプライマーが用いることも可能である。例えば、開示した核酸配列の連続する少なくとも20または25、30、40、50、60、70、80、90、100、150のヌクレオチドを含む。プローブ及びプライマーは、上記した例より相当長いものも用いることができ、本明細書の表及び図面、配列表に示された任意の長さのヌクレオチドも用いることができることを理解されたい。

#### 【0084】

プローブ及びプライマーの準備及び使用方法については、例えば、Sambrook, J.他による、1989年、名称「Molecular Cloning: A Laboratory Manual」、第2版の1-3巻(Cold Spring Harbor Press, Plainview NY)、またはAusubel, F.M.他による、1987年、名称「Current Protocols in Molecular Biology」(Greene Pubi. Assoc. & Wiley-Intersciences, New York NY)、並びに Innis他による、1990年、名称「PCR Protocols, A Guide to Methods and Applications」(Academic Press, San Diego CA.)を参照されたい。PCR用のプライマーの組は、例えば、Primer (Version 0.5, 1991, Whitehead Institute for Biomedical Research, Cambridge MA)などのそのような目的のためのコンピュータプログラムを用いて、ある既知の配列から引き出すことができる。

#### 【0085】

プライマーとして用いるオリゴヌクレオチドは、当分野で周知のプライマー選択用のコンピュータプログラムで選択される。例えば、OLIGO 4.06ソフトウェアは、それぞれが最大100ヌクレオチドまでのPCR用のプライマーの対の選択、及び32,000塩基までの入力ポリヌクレオチド配列から最大5,000ヌクレオチドまでの大きなポリヌクレオチド及びオリゴヌクレオチドの分析に有用である。類似のプライマー選択用プログラムには、能力を拡大する追加の機能が含まれている。例えば、PrimOUプライマー選択プログラム(Genome Center at University of Texas South West Medical Center, Dallas TXより入手可能)は、メガベース配列から特定のプライマーを選択できるため、ゲノムワイドスコープ(genome-wide scope)におけるプライマーの設計に有用である。Primer3プライマー選択プログラム(Whitehead Institute/MIT Center for Genome Research,

Cambridge MA1より入手可能)によって、ユーザーは、プライマー結合部位として避けたい配列を指定できる「非プライミングライブラリ (mispriming library)」を入力できる。また、Primer3は、特にマイクロアレイのオリゴヌクレオチドの選択に有用である(後の方の2つのプライマー選択プログラムのソースコードは、それぞれのソースから得ることができ、ユーザーのニーズを満たすように変更することもできる)。PrimerGenプログラム(UK Human Genome Mapping Project Resource Centre, Cambridge UKより入手可能)は、多数の配列アラインメントに基づいてプライマーを設計するため、アラインメントされた核酸配列の最も保存された領域或いは最も保存されていない領域のどちらかとハイブリダイズするプライマーを選択することができる。従って、このプログラムは、固有及び保存されたオリゴヌクレオチドやポリヌクレオチドの断片の同定に有用である。上記した任意の選択方法で同定されたオリゴヌクレオチドやポリヌクレオチドの断片は、例えば、PCR法やシーケンシングプライマー、マイクロアレイエレメント、或いはサンプルの核酸の完全或いは部分的に相補的なポリヌクレオチドを同定する特定のプローブなどの、ハイブリダイゼーション技術に有用である。オリゴヌクレオチドの選択方法は、上記した方法に制限されるものではない。

#### 【0086】

本明細書における「組換え核酸」は天然の配列ではなく、2つ以上の配列の離れたセグメントを人工的に組み合わせた配列である。この人工の組み合わせは、化学合成によって作られる場合も多いが、前出のSambrookに記載されたような遺伝子工学の技術を用いて核酸の離れたセグメントを人工的に操作する方がより一般的である。この「組換え核酸」には、単に核酸の一部の追加または置換、欠失によって変更された核酸も含む。組換え核酸は、あるプロモーター配列に機能的に結合した核酸配列を含む場合もある。このような組換え核酸は、例えば、ある細胞を形質転換するのに用いられるベクターの一部であり得る。

#### 【0087】

別法では、このような組換え核酸は、この組換え核酸を発現する哺乳動物のワクチン接種に用いると、その哺乳動物の防衛的な免疫応答を誘発する、ワクチニアウイルスに基づいたウイルスベクターの一部であり得る。

## 【0088】

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

## 【0089】

「レポーター分子」は、核酸、アミノ酸または抗体の標識に用いられる化学的または生化学的な部分である。レポーター分子には、放射性核種、酵素、蛍光剤、化学発光剤、発色剤、基質、補助因子、インヒビター、磁気粒子及びその他の当分野で既知の成分が含まれる。

## 【0090】

本明細書において、DNA配列に対する「RNA等価物」とは、基準となるDNA配列と同じ直鎖の核酸配列から構成されるが、窒素性塩基のチミンがウラシルに置換され、糖鎖の背骨がデオキシリボースではなくリボースからなる。

## 【0091】

用語「サンプル」は、その最も広い意味で用いられている。ORPをコードする核酸若しくはその断片、ORP自体を含むと推定されるサンプルには、体液と、細胞からの抽出物や細胞から単離された染色体や細胞内小器官、膜と、細胞と、溶液中に存在するまたは基板に固定されたゲノムDNA、RNA、cDNAと、組織または組織プリント等も含まれ得る。

## 【0092】

用語「特異的結合」及び「特異的に結合する」は、タンパク質若しくはペプチドと、アゴニスト、抗体、アンタゴニスト、小分子、若しくは任意の天然若しくは合成の結合組成物との間の相互作用を指す。この相互作用は、結合する分子によって認識される、例えば、抗原決定基つまりエピトープなどのタンパク質の特定の構造の存在によって左右される。例えば、抗体がエピトープ「A」に対して特異的である場合、結合していない標識した「A」及び抗体を含む反応液に、エピトープAを含むポリペプチド或いは結合していない無標識の「A」が存在すると、抗体と結合する標識Aの量が減少する。

## 【0093】

用語「実質的に精製された」は、自然の環境から取り除かれてから、単離或いは分離された核酸配列或いはアミノ酸配列であって、自然に結合している組成物が少なくとも約60%除去されたものであり、好ましくは約75%以上の除去、最も好ましいは90%以上除去されたものを指す。

## 【0094】

「置換」とは、一つ以上のアミノ酸またはヌクレオチドをそれぞれ別のアミノ酸またはヌクレオチドに置き換えることである。

## 【0095】

用語「基板」は、任意の好適な固体或いは半固体の支持物を指し、膜及びフィルター、チップ、スライド、ウエハ、ファイバー、磁気または非磁気ビード、ゲル、チューブ、プレート、ポリマー、微小粒子、毛細管が含まれる。この基板には、壁または塹壕、ピン、チャンネル、細孔などの様々な表面形態があり、そこにポリヌクレオチドやポリペプチドが結合する。

## 【0096】

「転写イメージ」は、所定条件下での所定時間における特定の細胞の種類または組織による集合的遺伝子発現のパターンを指す。

## 【0097】

「形質転換」とは、外来DNAが受容細胞に導入されるプロセスのことである。形質転換は、当分野で周知の種々の方法により、自然或いは人工の条件下で起こり、原核宿主細胞若しくは真核宿主細胞の中に外来核酸配列を挿入する任意の周知の方法によって行うことができる。この形質転換の方法は、形質転換される宿主細胞のタイプによって選択される。この方法には、バクテリオファージまたはウイルス感染、電気穿孔法（エレクトロポレーション）、リポフェクション、及び微粒子照射が含まれるが、これらに限定されるものではない。「形質転換された」細胞には、導入されたDNAが自律的に複製するプラスミドとして或いは宿主染色体の一部として複製可能である安定的に形質転換された細胞が含まれる。さらに、限られた時間に一時的に導入DNA若しくは導入RNAを発現する細胞も含まれる。

## 【0098】

本明細書における「遺伝子組換え生物」とは、当分野で周知の遺伝子組換え技術などを用いて、人間が生物の1つ以上の細胞に異種の核酸を導入した任意の生物であり、動物及び植物を含むが、それらに限定されるものではない。微量注入や組換えウイルスに感染させるなどの慎重な遺伝子操作によって、細胞の前駆体に直接或いは間接的に異種核酸を細胞に導入する。「遺伝子操作」とは、典型的な交雑育種や*in vitro*での受精ではなく、組換えDNA分子を導入することである。本発明に従った遺伝子組換え生物には、細菌及びラン藻類、菌類、植物、動物が含まれる。本発明の単離されたDNAは、当分野で周知の、例えば、感染、形質移入、形質転換、トランス接合(transconjugation)などの方法によって、宿主に導入することができる。本発明のDNAをそのような生物に導入する技術は周知であり、前出のSambrook他(1989)に記載されている。

## 【0099】

特定の核酸配列の「変異配列」とは、デフォルトパラメータ設定の「BLAST 2 Sequences」ツールVersion 2.0.9 (May-07-1999)を用いるblastnによって、ある核酸配列のある長さに対する該特定の核酸配列の同一性が、少なくとも40%と決定された核酸配列のことである。このような核酸の対は、ある長さにおいて、例えば、少なくとも50%または60%、70%、80%、85%、90%、95%、98%、或いはそれ以上の同一性を示し得る。ある変異配列は、例えば、「アレル」変異配列(上述)または「スプライス」変異配列、「種」変異配列、「多型」変異配列と表すことができる。スプライス変異配列は基準分子と同一性が極めて高い可能性があるが、mRNAプロセッシング中のエキソンの択一的スプライシングによってポリヌクレオチドの数が多くなったり、少なくなったりする。対応するポリペプチドは、基準分子に存在する追加の機能ドメインを有したり、基準分子に存在するドメインが欠落したりし得る。種変異配列は、種によって異なるポリヌクレオチド配列である。得られるポリペプチドは、互いに高いアミノ酸同一性を有する。多型変異配列は、所定の種と種における特定の遺伝子のポリヌクレオチド配列が異なる。多型変異配列はまた、ポリヌクレオチド配列の1つのヌクレオチドが異なる「1ヌクレオチド多型」(SNP)も含み得る。SNPの存在

は、例えば、或る集団、病態、病態の性向を示唆し得る。

#### 【0100】

特定のポリペプチド配列の「変異体」とは、デフォルトパラメータ設定の「BLAST 2 Sequences」ツールVersion 2.0.9 (May-07-1999)を用いるblastpによって、ある核酸配列のある長さに対する該特定のポリペプチド配列の同一性が、少なくとも40%と決定されたポリペプチド配列のことである。このようなポリペプチドの対は、ある長さにおいて、例えば、少なくとも50%または60%、70%、80%、85%、90%、95%、98%、或いはそれ以上の同一性を示し得る。

#### 【0101】

(発明)

本発明は、新規のヒト酸化還元酵素タンパク質(ORP)及びORPをコードするポリヌクレオチドの発見に基づき、これらの組成物を利用した癌を含む細胞増殖異常、内分泌障害、代謝異常、生殖障害、神経の疾患、ウイルス感染症、および自己免疫/炎症性の疾患の診断、治療、及び予防に関する。

#### 【0102】

表1は、ORPをコードする完全長のヌクレオチド配列の構築に用いたインサイト社クローンを示す。列1及び列2はそれぞれ、ポリペプチド配列及びヌクレオチド配列の配列番号(SEQ ID NO)を示す。列3は、各ORPをコードする核酸が同定されたIncyteクローンのクローンIDを示し、列4は、それらのクローンが単離されたcDNAライブラリを示す。列5は、Incyteクローン及びそれらに対応するcDNAライブラリを示す。cDNAライブラリが示されていないインサイト社クローンは、プールされたcDNAライブラリに由来する。場合によっては、GenBank配列識別子が列5に示されている。列5に示されているインサイト社クローン及びGenBank cDNA配列は、各ORPのコンセンサスヌクレオチド配列の構築に用いられ、ハイブリダイゼーション技術における断片として有用である。

#### 【0103】

表2の各列は、本発明の各ポリペプチドの様々な特性を示す。列1は配列番号(SEQ ID NO)、列2は各ポリペプチドにおけるアミノ酸残基の数、列3は潜在

的なリン酸化部位、列4は潜在的なグリコシル化部位、列5はシグネチャ(signature)配列及びモチーフを有するアミノ酸残基、列6は、BLAST分析によって同定された相同配列、及び相当する引用を示し、引用することを以ってその全てを本明細書の一部とする。列7は、分析方法、場合によってはその分析方法が適用できる検索可能なデータベースを示す。列7の分析方法は、配列相同性及びタンパク質モチーフによって各ポリペプチドを特長つけるために用いられた。

#### 【0104】

表3の列は、ORPをコードするヌクレオチド配列に関連した組織特異性及び疾患、異常症、症状を示している。表3の列1は、ヌクレオチドの配列番号(SEQ ID NO)を示している。列2は、列1のヌクレオチド配列の断片を示している。これらの断片は、例えば、SEQ ID NO:28-54を同定し、SEQ ID NO:28-54と関連するポリヌクレオチド配列とを区別する、ハイブリダイゼーション若しくは増幅の技術において有用である。これらの断片によってコードされるポリペプチドは、例えば、免疫原性ペプチドとして有用である。列3は、ORPを発現する組織名、及びORPを発現する全組織におけるその割合を示す。列4は、ORPを発現する組織に関連する疾患若しくは異常症、症状、並びにORPを発現する全組織におけるそれらの割合を示す。列5は、各cDNAライブラリのサブクローニングに用いたベクターを示す。

#### 【0105】

表4の各列は、ORPをコードするcDNAのクローンが単離されたcDNAライブラリの作製に用いられた組織についての説明である。列1は、ヌクレオチドのSEQ ID NOを示し、列2はそれらのクローンが単離されたcDNAライブラリを示し、列3は列2のcDNAライブラリに対応する組織の由来及び詳細を示す。

#### 【0106】

SEQ ID NO:31は、第3番染色体の23.2~31.4センチモルガンの範囲内にマッピングされる。SEQ ID NO:42は、第2番染色体の0~40.2センチモルガンの範囲内にマッピングされる。SEQ ID NO:48は、第7番染色体の100.5~114.5センチモルガンの範囲内、第17番染色体の67.6~69.3センチモルガンの範囲内、および第17番染色体の83.8センチモルガンから長腕(q)末端の範囲内にマッピング

される。SEQ ID NO:53は、第11番染色体の64.9~70.9センチモルガンの範囲内にマッピングされる。

【0107】

本発明はまた、ORPの変異体も含む。好適なORPの変異体は、ORPの機能的或いは構造的特徴の少なくともどちらか一方を有し、かつORPアミノ酸配列に対して少なくとも約80%のアミノ酸配列同一性、或いは少なくとも約90%のアミノ酸配列同一性、更には少なくとも約95%のアミノ酸配列同一性を有する。

【0108】

本発明はまた、ORPをコードするポリヌクレオチドを提供する。特定の実施例において、本発明は、ORPをコードするSEQ ID NO:28-54からなる一群から選択された配列を含むポリヌクレオチド配列を提供する。配列表に示したSEQ ID NO:28-54のポリヌクレオチド配列は、窒素系塩基のチミンがウラシルに置換され、糖鎖の背骨がデオキシリボースではなくリボースからなる等価RNA配列を含む。

【0109】

本発明はまた、ORPをコードするポリヌクレオチド配列の変異配列を含む。詳細には、このようなポリヌクレオチド配列の変異配列は、ORPをコードするポリヌクレオチド配列と少なくとも70%のポリヌクレオチド配列同一性、或いは少なくとも85%のポリヌクレオチド配列同一性、更には少なくとも95%ものポリヌクレオチド配列同一性を有する。本発明の特定の実施形態は、SEQ ID NO:28-54からなる一群から選択された核酸配列と少なくとも70%のポリヌクレオチド配列同一性、或いは少なくとも85%のポリヌクレオチド配列同一性、更には少なくとも95%ものポリヌクレオチド配列同一性を有するSEQ ID NO:28-54からなる一群から選択された配列を含むポリヌクレオチド配列の変異配列を提供する。上記したポリヌクレオチド変異配列は何れも、ORPの機能的或いは構造的特徴の少なくとも1つを有するアミノ酸配列をコードする。

【0110】

遺伝暗号の縮重により作り出され得るORPをコードする種々のポリヌクレオチド配列には、既知の自然発生する任意の遺伝子のポリヌクレオチド配列と最小の類似性しか有しないものも含まれることを、当業者は理解するであろう。したが

って本発明には、可能なコドン選択に基づいた組み合わせの選択によって作り出され得る可能なポリヌクレオチド配列の変異の全てが含まれ得る。これらの組み合わせは、天然のORPのポリヌクレオチド配列に適用される標準的なトリプレット遺伝暗号を基に作られ、全ての変異が明確に開示されていると考慮する。

#### 【0111】

ORPをコードするヌクレオチド配列及びその変異配列は一般に、好適に選択されたストリンジェントな条件下で、天然のORPのヌクレオチド配列とハイブリダイズ可能であるが、非天然のコドンを含めるなどの実質的に異なった使い方のコドンを含むORP或いはその誘導体をコードするヌクレオチド配列を作ることには有利となり得る。特定のコドンが宿主によって利用される頻度に基づいてコドンを選択して、ペプチドの発現が特定の真核細胞または原核宿主に発生する割合を高めることが可能である。コードされたアミノ酸配列を変えないで、ORP及びその誘導体をコードするヌクレオチド配列を実質的に変更する別の理由は、天然の配列から作られる転写物より例えば長い半減期など好ましい特性を備えるRNA転写物を作ることにある。

#### 【0112】

本発明はまた、ORP及びその誘導体をコードするDNA配列またはそれらの断片を完全に合成化学によって作り出すことも含む。作製後にこの合成配列を、当分野で良く知られた試薬を用いて、種々の入手可能な発現ベクター及び細胞系の何れの中にも挿入可能である。更に、合成化学を用いて、ORPまたはその任意の断片をコードする配列の中に突然変異を導入することも可能である。

#### 【0113】

更に本発明には、種々のストリンジェントな条件下で、請求項に記載されたポリヌクレオチド配列、特に、SEQ ID NO:28 - 54及びそれらの断片とハイブリダイズ可能なポリヌクレオチド配列が含まれる(例えば、Wahl, G.M.及びS.L. Berger (1987) *Methods Enzymol.* 152:399-407; and Kimmel, A.R. (1987) *Methods Enzymol.* 152:507-511.を参照)。アニーリング及び洗浄条件を含むハイブリダイゼーションの条件は、「定義」に記載されている。

#### 【0114】

当分野で周知のDNAのシーケンシング方法を用いて、本発明の何れの実施例も実行可能である。この方法には、例えばDNAポリメラーゼIのクレノウ断片、SEQUENASE (US Biochemical, Cleveland OH)、Taqポリメラーゼ (Applied Biosystems, Foster City CA)、熱安定性T7ポリメラーゼ (Amersham, Pharmacia Biotech Piscataway NJ)、或いはELONGASE増幅システム (Life Technologies, Gaithersburg MD)にみられるような校正エキソヌクレアーゼとポリメラーゼとの組み合わせなどの酵素が用いられる。好ましくは、MICROLAB2200液体転移システム (Hamilton, Reno, NV)、PTC200 Thermal Cycler200 (MJ Research, Watertown MA)及びABI CATALYST 800 (PE Biosystems)などの装置を用いて配列の準備を自動化する。次に、ABI 373或いは377 DNAシーケンシングシステム (PE Biosystems)、MEGABACE 1000 DNAシーケンシングシステム (Molecular Dynamics, Sunnyvale CA)または当分野で周知の他の方法を用いてシーケンシングを行う。得られた配列を当分野で周知の様々なアルゴリズムを用いて分析する(例えば、Ausubel, F.M. (1997) Short Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, New York NY, unit 7.7; Meyers, R.A. (1995) Molecular Biology and Biotechnology, Wiley VCH, New York NY, pp. 856-853.を参照)。

#### 【0115】

当分野で周知のPCR法をベースにした種々の方法で、部分的なヌクレオチド配列を利用して、ORPをコードする核酸配列を伸長し、プロモーターや調節エレメントなどの上流にある配列を検出する。例えば制限部位PCR法を利用する1つの方法では、一般的なプライマー及び入れ子プライマー (nested primer) を用いてクローニングベクター内のゲノムDNAから未知の配列を増幅する(例えば、Sarkar, G. (1993) PCR Methods Applic 2:318-322を参照)。逆PCR法を用いる別法では、広範な方向に伸長して環状化した鋳型から未知の配列を増幅するプライマーを用いる。この鋳型は、既知のゲノム遺伝子座及びその周辺の配列を含む制限断片に由来する(例えば、Triglia, T.等 (1988) Nucleic Acids Res 16:8186を参照)。キャプチャPCR法を用いる第3の方法は、ヒト及び酵母菌人工染色体DNAの既知の配列に隣接するDNA断片のPCR増幅を含む(例えば、Lagerstrom, M.他 (1991) PCR Methods Applic 1:111-119を参照)。この方法では、多数の制限酵素

による消化及びライゲーションを用いて、PCRを行う前に未知の配列の領域の中に組換え二本鎖配列を挿入することが可能である。また、当分野で周知の別の方法を用いて未知の配列を得ることも可能である。(例えば、Parker, J.D. 他 (1991)Nucleic Acids Res. 19:3055-3060を参照)。更に、PCR、ネスト化プライマー、PROMOTERFINDERライブラリ(Clontech, Palo Alto CA)を用いれば、ゲノムDNA内の歩行が可能である。この方法ではライブラリをスクリーニングする必要がなく、イントロン/エキソン接合部を探すのに有用である。全てのPCR法をベースにした方法では、プライマーは、市販のOLIGO 4.06 Primer Analysis software (National Biosciences, Plymouth MN) 或いは別の好適なプログラムなどを用いて、長さが22~30ヌクレオチド、GC含量が50%以上、約68~72の温度で鋳型に対してアニーリングするよう設計される。

#### 【0116】

完全長のcDNAをスクリーニングする場合は、大きなcDNAを含むようにサイズが選択されたライブラリを用いるのが好ましい。更に、オリゴd(T)ライブラリが完全な長さのcDNAを生成できない場合は、遺伝子の5'領域を有する配列を含むものが多いランダムに初回抗原刺激を受けたライブラリが有用である。ゲノムライブラリは、5'非転写調節領域への配列の伸長に有用であろう。

#### 【0117】

市販のキャピラリー電気泳動システムを用いて、シーケンシングまたはPCR産物のヌクレオチド配列のサイズの分析、または確認が可能である。詳しくは、キャピラリーシーケンシングには、電気泳動による分離のための流動性ポリマー、及び4つの異なったヌクレオチドに特異的なレーザーで活性化される蛍光色素、放出された波長の検出に利用するCCDカメラを使用することが可能である。出力/光強度は、適切なソフトウェア(例えば、GENOTYPER及びSEQUENCE NAVIGATOR、PE Biosystems)を用いて電気信号に変換され、サンプルのローディングからコンピュータ分析までのプロセス及び電子データ表示がコンピュータ制御可能である。キャピラリー電気泳動法は、特定のサンプルに少量しか存在しない場合もあるDNAの小片のシーケンシングに特に適している。

#### 【0118】

本発明の別の実施例では、ORPをコードするポリヌクレオチド配列またはその断片を組換えDNA分子にクローニングして、適切な宿主細胞内にORP、その断片または機能的等価物を発現させることが可能である。遺伝暗号固有の縮重により、実質的に同じ或いは機能的に等価のアミノ酸配列をコードする別のDNA配列が作られ得り、これらの配列をORPのクローン化及び発現に利用可能である。

#### 【0119】

種々の目的でORPをコードする配列を変えるために、当分野で一般的に知られている方法を用いて、本発明のヌクレオチド配列を組換えることができる。この目的には、遺伝子産物のクローン化、プロセッシング及び/または発現の調節が含まれるが、これらに限定されるものではない。ランダムな断片によるDNAの混合や遺伝子断片と合成オリゴヌクレオチドのPCR再組み立てを用いて、ヌクレオチド配列の組換えが可能である。例えば、オリゴヌクレオチド媒介性定方向突然変異誘発を利用して、新しい制限部位を生成する突然変異の導入、グリコシル化パターンの変更、コドン選択の変更、スプライスバリエーションの作製等が可能である。

#### 【0120】

本発明のヌクレオチドを、MOLECULARBREEDING (Maxygen Inc., Santa Clara CA; 米国特許第5,837,458号; Chang, C.-C. 他 (1999) Nat. Biotechnol. 17:793-797; Christians, F.C. 他 (1999) Nat. Biotechnol. 17:259-264; Cramer, A. 他 (1996) Nat. Biotechnol. 14:315-319)などのDNAシャフリング技術を用いてシャフリングして、ORPの生物学的または酵素的な活性、或いは他の分子や化合物と結合する能力などのORPの生物学的特性を変更或いは改良することができる。DNAシャフリングは、PCR法による遺伝子断片の組換えで遺伝子変異体のライブラリを作製するプロセスである。次に、このライブラリを、目的の特性を有する遺伝子変異体を同定するために選択或いはスクリーニングする。これらの好ましい変異体をプールし、DNAシャフリング及び選択/スクリーニングを繰り返す。従って、人工的な育種及び急速な分子の進化によって多様な遺伝子が作られる。例えば、ランダムな位置に変異がある1つの遺伝子の断片を、目的の特性が最適化するまで、組換え及びスクリーニング、シャフリングを実施することもでき

る。別法では、所定の遺伝子の断片を、同じ或いは異なった種の同じ遺伝子ファミリーの相同な遺伝子の断片で組換え、それによってプロトコルに従った調節可能な方法で、多数の天然遺伝子の遺伝子多様性を最大にすることができる。

#### 【0121】

別の実施例によれば、ORPをコードする配列は、当分野で周知の化学的方法を用いて、全体或いは一部が合成可能である(例えば、Caruthers, M.H.等(1980) Nucl. Acids Res. Symp. Ser 7:215-223; 及びHorn, T.他(1980) Nucl. Acids Res. Symp. Ser.225-232を参照)。別法として、化学的方法を用いてORP自体またはその断片を合成することが可能である。例えば、ペプチド合成は種々の固相技術を用いて実行可能である(例えば、Creighton, T. (1984) *Proteins. Structures and Molecular Properties*, WH Freeman, New York NY, pp. 55-60; Roberge, J.Y.等(1995) Science 269:202-204を参照)。また、合成の自動化は例えばABI 431Aペプチドシンセサイザー(PE Biosystems)を用いて達成し得る。更にORPのアミノ酸配列または任意のその一部は、直接的な合成の際の変更、及び/または化学的方法を用いた他のタンパク質または任意のその一部からの配列との組み合わせにより、天然のポリペプチド配列を有するポリペプチドまたは変異体ポリペプチドを作製することが可能である。

#### 【0122】

このペプチドは、分離用高速液体クロマトグラフィー(例えば、Chiez, R.M. 及び F.Z. Regnier (1990) *Methods Enzymol.* 182:392-421を参照)を用いて実質的に精製可能である。合成されたペプチドの組成は、アミノ酸分析或いはシーケンシングにより確認することができる(例えば、Creighton、前出、pp28-53を参照)。

#### 【0123】

生物学的に活性なORPを発現させるために、ORPをコードするヌクレオチド配列またはその誘導体を好適な発現ベクターに挿入する。この発現ベクターは、好適な宿主に挿入されたコーディング配列の転写及び翻訳の調節に必要なエレメントを含む。これらのエレメントには、ベクター及びORPをコードするポリヌクレオチド配列におけるエンハンサー、構成型及び発現誘導型のプロモーター、5'及

び3'の非翻訳領域などの調節配列が含まれる。このようなエレメントは、その長さ及び特異性が様々である。特定の開始シグナルによって、ORPをコードする配列のより効果的な翻訳を達成することが可能である。このようなシグナルには、ATG開始コドン及びコザック配列などの近傍の配列が含まれる。ORPをコードする配列及びその開始コドン、上流の調節配列が好適な発現ベクターに挿入された場合は、更なる転写調節シグナルや翻訳調節シグナルは必要なくなるであろう。しかしながら、コーディング配列或いはその断片のみが挿入された場合は、インフレームのATG開始コドンを含む外来性の翻訳調節シグナルが発現ベクターに含まれなければならない。外来性の翻訳要素及び開始コドンは、自然及び合成の様々なものから得ることが可能である。用いられる特定の宿主細胞系に好適なエンハンサーを含めることで発現の効率を高めることが可能である。(例えば、Scharf, D. 他 (1994) *Results Probl. Cell Differ.* 201 - 18-162.を参照)。

#### 【0124】

当業者に周知の方法を用いて、ORPをコードする配列、好適な転写及び翻訳調節エレメントを含む発現ベクターを作製することが可能である。これらの方法には、*in vitro*組換えDNA技術、合成技術、及び*in vivo*遺伝子組換え技術が含まれる。(例えば、Sambrook, J. 他. (1989) *Molecular Cloning. A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Press, Plainview NY, 4章及び8章, 及び16-17章; 及び Ausubel, F.M. 他. (1995) *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, New York NY, ch. 9章及び13章1 - 4章を参照)。

#### 【0125】

種々の発現ベクター/宿主系を利用して、ORPをコードする配列の保持及び発現が可能である。これらには、限定するものではないが、組換えバクテリオファージ、プラスミド、またはコスミドDNA発現ベクターで形質転換された細菌などの微生物や、酵母菌発現ベクターで形質転換された酵母菌や、ウイルス発現ベクター(例えば、バキュロウイルス)に感染した昆虫細胞系や、ウイルス発現ベクター(例えば、カリフラワーモザイクウイルス、CaMV; タバコモザイクウイルス、TMV)または細菌発現ベクター(例えば、TiまたはpBR322プラスミド)で形質転換された植物細胞系や、動物細胞系などが含まれる(前出のSambrook、前出

のAusubel, Van Heeke, G. and S.M. Schuster (1989) J. Biol. Chem. 264:5503-5509、Bitter, G.A.他 (1987) Methods Enzymol. 153:516-544; Scorer, C.A.ら (1994) Bio/Technology 12:18 1-184; Engelhard, E.K. 他 (1994) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91:3224-3227、Sandig, V. 他 (1996) Hum. Gene Ther. 7:1937-1945、タカマツ, N. (1987) EMBOJ. 6:307-311、Coruzzi, G. 他 (1984) EMBOJ. 3:1671-1680、Broglie, R. 他 (1984) Science 224:838-843、Winter, J. 他 (1991) Results Probl. Cell Differ. 17:85-105、『マグローヒル科学技術年鑑』(The McGraw Hill Yearbook of Science and Technology) (1992) McGraw Hill New York NY, pp.191-196、Logan, J. and T. Shenk (1984) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:3655-3659、Harrington, J.J. 他 (1997) Nat. Genet. 15:345-355等を参照)。レトロウイルス、アデノウイルス、ヘルペスウイルスまたはワクシニアウイルス由来の発現ベクター、または種々の細菌性プラスミド由来の発現ベクターを用いて、ヌクレオチド配列を標的器官、組織または細胞集団へ輸送することができる (Di Nicola, M. 他 (1998) Cancer Gen. Ther. 5(6):350-356、Yu, M. 他(1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90(13):6340-6344、Buller, R.M. 他(1985) Nature 317(6040):813-815; McGregor, D.P. 他(1994) Mol. Immunol. 31(3):219-226、Verma, I.M. and N. Somia (1997) Nature 389:239-242等を参照)。本発明は使用される宿主細胞によって限定されるものではない。

#### 【0126】

細菌系では、多数のクローニングベクター及び発現ベクターが、ORPをコードするポリヌクレオチド配列の使用目的に応じて選択可能である。例えば、ORPをコードするポリヌクレオチド配列の日常的なクローニング、サブクローニング、増殖には、PBLUESCRIPT(Stratagene, La Jolla CA)またはpSPORT 1 プラスミド(GIBCO BRL)などの多機能の大腸菌ベクターを用いることができる。ベクターの多数のクローニング部位にORPをコードする配列をライゲーションするとlacZ 遺伝子が破壊され、組換え分子を含む形質転換された細菌の同定のための比色スクリーニング法が可能となる。更に、これらのベクターを用いて、クローニングされた配列の *in vitro*での転写、ジデオキシンスクリーニング、ヘルパーファージに

よる一本鎖の救出、入れ子状態の欠失を作り出すことが可能である(例えば、Van Heeke, G.及びS.M. Schuster (1989) J. Biol. Chem. 264:5503-5509.を参照)。例えば、抗体の産生のためなどに多量のORPが必要な場合は、ORPの発現をハイレベルで誘導するベクターが使用できる。例えば、強力に発現を誘発するT5またはT7バクテリオファージプロモーターを含むベクターを使用できる。

#### 【0127】

ORPの発現に酵母の発現系の使用が可能である。因子やアルコールオキシダーゼやPGHプロモーターなどの構成型或いは誘導型のプロモーターを含む多種のベクターが、酵母菌サッカロミセス - セレビジエまたは*Pichia pastoris*に使用可能である。更に、このようなベクターは、発現したタンパク質の分泌か細胞内への保持のどちらかを誘導し、安定した増殖のために宿主ゲノムの中に外来配列を組み込む。(例えば、Ausubel, 1995,前出、Bitter, 前出、及びScorer, 前出を参照)。

#### 【0128】

植物系もORPの発現に使用可能である。ORPをコードする配列の転写は、例えば、CaMV由来の35S及び19Sプロモーターなどのウイルスプロモーターが単独で、或いはTMV(例えば、Coruzzi, 前出、Broglie, 前出、Winter, 前出を参照)由来のオメガリーダー配列と組み合わせて促進される。これらの作製物は、直接のDNA形質転換或いは病原体を介したトランスフェクションによって、植物細胞の中に導入可能である。(例えば、The McGraw Hill Yearbook of Science and Technology (1992) McGraw Hill NY, pp.191-196を参照)。

#### 【0129】

哺乳動物細胞では、多種のウイルスベースの発現系が利用され得る。アデノウイルスが発現ベクターとして用いられる場合、後発プロモーター及び3連リーダー配列からなるアデノウイルス転写物/翻訳複合体にORPをコードする配列を結合し得る。ウイルスのゲノムの非必須のE1またはE3領域への挿入により、感染した宿主細胞にORPを発現する生ウイルスを得ることが可能である(Logan, J.及びShenk, T. (1984) Proc. Natl. Acad. Sci. 81:3655-3659を参照)。さらに、ラウス肉腫ウイルス(RSV)エンハンサーなどの転写エンハンサーを用いて、

哺乳動物宿主細胞における発現を増大させることが可能である。タンパク質を高レベルで発現させるために、SV40またはEBVを基にしたベクターを用いることが可能である。

#### 【0130】

ヒト人工染色体 (HAC) を用いて、プラスミドで発現しそれに含まれているものより大きなDNAの断片を供給可能である。治療のために約6 kb ~ 10 MbのHACsを作製し、従来の輸送方法 (リポソーム、ポリカチオンアミノポリマー、またはベシクル) で供給する。(例えば、Harrington, J.J. 他 (1997) Nat Genet.15:345-355.を参照)。

#### 【0131】

哺乳動物系の組換えタンパク質の長期にわたる産生のためには、株化細胞におけるORPの安定した発現が望ましい。例えば、発現ベクターを用いて、ORPをコードする配列を株化細胞に形質転換することが可能である。このような発現ベクターは、ウイルス起源の複製及び/または内在性の発現要素や、同じ或いは別のベクターの上の選択マーカー遺伝子を含む。ベクターの導入の後、細胞を選択培地に移す前に、強化培地で約1 ~ 2日の間増殖させる。選択マーカーの目的は選択的な媒介物に対する抵抗性を与えるとともに、その存在により導入された配列を確実に発現する細胞の増殖及び回収が可能となる。安定的に形質転換された細胞の耐性クローンは、その細胞型に好適な組織培養技術を用いて増殖可能である。

#### 【0132】

任意の数の選択系を用いて、形質転換された細胞系を回収することが可能である。選択系には、以下のものに限定はしないが、単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ遺伝子及びアデニンホスホリボシルトランスフェラーゼ遺伝子が含まれ、それぞれtk<sup>r</sup>またはapr<sup>r</sup>細胞において使用される。(例えば、Wigler, M. 他 (1977) Cell 11:223-232; 及びLowy, I. 他(1980) Cell 22:817-823を参照)。また代謝拮抗物質、抗生物質或いは除草剤への耐性を選択のベースとして用いることができる。例えばdhfrはメトトレキセートに対する耐性を与え、neoはアミノグリコシッドネオマイシン及びG-418に対する耐性を与え、als或いはpatはクロルスルフロン (cORP sulfuron)、ホスフィノトリシンアセチルトランスフェラー

ゼ (phosphotricin acetyltransferase) に対する耐性を与える(例えば、Wigler, M. 他. (1980) Proc. Natl. Acad. Sci. 77:3567-3570; Colbere-Garapin, F. 他(1981) J. Mol. Biol. 150:1-14を参照)。さらに選択に利用できる遺伝子、例えば、代謝のために細胞が必要なものを変える trpB 及び hisD が文献に記載されている(例えば、Hartman, S.C. 及び R.C. Mulligan (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. 85:8047-51を参照)。アミノシアニン、緑色蛍光タンパク質 (GFP; Clontech)、グルクロニダーゼ及びその基質 GUS, ルシフェラーゼ及びその基質ルシフェリンなどの可視マーカーが用いられる。緑色蛍光タンパク質 (GFP) (Clontech, Palo Alto, CA) も使用できる。これらのマーカーを用いて、トランスフォーマントを特定するだけでなく、特定のベクター系に起因する一過性或いは安定したタンパク質発現を定量することが可能である(例えば、Rhodes, C.A. 他 (1995) Methods Mol. Biol. 55:121-131を参照)。

#### 【0133】

マーカー遺伝子の発現の存在 / 不在によって目的の遺伝子の存在が示されても、その遺伝子の存在及び発現の確認が必要な場合もある。例えば、ORP をコードする配列がマーカー遺伝子配列の中に挿入された場合、ORP をコードする配列を含む形質転換された細胞は、マーカー遺伝子機能の欠落により特定可能である。または、1つのプロモーターの制御下でマーカー遺伝子がORPをコードする配列と一列に配置することも可能である。誘導または選択に応答したマーカー遺伝子の発現は、通常タンデム遺伝子の発現も示す。

#### 【0134】

一般に、ORP をコードする核酸配列を含み、ORP を発現する宿主細胞は、当業者が周知の種々の方法を用いて特定することが可能である。これらの方法には、DNA-DNA 或いは DNA-RNA ハイブリダイゼーションや、PCR法、核酸或いはタンパク質の検出及び / または数量化のための膜系、溶液ベース、或いはチップベースの技術を含むタンパク質生物学的試験法または免疫学的アッセイが含まれるが、これらに限定されるものではない。

#### 【0135】

特異的なポリクローナル抗体またはモノクローナル抗体のどちらかを用いるOR

Pの発現の検出及び計測のための免疫学的方法は、当分野で周知である。このような技法には、酵素に結合したイムノソルベントアッセイ (ELISA)、ラジオイムノアッセイ (RIA)、蛍光標示式細胞分取器 (FACS) などがある。ORP上の2つの非干渉エピトープに反応するモノクローナル抗体を用いた、2部位のモノクローナルベースイムノアッセイ (two-site, monoclonal-based immunoassay) が好ましいが、競合の結合アッセイも用いることもできる。これらのアッセイ及びその他のアッセイは、当分野では十分に知られている。(例えば、Hampton, R. 他.(1990) Serological Methods, a Laboratory Manual. APS Press, St Paul, MN, Sect. IV; Coligan, J. E. 他 Current Protocols in Immunology, Greene Pub. Associates and Wiley-Interscience, New York, NY; 及び Pound, J.D. (1990) Immunochemical Protocols, Humana Press, Totowa NJ)。

#### 【0136】

種々の標識技術及び結合技術が当業者には周知であり、様々な核酸アッセイおよびアミノ酸アッセイに用いられ得る。ORPをコードするポリヌクレオチドに関連する配列を検出するための、標識されたハイブリダイゼーションプローブ或いはPCRプローブを生成する方法には、オリゴ標識化、ニックトランスレーション、末端標識化、または標識されたヌクレオチドを用いるPCR増幅が含まれる。別法として、ORPをコードする配列、またはその任意の断片をmRNAプローブを生成するためのベクターにクローニングすることも可能である。当分野では周知であり市販されているこのようなベクターを、T7, T3, またはSP6などの好適なRNAポリメラーゼ及び標識されたヌクレオチドの追加によって、*in vitro*でのRNAプローブの合成に用いることができる。これらの方法は、例えば、Amersham Pharmacia Biotech及びPromega (Madison WI)、U.S. Biochemical Corp (Cleveland OH) が市販する種々のキットを用いて行うことができる。容易な検出のために用い得る好適なレポーター分子或いは標識には、基質、コファクター、インヒビター、磁気粒子、及び放射性核種、酵素、蛍光剤、化学発光剤、色素産生剤などが含まれる。

#### 【0137】

ORPをコードするヌクレオチド配列で形質転換された宿主細胞は、細胞培地で

のこのタンパク質の発現及び回収に好適な条件下で培養される。形質転換された細胞から産生されたタンパク質が分泌されるか細胞内に留まるかは、使用されるその配列及び/またはそのベクターによる。ORPをコードするポリヌクレオチドを含む発現ベクターは、原核細胞膜及び真核細胞膜を透過するORPの分泌を誘導するシグナル配列を含むように設計できることは、当業者には理解されよう。

#### 【0138】

更に、挿入した配列の発現調節能力または発現したタンパク質を所望の形にプロセッシングする能力によって宿主細胞株が選択される。このようなポリペプチドの修飾には、アセチル化、カルボキシル化、グリコシル化、リン酸化、脂質化 (lipidation)、及びアシル化が含まれるが、これらに限定されるものではない。タンパク質の「プレプロ」または「プロ」形を切断する翻訳後のプロセッシングを利用して、標的タンパク質、折りたたみ及び/または活性を特定することが可能である。翻訳後の活性のための特定の細胞装置及び特徴のある機構をもつ種類の宿主細胞 (例えば、CHO、HeLa、MDCK、MEK293、WI38) がAmerican Type Culture Collection (ATCC; Bethesda, MD) より入手可能であり、外来のタンパク質の正しい修飾及びプロセッシングを確実にするために選択される。

#### 【0139】

本発明の別の実施例では、ORPをコードする自然或いは変更された、または組換えの核酸配列を上記した任意の宿主系の融合タンパク質の翻訳となる異種配列に結合させる。例えば、市販の抗体によって認識できる異種部分を含むキメラORPタンパク質が、ORPの活性のインヒビターに対するペプチドライブラリのスクリーニングを促進し得る。また、異種タンパク質部分及び異種ペプチド部分が、市販の親和性基質を用いて融合タンパク質の精製を促進し得る。このような部分には、グルタチオンSトランスフェラーゼ (GST)、マルトース結合タンパク質 (MBP)、チオレドキシン (Trx)、カルモジュリン結合ペプチド (CBP)、6-His、FLAG、c-mc、赤血球凝集素 (HA) が含まれるが、これらに限定されるものではない。GST及びMBP、Trx、CBP、6-Hisによって、固定されたグルタチオン、マルトース、フェニルアルシン酸化物 (phenylarsine oxide)、カルモジュリン、金属キレート樹脂のそれぞれで同族の融合タンパク質の精製が可能となる。FLAG、

c - mc、及び赤血球凝集素 (HA) によって、これらのエピトープ標識を特異的に認識する市販のモノクローナル抗体及びポリクローナル抗体を用いた融合タンパク質の免疫親和性の精製ができる。また、ORPをコードする配列と異種タンパク質配列との間にあるタンパク質分解切断部位を融合タンパク質が含むように遺伝子操作すると、ORPが精製の後に異種部分から切断され得る。融合タンパク質の発現と精製の方法は、Ausubel. (1995、前出 ch 10). に記載されている。市販されている様々なキットを用いて、融合タンパク質の発現及び精製を促進できる。

#### 【0140】

本発明の別の実施例では、TNTウサギ網状赤血球可溶化液またはコムギ胚芽抽出系 (Promega) を用いて *in vitro* で放射能標識したORPの合成が可能である。これらの系は、T7またはT3、SP6プロモーターと機能的に結合したタンパク質をコードする配列の転写と翻訳をつなげる。翻訳は、例えば、<sup>35</sup>Sメチオニンである放射能標識されたアミノ酸前駆体の存在の下で起こる。

#### 【0141】

本発明のORPまたはその断片を用いて、ORPに特異結合する化合物をスクリーニングすることができる。少なくとも1つまたは複数の試験化合物を用いて、ORPへの特異的な結合をスクリーニングすることが可能である。試験化合物の例には、抗体、オリゴヌクレオチド、タンパク質 (例えば受容体) または小分子が挙げられる。

#### 【0142】

一実施例では、このように同定された化合物は、例えばリガンドやその断片などのORPの天然のリガンド、または天然の基質、構造的または機能的な擬態性または自然結合パートナーに密接に関連している (Coligan, J.E. 他 (1991) *Current Protocols in Immunology* 1(2)の5章等を参照)。同様に、化合物は、ORPが結合する天然受容体、或いは例えばリガンド結合部位などの少なくとも受容体のある断片に密接に関連し得る。何れの場合も、既知の技術を用いてこの化合物を合理的に設計することができる。一実施例では、このような化合物に対するスクリーニングには、分泌タンパク質或いは細胞膜上のタンパク質の何れか一方としてORPを発現する好適な細胞の作製が含まれる。好適な細胞には、哺乳動物、酵

母、大腸菌からの細胞が含まれる。ORPを発現する細胞またはORPを含有する細胞膜断片を試験化合物と接触させて、ORPまたは化合物の何れかの結合、刺激または阻害を分析する。

#### 【0143】

あるアッセイは、単に試験化合物をポリペプチドに実験的に結合させ、結合を、フルオロフォア、放射性同位体、酵素抱合体またはその他の検出可能な標識により検出することができる。例えば、このアッセイは、少なくとも1つの試験化合物を、溶液中の或いは固体支持物に固定されたORPと結合させるステップと、ORPとこの化合物との結合を検出するステップを含み得る。別法では、標識された競合物の存在下での試験化合物の結合の検出及び測定を行うことができる。更にこのアッセイでは、細胞遊離剤、化学ライブラリまたは天然の生成混合物を用いて実施することができ、試験化合物は、溶液中で遊離させるか固体支持体に固定させる。

#### 【0144】

本発明のORPまたはその断片を用いて、ORPの活性を調整する化合物をスクリーニングすることが可能である。このような化合物には、アゴニスト、アンタゴニスト、或るいは部分的または逆アゴニスト等が含まれる。一実施例では、ORPが少なくとも1つの試験化合物と結合する、ORPの活性が許容される条件下でアッセイを実施し、試験化合物の存在下でのORPの活性が試験化合物不在下でのORPの活性と比較する。試験化合物の存在下でのORPの活性の変化は、ORPの活性を調整する化合物の存在を示唆する。別法では、試験化合物をORPの活性に適した条件下でORPを含むin vitroまたは細胞遊離系と結合させてアッセイを実施する。これらアッセイの何れかにおいて、ORPの活性を調整する試験化合物は間接的に結合することが可能であり、試験化合物と直接接触する必要がない。少なくとも1つから複数の試験化合物をスクリーニングすることができる。

#### 【0145】

別の実施例では、胚性幹細胞（ES細胞）における相同組換えを用いて動物モデル系内で、ORPまたはその哺乳動物相同体をコードするポリヌクレオチドを「ノックアウト」する。このような技術は当技術分野において周知であり、ヒト疾患

動物モデルの作製に有用である（米国特許第5,175,383号及び第5,767,337号等を参照）。例えば129/SvJ細胞株等のマウスES細胞は初期のマウス胚に由来し、培地で増殖させることができる。このES細胞は、ネオマイシンホスホトランスフェラーゼ遺伝子（neo: Capecchi, M.R. (1989) Science 244:1288-1292）等のマーカー遺伝子で破壊した目的の遺伝子を含むベクターで形質転換する。このベクターは、相同組換えにより宿主ゲノムの対応する領域に組み込まれる。別法では、Cre-loxP系を用いて相同組換えを行い、組織特異的または発生段階特異的に目的遺伝子をノックアウトする（Marth, J.D. (1996) Clin. Invest. 97:1999-2002; Wagner, K.U. 他 (1997) Nucleic Acids Res. 25:4323-4330）。形質転換したES細胞を同定し、例えばC57BL/6マウス系等から採取したマウス細胞胚盤胞に微量注入する。胚盤胞を偽妊娠メスに外科的に導入し、得られるキメラ子孫の遺伝形質を決め、これを交配させてヘテロ接合性系またはホモ接合性系を作製する。このようにして作製した遺伝子組換え動物は、潜在的な治療薬や毒性薬剤で検査することができる。

#### 【0146】

ORPをコードするポリヌクレオチドをin vitroでヒト胚盤胞由来のES細胞において操作することが可能である。ヒトES細胞は、内胚葉、中胚葉及び外胚葉の細胞の種類を含む少なくとも8つの別々の細胞系統に分化する可能性を有する。これらの細胞系統は、例えば神経細胞、造血系統及び心筋細胞に分化する（Thomson, J.A. 他 (1998) Science 282:1145-1147）。

#### 【0147】

ORPをコードするポリヌクレオチドを用いて、ヒト疾患をモデルとした「ノックイン」ヒト化動物（ブタ）または遺伝子組換え動物（マウスまたはラット）を作製することが可能である。ノックイン技術を用いて、ORPをコードするポリヌクレオチドの或る領域を動物ES細胞に注入し、注入した配列を動物細胞ゲノムに組み込ませる。形質転換細胞を胞胚に注入し、胞胚を上記のように移植する。遺伝子組換え子孫または近交系について研究し、潜在的な医薬品を用いて処理し、ヒトの疾患の治療に関する情報を得る。別法では、例えばORPを乳汁内に分泌するなどORPを過剰に発現する哺乳動物近交系は、便利なタンパク質源となり得る

(Janne, J. 他 (1998) *Biotechnol. Annu. Rev.* 4:55-74)。

【0148】

(治療)

ORPのある領域と酸化還元酵素タンパク質のある領域との間に、例えば配列及びモチーフの文脈における化学的及び構造的類似性が存在する。更に、ORPの発現は癌組織、炎症組織、生殖組織、および胃腸組織に密接に関連する。従って、ORPは、癌を含む細胞増殖異常、内分泌障害、代謝異常、生殖障害、神経の疾患、ウイルス感染症、および自己免疫/炎症性の疾患においてある役割を果たすと考えられる。ORPの発現若しくは活性の増大に関連する疾患の治療においては、ORPの発現または活性を低下させることが望ましい。また、ORPの発現または活性の低下に関連する疾患の治療においては、ORPの発現または活性を増大させることが望ましい。

【0149】

従って、一実施例において、ORPの発現または活性の低下に関連した疾患の治療または予防のために、患者にORPまたはその断片や誘導体を投与することが可能である。限定するものではないが、このような疾患には癌を含む細胞増殖異常、内分泌障害、代謝異常、生殖障害、神経の疾患、ウイルス感染症、および自己免疫/炎症性の疾患が含まれ、細胞増殖異常の中には日光性角化症及びアテローム性動脈硬化、滑液包炎、硬変、肝炎、混合型結合組織病、骨髓線維症、発作性夜間ヘモグロビン尿症、真性多血症、乾癬、原発性血小板血症、並びに腺癌及び白血病、リンパ腫、黒色腫、骨髓腫、肉腫、及び奇形癌、具体的には、副腎、膀胱、骨、骨髓、脳、乳房、頸部、胆嚢、神経節、消化管、心臓、腎臓、肝臓、肺、筋肉、卵巣、膵臓、副甲状腺、陰茎、前立腺、唾液腺、皮膚、脾臓、精巣、胸腺、子宮の癌などが含まれ、内分泌障害の中には原発脳腫瘍及び腺腫、妊娠性梗塞、下垂体切除、動脈瘤、血管奇形、血栓症、感染症、免疫異常、頭部外傷による合併症などの病変から起こる視床下部及び下垂体の障害と、性機能低下及びシーハン症候群、尿崩症、カルマン病、ハンド シュラー クリスチャン病、レトラ シヴェ病、サルコイドーシス、エンプティセラ症候群、小人症を含む下垂体低下に関連した障害と、良性線種によって発生しやすい不適當抗利尿ホルモン(

ADH) 分泌症候群 (SIADH) 及び先端巨大症、巨人症を含む下垂体亢進に関連した障害と、甲状腺腫及び粘液水腫、細菌感染性急性甲状腺炎、ウイルス感染性亜急性甲状腺炎、自己免疫性甲状腺炎 (橋本病)、クレチン病を含む甲状腺機能低下症に関連した障害と、甲状腺中毒症及びその様々な型、グレーブス病、前脛骨粘液水腫、中毒性多結節性甲状腺腫、甲状腺癌、プランマー病を含む甲状腺機能亢進症と、Conn病 (chronic hypercalcemia) を含む副甲状腺機能亢進症と、I型及びII型糖尿病及び合併症などの膵臓疾患と、過形成及び副腎皮質の癌腫や腺腫、アルカローシスに関連した高血圧、アミロイド症、低カリウム血、クッシング病、リドル症候群、Arnold-Healy-Gordon症候群、褐色細胞腫瘍、副腎機能不全などの副腎に関連した障害と、女性の異常プロラクチン産生及び不妊症、子宮内膜症、月経周期の摂動、多嚢胞性卵巣疾患、高プロラクチン血症、選択的性腺刺激ホルモン不全 (isolated gonadotropin deficiency)、無月経、乳汁漏出症、半陰陽、多毛症及び男性化、乳癌、閉経期後の骨粗鬆症、男性のライジッヒ細胞過形成、男性更年期、生殖細胞無形成症、ライジッヒ細胞腫瘍に関連した性機能亢進、アンドロゲン受容体の欠如に関連したアンドロゲン耐性、5 $\alpha$ -還元酵素症候群、女性乳房症などの生殖腺ステロイドホルモンに関連した疾患とが含まれ、代謝異常の中には副腎機能不全、嚢胞性線維症、糖尿病、脂肪性肝硬変、ガラクトース血症、甲状腺腫、アドレナリン過剰症、低アドレナリン症、副甲状腺機能亢進症、副甲状腺機能低下症、高コレステロール血症、甲状腺機能亢進症、甲状腺機能低下症、高脂血症、高脂肪血症、脂質筋障害 (lipid myopathies)、肥満症、脂肪異栄養症、フェニールケトン尿症、先天性副腎過形成症、偽ビタミンD低抗性くる病、脳腱黄色腫症、クマリン耐性が含まれ、生殖障害の中には、プロラクチンの産生異常と、卵管病及び排卵異常、子宮内膜症、発情期異常、月経周期異常、多嚢胞卵巣症候群、卵巣過剰刺激症候群、子宮内膜癌及び卵巣癌、子宮筋腫、自己免疫異常、異所性妊娠、奇形発生を含む不妊症と、乳癌、線維嚢胞性乳腺症、乳漏症と、精子形成異常、生理学上の精子異常、精巣癌、前立腺癌、良性の前立腺過形成、前立腺炎、ペーロニー病、インポテンス、男性乳房及び女性化乳房癌とが含まれ、また、神経の疾患の中には、癲癇、虚血性脳血管障害、脳卒中、大脳新生物、アルツハイマー病、ピック病、ハンチントン病、痴呆、パー

キソン病及びその他の錐体外路障害、筋萎縮性側索硬化及びその他の運動ニューロン障害、進行性神経性筋萎縮症、色素性網膜炎、遺伝性運動失調、多発性硬化症及び他の脱髄疾患、細菌性及びウイルス性髄膜炎、脳膿瘍、硬膜下蓄膿症、硬膜外膿瘍、化膿性頭蓋内血栓性静脈炎、脊髄炎及び神経根炎、ウイルス性中枢神経系疾患と、クールー及びクロイツフェルト ヤコブ病、ゲルストマン症候群、Gerstmann-Straussler-Scheinker症候群を含むプリオン病 (prion disease) と、致死性家族性不眠症、神経系性栄養病及び代謝病、神経線維腫症、結節硬化症、小脳網膜血管芽腫 (cerebelloretinal hemangioblastomatosis)、脳3叉神経血管症候群、中枢神経系性精神薄弱及び他の発生障害、脳性麻痺、神経骨格異常症、自律神経系障害、脳神経障害、脊髄病、筋ジストロフィー及び他の神経筋障害、末梢神経疾患、皮膚筋炎及び多発性筋炎と、遺伝性、代謝性、内分泌性、及び中毒性ミオパシーと、重症筋無力症、周期性四肢麻痺と、気分性及び不安性精神障害、及び妄想性精神病と、季節性の感情の障害 (SAD)、静座不能、健忘症、緊張病、糖尿病性ニューロパシー、錐体外路性終末欠陥症候群、ジストニー、分裂病性精神障害、帯状疱疹後神経痛、及びトゥーレット病が含まれ、自己免疫/炎症性の疾患の中には、炎症及び日光性角化症、後天性免疫不全症候群 (AIDS) 及び副腎機能不全、成人呼吸窮迫症候群、アレルギー、強直性脊椎炎、アミロイド症、貧血、喘息、アテローム性動脈硬化症、自己免疫性溶血性貧血、自己免疫性甲状腺炎、自己免疫性多腺性内分泌カンジダ性外胚葉ジストロフィ (APECED)、気管支炎、胆嚢炎、接触皮膚炎、クローン病、アトピー性皮膚炎、皮膚筋炎、糖尿病、肺気腫、リンパ球毒素性一時性リンパ球減少症、赤芽球症、結節性紅斑、萎縮性胃炎、糸球体腎炎、グッドパスチャー症候群、痛風、グレーブス病、橋本甲状腺炎、過好酸球増加症、過敏性大腸症候群、多発性硬化症、重症筋無力症、心筋または心膜炎、骨関節炎、骨粗しょう症、腓炎、乾癬、ライター症候群、リウマチ様関節炎、強皮症、シェーグレン症候群、全身性アナフィラキシー、全身性エリテマトーデス、全身性硬化症、原発性血小板血症、血小板減少症、潰瘍性大腸炎、ウェルナー症候群、癌合併症、血液透析、体外循環、ウイルス感染症、細菌感染症、真菌感染症、寄生虫感染症、原虫感染症、蠕虫感染症、外傷が含まれ、ウイルス性疾患の中には、例えば、アデノウイルス (急性呼吸器疾患

、肺炎)、アレナウイルス(リンパ球性脈絡髄膜炎)、ブンヤウイルス(ハンタウイルス)、コロナウイルス(肺炎、慢性気管支炎)、ヘパドナウイルス(肝炎)、ヘルペスウイルス(単純疱疹ウイルス、水痘 帯状疱疹ウイルス、EBウイルス、サイトメガロウイルス)、フラビウイルス(黄熱)、オルソミクソウイルス(インフルエンザ)、パピローマウイルス(癌)、パラミキソウイルス(麻疹、流行性耳下腺炎)、ピコルナウイルス(ライノウイルス、ポリオウイルス、コクサッキーウイルス)、ポリオーマウイルス(BKウイルス、JCウイルス)、ポックスウイルス(痘瘡)、レオウイルス(コロラドダニ熱)、レトロウイルス(ヒト免疫不全ウイルス、ヒトTリンパ球好性ウイルス)、ラブドウイルス(狂犬病)、ロタウイルス(胃腸炎)、トガウイルス(脳炎、風疹)によって引き起こされるウイルス感染などが含まれる。

#### 【0150】

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

#### 【0151】

更に別の実施例では、限定するものではないが上に列記した疾患を含むORPの発現または活性の低下に関連した疾患の治療または予防のために、実質的に精製されたORPを含む組成物を好適な医薬用担体と共に患者に投与することも可能である。

#### 【0152】

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

#### 【0153】

更なる実施例では、ORPの発現または活性の増大に関連した疾患の治療または予防のために、患者にORPのアンタゴニストを投与することが可能である。限定するものではないが、このような疾患の例には、上記した癌を含む細胞増殖異常、内分泌障害、代謝異常、生殖障害、神経の疾患、ウイルス感染症、および自己

免疫 / 炎症性の疾患が含まれる。一実施態様では、ORPと特異的に結合する抗体が直接アンタゴニストとして、或いはORPを発現する細胞または組織に薬剤を運ぶターゲティング或いは運搬機構として間接的に用いられ得る。

#### 【0154】

別の実施例では、限定するものではないが上に列記した疾患を含むORPの発現または活性の増大に関連した疾患の治療または予防のために、ORPをコードするポリヌクレオチドの相補配列を発現するベクターを患者に投与することも可能である。

#### 【0155】

別の実施例では、本発明の任意のタンパク質、アンタゴニスト、抗体、アゴニスト、相補的な配列、ベクターを別の好適な治療薬と組み合わせて投与することもできる。当業者は、従来の医薬原理にしたがって併用療法で用いる好適な治療薬を選択可能である。治療薬との組み合わせにより、上に列記した種々の疾患の治療または予防に相乗効果をもたらし得る。この方法を用いて少ない量の各薬剤で医薬効果をあげることが可能であり、広範囲な副作用の可能性を低減し得る。

#### 【0156】

ORPのアンタゴニストは、当分野で一般的な方法を用いて製造することが可能である。詳しくは、精製されたORPを用いて抗体を作ったり、治療薬のライブラリをスクリーニングしてORPと特異的に結合するものを同定が可能である。ORPの抗体も、当分野で一般的な方法を用いて製造することが可能である。このような抗体には、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、キメラ抗体、一本鎖、Fabフラグメント、及びFab発現ライブラリによって作られたフラグメントが含まれる。但し、これらに限定されるものではない。治療用には、中和抗体（即ち、二量体の形成を阻害するもの）が特に好ましい。

#### 【0157】

抗体の産生のためには、ヤギ、ウサギ、ラット、マウス、ヒト及びその他のものを含む種々の宿主が、ORPまたは任意の断片、または免疫原性の特性を備えるそのオリゴペプチドの注入によって免疫化され得る。宿主の種に応じて、種々のアジュバントを用いて免疫応答を高めることもできる。このようなアジュバント

にはフロイントアジュバント、水酸化アルミニウムなどのミネラルゲルアジュバント、リゾレシチン、プルロニックポリオール、ポリアニオン、ペプチド、油性乳剤、キーホールリンペットヘモシニアン、及びジニトロフェノールなどの界面活性剤が含まれるが、これらに限定されるものではない。ヒトに用いられるアジュバントの中では、BCG (bacilli Calmette-Guerin) 及びCorynebacterium parvum が特に好ましい。

#### 【0158】

ORPに対する抗体を誘発するために用いられるオリゴペプチド、ペプチド、または断片は、少なくとも約5個のアミノ酸からなり、一般的には約10個以上のアミノ酸からなるものが好ましい。これらのオリゴペプチド或いはペプチド、またはそれらの断片は、天然のタンパク質のアミノ酸配列の一部と同一であることが望ましい。ORPアミノ酸の短いストレッチは、KLHなどの別のタンパク質の配列と融合し、キメラ分子に対する抗体が産生され得る。

#### 【0159】

ORPに対するモノクローナル抗体は、培地内の連続した細胞株によって、抗体分子を生産する任意の技術を用いて作製することが可能である。これらの技術には、ハイブリドーマ技術、ヒトB細胞ハイブリドーマ技術、及びEBV-ハイブリドーマ技術が含まれるが、これらに限定されるものではない(例えば、Kohler, G. 等. (1975) Nature 256:495-497; Kozbor, D. 等. (1985) J. Immunol. Methods 81-8-42; Cote, R.J. 等. (1983) Proc. Natl. Acad. Sci. 80:2026-2030; Cole, S.P. 等. (1984) Mol. Cell Biol. 62:109-120を参照)。

#### 【0160】

更に、「キメラ抗体」作製のために発達したヒト抗体遺伝子にマウス抗体遺伝子をスプライシングするなどの技術が、好適な抗原特異性及び生物学的活性を備える分子を得るために用いられる(例えば、Morrison, S.L.他. (1984) Proc. Natl. Acad. Sci. 81-4851-4855; Neuberger, M.S.他. (1984) Nature 312:604-608; Takeda, S.等. (1985) Nature 314:452,454を参照)。別法では、当分野で周知の方法を用いて、一本鎖抗体の生産のための記載された技術を適用して、ORP特異性一本鎖抗体を生成する。関連する特異性を備えるが別のイディオタイ

プの組成の抗体は、ランダムな組み合わせの免疫グロブリンライブラリから鎖混合によって生成することもできる（例えば、Burton D.R. (1991) Proc. Natl. Acad. Sci. 88:11120-3を参照）。

#### 【0161】

抗体は、リンパ球集団の中の *in vivo*での産生を誘発することによって、または免疫グロブリンライブラリのスクリーニングまたは文献に示されているような、高度に特異的な結合試薬のパネルをスクリーニングすることによって、産生することもできる（例えば、Orlandi, R. 他. (1989) Proc. Natl. Acad. Sci. 86: 3833-3837; Winter, G. 他. (1991) Nature 349:293-299を参照）。

#### 【0162】

ORPに対する特異的な結合部位を含む抗体も産生することができる。例えば、このような断片には、抗体分子のペプシン消化によって生成されるF(ab')に断片と、F(ab')に断片のジスルフィド架橋を減じることによって生成されるFab断片が含まれるが、これらに限定されるものではない。別法では、Fab発現ライブラリを作製することによって、所望の特異性とモノクローナルFab断片の迅速且つ容易な同定が可能となる（例えば、Huse, W.D. 等. (1989) Science 254:1275-1281を参照）。

#### 【0163】

種々のイムノアッセイを用いてスクリーニングし、所望の特異性を有する抗体を同定する。隔離された特異性を有するポリクローナル抗体またはモノクローナル抗体の何れかを用いる競合的な結合、または免疫放射線活性のための数々のプロトコルが、当分野では周知である。通常このようなイムノアッセイには、ORPとその特異性抗体との間の複合体調整の計測が含まれる。二つの非干渉性ORPエピトープに対して反応性のモノクローナル抗体を用いる、2部位モノクローナルベースのイムノアッセイが一般に利用されるが、競合的結合アッセイも利用することができる(Pound、前出)。

#### 【0164】

ラジオイムノアッセイ技術と共にScatchard分析などの様々な方法を用いて、ORPに対する抗体の親和性を評価する。親和性を結合定数 $K_a$ で表すが、この $K_a$ は、

平衡状態の下でORP抗体複合体のモル濃度を遊離抗体と遊離抗原のモル濃度で除して得られる値である。多数のORPエピトープに対して親和性が不均一なポリクローナル抗体医薬の $K_a$ は、ORPに対する抗体の平均親和性または結合活性を表す。特定のORPエピトープに単一特異的なモノクローナル抗体医薬の $K_a$ は、親和性の真の測定値を表す。 $K_a$ 値が $10^9 \sim 10^{12} \text{ L/mol}$ の高親和性抗体医薬は、ORP抗体複合体が激しい操作に耐えなければならないイムノアッセイに用いるのが好ましい。 $K_a$ 値が $10^6 \sim 10^7 \text{ L/mol}$ の低親和性抗体医薬は、ORPが抗体から最終的に活性化状態で解離する必要がある免疫精製 (immunopurification) 及び類似の処理に用いるのが好ましい。(Catty, D. (1988) *Antibodies, Volume I: A Practical Approach*. IRL Press, Washington, DC; Liddell, J. E. and Cryer, A. (1991) *A Practical Guide to Monoclonal Antibodies*, John Wiley & Sons, New York NY)。

#### 【0165】

ある下流での適用におけるこのような医薬品の品質及び適性を調べるために、ポリクローナル抗体医薬の抗体価及び結合活性を更に評価する。例えば、少なくとも $1 \sim 2 \text{ mg/ml}$ の特異的な抗体、好ましくは $5 \sim 10 \text{ mg/ml}$ の特異的な抗体を含むポリクローナル抗体医薬は一般に、ORP抗体複合体を沈殿させなければならない処理に用いられる。様々な適用例における抗体の特異性及び抗体価、結合活性、抗体の品質や使用法の指針は一般に入手可能である。(例えば、Catty, 前出, 及びColigan 他、前出を参照)。

#### 【0166】

本発明の別の実施例では、ORPをコードするポリヌクレオチド、またはその任意の断片や相補配列が、治療目的で使用することができる。ある実施態様では、ORPをコードする遺伝子のコーディング領域や調節領域に相補的な配列やアンチセンス分子 (DNA及びRNA、修飾ヌクレオチド) を設計して遺伝子発現を変更することができる。このような技術は当分野では周知であり、センスまたはアンチセンスオリゴヌクレオチドまたは大きな断片が、ORPをコードする配列の制御領域から、またはコード領域に沿ったさまざまな位置から設計可能である。

#### 【0167】

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

#### 【0168】

本発明の別の実施例では、ORPをコードするポリヌクレオチドを、体細胞若しくは生殖細胞の遺伝子治療に用いることが可能である。遺伝子治療は、(i) 遺伝子欠損症（例えば、X染色体連鎖遺伝（Cavazzana-Calvo, M. 他 (2000) *Science* 288:669-672）によって特徴づけられる重度の複合型免疫欠損（SCID）-X1）、遺伝性アデノシン - デアミナーゼ（ADA）欠損症（Blaese, R.M. 他 (1995) *Science* 270:475-480; Bordignon, C. 他 (1995) *Science* 270:470-475）に関連する重度の複合型免疫欠損、嚢胞性繊維症（Zabner, J. 他 (1993) *Cell* 75:207-216; Crystal, R.G. 他 (1995) *Hum. Gene Therapy* 6:643-666; Crystal, R.G. 他 (1995) *Hum. Gene Therapy* 6:667-703）、サラセミア（thalassamia）、家族性高コレステロール血症、第VIII因子若しくは第IX因子欠損による血友病（Crystal, R.G. (1995) *Science* 270:404-410; Verma, I.M. and Somia, N. (1997) *Nature* 389:239-242）を治療したり、(ii) 条件的致死性遺伝子産物（例えば、細胞増殖の制御不能による癌の場合）を発現させたり、及び(iii) 細胞内の寄生虫（例えば、ヒト免疫不全ウイルス（HIV）（Baltimore, D. (1988) *Natu*

re 335:395-396; Poeschla, E. 他 (1996) Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 93:11395-11399) や、B型若しくはC型肝炎ウイルス (HBV、HCV)、*Candida albicans* 及び *Paracoccidioides brasiliensis* 等の真菌寄生虫、*Plasmodium falciparum* 及び *Trypanosoma cruzi* 等の原虫寄生体) に対する防御機能を有するタンパク質を発現させて行うことができる。ORPの発現若しくは調節に必要な遺伝子の欠損が疾患を引き起こす場合、導入した細胞の好適な集団からORPを発現させて、遺伝子欠損によって起こる症状の発現を緩和することが可能である。

#### 【0169】

本発明の更なる実施例では、ORPの欠損による疾患や異常症は、ORPをコードする哺乳動物発現ベクターを作製して、これらのベクターを機械的手段によってORP欠損細胞に導入することによって治療する。*in vivo* 或いは *ex vitro* の細胞に用いる機械的な導入技術には、(i) 個々の細胞内へのDNAのマイクロインジェクション、(ii) 金粒子の打ち込み、(iii) リポソーム仲介性トランスフェクション、(iv) 受容体仲介性遺伝子導入、及び(v) DNAトランスポゾン (Morgan, R. A. and W.F. Anderson (1993) Annu. Rev. Biochem. 62:191-217; Ivics, Z. (1997) Cell 91:501-510; Boulay, J-L. and H. Recipon (1998) Curr. Opin. Biotechnol. 9:445-450) の使用が含まれる。

#### 【0170】

ORPの発現に影響を及ぼし得る発現ベクターには、限定するものではないが、PCDNA 3.1、EPITAG、PRCCMV2、PREP、PVAXベクター (Invitrogen, Carlsbad CA)、PCMV-SCRIPT、PCMV-TAG、PEGSH / PERV (Stratagene, La Jolla CA)、PTET-OFF、PTET-ON、PTRE2、PTRE2-LUC、PTK-HYG (Clontech, Palo Alto CA) が含まれる。ORPを発現させるために、(i) 恒常的に活性化プロモーター (例えば、サイトメガロウイルス (CMV)、ラウス肉腫ウイルス (RSV)、SV40ウイルス、チミジンキナーゼ (TK)、若しくは - アクチン遺伝子等)、(ii) 誘導性プロモーター (例えば、市販されているT-REXプラスミド (Invitrogen) に含まれている、テトラサイクリン調節性プロモーター (Gossen, M. and H. Bujard (1992) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 89:5547-5551; Gossen, M. 他 (1995) Science 268:1766-1769; Rossi, F.M.V. and H.M. Blau (1998) Curr. Opin. Biotechnol. 9:451-4

56) )、エクジソン誘導性プロモーター（市販されているプラスミドPVGRXR及びPINDに含まれている：Invitrogen）、FK506 / ラパマイシン誘導性プロモーター、またはRU486 / ミフェプリストーン誘導性プロモーター（Rossi, F.M.V. and H.M. Blau, 前出）、または (iii) 正常な個体に由来するORPをコードする内在性遺伝子の天然のプロモーター若しくは組織特異的プロモーターを用いることが可能である。

#### 【0171】

市販のリポソーム形質転換キット（例えば、Invitrogenが販売しているPERFECT LIPID及びTRANSFECTION KIT）を用いれば、当業者は経験にそれほど頼らないでもポリヌクレオチドを培養中の標的細胞に導入することが可能である。別法では、リン酸カルシウム法（Graham, F.L. and A.J. Eb (1973) *Virology* 52:456-467）若しくは電気穿孔法（Neumann, B. 他 (1982) *EMBO J.* 1:841-845）を用いて形質転換を行う。初代細胞にDNAを導入するためには、これらの標準的な哺乳動物トランスフェクションプロトコルを変更する必要がある。

#### 【0172】

本発明の別の実施例では、ORPの発現に関連する遺伝子欠損によって起こる疾患や異常症は、(i) レトロウイルス末端反復配列（LTR）プロモーター若しくは独立したプロモーターのコントロール下でORPをコードするポリヌクレオチドと、(ii) 好適なRNAパッケージングシグナルと、(iii) 追加のレトロウイルス・シス作用性RNA配列及び効率的なベクターの増殖に必要なコーディング配列を伴うRev応答性エレメント（RRE）とからなるレトロウイルスベクターを作製して治療することができる。レトロウイルスベクター（例えば、PFB及びPFBNE0）はStratagene社から入手可能であり、公表データ（Riviere, I. 他. (1995) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 92:6733-6737）に基づいている。上記データを引用することをもって本明細書の一部とする。このベクターは、VSVg（Armentano, D. 他 (1987) *J. Virol.* 61:1647-1650; Bender, M.A. 他 (1987) *J. Virol.* 61:1639-1646; Adam, M.A. and A.D. Miller (1988) *J. Virol.* 62:3802-3806; Dull, T. 他 (1998) *J. Virol.* 72:8463-8471; Zufferey, R. 他 (1998) *J. Virol.* 72:9873-9880）等の乱交雑エンベロープタンパク質若しくは標的細胞上の受容体に

対する親和性を有するエンベロープ遺伝子を発現する好適なベクター生成細胞系 (VPCL) において増殖される。RIGGに付与された米国特許第5,910,434号 (「Method for obtaining retrovirus packaging cell lines producing high transducing efficiency retroviral supernatant」) において、レトロウイルスパッケージング細胞系を得るための方法が開示されており、引用することをもって本明細書の一部とする。レトロウイルスベクターの増殖、ある細胞集団 (例えば、CD4<sup>+</sup>T細胞) の形質導入、並びに形質導入した細胞を患者に戻す方法は、遺伝子治療の分野では周知であり、多数の文献に記載されている (Ranga, U. 他. (1997) J. Virol. 71:7020-7029; Bauer, G. 他 (1997) Blood 89:2259-2267; Bonyhadi, M.L. (1997) J. Virol. 71:4707-4716; Ranga, U. 他 (1998) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 95:1201-1206; Su, L. (1997) Blood 89:2283-2290)。

#### 【0173】

別法では、アデノウイルス系遺伝子治療の送達系を用いて、ORPの発現に関連する1或いは複数の遺伝子異常を有する細胞にORPをコードするポリヌクレオチドを送達する。アデノウイルス系ベクターの作製及びパッケージングは当分野では周知である。複製欠損型アデノウイルスベクターは、免疫調節タンパク質をコードする遺伝子を脾臓の無損傷の脾島の中に導入するために可変性であることが証明された (Csete, M.E. 他. (1995) Transplantation 27:263-268)。使用できる可能性のあるアデノウイルスベクターが、米国特許第5,707,618号 (「Adenovirus vectors for gene therapy」) に記載されており、引用することをもって本明細書の一部とする。アデノウイルスベクターについてはまた、Antinozzi, P.A. 他 (1999) Annu. Rev. Nutr. 19:511-544; and Verma, I.M. and N. Somia (1997) Nature 18:389:239-242を参照し、引用することをもって本明細書の一部とする。

#### 【0174】

別法では、ヘルペス系遺伝子治療の送達系を用いて、ORPの発現に関連する1或いは複数の遺伝子異常を有する標的細胞にORPをコードするポリヌクレオチドを送達する。単純疱疹ウイルス (HSV) 系のベクターは、HSV親和性の中枢神経細胞にORPを導入する際に特に重要である。ヘルペス系ベクターの作製及びパッケ

ージングは当分野では周知である。複製適格性の単純疱疹ウイルス (HSV) I型系のベクターは、霊長類の眼にレポーター遺伝子を送達するために用いられてきた (Liu, X. 他 (1999) *Exp. Eye Res.* 169:385-395)。HSV-1ウイルスベクターの作製は、DeLucaに付与された米国特許第5,804,413号 (Herpes simplex virus swains for gene transfer) に記載されており、引用することをもって本明細書の一部とする。米国特許第5,804,413号には、ヒト遺伝子治療を含む目的のために、好適なプロモーターのコントロールの下で、細胞に導入される少なくとも1つの内在性遺伝子を含むゲノムからなる組換えHSV d92についての記載がある。また上記特許には、ICP4、ICP27及びICP22のために除去される組換えHSV株の作製及び使用方法が開示されている。HSVベクターについては、Goins, W.F. 他 (1999) *J. Virol.* 73:519-532 and Xu, H. 他 (1994) *Dev. Biol.* 163:152-161を参照し、引用することをもって本明細書の一部とする。クローニングされたヘルペスウイルス配列の操作や、巨大ヘルペスウイルスのゲノムの異なった部分を含む多数のプラスミドをトランスフェクトした後の組換えウイルスの継代、ヘルペスウイルスの成長及び増殖、並びにヘルペスウイルスの細胞への感染は当分野で周知の技術である。

#### 【0175】

別法では、ウイルス (正の一本鎖RNAウイルス) ベクターを用いてORPをコードするポリヌクレオチドを標的細胞に送達する。プロトタイプのウイルスであるセムリキ森林熱ウイルス (Semliki Forest Virus, SFV) の生物学的な研究が広範に行われ、遺伝子伝達ベクター (gene transfer vector) がSFVゲノムに基づいていることが分かった (Garoff, H. and K.-J. Li (1998) *Cun. Opin. Biotech.* 9:464-469)。ウイルスRNAの複製中に、通常はウイルスカプシドタンパク質をコードするサブゲノムRNAが作り出される。このサブゲノムRNAが完全長のゲノムRNAより高いレベルで複製されるため、酵素活性 (例えばプロテアーゼ及びポリメラーゼ) を有するウイルスタンパク質に対してカプシドタンパク質が過剰に産生される。同様に、ORPをコードする配列をウイルスゲノムのカプシドをコードする領域に導入することによって、ベクター導入細胞において多数のORPをコードするRNAが産生され、高いレベルでORPが合成される。通常はウイル

ス感染は2～3日以内の細胞溶解に関係するが、シンドビスウイルス(SIN)の変異体を有するハムスターの正常な腎細胞(BHK-21)の持続的な感染を確立する能力は、ウイルスの溶解性の複製が遺伝子治療に適用できるように好適に変更することが可能であることを示唆している(Dryga, S.A. 他. (1997) *Virology* 228 :74-83)。様々な宿主にウイルスを導入できることから、様々なタイプの細胞にORPを導入することができる。ある集団における細胞のサブセットの特定の形質導入には、形質導入する前に細胞のソーティングを必要とする場合がある。

ウイルスの感染性cDNAクローンの操作、ウイルスcDNA及びRNAのトランスフェクション、並びにウイルスの感染方法は当分野で周知である。

#### 【0176】

例えば開始部位から約 - 10 から約 + 10 までの転写開始部位に由来するオリゴヌクレオチドを用いて、遺伝子の発現を阻害することが可能である。同様に、三重らせん塩基対合法を用いて阻害することができる。三重らせん構造は、二重らせんがポリメラーゼ、転写因子、または調節分子の結合のために十分に広がるのを阻止するため有用である。三重式DNAを用いる最近の治療の進歩は文献に記載されている(例えば、Gee, J.E. 等. (1994) In: Huber, B.E. 及び B.I. Carr, Molecular and Immunological Approaches, Futura Publishing Co., Mt. Kisco, NYを参照)。相補的な配列またはアンチセンス分子もまた、転写物がリボソームに結合するのを阻止することによってmRNAの翻訳を阻止するように設計できる。

#### 【0177】

酵素性RNA分子であるリボザイムは、RNAの特異的切断を触媒するために用いることができる。リボザイム作用の機構には、相補的な標的RNAへのリボザイム分子の配列特異性ハイブリダイゼーションが含まれ、ヌクレオチド鎖切断が続く。例えば、ORPをコードする配列のヌクレオチド鎖切断を、特異的且つ効果的に触媒する組換え型のハンマーヘッド型リボザイム分子が含まれる。

#### 【0178】

任意の潜在的RNA標的内の特異的なリボザイム切断部位が、後続の配列GUA、GUU、及びGUCを含むリボザイム切断部位に対して、標的分子をスキャニ

ングすることによって初めに同定される。一度同定されると、切断部位を含む標的遺伝子の領域に対応する15個から20個のリボヌクレオチドの短いRNA配列を、オリゴヌクレオチドの機能を不全にする二次的な構造の特徴について評価することが可能である。候補標的の適合性も、リボヌクレアーゼ保護アッセイを用いて、相補的なオリゴヌクレオチドとのハイブリダイゼーションの容易性をテストすることによって評価することが可能である。

#### 【0179】

本発明の相補的なリボ核酸分子及びリボザイムは、当分野で周知の方法を用いて、核酸分子の合成のために作製することができる。これらの方法には、固相ホスホラミダイト化合物などのオリゴヌクレオチドを化学的に合成する方法が含まれる。別法では、RNA分子がin vitro及びin vivoでORPをコードするDNA配列の転写によって生成され得る、このようなDNA配列はT7またはSP6等の好適なRNAポリメラーゼプロモータを用いて、種々のベクターの中に組み入れることが可能である。別法では、相補的なRNAを構成的または誘導的に合成するこれらのcDNA作製物は、細胞株、細胞、または組織の中に導入することができる。

#### 【0180】

RNA分子を修飾することによって、細胞内の安定性を高め、半減期を長くすることができる。可能な修飾には、分子の5'及び/または3'端部でのフランキング配列の追加、または分子のバックボーン内のホスホジエステル結合の代わりにホスホロチオネートまたは2' Oメチルを用いる修飾が含まれるが、これらに限定されるものではない。PNAの生成に固有のこの概念は、内在性のエンドヌクレアーゼによって容易には認識されないアデニン、シチジン、グアニン、チミン、及びウリジンのアセチル -、メチル -、チオ -、及び同様の修飾形態だけでなく、イノシン、キューエオシン (queosine)、及びワイプトシン (wybutosine) などの従来のものでない塩基を含めることによって、これらの分子の全体に拡大することができる。

#### 【0181】

本発明の更なる実施例は、ORPをコードするポリヌクレオチドの発現の変化に有効な化合物をスクリーニングする方法を含む。特定のポリヌクレオチドの発現

の変化に有効な化合物には、限定するものではないが、特定のポリヌクレオチド配列と相互作用可能な非高分子化学物質、オリゴヌクレオチド、アンチセンスオリゴヌクレオチド、三重らせん形成オリゴヌクレオチド、転写因子やその他のポリペプチド転写調節因子が含まれる。有効な化合物は、ポリヌクレオチド発現のインヒビター或いはエンハンサーとして作用し、ポリヌクレオチドの発現を変化させ得る。従って、ORPの発現または活性の増加に関連する疾患の治療においては、ORPをコードするポリヌクレオチドの発現を特異的に阻害する化合物が治療上有用であり、ORPの発現または活性の低下に関連する疾患の治療においては、ORPをコードするポリヌクレオチドの発現を特異的に促進する化合物が治療上有用であり得る。

#### 【0182】

特定のポリヌクレオチドの発現の変化の有効性を調べるために、少なくとも1個から複数個の試験化合物をスクリーニングすることができる。試験化合物は、有効な化合物の化学修飾を含む当分野で周知の任意の方法で得ることができる。このような方法は、ポリヌクレオチドの発現を変化させる場合、一般に市販されている或いは専売の天然または非天然の化合物ライブラリから選択する場合、標的ポリヌクレオチドの化学的及び/または構造的特性に基づいて化合物を合理的にデザインする場合、更に組合せ的にまたは無作為に生成した化合物のライブラリから選択する場合に有効である。ORPをコードするポリヌクレオチドを含むサンプルは、少なくとも1つの試験化合物に曝露して得る。サンプルには、例えば無傷細胞、透過化処理した細胞、*in vitro*細胞遊離系または再構成生化学系が含まれ得る。ORPをコードするポリヌクレオチドの発現における変化は、当分野で周知の任意の方法でアッセイする。通常、ORPをコードするポリヌクレオチドの配列に相補的なヌクレオチド配列を有するプローブを用いたハイブリダイゼーションにより、特定のヌクレオチドの発現を検出する。ハイブリダイゼーションの収量を定量し、その値が1或いは複数の試験化合物に曝露される及び曝露されないポリヌクレオチドの発現の比較における基準となり得る。試験化合物に曝露されるポリヌクレオチドの発現の変化が検出される場合は、ポリヌクレオチドの発現の変化に試験化合物が有効であることを示している。特定のポリヌクレオチド

の発現の変化に有効な化合物を調べるために、例えばSchizosaccharomyces pombe遺伝子発現系 (Atkins, D. 他 (1999) 米国特許第5,932,435号、Arndt, G.M. 他 (2000) Nucleic Acids Res. 28:E15) またはHeLa細胞等のヒト細胞株 (Clarke, M.L. 他 (2000) Biochem. Biophys. Res. Commun. 268:8-13) を用いてスクリーニングする。本発明の特定の実施例は、特異的ポリヌクレオチド配列に対するアンチセンス活性を調べるための、各オリゴヌクレオチド (デオキシリボヌクレオチド、リボヌクレオチド、ペプチド核酸、及び修飾オリゴヌクレオチド) の組み合わせライブラリのスクリーニングを含む (Bruice, T.W. 他 (1997) 米国特許第5,686,242号、Bruice, T.W. 他 (2000) 米国特許第6,022,691号)。

#### 【0183】

ベクターを細胞または組織に導入する多数の方法が利用でき、in vivo、in vitro、及びex vivoでの使用に等しく適している。ex vivoでの治療の場合、患者から採取された肝細胞の中にベクターを導入して、自家移植で同じ患者に戻すためにクローニング増殖される。トランスフェクション、リボソーム注入またはポリカチオンアミノポリマーによる運搬は、当分野で周知の方法を用いて実行することができる (例えば、Goldman, C.K. 他. (1997) Nature Biotechnology 15:462-66:を参照)。

#### 【0184】

上記したいかなる治療方法も、例えば、ヒト、イヌ、ネコ、ウシ、ウマ、ウサギ及びサルなどの哺乳動物を含む、治療が必要な全ての被験者に適用できる。

#### 【0185】

本発明の別の実施例は、上記した全ての治療効果のために、医学上認められる担体と共に医薬品或いは無菌組成物の投与に関連する。このような組成物は、ORP、ORPの抗体、擬態、アゴニスト、アンタゴニスト、またはORPのインヒビターなどからなる。この組成物は、単体で、或いは安定剤などの1種類以上の別の薬剤と共に、無菌の生体適合性医薬品担体に投与することができる。このような医薬品担体には、生理食塩水、緩衝食塩水、ブドウ糖、及び水などが含まれるがこれらに限定されるものではない。この組成物は、単独或いは薬物またはホルモンなどの別の薬剤と共に投与することができる。

## 【0186】

本発明に用いられる組成物は、様々な経路を用いて投与するが可能である。この経路には、経口、静脈内、筋肉内、動脈内、骨髄内、クモ膜下、心室内、経皮、皮下、腹腔内、鼻腔内、腸内、局所、舌下、または直腸が含まれるがこれらに限定されるものではない。

## 【0187】

肺投与用の組成物は、液状または乾燥粉末状に調製することができる。このような組成物は通常、患者が吸入する直前にエアロゾル化する。小分子（例えば、従来の低分子量有機薬剤）の場合には、速効製剤のエアロゾル輸送が当分野で周知である。高分子（例えばより大きなペプチドやタンパク質）の場合には、肺の肺胞領域を介する肺輸送の技術が近年向上したため、インスリン等の薬剤を実際に血中に輸送することが可能となった（Patton, J.S. 他, 米国特許第5,997,848号等を参照）。肺輸送は、針注射を用いないで投与できるという点で優れており、潜在的に有毒な浸透エンハンサーが必要でなくなる。

## 【0188】

本発明に用いる好適な組成物には、目的を達成するため、効果的な量の活性処方成分を含む組成物が含まれる。当業者は、十分に自身の能力で効果的な服用量を定めることができる。

## 【0189】

組成物の特殊な形状は、ORPまたはその断片を含む高分子を直接細胞内に輸送するべく調製される。例えば、細胞不透過性高分子を含むリポソーム製剤は、細胞融合及び高分子の細胞内輸送を促進し得る。別法では、ORPまたはその断片をHIV Tat-1タンパク質の陽イオンN末端部に結合することもできる。このようにして作製された融合タンパク質は、マウスモデル系の脳を含む全ての組織の細胞に形質導入されることが確認されている（Schwarze, S.R. 他（1999）Science 285:1569-1572）。

## 【0190】

どのような組成物であっても、治療に効果的な薬用量は、初めは、例えば腫瘍細胞の腫瘍細胞アッセイで、或いは動物モデルのどちらかで推定することができ

る。通常、動物モデルには、マウス、ウサギ、イヌ、サル、またはブタなどが用いられる。動物モデルはまた、好適な濃縮範囲及び投与の経路を決めるのに用いることができる。このような治療をもとに、ヒトへの有益な薬用量及び投与経路を決定することができる。

#### 【0191】

医学的に効果的な薬用量は、症状や容態を回復させる、たとえばORPまたはその断片、ORPの抗体、ORPのアゴニストまたはアンタゴニスト、インヒビターなどの活性処方成分の量に関連する。薬用有効度及び毒性は、たとえば、 $ED_{50}$ （服用に対して集団の50%に医薬的效果がある用量）または $LD_{50}$ （服用に対して集団の50%に致命的である用量）統計を計算するなど、細胞培養または動物実験における標準的な薬剤手法によって決定することができる。毒性効果と治療効果との薬用量比は治療指数であり、 $LD_{50} / ED_{50}$ と示すことができる。高い治療指数を示す組成物が望ましい。細胞培養アッセイ及び動物実験から得られたデータが、ヒトへの適用のために、薬用量の範囲を調剤するのに用いられる。このような組成物が含まれる薬用量は、毒性を殆ど或いは全く含まず、 $ED_{50}$ を含む血中濃度の範囲であることが望ましい。薬用量は、用いられる投与形態及び患者の感受性、投与の経路によって、この範囲内で様々である。

#### 【0192】

正確な薬用量は、治療が必要な患者に関する要素を考慮して、実務者によって決められるであろう。薬用量及び投与は、効果的なレベルの活性成分を与えるため或いは所望の効果を維持するために調節される。薬用量の要素として考慮されるものには、疾患の重症度、患者の一般的な健康状態、年齢、体重、及び患者の性別、投与の時間及び頻度、併用する薬剤、反応感受性、及び治療に対する応答が含まれる。作用期間が長い組成物は、三日か四日に一度、一週間に一度、二週間に一度、特定の製剤の半減期及びクリアランス率によって左右され、投与され得る。

#### 【0193】

通常の薬用量は投与の経路によって異なるが、約0.1~100,000  $\mu\text{g}$ までの最大約1グラムまでである。特定の薬用量及び運搬の方法に関するガイダンスは文献

に記載されており、一般に当分野の実務者はそれを利用することができる。当業者は、タンパク質またはインヒビターとは異なったヌクレオチドの製剤を利用するであろう。同様に、ポリヌクレオチドまたはポリペプチドの運搬は、特定の細胞、状態、位置などに対して特異的であろう。

#### 【0194】

##### (診断)

別の実施例では、ORPに特異的に結合する抗体が、ORPの発現によって特徴付けられる疾患の診断、またはORPやORPのアゴニストまたはアンタゴニスト、インヒビターで治療を受けている患者をモニターするためのアッセイに用いられる。診断に有用な抗体は、治療のところで記載した方法と同じ方法で製剤される。ORPの診断アッセイには、抗体及び標識を用いてヒトの体液或いは細胞や組織から採取されたものからORPを検出する方法が含まれる。これらの抗体は、修飾をして或いはしないで使用され、レポーター分子の共有結合性或いは非共有結合性の接着によって標識化され得る。当分野で周知の種々のレポーター分子が用いられるが、その内の幾つかは上記した。

#### 【0195】

ORPを測定するためのELISA, RIA, 及びFACSを含む種々のプロトコルは、当分野では周知であり、変わった或いは異常なレベルのORPの発現を診断する元となるものを提供する。正常或いは標準的なORPの発現の値は、複合体の形成に適した条件の下、正常な哺乳動物、例えばヒトなどの被験者から採取した体液または細胞とORPに対する抗体とを結合させることによって決定する。標準的な複合体形成の量は、測光法 (photometric) などの種々の方法で定量され得る。被験者のORPの発現の量、制御及び疾患、生検組織からのサンプルが基準値と比較される。基準値と被験者との間の偏差が、診断の指標となる。

#### 【0196】

別の実施例によれば、ORPをコードするポリヌクレオチドを診断のために用いることもできる。用いられるポリヌクレオチドには、オリゴヌクレオチド配列、相補的なRNA及びDNA分子、及びPNAが含まれる。このポリヌクレオチドを用いて、疾患と相関し得るORPを発現する生検組織における遺伝子の発現を検出し定量

する。この診断アッセイを用いて、ORPの存在の有無、更に過剰な発現を調べ、治療中のORP値の調節を監視する。

【0197】

ある実施形態では、ORPまたは近縁の分子をコードする遺伝子配列を含むポリヌクレオチド配列を検出可能なPCRプローブを用いたハイブリダイゼーションによって、ORPをコードする核酸配列を同定することが可能である。例えば5'調節領域である高度に特異的な領域か、例えば保存されたモチーフであるやや特異性の低い領域から作られているかのプローブの特異性と、ハイブリダイゼーション或いは増幅のストリンジェントは、プローブがORPをコードする自然界の配列のみを同定するかどうか、或いはアレルや関連配列をコードする自然界の配列のみを同定するかどうかによって決まるであろう。

【0198】

プローブはまた、関連する配列の検出に利用され、ORPをコードする任意の配列と少なくとも50%の配列同一性を有し得る。目的の本発明のハイブリダイゼーションプローブには、DNAあるいはRNAが可能であり、SEQ ID NO:28-54の配列、或いはORP遺伝子のプロモーター、エンハンサー、イントロンを含むゲノム配列に由来し得る。

【0199】

ORPをコードするDNAに対して特異的なハイブリダイゼーションプローブの作製方法には、ORP及びORP誘導体をコードするポリヌクレオチド配列をmRNAプローブの作製のためのベクターにクローニングする方法がある。このようなベクターは市販されており、当業者には周知であり、好適なRNAポリメラーゼ及び好適な標識されたヌクレオチドを加えることによって、*in vitro*でRNAプローブを合成するために用いられる。ハイブリダイゼーションプローブは、例えば<sup>32</sup>P或いは<sup>35</sup>Sなどの放射性核種、或いはアビジン/ビオチン (biotin) 結合系によってプローブに結合されたアルカリホスファターゼなどの酵素標識等の種々のレポーターの集団によって標識され得る。

【0200】

ORPをコードするポリヌクレオチド配列を用いて、ORPの発現に関連する疾患を

診断することが可能である。限定するものではないが、このような疾患には癌を含む細胞細胞増殖異常、内分泌障害、代謝異常、生殖障害、神経の疾患、ウイルス感染症、および自己免疫/炎症性の疾患が含まれ、細胞増殖異常の中には日光性角化症及びアテローム性動脈硬化、滑液包炎、硬変、肝炎、混合型結合組織病、骨髄線維症、発作性夜間ヘモグロビン尿症、真性多血症、乾癬、原発性血小板血症、並びに腺癌及び白血病、リンパ腫、黒色腫、骨髄腫、肉腫、及び奇形癌、具体的には、副腎、膀胱、骨、骨髄、脳、乳房、頸部、胆嚢、神経節、消化管、心臓、腎臓、肝臓、肺、筋肉、卵巣、膵臓、副甲状腺、陰茎、前立腺、唾液腺、皮膚、脾臓、精巣、胸腺、子宮の癌などが含まれ、内分泌障害の中には原発脳腫瘍及び腺腫、妊娠性梗塞、下垂体切除、動脈瘤、血管奇形、血栓症、感染症、免疫異常、頭部外傷による合併症などの病変から起こる視床下部及び下垂体の障害と、性機能低下及びシーハン症候群、尿崩症、カルマン病、ハンド シュラー クリスチャン病、レトラ シヴェ病、サルコイドーシス、エンプティセラ症候群、小人症を含む下垂体低下に関連した障害と、良性線種によって発生しやすい不适当抗利尿ホルモン（ADH）分泌症候群（SIADH）及び先端巨大症、巨人症を含む下垂体亢進に関連した障害と、甲状腺腫及び粘液水腫、細菌感染性急性甲状腺炎、ウイルス感染性亜急性甲状腺炎、自己免疫性甲状腺炎（橋本病）、クレチン病を含む甲状腺機能低下症に関連した障害と、甲状腺中毒症及びその様々な型、グレーブス病、前脛骨粘液水腫、中毒性多結節性甲状腺腫、甲状腺癌、ブランマー病を含む甲状腺機能亢進症と、Conn病（chronic hypercalcemia）を含む副甲状腺機能亢進症と、I型及びII型糖尿病及び合併症などの膵臓疾患と、過形成及び副腎皮質の癌腫や腺腫、アルカローシスに関連した高血圧、アミロイド症、低カリウム血、クッシング病、リドル症候群、Arnold-Healy-Gordon症候群、褐色細胞腫瘍、副腎機能不全などの副腎に関連した障害と、女性の異常プロラクチン産生及び不妊症、子宮内膜症、月経周期の摂動、多嚢胞性卵巣疾患、高プロラクチン血症、選択的性腺刺激ホルモン不全（isolated gonadotropin deficiency）、無月経、乳汁漏出症、半陰陽、多毛症及び男性化、乳癌、閉経期後の骨粗鬆症、男性のライジッヒ細胞過形成、男性更年期、生殖細胞無形成症、ライジッヒ細胞腫瘍に関連した性機能亢進、アンドロゲン受容体の欠如に関連したアンドロゲン耐

性、5 - 還元酵素症候群、女性乳房症などの生殖腺ステロイドホルモンに関連した疾患とが含まれ、代謝異常の中には副腎機能不全、嚢胞性線維症、糖尿病、脂肪性肝硬変、ガラクトース血症、甲状腺腫、アドレナリン過剰症、低アドレナリン症、副甲状腺機能亢進症、副甲状腺機能低下症、高コレステロール血症、甲状腺機能亢進症、甲状腺機能低下症、高脂血症、高脂肪血症、脂質筋障害 (lipid myopathies)、肥満症、脂肪異栄養症、フェニールケトン尿症、先天性副腎過形成症、偽ビタミンD低抗性くる病、脳腱黄色腫症、クマリン耐性が含まれ、生殖障害の中には、プロラクチンの産生異常と、卵管病及び排卵異常、子宮内膜症、発情期異常、月経周期異常、多嚢胞卵巣症候群、卵巣過剰刺激症候群、子宮内膜癌及び卵巣癌、子宮筋腫、自己免疫異常、異所性妊娠、奇形発生を含む不妊症と、乳癌、線維嚢胞性乳腺症、乳漏症と、精子形成異常、生理学上の精子異常、精巣癌、前立腺癌、良性の前立腺過形成、前立腺炎、ペーロニー病、インポテンス、男性乳房及び女性化乳房癌とが含まれ、また、神経の疾患の中には、癲癇、虚血性脳血管障害、脳卒中、大脳新生物、アルツハイマー病、ピック病、ハンチントン病、痴呆、パーキンソン病及びその他の錐体外路障害、筋萎縮性側索硬化及びその他の運動ニューロン障害、進行性神経性筋萎縮症、色素性網膜炎、遺伝性運動失調、多発性硬化症及び他の脱髄疾患、細菌性及びウイルス性髄膜炎、脳膿瘍、硬膜下蓄膿症、硬膜外膿瘍、化膿性頭蓋内血栓性静脈炎、脊髄炎及び神経根炎、ウイルス性中枢神経系疾患と、クールー及びクロイツフェルト ヤコブ病、ゲルストマン症候群、Gerstmann-Straussler-Scheinker症候群を含むプリオン病 (prion disease) と、致死性家族性不眠症、神経系性栄養病及び代謝病、神経線維腫症、結節硬化症、小脳網膜血管芽腫 (cerebelloretinal hemangioblastomatosis)、脳3叉神経血管症候群、中枢神経系性精神薄弱及び他の発生障害、脳性麻痺、神経骨格異常症、自律神経系障害、脳神経障害、脊髄病、筋ジストロフィー及び他の神経筋障害、末梢神経疾患、皮膚筋炎及び多発性筋炎と、遺伝性、代謝性、内分泌性、及び中毒性ミオパシーと、重症筋無力症、周期性四肢麻痺と、気分性及び不安性精神障害、及び妄想性精神病と、季節性の感情の障害 (SAD)、静座不能、健忘症、緊張病、糖尿病性ニューロパシー、錐体外路性終末欠陥症候群、ジストニー、分裂病性精神障害、帯状疱疹後神経痛、及びトゥーレット

病が含まれ、自己免疫/炎症性の疾患の中には、炎症及び日光性角化症、後天性免疫不全症候群(AIDS)及び副腎機能不全、成人呼吸窮迫症候群、アレルギー、強直性脊椎炎、アミロイド症、貧血、喘息、アテローム性動脈硬化症、自己免疫性溶血性貧血、自己免疫性甲状腺炎、自己免疫性多腺性内分泌カンジダ性外胚葉ジストロフィ(APECED)、気管支炎、胆嚢炎、接触皮膚炎、クローン病、アトピー性皮膚炎、皮膚筋炎、糖尿病、肺気腫、リンパ球毒素性一時性リンパ球減少症、赤芽球症、結節性紅斑、萎縮性胃炎、糸球体腎炎、グッドパスチャー症候群、痛風、グレーブス病、橋本甲状腺炎、過好酸球増加症、過敏性大腸症候群、多発性硬化症、重症筋無力症、心筋または心膜炎症、骨関節炎、骨粗しょう症、膵炎、乾癬、ライター症候群、リウマチ様関節炎、強皮症、シェーグレン症候群、全身性アナフィラキシー、全身性エリテマトーデス、全身性硬化症、原発性血小板血症、血小板減少症、潰瘍性大腸炎、ウェルナー症候群、癌合併症、血液透析、体外循環、ウイルス感染症、細菌感染症、真菌感染症、寄生虫感染症、原虫感染症、蠕虫感染症、外傷が含まれ、ウイルス性疾患の中には、例えば、アデノウイルス(急性呼吸器疾患、肺炎)、アレナウイルス(リンパ球性脈絡髄膜炎)、ブニヤウイルス(ハンタウイルス)、コロナウイルス(肺炎、慢性気管支炎)、ヘパドナウイルス(肝炎)、ヘルペスウイルス(単純疱疹ウイルス、水痘 帯状疱疹ウイルス、EBウイルス、サイトメガロウイルス)、フラビウイルス(黄熱)、オルソミクソウイルス(インフルエンザ)、パピローマウイルス(癌)、パラミキソウイルス(麻疹、流行性耳下腺炎)、ピコルナウイルス(ライノウイルス、ポリオウイルス、コクサッキーウイルス)、ポリオーマウイルス(BKウイルス、JCウイルス)、ポックスウイルス(痘瘡)、レオウイルス(コロラドダニ熱)、レトロウイルス(ヒト免疫不全ウイルス、ヒトTリンパ球好性ウイルス)、ラブドウイルス(狂犬病)、ロタウイルス(胃腸炎)、トガウイルス(脳炎、風疹)によって引き起こされるウイルス感染などが含まれる。MADをコードするポリヌクレオチド配列は、サザーン法やノーザン法、ドットプロット法、或いはその他の膜系の技術、PCR法、ディップスティック(dipstick)、ピン(pin)、ELISA式アッセイ、及び変異ORPの発現を検出するために患者から採取した体液或いは組織を利用するマイクロアレイに使用することが可能である。このような質的或

いは量的方法は、当分野では周知である。

#### 【0201】

ある実施態様では、ORPをコードするヌクレオチド配列は、関連する疾患、特に上記した疾患を検出するアッセイにおいて有用であろう。ORPをコードするヌクレオチド配列は、標準的な方法で標識化され、ハイブリダイゼーション複合体の形成に好適な条件の下、患者から採取した体液或いは組織のサンプルに加えることができるであろう。好適な培養期間の後、サンプルを洗浄し、シグナルを定量して基準値と比較する。患者のサンプルのシグナルの量が、制御サンプルと比べて著しく変わっている場合は、サンプル内のORPをコードするヌクレオチド配列の変異レベルにより、関連する疾患の存在が明らかになる。このようなアッセイを用いて、動物実験、臨床試験、或いは個人の患者の治療を監視における、特定の治療効果を推定することが可能である。

#### 【0202】

ORPの発現に関連する疾患の診断の基準となるものを提供するために、正常あるいは標準的な発現の概要が確立される。これは、ハイブリダイゼーション或いは増幅に好適な条件の下、動物或いはヒトの何れかの正常な被験者から抽出された体液或いは細胞と、ORPをコードする配列或いはその断片とを結合させることにより達成され得る。標準的なハイブリダイゼーションは、正常な被験者から得た値と周知の量の実質的に精製されたポリヌクレオチドが用いられる実験からの値とを比較することによって定量可能である。正常なサンプルから得た標準的な値を、疾患の症状を示す被験者から得た値と比較可能である。基準値と被験者の値との偏差を用いて罹患しているかどうかを決定する。

#### 【0203】

疾患の存在が確定され、治療プロトコルが開始されると、ハイブリダイゼーションアッセイを通常ベースで繰り返して、被験者における発現のレベルが正常な患者に示される値に近づき始めたかどうかを推定することが可能である。繰り返したアッセイの結果を、数日から数ヶ月の期間の治療の効果を見るのに用いることができる。

#### 【0204】

癌では、個体からの生体組織における異常な量の転写物が、疾患の発生の素因を示し、また実際に臨床的症状が出る前に疾患を検出する方法を提供することが可能である。この種により明確な診断により、医療の専門家が予防方法或いは積極的な治療法を早くから利用して、癌の発生または進行を防ぐことが可能となる。

#### 【0205】

ORPをコードする配列から設計されたオリゴヌクレオチドのさらなる診断への利用には、PCRの利用が含まれ得る。このようなオリゴマーは、化学的な合成、酵素を用いた生成、或いは*in vitro*で生成され得る。オリゴマーは、好ましくはORPをコードするポリヌクレオチドの断片、或いはORPをコードするポリヌクレオチドと相補的なポリヌクレオチドの断片を含み、最適な条件の下、特定の遺伝子や条件を識別するために利用される。また、オリゴマーは、やや緩いストリンジエントな条件の下、近縁のDNA或いはRNA配列の検出及び/または定量のため用いることが可能である。

#### 【0206】

或る実施態様において、ORPをコードするポリヌクレオチド配列由来のオリゴヌクレオチドプライマーを用いて、一塩基多型(SNP)を検出し得る。SNPは、ヒトの先天性または後天性遺伝病の原因となる場合が多いヌクレオチドの置換、挿入及び欠失である。限定するものではないが、SNPの検出方法には、一本鎖立体構造多型(SSCP)及び蛍光SSCP(fSSCP)法が含まれる。SSCPでは、ORPをコードするポリヌクレオチド配列由来のオリゴヌクレオチドプライマーを用いたポリメラーゼ連鎖反応(PCR)でDNAを増幅する。このDNAは、例えば病変或いは正常な組織、生検サンプル、体液等に由来し得る。このDNA内のSNPは、一本鎖形状のPCR産物の2次及び3次構造に差異を生じさせる。この差異は非変性ゲル中でのゲル電気泳動法を用いて検出可能である。fSSCPでは、オリゴヌクレオチドプライマーを蛍光標識することによって、DNAシーケンシング装置などのハイスループット機器でアンプリマー(amplimer)の検出をすることが可能になる。更に、インシリコSNP(in silico SNP: isSNP)と呼ばれる配列データベース分析法は、共通のコンセンサス配列の構築に用いられる個々の重複するDNA断片の配列を

比較することによって、多型を同定することができる。これらのコンピュータベースの方法は、DNA配列クロマトグラムの自動分析及び統計モデルを用いたシーケンシングエラーや研究室でのDNAの調整に起因する配列のばらつきを排除する。別法では、例えばハイスループットのMASSARRAYシステム (Sequenom, Inc., San Diego CA) を用いた質量分析によりSNPを検出し、特徴付ける。

#### 【0207】

ORPの発現を定量するために用いられ得る方法には、ヌクレオチドの放射標識或いはビオチン標識、調節核酸の相互増幅 (coamplification)、及び標準的な曲線に結果が加えられたものが含まれる (例えば、Melby, P.C.等(1993) J. Immunol. Methods, 159:235-44; Duplaa, C.等(1993) Anal. Biochem. 229-236を参照)。多数のサンプルの定量速度は、目的のオリゴマーやポリヌクレオチドが種々の希釈液に含まれ、分光光度法或いは非色応答によって定量が迅速なハイスループット型のアッセイを用いることで加速された。

#### 【0208】

更に別の実施例では、本明細書に記載した任意のポリヌクレオチド配列に由来するオリゴヌクレオチドまたはより長い断片を、マイクロアレイにおける標的として用いることができる。マイクロアレイを転写イメージング技術に用いて、多数の遺伝子の相対発現レベルを同時にモニタリングすることができる。これについては、Seilhamer, J.J.他に付与された米国特許第5,840,484号 (名称「Comparative Gene Transcript Analysis」) に記載されており、この引用を以って本明細書の一部とする。マイクロアレイはまた、遺伝子変異、突然変異及び多型の同定に用いることができる。この情報を用いて、遺伝子機能を決定し、疾患の遺伝的根拠を解明し、疾患を診断し、遺伝子発現に関連する疾病の進行/後退をモニタリングし、疾患の治療における治療薬の開発や活性のモニタリングを行うことができる。特に、患者にとって最適かつ有効な治療法を選択するために、この情報を用いて患者の薬理ゲノムプロファイルを作成することができる。例えば、患者の薬理ゲノムプロファイルに基づいて、患者に対して極めて効果的でありながら副作用を殆ど示さない治療薬を選択することができる。

#### 【0209】

別の実施例では、ORPに特異的な抗体、ORPまたはその断片をマイクロアレイ上でエレメントとして用いることができる。マイクロアレイを用いて、上記のようにタンパク質間相互作用、薬剤 - 標的相互作用及び遺伝子発現プロフィールをモニタリング及び測定することが可能である。

#### 【0210】

或る実施例は、或る組織または細胞型の転写イメージを生成する本発明のポリヌクレオチドの使用に関連する。転写イメージは、特定の組織または細胞型により遺伝子発現の包括的パターンを表す。包括的遺伝子発現パターンは、所定の条件下で所定の時間に発現した遺伝子の数及び相対存在量を定量することにより分析される (Seilliamer 他、米国特許第5,840,484号の"Comparative Gene Transcript Analysis" を参照。この特許に言及することを以って本明細書の一部とする)。従って、特定の組織または細胞型の転写物全体または逆転写物全体に本発明のポリヌクレオチドまたはその相補配列をハイブリダイズすることにより、転写イメージが生成され得る。或る実施例では、本発明のポリヌクレオチドまたはその相補配列がマイクロアレイ上に複数のエレメントのサブセットを構成するハイスループット型でハイブリダイゼーションさせる。結果として得られる転写イメージは、遺伝子活性のプロフィールとなり得る。

#### 【0211】

転写イメージは、組織、細胞株、生検サンプル、またはその他の生体サンプルから単離した転写物を用いて生成し得る。従って、転写イメージは、組織または生検サンプルの場合には *in vivo*、または細胞株の場合には *in vitro* における遺伝子発現を反映する。

#### 【0212】

本発明のポリヌクレオチドの発現プロフィールを示す転写イメージはまた、合成化合物または天然化合物の毒性試験のみならず、*in vitro* モデル系及び薬剤の前臨床評価に関連して使用され得る。全ての化合物は、作用及び毒性の機構を示唆する、頻繁に分子フィンガープリント若しくは毒性シグネチャと称されるような特徴的な遺伝子発現パターンを引き起こす (Nuwaysir, E.F. 他 (1999) Mol. Carcinog. 24:15 3-159、Steiner, S. and N.L. Anderson (2000) Toxicol. Let

t. 112-113:467-471、また言及することを以って本明細書の一部とする)。試験化合物が、毒性を有する既知の化合物のシグネチャと同一のシグネチャを有する場合には、毒性特性を共有している可能性が高い。フィンガープリンまたはシグネチャが、より多くの遺伝子及び遺伝子ファミリーからの発現情報を含んでいれば、より有用かつ正確になる。理想としては、発現のゲノム全域にわたって測定し、最高品質のシグネチャを提供することである。任意の試験化合物によっても発現が変化しない遺伝子も同様に重要である。それは、これらの遺伝子の発現レベルを用いて残りの発現データを標準化することができるためである。標準化処理は、異なる化合物で処理した後の発現データの比較に有用である。毒性シグネチャのエLEMENTへの遺伝子機能を割り当てることは毒性機構の解明に役立つが、毒性の予測につながるシグネチャの統計的な一致には遺伝子機能の知識は必要ではない(例えば2000年2月29日にNational Institute of Environmental Health Sciencesより発行されたPress Release 00-02を参照されたい。これについては<http://www.niehs.nih.gov/oc/news/toxchip.htm>で入手可能である)。従って、毒性シグネチャを用いる毒性スクリーニングにおいて、全ての発現した遺伝子配列を含めることは重要でありまた望ましいことである。

#### 【0213】

或る実施例では、試験化合物の毒性は、核酸を含有する生体サンプルをその試験化合物で処理して評価する。処理した生体サンプル中で発現した核酸は、本発明のポリヌクレオチドに特異的な1若しくは複数のプローブでハイブリダイズさせ、それによって本発明のポリヌクレオチドに対応する転写レベルを定量することができる。処理した生体サンプル中の転写レベルを、非処理生体サンプル中のレベルと比較する。両サンプルの転写レベルの差が、処理されたサンプル中で試験化合物が引き起こす毒性反応を示唆する。

#### 【0214】

別の実施例は、本発明のポリペプチド配列を用いて組織または細胞型のプロテオームを分析することに関連する。「プロテオーム」という用語は、特定のある組織または細胞型におけるタンパク質発現の包括的パターンを指す。プロテオームを構成する各タンパク質は、更に個々に分析することができる。プロテオーム

発現パターン即ちプロフィールは、所定の条件下で所定の時間に発現したタンパク質の数及びそれらの相対的な存在量を定量することにより分析する。従って、ある細胞のプロテオームのプロフィールは、特定の組織または細胞型のポリペプチドを分離及び分析することにより作成し得る。或る実施例では、このような分離は2次元ゲル電気泳動によって行う。この2次元ゲル電気泳動法では、まず、1次元の等電点電気泳動によりサンプルからタンパク質を分離し、次に、2次元のドデシル硫酸ナトリウムスラブゲル電気泳動により分子量に従って分離する（前出のSteiner and Anderson）。これらのタンパク質は、通常クーマシーブルーまたはシルバーまたは蛍光染色などの染色剤を用いてゲルを染色して、分散した個別の位置にあるスポットとしてゲル中で可視化される。各タンパク質スポットの光学密度は、通常サンプル中のタンパク質レベルに比例する。異なるサンプル、例えば試験化合物または治療薬で処理済みまたは未処理のいずれかの生体サンプルから得られる等位置にあるタンパク質スポットの光学密度を比較し、処理に関連するタンパク質スポット密度の変化を調べる。スポット内のタンパク質は、例えば化学的または酵素的に切断した後、質量分析する標準的な方法を用いて部分的にシーケンシングする。スポット内のタンパク質の同一性は、好適には少なくとも5個の連続するアミノ酸残基であるその部分的な配列を、本発明のポリペプチド配列と比較することにより決定し得る。場合によっては、決定的なタンパク質同定のための更なる配列が得られる。

#### 【0215】

プロテオームのプロフィールは、ORPに特異的な抗体を用いてORP発現レベルを定量することによっても作成可能である。或る実施例では、マイクロアレイ上のエレメントとして抗体を用い、マイクロアレイをサンプルに曝露して各アレイエレメントへのタンパク質結合レベルを検出することによりタンパク質発現レベルを定量する（Lueking, A. ら. (1999) Anal. Biochem. 270:103-111、Mendoze, L.G. ら. (1999) Biotechniques 27:778-788）。検出は当分野で既知の様々な方法で行うことができ、例えば、チオール反応性またはアミノ反応性蛍光化合物を用いてサンプル中のタンパク質を反応させ、各アレイエレメントにおける蛍光結合の量を検出し得る。

## 【0216】

プロテオームレベルでの毒性シグネチャも中毒学的スクリーニングに有用であり、転写レベルでの毒性シグネチャと並行して分析するべきである。或る組織における或るタンパク質では、転写物の存在量とタンパク質の存在量との相関性が低いことがあるため (Anderson, N.L. and J. Seilhamer (1997) *Electrophoresis* 18:533-537)、プロテオーム毒性シグネチャは、転写イメージにはそれ程影響しないがプロテオームのプロフィールを変化させる化合物の分析において有用たり得る。更に、体液中での転写の分析は、mRNAが急速に分解するため困難である。しがたがって、このような場合にはプロテオームのプロフィール作成はより信頼でき、情報価値がある。

## 【0217】

別の実施例では、試験化合物の毒性は、タンパク質を含む生体サンプルをその試験化合物で処理して評価する。処理された生体サンプル中で発現したタンパク質を分離して、各タンパク質の量が定量できるようにする。各タンパク質の量を、未処理生体サンプル中の対応するタンパク質の量と比較する。両サンプル中のタンパク質の量の差は、処理されたサンプル中の試験化合物に対する毒性反応を示唆する。個々のタンパク質は、それらのアミノ酸残基をシーケンシングし、これらの部分配列を本発明のポリペプチドと比較することで同定する。

## 【0218】

別の実施例では、試験化合物の毒性は、タンパク質を含む生体サンプルをその試験化合物で処理することにより評価する。生体サンプルから得たタンパク質を、本発明のポリペプチドに特異的な抗体と共にインキュベートする。その抗体により認識されたタンパク質の量を定量する。処理された生体サンプル中のタンパク質の量を、未処理生体サンプル中のタンパク質の量と比較する。両サンプルのタンパク質量の差が、処理サンプル中の試験化合物に対する毒性反応を示唆する。

## 【0219】

当分野で周知の方法でマイクロアレイを準備して使用し、分析する。(例えば、Brennan, T.M. 他 (1995) 米国特許第5,474,796号; Schena, M. 他 (1996) Pro

c. Natl. Acad. Sci. 93:10614-10619; Baldeschweiler 他(1995) PCT出願番号W095/251116; Shalon, D.他 (1995) PCT出願番号W095/35505; Heller, R.A. 他(1997) Proc. Natl. Acad. Sci. 94:2150-2155; 及び Heller, M.J. 他 (1997) 米国特許第5,605,662号を参照)。様々なタイプのマイクロアレイが周知であり、詳細については、DNA Microarrays: A Practical Approach, M. Schena, ed. (1999) Oxford University Press, Londonに記載されている。また、この文献を引用することを以って本明細書の一部とする。

#### 【0220】

本発明の別の実施例ではまた、ORPをコードする核酸配列を用いて、天然のゲノム配列をマッピングするのに有用なハイブリダイゼーションプローブを作製することが可能である。コーディング配列または非コーディング配列の何れかを用いることができるが、或る例では、コーディング配列より非コード配列が好ましい。例えば、多重遺伝子ファミリーのメンバー間にコーディング配列が保存されていることにより、染色体マッピング時に望ましくない交差ハイブリダイゼーションが生じる可能性がある。この配列は、特定の染色体、染色体の特定領域または人工の染色体、例えば、ヒト人工染色体(HAC)、酵母人工染色体(YAC)、細菌人工染色体(BAC)、細菌P1産物、或いは単一染色体cDNAライブラリに対してマッピングされる(Harrington, J.J. ら(1997) Nat Genet. 15:345-355、Price, C.M. (1993) Blood Rev. 7:127-134、Trask, B.J. (1991) Trends Genet. 7:149-154等を参照)。一度マッピングすると、本発明の核酸配列を用いて、例えば病状の遺伝と特定の染色体領域やまたは制限断片長多型(RFLP)の遺伝とが相関するような遺伝子連鎖地図を作成可能である(Lander, E.S. and D. Botstein (1986) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 83:7353-7357を参照)。

#### 【0221】

in situ蛍光ハイブリダイゼーション(FISH)は、他の物理的及び遺伝子地図データと相関し得る(例えば、Heinz-Ulrich, 他による(1995) in Meyers, 前出, pp. 965-968を参照)。遺伝子地図データの例は、種々の科学誌あるいはOnline Mendelian Inheritance in Man(OMIM)のワールドワイドウェブのサイトで見付けることができる。物理的な染色体地図上のORPをコードする遺伝子の位置と特

定の疾患との相関性、或いは特定の疾患に対する素因が、このような疾患と関連するDNA領域の決定に役立つため、更なる位置を決定するクローニングが行われる。

#### 【0222】

染色体標本の in situハイブリダイゼーション、及び確定した染色体マーカーを用いた結合分析などの物理的マッピング技術を用いて、遺伝子地図を拡張することもできる。マウスなどの別の哺乳動物の染色体上に遺伝子を配置させることにより、たとえ正確なヒト染色体の位置が分かっていなくても、関連するマーカーが明らかになる場合が多い。この情報は、位置クローニング或いは別の遺伝子発見技術を用いて遺伝的疾患の研究をしている研究者にとって価値がある。疾患や症候群に關与する1つ或いは複数の遺伝子の位置が、例えば血管拡張性失調症の11q22-23などの特定の遺伝子領域に遺伝子結合によって大まかに決定されると、その領域に対するどの配列マッピングも、さらなる調査のための関連する遺伝子或いは調節遺伝子を表す（例えば、Gatti, R.A.他による(1988) Nature 336:577-580を参照）。また、目的の本発明のヌクレオチド配列を用いて、正常者、保有者、即ち感染者の間の、転位置、反転などによる染色体位置の違いを検出することもある。

#### 【0223】

本発明の別の実施例では、ORP、その触媒作用断片或いは免疫原断片またはそのオリゴペプチドを、種々の任意の薬剤スクリーニング技術における化合物のライブラリのスクリーニングに用いることができる。このようなスクリーニングに用いる断片は、溶液に遊離、固体支持物に固定、細胞の表面上に保持、或いは細胞内に存在する。ORPと検査する薬剤との結合による複合体の形成を測定してもよい。

#### 【0224】

薬剤スクリーニングに用いる別の方法は、目的のタンパク質に対して、好適な結合親和性を有する化合物のスクリーニング処理能力を高めるために用いられる（例えば、Geysen,他による(1984) PCT出願番号 W084/03564を参照）。この方法では、相当な数の異なる小さな試験用化合物が、プラスチックピン或いは他の基

板の上に合成される。試験用化合物は、ORP、或いはその断片と反応してから洗浄される。次に、結合されたORPが、当分野で周知の方法で検出される。精製されたORPはまた、前記した薬剤をスクリーニングする技術に用いられるプレート上で直接被覆することもできる。別法では、非中和抗体を用いて、ペプチドを捕らえ、固体支持物に固定することもできる。

#### 【0225】

別の実施例では、ORPと結合可能な中和抗体がORPと結合するため試験用化合物と特に競合する、競合的薬剤スクリーニングアッセイを用いることができる。この方法では、抗体が、ORPと1つ以上の抗原決定因子を共有するどのペプチドの存在も検出する。

#### 【0226】

別の実施例では、発展途上の分子生物学技術にORPをコードするヌクレオチド配列を用いて、限定はされないが、現在知られているトリプレット暗号及び特異的な塩基対相互作用などのヌクレオチド配列の特性に依存する新しい技術を提供することができる。

#### 【0227】

当分野の技術者であれば、更なる説明がなくても前述の説明だけで最大限に本発明を利用できるであろう。したがって、以下に記載する特定の好適な実施例は、例示目的であって本発明を限定するものではない。

#### 【0228】

前述した及び以下に記載した全ての特許出願、特許、刊行物、特に米国特許出願第60/172,367号に言及することをもって本明細書の一部とする。

#### 【0229】

(実施例)

##### 1 cDNAライブラリの作製

RNAは、Clontech社から購入、或いは表4に列記した組織から単離した。まず、この組織の一部をホモジナイズしてグアニジニウムイソチオシアネート溶液に溶解する一方、この組織の別の一部をホモジナイズしてフェノールに溶解するか、或いはTRIZOL (Life Technologies)、グアニジニウムイソチオシアネート及び

フェノールの単相溶液などの好適な変性剤の混合液に溶解した。この溶解物を塩化セシウムにおいて遠心分離によって、或いはクロロホルムで抽出した。イソプロパノール或いは酢酸ナトリウムのどちらかとエタノール、或いは別の方法でこの溶解物からRNAを沈殿させた。

#### 【0230】

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

#### 【0231】

ある場合には、Stratagene社にRNAを提供し、Stratagene社が対応するcDNAライブラリを作製した。そうでない場合は、UNIZAPベクターシステム(Stratagene)またはSUPERSCRIP T プラスミドシステム(Life Technologies)を用いて当分野で周知の推奨方法または類似の方法でcDNAを合成してcDNAライブラリを作製した。(例えば、Ausubel, 1997, 前出, ユニット5.1-6.6を参照)。逆転写は、オリゴd(T)またはランダムプライマーを用いて開始した。合成オリゴヌクレオチドアダプターを二本鎖cDNAに結合させてから、好適な1つの制限酵素或いは複数の制限酵素でcDNAを消化した。殆どのライブラリでは、SEPHACRYL S 1000または SEPHAROSE CL2B、SEPHAROSE CL4Bカラムクロマトグラフィー(Amersham Pharmacia Biotech)、アガロースゲル電気泳動法によってcDNAの大きさ(300~1000bp)を選択した。PBLUESCRIP Tプラスミド(Stratagene)またはpSPORT1プラスミド(Life Technologies)、pcDNA2.1プラスミド(Invitrogen Carlsbad CA)、pINCYプラスミド(Incyte Pharmaceuticals, Palo Alto CA)などの好適なプラスミドのポリリンカーの適合性制限酵素部位にcDNAを結合させた。この組換えプラスミドを、Stratagene社のXL1-Blue, XL1-BlueMRF、SOLR、またはLife Technologies社のDH5 またはDH10B、ELECTROMAX DH 10Bを含むコンピテント大腸菌細胞に導入し組み込んだ。

#### 【0232】

## 2 cDNAクローンの単離

上記実施例1で記載したように得たプラスミドは、UNIZAPベクターシステム(Stratagene)或いは細胞溶解を利用したin vivo切除によって宿主細胞から回収した。MagicまたはWIZARD Minipreps DNA精製システム(Promega)、及びAGTC Miniprep精製キット(Edge Biosystems, Gaithersburg MD)、QIAGEN社のQIAWELL 8 Plasmid、QIAWELL 8 Plus Plasmid、QIAWELL 8 Ultra Plasmid 精製システム、REAL Prep 96プラスミドキットの内の少なくとも1つを用いてプラスミドを精製した。沈殿させた後、0.1mlの蒸留水に再懸濁して、凍結乾燥して或いは凍結乾燥しないで4℃で保管した。

### 【0233】

別法では、ハイスループットの直接結合PCR法によって宿主細胞溶解物からプラスミドDNAを増幅した。(Rao, V.B. (1994) Anal. Biochem. 216:1-14)。宿主細胞の溶解及び熱サイクリング過程を単一反応混合液で行った。サンプルを処理してから384-ウェルプレートに移して保管し、増幅したプラスミドDNAの濃度をPICOGREEN色素(Molecular Probes, Eugene OR)及びFluoroskan II蛍光スキャナー(Labsystems Oy, Helsinki, Finland)を用いて蛍光定量的に測定した。

### 【0234】

## 3 シークエンシング及び分析

実施例2に記載したようにプラスミドにおいて回収したインサイト社cDNAは、以下に示すようにシークエンシングした。cDNAのシークエンシング反応は、標準的な方法で、或いはABI CATALYST 800 (PE Biosystems) thermal cyclerまたはPTC-200 thermal cycler (MJ Research)とHYDRAマイクロディスペンサー(Robbins Scientific) またはMICROLAB 2200 (Hamilton) 液体転移システムとの組み合わせなどのハイスループット装置で行った。cDNAのシークエンシング反応の準備には、Amersham Pharmacia Biotech社の試薬、またはABI PRISM BIGDYE Terminator cycle sequencing ready reactionキット(PE Biosystems)などのABIシークエンシングキットに含まれる試薬を用いた。cDNAのシークエンシング反応の電気泳動的な分離及び標識したポリヌクレオチドの検出には、MEGABACE 1000 DNAシークエンシングシステム(Molecular Dynamics)、標準ABIプロトコル及び塩基対呼

び出しソフトウェアを用いるABI PRISM 373または377シーケンシングシステム (PE Biosystems)、当分野で周知のその他の配列解析システムを用いた。cDNA配列の読み枠は、標準的な方法(Ausubel, 1997, 前出, unit 7.7)を用いて決定した。cDNA配列の幾つかを選択して、実施例 6に記載した方法で配列を伸長した。

#### 【0235】

cDNAのシーケンシングから得たポリヌクレオチド配列の構築及び解析は、当分野の技術者に周知のアルゴリズムを利用したソフトウェアを組合せて行った。表5は、利用したツール、ソフトウェア、アルゴリズム、それらの説明、引用文献、閾値パラメーターの概要を示す。表5の列1は用いたツール及びプログラム、アルゴリズム、列2はそれらの簡単な説明、列3は引用することで本明細書の一部とした引用文献、列4の記載部分は2つの配列の一致度の評価に用いたスコア及び確率値、他のパラメータを示す(確率値が高ければ高いほど配列間の相同性が高くなる)。配列の解析には、MACDNASIS PROソフトウェア(Hitachi Software Engineering, S. San Francisco CA)及びLASERGENEソフトウェア(DNASTAR)を用いた。ポリヌクレオチド配列およびポリペプチド配列のアラインメントを、アライメントした配列間のパーセント同一性も計算するMEGALIGNマルチシーケンスアラインメントプログラム(DNASTAR)に組み込まれたCLUSTALアルゴリズムによって指定されたデフォルトパラメータを用いて作成した。

#### 【0236】

ポリヌクレオチド配列の確証は、BLAST及び動的計画法、ジヌクレオチド最近接分析に基づいたプログラム及びアルゴリズムを用いて、ベクター及びリンカー、ポリA配列を取り除き、あいまいな塩基対をマスクすることで行った。次に、BLAST及びFASTA、BLIMPSに基づいたプログラムを用いて、公共のデータベースであるGenBankの霊長類及びげっ歯類、哺乳類、脊椎動物、真核生物のデータベースやBLOCKS、PRINTS、DOMO、PRODOM及びPFAMなどのデータベースから選択した配列に対してこれらの配列を問合わせて注釈を得た。Phred及びPhrap、Consedに基づいたプログラムを用いて完全長のポリヌクレオチド配列の中にこれらの配列を構築して、BLAST及びFASTA、BLIMPSに基づいたプログラムでオープンリーディングフレームのためにスクリーニングした。完全長のポリヌクレオチド配列を翻訳

して対応する完全長のアミノ酸配列を引き出し、GenBankデータベース(上記)及びSwissProt、BLOCKS、PRINTS、DOMO、PRODOM及びPrositeなどのデータベース、またはPFAMなどの隠れマルコフモデル(HMM)に基づいたタンパク質ファミリーデータベースに対して問い合わせこれら完全長の配列を分析した。HMMは、確率を利用して遺伝子ファミリーのコンセンサス一次構造を解析する(例えば、Edy, S.R. (1996) *Curr. Opin. Struct. Biol.* 6:361-365を参照)。

#### 【0237】

完全長のポリヌクレオチド配列及びアミノ酸配列の構築及び分析に用いる上記のプログラムは、SEQ ID NO:28 - 54からのポリヌクレオチド配列の断片の同定にも使用できる。約20 ~ 4000個までのヌクレオチドの断片はハイブリダイゼーション及び増幅に有用であり、上記の発明で説明した。

#### 【0238】

#### 4 ポリヌクレオチド発現の分析

ノーザン分析は、遺伝子の転写物の存在を検出するために用いられる実験用技術であり、特定の細胞種或いは組織からのRNAが結合されている膜への標識されたヌクレオチド配列のハイブリダイゼーションを伴う(例えば、Sambrook, 前出, 7章; 及び Ausubel, F.M. 他, 前出, 4章及び16章を参照)。

#### 【0239】

BLASTに用いる類似のコンピュータ技術を用いて、GenBank或いはLIFESEQ ( Incyte Pharmaceuticals ) のようなcDNAデータベース内の同一或いは関連する分子を検索する。この分析は多くの膜系ハイブリダイゼーションより非常に速度が速い。さらにコンピュータ検索の感度を変更して、任意の特定の一致が、厳密な一致或いは相同的一致の何れかとして分類されるかを確定することができる。検索の基準は、

#### 【0240】

#### 【数1】

(BLAST スコア × 配列一致率)

---

5 × (長さ(配列1), 長さ(配列2))の最小値

として定義される積スコアである。積スコアは、0～100の標準化された値であり、以下のように求める。BLASTスコアにヌクレオチド配列の一致率を乗じ、その積を2つの配列の短い方の長さの5倍で除する。高スコアのセグメントの対(HSP)において一致する各塩基に+5のスコアを割り当て、各不適性塩基対に-4を割り当てることにより、BLASTスコアを計算する。2つの配列は、2以上のHSPを共有し得る(ギャップにより離隔される)。2以上のHSPがある場合には、最高BLASTスコアの塩基対を用いて積スコアを計算する。積スコアは、BLASTアラインメントの断片的重複と質とのバランスを表す。例えば積スコア100は、比較した2つの配列の短い方の長さ全体にわたって100%一致する場合にのみ得られる。積スコア70は、100%の一致で一端が70%重畳しているか、或いは88%一致で他端が100%重畳しているかの何れかの場合である。積スコア50は、100%の一致で一端が50%重畳しているか、或いは79%の一致で他端が100%重畳しているかの何れかの場合である。

#### 【0241】

ノーザン分析の結果は、ORPをコードする転写物が発生したライブラリの分布割合として報告される。分析には、器官/組織及び疾患によるcDNAライブラリの分類も含まれる。器官/組織のカテゴリーには、心血管、皮膚、発生、内分泌、胃腸、造血/免疫、筋骨格、神経、生殖、泌尿器が含まれる。疾患のカテゴリーには、癌、炎症、外傷、細胞増殖、神経、プール(pooled)が含まれる。カテゴリー別に、目的の配列を発現するライブラリの数を数えて、それを全ての範囲のライブラリの数で除した。各組織に特異的に発現する割合(パーセント)と各疾患で発現する割合を表3に示した。

#### 【0242】

##### 5 ORPをコードするポリヌクレオチドの染色体マッピング

SEQ ID NO:28-54を構築するために用いたcDNA配列を、BLAST及びSmith-Watermanアルゴリズムを用いて、インサイト社LIFSEQデータベース及び公共のドメインデータベースの配列と比較した。SEQ ID NO:28-54と一致するこれらのデータベースの配列を、Phrap(表5)などの構築アルゴリズムを使用して、連続及び重複した配列のクラスターに組み入れた。Stanford Human Genomese Center (SHG

C)、Whitehead Institute for Genome Research (WIGR)及びGenethonなどの公共の情報源から入手できる放射線ハイブリッド (radiation hybrid) 及び遺伝子マッピングのデータを用いて、クラスター化した配列がすでにマッピングされているかを調べる。クラスターにマッピングされた配列が含まれている場合は、そのクラスターの全ての配列 (特定のSEQ ID NOを含む) をそのマッピング位置に割り当てた。

#### 【0243】

SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:48、およびSEQ ID NO:53の遺伝子地図の位置は、ヒト染色体の区間即ち範囲として本明細書の(発明)の部分に記載した。SEQ ID NO:48に対して2箇所以上の遺伝子地図の位置が記載されているが、これはSEQ ID NO:48と全く同一ではないが類似性を有する既にマッピングされた配列が、対応するクラスターに組み入れられたことを表す。センチモルガンで示したマッピング位置の範囲は、染色体の短腕(p)の末端から測定した(センチモルガン(cM)は、同一染色体上の遺伝子間の乗換え率に基づいた距離を表す単位である。平均すると、1cMはヒトの染色体の1メガベースに概ね等しいが、組換え率の高い部分と低い部分があるため、大きく変化し得る)。距離cMは、配列がそれぞれのクラスターに含まれている放射線ハイブリッドマーカの境界を検出できるGenethonによってマッピングされた遺伝子マーカーに基づいている。NCBI「GeneMap99」(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genemap>)などの公衆が入手可能なヒト遺伝子マップおよびその他の情報源を用いて、上記した区間が既に同定されている疾患遺伝子マップ内若しくは近傍に位置するかを決定できる。

#### 【0244】

##### 6 ORPをコードするポリヌクレオチドの伸長

SEQ ID NO:28 - 54の完全長の核酸配列は、完全長分子の好適な断片から設計したオリゴヌクレオチドプライマーを用いてその完全長分子の好適な断片を伸長して作製した。一方のプライマーは既知の断片の5'の伸長を開始するために合成し、他方のプライマーは既知の断片の3'の伸長を開始するために合成した。開始プライマーは、OLIGO 4.06ソフトウェア(National Biosciences)或いは他の適切なプログラムを用いて、約22個から約30個のヌクレオチドの長さで約5

0%以上のGC含量を有し、かつ約68~72の温度で標的配列にアニールするように設計した。ヘアピン構造及びプライマー-プライマー二量体が生じないようにヌクレオチドを伸長した。

#### 【0245】

選択されたヒトcDNAライブラリを用いてこの配列を伸長した。2段階以上の伸長が必要な場合、若しくは望ましい場合は、追加或いはネスト化プライマーの組を設計する。

#### 【0246】

当分野で既知の方法を利用したPCR法で高い忠実度で増幅した。PCRはPTC-200 thermal cycler (MJ Research, Inc.)用いて96ウェルブロックプレートで行った。反応混合液は、鋳型DNA及び200 nmolの各プライマー、 $Mg^{2+}$ と $(NH_4)_2SO_4$ とメルカプトエタノールを含むバッファー、Taq DNAポリメラーゼ(Amersham Pharmacia Biotech)、ELONGASE酵素(Life Technologies)、Pfu DNAポリメラーゼ(Stratagene)を含む。プライマーの組、PCI AとPCI Bに対して以下のパラメーターで増幅を行った。

ステップ1	94	で3分間
ステップ2	94	で15秒
ステップ3	60	で1分間
ステップ4	68	で2分間
ステップ5	ステップ2、3、及び4を20回繰り返す	
ステップ6	68	で5分間
ステップ7	4	で保管

別法では、プライマーの組、T7とSK+に対して以下のパラメーターで増幅を行った。

ステップ1	94	で3分間
ステップ2	94	で15秒
ステップ3	57	で1分間
ステップ4	68	で2分間
ステップ5	ステップ2、3、及び4を20回繰り返す	

ステップ6 68 で5分間

ステップ7 4 で保管。

【0247】

各ウェルのDNA濃度は、1X TE及び0.5 µlの希釈していないPCR産物に溶解した100 µlのPICOGREEN定量試薬(0.25% (v/v) PICOGREEN; Molecular Probes, Eugene OR)を不透明な蛍光光度計プレート(Coming Costar, Acton MA)の各ウェルに分配してDNAが試薬と結合できるようにして測定する。このプレートをFluoroskan II (Labsystems Oy, Helsinki, Finland)でスキャンして、サンプルの蛍光を計測してDNAの濃度を定量化する。反応混合物の5~10 µlのアリコットを1%のアガロースミニゲル上での電気泳動によって解析し、何れの反応物が配列を伸長することに成功したかを決定する。

【0248】

伸長したヌクレオチドを脱塩及び濃縮してから384ウェルプレートに移し、CviJIコレラウィルスエンドヌクレアーゼ(Molecular Biology Research, Madison WI)で消化し、pUC 18ベクター(Amersham Pharmacia Biotech)に再連結する前に音波処理またはせん断を行った。ショットガンシーケンシングのために、消化したヌクレオチドを低濃度(0.6~0.8%)のアガロースゲル上に分離して断片を切断し、寒天をAgar ACE (Promega)で消化した。T4リガーゼ(New England Biolabs, Beverly MA)を用いて伸長したクローンをpUC 18ベクター(Amersham Pharmacia Biotech)に再連結し、Pfu DNAポリメラーゼ(Stratagene)で制限部位の延び出しを処理してコンピテント大腸菌細胞に形質移入した。形質移入した細胞を選択して抗生物質を含む培地に移し、それぞれのコロニーを切りとってLB/2Xカルベニシリン培養液の384ウェルプレートに37 で一晩培養した。

【0249】

細胞を溶解して、Taq DNAポリメラーゼ(Amersham Pharmacia Biotech)及びPfu DNAポリメラーゼ(Stratagene)を用いて以下の手順でDNAをPCR増幅した。

ステップ1 94 で3分間

ステップ2 94 で15秒

ステップ3 60 で1分間

- ステップ4 72 で2分間  
ステップ5 ステップ2、3、及び4を29回繰り返す  
ステップ6 72 で5分間  
ステップ7 4 で保管。

上記したようにPICOGREEN試薬(Molecular Probes)でDNAを定量化した。DNA回収率の悪いサンプルは、上記した条件で再び増幅した。サンプルを20%のジメチルサルホサイド(dimethylsulphoxide)(1:2, v/v)で希釈し、DYENAMIC DIRECTキット(Amersham Pharmacia Biotech)またはABI PRISM BIGDYE Terminator cycle sequencing ready reactionキット(Applied Biosystems)を用いてシーケンシングした。

#### 【0250】

同様に上述の手順で、SEQ ID NO:28 - 54のヌクレオチド配列を利用し、この伸長のために設計したオリゴヌクレオチドと好適なゲノムライブラリを用いて5調節配列を得た。

#### 【0251】

##### 7 個々のハイブリダイゼーションプローブの標識化及び使用法

SEQ ID NO:28 - 54から導き出されたハイブリダイゼーションプローブを用いて、cDNA、mRNA、またはゲノムDNAをスクリーニングする。約20塩基対からなるオリゴヌクレオチドの標識について特に記すが、より大きなcDNAフラグメントの場合でも基本的に同じ手順を用いる。オリゴヌクレオチドを、OLIGO4.06ソフトウェア(National Bioscience)のような最新式のソフトウェアを用いてデザインし、50pmolの各オリゴマーと、250µCiの[<sup>32</sup>P]アデノシン三リン酸(Amersham, Chicago, IL)及びT4ポリヌクレオチドキナーゼ(DuPont NEN, Boston MA)とを組み合わせて用いることにより標識する。標識されたオリゴヌクレオチドを、SEPHADEX G-25超精細排除デキストランビードカラム(Amersham Pharmacia Biotech)を用いて実質的に精製する。毎分10<sup>7</sup>カウントの標識されたプローブを含むアリコットを、次のエンドヌクレアーゼ、Ase I、Bgl II、Eco RI、Pst I、XbaI或いはPvu II(DuPont NEN)の1つを用いて切断したヒトゲノムDNAの典型的な膜ベースのハイブリダイゼーション解析において用いる。

## 【0252】

各切断物からのDNAを、0.7%アガロースゲル上で分画して、ナイロン製メンブラン (Nytran Plus, Schleicher & Schuell, Durham NH) に転写する。ハイブリダイゼーションは40℃で16時間かけて行う。非特異的シグナルを取り除くため、例えば、最大0.1×クエン酸ナトリウム食塩水及び0.5%ドデシル硫酸ナトリウムの条件の下、プロットを順次室温にて洗浄する。ハイブリダイゼーションパターンをオートラジオグラフィー或いは別のイメージ化手段で視覚化して比較する。

## 【0253】

8 マイクロアレイ

マイクロアレイ上のアレイエレメントの連結または合成は、フォトリソグラフィ、ピエゾプリント (インクジェットプリンター、前出のBalteschweiler等を参照)、機械的マイクロスポッティング技術及びこれらから派生したものをを用いて達成することが可能である。上記各技術において基板は、均一な非多孔性の固体とするべきである (Schena (1999).前出)。推奨する基板には、シリコン、シリカ、スライドガラス、ガラスチップ及びシリコンウエハがある。別法では、ドットプロット法またはスロットプロット法に類似のアレイを利用して、熱や紫外線、または化学的或いは機械的な結合手段で基板の表面にエレメントを配置して結合させることができる。通常のアレイは利用可能な方法や機械を用いて作製でき、任意の適正な数のエレメントを含めることができる (Schena, M. 他 (1995) Science 270:467-470、Shalon, D. 他 (1996) Genome Res. 6:639-645、Marshall, A. and J. Hodgson (1998) Nat. Biotechnol. 16:27-31.を参照)。

## 【0254】

完全長cDNA、発現遺伝子配列断片 (EST)、或いはそれらの断片やオリゴマーが、マイクロアレイのエレメントとなり得る。ハイブリダイゼーションに好適な断片やオリゴマーを、LASERGENEソフトウェア (DNASTAR) などの当分野で周知のソフトウェアを用いて選択することが可能である。このアレイエレメントを、生体サンプル中のポリヌクレオチドとハイブリダイズさせる。生体サンプル中のポリヌクレオチドは、検出を容易にするために蛍光標識またはその他の分子タグに

結合する。ハイブリダイゼーションの後、生体サンプルからハイブリダイズしなかったヌクレオチドを除去し、蛍光スキャナを用いて各アレイエレメントにおけるハイブリダイゼーションを検出する。別法では、レーザー脱離及び質量スペクトロメトリーを用いてもハイブリダイゼーションを検出し得る。マイクロアレイ上のエレメントにハイブリダイズする各ポリヌクレオチドの相補性の程度及び相対的存在量は、算定することができる。一実施例におけるマイクロアレイの調整及び使用について、以下に詳述する。

#### 【0255】

##### 組織または細胞サンプルの調製

グアニジウムチオシアネート法を用いて組織サンプルから全RNAを単離し、オリゴ(dT)セルロース法を用いてポリ(A)<sup>+</sup>RNAを精製する。各ポリ(A)<sup>+</sup>RNAサンプルは、MLLV逆転写酵素、0.05 pg/ $\mu$ lのオリゴ(dT)プライマー(21mer)、1 $\times$ 第1鎖緩衝液、0.03単位/ $\mu$ lのRNアーゼインヒビター、500  $\mu$ M dATP、500  $\mu$ M dGTP、500  $\mu$ M dTTP、40  $\mu$ M dCTP、40  $\mu$ M dCTP-Cy3 (BDS) またはdCTP-Cy5 (Amersham Pharmacia Biotech) を用いて逆転写する。この逆転写反応は、GEMBRIGHTキット (Incyte) を用いて、200 ngのポリ(A)<sup>+</sup>RNAを含む25 ml容量で行う。特異的なコントロールポリ(A)<sup>+</sup>RNAは、in vitro転写により非コーディング酵母ゲノムDNAから合成する。370 で2時間インキュベートした後、各反応サンプル(一方はCy3標識、他方はCy5標識)は、2.5 mlの0.5 M 水酸化ナトリウムで処理し、850 で20分間インキュベートし、反応を停止させてRNAを変性する。サンプルは、2つの連続するCHROMA SPIN 30ゲル濾過スピナラム (CLONTECH Laboratories, Inc. (CLONTECH), Palo Alto CA) を用いて精製する。結合後、2つの反応サンプルを、1 mlのグリコーゲン(1 mg/ml)、60 mlの酢酸ナトリウム及び300 mlの100%エタノールを用いてエタノール沈殿させる。サンプルは次に、SpeedVAC (Savant Instruments Inc., Holbrook NY) を用いて乾燥して仕上げ、14  $\mu$ l 5 $\times$ SSC/0.2% SDS中で再懸濁する。

#### 【0256】

##### マイクロアレイの準備

本発明の配列を用いて、アレイエレメントを作製する。各アレイエレメントは

、クローン化cDNA挿入断片を含むベクターを含有する細菌性細胞から増幅する。PCR増幅は、cDNA挿入断片に隣接するベクター配列に相補的なプライマーを用いる。30サイクルのPCRによって、1～2 ngの初期量から5 µgを超える最終量までアレイエレメントを増幅する。増幅されたアレイエレメントは、SEPHACRYL-400 (Amersham Pharmacia Biotech) を用いて精製する。

#### 【0257】

精製したアレイエレメントを、ポリマーコートされたスライドガラス上に固定する。顕微鏡スライドガラス (Corning) は、処理中及び処理後に大量の蒸留水での洗浄と、0.1%のSDS及びアセトン中で超音波による洗浄を行う。スライドガラスは、4%フッ化水素酸 (VWR Scientific Products Corporation (VWR), West Chester PA) 中でエッチングし、蒸留水中で広範囲にわたって洗浄し、95%エタノール中の0.05%アミノプロピルシラン (Sigma) でコーティングする。コーティングしたスライドガラスは、110 °Cの天火で硬化させる。

#### 【0258】

米国特許第5,807,522号に記載されている方法を用いて、コーティングしたガラス基板にアレイエレメントを付加する。この特許に引用することを以って本明細書の一部とする。平均濃度が100 ng/µlのアレイエレメントDNA 1 µlを高速機械装置により開放型キャピラリープリンティングエレメント (open capillary printing element) に充填する。次にこの装置が、スライド毎に約5 nlのアレイエレメントサンプルを分注する。

#### 【0259】

マイクロアレイには、STRATALINKER UVクロスリンカー (Stratagene) を用いてUV架橋する。マイクロアレイは、室温において0.2%SDSで1回洗浄し、蒸留水で3回洗浄する。非特異的な結合部位は、リン酸緩衝生理食塩水 (PBS) (Tropix, Inc., Bedford MA) における0.2%カゼイン中で60 °Cで30分間マイクロアレイをインキュベートし、その後上述したように0.2%SDS及び蒸留水で洗浄することによってブロックする。

#### 【0260】

### ハイブリダイゼーション

ハイブリダイゼーション反応液は、 $5 \times \text{SSC}$ 、 $0.2\%$  SDSハイブリダイゼーション緩衝液にCy3及びCy5標識したcDNA合成産物を各 $0.2 \mu\text{g}$ 含む $9 \mu\text{l}$ のサンプル混合体を含めたものである。サンプル混合液を、 $65^\circ\text{C}$ で5分間加熱し、マイクロアレイ表面上に一定量分注してから $1.8 \text{ cm}^2$ のカバーガラスで覆う。このアレイを、顕微鏡スライドより僅かに大きいキャビティを有する防水チェンバーに移す。チャンバーの角に $140 \mu\text{l}$ の $5 \times \text{SSC}$ を加えて、チャンバー内を湿度 $100\%$ に保持する。このアレイを含むチャンバーを、 $60^\circ\text{C}$ で約 $6.5$ 時間インキュベートする。アレイは、第1洗浄緩衝液中( $1 \times \text{SSC}$ ,  $0.1\%$  SDS)において $45^\circ\text{C}$ で10分間、第2洗浄緩衝液中( $0.1 \times \text{SSC}$ )において $45^\circ\text{C}$ で10分間それぞれ3回洗浄し、その後乾燥させる。

#### 【0261】

##### 検出

レポーター標識されたハイブリダイゼーション複合体は、Cy3を励起するための $488 \text{ nm}$ 、及びCy5を励起するための $632 \text{ nm}$ のスペクトル線を生成し得るInnova 70混合ガス $10 \text{ W}$ レーザー (Coherent, Inc., Santa Clara CA) を備えた顕微鏡で検出する。 $20$ 倍の顕微鏡対物レンズ (Nikon, Inc., Melville NY) を用いて、アレイ上に励起レーザー光を集中させる。このアレイを含むスライドを顕微鏡のコンピュータ制御X-Yステージに置き、対物レンズを通してラスタスキャンする。本実施例で用いた $1.8 \text{ cm} \times 1.8 \text{ cm}$ のアレイは、 $20 \mu\text{m}$ の解像度でスキャンする。

#### 【0262】

2つの異なるスキャンにおいて、混合ガスマルチラインレーザーは2つの蛍光体を連続的に励起する。放射された光は、波長に基づいて2つの蛍光体に対応する2つの光電子増倍管検出器 (PMT R1477, Hamamatsu Photonics Systems, Bridgewater NJ) に分割される。アレイと光電子増倍管との間に配設された好適なフィルターを用いて信号をフィルタリングする。用いる蛍光体の最大発光は、Cy3では $565 \text{ nm}$ 、Cy5では $650 \text{ nm}$ である。装置は両方の蛍光体からのスペクトルを同時に記録できるが、レーザー源に好適なフィルターを用いて、蛍光体1につき1回スキャンし、各アレイを通常2回スキャンする。

## 【0263】

スキャンの感度は通常、既知濃度のサンプル混合体に添加されるcDNAコントロール種により生成されるシグナル強度を用いて較正する。アレイ上の特定の位置には相補的DNA配列を含め、その位置におけるシグナルの強度がハイブリダイズする種の重量比1:100,000に相関するようにする。異なる試料(例えば検査細胞及びコントロール細胞を代表する)からの2つのサンプルを、各々異なる蛍光体で標識し、他と異なって発現する遺伝子を同定するために単一のアレイにハイブリダイズさせる場合には、較正は2つの蛍光体を有する較正するcDNAのサンプルを標識して、ハイブリダイゼーション混合液に各々等量を加えて行う。

## 【0264】

光電子増倍管の出力は、IBMコンパチブルPCコンピュータにインストールされた12ビットRTI-835Hアナログ-デジタル(AID)変換ボード(Analog Devices, Inc., Norwood MA)を用いてデジタル化される。デジタル化されたデータは、リニア20色変換を用いてシグナル強度が青色(低シグナル)から赤色(高シグナル)までの擬似カラー範囲にマッピングされるイメージとして表示される。データはまた、定量的に分析される。2つの異なる蛍光体を同時に励起して測定する場合には、各蛍光体の発光スペクトルを用いて、先ずデータは蛍光体間の光学的漏話(重複発光スペクトルに起因する)に対して補正される。

## 【0265】

グリッドを蛍光シグナルイメージ上に重畳して、各スポットからのシグナルがグリッドの各エレメントに中央に位置するようにする。各エレメント内の蛍光シグナルを統合し、シグナルの平均強度に対応する数値を得る。シグナル分析に用いるソフトウェアは、GEMTOOLS遺伝子発現分析プログラム(Incyte)である。

## 【0266】

### 9 相補的ポリヌクレオチド

ORPをコードする配列或いはその任意の一部に対して相補的な配列は、天然のORPの発現を低下させるため即ち阻害するために用いられる。約15~約30個の塩基対を含むオリゴヌクレオチドの使用について記すが、より小さな或いはより大きな配列の断片の場合でも本質的に同じ方法を用いることができる。Oligo4.0

6ソフトウェア (National Biosciences) 及びORPのコーディング配列を用いて、適切なオリゴヌクレオチドを設計する。転写を阻害するためには、最も独特な5'配列から相補的なオリゴヌクレオチドを設計し、これを用いてプロモーターがコーディング配列に結合するのを阻害する。翻訳を阻害するためには、相補的なオリゴヌクレオチドを設計して、リボソームがORPをコードする転写物に結合するのを阻害する。

### 【0267】

#### 1.0 ORPの発現

ORPの発現及び精製は、細菌若しくはウイルスを基にした発現系を用いて行うことができる。細菌でORPが発現するために、抗生物質耐性及びcDNAの転写レベルを高める誘導性のプロモーターを含む好適なベクターにcDNAをサブクローニングする。このようなプロモーターには、lacオペレーター調節エレメントに関連するT5またはT7バクテリオファージプロモーター及びtrp-lac(tac)ハイブリッドプロモーターが含まれるが、これらに限定されるものではない。組換えベクターを、BL21(DE3)などの好適な細菌宿主に形質転換する。抗生物質耐性をもつ細菌が、イソプロピル β-Dチオガラクトピラノシド (IPTG) で誘発されるとORPを発現する。真核細胞でのORPの発現は、昆虫細胞株または哺乳動物細胞株に一般にバキュロウイルスとして知られているAutographica californica核多面性ウイルス (AcMNPV) を感染させて行う。バキュロウイルスの非必須ポリヘドリン遺伝子を、相同組換え或いは転移プラスミドの媒介を伴う細菌の媒介による遺伝子転移のどちらかによって、ORPをコードするcDNAと置換する。ウイルスの感染力は維持され、強いポリヘドリンプロモーターによって高いレベルのcDNAの転写が行われる。組換えバキュロウイルスは、多くの場合はSpodoptera frugiperda (Sf9) 昆虫細胞に感染に用いられるが、ヒト肝細胞の感染にも用いられることもある。後者の感染の場合は、バキュロウイルスの更なる遺伝的変更が必要になる。(例えば、Engelhard, E. K. 他 (1994) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91:3224-3227; Sandig, V. 他 (1996) Hum. Gene Ther. 7:1937-1945. を参照)。

### 【0268】

殆どの発現系では、ORPが、例えばグルタチオンSトランスフェラーゼ (GST)、

またはFLAGや6-Hisなどのペプチドエピトープ標識で合成された融合タンパク質となるため、未精製の細胞溶解物からの組換え融合タンパク質の親和性ベースの精製が素早く1回で行うことができる。Schistosoma japonicumからの26キロダルトンの酵素GSTによって、タンパク質の活性及び抗原性を維持した状態で固定されたグルタチオンで融合タンパク質の精製が可能となる(Amersham Pharmacia Biotech)。精製の後、GST部分を特定の操作部位でORPからタンパク質的に切断できる。アミノ酸8個のペプチドであるFLAGで、市販のモノクローナル及びポリクローナル抗FLAG抗体(Eastman Kodak)を用いた免疫親和性の精製が可能となる。6個の連続するヒスチジン残基のストレッチである6-Hisによって、金属キレート樹脂(QIAGEN)で精製が可能となる。タンパク質の発現及び精製の方法は、Ausubel (1995, 前出, ch 10, 16)に記載されている。これらの方法で精製したORPを直接用いて以下の実施例11及び15のアッセイを行うことができる。

#### 【0269】

##### 1.1 ORPの活性の実証

一例として、短鎖アルコール脱水素酵素の活性を実証するアッセイについて説明する。基質および電子供与体を適切に置換して、他の種類の酸化還元酵素にも実質的に同様の方法が用いられる。ORPの活性は、基質の存在下でのNADPHのNADPへの酸化によって実証される(Kunau および Dommes (1978) Eur. J. Biochem. 91 : 533-544)。限定するものではないが基質には、全-トランス-レチナルデヒド(all-trans-retinaldehyde)およびcis-4- dienoyl-CoAがある。ORPを、60  $\mu$ Mリン酸カリウム(pH 7.4)、125 nM NADPH、および0.2  $\mu$ M CoA(補酵素A)において37°Cで10分間プレインキュベートする。この反応は、好適な基質(12.5~150  $\mu$ Mの最終濃度)を加えて開始する。NADPHのNADPへの酸化による340 nmにおける反応の吸光度の変化を分光光度計を用いて23°Cで測定する。ORPの活性の単位は、1分あたりに生成されたNADPの $\mu$ モルとして表される。反応しないORPをネガティブコントロールとして用いる。

#### 【0270】

別法では、ORPの活性はインスリンの減少を測定してアッセイする。ORPのアリコットを、2  $\mu$ lの50 mM HEPES、pH 7.6、100  $\mu$ g/mlのウシ血清アルブミン、お

および2 mM DTT (全量70 ml)において37 °Cで20分間プレインキュベートする。次に、200 µlのHepes (1 M)、pH 7.6、40 µlのEDTA (0.2 M)、40 µlのNADPH (40 mg/ml)、および500 µlのインスリン(10 mg/ml)からなる反応混合液40 µlを加える。反応は、子ウシ胸腺由来のチオレドキシン還元酵素10 µlを加えて開始させ、37 °Cで20分間インキュベートする。反応速度は、412 nmにおけるNADPHの酸化をモニタリングして測定する。NADPHの酸化はインスリンの減少量に比例する。

### 【0271】

#### 1.2 機能のアッセイ

ORPの機能は、哺乳動物細胞培養系において生理学的に高められたレベルでのORPをコードする配列の発現によって評価する。cDNAを、cDNAを高いレベルで発現する強いプロモーターを含む哺乳動物発現ベクターにサブクローニングする。このようなベクターには、pCMV SPORT™ (Life Technologies.)及びpCR 3.1 (Invitrogen, Carlsbad, CA)が含まれ、どちらもサイトメガロウイルスプロモーターを含んでいる。5 ~ 10 µgの組換えベクターを、例えば内皮由来か造血由来のヒト細胞株にリポソーム製剤或いは電気穿孔法によって一時的に形質移入する。更に、標識タンパク質をコードする配列を含む1 ~ 2 µgのプラスミドを同時に形質移入する。標識タンパク質の発現により、形質移入された細胞と形質移入されていない細胞とを区別できる。また、標識タンパク質の発現によって、cDNAの組換えベクターからの発現を正確に予想できる。このような標識タンパク質には、緑色蛍光タンパク質(GFP; Clontech)、及びCD64またはCD64-GFP融合タンパク質が含まれる。レーザー光学に基づいた技術を利用した自動流動細胞計測法(FCM)を用いて、GFPまたはCD64-GFPを発現する形質移入された細胞を同定し、その細胞のアポトーシス状態や他の細胞特性を評価する。また、FCMで、先行した或いは同時の細胞死の現象を診断する蛍光分子の取り込みを検出して計量する。これらの現象には、プロピジウムヨウ化物でのDNAの染色によって計測される核DNA内容物の変化と、プロモデオキシウリジンの取り込み量の低下によって計測されるDNA合成の下方調節と、特異的な抗体との反応性によって計測される細胞表面及び細胞内のタンパク質の発現の変化と、蛍光複合アネキシンVタンパク質の細

胞表面への結合によって計測される原形質膜組成の変化とが含まれる。流動細胞計測法は、Ormerod, M. G.による (1994) *Flow Cytometry Oxford, New York, NY*に記載されている。

#### 【0272】

遺伝子発現におけるORPの影響は、ORPをコードする配列とCD64またはCD64-GFPのどちらかが形質移入された高度に精製された細胞集団を用いて評価することができる。CD64またはCD64-GFPは形質転換された細胞表面で発現し、ヒト免疫グロブリンG(IgG)の保存された領域と結合する。形質転換された細胞と形質転換されない細胞とは、ヒトIgGがCD64に対する抗体のどちらかで被覆された磁気ビードを用いて分離することができる(DYNAL, Lake Success, NY)。mRNAは、当分野で周知の方法で細胞から精製することができる。ORP及び目的の他の遺伝子をコードするmRNAの発現は、ノーザン分析やマイクロアレイ技術で分析することができる。

#### 【0273】

##### 1.3 ORPに特異的な抗体の作製

ポリアクリルアミドゲル電気泳動法(PAGE ; 例えば、Harrington, M.G. (1990) *Methods Enzymol.* 1816 - 3088-495を参照)または他の精製技術で実質的に精製されたORPを用いて、標準的なプロトコルでウサギを免疫化して抗体を作り出す。

#### 【0274】

別法では、ORPアミノ酸配列をLASERGENEソフトウェア(DNASTAR)を用いて解析して免疫原性の高い領域を決定し、対応するオリゴペプチドを合成してこれを用いて当業者に周知の方法で抗体を生産する。C末端付近の、或いは隣接する親水性領域内のエピトープなどの適切なエピトープの選択については、当分野で周知である(例えば、前出のAusubel, 1995, 11章を参照)。

#### 【0275】

通常、約15残基の長さのオリゴペプチドを、Applied BiosystemsのABI 431Aペプチドシンセサイザー(PE Biosystems)を用いてfmoc法のケミストリにより合成し、N-マレイミドベンゾイル-N-ヒドロキシスクシンイミドエステル(

MBS)を用いた反応によりKLH (Sigma-Aldrich, St. Louis MO)に結合させて、免疫原性を高める(例えば、前出のAusubel, 1995を参照)。フロイントの完全アジュバントにおいてオリゴペプチド - KLH複合体を用いてウサギを免疫化する。得られた抗血清の抗ペプチド活性及び抗ORP活性を検査するには、ペプチドまたはORPを基板に結合し、1%BSAを用いてブロッキング処理し、ウサギ抗血清と反応させて洗浄し、さらに放射性ヨウ素標識されたヤギ抗ウサギIgGと反応させる。

#### 【0276】

##### 1.4 特異的抗体を用いる天然ORPの精製

天然ORP或いは組換えORPを、ORPに特異的な抗体を用いるイムノアフィニティークロマトグラフィにより実質的に精製する。イムノアフィニティークラムは、CNBr-活性化SEPHAROSE (Amersham Pharmacia Biotech)のような活性化クロマトグラフィ用レジンと抗ORP抗体とを共有結合させることにより形成する。結合の後、そのレジンを製造者の使用説明書に従ってブロッキング処理し洗浄する。

#### 【0277】

ORPを含む培養液をイムノアフィニティークラムに通し、ORPを優先的に吸着できる条件で(例えば、界面活性剤の存在下において高イオン強度のバッファーで)そのカラムを洗浄する。そのカラムを、抗体とORPとの結合を切るような条件で(例えば、pH 2~3のバッファー、或いは高濃度の尿素またはチオシアン酸塩イオンのようなカオトロピックイオンで)溶出させ、ORPを回収する。

#### 【0278】

##### 1.5 ORPと相互作用する分子の同定

ORPまたは生物学的に活性なその断片を、<sup>125</sup>I ボルトンハンター試薬(例えば、Bolton A.E.及びW.M. Hunter (1973) Biochem. J. 133:529を参照)で標識する。マルチウェルプレートに予め配列しておいた候補の分子を、標識したORPと共にインキュベートし、洗浄して、標識したORP複合体を有する全てのウェルをアッセイする。様々なORP濃度で得られたデータを用いて、候補分子と結合したORPの数量及び親和性、会合についての値を計算する。

#### 【0279】

別法では、ORPと相互作用する分子を、Fields, S.及びO. Song(1989, Nature 340:245-246)に記載の酵母2 - ハイブリッドシステム (yeast two-hybrid system) やMATCHMAKERシステム(Clontech)などの2 - ハイブリッドシステムに基づいた市販のキットを用いて分析する。

【0280】

ORPはまた、ハイスループット型の酵母2ハイブリッドシステムを使用するPAT HCALLINGプロセス (CuraGen Corp., New Haven CT) に用いて、遺伝子の2つの大きなライブラリによってコードされるタンパク質間の全ての相互作用を決定することができる (Nandabalan, K. 他 (2000) 米国特許第6,057,101号)。

【0281】

当業者は、本発明の範囲及び精神から逸脱することなく本発明に記載した方法及びシステムの種々の改変を行うことができるであろう。特定の好適実施例に基づいて本発明を説明したが、本発明の範囲が、そのような特定の実施例に不当に制限されるべきではないことを理解されたい。実際に、分子生物学或いは関連する分野の専門家には明らかな、本明細書に記載の本発明の実施例の様々な改変は、特許請求の範囲に含まれる。

【0282】

(表の簡単な説明)

表1は、ORPをコードする完全長の配列を作り出すために用いた、ポリペプチド配列及びヌクレオチド配列の配列番号(SEQ ID NO)、クローン識別番号、cDNAライブラリ、及びcDNA断片を示す。

【0283】

表2は、潜在モチーフ及び相同配列を含む各ポリペプチド配列の特徴、並びにORPの解析に用いた方法、アルゴリズム、及び検索可能なデータベースを示す。

【0284】

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

【0285】

表4は、ORPをコードするcDNAクローンを単離したcDNAライブラリの作製に用いた組織を示す。

【0286】

表5は、本発明のポリヌクレオチド及びポリペプチドの分析に用いたツール、プログラム、及びアルゴリズム、並びにその説明、引用文献、閾値パラメーターを示す。

【表1】

表1-1

ポリペプチド SEQ ID NO:	ヌクレオチド SEQ ID NO:	クローン ID	ライブラリ	断片
1	28	543496	OVARNOT02	195237H1 (KIDNNOT02), 849952R1 (NGANNOT01), 2053720R6 (BEPINOT01), 2763095T6 (BRSTNOT12), 4069149H1 (KIDNNOT26), 5190107T6 (OVARIDIT06)
2	29	907607	COLNNOT09	907607H1 (COLNNOT09), 1574381F6 (LNODNOT03), 1921146R6 (BRSTTUT01), 4362192H1 (SKIRNOT01), 4574450T6 (PROSTMT02)
3	30	1290078	BRAINOT11	1290078H1 (BRAINOT11), 1420837F1 (KIDNNOT09), 1615722F6 (BRAITUT12), 1850135F6 (LUNGFET03), 2988862H1 (CARGDIT01), 3323937F6 (PTHYNOT03), 3323937T6 (PTHYNOT03), 4131237H2 (CARGDIT01), 4132810H2 (CARGDIT01)
4	31	1302741	PLACNOT02	1223088R1 (COLNNTUT02), 1302741F6 (PLACNOT02), 1302741H1 (PLACNOT02), 1804982F6 (SINTNOT13), 2946303F6 (BRAITUT23)
5	32	1541028	SINTTUT01	1480786F6 (CORENOT02), 1482929T6 (CORPNOT02), 1541028H1 (SINTTUT01), 1541028R6 (SINTTUT01), 4801884H1 (MYEPUNT01)
6	33	1597687	BRAINOT14	752372R6 (BRAITUT01), 1597687F6 (BRAINOT14), 1597687H1 (BRAINOT14), 2536401F6 (BRAINOT18), SCFA05185V1, SCFA05069V1, SCFA05285V1
7	34	1690348	PROSTUT10	1292558T1 (PGANNOT03), 1690348H1 (PROSTUT10), 2649821F6 (THYMFET02), 3774383F6 (BRSTNOT25), 3774383T6 (BRSTNOT25)
8	35	1865603	PROSNOT19	1865603F6 (PROSNOT19), 1865603H1 (PROSNOT19), 1865603T6 (PROSNOT19), 5288406H1 (LIVRTUS02)
9	36	1976472	PANCTUT02	287078R1 (EOSIHET02), 335109T6 (EOSIHET02), 940458R1 (ADRENOT03), 1556441F1 (BLADTUT04), 1611306F6 (COLNNTUT06), 1976472H1 (PANCTUT02), 2835904F6 (TLYMNOT03), 3942847F6 (SCORNOT04), 4969893H1 (KIDEUNC10), 91745222
10	37	2050821	LIVRFET02	1755049F6 (LIVRTUT01), 1985566R6 (LUNGCAT01), 2050821F6 (LIVRFET02), 2050821H1 (LIVRFET02), SXBC01908V1, SXBC01618V1, 9747347, 9760098
11	38	2408443	BSTMNON02	2408443H1 (BSTMNON02)
12	39	2508668	CONUTUT01	1318620T1 (BLADNOT04), 1444080R1 (THYRNOT03), 1900006F6 (BLADTUT06), 2006550R6 (TESTNOT03), 2508668H1 (CONUTUT01)
13	40	2536830	BRAINOT18	2536830F6 (BRAINOT18), 2536830H2 (BRAINOT18), 2717227F6 (THYRNOT09), 4328825F6 (KIDNNOT32), g3804081

【表2】

表1-2

ポリペプチド SEQ ID NO:	ヌクレオチド SEQ ID NO:	クローン ID	ライブラリ	断片
14	41	2645179	OVARTUT03	1272506HI (TESTTUT02), 2467552F6 (THYRN0T08), 2467552T6 (THYRN0T08), 2645179HI (OVARTUT03), 2729444T6 (OVARTUT05), 3035294T6 (TYMNOT05), 3220640HI (COLNNO03), 4606226HI (BRSTNOT07), 5671416HI (BONEUNT01)
15	42	2754425	THP1AZS08	804309R6 (BRAVXT05), 804309T6 (BRAVXT05), 926499T6 (BRAINOT04), 2754425HI (THP1AZS08), 3187631HI (THYMNNO04), 3244042F6 (BRAINOT19), 51231122, 91958528
16	43	2821526	ADRETUT06	288961F1 (EOSIHET02), 2821526HI (ADRETUT06), 3111638HI (BRSTNOT17)
17	44	2876494	THYRN0T10	619236R6 (PGANN0T01), 2876494F6 (THYRN0T10), 2876494HI (THYRN0T10), 5875710HI (BRAUN0T01), SCMA05016V1
18	45	3403225	ESOGNOT03	859412R1 (BRAITUT03), 859412T1 (BRAITUT03), 2618006HI (GELANOT01), 3403225F6 (ESOGNOT03), 3403225HI (ESOGNOT03), 305556R6 (HEARN0T01), 1988284R6 (LUNGAST01), 2967845HI (SCORN0T04), 3322082HI (PTHYNOT03), 3495233HI (ADRETUT07), 4163943X300V1 (BRSTNOT32), 4691781HI (BRAENOT02), 5423053HI (PROSTMT07)
19	46	4163943	BRSTNOT32	
20	47	4293484	BRABDIR01	570083R6 (MMLR3DT01), 3775144F6 (BRSTNOT27), 3841966HI (DENDNOT01), 3845372HI (DENDNOT01), 4293484HI (BRABDIR01), 1283458T6 (COLNNOT16), 1671936F6 (BLADNOT05), 1671936T6 (BLADNOT05), 4174920HI (SINTNOT21), 4901660HI (OVARDIT01), SAQA00885F1
21	48	4440080	SINTNOT22	
22	49	5495687	BRABDIR01	065572HI (PLACNOB01), 364481R6 (PROSN0T01), 964976T1 (BRSTNOT05), 2204888F6 (SPLNFET02), 5495687HI (BRABDIR01), 1217512T1 (NEUTGWT01), 1575649F1 (LNODNOT03), 2364831T6 (ADREN0T07), 3144524HI (HNT2AZS07), SBZA04875V1, SBZA03722V1, SBZA05758V1
23	50	5527735	KIDNNOT34	
24	51	5540437	KIDNFEC01	5540437HI (KIDNFEC01), 703559HI (SYNORAT04), 898596R1 (BRSTTUT03), 1302747F6 (PLACNOT02), 1318515F1 (BLADNOT04), 1555032X12C1 (BLADTUT04), 1555177X14C1 (BLADTUT04), 1996026R6 (BRSTTUT03), 3356064HI (PROSTTUT16)

【表3】

表 1 - 3

ポリペプチド SEQ ID NO:	ヌクレオチド SEQ ID NO:	クローン ID	ライブラリ	断片
25	52	5596281	COLCDIT03	985513R1 (LVENNOT03), 2862380F6 (SININOT03), 4255173F6 (BSCNNOT03), 4255173T6 (BSCNNOT03), 5596281H1 (COLCDIT03)
26	53	5731013	KIDCTMT01	1451660F6 (PENITUT01), 1495213T1 (PROSNON01), 2131940R6 (OVARNOT03), 2728885H1 (OVARUT05), 5731013H1 (KIDCTMT01)
27	54	5731162	KIDCTMT01	1229428X19 (BRAITUT01), 1238311X14R1 (LUNGTUT02), 1257633F1 (MENITUT03), 1810038T6 (PROSTUT12), 3591284H1 (293TF5T01), 5731162H1 (KIDCTMT01), 5866723H1 (COLTDIT04)

【表 4】

ポリペプチド SEQ ID NO:	アミノ酸 残基数	潜在的リン酸化部位	潜在的グリコ シル化部位	シグネチャ (signature) 配列, ドメイン及びモチーフ	相同配列	分析方法及び データベース
1	468	S28 T34 T192 T273 S283 S299 T410 S23 S84 S160 S327 T414 Y141	N222	シグナルペプチド: M1-P16 ub:II/C006 モノオキシゲナーゼ: D37-H50, K202-L236, A362-L389 オキシドレダクターゼ モチーフ: D37-S55, D37-S295, D339-A466 芳香環 ヒドロキシラーゼ モチーフ: D37-H59, Q200-R215, R358-L389 フラビンタンパク質 ファミリー: G255-F297, P332-L424, V335-L424	推定VISC ユビキリン モノオキシゲナーゼ [織虫] g208820	BLAST-GenBank SPSCAN BLIMPS-BLOCKS BLIMPS-PRINTS BLAST-DOMO BLAST-PRODOM MOTIFS
2	254	T140 S163 T184 T4 T31 S71 T219		NiFU ファミリー: S163-Y241 NiFU シグネチャ: Y202-L220	窒素固定NiF U様 タンパク質 [シロイヌ ナズナ] g4538920	BLAST-GenBank BLIMPS-PFAM BLAST-DOMO MOTIFS
3	555	S6 S10 T52 T103 T172 S213 S490 S66 T190 S270 T351 T365 S506 T521	N148	シグナルペプチド: M1-A40 D-アミノ酸オキシターゼ: R26-A38 芳香環 ヒドロキシラーゼ モチーフ: R26-F48 フラビン含有アミノキシターゼ シグネチャ: R26-E45 フラビン含有モノオキシゲナーゼ モチーフ: R26-K41	ポリアミノキシターゼと 相同な推定 Os タンパク質 [シロイヌナズナ] g5123566	BLAST-GenBank SPSCAN BLIMPS-BLOCKS BLIMPS-PRINTS MOTIFS

【表5】

表2-2

ポリペプチド SEQ ID NO:	アミノ酸 残基数	潜在的リン酸化部位	潜在的グリコ シル化部位	シグネチャ(signature)配列, ドメイン及びモチーフ	相同配列	分析方法及び データベース
4	337	S337 T54 S142 S151 S171 S173 T12 T148 S301 S305 S322	N69	シグナルペプチド: M1-R36 ジヒドロオロターゼ デヒドロゲナーゼ モチーフ: L202-H211		SPSCAN BLIMPS-BLOCKS MOTIFS
5	109	S75		シグナルペプチド: M1-A55 リパーゼ/アシルヒドロラーゼ モチーフ: D87-N92 β-ヒドロキシラーゼ モチーフ: G7-L101	β-ヒドロキシラーゼ [放線菌] g507319	BLAST-GenBank SPSCAN BLIMPS-PFAM BLAST-PRODOM MOTIFS
6	385	S355 T37 S55 T99 T218 T275 S337 S346 S15 T54 S82 T190 S354		オキシドレダクターゼ モチーフ: V66-S110	推定オキシドレダクターゼ [放線菌 A3(2)] g3218376	BLAST-GenBank BLIMPS-PRODOM MOTIFS
7	312	T48 T266 S25 T32 S44 S77 S80 S91 S116 T209 S215	N218	シグナルペプチド: M1-G17 オキシドレダクターゼ FAD/NAD 結合ドメイン: S189-G296, L279-P287, F90-W311 フェノールヒドロキシラーゼ レダクターゼ ファミリー: F92-G104, V173-A192, L279-P287 モリブドプテリン オキシドレダクターゼファミリー: S75-P236	フェノールヒドロキシラーゼ コンポーネント [アシネトバクター- カルコアセチキクス] g535285	BLAST-GenBank SPSCAN BLIMPS-PRINTS HMIMER-PFAM BLAST-PRODOM BLAST-DOMO MOTIFS

【表6】

表 2 - 3

ポリペプチド SEQ ID NO:	アミノ酸 残基数	潜在的リン酸化部位	潜在的グリコ シル化部位	シグネチャ(signature)配列, ドメイン及びモチーフ	相同配列	分析方法及び データベース
8	160	S22 S47 T65 T44 S47 Y157		エストラジオール環開裂 ジオキシゲナーゼタンパク質: D39-H61, T133-V154 リボキシゲナーゼ Fe結合 領域タンパク質: W23-D39 ミトコンドリアのP450 シグネチャ: C33-T44	ピフェニル1-2,3 -ジオール 1,2-ジオキシゲナーゼ Ⅲ-関連タンパク質 [ヒプリオ菌] g9657727	BLIMPS-BLOCKS BLIMPS-PRINTS MOTIFS
9	487	T237 S9 T24 T216 S248 T284 S342 T396 S404 S478 S9 S169 S196 S384	N167 N215 N394 N476	シトクロムb5へム結合 ドメインフアミリン: E22-P99, H31-H78, Y45-H55, H55-D69, T323-P344, A364-E407 シトクロムb5レダクターゼ シグネチャ: L269-K280, K290-G297, F360-L379, D398-L409, L465-P463 オキシドレダクターゼ FAD 結合ドメイン: L356-L472 真核性の モリブドリンレダクターゼ タンパク質: P56-R94, D381-E407, K451-G468, G244-H483, K249-P461	推定オキシドレダクターゼ [線虫] g3881161	BLAST-GenBank HMMER-PFAM PROFILES CAN BLIMPS-BLOCKS BLIMPS-PRINTS BLAST-PRODOM BLAST-DOMO MOTIFS

【表7】

表 2 - 4

ポリペプチド SEQ ID NO:	アミノ酸 残基数	潜在的リン酸化部位	潜在的グリコ シル化部位	シグネチャ (signature) 配列, ドメイン及びモチーフ	相同配列	分析方法及び データベース
10	524	T277 T68 S139 S187 T224 S305 S314 T106 S186 S388	N112 N168	シグナルペプチド: M1-A32 膜貫通ドメイン: M16-L35 シトクロムP450 M1-Q49, A113-L512, L48-256, P52-L519, Y440-R490, F458-F489 エクラスP450グループII シグネチャ: G141-K161, L197-Q215, D317-K363, Q377-F397, G417-E448, P455-F491 エクラスP450グループIV シグネチャ: L378-P394, H428-D446, C468-L486 ミトコンドリアのP450 シグネチャ: G328-A345, R346-Q359, A376-P394, I459-K479	ロイコトリエンB4 $\omega$ ヒドロキシラーゼ [ヒト] g1857022	BLAST-GenBank HMMER SPSCAN HMMER-PFAM PROFILES SCAN BLIMPS-BLOCKS BLIMPS-PRINTS BLAST-PRODOM BLAST-DOMO MOTIFS
11	144	S12 S58 T127		シグナルペプチド: M1-G13 グルタレドキシシタンパク質: V2-L20 陰イオン交換体: A39-I110 カビ Zn/Oys 二核 クラスターシグネチャ: S9-K15	推定ヒ酸塩レダクターゼ [枯草菌] g2635777	BLAST-GenBank SPSCAN HMMER-PFAM PROFILES SCAN BLIMPS-PRINTS MOTIFS

【表 8】

表 2 - 5

ポリペプチド SEQ ID NO:	アミノ酸 残基数	潜在的リン酸化部位	潜在的グリコ シル化部位	シグネチャ (signature) 配列, ドメイン及びモチーフ	相同配列	分析方法及び データベース
12	373	T238 S268 T330 S355 T137 S225 S360 S366	N118 N190	シグナルペプチド: M1-S32 Znアルコーテルヒドロゲナーゼ シグネチャ: A36-T372, D72-N88, K56-L340, V73-A359, S85-T137, P101-V128 ミトコンドリア共用呼吸機能 及び転写因子モチーフ: R44-P343, S35-D352	Zn-結合ヒドロゲナーゼ NRBF-1と相同な核受容体 結合因子「ドブネズミ」 g3970880 Masuda, N 他 (1998) Gene 221:225-233	BLAST-GenBank SPSCAN PROFILES SCAN HMMER-PFAM BLAST-DOMO BLAST-PRODOM BLIMPS-BLOCKS MOTIFS
13	305	T152 T166 T199 T218 T224 T38 S58 S250		リンゴ酸ヒドロゲナーゼ: P131-T300 NADH-ユビキノン/プラストキノン: K126-T137 フタル酸ジオキシゲナーゼ レダクターゼシグネチャ: F223-R232	マレート ヒドロゲナーゼ [単包葉虫] g3386331	BLAST-GenBank BLAST-DOMO BLIMPS-PFAM BLIMPS-PRINTS MOTIFS
14	500	S279 T24 S136 T183 S226 T259 S349 S394 S432 T465 S483 T194 S252 Y127	N480	シグナルペプチド: M1-Q25 ロイシンジッパー: L467-L488 GMCオキシドレダクターゼ: K12-A30 FAD-依存性ピリジヌクレオチド とクラス-I ジスルフィド ヌクレオチドレダクターゼ シグネチャ: K12-P34, D311-P325, I353-C360	推定オキシド レダクターゼ [線虫] g3874510	BLAST-GenBank SPSCAN BLIMPS-BLOCKS BLIMPS-PRINTS MOTIFS

【表9】

冊 2 - 6

ポリペプチド SEQ ID NO:	アミノ酸 残基数	潜在的リン酸化部位	潜在的グリコ シル化部位	シグネチャ (signature) 配列, ドメイン及びモチーフ	相同配列	分析方法及び データベース
15	369	S138 S52 T117 S335 S24 T250 S256 Y155	N211	$\beta$ -ヒドロキシラーゼ: V188-1364	$\beta$ ヒドロキシラーゼ [放線菌] g507319	BLAST-GenBank BLAST-PRODOM MOTIFS
16	145	T73 S92 T99 T104 T129 T130	N116		MADH: ユビキノンオキシド レダクタゼ b17.2サブユニット[ウシ] g4006932	BLAST-GenBank MOTIFS
17	255	T61 S129 T130 S193 T25 T76 T120 T157	N45	シグナルペプチド: M1-T25, M1-A30 膜貫通ドメイン: G229-L249 PEP-利用可能酵素 シグネチャ: L228-G235		HMMER SPSCAN BLIMPS-BLOCKS MOTIFS
18	246	S21 T55 S104 T187 S208 S221	N227 N235	膜貫通ドメイン: M1-A19 短鎖ADHファミリ-: V43-L241, T33-P222, K117-V128 グルコース/リピトール デヒドロゲナーゼファミリ-: V41-E58, K117-V128	アンドロゲン-調節短鎖 デヒドロゲナーゼ/ レダクタゼ1 [ヒト] g9622124	BLAST-GenBank HMMER HMMER-PFAM BLIMPS-PRINTS BLAST-DOMO MOTIFS
19	467	T105 S118 S141 T190 S239 S426 S452 S39 T80 T145 T212 T393 T406 S463	N83	Fe-ADHファミリ-: V51-T253, S52-I336, G57-Y251, S264-M464, V184-E193, I307-E378, G274-L456 AIP/GTP結合部位 (Pループ): G35-142	推定タイプIIIアルコール デヒドロゲナーゼ [シヨウジョウバエ] g2431772	BLAST-GenBank HMMER-PFAM BLIMPS-BLOCKS PROFILESCAN BLAST-PRODOM BLAST-DOMO MOTIFS

【表 10】

表 2 - 7

ポリペプチド SEQ ID NO:	アミノ酸 残基数	潜在的リン酸化部位	潜在的グリコ シル化部位	シグネチャ (signature) 配列, ドメイン及びモチーフ	相同配列	分析方法及び データベース
20	317	S76 T97 S215 S297 T283 Y99	N276	ロインジツパー: L246-L267 3-β-ヒドロキシステロイド デヒドロゲナーゼ: M1-T313, V11-E33, G56-Q310, H88-T140, A170-R214, Y270-Q317 UDP-グルコースエピメラゼ L10-D43, G56-Q310	タイプIVβ-ヒドロキシ ステロイド デヒドロゲナーゼCGA2 [ドブネズミ] g2563999 Hayashi, Y他(1997) Biochim. Biophys. Acta 1352:145-150	BLAST-GenBank HMMER-PFAM BLIMPS-PFAM BLAST-DOMO BLAST-PRODOM MOTIFS
21		S10 S56		シグナルペプチド: M1-A63 グルコース/リビトール デヒドロゲナーゼファミリー: S10-L21, E59-G75, Y87-R106, T110-A127, E143-T163 短鎖ADHファミリー: M1-Q125, S10-G20, G65-M73, S74-R102, Y87-R106, I67-E104, H111-G120, G65-G120, I5-T163	アンテナナ-特異短鎖 デヒドロゲナーゼ/ レダクターゼ [シヨウジョウバエ] g4530425	BLAST-GenBank SPSCAN HMMER-PFAM BLIMPS-PRINTS BLIMPS-BLOCKS PROFILESKAN BLAST-DOMO MOTIFS
22	361	T86 T149 T183 T295 T306 S39 S169 S172 T189 S254 T280 T286 T341 S346	N165 N181 N187 N194 N206 N278 N293	シグナルペプチド: M1-G32, M1-V35 膜貫通ドメイン: D323-I342 チオレドキシニンファミリー: T211-W219, W219-P228 EクラスP450グループII シグネチャ: H66-G83	チオレドキシニン[肝臓] g6492215	HMMER SPSCAN BLIMPS-PRINTS MOTIFS

【表 1 1】

表 2 - 8

ポリペプチド SEQ ID NO:	アミノ酸 残基数	潜在的リン酸化部位	潜在的グリコ シ化部位	シグネチャ(signature)配列, ドメイン及びモチーフ	相同配列	分析方法及び データベース
23	477	T140 T12 S67 T79 S90 S161 S165 S254 T273 S287 S304 T449 T58 T135 T211 S310 T340 Y49		Feヒドロゲナーゼファミリー: Q89-Q405, A104-Q405 四シスルフィド架橋: K381-P386	ヒドロゲナーゼ様含有物 [細菌] g7332095	BLAST-GenBank BLAST-PRODOM BLAST-DOMO BLIMPS-BLOCKS MOTIFS
24	621	S337 S602 S60 S185 T197 S237 T462 S493 T522 S584 S84 S191 S302 T328 T449 S553 Y506	N208	アシルCoAデヒドロゲナーゼ シグネチャ: R85-L438, E130-A437, L104-E114, Y205-G217, G253-F293, M307-E357, E396-L438, L180-G236, A379-I431, R37-L155, E52-G440, Q399-D418	超長鎖アシル-CoA デヒドロゲナーゼ [ハツカネズミ] g2765125	BLAST-GenBank HMMER-PFAM PROFILESCAN BLIMPS-BLOCKS BLAST-PRODOM BLAST-DOMO MOTIFS
25	246	S70 T89 S184 T213 T60 S137 T149 T208 Y49	N39 N130	シグナルペプチド: M1-A21 グルコース/リビトール デヒドロゲナーゼファミリー: V8-A25, E73-F84, M120-S136, Y147-I166, Q168-L185, K207-D227, オキシドレダクターゼドメイン: V146-G242 短鎖ADHファミリー: M1-P183, L4-W243, E73-F84, G126-G178, Y147-I166	3-オキシアシル-(アシル キャリアータータンパク質) レダクターゼ [超好熱菌] g4982301	BLAST-GenBank SPSCAN HMMER-PFAM BLIMPS-BLOCKS PROFILESCAN BLIMPS-PRINTS BLAST-PRODOM BLAST-DOMO MOTIFS
26	160	S93 S108 T2 S39 T134 T139		シグナルペプチド: M1-G20 チオエステラーゼドメイン タンパク質: R114-I126	推定MADH-ユビキノ ン オキシドレダクターゼ B8サブユニット [線虫] g3874440	BLAST-GenBank SPSCAN BLIMPS-PFAM MOTIFS
27	292	S25 S54 T55 S72 S120 S199 S253	N251	根粒形成ヒドロラーゼ: V232-G242		BLIMPS-PRODOM MOTIFS

【表12】

表3-1

ヌクレオチド SEQ ID NO:	選択された断片	免疫組織 (割合)	疾患または病態 (割合)	ベクター
28		生殖 神経 胃腸 泌尿器 (0.341) (0.136) (0.114) (0.114)	癌 細胞増殖 炎症 外傷 (0.477) (0.182) (0.136) (0.136)	PSPORT1
29	1-215	生殖 胃腸 心血管 (0.237) (0.184) (0.171)	癌 細胞増殖 外傷 (0.592) (0.171) (0.105)	PSPORT1
30	1-259 416-1039	神経 生殖 心血管 (0.294) (0.176) (0.137)	癌 炎症 細胞増殖 (0.373) (0.235) (0.176)	PINCY
31	229-315	造血/免疫 神経 胃腸 生殖 (0.250) (0.250) (0.125) (0.125)	炎症 癌 細胞増殖 (0.562) (0.438) (0.188)	PINCY
32	427-498	神経 造血/免疫 (0.667) (0.111)	癌 炎症 細胞増殖 (0.333) (0.333) (0.278)	PSPORT1
33	314-357 428-481 911-1024	神経 胃腸 生殖 (0.256) (0.154) (0.128)	癌 炎症 細胞増殖 (0.436) (0.256) (0.231)	PINCY
34	194-664 1011-1134	生殖 神経 造血/免疫 (0.231) (0.231) (0.154) (0.154)	癌 外傷 細胞増殖 (0.402) (0.231) (0.154)	PINCY
35	1-177	胃腸 生殖 (0.750) (0.250)	癌 細胞増殖 外傷 (0.250) (0.250) (0.250)	PINCY
36	645-911	胃腸 生殖 造血/免疫 (0.250) (0.250) (0.167)	癌 炎症 外傷 (0.528) (0.306) (0.111)	PINCY

【表13】

冊3-2

スクレオチド SEQ ID NO.	選択された断片	発現組織 (割合)	疾患または病態 (割合)	ペクター
37		胃腸 生殖 泌尿器 神経 (0.405) (0.262) (0.119) (1.000)	痛 炎症 外傷 (0.524) (0.262) (1.000)	PINCY PSPORT1
38	1-79 173-215 440-549	生殖 胃腸 神経 (0.300) (0.160) (0.120)	癌 炎症 細胞増殖 (0.420) (0.280) (0.200)	PINCY
39		心血管 発生 内分泌 胃腸 生殖 泌尿器 神経 (0.143) (0.143) (0.143) (0.143) (0.143) (0.143) (0.143)	外傷 細胞増殖 炎症 神経 (0.429) (0.286) (0.143) (0.143)	PINCY
40	1-304 572-1196	生殖 胃腸 神経 (0.308) (0.154) (0.115)	痛 細胞増殖 炎症 (0.538) (0.192) (0.192)	PINCY
41	448-765 1039-1926	心血管 造血/免疫 胃腸 神経 (0.538) (0.154) (0.154)	痛 細胞増殖 炎症 (0.385) (0.154) (0.154)	PSPORT1
42	490-849 1072-1152	生殖 胃腸 神経 (0.316) (0.137) (0.137)	痛 細胞増殖 炎症 外傷 (0.463) (0.232) (0.168)	PINCY
43	1-38	生殖 胃腸 神経 (0.500) (0.167) (0.167)	痛 細胞増殖 炎症 外傷 (0.333) (0.333) (0.167) (0.167)	PINCY
44	243-539 555-1352	内分泌 筋骨格 胃腸 (0.167) (0.167) (0.167)	痛 細胞増殖 炎症 外傷 (0.333) (0.333) (0.167) (0.167)	PINCY

【表14】

表 3-3

スクレオチド SEQ ID NO:	選択された断片	発現組織 (割合)	疾患または病態 (割合)	ベクター
45	1-27-171	胃腸 生殖 神経 (0.500) (0.250) (0.250)	癌 炎症 (0.750) (0.250)	PINCY
46	1-80 300-338 792-833	生殖 神経 心血管 (0.239) (0.171) (0.143)	癌 炎症 外傷 (0.400) (0.257) (0.171)	PINCY
47	465-527 612-692 810-968	神経 生殖 胃腸 造血/免疫 (0.211) (0.211) (0.158) (0.158)	癌 炎症 細胞増殖 (0.474) (0.368) (0.105)	PINCY
48	655-1305	胃腸 生殖 神経 (0.412) (0.206) (0.118)	癌 炎症 外傷 (0.471) (0.235) (0.206)	PBLUESC RIPT
49	1-69 1397-1459	生殖 神経 発生 (0.361) (0.194) (0.111)	癌 炎症 細胞増殖 (0.389) (0.250) (0.222)	PINCY
50	1-51 1-57-198 246-2101	生殖 神経 造血/免疫 (0.235) (0.216) (0.157)	癌 炎症 細胞増殖 (0.353) (0.275) (0.255)	PINCY
51	1005-1073 233-1328	生殖 神経 胃腸 (0.247) (0.195) (0.143)	癌 炎症 細胞増殖 (0.442) (0.273) (0.156)	PINCY
52	1-82	生殖 神経 胃腸 (0.255) (0.181) (0.138)	癌 炎症 細胞増殖 (0.447) (0.191) (0.138)	PINCY
53	1-94	生殖 神経 胃腸 (0.327) (0.143) (0.102)	癌 細胞増殖 炎症 (0.510) (0.204) (0.204)	PINCY
54	1-469 998-1624	生殖 神経 心血管 (0.328) (0.197) (0.180)	癌 炎症 (0.633) (0.213)	PINCY

【表 15】

ヌクレオチド SEQ ID NO:	ライブラリ	ライブラリの説明
28	OVARN0T02	ライブラリは、心筋梗塞で死亡した59歳の白人女性の卵巣組織より単離したRNAを用いて作製した。病歴には、心筋症、冠状動脈疾患、前心筋梗塞、)高コレステロール血症、高血圧、及び節炎があった。
29	COLNNO109	ライブラリは、60歳の白人男性の結腸組織から単離したRNAを用いて作製した。
30	BRAINOT11	ライブラリは大脳半球切除の際に5歳の白人男性の右側頭葉の脳組織より単離したRNAを用いて作製された。病理学的には、激しい多小脳回症を示し、また慢性発作疾患と一致する(軟膜下及び皮質下で優勢な)グリオシスを緩和するためには弱かった。家族歴には頸部新生物があつた。
31	PLACNO102	ライブラリは、妊娠21週で早産したヒスパニック系の女胎児の胎盤組織から単離したRNAを用いて作製した。母親の血液の血清は、CMV(サイトメガロウイルス)に陽性である。
32	SINTTUT01	ライブラリは、42歳の白人男性の小腸腫瘍組織から単離したRNAを用いて作製した。回腸中にカルチノイド腫瘍が確認された。患者の病歴には良性高血圧があつた。家族歴には、良性高血圧、脳血管障害、前立腺の悪性腫瘍及び結核が含まれる。
33	BRAINOT14	ライブラリは、年齢40歳の白人女性の左前葉の脳組織から単離したRNAを用いて作製した。関連腫瘍組織の病変は、グレード4大円形細胞性星状膠腫を示していた。
34	PROSTUT10	ライブラリは、66歳白人男性の前立腺腫瘍組織から単離したRNAを用いて作製した。病理学的には、腺癌を示していた。患者には、前立腺特異的抗原(PSA)の上昇も見られた。家族歴には、前立腺癌及び2次骨癌が含まれていた。
35	PROSNOT19	ライブラリは、59歳白人男性の病変前立腺組織から単離したRNAを用いて作製した。病理学的には、腺線維筋腫性過形成である。病理学的には、関連腫瘍組織は腺癌を示していた。患者の症状は、前立腺特異抗原(PSA)の上昇を示した。患者の病歴には、結腸癌、石綿肺症、および血栓性静脈炎があつた。家族歴には、良性高血圧及び多発骨髄腫、高脂血症、リウマチ様関節炎が含まれる。

【表 16】

【表 1 7】

ヌクレオチド SEQ ID NO:	ライブラリ	ライブラリの説明
36	PANCTUT02	ライブラリは、年齢 4 5 歳の白人女性の膀胱腫瘍組織から単離された RNA で作製した。病変は、未分化癌を示していた。家族歴には、良性高血圧症、高脂血症、及びアテローム性冠状動脈疾患があった。
37	LIVRFET02	ライブラリは、妊娠 20 週目で死亡した白人女胎児の肝臓組織から単離した RNA を用いて作製した。家族歴には、最初の三半期中における母体の気管支炎に対する 7 日間のエリスロマイシン治療が含まれる。
38	BSTMN02	この標準化された脳幹ライブラリはある脳幹ライブラリからの独立したクローン 2、8 4 × 1 0 <sup>6</sup> 個から作製した。開始 RNA は心筋梗塞で死亡した 7 2 歳の白人男性の脳幹組織より作製された。患者の病歴には冠状動脈疾患、インシュリン依存性の糖尿病、及び関節炎を含む。ノーマライゼーション及びハイブリダイゼーション条件は Soares ら (PNAS (1994) 91:9228) と適合させた。
39	CONUTUT01	ライブラリは、61 歳の白人女性の S 状腸間膜腫瘍組織から単離した RNA を用いて作製した。病理学的には、S 状腸間膜の 2 ケ所における転移性悪性ニューラー混合腫瘍であった。
40	BRAIN0T18	ライブラリは、3 4 歳の白人男性の側頭葉脳組織から単離された RNA で作製した。関連腫瘍組織の病変は、転移性悪性黒色腫を示した。腫瘍細胞は HBM-45 を強く発現した。患者の病歴は躯幹の皮膚の悪性黒色腫が含まれる。家族歴には、肝臓癌、急性心筋梗塞、アテローム性冠状動脈疾患、及び脳血管疾患が含まれる。
41	OVARTUT03	ライブラリは、5 2 歳の混血女性の左卵巢の卵巢腫瘍組織から単離した RNA を用いて作製した。病理学的には、左卵巢に腫瘍を形成している seroanaplastic 浸潤癌である。両卵巢と卵管及び子宮の表面に複数の移植組織が存在していた。病変は、網、胃管腹膜、左広間膜腹膜、及び結腸間膜を含む転移性 seroanaplastic 浸潤癌も示した。患者の病歴には、乳癌及び慢性消化性潰瘍、関節痛がある。家族歴には、大腸癌及び脳血管障害、乳癌、II 型糖尿病、食道癌、抑うつ障害が含まれる。

【表 1 8】

ヌクレオチド SEQ ID NO:	ライブラリ	ライブラリの説明
42	THPIAZS08	このサブトラクトされたライブラリは、5-アザ-2'-デオキシシチジン (AZ) で処理した THP-1 (前単球) 細胞ライブラリから作製した。開始の RNA は、0.8 μM の AZ で 3 日間処理した THP-1 前単球細胞から作製した。サブトラクションのためのハイブリッド形成プロトコルは、未処理の THP-1 細胞から単離した RNA から派生したものである。AZ 処理した THP-1 細胞ライブラリから得た 5.76 × 10 <sup>6</sup> 個のクロノンは次に、未処理の THP-1 細胞から採取した 5 × 10 <sup>6</sup> 個のクロノンで 2 回のサブトラクティブハイブリダイゼーションにかけた。サブトラクティブハイブリダイゼーション条件は、Swaroop ら, Nuc. Acids Res. (1991) 19:1954 及び Bonaldo ら, Genome Research (1996) 6:791 の方法論に基づいた。THP-1 (ATCC TIB 202) は、急性単球白血病を患う 1 歳白人男児の末梢血液由来のヒト前単球線である。
43	ADRETU06	ライブラリは、57 歳の白人女性の副腎腫瘍組織から単離した RNA を用いて作製した。病理学的には、副腎の髄質に完全に置換した小結節腫瘍を形成している褐色細胞腫を示していた。
44	THYRN0T10	ライブラリは、30 歳の白人女性の病変左甲状腺組織から単離した RNA を用いて作製した。病理学的には、リンパ球性甲状腺炎を示していた。
45	ESOGN0T03	ライブラリは、53 歳の白人男性の食道組織から単離した RNA を用いて作製した。患者の病歴には、膜性腎炎、高脂血症、良性高血圧症、及び不安状態が含まれる。家族歴には、アテローム硬化性冠状動脈疾患、硬変症、腹部大動脈瘤破裂、乳癌、及び心筋梗塞が含まれる。
46	BRSTN0T32	ライブラリは、46 歳白人女性の病変右乳房組織から単離した RNA を用いて作製した。病理学的には、非増殖性の線維嚢胞症であった。家族歴には、乳癌及び良性高血圧、アテローム硬化性冠状動脈疾患があった。
47	BRABDI R01	ライブラリは、脳血管発作で死亡した 57 歳白人男性の病変脳血管組織から単離した RNA を用いて作製した。
48	SINTN0T22	ライブラリは、非開放性頭部損傷で死亡した 15 歳白人女性の小腸組織から単離した RNA を用いて作製した。血清学的にはサイトメガロウイルスに対して陽性であった。患者の病歴には、季節性アレルギー及びマリファナ使用が含まれる。

ヌクレオチド SEQ ID NO:	ライブラリ	ライブラリの説明
49	BRABDIR01	ライブラリは、脳血管発作で死亡した57歳白人男性の脳の病変脳血管組織から単離したRNAを用いて作製した。
50	KIDNNT034	ライブラリは頭蓋内出血で死亡した8歳の白人男性の左腎臓組織より単離したRNAを用いて作製された。血清学的には陰性であった。
51	KIDNFEC01	ライブラリは自発的な19~23週目の胎児の妊娠中絶による12人の白人の男及び女の胎児のプーラからの腎臓組織より単離したRNAを用いて作製された。
52	COLCIT03	ライブラリは、67歳の女性の盲腸の病変結腸ポリープ組織より単離したRNAを用いて作製した。病理学的には、良性盲腸ポリープを示していた。関連する腫瘍組織は、病理学的には盲腸内にて腫瘍 (fungating mass) を形成する乳頭状腺腫中に生じる浸潤性グレード3腺癌を示していた。
53	KIDCTMT01	ライブラリは65歳の男性の腎皮質組織より単離したRNAを用いて作製された。関連する腫瘍組織は、腎臓及び腎被膜の中央部に腎細胞腫を示していた。
54	KIDCTMT01	ライブラリは65歳の男性の腎皮質組織より単離したRNAを用いて作製された。関連する腫瘍組織は、腎臓及び腎被膜の中央部に腎細胞腫を示していた。

【表 19】

【表 2 0】

プログラム名	説明	引用文献	パラメータ-閾値
ABI FACTURA	核酸配列においてベクター配列を除去して不足の塩基をマスクするプログラム。	Applied Biosystems, Foster City, CA.	
ABI/PARACEL FDF	Fast Data Finder は、アミノ酸または核酸配列の比較及び注釈付け (annotation) に有用である。	Applied Biosystems, Foster City, CA.; Paracel Inc., Pasadena, CA.	不一致<50%
ABI AutoAssembler	核酸配列を構築するプログラム。	Applied Biosystems, Foster City, CA.	
BLAST	Basic Local Alignment Search Tool は、アミノ酸及び核酸配列の配列類似性検索に有用であり、blastp 及び blastn、blastx、tblastn、tblastx の 5 つのファンクションがある。	Altschul, S.F. 他 (1990) J. Mol. Biol. 215:403-410; Altschul, S.F. 他(1997)Nucleic Acids Res. 25: 3389-3402.	ESTs : 確率値=1.0E-8 以下 完全長配列 : 確率値=1.0E-10 以下
FASTA	Pearson 及び Lipman アルゴリズムは、間合わせの配列と同種の配列群との類似性を検索する。FASTA は、fasta 及び tfasta、fastx、tfastx、ssearch の少なくとも 5 つのファンクションを含む。	Pearson, W.R. and D.J. Lipman (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:2444-2448; Pearson, W.R.(1990) Methods Enzymol. 183: 63-98; Smith, I.F. and M. S. Waterman (1981) Adv. Appl. Math. 2:482-489.	ESTs : fasta E 値=1.06E-6 構築された ESTs : fasta 同一性 =95%以上、一致長さ=200 塩基以上、fastx E 値=1.0E-8 以下 完全長配列 : fastx スコア=100 以上
BLIMPS	Blocks Improved Searcher は、BLOCKS 及び PRINTS、DOMO、PRODOM、PFAM データベースにおける配列に対して、ある配列の一致性を調べ、遺伝子ファミリー及び配列相同性、構造的フィンガープリント領域を探索する。	Henikoff, S and J.G. Henikoff, Nucl. Acid Res., 19:6565-72, 1991. J.C.; Henikoff and S. Henikoff (1996) Methods Enzymol. 266:88-105; Artwood, T.K. 他 (1997) J. Chem. Inf. Comput. Sci. 37: 417-424.	確率値=1.0E-3 以下
HMMER	PFAM などのタンパク質ファミリーコンセンサス配列の隠れマルコフモデル(HMM)に基づいたデータベースに対して問合せ配列を検索するアルゴリズム。	Krogh, A. 他 (1994) J. Mol. Biol. 235:1501-1533; Sonnhammer, E.L.L. 他 (1998) Nucleic Acids Res. 26:320-322; Durbin, R. 他 (1998) Our World View, in a Nutshell, Cambridge Univ. Press, pp. 1-350.	PFAM ヒットの 確率値=1.0E-3 以下

【配列表】

プログラム名	説明	引用文献	パラメータ-閾値
ProfileScan	Prosites で定義された配列パターンと一致するタンパク質配列における構造及び配列のモチーフを検索するアルゴリズム。	Gribskov, M. 他 (1988) CABIOS 4:61-66; Gribskov, 他 (1989) Methods Enzymol. 183:146-159; Bairoch, A. 他 (1997) Nucleic Acids Res. 25:217-221	標準化された質のスコア≧特定の Prositesモチーフに対する GCG 指定 "HIGH" 値 通常、スコア=1.4-2.1
Phred	高い感度及び確率で自動配列決定機のトレースを調べる塩基読出しアルゴリズムである。	Ewing, B. 他 (1998) Genome Res. 8:175-185; Ewing, B. and P. Green (1998) Genome Res. 8:186-194.	
Phrap	Smith-Waterman アルゴリズムの効率的なインプリメンテーションに基づく SWAT や CrossMatch を含む Philis Revised Assembly プログラムであって、配列相同性の検索及び DNA 配列の構築に有用である。	Smith, T.F. and M. S. Waterman (1981) Adv. Appl. Math. 2:482-489; Smith, T.F. and M. S. Waterman (1981) J. Mol. Biol. 147:195-197; Green, P., University of Washington, Seattle, WA.	スコア=120 以上 一致長さ=56 以上
Consed	Phrap で構築したものの表示及び編集をするためのグラフィックツールである。	Gordon, D. 他 (1998) Genome Res. 8:195-202.	
SPScan	タンパク質配列をスキヤンして分泌シグナルペプチドの存在を調べる重み付けマトリクス解析プログラムである。	Nielson, H. 他 (1997) Protein Engineering 10:1-6; Claverie, J.M. and S. Audic (1997) CABIOS 12: 431-439.	スコア=3.5 以上
TMAP	蛋白配列での膜貫通セグメントの描写及び配向の決定のための、加重マトリクスを用いたプログラムである。	Persson, B. and P. Argos (1994) J. Mol. Biol. 237:182-192; Persson, B. and P. Argos (1996) Protein Sci. 5:363-371.	
TMHMMER	蛋白配列での膜貫通セグメントの描写及び配向の決定のための、隠された Markov モデル(HMM)を用いたプログラムである。	Sonnhammer, E.L. 他 (1998) Proc. Sixth Intl. Conf. on Intelligent Systems for Mol. Biol., Glasgow et 他, es., The Am. Assoc. for Artificial Intelligence Press, Menlo Park, CA, pp. 175-182.	
Motifs	Prosites で定義された配列と一致したパターンについてアミノ酸配列を検索するプログラムである。	Bairoch 他, (1997) Nucleic Acid Res. 25: 217-221; Wisconsin Package Program Manual, version 9, page M51-59, Genetics Computer Group, Madison, WI.	

## SEQUENCE LISTING

<110> INCYTE GENOMICS, INC.

YUE, Henry  
LAL, Preeti  
TANG, Y. Tom  
HILLMAN, Jennifer  
BAUGHN, Mariah R.  
AZIMZAI, Yalda  
LU, Dyung Aina M.

<120> HUMAN OXIDOREDUCTASE PROTEINS

<130> PF-0754 PCT

<140> To Be Assigned

<141> Herewith

<150> 60/172,367

<151> 1999-12-16

<160> 54

<170> PERL Program

<210> 1

<211> 468

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc\_feature

<223> Incyte ID No: 543496CD1

<400> 1

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

```

Asn Tyr Asp Gln Ser Ala Val Val Ala Thr Leu His Leu Ser Glu 215 220 225
230 235 240
Ala Thr Glu Asn Asn Val Ala Trp Gln Arg Phe Leu Pro Ser Gly
245 250 255
Pro Ile Ala Leu Leu Pro Leu Ser Asp Thr Leu Ser Ser Leu Val
260 265 270
Trp Ser Thr Ser His Glu His Ala Ala Glu Leu Val Ser Met Asp
275 280 285
Glu Glu Lys Phe Val Asp Ala Val Asn Ser Ala Phe Trp Ser Asp
290 295 300
Ala Asp His Thr Asp Phe Ile Asp Thr Ala Gly Ala Met Leu Gln
305 310 315
Tyr Ala Val Ser Leu Leu Lys Pro Thr Lys Val Ser Ala Arg Gln
320 325 330
Leu Pro Pro Ser Val Ala Arg Val Asp Ala Lys Ser Arg Val Leu
335 340 345
Phe Pro Leu Gly Leu Gly His Ala Ala Glu Tyr Val Arg Pro Arg
350 355 360
Val Ala Leu Ile Gly Asp Ala Ala His Arg Val His Pro Leu Ala
365 370 375
Gly Gln Gly Val Asn Met Gly Phe Gly Asp Ile Ser Ser Leu Ala
380 385 390
His His Leu Ser Thr Ala Ala Phe Asn Gly Lys Asp Leu Gly Ser
395 400 405
Val Ser His Leu Thr Gly Tyr Glu Thr Glu Arg Gln Arg His Asn
410 415 420
Thr Ala Leu Leu Ala Ala Thr Asp Leu Leu Lys Arg Leu Tyr Ser
425 430 435
Thr Ser Ala Ser Pro Leu Val Leu Leu Arg Thr Trp Gly Leu Gln
440 445 450
Ala Thr Asn Ala Val Ser Pro Leu Lys Glu Gln Ile Met Ala Phe
455 460 465
Ala Ser Lys

```

```

<210> 2
<211> 254
<212> PRT
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 907607CD1

```

```

<400> 2
Met Ala Ala Thr Ala Arg Arg Gly Trp Gly Ala Ala Ala Val Ala
1 5 10 15
Ala Gly Leu Arg Arg Arg Phe Cys His Met Leu Lys Asn Pro Tyr
20 25 30
Thr Ile Lys Lys Gln Pro Leu His Gln Phe Val Gln Arg Pro Leu
35 40 45
Phe Pro Leu Pro Ala Ala Phe Tyr His Pro Val Arg Tyr Met Phe
50 55 60
Ile Gln Thr Gln Asp Thr Pro Asn Pro Asn Ser Leu Lys Phe Ile
65 70 75
Pro Gly Lys Pro Val Leu Glu Thr Arg Thr Met Asp Phe Pro Thr
80 85 90
Pro Ala Ala Ala Phe Arg Ser Pro Leu Ala Arg Gln Leu Phe Arg
95 100 105
Ile Glu Gly Val Lys Ser Val Phe Phe Gly Pro Asp Phe Ile Thr
110 115 120
Val Thr Lys Glu Asn Glu Glu Leu Asp Trp Asn Leu Leu Lys Pro
125 130 135
Asp Ile Tyr Ala Thr Ile Met Asp Phe Phe Ala Ser Gly Leu Pro

```

```

Leu Val Thr Glu 140 Thr Pro Ser Gly 145 Ala Gly Ser Glu 150
Glu 155 Glu 160
Asp Asp Glu Val Val Ala Met Ile Lys Glu Leu Leu Asp Thr Arg 165
170 175
Ile Arg Pro Thr Val Gln Glu Asp Gly Gly Asp Val Ile Tyr Lys 180
185 190
Gly Phe Glu Asp Gly Ile Val Gln Leu Lys Leu Gln Gly Ser Cys 195
200 205
Thr Ser Cys Pro Ser Ser Ile Ile Thr Leu Lys Asn Gly Ile Gln 210
215 220
Asn Met Leu Gln Phe Tyr Ile Pro Glu Val Glu Gly Val Glu Gln 225
230 235
Val Met Asp Asp Glu Ser Asp Glu Lys Glu Ala Asn Ser Pro 240
245 250

```

```

<210> 3
<211> 555
<212> PRT
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 1290078CD1

```

```

<400> 3
Met Gln Ser Cys Glu Ser Ser Gly Asp Ser Ala Asp Asp Pro Leu
1 5 10 15
Ser Arg Gly Leu Arg Arg Arg Gly Gln Pro Arg Val Val Val Ile
20 25 30
Gly Ala Gly Leu Ala Gly Leu Ala Ala Ala Lys Ala Leu Leu Glu
35 40 45
Gln Gly Phe Thr Asp Val Thr Val Leu Glu Ala Ser Ser His Ile
50 55 60
Gly Gly Arg Val Gln Ser Val Lys Leu Gly His Ala Thr Phe Glu
65 70 75
Leu Gly Ala Thr Trp Ile His Gly Ser His Gly Asn Pro Ile Tyr
80 85 90
His Leu Ala Glu Ala Asn Gly Leu Leu Glu Glu Thr Thr Asp Gly
95 100 105
Glu Arg Ser Val Gly Arg Ile Ser Leu Tyr Ser Lys Asn Gly Val
110 115 120
Ala Cys Tyr Leu Thr Asn His Gly Arg Arg Ile Pro Lys Asp Val
125 130 135
Val Glu Glu Phe Ser Asp Leu Tyr Asn Glu Val Tyr Asn Leu Thr
140 145 150
Gln Glu Phe Phe Arg His Asp Lys Pro Val Asn Ala Glu Ser Gln
155 160 165
Asn Ser Val Gly Val Phe Thr Arg Glu Glu Val Arg Asn Arg Ile
170 175 180
Arg Asn Asp Pro Asp Asp Pro Glu Ala Thr Lys Arg Leu Lys Leu
185 190 195
Ala Met Ile Gln Gln Tyr Leu Lys Val Glu Ser Cys Glu Ser Ser
200 205 210
Ser His Ser Met Asp Glu Val Ser Leu Ser Ala Phe Gly Glu Trp
215 220 225
Thr Glu Ile Pro Gly Ala His His Ile Ile Pro Ser Gly Phe Met
230 235 240
Arg Val Val Glu Leu Leu Ala Glu Gly Ile Pro Ala His Val Ile
245 250 255
Gln Leu Gly Lys Pro Val Arg Cys Ile His Trp Asp Gln Ala Ser
260 265 270
Ala Arg Pro Arg Gly Pro Glu Ile Glu Pro Arg Gly Glu Gly Asp
275 280 285

```

```

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

```

```

<210> 4
<211> 337
<212> PRT
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 1302741CD1

```

```

<400> 4
Met Ala Leu Gln Thr Leu Gln Ser Ser Trp Val Thr Phe Arg Lys
1 5 10 15
Ile Leu Ser His Phe Pro Glu Glu Leu Ser Leu Ala Phe Val Tyr
20 25 30
Gly Ser Gly Val Tyr Arg Gln Ala Gly Pro Ser Ser Asp Gln Lys
35 40 45
Asn Ala Met Leu Asp Phe Val Phe Thr Val Asp Asp Pro Val Ala
50 55 60
Trp His Ser Lys Asn Leu Lys Lys Asn Trp Ser His Tyr Ser Phe
65 70 75
Leu Lys Val Leu Gly Pro Lys Ile Ile Thr Ser Ile Gln Asn Asn
80 85 90
Tyr Gly Ala Gly Val Tyr Tyr Asn Ser Leu Ile Met Cys Asn Gly
95 100 105
Arg Leu Ile Lys Tyr Gly Val Ile Ser Thr Asn Val Leu Ile Glu
110 115 120
Asp Leu Leu Asn Trp Asn Asn Leu Tyr Ile Ala Gly Arg Leu Gln

```

125 130 135  
 Lys Pro Val Lys Ile Ile Ser Val Asn Glu Asp Val Thr Leu Arg  
 140 145 150  
 Ser Ala Leu Asp Arg Asn Leu Lys Ser Ala Val Thr Ala Ala Phe  
 155 160 165  
 Leu Met Leu Pro Glu Ser Phe Ser Glu Glu Asp Leu Phe Ile Glu  
 170 175 180  
 Ile Ala Gly Leu Ser Tyr Ser Gly Asp Phe Arg Met Val Val Gly  
 185 190 195  
 Glu Asp Lys Thr Lys Val Leu Asn Ile Val Lys Pro Asn Ile Ala  
 200 205 210  
 His Phe Arg Glu Leu Tyr Gly Ser Ile Leu Gln Glu Asn Pro Gln  
 215 220 225  
 Val Val Tyr Lys Ser Gln Gln Gly Trp Leu Glu Ile Asp Lys Ser  
 230 235 240  
 Pro Glu Gly Gln Phe Thr Gln Leu Met Thr Leu Pro Lys Thr Leu  
 245 250 255  
 Gln Gln Gln Ile Asn His Ile Met Asp Pro Pro Gly Lys Asn Arg  
 260 265 270  
 Asp Val Glu Glu Thr Leu Phe Gln Val Ala His Asp Pro Asp Cys  
 275 280 285  
 Gly Asp Val Val Arg Leu Gly Leu Ser Ala Ile Val Arg Pro Ser  
 290 295 300  
 Ser Ile Arg Gln Ser Thr Lys Gly Ile Phe Thr Ala Gly Leu Lys  
 305 310 315  
 Lys Ser Val Ile Tyr Ser Ser Leu Lys Leu His Lys Met Trp Lys  
 320 325 330  
 Gly Trp Leu Arg Lys Thr Ser  
 335

<210> 5  
 <211> 109  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 1541028CD1

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

<210> 6  
 <211> 385  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature

<223> Incyte ID No: 1597687CD1

<400> 6

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

<210> 7

<211> 312

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc\_feature

<223> Incyte ID No: 1690348CD1

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

<210> 8  
 <211> 160  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 1865603CD1

<400> 8  
 Met Leu Arg His Leu Pro Ser Arg Leu Pro Val Lys Met Trp Gly  
 1 5 10 15  
 Arg Thr Leu Glu Lys Gln Ser Trp Arg Asp Ser Ser Gln Thr Pro  
 20 25 30  
 Pro Pro Cys Leu Ile Arg Arg Leu Asp His Ile Val Met Thr Val  
 35 40 45  
 Lys Ser Ile Lys Asp Thr Thr Met Phe Tyr Ser Lys Ile Leu Gly  
 50 55 60  
 Met Glu Val Met Thr Phe Lys Glu Asp Arg Lys Ala Leu Cys Phe  
 65 70 75

Gly Asp Gln Lys Phe Asn Leu His Glu Val Gly Lys Glu Phe Glu  
                   80                  85                  90  
 Pro Lys Ala Ala His Pro Val Pro Gly Ser Leu Asp Ile Cys Leu  
                   95                  100                  105  
 Ile Thr Glu Val Pro Leu Glu Glu Met Ile Gln His Leu Lys Ala  
                   110                  115                  120  
 Cys Asp Val Pro Ile Glu Glu Gly Pro Val Pro Arg Thr Gly Ala  
                   125                  130                  135  
 Lys Gly Pro Ile Met Ser Ile Tyr Phe Arg Asp Pro Asp Arg Asn  
                   140                  145                  150  
 Leu Ile Glu Val Ser Asn Tyr Ile Ser Ser  
                   155                  160

<210> 9  
 <211> 487  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 1976472CD1

<400> 9  
 Met Asp Trp Ile Arg Leu Thr Lys Ser Gly Lys Asp Leu Thr Gly  
   1                  5                  10                  15  
 Leu Lys Gly Arg Leu Ile Glu Val Thr Glu Glu Glu Leu Lys Lys  
                   20                  25                  30  
 His Asn Lys Lys Asp Asp Cys Trp Ile Cys Ile Arg Gly Phe Val  
                   35                  40                  45  
 Tyr Asn Val Ser Pro Tyr Met Glu Tyr His Pro Gly Gly Glu Asp  
                   50                  55                  60  
 Glu Leu Met Arg Ala Ala Gly Ser Asp Gly Thr Glu Leu Phe Asp  
                   65                  70                  75  
 Gln Val His Arg Trp Val Asn Tyr Glu Ser Met Leu Lys Glu Cys  
                   80                  85                  90  
 Leu Val Gly Arg Met Ala Ile Lys Pro Ala Val Leu Lys Asp Tyr  
                   95                  100                  105  
 Arg Glu Glu Glu Lys Lys Val Leu Asn Gly Met Leu Pro Lys Ser  
                   110                  115                  120  
 Gln Val Thr Asp Thr Leu Ala Lys Glu Gly Pro Ser Tyr Pro Ser  
                   125                  130                  135  
 Tyr Asp Trp Phe Gln Thr Asp Ser Leu Val Thr Ile Ala Ile Tyr  
                   140                  145                  150  
 Thr Lys Gln Lys Asp Ile Asn Leu Asp Ser Ile Ile Val Asp His  
                   155                  160                  165  
 Gln Asn Asp Ser Phe Arg Ala Glu Thr Ile Ile Lys Asp Cys Leu  
                   170                  175                  180  
 Tyr Leu Ile His Ile Gly Leu Ser His Glu Val Gln Glu Asp Phe  
                   185                  190                  195  
 Ser Val Arg Val Val Glu Ser Val Gly Lys Ile Glu Ile Val Leu  
                   200                  205                  210  
 Gln Lys Lys Glu Asn Thr Ser Trp Asp Phe Leu Gly His Pro Leu  
                   215                  220                  225  
 Lys Asn His Asn Ser Leu Ile Pro Arg Lys Asp Thr Gly Leu Tyr  
                   230                  235                  240  
 Tyr Arg Lys Cys Gln Leu Ile Ser Lys Glu Asp Val Thr His Asp  
                   245                  250                  255  
 Thr Arg Leu Phe Cys Leu Met Leu Pro Pro Ser Thr His Leu Gln  
                   260                  265                  270  
 Val Pro Ile Gly Gln His Val Tyr Leu Lys Leu Pro Ile Thr Gly  
                   275                  280                  285  
 Thr Glu Ile Val Lys Pro Tyr Thr Pro Val Ser Gly Ser Leu Leu  
                   290                  295                  300  
 Ser Glu Phe Lys Glu Pro Val Leu Pro Asn Asn Lys Tyr Ile Tyr

```

Phe Leu Ile Lys 305 Tyr Pro Thr Gly Leu Phe Thr Pro Glu Leu 315
320 Ile Gly Asp Phe Val Ser Val Ser Ser Pro Glu 330
Asp Arg Leu Gln 335 Ile Gly Asp Phe Val Ser Val Ser Ser Pro Glu 345
Gly Asn Phe Lys 350 Ile Ser Lys Phe Gln Glu Leu Glu Asp Leu Phe 360
Leu Leu Ala Ala Gly Thr Gly Phe Thr Pro Met Val Lys Ile Leu 375
365 Thr Asp Ile Pro Ser Leu Arg Lys Val Lys Leu 390
Asn Tyr Ala Leu 380 Thr Glu Asp Asp Ile Ile Trp Arg Ser Gln 405
Met Phe Phe Asn Lys Thr Glu Asp Asp Ile Ile Trp Arg Ser Gln 405
Leu Glu Lys Leu Ala Phe Lys Asp Lys Arg Leu Asp Val Glu Phe 420
410 Pro Ile Ser Glu Trp Asn Gly Lys Gln Gly His 435
Val Leu Ser Ala 425 Leu Leu Ser Glu Phe Leu Lys Arg Asn Leu Asp 450
Ile Ser Pro Ala 440 Val Cys Ile Cys Gly Pro Val Pro Phe Thr 465
Lys Ser Lys Val 455 Leu Leu His Asp Leu Asn Phe Ser Lys Asn 480
Glu Gln Gly Val Arg 470 Thr Ala 485
Glu Ile His Ser Phe Thr Ala 485

```

```

<210> 10
<211> 524
<212> PRT
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 2050821CD1

```

```

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

```

```

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

```

```

<210> 11
<211> 144
<212> PRT
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 2408443CD1

```

```

<400> 11
Met Val Thr Leu Tyr Ser Ser Pro Ser Cys Thr Ser Cys Arg Lys
1 5 10 15
Ala Lys Gln Trp Leu Val Asp His Asn Leu Pro Phe Ile Glu Arg
20 25 30
Asn Leu Asn Lys Glu Pro Leu Arg Ala Glu Asp Val Lys Ala Met
35 40 45
Leu Arg Leu Thr Glu Asp Gly Thr Glu Glu Leu Ile Ser Thr Arg
50 55 60
Ser Lys Ile Phe Ser Glu Leu Thr Ile Asp Leu Asp Asp Met Ser
65 70 75
Ile Asn Lys Leu Ile Asp Leu Ile Val Met Tyr Pro Ser Leu Leu

```

```

      80                      85                      90
Lys Arg Pro Ile Ile Leu Asp Asp Gln Arg Met Gln Ile Gly Tyr
      95                      100                     105
Asn Asp Asp Glu Ile Arg Arg Phe Leu Pro Arg Glu Val Arg Gln
      110                     115                     120
Arg Glu Leu Ile Arg Ala Thr Phe Lys Ala Asp Phe Ala Glu Glu
      125                     130                     135
Ala Lys Asp Leu Val Val Glu Glu Gly
      140

```

```

<210> 12
<211> 373
<212> PRT
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 2508668CD1

```

```

<400> 12
Met Trp Val Cys Ser Thr Leu Trp Arg Val Arg Thr Pro Ala Arg
  1      5      10      15
Gln Trp Arg Gly Leu Leu Pro Ala Ser Gly Cys His Gly Pro Ala
  20     25     30
Ala Ser Ser Tyr Ser Ala Ser Ala Glu Pro Ala Arg Val Arg Ala
  35     40     45
Leu Val Tyr Gly His His Gly Asp Pro Ala Lys Val Val Glu Leu
  50     55     60
Lys Asn Leu Glu Leu Ala Ala Val Arg Gly Ser Asp Val Arg Val
  65     70     75
Lys Met Leu Ala Ala Pro Ile Asn Pro Ser Asp Ile Asn Met Ile
  80     85     90
Gln Gly Asn Tyr Gly Leu Leu Pro Glu Leu Pro Ala Val Gly Gly
  95    100    105
Asn Glu Gly Val Ala Gln Val Val Ala Val Gly Ser Asn Val Thr
  110   115   120
Gly Leu Lys Pro Gly Asp Trp Val Ile Pro Ala Asn Ala Gly Leu
  125   130   135
Gly Thr Trp Arg Thr Glu Ala Val Phe Ser Glu Glu Ala Leu Ile
  140   145   150
Gln Val Pro Ser Asp Ile Pro Leu Gln Ser Ala Ala Thr Leu Gly
  155   160   165
Val Asn Pro Cys Thr Ala Tyr Arg Met Leu Met Asp Phe Glu Gln
  170   175   180
Leu Gln Pro Gly Asp Ser Val Ile Gln Asn Ala Ser Asn Ser Gly
  185   190   195
Val Gly Gln Ala Val Ile Gln Ile Ala Ala Ala Leu Gly Leu Arg
  200   205   210
Thr Ile Asn Val Val Arg Asp Arg Pro Asp Ile Gln Lys Leu Ser
  215   220   225
Asp Arg Leu Lys Ser Leu Gly Ala Glu His Val Ile Thr Glu Glu
  230   235   240
Glu Leu Arg Arg Pro Glu Met Lys Asn Phe Phe Lys Asp Met Pro
  245   250   255
Gln Pro Arg Leu Ala Leu Asn Cys Val Gly Gly Lys Ser Ser Thr
  260   265   270
Glu Leu Leu Arg Gln Leu Ala Arg Gly Gly Thr Met Val Thr Tyr
  275   280   285
Gly Gly Met Ala Lys Gln Pro Val Val Ala Ser Val Ser Leu Leu
  290   295   300
Ile Phe Lys Asp Leu Lys Leu Arg Gly Phe Trp Leu Ser Gln Trp
  305   310   315
Lys Lys Asp His Ser Pro Asp Gln Phe Lys Glu Leu Ile Leu Thr
  320   325   330

```

Leu Cys Asp Leu Ile Arg Arg Gly Gln Leu Thr Ala Pro Ala Cys  
 335 340 345  
 Ser Gln Val Pro Leu Gln Asp Tyr Gln Ser Ala Leu Glu Ala Ser  
 350 355 360  
 Met Lys Pro Phe Ile Ser Ser Lys Gln Ile Leu Thr Met  
 365 370

<210> 13  
 <211> 305  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 2536830CD1

<400> 13  
 Met Ala Lys Phe Val Ile Ala Gly Arg Ala Asp Cys Pro Tyr Tyr  
 1 5 10 15  
 Ala Lys Thr Glu Leu Val Ala Asp Tyr Leu Gln Lys Asn Leu Pro  
 20 25 30  
 Asp Phe Arg Ile His Lys Ile Thr Gln Arg Pro Glu Val Trp Glu  
 35 40 45  
 Asp Trp Leu Lys Asp Val Cys Glu Lys Asn Lys Trp Ser His Lys  
 50 55 60  
 Asn Ser Pro Ile Ile Trp Arg Glu Leu Leu Asp Arg Gly Gly Lys  
 65 70 75  
 Gly Leu Leu Leu Gly Gly Tyr Asn Glu Phe Leu Glu His Ala Gln  
 80 85 90  
 Leu Tyr Tyr Asp Val Thr Ser Ser Met Thr Thr Glu Leu Met Met  
 95 100 105  
 Val Ile Ala Gln Glu Asn Leu Gly Ala His Ile Glu Lys Glu Gln  
 110 115 120  
 Glu Glu Glu Ala Leu Lys Thr Cys Ile Asn Pro Leu Gln Val Trp  
 125 130 135  
 Ile Thr Ser Ala Ser Ala Pro Ala Cys Tyr Asn Leu Ile Pro Ile  
 140 145 150  
 Leu Thr Ser Gly Glu Val Phe Gly Met His Thr Glu Ile Ser Ile  
 155 160 165  
 Thr Leu Phe Asp Asn Lys Gln Ala Glu Glu His Leu Lys Ser Leu  
 170 175 180  
 Val Val Glu Thr Gln Asp Leu Ala Ser Pro Val Leu Arg Ser Val  
 185 190 195  
 Ser Ile Cys Thr Lys Val Glu Glu Ala Phe Arg Gln Ala His Val  
 200 205 210  
 Ile Val Val Leu Asp Asp Ser Thr Asn Lys Glu Val Phe Thr Leu  
 215 220 225  
 Glu Asp Cys Leu Arg Ser Arg Val Pro Leu Cys Arg Leu Tyr Gly  
 230 235 240  
 Tyr Leu Ile Glu Lys Asn Ala His Glu Ser Val Arg Val Ile Val  
 245 250 255  
 Gly Gly Arg Thr Phe Val Asn Leu Lys Thr Val Leu Leu Met Arg  
 260 265 270  
 Tyr Ala Pro Arg Ile Ala His Asn Ile Ile Ala Val Ala Leu Gly  
 275 280 285  
 Val Glu Gly Glu Ala Lys Ala Ile Leu Ala Arg Lys Leu Lys Thr  
 290 295 300  
 Ala Pro Ser Cys Glu  
 305

<210> 14

<211> 500  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 2645179CD1

<400> 14

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

Leu Met Leu Arg Cys Thr Lys Gly Arg Glu Tyr Ile Lys Val Val  
 440 445 450  
 Met Gln Asn Gly Arg Met Met Gly Ala Val Leu Ile Gly Glu Thr  
 455 460 465  
 Asp Leu Glu Glu Thr Phe Glu Asn Leu Ile Leu Asn Gln Met Asn  
 470 475 480  
 Leu Ser Ser Tyr Gly Glu Asp Leu Leu Asp Pro Asn Ile Asp Ile  
 485 490 495  
 Glu Asp Tyr Phe Asp  
 500

<210> 15  
 <211> 369  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 2754425CD1

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

Phe His Glu Gly Ser Ala Glu Asp Gly Pro Arg Val Val Phe Met 320 325 330  
 335 340 345  
 Val Asp Leu Trp His Pro Asn Val Ala Ala Ala Glu Arg Gln Ala  
 350 355 360  
 Leu Asp Phe Ile Phe Ala Pro Gly Arg 365

<210> 16  
 <211> 145  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 2821526CD1

<400> 16  
 Met Glu Leu Val Gln Val Leu Lys Arg Gly Leu Gln Gln Ile Thr  
 1 5 10 15  
 Gly His Gly Gly Leu Arg Gly Tyr Leu Arg Val Phe Phe Arg Thr  
 20 25 30  
 Asn Asp Ala Lys Val Gly Thr Leu Val Gly Glu Asp Lys Tyr Gly  
 35 40 45  
 Asn Lys Tyr Tyr Glu Asp Asn Lys Gln Phe Phe Gly Arg His Arg  
 50 55 60  
 Trp Val Val Tyr Thr Thr Glu Met Asn Gly Lys Asn Thr Phe Trp  
 65 70 75  
 Asp Val Asp Gly Ser Met Val Pro Pro Glu Trp His Arg Trp Leu  
 80 85 90  
 His Ser Met Thr Asp Asp Pro Pro Thr Thr Lys Pro Leu Thr Ala  
 95 100 105  
 Arg Lys Phe Ile Trp Thr Asn His Lys Phe Asn Val Thr Gly Thr  
 110 115 120  
 Pro Glu Gln Tyr Val Pro Tyr Ser Thr Thr Arg Lys Lys Ile Gln  
 125 130 135  
 Glu Trp Ile Pro Pro Ser Thr Pro Tyr Lys  
 140 145

<210> 17  
 <211> 255  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 2876494CD1

<400> 17  
 Met Lys Val Leu Ala Thr Ser Phe Val Leu Gly Ser Leu Gly Leu  
 1 5 10 15  
 Ala Phe Tyr Leu Pro Leu Val Val Thr Thr Pro Lys Thr Leu Ala  
 20 25 30  
 Ile Pro Glu Lys Leu Gln Glu Ala Val Gly Lys Val Ile Ile Asn  
 35 40 45  
 Ala Thr Thr Cys Thr Val Thr Cys Gly Leu Gly Tyr Lys Glu Glu  
 50 55 60  
 Thr Val Cys Glu Val Gly Pro Asp Gly Val Arg Arg Lys Cys Gln  
 65 70 75  
 Thr Gln Arg Leu Glu Cys Leu Thr Asn Trp Ile Cys Gly Met Leu  
 80 85 90  
 His Phe Thr Ile Leu Ile Gly Lys Glu Phe Glu Leu Ser Cys Leu

```

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

```

```

<210> 18
<211> 246
<212> PRT
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 3403225CD1

```

```

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

```

Leu Gly Ile Arg Trp Glu  
245

<210> 19

<211> 467

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc\_feature

<223> Incyte ID No: 4163943CD1

<400> 19

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

```

          380          385          390
Thr Arg Thr Ala Arg Ile Gln Asp Ala Gly Leu Val Leu Ala Asp
          395          400          405
Thr Leu Arg Lys Phe Leu Phe Asp Leu Asp Val Asp Asp Gly Leu
          410          415          420
Ala Ala Val Gly Tyr Ser Lys Ala Asp Ile Pro Ala Leu Val Lys
          425          430          435
Gly Thr Leu Pro Gln Glu Arg Val Thr Lys Leu Ala Pro Arg Pro
          440          445          450
Gln Ser Glu Glu Asp Leu Ala Ala Leu Phe Glu Ala Ser Met Lys
          455          460          465
Leu Tyr

```

```

<210> 20
<211> 317
<212> PRT
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 4293484CD1

```

```

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

```

Ala Gln 305 310 315

<210> 21  
<211> 181  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<220>  
<221> misc\_feature  
<223> Incyte ID No: 4440080CD1

<400> 21  
Met Phe Ser Ala Ile Arg Ser Gln His Ser Gly Val Asp Ile Cys  
1 5 10 15  
Ile Asn Asn Ala Gly Leu Ala Arg Pro Asp Thr Leu Leu Ser Gly  
20 25 30  
Ser Thr Ser Gly Trp Lys Asp Met Phe Asn Val Asn Val Leu Ala  
35 40 45  
Leu Ser Ile Cys Thr Arg Glu Ala Tyr Gln Ser Met Lys Glu Arg  
50 55 60  
Asn Val Asp Asp Gly His Ile Ile Asn Ile Asn Ser Met Ser Gly  
65 70 75  
His Arg Val Leu Pro Leu Ser Val Thr His Phe Tyr Ser Ala Thr  
80 85 90  
Lys Tyr Ala Val Thr Ala Leu Thr Glu Gly Leu Arg Gln Glu Leu  
95 100 105  
Arg Glu Ala Gln Thr His Ile Arg Ala Thr Cys Ile Ser Pro Gly  
110 115 120  
Val Val Glu Thr Gln Phe Ala Phe Lys Leu His Asp Lys Asp Pro  
125 130 135  
Glu Lys Ala Ala Ala Thr Tyr Glu Gln Met Lys Cys Leu Lys Pro  
140 145 150  
Glu Asp Val Ala Glu Ala Val Ile Tyr Val Leu Ser Thr Pro Ala  
155 160 165  
His Ile Gln Ile Gly Asp Ile Gln Met Arg Pro Thr Glu Gln Val  
170 175 180  
Thr

<210> 22  
<211> 360  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<220>  
<221> misc\_feature  
<223> Incyte ID No: 5495687CD1

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

```

Met Val Met Leu Ser Val Ile Pro Gly Glu Ala Glu Asp Lys Val
   95                                     100                    105
Ser Ser Glu Pro Ser Gly Val Thr Cys Gly Ala Gly Gly Ala Glu
  110                                     115                    120
Asp Ser Arg Cys Asn Val Arg Glu Ser Leu Phe Ser Leu Asp Gly
  125                                     130                    135
Ala Gly Ala His Phe Pro Asp Arg Glu Glu Tyr Tyr Thr Glu
  140                                     145                    150
Pro Glu Val Ala Glu Ser Asp Ala Ala Pro Thr Glu Asp Ser Asn
  155                                     160                    165
Asn Thr Glu Ser Leu Lys Ser Pro Lys Val Asn Cys Glu Glu Arg
  170                                     175                    180
Asn Ile Thr Gly Leu Glu Asn Phe Thr Leu Lys Ile Leu Asn Met
  185                                     190                    195
Ser Gln Asp Leu Met Asp Phe Leu Asn Pro Asn Gly Ser Asp Cys
  200                                     205                    210
Thr Leu Val Leu Phe Tyr Thr Pro Trp Cys Arg Phe Ser Ala Ser
  215                                     220                    225
Leu Ala Pro His Phe Asn Ser Leu Pro Arg Ala Phe Pro Ala Leu
  230                                     235                    240
His Phe Leu Ala Leu Asp Ala Ser Gln His Ser Ser Leu Ser Thr
  245                                     250                    255
Arg Phe Gly Thr Val Ala Val Pro Asn Ile Leu Leu Phe Gln Gly
  260                                     265                    270
Ala Lys Pro Met Ala Arg Phe Asn His Thr Asp Arg Thr Leu Glu
  275                                     280                    285
Thr Leu Lys Ile Phe Ile Phe Asn Gln Thr Gly Ile Glu Ala Lys
  290                                     295                    300
Lys Asn Val Val Val Thr Gln Ala Asp Gln Ile Gly Pro Leu Pro
  305                                     310                    315
Ser Thr Leu Ile Lys Ser Val Asp Trp Leu Leu Val Phe Ser Leu
  320                                     325                    330
Phe Phe Leu Ile Ser Phe Ile Met Tyr Ala Thr Ile Arg Thr Glu
  335                                     340                    345
Ser Ile Arg Trp Leu Ile Pro Gly Gln Glu Gln Glu His Val Glu
  350                                     355                    360

```

<210> 23

<211> 476

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc\_feature

<223> Incyte ID No: 5527735CD1

<400> 23

```

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

```

Ala	Arg	Lys	Leu	Thr	Ser	Phe	Phe	Lys	Lys	Ile	Gly	Val	His	Phe	125	130	135
Val	Phe	Asp	Thr	Ala	Phe	Ser	Arg	His	Phe	Ser	Leu	Leu	Glu	Ser	140	145	150
Gln	Arg	Glu	Phe	Val	Arg	Arg	Phe	Arg	Gly	Gln	Ala	Asp	Cys	Arg	155	160	165
Gln	Ala	Leu	Pro	Leu	Leu	Ala	Ser	Ala	Cys	Pro	Gly	Trp	Ile	Cys	170	175	180
Tyr	Ala	Glu	Lys	Thr	His	Gly	Ser	Phe	Ile	Leu	Pro	His	Ile	Ser	185	190	195
Thr	Ala	Arg	Ser	Pro	Gln	Gln	Val	Met	Gly	Ser	Leu	Val	Lys	Asp	200	205	210
Phe	Phe	Ala	Gln	Gln	Gln	His	Leu	Thr	Pro	Asp	Lys	Ile	Tyr	His	215	220	225
Val	Thr	Val	Met	Pro	Cys	Tyr	Asp	Lys	Lys	Leu	Glu	Ala	Ser	Arg	230	235	240
Pro	Asp	Phe	Phe	Asn	Gln	Glu	His	Gln	Thr	Arg	Asp	Val	Asp	Cys	245	250	255
Val	Leu	Thr	Thr	Gly	Glu	Val	Phe	Arg	Leu	Leu	Glu	Glu	Glu	Gly	260	265	270
Val	Ser	Leu	Pro	Asp	Leu	Glu	Pro	Ala	Pro	Leu	Asp	Ser	Leu	Cys	275	280	285
Ser	Gly	Ala	Ser	Ala	Glu	Glu	Pro	Thr	Ser	His	Arg	Gly	Gly	Gly	290	295	300
Ser	Gly	Gly	Tyr	Leu	Glu	His	Val	Phe	Arg	His	Ala	Ala	Arg	Glu	305	310	315
Leu	Phe	Gly	Ile	His	Val	Ala	Glu	Val	Thr	Tyr	Lys	Pro	Leu	Arg	320	325	330
Asn	Lys	Asp	Phe	Gln	Glu	Val	Thr	Leu	Glu	Lys	Glu	Gly	Gln	Val	335	340	345
Leu	Leu	His	Phe	Ala	Met	Ala	Tyr	Gly	Phe	Arg	Asn	Ile	Gln	Asn	350	355	360
Leu	Val	Gln	Arg	Leu	Lys	Arg	Gly	Arg	Cys	Pro	Tyr	His	Tyr	Val	365	370	375
Glu	Val	Met	Ala	Cys	Pro	Ser	Gly	Cys	Leu	Asn	Gly	Gly	Gly	Gln	380	385	390
Leu	Gln	Ala	Pro	Asp	Arg	Pro	Ser	Arg	Glu	Leu	Leu	Gln	His	Val	395	400	405
Glu	Arg	Leu	Tyr	Gly	Met	Val	Arg	Ala	Glu	Ala	Pro	Glu	Asp	Ala	410	415	420
Pro	Gly	Val	Gln	Glu	Leu	Tyr	Thr	His	Trp	Leu	Gln	Gly	Thr	Asp	425	430	435
Ser	Glu	Cys	Ala	Gly	Arg	Leu	Leu	His	Thr	Gln	Tyr	His	Ala	Val	440	445	450
Glu	Lys	Ala	Ser	Thr	Gly	Leu	Gly	Ile	Arg	Trp				Val	455	460	465
															470	475	

&lt;210&gt; 24

&lt;211&gt; 621

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; misc\_feature

&lt;223&gt; Incyte ID No: 5540437CD1

&lt;400&gt; 24

Met	Ser	Gly	Cys	Gly	Leu	Phe	Leu	Arg	Thr	Thr	Ala	Ala	Ala	Arg			
1				5					10					15			
Ala	Cys	Arg	Gly	Leu	Val	Val	Ser	Thr	Ala	Asn	Arg	Arg	Leu	Leu			
				20					25					30			
Arg	Thr	Ser	Pro	Pro	Val	Arg	Ala	Phe	Ala	Lys	Glu	Leu	Phe	Leu			
				35					40					45			

Gly	Lys	Ile	Lys	Lys	Lys	Glu	Val	Phe	Pro	Phe	Pro	Glu	Val	Ser
				50					55					60
Gln	Asp	Glu	Leu	Asn	Glu	Ile	Asn	Gln	Phe	Leu	Gly	Pro	Val	Glu
				65					70					75
Lys	Phe	Phe	Thr	Glu	Glu	Val	Asp	Ser	Arg	Lys	Ile	Asp	Gln	Glu
				80					85					90
Gly	Lys	Ile	Pro	Asp	Glu	Thr	Leu	Glu	Lys	Leu	Lys	Ser	Leu	Gly
				95					100					105
Leu	Phe	Gly	Leu	Gln	Val	Pro	Glu	Glu	Tyr	Gly	Gly	Leu	Gly	Phe
				110					115					120
Ser	Asn	Thr	Met	Tyr	Ser	Arg	Leu	Gly	Glu	Ile	Ile	Ser	Met	Asp
				125					130					135
Gly	Ser	Ile	Thr	Val	Thr	Leu	Ala	Ala	His	Gln	Ala	Ile	Gly	Leu
				140					145					150
Lys	Gly	Ile	Ile	Leu	Ala	Gly	Thr	Glu	Glu	Gln	Lys	Ala	Lys	Tyr
				155					160					165
Leu	Pro	Lys	Leu	Ala	Ser	Gly	Glu	His	Ile	Ala	Ala	Phe	Cys	Leu
				170					175					180
Thr	Glu	Pro	Ala	Ser	Gly	Ser	Asp	Ala	Ala	Ser	Ile	Arg	Ser	Arg
				185					190					195
Ala	Thr	Leu	Ser	Glu	Asp	Lys	Lys	His	Tyr	Ile	Leu	Asn	Gly	Ser
				200					205					210
Lys	Val	Trp	Ile	Thr	Asn	Gly	Gly	Leu	Ala	Asn	Ile	Phe	Thr	Val
				215					220					225
Phe	Ala	Lys	Thr	Glu	Val	Val	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Val	Lys	Asp
				230					235					240
Lys	Ile	Thr	Ala	Phe	Ile	Val	Glu	Arg	Asp	Phe	Gly	Gly	Val	Thr
				245					250					255
Asn	Gly	Lys	Pro	Glu	Asp	Lys	Leu	Gly	Ile	Arg	Gly	Ser	Asn	Thr
				260					265					270
Cys	Glu	Val	His	Phe	Glu	Asn	Thr	Lys	Ile	Pro	Val	Glu	Asn	Ile
				275					280					285
Leu	Gly	Glu	Val	Gly	Asp	Gly	Phe	Lys	Val	Ala	Met	Asn	Ile	Leu
				290					295					300
Asn	Ser	Gly	Arg	Phe	Ser	Met	Gly	Ser	Val	Val	Ala	Gly	Leu	Leu
				305					310					315
Lys	Arg	Leu	Ile	Glu	Met	Thr	Ala	Glu	Tyr	Ala	Cys	Thr	Arg	Lys
				320					325					330
Gln	Phe	Asn	Lys	Arg	Leu	Ser	Glu	Phe	Gly	Leu	Ile	Gln	Glu	Lys
				335					340					345
Phe	Ala	Leu	Met	Ala	Gln	Lys	Ala	Tyr	Val	Met	Glu	Ser	Met	Thr
				350					355					360
Tyr	Leu	Thr	Ala	Gly	Met	Leu	Asp	Gln	Pro	Gly	Phe	Pro	Asp	Cys
				365					370					375
Ser	Ile	Glu	Ala	Ala	Met	Val	Lys	Val	Phe	Ser	Ser	Glu	Ala	Ala
				380					385					390
Trp	Gln	Cys	Val	Ser	Glu	Ala	Leu	Gln	Ile	Leu	Gly	Gly	Leu	Gly
				395					400					405
Tyr	Thr	Arg	Asp	Tyr	Pro	Tyr	Glu	Arg	Ile	Leu	Arg	Asp	Thr	Arg
				410					415					420
Ile	Leu	Leu	Ile	Phe	Glu	Gly	Thr	Asn	Glu	Ile	Leu	Arg	Met	Tyr
				425					430					435
Ile	Ala	Leu	Thr	Gly	Leu	Gln	His	Ala	Gly	Arg	Ile	Leu	Thr	Thr
				440					445					450
Arg	Ile	His	Glu	Leu	Lys	Gln	Ala	Lys	Val	Ser	Thr	Val	Met	Asp
				455					460					465
Thr	Val	Gly	Arg	Arg	Leu	Arg	Asp	Ser	Leu	Gly	Arg	Thr	Val	Asp
				470					475					480
Leu	Gly	Leu	Thr	Gly	Asn	His	Gly	Val	Val	His	Pro	Ser	Leu	Ala
				485					490					495
Asp	Ser	Ala	Asn	Lys	Phe	Glu	Glu	Asn	Thr	Tyr	Cys	Phe	Gly	Arg
				500					505					510
Thr	Val	Glu	Thr	Leu	Leu	Leu	Arg	Phe	Gly	Lys	Thr	Ile	Met	Glu
				515					520					525
Glu	Gln	Leu	Val	Leu	Lys	Arg	Val	Ala	Asn	Ile	Leu	Ile	Asn	Leu
				530					535					540
Tyr	Gly	Met	Thr	Ala	Val	Leu	Ser	Arg	Ala	Ser	Arg	Ser	Ile	Arg

```

545          550          555
Ile Gly Leu Arg Asn His Asp His Glu Val Leu Leu Ala Asn Thr
560          565          570
Phe Cys Val Glu Ala Tyr Leu Gln Asn Leu Phe Ser Leu Ser Gln
575          580          585
Leu Asp Lys Tyr Ala Pro Glu Asn Leu Asp Glu Gln Ile Lys Lys
590          595          600
Val Ser Gln Gln Ile Leu Glu Lys Arg Ala Tyr Ile Cys Ala His
605          610          615
Pro Leu Asp Arg Thr Cys
620

```

```

<210> 25
<211> 245
<212> PRT
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 5596281CD1

```

```

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

```

```

<210> 26
<211> 159
<212> PRT
<213> Homo sapiens

```

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 5731013

<400> 26

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

<210> 27  
 <211> 291  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 5731162CD1

<400> 27

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

Ser Gly Val Ser Arg Arg Met Val Arg Ala Pro Val Gly Ser Ala  
 200 205 210  
 Pro Gly Thr Ser Phe Leu Gly Ser Glu Pro Ala Arg Asp Asn Ser  
 215 220 225  
 Leu Phe Val Pro Thr Pro Val Gln Arg Gly Ala Leu Val Leu Ile  
 230 235 240  
 His Gly Glu Val Val His Lys Ser Lys Gln Asn Leu Ser Asp Arg  
 245 250 255  
 Ser Arg Gln Ala Tyr Thr Phe His Leu Met Glu Ala Ser Gly Thr  
 260 265 270  
 Thr Trp Ser Pro Glu Asn Trp Leu Gln Pro Thr Ala Glu Leu Pro  
 275 280 285  
 Phe Pro Gln Leu Tyr Thr  
 290

<210> 28  
 <211> 1557  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 543496CB1

<400> 28  
 ctgagtgcga ogggcgcaggt ctgcaccatg gggcccggc ttgtcagccg atgcggggct 60  
 gtgcgtgcag ctcccacag cggcccgctg gtgtcctggc gcaggtgggc cggcgcctca 120  
 acagacaccg tgtatgacgt ggtgggtgctg ggtggaggcc tgggtggcgc tgccatggcc 180  
 tgtgccttgg gatatgatat tcactttcat gacaagaaaa tcctgtttgt cgaagcaggt 240  
 ccaagaaaag tactggagaa attgtcagaa acttacagca acagggtcag ctccatttcc 300  
 cctggctctg caacgcttct cagtagtttt ggtgcctggg accatatctg caacatgaga 360  
 tacagagcct ttccggcgaat gcaggtgtgg gacgcctgct cagaggccct gataatgttt 420  
 gataaggata attlagatga catgggctat atcgtggaga atgatgtcat catgcatgct 480  
 ctactaagc agttggaggc tgtgtctgac cgagtgcagg ttctctacag gagcaaaccc 540  
 attcgcata cctggccttg tccatttct atggccgact ccagccctg ggttcataatt 600  
 accctaggty atggcagcac cttccagacc aaattgttga taggtgcaga tggtcacaac 660  
 tcgggagtac ggcaggctgt tggaatccag aatgtgagct ggaactatga ccagtctgct 720  
 gttgtggcta ctctgcattt atcagaggcc acagaaaaca acgtagcctg gcagagattt 780  
 ttccctctg ggcctattgc tctgctcccg ctctcagaca ccttgagttc cttggtttgg 840  
 tccacgtccc atgaacatgc agcagagcta gttagcatgg atgaggaaaa atttgggat 900  
 gccgttaact ctgccttttg gagtgatgct gaccacacgg acttcatcga cacagctggt 960  
 gccatgctgc agtatgctgt cagccttctg aagcccacta aggtctcggc tcgccagctg 1020  
 ccccaagcg tagccaaggt ggatgccaaa agccgagttc tgtttctct tgggttggga 1080  
 catgctgctg agtacgtcag gcctcgggtg gcgctcattg gggatgcagc ccacagagtc 1140  
 catccgcttg caggacaggg tgtcaacatg ggctttgggg atatctccag cttggcccat 1200  
 cacctcagta cggcagcctt caatgggaag gacttaggtt ccgtgagcca cctcacaggt 1260  
 tatgaaacag aaagacagcg tcacaacact gctcttctgg ctgctacaga cttactaaaa 1320  
 aggcctctat ctaccagtgc ctccccgctt gtgttgctca ggacgtgggg cttgcaggcc 1380  
 acaaatgcag tgtctccact caaagaacag attatggcct ttgcaagcaa atgagtactc 1440  
 ctctcctaaa gaaagattac gttgatgaaa aagaacatcc tgcccaggac ccatcataca 1500  
 tattttcaag atcttattta atttaataaa cttactttac attaaaaaaa aaaaaaaa 1557

<210> 29  
 <211> 1106  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 907607CB1

<400> 29  
 cccacgcgtc cgggttcccc ggcctctctt ggtoagggtg acgcagtagc ctgcaaacct 60

```

cggcgcgtag gccaccgcac ttatccgcag caggaccggc cgcagccggt aggggtggct 120
cttcccagtg cccgccccagc tacccggccag cctgcccgtg cgcagatcct tcgtggtctt 180
gtcagggaga cccttaggca ctccggacta agatggcggc gacggccagg cggggctggg 240
gagctgcggc tgttgcggcc gggctgcgca ggcggttctg tcatatggtg aagaatccat 300
acaccattaa gaaacagcct ctgcatcagt ttgtacaaag accacttttc ccactacctg 360
cagcctttta tcaccagtg agatacatgt ttattcaaac acaagatacc ccaaatccaa 420
acagcttaaa gtttatacca ggaaaaccag ttcttgagac aaggaccatg gattttccca 480
cccagctgc agcatttctg tcccctctgg ctaggcagtt atttaggatt gaaggagtaa 540
aaagtgtctt ctttggacca gatttcatca ctgtcacaaa ggaaaatgaa gaattagact 600
ggaatttact gaaaccagat atttatgcaa caatcatgga cttctttgca tctggcttac 660
cctcgtgtac tgaggaaaca ccttcaggag aagcaggatc tgaagaagat gatgaagtgt 720
tggcaatgat taaggaattg ttagatacta gaatacggcc aactgtgcag gaagatggag 780
gggatgtaat ctacaaggc tttgaagatg gcattgtaca gctgaaactc cagggttctt 840
gtaccagctg ccctagttca atcattactc tgaaaaatgg aattcagaac atgctgcagt 900
tttatattcc ggaggtagaa ggcgtagaac aggttatgga tgatgaatca gatgaaaaag 960
aagcaaacct accttaaaat aatctggatt ttctttgggc ataacagtca gacttgttga 1020
taatataat caagttttta ttattaatat gctgaggaac ttgaagatta ataaaaatag 1080
ctcttcagag aatgatatat aaaaaa 1106

```

```

<210> 30
<211> 2180
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 1290078CB1

```

```

<400> 30
gccccacaca ggcccgcgcg gctggctcgg gcccctacgg tcccggcggc ggctggagga 60
gaaagccagg cggctggcgg aggaggagag acggaggagg ccgagaccgg agcgcgcctc 120
gccgcagact tacttcccgg gctcagcagg gaaaggttcc tagaaggtga gcgcccagcg 180
tatgcaaaagt tgtgaatcca gtggtgacag tgcggatgac cctctcagtc gcggcctacg 240
gagaagggga cagcctcgtg tgggtggtgat cggcgccggc ttggctggcc tggctgcagc 300
caaagcactt cttgagcagg gtttcacgga tgtcaactgt cttgaggctt ccagccacat 360
cggaggccct gtgcagagtg tgaaaacttg acaogccacc tttgagctgg gagccacctg 420
gatccatgga tcccattgga accctatcta tcatctagca gaagccaacg gctcctgga 480
agagacaacc gatggggaac gcagcgtggg ccgcatcagc ctctattcca agaattggct 540
ggcctgctac cttaccaaac acggccgcag gatccccaa gacgtggttg aggaattcag 600
cgatttatac aacgaggtct ataacttgac ccaggagttc ttccggcagc ataaaccagt 660
caatgctgaa agtcaaaata gcgtgggggt gttcaccoga gaggaggtgc gtaaccgat 720
caggaatgac cctgacgacc cagaggctac caagcgcctg aagctcgcga tgatccagca 780
gtacctgaag gtggagagct gtgagagcag ctcacacagc atggacgagg tgtccctgag 840
cgcttcgggg gatgggacc agatccccgg cgtcaccac atcatcccct cgggcttcat 900
gcgggttgtg gagctgctgg cggagggcat cctgcccac gtcattcagc tagggaaacc 960
tctccgctgc attcactggg accaggcctc agcccgcctc agaggccctg agattgagcc 1020
ccgggggtgag ggcgaccaca atcacgacac tggggagggt ggccagggtg gagaggagcc 1080
ccgggggggg aggtgggatg aggatgagca gtggtcgggt gtggtggagt gcgaggactg 1140
tgagctgabc ccggcggacc atgtgattgt gaccgtgtcg cttaggtgtc taagaggca 1200
gtacaccagt ttcttccggc caggcctgcc cacagagaag gtggctgcca tccaccgct 1260
gggcattggc accaccgaca agatctttct ggaattcgag gagccctctt ggggacctga 1320
gtgcaacagc ctacagtttg tgtgggagga cgaagcggag agccacaccc tcacctacc 1380
acctgagctc tggtagcgca agatctgcgg ctttgatgtc ctctaccgct ctgagcgcta 1440
cggccatgtg ctgagcggct ggatctgcgg ggaggaggcc ctcgatcagg agaagtgtga 1500
tgacgaggca gtggccgaga tctgcacgga gatgtgctg cagttcacag ggaaccccaa 1560
cattccaaaa cctcggcgaa tcttgccgctc ggcctggggc agcaaccctt acttccgcgg 1620
ctctattcoa tacacgcagg tgggctccag cggggcggat gtggagaagc tggccaagcc 1680
cctgcogtac accggagagct caaagacagc gcccatgcag gtgctgtttt ccggtgaggc 1740
caccaccgct aagtaactat ccaccaccca cggctgctct ctgtccggcc agcgtgaggc 1800
tgccgcctc attgagatgt accgagacct ctccagcag gggacctgag gctgtctct 1860
gctgctgaga agagccacta actcgtgacc tccagcctgc ccctgtctgc cgtgtgctcc 1920
tgccttcctg atcctctgta gaaaggattt ttatctctct tagagctagc cgcctgact 1980
cgcttcagac ctggccctgt agcttttctt ttctccagg ctgggcogtg agcaggtggg 2040
cogttgagtt ccctctgtgc tggatccggt gccccaact gcctaccctc tgtctgct 2100
tgttattgta agtgocctca atactttgca ttttgggata ataaaaaagg ctccctccc 2160
tgcccctcaa aaaaaaaaaa 2180

```

<210> 31  
 <211> 1311  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 1302741CB1

<400> 31  
 ccgcccgccca cccgagccta tctgggctgc gtctttctcgc cgtgctcttt cgtggcccaa 60  
 cgccccaatc cttgcgtgtg cttgcagtcc cacccecaac tcagccttgt gtccctcgat 120  
 ccagttctccg acttccattt cccaccctaa accgcctacc cgggtgtctgt tccccgcccg 180  
 gttgtctctcg cctgtctgcg ctgagtgtcc cctgttagcc tcgaccccat ggcgctgcag 240  
 acgctgcaga gctcgtgggt gacctccgc aagatcctgt ctcaactccc cgaggagctg 300  
 agtctggctt tcgtctacgg ctccgggggt taccgccagg cagggccgag ttcagaccag 360  
 aagaatgcta tctggactt tgtgttcaca gtagatgacc ctgtcgcatt gcattcaag 420  
 aacctgaaga aaaattggag tcactactct ttccataaag ttttagggcc caagattatc 480  
 acgtccatcc agaataacta tggcgcctgga gtttactaca attcattgat catgtgtaat 540  
 ggtaggctta tcaaatatgg agttattagc actaacgttc tgattgaaga tctcctcaac 600  
 tggaaataact tatacattgc tggacgactc caaaaaccgg tgaataattat ctcaagtgaac 660  
 gaggatgtca ctcttagatc agccctcgat agaaatctga agagtgtctgt gaccgctgct 720  
 ttctctatgc tccccgaaag cttttctgaa gaagacctct tcatagagat tgcgggtctc 780  
 tcctattcag gtgactttcg gatggtgggt ggagaagata aaacaaaagt gttgaaatt 840  
 gtgaagccca atatagccca cttctgagag ctctatggca gcatactaca ggaaaatct 900  
 caagtgtgtg ataaaagcca gcaagctggt ctggagatag ataaaagccc agaaggacag 960  
 ttcactcagc tgatgacatt gcccaaaacc ttacagcaac agataaatca tattatggag 1020  
 cctcctggaa aaaacagaga tgtggaagaa actttattcc aagtggctca tgatcccagc 1080  
 tgtggagatg tgggtgcgact agggctttca gcaatctgta gaccgcttag tataagacag 1140  
 agcagaaag gcatttttac tgtggcctg aagaagtcag tgatttatag ttcactaaaa 1200  
 ctgcacaaaa tgtgaaagg gtggctgagg aaaacatcct gattttgctt gcttttatat 1260  
 atgttatatg tagatgaata aagtgtttga tcttttttga caaaaaaaaaa a 1311

<210> 32  
 <211> 921  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 1541028CB1

<400> 32  
 ggccccctgc ccccacgtgg cgccctttcc gggcgggggg ggtggggagg cacctccagc 60  
 gacaactctc ccccctccc cggcaccgg ctgatttgct gtgccactgg gagggttcgg 120  
 ggggtgctga gctgagaggg ctccgggaag gagtgcgctc aggacctgcc ttcagcccc 180  
 tttgtgccc gggacgccc gcggcacgac gtggagctcc tggagagcag ctccctgcc 240  
 attttgccgg acttcggggc tgtgagctgg gacttctcag ggactacccc tccgctcgg 300  
 ggctgggtccc caectctggc ccccggtgc taocagctcc tgctgtacca agcaggccgg 360  
 tgccaaccga gcaactgcc cgggtgccc ggggctatc gggcactgag ggggcttoga 420  
 agctttatga gtyccaacac ctteggcaat gccggtttt ccgttctcct gcctggggcc 480  
 cggctcgagg gccgctgtgg gccaccaat gcccggtca gatgccatct gggcctaaag 540  
 atccctctg gctgtgagct ggtggctggc ggtgagcccc agtgctgggc tgaggggac 600  
 tgtctactgg tggacgactc ttttctacac acagtggctc acaatggctc ccccgaagat 660  
 gggcctcgag tggcttcat cgtggacctc tggcaccoca acgtggcagg ggctgagcgc 720  
 caggccctcg actttgtctt cgccccagac ccttgaagga aggtgctccc ttcacacacc 780  
 caggctggag agacactgct ctcagggacg gcttgatggt agccaggacc tcctctctac 840  
 tgcgggggtg ggcgggggct gaggatggga actggctagt gagcactgaa atataaatc 900  
 tgaatctca aaaaaaaaaa a 921

<210> 33  
 <211> 2032  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<220>  
<221> misc\_feature  
<223> Incyte ID No: 1597687CB1

```

<400> 33
agaaaccagg cggcgcgttc ccggtggcgg cgccctggac tcccgggccc gcgcattccc 60
gccagccttc cttaaggcgg atgggtggcc cccgagaccc cgtcggaccc atggtttcca 120
gtgcagcgcg gagtggggcga tgccagcgtg ccaggagcca tgtctgacca ggacgtttgg 180
aagatcatat ccattgccaga ggctcttggt aggagatgag ttggtaaaga gagaggctgg 240
gatgaagatg ctgccaggag tggcgtggtt tgggactggc agctccgccc gagttctggt 300
cccactgctg agggcagaag ggttcactgt tgaggccctg tgggggaaga ctgaggagga 360
ggcgaagcag cttgctgagg agatgaacat cgccttctac accagccgga ctgatgacat 420
cttgctgcat caagatgtgg atctggtgtg catcagcacc cccctccac tcaccgggca 480
gatatccgtg aaggtctag gtattgggaa gaatgtggtt tgcgagaagg cagcaacatc 540
ggtagatgcc ttccggatgg tgacagcctc gcgctactac ccgagctca tgagcctggt 600
agggaaacgtg ctgcgcttcc tgctgccttt cgtgcgcatg aaacagctga tttcggaaaca 660
ctatgtggga gcggtgatga tctgtgatgc ccgcatctac tcaggcagcc tgctgagccc 720
cagctatggc tggatctgtg atgagctcat gggcggcggg gccctgcaca ccatggggac 780
ctacatgtgt gacctgctga cccactgac cggccggaga gccgagaagg tgcacgggct 840
gctcaagaca ttctgtgagg agaacgctgc catccgtggc atccggcacg tcactagcga 900
tgacttctgt ttcttccaga tgctcatggg tgggggtgtg ttagcacag tgacactcaa 960
cttcaacatg ccaggcgcct ttgtgcatga agtcatggtg gtaggctctg caggacgcct 1020
cgtgcgccgg ggagccgacc tctatgggca gaagaactct gccacgcaag aggagctgct 1080
cttgaggggac tcgctggcag tggcgcaggg actgctgag caggggcccc aggatgtccc 1140
gctgctgtac ctgaagggca tggctacat ggtgcaggcc ttgcgccagt ccttccaggg 1200
gcagggcgac cgcgcacact gggaccgcac cctgtctccc atggccgct ccttcgagga 1260
tgggctgtac atgcagagcg tggtaggagc catcaagagg tcgagccgat ccggggagtg 1320
ggaggctgtg gaggtgctga cggaggagcc cgacaccaac cagaacctgt gtgaggcact 1380
tcagcggaac aaactatgag cctgcacctg ggctccttgc cacagggcag agggaccagg 1440
gaggggaaca ggagccagac atgacagggc cttggcccta gcagagacag tgtctttcat 1500
ttaatgagtc tgggtgaagc cagaggtggc tctgggactt cgcctctccc agtggctcat 1560
ctgctctcca gacttgcagg gtggcaaatg ttctgttgc caggttacca cgggtgtcac 1620
agggcagagc tgcggccagg cctcctcatg gtgatgccag tgagtccgac caggaaggac 1680
tcaccctggg gagcccttca cctgatccg cagtcctaac agggtgagaa agcacaagag 1740
gggccagctc ggctgaggcc tgaggagaaa tgatgagaag ttttgtttcg tcttgggct 1800
ggggcatctc aggaacagtg agggcaacaa gctgtcccctc agggaccctc acctgcccctc 1860
ccatgtgacc aggccttcc caggtgggga ctggggcttg cttattaag tgagctcttg 1920
ggcttttgaa gtaggacaga gggccctggt ttggcagaga ggaggcaagg gagggcttta 1980
gaacatctga gaaatgttaa taaataattc agaaaaataa aaaaaaaaaa aa 2032

```

<210> 34  
<211> 1134  
<212> DNA  
<213> Homo sapiens

<220>  
<221> misc\_feature  
<223> Incyte ID No: 1690348CB1

```

<400> 34
cgtggacttc taagaaagcg ccatggcctg tgctgctggt atgattcctg ggttgttgcg 60
gtgctctggt ggagccatcc gtattgaggg tgcgtcactg agattgacac tcagcacttt 120
gcgccatctt actctaacca gcataatgaa atccaaaagg aaaactgac acatggagag 180
aactgcaagt gtccttcgac gggagattgt ggcagcagct aaggtgtgtg gagctgocag 240
tgagtcaacc tcagtgaaga gcctcogctt gcttgttgcg gatcaagact tttcctttaa 300
agctggccag tgggttgatt tctttattcc aggagtctct gttggtgggt ggttttcaat 360
atgctccagt cccagactgc tagaacaaga gagagtgata gaattggcag tgaatatatac 420
gaaccaccct cctgcctctc gggttcacaa tacgtgtaca cttgactgtg aagtggctgt 480
gagagtgggt ggagagttct tctttgacct tcagcctgcg gatgctctta gaaacctcgt 540
gttgattgca ggaggagtgc gaattaaccc tctgctttcc atcctgoggc acgcagcaga 600
tctcctcaga gacagggcaa acaaaaagaaa tggatatgag ataggaacaa taaaactatt 660
ctacagtgca aaaaatacca gcgaactcct gtttaagaaa aataccttg atttagtaaa 720
tgaatttctc gagaagattg catgcagttt gcatgttaca aaacagacta cacaaatcaa 780
tgcggaactc aagccataca tcacggaagg aagaataacg gagaaggaga taagagatca 840
tatttcaaaa gagactttgt tctatatttg tggccacct ccaatgacag actttttctc 900
caagcaactg gaaaacaacc atgtacccaa agaacacatt tgctttgaga agtgggtgga 960

```

```

ggaggcagac aaaggcagaa aaaataaaga ggtgagatct actcaggaga gtcctctgcc 1020
tttgtggcat gattaatfff ttttatctct acttgagttg tcttattfff taaggctata 1080
aacttagtga ccagctggat aataaaagcc agctggcaga cttaaatgat aaac 1134

```

```

<210> 35
<211> 734
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> unsure
<222> 661
<223> a or g or c or t, unknown, or other

```

```

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 1865603CB1

```

```

<400> 35
gggaggaccc tgggcaaaga cacctaccct gccatgctgc gccatctgcc ctccaggctg 60
ccagtcaaga tgtggggcag gactttggag aaacagtcac ggaggacag cagtcagacc 120
cctcccccat gctttatccg tagacttgac cacatcgtga tgacgggtga gagcatcaaa 180
gacaccacca tgttttattc caagatcctg ggcattggagg tcatgacttt taaggaagac 240
cggaaagcac tgtgttttgg agaccagaaa tttaacctcc acgaggtggg aaaggaattt 300
gaacccaaag ccgctcaccg agttcctggc tccttggaaca tatgtctgat cacagaggtg 360
cctttggagg aatgatcca gcacctcaag gcttgtgatg tcctattga ggaggggcca 420
gtccccagaa caggggcaaa agggcctatc atgtccatct actccgaga ccccgacaga 480
aatctgattg agtgtccaa ctacatctcc tcgtgatgga ggctggacct cctccattct 540
gtcccccttg atgtgcctc ctcccttctc tcttgcaaac ccccaccag gccagagat 600
ctccaaagac tgaggactta ggcactcac acatcctgct gaggggggac ccaagacagg 660
nttgggacca aacctacatg tctgtatgtc atcaaagttg gcctaataaa tgcataacct 720
ctcaatgaaa aaaa 734

```

```

<210> 36
<211> 2221
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 1976472CB1

```

```

<400> 36
gtcgggggct tggcctctgc ccggccacag agccggagct ggaggtgctg tcccgtctgg 60
cggcgatccc cgggcagggc ccggggccgg ggtttgaaga tgcgtaacgt cccttccag 120
tctttcccgg ccccagggtc gcagcagcgt gtcgcctccg gggggcgtag aaggtagctt 180
taaaacaggg cagaagcctt atggattgga ttcgactgac caaaagtgga aaggatctaa 240
cgggattaaa aggcaggtta attgaagtaa ctgaagaaga acttaagaaa cacaacaaaa 300
aagatgattg ttggatatgc ataagaggtt tcgtttataa tgtcagccct tatatggagt 360
atcatcctgg tggagaagat gaactaatga gagcagcagg atcagatggt actgaacttt 420
ttgatcagg tcatcgttgg gtcaattatg aatccatgct gaaagaatgc ctggttggca 480
gaatggccat taaacctgct gttctgaaag actatcgtga ggaggaaaag aaagtcttaa 540
atggcatgct tcccagagc caagtgacag atacacttgc caaagaaggt cctagttatc 600
caagctatga ttggttccaa acagactctt tagtcacct tgccatata actaaacaga 660
aggatatcaa tttagactca ataagttag atcatcagaa tgattccttt agagcagaaa 720
caattattaa ggatgtttaa tatcttatac atattgggct aagccatgag gttcagggaag 780
atftttctgt ggggttgtt gagagtgtgg gaaaaataga gattgttcta caaaaaaaag 840
agaataactc ttgggacttt ctggccatc cctgaagaa tcataattca ctatttcaa 900
ggaaagatac aggtttgtac tacagaaagt gccagttaat ttccaaggaa gatgttactc 960
atgatagcag gcttttctgt ttgatgctgc caccaagcac tcatcttcaa gtgcccattg 1020
ggcaacatgt ttacctcaag ctacctatta caggtacaga aatagtaaag ccatatacac 1080
ctgtatctgg ttccttactc tcagagttca aggaaccagt tcttccaac aataaataca 1140
totacttttt gataaaaatc tatcccactg gactcttcc accagagctt gatcgtcttc 1200
agattggaga ttttgttctc gtaagcagtc ctgagggcaa ttttaaata tccaagttcc 1260
aagaattaga agatctcttt ttgtygcag ctggaacagg cttcacacca atggttaaaa 1320

```

```

tactgaatta tgctttgact gatataccca gtctcaggaa agtgaagctg atgttcttca 1380
ataaaacaga agatgatata atttggagaa gcccaattgga gaaattagca tttaaagata 1440
aaagactgga tgttgaattt gttctctcag cacctatttc tgaatggaat ggcaaacagg 1500
gacatatttc accagctctt ctttctgaat ttttgaaaag aaatttggac aaatccaaag 1560
ttctcgtctg catttgtgga ccagtgccat ttacagaaca aggagtaagg ttgctgcatg 1620
atctcaactt ttccaaaaat gagatccata gttttacagc ataatgaaga gctgtcattg 1680
tcctttattc aactagttta tctaaatttg tgattgctta gggtttttta agagaacatt 1740
tttgtacata acaaaaaggtt aactagaatc cagccttcag tttcttaaat gaaatcaaat 1800
gttccttcag tacaggtaac ttcttggctt tctttgttac cacaaacttat tttactactg 1860
atatttgacc tggaaagtta atcatggcaa caaacacata caggattcctt tgttatgaat 1920
cacaaaattc ctgtgccattt aaattatata actgttctac aataagcact tgtgttttat 1980
gacatgataa agtaaatgat cacttcgatc atgtttctat gctgtaaaat gtcttattag 2040
caatacagat taaattttac cttgcactgt taactcagga aatgatcatt tatgtccttg 2100
ttattaatgt taaaacatag aatgttataa cttattaagt gatccaaaca tttttttgtg 2160
tgtgtatggc attgatgcag aatagaataa aattatactt aagttctttt taaaaaaaaa 2220
a 2221

```

<210> 37

<211> 1706

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc\_feature

<223> Incyte ID No: 2050821CB1

<400> 37

```

agaagaggtt gtgtgggaca agctgtccc gacagaagga tgtcgtctgt gagcctgccc 60
tggetgggccc tcagaccggg ggcaatgtcc ccatggctac tctcgtctgt ggttgtgggc 120
tcctggctac tcgcccgcac cctggcttgg acctatgcct tctataacaa ctgccgccgg 180
ctccagtgtt tcccacagcc cccaaaacgg aactggtttt ggggtcacct gggcctgatc 240
actcctacag aggagggctt gaaggactcg acccagatgt cggccacctt ttcccagggc 300
tttacggtat ggtcgggtcc catcatcccc ttcatcgttt tatgccacc tgacaccatc 360
cggctctatca ccaatgcctc agctgccatt gcacccaagg ataatctctt catcaggttc 420
ctgaagccct ggctgggaga agggatactg ctgagtggcg gtgacaagtg gagccgccac 480
cgtcggatgc tgacgcccgc cttccatttc aacatcctga agtctctat aacgatcttc 540
aacaagagtg caaacatcat gcttgacaag tggcagcacc tggcctcaga gggcagcagt 600
cgtctggaca tgtttgagca catcagcctc atgacctgg acagtctaca gaaatgcatc 660
ttcagctttg acagccattg tcaggagagg cccagtgaat atattgccac catcttggag 720
ctcagtgccc ttgtagagaa aagaagccag catatcctcc agcacatgga ctttctgtat 780
tacctctccc atgacgggcg gcgcttccac agggcctgcc gcctggtgca tgacttcaca 840
gacgctgtca tcggggagcg gcgtcgcacc ctcccactc agggatttga tgattttttc 900
aaagacaaaag ccaagtccaa gactttggat ttcattgatg tgcctctgct gagcaaggat 960
gaagatggga aggcattgtc agatgaggat ataagagcag aggctgacac cttcatgttt 1020
ggaggccatg acaccacggc cagtggcctc tcctgggtcc tgtacaacct tgcgaggcac 1080
ccagaatacc aggagcgtg cccagacagg gtcgaagagc tctgaaagga ccgcgatcct 1140
aaagagattg aatgggacga cctggcccag ctgcccctcc tgacctgtg cgtgaaggag 1200
agcctgaggt tacatcccc agctcccttc atctcccgat gctgcaccca ggacattggt 1260
ctcccagatg gccgagtcac cccc aaaggc attacctgcc tcatcgatat tataggggtc 1320
catcacaacc caactgtgtg gccggatcct gaggtctacg accccttccg ctttgacca 1380
gagaacagca aggggaggtc acctctggct tttattcctt tctccgcagg gccacaggaac 1440
tgcctcgggc aggcgttccg catggcggag atgaaagtgg tcttggcgtt gatgtctgtg 1500
cacttccggt tcctgccaga ccacactgag ccccgcagga agctggaatt gatcatggc 1560
gccgagggcg ggctttggct gcgggtggag cccctgaatg taggcttga gtgactttct 1620
gacccatcca cctgtttttt tgcagattgt catgaataaa acggtgctgt caaaaaaaaa 1680
aaaaaaaaac taaaaaaaaa aaaaaa 1706

```

<210> 38

<211> 549

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc\_feature

<223> Incyte ID No: 2408443CB1

```

<400> 38
cccacgcgtc cgtgtcatgt acttttggtt atatttttgc tataataaac ttagtatatt 60
tcaaggaggg caacatttta tggttacatt atactcgtct ccgagttgca cctcttgtcg 120
taaagcaaaa caatggctgg ttgaccataa tctcccattt attgaacgta atttaaataa 180
agaaccattg cgtgcggaag atgtcaaaagc aatgttacga ttgactgaag atgggacgga 240
agaattaatt tcaacacgct caaaaatttt ttctgagttg acgattgact tagatgatat 300
gtcaattaat aaattgattg acctcatcgt catgtatccg tctttactga agcggccaat 360
tattcttgac gatcagcgca tgcaaatggg gtacaatgat gatgaaattc gtcgcttttt 420
accagtgaa gttcgtcagc gagagttaat tcgcgcaaca tttaaagctg acttcgcaga 480
agaggcaaaa gatttagtgg ttgaagaagc ctgagcagct cagtcttttt ttctttacca 540
tgacaaaag

```

```

<210> 39
<211> 1363
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 2508668CB1

```

```

<400> 39
cgtcaggctc tgtgttggtt ggagcgagca tgtgggtctg cagtaccctg tggcgggtgc 60
gaaccocccg ccggcagtg ggggggctgc tcccagcttc tggtgtcac ggacctgccg 120
cctcctccta ctccgcatcc gccgagcctg cccgggtccg ggcgcttgtc tatgggcacc 180
acgggggatcc agccaaggtc gtcgaactca agaacctgga gctagctgct gtgagaggat 240
cagatgtccg tgtgaagatg ctggcggccc ctatcaatcc atctgacata aatatgatcc 300
aaggaacta cggactcctt cctgaactgc ctgctgttgg agggaacgaa ggtgttgcac 360
aggttgtagc ggtgggcagc aatgtgaccg ggctgaagcc aggagactgg gtgattccag 420
caaatgctgg ttaggaacc tggcggaccg aggctgtgtt cagcggaggaa gcaactgatcc 480
aagttccgag tgacatcctt cttcagagcg ctgccacctt ggtgttcaat ccctgcacag 540
cctacaggat gttgatggac ttcgagcaac tgcagccagg ggattctgtc atccagaatg 600
catccaacag cggagtgagg caagcgggtca tccagatcgc ccagcctctg ggcctaagaa 660
ccatcaatgt ggtccgagac agacctgata tccagaagct gactgacaga ctgaagagtc 720
tgggggctga gcatgtcctc acagaagagg agctaagaag gcccgaaatg aaaaacttct 780
ttaaggacat gccccagcca cggcttgctc tcaactgtgt tgggtggaaa agctccacag 840
agctgctcgg gcagttagcg cgtggaggaa ccatggtaac ctatgggggg atggccaagc 900
agcccgctgt gctctctgtg agcctgctca tttttaagga tctcaaaact cgagcttttt 960
ggtttgcca gtggaagaag gatcacagtc cagaccagtt caaggagctg atcctcacac 1020
tgtgcatct catccgccga ggccagctca cagcccttgc ctgctcccag gtcccctgctc 1080
aggactacca gctctgcttg gaagcctcca tgaagcctt catatcttca aagcagatcc 1140
tcaccatgtg atcatcccaa aagagctgga gtgacatggg aggggaggcg gatctgaggg 1200
gctgggtgca gcccctcag ttggggctcc caccttcccc agactactgt tctctcact 1260
gcctcttctt attaggagga tgggtgaagcc agccacggtt ttcccaggg ccagccttaa 1320
ggtatctaat aaagtctgaa ctctcccttc caaaaaaaaa aaa 1363

```

```

<210> 40
<211> 1196
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 2536830CB1

```

```

<400> 40
ggttgccagg caaccgcaaa ccgcggtccc tgctctgag tctctctega ccatggccaa 60
attcgtcatc ggggtagag cagattgtcc atattatgct aaaacagaac ttgtggcaga 120
ctatttcaa aagaatcttc ctgattttcg gatacataaa atcacacaac gtcctgaggt 180
ttggagggat tggctaaaag atgtgtgtga aaagaataag tggagtcaca agaattcccc 240
tatcatctgg agagagctgt tggatcgtgg aggaaagggt ttgcttttgg gaggatataa 300
tgagttcctg gagcatgctc agctttacta tgatgtcacc tctagcatga cgactgaact 360
gatgatggta attgctcaag agaacctggg ggcacatata gaaaaagagc aggaggaaga 420
agccctgaaa acttgcatec accccttgca ggtctggatc accagtgctc ctgctcctgc 480
ctgctacaac ctaattcca tattgacgag tggcgaagtg tttgggatgc atacagaaat 540

```

```

tagcataact ctatttgaca acaagcaggc ggaagaacat ctcaaaagcc ttgtggtgga 600
gacccaagac ctggcatctc ccgtcctgcy cagtgtctcc atctgcacga aggtggagga 660
ggccttccgc caggcccacg tcattgtggt gctggatgac agcaccaaca aggaggtggt 720
cactctggag gactgcctcc gaagcagggt gctctctgcy aggtctctatg ggtacctgat 780
agagaaaaat gctcatgagt ctgtcagagt catcgtggga gggagaacct ttgtaaacct 840
gaagacagtt ttaactcatga gatatgcccc acgcattgca cacaaacatta ttgctgtggc 900
gctgggggtg gaaggtgaag cgaagccat actggccaga aaactgaaga cagctccttc 960
atgtgagtga atgtctcttt atgtttttgt ttttattttg aaacaacatg atttcaaagc 1020
agctaggaag aacactgtcc cctctaggaa cattctgagt atctggaata ggaagtataa 1080
aacagacata aagaacttat tgtgtgattt gactactgtg caaacatttt ttttactggy 1140
cttttgtgtc tggctttttc catcattata aaaatcaata aatatttaat aagaaa 1196

```

&lt;210&gt; 41

&lt;211&gt; 1926

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; misc\_feature

&lt;223&gt; Incyte ID No: 2645179CB1

&lt;400&gt; 41

```

gcttcctctc ctggagtcca gagtcccgtc gctccgcccg gatattcagt aaaccactgg 60
gagtcggcca gcatggaggc agcgcgccct cccccgacgg caggggaagt cgtggtggtc 120
ggcggcgcca tcgcgggcgt cacttgtgcy gagcagttgg ctactcactt tccatcggaa 180
gatattctct tggaacacgc ttctcctggt attaaagcag ttacaaattt caagcagatt 240
tctaaaaat tggagaatt cgatgttga gaacaatcaa gtaccatgtt aggaaaacgc 300
tttcccaaca ttaaggttat agaatctggc gtaaaagcaac tgaagagtga agaactctgc 360
attgtaacag aagatggcaa tcagcacgta tataagaaac tctgtctgtg tgctggagct 420
aaaccaaagt tgatatgtga aggaaatcct tatgtattag gaatccgtga tacagacagt 480
gctcaggaat ttcagaaaca gcttactaaa gctaaaagaa taatgatcat agggaaacggt 540
ggtattgcac ttgagttagt gtatgaaatt gaaggctgtg aagtgatttg ggccattaaa 600
gataaaagcta tagggaatac tttcttcgat gcaggagcag ctgaattctt gacttcaaag 660
ctcattgctg aaaaatcaga ggctaaaatt gcacataaaa gaaccagata tacaactgaa 720
ggaagggaaa aggaagctag aagcaaatct aaagcagata atgtaggaag tgcattggga 780
ccagattggc atgaaggctt gaatcttaaa ggaacaaaag agttttctca taagattcac 840
cttgaacta tgtgtgaagt aaagaaaatc taccttcagg atgagtttag aattttgaag 900
aaaaagtcct tcacttttcc aagagaccat aagtcagtta cagctgatac agagatgtgg 960
cctgtctatg tggaaattgc caatgaaaag atatatggct cggatttcat tgtcagtgct 1020
acaggagtta caccaaatgt agaacctttt ctccatggta acagttttga tctaggagaa 1080
gatggtggcc tgaaagtgga tgatcatatg cacacatccc ttctgatgat ctatgctgcc 1140
ggtgacatct gtactacatc ctggcagctg agcccagtct ggcagcagat gaggctgtgg 1200
accaggcta gacagatggg atggtatgca gcaaaagtga tggctgcagc gagttcagga 1260
gactctattg acatggattt cagctttgaa ctgtttgctc atgtgacaaa attttttaac 1320
tataaggttg tactgctggg aaaatacaat gcacagggct taggttcaga tcatgaatta 1380
atgctgagat gtaccaaagg acgagaatac atcaaagtct tcatgcaaaa tggacgaatg 1440
atgggagctg tcttaattgy tgaaccgat ttagaagaaa catttgaaaa cctaacttta 1500
aaccaaatga atcttttcatc atatggagaa gatctgctag atccaaatat tgatatagaa 1560
gattattttg actaaaaatg gaatttcttc agaatcata taaagttcca aatgacacca 1620
gaaaaatcac aagtcaataa aatgaatgac tgtattgagt taatgatgac cacactgaaa 1680
attacagaag tgataatgat attagtgga aaatataaaa acataaattc taagttttaa 1740
atcagttcaa agtttattta tagatatatc tttccaatac aacactgacc gcttagataa 1800
aaatcttaag ttattttttt ctgtgtttta aacataaata tgtttacttg tgatttagct 1860
ttggagcaaa tttaggttaag ttatctactt agccaaatgt actctagtag actagaacca 1920
ttcttt 1926

```

&lt;210&gt; 42

&lt;211&gt; 1727

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; misc\_feature

&lt;223&gt; Incyte ID No: 2754425CB1

```

<400> 42
agggaccgac ggcacttgat aatgtgacaa aaaccagcct cttccacccc actgcagtga 60
cttttgccgg aaagtggagc agtgggcaag gccaaccttg tegtcatca atgccgcccc 120
tggcagtatc tgaggatcgg tggcagccat gcctccccct gccccagccg ctctctcccc 180
cccacgctaa tctgcatggt gtggcgcccc ttgggacccc cgaggactga ttgtctgacc 240
ttgcttcaca cgcccagtaa ggactcccc aagatgtcgc tcgagtggt ggtggcctgg 300
agctggtcgc tggatggcct gagggactgc atcgccaccg gcatccagtc cgtgccccgg 360
tgcgacacca ccgctgtcat cactgtggcc tgccctcctgg tccctctcgt gtggctactgt 420
tatcacgtgg gcagggagca gccccggccc tacgtctccg tcaactccct catgcaggct 480
gccgatgcca acgggctgca gaatggctac gtgtactgcc agtccccctga gtgcgtgcgc 540
tgcacccaca acgagggcct caaccagaag ctgtaccaca acctgcagga gtacgccaa 600
cgctactcct ggtccggcat gggccgcate cacaagggca tccgagagca gggccgggtac 660
ctcaacagcg ggccctccat ccagaagccc gaggtcttct tccctgccga cctgccacc 720
acgcctatt tctccggga gcacagaaa catgatgtgg aagtgcctga acggaactc 780
cagccatcc tgtgtgagtt tgagaccctc tacaagctt tctcaaactg cagcctccc 840
caaggatgga aatgaacag cacccccagc ggggagtggt tcaccttta cttggtcaat 900
cagggggttt gtgttccag gaactgtagg aagtgccac ggacgtaacc cttgctcgg 960
agccttcgga cctgtattgg gaacaatggt tttgggaacg cgtgcatctc tgtgctgagc 1020
cctgggactg tgataacgga gcaactatgga cccaccaaca tccgcatccg atgccattta 1080
ggcttgaaaa ctccaaatgg ctgtgagctg gtggtggggg gagagcccca gtgctgggca 1140
gaagggcgct gccttctctt tgatgactct ttccctgcatg ctgcgttcca tgaaggttca 1200
gcagaggatg gccacgggt ggtttctatg gtggatttgt ggcatcaaaa cgtcgcagcg 1260
gccgaacggc aggcctctga tttcatcttt gctccgggac gatgagagta tttccatgc 1320
tggagtcggc gagaagggcc gagggcgggc ctgggcagac tgtggtccgg tccagtcct 1380
accggtgttg tttccatgct cagaaacctg cctcagcgga aagctcttat ttgggatttt 1440
atatcatgtc gggctccctct tcccttgggt tattgtaaat ggaaactttt cggcttgtat 1500
ttccttagat ttttttttt tcttccaat catttgcttc agagactcct tctggccta 1560
acagcgcatt cctttgattg gtccttgagt gaccagagac ttagtgccct tghtaagtct 1620
tcttctgttg ctacttgttt tttcagtgcc tctgaaatag agtaactaaa tgggtatttg 1680
tctgaatata ataatgtaaa acttcttgtg gtcactttaa aaaaaaa 1727

```

```

<210> 43
<211> 611
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 2821526CB1

```

```

<400> 43
cccacccggt gggttttgct cggcgcaccc gggagggcgg gccagcgagg caagatggag 60
ttagtgagg tccctgaaacg cgggctgcag cagatcaccg gccacggcgg tctccgaggc 120
tatctacggg tttttttcag gacaaatgat gcgaagggtg gtacattagt gggggaagac 180
aaatatggaa acaaatacta tgaagacaac aagcaathtt ttggccgtca ccgatgggtt 240
gtataacta ctgaaatgaa tggcaaaaac acattctggg atgtggatgg aagcatggty 300
cctcctgaat ggcatcggtg gcttcacagt atgactgatg atcctccaac aacaaaacca 360
cttactgctc gtaaattcat ttggacgaac cataaattca acgtgactgg caccaccaga 420
caatatgtac cttattctac cactagaaag aagattcagg agtggatccc accttcaaca 480
ccttacaagt aaagacaatg aagaacagtt gaaacatgca aaatatggag cttttcagt 540
aattactctt ttactgttta ccattcacta taattcaaaa ttaaaattgt gtgactaaac 600
aaaaaaaaa a 611

```

```

<210> 44
<211> 1352
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 2876494CB1

```

```

<400> 44
gttttattga caatacatgc atcatatcct ttgactttga aggatatctc atgtcaaagg 60
aatcaagtta tgatttatag aggattcagc tggataacct tgtgggtgct ggctgagggt 120
ggcaaacgc ctaccgagac atgaaggttt tagccactag ttttgcctt gggagcctgg 180
ggttggcctt ctacctgcct ttgggtgtga ctacacctaa aacctggcc atccctgaga 240
agctgcaaga agctgtgggg aaagttatca tcaatgccac aacctgtact gtcacctgtg 300
gccttggcta taaggaggag accgtctgtg aggtgggccc tgatggagtg agaaggaaat 360
gtcagactca gcgcttagaa tgtctgacca actggatctg tgggatgctc catttcacca 420
ttctcattgg caaggaattt gagcttagct gtctgagttc agacatcttg gaggttggag 480
aggaagcttt ccggttcacc tggagacttg ctcgagggtg catctccact gacgatgagg 540
tcttcaaac ctttcaagcc aactcccact ttgtgaagtt taaatatgct caggagatg 600
actctgggac atatcgctgt gatgtgcagc tggtaaaaaa cttgagactt gtcaagaggc 660
tctattttgg gttgagggtc cttcctccta acttggtgaa tctgaatttc catcagtcac 720
ttactgagga tcagaagtta atagatgagg gattggaagt taatctggac agctactcca 780
agcctcacca cccaaagtgg aaaaagaagg tggcgtcagc cttgggaata ggaattgcc 840
ttggagtggt tgggtggcgtg ttgggtgagga ttgtcctctg tgcgctaagg gggggcctgc 900
agcagtgaca gcttcaagaa cttaacagcc ttgtcctga agaactggct gcccaggaag 960
ccaagctagc tttttagggg agtgttccag ctgctggtag tggatcagct tagagggaac 1020
actcccacag ccaaaagaat gagtgggaga aatggagggg acaatctcct gggagctgag 1080
cgcagtaacc taacttcctt atgtcccatg gatctcttcc tgatcttccc tgcccattgg 1140
gtaccagga aactgcaagc attgcctgtg ttctctggaa gagttctaag aagcttgcac 1200
tcattttcta ccctttatga cttggatgcc tcccacctc catttccctt cttctgagct 1260
gtgtattcat gttaggggat gtattcagcc tttttagtga acattttttt tcaataaaa 1320
taattcacag tagctgtatg gagacctttt tc 1352

```

```

<210> 45
<211> 1458
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 3403225CB1

```

```

<400> 45
ggacggagag gagcagagaa gcagcagaag cagccaagag ctggagccag accaggaacc 60
tgagccagag ctggggttga agctggagca gcagcaaaag caacagcagc tacagaagtt 120
ggaacgatgc ttgtcaacctt gggactgctc acctccttct tctcgttctt gtatatggta 180
gctccatcca tcaggaaagt ctttgcctgt ggagtgtgta gaacaaatgt gcagcttct 240
ggcaaggtag tgggtgatcac tggcgccaac acgggcattg gcaaggagac ggcagagag 300
ctcgctagcc gaggagcccc agtctatatt gctgcagag atgtactgaa gggggagtct 360
gctgccagtg aaatccgagt ggatacaaa aactcccagg tgctggtgcg gaaattggac 420
ctatccgaca ccaaatctat ccgagccttt gctgagggct ttctggcaga ggaaaagcag 480
ctccatattc tgatcaacaa tgcgggagta atgatgtgtc catattccaa gacagctgat 540
ggctttgaaa cccacctggg agtcaaccac ctgggcaccg gggtcaccac ctacgcagt 600
caccagggcg tcgtccgctc tgagctggtc cggcactcct ccctgctctg cctgctctgg 660
cggtcttctt ccccttttgt caagacggca cgggaggggg cgcagaccag cctgactg 720
gccctggctg agggcctgga gcccctgagt ggcaagtact tcagtactg caagaggacc 780
tgggtgtctc caaggcccc aaataacaaa acagctgagc gcctatggaa tgtcagctgt 840
gagcttctag gaatccgggt ggagtactg gtggaagagc tgcagcttta tcaggcccaa 900
tccatgccat aatgaacagg gaccaaggag aaggccaacc ctaaaggatt gtcctcttgg 960
ccagctgggt ctgcaatcc tgcctgctct gatcctcttg acccttctgg gaatgtttg 1020
acacctgaca ctcttgtgag actggcttat ggcatgagtt gtggacacct atagagtgtt 1080
cttctctaag acctgaaaag tcagcaacc tctgggggca gcaggactgg gcagatcca 1140
ggctgggcat ggggggtggca gaagagccc agaaattggg tcagtccct catcagcacc 1200
agaggctcag ctgaggaag aagagacca tctctgcta tttctagggg ctatacact 1260
caactcttgg ttgatctctt tctttttaa aatatttggc accacctgg agtctagacc 1320
aacacacaaa gatctggct aaccctggc tatttagatt ccttctctc actggacct 1380
tcccatttca atcatgcaga tggtttctt ttgtaagag tccggtttgc ctttcaatt 1440
ttagagaaaa taaagact 1458

```

```

<210> 46
<211> 1884
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 4163943CB1

<400> 46  
 ggactccaag cgccatggcc gctgcccgcc gagcccgggt cgcgtacttg ctgaggcaac 60  
 tgcaacgcgc agcgtgccag tgcccactc attctcatac ttactcccaa gccctggac 120  
 tttcaccttc tgggaaaaca acagattatg cctttgagat ggctgtttca aatattagat 180  
 atggagcagc agttacaaag gaagtaggaa tggacctaaa aaacatgggt gctaaaaatg 240  
 tgtgcttgat gacagacaag aacctctcca agctcccctcc tgtgcaagta gctatggatt 300  
 ccctagttaa gaatggcatc ccttttacgg tttatgataa tgtgagagtg gaaccaacgg 360  
 attcaagctt catggaagct attgagtttg cccaaaaggg agcttttgat gcctatgttg 420  
 ctgtcggtyg tggctctacc atggacacct gtaaggctgc taatctgtat gcatccagcc 480  
 ctctattctga tttctagat tatgtcagtg cccccattgg caagggaag cctgtgtctg 540  
 tgctcttaa gcctctgatt gcagtgcmaa ctacctcagg aaccgggagt gaaactactg 600  
 gggttgccat ttttgaactat gaacacttga aagtaaaaaat tggcatcact tcgagagcca 660  
 tcaaacccac actgggactg attgatctct tgacaccct ccacatgcct gcccgagtgg 720  
 tcgccaacag tggettggat gtgctttgoc atgcccctgga gtcatacacc accctgcct 780  
 accactgcg tagcccctgc ccttcaaatc ccatcacacg gcctgcgtac cagggcagca 840  
 acccaatcag tgacatttgg gctatccaag cgctgcccgt cgtggctaag tatctgaaga 900  
 gggctgtcag aaatcccgat gatcttgaag caaggctctca tatgcacttg gcaagtgcct 960  
 ttgtggcat cggctttgga aatgctgtgt ttcactctgt ccatggaatg tcttacccaa 1020  
 tttcaggttt aggtgaagat tataaagcaa aggattacaa tgtggatcac ccaactgggtc 1080  
 cccatggcct tctgtgtgtg ctacagctcc cagcgggtgt cactttcacg gccagatgt 1140  
 ttccagagcg acacctggag atggcagaaa tactgggagc cgacaccgc actgccagga 1200  
 tccaagatgc agggctgggt ttggcagaca cgctccggaa attcttatto gatctggatg 1260  
 ttgatgatgg cctagcagct gttggttact ccaaagctga tatcccgcga ctagtgaag 1320  
 gaacgctgcc ccaggaagg gtcaccaagc ttgaccccgg tccccagtc gaagaggatc 1380  
 tggctgctct gtttgaagct tcaatgaaac tgattaatt gtcattttaa ctgaaagaat 1440  
 taccgctggc cattgtagtg ctgagagcaa gagctgatct agctagggct ttgtctttc 1500  
 atctttgtgt ataacttacc tgttaccagt ataggtggga tatacattta tcttgaggga 1560  
 aatcccccaa agctcagagt ccagtctcct ccaataaaca ggctggacaa atgaccata 1620  
 tgttagacc caggctoga cttcaggggt cagtgctcct gtcccaaacc ccacacagaa 1680  
 tactctgcct ctgctcatg tagcaaatga gcaaaaactc agtatctatc aaaagtgtaa 1740  
 attatatttc ctatgcctag taattcactt catgtctaaa aatttatctg atagaaacac 1800  
 tagcaccagt ccatacagaa gcattggcaag gatgtttctg gcagcactt tctaataata 1860  
 aaagatttga aacaaaaaaa aaaa 1884

<210> 47  
 <211> 1400  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 4293484CB1

<400> 47  
 ctccaggcca gtctgggac cctgggatag cggctgcagc tcccaggatc agctctgccc 60  
 tcccgccaaa cgccagcctc gtcaccgctc cagggcacct ccagcagtaa caggtgggtg 120  
 cagcaggtgg cagccagccc ctggatgagc caaggtctct tcccagcca ggcatggccg 180  
 actctgcaca ggcccagaag ctgggtgtacc tggtcacagg gggctgtggc ttctggggag 240  
 agcacgtggg gcgaatgctg ctgcagcggg agccccggct cggggagctg cgggtctttg 300  
 accaacacct gggctcctgg ctggaggagc tgaagacagg taccgggaac gtgatcgagg 360  
 cttgtgtgca gaccggaaca cggttcctgg tctacaccag cagcatggaa gttgtggggc 420  
 ctaacaccaa aggtcacccc tctacaggg gcaacgaaga caccocatac gaagcagtc 480  
 acaggcacc cctatccttg agcaaggccc tggccgagtg gctggctctg gaggccaacg 540  
 ggaggaaagt ccgtgggggg ctgcccctgg tgactgtgc ccttctgccc acgggcatct 600  
 acggtgaagg ccaccagatc atgagggact tctaccgcca gggcctgcgc ctggggagtt 660  
 ggctcttccg ggccatccc gctctgtgg agcatggccg ggtctatgtg ggcaatgttg 720  
 cctggatgca cgtgctggca gcccgggagc tggagcagcg ggcaaccctg atgggccc 780  
 aggtatactt ctgctacgat ggatcaccct acaggagcta cgaggatttc aacatggagt 840  
 tctctggccc ctgcccactg cggctgtgtg gcgcccggcc attgctgccc tactggctgc 900  
 tgggttctct ggctgcccct aatgccctgc tgcaagggc gctgcccga ctggtgctct 960  
 acgcaccct gctgaacccc tacacgctgg ccgtggccaa caccaccttc accgtcagca 1020  
 ccgacaaggc tcagcgcctt ttccgctatg agcccctgtt ctctgaggag gatagccgga 1080

```

cccgcacat tctctgggta caggccgcta cggggttcagc ccagtgcagg tggggctggg 1140
gcctggaggc ccagatacag cacatccacc cagggtcccga gccctcacac cctggacggg 1200
aagggacagc tgcattccag agcaggaggc agggctctgg ggcagaaatg gctgtccttg 1260
tcgtagagcc ctccacattt tctttttctt ttttgagaca gggctctgct ctgtcaccca 1320
gactggagtg cagtgggtg atcatagctc actgcaccct caacctcctg ggttcaagca 1380
atcctctg ctcagcctcc

```

<210> 48  
 <211> 1313  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 4440080CB1

```

<400> 48
gaggctggct agggagccgt gggagtgcgc tgctcacccc agtcagaccc ctggtggggt 60
tcataggagc tggctgctga atgtaagagt gcaggctacc ccgggacttt gatcccctac 120
agatgtgacc tatcaaatga agaggacatc ctctccatgt tctcagctat ccgttctcag 180
cacagcggtg tagacatctg catcaacaat gctggcttgg cccggcctga caccctgctc 240
tcaggcagca ccagtgggtg gaaggacatg ttcaatgtga acgtgctggc cctcagcatc 300
tgcacacggg aagcctacca gtccatgaag gagcggaaatg tggacgatgg gcacatcatt 360
aacatcaata gcatgtctgg ccaccgagtg ttaccctgt ctgtgaccca cttctatagt 420
gccaccaagt atgccgtcac tgcgctgaca gagggactga ggcaagagct togggaggcc 480
cagacccaca tccgagccac gtgcattctt ccagggtgtg tggagacaca attcgccttc 540
aaactccacg acaaggaccc tgagaaggca gctgccacct atgagcaaat gaagtgtctc 600
aaacccgagg atgtggccga ggctgttacc tacgtcctca gcacccccgc acacatccag 660
attggagaca tccagatgag gcccacggag cagggtgacct agtgactgtg ggagctcctc 720
cttccctccc cacccttcat ggcttgctc ctgcctctgg attttaggtg ttgatttctc 780
gatcaaggga taccacttcc tgtccacacc ccgaccaggg gctagaaaaat ttgtttgaga 840
tttttatatc atcttgtcaa attgcttcag ttgtaaatgt gaaaaatggg ctggggaaag 900
gaggtgggtg cccataattgt tttacttgtt aacttgttct tgtgccctg ggcacttggc 960
ctttgtctgc tctcagtgtc ttcccttga catgggaaag gagtgtggc caaaatcccc 1020
atcttcttgc acctcaacgt ctgtggctca gggctggggg ggcagaggga ggccttcacc 1080
ttatatctgt gttgttatcc agggctccag acttctctct ctgectgccc cactgcaccc 1140
tctccccttt atctatctcc ttctcggctc ccagcccag tcttggcttc ttgtcccctc 1200
ctgggggtcat cctccactc tgactctgac tatggcagca gaacaccagg gcttggccca 1260
gtggatttca tgggtgatcat taaaaaagaa aaatcgcaac caaaaaaaaaa aaa 1313

```

<210> 49  
 <211> 1459  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 5495687CB1

```

<400> 49
gggcccggcc cgcgctccca ggcctctctc ccccagcctt cctccggctg gcagcacgac 60
tcgctgagcc gtgcgccgat tgcctctcgg cctgggcaat ggtcccggct gccggtcagc 120
gaccgccccg cgtcatgagg ctctctggct ggtggcaagt attgctgtgg gtgctgggac 180
ttcccgtccg cggcgtggag gttgcagagg aaagtggctg cttatgggtc gaggagcagc 240
ctgctcacc tctccagggt ggggctgtgt acctgggtga ggaggagctc ctgcatgacc 300
cgatgggcca ggacagggca gcagaagagg ccaatgcggt gctggggctg gacacccaag 360
gcgatcacat ggtgatgctg tctgtgatcc ctggggaaagc tgaggacaaa gtgagttcag 420
agcctagcgg cgtcacctgt ggtgctggag gagcggagga ctcaaggtgc aacgtccgag 480
agagcctttt ctctctggat ggcgctggag cacacttccc tgacagagaa gaggagtatt 540
acacagagcc agaagtggcg gaactctgac cagccccgac agaggactcc aataacactg 600
aaagtctgaa atccccaaag gtgaactgtg aggagagaaa cattaocagga ttagaaaatt 660
tcaactctgaa aattttaaat atgtcacagg accttatgga tttctgaaac ccaaaccgta 720
gtgactgtac tctagtctct ttttacacc cgtggctgag cttttctgac agtttggccc 780
ctcaactttaa ctctctgccc cgggcatttc cagctcttca ctttttggca ctggatgcat 840
ctcagcacag cagcctttct accaggtttg gcaccgtagc tgttccaat attttattat 900

```

ttcaaggagc	taaaccaatg	gccagattta	atcatacaga	tcgaacactg	gaaacactga	960
aaatcctcat	ttttaatcag	acaggatatag	aagccaagaa	gaatgtgggtg	gtaactcaag	1020
ccgaccaaat	aggccctctt	cccagcactt	tgataaaaag	tgtggactgg	ttgcttgat	1080
tttccttatt	ctttttaatt	agttttatta	tgatgtctac	cattcgaact	gagagtattc	1140
ggtggctaat	tccaggacaa	gagcaggaac	atgtggagta	gtgatggctc	gaaagaagtt	1200
ggaaagagga	acttcaatcc	ttcgtttcag	aaattagtgc	tacagtttca	tacattttct	1260
ccagtgcagt	gttgacttga	aacttcaggc	agattaaaag	aatcatttgt	tgaacaactg	1320
aatgtataaa	aaaattataa	actggtgttt	taactagtat	tgcaataagc	aaatgcaaaa	1380
atattcaata	gatgcactat	tcttgttttt	actgcatgaa	cgtaattcag	tatttggaaa	1440
gtaatccagt	ttgaaatgg					1459

<210> 50  
 <211> 2101  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 5527735CB1

<400> 50						
cggtctgagg	cgcccgctcat	ggcgtcgccc	ttcagcgggg	cgctgcagct	gacggacctg	60
gatgacttca	tcgggcccgc	tcaggagtgc	atcaagcctg	tcaaagtgga	aaaaagggcg	120
ggaagtggcg	tggccaagat	tcgcattgaa	gatgacggga	gctacttcca	aattaaccaa	180
gacggcggga	cccggaggct	ggagaaggcc	aaggctctcg	taaacgactg	cctggcgtgc	240
agcggctgca	tcacctccgc	agagaccgtg	cttatcacc	agcagagcca	cgaggagctg	300
aagaaggttc	tagatgctaa	caagatggcg	gcacccagtc	agcagaggct	ggtttagtt	360
tcggtctcac	cacagtctag	agcatcgctg	gctgcacggt	ttcagctgaa	tcctacagat	420
actgcaggga	aattaacctc	attctttaa	aaaatagggg	tgacttcgt	cttcgacacc	480
gccttctcaa	ggcacttcag	cctcctggag	agccagcgag	agtttgtgcg	gcgattccga	540
ggacaggccg	actgcagaca	ggcactgccc	ctgctggcct	ctgcctgccc	aggctggatc	600
tgctatgccg	agaagactca	cggcagcttc	atcctccccc	acatcagcac	cgcccggctc	660
ccgcagcagg	tcatgggctc	cctggtcaag	gacttcttcg	cccagcagca	gcacttgacc	720
cctgacaaga	tctaccacgt	cacagtgatg	ccctgctatg	acaaaaagct	ggaagcctcc	780
agaccogact	tttcaacca	ggagcaccag	acacgggatg	tggactgtgt	cctcacaaca	840
ggagaagttt	tcaggttgc	ggaggaagag	ggcgtctccc	tccccgacct	ggaaccagcc	900
cctctggaca	gcctgtgcag	cggtgcctct	gcagaggagc	ccaccagcca	tcggggaggg	960
ggctcggggg	gctacctgga	gcatgtgttc	cggcacgcyg	cccagagact	ctttggaatc	1020
catgtggctg	aggttaccta	caaaccctcg	aggaaacaaag	acttccagga	ggtgacactg	1080
gagaaggagg	gocagggtgt	gctgcacttc	gcaatggcgt	acggtctccg	caacatccag	1140
aacctggtgc	agaggctcaa	acgagggcgc	tgcccctacc	actacgtgga	ggtcatggcc	1200
tgcccctcag	gtgcctgaa	cggcgggggc	cagctccagg	ccccagacag	gcccagcaga	1260
gagctcctcc	agcacgtgga	gagactgtac	ggcatggctc	ggcctgaggc	gcccagggac	1320
gcgcctgggg	ttcaggagct	gtacacacac	tggctgcagg	gcacggactc	ggagtgtgca	1380
ggtcgccttc	tgcatacgca	gtaccacgcc	gtggagaagg	ccagcactgg	cctgggcatc	1440
cggtggtagg	ggctgcagga	ccaggactcc	caggaggccg	tgtccatgtg	tgacagcaga	1500
accacatgcc	ccaagacccc	agggcttccc	ccaaaattct	gagtgcagctg	caggggtgtg	1560
tgggacccga	gtaggagcta	ggactagcca	ggaccccgag	ccgcctcgtc	acctccagtt	1620
gggtgcctct	gggttcccac	tggctctgcc	caggtggggg	ggggtggccc	aggcagcaga	1680
aggttccctg	aggtcccaga	gcctgttccg	ttggccctgg	gcccagggccc	acaggtgctg	1740
cccttgctgc	tgctggctcg	gcaccaaggt	cgctgagggg	cttcagcctg	tcccggggtt	1800
gcctgaggca	gagcaagacg	ggttctcacc	cctgacttct	ggaggcttcc	cttgaagctc	1860
tgtgcaaaaag	gtgggagaca	gagctggacc	tcaggggtg	gtcccgccac	aaccctcggt	1920
gtggaccctg	gcaggggggg	ggtgccaggc	ccctggaaag	caggggttac	cgttacgag	1980
ctgtggctcg	ggccaagcca	agtacgaagc	agcagccatc	gcyggctgca	tcatccccca	2040
gccaggtccc	caccagggct	gtctcccagc	gttgtctaa	taaacgcacc	cctcgtaaaa	2100
g						2101

<210> 51  
 <211> 2440  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature

<223> Incyte ID No: 5540437CB1

<400> 51

```

gtgtccctgc ggcgctaaga aggggagact gaggctgagg ctggggaaca tggggcagca 60
tgagcggctg cgggctcttc ctgcgcacca cggctgcggc tcgtgcctgc cggggctctgg 120
tggctctctac cgcgaaccgg cggctactgc gcaccagccc gcctgtacga gctttcgcca 180
aagatgaaact taatgaaatc aatcagttct tgggacccgt ggaaaaatc ttcaatgaaag 300
aggtggactc ccgaaaaatt gaccaggaag ggaaaaatcc agatgaaact ttggagaaat 360
tgaagagcct agggcttttt gggtgcaag tcccagaaga atatggtggc ctgggcttct 420
ccaacacccat gtactcaaga ctaggggaga tcatcagcat ggatgggtoc atcaatgtga 480
ccctggcagc gcaccaggtt attggcctca aggggatcat cttggctggc actgaggagc 540
agaagcccaa atactgcctt aaactggcgt ccggggagca cattgcagcc tctgcctca 600
cggagccagc cagtgggagc gatgcagcct caatccggag cagagccaca ctaagtgaag 660
acaagaagca ctacatcctc aatggctcca aggtctggat tactaatgga ggactggcca 720
atatttttac tgtgtttgca aagactgagg tcgttgattc tgatggatca gtgaaagaca 780
aaatcacagc attcatagta gaaagagact ttggtggagt cactaatggg aaacccgaag 840
ataaattagg cattcggggc tccaacactt gtgaaagcca ttttgaaaac accaagatac 900
ctgtggaaaa catccttggg gaggtcggag atgggtttaa ggtggccatg aacatcctca 960
acaagcggcgg gttcagcatg ggcagcgtcg tggctgggct gctcaagaga ttgattgaaa 1020
tgactgctga gtaccgctgc acaaggaaac agtttaacaa gaggctcagt gaatttggat 1080
tgatcagga gaaatttgca ctgatggctc agaaggctta cgtcatggag agtatgacct 1140
acctcacagc agggatgctg gaccaacctg gcttcccga ctgctccatc gaggcagcca 1200
tggatgaaggt ttccagctcc gaggccgctt ggcagtgtgt gagtgaggcg ctgcagatcc 1260
tcgggggctt gggctacaca agggactatc cgtacgagcg catactgctg gacacccgca 1320
tcctcctcat cttcagggga accaatgaga ttctcgggat gtacatcgcc ctgacgggtc 1380
tgacagcctgc cggccgcatc ctgactacca ggatccatga gcttaaacag gccaaagtga 1440
gcacagtcac ggataccggt gccccggaggc ttccggactc cctgggcccga actgtggacc 1500
tggggctgac agggcaaccat ggagttgtgc accctagtct tgcggacagt gccaaacaag 1560
ttgaggagaa cacctactgc ttcggccgga ccgtggagac actgctgctc cgttttggca 1620
agaccatcac ggaggagcag ctggtactga agcgggtggc caacatcctc atcaacctgt 1680
atggcatgac ggccgtgctg tcgcccggca gccgctccat ccgcattggg ctccgcaacc 1740
acgaccacga ggttctcttg gccaacacct tctgctgga agcttacttg cagaatctct 1800
tcagcctctc gatccttgag aagcagcctc cagaaaaacct agatgagcag attaagaaag 1860
tgtcccagca gatccttgag aagcagcctc atactctgtc ccaccctctg gacaggacat 1920
gctgaggcag gggacagtgt ccctgcttac cgcccggccc taccatggc ccgttgcctg 1980
atgactgtta ctcttttttc agaaggtgtt gggatztatc caggttaagc cttttgttcc 2040
ccgtctgcac ctgaagggtt gtcgctggc ctgggagagc ctcttcagg ttttgacctg 2100
caggcagtgc tctctaacag gccatcaca gcttctgaac tgagccggag agagagaatg 2160
gaattgctat cccctggaac tggccgggtat tctggtcatt gaggagacac catagtggaa 2220
actggggctt atgctgctgc ctccagggtg tgaggtgggt ggggacctgt gtcaggtgtg 2280
gatagccatt tctgctcaac cacacattct ctaagaaaca gcttgaaagc tctgtctggg 2340
tcattcattt aaactagaag cagaggcact taaaacatgt accaggaacc atttaacaaa 2400
gaatataaaa tgtcacaatc tgtgtactgt taaaaaaaaa 2440

```

<210> 52

<211> 1072

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc\_feature

<223> Incyte ID No: 5596281CB1

<400> 52

```

cggacgggtg gtccagacaa aggttgtctc aagtttgttg ctcaaaccca gttctggaga 60
acgccatcag ctgctgctt aaaattaaac cacaggttcc attatgggtc gacttgatgg 120
gaaagtcatc atcctgacgg ccgctgctca ggggattggc caagcagctg ccttagcttt 180
tgcaagagaa ggtgcccagg tcatagccac agacattaat gagtccaaac ttcaggaaact 240
ggaaaagtac ccgggtatc aaactcgtgt ccttgatgtc acaagaaga aacaattga 300
tcagtttgc agtgaagtgt agagacttga tgttctctt aatgttctg gttttgtcca 360
tcattggaact gtcctggatt gtgaggagaa agactgggac ttctcgatga atctcaatgt 420
ggcagcatg tacctgatga tcaaggcatt ccttctaaa atgcttctc agaaatctgg 480
caatattatc aacatgtctt ctgtggcttc cagcgtcaaa ggagttgtga acagatgtgt 540
gtacagcaca accaaggcag ccgtgatttg cctcacaaa tctgtggctg cagatttcat 600
ccagcagggc atcagggtca actgtgtgtg ccagggaaca gttgatagc catctctaca 660

```

```

agaagaata caagccagag gaaatcctga agaggcacgg aatgatttcc tgaagagaca 720
aaagacggga agattcgcaa ctgcagaaga aatagccatg ctctgcgtgt atttggcttc 780
tgatgaatct gcttatgtaa ctggtaaccc tgtcatcatt gatggaggct ggagcttctg 840
attttaggat ctccatggtg ggaaggaagg caggcccttc ctatccacag tgaacctgtg 900
tacgaagaaa actcaccaat catctccttc ctgttaatca catgttaatg aaaataagct 960
ctttttaatg atgtcactgt ttgcaagagt ctgattcttt aagtatatta atctctttgt 1020
aatctcttct gaaatcattg taaagaaata aaaaatttga actcaaaaaa aa 1072

```

```

<210> 53
<211> 1040
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 5731013CB1

```

```

<400> 53
ccttcggctc gagcggcaac cgaagcctc gaggtttagt cccgcccccc tctctcgtct 60
gcttaggctc cgcggcctcc aagctgtagc tatgacggcg cgcgggactc cgagccgctt 120
cttggccagc gttctccaca acggactggg tgcctatgtg cagcagctgc agcgtctgag 180
cttcagcgtc agccgcgacg gcgcctcgtc tgcggcgccc agggagtctg tggagcggga 240
ggtgatcgac ttcccccagc ggaatccagg ggtcgtaata tatgtaaact cgcgtccctg 300
ctgcgtgccc agagttagtg ccgaatacct taacggggct gtgcgcgagg agagcatcca 360
gtgcaagtcg gtcgaggaga tctcgacgct ggtgcagaag ctggccgacc agtcgggctt 420
ggacgtgatc cgcatccgca agccttcca caccgacaac cctagcatcc agggccagtg 480
gcaccccttc accaacaagc cgaccacgtt ccgcgggcta cgcccccgag aggttcagga 540
tcttgcctca gcccaggtgc aagcacagtg aagagttgcc ccaccaactg cagccccagg 600
ccttggactg ttactccggt aaaggtggtt ctctcccttt gggattccaa gccaggcaa 660
atggaaccca tcaatgggca agttgacaga ggttctgctt gggataatga agagctgctt 720
gtttctttcc agtgctgctt tctgggggca gtgacctgtt gaaccactca tttttatgca 780
agtggcatcc ctaaaacctg agatgaggaa gacttcaagg gttttacagg acccttgttt 840
ttaaaatcca aattgataat aatgatctca aaacacagtg agaggtctga aggctggctt 900
ctgaagaatc cctgatgtct tattggaaca accactgagc tacggagagc tctgctgtga 960
tgggctaggc actttatata tgtgtgaata cagatttata aaacaggtta ataaacttat 1020
ccaaggtcaa aaaaaaaaaa

```

```

<210> 54
<211> 1624
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 5731162CB1

```

```

<400> 54
ctcagcctcg cgagcagctg ggactacagg tgcccggcac cacgcccggc taattttttg 60
tatttttagt agagacgggg ttccaccgtg ttagccagga tggctctgat ttctgacct 120
cgtgatccgc gcgcctctgc ctccaaagtg ctgggattac aggcccgagc cgcgcgcccc 180
ggcctgcagg tgttgtctg accccagctc cactgtgcca gcccgacttg agatgccaag 240
tatcttgggc ctgaggattg aggcctagag agaggcaggc gttcctcaga gtcacagggg 300
atggcggcgc ctggactggg actcagccca gctgcttggc ctgacctctt cacagcataa 360
ttcccggca cctggaggcc gcgcttagaa gccgcccagt gccctgagcg tctccatggc 420
ctgcctgagc ccctcgcagc tcacagaagt ccaacaggat ggatttctgg tgcctggaag 480
attcttgtct gcggaagagt gtgtggccat gcaacaaagg attggcgaga tagtggctga 540
aatggatggt cctctccact gccgcacaga attctccacc caggaagagg agcagcttctg 600
agcccagggc agcacagact atttcttgag cagtggtgac aagattcgat tcttctttga 660
gaaagcgctt tttgatgaga aaggaaattt cctggctcct ccggagaaat ccatcaacaa 720
aattggccac gctctgcagc cccacgaccc cgtcttcaag agcatcacac actccttcaa 780
ggtgcagacc ttggccagaa gtctgggctt ccagatgccc gtgggtggtg agagcatgta 840
catctttaag caacctcact ttggcgggtga agtctccctt catcaggagc cctccttctt 900
gtacacggag cccctgggccc ggggtgctgg cgtgtggatc gcagtggagg atgccacgct 960
ggagaacggc tgtctctggt tcatccctgg ctcccacacc agtgggtgtg caagaaggt 1020
ggtccgggccc cctgttggct cagcgcctgg taccagcttc cttgggtcag agccagcccg 1080

```

```

ggataacagc ctctttgtgc ccaccccagt gcagagaggg gccctggtcc tcatccatgg 1140
agaagtggta cacaagagca agcagaacct ctctgaccgc tcgcgccagg cctacacttt 1200
ccacctcatg gaggcctctg gcaccacctg gagcccggag aactggctcc agccaacagc 1260
tgaactgccc ttccccaac tgtacaccta aaggctctcg cagggcagga gccctcgccc 1320
ctcccgggtg aagctgtggg ctgtaaacad cagtgccttg ctcagcctcc tgyttgcaac 1380
agggaggtct tgtctccct cctgggcttt cctcctgccc tgtgggcagc agcctagget 1440
gggtcagggg cttccctaag atcttcacct ctctgcctcc ctactgcccc aacatagcct 1500
tgaggaggct tctcagccac caaagggttc tggccccttc tcaactctct ctctctcag 1560
atggaactct ggttattatg gtgttagtta tcgaataaaa acgacttcag aatgaaaaaa 1620
aaaa
1624

```

## 【國際調查報告】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

		In National Application No PCT/US 00/33158
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 C12N9/02 C12N15/10 C12N15/11 C12Q1/26 A01K67/027 A61K38/44		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 C12N A61K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) STRAND, EPO-Internal, MEDLINE, WPI Data, PAJ, EMBL		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DATABASE EMBL [Online] Accession Number AF132944, 27 April 1999 (1999-04-27) LAI C-H ET AL.: "Homo sapiens CGI-10 protein mRNA, complete cds" XP002162312 the whole document ---	1-15
P,X	DATABASE EMBL [Online] Accession Number Q9Y2Z9, 30 May 2000 (2000-05-30) LIN W-C ET AL.: "Putative Ubiquinone biosynthesis monooxygenase COQ6 (EC 1.14.13)" XP002163100 the whole document ---	1,2,10
	-/--	
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. "Z" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search  21 March 2001		Date of mailing of the international search report  19.06.01
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer  Armando Ia, E

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1992)

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No PCT/US 00/33158
---

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category <sup>o</sup>	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P,X	LAI C-H ET AL.: "Identification of novel human genes evolutionarily conserved in <i>Caenorabditis elegans</i> by comparative proteomics." GENOME RES., vol. 10, no. 5, May 2000 (2000-05), pages 703-713, XP002163099 the whole document ---	1-15
A	BLANCHET M A ET AL.: "Structure and mechanism of cytosolic quinone reductases" BIOCHEM SOC.TRANS., vol. 27, no. 4, August 1999 (1999-08), pages 610-615, XP000984873 -----	

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/US 00/33158

**Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)**

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

1.  Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  
  
Although claim 18 is directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.
2.  Claims Nos.: 20, 21, 23, 24  
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:  
see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210
3.  Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

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

see additional sheet

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

Remark on Protest

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

## FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

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

1. Claims: 1-28 (partially)

An isolated peptide comprising SEQ. ID. NO: 1, a sequence 90% identical, an active fragment thereof, an immunogenic fragment thereof, an isolated polynucleotide encoding the polypeptide and corresponding to SEQ. ID. NO: 28, cells transformed with the polynucleotide linked to a promoter, a transgenic animal comprising the polynucleotide linked to a promoter, an antibody recognizing the polynucleotide, a method of detecting the polynucleotide by PCR or hybridization, a composition containing the polypeptide, methods for treating a disease by administering the composition, methods for screening agonists and antagonists of the polypeptide, compositions and methods linked to the alteration of the expression of the polypeptide, methods for determining the toxicity of the polypeptide.

2. Claims: 1-28 (partially)

Same as 1. with reference to SEQ. ID. NO: 2 and 29

3. Claims: 1-28 (partially)

Same as 1. with reference to SEQ. ID. NO: 3 and 30

4. Claims: 1-28 (partially)

Same as 1. with reference to SEQ. ID. NO: 4 and 31

5. Claims: 1-28 (partially)

Same as 1. with reference to SEQ. ID. NO: 5 and 32

6. Claims: 1-28 (partially)

Same as 1. with reference to SEQ. ID. NO: 6 and 33

7. Claims: 1-28 (partially)

Same as 1. with reference to SEQ. ID. NO: 7 and 34

8. Claims: 1-28 (partially)

Same as 1. with reference to SEQ. ID. NO: 8 and 35

## FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

9. Claims: 1-28 (partially)  
Same as 1. with reference to SEQ. ID. NO: 9 and 36
10. Claims: 1-28 (partially)  
Same as 1. with reference to SEQ. ID. NO: 10 and 37
11. Claims: 1-28 (partially)  
Same as 1. with reference to SEQ. ID. NO: 11 and 38
12. Claims: 1-28 (partially)  
Same as 1. with reference to SEQ. ID. NO: 12 and 39
13. Claims: 1-28 (partially)  
Same as 1. with reference to SEQ. ID. NO: 13 and 40
14. Claims: 1-28 (partially)  
Same as 1. with reference to SEQ. ID. NO: 14 and 41
15. Claims: 1-28 (partially)  
Same as 1. with reference to SEQ. ID. NO: 15 and 42
16. Claims: 1-28 (partially)  
Same as 1. with reference to SEQ. ID. NO: 16 and 43
17. Claims: 1-28 (partially)  
Same as 1. with reference to SEQ. ID. NO: 17 and 44
18. Claims: 1-28 (partially)  
Same as 1. with reference to SEQ. ID. NO: 18 and 45
19. Claims: 1-28 (partially)  
Same as 1. with reference to SEQ. ID. NO: 19 and 46

## FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

20. Claims: 1-28 (partially)  
Same as 1. with reference to SEQ. ID. NO: 20 and 47
21. Claims: 1-28 (partially)  
Same as 1. with reference to SEQ. ID. NO: 20 and 48
22. Claims: 1-28 (partially)  
Same as 1. with reference to SEQ. ID. NO: 22 and 49
23. Claims: 1-28 (partially)  
Same as 1. with reference to SEQ. ID. NO: 23 and 50
24. Claims: 1-28 (partially)  
Same as 1. with reference to SEQ. ID. NO: 24 and 51
25. Claims: 1-28 (partially)  
Same as 1. with reference to SEQ. ID. NO: 25 and 52
26. Claims: 1-28 (partially)  
Same as 1. with reference to SEQ. ID. NO: 26 and 53
27. Claims: 1-28 (partially)  
Same as 1. with reference to SEQ. ID. NO: 27 and 54

## FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Continuation of Box I.2

Claims Nos.: 20, 21, 23, 24

Present claims 20, 21, 23 and 24 relate to an extremely large number of possible compounds (agonists/antagonists). In fact, the claims contain so many options that a lack of clarity within the meaning of Article 6 PCT arises to such an extent as to render a meaningful search of the claims impossible.

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

## フロントページの続き

(51)Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	テ-マ-コ-ト' (参考)
A 6 1 P 5/00		A 6 1 P 25/00	4 C 0 8 4
15/00		29/00	4 H 0 4 5
25/00		31/12	
29/00		35/00	
31/12		37/06	
35/00		43/00	1 0 5
37/06			1 1 1
43/00	1 0 5	C 0 7 K 16/40	
	1 1 1	C 1 2 N 1/15	
C 0 7 K 16/40		1/19	
C 1 2 N 1/15		1/21	
1/19		9/02	
1/21		C 1 2 Q 1/68	A
5/10		G 0 1 N 33/15	Z
9/02		33/50	Z
C 1 2 Q 1/68		33/53	D
G 0 1 N 33/15			M
33/50		33/566	
33/53		C 1 2 N 15/00	Z N A A
		5/00	A
33/566		A 6 1 K 37/02	

(81)指定国 EP(AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AP(GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, 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, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW

(72)発明者 タング、ワイ・トム

アメリカ合衆国カリフォルニア州95118・  
サンノゼ・ランウィックコート 4230

(72)発明者 ヒルマン、ジェニファー・エル

アメリカ合衆国カリフォルニア州94040・  
マウンテンビュー・#17・モンロードドライブ 230

- (72)発明者 ボーグン、マライア・アール  
アメリカ合衆国カリフォルニア州94577・  
サンレアンドロ・サンティアゴロード  
14244
- (72)発明者 アジムザイ、ヤルダ  
アメリカ合衆国カリフォルニア州94552・  
カストロバレー・ボールダーキャニオン  
ドライブ 5518
- (72)発明者 リュ、デュング・アイナ・エム  
アメリカ合衆国カリフォルニア州95123・  
サンノゼ・コイドライブ 233
- F ターム(参考) 2G045 AA34 AA35 AA40 BA11 BB50  
DA12 DA13 DA14 DA36 FB02  
4B024 AA01 AA11 BA08 CA04 DA02  
DA05 DA06 DA11 DA12 EA02  
EA04 GA11 HA12  
4B050 CC03 DD07 LL01 LL03  
4B063 QA19 QA20 QQ08 QQ22 QR08  
QR42 QR56 QS25 QS34 QX02  
4B065 AA01X AA57X AA72X AA90X  
AB01 BA02 CA28 CA44 CA46  
4C084 AA02 AA06 AA07 AA17 BA01  
BA02 BA08 BA21 BA22 CA18  
NA14 ZA01 ZA81 ZB05 ZB08  
ZB11 ZB26 ZB33 ZC02 ZC21  
4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 CA40  
DA75 EA20 EA50 FA72 FA74

专利名称(译)	人氧化还原酶蛋白		
公开(公告)号	<a href="#">JP2003516750A</a>	公开(公告)日	2003-05-20
申请号	JP2001545526	申请日	2000-12-07
[标]申请(专利权)人(译)	洞察Genomics公司		
申请(专利权)人(译)	洞察基因组公司		
[标]发明人	ユエヘンリー ラルプリーティ タングワイトム ヒルマンジェニファーエル ボーグンマライアール アジムザイヤルダ リュデュングアイナエム		
发明人	ユエ、ヘンリー ラル、プリーティ タング、ワイ・トム ヒルマン、ジェニファー・エル ボーグン、マライア・アール アジムザイ、ヤルダ リュ、デュング・アイナ・エム		
IPC分类号	A01K67/027 A61K38/00 A61K45/00 A61P3/00 A61P5/00 A61P15/00 A61P25/00 A61P29/00 A61P31/12 A61P35/00 A61P37/06 A61P43/00 C07K16/40 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C12N9/02 C12N15/09 C12Q1/68 G01N33/15 G01N33/50 G01N33/53 G01N33/566		
CPC分类号	A61K38/00 A61P3/00 A61P15/00 A61P25/00 A61P29/00 C12N9/0004		
FI分类号	A01K67/027 A61K45/00 A61P3/00 A61P5/00 A61P15/00 A61P25/00 A61P29/00 A61P31/12 A61P35/00 A61P37/06 A61P43/00.105 A61P43/00.111 C07K16/40 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N9/02 C12Q1/68.A G01N33/15.Z G01N33/50.Z G01N33/53.D G01N33/53.M G01N33/566 C12N15/00.ZNA.A C12N5/00.A A61K37/02		
F-TERM分类号	2G045/AA34 2G045/AA35 2G045/AA40 2G045/BA11 2G045/BB50 2G045/DA12 2G045/DA13 2G045/DA14 2G045/DA36 2G045/FB02 4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/BA08 4B024/CA04 4B024/DA02 4B024/DA05 4B024/DA06 4B024/DA11 4B024/DA12 4B024/EA02 4B024/EA04 4B024/GA11 4B024/HA12 4B050/CC03 4B050/DD07 4B050/LL01 4B050/LL03 4B063/QA19 4B063/QA20 4B063/QQ08 4B063/QQ22 4B063/QR08 4B063/QR42 4B063/QR56 4B063/QS25 4B063/QS34 4B063/QX02 4B065/AA01X 4B065/AA57X 4B065/AA72X 4B065/AA90X 4B065/AB01 4B065/BA02 4B065/CA28 4B065/CA44 4B065/CA46 4C084/AA02 4C084/AA06 4C084/AA07 4C084/AA17 4C084/BA01 4C084/BA02 4C084/BA08 4C084/BA21 4C084/BA22 4C084/CA18 4C084/NA14 4C084/ZA01 4C084/ZA81 4C084/ZB05 4C084/ZB08 4C084/ZB11 4C084/ZB26 4C084/ZB33 4C084/ZC02 4C084/ZC21 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/CA40 4H045/DA75 4H045/EA20 4H045/EA50 4H045/FA72 4H045/FA74		
优先权	60/172367 1999-12-16 US		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		

#### 摘要(译)

本发明提供了人氧化还原酶蛋白 ( ORP ) 和鉴定和编码ORP的多核苷酸。 本发明还提供表达载体和宿主细胞，抗体，激动剂，拮抗剂。 此外，本发明提供了一种用于诊断，治疗和预防与ORP表达有关的疾病的方法。

