

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2004-195

(P2004-195A)

(43) 公開日 平成16年1月8日(2004.1.8)

(51) Int. Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 15/09	C 1 2 N 15/00	Z N A A
A 6 1 K 31/7088	A 6 1 K 31/7088	
A 6 1 K 38/00	A 6 1 K 48/00	
A 6 1 K 48/00	A 6 1 P 9/00	
A 6 1 P 9/00	A 6 1 P 19/00	

審査請求 未請求 請求項の数 17 O L (全 31 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2003-109291 (P2003-109291)	(71) 出願人	597173680
(22) 出願日	平成15年4月14日 (2003. 4. 14)		スミスクライン ビーチャム コーポレー ション
(62) 分割の表示	特願平10-213213の分割		アメリカ合衆国 1 9 1 0 3 ペンシルベ ニア州, フィラデルフィア, ワン フラン クリン プラザ (番地なし)
原出願日	平成10年7月28日 (1998. 7. 28)		
(31) 優先権主張番号	60/053924	(74) 代理人	100091096
(32) 優先日	平成9年7月28日 (1997. 7. 28)		弁理士 平木 祐輔
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100096183
(31) 優先権主張番号	09/027064		弁理士 石井 貞次
(32) 優先日	平成10年2月20日 (1998. 2. 20)	(74) 代理人	100107168
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 安田 徹夫

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 Y A K - 1 関連セリン/トレオニンプロテインキナーゼ-H T L A R 3 3

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】 Y A K - 1 関連セリン/トレオニンプロテインキナーゼ H T L A R 3 3 ポリペプチドおよびポリヌクレオチド、 H T L A R 3 3 ポリペプチドの組換え法による生産方法、 H T L A R 3 3 ポリペプチドに対する抗体、並びに疾病の治療と診断アッセイにおけるそれらの使用を提供する。

【解決手段】 特定の配列の全長にわたる特定の配列のアミノ酸配列に対して少なくとも70%の同一性を有するアミノ酸配列を含んでなるポリペプチド、特定の配列のアミノ酸配列を含んでなるポリペプチド、または特定の配列のアミノ酸配列からなるポリペプチド。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

以下の (i) ~ (iii) から選択される単離されたポリペプチド：

(i) 配列番号 2 の全長にわたる配列番号 2 のアミノ酸配列に対して少なくとも 70 % の同一性を有するアミノ酸配列を含んでなるポリペプチド、

(ii) 配列番号 2 のアミノ酸配列を含んでなるポリペプチド、および

(iii) 配列番号 2 のアミノ酸配列からなるポリペプチド。

【請求項 2】

以下の (i) ~ (vi) から選択される単離されたポリヌクレオチド、またはそのヌクレオチド配列に相補的なヌクレオチド配列からなるポリヌクレオチド：

(i) 配列番号 2 の全長にわたる配列番号 2 のアミノ酸配列に対して少なくとも 70 % の同一性を有するアミノ酸配列を含んでなるポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含んでなるポリヌクレオチド、

(ii) 配列番号 2 のアミノ酸配列からなるポリペプチドをコードするヌクレオチド配列に対して、その全長にわたって、少なくとも 70 % の同一性を有するヌクレオチド配列を含んでなるポリヌクレオチド、

(iii) 配列番号 1 の全長にわたる配列番号 1 のヌクレオチド配列に対して少なくとも 70 % の同一性を有するヌクレオチド配列を含んでなるポリヌクレオチド、

(iv) 配列番号 2 のアミノ酸配列からなるポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含んでなるポリヌクレオチド、

(v) 配列番号 1 のヌクレオチド配列からなるポリヌクレオチド、および

(vi) 適当なライブラリーを、ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下で、配列番号 1 のヌクレオチド配列またはその断片をもつ標識プローブでスクリーニングすることにより得られるポリヌクレオチド。

【請求項 3】

請求項 1 に記載のポリペプチドに対して免疫特異的な抗体。

【請求項 4】

以下の (i) または (ii) の医薬組成物：

(i) 請求項 1 に記載のポリペプチドの活性または発現を増強する必要がある被験者を治療するための医薬組成物であって、該ポリペプチド活性の *in vivo* 産生をもたらす形態の、該ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含んでなるポリヌクレオチドを含有する医薬組成物；または

(ii) 請求項 1 に記載のポリペプチドの活性または発現を抑制する必要がある被験者を治療するための医薬組成物であって、

(a) 該ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列の発現を抑制する核酸分子、および/または

(b) 治療に有効な量の、該ポリペプチドのリガンド、基質または受容体に関して該ポリペプチドと競合するポリペプチド、

を含有する医薬組成物。

【請求項 5】

被験者における請求項 1 に記載のポリペプチドの発現または活性に関連した疾病または該疾病への罹りやすさを検査する方法であって、

(a) 該被験者のゲノム内の該ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列に突然変異があるか否かを調べること、および/または

(b) 該被験者から得られたサンプル中の該ポリペプチド発現の存在または量を分析すること、

を含んでなる方法。

【請求項 6】

請求項 1 に記載のポリペプチドの機能を刺激または抑制する化合物を同定するためのスクリーニング法であって、

10

20

30

40

50

(a) 候補化合物と、該ポリペプチド（または該ポリペプチドを担持している細胞もしくはその膜）またはその融合タンパク質と、の結合を、該候補化合物に直接または間接的に結合させた標識により測定すること、

(b) 候補化合物と、該ポリペプチド（または該ポリペプチドを担持している細胞もしくはその膜）またはその融合タンパク質と、の結合を、標識競合物質の存在下で測定すること、

(c) 候補化合物が該ポリペプチドの活性化または抑制により生ずるシグナルをもたらすか否かを、該ポリペプチドを担持している細胞または細胞膜に適した検出系を用いて調べること、

(d) 候補化合物と、該ポリペプチドを含有する溶液と、を一緒にして混合物を調製し、該混合物中の該ポリペプチドの活性を測定して、該混合物の活性をスタンダードと比較すること、および

(e) 候補化合物が細胞における該ポリペプチドをコードする mRNA および該ポリペプチドの産生に及ぼす効果を検出すること、
よりなる群から選択される方法を含んでなるスクリーニング法。

【請求項 7】

請求項 1 に記載のポリペプチドのアンタゴニスト。

【請求項 8】

下記発現系が適合性の宿主細胞内に存在するとき請求項 1 に記載のポリペプチドを産生し得るポリヌクレオチドを含有する発現系。

【請求項 9】

請求項 8 に記載の発現系を含有する宿主細胞または請求項 1 に記載のポリペプチドを発現しているその膜。

【請求項 10】

請求項 1 に記載のポリペプチドを産生させるのに十分な条件下で請求項 9 に記載の宿主細胞を培養し、該培養物から該ポリペプチドを回収することを含んでなる、請求項 1 に記載のポリペプチドの産生方法。

【請求項 11】

宿主細胞が適当な培養条件下で請求項 1 に記載のポリペプチドを産生するように、請求項 8 に記載の発現系を用いて細胞を形質転換またはトランスフェクションすることを含んでなる、請求項 9 に記載の宿主細胞の作製方法。

【請求項 12】

請求項 11 に記載の方法により得られる組換え宿主細胞または請求項 1 に記載のポリペプチドを発現しているその膜。

【請求項 13】

以下の (a) ~ (d) から選択される単離されたポリヌクレオチド：

(a) 配列番号 3 の全長にわたる配列番号 3 のヌクレオチド配列に対して少なくとも 70% の同一性を有するヌクレオチド配列を含んでなるポリヌクレオチド、

(b) 配列番号 3 のヌクレオチド配列を含んでなるポリヌクレオチド、

(c) 配列番号 3 のヌクレオチド配列からなるポリヌクレオチド、および

(d) 配列番号 4 の全長にわたる配列番号 4 のアミノ酸配列に対して少なくとも 70% の同一性を有するアミノ酸配列からなるポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含んでなるポリヌクレオチド。

【請求項 14】

以下の (a) ~ (c) から選択される単離されたポリペプチド：

(a) 配列番号 4 の全長にわたる配列番号 4 のアミノ酸配列に対して少なくとも 70% の同一性を有するアミノ酸配列を含んでなるポリペプチド、

(b) 配列番号 4 のアミノ酸配列を含んでなるポリペプチド、および

(c) 配列番号 4 のアミノ酸配列からなるポリペプチド。

【請求項 15】

10

20

30

40

50

以下の (a) または (b) の単離されたポリペプチド :

(a) 配列番号 2 のアミノ酸配列からなるポリペプチド、または

(b) 配列番号 2 のアミノ酸配列において、少なくとも 1 個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ H T L A R 3 3 活性を有するポリペプチド。

【請求項 1 6】

請求項 1 5 に記載のポリペプチドをコードするポリヌクレオチド。

【請求項 1 7】

以下の (a) または (b) の単離されたポリヌクレオチド :

(a) 配列番号 1 のヌクレオチド配列からなるポリヌクレオチド、または

(b) (a) のポリヌクレオチドとストリンジェントな条件下でハイブリダイズしかつ H T L A R 3 3 活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド。

10

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、新たに同定されたポリペプチド、該ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、該ポリペプチドおよびポリヌクレオチドの治療の際のまたは治療に有効でありうるアゴニスト、アンタゴニストおよび/またはインヒビターである化合物を同定する際の使用、並びに該ポリペプチドおよびポリヌクレオチドの生産方法に関する。

20

【0002】

【従来の技術】

薬物探索プロセスには目下根本的な大変化が生じている。というのは、それが「機能的ゲノム学」(functional genomics)、すなわち高処理量のゲノムまたは遺伝子ベースの生物学に及んでいるからである。このアプローチは「ポジショナルクローニング」に基づいた比較的初期のアプローチに急速に取って代わりつつある。表現型、つまり生物学的機能または遺伝病、が同定され、続いてその遺伝子地図の位置を手がかりとして病因遺伝子が突き止められるだろう。

機能的ゲノム学は、現在入手できる多くの分子生物学データベースから興味のもてそうな遺伝子配列を同定するための生物情報科学 (bioinformatics) の様々なツールに大きく依存している。

30

【0003】

【発明が解決しようとする課題】

依然として、まだ未解明の遺伝子およびその関連ポリペプチド/タンパク質を薬物探索の標的として同定し特徴づける必要性が存在している。本発明は、YAK-1 関連セリン/トレオニンプロテインキナーゼ H T L A R 3 3 のポリペプチドおよびポリヌクレオチドを提供するものである。

【0004】

【課題を解決するための手段】

本発明は、H T L A R 3 3、特に H T L A R 3 3 ポリペプチドおよび H T L A R 3 3 ポリヌクレオチド、組換え物質、並びにその生産方法に関する。もう一つの態様において、本発明は、骨量の減少(骨粗しょう症を含む)、炎症性疾患(例えば、成人呼吸促進症候群 (ARDS)、慢性関節リウマチ、変形性関節症、炎症性腸疾患 (IBD)、乾癬、皮膚炎、喘息、アレルギー)、感染症(例えば、細菌、真菌、原生動物およびウイルスの感染症、特に H I V - 1 または H I V - 2 が引き起こす感染症)、H I V - 関連悪液質および他の免疫不全疾患、敗血症性ショック、疼痛、損傷、癌、拒食症、過食症、パーキンソン病、心臓血管疾患(再狭窄、アテローム性動脈硬化症、急性心不全、心筋梗塞を含む)、低血圧、高血圧、尿閉、狭心症、潰瘍、良性前立腺肥大、精神および神経障害(不安、精神分裂、そううつ、せん妄、痴呆、重症の精神遅滞および運動異常、例えばハンチントン舞踏病またはジル・ド・ラ・ツレット症候群を含む)(以後まとめて「前記疾患」という)の治療をはじめとする、前記ポリペプチドおよびポリヌクレオチドの使用方法に関

40

50

する。他の態様では、本発明は、本発明により提供される物質を用いてアゴニストおよびアンタゴニスト/インヒビターを同定する方法、並びに同定された化合物を用いてH T L A R 3 3平衡異常と関連した症状を治療することに関する。さらに他の態様において、本発明は不適当なH T L A R 3 3活性またはH T L A R 3 3レベルと関連した疾病を検出するための診断アッセイに関する。

【0005】

【発明の実施の形態】

一つの形態において、本発明はH T L A R 3 3ポリペプチドに関する。この種のペプチドには、配列番号2の全長にわたる配列番号2のアミノ酸配列に対して少なくとも70%の同一性、好ましくは少なくとも80%の同一性、より好ましくは少なくとも90%の同一性、さらに好ましくは少なくとも95%の同一性、最も好ましくは少なくとも97~99%の同一性を有するアミノ酸配列を含んでなる単離されたポリペプチドが含まれる。こうしたポリペプチドとしては配列番号2のアミノ酸配列を含むものがある。

10

【0006】

本発明の他のペプチドには、そのアミノ酸配列が配列番号2の全長にわたる配列番号2のアミノ酸配列に対して少なくとも70%の同一性、好ましくは少なくとも80%の同一性、より好ましくは少なくとも90%の同一性、さらに好ましくは少なくとも95%の同一性、最も好ましくは少なくとも97~99%の同一性を有する単離されたポリペプチドが含まれる。こうしたポリペプチドとしては配列番号2のアミノ酸配列からなるポリペプチドがある。

20

本発明の更なるペプチドには、配列番号1に含まれるヌクレオチド配列を含んでなるポリヌクレオチドによりコードされる単離されたポリペプチドが含まれる。

【0007】

本発明のポリペプチドはセリン/トレオニンプロテインキナーゼファミリーのメンバーであると考えられる。それゆえ、それらには興味もてる。なぜなら、多くのポリペプチド増殖因子およびホルモンはシグナル伝達経路を通してそれらの細胞性効果を媒介するからである。これらリガンドの細胞表面受容体から細胞内エフェクターへのシグナルの伝達はしばしば、調節タンパク質セリン/トレオニンキナーゼ(P S T K)およびホスファターゼによる特定のタンパク質基質のリン酸化または脱リン酸化を伴う。セリン/トレオニンのリン酸化は多細胞生物におけるシグナル伝達の主なメディエーターである。受容体と結合したP S T K、膜と結合したP S T Kおよび細胞内のP S T Kは多くの細胞型において細胞増殖、細胞分化およびシグナル伝達プロセスを調節している。

30

【0008】

異常なセリン/トレオニンプロテインキナーゼ活性は慢性関節リウマチ、乾癬、敗血症性ショック、骨量の減少、多様な癌および他の増殖性疾患のような多数の病理に関与してきたが、またはその疑いがある。したがって、セリン/トレオニンキナーゼとそれらが一部を構成するシグナル伝達経路は薬物デザインのための可能性のある標的である。

【0009】

P S T Kのサブセットは細胞周期の調節に関係している。これらはサイクリン依存性キナーゼつまりC D Kである(P e t e r & H e r s k o w i t z , C e l l 1994 : 79 , 181 - 184)。C D Kはサイクリンと呼ばれる調節タンパク質に結合することで活性化され、特定の細胞周期チェックポイントを細胞が通過するのを制御している。例えば、サイクリンEと複合体化されたC D K 2は細胞をG 1期からS期へ進行させる。C D Kとサイクリンとの複合体はp 16のような低分子量タンパク質による阻害を受けやすく(S e r r a n o ら , N a t u r e 1993 : 366 , 704)、このp 16はC D K 4に結合してそれを阻害する。p 16の欠失または突然変異は様々な腫瘍に関係している(K a m b ら , S c i e n c e 1994 : 264 , 436 - 440)。したがって、細胞の増殖状態およびこの状態と関連した疾病はC D Kとそれらに関連した調節分子の活性に依存している。増殖の抑制が望まれる癌のような疾病においては、C D Kを阻害する化合物が有効な治療薬となりうる。反対に、C D Kの活性化剤は

40

50

、免疫不全を治療するときのように、増殖促進が必要とされる場合に有効でありうる。

【0010】

YAK1 (CDKに対して配列相同性を有するPSTK)はもともと、cAMP依存性プロテインキナーゼPKAの不活性化により起こる細胞周期停止のメディエーターとして酵母において同定された(Garrettら, Mol Cell Biol. 1991: 11, 4045-4052)。YAK1キナーゼ活性は細胞周期のサイクルに入っている酵母では低い、細胞がS-G2期移行に先立って停止される場合は劇的に増加する。YAK1の発現が増加すると、PKAを欠損している酵母細胞では増殖停止が起こる。それゆえ、YAK1は酵母の細胞周期サプレッサーとして作用することができる。

【0011】

多くの場合、骨粗しょう症や骨関節炎のような疾病では、それぞれ、患者の骨または軟骨に障害が現れる。このような障害の治療には、該疾病で失われた骨や軟骨を置換するために新たな骨または軟骨の形成を促進する薬剤が必要となる。したがって、骨芽細胞または軟骨細胞(それぞれ骨または軟骨の形成に関与している細胞)の数を増やす薬剤が必要とされている。同様に、心筋梗塞やHIV関連悪液質のような疾病により失われる心臓または骨格筋を置換するには、心筋細胞または骨格筋芽細胞の増殖を促進する薬剤が必要となる。本発明はHTLAR33と命名された、酵母YAK1の新規なヒト相同体を記載する。HTLAR33の配列はキイロショウジョウバエ(D. melanogaster)、ヒトおよびR. ノルベギカス(R. norvegicus)由来の推定PSTK類との相同性を有する。HTLAR33の阻害剤は、HTLAR33を発現する細胞の増殖を促進することが期待される。これらの特性を以後「HTLAR33活性」または「HTLAR33ポリペプチド活性」または「HTLAR33の生物学的活性」という。これらの活性の中には、HTLAR33ポリペプチドの抗原性および免疫原性、特に配列番号2のポリペプチドの抗原性および免疫原性も含まれる。本発明のポリペプチドはHTLAR33の少なくとも1つの生物学的活性を示すことが好ましい。

10

20

30

【0012】

本発明のポリペプチドは「成熟」タンパク質の形であっても、融合タンパク質のような、より大きいタンパク質の一部であってもよい。しばしば、追加のアミノ酸配列を含めることが有利であり、このようなアミノ酸配列としては、分泌すなわちリーダー配列、プロ配列、多重ヒスチジン残基のような精製に役立つ配列、または組換え生産の間の安定性を確保する付加的配列などがある。

【0013】

また、前記ポリペプチドの変異体、すなわち同類アミノ酸置換(ある残基が性質の似ている他の残基により置換される)により基準ポリペプチドと相違しているポリペプチドも本発明に含まれる。典型的なこうした置換は、Ala, Val, LeuおよびIleの間; SerとThrの間; 酸性残基 AspとGluの間; AsnとGlnの間; 塩基性残基 LysとArgの間; または芳香族残基 PheとTyrの間で起こる。特に、数個、5~10個、1~5個、1~3個、1~2個または1個のアミノ酸が任意の組合せで置換、欠失または付加されている変異体が好適である。

【0014】

本発明のポリペプチドは任意の適当な方法で製造することができる。このようなポリペプチドには、単離された天然のポリペプチド、組換え的に生産されたポリペプチド、合成的に製造されたポリペプチド、またはこれらの方法の組合せにより製造されたポリペプチドが含まれる。こうしたポリペプチドを製造するための手段は当業界でよく理解されている。

40

【0015】

本発明の更なる形態において、本発明は、HTLAR33ポリヌクレオチドに関する。このようなポリヌクレオチドには、配列番号2の全長にわたる配列番号2のアミノ酸配列に対して少なくとも70%の同一性、好ましくは少なくとも80%の同一性、より好ましくは少なくとも90%の同一性、さらに好ましくは少なくとも95%の同一性を有するポ

50

リペプチドをコードするヌクレオチド配列を含んでなる単離されたポリヌクレオチドが含まれる。これに関して、少なくとも97%の同一性を有するポリペプチドが一層好ましいが、少なくとも98~99%の同一性を有するものがより一層好ましく、少なくとも99%の同一性を有するポリペプチドが最も好ましいものである。かかるポリヌクレオチドとして、配列番号2のポリペプチドをコードする配列番号1に含まれるヌクレオチド配列を含んでなるポリヌクレオチドが挙げられる。

【0016】

本発明の更なるポリヌクレオチドには、配列番号2のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列に対して、その全コード領域にわたって、少なくとも70%の同一性、好ましくは少なくとも80%の同一性、より好ましくは少なくとも90%の同一性、さらに好ましくは少なくとも95%の同一性を有するヌクレオチド配列を含んでなる単離されたポリヌクレオチドが含まれる。これに関して、少なくとも97%の同一性を有するポリヌクレオチドが一層好ましいが、少なくとも98~99%の同一性を有するものがより一層好ましく、少なくとも99%の同一性を有するポリヌクレオチドが最も好ましいものである。

10

【0017】

本発明の更なるポリヌクレオチドには、配列番号1の全長にわたる配列番号1のポリヌクレオチドに対して少なくとも70%の同一性、好ましくは少なくとも80%の同一性、より好ましくは少なくとも90%の同一性、さらに好ましくは少なくとも95%の同一性を有するヌクレオチド配列を含んでなる単離されたポリヌクレオチドが含まれる。これに関して、少なくとも97%の同一性を有するポリヌクレオチドが一層好ましいが、少なくとも98~99%の同一性を有するものがより一層好ましく、少なくとも99%の同一性を有するポリヌクレオチドが最も好ましいものである。かかるポリヌクレオチドとして、配列番号1のポリヌクレオチドを含んでなるポリヌクレオチドおよび配列番号1のポリヌクレオチドが挙げられる。

20

本発明はまた、上記の全てのポリヌクレオチドに対して相補的なポリヌクレオチドを提供する。

【0018】

配列番号1のヌクレオチド配列はキイロショウジョウバエ (*D. melanogaster*) セリン/トレオニンプロテインキナーゼ (*F. Tejedora, Neuron 14 (2): 287-301, 1995*) との同一性を示す。配列番号1のヌクレオチド配列はcDNA配列であり、558アミノ酸からなるポリペプチド(配列番号2のポリペプチド)をコードするポリペプチドコード配列(ヌクレオチド209~1883)を含む。配列番号2のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列は、配列番号1に含まれるポリペプチドコード配列と同一であっても、遺伝子コードの重複性(縮重)のため、やはり配列番号2のポリペプチドをコードする、配列番号1に含まれる配列以外の配列であってもよい。配列番号2のポリペプチドはセリン/トレオニンプロテインキナーゼファミリーの他のタンパク質と構造的に関連しており、R. ノルベギカス (*R. norvegicus*) 二重特異性 Yak-1 関連キナーゼ (*Dual Specificity Yak-1 related Kinase: Dyrk*) との同一性および/または構造類似性を有する (*H. Kentrup, J. Biol. Chem. 271 (7): 3488-3495, 1996*) 。

30

40

【0019】

本発明の好適なポリペプチドおよびポリヌクレオチドは、とりわけ、それと相同なポリペプチドおよびポリヌクレオチドと同様の生物学的機能/性質をもつことが期待される。さらに、本発明の好ましいポリペプチドおよびポリヌクレオチドは少なくとも1つのHTLAR33 活性を有する。

【0020】

また、本発明は、配列番号1および配列番号2の対応する全長配列の決定に先立って最初に同定された部分的なまたは他のポリヌクレオチドおよびポリペプチドに関する。

したがって、更なる形態において、本発明は、

50

(a) 配列番号3の全長にわたる配列番号3のヌクレオチド配列に対して少なくとも70%の同一性、好ましくは少なくとも80%の同一性、より好ましくは少なくとも90%の同一性、さらに好ましくは少なくとも95%の同一性、最も好ましくは97~99%の同一性を有するヌクレオチド配列を含んでなるポリヌクレオチド、

(b) 配列番号3のヌクレオチド配列を含んでなるポリヌクレオチド、

(c) 配列番号3のヌクレオチド配列からなるポリヌクレオチド、または

(d) 配列番号4の全長にわたる配列番号4のアミノ酸配列に対して少なくとも70%の同一性、好ましくは少なくとも80%の同一性、より好ましくは少なくとも90%の同一性、さらに好ましくは少なくとも95%の同一性、最も好ましくは97~99%の同一性を有するアミノ酸配列からなるポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含んでなるポリヌクレオチド、
を提供する。

10

【0021】

さらに、本発明は、

(a) 配列番号4の全長にわたる配列番号4のアミノ酸配列に対して少なくとも70%の同一性、好ましくは少なくとも80%の同一性、より好ましくは少なくとも90%の同一性、さらに好ましくは少なくとも95%の同一性、最も好ましくは97~99%の同一性を有するアミノ酸配列を含んでなるポリペプチド、

(b) 配列番号4のアミノ酸配列を含んでなるポリペプチド、

(c) 配列番号4のアミノ酸配列からなるポリペプチド、または

(d) 配列番号3に含まれるヌクレオチド配列を含んでなるポリヌクレオチドによりコードされるポリペプチド、
を提供する。

20

【0022】

配列番号3のヌクレオチド配列およびそれによりコードされるペプチド配列はエクспレシブ・シーケンス・タグ(Expressed Sequence Tag: EST)配列から誘導される。当業者であれば、EST配列中に若干のヌクレオチド配列読み取り誤差が必然的に存在することを理解するであろう(Adams, M. D.ら, Nature 377 (supp) 3, 1995を参照のこと)。したがって、配列番号3のヌクレオチド配列およびそれによりコードされるペプチド配列は配列精度において同一の固有限界を受ける。さらに、配列番号3によりコードされるペプチド配列は、相同性または構造類似性が最も高いタンパク質と同一の領域、または相同性および/または構造類似性(例えば、同類アミノ酸差異)が高い領域を含んでいる。

30

【0023】

本発明のポリヌクレオチドは、標準的なクローニングおよびスクリーニングにより、ヒト脳の細胞中のmRNAから誘導されたcDNAライブラリーから、EST分析(Adams, M. D.ら, Science (1991) 252: 1651-1656; Adams, M. D.ら, Nature (1992) 355: 632-634; Adams, M. D.ら, Nature (1995) 377 Supp: 3-174)を用いて得ることができる。また、本発明のポリヌクレオチドはゲノムDNAライブラリーのような天然源から得ることができ、商業的に入手可能な公知の技法を用いて合成することもできる。

40

【0024】

本発明のポリヌクレオチドを本発明のポリペプチドの組換え生産のために用いる場合、そのポリヌクレオチドには、成熟ポリペプチドのコード配列単独、または他のコード配列(例えば、リーダーもしくは分泌配列、プレ-、プロ-もしくはプレプロ-タンパク質配列、または他の融合ペプチド部分をコードするもの)と同じリーディングフレーム内にある成熟ポリペプチドのコード配列が含まれる。例えば、融合ポリペプチドの精製を容易にするマーカー配列がコードされ得る。本発明のこの形態の好ましい具体例として、マーカー配列は、pQEベクター(Qiagen, Inc.)により提供されかつ Gentz

50

ら, Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1989) 86: 821-824に記載されるような、ヘキサ-ヒスチジンペプチド、またはHAタグである。また、このポリヌクレオチドは5'および3'非コード配列、例えば、転写されるが翻訳されない配列、スプライシングおよびポリアデニル化シグナル、リボソーム結合部位、およびmRNA安定化配列を含んでいてもよい。

【0025】

本発明の更なる具体例としては、数個、例えば5~10個、1~5個、1~3個、1~2個、または1個のアミノ酸残基が任意の組合せで置換、欠失または付加されている、配列番号2のアミノ酸配列を含んでなるポリペプチド変異体をコードするポリヌクレオチドがある。

10

【0026】

配列番号1に含まれるヌクレオチド配列と同一であるか実質的に同一であるポリヌクレオチドは、本発明のポリペプチドをコードする全長cDNAおよびゲノムクローンを単離するために、また、配列番号1に対して高い配列類似性を有する他の遺伝子(ヒト以外の種に由来する相同体およびオーソログ体(ortholog)をコードする遺伝子を含む)のcDNAおよびゲノムクローンを単離するために、cDNAおよびゲノムDNA用のハイブリダイゼーションプローブとして、または核酸増幅(PCR)反応用のプライマーとして用いることができる。一般的に、これらのヌクレオチド配列は基準のヌクレオチド配列と好ましくは80%、より好ましくは90%、最も好ましくは95%同一である。プローブまたはプライマーはたいてい15個以上のヌクレオチドを含み、好ましくは30個以上を含み、50個以上のヌクレオチドを有していてもよい。特に好ましいプローブは30~50個の範囲のヌクレオチドを有するものである。

20

【0027】

本発明のポリペプチド(ヒト以外の種に由来する相同体およびオーソログ体を含む)をコードするポリヌクレオチドは、配列番号1のヌクレオチド配列またはその断片を有する標識プローブを用いて、ストリンジентなハイブリダイゼーション条件下で適当なライブラリーをスクリーニングし、該ポリヌクレオチド配列を含む全長cDNAおよびゲノムクローンを単離する各工程を含んでなる方法により得られる。このようなハイブリダイゼーション技法は当業者に公知である。好ましいストリンジентなハイブリダイゼーション条件は、50%ホルムアミド、5xSSC(150mM NaCl, 15mM クエン酸三ナトリウム)、50mMリン酸ナトリウム(pH7.6)、5xDenhardt溶液、10%デキストラン硫酸および20μg/mlの変性し切断したサケ精子DNAを含有する溶液中42°Cで一晩インキュベートし、次いでフィルターを0.1xSSC中約65°Cで洗浄することを含む。かくして、本発明は、配列番号1のヌクレオチド配列またはその断片を有する標識プローブを用いて、ストリンジентなハイブリダイゼーション条件下で適当なライブラリーをスクリーニングすることにより得られるポリヌクレオチドをも包含する。

30

【0028】

当業者には理解されるように、多くの場合、ポリペプチドをコードする領域がそのcDNAの5'末端で短く切断されることから、単離されたcDNA配列は不完全であるだろう。それは逆転写酵素のためであり、この酵素はもともと「プロセスィビティ」(processivity: 重合中に鑄型に結合した状態にいる該酵素の能力の尺度)が低く、第一鎖cDNA合成の間にmRNA鑄型のDNAコピーを完成させることができない。

40

【0029】

全長cDNAを得るための、または短鎖cDNAを伸長させるための、当業者に公知で利用可能な方法がいくつかあり、例えば、cDNA末端高速増幅法(RACE)に基づいた方法がある(例えば、Frohmanら, PNAS USA 85, 8998-9002, 1988を参照のこと)。例えばMarathonTM技術(Clontech Laboratories Inc.)により示されるような、上記技法の最近の改良により、より長いcDNAの検索が大いに簡便化された。MarathonTM技術では、

50

所定の組織より抽出された mRNA から cDNA を作製し、各末端に「アダプター」配列を連結する。続いて、遺伝子特異的およびアダプター特異的なオリゴヌクレオチドプライマーの組合せを用いて核酸増幅 (PCR) を行い、cDNA の「欠失」5' 末端を増幅する。次に、「nested」プライマー、すなわち増幅産物の内部にアニールするように設計されたプライマー (典型的には、アダプター配列のさらに 3' 側にアニールするアダプター特異的プライマーおよび既知遺伝子配列のさらに 5' 側にアニールする遺伝子特異的プライマー) を用いて PCR 反応を繰り返す。その後、この反応の産物を DNA 塩基配列決定により解析し、この産物を既存の cDNA に直接結合するか、または 5' プライマー設計用の新たな配列情報を用いて別の全長 PCR を行うことにより、全長 cDNA を構築することができる。

10

【0030】

本発明の組換え体ポリペプチドは、当業界で公知の方法を用いて、発現系を含有する遺伝子操作宿主細胞から生産することができる。したがって、更なる形態において、本発明は、本発明の 1 以上のポリヌクレオチドを含有する発現系、該発現系により遺伝子操作された宿主細胞、および組換え技法による本発明ポリペプチドの生産に関する。本発明の DNA 構築物から誘導された RNA を用いてこの種のタンパク質を生産するために、無細胞翻訳系を使用することもできる。

【0031】

組換え体生産に関しては、本発明のポリヌクレオチドの発現系またはその一部を組み込むために宿主細胞を遺伝子操作する。宿主細胞へのポリヌクレオチドの導入は、Davis 20
ら, *Basic Methods in Molecular Biology* (1986) および Sambrook 20
ら, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd Ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989)* などの多くの標準的な実験室マニュアルに記載された方法により行うことができる。好適なこうした方法として、例えば、リン酸カルシウムトランスフェクション、DEAE-デキストラン媒介トランスフェクション、トランスベクション (transfection)、マイクロインジェクション、カチオン性脂質媒介トランスフェクション、エレクトロポレーション、形質導入、スクレープローディング (scrape loading)、弾丸導入 (ballistic introduction) 30
または感染などがある。

【0032】

適当な宿主の代表的な例として、細菌細胞 (例: ストレプトコッカス、スタフィロコッカス、大腸菌、ストレプトミセス、枯草菌)、真菌細胞 (例: 酵母、アスペルギルス)、昆虫細胞 (例: ドロソフィラ S2、スポドプテラ Sf9)、動物細胞 (例: CHO、COS、HeLa、C127、3T3、BHK、HEK293、Bowesメラノーマ細胞) および植物細胞が挙げられる。

【0033】

多種多様な発現系を使用することができる。こうした発現系として、特に、染色体、エピソームおよびウイルス由来の系、例えば、細菌プラスミド由来、バクテリオファージ由来 40
、トランスポゾン由来、酵母エピソーム由来、挿入因子由来、酵母染色体要素由来、ウイルス (例: パキユロウイルス、SV40 のようなパポバウイルス、ワクシニアウイルス、アデノウイルス、鶏痘ウイルス、仮性狂犬病ウイルス、レトロウイルス) 由来のベクター、およびこれらの組合せに由来するベクター、例えば、コスミドやファージミドのような 40
プラスミドとバクテリオファージの遺伝的要素に由来するものがある。これらの発現系は発現を起こさせるだけでなく発現を調節する制御配列を含んでいてもよい。一般的に、宿主内でのポリペプチドの産生のためにポリヌクレオチドを維持し、増やし、発現することができる系またはベクターはどれも使用しうる。Sambrook 40
ら, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (前掲) に記載されるような、日常的に用いられる公知の技法のいずれかにより、適当なヌクレオチド配 50

列を発現系に挿入することができる。翻訳されたタンパク質を小胞体の内腔に、細胞周辺腔に、または細胞外の環境に分泌させるために、適当な分泌シグナルを目的のポリペプチドに組み込むことができる。これらのシグナルは目的のポリペプチドに対して内因性であっても、異種シグナルであってもよい。

【0034】

スクリーニングアッセイで使用するため本発明のポリペプチドを発現させようとする場合、一般にそのポリペプチドを細胞の表面に産生させることが好適である。その場合は、スクリーニングアッセイでの使用に先立って細胞を回収する。該ポリペプチドが培地に分泌される場合は、そのポリペプチドを回収し精製するために培地を回収する。細胞内に産生される場合は、その細胞をまず溶解し、その後ポリペプチドを回収する必要がある。

10

【0035】

組換え細胞培養物から本発明のポリペプチドを回収し精製するには、硫酸アンモニウムまたはエタノール沈殿、酸抽出、アニオンまたはカチオン交換クロマトグラフィー、ホスホセルロースクロマトグラフィー、疎水性相互作用クロマトグラフィー、アフィニティークロマトグラフィー、ヒドロキシルアパタイトクロマトグラフィーおよびレクチンクロマトグラフィーを含めた公知の方法を用いることができる。最も好ましくは、高性能液体クロマトグラフィーが精製に用いられる。ポリペプチドが単離および/または精製中に変性される場合は、タンパク質を再生させるための公知の技法を用いて、活性のあるコンフォメーションを復元することが可能である。

【0036】

本発明はまた、診断薬としての本発明のポリヌクレオチドの使用に関する。機能障害と関連した、配列番号1のポリヌクレオチドにより特徴づけられる遺伝子の変異型の検出は、該遺伝子の過少発現、過剰発現または変化した発現により生ずる疾病またはその疾病への罹りやすさの診断に追加しうる、またはその診断を下しうる診断用ツールを提供するだろう。該遺伝子に突然変異がある個体を、さまざまな技法によりDNAレベルで見つけ出すことができる。

20

【0037】

診断用の核酸は、被験者の細胞、例えば血液、尿、唾液、組織の生検または剖検材料から得ることができる。検出のためにゲノムDNAを直接使用してもよいし、分析前にPCRまたは他の増幅法を使ってゲノムDNAを酵素的に増幅してもよい。同様の方法でRNAまたはcDNAを使用することもできる。欠失および挿入突然変異は、正常な遺伝子型と比較したときの増幅産物のサイズの変化により検出できる。点突然変異は増幅DNAを標識HTLAR33ヌクレオチド配列とハイブリダイズさせることで同定できる。完全にマッチした配列とミスマッチの二重鎖とはRNアーゼ消化により、または融解温度の差異により区別できる。また、DNA配列の差異は、変性剤を含むもしくは含まないゲルでのDNA断片の電気泳動の移動度の変化により、または直接DNA塩基配列決定によっても検出できる(例えば、Myersら, Science (1985) 230:1242を参照のこと)。特定位置での配列変化はヌクレアーゼプロテクションアッセイ(例えば、RNアーゼおよびS1プロテクション)または化学的開裂法によっても確認できる(Cottonら, Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1985) 85:4397-4401を参照のこと)。別の実施形態では、例えば、遺伝子変異の効率のよいスクリーニングを行うため、HTLAR33ヌクレオチド配列またはその断片を含むオリゴヌクレオチドプローブのアレイ(array)を構築することができる。アレイ技法は公知で、一般的な適用可能性を有し、遺伝子発現、遺伝的連鎖および遺伝的変異性を含めた分子遺伝学のさまざまな問題を解きあかすために用いられている(例えば、M. Cheeら, Science, Vol. 274, pp. 610-613 (1996)を参照のこと)。

30

40

【0038】

診断アッセイは、前記の方法によりHTLAR33遺伝子の変異を検出することで、前記疾患への罹りやすさを診断または判定する方法を提供する。さらに、被験者から得られ

50

たサンプルからポリペプチドまたはmRNAのレベルの異常な低下または増加を測定する方法により、前記疾患の診断を下すことができる。発現の低下または増加は、当業界で公知のポリヌクレオチドの定量法、例えば核酸増幅（例：PCR、RT-PCR）、RNAアーゼプロテクション、ノーザンブロットイング、その他のハイブリダイゼーション法のいずれかによりRNAレベルで測定することができる。宿主から得られたサンプル中の本発明ポリペプチドのようなタンパク質のレベルを測定するアッセイ法は当業者によく知られている。こうしたアッセイ法として、ラジオイムノアッセイ、競合結合アッセイ、ウエスタンブロット分析、ELISAアッセイなどがある。

【0039】

かくして、もう一つの形態において、本発明は、

(a) 本発明のポリヌクレオチド（好ましくは、配列番号1のヌクレオチド配列）もしくはその断片、

(b) (a) のヌクレオチド配列に相補的なヌクレオチド配列、

(c) 本発明のポリペプチド（好ましくは、配列番号2のポリペプチド）もしくはその断片、または

(d) 本発明のポリペプチド（好ましくは、配列番号2のポリペプチド）に対する抗体、

を含んでなる診断用キットに関する。このようなキットにおいて、(a)、(b)、(c) または (d) が実質的な構成成分であることが理解されよう。かかるキットは疾患または疾患への罹りやすさ、特に骨量の減少（骨粗しょう症を含む）、炎症性疾患（例えば、成人呼吸促進症候群（ARDS）、慢性関節リウマチ、変形性関節症、炎症性腸疾患（IBD）、乾癬、皮膚炎、喘息、アレルギー）、感染症（例えば、細菌、真菌、原生動物およびウイルスの感染症、特にHIV-1 またはHIV-2 が引き起こす感染症）、HIV-関連悪液質および他の免疫不全疾患、敗血症性ショック、疼痛、損傷、癌、拒食症、過食症、パーキンソン病、心臓血管疾患（再狭窄、アテローム性動脈硬化症、急性心不全、心筋梗塞を含む）、低血圧、高血圧、尿閉、狭心症、潰瘍、良性前立腺肥大、精神および神経障害（不安、精神分裂、そううつ、せん妄、痴呆、重症の精神遅滞および運動異常、例えばハンチントン舞踏病またはジル・ド・ラ・ツレット症候群を含む）を診断するうえで有用である。

【0040】

また、本発明のヌクレオチド配列は染色体の同定にも有用である。この配列は個々のヒト染色体上の特定の位置をターゲットイングし、その特定位置とハイブリダイズすることができる。本発明に従って関連配列の染色体地図を作成することは、これらの配列と遺伝子関連疾患とを相関させるうえで重要な第一段階である。ひとたび配列が正確な染色体位置にマップされたら、その染色体上のその配列の物理的位置を遺伝地図データと相関させることができる。この種のデータは、例えば、V. McKusick, Mendelian Inheritance in Man (Johns Hopkins University Welch Medical Library からオンラインで入手可能) 中に見いだせる。その後、同一の染色体領域にマップされた遺伝子と疾患との関係を連鎖分析（物理的に隣接した遺伝子の共遺伝）により確認する。

【0041】

罹患個体と非罹患個体とのcDNAまたはゲノム配列の差異も調べることができる。罹患個体の一部または全部に突然変異が観察されるが、どの正常個体にも観察されない場合は、その突然変異が疾患の原因である可能性がある。

【0042】

本発明のポリペプチド、その断片もしくは類似体、またはそれらを発現する細胞は、本発明のポリペプチドに免疫特異的な抗体を生産するための免疫原としても使用することができる。「免疫特異的」とは、その抗体が従来技術における他の関連ポリペプチドに対するその親和性よりも本発明のポリペプチドに対して実質的に高い親和性を示すことを意味する。

10

20

30

40

50

【0043】

本発明のポリペプチドに対する抗体は、慣用のプロトコールを用いて、動物（好ましくはヒト以外の動物）に該ポリペプチドまたはエピトープを含む断片、類似体もしくは細胞を投与することにより得られる。モノクローナル抗体の調製には、連続細胞系の培養物から抗体を産生させる任意の技法を用いることができる。例を挙げると、ハイブリドーマ技法（Kohler, G. および Milstein, C., Nature (1975) 256: 495 - 497）、トリオーマ技法、ヒトB細胞ハイブリドーマ技法（Kozbor, Immunology Today (1983) 4: 72）およびEBV-ハイブリドーマ技法（Cole, Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, pp. 77 - 96, Alan R. Liss, Inc., 1985）などがある。

10

【0044】

本発明のポリペプチドに対する一本鎖抗体をつくるために、米国特許第4,946,778号に記載されるような一本鎖抗体の調製法を適応させることができる。また、ヒト化抗体を発現させるために、トランスジェニックマウスまたは他の哺乳動物を含む他の生物を利用することができる。

前記の抗体を用いて、そのポリペプチドを発現するクローンを単離・同定したり、アフィニティークロマトグラフィーでそのポリペプチドを精製することもできる。

本発明のポリペプチドに対する抗体は、とりわけ、前記疾患の治療に使用できる可能性がある。

20

【0045】

本発明の更なる形態において、本発明は、本発明のポリペプチドまたはその断片と、各種サブクラス（IgG、IgM、IgA、IgE）の免疫グロブリンのH鎖またはL鎖の定常領域の様々な部分と、を含んでなる遺伝子工学的に作製された可溶性融合タンパク質に関する。免疫グロブリンとしてはヒトIgG、特にIgG1のH鎖の定常部が好ましく、その場合は融合がヒンジ領域で起こる。特定例では、血液凝固因子Xaで開裂され得る開裂配列を組み込むことで、Fc部分を簡単に除去できる。さらに、本発明は、これら融合タンパク質の遺伝子工学的作製方法、並びに薬物スクリーニング、診断および治療におけるそれらの使用に関する。また、本発明の更なる形態はこのような融合タンパク質をコードするポリヌクレオチドに関する。融合タンパク質技術の例は国際特許出願 WO 94 / 29458 および WO 94 / 22914に見いだせる。

30

【0046】

本発明の更なる形態は哺乳動物において免疫学的応答を引き出す方法に関し、この方法は、特に前記疾患から該動物を防御するための抗体および/またはT細胞免疫応答を生ずるのに十分な本発明のポリペプチドを哺乳動物に接種することを含んでなる。本発明のさらに別の形態は、哺乳動物を前記疾患から防御する抗体を産生させるような免疫学的応答を引き出すために、in vivo で本発明のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドの発現を指令するベクターを介して該ポリペプチドを供給することを含んでなる、哺乳動物において免疫学的応答を引き出す方法に関する。

【0047】

本発明の更なる形態は、哺乳動物宿主に導入したとき、その哺乳動物において本発明のポリペプチドに対する免疫学的応答を引き出す免疫学的ワクチン製剤（組成物）に関し、この組成物は本発明のポリペプチドまたはポリヌクレオチドを含有する。ワクチン製剤は適当な担体をさらに含んでもよい。ポリペプチドは胃の中で分解される可能性があるため、非経口的に（例えば、皮下、筋肉内、静脈内または皮内注射により）投与することが好ましい。非経口投与に適した製剤としては、酸化防止剤、緩衝剤、静菌剤およびこの製剤を受容者の血液と等張にする溶質を含みうる水性および非水性の無菌注射液、並びに懸濁化剤または増粘剤を含みうる水性および非水性の無菌懸濁液がある。こうした製剤は1回量容器または数回量容器（例えば、密閉アンプルおよびバイアル）で提供することができ、また、使用直前に無菌の液状担体を添加するだけでよい凍結乾燥状態で保管するこ

40

50

ともできる。ワクチン製剤はこの製剤の免疫原性を増強するためのアジュバント系、例えば水中油型のアジュバント系や当業界で公知の他のアジュバント系を含んでいてもよい。投与量はワクチンの比活性により変化するが、ルーチンな実験操作により簡単に決定できる。

【0048】

本発明のポリペプチドは、多くの病的状態、特に前記疾患を含めて、さまざまな生物学的機能に関与している。それゆえ、このポリペプチドの機能を刺激または抑制する化合物を同定するスクリーニング法を開発することが望ましい。したがって、更なる形態において、本発明は、このポリペプチドを刺激または抑制する化合物を同定するための化合物のスクリーニング法を提供する。一般的には、前記疾患の治療および予防目的のためにアゴニストまたはアンタゴニストが使用される。種々の供給源、例えば、細胞、無細胞調製物、化学物質ライブラリーおよび天然産物の混合物から化合物を同定することができる。このように同定されたアゴニスト、アンタゴニストまたはインヒビターは、場合により、該ポリペプチドの天然のまたは修飾された基質、リガンド、受容体、酵素などであってよく、また、その構造的または機能的なミメティックであってよい (Coliganら, Current Protocols in Immunology 1(2): Chapter 5 (1991)を参照のこと)。

【0049】

スクリーニング法では、本発明のポリペプチド、または該ポリペプチドを担持する細胞もしくは膜、またはその融合タンパク質への候補化合物の結合を、候補化合物に直接または間接的に結合された標識を用いて簡単に測定できる。あるいはまた、スクリーニング法では標識した競合物質との競合を用いることもある。さらに、こうしたスクリーニング法では、候補化合物がポリペプチドの活性化または抑制により生ずるシグナルを結果的にもたらずか否かを、該ポリペプチドを担持する細胞に適した検出系を用いて試験することができる。一般的には、既知のアゴニストの存在下で活性化のインヒビターをアッセイして、アゴニストによる活性化に候補化合物の存在が与える影響を調べる。アゴニストまたはインヒビターの不在下で、候補化合物がポリペプチドの活性化を抑制するか否かを調べることによる逆アゴニストまたはインヒビターのスクリーニング法では、構成的に活性のあるポリペプチドが用いられる。さらに、これらのスクリーニング法は、候補化合物と本発明のポリペプチドを含む溶液とを混ぜ合わせて混合物をつくり、この混合物中のHTLAR33活性を測定し、そしてこの混合物のHTLAR33活性をスタンダードと比較する各ステップを単に含むだけでよい。本発明のポリペプチドのアンタゴニストを同定する高処理量スクリーニングアッセイでは、上記のようなFc部分とHTLAR33ポリペプチドから作製されるような融合タンパク質も使用することができる (D. Bennettら, J. Mol. Recognition, 8: 52-58 (1995) およびK. Johansonら, J. Biol. Chem., 270(16): 9459-9471 (1995)を参照のこと)。

【0050】

また、本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチドまたは該ポリペプチドに対する抗体を用いて、細胞内でのmRNAまたはポリペプチドの産生に及ぼす添加化合物の作用を検出するためのスクリーニング法を組み立てることができる。例えば、当業界で公知の標準方法によりモノクローナルまたはポリクローナル抗体を用いて、ポリペプチドの分泌レベルまたは細胞結合レベルを測定するためのELISAアッセイを構築することができ、これは適切に操作された細胞または組織からのポリペプチドの産生を抑制または増強する物質(それぞれアンタゴニストまたはアゴニストともいう)の探索に用いることができる。

【0051】

膜に結合した受容体または可溶性の受容体が存在するのであれば、当業界で公知の標準的な受容体結合法によりこの種の受容体を同定するために本発明のポリペプチドを用いることができる。こうした受容体結合法には、限定するものではないが、リガンド結合アッセ

10

20

30

40

50

イおよび架橋アッセイがあり、これらのアッセイでは、ポリペプチドを放射性アイソトープ（例：¹²⁵I）で標識するか、化学的に修飾（例：ビオチン化）するか、または検出や精製に適したペプチド配列に融合させ、そして推定上の受容体源（細胞、細胞膜、細胞上清、組織抽出物、体液など）とインキュベートする。その他の方法としては、表面プラズモン共鳴および分光学のような生物物理的方法がある。これらのスクリーニング法は、該ポリペプチドまたは（存在するのであれば）その受容体への結合と競合する該ポリペプチドのアゴニストまたはアンタゴニストを同定するために用いることもできる。スクリーニングアッセイを行うための標準的な方法は当業界でよく理解されている。

【0052】

本発明のポリペプチドの潜在的なアンタゴニストの例としては、抗体、ある場合には、該ポリペプチドのリガンド、基質、受容体、酵素などと密接な関係があるオリゴヌクレオチドもしくはタンパク質（例えば、リガンド、基質、受容体、酵素などの断片）、または本発明のポリペプチドと結合するが応答を誘導しない（それゆえ該ポリペプチドの活性を妨げる）小分子などがある。

【0053】

かくして、他の形態において、本発明は、本発明のポリペプチドのアゴニスト、アンタゴニスト、リガンド、受容体、基質、酵素など、またはこの種のポリペプチドの産生を低下または増加させる化合物を同定するためのスクリーニングキットに関し、このキットは、

- (a) 本発明のポリペプチド、
- (b) 本発明のポリペプチドを発現している組換え細胞、
- (c) 本発明のポリペプチドを発現している細胞膜、または
- (d) 本発明のポリペプチドに対する抗体、

を含んでなり、前記ポリペプチドは好ましくは配列番号2のポリペプチドである。このようなキットにおいて、(a)、(b)、(c) または (d) が実質的な構成成分であることが理解されよう。

【0054】

当業者であれば、本発明のポリペプチドは、その構造に基づいて該ポリペプチドのアゴニスト、アンタゴニストまたはインヒビターを設計する方法にも使用できることが容易に理解されよう。この方法は、

- (a) 最初に該ポリペプチドの三次元構造を解析し、
- (b) アゴニスト、アンタゴニストまたはインヒビターの確実と思われる反応部位または結合部位の三次元構造を想定し、
- (c) 想定された反応部位または結合部位と結合または反応すると予想される候補化合物を合成し、そして
- (d) その候補化合物が実際にアゴニスト、アンタゴニストまたはインヒビターであるか否かを調べる、

ことを含んでなる。これは通常相互作用プロセスであることがさらに理解されよう。

【0055】

更なる態様において、本発明は、HTLAR33 ポリペプチド活性の過剰量と不足量のいずれかに関係した、例えば骨量の減少（骨粗しょう症を含む）、炎症性疾患（例えば、成人呼吸促進症候群（ARDS）、慢性関節リウマチ、変形性関節症、炎症性腸疾患（IBD）、乾癬、皮膚炎、喘息、アレルギー）、感染症（例えば、細菌、真菌、原生動物およびウイルスの感染症、特にHIV-1 またはHIV-2 が引き起こす感染症）、HIV-関連悪液質および他の免疫不全疾患、敗血症性ショック、疼痛、損傷、癌、拒食症、過食症、パーキンソン病、心臓血管疾患（再狭窄、アテローム性動脈硬化症、急性心不全、心筋梗塞を含む）、低血圧、高血圧、尿閉、狭心症、潰瘍、良性前立腺肥大、精神および神経障害（不安、精神分裂、そううつ、せん妄、痴呆、重症の精神遅滞および運動異常、例えばハンチントン舞蹈病またはジル・ド・ラ・ツレット症候群を含む）などの異常な状態の治療法を提供する。

【0056】

10

20

30

40

50

該ポリペプチドの活性が過剰である場合は、いくつかのアプローチが利用可能である。一つのアプローチは、例えば、リガンド、基質、受容体、酵素などの結合をブロックすることにより、または第2のシグナルを抑制することで異常な状態を軽減することにより、該ポリペプチドの機能を抑制するのに有効な量で、上記のインヒビター化合物（アンタゴニスト）を製剤学上許容される担体とともに患者に投与することを含んでなる。もう一つのアプローチでは、内因性のポリペプチドとの競合状態でリガンド、基質、酵素、受容体などと結合する能力がまだある可溶性形態のポリペプチドを投与することができる。このような競合物質の典型的な例はHTLAR33 ポリペプチドの断片である。

【0057】

さらに別のアプローチでは、発現阻止法を使って内因性HTLAR33 ポリペプチドをコードする遺伝子の発現を抑制することができる。こうした公知技術は、体内で産生されるか別個に投与されるアンチセンス配列の使用を必要とする（例えば、Oligodeoxynucleotides as Antisense Inhibitors of Gene Expression（遺伝子発現のアンチセンスインヒビターとしてのオリゴデオキシヌクレオチド）、CRC Press, Boca Raton, FL（1988）中のO'Connor, J. Neurochem（1991）56:560を参照のこと）。あるいはまた、この遺伝子と共に三重らせんを形成するオリゴヌクレオチドを供給することもできる（例えば、Leeら, Nucleic Acids Res（1979）6:3073; Cooneyら, Science（1988）241:456; Dervanら, Science（1991）251:1360を参照のこと）。これらのオリゴマーはそれ自体を投与することもできるし、関連オリゴマーをin vivo で発現させることもできる。

【0058】

HTLAR33 およびその活性の過少発現に関係した異常な状態を治療する場合も、いくつかのアプローチを取ることができる。一つのアプローチは、治療に有効な量の本発明ポリペプチドを活性化する化合物（すなわち、前記アゴニスト）を製剤学上許容される担体とともに患者に投与して、異常な状態を緩和することを含んでなる。別法として、患者の関連細胞においてHTLAR33 を内因的に産生させるために遺伝子治療を用いることができる。例えば、上で述べたような複製欠損レトロウイルスベクターによる発現のために本発明のポリヌクレオチドを遺伝子操作する。次にレトロウイルス発現構築物を単離し、本発明のポリペプチドをコードするRNAを含有するレトロウイルスプラスミドベクターで形質導入されたパッケージング細胞に導入する。その結果、パッケージング細胞は対象の遺伝子を含有する感染性のウイルス粒子を産生ようになる。in vivo 細胞操作およびin vivo ポリペプチド発現のために、これらの産生細胞を患者に投与する。遺伝子治療の概論に関しては、Human Molecular Genetics, T Strachan and A P Read, BIOS Scientific Publishers Ltd（1996）中のChapter 20, Gene Therapy and other Molecular Genetic-based Therapeutic Approaches（およびその中の引用文献）を参照のこと。もう一つのアプローチは治療量の本発明のポリペプチドを適当な製剤学上の担体とともに投与することである。

【0059】

更なる形態において、本発明は、治療に有効な量のポリペプチド（例えば、可溶性形態の本発明ポリペプチド）、アゴニストもしくはアンタゴニストペプチド、または小分子化合物を製剤学上許容される担体または賦形剤と共に含有する医薬組成物を提供する。この種の担体としては、食塩水、生理食塩水、デキストロース、水、グリセロール、エタノール、およびこれらの組合せがあるが、これらに限らない。本発明はさらに、上記の本発明組成物の1以上の成分を充填した1以上の容器を含んでなる医薬パックおよびキットに関する。本発明のポリペプチドおよび他の化合物は単独で使用しても、他の化合物、例えば治療用化合物と一緒に使用してもよい。

【0060】

医薬組成物は投与経路、例えば全身または経口による投与経路に適合させることができる。全身投与に適した形態は、注入（注射）、典型的には静注である。皮下、筋肉内または腹腔内のような他の注入経路も使用できる。全身投与の別の手段には、胆汁酸塩、フシジン酸、その他の界面活性剤などの浸透剤を用いた経粘膜および経皮投与がある。さらに、本発明のポリペプチドまたは他の化合物を腸溶剤またはカプセル剤として製剤化し得るのであれば、経口投与も可能である。これらの化合物を軟膏、ペースト、ゲルなどの剤形で局所に投与しても、かつ/または局在化させてもよい。

【0061】

必要な投与量範囲は、本発明のペプチドまたは他の化合物の選択、投与経路、製剤の性質、患者の状態、そして医師の判断に左右される。しかし、適当な投与量は患者の体重1kgあたり0.1~100μgの範囲である。入手可能な化合物が多様であること、投与経路の効率が異なることを考慮すれば、必要とされる投与量は広範囲に変動することが予測される。例えば、経口投与は静注による投与よりも高い投与量を必要とすると予想されよう。こうした投与量レベルの変動は、当業界でよく理解されているような、標準的経験的な最適化手順を用いて調整することができる。

【0062】

治療に用いるポリペプチドは、上述したような「遺伝子治療」と称する治療法において、患者の体内で産生させることもできる。例えば、患者由来の細胞を、ポリペプチドをコードするDNAまたはRNAのようなポリヌクレオチドにより、例えばレトロウイルスプラスミドベクターを用いて、*ex vivo* で遺伝子工学的に操作する。その後、これらの細胞を患者に導入する。

【0063】

ポリヌクレオチドおよびポリペプチドの配列は、類似の相同性を有する別の配列を同定する際の価値ある情報源を提供する。これは、こうした配列をコンピュータ読み取り可能媒体中に保存し、次に保存したデータを用いてGCCのような公知の検索ツールにより配列データベースを検索することで最大限促進される。したがって、更なる態様において、本発明は、配列番号1の配列を含んでなるポリヌクレオチドおよび/またはそれによりコードされるポリペプチドを保存したコンピュータ読み取り可能媒体を提供する。

【0064】

以下の定義は上記の説明中でしばしば用いられた用語を理解しやすくするためのものである。

本明細書中で用いる「抗体」には、ポリクローナルおよびモノクローナル抗体、キメラ抗体、一本鎖抗体、ヒト化抗体、さらにFabまたは他の免疫グロブリン発現ライブラリーの産物を含むFabフラグメントが含まれる。

「単離された」とは、天然の状態から「人間の手によって」改変されたことを意味する。

「単離された」組成物または物質が天然に存在するのであれば、それはそのもとの環境から変化しているか分離されており、またはその両方である。例えば、生存している動物の体内に自然界で存在するポリヌクレオチドまたはポリペプチドは「単離された」ものではないが、その天然状態の共存物質から分離されたポリヌクレオチドまたはポリペプチドは、本明細書中で用いられるように、「単離された」ものである。

【0065】

「ポリヌクレオチド」とは、一般に任意のポリリボヌクレオチドまたはポリデオキシリボヌクレオチドをさし、これは修飾されていないRNAもしくはDNA、または修飾されたRNAもしくはDNAであり得る。「ポリヌクレオチド」には、制限するものではないが、一本鎖および二本鎖DNA、一本鎖領域と二本鎖領域が混じり合ったDNA、一本鎖および二本鎖RNA、一本鎖領域と二本鎖領域が混じり合ったRNA、DNAとRNAを含むハイブリッド分子（一本鎖でも、またはより典型的には二本鎖でもよく、一本鎖領域と二本鎖領域が混じり合ったものでもよい）が含まれる。加えて、「ポリヌクレオチド」はRNAまたはDNAまたはRNAとDNAの両方からなる三重鎖領域を意味する。「ポリ

ヌクレオチド」という用語はまた、1個以上の修飾塩基を含有するDNAまたはRNA、および安定性または他の理由のために修飾された骨格を有するDNAまたはRNAも含む。「修飾」塩基としては、例えば、トリチル化された塩基およびイノシンのような特殊な塩基がある。DNAおよびRNAに対してさまざまな修飾を行うことができる。こうして、「ポリヌクレオチド」は、自然界に一般的に存在するポリヌクレオチドの化学的、酵素的または代謝的に修飾された形態、並びにウイルスおよび細胞に特徴的なDNAおよびRNAの化学的形態を包含する。また、「ポリヌクレオチド」は、しばしばオリゴヌクレオチドと称される比較的短いポリヌクレオチドも包含する。

【0066】

「ポリペプチド」とは、ペプチド結合または修飾されたペプチド結合（すなわち、ペプチドアイソスター）により連結された2個以上のアミノ酸を含むペプチドまたはタンパク質を意味する。「ポリペプチド」は短鎖（通常はペプチド、オリゴペプチドまたはオリゴマーという）と長鎖（一般的にはタンパク質という）の両方をさす。ポリペプチドは20種類の遺伝子コード化アミノ酸以外のアミノ酸を含んでもよい。「ポリペプチド」は、翻訳後プロセッシングのような天然のプロセスで、または当業界で公知の化学的修飾法のいずれかで修飾されたアミノ酸配列を含む。このような修飾は基本的な教科書、より詳細な学術論文および研究文献に詳述されている。修飾はペプチド骨格、アミノ酸側鎖、アミノまたはカルボキシル末端を含めてポリペプチドのどこでも行うことができる。同じタイプの修飾が所定のポリペプチドのいくつかの部位に同程度でまたはさまざまに異なる程度で存在してもよい。また、所定のポリペプチドが多くタイプの修飾を含んでいてもよい。ポリペプチドはユビキチン化のために分枝していても、分枝のある又はない環状であってもよい。環状の、分枝した、または分枝した環状のポリペプチドは翻訳後の天然プロセスから生じることがあり、また、合成法によって製造することもできる。修飾としては、アセチル化、アシル化、ADP-リボシル化、アミド化、フラビンの共有結合、ヘム部分の共有結合、ヌクレオチドまたはヌクレオチド誘導体の共有結合、脂質または脂質誘導体の共有結合、ホスファチジルイノシトールの共有結合、架橋、環化、ジスルフィド結合の形成、脱メチル化、共有結合架橋の形成、シスチンの形成、ピログルタメートの形成、ホルミル化、 γ -カルボキシル化、グリコシル化、GPIアンカー形成、ヒドロキシル化、ヨウ素化、メチル化、ミリストイル化、酸化、タンパク質分解プロセッシング、リン酸化、プレニル化、ラセミ化、セレノイル化、硫酸化、アルギニル化のようなタンパク質へのアミノ酸の転移RNA媒介付加、ユビキチン化などがある（例えば、Proteins - Structure and Molecular Properties 2nd Ed., T.E. Creighton, W.H. Freeman and Company, New York, 1993; Posttranslational Covalent Modification of Proteins, B.C. Johnson編, Academic Press, New York, 1983中のWorld, F., Post-translational Protein Modifications: Perspectives and Prospects, pgs. 1-12; Seiffter \bar{a} , "Analysis for protein modifications and nonprotein cofactors", Meth Enzymol (1990) 182:626-646; および Rattan \bar{a} , "Protein Synthesis: Post-translational Modifications and Aging", Ann NY Acad Sci (1992) 663:48-62 を参照のこと）。

【0067】

本明細書中で用いる「変異体」とは、基準のポリヌクレオチドまたはポリペプチドと異なるが、不可欠な性質を保持しているポリヌクレオチドまたはポリペプチドのことである。典型的なポリヌクレオチドの変異体は基準ポリヌクレオチドとヌクレオチド配列の点で相違する。この変異体のヌクレオチド配列の変化は、基準ポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドのアミノ酸配列を変更しても、しなくてもよい。ヌクレオチドの変化

て点在做ることができる。ヌクレオチド変異の数は、配列番号1中のヌクレオチドの総数に、それぞれの(100で割った)同一性の数値を掛け、その積を配列番号1中のヌクレオチドの総数から差し引くことにより、すなわち次式により求められる。

$$n_n \quad x_n \quad - (x_n \times y)$$

式中、 n_n はヌクレオチド変異の数であり、 x_n は配列番号1中のヌクレオチドの総数であり、 y は50%については0.50、60%については0.60、70%については0.70、80%については0.80、85%については0.85、90%については0.90、95%については0.95、97%については0.97または100%については1.00であり、ここで x_n と y の非整数の積は、その積を x_n から引く前に、最も近似する整数に切り下げる。配列番号2のポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列の
10
改変により、そのコード配列にナンセンス、ミスセンスまたはフレームシフト突然変異を起こさせ、こうした変異後に該ポリヌクレオチドによりコードされるポリペプチドを改変させることができる。

【0070】

同様に、本発明のポリペプチド配列は、配列番号2の基準配列と同一である、すなわち基準配列に対して100%の同一性を有するか、または同一性が100%未満となるように基準配列に対してある整数個までのアミノ酸変異を含むことができる。このような変異は少なくとも1個のアミノ酸の欠失、置換(同類および非同類アミノ酸置換を含む)および付加よりなる群から選択され、これらの変異は基準ポリペプチド配列のアミノもしくはカルボキシ末端位置、またはこれらの末端位置の間どこに存在してもよく、基準配列中
20
のアミノ酸の間に個々に、または基準配列内に1以上の連続したグループとして点在做ることができる。所定の同一性%に関するアミノ酸変異の数は、配列番号2中のアミノ酸の総数にそれぞれの(100で割った)同一性の数値を掛け、その積を配列番号2中のアミノ酸の総数から引くことにより、すなわち次式により求められる。

$$n_a \quad x_a \quad - (x_a \times y)$$

式中、 n_a はアミノ酸変異の数であり、 x_a は配列番号2中のアミノ酸の総数であり、 y は例えば70%については0.70、80%については0.80、85%については0.85などであり、 x_a と y の非整数の積は、その積を x_a から引く前に、最も近似する整数に切り下げる。

【0071】

「融合タンパク質」とは、2つの、しばしば無関係の、融合された遺伝子またはその断片によりコードされるタンパク質のことである。一例として、EP-A-0 464には、免疫グロブリン分子の定常領域の様々な部分と他のヒトタンパク質またはその一部とを含んでなる融合タンパク質が記載されている。多くの場合、治療および診断における使用には、融合タンパク質の一部として免疫グロブリンFc領域を使用することが有利であり、これにより例えば薬物速度論的性質が向上する(例えば、EP-A- 0232 262を参照のこと)。一方、いくつかの使用にとっては、その融合タンパク質を発現させ、検出し、精製した後でFc部分を除去することが望ましいだろう。

【0072】

【実施例】

市販のESTデータベースのランダムヌクレオチド検索から、Yak-1関連キナーゼに対して顕著な相同性を示す180 bpのEST(EST NO. 396208)が同定された。このクローンを塩基配列決定によりさらに分析した。この部分的クローンは412個のアミノ酸残基からなるポリペプチド(配列番号4)をコードする一つのオープンリーディングフレームを含む1338 bpのインサート(配列番号3)を含有していた。遺伝子特異的プライマー 5'-GATCTTGATGGCCACCAAGCTCCTGGGT-3'(配列番号5)および 5'-GTCAAATTCGTAGCGCTCCACCAAGCGCT-3'(配列番号6)およびヒトBrian Marathon
cDNA (Clontech, Palo Alto, California)を用いて、欠失している5'領域に相当するPCR断片を得た。ヒト骨格筋組織cDNAが
40
50

ら同一の断片を得ることによりこの領域を確認した。最終的な2394 bpクローンはセリン/トレオニンキナーゼをコードしており、STKファミリーの他のメンバーに対して非常に高い相同性を有していた。

【0073】

本明細書中に引用された、特許および特許出願明細書を含めた全ての刊行物は、あたかも各刊行物が明確にかつ個々に示されているかのように、その全体を参考としてここに組み入れるものとする。

【0074】

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> SmithKline Beecham Corporation

<120> A YAK-1 Related Serine/Threonine Protein Kinase-HTLAR33

<130> PA03-193

10

<150> US 09/027,064

<151> 1998-2-20

<160> 6

<210> 1

20

<211> 2394

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 1

```

GTGAGAAAGG GATTTGACAT GGGGGAGACA GTGGCCCATG GGGAGAAGAT TTTTGCTGTA    60
CCTGACAACT CTGGGAGGAG AGAACCCTAT GTGATAACTT GGGGATTTGA CTTTGAGGCC    120
CTCTAGGATG GACACAGTTG TGAATGACC CTGGTATAAA AGGGGTGCCT GGAGAAAGGT    180
CTCAGCGGCG GTGGCGCCGA GGTGCACGAT GCAAGAAGGC GCCCCCCGGC CGGGCTCCCG    240
CTCCAGGCCT GGTTCCCATG GGCCCTCTGA GCCCACCATG GCCGTCCCAC CGGGCCATGG    300
TCCCTTCTCT GGCTTCCCAG GGCCCCAGGA GCACACGCAG GTATTGCCTG ATGTGCGGCT    360
ACTGCCTCGG AGGCTGCCCC TGGCCTTCCG GGATGCAACC TCAGCCCGCT GGGTAAGCTC    420
TCTGTGCCTC ATCAAGACCT ACAAGCACAT CAATGAGGTA TACTATGCGA AGAAGAAGCG    480
GCGGGCCCAG CAGGGCCACC CCAGGATTGG AGCAAACAAG AAGGAGAAGA AGGTCCTGAA    540
CCATGGTTAT GATGAGGACA ACCATGATAA CATCGTGGCG CAGTGGCGAG CGCTGGTGGG    600

```

30

40

GCGCTACGAA	ATTGACTCGC	TCATTGGCAA	AGGCTCCTTT	GGCCAGGTGG	TGAAAGCCTA	660	
TGATCATCAG	ACCCAGGAGC	TTGTGGCCAT	CAAGATCATC	AAGAACAAA	AGGCTTTCCT	720	
GAACCAGGCC	CAGATTGAGC	TGCGGCTGCT	GGAGCTGATG	AACCAGCATG	ACACGGAGAT	780	
GAAGTACTAT	ATAGTACACC	TGAAGCGGCA	CTTCATGTTT	CGGAACCACC	TGTGCCTGGT	840	
ATTTGAGCTG	CTGTCTACA	ACCTGTACGA	CCTCCTGCGC	AACACCCACT	TCCGCGGCGT	900	
CTCGTGAAC	CTGACCCGGA	AGCTGGCGCA	GCAGCTCTGC	ACGGCACTGC	TCTTTCTGGC	960	
CACGCCTGAG	CTCAGCATCA	TTCACTGCGA	CCTCAAGCCC	GAAAACATCT	TGCTGTGCAA	1020	10
CCCCAAGCGC	AGCGCCATCA	AGATTGTGGA	CTTCGGCAGC	TCCTGCCAGC	TTGGCCAGAG	1080	
GATCTACCAG	TATATCCAGA	GCCGCTTCTA	CCGCTCACCT	GAGGTGCTCC	TGGGCACACC	1140	
CTACGACCTG	GCCATTGACA	TGTGGTCCCT	GGGCTGCATC	CTTGTGGAGA	TGCACACCGG	1200	
AGAGCCCCTC	TTCAGTGGCT	CCAATGAGGT	CGACCAGATG	AACCGCATTG	TGGAGGTGCT	1260	
GGGCATCCCA	CCGGCCGCCA	TGCTGGACCA	GGCGCCCAAG	GCTCGCAAGT	ACTTTGAACG	1320	
GCTGCCTGGG	GGTGGCTGGA	CCCTACGAAG	GACGAAAGAA	CTCAGGAAGG	ACCTGGTGTCT	1380	
GCGCATGCTG	GAGTATGAGC	CCGCCGCCCG	CATCAGCCCC	CTGGGGGCTC	TGCAGCACGG	1440	20
CTTCTTCCGC	CGCACGGCCG	ACGAAGCCAC	CAACACGGGC	CCGGCAGGCA	GCAGTGCCTC	1500	
CACCTCGCCC	GCGCCCCTCG	ACACCTGCCC	CTCTTCCAGC	ACCGCCAGCT	CGGAGGCTCC	1560	
AGTGGCTCCT	CCAGTGACAA	CCGGACCGAT	ATTGTGGGGG	CCCTGGGCCC	CCTATCACAG	1620	
ACTGCCCCCA	GGTCCCACCC	TCCCAGCCGC	TGCGGGCTGC	CCCACAAGAC	ACATCAAGCC	1680	
CCTGCCTCTG	CCTCGTCACT	GCCTGGGAAC	GGGGCCAGT	TACCCCCCA	GCCCGATACT	1740	
TGGTCGTCCC	CATCACCAAC	CCTCACCACC	ACCCCCGGAG	CTGATGGATG	TGAGCCTGGT	1800	
GGGCGGCCTG	CTGACTGCTC	CCCACCTCAC	CCAGCGCCTG	CCCCCAGCA	CCCGGCTGCC	1860	30
TCAGCCCTCC	GGACTCGGAT	GACTGGAGGT	CGTCCACCCC	TCCCGCCTCC	TGATGACCCT	1920	
GCCACTCTGG	GGCCTCACCT	GGCCTCCGTG	GTGTACCCCA	GAGCACAGCA	GCCAGCTCGT	1980	
GACCCTGCCC	CCTCCCTGGG	GCCCCCTCTG	AAAGCCATAC	CCTCCCCCAT	CTGGGGGCCC	2040	
TGGGCTCCCA	TCCTCATCTC	TCTCCTTGAC	TGGAATTGCT	GCTACCCAGC	TGGGGTGGGT	2100	
GAGGCCTGCA	CTGATTGGGG	CCTGGGGCAG	GGGGGTCAAG	GAGAGGGTTT	TGGCCGCTCC	2160	
CTCCCCACTA	AGGACTGGAC	CCTTGGGCCC	CTCTCCCCCT	TTTTTTCTAT	TTATTGTACC	2220	
AAAGACAGTG	GTGGTCCGGT	GGAGGGAAGA	CCCCCCCCTC	ACCCCAGGAC	CCTAGGAGGG	2280	40
GGTGGGGGCA	GGTAGGGGGA	GATGGCCTTG	CTCCTCCTCG	CTGTACCCCC	AGTAAAGAGC	2340	

TTTCTCACAA AAAAAAAAAA AAAAAAACTC GAGGGGGGCC CGTACCCAAT CGCC 2394

<210> 2

<211> 557

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

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

10

20

30

40

CAGATGAACC GCATTGTGGA GGTGCTGGGC ATCCCACCGG CCGCCATGCT GGACCAGGCG	180	
CCCAAGGCTC GCAAGTACTT TGAACGGCTG CCTGGGGGTG GCTGGACCCT ACGAAGGACG	240	
AAAGAACTCA GGAAGGACCT GGTGCTGCGC ATGCTGGAGT ATGAGCCCGC CGCCCGCATC	300	
AGCCCCCTGG GGGCTCTGCA GCACGGCTTC TTCCGCCGCA CGGCCGACGA AGCCACCAAC	360	
ACGGGCCCCG CAGGCAGCAG TGCCTCCACC TCGCCCGCGC CCCTCGACAC CTGCCCCTCT	420	
TCCAGCACCG CCAGCTCCAT CTCCAGTTCT GGAGGCTCCA GTGGCTCCTC CAGTGACAAC	480	
CGGACCTACC GCTACAGCAA CCGATATTGT GGGGGCCCTG GGCCCCCTAT CACAGACTGT	540	10
GAGATGAACA GCCCCAGGT CCCACCCTCC CAGCCGCTGC GGCCCTGGGC AGGGGGTGAT	600	
GTGCCCCACA AGACACATCA AGCCCCCTGCC TCTGCCTCGT CACTGCCTGG GAACGGGGCC	660	
CAGTTACCCC CCCAGCCCGA TACTTGGTCG TCCCCATCAC CAACCCTCAC CACCACCCCC	720	
GGAGCTGATG GATGTGAGCC TGGTGGGCGG CCTGCTGACT GCTCCCCACC TCACCAGCG	780	
CCTGCCCCCC AGCACC CGG TGCCTCAGCC CTCCGGACTC GGATGACTGG AGGTGCTCCA	840	
CCCCTCCCGC CTCCTGATGA CCCTGCCACT CTGGGGCCTC ACCTGGCCTC CGTGGTGTAC	900	
CCCAGAGCAC AGCAGCCAGC TCGTGACCCT GCCCCCTCCC TGGGGCCCCT CCTGAAAGCC	960	20
ATACCCTCCC CCATCTGGGG GCCCTGGGCT CCCATCCTCA TCTCTCTCCT TGA CTGGAAT	1020	
TGCTGCTACC CAGCTGGGGT GGGTGAGGCC TGCACTGATT GGGGCCTGGG GCAGGGGGGT	1080	
CAAGGAGAGG GTTTTGGCCG CTCCCTCCCC ACTAAGGACT GGACCCTTGG GCCCCTCTCC	1140	
CCCTTTTTTT CTATTTATTG TACCAAAGAC AGTGGTGGTC CGGTGGAGGG AAGACCCCCC	1200	
CCTCACCCCA GGACCCTAGG AGGGGGTGGG GGCAGGTAGG GGGAGATGGC CTTGCTCCTC	1260	
CTCGCTGTAC CCCCAGTAAA GAGCTTTCTC AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA ACTCGAGGGG	1320	
GGCCCGTACC CAATCGCC	1338	30

<210> 4

<211> 412

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<400> 4

Glu Phe Gly Thr Ser Leu Gly Thr Pro Tyr Asp Leu Ala Ile Asp Met

1

5

10

15

40

<210> 6

<211> 28

<212> DNA

<213> *Homo sapiens*

<400> 6

GTCAATTCG TAGCGTCCA CCAGCGCT

28

10

フロントページの続き

(51) Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 P 19/00	A 6 1 P 25/00	
A 6 1 P 25/00	A 6 1 P 29/00	
A 6 1 P 29/00	A 6 1 P 31/00	
A 6 1 P 31/00	A 6 1 P 31/18	
A 6 1 P 31/18	A 6 1 P 37/00	
A 6 1 P 37/00	C 0 7 K 16/40	
C 0 7 K 16/40	C 1 2 N 1/15	
C 1 2 N 1/15	C 1 2 N 1/19	
C 1 2 N 1/19	C 1 2 N 1/21	
C 1 2 N 1/21	C 1 2 N 9/12	
C 1 2 N 5/10	C 1 2 Q 1/02	
C 1 2 N 9/12	C 1 2 Q 1/68	A
C 1 2 Q 1/02	G 0 1 N 33/15	Z
C 1 2 Q 1/68	G 0 1 N 33/50	Z
G 0 1 N 33/15	C 1 2 N 5/00	A
G 0 1 N 33/50	A 6 1 K 37/02	
(72)発明者	ダーク ジェイ . バーグズマ	
	アメリカ合衆国 1 9 3 1 2	ペンシルバニア州, バーウィン, アイリッシュ ロード 2 7 1
(72)発明者	ウスマン シャボン	
	アメリカ合衆国 1 9 4 2 6	ペンシルバニア州, カレッジビル, ハミルトン ロード 9 2 6

专利名称(译)	YAK-1相关的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 - HTLAR 33		
公开(公告)号	JP2004000195A	公开(公告)日	2004-01-08
申请号	JP2003109291	申请日	2003-04-14
[标]申请(专利权)人(译)	史密斯克莱恩比彻姆公司		
申请(专利权)人(译)	史克必成公司		
[标]发明人	ダークジェイバーグズマ ウスマンシャボン		
发明人	ダーク ジェイ.バーグズマ ウスマン シャボン		
IPC分类号	G01N33/50 A61K31/7088 A61K35/76 A61K38/00 A61K38/45 A61K39/395 A61K48/00 A61P9/00 A61P19/00 A61P19/10 A61P25/00 A61P29/00 A61P31/00 A61P31/12 A61P31/18 A61P35/00 A61P37 /00 A61P43/00 C07K16/40 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/00 C12N5/10 C12N9/12 C12N15/00 C12N15/09 C12N15/54 C12Q1/02 C12Q1/68 C12R1/91 G01N33/15 G01N33/53 G01N33/566		
CPC分类号	A61K38/00 A61P9/00 A61P19/00 A61P19/10 A61P25/00 A61P29/00 A61P31/00 A61P31/12 A61P31 /18 A61P35/00 A61P37/00 A61P43/00 C12N9/1205 C12Y207/01037		
FI分类号	C12N15/00.ZNA.A A61K31/7088 A61K48/00 A61P9/00 A61P19/00 A61P25/00 A61P29/00 A61P31/00 A61P31/18 A61P37/00 C07K16/40 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N9/12 C12Q1/02 C12Q1/68.A G01N33/15.Z G01N33/50.Z C12N5/00.A A61K37/02 A61K38/00 A61K38/16 A61K38/17 C12N15/00.A C12N15/00.AZN.A C12N5/00.101 C12N5/10		
F-TERM分类号	2G045/AA34 2G045/AA35 2G045/DA13 2G045/DA36 2G045/FB02 4B024/AA01 4B024/AA11 4B024 /BA07 4B024/CA04 4B024/DA02 4B024/DA05 4B024/DA11 4B024/EA02 4B024/EA03 4B024/EA04 4B024/EA06 4B050/CC03 4B050/DD11 4B063/QA01 4B063/QA05 4B063/QA18 4B063/QQ06 4B063 /QQ08 4B063/QQ53 4B063/QR48 4B063/QR51 4B063/QS33 4B063/QS36 4B063/QS39 4B063/QX02 4B063/QX07 4B065/AA15X 4B065/AA26X 4B065/AA49X 4B065/AA50X 4B065/AA53X 4B065/AA60X 4B065/AA72X 4B065/AA90X 4B065/AA93X 4B065/AA93Y 4B065/AB01 4B065/BA02 4B065/CA29 4B065/CA44 4B065/CA46 4C084/AA02 4C084/AA07 4C084/AA13 4C084/AA14 4C084/BA01 4C084 /BA08 4C084/BA22 4C084/BA23 4C084/BA35 4C084/CA18 4C084/CA53 4C084/CA56 4C084/CA59 4C084/DC02 4C084/DC03 4C084/MA02 4C084/NA05 4C084/NA14 4C084/NA15 4C084/ZA022 4C084 /ZA362 4C084/ZA962 4C084/ZB072 4C084/ZB112 4C084/ZB322 4C084/ZC552 4C086/AA01 4C086 /AA03 4C086/EA16 4C086/MA02 4C086/MA04 4C086/NA05 4C086/NA14 4C086/NA15 4C086/ZA02 4C086/ZA36 4C086/ZA96 4C086/ZB07 4C086/ZB11 4C086/ZB32 4C086/ZC55 4H045/AA10 4H045 /AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/CA40 4H045/DA75 4H045/DA89 4H045/EA20 4H045/EA50 4H045/FA74 4H045/GA05 4H045/GA21		
优先权	60/053924 1997-07-28 US 09/027064 1998-02-20 US		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

YAK-1相关的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶HTLAR33多肽和多核苷酸，重组产生HTLAR33多肽的方法，HTLAR33多肽的抗体及其在疾病治疗和诊断分析中的用途。。包含在特定序列的整个长度上与特定序列的氨基酸序列具有至少70%相同性的氨基酸序列的多肽，包含特定序列的氨基酸序列的多肽或由特定序列的氨基酸序列组成的多肽。 [选择图]无

