

(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 - 527092**

(P2003 - 527092A)

(43)公表日 平成15年9月16日 (2003.9.16)

(51) Int.Cl <sup>7</sup>	識別記号	F I	テ-マコード* (参考)
C 1 2 N 15/09	ZNA	A 6 1 K 45/00	2 G 0 4 5
A 6 1 K 38/00		A 6 1 P 1/16	4 B 0 2 4
45/00		3/12	4 B 0 6 3
A 6 1 P 1/16		5/00	4 B 0 6 4
3/12		5/14	4 B 0 6 5

審査請求 未請求 予備審査請求 (全182数) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2001 - 523637(P2001 - 523637)

(86)(22)出願日 平成12年9月14日(2000.9.14)

(85)翻訳文提出日 平成14年3月13日(2002.3.13)

(86)国際出願番号 PCT/US00/25435

(87)国際公開番号 W001/019860

(87)国際公開日 平成13年3月22日(2001.3.22)

(31)優先権主張番号 60/154,140

(32)優先日 平成11年9月15日(1999.9.15)

(33)優先権主張国 米国(US)

(31)優先権主張番号 60/169,155

(32)優先日 平成11年12月6日(1999.12.6)

(33)優先権主張国 米国(US)

(71)出願人 インサイト・ゲノミクス・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 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

(74)代理人 弁理士 大島 陽一

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 細胞分化に関するタンパク質

(57)【要約】

本発明は、細胞分化に関するヒトタンパク質 (CD1 FF) と、CDIFFを同定しコードするポリヌクレオチドとを提供する。本発明はまた、発現ベクター、宿主細胞、抗体、アゴニスト及びアンタゴニストを提供する。更に、本発明は、CDIFFの発現に関連する疾患を診断、治療または予防する方法も提供する。

**【特許請求の範囲】**

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

(a) 配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号4、配列番号5、配列番号6、配列番号7、配列番号9、配列番号10、配列番号11、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27及び配列番号28を有する群から選択したアミノ酸配列

(b) 配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号4、配列番号5、配列番号6、配列番号7、配列番号9、配列番号10、配列番号11、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27及び配列番号28を有する群から選択したアミノ酸配列と少なくとも90%が同一であるようなアミノ酸配列を有する天然のアミノ酸配列

(c) 配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号4、配列番号5、配列番号6、配列番号7、配列番号9、配列番号10、配列番号11、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27及び配列番号28を有する群から選択したアミノ酸配列を有するアミノ酸配列の生物学的活性断片

(d) 配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号4、配列番号5、配列番号6、配列番号7、配列番号9、配列番号10、配列番号11、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27及び配列番号28を有する群から選択したアミノ酸配列を有する免疫抗原性断片

**【請求項2】** 配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号4、配列

番号5、配列番号6、配列番号7、配列番号9、配列番号10、配列番号11、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27及び配列番号28を有する群から選択した請求項1に記載の単離されたポリペプチド。

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

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

【請求項5】 配列番号29、配列番号30、配列番号31、配列番号32、配列番号33、配列番号34、配列番号35、配列番号37、配列番号38、配列番号41、配列番号42、配列番号43、配列番号44、配列番号45、配列番号46、配列番号47、配列番号48、配列番号49、配列番号51、配列番号52、配列番号53、配列番号54、配列番号55及び配列番号56を有する群から選択した請求項4に記載の単離されたポリヌクレオチド。

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

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

【請求項8】 請求項6に記載の組換えポリヌクレオチドを含む遺伝形質転換体。

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

【請求項10】 請求項1に記載のポリペプチドと特異結合するような単

離された抗体。

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

(a) 配列番号29、配列番号30、配列番号31、配列番号32、配列番号33、配列番号34、配列番号35、配列番号37、配列番号38、配列番号41、配列番号42、配列番号43、配列番号44、配列番号45、配列番号46、配列番号47、配列番号48、配列番号49、配列番号51、配列番号52、配列番号53、配列番号54、配列番号55及び配列番号56を有する群から選択したポリヌクレオチド配列

(b) 配列番号29、配列番号30、配列番号31、配列番号32、配列番号33、配列番号34、配列番号35、配列番号37、配列番号38、配列番号41、配列番号42、配列番号43、配列番号44、配列番号45、配列番号46、配列番号47、配列番号48、配列番号49、配列番号51、配列番号52、配列番号53、配列番号54、配列番号55及び配列番号56を有する群から選択したポリヌクレオチド配列と少なくとも90%が同一であるような天然のポリヌクレオチド配列

(c) (a)のポリヌクレオチドに相補的なポリヌクレオチド配列

(d) (b)のポリヌクレオチドに相補的なポリヌクレオチド配列

(e) (a)~(d)のRNA等価物

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

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

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

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

前記プローブと前記標的ポリヌクレオチドの間でハイブリダイゼーション複合

体が形成されるような条件下で、前記プローブが前記標的ポリヌクレオチドに特異的にハイブリダイズすることを特徴とする方法。

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

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

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

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

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

【請求項17】 前記ポリペプチドが、配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号4、配列番号5、配列番号6、配列番号7、配列番号9、配列番号10、配列番号11、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27及び配列番号28を有する群から選択したアミノ酸配列を含むことを特徴とする請求項16に記載の成分。

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

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

(a) 請求項1に記載のポリペプチドを含むサンプルを化合物に曝す過程と、

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

【請求項20】 請求項19に記載の方法によって同定したアゴニスト化

化合物と、薬剤として許容できる賦形剤とを含むことを特徴とする成分。

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

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

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

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

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

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

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

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

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

含み、

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

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

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

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

【請求項28】 試験化合物の毒性を算定する方法であって、

(a) 核酸を含む生物学的サンプルを前記試験化合物で処理する過程と、

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

(c) 前記ハイブリタイゼーション複合体の量を定量する過程と、

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

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

【請求項29】 配列番号40及び配列番号50を有する群から選択した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30】 請求項29に記載のポリヌクレオチドに機能的に結合したプロモーター配列を含む組換えポリヌクレオチド。

【請求項31】 請求項30に記載の組換えポリヌクレオチドを用いて形質転換した細胞。

【請求項32】 請求項30に記載の組換えポリヌクレオチドを含む遺伝形質転換体。

【請求項33】 配列番号12及び配列番号22を有する群から選択したアミノ酸配列を含むポリペプチドを製造する方法であって、

(a) 請求項31に記載の細胞を前記ポリペプチドの発現に適した条件下で培養する過程と、

(b) そのように発現した前記ポリペプチドを回収する過程とからなることを特徴とする方法。

【請求項34】 請求項29に記載の配列を有する標的ポリヌクレオチドの変異発現の有効性を確認するために化合物をスクリーニングする方法であって、

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

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

【請求項35】 試験化合物の毒性を算定する方法であって、

(a) 核酸を含む生物学的サンプルを前記試験化合物で処理する過程と、

(b) 請求項11に記載のポリヌクレオチドの少なくとも20の連続したヌクレオチドを含むプローブと、請求項29に記載のポリヌクレオチドまたはその断片のポリヌクレオチド配列を有する前記生物学的サンプルの標的ポリヌクレオチドとの間に、特定のハイブリタイゼーション複合体が形成されるような条件下で、前記処理されたサンプルの核酸を前記プローブでハイブリタイズする過程と、

(c) 前記ハイブリタイゼーション複合体の量を定量する過程と、

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

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

**【発明の詳細な説明】****【0001】****(技術分野)**

本発明は、細胞分化に関与するタンパク質の核酸及びアミノ酸配列に関し、細胞増殖異常、発達障害及び神経疾患の診断、治療並びに予防におけるこれらの配列の利用に関する。

**【0002】****(発明の背景)**

多細胞生物は、各細胞がその遺伝的資質において他の細胞と類似しているという事実にも拘らず、構造及び機能の両者において劇的に異なる多様な細胞タイプから構成されている。細胞分化は、その構造及び物理的機能において細胞を結果的に異ならしめるようなプロセスである。多細胞生物の細胞はすべて単細胞接合体の有糸分裂から生じる。接合体は全能であり、成体の各種の細胞を発生させる能力がある。発達中に接合体の細胞子孫は全能性を喪失し、決定される。ひとたび発生運命に到達したら、細胞は分化されたと言われる。この細胞の全ての子孫は、同一タイプになることになる。

**【0003】**

ヒトの成長及び発達は、細胞増殖及び調整された細胞死と共に細胞分化の空間的及び時間的制御を必要とする。これらのプロセスは、生殖、老化、胚形成、形態形成、器官形成及び組織の修復並びに維持を協調的に制御する。細胞分化に関与するプロセスは、癌などの疾患にも関係し、その場合には正常な細胞分化を制御する因子は変異されて、癌細胞が未分化状態で増殖するようになり得る。

**【0004】**

分化のメカニズムは、転写及び翻訳の細胞特異制御に関与し、それによって異なる遺伝子が異なる時間に異なる細胞で選択的に発現される。ショウジョウバエを用いた遺伝子実験により、発達及び分化中にパターン形成を制御する転写因子の制御されたカスケードが同定された。これには、ホメオボックスモチーフを含む転写制御因子をコードする相同異質形成遺伝子が含まれる。相同異質形成遺伝子の産物は、昆虫の成虫原基が未分化細胞の塊から複雑な器官を有する固有のセ

グメントにどのように発展するかを決定する。ショウジョウバエの細胞分化及び発達に關与することがわかっている多くの遺伝子は、哺乳動物に相同体を有する。例えば、ヒト相同体は、ショウジョウバエash2遺伝子に対して最近発見された。ash2遺伝子産物は、相同異質形成選択遺伝子の転写制御因子であり、ショウジョウバエの早期発達及び種々の原基パターンの形成に結びつけられる（イケガワ, S. (1999) *Cytogenet. Cell Genet.* 84:167-172）。ariadne-2タンパク質は、RINGフィンガー転写制御因子モチーフを有するレチノイン酸誘導タンパク質であり、ヒト相同体も有する（GenBank Entry g5453556, *Homo sapiens ariadne-2 (D. melanogaster)* 相同体）。

#### 【0005】

場合によっては、ヒト遺伝子とそのショウジョウバエ相同体等価な発生上の役割有する証拠がある。ショウジョウバエ眼欠損遺伝子（*eya*）のヒト相同体は、耳及び肝臓に影響を与える発達障害であるbranchio-oto-renal症候群の基礎をなす（Abdelhak, S.ら (1997) *Nat. Genet.* 15:157-164）。ショウジョウバエスリット遺伝子は、正中線グリア細胞により発現された、正常な神経発達に必要なタンパク質を含む分泌多ロイシンリピートをコードする。2つの哺乳動物の相同体SLIT1及びSLIT2がヒト及びマウスの両方において最近同定された。マウスでは、両遺伝子は底板（正中線グリア細胞に相当する脊椎動物）、蓋板及び発育運動ニューロンにおいてCNSの発達中に発現され、ショウジョウバエと哺乳動物の間でタンパク質機能が保存されていることを示唆する（Holmes, G. P. (1998) *Mech. Dev.* 79:57-72）。

#### 【0006】

細胞レベルでは、成長及び発達は、高度に分化した状態への細胞の傾倒により細胞周期に出入りするような細胞の決定によって支配される。遺伝子のschlafenファミリーは、少なくとも7つのメンバーの新たなファミリーであり、T細胞の静止状態の維持に關与している。これらの遺伝子は、胸腺細胞の成熟中に特異に制御され、好適にはリンパ組織で発現される。線維芽細胞または胸腺腫細胞におけるschlafen遺伝子の発現は、細胞成長を遅延させるか切断するかのいずれかを行うものであり、タンパク質がおそらく細胞周期の制御に關与していることを示

ず (Schwarz, D. A. (1998) *Immunity* 9:657-668)。

【0007】

細胞内での特異な遺伝子発現は、細胞外シグナル及び他の環境キューに応答して起こる。そのようなシグナルには、成長因子、その他の分裂促進因子（レチノイン酸、細胞間接触及び細胞 - 基質接触など）及び環境因子（栄養シグナル、毒性物質及び熱ショックなど）がある。分化において役割を果たし得る候補遺伝子は、*in vitro*での細胞分化の誘導時に変異発現パターンによって同定し得る。例えば、REX遺伝子は、マウス奇形癌細胞のレチノイン酸誘導分化中に発現が低下することを示す (Faria ら (1998) *Mol. Cell Endocrinol.* 143:155-166)。マウス胎児性癌細胞株P19は、神経細胞タイプに分化することによりレチノイン酸に反応する。shyc遺伝子は、分化P19細胞から単離され、発達及び胚神経系、成体マウスの脳の嗅覚経路において優性に発現されることがわかっている (Koster, F. ら (1998) *Neurosci. Lett.* 252:69-71)。同様に、Bdm1遺伝子は、レチノイン酸によるP19細胞から神経細胞への分化中に上方制御され、嗅球、大脳皮質、海馬、小脳、視床及び延髄に幅広く発現される (ヤマウチ, Y. ら (1999) *Brain Res. Mol. Brain Res.* 68:149-58)。従って、これらのタンパク質は、分化及び神経細胞の後者の機能において役割を果たすように見える。

【0008】

細胞分化の最終ステップは、特定のタンパク質、例えば筋細胞の収縮性タンパク質、肝臓細胞の血清タンパク質、赤血球前駆体のグロブリンなどの産出により特徴付けられる特殊分化を生じさせる。これらの特殊なタンパク質の発現は、少なくとも一部は細胞特異転写制御因子に依る。例えば、ホメオボックス含有転写制御因子PAX-6は、脊椎動物における早期の眼の決定、眼球組織の特異化及び正常な眼の発達に必須である。PAX-6は、眼球レンズの優勢な構造タンパク質であるクリスタリンの発現の制御にも関与している。クリスタリンタンパク質の欠失は、世界的な視覚障害の最も一般的な原因である白内障を形成し得る (Francis, P. J. ら (1999) *Trends Genet.* 15:191-196)。

【0009】

表皮の分化の場合、分化特異遺伝子の誘導は、成長停止と共に或いは成長停止

に続いて発生し、不可逆成長停止を制御する分子の現象に結びついていると信じられている。不可逆成長停止は、細胞が基底から皮膚の最内基底上の層へ移行する際に発生する初期の現象であり、扁平上皮特異遺伝子の発現を開始する。このような遺伝子には、架橋結合した外被、例えばトランスグルタミナーゼI及びIII、involucrin、loricin、小プロリンリッチリピート（SPRR）タンパク質の形成に関与する遺伝子が含まれる。SPRRタンパク質は、分子量が8～10kDaで、プロリン、グルタミン及びシステインが豊富であり、同様の繰返し配列要素を含む。SPRRタンパク質は、強力な2次構造を有する構造タンパク質またはメタロチオネインなどの金属結合タンパク質であり得る（Jetten, A. M. and Harvat, B. L. (1997) J. Dermatol. 24:7 1 1-725、PRINTS Entry PRO0021 PRORICH Small proline-rich protein signature）。

#### 【0010】

新たな細胞分化に関与するタンパク質及びそれらをコードするポリヌクレオチドの発見は、細胞増殖異常、発達障害及び神経疾患の診断、治療並びに予防において有用である新たな組成を提供することにより、当分野における要求を満たす。

#### 【0011】

##### （発明の概要）

本発明は、集合的には「CDIFF」、個別には「CDIFF-1」、「CDIFF-2」、「CDIFF-3」、「CDIFF-4」、「CDIFF-5」、「CDIFF-6」、「CDIFF-7」、「CDIFF-8」、「CDIFF-9」、「CDIFF-10」、「CDIFF-11」、「CDIFF-12」、「CDIFF-13」、「CDIFF-14」、「CDIFF-15」、「CDIFF-16」、「CDIFF-17」、「CDIFF-18」、「CDIFF-19」、「CDIFF-20」、「CDIFF-21」、「CDIFF-22」、「CDIFF-23」、「CDIFF-24」、「CDIFF-25」、「CDIFF-26」、「CDIFF-27」及び「CDIFF-28」と呼ばれるような実質上精製されたポリペプチドである細胞分化に関与するタンパク質に特徴がある。或る実施態様において本発明は、（a）配列番号1乃至28を有する群から選択したアミノ酸配列、（b）配列番号1乃至28を有する群から選択したアミノ酸配列と少なくとも90%の相同性を有する天然のアミノ酸配列、（c）配列番号1乃至28を有する群から選択したアミノ酸配列の生物学的活性断片、または（d）配列番号1乃至28を有する群から選択し

たアミノ酸配列の免疫抗原性断片を含む、実質上単離されたポリペプチドを提供する。一実施態様では、配列番号1乃至28を有する群から選択したアミノ酸配列を含む実質上単離されたポリペプチドを提供する。

【0012】

また、本発明は(a)配列番号1乃至28を有する群から選択したアミノ酸配列、(b)配列番号1乃至28を有する群から選択したアミノ酸配列と少なくとも90%の相同性を有する天然のアミノ酸配列、(c)配列番号1乃至28を有する群から選択したアミノ酸配列の生物学的活性断片、または(d)配列番号1乃至28を有する群から選択したアミノ酸配列の免疫抗原性断片を含むポリペプチドをコードするような実質上単離されたポリヌクレオチドを提供する。一実施態様では、ポリヌクレオチドは配列番号1乃至28を有する群から選択したポリペプチドをコードする。別の実施態様では、ポリヌクレオチドは配列番号29乃至56を有する群から選択される。

【0013】

本発明は更に、(a)配列番号1乃至28を有する群から選択したアミノ酸配列、(b)配列番号1乃至28を有する群から選択したアミノ酸配列と少なくとも90%の相同性を有する天然のアミノ酸配列、(c)配列番号1乃至28を有する群から選択したアミノ酸配列の生物学的活性断片、または(d)配列番号1乃至28を有する群から選択したアミノ酸配列の免疫抗原性断片を含むポリペプチドをコードするような実質上単離されたポリヌクレオチドと機能的に結合したプロモーター配列を有する組換えポリヌクレオチドを提供する。一実施態様では、本発明は組換えポリヌクレオチドを用いて形質転換した細胞を提供する。別の実施態様では、本発明は組換えポリヌクレオチドを含む遺伝形質転換体を提供する。

【0014】

また、本発明は(a)配列番号1乃至28を有する群から選択したアミノ酸配列、(b)配列番号1乃至28を有する群から選択したアミノ酸配列と少なくとも90%の相同性を有する天然のアミノ酸配列、(c)配列番号1乃至28を有する群から選択したアミノ酸配列の生物学的活性断片、または(d)配列番号1

乃至28を有する群から選択したアミノ酸配列の免疫抗原性断片を含む実質上単離されたポリペプチドを製造する方法を提供する。製造方法は、(a)組換えポリヌクレオチドを用いて形質転換した細胞をポリペプチドの発現に適した条件下で培養する過程と、(b)そのように発現したポリペプチドを回収する過程とを有し、組換えポリヌクレオチドはポリペプチドをコードするポリヌクレオチドに機能的に結合したプロモーター配列を有する。

#### 【0015】

本発明は更に、(a)配列番号1乃至28を有する群から選択したアミノ酸配列、(b)配列番号1乃至28を有する群から選択したアミノ酸配列と少なくとも90%の相同性を有する天然のアミノ酸配列、(c)配列番号1乃至28を有する群から選択したアミノ酸配列の生物学的活性断片、または(d)配列番号1乃至28を有する群から選択したアミノ酸配列の免疫抗原性断片を含むポリペプチドに特異結合するような実質上単離された抗体を提供する。

#### 【0016】

本発明は更に、(a)配列番号29乃至56を有する群から選択したポリヌクレオチド配列、(b)配列番号29乃至56を有する群から選択したポリヌクレオチド配列と少なくとも70%の相同性を有する天然のポリヌクレオチド配列、(c)(a)に相補的なポリヌクレオチド配列、(d)(b)に相補的なポリヌクレオチド配列、または(e)(a)~(d)のRNA等価物を含む実質上単離されたポリヌクレオチドを提供する。一実施態様では、ポリヌクレオチドは少なくとも60の連続したヌクレオチドを有する。

#### 【0017】

本発明は更に、サンプル中の標的ポリヌクレオチドを検出する方法を提供する。ここで、標的ポリヌクレオチドは(a)配列番号29乃至56を有する群から選択したポリヌクレオチド配列、(b)配列番号29乃至56を有する群から選択したポリヌクレオチド配列と少なくとも70%の相同性を有する天然のポリヌクレオチド配列、(c)(a)に相補的なポリヌクレオチド配列、(d)(b)に相補的なポリヌクレオチド配列、または(e)(a)~(d)のRNA等価物を含む実質上単離されたポリヌクレオチドを提供する。検出方法は、(a)サンプル

ル中の標的ポリヌクレオチドに相補的な配列からなる少なくとも20の連続したヌクレオチドを含むプローブを用いて該サンプルをハイブリダイズする過程と、(b)ハイブリダイゼーション複合体の存在・不存在を検出し、複合体が存在する場合にはオプションでその量を検出する過程からなり、プローブと標的ポリヌクレオチドの間にハイブリダイゼーション複合体が形成されるような条件下で、プローブは標的ポリヌクレオチドに特異的にハイブリダイズする。一実施態様では、プローブは少なくとも60の連続したヌクレオチドを含む。

#### 【0018】

本発明はまた、サンプル中の標的ポリヌクレオチドを検出する方法を提供する。ここで、標的ポリヌクレオチドは(a)配列番号29乃至56を有する群から選択したポリヌクレオチド配列、(b)配列番号29乃至56を有する群から選択したポリヌクレオチド配列と少なくとも70%の相同性を有する天然のポリヌクレオチド配列、(c)(a)に相補的なポリヌクレオチド配列、(d)(b)に相補的なポリヌクレオチド配列、または(e)(a)~(d)のRNA等価物を含む実質上単離されたポリヌクレオチドを提供する。検出方法は、(a)ポリメラーゼ連鎖反応増幅を用いて標的ポリヌクレオチドまたはその断片を増幅する過程と、(b)標的ポリヌクレオチドまたはその断片の存在・不存在を検出し、該標的ポリヌクレオチドまたはその断片が存在する場合にはオプションでその量を検出する過程を含む。

#### 【0019】

本発明は更に、有効量のポリペプチドと薬剤として許容できる賦形剤とを含む成分を提供する。有効量のポリペプチドは、(a)配列番号1乃至28を有する群から選択したアミノ酸配列、(b)配列番号1乃至28を有する群から選択したアミノ酸配列と少なくとも90%の相同性を有する天然のアミノ酸配列、(c)配列番号1乃至28を有する群から選択したアミノ酸配列の生物学的活性断片、または(d)配列番号1乃至28を有する群から選択したアミノ酸配列の免疫抗原性断片を含む。一実施態様では、成分は配列番号1乃至28を有する群から選択したアミノ酸配列を含む。更に本発明は、機能性CD1FFの発現低下に関連する疾患又は病状を治療する方法であって、そのような治療を必要とする患者に対

して成分を投与する過程を有する方法を提供する。

【0020】

本発明はまた、(a)配列番号1乃至28を有する群から選択したアミノ酸配列、(b)配列番号1乃至28を有する群から選択したアミノ酸配列と少なくとも90%の相同性を有する天然のアミノ酸配列、(c)配列番号1乃至28を有する群から選択したアミノ酸配列の生物学的活性断片、または(d)配列番号1乃至28を有する群から選択したアミノ酸配列の免疫抗原性断片を含むポリペプチドのアゴニストとしての有効性を確認するために化合物をスクリーニングする方法を提供する。スクリーニング方法は、(a)ポリペプチドを有するサンプルを化合物に曝す過程と、(b)サンプル中のアゴニスト活性を検出する過程とを含む。一実施態様では、本発明は機能性CD137の発現低下に関連する疾患又は病状を治療する方法であって、そのような治療を必要とする患者に対して成分を投与する過程を含む方法を提供する。

【0021】

本発明は更に、(a)配列番号1乃至28を有する群から選択したアミノ酸配列、(b)配列番号1乃至28を有する群から選択したアミノ酸配列と少なくとも90%の相同性を有する天然のアミノ酸配列、(c)配列番号1乃至28を有する群から選択したアミノ酸配列の生物学的活性断片、または(d)配列番号1乃至28を有する群から選択したアミノ酸配列の免疫抗原性断片を含むポリペプチドのアンタゴニストとしての有効性を確認するために化合物をスクリーニングする方法を提供する。スクリーニング方法は、(a)ポリペプチドを含むサンプルを化合物に曝す過程と、(b)サンプル中のアンタゴニスト活性を検出する過程とを含む。一実施態様で本発明は、この方法によって同定したアンタゴニスト化合物と薬剤として許容できる賦形剤とを含む成分を提供する。別の実施態様では、機能性CD137の過剰発現に関連する疾患又は病状を治療する方法であって、そのような治療を必要とする患者に対して成分を投与する過程を含む方法を提供する。

【0022】

本発明は更に、(a)配列番号1乃至28を有する群から選択したアミノ酸配

列、(b)配列番号1乃至28を有する群から選択したアミノ酸配列と少なくとも90%の相同性を有する天然のアミノ酸配列、(c)配列番号1乃至28を有する群から選択したアミノ酸配列の生物学的活性断片、または(d)配列番号1乃至28を有する群から選択したアミノ酸配列の免疫抗原性断片を含むポリペプチドに特異結合する化合物をスクリーニングする方法を提供する。スクリーニング方法は、(a)ポリペプチドを適切な条件下で少なくとも1つの試験化合物に結合させる過程と、(b)試験化合物とのポリペプチドの結合を検出し、それによってポリペプチドに特異結合する化合物を同定する過程とを含む。

#### 【0023】

本発明は更に、(a)配列番号1乃至28を有する群から選択したアミノ酸配列、(b)配列番号1乃至28を有する群から選択したアミノ酸配列と少なくとも90%の相同性を有する天然のアミノ酸配列、(c)配列番号1乃至28を有する群から選択したアミノ酸配列の生物学的活性断片、または(d)配列番号1乃至28を有する群から選択したアミノ酸配列の免疫抗原性断片を含むポリペプチドの活性を調節する化合物をスクリーニングする方法を提供する。スクリーニング方法は、(a)ポリペプチドの活性が許容された条件下で、ポリペプチドを少なくとも1つの試験化合物に結合させる過程と、(b)ポリペプチドの活性を試験化合物の存在下で算定する過程と、(c)試験化合物の存在下でのポリペプチドの活性を試験化合物の不存在下でのポリペプチドの活性と比較する過程とを含み、試験化合物の存在下でのポリペプチドの活性の変化は、ポリペプチドの活性を調節する化合物を標示する。

#### 【0024】

本発明は更に、標的ポリヌクレオチドの変異発現の有効性を確認するために化合物をスクリーニングする方法を提供する。標的ポリヌクレオチドは、配列番号29乃至56を有する群から選択した配列を含む。スクリーニング方法は、(a)標的ポリヌクレオチドを含むサンプルを化合物に曝す過程と、(b)標的ポリヌクレオチドの変異発現を検出する過程とを含む。

#### 【0025】

本発明は更に、試験化合物の毒性を評価する方法を提供する。毒性評価方法は

、(a) 核酸を含む生物学的サンプルを試験化合物で処理する過程と、(b) (i) 配列番号29乃至56を有する群から選択したポリヌクレオチド配列、(ii) 配列番号29乃至56を有する群から選択したポリヌクレオチド配列と少なくとも90%の相同性を有する天然のポリヌクレオチド配列、(iii) (i) に相補的なポリヌクレオチド配列、(iv) (ii) に相補的なポリヌクレオチド配列、または(v) (i) ~ (iv) のRNA等価物を有する群から選択したポリヌクレオチド配列を有するポリヌクレオチドの少なくとも20の連続したヌクレオチドを含むプローブを用いて処理生物学的サンプルの核酸をハイブリダイズする過程とからなる。ハイブリダイゼーションは、生物学的サンプルにおいて前記プローブと標的ポリヌクレオチドの間に固有のハイブリダイゼーション複合体が形成されるような条件下で発生し、前記標的ポリヌクレオチドには、(i) 配列番号29乃至56を有する群から選択したポリヌクレオチド配列、(ii) 配列番号29乃至56を有する群から選択したポリヌクレオチド配列と少なくとも90%の相同性を有する天然のポリヌクレオチド配列、(iii) (i) に相補的なポリヌクレオチド配列、(iv) (ii) に相補的なポリヌクレオチド配列、及び(v) (i) ~ (iv) のRNA等価物が含まれる。或いは、標的ポリヌクレオチドは、上記ポリヌクレオチド配列の断片と、(c) ハイブリダイゼーション複合体の量を定量する過程と、(d) 処理生物学的サンプル中のハイブリダイゼーション複合体の量を非処理生物学的サンプル中のハイブリダイゼーション複合体と比較する過程とを有し、処理生物学的サンプル中のハイブリダイゼーション複合体の量の差は試験化合物の毒性を示す。

#### 【0026】

(発明を実施するための形態)

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

#### 【0027】

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

#### 【0028】

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

#### 【0029】

##### 定義

「CDIFF」は、実質上精製されたCDIFFのアミノ酸配列であって、任意の種、特にウシ、ヒツジ、ブタ、マウス、ウマ及びヒトを含む哺乳動物の種から得たもので、任意の天然物、合成物、半合成物或いは組換え物を起源とするものを指す。

#### 【0030】

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

#### 【0031】

「対立遺伝子変異体」は、CDIFFをコードする遺伝子の別の形態である。対立

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

#### 【0032】

CDIFFをコードする「変異(altered)」核酸配列は、種々のヌクレオチドを欠失、挿入または置換する核酸配列を有し、CDIFFと同一またはCDIFFの機能的特徴を少なくとも1つ有するポリペプチドを産出する。この定義に含まれるのは、CDIFFをコードするポリヌクレオチドの特定のオリゴヌクレオチドプローブを用いて容易に検出可能或いは検出困難な多型現象と、CDIFFをコードするポリヌクレオチド配列のための正常な染色体遺伝子座以外の遺伝子座に占めるような、対立遺伝子変異体に対する不適切或いは不測のハイブリダイゼーションである。コードされたタンパク質も「変異」し得るものであり、サイレント変化を生ぜしめて結果的に機能的に等価なCDIFFとなるようなアミノ酸残基の欠失、挿入または置換を含み得る。計画的アミノ酸置換は、CDIFFの生物学的または免疫学的活性が保持される限りにおいて、残基の極性、電荷、溶解度、疎水性、親水性及び/または両親媒性特性の類似性にに基づき行い得る。例えば、負に帯電したアミノ酸にはアスパラギン酸及びグルタミン酸があり、正に帯電したアミノ酸にはリジン及びアルギニンがある。親水性値が近似している非荷電極性側鎖を有するアミノ酸には、アスパラギンとグルタミン、セリンとスレオニンがある。親水性値が近似している非荷電側鎖を有するアミノ酸には、ロイシンとイソロイシンとバリン、グリシンとアラニン、フェニルアラニンとチロシンがある。

#### 【0033】

「アミノ酸」または「アミノ酸配列」の語は、オリゴペプチド、ペプチド、ポリペプチド若しくはタンパク質の配列またはその断片を指し、天然または合成分子を指す。ここで、「アミノ酸配列」は天然のタンパク質分子のアミノ酸配列を

指すものであり、「アミノ酸配列」及び類似の語は、アミノ酸配列を、列挙したタンパク質分子に会合する完全な本来のアミノ酸配列に限定しようとするものではない。

【0034】

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

【0035】

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

【0036】

「抗体」の語は、無損傷免疫グロブリンやその断片、例えばFa、F(ab')<sub>2</sub>及びFv断片を指すが、これらはエピトープの決定基と結合することができる。CDIFFポリペプチドを結合する抗体は、無損傷ポリペプチドを用いるか或いは免疫抗原として感心のある小ペプチドを含む断片を用いるかして調製することができる。動物(マウス、ラット、ウサギ等)を免疫化するために用いるポリペプチドまたはオリゴペプチドは、翻訳または化学合成されたRNAに由来し得るもので、好みに応じて担体タンパク質に接合することも可能である。通常用いられる担体であってペプチドと化学結合するものは、ウシ血清アルブミン、サイログロブリン及びキーホールリンペットヘモシアニン(KLH)等がある。結合ペプチドは、動物を免疫化するために用いる。

【0037】

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

合し得る。

【0038】

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

【0039】

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

【0040】

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

【0041】

「所与のポリヌクレオチド配列からなる成分」及び「所与のアミノ酸配列からなる成分」は、大まかに所与のポリヌクレオチド配列またはアミノ酸配列を有する任意の成分を指す。この成分には、乾燥製剤または水溶液が含まれ得る。CDIFFまたはCDIFF断片をコードするポリヌクレオチドからなる成分は、ハイブリダイ

ゼーションプローブとして利用することができる。このプローブは凍結乾燥状態で保存し得るものであり、糖質等の安定化剤と会合し得る。ハイブリダイゼーションにおいては、塩（例えばNaCl）、洗浄剤（例えばドデシル硫酸ナトリウム；SDS）及びその他の構成エレメント（例えばデンハート液、脱脂粉乳、サケの精子のDNA等）を含む水溶液中にプローブを分散させることができる。

#### 【0042】

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

#### 【0043】

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

元の残基	保存的な置換
Ala	Gly, Set
Arg	His, Lys
Asn	Asp, Gln, His
Asp	Asn, Glu
Cys	Ala, Ser
Gln	Asn, Glu, His
Glu	Asp, Gln, His

Gly	Ala
His	Asn, Arg, Gln, Glu
Ile	Leu, Val
Leu	Ile, Val
Lys	Arg, Gln, Glu
Met	Leu, Ile
Phe	His, Met, Leu, Trp, Tyr
Ser	Cys, Thr
Thr	Ser, Val
Trp	Phe, Tyr
Tyr	His, Phe, Trp
Val	Ile, Leu, Thr

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

#### 【0044】

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

#### 【0045】

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

#### 【0046】

「検出可能な標識」は、測定可能な信号を生成することができ、ポリヌクレオ

チドまたはポリペプチドに共有結合または非共有結合するようなレポーター分子または酵素を指す。

#### 【0047】

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

#### 【0048】

配列番号29乃至56の断片には、固有のポリヌクレオチド配列領域が含まれる。この領域は、配列番号29乃至56を特異的に同定するものであり、例えば同一ゲノム中の配列番号29乃至56以外の配列とは異なるものである。配列番号29乃至56の断片は、例えば、ハイブリダイゼーション及び増幅技術において、或いは関連するポリヌクレオチド配列から配列番号29乃至56を区別する類似の方法において有用である。配列番号29乃至56の断片の正確な長さ及び断片に対応する配列番号29乃至56の領域は、断片に対する意図した目的に基づき当業者が慣例的に決定することが可能である。

#### 【0049】

配列番号1乃至28の断片は、配列番号29乃至56の断片によってコードされる。配列番号1乃至28の断片には、配列番号1乃至28を特異的に同定する

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

#### 【0050】

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

#### 【0051】

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

#### 【0052】

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

#### 【0053】

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

する。デフォルトとして「重みづけされた」残基の重みづけ表を選択する。CLUSTAL Vは、アラインメントされたポリヌクレオチド配列対間の「類似率」として一致率を報告する。

#### 【0054】

或いは、通常用いられ且つ無料で入手可能な配列比較アルゴリズム一式が米国国立バイオテクノロジー情報センター（NCBI）のBasic Local Alignment Search Tool（BLAST）から提供されている（Altschul, S.F. ら（1990）J. Mol. Biol. 215:403-410）。このアルゴリズムは、メリーランド州ベセスダにあるNCBIを含めた幾つかの情報源から入手可能であり、インターネット上（<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>）でも入手可能である。BLASTソフトウェア一式には様々な配列分析プログラムが含まれており、既知のポリヌクレオチド配列を種々のデータベースから得た別のポリヌクレオチド配列とアラインメントする「blastn」もその1つである。その他にも、2つのヌクレオチド配列を対で直接比較するために用いる「BLAST 2 Sequences」と称されるツールも利用可能である。「BLAST 2 Sequences」は、<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gorf/bl2.html>にアクセスして対話形式で利用することが可能である。「BLAST 2 Sequences」ツールは、blastn と blastp（後述）の両者に用いることができる。BLASTプログラムは、一般的には、ギャップ及びデフォルト設定に設定された他のパラメータと共に用いる。例えば、2つのヌクレオチド配列を比較するために、デフォルトパラメータとして設定された「BLAST 2 Sequences」ツールVersion 2.0.12（2000年4月21日）を用いてblastnを実行してもよい。デフォルトパラメータの設定例を以下に示す。

#### 【0055】

Matrix: BLOSUM62

Reward for match: 1

Penalty for mismatch: -2

Open Gap: 5 及び Extension Gap: 2 penalties

Gap x drop-off: 50

Expect: 10

Word Size: 11

Filter: on

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

#### 【0056】

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

#### 【0057】

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

#### 【0058】

ポリペプチド配列間の一一致率は、MEGALIGN version 3.12e配列アラインメントプログラムに組込まれているようなCLUSTAL Vアルゴリズムのデフォルトのパラメータを用いて決定できる（既に説明したのでそれを参照されたい）。CLUSTAL Vを用いて、ポリペプチド配列を2つ1組でアラインメントする際のデフォルトパラメータは、Ktuple=1、gap penalty=3、window=5、「diagonals saved」=5と設定する。デフォルトの残基重み付け表としてPAM250マトリクスを選択する。ポリヌクレオチドアラインメントと同様に、CLUSTAL VIは、アラインメントされたポリペプチド配列対間の「類似率」として一致率を報告する。

## 【0059】

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

## 【0060】

Matrix: BLOSUM62

Open Gap: 11 及び Extension Gap: 1 penalties

Gap x drop-off: 50

Expect: 10

Word Size: 3

Filter: on

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

## 【0061】

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

## 【0062】

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

## 【0063】

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

#### 【0064】

一般に、ハイブリダイゼーションのストリンジェンシーは、或る程度、洗浄ステップを実行する温度を基準にして表すことができる。このような洗浄温度は通常、所定のイオン強度及びpHにおける特異配列の融点（ $T_m$ ）より約5～20℃低くなるように選択する。この $T_m$ は、所定のイオン強度及びpHの下で、完全に一致するプローブに標的配列の50%がハイブリダイズする温度である。 $T_m$ を計算する式及び核酸のハイブリダイゼーション条件はよく知られており、Sambrookら（1989）*Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 第2版, 1-3巻, Cold Spring Harbor Press, Plainview NYに記載されており、特に2巻の9章を参照されたい。

#### 【0065】

本発明のポリヌクレオチド間のハイブリダイゼーションに対する高ストリンジェンシー条件には、約0.2×SSC及び約1%のSDS存在下で約68℃において1時間の洗浄条件が含まれる。或いは、65℃、60℃、55℃または42℃の温度で行ってもよい。SSC濃度は、約0.1%のSDS存在下で、約0.1～2×SSCの

範囲で変化し得る。通常は、遮断剤を用いて非特異ハイブリダイゼーションを阻止する。このような遮断剤には、例えば、約100～200 µg/mlの変性サケ精子DNAがある。特定条件下で、例えばRNAとDNAのハイブリダイゼーションに有機溶剤、例えば約35～50%v/vの濃度のホルムアミドを用いることもできる。洗浄条件の有用なバリエーションは、当業者には自明であろう。ハイブリダイゼーションは、特に高ストリンジェント条件下では、ヌクレオチド間の進化的な類似性を示唆し得る。このような類似性は、ヌクレオチド及びヌクレオチドにコードされるポリペプチドに対する類似の役割を強く示唆している。

#### 【0066】

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

#### 【0067】

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

#### 【0068】

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

#### 【0069】

「免疫抗原性断片」とは、哺乳動物等の生命体に導入されると免疫応答を誘発し得るようなCDIFFのポリペプチドまたはオリゴペプチド断片である。「免疫抗原性断片」の語には、本明細書中で開示したような或いは当分野で既知であるよ

うな任意の抗体産出方法において有用なCDIFFの任意のポリペプチドまたはオリゴペプチド断片も含まれる。

【0070】

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

【0071】

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

【0072】

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

【0073】

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

【0074】

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

【0075】

「ペプチド核酸」(PNA)は、アンチセンス分子または抗遺伝子物質であって、リジンを末端とするアミノ酸残基のペプチドバックボーンに結合した、少なく

とも約5ヌクレオチドの長さのオリゴヌクレオチドからなるものを指す。末端のリジンは、成分に溶解性を与える。PNAは、相補的一本鎖DNAまたはRNAに優先的に結合して転写の拡張を停止するものであり、ポリエチレングリコール化して細胞におけるPNAの寿命を延長し得る。

#### 【0076】

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

#### 【0077】

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

#### 【0078】

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

## 【0079】

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

## 【0080】

プライマーとして用いるオリゴヌクレオチドは、そのような目的のために当分野でよく知られているソフトウェアを用いて選択する。例えばOLIGO 4.06ソフトウェアは、各100ヌクレオチドまでのPCRプライマー対の選択に有用であり、オリゴヌクレオチド及び最大5,000までの大きめのポリヌクレオチドであって32キロベースまでのインプットポリヌクレオチド配列から得たものを分析するのに有用である。類似のプライマー選択プログラムには、拡張能力のための追加機能が組込まれている。例えば、PrimOUプライマー選択プログラム(テキサス州ダラスにあるテキサス大学南西部医療センターのゲノムセンターから一般向けに入手可能)は、メガベース配列から特定のプライマーを選択することが可能であり、従ってゲノム全体の範囲でプライマーを設計するのに有用である。Primer3プライマー選択プログラム(マサチューセッツ州ケンブリッジのWhitehead Institute/MITゲノム研究センターから一般向けに入手可能)ではユーザーが「ミスプライミング・ライブラリ」をインプットすることができ、ここでプライマー結合部位として避けたい配列はユーザーが指定する。Primer3は特に、マイクロアレイのためのオリゴヌクレオチドの選択に有用である(後二者のプライマー選択プログラムのソースコードは、各自のソースから得てユーザー固有のニーズを満たすように変更してもよい)。PrimerGenプログラム(英国ケンブリッジ市の英国ヒトゲノムマッピングプロジェクト-リソースセンターから一般向けに入

手可能)は、多数の配列アラインメントに基づいてプライマーを設計し、それによって、アラインメントされた核酸配列の最大保存領域または最小保存領域の何れかとハイブリダイズするようなプライマーの選択を可能にする。従って、このプログラムは、固有であって保存されたオリゴヌクレオチド及びポリヌクレオチドの断片の同定に有用である。上記選択方法のいずれかによって同定したオリゴヌクレオチド及びポリヌクレオチドの断片は、ハイブリダイゼーション技術において、例えばPCRまたはシーケンシングプライマーとして、マイクロアレイエレメントとして、或いは核酸のサンプルにおいて完全または部分的相補的ポリヌクレオチドを同定する特異プローブとして有用である。オリゴヌクレオチドの選択方法は、上記の方法に限定されるものではない。

#### 【0081】

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

#### 【0082】

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

#### 【0083】

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

はウイルスタンパク質と相互作用する。

【0084】

「レポーター分子」とは、核酸、アミノ酸または抗体を標識するのに用いられる化学的または生化学的成分である。レポーター分子には、放射性核種、酵素、蛍光剤、化学発光剤、発色剤、基質、補助因子、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ある。

【0085】

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

【0086】

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

【0087】

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

【0088】

「実質上精製された」の語は、自然環境から取り除かれ、或いは単離または分離された核酸またはアミノ酸配列であって、自然に会合するその他の構成エレ

ントの少なくとも約60%、好ましくは少なくとも約75%、最も好ましいのは少なくとも約90%が遊離しているものを指す。

【0089】

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

【0090】

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

【0091】

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

【0092】

「形質転換」は、外来性のDNAが宿主細胞に入り込み、宿主細胞を変化させるプロセスを表す。形質転換は、当分野で知られている種々の方法に従って自然条件または人工条件下で生じ得るものであり、外来性の核酸配列を原核または真核宿主細胞に挿入する任意の既知の方法を基にし得る。形質転換の方法は、形質転換する宿主細胞の種類によって選択する。限定するものではないが形質転換方法には、ウイルス感染、電気穿孔法（エレクトロポレーション）、熱ショック、リポフェクション及び微粒子照射を用いる方法がある。「形質転換された」細胞の語には、限られた時間内に挿入されたDNAやRNAを発現するような一時的に形質転換された細胞のみならず、安定的に形質転換された細胞であってその中に挿入されたDNAが自律的に複製するプラスミドとして或いは宿主の染色体の一部として複製可能であるものも含まれる。

【0093】

本明細書中で用いられる「遺伝形質転換体」とは任意の有機体であり、限定するものではないが動植物を含み、有機体の1若しくは数個の細胞が、ヒトの関与

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

#### 【0094】

特定の核酸配列の「変異体」は、核酸配列1本全部の長さに対して特定の核酸配列と少なくとも40%の配列相同性を有する核酸配列であると定義する。その際、デフォルトパラメータに設定した「BLAST 2 Sequences」ツールVersion 2.0.9(1999年5月7日)と共にblastnを用いる。このような核酸対は、所定の長さに対して、例えば少なくとも50%、60%、70%、80%、85%、90%、95%、98%またはそれ以上の相同性を示し得る。或る変異体は、例えば「対立遺伝子」変異体(前述)、「スプライス」変異体、「種」変異体または「多型」変異体として説明し得る。スプライス変異体は参照分子とかなりの相同性を有し得るが、mRNAプロセッシング中のエキソンの交互スプライシングによって通常多数の或いは僅かな数のポリヌクレオチドを有することになる。対応するポリペプチドは、追加機能ドメインを有するか或いは参照分子に存在するドメインが欠落していることがある。種変異体は、種相互に異なるポリヌクレオチド配列である。結果的に生じるポリペプチドは通常、相互にかなりのアミノ酸相同性を有する。多型変異体は、与えられた種の個体間で特定の遺伝子のポリヌクレオチド配列が異なる。また、多型変異体は、1つのヌクレオチド塩基によってポリヌクレオチド配列が変化する「一塩基多型」(SNP)を含み得る。SNPの存在は、例えば特定の個体群、病状または病状性向を示し得る。

## 【0095】

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

## 【0096】

## 発明

本発明は、新規なヒト細胞分化に関与するタンパク質(CDIFF)、CDIFFをコードするポリヌクレオチド、及び、細胞増殖異常、発達障害及び神経疾患の診断、治療並びに予防にこれらの配列を利用する方法の発見に基づくものである。

## 【0097】

表1は、CDIFFをコードする完全長のヌクレオチド配列の構築に用いたIncyteクローンを示す。列1及び列2は、ポリペプチド及びポリヌクレオチドの配列番号(SEQ ID NO)を各々示している。列3はIncyteクローンのクローンIDを示しており、各CDIFFをコードする核酸はここで同定されたものである。列4はcDNAライブラリを示しており、列3のクローンはここから単離したものである。列5は、Incyteクローン及びこれに対応するcDNAライブラリを示している。cDNAライブラリが示されていないIncyteクローンは、プールされているcDNAライブラリから得られたものである。列5のIncyteクローンをを用いて各CDIFFのコンセンサスヌクレオチド配列を構築した。列5のIncyteクローンは、ハイブリダイゼーション技術における断片として有用である。

## 【0098】

表2の列は、本発明の各ポリペプチドの様々な特性を示している。列1は配列番号(SEQ ID NO)を、列2は各ポリペプチド中のアミノ酸残基の数を、列3は潜在的リン酸化部位を、列4は潜在的グリコシル化部位を、列5はサイン(signature)配列及びモチーフを有するアミノ酸残基を、列6はBLAST分析によって同

定された相同配列、列7は分析方法と場合によってはその分析方法が利用できる検索可能なデータベースを示している。列7の分析方法を用いて、配列相同性及びタンパク質モチーフから各ポリペプチドの特徴付けを行った。

#### 【0099】

表3の列は、組織特異性と、CDIFFをコードするヌクレオチド配列に関係がある疾患、障害または症状とを示している。表3の列1はヌクレオチドの配列番号を、列2は列1のヌクレオチド配列の断片を示している。これらの断片は、例えば配列番号29乃至56を同定し、配列番号29乃至56と関連するポリヌクレオチド配列とを区別するためのハイブリダイゼーションまたは増幅の技術において有用である。これらの断片によりコードされるポリヌクレオチドは、例えば免疫抗原性ペプチドとして有用である。列3は、CDIFFを発現する組織カテゴリーを組織全体に対するCDIFF発現割合として示している。列4は、CDIFFを発現する組織に関連する疾患、障害または症状を、CDIFFを発現する組織全体に対する割合として示している。列5は、各cDNAライブラリをサブクローニングするために用いたベクターを示している。

#### 【0100】

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

#### 【0101】

配列番号32は、152.2～157.4センチモルガンの間隔内で染色体1に、157.4～158.0センチモルガンの間隔内で染色体3に、104.9～150.3センチモルガンの間隔内で染色体Xにマッピングする。染色体1の152.2～157.4センチモルガンの間隔には、白血病、甲状腺機能低下症及び副腎過形成に関連する遺伝子も含まれる。染色体Xの104.9～150.3センチモルガンの間隔には、X染色体性脳回欠損、平滑筋腫症、アルポート症候群、リンパ球増殖症候群、ブルートン型ガンマグロブリン欠乏血症及び、びまん性被角

血管腫に関連する遺伝子も含まれる。配列番号37は、19.6~23.2センチモルガンの間隔内で染色体11にマッピングする。配列番号39は、109.1~130.8センチモルガンの間隔内で染色体16に、45.5~58.1センチモルガンの間隔内で染色体22にマッピングする。染色体16の109.1~130.8センチモルガンの間隔には、胃癌罹病性に関連する遺伝子も含まれる。配列番号45は、105.2~109.0センチモルガンの間隔内で染色体7に、65.0~90.2センチモルガンの間隔内で染色体17に、50.2~54.9センチモルガンの間隔内で染色体20にマッピングする。染色体7の105.2~109.0センチモルガンの間隔には、骨形成不全症に関連する遺伝子も含まれる。染色体17の65.0~90.2センチモルガンの間隔には、乳癌、肝性白血病、ミエロペルオキシダーゼ欠損症、筋ジストロフィー、周期性麻痺及び胎盤成長に関連する遺伝子も含まれる。配列番号54は、21.3~36.1センチモルガンの間隔内で染色体12にマッピングする。配列番号55は、22.9~39.9センチモルガンの間隔内で染色体1に、30.9~43.0センチモルガンの間隔内で染色体3にマッピングする。

#### 【0102】

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

#### 【0103】

本発明には、CDIFFをコードするポリヌクレオチドも含まれる。一実施例では、本発明には、CDIFFをコードする配列番号29乃至56を含む群から選択された配列を有するポリヌクレオチド配列が含まれている。配列表に示したような配列番号29乃至56のポリヌクレオチド配列は、配列表に示されているように等価RNA配列と同等の価値を有しているが、窒素塩基チミンの出現はウラシルに置換され、糖のバックボーンはデオキシリボースではなくシリボースから構成されている。

#### 【0104】

本発明には、CDIFFをコードするポリヌクレオチド配列の変異配列も含まれる。具体的には、そのようなポリヌクレオチド配列の変異配列は、CDIFFをコードするポリヌクレオチド配列と少なくとも約80%、或いは少なくとも約90%、または少なくとも約95%もの一致率を有する。本発明の或る実施態様では、配列番号29乃至56からなる群から選択されたアミノ酸配列と少なくとも約70%、或いは少なくとも約85%、または少なくとも約95%もの一致率を有するような配列番号29乃至56からなる群から選択された配列を有するポリヌクレオチド配列の変異配列を含む。上記の任意のポリヌクレオチドの変異体は、CDIFFの機能的若しくは構造的特徴を少なくとも1つ有するアミノ酸配列をコードし得る。

#### 【0105】

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

#### 【0106】

CDIFF及びその変異体をコードするヌクレオチド配列は通常、好適に選択されたストリンジェントな条件下で天然のCDIFFのヌクレオチド配列とハイブリダイズ可能であるが、CDIFFまたはその誘導体であって実質上異なるコドンの使用方法があるもの、例えば天然に存在しないコドンの封入があるものをコードするヌクレオチド配列を作り出すことは有益であろう。宿主が特定のコドンを利用する頻度に基づいて、特定の真核又は原核宿主に発生するペプチドの発現率を高めるようにコドンを選択することが可能である。コードされたアミノ酸配列を変えることなくCDIFF及びその誘導体をコードするヌクレオチド配列を実質上変更する別の理由には、天然の配列から作製される転写物より好ましい、例えば半減期が長

いなどの特性を有するRNA転写物の作製がある。

【0107】

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

【0108】

更に本発明には、種々のストリンジェントな条件下で、請求項に記載のポリヌクレオチド配列、特に配列番号29乃至56で示される配列及びそれらの断片にハイブリダイズ可能なポリヌクレオチド配列も含まれる (Wahl, G.M. and S.L. Berger (1987) *Methods Enzymol.* 152:399-407、Kimmel, A.R. (1987) *Methods Enzymol.* 152:507-511.等を参照)。アニーリング条件及び洗浄条件を含めたハイブリダイゼーション条件は、「定義」の項に記載されている。

【0109】

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

でよく知られている種々のアルゴリズムを用いて分析する。(Ausubel, F.M. (1997) *Short Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, New York NY, unit 7.7、Meyers, R.A. (1995) *Molecular Biology and Biotechnology*, Wiley VCH, New York NY, pp. 856-853.等を参照)。

#### 【0110】

CDIFFをコードする核酸配列を、部分的ヌクレオチド配列を利用し且つ当分野でよく知られているPCR法をベースにした種々の方法を用いて伸長させ、プロモーター及び調節要素等の上流配列を検出することができる。例えば、使用し得る方法の1つである制限部位PCR法は、ユニバーサルプライマー及びネステッドプライマーを用いてクローニングベクター内のゲノムDNAから未知の配列を増幅する方法である(Sarkar, G. (1993) *PCR Methods Applic 2*:318-322等を参照)。別の方法に逆PCR法があり、これは広範な方向に伸長させたプライマーを用いて環状化した鋳型から未知の配列を増幅する方法である。鋳型は、既知のゲノム遺伝子座及びその周辺の配列からなる制限断片から得る(Triglia, T.ら (1988) *Nucleic Acids Res 16*:8186等を参照)。第3の方法としてキャプチャPCR法があり、これはヒト及び酵母菌人工染色体DNAの既知の配列に隣接するDNA断片をPCR増幅する方法に關与している(Lagerstrom, M.ら (1991) *PCR Methods Applic 1*:111-119等を参照)。この方法では、PCRを行う前に多重制限酵素の消化及び連結反応を用いて未知の配列領域内に組換え二本鎖配列を挿入することが可能である。また、未知の配列を検索するために用い得る別の方法については当分野で知られている。(Parker, J.D.ら (1991) *Nucleic Acids Res. 19*:3055-3060等を参照)。更に、PCR、ネステッドプライマー及びプロモーターファインダーライブラリ(Clontech, Palo Alto CA)を用いてゲノムDNAをウォーキングすることができる。この手順は、ライブラリをスクリーニングする必要がなく、イントロン/エキソン接合部を見つけるのに有用である。全てのPCRベースの方法に対して、市販されているソフトウェア、例えばOLIGO 4.06プライマー分析ソフトウェア(National Biosciences, Plymouth MN)或いは別の好適なプログラムを用いて、長さが約22~30ヌクレオチド、GC含有率が約50%以上、温度約68~72℃で鋳型に対してアニーリングするようにプライマーを設計し得る。

## 【0111】

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

## 【0112】

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

## 【0113】

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

## 【0114】

種々の目的(限定するものではないが遺伝子産物のクローニング、プロセッシング、発現の調節を含む)のために、CDIFFコード化配列を変えるための、当分野で通常知られている方法を用いて、本発明のヌクレオチド配列を組み換えることが可能である。遺伝子断片及び合成オリゴヌクレオチドのランダムなフラグメンテーション及びPCR再アセンブリによるDNAシャッフリングを用い、ヌクレオチ

ド配列を組み換えることが可能である。例えば、オリゴヌクレオチド媒介定方向突然変異誘導を利用して、新規な制限部位の生成、グリコシル化パターンの変更、コドン優先の変更、スプライス変異体の生成等を行う突然変異を導入し得る。

#### 【0115】

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

#### 【0116】

別の実施例によれば、当分野でよく知られている化学的方法を用いて、CDIFFをコードする配列の全部或いは一部を合成し得る (Caruthers, M.H.ら (1980) Nucleic Acids Symp. Ser 7:215-223、Horn, T.ら (1980) Nucleic Acids Symp. Ser. 7:225-232等を参照)。或いは、化学的方法を用いてCDIFFそれ自体またはその断片を合成し得る。例えば、種々の液相または固相技術を用いてペプチド合成を行うことができる (Creighton, T. (1984) Proteins, Structures and Molecular Properties, WH Freeman, New York NY, pp. 55-60、Roberge, J.Y. ら

(1995) Science 269:202-204等を参照)。自動合成はABI 431Aペプチドシンセサイザ (Perkin Elmer) を用いて達成し得る。更にCDIFFのアミノ酸配列またはその任意の一部は、直接合成する間及び/または他のタンパク質から得た配列またはその任意の一部と結合する間に変更し、変異型ポリペプチドを生成し得る。

#### 【0117】

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

#### 【0118】

生物学的に活性なCDIFFを発現させるために、CDIFFをコードするヌクレオチド配列またはその誘導体を好適な発現ベクターに挿入することができる。好適な発現ベクターとは即ち好適な宿主内で挿入されたコーディング配列の転写及び翻訳の調節に必要な要素を含むベクターである。必要な要素には、ベクター及びCDIFFをコードするポリヌクレオチド配列におけるエンハンサー、構成型及び発現誘導型プロモーター、5'及び3'の非翻訳領域などの調節配列がある。このような要素は、長さ及び特異性が様々である。固有開始シグナルを用いて、CDIFFをコードする配列をより効果的に翻訳することが可能もある。このようなシグナルには、ATG開始コドンと、コザック配列などの近傍の配列が含まれる。CDIFFをコードする配列及びその開始コドン、上流の調節配列が好適な発現ベクターに挿入された場合は、更なる転写調節シグナルや翻訳調節シグナルは必要なくなるであろう。しかしながら、コーディング配列或いはその断片のみが挿入された場合は、インフレームのATG開始コドンを含む外来性の翻訳調節シグナルが発現ベクターに含まれるようにすべきである。外来性の翻訳要素及び開始コドンは、様々な天然物及び合成物を起源とし得る。発現の効率は、用いられる特定の宿主細胞系に好適なエンハンサーを包含することによって高めることができる (Scharf, D. (1994) Results Probl. Cell Differ. 20:125-162.等を参照)。

#### 【0119】

当業者によく知られている方法を用いて、CDIFFをコードする配列と、好適な

転写及び翻訳調節要素とを含む発現ベクターを構築し得る。この方法には、in vitro組換えDNA技術、合成技術及びin vivo遺伝子組換え技術がある (Sambrook, J. ら (1989) Molecular Cloning. A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Press, Plainview NYの4, 8, 16-17章、Ausubel, F.M. ら. (1995) Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, New York NYの9, 13, 16章等を参照)。

#### 【0120】

種々の発現ベクター/宿主系を利用して、CDIFFをコードする配列を保持及び発現し得る。限定するものではないがこのような発現ベクター/宿主系には、組換えバクテリオファージ、プラスミドまたはコスミドDNA発現ベクターで形質転換させた細菌や、酵母菌発現ベクターで形質転換させた酵母菌や、ウイルス発現ベクター (例えばバキュロウイルス) に感染した昆虫細胞系や、ウイルス発現ベクター (例えばカリフラワーモザイクウイルスCaMVまたはタバコモザイクウイルスTMV) または細菌発現ベクター (例えばTiまたはpBR322プラスミド) で形質転換させた植物細胞系、動物細胞系などの微生物等がある (前出のSambrook、前出のAusubel、Van Heeke, G. and S.M. Schuster (1989) *J. Biol. Chem.* 264:5503-5509、Bitter, G.A. ら (1987) *Methods Enzymol.* 153:516-544; Scorer, C.A. ら (1994) *Bio/Technology* 12:18 1-184、Engelhard, E.K. ら (1994) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91:3224-3227、Sandig, V. ら (1996) *Hum. Gene Ther.* 7:1937-1945、タカマツ, N. (1987) *EMBOJ.* 6:307-311、Coruzzi, G. ら (1984) *EMBOJ.* 3:1671-1680、Broglie, R. ら (1984) *Science* 224:838-843、Winter, J. ら (1991) *Results Probl. Cell Differ.* 17:85-105、『マグローヒル科学技術年鑑』 (The McGraw Hill Yearbook of Science and Technology) (1992) McGraw Hill New York NY, pp.191-196、Logan, J. and T. Shenk (1984) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81:3655-3659、Harrington, J.J. ら (1997) *Nat. Genet.* 15:345-355等を参照)。レトロウイルス、アデノウイルス、ヘルペスウイルスまたはワクシニアウイルス由来の発現ベクターまたは種々の細菌性プラスミド由来の発現ベクターを用いて、ポリヌクレオチド配列を標的器官、組織または細胞集団へ輸送することができる (Di Nicola, M. ら (1998) *Cancer Gen. Ther.* 5(6)

:350-356、Yu, M. ら (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90(13):6340-6344、Buller, R.M. ら (1985) Nature 317(6040):813-815; McGregor, D.P. ら (1994) Mol. Immunol. 31(3):219-226、Verma, I.M. and N. Somia (1997) Nature 389:239-242等を参照)。本発明は、使用する宿主細胞によって限定されるものではない。

#### 【0121】

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

#### 【0122】

酵母の発現系を使用してCDIFFの産物を生成し得る。因子、アルコールオキシダーゼ、PGHプロモーター等の構成型或いは誘導型のプロモーターを含む多数のベクターが、酵母菌サッカロミセス - セレビジエまたは *Pichia pastoris* に使用可能である。更に、このようなベクターは、発現したタンパク質を分泌或いは細胞内への保持のいずれかに誘導し、安定した増殖のために外来配列の宿主ゲノムへの組込みを可能にする (前出のAusubel (1995)、前出のBitter、前出のScorer等を参照)。

#### 【0123】

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

#### 【0124】

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

#### 【0125】

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

#### 【0126】

長期にわたり哺乳動物系内で組換えタンパク質を産出するためには、株化細胞内でのCDIFFの安定発現が望ましい。例えば、発現ベクターであって複製及び/

または内在性発現因子のウイルス起源を含むものと、同一或いは別のベクター上の選択可能マーカー遺伝子とを用いて、CDIFFをコードする配列を細胞株に形質転換することが可能である。ベクターの導入後、選択培地に移す前に強化培地で約1～2日間細胞を増殖させることができる。選択可能マーカーの目的は選択培地への抵抗性を与えることであり、選択可能マーカーが存在することにより、導入された配列をうまく発現するような細胞の成長及び回収が可能となる。安定的に形質転換された細胞の耐性クローンは、その細胞型に適した組織培養技術を用いて増殖可能である。

#### 【0127】

任意の数の選択系を用いて、形質転換細胞株を回収できる。限定するものではないがこのような選択系には、*tk*<sup>-</sup>単純細胞のために用いられるヘルペスウイルスチミジンキナーゼ遺伝子と、*apr*<sup>-</sup>細胞のために用いられるアデニンホスホリボシルトランスフェラーゼ遺伝子がある(Wigler, M. ら (1977) *Cell* 11:223-232、Lowy, I. ら (1980) *Cell* 22:817-823等を参照)。また、選択の基礎として代謝拮抗物質、抗生物質或いは除草剤への耐性を用いることができる。例えば*dhfr*はメトトレキサートに対する耐性を与え、*neo*はアミノグリコシッドネオマイシン及びG-418に対する耐性を与え、*als*はクロルスルフロンに対する耐性を、*pat*はホスフィノトリシンアセチルトランスフェラーゼに対する耐性を各々与える(Wigler, M. ら (1980) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:3567-3570、Colbere-Garapin, F. ら (1981) *J. Mol. Biol.* 150:1-14 等を参照)。この他の選択可能遺伝子、例えば、代謝のための細胞要求を変える*trpB*及び*hisD*は、文献に記載されている(Hartman, S.C. and R.C. Mulligan (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:8047-8051等を参照)。可視マーカー、例えばアノトシアニン、緑色蛍光タンパク質(GFP; Clontech)、グルクロニダーゼ及びその基質 グルクロニド、またはルシフェラーゼ及びその基質ルシフェリン等を用いてもよい。これらのマーカーを用いて、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(Rhodes, C.A. (1995) *Methods Mol. Biol.* 55:121-131等を参照)。

#### 【0128】

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

#### 【0129】

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

#### 【0130】

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

#### 【0131】

多岐にわたる標識方法及び結合方法が当業者に既知であり、これらの方法は様

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

#### 【0132】

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

#### 【0133】

更に、宿主細胞株の選択は、挿入した配列の発現を調節する能力または発現したタンパク質を所望の形に処理する能力によって行い得る。限定するものではないがこのようなポリペプチドの修飾には、アセチル化、カルボキシル化、グリコシル化、リン酸化、脂質化及びアシル化がある。タンパク質の「プレプロ」または「プロ」形を切断するような翻訳後処理を利用して、タンパク質のターゲティング、折りたたみ及び/または活性を特定することも可能である。翻訳後の活性のための固有の細胞装置及び特徴のある機構を有する種々の宿主細胞（例えばCH

0、HeLa、MDCK、MEK293、WI38等)は、American Type Culture Collection (ATCC, Bethesda, VA) から入手可能であり、外来タンパク質の正しい修飾及び処理を確実にするように選択し得る。

#### 【0134】

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

#### 【0135】

本発明の更に別の実施例では、TNTウサギ網状赤血球可溶化液またはコムギ胚芽抽出系 (Promega) を用いて、放射能標識したCDIFFの合成がin vitroで可能である。これらの系は、T7、T3またはSP6プロモーターと機能的に結合したタンパク質コード配列の転写及び翻訳を結合する。翻訳は、例えば<sup>35</sup>Sメチオニンのよ

うな放射能標識したアミノ酸前駆体の存在下で起こる。

【0136】

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

【0137】

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

【0138】

アッセイは、試験化合物をポリペプチドに単純に試験結合し得る。ここで、結合は、フルオロフォア、放射性同位体、酵素抱合体またはその他の検出可能な標識により検出される。例えば、アッセイは少なくとも1つの試験化合物を溶液中でCDIFFと結合するか固体支持体に固定するかのいずれかのステップ及びCDIFFの化合物への結合を検出するステップを有し得る。或いはアッセイは、標識された競争相手の存在下で試験化合物の結合を検出または測定し得る。更にアッセイは、細胞遊離製剤、化学ライブラリまたは天然の生成混合物を用いて実行することができ、試験化合物は、溶液中で遊離させるか固体支持体に固定し得る。

【0139】

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

#### 【0140】

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

療薬または毒性薬剤を用いて試験し得る。

#### 【0141】

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

#### 【0142】

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

#### 【0143】

##### 治療

CDIFFの領域と細胞分化に關与するタンパク質間には、化学的及び構造的類似性、例えば配列及びモチーフとの關連における類似性が存在する。更にCDIFFの発現は、細胞増殖異常(癌を含む)、生殖及び神経組織障害に密接に關連している。従ってCDIFFは、細胞増殖異常、發達障害及び神経疾患において或る役割を果たすものと考えられる。CDIFFの發現または活性の増大に關連する疾患の治療においては、CDIFFの發現または活性を低下させることが望ましい。また、CDIFFの發現または活性の低下に關連する疾患の治療においては、CDIFFの發現または活性を増大させることが望ましい。

#### 【0144】

従って、或る実施例において、CDIFF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CDIFFまたはその断片や誘導体を投与することが可能である。限定するものではないがこのような疾患の例として細胞増殖異常が含まれ、その中には日光性角化症、動脈硬化症、アテローム性動脈硬化症、滑液包炎、硬変、肝炎、炎症性疾患、混合型結合組織病（MCTD）、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、原発性血小板血症と、腺癌、白血病、リンパ腫、黒色腫、骨髓腫、肉腫、奇形癌を含む癌、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、甲状腺、子宮の癌等が含まれ、また発達障害も含まれ、その中には尿細管性アシドーシス、貧血、クッシング症候群、軟骨形成不全性小人症、デュシェンヌ ベッカー型筋ジストロフィ、癲癇、性腺形成異常、WAGR症候群（ウィルムス腫瘍、無虹彩症、尿生殖器異常及び精神薄弱）、スミス マジェニス症候群（Smith-Magenis syndrome）、脊髄形成異常症候群、遺伝性粘膜上皮異形成、遺伝性角皮症、シャルコー マリー ツース病や神経線維腫症などの遺伝性神経病、甲状腺機能低下症、水頭症、Sydenham舞踏病や脳性小児麻痺などの発作障害、脊髄二分裂、無脳症、頭蓋脊椎披裂、先天性緑内障、白内障、感覚神経性聴力損失が含まれ、また神経疾患も含まれ、その中には癲癇、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、クロイツフェルト ヤコブ病及びGerstmann-Straussler-Scheinker症候群を含むプリオン病と、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、精神遅滞及びその他の中枢神経系の発達障害、脳性麻痺、神経骨格異常症、自律神経系障害、脳神経障害、脊髄疾患、筋ジストロフィ及びその他の神経筋障害、末梢神経系疾患、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、不安性の障害や分裂病性疾患を含む精神病と、季節性障害(SAD)と、静座不能、健忘症、緊張病、糖尿病性ニューロパシー、遅発性ジスキネジア、ジストニー、分裂病性精神障害、帯状疱疹後神経痛、トゥレット病、進行性核上麻痺、皮質基部変性(corticobasal degeneration)及び家族性前頭側頭性健忘症が含まれる。

#### 【0145】

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

#### 【0146】

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

#### 【0147】

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

#### 【0148】

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

#### 【0149】

別の実施例では、CDIFFをコードするポリヌクレオチドの相補体を発現するベクターを患者に投与して、限定するものではないが上記した疾患を含むCDIFFの

発現または活性の増大に関連した疾患を治療または予防することも可能である。

#### 【0150】

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

#### 【0151】

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

#### 【0152】

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

## 【0153】

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

## 【0154】

CDIFFに対するモノクローナル抗体は、抗体分子を産生する任意の技術を用いて、培地内の連続した細胞株によって作製し得る。限定するものではないがこのような技術には、ハイブリドーマ技術、ヒトB細胞ハイブリドーマ技術及びEBV-ハイブリドーマ技術がある（Kohler, G. ら. (1975) Nature 256:495-497、Kozbor, D. ら (1985) J. Immunol. Methods 81:31-42、Cote, R.J. ら (1983) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 80:2026-2030、Cole, S.P. ら (1984) Mol. Cell Biol. 62:109-120等を参照）。

## 【0155】

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

## 【0156】

抗体の産生は、リンパ球集団における *in vivo* 産生の誘導によって、或いは免

疫グロブリンライブラリのスクリーニングまたは文献に開示されているような高特異結合試薬のパネルのスクリーニングによっても行い得る (Orlandi, R. ら (1989) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86: 3833-3837、Winter, G. ら (1991) Nature 349:293-299等を参照)。

#### 【0157】

CDIFFのための特異結合部位を有する抗体断片を産生することもできる。例えば、限定するものではないがこのような断片には、抗体分子のペプシン消化によって作製される $F(ab')_2$ 断片と、 $F(ab')_2$ 断片のジスルフィド架橋を減らすことによって作製されるFab断片とがある。或いは、Fab発現ライブラリを作製することによって、モノクローナルFab断片を所望の特異性と迅速且つ容易に同定することが可能となる (Huse, W.D. ら (1989) Science 256:1275-1281等を参照)。

#### 【0158】

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

#### 【0159】

ラジオイムノアッセイ技術と共に様々な方法、例えばスキャッチャード分析を用いて、CDIFFに対する抗体の親和性を評価し得る。親和性は結合定数 $K_a$ で表す。 $K_a$ は、平衡状態においてCDIFF抗体複合体のモル濃度を遊離抗体と遊離抗原のモル濃度で除した値であると定義する。ポリクローナル抗体は多様なCDIFFエピトープに対する親和性が不均一であり、ポリクローナル抗体試薬のために決定した $K_a$ は、CDIFF抗体の平均親和性または結合活性を表す。モノクローナル抗体は特定のCDIFFエピトープに対して単一特異的であり、モノクローナル抗体試薬のために決定した $K_a$ は、親和性の真の測定値を表す。 $K_a$ 値が約 $10^9 \sim 10^{12}$  L/mo

Iの範囲にあるような高親和性抗体試薬は、CDIFF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。Ka値が約 $10^6 \sim 10^7$  L/molの範囲にあるような低親和性抗体試薬は、CDIFFが抗体から最終的に活性化状態で解離する必要がある免疫精製及び類似の処理に用いるのが好ましい (Catty, D. (1988) Antibodies, Volume I: A Practical Approach, IRL Press, Washington, DC、Liddell, J. E. and Cryer, A. (1991) A Practical Guide to Monoclonal Antibodies, John Wiley & Sons, New York NY)。

#### 【0160】

ポリクローナル抗体試薬の抗体価及び結合活性を更に評価して、或る下流の適用例に対するこのような試薬の品質及び適性を決定することができる。例えば、少なくとも1~2 mg/ml、好ましくは5~10 mg/mlの特異抗体を含むポリクローナル抗体試薬は、CDIFF抗体複合体を沈殿させる必要がある処理において通常用いられる。抗体の特異性、抗体価、結合活性、様々な適用例における抗体の品質や使用に対する指針については、一般に入手可能である (前出のCatty、同Coliganらの文献等を参照)。

#### 【0161】

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

#### 【0162】

治療に用いる場合、アンチセンス配列を好適な標的細胞に導入するのに好適な任意の遺伝子送達系を用いることができる。アンチセンス配列は、転写時に標的タンパク質をコードする細胞配列の少なくとも一部に相補的な配列を発現する発

現プラスミドの形で細胞内に輸送することが可能である (Slater, J.E. ら (1998) *J. Allergy Clin. Immunol.* 102(3):469-475、Scanlon, K.J. ら (1995)9(13):1288-1296.等を参照)。アンチセンス配列はまた、例えばレトロウイルスやアデノ関連ウイルスベクター等のウイルスベクターを用いて細胞内に導入することもできる (Miller, A.D. (1990) *Blood* 76:271、前出のAusubel、Uckert, W. and W. Walther (1994) *Pharmacol. Ther.* 63(3):323-347等を参照)。その他の遺伝輸送機構には、リポソーム系、人工的なウイルスエンベロープ及び当分野で公知のその他の系が含まれる (Rossi, J.J. (1995) *Br. Med. Bull.* 51(1):217-225; Boado, R.J.ら (1998) *J. Pharm. Sci.* 87(11):1308-1315、Morris, M.C. ら (1997) *Nucleic Acids Res.* 25(14):2730-2736 等を参照)。

### 【0163】

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

パク質を発現させることができる。CDIFFの発現若しくは調節に必要な遺伝子の欠損が疾患を発生させる場合、形質導入した細胞の好適な集団からCDIFFを発現することにより、遺伝子欠損に起因する症状の発現を緩和し得る。

#### 【0164】

本発明の更なる実施例では、CDIFFをコードする哺乳動物発現ベクターを作製し、これらのベクターを機械的手段によってCDIFF欠損細胞に導入することによって、CDIFFの欠損による疾患や異常症を治療する。in vivo或いはex vitroの細胞に用いる機械的導入技術には、(i) 個々の細胞内への直接的なDNA微量注射法、(ii) バリスティック金粒子輸送 (ballistic gold particle delivery)、(iii) リポソーム媒介形質移入、(iv) 受容体媒介遺伝子導入、及び(v) DNAトランスポソンの使用 (Morgan, R.A. and W.F. Anderson (1993) Annu. Rev. Biochem. 62:191-217、Ivics, Z. (1997) Cell 91:501-510、Boulay, J-L. and H. Recipon (1998) Curr. Opin. Biotechnol. 9:445-450) がある。

#### 【0165】

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

を用いて、発現させることができる。

【0166】

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

【0167】

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

る。レトロウイルスベクターの増殖、細胞集団（例えばCD4<sup>+</sup> T細胞）の形質導入、及び形質導入した細胞の患者への戻しは、遺伝子治療の分野では当業者に公知の方法であり、多数の文献に記載されている（Ranga, U. ら. (1997) *J. Viro* 1. 71:7020-7029、Bauer, G. ら (1997) *Blood* 89:2259-2267、Bonyhadi, M.L. (1997) *J. Virol.* 71:4707-4716、Ranga, U. ら (1998) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 95:1201-1206、Su, L. (1997) *Blood* 89:2283-2290）。

#### 【0168】

別の実施例では、アデノウイルス系遺伝子治療の輸送系を用いて、CDIFFの発現に関連する1若しくは複数の遺伝子異常を有するような細胞にCDIFFをコードするポリヌクレオチドを輸送する。アデノウイルス系ベクターの作製及びパッケージングについては、当業者に公知である。複製欠損型アデノウイルスベクターは、免疫調節タンパク質をコードする遺伝子を脾臓の無損傷の脾島内に導入するために可変性であることが証明された（Csete, M.E. ら. (1995) *Transplantation* 27:263-268）。使用できる可能性のあるアデノウイルスベクターは、Armentanoに付与された米国特許第5,707,618号（"Adenovirus vectors for gene therapy"）に記載されており、引用することをもって本明細書の一部とする。アデノウイルスベクターについては、Antinozzi, P.A. ら (1999) *Annu. Rev. Nutr.* 19:511-544 及び Verma, I.M. and N. Somia (1997) *Nature* 18:389:239-242も参照されたい。両文献は、引用することをもって本明細書の一部とする。

#### 【0169】

更に別の実施例では、ヘルペス系遺伝子治療の輸送系を用いて、CDIFFの発現に関連する1若しくは数個の遺伝子異常を有する標的細胞にCDIFFをコードするポリヌクレオチドを輸送する。HSVが向性を有するような中枢神経系の細胞にCDIFFを導入する際には、単純ヘルペスウイルス（HSV）系のベクターの使用は特に役立つ。ヘルペス系ベクターの作製及びパッケージングは、当業者に公知である。複製適格性単純ヘルペスウイルス（HSV）1型系のベクターは、レポーター遺伝子を霊長類の眼に輸送するために用いられてきた（Liu, X. ら (1999) *Exp. Eye Res.* 169:385-395）。HSV-1ウイルスベクターの作製についても、DeLucaに付与された米国特許第5,804,413号（"Herpes simplex virus strains for gene tran

sfer" ) に開示されており、該特許の引用をもって本明細書の一部とする。米国特許第5,804,413号には、ヒト遺伝子治療を含む目的のために好適なプロモーターの制御下において細胞に導入される少なくとも1つの内在性遺伝子を有するゲノムを含む組換えHSV d92についての記載がある。上記特許はまた、ICP4、ICP27及びICP22のために除去される組換えHSV系統の作製及び使用について開示している。HSVベクターについては、Goins, W.F. ら (1999) *J. Virol.* 73:519-532 及び Xu, H. ら (1994) *Dev. Biol.* 163:152-161も参照されたい。両文献は、引用をもって本明細書の一部とする。クローン化ヘルペスウイルス配列の操作、巨大ヘルペスウイルスのゲノムの異なった部分を含む多数のプラスミドを形質移入した後の組換えウイルスの継代、ヘルペスウイルスの成長及び増殖、並びにヘルペスウイルスの細胞への感染は、当業者に公知の技術である。

#### 【0170】

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

導入が可能になる。或る集団におけるサブセットの細胞の特定形質導入は、形質導入前に細胞の選別を必要とし得る。アルファウイルスの感染性cDNAクローンの処置方法、アルファウイルスのcDNA及びRNAの形質移入方法及びアルファウイルスの感染方法は、当業者に公知である。

#### 【0171】

例えば開始部位から数えて約 - 10 と約 + 10 の間にある転写開始部位に由来するオリゴヌクレオチドを用いて遺伝子発現を阻害することも可能である。同様に、三重らせん塩基対の形成方法を用いて阻害が可能となる。三重らせん塩基対形成は、ポリメラーゼ、転写因子または調節分子の結合のために十分に開くような二重らせんの能力を阻害するので、三重らせん塩基対形成は有用である。三重らせんDNAを用いる最近の治療の進歩については文献に記載がある (Gee, J.E. ら (1994) in: Huber, B.E. and B.I. Carr, *Molecular and Immunologic Approaches*, Futura Publishing Co., Mt. Kisco, NY, pp.163-177等を参照)。相補配列またはアンチセンス分子もまた、転写物がリボソームに結合するのを阻止することによってmRNAの翻訳を阻止するべく設計することができる。

#### 【0172】

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

#### 【0173】

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

とができる。

【0174】

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

【0175】

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

【0176】

本発明の追加実施例には、CDIFFをコードするポリヌクレオチドの変異発現に有効な化合物をスクリーニングする方法が含まれる。限定するものではないが特異ポリヌクレオチドの変異発現に有効な化合物には、オリゴヌクレオチド、アンチセンスオリゴヌクレオチド、三重らせん形成オリゴヌクレオチド、転写因子その他のポリペプチド転写制御因子、及び特異ポリヌクレオチド配列と相互作用し得る非高分子化学的実体がある。有効な化合物は、ポリヌクレオチド発現のインヒビターまたはエンハンサーのいずれかとして作用することによりポリヌクレオ

チド発現を変異し得る。従って、CDIFFの発現または活性の増加に関連する疾病の治療においては、CDIFFをコードするポリヌクレオチドの発現を特異的に阻害する化合物が治療上有益であり、CDIFFの発現または活性の低下に関連する疾病の治療においては、CDIFFをコードするポリヌクレオチドの発現を特異的に促進する化合物が治療上有益であり得る。

#### 【0177】

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

の特定の実施例は、特異的ポリヌクレオチド配列に対するアンチセンス活性のためのオリゴヌクレオチド（デオキシリボヌクレオチド、リボヌクレオチド、ペプチド核酸、修飾オリゴヌクレオチド）の組合せライブラリをスクリーニングすることに関与している（Bruce, T.W. ら（1997）の米国特許第5,686,242号、Bruce, T.W. ら（2000）の米国特許第6,022,691号）。

【0178】

ベクターを細胞または組織に導入する多数の方法が利用可能であり、in vivo、in vitro及びex vivoの使用に対して同程度に適している。ex vivo治療の場合、ベクターを患者から採取した肝細胞内に導入し、クローニング増殖して同一患者に自家移植で戻すことができる。トランスフェクション、リボソーム注入またはポリカチオンアミノポリマーによる輸送は、当分野でよく知られている方法を用いて実行することができる（Goldman, C.K. ら（1997）Nat. Biotechnol. 15: 462-466.等を参照）。

【0179】

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

【0180】

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

【0181】

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

【0182】

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

#### 【0183】

本発明での使用に適した成分には、所定の目的を達成するために必要なだけの量の活性成分を含有する成分が含まれる。有効投与量の決定は、当業者の能力の範囲内で行う。

#### 【0184】

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

#### 【0185】

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

#### 【0186】

治療上の有効投与量は、症状や容態を回復させるような活性分量を参考にする。そのような活性成分の例としては、CDIFFまたはその断片、CDIFFの抗体、CD

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

#### 【0187】

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

#### 【0188】

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

#### 【0189】

##### 診断

別の実施例では、CDIFFの発現によって特徴付けられる疾患の診断のために、或いはCDIFFやCDIFFのアゴニスト、アンタゴニストまたは阻害剤で治療を受けて

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

#### 【0190】

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

#### 【0191】

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

#### 【0192】

一実施形態では、CDIFFをコードする核酸配列を同定するために、CDIFFまたは密接に関連している分子をコードする、ゲノム配列を含むポリヌクレオチド配列を検出可能なPCRプローブとのハイブリダイゼーションを用いることができる。

プローブが、5'調節領域のような高特異領域を有するにせよ、保存されたモチーフのような低特異領域を有するにせよ、CDIFF、突然変異体または関連配列をコードする天然の配列しか同定しないのかどうかは、プローブの特異性及びハイブリダイゼーション或いは増幅のストリンジェンシーが決定することになる。

【0193】

プローブは、関連する配列の検出にも用いることができ、その配列はCDIFFをコードする任意の配列と少なくとも50%の相同性をも有し得る。本発明のハイブリダイゼーションプローブはDNAまたはRNAとすることができ、配列番号29乃至56の配列、或いはCDIFF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。

【0194】

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

【0195】

CDIFFをコードするポリヌクレオチド配列は、CDIFFの発現に係る疾患の診断の為に用い得る。限定するものではないがこのような疾患の例として限定するものではないがこのような疾患の例として細胞増殖異常が含まれ、その中には日光性角化症、動脈硬化症、アテローム性動脈硬化症、滑液包炎、硬変、肝炎、炎症性疾患、混合型結合組織病(MCTD)、骨髄線維症、発作性夜間ヘモグロビン尿症、真性多血症、乾癬、原発性血小板血症と、腺癌、白血病、リンパ腫、黒色腫、骨髄腫、肉腫、奇形癌を含む癌、具体的には副腎、膀胱、骨、骨髄、脳、乳房

、頸部、胆嚢、神経節、消化管、心臓、腎臓、肝臓、肺、筋肉、卵巣、膵臓、副甲状腺、陰茎、前立腺、唾液腺、皮膚、脾臓、精巣、胸腺、甲状腺、子宮の癌等が含まれ、また発達障害も含まれ、その中には尿細管性アシドーシス、貧血、クッシング症候群、軟骨形成不全性小人症、デュシェンヌ ベッカー型筋ジストロフィ、癲癇、性腺形成異常、WAGR症候群（ウィルムス腫瘍、無虹彩症、尿生殖器異常及び精神薄弱）、スミス マジェニス症候群（Smith-Magenis syndrome）、脊髄形成異常症候群、遺伝性粘膜上皮異形成、遺伝性角皮症、シャルコー マリエ ツース病や神経線維腫症などの遺伝性神経病、甲状腺機能低下症、水頭症、Sydenham舞踏病や脳性小児麻痺などの発作障害、脊髄二分裂、無脳症、頭蓋脊椎披裂、先天性緑内障、白内障、感覚神経性聴力損失が含まれ、また神経疾患も含まれ、その中には癲癇、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、クロイツフェルト ヤコブ病及びGerstmann-Straussler-Scheinker症候群を含むプリオン病と、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、精神遅滞及びその他の中枢神経系の発達障害、脳性麻痺、神経骨格異常症、自律神経系障害、脳神経障害、脊髄疾患、筋ジストロフィ及びその他の神経筋障害、末梢神経系疾患、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、不安性の障害や分裂病性疾患を含む精神病と、季節性障害（SAD）と、静座不能、健忘症、緊張病、糖尿病性ニューロパシー、遅発性ジスキネジア、ジストニー、分裂病性精神障害、帯状疱疹後神経痛、トゥレット病、進行性核上麻痺、皮質基部変性（corticobasal degeneration）及び家族性前頭側頭性健忘症が含まれる。CDIFFをコードするポリヌクレオチド配列は、サザン法、ノーザン法、ドットプロット法やその他の膜ベースの技術と、PCR法と、ディップスティック

ク (dipstick)、ピン及びマルチフォーマットELISA様アッセイと、変異CDIFFの発現を検出するために患者から採取した体液または組織を利用するマイクロアレイとにおいて使用し得る。このような定性方法または定量方法は、当分野で公知である。

【0196】

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

【0197】

CDIFFの発現に関連する疾患の診断基準を提供するために、発現のための正常あるいは標準概要を確立する。これは、ハイブリダイゼーション或いは増幅に好適な条件下で、動物或いはヒトの正常な対象から抽出した体液或いは細胞を、CDIFFをコードする配列またはその断片と結合させることにより達成され得る。実質的に精製されたポリヌクレオチドを既知量用いて行った実験から得た値を正常な対象から得た値と比較することにより、標準ハイブリダイゼーションを定量することができる。このようにして得た標準値は、疾患の徴候を示す患者から得たサンプルから得た値と比較することができる。標準値からの偏差を用いて疾患の存在を証明する。

【0198】

疾患の存在が証明されて治療プロトコルが開始されると、患者の発現レベルが正常な被検者に観察されるレベルに近づき始めたかどうかを測定するため、ハイブリダイゼーションアッセイを通常ベースで繰り返し得る。連続アッセイから得

られた結果を用いて、数日から数ヶ月の期間にわたる治療の効果を示し得る。

【0199】

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

【0200】

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

【0201】

或る態様において、CDIFFをコードするポリヌクレオチド配列由来のオリゴヌクレオチドプライマーを用いて一塩基多型（SNP）を検出し得る。SNPは、多くの場合にヒトの先天性または後天性遺伝病の原因となるような置換、挿入及び欠失である。限定するものではないがSNPの検出方法には、制限酵素切断法（SSCP）及び蛍光SSCP（fSSCP）がある。SSCPでは、CDIFFをコードするポリヌクレオチド配列由来のオリゴヌクレオチドプライマーを用いて、ポリメラーゼ連鎖反応法（PCR）を用いたDNAの増幅を行う。DNAは例えば、病変組織または正常組織、生検サンプル、体液その他に由来し得る。DNA内のSNPは、一本鎖形状のPCR生成物の2次及び3次構造に差異を生じさせる。差異は非変性ゲル中でのゲル電気泳動法を用いて検出可能である。fSSCPでは、オリゴヌクレオチドプライマーを蛍光性に標識する。それによってDNAシーケンシング機などの高処理機器でアンプリマー（amplicon）の検出が可能になる。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、一般的なコンセンサス配列に配列されるような個々の重畳するDNA断片の配列を比較することにより、多型を同定し得る。これらのコンピュータベースの方法は、DNAの実験室での調整及び統計モデル及びDNA配列クロマトグラムの自動分析を用いたシーケンシングのエラーに起因する配列の変異をフィルタリングして除去する。別の態様では、例えば高処理MASSARRAYシステム(Sequenom, Inc., San Diego CA)を用いた質量分析によりSNPを検出し、特徴付ける。

#### 【0202】

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

#### 【0203】

更に別の実施例では、本明細書に記載した任意のポリヌクレオチド配列由来のオリゴヌクレオチドまたはより長い断片を、マイクロアレイにおける標的として用いることができる。多数の遺伝子の関連発現レベルを同時にモニターする転写イメージング技術にマイクロアレイを用いることが可能である。これについては、米国特許第5,840,484号のSeilhamer, J.J. らの"Comparative Gene Transcript Analysis"に記載されており、この引用を以って本明細書の一部となす。マイクロアレイはまた、遺伝変異体、突然変異及び多型の同定に用いることができる。この情報を用いることで、遺伝子機能を決定し、疾患の遺伝的根拠を理解し、疾患を診断し、遺伝子発現の機能としての疾病の進行/後退をモニターし、疾病治療における薬剤の活性を開発及びモニターすることができる。特に、患者にとって最もふさわしく、有効的な治療法を選択するために、この情報を用いて患者の薬理ゲノムプロファイルを開発することができる。例えば、患者の薬理ゲノムプロファイルに基づき、患者に対して高度に有効的で副作用を殆ど示さない治療

薬を選択し得る。

【0204】

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

【0205】

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

【0206】

転写イメージは、組織、株化細胞、生検または生物学的サンプルから単離した転写物を用いて生成し得る。転写イメージは、組織または生検サンプルの場合には *in vivo* で、株化細胞の場合には *in vitro* で遺伝子発現を反映し得る。

【0207】

本発明のポリヌクレオチドの発現プロフィールを作成するような転写イメージは、工業的及び天然の環境化合物の毒性試験のみならず *in vitro* モデルシステム及び医薬品の前臨床評価と併せて用い得る。全ての化合物は、しばしば分子フィンガープリントまたは毒物サインと名付けられるような、作用及び毒性のメカニズムを示す特性遺伝子発現パターンを誘導する (Nuwaysir, E.F. ら (1999) Mol

. Carcinog. 24:153-159; Steiner, S. and N.L. Anderson (2000) Toxicol. Lett. 112-113:467-471、特別に引用を以って本明細書の一部となす)。試験化合物が、既知の毒性を有する化合物のサインと類似のサインを有しているのであれば、毒性の特性を共有している可能性がある。これらのフィンガープリントまたはサインは、複数の遺伝子及び遺伝子ファミリーからの発現情報が含まれている場合には、最も有益且つ洗練されたものである。理想的には、発現をゲノム全体で測定することにより、最高品質のサインが与えられる。任意の試験化合物により発現が変異された遺伝子であっても、これらの遺伝子の発現レベルを用いて発現データの残りを規準化し得るので、同様に重要である。規準化手法は、異なる化合物で処理した後で発現データを比較するのに役立つ。毒物サインのエレメントに対する遺伝子機能の割当は毒性メカニズムの解釈に役立つが、毒性の予測を導くサインを統計学的に一致させるために遺伝子機能の知識は必ずしも必要ではない(例えば米国環境健康科学研究所(National Institute of Environmental Health Sciences)から2000年2月29日に発行され、<http://www.niehs.nih.gov/oc/news/toxchip.htm>で利用可能なPress Release 00-02を参照)。従って、毒物サインを用いた毒物学的スクリーニングにおいては、発現された遺伝子配列を全て含めることは重要且つ望ましいことである。

#### 【0208】

一実施例では、試験化合物内で核酸を含有する生物学的サンプルを処理することにより、試験化合物の毒性を算定する。処理生物学的サンプル中で発現されたを、本発明のポリヌクレオチドに特異的な1若しくは数個のプロープにハイブリダイズし、それによって本発明のポリヌクレオチドに対応する転写レベルを定量し得る。処理生物学的サンプルにおける転写レベルを非処理の生物学的サンプルのレベルと比較する。両サンプルの転写レベルの差は、処理サンプル中において試験化合物により引き起こされる毒性反応を示す。

#### 【0209】

別の実施例は、組織または細胞タイプのプロテオームを分析するための本発明のポリペプチド配列の使用に関連する。プロテオームの語は、特定の組織または細胞タイプにおけるタンパク質発現の全体パターンを指す。プロテオームの各々

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

#### 【0210】

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

合の量を検出し得る。

【0211】

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

【0212】

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

【0213】

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

【0214】

マイクロアレイは、当分野でよく知られている方法を用いて調製し、使用し、

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

#### 【0215】

本発明の別の実施例では、天然のゲノム配列をマッピングする際に有効なハイブリダイゼーションプローブを産出するため、CDIFFをコードする核酸配列を用いることが可能である。コード配列または非コード配列のいずれかを用いることができ、或る例では、コード配列全体で非コード配列が好ましい。例えば、多重遺伝子ファミリーのメンバー内でのコード配列の保存により、染色体マッピング中に望ましくないクロスハイブリダイゼーションが生じる可能性がある。核酸配列は、特定の染色体、染色体の特定領域または人工形成の染色体、例えば、ヒト人工染色体 (HAC)、酵母人工染色体 (YAC)、細菌人工染色体 (BAC)、細菌P1産物、或いは単一染色体cDNAライブラリに対してマッピングされる (Harrington, J.J. ら (1997) Nat Genet. 15:345-355、Price, C.M. (1993) Blood Rev. 7:127-134、Trask, B.J. (1991) Trends Genet. 7:149-154等を参照)。一度マッピングされた本発明の核酸配列は、例えば病状の遺伝を特定の染色体領域の遺伝または制限断片長多型 (RFLP) と関連させるような遺伝子連鎖地図を発生させるのに用い得る (Lander, E. S. and D. Botstein (1986) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 83: 7353-7357等を参照)。

#### 【0216】

蛍光原位置ハイブリッド形成法 (FISH) は、他の物理的及び遺伝地図データと相関し得る (前出のHeinz-Ulrich, ら (1995) in Meyers, pp. 965-968.等を参照)。遺伝地図データの例は、種々の科学雑誌あるいはOnline Mendelian Inheritance in Man (OMIM) のウェブサイトに見ることができる。物理的染色体地図

上のCDIFFをコードする遺伝子の位置と特定の疾患との相関性或いは特定の疾患に対する素因は、その疾患に関係するDNAの領域を画定するのに役立つものであり、従って更に位置クローニングする試みとなり得る。

#### 【0217】

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

#### 【0218】

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

#### 【0219】

別の薬剤スクリーニング方法は、目的のタンパク質に対して好適な結合親和性を有する化合物を高い処理能力でスクリーニングするために用いられる (Geysen, らの (1984) PCT出願第W084/03564号等を参照)。この方法においては、多数の異なる小さな試験用化合物を固体基質上で合成する。試験用化合物は、CDIFF或いはその断片と反応させ、洗浄する。次に、当分野でよく知られている方法で、

結合したCDIFFを検出する。精製したCDIFFはまた、上記した薬剤のスクリーニング技術において用いるプレート上で直接コーティングすることもできる。別の実施例では、非中和抗体を用いてペプチドを捕捉し、ペプチドを固体支持物に固定することもできる。

#### 【0220】

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

#### 【0221】

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

#### 【0222】

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

#### 【0223】

本明細書において開示した全ての特許、特許出願及び刊行物は、言及することをもって本明細書の一部となす。

#### 【0224】

（実施例）

##### 1 cDNAライブラリの作製

RNAは、Clontech社から購入し、或いは表4に列記した組織から単離した。ホモジナイズしてグアニジニウムイソチオシアネート溶液に溶解した組織もあり、また、ホモジナイズしてフェノールまたは好適な変性剤の混合液に溶解した組織もある。変性剤の混合液は、例えばフェノールとグアニジニウムイソチオシアネートの単相溶液であるTRIZOL (Life Technologies) 等である。結果として得ら

れた溶解物は、塩化セシウムにおいて遠心分離するかクロロホルムで抽出した。イソプロパノールか、酢酸ナトリウムとエタノールか、いずれか一方、或いは別の方法を用いて、溶解物からRNAを沈殿させた。

#### 【0225】

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

#### 【0226】

場合によってはStratagene社にRNAを提供し、対応するcDNAライブラリを同社が作製することもあった。そうでない場合は、当分野で公知の推奨方法または類似の方法を用いて、UNIZAPベクターシステム (Stratagene) またはSUPERSCRIPトプラスミドシステム (Life Technologies) を用いてcDNAを合成し、cDNAライブラリを作製した (前出のAusubel, 1997, unit 5.1-6.6等を参照)。逆転写は、オリゴd(T)またはランダムプライマーを用いて開始した。合成オリゴヌクレオチドアダプターを二本鎖cDNAに連結反応させ、好適な制限酵素でcDNAを消化した。殆どのライブラリに対して、cDNAのサイズ (300 ~ 1000 bp) 選択は、SEPHACRYL S1000、SEPHAROSE CL2BまたはSEPHAROSE CL4Bカラムクロマトグラフィー (Amersham Pharmacia Biotech)、或いは調製用アガロースゲル電気泳動法を用いて行った。cDNAは、好適なプラスミドのポリリンカーの適合性制限酵素部位に連結反応させた。好適なプラスミドは、例えばPBLUESCRIPトプラスミド (Stratagene)、pSPORT1プラスミド (Life Technologies) またはpINCY (Incyte Pharmaceuticals, Palo Alto CA) 等である。組換えプラスミドは、Stratagene社のXL1-Blue、XL1-BlueMRFまたはSOLR、或いはLife Technologies社のDH5、DH10BまたはELECTROMAX DH10Bを含むコンピテント大腸菌細胞に形質転換した。

#### 【0227】

### 2 cDNAクローンの単離

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

#### 【0228】

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

#### 【0229】

### 3 シークエンシング及び分析

実施例2で説明したようにして回収したIncyte cDNAは、以下のように配列決定した。cDNAのシーケンス反応は、標準的方法或いは高処理装置、例えばABI CATALYST 800 サーマルサイクラー (PE Biosystems) またはPTC-200 サーマルサイクラー (MJ Research) をHYDRAマイクロディスペンサー (Robbins Scientific) またはMICROLAB 2200 (Hamilton) 液体転移システムと併用して処理した。cDNAのシーケンス反応は、Amersham Pharmacia Biotech社が提供する試薬またはABIシーケンスキット、例えばABI PRISM BIGDYE Terminator cycle sequencing ready reaction kit (PE Biosystems) に与えられた試薬を用いて準備した。cDNAのシーケンス反応の電気泳動的分離及び標識したポリヌクレオチドの検出には、MEGABACE 1000 DNAシーケンスシステム (Molecular Dynamics) が、標準ABIプロトコル及び塩基対呼び出しソフトウェアを用いるABI PRISM 373

または377シーケンシングシステム (PE Biosystems) か、或いはその他の当分野でよく知られている配列解析システムを用いた。cDNA配列内のリーディングフレームは、標準的方法 (前出のAusubel, 1997, unit 7.7に概説) を用いて決定した。幾つかのcDNA配列を選択して、実施例6で開示した方法を用いて配列を伸長させた。

#### 【0230】

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

#### 【0231】

ポリヌクレオチド配列は、ベクター、リンカー及びポリA配列を除去することにより、またあいまいな塩基対をマスクすることによって有効性を確認した。その際、BLAST、動的プログラミング、及び隣接ジヌクレオチド頻度分析に基づくアルゴリズム及びプログラムを用いた。次に、BLAST、FASTA及びBLIMPSに基づくプログラムを用いて、プログラム中の注釈を得るべく、公共のデータベース、例えばGenBankの霊長類及びげっ歯類、哺乳動物、脊椎動物、真核生物のデータベースと、BLOCKS、PRINTS、DOMO、PRODOM及びPFAMの選択に対する配列を問い合わせた。配列はPhred、Phrap及びConsedに基づくプログラムを用いて完全長のポ

リヌクレオチド配列に構築し、GenMark、BLAST及びFASTAに基づくプログラムを用いてオープンリーディングフレームに対してスクリーニングした。対応する完全長アミノ酸配列を誘導するべく完全長ポリヌクレオチド配列を翻訳し、その後、GenBankデータベース(上記)、SwissProt、BLOCKS、PRINTS、DOMO、PRODOM及びProsite等のデータベース、PFAM等の隠れマルコフモデル(HMM)ベースのタンパク質ファミリーデータベースに対する問合せによって完全長配列を分析した。HMMは、遺伝子ファミリーのコンセンサス1次構造を解析する確率的アプローチである(Eddy, S.R. (1996) *Curr. Opin. Struct. Biol.* 6:361-365等を参照)。

#### 【0232】

完全長ポリヌクレオチド及びアミノ酸配列の構築及び分析に用いる上記のプログラムは、配列番号29乃至56からのポリヌクレオチド配列の断片を同定するためにも使用できる。ハイブリダイゼーション及び増幅に有用な約20~約4000のヌクレオチドの断片は、上記「発明」の項で説明した。

#### 【0233】

#### 4 ポリヌクレオチド発現の分析

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

#### 【0234】

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

#### 【0235】

#### 【数1】

(BLAST スコア×配列一致率)

$5 \times (\text{長さ(配列1)}, \text{長さ(配列2)})$ の最小値

【0236】

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

【0237】

ノーザン分析の結果は、CDIFFをコードする転写物が作出されたライブラリの分布パーセンテージとして報告される。分析は、器官/組織及び疾患によるcDNAライブラリのカテゴリー分類に関与している。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、生殖及び泌尿器がある。疾患/病状のカテゴリーには、癌、炎症、外傷、細胞増殖、神経、貯留(pooled)が含まれる。カテゴリー毎に目的の配列を発現するライブラリ数を数え、それを全カテゴリーのライブラリ数で除した。組織特異発現及び疾患/病状特異発現のパーセント値を表3に示す。

【0238】

## 5 ポリヌクレオチドをコードするCDIFFの染色体マッピング

配列番号29乃至56を配列するために用いた配列は、BLAST及びその他のスミス・ウォーターマンアルゴリズムのインプリメンテーションを用いて、Incyte LIFESEQのデータベース及びパブリックドメインのデータベースから得た配列と比較した。配列番号29乃至56に適合するデータベースから得た配列は、Phrap(表5)等のアセンブリアルゴリズムを用いて隣接する配列及びオーバーラップする配列のクラスタに配列した。スタンフォード・ヒトゲノムセンター(SHGC)、ホワイトヘッド・ゲノム研究所(WIGR)、Genethon等の公的な情報源から入手可能な放射線ハイブリッド及び遺伝地図データを用いて、クラスタ化された配列が予めマッピングされたかを測定した。マッピングされた配列がクラスタに含まれている結果、個々の配列番号を含めてそのクラスタの全配列が地図上の位置に割り当てられた。

### 【0239】

地図上の位置は、範囲、間隔またはヒト染色体により表される。センチモルガン単位の間隔の地図上の位置は、染色体のpアームの末端に関連して測定する(センチモルガン(cM)は、染色体マーカー間の組換え頻度に基づく計測単位である。平均すると、1cMはヒト中のDNAの1メガベース(Mb)にほぼ等しい。尤も、この値は組換えのホットスポット及びコールドスポットによって広範囲に変化し得る)。cM距離は、配列が各クラスタ内に含まれるような放射線ハイブリッドマーカーに対して境界を提供するようなGenethonによってマッピングされた遺伝マーカーに基づく。ヒトゲノム地図及びその他の公衆に利用可能な資源、例えばNCBIの「GeneMap'99」ウェブサイト(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genemap/>)を用いて、以前に同定した病変遺伝地図が上記の間隔内またはその近傍にあるかどうかを決定することができる。

### 【0240】

このようにして、配列番号32は、152.2~157.4センチモルガンの間隔内で染色体1に、157.4~158.0センチモルガンの間隔内で染色体3に、104.9~150.3センチモルガンの間隔内で染色体Xにマッピングする。染色体1の152.2~157.4センチモルガンの間隔には、白血病、甲状腺機

能低下症及び副腎過形成に関連する遺伝子も含まれる。染色体Xの104.9～150.3センチモルガンの間隔には、X染色体性脳回欠損、平滑筋腫症、アルポート症候群、リンパ球増殖症候群、ブルートン型ガンマグロブリン欠乏血症及び、びまん性被角血管腫に関連する遺伝子も含まれる。配列番号37は、19.6～23.2センチモルガンの間隔内で染色体11にマッピングする。配列番号39は、109.1～130.8センチモルガンの間隔内で染色体16に、45.5～58.1センチモルガンの間隔内で染色体22にマッピングする。染色体16の109.1～130.8センチモルガンの間隔には、胃癌羅病性に関連する遺伝子も含まれる。配列番号45は、105.2～109.0センチモルガンの間隔内で染色体7に、65.0～90.2センチモルガンの間隔内で染色体17に、50.2～54.9センチモルガンの間隔内で染色体20にマッピングする。染色体7の105.2～109.0センチモルガンの間隔には、骨形成不全症に関連する遺伝子も含まれる。染色体17の65.0～90.2センチモルガンの間隔には、乳癌、肝性白血病、ミエロペルオキシダーゼ欠損症、筋ジストロフィー、周期性麻痺及び胎盤成長に関連する遺伝子も含まれる。配列番号54は、21.3～36.1センチモルガンの間隔内で染色体12にマッピングする。配列番号55は、22.9～39.9センチモルガンの間隔内で染色体1に、30.9～43.0センチモルガンの間隔内で染色体3にマッピングする。

#### 【0241】

配列番号32、配列番号39、配列番号45及び配列番号55に対して2つ以上の遺伝地図位置が報告されており、異なる地図位置を有する配列が1つのクラスターにアセンブルされたことを示している。この状態は、例えば強度の類似性を有するが完全には一致しない配列が1つのクラスターにアセンブルされると発生する。

#### 【0242】

##### 6 ポリヌクレオチドをコードするCDIFFの伸長

配列番号29乃至56の完全長の核酸配列は、完全長分子の適切な断片から設計したオリゴヌクレオチドプライマーを用いて該断片を伸長させて生成した。一方のプライマーは既知の断片の5'伸長を開始するべく合成し、他方のプライマ

ーは既知の断片の3'伸長を開始するべく合成した。開始プライマーの設計は、長さが約22~30ヌクレオチド、GC含有率が50%以上となり、約68~72の温度で標的配列にアニーリングするように、OLIGO 4.06ソフトウェア (National Biosciences) 或いは別の適切なプログラムを用いて、cDNAから設計した。ヘアピン構造及びプライマー-プライマー二量体を生ずるようなヌクレオチドの伸長は全て回避した。

#### 【0243】

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

#### 【0244】

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

ステップ1 : 94 で3分間

ステップ2 : 94 で15秒

ステップ3 : 60 で1分間

ステップ4 : 68 で2分間

ステップ5 : ステップ2、3、4を20回繰り返す

ステップ6 : 68 で5分間

ステップ7 : 4 で保存

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

ステップ1 : 94 で3分間

ステップ2 : 94 で15秒

ステップ3 : 57 で1分間

ステップ4 : 68 で2分間

ステップ5 : ステップ2、3、4を20回繰り返す

ステップ6 : 68 で5分間

ステップ7 : 4 で保存

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

#### 【0245】

伸長させたヌクレオチドは、脱塩及び濃縮して384穴プレートに移し、CviIコレラウイルスエンドヌクレアーゼ(Molecular Biology Research, Madison WI)を用いて消化し、pUC 18ベクター(Amersham Pharmacia Biotech)への再連結反応前に音波処理またはせん断した。ショットガン・シーケンシングのために、消化したヌクレオチドを低濃度(0.6~0.8%)のアガロースゲル上で分離し、断片を切除し、寒天をAgar ACE(Promega)で消化した。伸長させたクローンをT4リガーゼ(New England Biolabs, Beverly MA)を用いてpUC 18ベクター(Amersham Pharmacia Biotech)に再連結し、Pfu DNAポリメラーゼ(Stratagene)で処理して制限部位のオーバーハングを満たし、コンピテント大腸菌細胞に形質移入した。形質移入した細胞を抗生物質含有培地上で選択し、個々のコロニーを選択してLB/2x carb液体培地の384穴プレート内において37 で一晩培養した。

#### 【0246】

細胞を溶解し、Taq DNAポリメラーゼ(Amersham Pharmacia Biotech)及びPfu DNAポリメラーゼ(Stratagene)を用いてPCRによってDNAを増幅した。その際用

いたパラメータは次の通りである。

ステップ1： 94 で3分間

ステップ2： 94 で15秒

ステップ3： 60 で1分間

ステップ4： 72 で2分間

ステップ5： ステップ2、3、4を29回繰り返す

ステップ6： 72 で5分間

ステップ7： 4 で保存

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

#### 【0247】

同様に、配列番号29乃至56のヌクレオチド配列を用いて、伸長のために設計されたオリゴヌクレオチド及び適切なゲノムライブラリと共に上記手順を用いて5'調節配列を得る。

#### 【0248】

##### 7 個々のハイブリダイゼーションプローブの標識化及び使用

配列番号29乃至56由来のハイブリダイゼーションプローブを利用して、cDNA、ゲノムDNAまたはmRNAをスクリーニングする。約20塩基対からなるオリゴヌクレオチドの標識について特に記載するが、より大きなヌクレオチド断片に対しても事実上同一の手順が用いられる。オリゴヌクレオチドは、OLIGO 4.06ソフトウェア (National Biosciences) 等の最新ソフトウェアを用いて設計し、50 pmolの各オリゴマーと、250  $\mu$ Ciの[ $\gamma$ - $^{32}$ P]アデノシン3リン酸 (Amersham Pharmacia Biotech) と、T4ポリヌクレオチドキナーゼ (DuPont NEN, Boston MA) とを結合することにより標識する。標識したオリゴヌクレオチドは、SEPHADEX G-25超細繊維分子サイズ排除デキストランビードカラム (Amersham Pharmacia Bi

otech) を用いて実質的に精製する。Ase I、Bgl II、Eco RI、Pst I、Xba IまたはPvu II (DuPont NEN) のいずれか1つのエンドヌクレアーゼで消化されたヒトゲノムDNAの典型的な膜ベースのハイブリダイゼーション解析において、毎分 $10^7$ カウントの標識されたプローブを含むアリコットを用いる。

#### 【0249】

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

#### 【0250】

### 8 マイクロアレイ

マイクロアレイの表面上でアレイエレメントの連鎖または合成は、フォトリソグラフィ、圧電印刷 (インクジェット印刷; 前出のBalteschweiler等を参照)、機械的マイクロスポッティング技術及びこれらから派生したものをを用いて達成することが可能である。上記各技術において基質は、均一且つ非多孔性の固体とするべきである (前出のSchena (1999).)。推奨する基質には、シリコン、シリカ、スライドガラス、ガラスチップ及びシリコンウエハがある。或いは、ドットプロット法またはスロットプロット法に類似のアレイを利用して、熱的、紫外線の、化学的または機械的結合手順を用いて基質の表面にエレメントを配置及び結合させてもよい。通常のアレイは、手作業で、または利用可能な方法や機械を用いて作製でき、任意の適正数のエレメントを有し得る (Schena, M. ら (1995) Science 270:467-470、Shalon, D. ら (1996) Genome Res. 6:639-645、Marshall, A. and J. Hodgson (1998) Nat. Biotechnol. 16:27-31.を参照)。

#### 【0251】

完全長cDNA、発現遺伝子配列断片 (EST)、またはその断片またはオリゴマーは、マイクロアレイのエレメントを構成し得る。ハイブリダイゼーションに好適

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

#### 【0252】

##### 組織または細胞サンプルの準備

グアニジウムチオシアネート法を用いて組織サンプルから全RNAを単離し、オリゴ(dT)セルロース法を用いてポリ(A)<sup>+</sup>RNAを精製する。各ポリ(A)<sup>+</sup>RNAサンプルは、MLLV逆転写酵素、0.05 pg/μlのオリゴ(dT)プライマー(21mer)、1×第1鎖緩衝液、0.03 unit/μlのRNアーゼ阻害因子、500 μMのdATP、500 μMのdGTP、500 μMのdTTP、40 μMのdCTP、40 μMのdCTP-Cy3 (BDS) またはdCTP-Cy5 (Amersham Pharmacia Biotech) を用いて逆転写する。逆転写反応は、GEMBRIGHTキット (Incyte) を用いてポリ(A)<sup>+</sup>RNA含有の25体積ml内で行う。特異制御ポリ(A)<sup>+</sup>RNAは、370 で2時間インキュベートした後、in vitro転写により非コード酵母ゲノムDNAから合成する。各反応サンプル(1つはCy3、もう1つはCy5標識)は、2.5 mlの0.5 M水酸化ナトリウムで処理し、850 で20分間インキュベートし、反応を停止させてRNAを分解する。サンプルは、2つの連続するCHROMA SPIN 30ゲル濾過スピンカラム (CLONTECH Laboratories, Inc. (CLONTECH), Palo Alto CA) を用いて精製し、結合させた後に、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両反応サンプルをエタノール沈殿させる。次に、SpeedVAC (Savant Instruments Inc., Holbrook NY) を用いてサンプルを乾燥して仕上げ、14 μl

の5 × SSC / 0.2 % SDS中で再懸濁する。

#### 【0253】

##### マイクロアレイの準備

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

#### 【0254】

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

#### 【0255】

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

#### 【0256】

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

結合部位をブロックする。

#### 【0257】

##### ハイブリダイゼーション

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

#### 【0258】

##### 検出

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

#### 【0259】

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

し得るが、レーザ源において好適なフィルタを用いて各アレイを通常2度スキャンし、蛍光体1つにつき1度スキャンする。

#### 【0260】

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

#### 【0261】

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

#### 【0262】

グリッドは蛍光シグナルイメージ上に重ねられ、それによって各スポットからのシグナルはグリッドの各エレメントに集められる。各エレメント内の蛍光シグナルは統合され、シグナルの平均強度に応じた数値が得られる。シグナル分析に用いるソフトウェアは、GEMTOOLS遺伝子発現分析プログラム(Incyte)である。

#### 【0263】

### 9 相補的ポリヌクレオチド

CDIFFをコードする配列或いはその任意の一部に対して相補的配列は、天然のC

DIFFの発現を検出し、低下させ、または阻害するために用いられる。約15～30塩基対を含むオリゴヌクレオチドの使用について記すが、これより小さな或いは大きな配列の断片の場合でも本質的に同じ方法を用いることができる。Oligo4.06ソフトウェア(National Biosciences)、及びCDIFFをコードする配列を用いて、適切なオリゴヌクレオチドを設計する。転写を阻害するためには、最も独特な5'配列から相補的オリゴヌクレオチドを設計し、これを用いてプロモーターがコーディング配列に結合するのを阻害する。翻訳を阻害するためには、CDIFFコード化転写物にリボソームが結合しないように相補的オリゴヌクレオチドをデザインする。

#### 【0264】

##### 1.0 CDIFFの発現

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

、Sandig, V. ら (1996) Hum. Gene Ther. 7:1937-1945.等を参照)。

### 【0265】

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

### 【0266】

#### 1.1 CDIFF活性の実証

CDIFFが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にあるとき、細胞周期の進行または末端分化の誘導を測定することによりCDIFF活性を実証する。cDNAを、cDNAを高いレベルで発現する強力なプロモーターを含む哺乳動物発現ベクターにサブクローニングする。選択し得るベクターには、pCMV SPORT (Life Technologies, Gaithersburg MD) 及びpCR 3.1 (Invitrogen, Carlsbad CA) があり、どちらもサイトメガロウイルスプロモーターを有する。リポソーム製剤或いは電気穿孔法を用いて、5~10 µgの組換えベクターをヒト細胞株、おそらく内皮由来または造血由来の細胞株に一時的に形質移入する。更に、標識タンパク質をコードする配列を含む1~2 µgのプラスミドを同時に形質移入する。標識タンパク質の発現により、形質移入細胞と非形質移入細胞を区別する手段が与えられる。また、標識タンパク質の発現によって、cDNAの組換えベクターが

らの発現を正確に予想できる。標識タンパク質は、例えば緑色蛍光タンパク質 (GFP ; Clontech, Palo Alto, CA)、CD64またはCD64-GFP融合タンパク質から選択できる。フローサイトメトリーは、細胞死に先行するか或いは同時に発生する現象を診断する蛍光分子の取込を検出して計量する。このような現象として挙げられるのは、プロピジウムヨウ化物によるDNA染色によって計測される核DNA内容物の変化、プロモデオキシウリジンの取込量の低下によって計測されるDNA合成の上方または下方調節、特異抗体との反応性によって計測される細胞表面及び細胞内におけるタンパク質の発現の変化、及び蛍光複合アネキシンVタンパク質の細胞表面への結合によって計測される原形質膜組成の変化とがある。フローサイトメトリー法については、Ormerod, M. G. (1994) *Flow Cytometry Oxford, New York, NY.*に記述がある。

#### 【0267】

### 1.2 機能的アッセイ

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CDIFFをコードする配列を発現することによりCDIFF機能をアッセイする。cDNAを、cDNAを高いレベルで発現する強力なプロモーターを含む哺乳動物発現ベクターにサブクローニングする。選択し得るベクターには、pCMV SPORT (Life Technologies) 及びpCR 3.1 (Invitrogen) があり、どちらもサイトメガロウイルスプロモーターを有する。リポソーム製剤或いは電気穿孔法を用いて、5 ~ 10  $\mu$ gの組換えベクターをヒト細胞株、例えば内皮由来または造血由来の細胞株に一時的に形質移入する。更に、標識タンパク質をコードする配列を含む1 ~ 2  $\mu$ gのプラスミドを同時に形質移入する。標識タンパク質の発現により、形質移入細胞と非形質移入細胞を区別する手段が与えられる。また、標識タンパク質の発現によって、cDNAの組換えベクターからの発現を正確に予想できる。標識タンパク質は、例えば緑色蛍光タンパク質 (GFP ; Clontech)、CD64またはCD64-GFP融合タンパク質から選択できる。自動化された、レーザ光学に基づく技術であるフローサイトメトリー (FCM) を用いて、GFPまたはCD64-GFPを発現する形質移入された細胞を同定し、その細胞のアポトーシス状態や他の細胞特性を評価する。FCMは、細胞死に先行するか或いは同時に発生する現象を診断する蛍光分子の取込を検出して計量する。

このような現象として挙げられるのは、プロピジウムヨウ化物によるDNA染色によって計測される核DNA内容物の変化、プロモデオキシウリジンの取込量の低下によって計測されるDNA合成の下方調節、特異抗体との反応性によって計測される細胞表面及び細胞内におけるタンパク質の発現の変化、及び蛍光複合アネキシンVタンパク質の細胞表面への結合によって計測される原形質膜組成の変化とがある。フローサイトメトリー法については、Ormerod, M. G. (1994) *Flow Cytometry Oxford, New York, NY.*に記述がある。

#### 【0268】

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

#### 【0269】

##### 1.3 CDIFF特異抗体の産生

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

#### 【0270】

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

## 【0271】

通常は、長さ約15残基のオリゴペプチドを、Fmocケミストリを用いてABI 431A ペプチドシンセサイザ (PE Biosystems) を用いて合成し、N-マレイミドベンゾイル-N-ヒドロキシスクシンイミドエステル (MBS) を用いた反応によってKLH (Sigma-Aldrich, St. Louis MO) に結合させて、免疫抗原性を高める (前出のA usubel, 1995 等を参照)。完全フロイントアジュバントにおいてオリゴペプチド-KLM複合体を用いてウサギを免疫化する。得られた抗血清の抗ペプチド活性及び抗CDIFF活性を検査するには、ペプチドまたはCDIFFを基質に結合し、1%BSAを用いてブロックし、ウサギ抗血清と反応させて洗浄し、さらに放射性ヨウ素で標識したヤギ抗ウサギIgGと反応させる。

## 【0272】

1.4 特異抗体を用いた天然のCDIFFの精製

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

## 【0273】

CDIFFを含む培養液をイムノアフィニティークラムに通し、CDIFFを優先的に吸着する条件下 (例えば洗浄剤が存在する高イオン強度緩衝液) でカラムを洗浄する。抗体とCDIFFの結合を破壊する条件 (例えばpH 2 ~ 3の緩衝液、或いは尿素またはチオシアン酸塩イオン等の高濃度のカオトロップ剤) でカラムを溶出させ、CDIFFを回収する。

## 【0274】

1.5 CDIFFと相互作用する分子の同定

CDIFFまたは生物学的に活性であるCDIFF断片を<sup>125</sup>Iボルトンハンター試薬で標識する (Bolton A.E. and W.M. Hunter (1973) Biochem. J. 133:529-539等を参照)。マルチウェルプレートの穴の中に予め配列しておいた候補分子を、標識したCDIFFと共にインキュベートして洗浄し、標識したCDIFF複合体を有する任意の

穴をアッセイする。CDIFF濃度を変えて得たデータを用いて、候補分子とのCDIFFの会合、親和性及び数の値を計算する。

【0275】

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

【0276】

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

【0277】

(表の簡単な説明)

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

【0278】

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

【0279】

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

【0280】

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

**【0281】**

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

**【表1】**

ホリベブチド 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	29	1681724	STOMFET01	9267565T1 (BRAINOT04), 1681724F7 (STOMFET01), 3335675F6 (BRAIFET01), 4182048H1 (BRAUNOT01)
2	30	1718047	UCMNCOT02	1714785H1 (UCMNCOT02), 1718047F6 (UCMNCOT02), 1718047H1 (UCMNCOT02)
3	31	1980323	LUNGTUT03	1321706H1 (BLADROT04), 1361483F1 (LUNGTUT03), 1699071H1 (BLADFT05), 1980323H1 (LUNGTUT03), 2015763H1 (ISLTNOT01)
4	32	1990956	CORPNOT02	640726F1 (BRSTNOT03), 1990956H1 (CORPNOT02), 2605626F6 (LUNGTUT07)
5	33	2009069	TESTNOT03	2009069H1 (TESTNOT03), 2009069F6 (TESTNOT03), 92077289
6	34	2009435	TESTNOT03	2009435H1 (TESTNOT03), SCWA00196V1, SXBC00564V1, SXBC00022V1, SXBC01668V1, SXBC01355V1, SCSA02588V1
7	35	2027937	KERANOT02	2027937H1 (KERANOT02), 2027937F6 (KERANOT02), 2027937T6 (KERANOT02), 3564727H1 (SKINNOT05)
8	36	2722347	LUNGTUT10	432586H1 (BRAVUNT02), 1415481H1 (BRAINOT12), 1435248X315V1 (PANCNOT08), 1749410F6 (STOMTUT02), 1853282F6 (LUNGFET03), 2722347H1 (LUNGTUT10), 2789091H1 (TLYMNOT03), 2832659H1 (TLYMNOT03), 2832889F6 (TLYMNOT03), 2832889T6 (TLYMNOT03), 2865507H1 (KIDNNOT20), 2963380H1 (SCORNOT04), 2999974H1 (TLYMNOT06), 3461418F6 (293TF2T01), 3496089H1 (ADRETUT07), 3584788H1 (293TF4T01), 41771534I (BRAINOT22), 4753938F1 (BRAHNOT01), 4755628H1 (BRAHNOT01), 5376660H1 (BRAXNOT01), 5401439H1 (BRAHNOT01), 5541291H1
9	37	2759876	THPLAZS08	1629112T6 (COLNPOF01), 2579860H2 (KIDNUT13), 2759876H1 (THPLAZS08), 3222301H1 (COLNNO03)
10	38	2763735	BRSTNOT12	2505847X315F1 (CONUTUT01), 2505847X321F1 (CONUTUT01), 2763735H1 (BRSTNOT12), 2763735T6 (BRSTNOT12), SXRA00601V1, SXRA00968V1, SXRA00228V1
11	39	2848676	BRSTTUT13	734817R1 (TONSNOT01), 737069R6 (TONSNOT01), 1234242F1 (LUNGFET03), 1454710F1 (PENITUT01), 1720410T6 (BLADNOT06), 2635641F6 (BONTNOT01), 2674455H1 (KIDNNOT19), 2848676H1 (BRSTTUT13), 5279555H1 (YUSLNOT01), SAJA00783F1, SAJA01974F1
12	40	2956153	KIDNFT01	1413066F6 (BRAINF02), 2290049R6 (BRAINOT01), 2956153H1 (KIDNFT01), 9802966
13	41	3333139	BRAIFET01	1758404R6 (PITUNOT03), 3030096F6 (HEARFET02), 3068943F6 (UTRPNOR01), 3333139H1 (BRAIFET01), SCBA00923V1
14	42	3432292	SKINNOT04	3432292F6 (SKINNOT04), 3432292H1 (SKINNOT04)

【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
15	43	3478571	OVARNOT11	1297225F6 (BRSTNOT07), 1297225X300D1 (BRSTNOT07), 2991617F6 (KIDNPEF02), 3478571F6 (OVARNOT11), 3478571H1 (OVARNOT11), 3528528H1 (BLADNOT09), 4149136H1 (SINITUT04), 5272286T6 (OVARNO2), SXZA00403V1
16	44	3495166	ADRETUT07	1648795H1 (PROSTUT09), 3495166H1 (ADRETUT07), 4530057H1 (LYMBEXT01), 93593882
17	45	3554748	SYNONOT01	1382675F1 (BRAITUT08), 2158036F6 (BRAINOT09), 3026430F6 (HEAREF02), 3026430T6 (HEAREF02), 3554748H1 (SYNONOT01), 3561906F6 (SKINNOT05), SBQA01579D1, SBQA03396D1, SBQA03390D1, SBQA04634D1, SBVA04060V1
18	46	3555629	LUNGNOT31	1665425F6 (BRSTNOT09), 1972328F6 (UCMCL5T01), 2415049F6 (HNT3AZT01), 2506456T6 (CONUTUT01), 3171395F6 (BRSTNOT18), 3251788H1 (SEMVN0T03), 3555629H1 (LUNGNOT31), 4764178H1 (PLACNOT05)
19	47	639636	BRSTNOT03	639636H1 (BRSTNOT03), 1301029T1 (BRSTNOT07), 3181614H1 (TYJNOT01)
20	48	902218	BRSTTUT03	04411586 (TBLYN0T01), 050192F1 (LUNGNOT01), 260135R1 (HNT2RAF01), 902218H1 (BRSTTUT03), 902218X312D1 (BRSTTUT03), 1223330R1 (COLNJT02), 1282742F1 (COLNNOT16), 1867809F6 (SKINBIT01), 2630675F6 (COLNVTUT15), 2725602F6 (OVARTUT05), 2822002F6 (ADRETUT06), 91444109
21	49	1360522	LUNGNOT12	1360389F6 (LUNGNOT12), 1360522H1 (-JUNGNOT12), 1542022R1 (SINTTUT01), 2451247H1 (ENDANOT01)
22	50	1400678	BRAITUT08	1228811H1 (BRAITUT01), 1269918X305D1 (BRAINOT09), 1400678F6 (BRAITUT08), 1400678H1 (BRAITUT08), 1400678T6 (BRAITUT08), 1661858F6 (BRSTNOT09), 3119749H1 (LUNGTUT13), 3460603H1 (293TF1T01), 4751626F6 (BRAHNOT01), 5371724H1 (BRAINOT22), 5895045H1 (BRABDIR01)
23	51	1435556	PANMNOT08	1435556H1 (PANMNOT08), SCBA03895V1, SCBA01544V1, G1939223
24	52	1546633	PROSTUT04	1546633CT1 (PROSTUT04), 1546633H1 (PROSTUT04), 1834033R6 (BRAINNOT1), 2522443H1 (BRAITUT21)
25	53	1794031	PROSTUT05	1794031H1 (PROSTUT05), 2848189T6 (BRSTTUT13), 2950768F6 (KIDNPEF01), 5261333F6 (CONSTUT01)
26	54	2060563	OVARNOT03	1209716R1 (BRSTNOT02), 1392224F1 (THYRN0T03), 2060563H1 (OVARNOT03), 2060563R6 (OVARNOT03), 3568425H1 (HEAPNOT01)

【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
27	55	2573955	HIPOAZT01	734802R1 (TONSNOT01), 1576203F6 (LNCDNOT03), 1576203T6 (INODNOT03), 1923163X305D2 (BRSTTUT01), 2125677X304D1 (BRSTNOT07), 2208587F6 (SLNTEFT03), 2573955H1 (HIPOAZT01), 3422039F6 (UCMCNOT04), 3422039T6 (UCMCNOT04), G1015103
28	56	3404792	ESOGNOT03	1267840H1 (BRAINOT09), 1599987F6 (BLADNOT03), 2814308F6 (OVARNOT10), 3404792H1 (ESOGNOT03)

【表4】

表 2-1

ポリペプチド SEQ ID NO:	アミノ酸 残基	潜在的リン酸化部位	潜在的グリコ シル化部位	サイン(signature)配列	相同性配列	分析方法及び データベース
1	367	S18 S109 T267 S300 S58 S286	N11 N187	シグナルペプチド M1-S58 グルタチオン-S- トランスフェラーゼドメイン: P43-F309	ガンダリオシド誘導性 分化関連タンパク質1: [ハツカネズミ] g3378454	BLAST-GenBank MOTIFS SPSCAN IMMER-PFAM
2	102	S33 T39			赤血球系 分化関連因子 [ハツカネズミ] g3003046	BLAST-GenBank MOTIFS
3	205	T51 S91 Y174			SOUL タンパク質 (眼及び松果体特異 運送子産物) [ハツカネズミ]	BLAST-GenBank MOTIFS
4	120	T94 S3 T29		HGR74/REX3 タンパク質サイン: N16-P120	g4886906	BLAST-GenBank MOTIFS BLAST-PRODOM
5	108	S24 T33 T48 T49 S61		精子細胞DNA結合 タンパク質ドメイン: A2-E104	精子細胞核 移行タンパク質 [Sus scrofa] Q09821 (P値 = 5.4x10 <sup>-9</sup> )	BLAST- SwissProt MOTIFS BLAST-PRODOM
6	308	S72 T83 S100 T104 S137 T218 S241 T268 T42 S89 S92 S115 T165 T213 T228 S262	N70	シグナルペプチド M1-S29	GSG1 (生殖細胞特異運送子) [ハツカネズミ] g4150939	BLAST-GenBank MOTIFS SPSCAN

【表5】

表 2 - 2

ポリペプチド SEQ ID NO:	アミノ酸 残基	潜在的リン酸化部位	潜在的グリコ シル化部位	サイン(signature)配列	相同性配列	分析方法及び データベース
7	116	S2 S60		シグナルペプチド M1-C57 小プロリンリッチ タンパク質モチーフ: S4-P16; Q80-C89	SPR2H タンパク質 (小プロリンリッチ タンパク質) [ハツカネズミ] 93093371	BLAST-GenBank MOTIFS SPSCAN BLIMPS-PRINTS
8	1253	T6 S12 T44 S68 S203 T256 S293 S367 S375 S382 T430 T443 T490 T516 T563 S581 S658 S784 S793 T950 S995 S1014 S1090 S1233 T85 S180 S258 S379 S412 T419 S575 T578 S742 T768 T807 T860 S903 Y366 Y733 Y53	N209 N277 N291 N328 N441 N606 N671 N830 N857		SHYC [ハツカネズミ] 93293551	BLAST-GenBank MOTIFS
9	98	S12 S44 T65	N91		Ariadne-2 タンパク質 (ARI2) [ヒト] g3925604	BLAST-GenBank MOTIFS
10	524	T485 S29 T55 S63 S147 T177 S179 S209 S250 S254 T296 S471 S73 S193 S232 T237 S426	N125 N235 N336	眼次加糖タンパク質ドメイン: P61-L524	Eya3 相同体 [ハツカネズミ] g1816533	BLAST-GenBank MOTIFS BLAST-PRODOM
11	628	T466 T25 S56 S101 T182 T426 S501 T505 T606 T616 T209 S292 T310 T311 S459 S462 T498 S532 T590 Y251 Y562	N23 N142 N175	シグナルペプチド M1-G46	ash_212 [ヒト] g3046995	BLAST-GenBank MOTIFS SPSCAN

【表6】

表 2-3

ポリペプチド SEQ ID NO:	アミノ酸 残基	潜在的リン酸化部位	潜在的グリコ シル化部位	サイン(signature)配列	相同性配列	分析方法及び データベース
12	259	T202 S162 S175	N47 N94	シグナルペプチド M1-R33 膜貫通ドメイン Y204-V222 多ロイシン繰返しサイン: L87-I100; L115-V128	SLI171 タンパク質 [ヒト] 94377995	BLAST-GenBank MOTIFS SPSCAN HMMER BLIMPS-PRINTS
13	380	S38 S43 T73 T194 T219 T297 Y329 Y377		ホスファチジル エタノールアミン結合 タンパク質サイン: L173-E203; G248-Q275 脂質結合 タンパク質ドメイン: P169-L334	0-クリスタリン [ミズダコ] 94768844 ホスファチジル エタノールアミン結合 タンパク質 [ヒト] 9406290	BLAST-GenBank MOTIFS BLIMPS-BLOCKS BLAST-PRODOM BLAST-DOMO
14	130	T126 T104 T121	N111	小プロリンリッチ タンパク質モチーフ: S2-P14; K27-C36 羽毛ケラチンサイン: M1-P39	皮膚特異タンパク質 [ヒト] 92589188	BLAST-GenBank MOTIFS BLIMPS-PRINTS BLAST-DOMO
15	761	S84 T123 T193 S457 T671 S2 S250 T269 T355 S382 S473 T485 S499 T557 S582 S622 T631 Y67 Y662	N148 N169	シグナルペプチド M1-A60 ATP/GTP 結合部位モチーフA(ループ) G578-T585	schlafen3 [ハツカネズミ] 93983152	BLAST-GenBank MOTIFS SPSCAN

【表7】

表 2-4

ポリペプチド SEQ ID NO:	アミノ酸 残基	潜在的リン酸化部位	潜在的グリコ シル化部位	サイン(signature)配列	相同性配列	分析方法及び データベース
16	197	T15 T109 T176 S47 S94 S142 S191 Y177	N104	$\beta$ / $\alpha$ クリスタリン タンパク質ドメイン: S13-V98; R107-V195 クリスタリン $\beta$ 及び $\gamma$ サイン配列: S2-E51; G41-N90 S89-G148; F131-T186	$\beta$ -A2クリスタリン [ウシ] g162727	BLAST-GenBank MOTIFS HMMER-PFAM BLIMPS-BLOCKS PROFILES CAN BLAST-PRODOM BLAST-DOMO
17	339	T35 T160 S171 S207 S248 S309 T320 S25 S184 T224 Y281	NA77 N332	膜貫通ドメイン F103-T126	発達関連タンパク質 [トブネズミ] g4105412 ヤマグチ, Yら (1999) Brain Res. 68:149-158. 小Znフィンガー様 タンパク質 [ヒト] g5107198, g5107200	BLAST-GenBank MOTIFS HMMER
18	103			八量体結合 転写因子サイン: Q6-Y21		BLAST-GenBank MOTIFS BLIMPS-PRINTS
19	131	S7 T45 T71 T90 T2 S95 Y123		S7-P19: 高可動性タンパク質 K9-P19: AIフック様ドメインサイン I39-K130: Spindlin 相同体 Q49-K130: 精巣特異タンパク質	g3319677 Spindlin 相同体 Oh, R. ら (1997) Development 124:493-503	Motifs BLAST-GENBANK BLIMPS-PRINTS BLAST-PRODOM BLAST-DOMO
20	194	S31 T66	N59	D83-L92: リボソームタンパク質 L29 A153-L167: パソプレッシンV2受容体	G2245108 EREBP-4 (エチレン誘導性 DNA結合タンパク質) 様タンパク質	Motifs BLAST-GENBANK BLIMPS-BLOCKS BLIMPS-PRINTS

【表 8】

ポリペプチド SEQ ID NO:	アミノ酸 残基	潜在的リン酸化部位	潜在的グリコ シル化部位	サイン(signature)配列	相同性配列	分析方法及び データベース
21	184	S35 S93 S16 T123		W106-T123: 短腸畸形 タンパク質ファミリー P25-Y42: プロスタノイド EP2受容体	G2078535 核タンパク質 E3-3 orf1	Motifs BLAST_GENBANK BLIMPS_PRINTS
22	528	T277 S3 T67 S99 S260 T291 S348 T452 T504 T173 T307	N430	L214-P226: プロモドメインタンパク質 モチーフ V117-A135: 脳ナトリウム排泄増加 ペプチダーゼモチーフ A384-P394: タンパク質構造し 神経フィラメントモチーフ	G3860189 Wolf-Hirschhorn 症候群候補2タンパク質 相同体 Wright, T.J. 5 (1999) Genomics 59:203- 212	Motifs BLAST_GENBANK BLIMPS_BLOCKS BLIMPS_PRINTS BLIMPS_PRODUM
23	298	T3 S122 S159 S172 S183 T235 T261 S277 T287 T114 S138 T265 Y149	N120 N273	P281-A291: Brain 脳ナトリウム排泄増加 ペプチダーゼモチーフ	G1003016 Jerky 遺伝子産物 Toth, M. 5 (1995) Nat Genet 11:71- 705	Motifs BLAST_GENBANK BLIMPS_PRINTS
24	630	T84 S102 S140 S17 T59 S111 S125 S165 S219 S314 S350 T376 S382 T416 S487 S491 S498 S522 S29 S32 T79 S95 S136 S141 S156 S201 S214 T244 S255 T310 T511 T595 S620 Y604	N404	D400-A415: プロエンケファリンA前駆体 サイン A33-C42: Gallidermin		Motifs BLIMPS_PRINTS

【表9】

表 2 - 6

ポリペプチド SEQ ID NO:	アミノ酸 残基	潜在的リン酸化部位	潜在的グリコ シル化部位	サイン(signature)配列	相同性配列	分析方法及び データベース
25	339	S27 S95 T185 T200 T222 T260 S286		P55-E70 Maspin サイン	g1177322 CPG2 タンパク質 Medivi, E. 5 (1996) Proc Natl Acad Sci U S A 93:2048-53	Motifs BLAST_GENBANK BLIMPS_PRINTS
26	189	S22 T169 T47 S116 S119 T160 Y31		D91-W101: Trp-Asp WD 繰返し D164-P173: 成長因子シスチン結節 D164: RGD ドメイン	g4886904 ヘム結合タンパク質	Motifs BLAST_GENBANK BLIMPS_BLOCKS BLIMPS_PRINTS
27	530	T88 T105 S119 T202 T215 T330 S427 S83 T92 T151 T354 S391 S467 S472	N450	M1-L19: シグナルペプチド M1-L18: 膜貫通モチーフ L3-L16: 死のドメイン	g2642446 オーキシン応答性 GH3タンパク質に類似	Motifs BLAST_GENBANK HMMER SPSCAN BLIMPS_BLOCKS
28	356	S105 S202 S233 T253 T288 S312 T316 S338 S342 T350 T161 Y80 Y146 Y207	N159	M1-A26: シグナルペプチド A136-Q153: ニューロロペプチド Y2受容体	g4128223 軸索結合失敗 タンパク質 Geiger, E. 5 (1995) Genetics 141:595-606	Motifs SPSCAN BLAST_GENBANK BLIMPS_PRINTS

【表10】

表3-1

スクリーンショット SEQ ID NO:	断片	発見組織 (割合)	疾患又は症状 (割合)	ペクター
29	596-640	神経 (0.800) 胃腸 (0.133) 内分泌 (0.067)	細胞増殖 (0.333) 炎症/外傷 (0.267) 癌 (0.200)	PINCY
30	410-454	発達 (0.421) 造血/免疫 (0.211) 心血管 (0.158)	細胞増殖 (0.579) 炎症/外傷 (0.211) 癌 (0.105)	PINCY
31	147-191	生殖 (0.300) 心血管 (0.160) 胃腸 (0.100) 筋骨格 (0.100)	癌 (0.480) 炎症/外傷 (0.360) 細胞増殖 (0.160)	PSPORT1
32	463-507 658-702	神経 (0.329) 牛殖 (0.231) 胃腸 (0.091)	癌 (0.490) 炎症/外傷 (0.273) 細胞増殖 (0.175)	PINCY
33	111-155	牛殖 (1.000)	炎症/外傷 (1.000)	PBLUESCRIPT
34	812-856	牛殖 (0.500) 造血/免疫 (0.250) 神経 (0.250)	癌 (0.250) 炎症/外傷 (0.250)	PBLUESCRIPT
35	350-394	皮膚 (0.667) 泌尿器 (0.333)	細胞増殖 (0.667) 癌 (0.333)	PSPORT1
36	2254-2298 3739-3783	神経 (0.306) 造血/免疫 (0.194) 牛殖 (0.112)	癌 (0.357) 炎症/外傷 (0.357) 細胞増殖 (0.184)	PINCY
37	386-430	胃腸 (0.211) 心血管 (0.158) 生殖 (0.158)	癌 (0.526) 炎症/外傷 (0.369) 細胞増殖 (0.211)	PSPORT
38	137-181 746-790	造血/免疫 (0.333) 胃腸 (0.222) 神経 (0.222)	炎症/外傷 (0.667) 癌 (0.333) 細胞増殖 (0.222)	PINCY
39	183-233 2055-2099	牛殖 (0.269) 神経 (0.141) 造血/免疫 (0.128)	癌 (0.500) 細胞増殖 (0.269) 炎症/外傷 (0.218)	PINCY
40	704-748	神経 (0.600) 発達 (0.200) 生殖 (0.200)	癌 (0.400) 細胞増殖 (0.200)	PINCY
41	164-208 1115-1159	生殖 (0.250) 神経 (0.164) 心血管 (0.129)	癌 (0.457) 炎症/外傷 (0.310) 細胞増殖 (0.198)	PINCY

【表11】

表3-2

スグレオチド SEQ ID NO:	断片	発現組織 (割合)	疾患又は症状 (割合)	ベクター
42	399-443	心血管 (0.333) 発達 (0.333) 生殖 (0.333)	癌 (0.333) 細胞増殖 (0.333)	pINCY
43	507-551 1539-1583	生殖 (0.385) 発達 (0.308) 胃腸 (0.154)	癌 (0.462) 細胞増殖 (0.462)	pINCY
44	551-595	内分泌 (0.333) 胃腸 (0.333) 生殖 (0.333)	癌 (1.000)	pINCY
45	1037-1081 1145-1189	神経 (0.566) 心血管 (0.132)	炎症/外傷 (0.408) 癌 (0.184) 細胞増殖 (0.105)	pINCY
46	22-66	生殖 (0.268) 造血/免疫 (0.196) 神経 (0.143)	癌 (0.446) 炎症/外傷 (0.340) 細胞増殖 (0.214)	pINCY
47	1-375 694-861	神経 (0.400) 生殖 (0.240) 胃腸 (0.160)	癌 (0.520) 炎症/外傷 (0.280) 細胞増殖 (0.120)	PSPORT1
48	1-73 572-3860	生殖 (0.242) 心血管 (0.147) 造血/免疫 (0.137)	癌 (0.495) 炎症/外傷 (0.337) 細胞増殖 (0.179)	PSPORT1
49	1-188 605-726	生殖 (0.265) 心血管 (0.147) 神経 (0.140)	癌 (0.485) 細胞増殖 (0.176) 炎症/外傷 (0.287)	pINCY
50	1-85 470-754 809-889 995-1030 1442-2196	生殖 (0.308) 神経 (0.250) 造血/免疫 (0.115)	癌 (0.538) 炎症/外傷 (0.288) 細胞増殖 (0.154)	pINCY
51	1-540 601-1059 1438-1495	神経 (0.600) 心血管 (0.200) 胃腸 (0.200)	癌 (0.600) 炎症/外傷 (0.400) 神経 (0.200)	pINCY
52	1-283 971-1069 1682-2794	神経 (0.615) 胃腸 (0.103) 生殖 (0.103)	癌 (0.513) 炎症/外傷 (0.359) 外傷 (0.154)	PSPORT1

【表12】

表 3-3

ヌクレオチド SEQ ID NO:	断片	発現組織 (割合)	疾患又は症状 (割合)	ペクダー
53	1-1516	神経 (0.333) 生殖 (0.333) 発達 (0.167) 筋骨格 (0.167)	癌 (0.667) 細胞増殖 (0.167) 炎症/外傷 (0.167)	PSPORT1
54	1-133 704-1146	生殖 (0.384) 神経 (0.178) 心血管 (0.110)	癌 (0.479) 細胞増殖 (0.164) 炎症/外傷 (0.274)	PSPORT1
55	1-1050 1204-1320 1621-2761	神経 (0.208) 生殖 (0.208) 発達 (0.146)	癌 (0.354) 炎症/外傷 (0.375) 細胞増殖 (0.188)	PSPORT1
56	1-899 1075-1164	神経 (0.444) 泌尿器 (0.222) 生殖 (0.111) 胃腸 (0.111) 発達 (0.111)	癌 (0.444) 細胞増殖 (0.222) 炎症/外傷 (0.222)	PINCY

【表 13】

ヌクレオチド SEQ ID NO	ライブラリ	ライブラリの説明
2 9	STOMFET01	STOMFET01ライブラリは、妊娠20週目に死亡した白人女胎児の胃組織より単離したRNAを用いて作製した。
3 0	UCMCNOT02	UCMCNOT02ライブラリは、9人の臍帯血液から得た単核細胞から単離したRNAを用いて作製した。
3 1	LUNGTUT03	LUNGTUT03ライブラリは、69歳の白人男性の左下葉から肺区域切除の際に採取した肺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、残留グレード3の浸潤性扁平上皮癌を示している。患者の病歴には、急性心筋梗塞、前立腺肥大症、悪性皮膚癌、新生物及び喫煙の習慣が含まれる。
3 2	CORPNOT02	CORPNOT02ライブラリは、アルツハイマー病で死亡した74歳の白人男性の脳から採取した脳梁から単離したRNAを用いて作製した。
3 3	TESTNOT03	TESTNOT03ライブラリは、肝臓病で死亡した37歳の白人男性から採取した精巣組織から単離したRNAを用いて作製した。患者の病歴には、肝硬変、黄疸及び肝不全が含まれる。
3 4	TESTNOT03	TESTNOT03ライブラリは、肝臓病で死亡した37歳の白人男性から採取した精巣組織から単離したRNAを用いて作製した。患者の病歴には、肝硬変、黄疸及び肝不全が含まれる。
3 5	KERANOT02	KERANOT02ライブラリは、乳房の表皮角化細胞(NHEK)から単離したRNAを用いて作製した。NHEK (Clontech #CC-2501) は、30歳の黒人女性から整復乳房の際に採取したヒト乳房表皮細胞株である。
3 6	LUNGTUT10	LUNGTUT10ライブラリは、65歳の白人女性の左上葉から肺区域切除の際に採取した肺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、転移性グレード2粘液性脂肪肉腫及び転移性グレード4脂肪肉腫を示していた。患者の病歴には、軟組織癌、乳癌及び結核性肺癌がある。

【表 1 4】

ヌクレオチド SEQ ID NO	ライブラリ	ライブラリの説明
3 7	THPIAZS08	このサブトラクトされた THP-1 前単核細胞株ライブラリは、5・アザ・2・デオキシチヂン(AZ)処理した THP-1 ライブラリからの $5.76 \times 10^6$ 個のクローンをを用いて作製した。開始 RNA は、 $0.8 \mu\text{M}$ の AZ で 3 日間処理した THP-1 前単核細胞から作製した。サブトラクションのためのハイブリダゼーションプロトコルは、非処理の THP-1 細胞ライブラリから単離した RNA から作製した、同様に作製したライブラリに由来する。次に、AZ 処理した THP-1 細胞ライブラリから得た $5.76 \times 10^6$ 個のクローンを、非処理の THP-1 細胞ライブラリから得た $5.0 \times 10^6$ 個のクローンをを用いた 2 回のサブトラクションを、ハイブリダゼーションにかけた。サブトラクティブなハイブリダゼーション条件は、Swaroop ら (NAR, (1991) 19:1954) 及び Bonaldo ら (Genome Research(1996) 6:791) の方法論に基づく。THP-1 (ATCC TIB 202) は、急性単球白血球の 1 歳男児の末梢血液に由来するヒト前単核細胞株である (Int. J. Cancer (1980) 26:171)。
3 8	BRSTNOT12	BRSTNOT12 ライブラリは、32 歳の白人女性から両側整復乳房形成の際に採取した病変乳房組織から単離した RNA を用いて作製した。病理学的には、非増殖性線維性線維腫瘍を示していた。家族歴には、良性高血圧症及びアテローム硬化性冠動脈疾患が含まれる。
3 9	BRSTTUT13	BRSTTUT13 ライブラリは、46 歳の白人女性の右乳房から乳房再建を伴う片側拡大単純乳房切断の際に採取した乳房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、アポクリンの特徴を有し、管内成分が 50% 以上の管型の浸潤性グレード 3 腺癌を示していた。患者の病歴には、乳がんが含まれる。
4 0	KIDNFET01	KIDNFET01 ライブラリは、妊娠 17 週目に無頭症 (anencephalus) で死亡した白人女胎児から採取した腎臓組織から単離した RNA を用いて作製した。
4 1	BRAIFET01	BRAIFET01 ライブラリは、発育不全左心を患い妊娠 23 週目で死産した白人女胎児から採取した脳組織から単離した RNA を用いて作製した。
4 2	SKINNOT04	SKINNOT04 ライブラリは、70 歳の白人女性の乳房生検及び切除術の際に採取した乳房皮膚組織から単離した RNA を用いて作製した。
4 3	OVARNOT11	OVARNOT11 ライブラリは、43 歳の白人女性から拡張及び掻痒を伴う卵管卵巣摘出並びに腹式子宮全切除の際に採取した右卵巣組織から単離した RNA を用いて作製した。後漿膜は、子宮内膜症の病巣を含んでいた。関連腫瘍組織は、病理学的には複数の (1 つの粘膜下、4 つの子宮筋層内) 筋腫を示していた。家族歴には、アテローム硬化性冠動脈疾患、肺癌、良性高血圧症及び腎臓移植が含まれる。

【表 1 5】

【表 1 6】

ヌクレオチド SEQ ID NO	ライブラリ	ライブラリの説明
4 4	ADRETUT07	ADRETUT07 ライブラリは、43 歳の白人女性から片側副腎摘出の際に採取した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、褐色細胞腫を示していた。
4 5	SYNONOT01	SYNONOT01 ライブラリは、75 歳の白人男性から採取した滑液膜組織から単離した RNA を用いて作製した。
4 6	LUNGNOT31	LUNGNOT31 ライブラリは、63 歳の白人男性から採取した右中葉肺組織から単離した RNA を用いて作製した。関連腫瘍組織は、病理学的にはグレード 3 腺癌を示していた。患者の病歴には、腹部大動脈瘤、心臓異常、アテローム硬化性冠動脈疾患、食道裂孔ヘルニア、慢性副鼻腔炎及び狼瘡があった。家族歴には、急性心筋梗塞及びアテローム硬化性冠動脈疾患があった。
4 7	BRSTNOT03	BRSTNOT03 ライブラリは、54 歳の白人女性から採取した病変乳房組織から単離した RNA を用いて作製した。家族歴には、良性高血圧症、高脂血症及び結腸の悪性腫瘍が含まれていた。
4 8	BRSTTUT08	BRSTTUT08 ライブラリは、58 歳の白人女性から採取した乳房腫瘍組織から単離した RNA を用いて作製した。患者の病歴には、皮膚癌、リウマチ性心疾患、変形性関節症及び結核があった。家族歴には、脳血管疾患、冠動脈瘤、乳癌、前立腺癌、アテローム性冠動脈疾患及び I 型糖尿病があった。
4 9	LUNGNOT12	LUNGNOT12 ライブラリは、78 歳の白人男性から採取した肺組織から単離した RNA を用いて作製した。患者の病歴には、脳血管疾患、アテローム硬化性冠動脈疾患、血栓性静脈炎、慢性閉塞性肺疾患及び喘息があった。家族歴には、脳血管疾患、アテローム硬化性冠動脈疾患及び I 型糖尿病があった。
5 0	BRAITUT08	BRAITUT08 ライブラリは、47 歳の白人男性の左前葉から採取した脳腫瘍組織から単離した RNA を用いて作製した。病理学的には、局所性の腫瘍の放射線壊死を伴う星状細胞腫を示していた。患者の病歴には、脳血管疾患、欠乏性貧血、高脂血症、てんかん及びタバコの使用があった。家族歴には、脳血管疾患及び悪性前立腺癌があった。
5 1	PANCNOT08	PANCNOT08 ライブラリは、65 歳の白人女性から採取した膵臓組織から単離した RNA を用いて作製した。患者の病歴には、II 型糖尿病、変形性関節症、心血管疾患、大腸の良性新生物及び白内障があった。家族歴には、心血管疾患、II 型糖尿病及び胃癌があった。

ヌクレオチド SEQ ID NO	ライブラリ	ライブラリの説明
5 2	PROSTUT04	PROSTUT04 ライブラリは、57 歳の白人男性から採取した前立腺腫瘍組織から単離した RNA を用いて作製した。患者の病歴には、大腸の良性新生物及び I 型糖尿病が含まれる。家族歴には、前立腺の悪性新生物及び I 型糖尿病が含まれる。
5 3	PROSTUT05	PROSTUT05 ライブラリは、69 歳の白人男性から採取した前立腺腫瘍組織から単離した RNA を用いて作製した。腺線維筋腫性過形成もあつた。家族歴には、うつ血性心不全、多発性骨髄腫、高脂血症及びびりウママチ様関節炎が含まれる。
5 4	OVARNOT03	OVARNOT03 ライブラリは、43 歳の白人女性から採取した卵巣組織から単離した RNA を用いて作製した。関連腫瘍組織は、病理学的には粘液性囊胞腺癌を示していた。患者の病歴には、個帽弁疾患、肺炎及びウイルス性肝炎が含まれる。家族歴には、アテローム硬化性冠動脈疾患、膵臓癌、ストレス反応、脳血管疾患、乳癌及び子宮癌が含まれる。
5 5	HIPOAZT01	HIPOAZT01 ライブラリは、アルツハイマー病で死亡した 74 歳の白人男性の脳から採取した病変海馬組織から単離した RNA を用いて作製した。
5 6	ESOGNOT03	ESOGNOT03 ライブラリは、53 歳の白人男性から採取した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、良性高血圧症及びび不安状態が含まれる。家族歴には、アテローム硬化性冠動脈疾患、硬変症、腹部大動脈瘤破裂、乳癌、心筋梗塞及びアテローム硬化性冠動脈疾患が含まれる。

【表 1 7】

プログラム名	説明	引用文献	パラメーター閾値
ABI FACTURA	核酸配列においてベクター配列を除去して不明瞭な塩基をマスキングするプログラム	PE Biosystems, Foster City, CA.	
ABI/PARACEL FDF	アミノ酸又は核酸配列の比較や注釈付けに有用な高速データベース	PE Biosystems, Foster City, CA, Paracel Inc., Pasadena, CA	ミスマッチ<50%
ABI AutoAssembler	核酸配列を構築するプログラム	PE Biosystems, Foster City, CA.	
BLAST	アミノ酸及び核酸配列の配列類似性検索に有用な基本ローカルアラインメント検索ツール。BLAST には、blastp 及び blastn、blastx、tblastn、tblastx の 5 つの機能がある。	Altschul, S.F.ら(1990) J. Mol. Biol. 215:403-410, Altschul, S.F.ら(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	同合わせの配列と同種の配列のグループとの類似性を検索する Pearson と Lipman のアルゴリズム。FASTA は、少なくとも 5 つの機能 fasta、tfasta、fastx、tfastx、及び ssearch からなる。	Pearson, W.R. and D.J. Lipman (1988) Proc.Natl. Acad Sci. 85:2444-2448, Pearson, W.R.(1990) Methods Enzymol. 183: 63-98, Smith, T.F. and M. S. Waterman (1981) Adv.Appl. Math. 2:482-489.	EST: fasta E 値=1.06E-6 アセンブル済の EST: 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	配列を、BLOCKS 及び PRINTS データベースにおける配列と一致させて、遺伝子ファミリー及び配列相同性、構造的ファミリーメンバー領域を検索するプログラム向上サーチャー	Itenikoff, S and J.G. Henikoff, Nucl. Acid Res., 19:6565-72, 1991. J.G. Henikoff and S.Henikoff (1996) Methods Enzymol. 266:88-105, Artwood, T.K.ら(1997) J. Chem. Inf. Comput. Sci. 37: 417-424.	スコア=1000 以上 スコア/強度=0.75 以上 確率値=1.0E-3 以下 (適用可能な場合)
HMMER	PFAM 等の、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に基づいたデータベースに対する問合せ配列を検索するアルゴリズム	Krogh, A.ら(1994) J. Mol. Biol., 235:1501-1531, Sonnhammer, E.L.L.ら(1998) Nucleic Acids Res. 26:320-322.	個々のタンパク質ファミリーによって、スコア=(PFAM ヒットに) 10-50 ビット

表 5-2

プログラム名	説明	引用文献	パラメーター閾値
ProfileScan	Prosite で定義された配列パターンと一致するタンパク質配列において構造的モチーフ及び配列モチーフを検索するアルゴリズム	Gribskov, M.ら(1988) CABIOS 4:61-66, Gribskov, M.ら(1989) Methods Enzymol. 183:146-159, Bairoch, A.ら(1997) Nucleic Acids Res. 25:217-221.	ノーマライズされた質のスコア ≥ 特定の Prosite モチーフのための GCG 指定された「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装置の痕跡を検査する塩基呼び出しアルゴリズム	Ewing, B.ら(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利用に基づくプログラムである SWAT や CrossMatch を含む Phils 改訂アセンブリプログラム。配列の相同性の検索及び DNA 配列の構築に有用。	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 アセンブリを編集及び観察するグラフィックツール	Gordon, D.ら(1998) Genome Res. 8:195-202.	
SPScan	分泌シグナルペプチドの存在するかどうかタンパク質配列をスクリーンするウェイトマトリックス分析プログラム	Nielson, H.ら(1997) Protein Engineering 10:1-6, Claverie, J.M. and S. Audic (1997) CABIOS 12: 431-439.	スコア=3.5 以上
Motifs	Prosit で定義されたものと同じするパターンに対してアミノ酸配列を検索するプログラム	Bairoch, A ら (1997) Nucleic Acids Res. 25:217-221, Wisconsin Package Program Manual, version 9, page M51-59, Genetics Computer Group, Madison, WI.	

## 【配列表】

## SEQUENCE LISTING

<110> INCYTE GENOMICS, INC.  
TANG, Y. Tom  
HILLMAN, Jennifer L.  
YUE, Henry  
REDDY, Roopa  
LAL, Preeti  
SHAH, Purvi  
AZIMZAI, Yalda  
BAUGHN, Mariah R.  
LU, Dyung Aina M.  
BANDMAN, Olga  
SHIH, Leo L.  
PATTERSON, Chandra

<120> PROTEINS ASSOCIATED WITH CELL DIFFERENTIATION

<130> PF-0741 PCT

<140> To Be Assigned  
<141> Herewith

<150> 60/154,140; 60/169,155  
<151> 1999-09-15; 1999-12-06

<160> 56  
<170> PERL Program

<210> 1  
<211> 367  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<220>  
<221> misc\_feature  
<223> Incyte ID No: 1681724CD1

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

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

<210> 2  
 <211> 102  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 1718047CD1

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

<210> 3  
 <211> 205  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 1980323CD1

<400> 3  
 Met Ala Glu Pro Leu Gln Pro Asp Pro Gly Ala Ala Glu Asp Ala

```

1           5           10           15
Ala Ala Gln Ala Val Glu Thr Pro Gly Trp Lys Ala Pro Glu Asp
20
Ala Gly Pro Gln Pro Gly Ser Tyr Glu Ile Arg His Tyr Gly Pro
35
Ala Lys Trp Val Ser Thr Ser Val Glu Ser Met Asp Trp Asp Ser
50
Ala Ile Gln Thr Gly Phe Thr Lys Leu Asn Ser Tyr Ile Gln Gly
65
Lys Asn Glu Lys Glu Met Lys Ile Lys Met Thr Ala Pro Val Thr
80
Ser Tyr Val Glu Pro Gly Ser Gly Pro Phe Ser Glu Ser Thr Ile
95
Thr Ile Ser Leu Tyr Ile Pro Ser Glu Gln Gln Phe Asp Pro Pro
110
Arg Pro Leu Glu Ser Asp Val Phe Ile Glu Asp Arg Ala Glu Met
125
Thr Val Phe Val Arg Ser Phe Asp Gly Phe Ser Ser Ala Gln Lys
140
Asn Gln Glu Gln Leu Leu Thr Leu Ala Ser Ile Leu Arg Glu Asp
155
Gly Lys Val Phe Asp Glu Lys Val Tyr Tyr Thr Ala Gly Tyr Asn
170
Ser Pro Val Lys Leu Leu Asn Arg Asn Asn Glu Val Trp Leu Ile
185
Gln Lys Asn Glu Pro Thr Lys Glu Asn Glu
200

```

```

<210> 4
<211> 120
<212> PRT
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 1990956CD1

```

```

<400> 4
Met Glu Ser Lys Glu Glu Leu Ala Ala Asn Asn Leu Asn Gly Glu
1           5           10           15
Asn Ala Gln Gln Glu Asn Glu Gly Gly Glu Gln Ala Pro Thr Gln
20
Asn Glu Glu Glu Ser Arg His Leu Gly Gly Gly Glu Gly Gln Lys
35
Pro Gly Gly Asn Ile Arg Arg Gly Arg Val Arg Arg Leu Val Pro
50
Asn Phe Arg Trp Ala Ile Pro Asn Arg His Ile Glu His Asn Glu
65
Ala Arg Asp Asp Val Glu Arg Phe Val Gly Gln Met Met Glu Ile
80
Lys Arg Lys Thr Arg Glu Gln Gln Met Arg His Tyr Met Arg Phe
95
Gln Thr Pro Glu Pro Asp Asn His Tyr Asp Phe Cys Leu Ile Pro
110

```

```

<210> 5
<211> 108
<212> PRT
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 2009069CD1

```

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

<210> 6  
 <211> 308  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 2009435CD1

<400> 6  
 Met Ala Lys Met Glu Leu Ser Lys Ala Phe Ser Gly Gln Arg Thr  
 1 5 10 15  
 Leu Leu Ser Ala Ile Leu Ser Met Leu Ser Leu Ser Phe Ser Thr  
 20 25 30  
 Thr Ser Leu Leu Ser Asn Tyr Trp Phe Val Gly Thr Gln Lys Val  
 35 40 45  
 Pro Lys Pro Leu Cys Glu Lys Gly Leu Ala Lys Cys Phe Asp  
 50 55 60  
 Met Pro Val Ser Leu Asp Gly Asp Thr Asn Thr Ser Thr Gln Glu  
 65 70 75  
 Val Val Gln Tyr Asn Trp Glu Thr Gly Asp Arg Phe Ser Phe  
 80 85 90  
 Arg Ser Phe Arg Ser Gly Met Trp Leu Ser Cys Glu Glu Thr Val  
 95 100 105  
 Glu Glu Pro Ala Leu Leu His Pro Gln Ser Trp Lys Gln Phe Arg  
 110 115 120  
 Ala Leu Arg Ser Ser Gly Thr Ala Ala Ala Lys Gly Glu Arg Cys  
 125 130 135  
 Arg Ser Phe Ile Glu Leu Thr Pro Pro Ala Lys Arg Gly Glu Lys  
 140 145 150  
 Gly Leu Leu Glu Phe Ala Thr Leu Gln Gly Pro Cys His Pro Thr  
 155 160 165  
 Leu Arg Phe Gly Gly Lys Arg Leu Met Glu Lys Ala Ser Leu Pro  
 170 175 180  
 Ser Pro Pro Leu Gly Leu Cys Gly Lys Asn Pro Met Val Ile Pro  
 185 190 195  
 Gly Asn Ala Asp His Leu His Arg Thr Ser Ile His Gln Leu Pro  
 200 205 210  
 Pro Ala Thr Asn Arg Leu Ala Thr His Trp Glu Pro Cys Leu Trp  
 215 220 225  
 Ala Gln Thr Glu Arg Leu Cys Cys Cys Phe Leu Cys Pro Val Arg  
 230 235 240  
 Ser Pro Gly Asp Gly Gly Pro His Asp Val Phe Thr Ser Leu Pro  
 245 250 255  
 Ser Asp Cys Gln Leu Gly Ser Arg Arg Leu Glu Thr Thr Cys Leu  
 260 265 270

Glu Leu Trp Leu Gly Leu Leu His Gly Leu Ala Leu Leu His Leu  
 275 280 285  
 Leu His Gly Val Gly Cys His His Leu Gln His Val His Gln Asp  
 290 295 300  
 Gly Ala Gly Val Gln Val Gln Ala  
 305

<210> 7  
 <211> 116  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 2027937CD1

<400> 7  
 Met Ser Phe Ser Glu Gln Gln Cys Lys Gln Pro Cys Val Pro Pro  
 1 5 10 15  
 Pro Cys Leu Pro Lys Thr Gln Glu Gln Cys Gln Ala Lys Ala Glu  
 20 25 30  
 Glu Val Cys Leu Pro Thr Cys Gln His Pro Cys Gln Asp Lys Cys  
 35 40 45  
 Leu Val Gln Ala Gln Glu Val Cys Leu Ser Gln Cys Gln Glu Ser  
 50 55 60  
 Ser Gln Glu Lys Cys Pro Gln Gln Gly Gln Glu Pro Tyr Leu Pro  
 65 70 75  
 Pro Cys Gln Asp Gln Cys Pro Pro Gln Cys Ala Glu Pro Cys Gln  
 80 85 90  
 Glu Leu Phe Gln Thr Lys Cys Val Glu Val Cys Pro Gln Lys Val  
 95 100 105  
 Gln Glu Lys Cys Ser Ser Pro Gly Lys Gly Lys  
 110 115

<210> 8  
 <211> 1253  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 2722347CD1

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

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

Met	Gly	Arg	Arg	Ile	Gln	Phe	Pro	Ile	Glu	Met	Ser	Met	Pro	Trp
				635					640					645
Ile	Leu	Thr	Asp	His	Ile	Leu	Glu	Thr	Lys	Glu	Pro	Ser	Met	Met
				650					655					660
Glu	Tyr	Val	Leu	Tyr	Pro	Leu	Asp	Leu	Tyr	Asn	Asp	Ser	Ala	Tyr
				665					670					675
Tyr	Ala	Leu	Thr	Lys	Phe	Lys	Lys	Gln	Phe	Leu	Tyr	Asp	Glu	Ile
				680					685					690
Glu	Ala	Glu	Val	Asn	Leu	Cys	Phe	Asp	Gln	Phe	Val	Tyr	Lys	Leu
				695					700					705
Ala	Asp	Gln	Ile	Phe	Ala	Tyr	Tyr	Lys	Ala	Met	Ala	Gly	Ser	Val
				710					715					720
Leu	Leu	Asp	Lys	Arg	Phe	Arg	Ala	Glu	Cys	Lys	Asn	Tyr	Gly	Val
				725					730					735
Ile	Ile	Pro	Tyr	Pro	Pro	Ser	Asn	Arg	Tyr	Glu	Thr	Leu	Leu	Lys
				740					745					750
Gln	Arg	His	Val	Gln	Leu	Leu	Gly	Arg	Ser	Ile	Asp	Leu	Asn	Arg
				755					760					765
Leu	Ile	Thr	Gln	Arg	Ile	Ser	Ala	Ala	Met	Tyr	Lys	Ser	Leu	Asp
				770					775					780
Gln	Ala	Ile	Ser	Arg	Phe	Glu	Ser	Glu	Asp	Leu	Thr	Ser	Ile	Val
				785					790					795
Glu	Leu	Glu	Trp	Leu	Leu	Glu	Ile	Asn	Arg	Leu	Thr	His	Arg	Leu
				800					805					810
Leu	Cys	Lys	His	Met	Thr	Leu	Asp	Ser	Phe	Asp	Ala	Met	Phe	Arg
				815					820					825
Glu	Ala	Asn	His	Asn	Val	Ser	Ala	Pro	Tyr	Gly	Arg	Ile	Thr	Leu
				830					835					840
His	Val	Phe	Trp	Glu	Leu	Asn	Phe	Asp	Phe	Leu	Pro	Asn	Tyr	Cys
				845					850					855
Tyr	Asn	Gly	Ser	Thr	Asn	Arg	Phe	Val	Arg	Thr	Ala	Ile	Pro	Phe
				860					865					870
Thr	Gln	Glu	Pro	Gln	Arg	Asp	Lys	Pro	Ala	Asn	Val	Gln	Pro	Tyr
				875					880					885
Tyr	Leu	Tyr	Gly	Ser	Lys	Pro	Leu	Asn	Ile	Ala	Tyr	Ser	His	Ile
				890					895					900
Tyr	Ser	Ser	Tyr	Arg	Asn	Phe	Val	Gly	Pro	Pro	His	Phe	Lys	Thr
				905					910					915
Ile	Cys	Arg	Leu	Leu	Gly	Tyr	Gln	Gly	Ile	Ala	Val	Val	Met	Glu
				920					925					930
Glu	Leu	Leu	Lys	Ile	Val	Lys	Ser	Leu	Leu	Gln	Gly	Thr	Ile	Leu
				935					940					945
Gln	Tyr	Val	Lys	Thr	Leu	Ile	Glu	Val	Met	Pro	Lys	Ile	Cys	Arg
				950					955					960
Leu	Pro	Arg	His	Glu	Tyr	Gly	Ser	Pro	Gly	Ile	Leu	Glu	Phe	Phe
				965					970					975
His	His	Gln	Leu	Lys	Asp	Ile	Ile	Glu	Tyr	Ala	Glu	Leu	Lys	Thr
				980					985					990
Asp	Val	Phe	Gln	Ser	Leu	Arg	Glu	Val	Gly	Asn	Ala	Ile	Leu	Phe
				995					1000					1005
Cys	Leu	Leu	Ile	Glu	Gln	Ala	Leu	Ser	Gln	Glu	Glu	Val	Cys	Asp
				1010					1015					1020
Leu	Leu	His	Ala	Ala	Pro	Phe	Gln	Asn	Ile	Leu	Pro	Arg	Val	Tyr
				1025					1030					1035
Ile	Lys	Glu	Gly	Glu	Arg	Leu	Glu	Val	Arg	Met	Lys	Arg	Leu	Glu
				1040					1045					1050
Ala	Lys	Tyr	Ala	Pro	Leu	His	Leu	Val	Pro	Leu	Ile	Glu	Arg	Leu
				1055					1060					1065
Gly	Thr	Pro	Gln	Gln	Ile	Ala	Ile	Ala	Arg	Glu	Gly	Asp	Leu	Leu
				1070					1075					1080
Thr	Lys	Glu	Arg	Leu	Cys	Cys	Gly	Leu	Ser	Met	Phe	Glu	Val	Ile
				1085					1090					1095
Leu	Thr	Arg	Ile	Arg	Ser	Tyr	Leu	Gln	Asp	Pro	Ile	Trp	Arg	Gly

1100 1105 1110  
 Pro Pro Pro Thr Asn Gly Val Met His Val Asp Glu Cys Val Glu  
 1115 1120 1125  
 Phe His Arg Leu Trp Ser Ala Met Gln Phe Val Tyr Cys Ile Pro  
 1130 1135 1140  
 Val Gly Thr Asn Glu Phe Thr Ala Glu Gln Cys Phe Gly Asp Gly  
 1145 1150 1155  
 Leu Asn Trp Ala Gly Cys Ser Ile Ile Val Leu Leu Gly Gln Gln  
 1160 1165 1170  
 Arg Arg Phe Asp Leu Phe Asp Phe Cys Tyr His Leu Leu Lys Val  
 1175 1180 1185  
 Gln Arg Gln Asp Gly Lys Asp Glu Ile Ile Lys Asn Val Pro Leu  
 1190 1195 1200  
 Lys Lys Met Ala Asp Arg Ile Arg Lys Tyr Gln Ile Leu Asn Asn  
 1205 1210 1215  
 Glu Val Phe Ala Ile Leu Asn Lys Tyr Met Lys Ser Val Glu Thr  
 1220 1225 1230  
 Asp Ser Ser Thr Val Glu His Val Arg Cys Phe Gln Pro Pro Ile  
 1235 1240 1245  
 His Gln Ser Leu Ala Thr Thr Cys  
 1250

<210> 9  
 <211> 98  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 2759876CD1

<400> 9  
 Met Ser Val Asp Met Asn Ser Gln Gly Ser Asp Ser Asn Glu Glu  
 1 5 10 15  
 Asp Tyr Asp Pro Asn Cys Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Asp  
 20 25 30  
 Asp Pro Gly Asp Ile Glu Asp Tyr Tyr Val Gly Val Ala Ser Asp  
 35 40 45  
 Val Glu Gln Gln Gly Ala Asp Ala Phe Asp Pro Glu Glu Tyr Gln  
 50 55 60  
 Phe Thr Cys Leu Thr Tyr Lys Glu Ser Glu Gly Ala Leu Asn Glu  
 65 70 75  
 His Met Thr Ser Leu Ala Ser Val Leu Lys Val Ser Ser Val Val  
 80 85 90  
 Asn Ser Ser Val Ile Pro Pro Ser  
 95

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

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 2763735CD1

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

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

&lt;210&gt; 11

<211> 628  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 2848676CD1

<400> 11

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

Gly Tyr Ser Met Val Arg Ala Ser His Gly Val Arg Lys Gly Ala  
 410 415 420  
 Trp Tyr Phe Glu Ile Thr Val Asp Glu Met Pro Pro Asp Thr Ala  
 425 430 435  
 Ala Arg Leu Gly Trp Ser Gln Pro Leu Gly Asn Leu Gln Ala Pro  
 440 445 450  
 Leu Gly Tyr Asp Lys Phe Ser Tyr Ser Trp Arg Ser Lys Lys Gly  
 455 460 465  
 Thr Lys Phe His Gln Ser Ile Gly Lys His Tyr Ser Ser Gly Tyr  
 470 475 480  
 Gly Gln Gly Asp Val Leu Gly Phe Tyr Ile Asn Leu Pro Glu Asp  
 485 490 495  
 Thr Glu Thr Ala Lys Ser Leu Pro Asp Thr Tyr Lys Asp Lys Ala  
 500 505 510  
 Leu Ile Lys Phe Lys Ser Tyr Leu Tyr Phe Glu Glu Lys Asp Phe  
 515 520 525  
 Val Asp Lys Ala Glu Lys Ser Leu Lys Gln Thr Pro His Ser Glu  
 530 535 540  
 Ile Ile Phe Tyr Lys Asn Gly Val Asn Gln Gly Val Ala Tyr Lys  
 545 550 555  
 Asp Ile Phe Glu Gly Val Tyr Phe Pro Ala Ile Ser Leu Tyr Lys  
 560 565 570  
 Ser Cys Thr Val Ser Ile Asn Phe Gly Pro Cys Phe Lys Tyr Pro  
 575 580 585  
 Pro Lys Asp Leu Thr Tyr Arg Pro Met Ser Asp Met Gly Trp Gly  
 590 595 600  
 Ala Val Val Glu His Thr Leu Ala Asp Val Leu Tyr His Val Glu  
 605 610 615  
 Thr Glu Val Asp Gly Arg Arg Ser Pro Pro Trp Glu Pro  
 620 625

&lt;210&gt; 12

&lt;211&gt; 259

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; misc\_feature

&lt;223&gt; Incyte ID No: 2956153CD1

&lt;400&gt; 12

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

```

170
Ala Gly Arg Pro Phe Leu Asn Ala Ala Asn Asp Ala Asp Leu Cys
185
Asn Leu Pro Lys Lys Thr Thr Asp Tyr Ala Met Leu Val Thr Met
200
Phe Gly Trp Phe Thr Met Val Ile Ser Tyr Val Val Tyr Tyr Val
215
Arg Gln Asn Gln Glu Asp Ala Arg Arg His Leu Glu Tyr Leu Lys
230
Ser Leu Pro Ser Arg Gln Lys Lys Ala Asp Glu Pro Asp Asp Ile
245
Ser Thr Val Val
175
180
190
205
220
235
250
255

<210> 13
<211> 380
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 3333139CD1

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

```

Phe Asp Phe Tyr Lys Lys His Gln Glu Thr Met Thr Pro Ala Gly  
 305 310 315  
 Leu Ser Phe Phe Gln Cys Arg Trp Asp Asp Ser Val Thr Tyr Ile  
 320 325 330  
 Phe His Gln Leu Leu Asp Met Arg Glu Pro Val Phe Glu Phe Val  
 335 340 345  
 Arg Pro Pro Pro Tyr His Pro Lys Gln Lys Arg Phe Pro His Arg  
 350 355 360  
 Gln Pro Leu Arg Tyr Leu Asp Arg Tyr Arg Asp Ser His Glu Pro  
 365 370 375  
 Thr Tyr Gly Ile Tyr  
 380

<210> 14  
 <211> 130  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 3432292CD1

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

<210> 15  
 <211> 761  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 3478571CD1

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

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

Thr Arg Glu Leu Phe Val His Gly Leu Pro Gly Ser Gly Lys Thr  
 575 580 585  
 Ile Leu Ala Leu Arg Ile Met Glu Lys Ile Arg Asn Val Phe His  
 590 595 600  
 Cys Glu Pro Ala Asn Ile Leu Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Pro Leu  
 605 610 615  
 Lys Lys Leu Val Ser Phe Ser Lys Lys Asn Ile Cys Gln Pro Val  
 620 625 630  
 Thr Arg Lys Thr Phe Met Lys Asn Asn Phe Glu His Ile Gln His  
 635 640 645  
 Ile Ile Ile Asp Asp Ala Gln Asn Phe Arg Thr Glu Asp Gly Asp  
 650 655 660  
 Trp Tyr Gly Lys Ala Lys Phe Ile Thr Gln Thr Ala Arg Asp Gly  
 665 670 675  
 Pro Gly Val Leu Trp Ile Phe Leu Asp Tyr Phe Gln Thr Tyr His  
 680 685 690  
 Leu Ser Cys Ser Gly Leu Pro Pro Pro Ser Asp Gln Tyr Pro Arg  
 695 700 705  
 Glu Glu Ile Asn Arg Val Val Arg Asn Ala Gly Pro Ile Ala Asn  
 710 715 720  
 Tyr Leu Gln Gln Val Met Gln Glu Ala Arg Gln Asn Pro Pro Pro  
 725 730 735  
 Asn Leu Pro Pro Gly Ser Leu Val Met Leu Tyr Glu Pro Lys Trp  
 740 745 750  
 Ala Gln Gly Cys Pro Arg Gln Leu Arg Asp Tyr  
 755 760

<210> 16  
 <211> 197  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 3495166CD1

<400> 16  
 Met Ser Ser Ala Pro Ala Ser Gly Pro Ala Pro Ala Ser Leu Thr  
 1 5 10 15  
 Leu Trp Asp Glu Glu Asp Phe Gln Gly Arg Arg Cys Arg Leu Leu  
 20 25 30  
 Ser Asp Cys Ala Asn Val Cys Glu Arg Gly Gly Leu Pro Arg Val  
 35 40 45  
 Arg Ser Val Lys Val Glu Asn Gly Val Trp Val Ala Phe Glu Tyr  
 50 55 60  
 Pro Asp Phe Gln Gly Gln Gln Phe Ile Leu Glu Lys Gly Asp Tyr  
 65 70 75  
 Pro Arg Trp Ser Ala Trp Ser Gly Ser Ser Ser His Asn Ser Asn  
 80 85 90  
 Gln Leu Leu Ser Phe Arg Pro Val Leu Cys Ala Asn His Asn Asp  
 95 100 105  
 Ser Arg Val Thr Leu Phe Glu Gly Asp Asn Phe Gln Gly Cys Lys  
 110 115 120  
 Phe Asp Leu Val Asp Tyr Pro Ser Leu Pro Ser Met Gly Trp  
 125 130 135  
 Ala Ser Lys Asp Val Gly Ser Leu Lys Val Ser Ser Gly Ala Trp  
 140 145 150  
 Val Ala Tyr Gln Tyr Pro Gly Tyr Arg Gly Tyr Gln Tyr Val Leu  
 155 160 165  
 Glu Arg Asp Arg His Ser Gly Glu Phe Cys Thr Tyr Gly Glu Leu  
 170 175 180  
 Gly Thr Gln Ala His Thr Gly Gln Leu Gln Ser Ile Arg Arg Val  
 185 190 195  
 Gln His

<210> 17  
 <211> 339  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 3554748CD1

<400> 17  
 Met Pro Glu Cys Trp Asp Gly Glu His Asp Ile Glu Thr Pro Tyr  
 1 5 10 15  
 Gly Leu Leu His Val Val Ile Arg Gly Ser Pro Lys Gly Asn Arg  
 20 25 30  
 Pro Ala Ile Leu Thr Tyr His Asp Val Gly Leu Asn His Lys Leu  
 35 40 45  
 Cys Phe Asn Thr Phe Phe Asn Phe Glu Asp Met Gln Glu Ile Thr  
 50 55 60  
 Lys His Phe Val Val Cys His Val Asp Ala Pro Gly Gln Gln Val  
 65 70 75  
 Gly Ala Ser Gln Phe Pro Gln Gly Tyr Gln Phe Pro Ser Met Glu  
 80 85 90  
 Gln Leu Ala Ala Met Leu Pro Ser Val Val Gln His Phe Gly Phe  
 95 100 105  
 Lys Tyr Val Ile Gly Ile Gly Val Gly Ala Gly Ala Tyr Val Leu  
 110 115 120  
 Ala Lys Phe Ala Leu Ile Phe Pro Asp Leu Val Glu Gly Leu Val  
 125 130 135  
 Leu Val Asn Ile Asp Pro Asn Gly Lys Gly Trp Ile Asp Trp Ala  
 140 145 150  
 Ala Thr Lys Leu Ser Gly Leu Thr Ser Thr Leu Pro Asp Thr Val  
 155 160 165  
 Leu Ser His Leu Phe Ser Gln Glu Glu Leu Val Asn Asn Thr Glu  
 170 175 180  
 Leu Val Gln Ser Tyr Arg Gln Gln Ile Gly Asn Val Val Asn Gln  
 185 190 195  
 Ala Asn Leu Gln Leu Phe Trp Asn Met Tyr Asn Ser Arg Arg Asp  
 200 205 210  
 Leu Asp Ile Asn Arg Pro Gly Thr Val Pro Asn Ala Lys Thr Leu  
 215 220 225  
 Arg Cys Pro Val Met Leu Val Val Gly Asp Asn Ala Pro Ala Glu  
 230 235 240  
 Asp Gly Val Val Glu Cys Asn Ser Lys Leu Asp Pro Thr Thr Thr  
 245 250 255  
 Thr Phe Leu Lys Met Ala Asp Ser Gly Gly Leu Pro Gln Val Thr  
 260 265 270  
 Gln Pro Gly Lys Leu Thr Glu Ala Phe Lys Tyr Phe Leu Gln Gly  
 275 280 285  
 Met Gly Tyr Met Pro Ser Ala Ser Met Thr Arg Leu Ala Arg Ser  
 290 295 300  
 Arg Thr Ala Ser Leu Thr Ser Ala Ser Ser Val Asp Gly Ser Arg  
 305 310 315  
 Pro Gln Ala Cys Thr His Ser Glu Ser Ser Glu Gly Leu Gly Gln  
 320 325 330  
 Val Asn His Thr Met Glu Val Ser Cys  
 335

<210> 18  
 <211> 109  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>

```

<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 3555629CD1

<400> 18
Met Glu Arg Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Leu Arg Asn Leu Arg
 1          5          10          15
Asp Phe Leu Leu Val Tyr Asn Arg Met Thr Glu Leu Cys Phe Gln
 20          25          30
Arg Cys Val Pro Ser Leu His His Arg Ala Leu Asp Ala Glu Glu
 35          40          45
Glu Ala Cys Val Pro Ser Cys Ala Gly Lys Leu Ile His Ser Asn
 50          55          60
His Arg Leu Met Ala Ala Tyr Val Gln Leu Met Pro Ala Leu Val
 65          70          75
Gln Arg Arg Ile Ala Asp Tyr Glu Ala Ala Ser Ala Val Pro Gly
 80          85          90
Val Ala Ala Glu Gln Pro Gly Val Ser Pro Ser Gly Ser Ser Asp
 95          100         105
Unk Unk Unk Unk

<210> 19
<211> 131
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 639636CD1

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

<210> 20
<211> 194
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 902218CD1

<400> 20
Met Gly Ala Asn Gln Leu Val Val Leu Asn Val Tyr Asp Met Tyr
 1          5          10          15
Trp Met Asn Glu Tyr Thr Ser Ser Ile Gly Ile Gly Val Phe His
 20          25          30
Ser Gly Ile Glu Val Tyr Gly Arg Glu Phe Ala Tyr Gly Gly His

```

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

<210> 21  
 <211> 184  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 1360522CD1

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

<210> 22  
 <211> 528  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>

&lt;221&gt; misc\_feature

&lt;223&gt; Incyte ID No: 1400678CD1

&lt;400&gt; 22

```

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

```

```

440                               445                               450
Val Thr Arg Pro Glu Lys Ala Leu Ile Leu Gly Phe Met Ala Gly
455                               460                               465
Ser Arg Glu Asn Pro Cys Gln Glu Gln Gly Asp Val Ile Gln Ile
470                               475                               480
Lys Leu Ser Glu His Thr Glu Asp Leu Pro Lys Ala Asp Gly Gln
485                               490                               495
Gly Ser Thr Thr Met Leu Val Asp Thr Val Phe Glu Met Asn Tyr
500                               505                               510
Ala Thr Gly Gln Trp Thr Arg Phe Lys Lys Tyr Lys Pro Met Thr
515                               520                               525
Asn Val Ser

<210> 23
<211> 298
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 1435556CD1

<400> 23
Met Thr Thr Ile Tyr Asp Leu Lys Lys Gln Lys Asp Lys Leu Leu
 1                               5                               10                               15
Lys Phe Tyr Ala Glu Ser Asp Glu Gln Ile Leu Met Lys Asn Arg
 20                               25                               30
Lys Thr Leu His Lys Ala Lys Asn Glu Asp Leu Asp Arg Val Leu
 35                               40                               45
Lys Glu Trp Ile Arg Gln Arg Arg Ser Glu His Met Pro Leu Asn
 50                               55                               60
Gly Met Leu Ile Met Lys Gln Ala Lys Ile Tyr His Asn Glu Leu
 65                               70                               75
Lys Ile Glu Gly Asn Cys Glu Tyr Ser Thr Gly Trp Leu Gln Lys
 80                               85                               90
Phe Lys Lys Arg His Gly Ile Lys Phe Leu Lys Thr Cys Gly Asn
 95                               100                              105
Lys Ala Ser Ala Gly His Glu Ala Thr Glu Lys Phe Thr Gly Asn
110                              115                              120
Phe Ser Asn Asp Asp Glu Gln Asp Gly Asn Phe Glu Gly Phe Ser
125                              130                              135
Met Ser Ser Glu Lys Lys Ile Met Ser Asp Leu Leu Thr Tyr Thr
140                              145                              150
Lys Asn Ile His Pro Glu Thr Val Ser Lys Leu Glu Glu Glu Asp
155                              160                              165
Ile Lys Asp Val Phe Asn Ser Asn Asn Glu Ala Pro Val Val His
170                              175                              180
Ser Leu Ser Asn Gly Glu Val Thr Lys Met Val Leu Asn Gln Asp
185                              190                              195
Asp His Asp Asp Asn Asp Asn Glu Asp Asp Val Asn Thr Ala Glu
200                              205                              210
Lys Val Pro Ile Asp Asp Met Val Lys Met Cys Asp Gly Leu Ile
215                              220                              225
Lys Gly Leu Glu Gln His Ala Phe Ile Thr Glu Gln Glu Ile Met
230                              235                              240
Ser Val Tyr Lys Ile Lys Glu Arg Leu Leu Arg Gln Lys Ala Ser
245                              250                              255
Leu Met Arg Gln Met Thr Leu Lys Glu Thr Phe Lys Lys Ala Ile
260                              265                              270
Gln Arg Asn Ala Ser Ser Ser Leu Gln Asp Pro Leu Leu Gly Pro
275                              280                              285
Ser Thr Ala Ser Asp Ala Ser Ser His Leu Lys Ile Lys
290                              295

```

<210> 24  
 <211> 630  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 1546633CD1

<400> 24  
 Met Pro Gln Gln Gln His Lys Val Ser Pro Ala Ser Glu Ser Pro  
 1 5 10 15  
 Phe Ser Glu Glu Glu Ser Arg Glu Phe Asn Pro Ser Ser Ser Gly  
 20 25 30  
 Arg Ser Ala Arg Thr Val Ser Ser Asn Ser Phe Cys Ser Asp Asp  
 35 40 45  
 Thr Gly Cys Pro Ser Ser Gln Ser Val Ser Pro Val Lys Thr Pro  
 50 55 60  
 Ser Asp Ala Gly Asn Ser Pro Ile Gly Phe Cys Pro Gly Ser Asp  
 65 70 75  
 Glu Gly Phe Thr Arg Lys Lys Cys Thr Ile Gly Met Val Gly Glu  
 80 85 90  
 Gly Ser Ile Gln Ser Ser Arg Tyr Lys Lys Glu Ser Lys Ser Gly  
 95 100 105  
 Leu Val Lys Pro Gly Ser Glu Ala Asp Phe Ser Ser Ser Ser Ser  
 110 115 120  
 Thr Gly Ser Ile Ser Ala Pro Glu Val His Met Ser Thr Ala Gly  
 125 130 135  
 Ser Lys Arg Ser Ser Ser Ser Arg Asn Arg Gly Pro His Gly Arg  
 140 145 150  
 Ser Asn Gly Ala Ser Ser His Lys Pro Gly Ser Ser Pro Ser Ser  
 155 160 165  
 Pro Arg Glu Lys Asp Leu Leu Ser Met Leu Cys Arg Asn Gln Leu  
 170 175 180  
 Ser Pro Val Asn Ile His Pro Ser Tyr Ala Pro Ser Ser Pro Ser  
 185 190 195  
 Ser Ser Asn Ser Gly Ser Tyr Lys Gly Ser Asp Cys Ser Pro Ile  
 200 205 210  
 Met Arg Arg Ser Gly Arg Tyr Met Ser Cys Gly Glu Asn His Gly  
 215 220 225  
 Val Arg Pro Pro Asn Pro Glu Gln Tyr Leu Thr Pro Leu Gln Gln  
 230 235 240  
 Lys Glu Val Thr Val Arg His Leu Lys Ile Lys Leu Lys Glu Ser  
 245 250 255  
 Glu Arg Arg Leu His Glu Arg Glu Ser Glu Ile Val Glu Leu Lys  
 260 265 270  
 Ser Gln Leu Ala Arg Met Arg Glu Asp Trp Ile Glu Glu Glu Cys  
 275 280 285  
 His Arg Val Glu Ala Gln Leu Ala Leu Lys Glu Ala Arg Lys Glu  
 290 295 300  
 Ile Lys Gln Leu Lys Gln Val Ile Glu Thr Met Arg Ser Ser Leu  
 305 310 315  
 Ala Asp Lys Asp Lys Gly Ile Gln Lys Tyr Phe Val Asp Ile Asn  
 320 325 330  
 Ile Gln Asn Lys Lys Leu Glu Ser Leu Leu Gln Ser Met Glu Met  
 335 340 345  
 Ala His Ser Gly Ser Leu Arg Asp Glu Leu Cys Leu Asp Phe Pro  
 350 355 360  
 Cys Asp Ser Pro Glu Lys Ser Leu Thr Leu Asn Pro Pro Leu Asp  
 365 370 375  
 Thr Met Ala Asp Gly Leu Ser Leu Glu Glu Gln Val Thr Gly Glu  
 380 385 390  
 Gly Ala Asp Arg Glu Leu Leu Val Gly Asp Ser Ile Ala Asn Ser

				395					400					405
Thr	Asp	Leu	Phe	Asp	Glu	Ile	Val	Thr	Ala	Thr	Thr	Thr	Glu	Ser
				410					415					420
Gly	Asp	Leu	Glu	Leu	Val	His	Ser	Thr	Pro	Gly	Ala	Asn	Val	Leu
				425					430					435
Glu	Leu	Leu	Pro	Ile	Val	Met	Gly	Gln	Glu	Glu	Gly	Ser	Val	Val
				440					445					450
Val	Glu	Arg	Ala	Val	Gln	Thr	Asp	Val	Val	Pro	Tyr	Ser	Pro	Ala
				455					460					465
Ile	Ser	Glu	Leu	Ile	Gln	Ser	Val	Leu	Gln	Lys	Leu	Gln	Asp	Pro
				470					475					480
Cys	Pro	Ser	Ser	Leu	Ala	Ser	Pro	Asp	Glu	Ser	Glu	Pro	Asp	Ser
				485					490					495
Met	Glu	Ser	Phe	Pro	Glu	Ser	Leu	Ser	Ala	Leu	Val	Val	Asp	Leu
				500					505					510
Thr	Pro	Arg	Asn	Pro	Asn	Ser	Ala	Ile	Leu	Leu	Ser	Pro	Val	Glu
				515					520					525
Thr	Pro	Tyr	Ala	Asn	Val	Asp	Ala	Glu	Val	His	Ala	Asn	Arg	Leu
				530					535					540
Met	Arg	Glu	Leu	Asp	Phe	Ala	Ala	Cys	Val	Glu	Glu	Arg	Leu	Asp
				545					550					555
Gly	Val	Ile	Pro	Leu	Ala	Arg	Gly	Gly	Val	Val	Arg	Gln	Tyr	Trp
				560					565					570
Ser	Ser	Ser	Phe	Leu	Val	Asp	Leu	Leu	Ala	Val	Ala	Ala	Pro	Val
				575					580					585
Val	Pro	Thr	Val	Leu	Trp	Ala	Phe	Ser	Thr	Gln	Arg	Gly	Gly	Thr
				590					595					600
Asp	Pro	Val	Tyr	Asn	Ile	Gly	Ala	Leu	Leu	Arg	Gly	Cys	Cys	Val
				605					610					615
Val	Ala	Leu	His	Ser	Leu	Arg	Arg	Thr	Ala	Phe	Arg	Ile	Lys	Thr
				620					625					630

&lt;210&gt; 25

&lt;211&gt; 339

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; misc\_feature

&lt;223&gt; Incyte ID No: 1794031CD1

&lt;400&gt; 25

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

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

<210> 26  
 <211> 189  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 2060563CD1

<400> 26  
 Met Leu Gly Met Ile Lys Asn Ser Leu Phe Gly Ser Val Glu Thr  
 1 5 10 15  
 Trp Pro Trp Gln Val Leu Ser Lys Gly Asp Lys Glu Glu Val Ala  
 20 25 30  
 Tyr Glu Glu Arg Ala Cys Glu Gly Gly Lys Phe Ala Thr Val Glu  
 35 40 45  
 Val Thr Asp Lys Pro Val Asp Glu Ala Leu Arg Glu Ala Met Pro  
 50 55 60  
 Lys Val Ala Lys Tyr Ala Gly Gly Thr Asn Asp Lys Gly Ile Gly  
 65 70 75  
 Met Gly Met Thr Val Pro Ile Ser Phe Ala Val Phe Pro Asn Glu  
 80 85 90  
 Asp Gly Ser Leu Gln Lys Lys Leu Lys Val Trp Phe Arg Ile Pro  
 95 100 105  
 Asn Gln Phe Gln Ser Asp Pro Pro Ala Pro Ser Asp Lys Ser Val  
 110 115 120  
 Lys Ile Glu Glu Arg Glu Gly Ile Thr Val Tyr Ser Met Gln Phe  
 125 130 135  
 Gly Gly Tyr Ala Lys Glu Ala Asp Tyr Val Ala Gln Ala Thr Arg  
 140 145 150  
 Leu Arg Ala Ala Leu Glu Gly Thr Ala Thr Tyr Arg Gly Asp Ile  
 155 160 165  
 Tyr Phe Cys Thr Gly Tyr Asp Pro Pro Met Lys Pro Tyr Gly Arg  
 170 175 180  
 Arg Asn Glu Ile Trp Leu Leu Lys Thr  
 185

<210> 27  
 <211> 530

<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<220>  
<221> misc\_feature  
<223> Incyte ID No: 2573955CD1

<400> 27

Met	Leu	Leu	Trp	Pro	Leu	Leu	Leu	Leu	Leu	Leu	Leu	Pro	Thr	1	5	10	15	
Leu	Ala	Leu	Leu	Arg	Gln	Gln	Arg	Ser	Gln	Asp	Ala	Arg	Leu	Ser	20	25	30	35
Trp	Leu	Ala	Gly	Leu	Gln	His	Arg	Val	Ala	Trp	Gly	Ala	Leu	Val	40	45	50	55
Trp	Ala	Ala	Thr	Trp	Gln	Arg	Arg	Arg	Leu	Glu	Gln	Ser	Thr	Leu	60	65	70	75
His	Val	His	Gln	Ser	Gln	Gln	Gln	Ala	Leu	Arg	Trp	Cys	Leu	Gln	80	85	90	95
Gly	Ala	Gln	Arg	Pro	His	Cys	Ser	Leu	Arg	Arg	Ser	Thr	Asp	Ile	100	105	110	115
Ser	Thr	Phe	Arg	Asn	His	Leu	Pro	Leu	Thr	Lys	Ala	Ser	Gln	Thr	120	125	130	135
Gln	Gln	Glu	Asp	Ser	Gly	Glu	Gln	Pro	Leu	Ala	Pro	Thr	Ser	Asn	140	145	150	155
Gln	Asp	Leu	Gly	Glu	Ala	Ser	Leu	Gln	Ala	Thr	Leu	Leu	Gly	Leu	160	165	170	175
Ala	Ala	Leu	Asn	Lys	Ala	Tyr	Pro	Glu	Val	Leu	Ala	Gln	Gly	Arg	180	185	190	195
Thr	Ala	Arg	Val	Thr	Leu	Thr	Ser	Pro	Trp	Pro	Arg	Pro	Leu	Pro	200	205	210	215
Trp	Pro	Gly	Asn	Thr	Leu	Gly	Gln	Val	Gly	Thr	Pro	Gly	Thr	Lys	220	225	230	235
Asp	Pro	Arg	Ala	Leu	Leu	Leu	Asp	Ala	Leu	Arg	Ser	Pro	Gly	Leu	240	245	250	255
Arg	Ala	Leu	Glu	Ala	Gly	Thr	Ala	Val	Glu	Leu	Leu	Asp	Val	Phe	260	265	270	275
Leu	Gly	Leu	Glu	Thr	Asp	Gly	Glu	Glu	Leu	Ala	Gly	Ala	Ile	Ala	280	285	290	295
Ala	Gly	Asn	Pro	Gly	Ala	Pro	Leu	Arg	Glu	Arg	Ala	Ala	Glu	Leu	300	305	310	315
Arg	Glu	Ala	Leu	Glu	Gln	Gly	Pro	Arg	Gly	Leu	Ala	Leu	Arg	Leu	320	325	330	335
Trp	Pro	Lys	Leu	Gln	Val	Val	Val	Thr	Leu	Asp	Ala	Gly	Gly	Gln	340	345	350	355
Ala	Glu	Ala	Val	Ala	Ala	Leu	Gly	Ala	Leu	Trp	Cys	Gln	Gly	Leu	360	365	370	375
Ala	Phe	Phe	Ser	Pro	Ala	Tyr	Ala	Ala	Ser	Gly	Gly	Val	Leu	Gly	380	385	390	395
Leu	Asn	Leu	Gln	Pro	Glu	Gln	Pro	His	Gly	Leu	Tyr	Leu	Leu	Pro	400	405	410	415
Pro	Gly	Ala	Pro	Phe	Ile	Glu	Leu	Leu	Pro	Val	Lys	Glu	Gly	Thr	420	425	430	435
Gln	Glu	Glu	Ala	Ala	Ser	Thr	Leu	Leu	Leu	Ala	Glu	Ala	Gln	Gln	440	445	450	455
Gly	Lys	Glu	Tyr	Glu	Leu	Val	Leu	Thr	Asp	Arg	Ala	Ser	Leu	Thr	460	465	470	475
Arg	Cys	Arg	Leu	Gly	Asp	Val	Val	Arg	Val	Val	Gly	Ala	Tyr	Asn	480	485	490	495
Gln	Cys	Pro	Val	Val	Arg	Phe	Ile	Cys	Arg	Leu	Asp	Gln	Thr	Leu	500	505	510	515
Ser	Val	Arg	Gly	Glu	Asp	Ile	Gly	Glu	Asp	Leu	Phe	Ser	Glu	Ala	520	525	530	535
Leu	Gly	Arg	Ala	Val	Gly	Gln	Trp	Ala	Gly	Ala	Lys	Leu	Leu	Asp	540	545	550	555

```

His Gly Cys Val 410
Glu Ser Ser Ile Leu 415
Asp Ser Ser Ala Gly Ser 420
425 430
Ala Pro His Tyr Glu Val Phe Val Ala Leu Arg Gly Leu Arg Asn 435
440 445
Leu Ser Glu Glu Asn Arg Asp Lys Leu Asp His Cys Leu Gln Glu 450
455 460
Ala Ser Pro Arg Tyr Lys Ser Leu Arg Phe Trp Gly Ser Val Gly 465
470 475
Pro Ala Arg Val His Leu Val Gly Gln Gly Ala Phe Arg Ala Leu 480
485 490
Arg Ala Ala Leu Ala Ala Cys Pro Ser Ser Pro Phe Pro Pro Ala 495
500 505
Met Pro Arg Val Leu Arg His Arg His Leu Ala Gln Cys Leu Glu 510
515 520
Glu Arg Val Val Ser 525
530

<210> 28
<211> 356
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 3404792CD1

<400> 28
Met Ala Gly Leu Gly Ser Asp Pro Trp Trp Lys Lys Thr Leu Tyr
1 5 10 15
Leu Thr Gly Gly Ala Leu Leu Ala Ala Ala Tyr Leu Leu His
20 25 30
Glu Leu Leu Val Ile Arg Lys Gln Gln Glu Ile Asp Ser Lys Asp
35 40 45
Ala Ile Ile Leu His Gln Phe Ala Arg Pro Asn Asn Gly Val Pro
50 55 60
Ser Leu Ser Pro Phe Cys Leu Lys Met Glu Thr Tyr Leu Arg Met
65 70 75
Ala Asp Leu Pro Tyr Gln Asn Tyr Phe Gly Lys Leu Ser Ala
80 85 90
Gln Gly Lys Met Pro Trp Ile Glu Tyr Asn His Glu Lys Val Ser
95 100 105
Gly Thr Glu Phe Ile Ile Asp Phe Leu Glu Lys Leu Gly Val
110 115 120
Asn Leu Asn Lys Asn Leu Gly Pro His Glu Arg Ala Ile Ser Arg
125 130 135
Ala Val Thr Lys Met Val Glu Glu His Phe Tyr Trp Thr Leu Ala
140 145 150
Tyr Cys Gln Trp Val Asp Asn Leu Asn Glu Thr Arg Lys Met Leu
155 160 165
Ser Leu Ser Gly Gly Gly Pro Phe Ser Asn Leu Leu Arg Trp Val
170 175 180
Val Cys His Ile Thr Lys Gly Ile Val Lys Arg Glu Met His Gly
185 190 195
His Gly Ile Gly Arg Phe Ser Glu Glu Glu Ile Tyr Met Leu Met
200 205 210
Glu Lys Asp Met Arg Ser Leu Ala Gly Leu Leu Gly Asp Lys Lys
215 220 225
Tyr Ile Met Gly Pro Lys Leu Ser Thr Leu Asp Ala Thr Val Phe
230 235 240
Gly His Leu Ala Gln Ala Met Trp Thr Leu Pro Gly Thr Arg Pro
245 250 255
Glu Arg Leu Ile Lys Gly Glu Leu Ile Asn Leu Ala Met Tyr Cys
260 265 270

```

Glu Arg Ile Arg Arg Lys Phe Trp Pro Glu Trp His His Asp Asp  
 275 280 285  
 Asp Asn Thr Ile Tyr Glu Ser Glu Glu Ser Ser Glu Gly Ser Lys  
 290 295 300  
 Thr His Thr Pro Leu Leu Asp Phe Ser Phe Tyr Ser Arg Thr Glu  
 305 310 315  
 Thr Phe Glu Asp Glu Gly Ala Glu Asn Ser Phe Ser Arg Thr Pro  
 320 325 330  
 Asp Thr Asp Phe Thr Gly His Ser Leu Phe Asp Ser Asp Val Asp  
 335 340 345  
 Met Asp Asp Tyr Thr Asp His Glu Gln Cys Lys  
 350 355

&lt;210&gt; 29

&lt;211&gt; 1364

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; misc\_feature

&lt;223&gt; Incyte ID No: 1681724CB1

&lt;400&gt; 29

gagagagcgc ccgcgcgga gcctccttct ttctgcctc tgattccggg ctgtcatggc 60  
 gacccccaac aatctgacc ccaccaactg cagctgggtg cccatctccg cgctggagag 120  
 cgatgcggcc aagccagcgg aggcccccga cgctcccgag gcgccagcc ccgcccattg 180  
 gccccagggag agcctggttc tgtaccactg gaccagctcc ttcagctcgc agaaggtgcg 240  
 gctgggtgac gccgagaagg gcctgggtgt cgaggagcgg gacgtgagcc tgccacagag 300  
 cgagcacaag gagccctggg tcatgcggt caacctgggc gaggaggtgc ccgtcatcat 360  
 ccaccgcgac aacatcatca gtgactatga ccagatcatt gactatgtgg agcgcacctt 420  
 cacaggagag cacgtggtgg cctgatgcc cgaggtgggc agcctgcagc acgcacgggt 480  
 gctgcagtac cgggagctgc tggacgcact gcccatggat gcctacacgc atggctgcat 540  
 cctgcatccc gagctcacca ccgactccat gatccccaag tacgccacgg ccgagatccg 600  
 cagacattta gccaatgcca ccacggacct catgaaactg gaccatgaag aggagcccca 660  
 gctctccgag ccctaccttt ctaaacaanaa gaagctcatg gccaagatct tggagcatga 720  
 tgatgtgagc tacctgaaga agatcctcgg ggaactggcc atgggtctgg accagattga 780  
 ggccggagctg gagaagagga agctggagaa cgaggggagc aaatgcgagc tgtggctctg 840  
 ttgctgtgctc ttcaccctcg ctgatgtcct cctgggagcc accctgcacc gcctcaagtt 900  
 cctgggactg tccaagaaat actgggaaga tggcagccgg cccaacctgc agtctctctt 960  
 tgagagggtc cagagacgct ttgccttccg gaaagtctg ggtgacatcc acaccacct 1020  
 gctgtcggcc gtcattccca atgctttccg gctggtaaac aggaaccccc catccttctt 1080  
 cggggcgctc ttctctatgg gctccctggg tgggatgggc tactttgctt actggtacct 1140  
 caagaaaaaa tacatctagg gccaggectg gggcttgggt totgactgtc ggtgtctctg 1200  
 tgctgtgtga ttccccgtga gctctcagta actcactgtc tcatgaacac ttggacagcc 1260  
 ctccccgccc ttctgtctga gtaataatac cgtcagtggt aaaacattcc gtagttttaga 1320  
 agtagacggt gccaatgctg tgactcaagg ccagggttca atta 1364

&lt;210&gt; 30

&lt;211&gt; 505

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; misc\_feature

&lt;223&gt; Incyte ID No: 1718047CB1

&lt;400&gt; 30

cggtctgagg agagattcac gcaccctcaa gagtgtgggt gagacatata cagcctgtta 60  
 gacctgaagg cagatggctc ttcttaaggc caataaggat ctcatttccg caggattgaa 120  
 ggagttcagc gttctgctga atcagcaggt ctccaatgat cctctcgtct ctgaagaaga 180  
 catggtgact gtgggtggagg actggatgaa cttctacatc aactattaca ggcagcaggt 240  
 gacaggggag ccccaagagc gagacaagc tctgcaggag cttcggcaag agctgaacac 300  
 tctggccaac cctttcctgg ccaagtacag ggacttctg aagtctcatg agctcccag 360  
 tcacccaccg ccctcctcct agctcagggc cccagcccc cctctctgag aaactctgac 420

cttcatgtcc ttaggctgtg ctcttgccac tctaccctga cacctcaata aagaccagtg 480  
ctggttttgt tggaaaaaaaa aaaaa 505

<210> 31  
<211> 926  
<212> DNA  
<213> Homo sapiens

<220>  
<221> misc\_feature  
<223> Incyte ID No: 1980323CB1

<400> 31  
gtccgggggtc gtgagccggc cccgccttgg tggcggcgcc ccctcgcggt ccagaggcag 60  
acgcatcggg tgggtctcggg tctccagccc ggccggggagg agggaccggg tctgctggagc 120  
ggggactcgg ggcctcggcg gggcgcgcac acgcaggcgg ggcggcccgg ggtgctggggc 180  
ctctgctcgg ctgaccaggc tcccagagcg tcacgcccgc catggccgag ccgctccagc 240  
cagaccccgg ggcggccgag gacgcggcgg cccaagctgt ggagacgccc ggctggaagg 300  
ccccggagga cgccggcccc cagccccgaa gttatgagat ccgacactat ggaccagcca 360  
agtgggtcag cacgtccgtg gagtctatgg actgggattc agccatccag acgggcttta 420  
cgaactgaa cagctacatt caaggcaaaa acgagaaaga gatgaaaata aagatgacag 480  
ctccagtgac aagctacgtg gagcctgggt caggctcctt tagtgagtct accattacca 540  
ttccctgta tattccctct gaacagcaat ttgatccacc caggccttta gagtacagat 600  
tcttcattga agatagagcc gaaatgactg tgtttgtacg gtctttcgat ggattttcta 660  
gtgccccaaa gaatcaagaa caacttttga cattagcaag cattttaagg gaagatgaa 720  
aagttttcga tgagaaggtt tactacactg caggctacaa cagtctgtc aaattgctta 780  
atagaaataa tgaagtgtgg ttgattcaaa aaatgaacc caccaaagaa aacgaatgag 840  
aaaaatgaaa ggaagtctct ctgtcagagg caaaacatct gtttatcata gacatcaaca 900  
tgacctataa gtaaaaaaaaa aaaaaa 926

<210> 32  
<211> 1364  
<212> DNA  
<213> Homo sapiens

<220>  
<221> misc\_feature  
<223> Incyte ID No: 1990956CB1

<400> 32  
gacaacagcc ccacgtgacc ggccaacact gagtgttgtc tcgctctggc gtcagagccg 60  
tcgtggctcg ttccattctc ggcggtggtg cctgctcccg gtggccctga ggacgtgtgg 120  
gccagggggcg gccccgaaat taggaagcgg agggggagca gtctgcaggt ctgctggggct 180  
aagtgtcgcg gcgcgccacc tcgctcaag aatccggagg aggagactgc aaggataggc 240  
ccaggagtaa tggagtccaa agaggaacta gcggcaaaa atctcaacgg ggaaaaatgcc 300  
caacaagaaa acgaaggagg ggagcaggcc cccacgcaga atgaagaaga atcccgccat 360  
ttgggagggg gtgaaggcca gaagcctgga ggaaatatca ggcggggggc agttaggcga 420  
cttgtcccta attttcgatg ggccatacct aataggcata ttgagcacia tgaagcgaga 480  
gatgatgtag aaaggtttgt agggcagatg atgaaaatca agagaaagac tagggaacag 540  
cagatgaggc actatatgcg cttccaaact cctgaacctg acaaccatta tgacttttgc 600  
ctcatacctt gaatcctaaa agttttcgtc gaggttaatg tgaacactgc tttacaagct 660  
tgtatttttg tgatttactt tttctgtaag ccttttgggt tttacactta ccagtttcta 720  
atggaaatta gaattcta attgaaattgt tttgtctcag cctaaaagtt acggtcagca 780  
tggcaattca cctatttttag gaaaaatact cttttcataa tatgaaatgc ataaagcagt 840  
tcaaaaagca gtctgtattc catcatcttc ctttttcatt ccagtcctta tttttgtaag 900  
tattactttt cctctcggc ctacctggac tcaaaaatctc agttgtcttt gacagttttt 960  
ttcttgtccc tgaccaaaaa agaatgatca taccgagaat tcaatgtttg atattttaag 1020  
aatgtatggt ctagtgtttt tcagagtgag tctaccatct gtataaaaa accttggggg 1080  
cagggcaggg catttaaaaa tgtaggacct atcgtccaga ctacagagt ggggctccag 1140  
aatctccatt ttttaaaaa tctcttaagt aattctgatg tgtacaaaa tcagtgccat 1200  
tgggtgtgtg gtacgtaact atatacatat gtgtgtgtgt gtatatatat aatgtgtcat 1260  
aaccgtaaac aataaacaat atcaagataa atctgacttt gatgggcaag taattaaaaa 1320  
agaaaagtat gagaccttaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaa 1364

<210> 33  
 <211> 464  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 2009069CB1

<400> 33  
 gagcaggaat tcggcacgag gaattcagta tggcaaaggt gaccagtgag ccacagaagc 60  
 ctaatgaaga tgtggacgaa cacaccccat caacctcaag taccaaaggg aggaagaagg 120  
 ggaagacacc ccgtaacgaa aggtccagaa gcggcgtaa gggcctaaag accaccagga 180  
 aggcgaaaag accccttcga gggagctcga gccaaaaagc cggtgaaact aacaccctcg 240  
 cagggaaaacc taagaaagct agaggaccaa tactgcgtgg tcgttatcac cggctgaaag 300  
 aaaaaatgaa gaaagaagag gccgacaaag agcaaagcga gacctcagtt ctgtgatgtc 360  
 tctagaggtc cgccactgaa aagtcatcaa tcatacagtc agtgaattct acaccaacag 420  
 gttaaaacca tgaaaataaa atcaacctga atcgaaaaaa aaaa 464

<210> 34  
 <211> 1549  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 2009435CB1

<400> 34  
 ttccctgggt cgaccacgc gtcggggaag acagtttgca ttcttgcaac attaaaccaa 60  
 agggacttgg agtgacagatg gcataccttcg gttcttccag acaagctgca agacgctgac 120  
 catggccaag atggagctct cgaaggcctt ctctggccag cggacactcc tatctgccat 180  
 cctcagcatg ctatcactca gcttctccac aacatccctg ctcagcaact actggtttgt 240  
 gggcacacag aaggtgcccc agcccctgtg cgagaaaggt ctggcagcca agtgctttga 300  
 catgccagtg tccctgggat gagataccaa cacatccacc caggaggtgg tacaatacaa 360  
 ctgggagact ggggatgacc ggttctcctt ccggagcttc cggagtggca tgtggctatc 420  
 ctgtgaggaa actgtggaag aaccagcact gctccatccc cagtcctgga aacaatttag 480  
 agccttccgg tccagtggta cagcggcagc aaaaggggag aggtgccgaa gtttcattga 540  
 acttacacca ccagccaaga gaggtgagaa aggactactg gaatttgcca cgttgcaagg 600  
 cccatgtcac cccactctcc gatttgaggg gaagcgggtg atggagaagg ctccctccc 660  
 ctcccctccc ttggggcttt gtggcaaaaa tcctatgggt atccctggga acgcagatca 720  
 cctacatcgg acttcaattc atcagcttcc tctgtctact aacagacttg ctactcactg 780  
 ggaaccctgc ctgtgggctc aaactgagcg cctttgctgc tgtttcctct gtctgtcag 840  
 gtctcctggg gatgtggcc cacatgatgt attcacaagt cttccaagcg actgtcaact 900  
 tgggtccaga agactggaga ccacatggtt ggaattatgg ctgggccttc tacatggcct 960  
 ggctctcctt cacctgctgc atggcgtcgg ctgtcaccac cttcaacacg tacaccagga 1020  
 tgggtgctgga gttcaagtgc aagcatagta agagcttcaa ggaaaaccgg aactgcctac 1080  
 cacatcacca tcagtgtttc cctcggcggc tgtcaagtgc agccccacc gtgggtcctt 1140  
 tgaccagcta ccaccagtat cataatcagc ccattccactc tgtctctgag ggagtgcact 1200  
 tctactccga gctgcggaac aagggatttc aaagaggggc cagccaggag ctgaaagaag 1260  
 cagttaggtc atctgtagag gaagagcagt gttaggagt aagcgggttt ggggagttag 1320  
 cttgagccct accttacacg tctgtctgatt atcaacatgt gcttaagcca aaaagctctg 1380  
 gagctatttc cagatataat agtttttcta aaactttctg tccttcttta ctgggggcct 1440  
 gtcagcatca ctgatgaata tttcttgcca cagaggtttt tcttggtttt cccggattcc 1500  
 tttggatgtg gatcaacttt aaaatatcct ggggtactcc ggttcacca 1549

<210> 35  
 <211> 1205  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature

<223> Incyte ID No: 2027937CB1

<400> 35

```

ctttgttgag tcttgttgaa gatcaggctc tgcaaatcac cctaggatgt ccttcagtga 60
gcagcagtg c aagcagccat gtgtgcccc tccatgcctc ccaaagaccc aggagcagtg 120
ccaagcaaag gctgaggagg tgtgcctccc cacatgccag caccctgcc aagataagtg 180
tctagtgcag gcccaaggagg tatgtctttc tcagtgccag gaatcaagtc aagaaaaatg 240
cccacagcaa ggccaagagc catacctacc tccatgccaa gaccagtgtc cacctcagtg 300
tgcagagcca tgccaagagc tattccagac aaaatgtgtg gaggtttgcc cacagaaagt 360
tcaggagaag tgctcatccc ctggcaaggg aaagttagctg ctcatatgtc atctgggttc 420
aagaagatgg ccagcagatg aaacctgac ccagcccac gctctgggtg ccttctctctg 480
tgggtacctc tgtgtgcaat gtaccttctt gcctcctggc ttccttagca tccaggact 540
tggctctgtt ctctgaagac agttcttctt gtatttcac accctctgtg aataagcatt 600
gttctcagca gtctgatgga aggtctcaaa tgtaggaatg gtgtggttgt caggggaagac 660
cacagaagcc tagcacagct tccttgggtc aaaaattcac ccagctctgg gtgtgtaaca 720
gccaaggata cgttcatlca tctttcagag tttcaggctc tcaataaagc ctcaaaaaca 780
actgaattct gatggacttt ccacttatca ccaccaccac cacctccacc accaccacca 840
ccacaggtgt tgagacaaag cggcttgccg tgtttcaaaa atcaaaaatt tgggtatttt 900
gtctctgtac actaaaaaga acagcaaatt attgaacttt gaaatgttgg ttgtgctttt 960
ttaaagttaa cggaaagtat gtaaacgatt gaatccaaac aaccagaagg gaaagataag 1020
atggatgttt ggtgcccttg tcaatctctg tgcctcatag ctggtcta atgtggccctt 1080
agttctcacc atgtacactc tttagagatg tgatttgtgt ctgtgtgatg caggctgtgtc 1140
tgttctccag ctctcttggc ttcttctccc tggtaaggtt aaaatacata ataaagctga 1200
tcctg                                     1205

```

<210> 36

<211> 4061

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc\_feature

<223> Incyte ID No: 2722347CB1

<400> 36

```

cgggcgcccc gccctgcggt agcctcaggc cctccccctg gaccgcgccc agagccagtg 60
cagaatacac aaactgcagc catgaccacg cacgtcacc tgggaagatgc cctgtccaac 120
gtggaagctg ttgaagagct tccccctccc gaccagcagc catgcatcga gctcccact 180
tcctccatca tgtaccagcc taactttgac acaaactttg aggacaggaa tgcatttgtc 240
acgggcattg caaggtacat tgagcaggct acagtccact ccagcatgaa tgagatgctg 300
gagggaaggac atgagtatgc ggtcatgctg tacacctggc gcagctgttc ccgggcatt 360
ccccaggtag aatgcaacga cagcccacac cgagttagaga tctatgagaa gacagttag 420
gtgctggagc cggaggctac caagctcatg aagttcatgt attttcagcg caaggccatc 480
gagcggttct gcagcaggt gaagcggctg tgccatgccg agecagggaa ggactttgtc 540
tctgaggcct acctctgac ccttggcaag ttcatacaaa tgtttgctgt cctggatgag 600
ctaaagaaca tgaagtgcag cgtcaagaat gaccactctg cctacaagag ggcagcacag 660
ttctcgcgga agatggcaga tccccagtct atccaggagt cgcagaacct ttccatgttc 720
ctggccaacc acaacaggat caccagtgct ctccaccagc aacttgaagt gatcccaggc 780
tatgaggagc tgctggctga cattgtcaac atctgtgtgg attactacga gaacaagatg 840
tacctgactc ccagtgagaa acatatgtct ctcaaggtga tgggctttgg cctctaacta 900
atggatggaa atgtcagtaa catttcaaaa ctggatgcc aagaagagaat taatcttagc 960
aaaattgata aattctttaa gcagctgcag gtgggtcccc ttttcggcga catgcagata 1020
gagctggcca gatacattaa gaccagtgct cactatgaag agaacaagtc caagtggacg 1080
tgcaccacga gcagcatcag cccccagtac aatatctgcy agcagatggt tcagatccgg 1140
gatgaccaca tccgcttcat ctccgagctc gctcgtaca gcaacagtga ggtggtagc 1200
ggctcagggc tggacagcca gaagtccagc gaggagtatc gcgagctctt cgacctagcc 1260
ctgccccggtc tgcagcttct atccaagtgg agcgcaccag tcatggagggt gtactcttgg 1320
aagctggttc atccccaga caagttctgc aacaaggact gtcctggcac cgcggaggaa 1380
tatgagagag ccacacgcta caattacacc agtgaggaaa aatttgcctt cgttgagggtg 1440
atcgccatga tcaaaagcct gcaggtgctc atgggcagga tggagagcgt cttcaaccag 1500
cccacagga acaccatcta cgcggcattg caggacttcc cccaggtgac gctgcgtgag 1560
ccccgcccc aggcggtacy gaagaagaag aatgtctca tcagctcct acaggcaatt 1620
cgaaagacca tctgtgactg ggagggaggc cgagagcccc ctaatgacct atgcttgaga 1680

```

```

ggggagaagg  accccaaagg  tggatttgat  atcaagggtgc  cccggcgtgc  tgtggggcca  1740
tccagcacac  agctgtacat  ggtgocggacc  atgcttgaat  cactcattgc  agacaaaagc  1800
ggtccaaga  agaccctgag  gagcagcctg  gatggaccoca  ttgtcctcgc  catagaggac  1860
ttcacaaaac  agtccctctt  cttcacacat  ctgctcaaca  tcagtgaaag  cctgcagcag  1920
tgtttgtgacc  tctcccagct  ctggttccga  gaattcttcc  tggagttaac  catgggccga  1980
cgaatccagt  tccccatcga  gatgtccatg  ccttgatctc  taacggacca  tatcctggaa  2040
accaaagaac  cttccatgat  ggagtatgtc  ctctaccctc  tggatctgta  caacgcagac  2100
gcctactatg  ctctgaccaa  gtttaaaaag  cagttcctgt  acgatgagat  agaagctgag  2160
gtgaacctgt  gttttgatca  gttttgtctac  aagctggcag  accagatctt  tgcttactac  2220
aaagccatgg  ctggcagtg  cctgttggat  aaacgthttc  gagctgagtg  taagaattat  2280
ggcgtcatca  ttcogtatcc  accgtccaat  cgctatgaaa  cactgctgaa  gcagagacac  2340
gtccagctgt  tgggtagatc  aattgacttg  aacagactca  ttaccacagc  catctctgcc  2400
gccatgtata  aatccttgga  ccaagctatc  agccgcttg  agagtggaga  cctgacctcc  2460
attgtggagc  tggagtggct  gctggagatt  aaccggctca  cgcacgcgct  gctctgtaag  2520
catatgacgc  tggacagctt  cgatgccatg  ttccgagagg  ccaatcaca  tgtgtccgcc  2580
ccctatggcc  gcatcaccct  gcattctctc  tgggaactga  actttgactt  tctcccacac  2640
tactgtctaca  atgggtccac  taaccgthtt  gtgggactg  ccattccttt  cacccaagaa  2700
ccacaacgag  acaaacctgc  caacgtccag  ccttattacc  tctatggatc  caagcctctc  2760
aacattgcct  acagccacat  ctacagctcc  tacaggaatt  tcgtggggcc  acctcatttc  2820
aagcagctct  gcagactcct  gggttatcag  ggcacgcctg  tggctatgga  ggaactgcta  2880
aagattgtga  agagcttgct  ccaaggaaac  attctccagt  atgtgaaaac  actgatagag  2940
gtgatcccca  agatgtgccg  cttgccccga  catgagtatg  gctccccag  gatcctggag  3000
ttcttccacc  accagctgaa  ggacatcatt  gactagcag  agctcaaac  agacgtgttc  3060
cagagcctga  gggaaagtgg  caatgccatc  ctcttctgcc  tcctcataga  gcaagctctg  3120
tctcaggagg  aggtctgcga  tttgtccat  gccgaccct  tccaaaacat  cttgcctaga  3180
gtctacatca  aagaggggga  gcgcctggag  gtccggatga  aacgtctgga  agccaagtat  3240
gccccgctcc  acctggctcc  tctgatcgag  cggctgggga  cccctcagca  aatcgccatt  3300
gctcgcgagg  gtgacctcct  gaccaaggag  cggctgtgct  gtggcctgct  catgttcgag  3360
gtcatcctga  cccgcattcg  gagctacctg  caggaccoca  tctggcgggg  cccaccgcc  3420
accaatggcg  tcatgcacgt  cgatgagtgt  gtggagtcc  accggctgtg  gagcgcctg  3480
cagttcgtgt  actgcatccc  tgtgggaacc  aacgagtcca  cagctgagca  gtgttctggc  3540
gatggcttga  actgggctgg  ttgctccatc  attgtcctgc  tgggccagca  gcgtcgtttt  3600
gacctgttcg  acttctgtta  ccacctgcta  aaagtgcaga  ggcaggacgg  gaaggatgaa  3660
atcattaaga  atgtgcccct  gaagaagatg  gccgaccgga  tcaggaagta  tcagatcttg  3720
aacaatgagg  tttttgccat  cctgaacaaa  tacatgaagt  cctgggagac  agacagttcc  3780
actgtggagc  atgtgcgctg  cttccagcca  cccatccacc  agtcttggc  caccacttgc  3840
taagcagaag  atcctgcaga  cccttatctg  gaggaggaag  agaagcagga  gagagaaaagc  3900
cacagccagc  ctgcoatagg  atccaactgg  acaacgtgtg  ggatggacct  ggaacaagc  3960
acctcccaaa  acacatcacc  actccctagg  gcggggcctg  tycatgctct  cccatgacat  4020
ctccatgctg  gtttctccat  agcataaatg  aaaaaaaaaa  a  4061

```

<210> 37

<211> 773

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc\_feature

<223> Incyte ID No: 2759876CB1

<400> 37

```

gcagttctcc  tgcctcagcc  tcctgagtag  ctgggattac  agacaaaaat  actaatgcat  60
ttgagaaaagc  ggtagtthttg  gttggagggg  gaaaaatcaa  ctgctttcct  gatctgcaac  120
ttggctggat  gctaagatgt  cagtggacat  gaatagccag  ggtctgaca  gcaatgaaga  180
ggactatgac  ccaaatgtgt  aggaagagga  agaagaagaa  gaagacgacc  ctggggacat  240
agaggactat  tacgtgggag  tagccagcga  tgtggagcag  cagggggctg  atgcctttga  300
tcccaggag  taccagttca  cttgcttgac  ctacaaggaa  tctgaggtg  cctcaatga  360
gcacatgacc  agcttagctt  ctgtcctaaa  ggtgagcagt  gttgtaaaact  ccagtgtaat  420
ccccccagct  taaatctaag  gatgagctgt  tgttaattaa  tgtctcctcc  agactaattg  480
aatggccttg  tagcttgaaa  ccaaatttaa  gtgtatgtca  acatcatttg  gacattttgt  540
tacatttact  ttgttttcta  atatatgcat  gtctaaggtc  ctcagattcc  caaattagta  600
agaattagaa  agtaggggtg  ggacagattc  aagaaagatg  taccatacca  gaaatgtgta  660
gtagcagaat  tgcacaactt  tgcacgtttc  aggaagtgag  ttttcagaat  tttatgaggt  720

```

tgatacaata agcatcagaa tcaccatctt ctgtacgact gtgagtgact gat 773

<210> 38  
 <211> 2116  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 2763735CB1

<400> 38  
 ctcgattggt tctactgtgg gtctggactg atctccatgt cctggttggg ggcttttaca 60  
 gcctttggat tggaaaaact gctgagagag acttgcaatc cagtcacata agtataataa 120  
 agaaatattg gtctcatgag aagaagagca agatttacca gagcaaccag tgaaaaaagc 180  
 caagatgcag gaatcaggag agcaactat aagtcaagta agcaatccag atgtcagtga 240  
 tcagaagcct gaaacatcaa gccttgcttc aaaccttccc atgtcagagg aaattatgac 300  
 atgcaccgat tacatccctc gctcatccaa tgattatacc tcacaaatgt attctgcaaa 360  
 accttatgca cabattctct cagttcctgt ttcggaaact gcttacctcg gacagactca 420  
 ataccagaca ctacagcaga ctcaacccta tgctgtctac cctcaggcaa cccaacgta 480  
 tggactacct ccttttgctt caagcaciaa tgccagcctg atatctactt cttctacaat 540  
 tgccaatatt ccagcagcag cagtagccag catctcaaac caggattatc ccacctatac 600  
 tattcttggg cagaatcagt accaggcctg ctaccccagc tccagcttg gagtcacagg 660  
 tcagactaac agtgatgcag agagcaccac attagcagca accacatacc agtcggagaa 720  
 gcctagtgtc atgggcctc cacctgcagc acagagactt tcctctggag acccttctac 780  
 aagtccatct ttgtcccaga ctacaccaag taaagatact gatgatcagt ccaggaaaaa 840  
 catgactagc aagaaccggg gcaagaggaa agctgatgcc acttcttccc aagacagtga 900  
 attagaacgg gtatttctgt gggacttggg tgaaccatc atcatcttcc actcacttct 960  
 tactggatcc tatgcccaga aatatggaaa ggaccacaac gtagtgatg gctcagggtt 1020  
 aacaatggaa gaaatgattt ttgaagtggc tgatactcat ctatttttca atgacttaga 1080  
 ggagtgtgac aggttacatg tgaagatgt ggcttctgat gacaatggcc aagacttgag 1140  
 caactacagt ttctcaacag atggtttcag tggctcagga ggtagtggca gccatgggtc 1200  
 atctgtgggt gttcagggag gtgtggactg gatgaggaaa ctagctttcc gctaccggaa 1260  
 agtgagagaa atctatgata agcataaaag caactgtggg ggtctctca gtcaccagag 1320  
 gaaggaagca ctgcagagat taagagcaga aattgaagtt ttaacagatt cctgggttag 1380  
 aactgcatta aagtcttac ttctcatcca gtccagaag aattgtgtga atgttctgat 1440  
 cactaccacc cagctgggtc cagccctggc caaggttctc ctatatggac taggagaaat 1500  
 atttctatt gagaacatct atagtgtctc caaaatggg aaggagagct gctttgagag 1560  
 aattgtgtca aggtttgaa agaaagtcc atagttagtg attggagatg gacgagatgc 1620  
 agccaacag cacacatgc ctttctggag gatcacaac catggagacc tagtatccct 1680  
 tcaccaggct ttagagcttg attttctcta agaactggaa tgaggagcct tccccttgag 1740  
 ctcttttca ctctgaag gactggaga ctggaaccaa ctgagaactt tctctgtctg 1800  
 tctctctctg tgtctctctc tctatctctc tctcttctc tctttctctc tctccctctc 1860  
 tccctcctc ccttctctc tccctcctc tctgctctc tctctctctc tctctctgtc 1920  
 tttatccatg gaatgctggc gagaacacaa tcagaaccaa cagctgcaat ttttgctaag 1980  
 agtgagctgc agccccgtgt tcatctccat acagaagcag ggacagtgg atagagagaa 2040  
 caatggactc actgcagcta cagtgtcttt aattttctct tgttttgttt ttgttttttt 2100  
 gttttcaaaa aaaaaa 2116

<210> 39  
 <211> 2556  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 2848676CB1

<400> 39  
 cgagaagtcc aggggtggcc gtgatggcgg cggcaggagc aggacctggc caggaagcgg 60  
 gtgccgggcc tggcccagga gcggtcgcaa atgcaacagg ggcagaagag ggggagatga 120  
 agccgggtgc agcgggagca gccgctcctc ctggagaggg gatctctgct gctccgacag 180  
 ttgagcccag ttccggggag gctgaaggcg gggaggcaaa cttggctgat gtaagcgggt 240

```

gcttgagac agaatcatct aatggaaaag atacactaga aggtgctggg gatacatcag 300
aggtgatgga tactcaggcg ggctccgtgg atgaagagaa tggccgacag ttgggtgagg 360
tagagctgca atgtgggatt tgtacaaaat ggttcacggc tgacacattt ggcatagata 420
cctcatcctg tctaccttcc atgaccaact acagttttca ttgcaacgtc tgccatcaca 480
gtgggaatac ctatttcctc cggaagcaag caaacttgaa ggaatgtgc cttagtgcct 540
tggccaacct gacatggcag tcccgaacac aggatgaaca tccgaagaca atgttctcca 600
aagataagga tattatacca tttattgata aatactggga gtgcatgaca accagacaga 660
gacctgggaa aatgacttgg ccaaataaca ttgttaaac aatgagtata gaaagagatg 720
tattcttggg aaaggaacac ccagatccag gcagtataa tccagaagaa gattacccca 780
aatttggact tttggatcag gaccttagta acatttggcc tgcctatgac aaccaaaaac 840
agagcagtcg tgtgtctact agtgggaatt taaatggggg aattgcagca ggaagcagcg 900
gaaaaggcag aggagccaag cgcaaacagc aggtatggag gaccacaggg accaccaaga 960
aggcccggag tgaccctttg ttttctgctc agcgccttcc ccctcatggc taccatttgg 1020
aacacccgtt taacaaagat ggctatcggg atattctagc tgagcctgat ccgcaacccc 1080
ctgacccoga gaagctggaa ctgactgctc gggcaggaaa acctattcct ggagacctct 1140
acagagcctg cttgtatgaa cgggttttgt tagccctaca tgatcgagct cccagttata 1200
agatctcaga tgaccggctg actgtgtgtg gagagaaggg ctactctatg gtgagggcct 1260
ctcatggagt acggaagggt gcctggtatt ttgaaatcac tgtggatgag atgccaccag 1320
ataccgctgc cagactgggt tggctccagc ccctaggaaa ccttcaagct cctttaggtt 1380
atgataaatt tagctattct tggcggagca aaaagggaac caagttccac cagtccattg 1440
gcaaacacta ctcttctggc tatggacagg gagacgtcct gggattttat attaactctc 1500
ctgaagacac agagacagcc aagtcattgc cagacacata caagataag gctttgataa 1560
aattcaagag ttatttgtat tttaggaaa aagactttgt ggataaagca gagaagagcc 1620
tgaagcagac tccccatagt gagataatat ttataaaaa ttgtgtcaat caaggtgtgg 1680
cttacaaga tatttttgag ggggtttact tcccagccat ctactgtac aagagctgca 1740
cggtttccat taactttgga ccatgcttca agtatcctcc gaaggatctc acttaccgcc 1800
ctatgagtga catgggctgg ggcgccgtgg tagagcacac cctggctgag gtctgtatc 1860
acgtggagac agaagtggat gggaggcgca gtccccatg ggaaccctga ccaggtccct 1920
cttttctgtc aaggactttc tgggaataat actgggggtt ttgtttttgt ttttgaactg 1980
tctcaaatgt tctcccaaag atgctaaaaa cacagcctct ccttttagca agttaaaagg 2040
ctgggtagga ctgcgggaga ctgcctgcct ttcaccattt tctcccact tccagtgact 2100
gctcttattt tgtgtacct aagccaacaa ccgctgactc caggattgca taagccccct 2160
gtgaaatcgg tgctgtactg catacctgct cagctgtgac ttgttatcct actatatttt 2220
ctaaggagtg aataatattg tccgagtaac taacttattt aaaagacatt tccttctgtg 2280
ggcattgact gtatcccacc tgttttccaa ggaaatggta acctgtttct gagaacacct 2340
gaaatcaatg gctatacatt ccaaaccaat ctaaagccta ttctcttttg gtgtgggttt 2400
ggttttgttc attttgaaat acacttttga acactgtgat ccgtaaaact actagatctc 2460
tggagtgta atgtgaaag aaacttgctt gcagctttaa caaatgaga aacttcccaa 2520
ataaaacttg ttttgaagtt taaaaaaaaa aaaaaa 2556

```

<210> 40

<211> 1394

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc\_feature

<223> Incyte ID No: 2956153CB1

<400> 40

```

gccagacga attccttgc ggccgctgca gccctggcag gcgcacacc ctaagcatac 60
gcacccaacg cctcctccct gagccacgag gatggagcag ccacccggc cgggactg 120
cgcaaggtgc ccaagcaagg aaagaataa tgaagagaca catgtgttag ctgagcctt 180
ttgaaacacg caagaaggaa atcaatagtg tggacagggc tggaaacctt accagcctt 240
ttggagtaga tgaggaatgg gctcgtgatt atgctgacat tccagcatga atctggtaga 300
cctgtggtta acccgttccc tctccatgtg tctcctccta caaagttttg ttcttatgat 360
actgtgcttt cattctgcca gtatgtgtcc caaggctgt ctttgttctt cctctggggg 420
tttaaatgtc acctgtagca atgcaaatct caaggaaata cctagagatc ttctcctga 480
aacagtctta ctgtatctgg actccaatca gatcacatct attcccaatg aaatttttaa 540
ggacctccat caactgagag ttctcaacct gtccaaaaat ggcattgagt ttatcgatga 600
gcatgccttc aaaggtgtag ctgaaacctt gcagactctg gacttgtccg acaatcggat 660
tcaaagtgtg cacaaaaatg ccttcaataa cctgaaggcc agggccagaa ttgccaacaa 720
cccctggcac tgcgactgta ctctacagca agttctgagg agcatggcgt ccaatcatga 780

```

```

gacagccac aacgtgatct gtaaacgctc cgtgttggat gaacatgctg gcagaccatt 840
cctcaatgct gccaacgacg ctgacctttg taacctccct aaaaaaacta cggattatgc 900
catgctggtc accatgtttg gctggttcac tatggtgatc tcatatgtgg tatattatgt 960
gaggcaaaa caggaggatg ccgggagaca cctcgaatac ttgaaatccc tgccaagcag 1020
gcagaagaaa gcagatgaac ctgatgatat tagcactgtg gtatagtgtc caaactgact 1080
gtcattgaga aagaaagaaa gtagtttgcg attgocagtag aaataagtggt tttactttctc 1140
ccatccattg taaacatttg aaactttgta tttcagtttc ttttgaatta tgccactgct 1200
gaacttttaa caaacactac aacataaata atttgagttt aggtgatcca cccttaatt 1260
gtacccccga tggtatatct ctgagtaagc tactatctga acattagtta gatccatctc 1320
actatttaat aatgaaatct atttttttaa tttaaaagca aataaaagct taactttgaa 1380
ccatgaaaaa aaaa 1394

```

<210> 41  
<211> 1376  
<212> DNA  
<213> Homo sapiens

<220>  
<221> misc\_feature  
<223> Incyte ID No: 3333139CB1

```

<400> 41
gtcgcaggcc ggagggaaga tggggcgcc cgtgtggcga gccgcgctgt gcgagtgtcg 60
gagatggcgg ggcttcagca cctcggccgt cctgggcccgc cggacacccc cgctggggcc 120
gatgcccaac agtgacatcg acttgagcaa cctggagcgg ctggagaagt accggagctt 180
cgaccgctac cggcgccggg cagagcagga ggcgcaggcc ccgcactggt ggccgaccta 240
ccgagagtat ttcggggaga agacagatcc caaagagaag attgatattg ggctgcctcc 300
acccaaagtc tcccggaccc aacagctact ggaacggaaa caggccatcc aggagcttcg 360
ggccaatgtg gaagaggagc gggctgcccg cctccgcaca gccagtgtcc cgctggatgc 420
cgtgcgggcc gagtgggaga ggacctgtgg ccctaccac aagcagcgtc tggctgagta 480
ttacggcctc taccgagacc tgttccacgg tgccaccttt gtgccccgag tccccctgca 540
cgtggcctac gctgtgggtg aggatgacct gatgcctgtg tactgtggca atgaggtgac 600
tccaaccgag gctgcccagg cgcagaggtg gacctatgag gcagaagagg gctccttctg 660
gacgttgcta ctcactagct tggatgggca cctgctggag ccagatgctg agtacctcca 720
ctggctgcta accaacatcc cgggtaaccg ggtggctgaa ggacaggatga cgtgtcccta 780
cctccccccc tccctgccc gaggetcccg catccaccgt cttgccttcc tgctcttcaa 840
gcaggaccag ccgattgact tctctgagga cgcacgcccc tcacctgct atcagctggc 900
ccagcggacc tccgcactt ttgatttcta caagaacac caagaacca tgactccagc 960
cggettgctc ttcttccagt gcgctggga tgactccgtc acctacatct tccaccagct 1020
tctggacatg cgggagccgg tgtttgagtt cgtgcccggc ccccttacc accccaagca 1080
gaagcgttcc ccccaccggc agcccctgcg ctacctggac cggtagcagg acagtcata 1140
gcccacctat ggcacttact aaggagccag agtgtgcgca tttcagagca tgggattgat 1200
cggcagcaag agtaaagaca cagctccaga ggcccacact gtggggctct ggcctgctct 1260
taggcagccc ccctcttgg cccctcccg tcaggcccag ggcttggagt gaaagtgact 1320
ctcaggtggt ggggtgggga atgtgaataa acatgatttc ttgccgggaa aaaaaa 1376

```

<210> 42  
<211> 526  
<212> DNA  
<213> Homo sapiens

<220>  
<221> misc\_feature  
<223> Incyte ID No: 3432292CB1

```

<400> 42
caggacgtgt ctgtgctcct gtgtgtgacc agggttgaaa aagtcgcact gagatgtcct 60
gccagcaaaa ccagcagcag tgccagcccc ctcccaggc cccccaaaa tgcccaccca 120
agtgtcctcc aaagtgcgca cctcagtgcc cagcccactg cccacctcca gtctcttctc 180
gctgtggtcc cagctctggg ggctgtgctg gctccagctc tgggggctgc tgcagctctg 240
gggtggcgg ctgctgcctg agccaccaca ggcccgtct cttccaccgg caccggcacc 300
agagccccga ttgttgtgag tctgaacttc tgggggctct ggctgtgctg acagctctgg 360
ggactgctgc tgaccaaaccc tcgaacatca cagagcaagc ctttatggag aaaacttgca 420

```

aacgaggaac ctgtcccaaa gagtgateagc ttcttccctga ccccttggtg tctccttate 480  
 ccctggggggc tcgacaacac ctttggttgag agttggtttg gctctc 526

<210> 43  
 <211> 2431  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 3478571CB1

<400> 43  
 gcctgctccc ggaggagacg cgctgccgag gagaacccag cgggagaaca ttccaggata 60  
 ggaataggcc aagtgtctgag aagatgagtc ttaggattga tgtggataca aactttcctg 120  
 agtgtggttg agatgcagga aaagtcaccc ttgggactca gcagaggcag gagatggacc 180  
 ctgcctctgc ggagaaacag aatgaaatca tcctgcgagc agtatgtgct ctgctgaatt 240  
 ctggtgggggg cataatcaag gctgagattg agaacaaagg ctacaattat gaacgtcatg 300  
 gagttaggatt ggatgtgcct ccaattttca gaagccattt agataagatg cagaaggaaa 360  
 accacttttt gattttttgt aaatcatgga acacagaggc tgggtgcca cttgctacct 420  
 tatgtcccaa tttgtaccac agagagagaa catccaccga tgtcatggat tctcaggaag 480  
 ctctggcatt cctcaaatgc aggactcaga ctccaacgaa tattaatggt tccaattcat 540  
 taggtccaca ggcagctcag ggtagtgtac aatatgaagg taacataaat ggtcagctg 600  
 ctgctttatt tgatagaaaag cggtctcagt atctggaaaa actcaacctt cctgagtcca 660  
 cacatggtta atttgtaatg ttctcgacag acgtgtcaca ctgtgttaaa gacagacttc 720  
 cgaagtgtgt ttctgcattt gcaaaactg aaggaggata tgtatTTTTT ggtgtgcatg 780  
 atgagacttg tcaagtgatt ggatgtgaaa aagagaaaat agaccttacg agcttgaggg 840  
 cttctattga tggctgtatt aagaagctac ctgtccatca tttctgcaca cagaggcctg 900  
 agataaaaata tgccttaaac ttccttgaag tgcagataaa gggggccctc cgtggatatg 960  
 tctgtgcaat caaggtggag aaattctgct gtgcgggtgt tgccaaagt cctagtctct 1020  
 ggcaggtgaa ggcagaccgt gtgagacaat tgcccacaag agaatggact gcttgatga 1080  
 tggaaagtga cccagacctt tccaggtgtc ctgagatggt tctccagttg agtttgtcat 1140  
 ctgccacgcc ccgcagcaag cctgtgtgca tcataagaa ttcggaatgt ctgaaagagc 1200  
 agcagaaaacg ctactttcca gtattttcag acagagtggg atatactcca gaaagcctct 1260  
 acaaggaaact cttctcacia cataaaggac tcagagactt aataaataca gaaatgcgcc 1320  
 cttctctca aggaatattg atttttctc aaagctgggc tgtggattta ggtctgcaag 1380  
 agaagcaggg agtcatctgt gatgctcttc taatttccca gaacaacacc cctattctct 1440  
 acaccatctt cagcaagtgg gatgcggggt gcaaggccta ttctatgata gttgcctatt 1500  
 ctttgaagca gaagctggtg aacaaaaggc gctacactgg gaggttatgc atcacccct 1560  
 tggctctgtg gctgaattct gatagaaaag cacagagcgt ttacagttcg ttttacaaa 1620  
 tttaccctga atcctataac ttcatgaccc ccagcagcat ggaagccctg ttacagtccc 1680  
 tcgtgatagt cttgcttggg ttcaaatcct tcttaagtga agagctgggc tctgaggttt 1740  
 tgaacctact gacaaataaa cagtatgagt tgctttcaaa gaaccttcgc aagaccagag 1800  
 agttggtttg tcatggctta cctggatcag ggaagactat cttggctctt aggatcatgg 1860  
 agaagatcag gaatgtggtt cactgtgaac cggctaacat tctctacatc tgtgaaaacc 1920  
 agccccgaa gaagtgggtg agtttcagca agaaaaacat ctgccagcca gtgaccggga 1980  
 aaaccttcat gaaaaacaac tttgaacaca tccagcagat tatcattgat gacgctcaga 2040  
 atttccgtac tgaagatggg gactggtatg ggaagcaaaa gtcatcact cagacagcaa 2100  
 gggatggccc aggagtcttc tggatcttcc tggactactt tcagacctat cacttgagtt 2160  
 gcagtggcct cccccctccc tcagaccagt atccaagaga agagatcaac agagtggctc 2220  
 gcaatgcagg tccaatagct aattacctac aacaagtaat gcaggaagcc cgacaaaatc 2280  
 ctccacctaa cctccccctt gggctccctg tgatgctcta tgaacctaaa tgggctcaag 2340  
 ggtgtcccag gcaacttaga gattattgaa gacttgaact tggaggagat actgatctat 2400  
 gtgaggaata aatgccgttt tctcttgcgg g 2431

<210> 44  
 <211> 714  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 3495166CB1

```

<400> 44
gcgcaccgtc gcaccggtcc atttccctcg cgtgccgcgc tcaccacccc gcggcatgag 60
cagcgcccc gcgtcggggc cggcgcccgc cagcctcagc ctctgggacg aggaggactt 120
ccagggccgt cgctgtcggc tgctaagcga ctgtgcgaac gtctcgcgagc gcggaggcct 180
gcccagggtg cgctcgttca aggtggaaaa cggcgttttg gtggcctttg agtacccccga 240
cttccaggga cagcagttca ttctggagaa gggagactat cctcgcctgga gcgcctggag 300
tggcagcagc agccacaaca gcaaccagct gctgtccttc cggccagtgc tctgctcgaa 360
ccacaatgac agccgtgtga cactgtttga gggggacaac ttccaaggct gcaagtttga 420
cctcgttgat gactaccat ccttgccttc catgggctgg gccagcaagg atgtgggttc 480
cctcaaagtc agctccggag cgtgggtggc ctaccagtac ccaggctacc gaggctacca 540
gtatgtgttg gagggggacc ggcacagcgg agagtctgt acttacggtg agctcggcac 600
acagggccc acagggcagc tgcagtcac cgggagagtc cagcactagg ctccacggcc 660
ccagacacct tccctgagga cactcaataa aggttctctg atcttctctg caaa 714

```

```

<210> 45
<211> 3154
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 3554748CB1

```

```

<400> 45
accatctccc actcagagctg cccccgcctt ctggaccgga gtgactcagg cctttgtttg 60
tccttccctg tagaggcggg ttccctccct cggcaagatg ccggagtgtt gggatggggg 120
acatgacatc gagacacccct acggccttct gcattgtagt atccggggct cccccaaggg 180
gaaccgcccga gccatcctca cctaccatga tgtgggcctc aaccacaaac tatgtctcaa 240
caccttcttc aacttcgagg acatgcagga gatcaccaag cactttgtgg tgtgtcacgt 300
ggatgccctt ggacaacagg tggggcgctc gcagtttcct caggggtacc agttcccttc 360
catggagcag ctggctgcca tgcctcccag cgtgggtgag catttcgggt tcaagtatgt 420
gattggcatc ggagtgggag ccggagccta tgtgctggcc aagtttgac tcattctccc 480
cgacctggtg gaggggctgg tgctgggtaa catcgacccc aatggcaaag gctggataga 540
ctggctgccc accaagctct ccggcctaac tagcacttta cccgacacgg tgcctctcca 600
cctcttcagc caggaggagc tgggtaacaa cacagagttg gtgcagagct accggcagca 660
gattgggaac gtggtgaacc aggccaacct gcagctcttc tggaaatgt acaacagccg 720
cagagacctg gatattaacc ggcttgaacc ggtgcccatt gccaaagcgc tccgctgccc 780
cgtgatgctg gtggttgggg ataatgcacc cgtgaggac ggggtgtgtg agtgcaactc 840
caaactggac ccgaccacta cgaccttctt gaagatggca gactctggag ggctgcccc 900
ggtcacacag ccaggggaagc tgactgaagc ctcaaatac ttctgcaag gcattgggta 960
catgcccctc gccagcatga cccgctggc acgctcccgc actgcatccc tcaccagtgc 1020
cagctcgggt gtcggcagcc ccccacagcc ctgaccccac tcagagagca gcgaggggct 1080
gggcccaggtc aaccacacca tggaggtgtc ctgttgaagc ccttgatccc gctgacgagc 1140
cccacgtcga ggccccaccg ccatccttgc gccggctcat gttcccttta gtttattttt 1200
gtgagggcaa aggggaggaa atggggttct gtttgaaaaa aatgagggga tcttagatgc 1260
tgcagcagaa cagtctccag gtgttttaag gggctcagtc ctctcatcc catctcactc 1320
tccgtggtaa cttagccaac ttgacctctc tcatcccact cccggcggcc caggcacaga 1380
agggcagggc catagggagg gagattcgct acggatccag gccattcctg ggtgagccct 1440
tggcaggcca tgtttggaga tgagagagcc ttcgagaggy tgggtgctgg gccacagggg 1500
tgcggggcca gctcaggcac tggcgtggga gccctgggag accccttccc ccacctcca 1560
ccaagcacac ctgtttctgt ctcatagcac atgtgacaat catctggaca acagccacaa 1620
ggggcgctc ggaccaggca gccacttctc tgggtctctc tgggcccagc tgggtctgta 1680
gggccacgca ggcaggggag tcaaggggtt tctctgccc aggaagacag aacatggaga 1740
accgtcaggg caggaacccc acagactgtc ccttccagcc cacactctgc cacctcctgg 1800
ccctgtccc attctgagcc aaggcctccc cgaggcagaa gttgcctggt cctctgtccc 1860
cacagtgacc tgactggggg tgagggagaa ggaggagaga gcccatgtgt ggtgtgtgtg 1920
cccctgagaa ctctgtggtg actgcctttg ggagcccga ggtggccaga ggcaggggta 1980
gctgagttcc tggagacccc tttttgccc ccaggttccc cagagggcaa cgccatcagt 2040
agcagtgtgg tgtttcagcc agagctctgg ccaggctgtg ccagtgtgtc ccggacgcat 2100
cactaaggaa gagagagttt atttagtcaa ctggcccag gcagcagagc ttctacagtc 2160
ccacacccc tagccgctg ggtgggggtt tactgggggc tgaagttct ggacatgaac 2220
aagggtcagg tagaagagaa aggcctcccc tacaccccag cctcctgctg tcccctgaag 2280
cccaggactg cgttgtatgc tttccatcca ctcaacttac cccatagcat cttgcccgcc 2340

```

```

agaaaccaga gccatttgtc tcagacccta aatcaataat cacaaacccc aaaacgggag 2400
agagcagtga aaacatgcag ggctgtggac gggggaaggg ttgtggcggg tgttctgagg 2460
ctgagaggac acctatatgc gtatttcctc tacacacatc accccccttc tataatctta 2520
agccatgact agcctggtag cgtgttagtt tctgccagtt tctaccctct catgtgcttc 2580
ttctgaatac tgaatgtgac tgtttgaaaag ctggtagaat tcaccctctt tactgtagat 2640
aacactgcaa atcttgggat ttgttttttt gctgtttcca gatgtatcta taaatatcta 2700
tacattatat gtgtgtgtgt gtgtgtgtgt gtgtgtgtgt gtacatcggg tcctcccatg 2760
tgtgggtgtc tcttggaggt tgtctctttg gtcaagggtg acttttaatg tttattattt 2820
tcttctccgc acaaagtaaa gagcctaatt ttgtgtattc tgggtggctgc tgtcattaga 2880
tgataaaatg taaaacaaaa ctctagtcaa cgtagaaaga gttaaactgtg ctgaaaaact 2940
aataaagaac ctaagaagaa ttccagtggt gtgatgccat gcccatcatg ggaggccttt 3000
ggagaacacg aatgtttggg caggggctgc tgggtctgct tgggttttgg gttgagggtg 3060
ctaggagagg atggtctcca cccatcttct tatttccagt acacgtcaca ttattttacc 3120
ggtgagatga gaatgtcaca aacattaaaa gcct 3154

```

<210> 46

<211> 2204

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc\_feature

<223> Incyte ID No: 3555629CB1

<400> 46

```

agggcatgcg ccggtggcgt gatggagcgg cagcagcagc agcaacagca actgcgaaac 60
ctgctgtgact tccctgtggt ctacaatcgg atgacagaac tctgcttcca gcctgtgtg 120
cccagcttgc accaccgagc tctggacgct gaggaggagg cctgtgtgcc cagctgtgct 180
gggaagctga tccattccaa ccaccgcctc atggccgctt acgtgcagct catgcctgcc 240
ctggtagcagc gccgcatcgc agactacgag gctgcctcgg ctgtgccagg cgttgtctgt 300
gaacagcctg gggctctccc atcaggcagc tagccatacc caaccctcag aaggaaggcc 360
ttggatggac cctcagattg aaggaccggg tggaccttgg ggttgggtgaa tcctaaacag 420
agagaattcc aggttgcctg aaagctgggt gtctctgtct ctttctctgg agccaatata 480
cccagttttt actcagtttg atttatatc tgggcaagga agccttgcct actttatttg 540
cacaatccgt tgttctgtcg tttagtgcac atctgctggc ttcagccctg gcagctgaga 600
aattgttttc tatatgtaga aggaaaacct gagcatttgc aggcattctg ttaaagcagg 660
gtctgtgtgt acaattttaa aacgggtaat atgtcatgct cttagtctcat cttcacaca 720
aaactatgag taagcggat tagcctcact taacagatga ggaagcaaga tccagaag 780
taccagaagg tcattttata caacagaga ttggttcctg cccagatgac agaaaatggg 840
agctctgtct agttgtcctt aagtctgact gacttcagtg gctcataacc gtgagccaag 900
tatttgttgg ttcataactg ttgttttggg aactatgtct tacatgtcta gagttctgct 960
ggatctaggg aaaggaggag ctatcgaagt acaacggatc aaaaaaccac agggcctttg 1020
ggcactgcct ccttgggaag ttagtggcca cagaagagag atgaaacctg taagaagtct 1080
ggagtctttt ggaacttcag ccatttcccc aggttgttac tttcttagta tgtacagtct 1140
tctcaggatg agcagtaaaa cctttgaaca aaggctctgt tggttgtctt cacgggcaat 1200
caggaaggga gagagctggg gaccatattc tgcaatgcag ccaaatccga ggaagagaaa 1260
ctgaaggagg aagtagatgg caatggttat gataaaaagg gataaaacta aatcttccgg 1320
acttctttaa tgctacgtta atgtttcact gctcgtctag aaactcctaa atccagcttt 1380
ctatcatctg ccccacattg gtcccattg gtacattctg tgatttctaa ttccagcctc 1440
tccattcttt tctcattatt gcctcccccg ccccccaact ttgtgtaatt tacttctgta 1500
ttcagcagcc tggatagcat atcattccat caccctattt tcttgccacc attggccatc 1560
tttttgtatc attccactta ttctgtcttt tccattcctt cattcaaacct gctagagaaa 1620
aacagtgtg taatgaatgc cactaaatat tcaaggcctc caacctcagc caagtcctca 1680
caccaacacg cagtcacacc aacacacacc tttatgggtt cctgggtccat ttccttctct 1740
aattaccatg gcagttattt tacacctcta ctgctgtcct taatcccata ccccaccctc 1800
atcaggtgac cctgtttcct ttttttagaga aattgaagct cttagacatt ggtttccaca 1860
gtaataatth taaaacttct tacaactacc taaaagcag atgttctatc ctatctacag 1920
agcagaaaaa tgaattctc aagtagcaga cccgtatta aagtcagat ctgactttaa 1980
agtcctatgt cattttacac agcaggctgc ctcttaagat agtatttatt gagcacacac 2040
tttgtgtagg ttctgattht ggtagatgtc atgctttata ttaattctta caacaactat 2100
aagtgaagag tattaacctc acttaacaga tgaggagca agaatccaga atatgccaga 2160
aggcacattc tgcagatttc gtgcaaacat ttatacacag cttc 2204

```

<210> 47  
 <211> 863  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 639636CB1

<400> 47  
 cggtcgcagg gctgaggggc cgccaccgcc agcagggagg cggagggcta gcgagccaag 60  
 cggtaggggac gccgctgcct tctcttttgc ctgtctcgcc gccctcctag acacgctcct 120  
 catctacgga tcttaccctc cccgctcttg caagcattca ctccggccggt cgctctctga 180  
 ccctccttcg ccacaggctc gtagcggagg cagcagcgag gcatgaagac ccccaacgca 240  
 caggaagccg aagggcaaca aaccagggca gctgcaggac gggccactgg gtctgcaaac 300  
 atgacaaaaga aaaaagtctc ccaaaagaag cagagaggcc gaccttcac ccagcccgc 360  
 aggaacatcg tgggctgcag aatttctcat ggatggaagg aaggagatga gcccatcacg 420  
 cagtggaaag gaaccgttct ggatcagctt ctatgatgatt ataaggaagg tgacctccgc 480  
 atcatgccag aatccagtga gtctctcca acagagagg agccaggagg agttgtagat 540  
 ggcctaatag gtaagcatgt ggaatatacc aaagaagatg gctccaaaag gatcgccatg 600  
 gtcatcacc aagtggaagc caaacctct gtgtatttca tcaagtttga tgatgatttc 660  
 catatctatg tctacgattt ggtgaaaaag tcttaactgt tagggtaaaa tttggcacat 720  
 gtgtggaaac aaatgtataa tttgtagaca tgcaaaaaat gttgcctttc agtgtattga 780  
 aagcttatgg aatcctgat aactaaacat ctttgccagc attaactggt gttttgctct 840  
 aaaaaataca aacttaatga aat 863

<210> 48  
 <211> 3860  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 902218CB1

<400> 48  
 taagcttgcg gccgcgggga ggaggatggg ggctaaccag ttagtgggtgc tcaacgtgta 60  
 cgacatgtat tggatgaacg aatatacctc atccattgga attggagttt ttcattcagg 120  
 aattgaagtc tatggcagag aatttgctta tggtagccat ccttaccctt tttctggaat 180  
 atttgaaatt tccccaggaa atgcttctga actaggagaa acattttaat ttaaagaagc 240  
 gtgtgtttta gggagcacgg acttctctga agatgatata gaaaaaattg tagaagaact 300  
 gggaaaagaa tacaaggca atgcttctca ttaaatgcat aaaaactgca atcatttttc 360  
 ttcagcttta tcagagattc tttgtgggaa agagattcct cgctggatca atcgacttgc 420  
 ctacttcagc tcctgtatac cctttctaca gagttgcctc ccgaaggagt ggctcacgcc 480  
 cgcagccctg cagtctagtg tcagccaaga actccaggat gaactggagg aagcagagga 540  
 tgctgccgca tccgcttccg tggcaagcac tgcagcaggc tccagaccg ggcgcacac 600  
 taaactataa atgtctccaa agtcacacat tcagaactgt ctctggcagt cgaatatcac 660  
 tagagaaaag taaacagaga agcatccttt agatattttg tatgcaaaaga tggctctccc 720  
 ccaaatccca gtttttcagc tcaggattat atttgtaatc aaaaaaaaaa aatcacttgg 780  
 cgcaggaggg agaactttgt aagaagctgc cctctgtttt ttttatccac tcgtaaatct 840  
 ggatttattt cttctgtttt atacaagctc tgtaagttta tgtttacagt atcttgtatc 900  
 gctgtttaca aatcttgcac ggactcctgc cacagtgaaa gaagaaaatc ttcatgtctt 960  
 caaaaattag gcaggtaatc tttgtatact tctgacaatt gccagatcta tggcataaat 1020  
 aggcacacaa aaaggtactt aaacagttat agtcaccatc acctgcttca gaatggtctt 1080  
 ttagatttgt gtttgttttg ttaaagtgtt tggcaccagg atgcagagaa tcagactggc 1140  
 ctgaggtgaa ggagcacaca gccctgaggg cttggaaccc tgggtccagt tcctcttcac 1200  
 acccccttcc actctgagta gcacatctcc ccagggtgcc atggaacacc tgctttcacc 1260  
 ccaaatatcc gtcacactag gcgggggtgt atgttcttac gtctctctga ctttgatgcc 1320  
 actcattcta tagtttagct ggttttctgt caagatattc ttggtagtaa ctgacaagta 1380  
 tgttgacacat gtattggggg aggcgcttca tttttatttt aatacacatg tatttctctc 1440  
 ttgcacagga ttttgatggt gtgggaatat cctaagtggg agccttccaa gtgacagta 1500  
 gttgacattc agctgctttt aactattcag gctacccttt atactaaacc ttgaaaacta 1560  
 gaaactaatg tctaccccaa aaaagtagtt ctttgatatt ttatactttt tatgtaccat 1620

```

gtcagaaaga gtatgttggc gtttgtcatg ggactcattt cacataatag aatgcctagt 1680
ctcattgacc aatcgttaaa aaatcatatt tgtgtgtcct aagattcata tttatatgtt 1740
ctctcaaagt tatgtctctt acgtaacata ctctaagaat gaaactgtca ccacaggtaa 1800
atccttgtta gcaaggaatc tgtctgctcc agtctactcc tagtttgatc cttggatgta 1860
agaaccaagt cattacatgt caaattcaat ttttctgcct taagaatgaa tgccttcat 1920
aaaatatgg atgcagtgta acactatcca aggcagtgac ttcagcttta tatacatata 1980
aaatatagtt agtttataaa ttattgacat ttatttaaac ttttagattg gattgtttgc 2040
tattgctctg tgtgaggata cataatcttt cagtaaacctg tatttttaac tttocataa 2100
gctgattttg gttcatttta tcaacgtaag cacaccctgt tcatagggaa aataaacctt 2160
gggttataag cattagcctg aggacaatga agccacttaa cctaatttat gctttcgact 2220
gttctgtttc cagagaggaa agcctttaca aattactctc agttctttag gggcagaagg 2280
cttgtttcaa gaggtttgac agaagaaagg aatataatgaa cttaatgaga tgtcagattg 2340
gttcaggtct aaaaatgagg gcaaaacact aaggctctag cagtgacttg ttcactaaaa 2400
agagagagtc ctgtcccccag acggttagta caaagccttg gatacagttt gcttgtaata 2460
tttttaataa tgtgaggagt acagtgtttt ctaattcatt caagtatata tgatttaaac 2520
ctgggctact gcacacaca cagtagccat tagttagact ctcttagtg aatatacaga 2580
acatcccac tgtgcttaac cagaatccag caagttagca cacaagtgat tttattgtta 2640
ttttgttgta tttacttgca tttgttgtat ttactttcat ctgcagcatt tggagttaa 2700
aaataatgta aagggttcta gtagaatag tgcctaaagg ccaattacct accatacaa 2760
caatcagcag ataaaaattct ggacgtgaga ttccttataa tctaattata cctgaggttg 2820
agcaagaaat gtcttctctt agaaaatctc attcaagtca ggttcttctc tacagttcaa 2880
aattgagaat ggatttaatt aactagcatt tagccagctt tttcttgccc ttggagaaaa 2940
agaatcattc tcaacctgat aatctgttaa gaaaaatccc atatgaacaa tctggctatt 3000
aacatacata tgatacggag tctctttggt gtcaccaagt gaacatactt ctcatggttg 3060
gttgagcagt aatacatggt acagggtcag aagcttctgg tttctgctgt ttgctttaa 3120
tacccttggg gttttttttt aaacccttac aaggggagca tcagcttttg aaagtgtgac 3180
tctgtaggag tgtagaaggc agtgggtgat gatcttagcc tctgctctgat gctgaaatcc 3240
agccagctgt tgccttgacc cacagcaata gagcaagtta cccatcacca gcatttgtac 3300
agagcagggg atctctggtt tagtccattg gtagcattgt gtgtatgagg agattcaaca 3360
ccacagacag ctgcaggact cगतatccat ggcttctttc catcacaaaa cgggtagaaa 3420
cacattcact gcttcagggt tctaactctg gtgtctcctt atgactccat tctgtgaa 3480
tactctgtaa cttgatata tgctgtattt tcttctttaa aaagatttag atgtttttc 3540
agcaagctag ccatacaacc attgtatctc tttctcttca gtatggttta gagcccagat 3600
cagtttagtag gtttctgtt tcttctcttt caatacatgt acatctttac tgtttgaaaa 3660
gtgttacagc tgtcaagaa tcttcatgga cctgaagata atttctgtg aagttgaa 3720
caagtgact gtcatcata gtgtttatat caaaatacca ggaatcttca cttttgctac 3780
cttgatatag cattgggcta tcatgttaca acattgaaat acattgattt attaaaaaa 3840
acttttataa gaaaaaaaaa 3860

```

<210> 49

<211> 726

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc\_feature

<223> Incyte ID No: 1360522CB1

<400> 49

```

cccggggact aacggcgccg gtgacgactt cgccgcgcgt tggtcagcca tggccaccgc 60
tctcgcgcta cgtagcttgt accgagcgcg accctcgcct cgctgtccgc ccggttagct 120
tccctgggcc ccgcgcgag ggcatcggct ctgcggcgcg gatgacgagc tgtatcagcg 180
gacgcgcac tctctgctgc aacgcgagcg cgctcaggca atgtacatcg acagctaca 240
cagccgcggc ttcattgataa acggaaaccg cgtgctcggc ccctgcgctc tgctcccgc 300
ctcgggtggtg cagtggaaacg tgggatccca ccaggacatc accgaagaca gcttttccct 360
cttctggttg ctggagcccc ggatagagat cgtgggtggtg gggactggag accggaccga 420
gaggctgcag tcccaggctc ttcaagccat gaggcagcgg ggcattgctg tggagtgca 480
ggacacgccc aatgcctgtg ccaccttcaa cttctgtgt catgaaggcc gagtaactgg 540
agctgctctc atcccctcac caggagggac ttcacttaca tctttgggcc aagctgctca 600
atgaaccgcc aggaactgac ctgctgactg cactctgcca ggcttcccaa tgctttcaact 660
cttatctacc ctttggcact tatcttgctt atcaacataa taatttatac acttctaaaa 720
aaaaaa 726

```

<210> 50  
 <211> 2196  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 1400678CB1

<400> 50  
 gatggcgtcc atgcggggaga gogacacggg cctgtggctg cacaacaage tggggggccac 60  
 ggacgagctg tggggcgccg ccagcatcgc gtcctgtctc acggccgctg tcatcgacaa 120  
 catecgtctc tgcttccatg gcctctcgtc ggcagtgaag ctcaagttgc tactcggggac 180  
 gctgcacctc ccgcgccgca cgggtggacga gatgaagggc gccctaattg agatcatcca 240  
 gctcgccagc ctcgactcgg acccctgggt gctcatggtc gccgacatct tgaagtcctt 300  
 tccggacaca ggctcgctta acctggagct ggaggagcag aatcccaacg ttcaggatat 360  
 tttgggagaa cttagagaaa aggtgggtga gtgtgaagcg tctgccatgc tggcactgga 420  
 gtgcccagtc ttgaacaaaa acgcccctgac gaccctcgcg ggaccacctca ctcccccggt 480  
 gaagctccacg gagaccgccc agcagttgaa gcggagcgcg ggggtgccct tccacgccaa 600  
 gggccggggg ctgctgcgga agatggacac caccacccca ctcaaaggca tcccgaagca 660  
 ggcgcctctc agaagcccca cggcgcccag cgtcttcagc cccacaggga accggacccc 720  
 catcccgctt tccaggacgc tgctgcgga ggaacgaggt gtgaagctgc tggacatctc 780  
 tgagctggat atggttggcg ctggccgaga ggcgaagcgg agaaggaaga ctctcgtatc 840  
 ggaggtgggtg gagaagccgg ccaaggagga aacgggtggtg gagaacgccca ccccgacta 900  
 cgcagccggc ctgggtgtcca cgcagaaact tgggtcctc aacaatgagc ctgctgtgcc 960  
 ctccacgagc taccttccct ccacgccag cgtggttccc gcctcctcct acatccccag 1020  
 ctccgagacg cccccagccc catcttccc ggaagccagc cgcccaccag aggagcccag 1080  
 cgcccggagc cccacgttgc cagcgcagtt caagcagcgg gcgcccattgt acaacagcgg 1140  
 cctgagccct gccacacca cgcctgcggc gccacacctg cctctgacac ccaccacacc 1200  
 tccggctgtc gccctacca ctcagacacc cccggttgcc atggtggccc cgcagaccca 1260  
 ggcccctgct cagcagcagc ctaagaagaa cctgtccctc acgagagagc agatgttccg 1320  
 tgcccaggag atgttcaaga cggccaacaa agtcacgcgg cccgagaagg cctcatcct 1380  
 gggcttcatg gccggctccc gagagaaccc gtgccaggag cagggggagc tgatccagat 1440  
 caagctgagc gagcacacgg aggacctgcc caaggcggac ggccagggta gcacaacct 1500  
 gctggtggac acagtgtttg agatgaacta tgcccagggc cagtggacgc gcttcaagaa 1560  
 gtacaagccc atgaccaatg tgtcctagaa ccacctgctc cacagctggc cgtcacttgt 1620  
 ggggttccac gggacgatgg ctttgcagc ttaaagtaac cggatggcgg acacctggcc 1680  
 cccgaggtcc cccggccgccc gccctgctgc tgaccagcc tgttttaagt tctggatgca 1740  
 tttctctggg gtatttgggg cttattttta aattttta atgggttctt ttttgtgta 1800  
 ttttaagacac tttttggact caacgttaca tttttgaatg tagtaagtaa attaacaaa 1860  
 aaagttaaca cttcctaatt ttagtgacag ctctgctgt tagactctta ctttttaaaa 1920  
 tcttttctat tttccctcgc tggggcagtg ccctcctacc cccagggttg aggggaccaa 1980  
 ggtggcacgg tggtactggg ggtgcggcag ggacaccoga ccacaccaga gcgtgggaga 2040  
 cgggtggcct tgtcccctgc ctgtgcctgc ctgggagttt tgtattcatc ttttgtatag 2100  
 ttgtggacat ttaagacagt ctttgggtac ctattttcat tgtaaaaacta tctgaacct 2160  
 taaagtcgag cttttctaaa gaaaaaaaa aaaaaa 2196

<210> 51  
 <211> 1495  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 1435556CB1

<400> 51  
 gagcagaaat tcggcacgag gaaaaatctg aaatctgaaa tgctccaaaa tcctaaactt 60  
 tttgagtgct gacattatgc cacaaatgga aaatttcata cctgacctta tgtgagttgc 120  
 agtcaaaaaca caggtgcaca acaccagtt catgcaacat cccaatggg aaaaaagacc 180  
 cccccagctc tcttctgctg cagtttttct gctcacacct ggattcccca tgcattccca 240  
 caaaaagtaa ttaaatggca tgcgtgcagg ctggacacgc caacaacagg tttcccacaa 300

```

tgccccacat gggcgaagac ctgtgtgcat tactcattgc atttttttgc ttatttctctg 360
ctgtgtggta taaatatatt gttgaaaatg tcaaaaagac ctaaagatac ccctgtgaat 420
atcagtgata agaaaaagag gaagcattta tgtttatcta tagcacagaa agtcaagttg 480
ttggagaaa tggacagtgg tgtaagtgtg aaacatctta cagaagagta tgggtttgga 540
atgaccacca tatatgacct gaagaaacag aaggataaac tgttgaagtt ttatgctgaa 600
agtgatgagc agatattaat gaaaaataga aaaacacttc ataaagctaa aaatgaagat 660
cttgatcgtg tattgaaaga gtggatccgt cagcgtcgca gtgaacacat gccacttaat 720
aaaataatgt ctgacctcct tacatataca aaaaatatac atccagagac tgtcagtaag 780
tgtgaatatt caacaggctg gttgcagaaa tttaaagaaa gacatggcat taaattttta 840
aagactttg gcaataaagc atctgctggt catgaagcaa cagagaagtt tactggcaat 900
ttcagtaatg atgatgaaca agatggtaac tttgaaggat tcagtatgtc aagtggagaaa 960
aaaataatgt ctgacctcct tacatataca aaaaatatac atccagagac tgtcagtaag 1020
ctggaagaag aggatatcaa agatgttttt aacagtaata atgaggctcc agttgttcat 1080
tcattgtcca atggtgaagt aacaaaaatg gttctgaatc aagatgatca tgatgataat 1140
gataatgaag atgatgttaa cactgcagaa aaagtgccta tagacgacat ggtaaaaatg 1200
tgtgatgggc ttattaaagg actagagcag catgcatcca taacagagca agaaatcag 1260
tcagtttata aaatcaaaga gagacttcta agacaaaaag catcattaat gaggcagatg 1320
actctgaaag aaacatthaa aaaagccatc cagaggaatg cttcttcctc tctacaggac 1380
ccacttcttg gtcctcaac tgcttctgat gcttcttctc acctaaaaat aaaaataaat 1440
acagtgtaca gtaacctttt agtcaaaaaca gcatcactat tggaaaactga aagcc 1495

```

<210> 52

<211> 2794

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc\_feature

<223> Incyte ID No: 1546633CB1

<220>

<221> unsure

<222> 2705, 2709, 2711, 2713-2714, 2717, 2719, 2731, 2735-2736, 2745, 2747, 2750, 2757, 2763-2764, 2766, 2770, 2782, 2785, 2787

<223> a, t, c, g, or other

<400> 52

```

ccgcgagagc aaggagcaca gagtgcagca tcatgacaag gagatttctc gaagccgaat 60
tccccggttg attcttcggc cccatatgcc ccaacaacag cacaaaagtg cccagcctc 120
tgagtctcct ttctctgagg aagagagcag agagtccaac ccagcagct ctgggcgctc 180
agcggaggacc gttagcagca acagcttctg ctcagatgac acaggctgtc ctagcagcca 240
gtcagtgctc cctgtgaaga caccctcaga tgctggaaac agccccattg gcttttgcc 300
tggaagtgat gaaggcttca ccagaaagaa atgcacgatt ggaatggttg gtgaaggaag 360
cattcagtc tctcgatata agaaggaatc aaagtcaggc cttgtgaaac caggtagtga 420
agctgatatt agctcctcga gcagcacagg cagcatttcc gctcctgagg tccatatgtc 480
gactgcggga agcaagcggg cttcttcttc acgcaatoga ggtcctcatg ggcggagtaa 540
tggagcttcg tcacacaagc ctggcagcag cccatcatcc ccgcgggaaa aggaccttct 600
gtccatgctg tgcaggaatc agctgagccc tgtcaatata catcccagtt atgcacctc 660
ttcccaagc agtagcaact caggctccta caaaggaagc gactgtagcc ccatcatgag 720
gcgttctgga aggtacatgt cttgcgggtga aaatcatggt gtcagacccc caaacccaga 780
gcagtatttg actccactgc agcagaaaga ggtgacagtg agacacctca aaatcaagct 840
gaaggaatct gagcgccgac tccatgaaag ggaaagtgaa atcgtggagc ttaagtcca 900
gctggcccg c atgcgagag actggattga ggaggagtgt caccgggtag aggccagtt 960
ggcactcaaa gaagccagga aagagattaa acagctcaaa caggtcatcg aaacctatcg 1020
gagcagcttg gctgataaag ataaaggcat tcagaaatat ttgtggaca taacatcca 1080
aaacaagaag ctggagtctc tcttcagag catggagatg gcacacagtg gctctctgag 1140
ggacgaactg tgccatgact ttccatgtga ttcccagag aagagcttaa cctcaacc 1200
ccctcttgac acaatggcag atgggttatc tctggaagag caggctcagg gggagggggc 1260
tgacagggag ctactggtag gagatagcat agccaacagc acagatttgt tcgatgagat 1320
agtgcagccc accaccacag aatctggtga cctggagctt gtgcattcca ccctggggc 1380
taacgtcctg gagctgctgc ccatagtcac gggctcaggag gagggcagtg tgggtgtgga 1440
gcgagccggt cagaccgacg tgggtcccta cagcccagcc atctcagagc tcattcagag 1500
tgtgctgcag aagctccagg acccctgtcc ctcgagcttg gcgtcccctg atgagtctga 1560

```

```

accagactcg atggagagct tcccagagtc cctctctgcc ttagtggttg atttaactcc 1620
aagaaatcca aactcagcca tccttttgct tcccgtggag accccctacg ccaatgtgga 1680
tgacagaagt catgcaaacc gcctcatgag agagctggat ttgacagcct gcgtggaaga 1740
gaggttgat ggtgcatccc cactggctcg cgggggcgtg gtgaggcagt actggagcag 1800
cagcttccct gtggatctcc tggctgtggc tgcccccggt gccccacgg ttctgtgggc 1860
atcagtact cagagagggg gaacggatcc tgtgtataac atcggggcct tgctcagggg 1920
ctgttgctgt gttgccctgc attcgcctcc cgcaccgcc ttccgtatca aaacctaat 1980
agaagtgtt gttaccgtgt gccaatgtgt cccatgtggg ttgtgccagg tagagaaaca 2040
ggaagtcaat catctgtgac agtctctatt ctgtcgtttt gctccttggg atttgatttg 2100
cactatattt agttgaagcc tgttactgtt ttaaaaccgg aggtatcttc aaaggcatgg 2160
agacctggtt ccagtaaatg tcccaccagt ggggtataga aagcatgctc atgacctgct 2220
cgtgtcgtct gaggtaccgg ttcttatcct agtggttcag gaagagaaaa cgcagtttgc 2280
actttcaaga cagcttctct aaggctggca tgttatctcc ttgctttgct ttttgccgtt 2340
ttaaagtgtg taattgttcc agcattccaa tggctctgtg catagcaggg gactgtaacc 2400
aaaaataaac atgtatttgt gtaattgggt tgaagaagtc ttgaatagct ctttactgct 2460
tactttgggg ttgataagat ttgagtgttt gcaatttttt actaaatgta gctccaaaag 2520
cttaaattggc ttgtttgttc ttaaactggt aattgatgaa actgtgcata agtttacaat 2580
gtactaactt attttgctta ttatatatag tgttttattg gaaattgtaa ccacacactt 2640
cagcatgatg aaaataaaga ttagtgtttc catttaaata aatgttttat cctcccata 2700
aaatnaagna ngnntnang ggggaggttt ncaannttgg gttgnanaan atttagngcc 2760
ttnnngtgnn tcggggggtt gngcnangca aaaa 2794

```

<210> 53  
<211> 1516  
<212> DNA  
<213> Homo sapiens

<220>  
<221> misc\_feature  
<223> Incyte ID No: 1794031CB1

```

<400> 53
acgggatctg gatgagctgg acaaggatca tttacagttg agagaagcct gggatggcct 60
cgatcaccag ataatgcat ggaaaataaa gctaaattat gccttgcccc caccctcca 120
tcaaaactgaa gcttggctcc aggaggtaga agagcttatg gatgaagatt tgcagcctc 180
ccaggatcac tctcaagccg tgactctgat acaagagaaa atgactttat tcaagagcct 240
gatggataga tttgagcatc attcgaacat tctccttacc tttgaaaata aggatgaaaa 300
tcacttgcca ttggtaccac ctaacaaatt ggaggaatg aaaagacgaa tcaacaacat 360
tttggagaaa aaatttattc tacttctaga atttcattac tacaagtgtc tagttcttgg 420
tttggtagat gaagtgaat caaaattgga tatttggaac attaaatag ggagcagaga 480
atctgtggaa ttattgctgg aagactggca taaatttatt gaagaaaaag aattcctagc 540
tcgacttgat acttcttttc aaaaatgtgg agaaatttat aagaatttgg ctggagaatg 600
tcagaatatt aataaacagt atatgatggt gaaatctgat gtttgtatgt atagaaaaaa 660
tatatataat gtgaagtcca ctctacaaaa agtgctggca tgttgggcta cttatgtgga 720
aaaccttcgc ttactaaggg cttgctttga ggagacaaag aaggaagaaa ttaaagaggt 780
accttttgag acactagccc agtggaaatc agaacacgct actttaaatg aagcaggaaa 840
tttcttagtc gaagtcagca atgatgtggt tggatcatct atttctaaag aactgagaag 900
gctgaataaa agatggagaa agttggtttc aaaaactcaa cttgaaatga acctgccact 960
gatgataaaa aacaggatc agcccacttt tgacaattct ggaaatattc tatctaaaga 1020
agagaaaagca actgttgagt ttcaacaga tatgtcagta gaacttcctg aaaattataa 1080
tcaaaatata aaggctggag agaaacatga aaaagaaaat gaagaattca cagggcaact 1140
aaaagtggct aaagatgttg aaaaactcat tggataagtg gaaatctggg aggcagaagc 1200
caaatctggt ttggatcaag atgatgtgga cacctcaatg gaagaatctt tgaaggtagt 1260
tgtgtaaaag tattaagagg gtactttcat ggttgtgcat ttatgtttta agttaaataa 1320
gaagttttaa agtaagtagt aataagccta cagttttaat tttctttggt gggagtttta 1380
aaaatgaatg gattttatcc ctggatcatt tgctgttatt ttgcttgaca gcagaggata 1440
gattaggaga cactgataa tacctatgaa tgttaagctc ttggacttat tttcttagct 1500
ataacatggg ggttaa 1516

```

<210> 54  
<211> 1146  
<212> DNA  
<213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 2060563CB1

<400> 54  
 tgccgcctg ccaccctgcc gccctgccgc cctgccgccc tgccgcctg ccgccggtgg 60  
 tcgctgccc tggtgctccg tcgccccgc cacctcacgt cctcccgtgc gtcgggagcg 120  
 tctcggctac aacatgttgg gcatgatcaa gaactcgtg ttccgaagcg tagagacgtg 180  
 gccttggcag gtcctaagca aaggggacaa ggaagaagt gcctatgaag aaagggcctg 240  
 tgaagcggcg aaatttgcca cagtagaagt gacagataag cctgtggatg aggctctacg 300  
 ggaagcaatg cccaaggtcg caaagtatgc ggggggcacc aatgacaagg gaattgggat 360  
 ggggatgaca gtccctatct cctttgctgt gttcccaat gaagatggct cctgcagaa 420  
 gaaattaaaa gtctggttcc ggattccaaa ccaatttcaa agcgaccac cagctcccag 480  
 tgacaaaagc gttaaagatt aggaacggga aggcatcact gtctattcca tgcagtttgg 540  
 tggttatgcc aaggaagcag actacgtagc acaagccacc cgtctcgtg ctgccctgga 600  
 gggcacagcc acctaccggg gggacatcta cttctgcaeg ggttatgacc ctcccagaa 660  
 gccctacgga cggcgcaatg agatctggct gttgaagaca tgagtgacc actgaaccaa 720  
 gaacttactg gaagtgtgcc tctgtgtctc cttctcggg ggtaaggagg ggacagtct 780  
 tcccagttc cagctgcaag tccaacttaa ccaactttcc ttcaaagtca gttactgcca 840  
 atttctgaa aaaagcatgt tccatatact aagtctcttt tctcacagta ggaaataata 900  
 cagccaagat atgcagcatc cttctcattg atgtagaaaa ttctgcgata gaccagaaaa 960  
 atcctggcag cttttctcca ggcattctgg tcaactaaaa ctgattttct aaaattatg 1020  
 gatttgatt ttgttattaa gggggaaaat gtgatttgtg cctgatcttt catctgtgat 1080  
 tcttataaga gctttgtctt cagaaaaact aaaaataaaa ggcattgact taaaaaaaaa 1140  
 aaaaaa 1146

<210> 55  
 <211> 2761  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Incyte ID No: 2573955CB1

<400> 55  
 cggctcgagg ctgagaccga gtagtaccga ggggtctccg tcacgtgcca ggagtaggca 60  
 gaagtgggct gtgacagatc aggaacaga gctcagtgca gccactaaa ttgctcaggg 120  
 ccctacagct aacaagcggc agaggcagga tctgcactca ggagctgctt ggagatgctg 180  
 ctgtggccac tgctgctgct gctgctgctg ctgccaacat tggccctgct caggcagcag 240  
 cggctcccagg atgccaggct gtccctggctt gctggcctcc agcaccgagt ggcattgggg 300  
 gccctgggtct gggcagccac cttggcagcgg cggaggctgg agcagagcac gctccatgtg 360  
 caccagagcc agcagcaggc cctgagggtg tctctacagg gagcccagcg cccccactgt 420  
 tccctcagaa ggagcacgga cataagcacc ttccggaatc atctccctct gaccaaggcc 480  
 agccagaccc agcaggaaga cagtggagag cagccactgg ccccgacctc aaaccaggac 540  
 cttggggagg cctctctgca gcccacctg ctgggtctgg cagccctaaa caaggcctac 600  
 ccagaagtgc tggctcaggg acgcactgcc cgtgtgacgc ttacatcccc ttggccccga 660  
 cccctgcctt ggcctgggaa taccctgggc caggtgggca cccctggaac caaggacct 720  
 agggccctgc tgctggacgc actgaggctc ccagggtga gggcactgga ggctgggacg 780  
 gctgtcgaac ttctggatgt ttctctgggc ctggagactg atggtgaaga gctagctggg 840  
 gcgatagctg ccgggaaccc tggagcgcct ctccgtgac gggcagctga gctccgggag 900  
 gccctagagc aggggccacg gggactggcc cttcggctct ggccaaagct gcaggtgggtg 960  
 gtgactctgg atgcaggagg ccaggccag gctgtggctg cctcggggc cttgtggtgc 1020  
 caaggactag ccttctctc tctgcttat gctgcctcgg gaggggtgct gggcctaaac 1080  
 ctacagccag agcagcccca tgggctctac cttctgccc ctggggcccc ctttatcgag 1140  
 ctgctcccag tcaaggagg caccagagg gaagctgcct ccacctcct tttggccgag 1200  
 gccagcagg gcaaggagta tgagctggtg ctgacggacc gcgccagcct caccaggtgc 1260  
 cgctgggtg atgtggtgc agtgggtggt gcctacaatc agtgtccagt cgtcaggttc 1320  
 atctgcaggc tggaccagac cctgagtgtg cgaggggaa atattggtga agacctgttc 1380  
 tctgaggccc tgggcccggc agtggggcag tgggcccggg ccaagctgct ggaccatggc 1440  
 tgtgtggaga gcagcattct ggattcctct ggggctctg ctcccacta cgagggtttt 1500  
 gtggcgctga ggggctgag gaatctgtca gaggaaaatc gagacaagct ggaccactgc 1560  
 cttcaggaag cctctcccc ctacaagctc ctgctggtct ggggcagcgt gggccctgcc 1620

```

agagtccacc tgggtggggca ggggagccttc cgagcactcc gggcagccct cgctgcctgc 1680
ccctcctccc ccttcccccc tgcgatgccc cgggtccttc ggcacaggca cctggcccag 1740
tgtctgcagg agaggggtgt gtcttgagtc aagtcctgcc ccaccgcca gctccccca 1800
gaggccacct cgccccctcc tctgggacct ctccggatgg ggagtccttg gccaggggtc 1860
ctgactctgt gtcacctgac atttgcccat gagagccgct gggccttaga gaggccttgg 1920
cccagctgac cgtttctgaa gtatgggcct ccggggttag cagatgccag cagtgcctgc 1980
ccgtgtcccc atgtcccggc atgaaggaca ctgctagaga gttaccatgc acaccgatgg 2040
tttctgtat cacagcccaa agaggttctc tgggtggccac agctgtgtgc tcagtcagt 2100
cactgggcaa gctagaagtg ttgggggggtt aatgtcccca ggagcagcaa ccctgagtca 2160
ataaggagca ggacctcagc ttcatgtgcc ttgagcagga caattctgaa gtgtattcta 2220
cataaactct cagaggatgc ccagcaggat ggagtcctcag ttgcccgcag cagtaacca 2280
ctcattcatg tacttctctc gggggctctc ccttccctct ctccccact cccccctt 2340
gggttctctg gtagggctcc caaataaacc tcttgacccc agaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2400
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2460
ggggggccgt ctatggggtc caggtttagg tacgggtgca tgggaggtca tagctctct 2520
aaggtgtccc ctaatttcat ttcacgggag gtggttttaa aaggtcgtga ctgggaaaac 2580
cctgggggta ccaattttaa tgcctttgag gaaattcccc ttttggcaag ttggggtaat 2640
agcgaagggg ccgcacgggt tggcctttcc aaaaatttgg ccctctgat tggcgattgg 2700
gacgcgcctg taggggggtt ttaagccggc ggttttgggt gttacgccgg tgaccggtta 2760
c

```

<210> 56

<211> 1164

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc\_feature

<223> Incyte ID No: 3404792CB1

<400> 56

```

atcatggcag ggctgggctc cgatccctgg tggaaagaaa ccctttactt gaccggggga 60
gctttgctgg ccgcagctgc gtatctgctc cacgaaactcc tggtcattag gaaacagcaa 120
gagattgact ctaagatgc tattattttg catcagtttg caagacctaa caatgggtgt 180
ccaagtttat ctctttctg ttaaaagatg gaaacttatt taaggatggc tgacttaccg 240
tatcagaact attttggtyg aaaactctct gctcaagggg aaatgccttg gatgaaat 300
aatcatgaaa aagtttctgg cacagaattc ataattgact ttctggaaga gaagcttgg 360
gtgaatttaa acaaaaacct tggccctcat gaaagagcca tctccagagc ggtgaccaag 420
atgggtggagg agcacttcta ctggacggtt gcttattgcc agtgggtgga caatctcaat 480
gagaccggga agatgctctc tcttagtggt ggtggtccct tcagcaacct gctgaggtgy 540
gttgtgtgcc acataacgaa aggaattgtg aaacgcgaga tgcacggcca cggcattggc 600
cgcttctccg aggaagagat ttacatgctg atggagaagg acatgcggtc tttagcaggg 660
cttttgggtg ataagaagta catcatgggg cccaagcttt ccactcttga cgcactgtc 720
tttggacact tggcacaggc aatgtggacc ttaccagggg caagaccgga acggctgatc 780
aaaggtgagc tgatcaacct tgccatgtac tgtgagagga taaggaggaa atttggcca 840
gagtgggacc acgatgatga caatccatc tatgagtctg aggagagcag cgaaggcagc 900
aaaaccaca ccccgctgct ggatttttagc ttttactcaa ggacagagac ctttgaagat 960
gagggagcag aaaacagttt ttccagaacc ccagacacag attttactgg aactcactc 1020
tttgattcgg atgtggacat ggatgactat acagaccacg aacagtgcaa gtgacgtcca 1080
gcctcactga cctcttctc tgggacctgc cactccctgg gtcgggtccat tttcccaggt 1140
agcaatccat ccgagctggg agga

```

## 【國際調查報告】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No P. /US 00/25435					
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 C12N15/12 C07K14/47 C12N15/63 C12N5/10 A01K67/027 C12P21/00 C07K16/18 C12Q1/68 A61K38/17 G01N33/53 A61P43/00					
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC					
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 C07K					
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched					
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)					
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT					
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages				Relevant to claim No.
A	LIU ET AL.: "Isolation of 10 differentially expressed cDNAs in differentiated Nuro2a cells induced through controlled expression of the GD3 synthase gene" JOURNAL OF NEUROCHEMISTRY, vol. 72, 1999, pages 1781-1790, XP000992245				
A	-& LIU ET AL.: "Homo sapiens mRNA for ganglioside-induced differentiation associated protein 1" EMBL SEQUENCE DATABASE, 31 July 1998 (1998-07-31), XP002163336 HEIDELBERG DE Ac Y17849 the whole document --- -/--				
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.					
* Special categories of cited documents:					
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance			"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention		
"E" earlier document but published on or after the international filing date			"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone		
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)			"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.		
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means			"&" document member of the same patent family		
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed					
Date of the actual completion of the international search 21 March 2001			Date of mailing of the international search report 29.06.01		
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 CEDER O.		

3

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

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
 P. US 00/25435

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>ABDELHAK S ET AL: "A HUMAN HOMOLOGUE OF THE DROSOPHILA EYES ABSENT GENE UNDERLIES BRANCHIO-OTO-RENAL (BOR) SYNDROME AND IDENTIFIES A NOVEL GENE FAMILY"            NATURE GENETICS,US,NEW YORK, NY,            vol. 15, no. 2,            1 February 1997 (1997-02-01), pages            157-164, XP002071634            ISSN: 1061-4036            cited in the application            ---</p>	
A	<p>HOLMES G P ET AL: "DISCTINCT BUT OVERLAPPING EXPRESSION PATTERNS OF TWO VERTEBRATE SLIT HOMOLOGS IMPLIES FUNCTIONAL ROLES IN CNS DEVELOPMENT AND ORGANOGENESIS"            MECHANISMS OF DEVELOPMENT,ELSEVIER SCIENCE IRELAND LTD,IE,            vol. 79, 1998, pages 57-72, XP000912208            ISSN: 0925-4773            cited in the application            ---</p>	
X	<p>NCI-CGAP: "wg81e08.x1            Soares NSF F8 9W OT PA P S1 Homo sapiens cDNA cTone IMAGE:2371526 3' similar to TR:088741 088741 GANGLIOSIDE-INDUCED DIFFERENTIATION ASSOCIATED PROTEIN 1. ;,            mRNA sequence"            EMBL SEQUENCE DATABASE,            30 June 1999 (1999-06-30), XP002163337            HEIDELBERG DE            Ac AI768135            the whole document            ---</p>	1,3,12
X	<p>NCI-CGAP: "wg81f07.x1            Soares NSF F8 9W OT PA P S1 Homo sapiens cDNA cTone IMAGE:2371525 3' similar to TR:088741 088741 GANGLIOSIDE-INDUCED DIFFERENTIATION ASSOCIATED PROTEIN 1. ;,            mRNA sequence"            EMBL SEQUENCE DATABASE,            30 June 1999 (1999-06-30), XP002163338            HEIDELBERG DE            Ac AI768145            the whole document            ---            -/--</p>	1,3,12

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

P /US 00/25435

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	HILLIER ET AL.: "au43h04.y1 Schneider fetal brain 00004 Homo sapiens cDNA clone IMAGE:2517559 5' similar to TR:088741 088741 GANGLIOSIDE-INDUCED DIFFERENTIATION ASSOCIATED PROTEIN I. ;, mRNA sequence" EMBL SEQUENCE DATABASE, 12 July 1999 (1999-07-12), XP002163339 HEIDELBERG DE Ac AI815750 the whole document	1,3,12
X	HILLIER ET AL.: "au43h04.y1 Schneider fetal brain 00004 Homo sapiens cDNA clone IMAGE:2517559 3' similar to TR:088741 088741 GANGLIOSIDE-INDUCED DIFFERENTIATION ASSOCIATED PROTEIN I. ;, mRNA sequence" EMBL SEQUENCE DATABASE, 12 July 1999 (1999-07-12), XP002163340 HEIDELBERG DE Ac AI815943 the whole document	1,3,12
X	FUJIWARA, T.: "Human fetal brain cDNA 5'-end GEN-413E12" EMBL SEQUENCE DATABASE, 29 September 1996 (1996-09-29), XP002163341 HEIDELBERG DE Ac C15942 the whole document	1,3,12
A	US 5 739 009 A (HAWKINS PHILLIP R ET AL) 14 April 1998 (1998-04-14) the whole document	1-28
A	WO 98 41634 A (INCYTE PHARMA INC ;WILDE CRAIG G (US); GOLI SURYA K (US)) 24 September 1998 (1998-09-24) the whole document	1-28
E	WO 00 58473 A (CURAGEN CORP ;LEACH MARTIN (US); SHIMKETS RICHARD A (US)) 5 October 2000 (2000-10-05) seq id nos 6299 and 6300 abstract; claims	1-19,22, 25-28

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/US 00/25435**Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)**

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

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

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

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

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

**Remark on Protest**

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

## FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

## Continuation of Box I.1

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

## Continuation of Box I.1

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

## Continuation of Box I.2

Claims Nos.: 20 21 23 24

Claims 20,21,23,24 refers to agonists/antagonists identified by the method of claim 19 or 22 without giving a true technical characterization. Moreover, no such compounds are specifically defined in the description. It is only indicated that they "may include proteins" (such as antibodies)", nucleic acids, carbohydrates, small molecules, or any other compound or composition which modulates the activity of CDIFF either by directly interacting with CDIFF or by acting on components of the biological pathway in which CDIFF participates." (page 9 lines 19-22; page 10 lines 19-23). In consequence the scope of said claims is ambiguous and vague, and their subject-matter is not sufficiently disclosed and supported ( Art. 5 and 6 PCT). No search can be carried out for such claims whose wording is, in fact, a mere recitation of the results to be achieved.

Claims 8 and 32 refers to transgenic organisms and have only been searched as far as they concerns non-human transgenic organisms.

Since the sequence listing for Seq. Id. No. 18 has not been correctly submitted no search could be performed for claims 1-28 as far as they concern Seq. Id. No. 18.

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 EPD policy when acting as an International Preliminary Examining Authority is normally not to carry out a preliminary examination on matter which has not been searched. This is the case irrespective of whether or not the claims are amended following receipt of the search report or during any Chapter II procedure.

## FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

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

1. Claims: 1-28 all partially

An isolated polypeptide and a polynucleotide encoding it; a recombinant polynucleotide containing a promoter sequence operatively linked to the above polynucleotide and cells transformed with it and transgenic organisms containing it; method for producing the polypeptide and an antibody binding to it; methods for detecting and using the polynucleotide; methods for screening for compounds that binds to and/or modulates (the activity of) the polypeptide or polynucleotide; limited to Seq. Id. Nos. 1 and 29, respectively.

2. Claims: 1-28 all partially

Subject matter as defined for invention 1 above, but limited to Seq. Id. Nos. 2 and 30.

3. Claims: 1-28 all partially

Subject matter as defined for invention 1 above, but limited to Seq. Id. Nos. 3 and 31.

4. Claims: 1-28 all partially

Subject matter as defined for invention 1 above, but limited to Seq. Id. Nos. 4 and 32.

5. Claims: 1-28 all partially

Subject matter as defined for invention 1 above, but limited to Seq. Id. Nos. 5 and 33.

6. Claims: 1-28 all partially

Subject matter as defined for invention 1 above, but limited to Seq. Id. Nos. 6 and 34.

7. Claims: 1-28 all partially

Subject matter as defined for invention 1 above, but limited to Seq. Id. Nos. 7 and 35.

8. Claims: 1-28 all partially

Subject matter as defined for invention 1 above, but limited to Seq. Id. Nos. 8 and 36.

9. Claims: 1-28 all partially

Subject matter as defined for invention 1 above, but limited to Seq. Id. Nos. 9 and 37.

## FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

## 10. Claims: 1-28 all partially

Subject matter as defined for invention 1 above, but limited to Seq. Id. Nos. 10 and 38.

## 11. Claims: 1-28 all partially

Subject matter as defined for invention 1 above, but limited to Seq. Id. Nos. 13 and 41.

## 12. Claims: 1-28 all partially

Subject matter as defined for invention 1 above, but limited to Seq. Id. Nos. 14 and 42.

## 13. Claims: 1-28 all partially

Subject matter as defined for invention 1 above, but limited to Seq. Id. Nos. 15 and 43.

## 14. Claims: 1-28 all partially

Subject matter as defined for invention 1 above, but limited to Seq. Id. Nos. 16 and 44.

## 15. Claims: 1-28 all partially

Subject matter as defined for invention 1 above, but limited to Seq. Id. Nos. 17 and 45.

## 16. Claims: 1-28 all partially

Subject matter as defined for invention 1 above, but limited to Seq. Id. Nos. 18 and 46.

## 17. Claims: 1-28 all partially

Subject matter as defined for invention 1 above, but limited to Seq. Id. Nos. 19 and 47.

## 18. Claims: 1-28 all partially

Subject matter as defined for invention 1 above, but limited to Seq. Id. Nos. 20 and 48.

## 19. Claims: 1-28 all partially

Subject matter as defined for invention 1 above, but limited to Seq. Id. Nos. 21 and 49.

## 20. Claims: 1-28 all partially

Subject matter as defined for invention 1 above, but limited to Seq. Id. Nos. 23 and 51.

## FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

## 21. Claims: 1-28 all partially

Subject matter as defined for invention 1 above, but limited to Seq. Id. Nos. 24 and 52.

## 22. Claims: 1-28 all partially

Subject matter as defined for invention 1 above, but limited to Seq. Id. Nos. 25 and 53.

## 23. Claims: 1-28 all partially

Subject matter as defined for invention 1 above, but limited to Seq. Id. Nos. 26 and 54.

## 24. Claims: 1-28 all partially

Subject matter as defined for invention 1 above, but limited to Seq. Id. Nos. 27 and 55.

## 25. Claims: 1-28 all partially

Subject matter as defined for invention 1 above, but limited to Seq. Id. Nos. 28 and 56.

## 26. Claims: 29-35 all partially

An isolated polynucleotide; a recombinant polynucleotide containing a promoter sequence operatively linked to the above polynucleotide and cells transformed with it and transgenic organisms containing it; method for producing a polypeptide; method for screening for compounds modulating the polynucleotide; methods for using the polynucleotide; limited to Seq. Id. Nos. 12 and 40, respectively.

## 27. Claims: 29-35 all partially

Subject matter as defined for invention 26 above, but limited to Seq. Id. Nos. 22 and 50.

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International Application No  
PCT/US 00/25435

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5739009 A	14-04-1998	AU 5378498 A EP 0944721 A WO 9826067 A	03-07-1998 29-09-1999 18-06-1998
WO 9841634 A	24-09-1998	AU 6867998 A	12-10-1998
WO 0058473 A	05-10-2000	AU 3774500 A	16-10-2000

## 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 7/00	4 C 0 8 4
5/14		7/06	4 C 0 8 5
7/00		9/00	4 C 0 8 6
7/06		9/10	4 H 0 4 5
9/00			1 0 1
9/10		13/12	
	1 0 1	15/00	
13/12		17/00	
15/00		17/06	
17/00		19/02	
17/06		21/00	
19/02		21/04	
21/00		25/00	
21/04		25/02	
25/00			1 0 1
25/02		25/08	
	1 0 1	25/14	
25/08		25/16	
25/14		25/18	
25/16		25/22	
25/18		25/28	
25/22		27/02	
25/28		27/06	
27/02		27/12	
27/06		27/16	
27/12		29/00	
27/16		35/00	
29/00		35/02	
35/00		C 0 7 K 14/47	
35/02		16/18	
C 0 7 K 14/47		C 1 2 N 1/15	
16/18		1/19	
C 1 2 N 1/15		1/21	
1/19		C 1 2 P 21/02	C
1/21		C 1 2 Q 1/02	
5/10		1/68	A
C 1 2 P 21/02		G 0 1 N 33/15	Z
C 1 2 Q 1/02		33/50	Z
1/68		33/53	M
G 0 1 N 33/15		33/566	
33/50		A 6 1 K 31/7088	
33/53		39/395	D
33/566			N
// A 6 1 K 31/7088		48/00	
39/395		C 1 2 N 15/00	Z N A A
		5/00	A

48/00

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), 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 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 レディ、ルーパ  
アメリカ合衆国カリフォルニア州94086・  
サニーベイル・#3・ウェストマッキンレ  
ーアベニュー 1233
- (72)発明者 ラル、ブリーティ  
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
- (72)発明者 シャー、パルビ  
アメリカ合衆国カリフォルニア州95133・  
サンノゼ・ソルトレークドライブ 859
- (72)発明者 アジムザイ、ヤルダ  
アメリカ合衆国カリフォルニア州94545・  
ハイワード・ロックスプリングスドライブ  
2045
- (72)発明者 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 リュ、デュング・アイナ・エム  
アメリカ合衆国カリフォルニア州95136・  
サンノゼ・パークベルモントプレイス 55
- (72)発明者 バンドマン、オルガ  
アメリカ合衆国カリフォルニア州94043・  
マウンテンビュー・アンナアベニュー  
366

- (72)発明者 シー、レオ・エル  
 アメリカ合衆国カリフォルニア州94303・  
 パロアルト・アパートメント ビー・タン  
 ランドドライブ 1081
- (72)発明者 パターソン、チャンドラ  
 アメリカ合衆国カリフォルニア州94025・  
 メンロパーク・# 1・シャーウッドウェイ  
 490

F ターム(参考) 2G045 AA40 DA12 DA13 DA14 FB02  
 4B024 AA01 AA11 BA80 CA04 CA09  
 DA06 GA11 HA12  
 4B063 QA01 QA05 QA18 QQ20 QQ41  
 QR31 QR55 QR62 QS25 QS34  
 4B064 AG01 CA01 CA19 CC24 DA01  
 4B065 AA26X AA77X AA80X AA88X  
 AA90X AA93Y AB01 AC14  
 BA02 CA24 CA44 CA46  
 4C084 AA02 AA06 AA07 AA13 AA17  
 BA01 BA08 BA21 BA22 CA18  
 MA13 MA16 MA43 MA52 MA56  
 MA57 MA59 MA60 MA63 MA66  
 MA70 NA14 ZA022 ZA052  
 ZA062 ZA082 ZA152 ZA182  
 ZA212 ZA222 ZA332 ZA342  
 ZA362 ZA452 ZA512 ZA552  
 ZA752 ZA812 ZA892 ZA942  
 ZA962 ZB112 ZB262 ZB272  
 ZC042 ZC062 ZC082 ZC212  
 4C085 AA12 AA13 AA16 AA19 BB11  
 BB41 CC02 CC03 CC04 CC05  
 CC22 CC23  
 4C086 AA01 AA02 EA16 MA01 MA04  
 NA14 ZA02 ZA06 ZA15 ZA33  
 ZA45 ZA51 ZA55 ZA75 ZA81  
 ZA89 ZA94 ZA96 ZB11 ZB26  
 ZB27 ZC04 ZC08 ZC21  
 4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 BA10  
 CA40 DA75 EA50 FA72

专利名称(译)	参与细胞分化的蛋白质		
公开(公告)号	<a href="#">JP2003527092A</a>	公开(公告)日	2003-09-16
申请号	JP2001523637	申请日	2000-09-14
[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	タングワイトム ヒルマンジェニファーエル ユエヘンリー レディルーパ ラルプリーティ シャーパルビ アジムザイヤルダ ボーグンマライアアール リュデュングアイナエム バンドマンオルガ シーレオエル パターソンチャンドラ		
发明人	タング、ワイトム ヒルマン、ジェニファー・エル ユエ、ヘンリー レディ、ルーパ ラル、プリーティ シャー、パルビ アジムザイ、ヤルダ ボーグン、マライア・アール リュ、デュング・アイナ・エム バンドマン、オルガ シー、レオ・エル パターソン、チャンドラ		
IPC分类号	G01N33/50 A61K31/7088 A61K38/00 A61K39/395 A61K45/00 A61K48/00 A61P1/16 A61P3/12 A61P5/00 A61P5/14 A61P7/00 A61P7/06 A61P9/00 A61P9/10 A61P13/12 A61P15/00 A61P17/00 A61P17/06 A61P19/02 A61P21/00 A61P21/04 A61P25/00 A61P25/02 A61P25/08 A61P25/14 A61P25/16 A61P25/18 A61P25/22 A61P25/28 A61P27/02 A61P27/06 A61P27/12 A61P27/16 A61P29/00 A61P35/00 A61P35/02 C07K14/47 C07K16/18 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C12N15/09 C12P21/02 C12Q1/02 C12Q1/68 G01N33/15 G01N33/53 G01N33/566		
CPC分类号	A01K2217/05 A61K38/00 A61K48/00 A61P1/16 A61P3/12 A61P5/00 A61P5/14 A61P7/00 A61P7/06 A61P9/00 A61P9/10 A61P13/12 A61P15/00 A61P17/00 A61P17/06 A61P19/02 A61P21/00 A61P21/04 A61P25/00 A61P25/02 A61P25/08 A61P25/14 A61P25/16 A61P25/18 A61P25/22 A61P25/28 A61P27/02 A61P27/06 A61P27/12 A61P27/16 A61P29/00 A61P35/00 A61P35/02 A61P43/00 C07K14/47		
FI分类号	A61K45/00 A61P1/16 A61P3/12 A61P5/00 A61P5/14 A61P7/00 A61P7/06 A61P9/00 A61P9/10 A61P9/10.101 A61P13/12 A61P15/00 A61P17/00 A61P17/06 A61P19/02 A61P21/00 A61P21/04 A61P25/00 A61P25/02 A61P25/02.101 A61P25/08 A61P25/14 A61P25/16 A61P25/18 A61P25/22 A61P25/28 A61P27/02 A61P27/06 A61P27/12 A61P27/16 A61P29/00 A61P35/00 A61P35/02 C07K14/47 C07K16/18 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12P21/02.C C12Q1/02 C12Q1/68.A G01N33/15.Z G01N33/50.Z G01N33/53.M G01N33/566 A61K31/7088 A61K39/395.D A61K39/395.N A61K48/00 C12N15/00.ZNA.A C12N5/00.A A61K37/02		

2G045/AA40 2G045/DA12 2G045/DA13 2G045/DA14 2G045/FB02 4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/BA80 4B024/CA04 4B024/CA09 4B024/DA06 4B024/GA11 4B024/HA12 4B063/QA01 4B063/QA05 4B063/QA18 4B063/QQ20 4B063/QQ41 4B063/QR31 4B063/QR55 4B063/QR62 4B063/QS25 4B063/QS34 4B064/AG01 4B064/CA01 4B064/CA19 4B064/CC24 4B064/DA01 4B065/AA26X 4B065/AA77X 4B065/AA80X 4B065/AA88X 4B065/AA90X 4B065/AA93Y 4B065/AB01 4B065/AC14 4B065/BA02 4B065/CA24 4B065/CA44 4B065/CA46 4C084/AA02 4C084/AA06 4C084/AA07 4C084/AA13 4C084/AA17 4C084/BA01 4C084/BA08 4C084/BA21 4C084/BA22 4C084/CA18 4C084/MA13 4C084/MA16 4C084/MA43 4C084/MA52 4C084/MA56 4C084/MA57 4C084/MA59 4C084/MA60 4C084/MA63 4C084/MA66 4C084/MA70 4C084/NA14 4C084/ZA022 4C084/ZA052 4C084/ZA062 4C084/ZA082 4C084/ZA152 4C084/ZA182 4C084/ZA212 4C084/ZA222 4C084/ZA332 4C084/ZA342 4C084/ZA362 4C084/ZA452 4C084/ZA512 4C084/ZA552 4C084/ZA752 4C084/ZA812 4C084/ZA892 4C084/ZA942 4C084/ZA962 4C084/ZB112 4C084/ZB262 4C084/ZB272 4C084/ZC042 4C084/ZC062 4C084/ZC082 4C084/ZC212 4C085/AA12 4C085/AA13 4C085/AA16 4C085/AA19 4C085/BB11 4C085/BB41 4C085/CC02 4C085/CC03 4C085/CC04 4C085/CC05 4C085/CC22 4C085/CC23 4C086/AA01 4C086/AA02 4C086/EA16 4C086/MA01 4C086/MA04 4C086/NA14 4C086/ZA02 4C086/ZA06 4C086/ZA15 4C086/ZA33 4C086/ZA45 4C086/ZA51 4C086/ZA55 4C086/ZA75 4C086/ZA81 4C086/ZA89 4C086/ZA94 4C086/ZA96 4C086/ZB11 4C086/ZB26 4C086/ZB27 4C086/ZC04 4C086/ZC08 4C086/ZC21 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/CA40 4H045/DA75 4H045/EA50 4H045/FA72

優先権 60/154140 1999-09-15 US  
60/169155 1999-12-06 US

外部リンク [Espacenet](http://Espacenet)

摘要(译)

本发明提供了参与细胞分化的人蛋白质 (CDIFF) 以及鉴定和编码 CDIFF 的多核苷酸。本发明还提供表达载体, 宿主细胞, 抗体, 激动剂和拮抗剂。此外, 本发明还提供了用于诊断, 治疗或预防与CDIFF表达有关的疾病的方法。

配列番号	アミノ酸配列	配列番号	アミノ酸配列
1	1481124	1481124	STGKSTGK... (SEQ ID NO: 1)
2	1714645	1714645	STGKSTGK... (SEQ ID NO: 2)
3	1860333	1860333	STGKSTGK... (SEQ ID NO: 3)
4	1956551	1956551	STGKSTGK... (SEQ ID NO: 4)
5	2004983	2004983	STGKSTGK... (SEQ ID NO: 5)
6	2004983	2004983	STGKSTGK... (SEQ ID NO: 6)
7	2021257	2021257	STGKSTGK... (SEQ ID NO: 7)
8	2122247	2122247	STGKSTGK... (SEQ ID NO: 8)
9	2155404	2155404	STGKSTGK... (SEQ ID NO: 9)
10	2161705	2161705	STGKSTGK... (SEQ ID NO: 10)
11	2484154	2484154	STGKSTGK... (SEQ ID NO: 11)
12	2551257	2551257	STGKSTGK... (SEQ ID NO: 12)
13	3113123	3113123	STGKSTGK... (SEQ ID NO: 13)
14	3113123	3113123	STGKSTGK... (SEQ ID NO: 14)