

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4174183号
(P4174183)

(45) 発行日 平成20年10月29日(2008.10.29)

(24) 登録日 平成20年8月22日(2008.8.22)

(51) Int.Cl.

F I

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C O 7 K 14/47 (2006.01)

C O 7 K 14/47

C O 7 K 19/00 (2006.01)

C O 7 K 19/00

A 6 1 K 38/00 (2006.01)

A 6 1 K 37/02

A 6 1 K 31/711 (2006.01)

A 6 1 K 31/711

請求項の数 9 (全 156 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2000-606748 (P2000-606748)
 (86) (22) 出願日 平成12年3月1日(2000.3.1)
 (65) 公表番号 特表2003-527074 (P2003-527074A)
 (43) 公表日 平成15年9月16日(2003.9.16)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2000/005601
 (87) 国際公開番号 W02000/056889
 (87) 国際公開日 平成12年9月28日(2000.9.28)
 審査請求日 平成13年9月25日(2001.9.25)
 (31) 優先権主張番号 60/125,774
 (32) 優先日 平成11年3月23日(1999.3.23)
 (33) 優先権主張国 米国(US)
 (31) 優先権主張番号 60/125,778
 (32) 優先日 平成11年3月23日(1999.3.23)
 (33) 優先権主張国 米国(US)

(73) 特許権者 596168317
 ジェネンテック・インコーポレーテッド
 GENENTECH, INC.
 アメリカ合衆国カリフォルニア・9408
 0-4990・サウス・サン・フランシス
 コ・ディーエヌエー・ウェイ・1
 (74) 代理人 100109726
 弁理士 園田 吉隆
 (74) 代理人 100101199
 弁理士 小林 義敦
 (72) 発明者 デスノイヤーズ, ラック
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 941
 33, サン フランシスコ, ストックトン
 ストリート 2050

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 分泌及び膜貫通ポリペプチドとそれをコードする核酸

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

以下の (a) 又は (b) の核酸によりコードされる単離されたポリペプチドを含んでなる、軟骨細胞の再分化を誘導するための組成物：

(a) 配列番号：1 に示されているヌクレオチド配列を有する核酸、

(b) (a) の核酸と相補的なヌクレオチド配列からなる核酸とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、軟骨細胞の再分化を誘導するポリペプチドをコードする核酸。

【請求項 2】

以下の (a) 又は (b) の単離されたポリペプチドを含んでなる、軟骨細胞の再分化を誘導するための組成物：

(a) 配列番号：2 に示されているアミノ酸配列を有するポリペプチド、

(b) (a) のアミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸が置換、欠失又は付加されたアミノ酸配列からなり、軟骨細胞の再分化を誘導するポリペプチド。

【請求項 3】

以下の (a) 又は (b) の核酸によりコードされる単離されたポリペプチドを含んでなる、軟骨細胞の再分化を誘導するための組成物：

(a) ヌクレオチド配列が配列番号：1 に示されているヌクレオチド配列の完全長コード化配列である核酸、

(b) (a) の核酸と相補的なヌクレオチド配列からなる核酸とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、軟骨細胞の再分化を誘導するポリペプチドをコードする核酸。

【請求項 4】

以下の (a) 又は (b) の単離されたポリペプチドを含んでなる、軟骨細胞の再分化を誘導するための組成物：

(a) アミノ酸配列が配列番号：2 のシグナルペプチドを欠く、該配列番号：2 に示されているポリペプチド、

(b) (a) のアミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸が置換、欠失又は付加されたアミノ酸配列からなり、軟骨細胞の再分化を誘導するポリペプチド。

【請求項 5】

異種アミノ酸配列と融合したポリペプチドを含むキメラ分子を含んでなる、軟骨細胞の再分化を誘導するための組成物であって、前記ポリペプチドが以下の (a) 又は (b) の核酸によりコードされる単離されたポリペプチドを含んでなる組成物：

(a) ヌクレオチド配列が配列番号：1 に示されているヌクレオチド配列の完全長コード化配列である核酸、

(b) (a) の核酸と相補的なヌクレオチド配列からなる核酸とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、軟骨細胞の再分化を誘導するポリペプチドをコードする核酸。

【請求項 6】

異種アミノ酸配列と融合したポリペプチドを含むキメラ分子を含んでなる、軟骨細胞の再分化を誘導するための組成物であって、前記ポリペプチドが以下の (a) 又は (b) の単離されたポリペプチドを含んでなる組成物：

(a) アミノ酸配列が配列番号：2 のシグナルペプチドを欠く、該配列番号：2 に示されているポリペプチド、

(b) (a) のアミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸が置換、欠失又は付加されたアミノ酸配列からなり、軟骨細胞の再分化を誘導するポリペプチド。

【請求項 7】

前記異種アミノ酸配列がエピトープタグ配列である、請求項 5 又は 6 に記載の組成物。

【請求項 8】

前記異種アミノ酸配列が免疫グロブリンの Fc 領域である、請求項 5 又は 6 に記載の組成物。

【請求項 9】

インビトロにおいて軟骨細胞の再分化を誘導するための方法であって、細胞培養培地に請求項 1 ないし 8 の何れか一項に記載の組成物を添加して細胞を培養することを含んでなる軟骨細胞の再分化を誘導するための方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

(発明の分野)

本発明は、一般的に新規な DNA の同定と単離及び新規なポリペプチドの組換え生産に関する。

【0002】

(発明の背景)

細胞外タンパク質は、特に、多細胞生物の形成、分化及び維持において重要な役割を担っている。多くの個々の細胞の運命、例えば増殖、遊走、分化又は他の細胞との相互作用は、典型的には、他の細胞及び/又は直近の環境から受け取る情報に支配される。この情報は、しばしば分泌ポリペプチド(例えば、分裂促進因子、生存因子、細胞障害性因子、分化因子、神経ペプチド、及びホルモン)により伝達され、これが、今度は多様な細胞レセプター又は膜結合タンパク質により受け取られ解釈される。これらの分泌ポリペプチド又はシグナル分子は、通常は細胞分泌経路を通過し、細胞外環境におけるその作用部位に到達する。

分泌タンパク質は、製薬、診断、バイオセンサー及びバイオリアクターを含む、様々な産業上の利用性を有している。血栓溶解剤、インターフェロン、インターロイキン、エリスロポエチン、コロニー刺激因子、及び種々の他のサイトカインのような、現在入手可能な

10

20

30

40

50

大抵のタンパク質薬物は分泌タンパク質である。膜タンパク質であるそのレセプターもまた治療又は診断用薬剤としての可能性を有している。新規な未変性の分泌タンパク質を同定する努力が産業界と学术界の両方によってなされている。多くの努力が新規な分泌タンパク質のコード配列を同定するために哺乳類組換えDNAライブラリのスクリーニングに注がれている。スクリーニング方法及び技術の例は文献に記載されている[例えば、Kleinら, Proc. Natl. Acad. Sci. 93;7108-7113(1996); 米国特許第5,536,637号を参照されたい]。

【0003】

膜結合タンパク質とレセプターは、とりわけ、多細胞生物の形成、分化及び維持において重要な役割を担っている。多くの個々の細胞の運命、例えば増殖、遊走、分化又は他の細胞との相互作用は、典型的には他の細胞及び/又は直近の環境から受け取る情報に支配される。この情報は、しばしば分泌ポリペプチド(例えば、分裂促進因子、生存因子、細胞障害性因子、分化因子、神経ペプチド、及びホルモン)により伝達され、これが次に多様な細胞レセプター又は膜結合タンパク質により受け取られ解釈される。このような膜結合タンパク質と細胞レセプターは、これらに限定されるものではないが、サイトカインレセプター、レセプターキナーゼ、レセプターホスファターゼ、細胞-細胞間相互作用に関与するレセプター、及びセレクチン及びインテグリンのような細胞接着分子を含む。例えば、細胞の増殖及び分化を調節するシグナルの伝達は、様々な細胞タンパク質のリン酸化により部分的に調節される。そのプロセスを触媒する酵素であるプロテインチロシンキナーゼはまた成長因子レセプターとしても作用しうる。具体例には、繊維芽細胞増殖因子及び神経成長因子レセプターが含まれる。

膜結合タンパク質とレセプター分子は、製薬及び診断薬を含む、様々な産業上の利用性を有している。例えば、レセプターイムノアドヘシンはレセプター-リガンド間相互作用を阻止する治療薬として使用することができる。膜結合タンパク質はまた、関連するレセプター/リガンド間相互作用の可能性のあるペプチド又は小分子インヒビターをスクリーニングするために使用することもできる。

新規な未変性のレセプター又は膜結合タンパク質を同定するための努力が産業界と学术界の双方によってなされている。多くの努力が、新規なレセプター又は膜結合タンパク質のコード配列を同定するために、哺乳動物の組換えDNAライブラリのスクリーニングに注がれている。

【0004】

1. PRO1484

脂質分化は、細胞形態の変化、細胞内脂質の劇的な蓄積及び遺伝子発現の特異的プログラムの活性化を伴う(Liang 等., J. Biol. Chem. 271:10697-10703(1996))。脂質補体関連タンパク質は、その発現が含脂質細胞分化において高頻度で誘導され、そして補体因子C1q、コラーゲンアルファ1(x)及び脳特異的因子セレベリンのサブユニットと顕著な相同性を共有する(Scherer 等., J. Biol. Chem. 270: 26746-26749(1995))。含脂肪細胞補体関連タンパク質の機能は現時点では不明であるが、その組織特異的発現は、このタンパク質が脂質組織において新規なシグナリング分子として機能していることを示唆している。従って、含脂質細胞補体関連タンパク質と相同性を有する新規なポリペプチドを同定及び特徴付けることは、重要な関心事である。本出願において、我々は、ここにおいてPRO1484ポリペプチドと命名された含脂質細胞補体関連タンパク質と相同性を有する新規なポリペプチドの同定及び特徴付けについて記載する。

【0005】

2. PRO4334

形質細胞膜グリコプロテインPC-1が対象である。PC-1のクローニングは、当該技術が記載されている、すなわち、Buckley, 等., J. Biol. Chem., 265(29): 17506-11(1990)及びWO9519570-Aを参照のこと。WO9519570-Aには、ヒトインシュリン受容体チロシンキナーゼ阻害剤PC-1について記載されている。WO9519570-Aには、PC-1が、インシュリン非依存性賦形剤(mellitus)のような不適切なインシュリンレセプターチロシンキナーゼ阻害剤の

発現が関与する疾患の診断及び治療に有用であることが報告されている。従って、PC-1と相同性を有するタンパク質が対象である。

【 0 0 0 6 】

3 . P R O 1 1 2 2

サイトカイン、インターロイキン 1 7 (IL-17)は上皮、内皮、及び線維芽細胞を刺激し、IL-6、IL-8のようなサイトカイン、及び顆粒球コロニー刺激因子、並びにプロスタグランジン E 2 を分泌することが報告されている。更に、IL-17の存在下で培養したとき線維芽細胞が好中球へのCD34+優先成熟の増殖を維持しうることが示されている。従って、IL-17はT細胞依存性炎症反応の初期イニシエーター及びノ又は免疫系を造血へ橋渡しするサイトカインネットワークの要素を構成していることが示唆されている。Yaoら, J. Immunol., 155(12):5483-5486 (1995); Fossiezら, J. Exp. Med., 183(6):2593-2603 (1996); Kennedyら, J. Interferon Cytokine Res., 16(8):611-617 (1996)を参照されたい。従って、IL-17と間違えられたCTLA-8を含むIL-17に関連したタンパク質 (Kennedy, 上掲を参照のこと) が対象である。

【 0 0 0 7 】

4 . P R O 1 8 8 9

E48抗原は、ヒトタンパク質のLY-6ファミリーに属するシステイン高含有GPI-固着化膜タンパク質 (GPI-anchored membrane protein)である (例えば、WO96/35808を参照のこと)。E48抗原は、細胞 - 細胞 / 細胞 - マトリックス接着の生物活性を示す扁平細胞のマーカーとして貢献し、抗体を基本とする免疫療法の標的である。以前、E48抗原のアミノ酸配列は、頭部と首の癌の扁平細胞から得られたcDNAクローンから推定された。従って、E48抗原は、扁平細胞癌の治療のための潜在的な標的として貢献する。本出願において、我々は、ここにおいてP R O 1 8 8 9 ポリペプチドと命名されたE48抗原タンパク質と相同性を有する新規ポリペプチドの同定と特徴付けについて記載する。

【 0 0 0 8 】

5 . P R O 1 8 9 0

レクチンによる炭水化物の認識は、真核生物生理の様々な側面において重要な役割を担うことがわかった。多数の異なる動物及び植物レクチンファミリーが存在するが、最近最も注目を集めているのはカルシウム依存性、又はC型のレクチンである。例えば、セレクトインファミリーのカルシウム依存性レクチンによる、内皮細胞又は白血球上の炭水化物残基の認識は、白血球の炎症部位への輸送が極めて重要であることがわかった。Lasky, L., Ann. Rev. Biochem., 64, 113-139 (1995)。これらの接着性相互作用の生物物理学的分析は、この場合に生じたレクチン - 炭水化物結合が、脈管構造の高い剪断条件下での白血球と内皮との接着を可能にすることを示唆した。よって、そのようなレクチンによる迅速な炭水化物認識は、血流の高い剪断したで必要なリガンドの迅速な獲得を可能にする。この場合のC型レクチンの生理学的用途は、急性炎症の部位で起こる事が観察された白血球のローリング現象に必要な、これらの相互作用の比較的低い親和性によっても支持される。マンノース結合タンパク質 (Weisら, Science 254, 1608-1615 [1991]; Weisら, Nature 360 127-134 [1992]) 及びE-セレクトイン (Gravesら, Nature 367(6463), 532-538 [1994]) の結晶構造は、種々の突然変異誘発分析 (Erbeら, J. Cell. Biol. 119(1), 215-227 [1992]; Drickamer, Nature 360, 183-186 [1992]; Iobstら, J. Biol. Chem., 269(22), 15505-15511 [1994]; Koganら, J. Biol. Chem. 270(23), 14047-14055 [1995]) と共に、C型レクチンが、一般的に、クラスター形成した炭水化物の迅速な認識に関連するという仮定に一致する。また、これらのデータは、C型レクチンが、炭水化物の迅速で比較的低親和性の認識を通して重要な生理学的現象を行うことを示唆した。

多くの生物学的プロセスにおけるレクチンタンパク質の明らかな重要性が与えられたので、新規なレクチンタンパク質又はレクチンタンパク質と配列相同性を持つタンパク質を作る努力が現在なされている。本出願において我々は、ここにおいてP R O 1 8 9 0 ポリペプチドと命名する、レクチンタンパク質に相同性を持つ新規なポリペプチドの同定及び特徴付けについて記載する。

10

20

30

40

50

【 0 0 0 9 】

6 . P R O 1 8 8 7

酵素タンパク質は食物の消化、巨大分子の生合成、化学エネルギーの利用及び放出の制御、及び生命維持に必要な他のプロセスに関与する化学反応において重要な役割を担っている。また、酵素は種々の病気及び疾患に抗するという、重要な役割を担っていることも示されている。例えば、肝臓のカルボキシルエステラーゼは、ガンのプロドラッグに対するヒト腫瘍細胞の感作を助成することが報告されている。Danksらは、Rh30ヒト横紋筋肉腫細胞においてカルボキシルエステラーゼをコードするcDNAが安定して発現していると、CP T-11ガンプロドラッグに対する細胞の感受度が8.1倍増加すると報告している。Cancer Res. (1998)58(1):20-22。著者は、このプロドラッグ/酵素複合体を、ガンシクロビル/単純疱疹ウイルスチミジンキナーゼと5-フルオロシトシン/シトシンデアミナーゼの組合せを用いた研究下で現在なされているアプローチに類似した形で治療用に利用可能であると提案している。van Peltらは、55kDのヒト肝臓カルボキシルエステラーゼが、培養中の主要なヒト肝細胞へのプラスモジウム・ファルシバルム(Plasmodium falciparum)マラリアスポロゾイトの侵入を阻害することを示している。J Hepatol(1997)27(4):688-698。また、カルボキシルエステラーゼは、薬剤、農薬及び他の生体異物の解毒に重要であることが見出されている。精製されたヒト肝臓カルボキシルエステラーゼは、コカインやヘロインを含む、種々の薬剤の代謝に関与していることが示されている。Prindelらは、コカイン及びヘロインの加水分解を触媒し、ヒト組織におけるこれらの薬剤の分解において重要な役割を担っている、広い基質特異性のヒト肝臓カルボキシルエステラーゼのクローニング及び精製について記載している。J.Biol.Chem.(1997)6:272(23):14769-14775。Brzenzinskiらはカルボキシルエステラーゼにより代謝される環境エステル又は薬剤の同定に使用される分光光度競合阻害アッセイについて記載している。Drug Metab Dispos(1997)25(9):1089-1096。

10

20

カルボキシルエステラーゼの補足的参考資料として、Kroetzら.(Biochemistry, (1993) 32(43):11606-17)は、ヒト肝臓カルボキシルエステラーゼのcDNAクローニング及び特徴付けを報告している。Aida等.(Biochem Biophys Acta(1993)1174(1):72-4)は、マウス肝臓カルボキシルエステラーゼ中のオス優性カルボキシルエステラーゼのcDNAクローニングと特徴付けについて報告している。

カルボキシルエステラーゼによりなされる重要な生理学的役割に鑑みて、新規な未変性カルボキシルエステラーゼ相同体を同定するための努力が、産業界及び学術界の両方でなされている。我々は、本出願において、カルボキシルエステラーゼに対して相同性を有する新規なポリペプチドの同定及び特徴づけについて記載する。

30

【 0 0 1 0 】

7 . P R O 1 7 8 5

抗酸化酵素は、固有宿主の組織中の移動において、寄生虫である住血吸虫マンソンの生存にとって重要な役割を担うと考えられている。最近、抗酸化酵素の一つであるグルタチオンペルオキシダーゼがクローン化された。Roche, 等., Gene, 138:149-152(1994)、信託番号GSHC_SCHMA。グルタチオンペルオキシダーゼは、FR2689906-Aに記載されている。従って、グルタチオンペルオキシダーゼ及びこれをコードする核酸は、診断試薬、ワクチンとして、及び抗酸化酵素の修飾因子の発見のためのアッセイにおいて有用である。

40

【 0 0 1 1 】

8 . P R O 4 3 5 3

セマホリンは、発生において軸索誘導に関与している大きなタンパク質ファミリーを構成する。セマホリンYは、末梢神経の成長の阻害に利用できる可能性がある。セマホリンZは、中枢神経伸張の阻害剤として有用である。セマホリンZ中枢神経再生のプロモーターとして使用できる。従って、セマホリン及びその調節因子は、大きな興味の対象である。Kikuchi, 等., Brain Res Mol Brain Res., 51(1-2):229-37(1997); Shoji, 等., Development, 125(7):1275-83(1998)。

【 0 0 1 2 】

50

9 . P R O 4 3 5 7

新規な未変性の分泌タンパク質を同定する努力が産業界と学术界の双方によってなされている。多くのそれらの努力が、新規な分泌タンパク質のコード配列を同定するために哺乳類組換えDNAライブラリーのスクリーニングに注がれている。我々は本出願において、ここにおいて P R O 4 3 5 7 ポリペプチドと命名された新規分泌ポリペプチドの同定と特徴付けについて記載する。

【 0 0 1 3 】

1 0 . P R O 4 4 0 5

新規な未変性の膜貫通レセプタータンパク質を同定する努力が産業界と学术界の双方によってなされている。多くのそれらの努力が、新規な膜貫通受容体タンパク質のコード配列を同定するために哺乳類組換えDNAライブラリーのスクリーニングに注がれている。我々は本出願において、ここにおいて P R O 4 4 0 5 ポリペプチドと命名された新規膜貫通レセプターポリペプチドの同定と特徴付けについて記載する。

【 0 0 1 4 】

1 1 . P R O 4 3 5 6

グリコシルホスファチジルイノシトール(GPI)固着プロテオグリカンは一般的に細胞表面に局在化し、よって多くの成長因子、細胞接着分子及び細胞外マトリクス成分に対する細胞の反応の調節に含まれることが知られている。転移関連GPI固着タンパク質 (MAGPIAP) は、これらの細胞表面タンパク質の一つであり転移に含まれることがわかっている。転移は、形質転換された又は悪性の細胞が移動し、癌を一方の部位から他方へ拡げる癌の形態である。従って、転移及びMAGPIAPに関連するポリペプチドの同定は興味の対象である。

【 0 0 1 5 】

1 2 . P R O 4 3 5 2

カドヘリンは大きなファミリーの膜貫通タンパク質である。カドヘリンには、事実上、多細胞生物の全ての固体組織において細胞-細胞接着を媒介するように機能するカルシウム依存性糖タンパク質のファミリーが含まれる。少なくともカドヘリン1-13並びにB、E、EP、M、N、P及びR型が同定され、特徴づけられている。幾つかの例外はあるが、カドヘリンの機能の中でも、カドヘリンが細胞凝集に関与しており、細胞-細胞接着部位に付随していることが知られている。最近、全てのカドヘリンが、細胞外ドメインの折り畳みに対応すると考えられているカドヘリン特異的モチーフの多重反復を分かち持つが、カドヘリンスーパーファミリーのメンバーは多様な構造、及びおそらくは機能を有していることが報告されている。特に、カドヘリンスーパーファミリーのメンバーはシグナル伝達に関連していることが報告されている。Suzuki, J. Cell. Biochem., 61(4):531-542(1996)を参照のこと。カドヘリンはさらに、Taniharaら, J. Cell Sci., 107(6):1697-1704(1994)、Ablerら, J. Cell. Biochem., 61(4):514-523(1996)、Obataら, Cell Adhes. Commun., 6(4):323-33(1998)及びTaniharaら, Cell Adhes. Commun., 2(1):15-26(1994)にも記載されている。

プロトカドヘリンは脳内に高度に発現されるカドヘリンスーパーファミリーのメンバーである。ある研究では、プロトカドヘリンは細胞接着活性を示した。Sanoら, EMBO J., 12(6):2249-2256 (1993)を参照されたい。しかしながら、研究では、ある種のプロトカドヘリン、例えばプロトカドヘリン3 (Pcdh3又はpc3とも称される)が強いカルシウム依存性凝集活性を示さないことも示されている。この研究とPcdh3の更なる特徴についてはSagoら, Genomics, 29(3):631-640 (1995)を参照されたい。従って、pc3に関連する分子は極めて興味深い。さらに興味深いのは、Koch,ら., Differentiation, 47(1):29-36(1991)に記載されている接着斑(デスモソームマル)カドヘリンのサブタイプである。

特に興味深いのは、Amagai, 等., Cell, 67(5): 869-77(1991)に記載のタンパク質と相同的な配列を有するタンパク質である。この研究は、細胞接着の疾患である天疱瘡の新規上皮カドヘリンに対する抗体について記載している。さらに興味の対象は、全長カドヘリンである。さらには、新規カドヘリンである脂肪腫瘍抑制遺伝子と相同性を有するたんぱく質が対象である。

10

20

30

40

50

【 0 0 1 6 】

1 3 . P R O 4 3 8 0

新規な未変性の分泌タンパク質を同定する努力が産業界と学术界の双方によってなされている。多くのそれらの努力が、新規な分泌タンパク質のコード配列を同定するために哺乳類組換えDNAライブラリーのスクリーニングに注がれている。我々は本出願において、ここにおいて P R O 4 3 8 0 ポリペプチドと命名された新規分泌ポリペプチドの同定と特徴付けについて記載する。

【 0 0 1 7 】

1 4 . P R O 4 3 5 4

新規な未変性の分泌タンパク質を同定する努力が産業界と学术界の双方によってなされている。多くのそれらの努力が、新規な分泌タンパク質のコード配列を同定するために哺乳類組換えDNAライブラリーのスクリーニングに注がれている。我々は本出願において、ここにおいて P R O 4 3 5 4 ポリペプチドと命名された新規分泌ポリペプチドの同定と特徴付けについて記載する。

10

【 0 0 1 8 】

1 5 . P R O 4 4 0 8

新規な未変性の分泌タンパク質を同定する努力が産業界と学术界の双方によってなされている。多くのそれらの努力が、新規な分泌タンパク質のコード配列を同定するために哺乳類組換えDNAライブラリーのスクリーニングに注がれている。我々は本出願において、ここにおいて P R O 4 4 0 8 ポリペプチドと命名された新規分泌ポリペプチドの同定と特徴付けについて記載する。

20

【 0 0 1 9 】

1 6 . P R O 5 7 3 7

インターロイキン - 1 は、炎症反応の初期において主役を担う二つのタンパク質 (IL-1 α 及び IL-1 β) に相当する (参考として、Dinarello, Blood, 87: 2095-2147(1996) 及びこの中の参考文献)。両タンパク質は、生物学的に活性な成熟カルボキシル末端17kDa断片を産出するために分泌時に切断される細胞内前駆体タンパク質として生成される。IL-1 β の場合、この切断は、不活性前駆体から活性断片を遊離するのに必要なICEとして知られている細胞内システインプロテアーゼを伴う。IL-1 α の前駆体は、活性である。

これら二つのタンパク質は、殆ど全ての細胞型に見られる細胞表層レセプターへ結合し、単独或いは他の分泌因子との協力で一連の反応を誘発することによって作用する。これらの反応は、増殖 (例えば繊維芽細胞、T-細胞)、アポトーシス (例えばA375黒色腫細胞)、サイトカイン誘発 (例えばTNF, IL-1, IL-8の)、レセプター活性化 (例えばE-セクレチン)、エイコサノイド生産 (例えばPGE2)、及び分解酵素 (例えばコラゲナーゼ) の分泌への影響へ及ぶ。これらの効果を達成するために、IL-1はNF-KB及びAP-1などの転写因子を活性化する。標的細胞へのIL-1作用の活性の幾つかは、ストレスによって活性化するMAPキナーゼJNK/SAPK及びp38のような細胞ストレスにも関連しているキナーゼ (リン酸化酵素) カスケードの活性化を通して媒体されると考えられている。

30

IL-1ファミリーの三番目のメンバーはその後発見され、IL-1レセプターへ結合するが、細胞内シグナル又は生物反応を伝達しないことによってIL-1 α 及びIL-1 β の天然アンタゴニストとして作用する。このタンパク質は、IL-1Ra (IL-1アンタゴニストレセプターを意味する) 又はIRAP (IL-1レセプターアンタゴニストタンパク質を意味する) と呼ばれる。少なくとも、IL-1Raの三つの選択的スプライス型が存在する：一つは分泌タンパク質をコードし、他の二つは細胞内タンパク質をコードする。IL-1 α 、IL-1 β 及びIL-1Raは、互いにおよそ25-30%の配列同一性を示し、内部三重繰り返し構造モチーフを伴う、 β -バレルへ折り畳まれている12本の β -ストランドから成る類似の三次元構造を共有する。

40

【 0 0 2 0 】

三つの既知のIL-1レセプターサブユニットがある。活性受容体複合体は、I型レセプター及びIL-1付属タンパク質 (IL-1RAcP) から成る。I型レセプターは、IL-1 α 、IL-1 β 及びIL-1Raリガンドの結合を担い、IL-1RAcPの不在の下において結合することが可能である。

50

しかし、シグナル伝達は、IL-1 α 又はIL-1 β とIL-1RAcPの相互作用を必要とする。IL-1RaはIL-1RAcPと相互作用せず、それ故にシグナル伝達を誘導することができない。三番目のレセプターサブユニット、II型レセプターは、IL-1 α 及びIL-1 β と結合するが、その細胞内ドメインの欠損によってシグナルを伝達することができない。それ代わって、II型レセプターは、その膜結合形態によっておとりとして、或いは加工、分泌形態によってIL-1アンタゴニストとして作用し、それによってIL-1活性を阻害する。II型レセプターIL-1Raへ弱く結合する。

IL-1Ra、I型IL-1レセプターの細胞外ドメインから派生した可溶性IL-1R、IL-1 α 又はIL-1 β への抗体、及びこれらの遺伝子のためのトランスジェニックノックアウトマウスを用いた研究は、IL-1が幾つかの病理生理学的役割を担うことを示している（参考として、Dinarello, Blood, 87: 2095-2147(1996)を参照のこと）。例えば、IL-1Raは、敗血性ショック、リウマチ様関節炎、移植片対宿主病（GVHD）、脳梗塞、心臓虚血、乾癬、炎症性腸疾患、及び喘息の動物モデルに効果があることが示されている。さらに、IL-1Raは、リウマチ様関節炎及びGVHDの臨床試験において効果を示し、炎症性腸疾患、喘息及び乾癬の臨床試験においても同様である。

さらに最近では、インターロイキン18（IL-18）がIL-1ファミリーに位置付けられた（参考として、Dinarello ら, J. Leukocyte Biol., 63:658-664(1998)を参照のこと）。IL-18は、 β -プリーツ、IL-1 α 及びIL-1 β のバレル様形状を共有する。さらには、IL-18は、IL-1R関連タンパク質（IL-1Rrp）（現在、IL-18レセプター（IL-18R）として知られている）として以前知られていたIL-1レセプターファミリーメンバーの天然リガンドである。IL-18は、活性細胞でのTNF生産を含む、リンパ球及びNK細胞の構成性IL-18レセプターの誘発による末梢血単核球（PBMCs）の混合集団の炎症サイトカインカスケードを惹起することが示されている。TNFは、次々とCD14+細胞のIL-1及びIL-8の生産を刺激する。IL-18のTNF、IL-1、及びC-CとC-X-Cケモカイン（炎症性細胞遊走因子）を誘導する能力のため、そしてIL-18が核因子6B（NF- κ B）の核移行と同様にFasリガンドを誘導することから、IL-18は、他の炎症促進サイトカインと共に全身及び局所性炎症への寄与因子ようであると位置付けられている。

【0021】

17. PRO4425

新規な未変性の分泌タンパク質を同定する努力が産業界と学术界の双方によってなされている。多くのそれらの努力が、新規な分泌タンパク質のコード配列を同定するために哺乳類組換えDNAライブラリーのスクリーニングに注がれている。我々は本出願において、ここにおいてPRO4425ポリペプチドと命名された新規分泌ポリペプチドの同定と特徴付けについて記載する。

【0022】

18. PRO5990

セクレトグラニンタンパク質（secretogranin proteins）（例えばsecretogranin I及びII）は、種々の内分泌細胞と神経細胞の分泌顆粒に見出されている。Schimmel, A ら, FEBS Lett. 314(3):375-80(1992) ; Gerdes, H.H. ら, J.Biol.Chem.264(20):12009-15. セクレトグラニンタンパク質の潜在的機能としては、調節ペプチドを含む分泌産物のパッケージングである。Chanat, E. ら, FEBS Lett. 351(2):225-30(1994) ; Rosa, P. 等., J.Cell.Biol.101(5):1999-2011(1985) ; Gorr, S.U. ら, Am.J.Physiol.257(2):E247-54(1989). セクレトグラニンは、多くの状況において生物マーカーとして成功裏に使用されてきた。例えば、セクレトグラニンIIは、内分泌系腫瘍のための免疫組織化学的なマーカーとして重要性を得ている。Fischer-Colbrie, R. ら, J.Biol.Chem. 265(16): 9208-13(1990)を参照のこと。Eder らは、患者集団中のセクレトグラニンIIのクロモグラニンに対する比率が著しく一定であることを見出し、この比率が神経ペプチドのような他のペプチドのCSFレベルを標準化するためのパラメーターとして使用できることを示唆している。Eder, U., ら, J.Neural Transm., 105(1):39-51(1998)。

我々は本出願において、ここにおいてPRO5990ポリペプチドと命名されたセクレト

10

20

30

40

50

グラニンと配列類似性を有する新規ポリペプチドの同定と特徴付けについて記載する。

【 0 0 2 3 】

1 9 . P R O 6 0 3 0

新規な未変性の膜貫通レセプタータンパク質を同定する努力が産業界と学術界の双方によってなされている。多くのそれらの努力が、新規な膜貫通レセプタータンパク質のコード配列を同定するために哺乳類組換えDNAライブラリーのスクリーニングに注がれている。我々は本出願において、ここにおいて P R O 6 0 3 0 ポリペプチドと命名された新規膜貫通レセプターポリペプチドの同定と特徴付けについて記載する。

【 0 0 2 4 】

2 0 . P R O 4 4 2 4

新規な未変性の分泌タンパク質を同定する努力が産業界と学術界の双方によってなされている。多くのそれらの努力が、新規な分泌タンパク質のコード配列を同定するために哺乳類組換えDNAライブラリーのスクリーニングに注がれている。我々は本出願において、ここにおいて P R O 4 4 2 4 ポリペプチドと命名された新規分泌ポリペプチドの同定と特徴付けについて記載する。

【 0 0 2 5 】

2 1 . P R O 4 4 2 2

リゾチームは、乳、涙及び唾液を含む分泌液及び幾つかのヒトの組織に幅広く分布しているタンパク質である。それは、N-アセチルグルコサミン間の結合を加水分解することが証明されている。毒性酸素フリーラジカルの生成及び走化性のインヒビターであることが証明されており、また石灰化プロセスにおいてある役割を有している。このように、リゾチームに対して相同性を有する新規なポリペプチドの同定にはかなりの関心がある。Nakano及びGraf, Biochem. Biophys. Acta, 1090(2):273-6(1991)。

【 0 0 2 6 】

2 2 . P R O 4 4 3 0

新規な未変性の分泌タンパク質を同定する努力が産業界と学術界の双方によってなされている。多くのそれらの努力が、新規な分泌タンパク質のコード配列を同定するために哺乳類組換えDNAライブラリーのスクリーニングに注がれている。我々は本出願において、ここにおいて P R O 4 4 3 0 ポリペプチドと命名された新規分泌ポリペプチドの同定と特徴付けについて記載する。

【 0 0 2 7 】

2 3 . P R O 4 4 9 9

新規な未変性の膜貫通レセプタータンパク質を同定する努力が産業界と学術界の双方によってなされている。多くのそれらの努力が、新規な膜貫通レセプタータンパク質のコード配列を同定するために哺乳類組換えDNAライブラリーのスクリーニングに注がれている。我々は本出願において、ここにおいて P R O 4 4 9 9 ポリペプチドと命名された新規膜貫通レセプターポリペプチドの同定と特徴付けについて記載する。

【 0 0 2 8 】

(発明の要約)

1 . P R O 1 4 8 4

本出願において「 P R O 1 4 8 4 」と命名され、新規ポリペプチドをコードし、脂肪細胞補体関連タンパク質をコードする核酸と相同性を有するcDNAクローン (DNA4486-1653) が同定された。

一実施態様においては、本発明は、 P R O 1 4 8 4 ポリペプチドをコードするDNAを含んでなる単離された核酸分子を提供する。

一側面では、単離された核酸分子は、(a) F i g 2 (配列番号 : 2) を含めたアミノ酸残基の約1又は約23から約246の配列を有する P R O 1 4 8 4 ポリペプチドをコードするDNA分子、又は (b) (a) のDNA分子の補体と、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するDNAを含む。

10

20

30

40

50

その他の側面では、本発明は、F i g 1 (配列番号 : 1) を含めた、約ヌクレオチド77又は約143と約814の間の核酸の補体とハイブリダイズするDNAを含んでなるP R O 1 4 8 4ポリペプチドをコードする単離された核酸分子に関する。好ましくは、ハイブリダゼーションは、緊縮性ハイブリダイゼーション及び洗浄条件下で起こる。

さらなる側面では、本発明は、(a) ATCC寄託番号203581 (DNA44686-1653) のヒトタンパク質cDNAによってコードされているのと同じ成熟ポリペプチドをコードするDNA分子、又は(b) (a) のDNA分子の補体と、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するDNAを含んでなる単離された核酸分子に関する。好ましい実施態様では、この核酸は、ATCC寄託番号203581 (DNA44686-1653) のヒトタンパク質cDNAによってコードされているのと同じ成熟ポリペプチドをコードするDNAを含む。

10

【 0 0 2 9 】

よりさらなる側面では、本発明は、(a) F i g 2 (配列番号 : 2) を含めたアミノ酸残基の1又は約23から約246の配列に対して、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するポリペプチドをコードするDNA、又は(b) (a) のDNA分子の補体を含んでなる単離された核酸分子に関する。

さらなる側面では、本発明は、少なくとも600ヌクレオチドを有し、試験DNA分子を(a) F i g 2 (配列番号 : 2) を含めたアミノ酸残基の1又は約23から約246の配列を有するP R O 1 4 8 4ポリペプチドをコードするDNA分子、又は(b) (a) のDNA分子の補体と緊縮性条件下でハイブリダイゼーションすることで製造される単離された核酸分子、及びDNA分子が、(a) 又は(b) に対して少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有する場合に、試験DNA分子を単離することで製造される単離された核酸分子に関する。

20

特別な側面においては、本発明は、N - 末端シグナル配列及び/又は開始メチオニンを伴う又は伴わないP R O 1 4 8 4ポリペプチドをコードするDNA分子を含んでなる単離された核酸分子を提供し、又はそのようなコード化核酸分子と相補的である。シグナルペプチドは、F i g 2 (配列番号 : 2) の配列のおおよそアミノ酸位置1からおおよそアミノ酸位置22へ伸張すると仮にに同定されている。

30

【 0 0 3 0 】

その他の側面では、本発明は、(a) F i g 2 (配列番号 : 2) を含めたアミノ酸配列の1又は約23から約246の配列と比較した際に、少なくとも約80%のポジティブ、好ましくは少なくとも約85%のポジティブ、さらに好ましくは少なくとも約90%のポジティブ、最も好ましくは少なくとも約95%のポジティブをスコアするポリペプチドをコードするDNA、又は(b) (a) のDNAの補体を含む単離された核酸分子に関する。

その他の実施態様は、ハイブリダイゼーションプローブとしての使用が見出されうる配列をコードするP R O 1 4 8 4ポリペプチドの断片へ向けられている。そのような核酸断片は、約20から約80ヌクレオチドの長さ、好ましくは約20から約60ヌクレオチドの長さ、さらに好ましくは約20から約50ヌクレオチドの長さ、及び最も好ましくは約20から約40ヌクレオチドの長さ、及びF i g 1 (配列番号 : 1) に示されているヌクレオチド配列から由来しうる。

40

その他の実施態様では、本発明は、上述において同定された単離された核酸分子の何れかによってコードされている単離されたP R O 1 4 8 4ポリペプチドを提供する。

特別な側面では、ある実施態様では、本発明は、F i g 2 (配列番号 : 2) の残基1又は約23から約246を含んでなるアミノ酸配列を包含する単離された天然配列P R O 1 4 8 4ポリペプチドを提供する。

その他の側面では、本発明は、F i g 2 (配列番号 : 2) を含めたアミノ酸残基1又は約23から約246の配列に対して、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85

50

%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含んでなる単離されたPRO1484ポリペプチドに関する。

【0031】

さらなる側面では、本発明は、Fig 2 (配列番号: 2) を含めたアミノ酸配列の残基1又は約23から約246のアミノ酸配列と比較した際に、少なくとも約80%のポジティブ、好ましくは少なくとも約85%のポジティブ、さらに好ましくは少なくとも約90%のポジティブ、最も好ましくは少なくとも約95%のポジティブをスコアするアミノ酸配列を含んでなる単離されたPRO1484ポリペプチドに関する。

さらにその他の側面では、本発明は、Fig 2 (配列番号: 2) を含めたアミノ酸配列の残基1又は約23から約246のアミノ酸配列を含んでなる単離されたPRO1484ポリペプチド、又は抗-PRO1484抗体の結合部位を提供するために十分な単離されたPRO1484ポリペプチドの断片に関する。好ましくは、PRO1484断片は、天然PRO1484ポリペプチドの質的な生物活性を保持する。

よりさらなる側面では、本発明は、(i) (a) Fig 2 (配列番号: 2) を含めたアミノ酸残基約1又は約23から約246の配列を有するPRO1484ポリペプチドをコードするDNA分子、又は(b) (a) のDNA分子の補体と、試験DNA分子とを緊縮性条件下でハイブリダイゼーションすることによって製造されたポリペプチド、及び試験DNA分子が(a) 又は(b) に対して少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有する場合に、(ii) 試験DNA分子を含む宿主細胞をポリペプチドの発現に適した条件下で培養し、(iii) 細胞培養からポリペプチドを回収することによって製造されるポリペプチドを提供する。

【0032】

2. PRO4334

cDNAクローン(DNA59608-2577)は、PC-1に対して相同性を有する新規ポリペプチドをコードするとして同定され、本出願において「PRO4334」と命名された。

一実施態様においては、本出願は、PRO4334ポリペプチドをコードするDNAを含んでなる単離された核酸分子を提供する。

一側面では、単離された核酸分子は、(a) Fig 4 (配列番号: 9) を含めたアミノ酸残基の1又は約23から約440の配列を有するPRO4334ポリペプチドをコードするDNA分子、又は(b) (a) のDNA分子の補体と、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するDNAを含む。

その他の側面では、本発明は、Fig 3 (配列番号: 8) を含めた約150と約1403の間の核酸の補体とハイブリダイズするDNAを含んでなるPRO4334ポリペプチドをコードする単離された核酸分子に関する。好ましくは、ハイブリダイゼーションは、緊縮性ハイブリダイゼーション及び洗浄条件下で起こる。

さらなる側面では、本発明は、(a) ATCC寄託番号203870 (DNA59608-2577) のヒトタンパク質cDNAによってコードされているのと同じ成熟ポリペプチドをコードするDNA分子、又は(b) (a) のDNA分子の補体と、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するDNAを含んでなる単離された核酸分子に関する。好ましい実施態様では、この核酸は、ATCC寄託番号203870 (DNA59608-2577) のヒトタンパク質cDNAによってコードされているのと同じ成熟ポリペプチドをコードするDNAを含む。

【0033】

よりさらなる側面では、本発明は、(a) Fig 4 (配列番号: 9) を含めたアミノ酸残基の約23から約440の配列に対して、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好まし

くは少なくとも約95%の配列同一性を有するポリペプチドをコードするDNA、又は(a)のDNA分子の補体を含んでなる単離された核酸分子に関する。

さらなる側面では、本発明は、少なくとも50ヌクレオチド、好ましくは少なくとも約100ヌクレオチドを有し、試験DNA分子を(a) F i g 4 (配列番号: 9)を含めたアミノ酸残基の約23から約246の配列を有するP R O 4 3 3 4ポリペプチドをコードするDNA分子、又は(b)(a)のDNA分子の補体と、緊縮性条件下でハイブリダイゼーションすることにより製造される単離された核酸分子、及びDNA分子が、(a)又は(b)に対して少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有する場合に、試験DNA分子を単離することにより製造される単離された核酸分子に関する。

10

その他の側面においては、本発明は、(a) F i g 4 (配列番号: 9)を含めたアミノ酸配列の残基23から約440のアミノ酸配列と比較した際に、少なくとも約80%のポジティブ、好ましくは少なくとも約85%のポジティブ、さらに好ましくは少なくとも約90%のポジティブ、最も好ましくは少なくとも約95%のポジティブをスコアするポリペプチドをコードするDNA、又は(b)(a)のDNA分子の補体を含んでなる単離された核酸分子に関する。

その他の実施態様は、ハイブリダイゼーションプローブとしての使用が見出されうる配列をコードするP R O 4 3 3 4ポリペプチドの断片へ向けられている。そのような核酸断片は、約20から約80ヌクレオチドの長さ、好ましくは約20から約60ヌクレオチドの長さ、さらに好ましくは約20から約50ヌクレオチドの長さ、及び最も好ましくは約20から約40ヌクレオチドの長さである。

20

その他の実施態様では、本発明は、上述において同定された単離された核酸分子の何れかによってコードされている単離されたP R O 4 3 3 4ポリペプチドを提供する。

特別な側面では、本発明は、ある実施態様において、F i g 4 (配列番号: 9)の残基23から440を含んでなるアミノ酸配列を包含する単離された天然配列P R O 4 3 3 4ポリペプチドを提供する。

【0034】

その他の側面では、本発明は、F i g 4 (配列番号: 9)を含めたアミノ酸残基23から約440の配列に対して、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含んでなる単離されたP R O 4 3 3 4ポリペプチドに関する。

30

さらなる側面では、本発明は、F i g 4 (配列番号: 9)を含めたアミノ酸残基23から約440のアミノ酸配列と比較した際に、少なくとも約80%のポジティブ、好ましくは少なくとも約85%のポジティブ、さらに好ましくは少なくとも約90%のポジティブ、最も好ましくは少なくとも約95%のポジティブをスコアを示すアミノ酸配列を含んでなる、単離されたP R O 4 3 3 4ポリペプチドに関する。

さらにその他の側面では、本発明は、F i g 4 (配列番号: 9)を含めたアミノ酸配列の残基23から約440のアミノ酸配列を含んでなる単離されたP R O 4 3 3 4ポリペプチド、又は抗-P R O 4 3 3 4抗体の結合部位を提供するために十分な単離されたP R O 4 3 3 4ポリペプチドの断片に関する。好ましくは、P R O 4 3 3 4断片は、天然P R O 4 3 3 4ポリペプチドの質的な生物活性を保持する。

40

よりさらなる側面では、本発明は、(i)(a) F i g 4 (配列番号: 9)を含めたアミノ酸残基約23から約440の配列を有するP R O 4 3 3 4ポリペプチドをコードするDNA分子、又は(b)(a)のDNA分子の補体と試験DNA分子との緊縮性条件下でのハイブリダイゼーションにより製造されるポリペプチド、及び試験DNA分子が(a)又は(b)に対して少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有する場合に、(ii)試験DNA分子を含む宿主細胞をポリペプチドの発現に適した条件下で培養し、(iii)細胞培養からポリペプチドを回収することにより製造されるポリペ

50

チドを提供する。

【 0 0 3 5 】

3 . P R O 1 1 2 2

本出願において「 P R O 1 1 2 2 」と命名され、新規ポリペプチドをコードするCTLA-8と配列同一性を有するcDNAクローン (DNA62377-1381) が同定された。

一実施態様においては、本出願は、 P R O 1 1 2 2 ポリペプチドをコードするDNAを含んでなる単離された核酸分子を提供する。

一側面では、単離された核酸分子は、 (a) F i g 6 (配列番号 : 1 1) を含めたアミノ酸残基の1又は約19から約197の配列を有する P R O 1 1 2 2 ポリペプチドをコードするDNA分子、又は (b) (a) のDNA分子の補体と、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するDNAを含む。

10

その他の側面では、本発明は、 F i g 5 (配列番号 : 1 0) を含めた、約104と約640の間の核酸の補体とハイブリッド形成するDNAを含んでなる P R O 1 1 2 2 ポリペプチドをコードする単離された核酸分子に関する。好ましくは、ハイブリダゼーションは、緊縮性ハイブリダイゼーション及び洗浄条件下で起こる。

さらなる側面では、本発明は、 (a) ATCC寄託番号203552 (DNA62377-1381) のヒトタンパク質cDNAによってコードされているのと同じ成熟ポリペプチドをコードするDNA分子、又は (b) (a) のDNA分子の補体と、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するDNAを含んでなる単離された核酸分子に関する。好ましい実施態様では、この核酸は、ATCC寄託番号203552 (DNA62377-1381) のヒトタンパク質cDNAによってコードされているのと同じ成熟ポリペプチドをコードするDNAを含む。

20

【 0 0 3 6 】

よりさらなる側面では、本発明は、 (a) F i g 6 (配列番号 : 1 1) を含めたアミノ酸残基の約19から約197の配列に対して、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するポリペプチドをコードするDNA、又は (a) のDNA分子の補体を含んでなる単離された核酸分子に関する。

30

さらなる側面では、本発明は、試験DNA分子を (a) F i g 6 (配列番号 : 1 1) を含めたアミノ酸残基の約19から約197の配列を有する P R O 1 1 2 2 ポリペプチドをコードするDNA分子、又は (b) (a) のDNA分子の補体と、緊縮性条件下でハイブリダイゼーションすることにより製造される単離された核酸分子、及びDNA分子が、 (a) 又は (b) に対して少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有する場合に、試験DNA分子を単離することにより製造される単離された核酸分子に関する。

その他の側面においては、本発明は、 (a) F i g 6 (配列番号 : 1 1) を含めたアミノ酸配列の残基19から約197のアミノ酸配列と比較した際に、少なくとも約80%のポジティブ、好ましくは少なくとも約85%のポジティブ、さらに好ましくは少なくとも約90%のポジティブ、最も好ましくは少なくとも約95%のポジティブをスコアするポリペプチドをコードするDNA、又は (b) (a) のDNA分子の補体を含んでなる単離された核酸分子に関する。

40

その他の実施態様においては、本発明は、本上文において定義された単離された核酸の何れかによってコードされる単離された P R O 1 1 2 2 ポリペプチドを提供する。

特別な側面では、本発明は、一実施態様において、 F i g 6 (配列番号 : 1 1) の残基19から197を含んでなるアミノ酸配列を包含する単離された P R O 1 1 2 2 ポリペプチドを提供する。

【 0 0 3 7 】

50

その他の側面では、本発明は、F i g 6 (配列番号：11)を含めたアミノ酸残基19から約197の配列に対して、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含んでなる単離されたP R O 1 1 2 2ポリペプチドに関する。

さらなる側面においては、本発明は、(a) F i g 6 (配列番号：11)の残基19から約197のアミノ酸配列と比較した際に、少なくとも約80%のポジティブ、好ましくは少なくとも約85%のポジティブ、さらに好ましくは少なくとも約90%のポジティブ、最も好ましくは少なくとも約95%のポジティブをスコアするポリペプチドをコードするDNA、又は(b)(a)のDNA分子の補体を含んでなる単離された核酸分子に関する。

10

よりさらなる側面では、本発明は、(i)(a) F i g 6 (配列番号：11)を含めたアミノ酸残基約19から約197の配列を有するP R O 1 1 2 2ポリペプチドをコードするDNA分子、又は(b)(a)のDNA分子の補体と、試験DNA分子を緊縮性条件下でハイブリダイゼーションすることにより製造されるポリペプチド、及び試験DNA分子が(a)又は(b)に対して少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有する場合、(ii)試験DNA分子を含む宿主細胞をポリペプチドの発現に適した条件下で培養し、(iii)細胞培養からポリペプチドを回収することによって生産されるポリペプチドを提供する。

【0038】

20

4. P R O 1 8 8 9

本出願において「P R O 1 8 8 9」と命名され、新規ポリペプチドをコードし、E48抗原タンパク質をコードする核酸と相同性を有するcDNAクローン(DNA77623-2524)が同定された。

一実施態様においては、本発明は、P R O 1 8 8 9ポリペプチドをコードするDNAを含んでなる単離された核酸分子を提供する。

一側面では、単離された核酸分子は、(a) F i g 8 (配列番号：16)を含めたアミノ酸残基の約1又は約21から約97の配列を有するP R O 1 8 8 9 4ポリペプチドをコードするDNA分子、又は(b)(a)のDNA分子の補体と、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するDNAを含む。

30

その他の側面では、本発明は、F i g 7 (配列番号：15)を含めた、約ヌクレオチド39又は約99と約329の間の核酸の補体とハイブリダイゼーションするDNAを含むP R O 1 8 8 9ポリペプチドをコードする単離された核酸分子に関する。好ましくは、ハイブリダイゼーションは、緊縮性ハイブリダイゼーション及び洗浄条件下で起こる。

さらなる側面では、本発明は、(a) ATCC寄託番号203546 (DNA77623-2524)のヒトタンパク質cDNAによってコードされているのと同じ成熟ポリペプチドをコードするDNA分子、又は(b)(a)のDNA分子の補体と、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するDNAを含んでなる単離された核酸分子に関する。好ましい実施態様では、この核酸は、ATCC寄託番号203546 (DNA77623-2524)のヒトタンパク質cDNAによってコードされているのと同じ成熟ポリペプチドをコードするDNAを含む。

40

【0039】

よりさらなる側面では、本発明は、(a) F i g 8 (配列番号：16)を含めたアミノ酸残基の1又は約21から約97の配列に対して、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するポリペプチドをコードするDNA、又は(b)(a)のDNA分子の補体を含んでなる単離された核酸分子に関する。

さらなる側面では、本発明は、少なくとも315ヌクレオチドを有し、試験DNA分子を(a)

50

F i g 8 (配列番号 : 1 6) を含めたアミノ酸残基の 1 又は約 2 1 から約 9 7 の配列を有する P R O 1 8 8 9 ポリペプチドをコードする DNA 分子、又は (b) (a) の DNA 分子の補体と、緊縮性条件下でハイブリダイゼーションすることにより製造される単離された核酸分子、及び DNA 分子が、(a) 又は (b) に対して少なくとも約 80 % の配列同一性、好ましくは少なくとも約 85 % の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約 90 % の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約 95 % の配列同一性を有する場合、試験 DNA 分子を単離することにより製造される単離された核酸分子に関する。

特別な側面においては、本発明は、N - 末端シグナル配列及び / 又は開始メチオニンを伴う又は伴わない P R O 1 8 8 9 ポリペプチドをコードする DNA を含んでなる単離された核酸分子を提供、又はそのようなコード化核酸分子と相補的である。シグナルペプチドは、F i g 8 (配列番号 : 1 6) の配列の約アミノ酸位置 1 から約アミノ酸位置 20 へ伸張するとして仮に同定されている。

【 0 0 4 0 】

その他の側面では、本発明は、(a) F i g 8 (配列番号 : 1 6) を含めた残基 1 又は約 2 1 から約 97 のアミノ酸配列と比較した際に、少なくとも約 80 % のポジティブ、好ましくは少なくとも約 85 % のポジティブ、さらに好ましくは少なくとも約 90 % のポジティブ、最も好ましくは少なくとも約 95 % のポジティブをスコアするポリペプチドをコードする DNA、又は (b) (a) の DNA の補体を含んでなる単離された核酸分子に関する。

その他の実施態様は、ハイブリダイゼーションプローブとしての使用が見出されうる配列をコードする P R O 1 8 8 9 ポリペプチドの断片へ向けられている。そのような核酸断片は、約 20 から約 80 ヌクレオチドの長さ、好ましくは約 20 から約 60 ヌクレオチドの長さ、さらに好ましくは約 20 から約 50 ヌクレオチドの長さ、及び最も好ましくは約 20 から約 40 ヌクレオチドの長さであり、F i g 7 (配列番号 : 1 5) に示されているヌクレオチド配列から誘導されうる。

その他の実施態様では、本発明は、上述において同定された単離された核酸分子の何れかによってコードされている単離された P R O 1 8 8 9 ポリペプチドを提供する。

特別な側面では、本発明は、ある実施態様において、F i g 8 (配列番号 : 1 6) の残基 1 又は約 21 から約 97 を含んでなるアミノ酸配列を包含する単離された天然配列 P R O 1 8 8 9 ポリペプチドを提供する。

その他の側面では、本発明は、F i g 8 (配列番号 : 1 6) を含めたアミノ酸残基 1 又は約 21 から約 97 の配列に対して、少なくとも約 80 % の配列同一性、好ましくは少なくとも約 85 % の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約 90 % の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約 95 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含んでなる単離された P R O 1 8 8 9 ポリペプチドに関する。

【 0 0 4 1 】

さらなる側面では、本発明は、F i g 8 (配列番号 : 1 6) を含めた残基 1 又は約 21 から約 97 のアミノ酸配列と比較した際に、少なくとも約 80 % のポジティブ、好ましくは少なくとも約 85 % のポジティブ、さらに好ましくは少なくとも約 90 % のポジティブ、最も好ましくは少なくとも約 95 % のポジティブをスコアするアミノ酸配列を含んでなる単離された P R O 1 8 8 9 ポリペプチドに関する。

さらにその他の側面では、本発明は、F i g 8 (配列番号 : 1 6) を含めたアミノ酸残基 1 又は約 21 から約 97 の配列を含む単離された P R O 1 8 8 9 ポリペプチド、又は抗 - P R O 1 8 8 9 抗体の結合部位を提供するために十分な単離された P R O 1 8 8 9 ポリペプチドの断片に関する。好ましくは、P R O 1 8 8 9 断片は、天然 P R O 1 8 8 9 ポリペプチドの質的な生物活性を保持する。

よりさらなる側面では、本発明は、(i) (a) F i g 8 (配列番号 : 1 6) を含めたアミノ酸残基約 1 又は約 21 から約 97 の配列を有する P R O 1 8 8 9 ポリペプチドをコードする DNA 分子、又は (b) (a) の DNA 分子の補体と、試験 DNA 分子との緊縮性条件下でのハイブリダイゼーションにより製造されるポリペプチド、及び試験 DNA 分子が (a) 又は (b) に対して少なくとも約 80 % の配列同一性、好ましくは少なくとも約 85 % の配列同一性

、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有する場合に、(ii)試験DNA分子を含む宿主細胞をポリペプチドの発現に適した条件下で培養し、(iii)培養細胞からポリペプチドを回収することにより製造されるポリペプチドを提供する。

【0042】

その他の実施態様においては、本発明は、抗-PRO1889抗体に対するポリペプチドを含むとみられる細胞を曝露し、細胞への抗体の結合を確定することを含んでなるPRO1889ポリペプチドの存在を確定する方法に関する。

さらにその他の実施態様においては、本発明は、PRO1889ポリペプチドをコードする遺伝子の試験サンプル中での高発現レベルが哺乳類における癌細胞の存在、特に扁平上皮癌細胞を示す場合に、(a)哺乳類から得た組織細胞の試験サンプル、及び(b)同じような細胞型の既知の通常組織細胞の対照サンプル、からPRO1889ポリペプチドをコードする遺伝子の発現のレベルを検出することを含んでなる哺乳類における癌細胞の存在を診断する方法に関連する。

さらなる実施態様では、PRO1889ポリペプチドと候補化合物が相互作用することを可能にする条件下と十分な時間で、候補化合物とPRO1889ポリペプチドを接触せしめることによる、PRO1889ポリペプチドの発現及び/又は活性を阻害することができる化合物を同定する方法である。特別な側面においては、候補化合物又はPRO1889ポリペプチドのどちらかが、固定担体に固定化されている。その他の側面においては、非固定化成分は、検出可能なラベルを有する。

さらなる実施態様においては、本発明は、PRO1889ポリペプチドをコードする遺伝子の試験サンプル中での高発現レベルが、試験組織細胞が得られた哺乳類における癌細胞の存在を示す場合に、(a)哺乳類から得た組織細胞の試験サンプル、及び(b)同じような細胞型の既知の通常組織細胞の対照サンプル、からPRO1889ポリペプチドをコードする遺伝子の発現のレベルを検出することを含んでなる哺乳類における癌細胞の存在を診断する方法を提供する。

【0043】

その他の実施態様においては、本発明は、(a)抗-PRO1889抗体と哺乳類から得られた組織細胞の試験サンプルを接触せしめること、及び(b)試験サンプルにおいて、抗-PRO1889とPRO1889ポリペプチド間の複合体形成を検出すること、を含んでなる哺乳類における腫瘍の診断方法を提供する。この検出は、定性的又は定量的であろうし、同じ細胞型の既知の正常組織細胞の対照サンプル中の複合体形成をモニターすることと比較することによっておこなわれるであろう。試験サンプル中に形成される多量の複合体は、試験組織細胞が得られた哺乳類における腫瘍の存在を示す。抗体は、好ましくは検出可能なラベルを有する。複合体の形成は、例えば、光学顕微鏡、フローサイトメトリー、蛍光定量、又は当該分野において知られている他の技術によってモニターが可能である。好ましくは、試験サンプルは、腫瘍細胞の成長や増殖が疑われる個々の哺乳類(例えば癌細胞)から得られる。

その他の実施態様においては、本発明は、抗-PRO1889抗体及び適切な包装容器中の担体(例えば緩衝液)を含んでなる癌診断キットを提供する。キットは、好ましくはPRO1889ポリペプチドの検出に抗体を使用するための取扱説明書を含む。

さらにその他の実施態様においては、本発明は、PRO1889ポリペプチドを過剰発現する細胞をPRO1889ポリペプチドの発現及び/又は活性を阻害する薬剤の有効量へ曝露することを含んでなる腫瘍細胞の成長を阻害する方法を提供する。薬剤は、好ましくは、抗-PRO1889ポリペプチド、小有機及び無機ペプチド、ホスホペプチド、アンチセンス又はリボザイム分子、又は三重螺旋分子である。特別な側面では、薬剤、例えば抗-PRO1889抗体は、細胞死を誘導する。さらなる側面では、腫瘍細胞は、さらに放射線処理及び/又は細胞毒性又は化学療法薬剤に曝露される。

またさらなる実施態様では、本発明は、容器；

10

20

30

40

50

容器上のラベル、及び

容器内に含まれる活性剤を含有する組成物含んでなる製造物品に関し、ここで組成物は、腫瘍細胞の増殖を阻止するのに有効であり、容器上のラベルには、組成物が P R O 1 8 8 9 ポリペプチドの過剰発現により特徴づけられる症状を治療するために使用でき、組成物中の活性剤は、P R O 1 8 8 9 ポリペプチドの発現及び/又は活性を阻害する薬剤であることが示される。好適な側面では、活性剤は、抗 P R O 1 8 8 9 抗体である。

【 0 0 4 4 】

5 . P R O 1 8 9 0

本出願において「P R O 1 8 9 0」と命名され、新規ポリペプチドをコードし、レクチンタンパク質をコードする核酸と相同性を有するcDNAクローン (DNA79230-2525) が同定された。

10

一実施態様においては、本発明は、P R O 1 8 9 0 ポリペプチドをコードするDNAを含んでなる単離された核酸分子を提供する。

一側面では、単離された核酸分子は、(a) F i g 1 0 (配列番号: 1 8) を含めたアミノ酸残基の約1又は約22から約273の配列を有する P R O 1 8 8 9 4 ポリペプチドをコードするDNA分子、又は (b) (a) のDNA分子の補体と、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するDNAを含む。

その他の側面では、本発明は、F i g 9 (配列番号: 1 7) を含めた、約ヌクレオチド378又は約441と約1196の間の核酸の補体とハイブリダイゼーションするDNAを含んでなる P R O 1 8 8 9 ポリペプチドをコードする単離された核酸分子に関する。好ましくは、ハイブリダイゼーションは、緊縮性ハイブリダイゼーション及び洗浄条件下で起こる。

20

さらなる側面では、本発明は、(a) ATCC寄託番号203549 (DNA79230-2525) のヒトタンパク質cDNAによってコードされているのと同じ成熟ポリペプチドをコードするDNA分子、又は (b) (a) の核酸分子の補体と、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するDNAを含んでなる単離された核酸分子に関する。好ましい実施態様では、この核酸は、ATCC寄託番号203549 (DNA79230-2525) のヒトタンパク質cDNAによってコードされているのと同じ成熟ポリペプチドをコードするDNAを含む。

30

【 0 0 4 5 】

よりさらなる側面では、本発明は、(a) F i g 1 0 (配列番号: 1 8) を含めたアミノ酸残基1又は約22から約273の配列に対して、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するポリペプチドをコードするDNA、又は (b) (a) のDNA分子の補体を含んでなる単離された核酸分子に関する。

さらなる側面では、本発明は、少なくとも475ヌクレオチドを有する単離された核酸分子で、試験DNA分子を (a) F i g 1 0 (配列番号: 1 8) を含めたアミノ酸残基1又は約22から約273の配列を有する P R O 1 8 9 0 ポリペプチドをコードするDNA分子、又は (b) (a) のDNA分子の補体と、緊縮性条件下でハイブリダイゼーションすることにより製造されるもの、及びDNA分子が (a) 又は (b) に対して少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有する場合に、試験DNA分子を単離することより製造されるものに関する。

40

特別な側面においては、本発明は、P R O 1 8 9 0 ポリペプチドをコードするDNAを含んでなる単離された核酸分子で、N - 末端シグナル配列及び/又は開始メチオニンを伴う又は伴わない、及びその可溶性、例えば膜貫通ドメイン欠損又は不活性化変異体を提供、又はそのようなコード化核酸分子と相補的である。シグナルペプチドは、F i g 1 0 (配列番号: 1 8) の配列の約アミノ酸位置1から約アミノ酸位置21へ伸張するとして仮に同定されている。膜貫通ドメインは、P R O 1 8 9 0 アミノ酸配列 (F i g 1 0、配列番号:

50

18) のアミノ酸位置214からアミノ酸位置235へ伸張するとして仮に同定されている。

【0046】

その他の側面では、本発明は、(a) Fig 10 (配列番号: 18) を含めた残基1又は約22から約273のアミノ酸配列と比較した際に、少なくとも約80%のポジティブ、好ましくは少なくとも約85%のポジティブ、さらに好ましくは少なくとも約90%のポジティブ、最も好ましくは少なくとも約95%のポジティブをスコアするポリペプチドをコードするDNA、又は(b) (a) のDNAの補体を含んでなる単離された核酸分子に関する。

その他の実施態様は、ハイブリダイゼーションプローブとしての使用が見出されうる配列をコードするPRO1890ポリペプチドの断片へ向けられている。そのような核酸断片は、約20から約80ヌクレオチドの長さ、好ましくは約20から約60ヌクレオチドの長さ、さらに好ましくは約20から約50ヌクレオチドの長さ、及び最も好ましくは約20から約40ヌクレオチドの長さであり、Fig 9 (配列番号: 17) に示されているヌクレオチド配列から誘導されうる。

その他の実施態様では、本発明は、上述において同定された単離された核酸分子の何れかによってコードされている単離されたPRO1890ポリペプチドを提供する。

特別な側面では、本発明は、ある実施態様において、Fig 10 (配列番号: 18) の残基1又は約22から約273を含んでなるアミノ酸配列を包含する単離された天然配列PRO1890ポリペプチドを提供する。

【0047】

その他の側面では、本発明は、Fig 10 (配列番号: 18) を含めたアミノ酸残基1又は約22から約273の配列に対して、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含んでなる単離されたPRO1890ポリペプチドに関する。

さらなる側面では、本発明は、(a) Fig 10 (配列番号: 18) を含めた残基1又は約22から約273のアミノ酸配列と比較した際に、少なくとも約80%のポジティブ、好ましくは少なくとも約85%のポジティブ、さらに好ましくは少なくとも約90%のポジティブ、最も好ましくは少なくとも約95%のポジティブをスコアするポリペプチドをコードするDNAを含んでなる単離された核酸分子に関する。

よりさらなる側面では、本発明は、Fig 10 (配列番号: 18) を含めたアミノ酸残基1又は約22から約273の配列を含んでなる単離されたPRO1889ポリペプチド、又は抗-PRO1889抗体の結合部位を提供するために十分な単離されたPRO1889ポリペプチドの断片に関する。好ましくは、PRO1890断片は、天然PRO1890ポリペプチドの質的な生物活性を保持する。

さらにさらなる側面では、本発明は、(i) (a) Fig 10 (配列番号: 18) を含めたアミノ酸残基1又は約22から約273の配列を有するPRO1890ポリペプチドをコードするDNA分子、又は(b) (a) のDNA分子の補体と、試験DNA分子との緊縮性条件下でのハイブリダイゼーションにより製造されるポリペプチド、及び試験DNA分子が(a)又は(b)に対して少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有する場合に、(ii) 試験DNA分子を含む宿主細胞をポリペプチドの発現に適した条件下で培養し、(iii) 細胞培養からポリペプチドを回収することにより製造されるポリペプチドを提供する。

【0048】

6. PRO1887

本出願において、cDNAクローン(DNA79862-2522)が、カルボキシエステラーゼと相同性を有する新規ポリペプチドをコードすると同定され、そして「PRO1887」と命名された。

一実施態様においては、本発明は、PRO1887ポリペプチドをコードするDNAを含んでなる単離された核酸分子を提供する。

一側面では、単離された核酸分子は、(a) Fig 1 2 (配列番号: 2 3) を含めたアミノ酸残基約1又は約28から約571の配列を有する P R O 1 8 8 7 ポリペプチドをコードする DNA 分子、又は (b) (a) の DNA 分子の補体と、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有する DNA を含む。

その他の側面では、本発明は、Fig 1 1 (配列番号: 2 2) を含めた、約ヌクレオチド 87と約1718の間の核酸の補体とハイブリダイゼーションする DNA を含んでなる P R O 1 8 8 7 ポリペプチドをコードする単離された核酸分子に関する。好ましくは、ハイブリダイゼーションは、緊縮性ハイブリダイゼーション及び洗浄条件下で起こる。

さらなる側面では、本発明は、(a) ATCC 寄託番号 203550 (DNA79862-2522) のヒトタンパク質 cDNA によってコードされているのと同じ成熟ポリペプチドをコードする DNA 分子、又は (b) (a) の核酸分子の補体と、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有する DNA を含んでなる単離された核酸分子に関する。好ましい実施態様では、この核酸は、ATCC 寄託番号 203550 (DNA79862-2522) のヒトタンパク質 cDNA によってコードされているのと同じ成熟ポリペプチドをコードする DNA を含む。

【 0 0 4 9 】

よりさらなる側面では、本発明は、(a) Fig 1 2 (配列番号: 2 3) を含めたアミノ酸残基約28から約571の配列に対して、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するポリペプチドをコードする DNA、又は (a) の DNA の補体を含んでなる単離された核酸分子に関する。

さらなる側面では、本発明は、少なくとも約50ヌクレオチド、好ましくは少なくとも約100ヌクレオチドを有する単離された核酸分子で、試験 DNA 分子を (a) Fig 1 2 (配列番号: 2 3) を含めたアミノ酸残基約28から約571の配列を有する P R O 1 8 8 7 ポリペプチドをコードする DNA 分子、又は (b) (a) の DNA 分子の補体と、緊縮条件下でハイブリダイゼーションすることにより製造されるもの、及び DNA 分子が (a) 又は (b) に対して少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有する場合に、試験 DNA 分子を単離することにより製造されるものに関する。

特別な側面においては、本発明は、P R O 1 8 8 7 ポリペプチドをコードする DNA を含んでなる単離された核酸分子で、N - 末端シグナル配列及び / 又は開始メチオニンを伴う又は伴わない、及びその可溶性、例えば膜貫通ドメイン欠損又は不活性化変異体を提供、又はそのようなコード化核酸分子と相補的である。シグナルペプチドは、Fig 1 2 (配列番号: 2 3) の配列の約アミノ酸位置1から約アミノ酸位置27へ伸張するとして仮に同定されている。膜貫通ドメインは、P R O 1 8 8 7 アミノ酸配列 (Fig 1 2、配列番号: 2 3) のアミノ酸位置226からアミノ酸位置245へ伸張するとして仮に同定されている。

【 0 0 5 0 】

その他の側面では、本発明は、(a) Fig 1 2 (配列番号: 2 3) を含めた残基28から約571のアミノ酸配列と比較した際に、少なくとも約80%のポジティブ、好ましくは少なくとも約85%のポジティブ、さらに好ましくは少なくとも約90%のポジティブ、最も好ましくは少なくとも約95%のポジティブをスコアするポリペプチドをコードする DNA、又は (b) (a) の DNA の補体を含んでなる単離された核酸分子に関する。

その他の実施態様は、ハイブリダイゼーションプローブとしての使用が見出されうる配列をコードする P R O 1 8 8 7 ポリペプチドの断片へ向けられている。そのような核酸断片は、約20から約80ヌクレオチドの長さ、好ましくは約20から約60ヌクレオチドの長さ、さらに好ましくは約20から約50ヌクレオチドの長さ、及び最も好ましくは約20から約40ヌクレオチドの長さである。

その他の実施態様では、本発明は、上述において同定された単離された核酸分子の何れか

によってコードされている単離されたPRO1887ポリペプチドを提供する。

特別な側面では、本発明は、ある実施態様において、Fig 12（配列番号：23）の残基28から約571を含んでなるアミノ酸配列を包含する単離された天然配列PRO1887ポリペプチドを提供する。

【0051】

その他の側面では、本発明は、Fig 12（配列番号：23）を含めたアミノ酸残基28から571の配列に対して、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含んでなる単離されたPRO1887ポリペプチドに関する。

10

さらなる側面では、本発明は、(a) Fig 12（配列番号：23）を含めた残基28から571のアミノ酸配列と比較した際に、少なくとも約80%のポジティブ、好ましくは少なくとも約85%のポジティブ、さらに好ましくは少なくとも約90%のポジティブ、最も好ましくは少なくとも約95%のポジティブをスコアするポリペプチドをコードするDNAを含んでなる単離された核酸分子に関する。

よりさらなる側面では、本発明は、Fig 12（配列番号：23）を含めたアミノ酸残基28から約571の配列を含んでなる単離されたPRO1889ポリペプチド、又は抗-PRO1887抗体の結合部位を提供するために十分な単離されたPRO1887ポリペプチドの断片に関する。好ましくは、PRO1887断片は、天然PRO1887ポリペプチドの質的な生物活性を保持する。

20

さらにさらなる側面では、本発明は、(i) (a) Fig 12（配列番号：23）を含めたアミノ酸残基約28から約571の配列を有するPRO1887ポリペプチドをコードするDNA分子、又は(b) (a)のDNA分子の補体と、試験DNA分子との緊縮性条件下でのハイブリダイゼーションにより製造されるポリペプチド、及び試験DNA分子が(a)又は(b)に対して少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有する場合に、(ii) 試験DNA分子を含む宿主細胞をポリペプチドの発現に適した条件下で培養し、(iii) 細胞培養からポリペプチドを回収することにより製造されるポリペプチドを提供する。

【0052】

30

7. PRO1785

本出願において、cDNAクローン(DNA80136-2503)が、ペルオキシダーゼと相同性を有する新規ポリペプチドをコードすると同定され、そして「PRO1785」と命名された。一実施態様においては、本発明は、PRO1785ポリペプチドをコードするDNAを含んでなる単離された核酸分子を提供する。

一側面では、単離された核酸分子は、(a) Fig 14（配列番号：29）を含めたアミノ酸残基約1又は約32から約209の配列を有するPRO1785ポリペプチドをコードするDNA分子、又は(b) (a)のDNA分子の補体と、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するDNAを含む。

40

その他の側面では、本発明は、Fig 13（配列番号：28）を含めた、約残基95と約628の間の核酸の補体とハイブリダイゼーションするDNAを含んでなるPRO1785ポリペプチドをコードする単離された核酸分子に関する。好ましくは、ハイブリダゼーションは、緊縮性ハイブリダイゼーション及び洗浄条件下で起こる。

さらなる側面では、本発明は、(a) ATCC寄託番号203541(DNA80136-2503)のヒトタンパク質cDNAによってコードされているのと同じ成熟ポリペプチドをコードするDNA分子、又は(b) (a)の核酸分子の補体と、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するDNAを含んでなる単離された核酸分子に関する。好ましい実施態様では、この核酸は、ATCC寄託番号203541(DNA80136-2503)のヒ

50

トタンパク質cDNAによってコードされているのと同じ成熟ポリペプチドをコードするDNAを含む。

【 0 0 5 3 】

よりさらなる側面では、本発明は、(a) F i g 1 4 (配列番号 : 2 9) を含めたアミノ酸残基約32から約209の配列に対して、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するポリペプチドをコードするDNA、又は(a) のDNAの補体を含んでなる単離された核酸分子に関する。

さらなる側面では、本発明は、少なくとも約50ヌクレオチド、好ましくは少なくとも約100ヌクレオチドを有する単離された核酸分子で、試験DNA分子を(a) F i g 1 4 (配列番号 : 2 9) を含めたアミノ酸残基約32から約209の配列を有する P R O 1 7 8 5 ポリペプチドをコードするDNA分子、又は(b) (a) のDNA分子の補体と、緊縮性条件下でハイブリダイゼーションすることにより製造されるもの、及びDNA分子が(a) 又は(b) に対して少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有する場合に、試験DNA分子を単離することにより製造されるものに関する。

特別な側面においては、本発明は、P R O 1 7 8 5 ポリペプチドをコードするDNAを含んでなる単離された核酸分子で、N - 末端シグナル配列及び/又は開始メチオニンを伴う又は伴わない、及びその可溶性、例えば膜貫通ドメイン欠損又は不活性化変異体を提供、又はそのようなコード化核酸分子と相補的である。シグナルペプチドは、F i g 1 4 (配列番号 : 2 9) の配列の約アミノ酸位置1から約アミノ酸位置31へ伸張するとして仮に同定されている。膜貫通ドメインは、P R O 1 7 8 5 アミノ酸配列(F i g 1 4 、 配列番号 : 2 9) のアミノ酸位置18からアミノ酸位置37へ伸張するとして仮に同定されている。

【 0 0 5 4 】

その他の側面では、本発明は、(a) F i g 1 4 (配列番号 : 2 9) を含めた残基32から約209のアミノ酸配列と比較した際に、少なくとも約80%のポジティブ、好ましくは少なくとも約85%のポジティブ、さらに好ましくは少なくとも約90%のポジティブ、最も好ましくは少なくとも約95%のポジティブをスコアするポリペプチドをコードするDNA、又は(b) (a) のDNAの補体を含んでなる単離された核酸分子に関する。

その他の実施態様は、ハイブリダイゼーションプローブとしての使用が見出されうる配列をコードする P R O 1 7 8 5 ポリペプチドの断片へ向けられている。そのような核酸断片は、約20から約80ヌクレオチドの長さ、好ましくは約20から約60ヌクレオチドの長さ、さらに好ましくは約20から約50ヌクレオチドの長さ、及び最も好ましくは約20から約40ヌクレオチドの長さである。

その他の実施態様では、本発明は、上述において同定された単離された核酸分子の何れかによってコードされている単離された P R O 1 7 8 5 ポリペプチドを提供する。

特別な側面では、本発明は、ある実施態様において、F i g 1 4 (配列番号 : 2 9) の残基32から約209を含んでなるアミノ酸配列を包含する単離された天然配列 P R O 1 7 8 5 ポリペプチドを提供する。

【 0 0 5 5 】

その他の側面では、本発明は、F i g 1 4 (配列番号 : 2 9) を含めたアミノ酸残基32から209の配列に対して、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含んでなる単離された P R O 1 7 8 5 ポリペプチドに関する。

さらなる側面では、本発明は、(a) F i g 1 4 (配列番号 : 2 9) を含めた残基32から209のアミノ酸配列と比較した際に、少なくとも約80%のポジティブ、好ましくは少なくとも約85%のポジティブ、さらに好ましくは少なくとも約90%のポジティブ、最も好ましくは少なくとも約95%のポジティブをスコアするアミノ酸配列を含んでなる単離された P R O 1 7 8 5 ポリペプチドに関する。

よりさらなる側面では、本発明は、F i g 1 4 (配列番号：29)を含めたアミノ酸残基32から約209の配列を含んでなる単離されたP R O 1 7 8 5ポリペプチド、又は抗-P R O 1 7 8 5抗体の結合部位を提供するために十分な単離されたP R O 1 7 8 5ポリペプチドの断片に関する。好ましくは、P R O 1 7 8 5断片は、天然P R O 1 7 8 5ポリペプチドの質的な生物活性を保持する。

さらにさらなる側面では、本発明は、(i)(a) F i g 1 4 (配列番号：29)を含めたアミノ酸残基約32から約209の配列を有するP R O 1 7 8 5ポリペプチドをコードするDNA分子、又は(b)(a)のDNA分子の補体と、試験DNA分子との緊縮性条件下でのハイブリダイゼーションにより製造されるポリペプチド、及び試験DNA分子が(a)又は(b)に対して少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有する場合に、(ii)試験DNA分子を含む宿主細胞をポリペプチドの発現に適した条件下で培養し、(iii)培養細胞からポリペプチドを回収することにより製造されるポリペプチドを提供する。

【0056】

8. P R O 4 3 5 3

本出願において、cDNAクローン(DNA80145-2594)が、ペルオキシダーゼと相同性を有する新規ポリペプチドをコードすると同定され、そして「P R O 4 3 5 3」と命名された。一実施態様においては、本発明は、P R O 4 3 5 3ポリペプチドをコードするDNAを含んでなる単離された核酸分子を提供する。

一側面では、単離された核酸分子は、(a) F i g 1 6 (配列番号：35)を含めたアミノ酸残基1又は約26から約888の配列を有するP R O 4 3 5 3ポリペプチドをコードするDNA分子、又は(b)(a)のDNA分子の補体と、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するDNAを含む。

その他の側面では、本発明は、F i g 1 5 (配列番号：34)を含めた、約残基94と約2682の間の核酸の補体とハイブリダイゼーションするDNAを含んでなるP R O 4 3 5 3ポリペプチドをコードする単離された核酸分子に関する。好ましくは、ハイブリダイゼーションは、緊縮性ハイブリダイゼーション及び洗浄条件下で起こる。

さらなる側面では、本発明は、(a) ATCC寄託番号204-PTA (DNA80145-2594)のヒトタンパク質cDNAによってコードされているのと同じ成熟ポリペプチドをコードするDNA分子、又は(b)(a)の核酸分子の補体と、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するDNAを含んでなる単離された核酸分子に関する。好ましい実施態様では、この核酸は、ATCC寄託番号204-PTA (DNA80145-2594)のヒトタンパク質cDNAによってコードされているのと同じ成熟ポリペプチドをコードするDNAを含む。

【0057】

よりさらなる側面では、本発明は、(a) F i g 1 6 (配列番号：35)を含めたアミノ酸残基約26から約888の配列に対して、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するポリペプチドをコードするDNA、又は(a)のDNAの補体を含んでなる単離された核酸分子に関する。

さらなる側面では、本発明は、少なくとも約50ヌクレオチド、好ましくは少なくとも約100ヌクレオチドを有する単離された核酸分子で、試験DNA分子を(a) F i g 1 6 (配列番号：35)を含めたアミノ酸残基約26から約888の配列を有するP R O 4 3 5 3ポリペプチドをコードするDNA分子、又は(b)(a)のDNA分子の補体と、緊縮性条件下でハイブリダイゼーションすることにより製造されるもの、及びDNA分子が(a)又は(b)に対して少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一

性を有する場合に、試験DNA分子を単離することより製造されるものに関する。

特別な側面においては、本発明は、P R O 4 3 5 3 ポリペプチドをコードするDNAを含んでなる単離された核酸分子で、N - 末端シグナル配列及び/又は開始メチオニンを伴う又は伴わない、及びその可溶性変異体（例えば膜貫通ドメイン欠損又は不活性化変異体）を提供、又はそのようなコード化核酸分子と相補的である。シグナルペプチドは、F i g 1 6（配列番号：35）の配列の約アミノ酸位置1から約アミノ酸位置25へ伸張するとして仮に同定されている。膜貫通ドメインは、約アミノ酸位置318-339及び598-617へ伸張するとして仮に同定されている（F i g 1 6、配列番号：35）。

【0058】

その他の側面では、本発明は、（a）F i g 1 6（配列番号：35）を含めた残基26から約888のアミノ酸配列と比較した際に、少なくとも約80%のポジティブ、好ましくは少なくとも約85%のポジティブ、さらに好ましくは少なくとも約90%のポジティブ、最も好ましくは少なくとも約95%のポジティブをスコアするポリペプチドをコードするDNA、又は（b）（a）のDNAの補体を含んでなる単離された核酸分子に関する。

その他の実施態様は、ハイブリダイゼーションプローブとしての使用が見出されうる配列をコードするP R O 4 3 5 3 ポリペプチドの断片へ向けられている。そのような核酸断片は、約20から約80ヌクレオチドの長さ、好ましくは約20から約60ヌクレオチドの長さ、さらに好ましくは約20から約50ヌクレオチドの長さ、及び最も好ましくは約20から約40ヌクレオチドの長さである。

その他の実施態様では、本発明は、上述において同定された単離された核酸分子の何れかによってコードされている単離されたP R O 4 3 5 3 ポリペプチドを提供する。

特別な側面では、本発明は、ある実施態様において、F i g 1 6（配列番号：35）の残基26から約888を含んでなるアミノ酸配列を包含する単離された天然配列P R O 4 3 5 3 ポリペプチドを提供する。

【0059】

その他の側面では、本発明は、F i g 1 6（配列番号：35）を含めたアミノ酸残基26から888の配列に対して、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含んでなる単離されたP R O 4 3 5 3 ポリペプチドに関する。

さらなる側面では、本発明は、F i g 1 6（配列番号：35）の残基26から888のアミノ酸配列と比較した際に、少なくとも約80%のポジティブ、好ましくは少なくとも約85%のポジティブ、さらに好ましくは少なくとも約90%のポジティブ、最も好ましくは少なくとも約95%のポジティブをスコアするアミノ酸配列を含んでなる単離されたP R O 4 3 5 3 ポリペプチドに関する。

よりさらなる側面では、本発明は、F i g 1 6（配列番号：35）を含めたアミノ酸残基26から約888の配列を含んでなる単離されたP R O 4 3 5 3 ポリペプチド、又は抗-P R O 4 3 5 3 抗体の結合部位を提供するために十分な単離されたP R O 4 3 5 3 ポリペプチドの断片に関する。好ましくは、P R O 4 3 5 3 断片は、天然P R O 4 3 5 3 ポリペプチドの質的な生物活性を保持する。

さらにさらなる側面では、本発明は、（i）（a）F i g 1 6（配列番号：35）を含めたアミノ酸残基約26から約888の配列を有するP R O 4 3 5 3 ポリペプチドをコードするDNA分子、又は（b）（a）のDNA分子の補体と、試験DNA分子との緊縮性条件下でのハイブリダイゼーションにより製造されるポリペプチド、及び試験DNA分子が（a）又は（b）に対して少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有する場合に、（ii）試験DNA分子を含む宿主細胞をポリペプチドの発現に適した条件下で培養し、（iii）細胞培養からポリペプチドを回収することにより製造されるポリペプチドを提供する。

【0060】

9. PRO4357

本出願において、cDNAクローン (DNA84917-2597) が、「BK158_1」と相同性を有する新規ポリペプチドをコードすると同定され、そして「PRO4357」と命名された。

一実施態様においては、本発明は、PRO4357ポリペプチドをコードするDNAを含んでなる単離された核酸分子を提供する。

一側面では、単離された核酸分子は、(a) Fig 18 (配列番号: 40) を含めたアミノ酸残基1又は約18から約502の配列を有するPRO4357ポリペプチドをコードするDNA分子、又は(b) (a) のDNA分子の補体と、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するDNAを含む。

10

その他の側面では、本発明は、Fig 17 (配列番号: 39) を含めた、約残基337と約1791の間の核酸の補体とハイブリダイゼーションするDNAを含んでなるPRO4357ポリペプチドをコードする単離された核酸分子に関する。好ましくは、ハイブリダイゼーションは、緊縮性ハイブリダイゼーション及び洗浄条件下で起こる。

さらなる側面では、本発明は、(a) ATCC寄託番号203863 (DNA84917-2597) のヒトタンパク質cDNAによってコードされているのと同じ成熟ポリペプチドをコードするDNA分子、又は(b) (a) の核酸分子の補体と、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するDNAを含んでなる単離された核酸分子に関する。好ましい実施態様では、この核酸は、ATCC寄託番号203863 (DNA84917-2597) のヒトタンパク質cDNAによってコードされているのと同じ成熟ポリペプチドをコードするDNAを含む。

20

【0061】

よりさらなる側面では、本発明は、(a) Fig 18 (配列番号: 40) を含めたアミノ酸残基約18から約502の配列に対して、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するポリペプチドをコードするDNA、又は(a) のDNAの補体を含んでなる単離された核酸分子に関する。

さらなる側面では、本発明は、少なくとも約50ヌクレオチド、好ましくは少なくとも約100ヌクレオチドを有する単離された核酸分子で、試験DNA分子を(a) Fig 18 (配列番号: 40) を含めたアミノ酸残基約18から約502の配列を有するPRO4357ポリペプチドをコードするDNA分子、又は(b) (a) のDNA分子の補体と、緊縮性条件下でハイブリダイゼーションすることにより製造されるもの、及びDNA分子が(a) 又は(b) に対して少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有する場合に、試験DNA分子を単離することにより製造されるものに関する。

30

その他の側面では、本発明は、(a) Fig 18 (配列番号: 40) を含めた残基18から約502のアミノ酸配列と比較した際に、少なくとも約80%のポジティブ、好ましくは少なくとも約85%のポジティブ、さらに好ましくは少なくとも約90%のポジティブ、最も好ましくは少なくとも約95%のポジティブをスコアするポリペプチドをコードするDNA、又は(b) (a) のDNAの補体を含んでなる単離された核酸分子に関する。

40

その他の実施態様は、ハイブリダイゼーションプローブとしての使用が見出されうる配列をコードするPRO4357ポリペプチドの断片へ向けられている。そのような核酸断片は、約20から約80ヌクレオチドの長さ、好ましくは約20から約60ヌクレオチドの長さ、さらに好ましくは約20から約50ヌクレオチドの長さ、及び最も好ましくは約20から約40ヌクレオチドの長さである。

その他の実施態様では、本発明は、上述において同定された単離された核酸分子の何れかによってコードされている単離されたPRO4357ポリペプチドを提供する。

特別な側面では、本発明は、ある実施態様において、Fig 18 (配列番号: 40) の残基18から502を含んでなるアミノ酸配列を包含する単離された天然配列PRO4357ポ

50

リペプチドを提供する。

【 0 0 6 2 】

その他の側面では、本発明は、F i g 1 8 (配列番号 : 4 0) を含めたアミノ酸残基18から約502の配列に対して、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含んでなる単離されたP R O 4 3 5 7 ポリペプチドに関する。

さらなる側面では、本発明は、F i g 1 8 (配列番号 : 4 0) の残基18から502のアミノ酸配列と比較した際に、少なくとも約80%のポジティブ、好ましくは少なくとも約85%のポジティブ、さらに好ましくは少なくとも約90%のポジティブ、最も好ましくは少なくとも約95%のポジティブをスコアするアミノ酸配列を含んでなる単離されたP R O 4 3 5 7 ポリペプチドに関する。

よりさらなる側面では、本発明は、F i g 1 8 (配列番号 : 4 0) を含めたアミノ酸残基18から約502の配列を含んでなる単離されたP R O 4 3 5 7 ポリペプチド、又は抗-P R O 4 3 5 7 抗体の結合部位を提供するために十分な単離されたP R O 4 3 5 7 ポリペプチドの断片に関する。好ましくは、P R O 4 3 5 7 断片は、天然P R O 4 3 5 7 ポリペプチドの質的な生物活性を保持する。

さらにさらなる側面では、本発明は、(i) (a) F i g 1 8 (配列番号 : 4 0) を含めたアミノ酸残基約18から約502の配列を有するP R O 4 3 5 7 ポリペプチドをコードするDNA分子、又は(b) (a) のDNA分子の補体と、試験DNA分子との緊縮性条件下でのハイブリダイゼーションにより製造されるポリペプチド、及び試験DNA分子が(a) 又は(b) に対して少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有する場合に、(ii) 試験DNA分子を含む宿主細胞をポリペプチドの発現に適した条件下で培養し、(iii) 培養細胞からポリペプチドを回収することにより製造されるポリペプチドを提供する。

【 0 0 6 3 】

1 0 . P R O 4 4 0 5

cDNAクローン (DNA84920-2614) が、本出願において「P R O 4 4 0 5」と命名された新規ポリペプチドをコードするものとして同定された。

一実施態様においては、本発明は、P R O 4 4 0 5 ポリペプチドをコードするDNAを含んでなる単離された核酸分子を提供する。

一側面では、単離された核酸分子は、(a) F i g 2 0 (配列番号 : 4 5) を含めたアミノ酸残基1又は約35から約310の配列を有するP R O 4 4 0 5 ポリペプチドをコードするDNA分子、又は(b) (a) のDNA分子の補体と、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するDNAを含む。

その他の側面では、本発明は、F i g 1 9 (配列番号 : 4 4) を含めた、約残基181と約1008の間の核酸の補体とハイブリダイゼーションするDNAを含んでなるP R O 4 4 0 5 ポリペプチドをコードする単離された核酸分子に関する。好ましくは、ハイブリダイゼーションは、緊縮性ハイブリダイゼーション及び洗浄条件下で起こる。

さらなる側面では、本発明は、(a) ATCC寄託番号203966 (DNA84920-2614) のヒトタンパク質cDNAによってコードされているのと同じ成熟ポリペプチドをコードするDNA分子、又は(b) (a) の核酸分子の補体と、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するDNAを含んでなる単離された核酸分子に関する。好ましい実施態様では、この核酸は、ATCC寄託番号203966 (DNA84920-2614) のヒトタンパク質cDNAによってコードされているのと同じ成熟ポリペプチドをコードするDNAを含む。

【 0 0 6 4 】

よりさらなる側面では、本発明は、(a) Fig 20 (配列番号：45)を含めたアミノ酸残基約35から約310の配列に対して、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するポリペプチドをコードするDNA、又は(a)のDNAの補体を含んでなる単離された核酸分子に関する。

さらなる側面では、本発明は、少なくとも約50ヌクレオチド、好ましくは少なくとも約100ヌクレオチドを有する単離された核酸分子で、試験DNA分子を(a) Fig 20 (配列番号：45)を含めたアミノ酸残基約35から約310の配列を有するPRO4405ポリペプチドをコードするDNA分子、又は(b)(a)のDNA分子の補体と、緊縮性条件下でハイブリダイゼーションすることにより製造されるもの、及びDNA分子が(a)又は(b)に対して少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有する場合に、試験DNA分子を単離することにより製造されるものに関する。

特別な側面においては、本発明は、PRO4405ポリペプチドをコードするDNAを含んでなる単離された核酸分子で、N-末端シグナル配列及び/又は開始メチオニンを伴う又は伴わない、及びその可溶性変異体(例えば膜貫通ドメイン欠損又は不活性化変異体)を提供し、又はそのようなコード化核酸分子と相補的である。シグナルペプチドは、Fig 20 (配列番号：45)の配列のアミノ酸位置1から約アミノ酸位置34へ伸張するとして仮に同定されている。膜貫通ドメインは、約アミノ酸位置58からアミノ酸位置76へ伸張するとして仮に同定され(Fig 20、配列番号：45)、おそらくII型膜貫通ドメインである。

【0065】

その他の側面では、本発明は、(a) Fig 20 (配列番号：45)を含めた残基35から約310のアミノ酸配列と比較した際に、少なくとも約80%のポジティブ、好ましくは少なくとも約85%のポジティブ、さらに好ましくは少なくとも約90%のポジティブ、最も好ましくは少なくとも約95%のポジティブをスコアするポリペプチドをコードするDNA、又は(b)(a)のDNAの補体を含んでなる単離された核酸分子に関する。

その他の実施態様は、ハイブリダイゼーションプローブとしての使用が見出されうる配列をコードするPRO4405ポリペプチドの断片へ向けられている。そのような核酸断片は、約20から約80ヌクレオチドの長さ、好ましくは約20から約60ヌクレオチドの長さ、さらに好ましくは約20から約50ヌクレオチドの長さ、及び最も好ましくは約20から約40ヌクレオチドの長さである。

その他の実施態様では、本発明は、上述において同定された単離された核酸分子の何れかによってコードされている単離されたPRO4405ポリペプチドを提供する。

特別な側面では、本発明は、ある実施態様において、Fig 20 (配列番号：45)の残基35から約310を含んでなるアミノ酸配列を包含する単離された天然配列PRO4405ポリペプチドを提供する。

【0066】

その他の側面では、本発明は、Fig 20 (配列番号：45)を含めたアミノ酸残基35から310の配列に対して、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含んでなる単離されたPRO4405ポリペプチドに関する。

さらなる側面では、本発明は、Fig 20 (配列番号：45)の残基35から310のアミノ酸配列と比較した際に、少なくとも約80%のポジティブ、好ましくは少なくとも約85%のポジティブ、さらに好ましくは少なくとも約90%のポジティブ、最も好ましくは少なくとも約95%のポジティブをスコアするアミノ酸配列を含んでなる単離されたPRO4405ポリペプチドに関する。

よりさらなる側面では、本発明は、Fig 20 (配列番号：45)を含めたアミノ酸残基35から約310の配列を含んでなる単離されたPRO4405ポリペプチド、又は抗-PRO

4405 抗体の結合部位を提供するために十分な単離された PRO4405 ポリペプチドの断片に関する。好ましくは、PRO4405 断片は、天然 PRO4405 ポリペプチドの質的な生物活性を保持する。

さらにさらなる側面では、本発明は、(i)(a) Fig 20 (配列番号: 45) を含めたアミノ酸残基約35から約310の配列を有する PRO4405 ポリペプチドをコードする DNA 分子、又は (b)(a) の DNA 分子の補体と、試験 DNA 分子との緊縮性条件下でのハイブリダイゼーションにより製造されるポリペプチド、及び試験 DNA 分子が (a) 又は (b) に対して少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有する場合に、(ii) 試験 DNA 分子を含む宿主細胞をポリペプチドの発現に適した条件下で培養し、(iii) 細胞培養からポリペプチドを回収することにより製造されるポリペプチドを提供する。

10

【0067】

11. PRO4356

cDNA クローン (DNA86576-2595) が、MAGPIAP と相同性を有する新規ポリペプチドをコードすると同定され、そして本出願において「PRO4356」と命名された。

一実施態様においては、本発明は、PRO4356 ポリペプチドをコードする DNA を含んでなる単離された核酸分子を提供する。

一側面では、単離された核酸分子は、(a) Fig 22 (配列番号: 50) を含めたアミノ酸残基1又は約20から約251の配列を有する PRO4356 ポリペプチドをコードする DNA 分子、又は (b)(a) の DNA 分子の補体と、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有する DNA を含む。

20

その他の側面では、本発明は、Fig 21 (配列番号: 49) を含めた、約残基112と約807の間の核酸の補体とハイブリダイゼーションする DNA を含んでなる PRO4356 ポリペプチドをコードする単離された核酸分子に関する。好ましくは、ハイブリダイゼーションは、緊縮性ハイブリダイゼーション及び洗浄条件下で起こる。

さらなる側面では、本発明は、(a) ATCC 寄託番号 203868 (DNA86576-2595) のヒトタンパク質 cDNA によってコードされているのと同じ成熟ポリペプチドをコードする DNA 分子、又は (b)(a) の核酸分子の補体と、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有する DNA を含んでなる単離された核酸分子に関する。好ましい実施態様では、この核酸は、ATCC 寄託番号 203868 (DNA86576-2595) のヒトタンパク質 cDNA によってコードされているのと同じ成熟ポリペプチドをコードする DNA を含む。

30

【0068】

よりさらなる側面では、本発明は、(a) Fig 22 (配列番号: 50) を含めたアミノ酸残基約20から約251の配列に対して、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するポリペプチドをコードする DNA、又は (a) の DNA の補体を含んでなる単離された核酸分子に関する。

40

さらなる側面では、本発明は、少なくとも約50ヌクレオチド、好ましくは少なくとも約100ヌクレオチドを有する単離された核酸分子で、試験 DNA 分子を (a) Fig 22 (配列番号: 50) を含めたアミノ酸残基約20から約251の配列を有する PRO4356 ポリペプチドをコードする DNA 分子、又は (b)(a) の DNA 分子の補体と、緊縮性条件下でハイブリダイゼーションすることにより製造されるもの、及び DNA 分子が (a) 又は (b) に対して少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有する場合に、試験 DNA 分子を単離することにより製造されるものに関する。

特別な側面においては、本発明は、PRO4356 ポリペプチドをコードする DNA を含ん

50

でなる単離された核酸分子で、N - 末端シグナル配列及び／又は開始メチオニンを伴う又は伴わない、及びその可溶性変異体（例えば膜貫通ドメイン欠損又は不活性化変異体）を提供し、又はそのようなコード化核酸分子と相補的である。シグナルペプチドは、F i g 2 2（配列番号：50）の配列のアミノ酸位置1から約アミノ酸位置19へ伸張するとして仮に同定されている。膜貫通ドメインは、約アミノ酸位置223からアミノ酸位置251へ伸張するとして仮に同定された（F i g 2 2、配列番号：50）。

【0069】

その他の側面では、本発明は、（a）F i g 2 2（配列番号：50）を含めた残基20から約251のアミノ酸配列と比較した際に、少なくとも約80%のポジティブ、好ましくは少なくとも約85%のポジティブ、さらに好ましくは少なくとも約90%のポジティブ、最も好ましくは少なくとも約95%のポジティブをスコアするポリペプチドをコードするDNA、又は（b）（a）のDNAの補体を含んでなる単離された核酸分子に関する。

その他の実施態様は、ハイブリダイゼーションプローブとしての使用が見出されうる配列をコードするP R O 4 3 5 6ポリペプチドの断片へ向けられている。そのような核酸断片は、約20から約80ヌクレオチドの長さ、好ましくは約20から約60ヌクレオチドの長さ、さらに好ましくは約20から約50ヌクレオチドの長さ、及び最も好ましくは約20から約40ヌクレオチドの長さである。

その他の実施態様では、本発明は、上述において同定された単離された核酸分子の何れかによってコードされている単離されたP R O 4 3 5 6ポリペプチドを提供する。

特別な側面では、本発明は、ある実施態様において、F i g 2 2（配列番号：50）の残基20から約251を含んでなるアミノ酸配列を包含する単離された天然配列P R O 4 3 5 6ポリペプチドを提供する。

その他の側面では、本発明は、F i g 2 2（配列番号：50）を含めたアミノ酸残基20から251の配列に対して、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含んでなる単離されたP R O 4 3 5 6ポリペプチドに関する。

【0070】

さらなる側面では、本発明は、F i g 2 2（配列番号：50）の残基20から251のアミノ酸配列と比較した際に、少なくとも約80%のポジティブ、好ましくは少なくとも約85%のポジティブ、さらに好ましくは少なくとも約90%のポジティブ、最も好ましくは少なくとも約95%のポジティブをスコアするアミノ酸配列を含んでなる単離されたP R O 4 3 5 6ポリペプチドに関する。

よりさらなる側面では、本発明は、F i g 2 2（配列番号：50）を含めたアミノ酸残基20から約251の配列を含んでなる単離されたP R O 4 3 5 6ポリペプチド、又は抗-P R O 4 3 5 6抗体の結合部位を提供するために十分な単離されたP R O 4 3 5 6ポリペプチドの断片に関する。好ましくは、P R O 4 3 5 6断片は、天然P R O 4 3 5 6ポリペプチドの質的な生物活性を保持する。

さらにさらなる側面では、本発明は、（i）（a）F i g 2 2（配列番号：50）を含めたアミノ酸残基約20から約251の配列を有するP R O 4 3 5 6ポリペプチドをコードするDNA分子、又は（b）（a）のDNA分子の補体と、試験DNA分子との緊縮性条件下でのハイブリダイゼーションにより製造されるポリペプチド、及び試験DNA分子が（a）又は（b）に対して少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有する場合に、（ii）試験DNA分子を含む宿主細胞をポリペプチドの発現に適した条件下で培養し、（iii）細胞培養からポリペプチドを回収することにより製造されるポリペプチドを提供する。

【0071】

1 2 . P R O 4 3 5 2

cDNAクローン（DNA87976-2593）は、本出願において「P R O 4 3 5 2」と命名され、プ

10

20

30

40

50

ロトカドヘリンpc3と相同性を有する新規ポリペプチドをコードすると同定された。

一実施態様においては、本発明は、P R O 4 3 5 2 ポリペプチドをコードするDNAを含んでなる単離された核酸分子を提供する。

一側面では、単離された核酸分子は、(a) F i g 2 4 (配列番号 : 5 2) を含めたアミノ酸残基1又は約27から約800の配列を有するP R O 4 3 5 2 ポリペプチドをコードするDNA分子、又は(b) (a) のDNA分子の補体と、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するDNAを含む。

その他の側面では、本発明は、F i g 2 3 (配列番号 : 5 1) を含めた、約残基257と約2578の間の核酸の補体とハイブリダイゼーションするDNAを含んでなるP R O 4 3 5 6 ポリペプチドをコードする単離された核酸分子に関する。好ましくは、ハイブリダイゼーションは、緊縮性ハイブリダイゼーション及び洗浄条件下で起こる。

さらなる側面では、本発明は、(a) ATCC寄託番号203888 (DNA87976-2593) のヒトタンパク質cDNAによってコードされているのと同じ成熟ポリペプチドをコードするDNA分子、又は(b) (a) の核酸分子の補体と、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するDNAを含んでなる単離された核酸分子に関する。好ましい実施態様では、この核酸は、ATCC寄託番号203888 (DNA87976-2593) のヒトタンパク質cDNAによってコードされているのと同じ成熟ポリペプチドをコードするDNAを含む。

【 0 0 7 2 】

よりさらなる側面では、本発明は、(a) F i g 2 4 (配列番号 : 5 2) を含めたアミノ酸残基約27から約800の配列に対して、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するポリペプチドをコードするDNA、又は(a) のDNAの補体を含んでなる単離された核酸分子に関する。

さらなる側面では、本発明は、少なくとも約50ヌクレオチド、好ましくは少なくとも約100ヌクレオチドを有する単離された核酸分子で、試験DNA分子を(a) F i g 2 4 (配列番号 : 5 2) を含めたアミノ酸残基約27から約800の配列を有するP R O 4 3 5 2 ポリペプチドをコードするDNA分子、又は(b) (a) のDNA分子の補体と、緊縮条件下でハイブリダイゼーションすることにより製造されるもの、及びDNA分子が(a) 又は(b) に対して少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有する場合に、試験DNA分子を単離することにより製造されるものに関する。

特別な側面においては、本発明は、P R O 4 3 5 2 ポリペプチドをコードするDNAを含んでなる単離された核酸分子で、N - 末端シグナル配列及び/又は開始メチオニンを伴う又は伴わない、及びその可溶性変異体 (例えば膜貫通ドメイン欠損又は不活性化変異体) を提供し、又はそのようなコード化核酸分子と相補的である。シグナルペプチドは、F i g 2 4 (配列番号 : 5 2) の配列のアミノ酸位置1から約アミノ酸位置26へ伸張するとして仮に同定されている。膜貫通ドメインは、P R O 4 3 5 2 アミノ酸配列 (F i g 2 4 、 配列番号 : 5 2) 中において約アミノ酸位置687からアミノ酸位置711へ伸張するとして仮に同定された。

【 0 0 7 3 】

その他の側面では、本発明は、(a) F i g 2 4 (配列番号 : 5 2) を含めた残基27から約800のアミノ酸配列と比較した際に、少なくとも約80%のポジティブ、好ましくは少なくとも約85%のポジティブ、さらに好ましくは少なくとも約90%のポジティブ、最も好ましくは少なくとも約95%のポジティブをスコアするポリペプチドをコードするDNA、又は(b) (a) のDNAの補体を含んでなる単離された核酸分子に関する。

その他の実施態様は、ハイブリダイゼーションプローブとしての使用が見出されうる配列をコードするP R O 4 3 5 2 ポリペプチドの断片へ向けられている。そのような核酸断片

は、約20から約80ヌクレオチドの長さ、好ましくは約20から約60ヌクレオチドの長さ、さらに好ましくは約20から約50ヌクレオチドの長さ、及び最も好ましくは約20から約40ヌクレオチドの長さである。

その他の実施態様では、本発明は、上記において定義された単離された核酸分子配列の何れかによってコードされている単離された P R O 4 3 5 2 ポリペプチドを提供する。

特別な側面では、本発明は、ある実施態様において、F i g 2 4 (配列番号: 5 2) の残基27から約800を含んでなるアミノ酸配列を包含する単離された天然配列 P R O 4 3 5 2 ポリペプチドを提供する。

その他の側面では、本発明は、F i g 2 4 (配列番号: 5 2) を含めたアミノ酸残基27から約800の配列に対して、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含んでなる単離された P R O 4 3 5 2 ポリペプチドに関する。

【 0 0 7 4 】

さらなる側面では、本発明は、F i g 2 4 (配列番号: 5 2) の残基27から800のアミノ酸配列と比較した際に、少なくとも約80%のポジティブ、好ましくは少なくとも約85%のポジティブ、さらに好ましくは少なくとも約90%のポジティブ、最も好ましくは少なくとも約95%のポジティブをスコアするアミノ酸配列を含んでなる単離された P R O 4 3 5 2 ポリペプチドに関する。

よりさらなる側面では、本発明は、F i g 2 4 (配列番号: 5 2) を含めたアミノ酸残基27から約800の配列を含んでなる単離された P R O 4 3 5 2 ポリペプチド、又は抗-P R O 4 3 5 2 抗体の結合部位を提供するために十分な単離された P R O 4 3 5 2 ポリペプチドの断片に関する。好ましくは、P R O 4 3 5 2 断片は、天然 P R O 4 3 5 2 ポリペプチドの質的な生物活性を保持する。

さらにさらなる側面では、本発明は、(i) (a) F i g 2 4 (配列番号: 5 2) を含めたアミノ酸残基約27から約800の配列を有する P R O 4 3 5 2 ポリペプチドをコードする D N A 分子、又は (b) (a) の D N A 分子の補体と、試験 D N A 分子との緊縮性条件下でのハイブリダイゼーションにより製造されるポリペプチド、及び試験 D N A 分子が (a) 又は (b) に対して少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有する場合に、(i i) 試験 D N A 分子を含む宿主細胞をポリペプチドの発現に適した条件下で培養し、(i i i) 細胞培養からポリペプチドを回収することにより製造されるポリペプチドを提供する。

【 0 0 7 5 】

1 3 . P R O 4 3 8 0

cDNA クローン (D N A 9 2 2 3 4 - 2 6 0 2) は、「 P R O 4 3 8 0 」と本出願において命名され、新規ポリペプチドをコードすると同定された。

一実施態様においては、本発明は、P R O 4 3 8 0 ポリペプチドをコードする D N A を含んでなる単離された核酸分子を提供する。

一側面では、単離された核酸分子は、(a) F i g 2 6 (配列番号: 5 7) を含めたアミノ酸残基 1 又は約27から約507の配列を有する P R O 4 3 8 0 ポリペプチドをコードする D N A 分子、又は (b) (a) の D N A 分子の補体と、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有する D N A を含む。

その他の側面では、本発明は、F i g 2 5 (配列番号: 5 6) を含めた、約残基 2 7 9 と約 1 7 2 1 の間の核酸の補体とハイブリダイゼーションする D N A を含んでなる P R O 4 3 8 0 ポリペプチドをコードする単離された核酸分子に関する。好ましくは、ハイブリダイゼーションは、緊縮性ハイブリダイゼーション及び洗浄条件下で起こる。

さらなる側面では、本発明は、(a) ATCC 寄託番号 203948 (D N A 9 2 2 3 4 - 2 6 0 2) のヒトタンパク質 cDNA によってコードされているのと同じ成熟ポリペプチドをコードする D N A 分子、

又は (b) (a) の核酸分子の補体と、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するDNAを含んでなる単離された核酸分子に関する。好ましい実施態様では、この核酸は、ATCC寄託番号203948 (DNA92234-2602) のヒトタンパク質cDNAによってコードされているのと同じ成熟ポリペプチドをコードするDNAを含む。

【 0 0 7 6 】

よりさらなる側面では、本発明は、 (a) F i g 2 6 (配列番号 : 5 7) を含めたアミノ酸残基約27から約507の配列に対して、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するポリペプチドをコードするDNA、又は (a) のDNAの補体を含んでなる単離された核酸分子に関する。

さらなる側面では、本発明は、少なくとも約50ヌクレオチド、好ましくは少なくとも約100ヌクレオチドを有する単離された核酸分子で、試験DNA分子を (a) F i g 2 6 (配列番号 : 5 7) を含めたアミノ酸残基約27から約507の配列を有する P R O 4 3 8 0 ポリペプチドをコードするDNA分子、又は (b) (a) のDNA分子の補体と、緊縮性条件下でハイブリダイゼーションすることにより製造されるもの、及びDNA分子が (a) 又は (b) に対して少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有する場合に、試験DNA分子を単離することにより製造されるものに関する。

特別な側面においては、本発明は、 P R O 4 3 8 0 ポリペプチドをコードするDNAを含んでなる単離された核酸分子で、 N - 末端シグナル配列及び / 又は開始メチオニンを伴う又は伴わない、及びその可溶性変異体 (例えば膜貫通ドメイン欠損又は不活性化変異体) を提供し、又はそのようなコード化核酸分子と相補的である。シグナルペプチドは、 F i g 2 6 (配列番号 : 5 7) の配列のアミノ酸位置1から約アミノ酸位置26へ伸張するとして仮に同定されている。膜貫通ドメインは、 P R O 4 3 8 0 アミノ酸配列 (F i g 2 6 、 配列番号 : 5 7) 中において約アミノ酸位置273からアミノ酸位置292へ伸張するとして仮に同定された。

【 0 0 7 7 】

その他の側面では、本発明は、 (a) F i g 2 6 (配列番号 : 5 7) を含めた残基27から約507のアミノ酸配列と比較した際に、少なくとも約80%のポジティブ、好ましくは少なくとも約85%のポジティブ、さらに好ましくは少なくとも約90%のポジティブ、最も好ましくは少なくとも約95%のポジティブをスコアするポリペプチドをコードするDNA、又は (b) (a) のDNAの補体を含んでなる単離された核酸分子に関する。

その他の実施態様は、ハイブリダイゼーションプローブとしての使用が見出されうる配列をコードする P R O 4 3 8 0 ポリペプチドの断片へ向けられている。そのような核酸断片は、約20から約80ヌクレオチドの長さ、好ましくは約20から約60ヌクレオチドの長さ、さらに好ましくは約20から約50ヌクレオチドの長さ、及び最も好ましくは約20から約40ヌクレオチドの長さである。

その他の実施態様では、本発明は、上記において定義された単離された核酸分子配列の何れかによってコードされている単離された P R O 4 3 8 0 ポリペプチドを提供する。

特別な側面では、本発明は、ある実施態様において、 F i g 2 6 (配列番号 : 5 7) の残基27から約507を含んでなるアミノ酸配列を包含する単離された天然配列 P R O 4 3 8 0 ポリペプチドを提供する。

その他の側面では、本発明は、 F i g 2 6 (配列番号 : 5 7) を含めたアミノ酸残基27から約507の配列に対して、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含んでなる単離された P R O 4 3 8 0 ポリペプチドに関する。

【 0 0 7 8 】

さらなる側面では、本発明は、F i g 2 6 (配列番号：57)の残基27から507のアミノ酸配列と比較した際に、少なくとも約80%のポジティブ、好ましくは少なくとも約85%のポジティブ、さらに好ましくは少なくとも約90%のポジティブ、最も好ましくは少なくとも約95%のポジティブをスコアするアミノ酸配列を含んでなる単離されたP R O 4 3 8 0ポリペプチドに関する。

よりさらなる側面では、本発明は、F i g 2 6 (配列番号：57)を含めたアミノ酸残基27から約507の配列を含んでなる単離されたP R O 4 3 8 0ポリペプチド、又は抗-P R O 4 3 8 0抗体の結合部位を提供するために十分な単離されたP R O 4 3 8 0ポリペプチドの断片に関する。好ましくは、P R O 4 3 8 0断片は、天然P R O 4 3 8 0ポリペプチドの質的な生物活性を保持する。

さらにさらなる側面では、本発明は、(i)(a) F i g 2 6 (配列番号：57)を含めたアミノ酸残基約27から約507の配列を有するP R O 4 3 8 0ポリペプチドをコードするDNA分子、又は(b)(a)のDNA分子の補体と、試験DNA分子との緊縮性条件下でのハイブリダイゼーションにより製造されるポリペプチド、及び試験DNA分子が(a)又は(b)に対して少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有する場合に、(ii)試験DNA分子を含む宿主細胞をポリペプチドの発現に適した条件下で培養し、(iii)細胞培養からポリペプチドを回収することにより製造されるポリペプチドを提供する。

【0079】

14. P R O 4 3 5 4

cDNAクローン(DNA92256-2596)は、「P R O 4 3 5 4」と本出願において命名され、新規ポリペプチドをコードすると同定された。

一実施態様においては、本発明は、P R O 4 3 5 4ポリペプチドをコードするDNAを含んでなる単離された核酸分子を提供する。

一側面では、単離された核酸分子は、(a) F i g 2 8 (配列番号：59)を含めたアミノ酸残基1又は約22から約248の配列を有するP R O 4 3 5 4ポリペプチドをコードするDNA分子、又は(b)(a)のDNA分子の補体と、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するDNAを含む。

その他の側面では、本発明は、F i g 2 7 (配列番号：58)を含めた、約残基171と約851の間の核酸の補体とハイブリダイゼーションするDNAを含んでなるP R O 4 3 5 4ポリペプチドをコードする単離された核酸分子に関する。好ましくは、ハイブリダゼーションは、緊縮性ハイブリダイゼーション及び洗浄条件下で起こる。

さらなる側面では、本発明は、(a) ATCC寄託番号203891(DNA92256-2596)のヒトタンパク質cDNAによってコードされているのと同じ成熟ポリペプチドをコードするDNA分子、又は(b)(a)の核酸分子の補体と、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するDNAを含んでなる単離された核酸分子に関する。好ましい実施態様では、この核酸は、ATCC寄託番号203891(DNA92256-2596)のヒトタンパク質cDNAによってコードされているのと同じ成熟ポリペプチドをコードするDNAを含む。

【0080】

よりさらなる側面では、本発明は、(a) F i g 2 8 (配列番号：59)を含めたアミノ酸残基約22から約248の配列に対して、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するポリペプチドをコードするDNA、又は(a)のDNAの補体を含んでなる単離された核酸分子に関する。

さらなる側面では、本発明は、少なくとも約50ヌクレオチド、好ましくは少なくとも約100ヌクレオチドを有する単離された核酸分子で、試験DNA分子を(a) F i g 2 8 (配列番

号：59)を含めたアミノ酸残基約22から約248の配列を有するPRO4354ポリペプチドをコードするDNA分子、又は(b)(a)のDNA分子の補体と、緊縮性条件下でハイブリダイゼーションすることにより製造されるもの、及びDNA分子が(a)又は(b)に対して少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有する場合に、試験DNA分子を単離することにより製造されるものに関する。

その他の側面では、本発明は、(a)Fig 28(配列番号：59)を含めた残基22から約248のアミノ酸配列と比較した際に、少なくとも約80%のポジティブ、好ましくは少なくとも約85%のポジティブ、さらに好ましくは少なくとも約90%のポジティブ、最も好ましくは少なくとも約95%のポジティブをスコアするポリペプチドをコードするDNA、又は(b)(a)のDNAの補体を含んでなる単離された核酸分子に関する。

10

その他の実施態様は、ハイブリダイゼーションプローブとしての使用が見出されうる配列をコードするPRO4354ポリペプチドの断片へ向けられている。そのような核酸断片は、約20から約80ヌクレオチドの長さ、好ましくは約20から約60ヌクレオチドの長さ、さらに好ましくは約20から約50ヌクレオチドの長さ、及び最も好ましくは約20から約40ヌクレオチドの長さである。

【0081】

その他の実施態様では、本発明は、上記において定義された単離された核酸分子配列の何れかによってコードされている単離されたPRO4354ポリペプチドを提供する。

特別な側面では、本発明は、ある実施態様において、Fig 28(配列番号：59)の残基22から約248を含んでなるアミノ酸配列を包含する単離された天然配列PRO4354ポリペプチドを提供する。

20

その他の側面では、本発明は、Fig 28(配列番号：59)を含めたアミノ酸残基22から約248の配列に対して、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含んでなる単離されたPRO4354ポリペプチドに関する。

【0082】

さらなる側面では、本発明は、Fig 28(配列番号：59)の残基22から248のアミノ酸配列と比較した際に、少なくとも約80%のポジティブ、好ましくは少なくとも約85%のポジティブ、さらに好ましくは少なくとも約90%のポジティブ、最も好ましくは少なくとも約95%のポジティブをスコアするアミノ酸配列を含んでなる単離されたPRO4354ポリペプチドに関する。

30

よりさらなる側面では、本発明は、Fig 28(配列番号：59)を含めたアミノ酸残基22から約248の配列を含んでなる単離されたPRO4354ポリペプチド、又は抗-PRO4354抗体の結合部位を提供するために十分な単離されたPRO4354ポリペプチドの断片に関する。好ましくは、PRO4354断片は、天然PRO4354ポリペプチドの質的な生物活性を保持する。

さらにさらなる側面では、本発明は、(i)(a)Fig 28(配列番号：59)を含めたアミノ酸残基約22から約248の配列を有するPRO4354ポリペプチドをコードするDNA分子、又は(b)(a)のDNA分子の補体と、試験DNA分子との緊縮性条件下でのハイブリダイゼーションにより製造されるポリペプチド、及び試験DNA分子が(a)又は(b)に対して少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有する場合に、(ii)試験DNA分子を含む宿主細胞をポリペプチドの発現に適した条件下で培養し、(iii)細胞培養からポリペプチドを回収することにより製造されるポリペプチドを提供する。

40

【0083】

15. PRO4408

cDNAクローン(DNA92274-2617)は、「PRO4408」と本出願において命名され、新

50

規ポリペプチドをコードすると同定された。

一実施態様においては、本発明は、P R O 4 4 0 8 ポリペプチドをコードするDNAを含んでなる単離された核酸分子を提供する。

一側面では、単離された核酸分子は、(a) F i g 3 0 (配列番号 : 6 1) を含めたアミノ酸残基1又は約23から約223の配列を有するP R O 4 4 0 8 ポリペプチドをコードするDNA分子、又は(b) (a) のDNA分子の補体と、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するDNAを含む。

その他の側面では、本発明は、F i g 2 9 (配列番号 : 6 0) を含めた、約残基155と約757の間の核酸の補体とハイブリダイゼーションするDNAを含んでなるP R O 4 4 0 8 ポリペプチドをコードする単離された核酸分子に関する。好ましくは、ハイブリダイゼーションは、緊縮性ハイブリダイゼーション及び洗浄条件下で起こる。

さらなる側面では、本発明は、(a) ATCC寄託番号203971 (DNA92274-2617) のヒトタンパク質cDNAによってコードされているのと同じ成熟ポリペプチドをコードするDNA分子、又は(b) (a) の核酸分子の補体と、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するDNAを含んでなる単離された核酸分子に関する。好ましい実施態様では、この核酸は、ATCC寄託番号203971 (DNA92274-2617) のヒトタンパク質cDNAによってコードされているのと同じ成熟ポリペプチドをコードするDNAを含む。

【 0 0 8 4 】

よりさらなる側面では、本発明は、(a) F i g 3 0 (配列番号 : 6 1) を含めたアミノ酸残基約23から約223の配列に対して、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するポリペプチドをコードするDNA、又は(a) のDNAの補体を含んでなる単離された核酸分子に関する。

さらなる側面では、本発明は、少なくとも約50ヌクレオチド、好ましくは少なくとも約100ヌクレオチドを有する単離された核酸分子で、試験DNA分子を(a) F i g 3 0 (配列番号 : 6 1) を含めたアミノ酸残基約23から約223の配列を有するP R O 4 4 0 8 ポリペプチドをコードするDNA分子、又は(b) (a) のDNA分子の補体と、緊縮性条件下でハイブリダイゼーションすることにより製造されるもの、及びDNA分子が(a) 又は(b) に対して少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有する場合に、試験DNA分子を単離することにより製造されるものに関する。

その他の側面では、本発明は、(a) F i g 3 0 (配列番号 : 6 1) を含めた残基23から約223のアミノ酸配列と比較した際に、少なくとも約80%のポジティブ、好ましくは少なくとも約85%のポジティブ、さらに好ましくは少なくとも約90%のポジティブ、最も好ましくは少なくとも約95%のポジティブをスコアするポリペプチドをコードするDNA、又は(b) (a) のDNAの補体を含んでなる単離された核酸分子に関する。

その他の実施態様は、ハイブリダイゼーションプローブとしての使用が見出されうる配列をコードするP R O 4 4 0 8 ポリペプチドの断片へ向けられている。そのような核酸断片は、約20から約80ヌクレオチドの長さ、好ましくは約20から約60ヌクレオチドの長さ、さらに好ましくは約20から約50ヌクレオチドの長さ、及び最も好ましくは約20から約40ヌクレオチドの長さである。

その他の実施態様では、本発明は、上記において定義された単離された核酸配列の何れかによってコードされている単離されたP R O 4 4 0 8 ポリペプチドを提供する。

特別な側面では、本発明は、ある実施態様において、F i g 3 0 (配列番号 : 6 1) の残基23から約223を含んでなるアミノ酸配列を包含する単離された天然配列P R O 4 4 0 8 ポリペプチドを提供する。

【 0 0 8 5 】

その他の側面では、本発明は、F i g 3 0 (配列番号 : 6 1) を含めたアミノ酸残基23から約223の配列に対して、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含んでなる単離されたP R O 4 4 0 8 ポリペプチドに関する。

さらなる側面では、本発明は、F i g 3 0 (配列番号 : 6 1) の残基23から223のアミノ酸配列と比較した際に、少なくとも約80%のポジティブ、好ましくは少なくとも約85%のポジティブ、さらに好ましくは少なくとも約90%のポジティブ、最も好ましくは少なくとも約95%のポジティブをスコアするアミノ酸配列を含んでなる単離されたP R O 4 4 0 8 ポリペプチドに関する。

10

よりさらなる側面では、本発明は、F i g 3 0 (配列番号 : 6 1) を含めたアミノ酸残基23から約223の配列を含んでなる単離されたP R O 4 4 0 8 ポリペプチド、又は抗-P R O 4 4 0 8 抗体の結合部位を提供するために十分な単離されたP R O 4 4 0 8 ポリペプチドの断片に関する。好ましくは、P R O 4 4 0 8 断片は、天然P R O 4 4 0 8 ポリペプチドの質的な生物活性を保持する。

さらにさらなる側面では、本発明は、(i) (a) F i g 3 0 (配列番号 : 6 1) を含めたアミノ酸残基約23から約223の配列を有するP R O 4 4 0 8 ポリペプチドをコードするDNA分子、又は(b) (a) のDNA分子の補体と、試験DNA分子との緊縮性条件下でのハイブリダイゼーションにより製造されるポリペプチド、及び試験DNA分子が(a) 又は(b) に対して少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有する場合に、(i i) 試験DNA分子を含む宿主細胞をポリペプチドの発現に適した条件下で培養し、(i i i) 細胞培養からポリペプチドを回収することにより製造されるポリペプチドを提供する。

20

【 0 0 8 6 】

1 6 . P R O 5 7 3 7

c DNAクローン (DNA92929-2534) は、IL-1と相同性を有する新規ポリペプチドをコードすると同定され、「P R O 5 7 3 7」と本出願において命名された。

一実施態様においては、本発明は、P R O 5 7 3 7 ポリペプチドをコードするDNAを含んでなる単離された核酸分子を提供する。

30

一側面では、単離された核酸分子は、(a) F i g 3 2 (配列番号 : 6 3) を含めたアミノ酸残基 1 又は約 1 8 から約 1 3 4 の配列を有するP R O 5 7 5 3 ポリペプチドをコードするDNA分子、又は(b) (a) のDNA分子の補体に対して、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するDNAを含む。

その他の側面では、本発明は、F i g 3 1 (配列番号 : 6 2) を含めた、約残基96又は約147と約497の間の核酸の補体とハイブリダイゼーションするDNAを含んでなるP R O 5 7 5 3 ポリペプチドをコードする単離された核酸分子に関する。好ましくは、ハイブリダイゼーションは、緊縮性ハイブリダイゼーション及び洗浄条件下で起こる。

さらなる側面では、本発明は、(a) ATCC寄託番号203586 (DNA92929-2534) のヒトタンパク質cDNAによってコードされているのと同じ成熟ポリペプチドをコードするDNA分子、又は(b) (a) の核酸分子の補体に対して、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するDNAを含んでなる単離された核酸分子に関する。好ましい実施態様では、この核酸は、ATCC寄託番号203586 (DNA92929-2534) のヒトタンパク質cDNAによってコードされているのと同じ成熟ポリペプチドをコードするDNAを含む。

40

【 0 0 8 7 】

よりさらなる側面では、本発明は、(a) F i g 3 2 (配列番号 : 6 3) を含めたアミノ酸残基約18から約134の配列に対して、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少な

50

くとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するポリペプチドをコードするDNA、又は(a)のDNAの補体を含んでなる単離された核酸分子に関する。

さらなる側面では、本発明は、少なくとも約50ヌクレオチド、好ましくは少なくとも約100ヌクレオチドを有する単離された核酸分子で、試験DNA分子を(a) Fig 3 2 (配列番号: 63)を含めたアミノ酸残基約18から約134の配列を有するPRO5737ポリペプチドをコードするDNA分子、又は(b)(a)のDNA分子の補体と、緊縮性条件下でハイブリダイゼーションすることにより製造されるもの、及びDNA分子が(a)又は(b)に対して少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有する場合に、試験DNA分子を単離することにより製造されるものに関する。

10

その他の側面では、本発明は、(a) Fig 3 2 (配列番号: 63)を含めた残基18から約134のアミノ酸配列と比較した際に、少なくとも約80%のポジティブ、好ましくは少なくとも約85%のポジティブ、さらに好ましくは少なくとも約90%のポジティブ、最も好ましくは少なくとも約95%のポジティブをスコアするポリペプチドをコードするDNA、又は(b)(a)のDNAの補体を含んでなる単離された核酸分子に関する。

その他の実施態様は、ハイブリダイゼーションプローブとしての使用が見出されうる配列をコードするPRO5737ポリペプチドの断片へ向けられている。そのような核酸断片は、約20から約80ヌクレオチドの長さ、好ましくは約20から約60ヌクレオチドの長さ、さらに好ましくは約20から約50ヌクレオチドの長さ、及び最も好ましくは約20から約40ヌクレオチドの長さである

20

その他の実施態様では、本発明は、上記において定義された核酸配列の何れかによってコードされている単離されたPRO5737ポリペプチドを提供する。

特別な側面では、本発明は、ある実施態様において、Fig 3 2 (配列番号: 63)の残基18から約134を含んでなるアミノ酸配列を包含する単離された天然配列PRO5737ポリペプチドを提供する。

【0088】

その他の側面では、本発明は、Fig 3 2 (配列番号: 63)を含めたアミノ酸残基18から約134の配列に対して、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含んでなる単離されたPRO5737ポリペプチドに関する。

30

さらなる側面では、本発明は、Fig 3 2 (配列番号: 63)の残基18から134のアミノ酸配列と比較した際に、少なくとも約80%のポジティブ、好ましくは少なくとも約85%のポジティブ、さらに好ましくは少なくとも約90%のポジティブ、最も好ましくは少なくとも約95%のポジティブをスコアするアミノ酸配列を含んでなる単離されたPRO5737ポリペプチドに関する。

よりさらなる側面では、本発明は、Fig 3 2 (配列番号: 63)を含めたアミノ酸残基18から約134の配列を含んでなる単離されたPRO5737ポリペプチド、又は抗-PRO5737抗体の結合部位を提供するために十分な単離されたPRO5737ポリペプチドの断片に関する。好ましくは、PRO5737断片は、天然PRO5737ポリペプチドの質的な生物活性を保持する。

40

さらにさらなる側面では、本発明は、(i)(a) Fig 3 2 (配列番号: 63)を含めたアミノ酸残基約18から約134の配列を有するPRO5737ポリペプチドをコードするDNA分子、又は(b)(a)のDNA分子の補体と、試験DNA分子との緊縮性条件下でのハイブリダイゼーションにより製造されるポリペプチド、及び試験DNA分子が(a)又は(b)に対して少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有する場合に、(ii)試験DNA分子を含む宿主細胞をポリペプチドの発現に適した条件下で培養し、(iii)細胞培養からポリペプチドを回収することにより製造される

50

ポリペプチドを提供する。

【 0 0 8 9 】

1 7 . P R O 4 4 2 5

cDNAクローン (DNA93011-2637) は、GenBankのタンパク質、HGS_RE925、と相同性を有する新規ポリペプチドをコードすると同定され、「 P R O 4 4 2 5 」と本出願において命名された。

一実施態様においては、本発明は、 P R O 4 4 2 5 ポリペプチドをコードするDNAを含んでなる単離された核酸分子を提供する。

一側面では、単離された核酸分子は、 (a) F i g 3 4 (配列番号 : 6 5) を含めたアミノ酸残基1又は約20から約136の配列を有する P R O 4 4 2 5 ポリペプチドをコードするDNA分子、又は (b) (a) のDNA分子の補体と、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するDNAを含む。

その他の側面では、本発明は、 F i g 3 3 (配列番号 : 6 4) を含めた、約残基84と約434の間の核酸の補体とハイブリダイゼーションするDNAを含んでなる P R O 4 4 2 5 ポリペプチドをコードする単離された核酸分子に関する。好ましくは、ハイブリダイゼーションは、緊縮性ハイブリダイゼーション及び洗浄条件下で起こる。

さらなる側面では、本発明は、 (a) ATCC寄託番号20-PTA (DNA93011-2637) のヒトタンパク質cDNAによってコードされているのと同じ成熟ポリペプチドをコードするDNA分子、又は (b) (a) の核酸分子の補体と、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するDNAを含んでなる単離された核酸分子に関する。好ましい実施態様では、この核酸は、ATCC寄託番号20-PTA (DNA93011-2637) のヒトタンパク質cDNAによってコードされているのと同じ成熟ポリペプチドをコードするDNAを含む。

【 0 0 9 0 】

よりさらなる側面では、本発明は、 (a) F i g 3 4 (配列番号 : 6 5) を含めたアミノ酸残基約20から約136の配列に対して、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するポリペプチドをコードするDNA、又は (a) のDNAの補体を含んでなる単離された核酸分子に関する。

さらなる側面では、本発明は、少なくとも約50ヌクレオチド、好ましくは少なくとも約100ヌクレオチドを有する単離された核酸分子で、試験DNA分子を (a) F i g 3 4 (配列番号 : 6 5) を含めたアミノ酸残基約20から約136の配列を有する P R O 4 4 2 5 ポリペプチドをコードするDNA分子、又は (b) (a) のDNA分子の補体と、緊縮性条件下でハイブリダイゼーションすることにより製造されるもの、及びDNA分子が (a) 又は (b) に対して少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有する場合に、試験DNA分子を単離することにより製造されるものに関する。

その他の側面では、本発明は、 (a) F i g 3 4 (配列番号 : 6 5) を含めた残基20から約136のアミノ酸配列と比較した際に、少なくとも約80%のポジティブ、好ましくは少なくとも約85%のポジティブ、さらに好ましくは少なくとも約90%のポジティブ、最も好ましくは少なくとも約95%のポジティブをスコアするポリペプチドをコードするDNA、又は (b) (a) のDNAの補体を含んでなる単離された核酸分子に関する。

その他の実施態様は、ハイブリダイゼーションプローブとしての使用が見出されうる配列をコードする P R O 4 4 2 5 ポリペプチドの断片へ向けられている。そのような核酸断片は、約20から約80ヌクレオチドの長さ、好ましくは約20から約60ヌクレオチドの長さ、さらに好ましくは約20から約50ヌクレオチドの長さ、及び最も好ましくは約20から約40ヌクレオチドの長さである

その他の実施態様では、本発明は、上記において定義された核酸配列の何れかによってコ

10

20

30

40

50

ードされている単離された P R O 4 4 2 5 ポリペプチドを提供する。

特別な側面では、本発明は、ある実施態様において、F i g 3 4 (配列番号：65)の残基20から約136を含んでなるアミノ酸配列を包含する単離された天然配列 P R O 4 4 2 5 ポリペプチドを提供する。

【0091】

その他の側面では、本発明は、F i g 3 4 (配列番号：65)を含めたアミノ酸残基20から約136の配列に対して、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含んでなる単離された P R O 4 4 2 5 ポリペプチドに関する。

10

さらなる側面では、本発明は、F i g 3 4 (配列番号：65)の残基20から136のアミノ酸配列と比較した際に、少なくとも約80%のポジティブ、好ましくは少なくとも約85%のポジティブ、さらに好ましくは少なくとも約90%のポジティブ、最も好ましくは少なくとも約95%のポジティブをスコアするアミノ酸配列を含んでなる単離された P R O 4 4 2 5 ポリペプチドに関する。

よりさらなる側面では、本発明は、F i g 3 4 (配列番号：65)を含めたアミノ酸残基20から約136の配列を含んでなる単離された P R O 4 4 2 5 ポリペプチド、又は抗-P R O 4 4 2 5 抗体の結合部位を提供するために十分な単離された P R O 4 4 2 5 ポリペプチドの断片に関する。好ましくは、P R O 4 4 2 5 断片は、天然 P R O 4 4 2 5 ポリペプチドの質的な生物活性を保持する。

20

さらにさらなる側面では、本発明は、(i)(a) F i g 3 4 (配列番号：65)を含めたアミノ酸残基約20から約136の配列を有する P R O 4 4 2 5 ポリペプチドをコードするDNA分子、又は(b)(a)のDNA分子の補体と、試験DNA分子との緊縮性条件下でのハイブリダイゼーションにより製造されるポリペプチド、及び試験DNA分子が(a)又は(b)に対して少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有する場合に、(ii)試験DNA分子を含む宿主細胞をポリペプチドの発現に適した条件下で培養し、(iii)細胞培養からポリペプチドを回収することにより製造されるポリペプチドを提供する。

【0092】

30

18 . P R O 5 9 9 0

cDNAクローン(ここにおいてDNA96042-2682と命名された)は、セクレトグラニン(secretogranin)を及び新規ポリペプチドコードする核酸と相同性を有すると同定され、本出願において「P R O 5 9 9 0」と命名された。

一実施態様においては、本発明は、P R O 5 9 9 0 ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含んでなる単離された核酸分子を提供する。

一側面では、単離された核酸分子は、(a) F i g 3 6 (配列番号：67)を含めたアミノ酸残基1又は約22から約468の配列を有する P R O 5 9 9 0 ポリペプチドをコードするDNA分子、又は(b)(a)のDNA分子の補体に対して、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約81%の配列同一性、より好ましくは少なくとも約82%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約83%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約84%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約86%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約87%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約88%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約89%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約91%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約92%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約93%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約94%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約95%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約96%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約97%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約98%の配列

40

50

同一性、さらにより好ましくは少なくとも約99%の配列同一性を有するヌクレオチド配列を含む。

その他の側面では、単離された核酸分子は、(a) Fig 3 6 (配列番号: 6 7)を含めたアミノ酸残基約1又は約22から約468の配列を有するPRO5990ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、又は(b)(a)のヌクレオチド配列の補体を含む。

【0093】

他の側面では、単離された核酸分子は、(a) Fig 3 5 (配列番号: 6 6)を含めたヌクレオチド約265又は約328から約1668の配列を有するDNA分子、又は(b)(a)のDNA分子の補体に対して、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約81%の配列同一性、より好ましくは少なくとも約82%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約83%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約84%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約86%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約87%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約88%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約89%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約91%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約92%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約93%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約94%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約95%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約96%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約97%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約98%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約99%の配列同一性を有するヌクレオチド配列を含む。

その他の側面では、単離された核酸分子は、(a) Fig 3 5 (配列番号: 6 6)を含めた約265又は約328から約1668のヌクレオチド配列、又は(b)(a)のヌクレオチド配列の補体を含む。

さらなる側面では、本発明は、(a) ATCC寄託番号382-PTA(DNA96042-2682)のATCCの下へ1999年7月20日に寄託されたヒトタンパク質cDNAによってコードされている同じ成熟ポリペプチドをコードするDNA分子、又は(b)(a)のDNA分子の補体に対して、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約81%の配列同一性、より好ましくは少なくとも約82%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約83%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約84%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約86%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約87%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約88%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約89%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約91%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約92%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約93%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約94%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約95%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約96%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約97%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約98%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約99%の配列同一性を有するヌクレオチド配列を含んでなる単離された核酸分子に関する。好ましい実施態様においては、単離された核酸分子は、(a) ATCC寄託番号382-PTA(DNA96042-2682)のATCCの下へ1999年7月20日に寄託されたヒトタンパク質cDNAによってコードされている同じ成熟ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、又は(b)(a)のヌクレオチド配列の補体を含む。

【0094】

その他の側面では、本発明は、(a) ATCC寄託番号382-PTA(DNA96042-2682)のATCCの下へ1999年7月20日に寄託されたヒトタンパク質cDNAの全長ポリペプチドコード化配列、又は(b)(a)のヌクレオチド配列の補体に対して、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約81%の配列同一性、より好ましくは少なくとも約82%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約83%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも

約84%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約86%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約87%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約88%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約89%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約91%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約92%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約93%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約94%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約95%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約96%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約97%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約98%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約99%の配列同一性を有するヌクレオチド配列を含んでなる単離された核酸分子に関する。好ましい実施態様においては、単離された核酸分子は、(a) ATCC寄託番号382-PTA(DNA96042-2682)のATCCの下へ1999年7月20日に寄託されたヒトタンパク質cDNAの全長ポリペプチドコード化配列、又は(b) (a)のヌクレオチド配列の補体を含む。

10

その他の側面では、本発明は、Fig 36 (配列番号: 67)を含めた、アミノ酸1又は約22から約468をコードする核酸配列の補体とハイブリダイゼーションをするヌクレオチド配列を含んでなる、下記に示すような活性PRO5990ポリペプチドをコードする単離された核酸分子に関する。好ましくは、ハイブリダイゼーションは、緊縮性ハイブリダイゼーション及び洗浄条件下で起こる。

さらなるその他の側面では、本発明は、Fig 35 (配列番号: 66)を含めた、ヌクレオチド265又は約328から約1668の間の核酸配列の補体とハイブリダイゼーションをするヌクレオチド配列を含んでなる、下記に示すような活性PRO5990ポリペプチドをコードする単離された核酸分子に関する。好ましくは、ハイブリダイゼーションは、緊縮性ハイブリダイゼーション及び洗浄条件下で起こる。

20

【0095】

さらなる側面では、本発明は、少なくとも約1301ヌクレオチドを有する単離された核酸分子、及び試験DNA分子を(a) Fig 36 (配列番号: 67)を含めたアミノ酸残基約1又は約22から約468の配列を有するPRO5990ポリペプチドをコードするDNA分子、又は(b) (a)のDNA分子の補体と、緊縮性条件下においてハイブリダイゼーションさせることにより製造される単離された核酸分子、試験DNA分子が(a)又は(b)に対して、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約81%の配列同一性、より好ましくは少なくとも約82%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約83%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約84%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約86%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約87%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約88%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約89%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約91%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約92%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約93%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約94%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約95%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約96%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約97%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約98%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約99%の配列同一性を有する場合には、試験DNA分子を単離することにより製造された単離された核酸分子に関する。

30

40

その他の側面では、本発明は、Fig 36 (配列番号: 67)を含めた残基約1又は約22から約468のアミノ酸配列と比較した際に、(a) 少なくとも約80%のポジティブ、好ましくは少なくとも約81%のポジティブ、より好ましくは少なくとも約82%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約83%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約84%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約85%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約86%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約87%のポ

50

ジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約88%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約89%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約90%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約91%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約92%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約93%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約94%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約95%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約96%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約97%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約98%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約99%のポジティブをスコアするポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、又は (b) (a) のヌクレオチド配列の補体を含んでなる単離された核酸分子に関する。

10

【 0 0 9 6 】

特定の側面では、本発明は、N末端シグナル配列及び/又は開始メチオニンを持たない P R O 5 9 9 0 ポリペプチドをコードするDNAを含んでなる単離核酸分子を提供し、或いはそのようなコード核酸分子に相補的であるものを提供する。シグナルペプチドは、(a) F i g 3 6 (配列番号 : 6 7) の配列のアミノ酸位置約1からアミノ酸位置約21まで伸展するものとして試験的に同定された。しかし、シグナルペプチドのC末端の境界は変化するが、最も可能性があるのはここで最初に同定されたようなシグナルペプチドのC末端の境界の何れかの側の僅か約5のアミノ酸に過ぎないことに留意すべきであり、ここで、シグナルペプチドのC末端の境界は当該分野で常套的に使用されている基準に従って同定することができる。Nielsenら, Prot. Engin. 10:1-6 (1997), von Heinjeら, Nucl. Acids Res. 14:4683-4690 (1986)。更に、ある場合には、分泌されたポリペプチドからのシグナル配列の切断は完全には一様ではなく、一以上の分泌種を生じることにもまた認識される。これらのポリペプチド、及びそれをコードするポリヌクレオチドは本発明によって考慮される。従って、本出願の目的に対して、F i g 3 6 (配列番号 : 6 7) に示した P R O 5 9 9 0 ポリペプチドのシグナルペプチドは、アミノ酸1からXまで延び、ここでXは (a) F i g 3 6 (配列番号 : 6 7) の15から25の任意のアミノ酸である。それ故に、本発明において包含される P R O 5 9 9 0 ポリペプチドの成熟型は、F i g 3 6 (配列番号 : 6 7) のアミノ酸Xから468を含んでなり、ここでXはF i g 3 6 (配列番号 : 6 7) の16から36の任意のアミノ酸及び下記に記載のその変異体である。これらポリペプチドをコードする単離された核酸分子も考慮される。

20

30

【 0 0 9 7 】

その他の実施態様は、例えば、ハイブリダイゼーションプローブ、又は抗-P R O 5 9 9 0 ポリペプチド抗体の結合部位を含んでなるポリペプチドを選択的にコードしうる P R O 5 9 9 0 ポリペプチドのコード化断片としての使用が見出されうる P R O 5 9 9 0 ポリペプチドコード化配列の断片へ向けられている。そのような核酸断片は、通常少なくとも約20ヌクレオチドの長さ、さらにより好ましくは少なくとも約50ヌクレオチドの長さ、さらにより好ましくは少なくとも約60ヌクレオチドの長さ、さらにより好ましくは少なくとも約70ヌクレオチドの長さ、さらにより好ましくは少なくとも約80ヌクレオチドの長さ、さらにより好ましくは少なくとも約90ヌクレオチドの長さ、さらにより好ましくは少なくとも約100ヌクレオチドの長さ、さらにより好ましくは少なくとも約110ヌクレオチドの長さ、さらにより好ましくは少なくとも約120ヌクレオチドの長さ、さらにより好ましくは少なくとも約130ヌクレオチドの長さ、さらにより好ましくは少なくとも約140ヌクレオチドの長さ、さらにより好ましくは少なくとも約150ヌクレオチドの長さ、さらにより好ましくは少なくとも約160ヌクレオチドの長さ、さらにより好ましくは少なくとも約170ヌクレオチドの長さ、さらにより好ましくは少なくとも約180ヌクレオチドの長さ、さらにより好ましくは少なくとも約190ヌクレオチドの長さ、さらにより好ましくは少なくとも約200ヌクレオチドの長さ、さらにより好ましくは少なくとも約250ヌクレオチドの長さ、さらにより好ましくは少なくとも約300ヌクレオチドの長さ、さらにより好ましくは少なくとも約350ヌクレオチドの長さ、さらにより好ましくは少なくとも約400ヌクレオチドの長さ、さらにより好ましくは少なくとも約450ヌクレオチドの長さ、さらにより好ましく

40

50

は少なくとも約500ヌクレオチドの長さ、さらにより好ましくは少なくとも約600ヌクレオチドの長さ、さらにより好ましくは少なくとも約700ヌクレオチドの長さ、さらにより好ましくは少なくとも約800ヌクレオチドの長さ、さらにより好ましくは少なくとも約900ヌクレオチドの長さ、さらにより好ましくは少なくとも約1000ヌクレオチドの長さで、この文脈中の「約」という語句は、その参照長さのプラス又はマイナス10%の参照ヌクレオチド配列長さを意味する。好ましい実施態様は、ヌクレオチド配列断片は、Fig 35 (配列番号: 66) に示されているヌクレオチド配列の任意の領域から派生している。PRO5990ポリペプチドコード化ヌクレオチド配列の新規断片は、多数の良く知られたライメントプログラムの何れかを使用して、PRO5990ポリペプチドコード化配列と他の既知のヌクレオチド配列を並べ、どのPRO5990ポリペプチドコード化配列断片が新規であるかを決定する常套的手法により決定が可能である。全てのそのようなPRO5990ポリペプチドコード化ヌクレオチド配列は、ここにおいて考慮され、過度の実験を行わずに決定できる。また、考慮されるのは、これらヌクレオチド分子断片によってコードされているPRO5990ポリペプチド断片であり、好ましくは抗-PRO5990抗体の結合部位を含むこれらPROポリペプチド断片である。

10

【0098】

その他の実施態様では、本発明は、上記において同定された単離された核酸の何れかによってコードされている単離されたPRO5990ポリペプチドを提供する。

特別な側面では、本発明は、ある実施態様において、Fig 36 (配列番号: 67) の残基約1又は約22から約468を含んでなるアミノ酸配列を含む単離された天然配列PRO5990ポリペプチドを提供する。

20

その他の側面では、本発明は、Fig 36 (配列番号: 67) を含めたアミノ酸残基約1又は約22から約468の配列に対して、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約81%の配列同一性、より好ましくは少なくとも約82%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約83%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約84%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約86%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約87%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約88%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約89%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約91%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約92%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約93%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約94%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約95%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約96%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約97%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約98%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含んでなる単離されたPRO5990ポリペプチドに関する。

30

さらなる側面では、本発明は、(a) ATCC寄託番号382-PTA(DNA96042-2682)のATCCの下へ1999年7月20日に寄託されたヒトタンパク質cDNAによってコードされているアミノ酸配列に対して、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約81%の配列同一性、より好ましくは少なくとも約82%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約83%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約84%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約86%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約87%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約88%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約89%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約91%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約92%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約93%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約94%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約95%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約96%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約97%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約98%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約99%

40

50

の配列同一性を有するアミノ酸配列を含んでなる単離された P R O 5 9 9 0 ポリペプチドに関する。好ましい実施態様においては、単離された P R O 5 9 9 0 ポリペプチドは、ATCC 寄託番号 382-PTA (DNA96042-2682) の ATCC の下へ 1999 年 7 月 20 日に寄託されたヒトタンパク質 cDNA によってコードされたアミノ酸配列を含む。

【 0 0 9 9 】

さらなる側面では、本発明は、F i g 3 6 (配列番号：67) を含めた残基約 1 又は約 22 から約 468 のアミノ酸配列と比較した際に、少なくとも約 80% のポジティブ、好ましくは少なくとも約 81% のポジティブ、より好ましくは少なくとも約 82% のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約 83% のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約 84% のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約 85% のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約 86% のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約 87% のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約 88% のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約 89% のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約 90% のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約 91% のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約 92% のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約 93% のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約 94% のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約 95% のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約 96% のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約 97% のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約 98% のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約 99% のポジティブをスコアするアミノ酸配列を含んでなる単離された P R O 5 9 9 0 ポリペプチドに関する。

特定の側面では、本発明は、N 末端シグナル配列及び / 又は開始メチオニンを持たない単離された P R O 5 9 9 0 ポリペプチドを提供し、単離された P R O 5 9 9 0 ポリペプチドは、この前記において記載されたようなアミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列によってコードされている。これと同じものを製造するプロセスは、また、ここにおいて記載され、その点においてそのようなプロセスは、P R O 5 9 9 0 ポリペプチドの発現にとって適した条件下において適切なコード化核酸分子を含むベクターを含んでなる宿主細胞を培養し、細胞培養から P R O 5 9 9 0 ポリペプチドを回収することを含む。

さらなるその他の側面では、本発明は、F i g 3 6 (配列番号：67) を含めたアミノ酸残基約 1 又は約 22 から約 468 の配列を含んでなる単離された P R O 5 9 9 0 ポリペプチド、又は生物学的に活性或いは抗 - P R O 5 9 9 0 抗体の結合部位を提供するのに十分な単離された P R O 5 9 9 0 ポリペプチドの断片に関し、生物学的に活性或いは抗 - P R O 5 9 9 0 抗体の結合部位を提供する P R O 5 9 9 0 ポリペプチドの断片の同定は、当該分野において良く知られた技術を用いた常套的方法によって完遂が可能である。好ましくは、P R O 5 9 9 0 断片は、天然 P R O 5 9 9 0 ポリペプチドの質的な生物活性を保持する。

【 0 1 0 0 】

さらにさらなる側面では、本発明は、(i) (a) F i g 3 6 (配列番号：67) を含めたアミノ酸残基約 1 又は約 22 から約 468 の配列を有する P R O 5 9 9 0 ポリペプチドをコードする DNA 分子、又は (b) (a) の DNA 分子の補体と、試験 DNA 分子との緊縮性条件下でのハイブリダイゼーションによって製造されるポリペプチド、及び試験 DNA 分子が (a) 又は (b) に対して少なくとも約 80% の配列同一性、好ましくは少なくとも約 81% の配列同一性、より好ましくは少なくとも約 82% の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約 83% の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約 84% の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約 85% の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約 86% の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約 87% の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約 88% の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約 89% の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約 90% の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約 91% の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約 92% の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約 93% の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約 94% の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約 95% の配列同一性、さらにより好まし

くは少なくとも約96%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約97%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約98%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約99%の配列同一性を有する場合に、(ii)試験DNA分子を含む宿主細胞をポリペプチドの発現に適した条件下で培養し、(iii)細胞培養からポリペプチドを回収することにより製造されるポリペプチドを提供する。

本発明のその他の実施態様は、PRO5990ポリペプチド、そのアゴニスト又はアンタゴニスト又は抗-PRO5990抗体に対して反応する症状の治療に有用な薬の調製のための、PRO5990ポリペプチド、又はここにおいて記載されているようなPRO5990ポリペプチドのアゴニスト又はアンタゴニストの使用に向けられている。

【0101】

19. PRO6030

cDNAクローン(ここにおいてDNA96850-2705と命名された)は、セクレトグラニン(secretogranin)を及び新規ポリペプチドコードする核酸と相同性を有すると同定され、本出願において「PRO6030」と命名された。

一実施態様においては、本発明は、PRO6030ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含んでなる単離された核酸分子を提供する。

一側面では、単離された核酸分子は、(a)Fig38(配列番号:72)を含めたアミノ酸残基約1又は約27から約322の配列を有するPRO6030ポリペプチドをコードするDNA分子、又は(b)(a)のDNA分子の補体に対して、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約81%の配列同一性、より好ましくは少なくとも約82%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約83%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約84%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約86%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約87%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約88%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約89%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約91%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約92%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約93%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約94%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約95%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約96%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約97%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約98%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約99%の配列同一性を有するヌクレオチド配列を含む。

その他の側面では、単離された核酸分子は、(a)Fig38(配列番号:72)を含めたアミノ酸残基約1又は約27から約322の配列を有するPRO6030ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、又は(b)(a)のヌクレオチド配列の補体を含む。

【0102】

他の側面では、単離された核酸分子は、(a)Fig37(配列番号:71)を含めたヌクレオチド約60又は約138から約1025の配列を有するDNA分子、又は(b)(a)のDNA分子の補体に対して、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約81%の配列同一性、より好ましくは少なくとも約82%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約83%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約84%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約86%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約87%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約88%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約89%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約91%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約92%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約93%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約94%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約95%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約96%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約97%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約98%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも

も約99%の配列同一性を有するヌクレオチド配列を含む。

その他の側面では、単離された核酸分子は、(a) Fig 3 7 (配列番号: 7 1) を含めた約60又は約138から約1025のヌクレオチド配列、又は(b) (a) のヌクレオチド配列の補体を含む。

さらなる側面では、本発明は、(a) ATCC寄託番号479-PTA(DNA96850-2705)のATCCの下へ1999年8月3日に寄託されたヒトタンパク質cDNAによってコードされている同じ成熟ポリペプチドをコードするDNA分子、又は(b) (a) のDNA分子の補体に対して、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約81%の配列同一性、より好ましくは少なくとも約82%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約83%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約84%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約86%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約87%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約88%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約89%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約91%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約92%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約93%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約94%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約95%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約96%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約97%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約98%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約99%の配列同一性を有するヌクレオチド配列を含んでなる単離された核酸分子に関する。好ましい実施態様においては、単離された核酸分子は、(a) ATCC寄託番号479-PTA(DNA96850-2705)のATCCの下へ1999年8月3日に寄託されたヒトタンパク質cDNAによってコードされている同じ成熟ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、又は(b) (a) のヌクレオチド配列の補体を含む。

【0103】

その他の側面では、本発明は、(a) ATCC寄託番号479-PTA(DNA96850-2705)のATCCの下へ1999年8月3日に寄託されたヒトタンパク質cDNAの全長ポリペプチドコード化配列、又は(b) (a) のヌクレオチド配列の補体に対して、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約81%の配列同一性、より好ましくは少なくとも約82%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約83%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約84%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約86%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約87%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約88%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約89%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約91%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約92%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約93%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約94%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約95%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約96%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約97%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約98%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約99%の配列同一性を有するヌクレオチド配列を含んでなる単離された核酸分子に関する。好ましい実施態様においては、単離された核酸分子は、(a) ATCC寄託番号479-PTA(DNA96850-2705)のATCCの下へ1999年8月3日に寄託されたヒトタンパク質cDNAの全長ポリペプチドコード化配列、又は(b) (a) のヌクレオチド配列の補体を含む。

その他の側面では、本発明は、Fig 3 8 (配列番号: 7 2) を含めた、アミノ酸1又は約27から約322をコードする核酸配列の補体とハイブリダイゼーションをするヌクレオチド配列を含んでなる、下記に示すような活性PRO 6 0 3 0ポリペプチドをコードする単離された核酸分子に関する。好ましくは、ハイブリダイゼーションは、緊縮性ハイブリダイゼーション及び洗浄条件下で起こる。

さらなるその他の側面では、本発明は、Fig 3 7 (配列番号: 7 1) を含めた、ヌクレオチド60又は約138と約1025の間の核酸配列の補体とハイブリダイゼーションをするヌク

10

20

30

40

50

レオチド配列を含んでなる、下記に示すような活性 P R O 6 0 3 0 ポリペプチドをコードする単離された核酸分子に関する。好ましくは、ハイブリダゼーションは、緊縮性ハイブリダイゼーション及び洗浄条件下で起こる。

【 0 1 0 4 】

さらなる側面では、本発明は、少なくとも約528ヌクレオチドを有する単離された核酸分子、及び試験DNA分子を (a) F i g 3 8 (配列番号 : 7 2) を含めたアミノ酸残基約1又は約27から約322の配列を有する P R O 6 0 3 0 ポリペプチドをコードするDNA分子、又は (b) (a) のDNA分子の補体と、緊縮性条件下においてハイブリダイゼーションさせることにより製造される単離された核酸分子、試験DNA分子が (a) 又は (b) に対して、
少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約81%の配列同一性、より好ましくは少なくとも約82%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約83%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約84%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約86%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約87%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約88%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約89%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約91%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約92%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約93%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約94%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約95%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約96%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約97%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約98%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約99%の配列同一性を有する場合には、試験DNA分子を単離することにより製造される単離された核酸分子に関する。

その他の側面では、本発明は、 F i g 3 8 (配列番号 : 7 2) を含めた残基約1又は約27から約322のアミノ酸配列と比較した際に、 (a) 少なくとも約80%のポジティブ、好ましくは少なくとも約81%のポジティブ、より好ましくは少なくとも約82%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約83%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約84%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約85%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約86%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約87%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約88%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約89%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約90%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約91%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約92%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約93%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約94%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約95%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約96%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約97%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約98%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約99%のポジティブをスコアするポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、又は (b) (a) のヌクレオチド配列の補体を含んでなる単離された核酸分子に関する。

【 0 1 0 5 】

特定の側面では、本発明は、N末端シグナル配列及び/又は開始メチオニンを持たない P R O 6 0 3 0 ポリペプチドをコードするDNAを含んでなる単離核酸分子を提供し、或いはそのようなコード核酸分子に相補的であるものを提供する。シグナルペプチドは、 (a) F i g 3 8 (配列番号 : 7 2) の配列のアミノ酸位置約1からアミノ酸位置約26まで伸展するものとして試験的に同定された。しかし、シグナルペプチドのC末端の境界は変化するが、最も可能性があるのはここで最初に同定されたようなシグナルペプチドのC末端の境界の何れかの側の僅か約5のアミノ酸に過ぎないことに留意すべきであり、ここで、シグナルペプチドのC末端の境界は当該分野で常套的に使用されている基準に従って同定することができる。Nielsenら, Prot. Engin. 10:1-6 (1997), von Heinjeら, Nucl. Acids Res. 14:4683-4690 (1986)。更に、ある場合には、分泌されたポリペプチドからのシグ

ナル配列の切断は完全には一様ではなく、一以上の分泌種を生じることともまた認識される。これらのポリペプチド、及びそれをコードするポリヌクレオチドは本発明によって考慮される。従って、本出願の目的に対して、F i g 3 8 (配列番号：72)に示したP R O 6 0 3 0ポリペプチドのシグナルペプチドは、アミノ酸1からXまで延び、ここでXは(a) F i g 3 8 (配列番号：72)の21から31の任意のアミノ酸である。それ故に、本発明において包含されるP R O 6 0 3 0ポリペプチドの成熟型は、F i g 3 8 (配列番号：72)のアミノ酸Xから322を含んでなり、ここでXはF i g 3 8 (配列番号：72)の21から31の任意のアミノ酸及び下記に記載のその変異体である。これらポリペプチドをコードする単離された核酸分子も考慮される。

その他の側面では、本発明は、膜貫通ドメイン欠損、又は膜貫通ドメイン不活性であるP R Oポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含んでなる単離された核酸分子、或いはP R O 6 0 3 0ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列の補体である単離された核酸分子を提供し、膜貫通ドメインは、F i g 3 8 (配列番号：72)の配列中の約142のアミノ酸位置から約158のアミノ酸位置まで伸展していると試験的に特定されている。従って、ここにおいて記載されるP R O 6 0 3 0ポリペプチドの可溶性細胞外ドメインが考慮されている。

【0106】

この点について、本発明のその他の側面は、(a) XがF i g 3 8 (配列番号：72)のアミノ酸137から147の任意のアミノ酸である、F i g 3 8 (配列番号：72)のアミノ酸1からXをコードするDNA分子、又は(b) (a)のDNA分子の補体に対して、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約81%の配列同一性、より好ましくは少なくとも約82%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約83%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約84%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約86%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約87%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約88%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約89%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約91%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約92%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約93%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約94%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約95%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約96%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約97%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約98%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約99%の配列同一性を有するヌクレオチド配列を含む単離された核酸分子に向けられている。特別な側面では、単離された核酸分子は、(a) XがF i g 3 8 (配列番号：72)の137から147の任意のアミノ酸である、F i g 3 8 (配列番号：72)のアミノ酸1からXをコードする、或いは(b) (a)のDNA分子の補体であるヌクレオチド配列を含む。

本発明のその他の側面では、単離された核酸分子は、(a) XがF i g 3 8 (配列番号：72)の137から147の任意のアミノ酸である、F i g 3 8 (配列番号：72)の残基約1からXのアミノ酸配列と比較した際に、少なくとも約80%のポジティブ、好ましくは少なくとも約81%のポジティブ、より好ましくは少なくとも約82%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約83%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約84%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約85%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約86%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約87%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約88%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約89%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約90%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約91%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約92%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約93%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約94%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約95%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約96%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約97%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約98%のポジティブ、さらにより

好ましくは少なくとも約99%のポジティブをスコアするポリペプチドをコードする、又は (b) (a) のDNA分子の補体である。

【0107】

その他の実施態様は、例えば、ハイブリダイゼーションプローブ、又は抗-PRO6030ポリペプチド抗体の結合部位を含んでなるポリペプチドを選択的にコードしうるPRO6030ポリペプチドのコード化断片としての使用が見出されうるPRO6030ポリペプチドコード化配列の断片へ向けられている。そのような核酸断片は、通常少なくとも約20ヌクレオチドの長さ、さらにより好ましくは少なくとも約50ヌクレオチドの長さ、さらにより好ましくは少なくとも約60ヌクレオチドの長さ、さらにより好ましくは少なくとも約70ヌクレオチドの長さ、さらにより好ましくは少なくとも約80ヌクレオチドの長さ、さらにより好ましくは少なくとも約90ヌクレオチドの長さ、さらにより好ましくは少なくとも約100ヌクレオチドの長さ、さらにより好ましくは少なくとも約110ヌクレオチドの長さ、さらにより好ましくは少なくとも約120ヌクレオチドの長さ、さらにより好ましくは少なくとも約130ヌクレオチドの長さ、さらにより好ましくは少なくとも約140ヌクレオチドの長さ、さらにより好ましくは少なくとも約150ヌクレオチドの長さ、さらにより好ましくは少なくとも約160ヌクレオチドの長さ、さらにより好ましくは少なくとも約170ヌクレオチドの長さ、さらにより好ましくは少なくとも約180ヌクレオチドの長さ、さらにより好ましくは少なくとも約190ヌクレオチドの長さ、さらにより好ましくは少なくとも約200ヌクレオチドの長さ、さらにより好ましくは少なくとも約250ヌクレオチドの長さ、さらにより好ましくは少なくとも約300ヌクレオチドの長さ、さらにより好ましくは少なくとも約350ヌクレオチドの長さ、さらにより好ましくは少なくとも約400ヌクレオチドの長さ、さらにより好ましくは少なくとも約450ヌクレオチドの長さ、さらにより好ましくは少なくとも約500ヌクレオチドの長さ、さらにより好ましくは少なくとも約600ヌクレオチドの長さ、さらにより好ましくは少なくとも約700ヌクレオチドの長さ、さらにより好ましくは少なくとも約800ヌクレオチドの長さ、さらにより好ましくは少なくとも約900ヌクレオチドの長さ、さらにより好ましくは少なくとも約1000ヌクレオチドの長さで、この文脈中の「約」という語句は、その参照長さのプラス又はマイナス10%の参照ヌクレオチド配列長さを意味する。好ましい実施態様は、ヌクレオチド配列断片は、Fig 37 (配列番号: 71) に示されているヌクレオチド配列の任意の領域から派生している。PRO6030ポリペプチドコード化ヌクレオチド配列の新規断片は、多数の良く知られたアライメントプログラムの何れかを使用して、PRO6030ポリペプチドコード化配列と他の既知のヌクレオチド配列を比べ、どのPRO6030ポリペプチドコード化配列断片が新規であるかを決定する常套的手法により決定が可能である。全てのそのようなPRO6030ポリペプチドコード化ヌクレオチド配列は、ここにおいて考慮され、過度の実験を行わずに決定できる。また、考慮されるのは、これらヌクレオチド分子断片によってコードされているPRO6030ポリペプチド断片であり、好ましくは抗-PRO6030抗体の結合部位を含むこれらPROポリペプチド断片である。

【0108】

その他の実施態様では、本発明は、上記において同定された単離された核酸の何れかによってコードされている単離されたPRO6030ポリペプチドを提供する。

特別な側面では、本発明は、ある実施態様において、Fig 38 (配列番号: 72) の残基約1又は約27から約322を含んでなるアミノ酸配列を含む単離された天然配列PRO6030ポリペプチドを提供する。

その他の側面では、本発明は、Fig 38 (配列番号: 72) を含めたアミノ酸残基約1又は約27から約322の配列に対して、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約81%の配列同一性、より好ましくは少なくとも約82%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約83%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約84%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約86%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約87%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約88%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約

89%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約91%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約92%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約93%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約94%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約95%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約96%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約97%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約98%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含んでなる単離された P R O 6 0 3 0 ポリペプチドに関する。

【 0 1 0 9 】

さらなる側面では、本発明は、(a) ATCC寄託番号479-PTA(DNA96850-2705)のATCCの下へ1999年8月3日に寄託されたヒトタンパク質cDNAによってコードされているアミノ酸配列に対して、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約81%の配列同一性、より好ましくは少なくとも約82%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約83%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約84%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約86%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約87%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約88%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約89%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約91%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約92%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約93%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約94%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約95%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約96%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約97%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約98%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含んでなる単離された P R O 6 0 3 0 ポリペプチドに関する。好ましい実施態様においては、単離された P R O 6 0 3 0 ポリペプチドは、ATCC寄託番号479-PTA(DNA96850-2705)のATCCの下へ1999年8月3日に寄託されたヒトタンパク質cDNAによってコードされたアミノ酸配列を含む。

さらなる側面では、本発明は、F i g 3 8 (配列番号：72)を含めた残基約1又は約27から約322のアミノ酸配列と比較した際に、少なくとも約80%のポジティブ、好ましくは少なくとも約81%のポジティブ、より好ましくは少なくとも約82%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約83%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約84%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約85%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約86%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約87%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約88%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約89%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約90%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約91%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約92%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約93%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約94%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約95%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約96%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約97%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約98%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約99%のポジティブをスコアするアミノ酸配列を含んでなる単離された P R O 6 0 3 0 ポリペプチドに関する。

【 0 1 1 0 】

特定の側面では、本発明は、N末端シグナル配列及び/又は開始メチオニンを持たない単離された P R O 6 0 3 0 ポリペプチドを提供し、それは上述したそのようなアミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列によりコードされる。これを生産する方法もまたここに記載され、ここで、これらの方法は P R O 6 0 3 0 ポリペプチドの発現に適した条件下で適当なコード化核酸分子を含むベクターを含んでなる宿主細胞を培養し、細胞培養から P R O 6 0 3 0 ポリペプチドを回収することを含んでなる。

本発明の他の側面は、膜貫通ドメインが欠失されたか膜貫通ドメインが不活性化された単

10

20

30

40

50

離されたPRO6030ポリペプチドを提供する。これを生産する方法もまたここに記載され、ここで、これらの方法は、PRO6030ポリペプチドの発現に適した条件下で適当なコード化核酸分子を含むベクターを含んでなる宿主細胞を培養し、細胞培養からPRO6030ポリペプチドを回収することを含んでなる。

従って、本発明の一側面は、XがFig 38（配列番号：72）の137から147の任意のアミノ酸である、Fig 38（配列番号：72）のアミノ酸1からXに対して、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約81%の配列同一性、より好ましくは少なくとも約82%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約83%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約84%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約86%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約87%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約88%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約89%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約91%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約92%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約93%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約94%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約95%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約96%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約97%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約98%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む単離された可溶性PRO6030ポリペプチドに向けられている。好ましい側面では、単離された可溶性PRO6030ポリペプチドは、XがFig 38（配列番号：72）の137から147の任意のアミノ酸である、Fig 38（配列番号：72）のアミノ酸1からXを含む。

【0111】

本発明のさらなるその他の側面では、単離された可溶性PRO6030ポリペプチドは、Fig 38（配列番号：72）の残基約1からXのアミノ酸配列と比較した際に、少なくとも約80%のポジティブ、好ましくは少なくとも約81%のポジティブ、より好ましくは少なくとも約82%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約83%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約84%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約85%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約86%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約87%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約88%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約89%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約90%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約91%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約92%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約93%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約94%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約95%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約96%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約97%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約98%のポジティブ、さらにより好ましくは少なくとも約99%のポジティブをスコアするアミノ酸配列を含む。

さらなるその他の側面では、本発明は、Fig 38（配列番号：72）を含めたアミノ酸残基約1又は約27から約322の配列を含んでなる単離されたPRO6030ポリペプチド、又は生物学的に活性或いは抗-PRO6030抗体の結合部位を提供するために十分な単離されたPRO6030ポリペプチドの断片に関し、生物学的に活性或いは抗-PRO6030抗体の結合部位を提供するPRO6030ポリペプチドの断片の同定は、当該分野において良く知られた技術を用いた常套的方法によって完遂が可能である。好ましくは、PRO6030断片は、天然PRO6030ポリペプチドの質的な生物活性を保持する。

【0112】

さらにさらなる側面では、本発明は、(i)(a) Fig 38（配列番号：72）を含めたアミノ酸残基約1又は約27から約322の配列を有するPRO6030ポリペプチドをコードするDNA分子、又は(b)(a)のDNA分子の補体と、試験DNA分子との緊縮性条件下でのハイブリダイゼーションによって製造されるポリペプチド、及び試験DNA分子が(a

10

20

30

40

50

）又は（b）に対して少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約81%の配列同一性、より好ましくは少なくとも約82%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約83%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約84%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約86%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約87%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約88%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約89%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約91%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約92%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約93%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約94%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約95%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約96%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約97%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約98%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約99%の配列同一性を有する場合に、（ii）試験DNA分子を含む宿主細胞をポリペプチドの発現に適した条件下で培養し、（iii）細胞培養からポリペプチドを回収することにより製造されるポリペプチドを提供する。

10

さらにさらなる実施態様では、本発明は、PRO6030ポリペプチド、又はここに記載されたPRO6030ポリペプチドのアゴニスト又はアンタゴニスト、又は抗PRO6030抗体を担体とともに含んでなる物質の組成物に関する。場合によっては、担体は製薬的に許容される担体である。

本発明のその他の実施態様は、PRO6030ポリペプチド、そのアゴニスト又はアンタゴニスト又は抗-PRO6030抗体に対して反応する症状の治療に有用な医薬の調製のための、PRO6030ポリペプチド、又はここにおいて記載されているようなPRO6030ポリペプチドのアゴニスト又はアンタゴニストの使用に向けられている。

20

【0113】

20 . PRO4424

cDNAクローン（DNA96857-2636）は、GenBankのタンパク質、寄託番号HGS_A135、と相同性を有する新規ポリペプチドをコードすると同定され、「PRO4424」と本出願において命名された。

一実施態様においては、本発明は、PRO4424ポリペプチドをコードするDNAを含んでなる単離された核酸分子を提供する。

30

一側面では、単離された核酸分子は、（a）Fig 40（配列番号：74）を含めたアミノ酸残基1又は約29から約221の配列を有するPRO4424ポリペプチドをコードするDNA分子、又は（b）（a）のDNA分子の補体と、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、より好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するDNAを含む。

その他の側面では、本発明は、Fig 39（配列番号：73）を含めた、約残基136と約714の間の核酸の補体とハイブリダイゼーションするDNAを含んでなるPRO4424ポリペプチドをコードする単離された核酸分子に関する。好ましくは、ハイブリダイゼーションは、緊縮性ハイブリダイゼーション及び洗浄条件下で起こる。

さらなる側面では、本発明は、（a）ATCC寄託番号17-PTA（DNA96857-2636）のヒトタンパク質cDNAによってコードされているのと同じ成熟ポリペプチドをコードするDNA分子、又は（b）（a）の核酸分子の補体と、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するDNAを含んでなる単離された核酸分子に関する。好ましい実施態様では、この核酸は、ATCC寄託番号17-PTA（DNA96857-2636）のヒトタンパク質cDNAによってコードされているのと同じ成熟ポリペプチドをコードするDNAを含む。

40

【0114】

よりさらなる側面では、本発明は、（a）Fig 40（配列番号：74）を含めたアミノ酸残基約29から約221の配列に対して、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少な

50

くとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するポリペプチドをコードするDNA、又は(a)のDNAの補体を含んでなる単離された核酸分子に関する。

さらなる側面では、本発明は、少なくとも約50ヌクレオチド、好ましくは少なくとも約100ヌクレオチドを有する単離された核酸分子で、試験DNA分子を(a) Fig 40 (配列番号: 74)を含めたアミノ酸残基約29から約221の配列を有するPRO4424ポリペプチドをコードするDNA分子、又は(b)(a)のDNA分子の補体と、緊縮性条件下でハイブリダイゼーションすることにより製造されるもの、及びDNA分子が(a)又は(b)に対して少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有する場合に、試験DNA分子を単離することにより製造されるものに関する。

10

その他の側面では、本発明は、Fig 40 (配列番号: 74)を含めた、残基29から221のアミノ酸配列と比較した際に、(a)少なくとも約80%のポジティブ、好ましくは少なくとも約85%のポジティブ、さらに好ましくは少なくとも約90%のポジティブ、最も好ましくは少なくとも約95%のポジティブをスコアするポリペプチドをコードするDNA、又は(b)(a)のDNAの補体を含んでなる単離された核酸分子に関する。

【0115】

その他の実施態様は、ハイブリダイゼーションプローブとしての使用が見出されうる配列をコードするPRO4424ポリペプチドの断片へ向けられている。そのような核酸断片は、約20から約80ヌクレオチドの長さ、好ましくは約20から約60ヌクレオチドの長さ、さらに好ましくは約20から約50ヌクレオチドの長さ、及び最も好ましくは約20から約40ヌクレオチドの長さである。

20

その他の実施態様では、本発明は、上記において定義された核酸配列の何れかによってコードされている単離されたPRO4424ポリペプチドを提供する。

特別な側面では、本発明は、ある実施態様において、Fig 40 (配列番号: 74)の残基29から約221を含んでなるアミノ酸配列を包含する単離された天然配列PRO4424ポリペプチドを提供する。

その他の側面では、本発明は、Fig 40 (配列番号: 74)を含めたアミノ酸残基29から約221の配列に対して、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含んでなる単離されたPRO4424ポリペプチドに関する。

30

【0116】

さらなる側面では、本発明は、Fig 40 (配列番号: 74)の残基29から221のアミノ酸配列と比較した際に、少なくとも約80%のポジティブ、好ましくは少なくとも約85%のポジティブ、さらに好ましくは少なくとも約90%のポジティブ、最も好ましくは少なくとも約95%のポジティブをスコアするアミノ酸配列を含んでなる単離されたPRO4424ポリペプチドに関する。

さらなる他の側面では、本発明は、Fig 40 (配列番号: 74)を含めたアミノ酸残基29から約221の配列を含んでなる単離されたPRO4424ポリペプチド、又は抗-PRO4424抗体の結合部位を提供するために十分な単離されたPRO4424ポリペプチド断片に関する。好ましくは、PRO4424断片は、天然PRO4424ポリペプチドの質的な生物活性を保持する。

40

さらにさらなる側面では、本発明は、(i)(a) Fig 40 (配列番号: 74)を含めたアミノ酸残基約29から約221の配列を有するPRO4424ポリペプチドをコードするDNA分子、又は(b)(a)のDNA分子の補体と、試験DNA分子との緊縮性条件下でのハイブリダイゼーションにより製造されるポリペプチド、及び試験DNA分子が(a)又は(b)に対して少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有する場合に、(ii)試験DNA分子を含む宿主細胞をポリペプチドの発現に適し

50

た条件下で培養し、(iii)細胞培養からポリペプチドを回収することにより製造されるポリペプチドを提供する。

【0117】

21. PRO4422

cDNAクローン(DNA96867-2620)は、リゾチームgと相同性を有する新規ポリペプチドをコードすると同定され、「PRO4422」と本出願において命名された。

一実施態様においては、本発明は、PRO4422ポリペプチドをコードするDNAを含んでなる単離された核酸分子を提供する。

一側面では、単離された核酸分子は、(a)Fig 42(配列番号:76)を含めたアミノ酸残基1又は約20から約194の配列を有するPRO4422ポリペプチドをコードするDNA分子、又は(b)(a)のDNA分子の補体と、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、より好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するDNAを含む。

10

その他の側面では、本発明は、Fig 41(配列番号:75)を含めた、約残基375と約899の間の核酸の補体とハイブリダイゼーションするDNAを含んでなるPRO4422ポリペプチドをコードする単離された核酸分子に関する。好ましくは、ハイブリダイゼーションは、緊縮性ハイブリダイゼーション及び洗浄条件下で起こる。

さらなる側面では、本発明は、(a)ATCC寄託番号203972(DNA96867-2620)のヒトタンパク質cDNAによってコードされているのと同じ成熟ポリペプチドをコードするDNA分子、又は(b)(a)の核酸分子の補体と、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するDNAを含んでなる単離された核酸分子に関する。好ましい実施態様では、この核酸は、ATCC寄託番号203972(DNA96867-2620)のヒトタンパク質cDNAによってコードされているのと同じ成熟ポリペプチドをコードするDNAを含む。

20

【0118】

よりさらなる側面では、本発明は、(a)Fig 42(配列番号:76)を含めたアミノ酸残基約20から約194の配列に対して、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するポリペプチドをコードするDNA、又は(a)のDNAの補体を含んでなる単離された核酸分子に関する。

30

さらなる側面では、本発明は、少なくとも約50ヌクレオチド、好ましくは少なくとも約100ヌクレオチドを有する単離された核酸分子で、試験DNA分子を(a)Fig 42(配列番号:76)を含めたアミノ酸残基約20から約194の配列を有するPRO4422ポリペプチドをコードするDNA分子、又は(b)(a)のDNA分子の補体と、緊縮性条件下でハイブリダイゼーションすることにより製造されるもの、及びDNA分子が(a)又は(b)に対して少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有する場合に、試験DNA分子を単離することにより製造されるものに関する。

その他の側面では、本発明は、Fig 42(配列番号:76)を含めた、残基20から約194のアミノ酸配列と比較した際に、(a)少なくとも約80%のポジティブ、好ましくは少なくとも約85%のポジティブ、さらに好ましくは少なくとも約90%のポジティブ、最も好ましくは少なくとも約95%のポジティブをスコアするポリペプチドをコードするDNA、又は(b)(a)のDNAの補体を含んでなる単離された核酸分子に関する。

40

【0119】

その他の実施態様は、ハイブリダイゼーションプローブとしての使用が見出されうる配列をコードするPRO4422ポリペプチドの断片へ向けられている。そのような核酸断片は、約20から約80ヌクレオチドの長さ、好ましくは約20から約60ヌクレオチドの長さ、さらに好ましくは約20から約50ヌクレオチドの長さ、及び最も好ましくは約20から約40ヌクレオチドの長さである。

50

その他の実施態様では、本発明は、上記において定義された核酸配列の何れかによってコードされている単離された P R O 4 4 2 2 ポリペプチドを提供する。

特別な側面では、本発明は、ある実施態様において、F i g 4 2 (配列番号：76)の残基20から約194を含んでなるアミノ酸配列を包含する単離された天然配列 P R O 4 4 2 2 ポリペプチドを提供する。

その他の側面では、本発明は、F i g 4 2 (配列番号：76)を含めたアミノ酸残基20から約194の配列に対して、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含んでなる単離された P R O 4 4 2 2 ポリペプチドに関する。

10

さらなる側面では、本発明は、F i g 4 2 (配列番号：76)の残基20から194のアミノ酸配列と比較した際に、少なくとも約80%のポジティブ、好ましくは少なくとも約85%のポジティブ、さらに好ましくは少なくとも約90%のポジティブ、最も好ましくは少なくとも約95%のポジティブをスコアするアミノ酸配列を含んでなる単離された P R O 4 4 2 2 ポリペプチドに関する。

【0120】

さらなる他の側面では、本発明は、F i g 4 2 (配列番号：76)を含めたアミノ酸残基20から約194の配列を含んでなる単離された P R O 4 4 2 2 ポリペプチド、又は抗-P R O 4 4 2 2 抗体の結合部位を提供するために十分な単離された P R O 4 4 2 2 ポリペプチド断片に関する。好ましくは、P R O 4 4 2 2 断片は、天然 P R O 4 4 2 2 ポリペプチドの質的な生物活性を保持する。

20

さらにさらなる側面では、本発明は、(i)(a) F i g 4 2 (配列番号：76)を含めたアミノ酸残基約20から約194の配列を有する P R O 4 4 2 2 ポリペプチドをコードするDNA分子、又は(b)(a)のDNA分子の補体と、試験DNA分子との緊縮性条件下でのハイブリダイゼーションにより製造されるポリペプチド、及び試験DNA分子が(a)又は(b)に対して少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有する場合に、(ii)試験DNA分子を含む宿主細胞をポリペプチドの発現に適した条件下で培養し、(iii)細胞培養からポリペプチドを回収することにより製造されるポリペプチドを提供する。

30

【0121】

2 2 . P R O 4 4 3 0

cDNAクローン(DNA96878-2626)は、GenBankのタンパク質、寄託番号MMHC213L3_9、と相同性を有する新規ポリペプチドをコードすると同定され、「P R O 4 4 3 0」と本出願において命名された。

一実施態様においては、本発明は、P R O 4 4 3 0 ポリペプチドをコードするDNAを含んでなる単離された核酸分子を提供する。

一側面では、単離された核酸分子は、(a) F i g 4 4 (配列番号：78)を含めたアミノ酸残基1又は約19から約125の配列を有する P R O 4 4 3 0 ポリペプチドをコードするDNA分子、又は(b)(a)のDNA分子の補体と、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、より好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するDNAを含む。

40

その他の側面では、本発明は、F i g 4 3 (配列番号：77)を含めた、約残基110と約430の間の核酸の補体とハイブリダイゼーションするDNAを含んでなる P R O 4 4 3 0 ポリペプチドをコードする単離された核酸分子に関する。好ましくは、ハイブリダイゼーションは、緊縮性ハイブリダイゼーション及び洗浄条件下で起こる。

さらなる側面では、本発明は、(a) ATCC寄託番号23-PTA (DNA96878-2626)のヒトタンパク質cDNAによってコードされているのと同じ成熟ポリペプチドをコードするDNA分子、又は(b)(a)の核酸分子の補体と、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ま

50

しくは少なくとも約95%の配列同一性を有するDNAを含んでなる単離された核酸分子に関する。好ましい実施態様では、この核酸は、ATCC寄託番号23-PTA (DNA96878-2626) のヒトタンパク質cDNAによってコードされているのと同じ成熟ポリペプチドをコードするDNAを含む。

【0122】

よりさらなる側面では、本発明は、(a) Fig 44 (配列番号：78) を含めたアミノ酸残基約19から約125の配列に対して、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するポリペプチドをコードするDNA、又は(a) のDNAの補体を含んでなる単離された核酸分子に関する。

10

さらなる側面では、本発明は、少なくとも約50ヌクレオチド、好ましくは少なくとも約100ヌクレオチドを有する単離された核酸分子で、試験DNA分子を(a) Fig 44 (配列番号：78) を含めたアミノ酸残基約19から約125の配列を有するPRO4430ポリペプチドをコードするDNA分子、又は(b) (a) のDNA分子の補体と、緊縮性条件下でハイブリダイゼーションすることにより製造されるもの、及びDNA分子が(a) 又は(b) に対して少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有する場合に、試験DNA分子を単離することにより製造されるものに関する。

その他の側面では、本発明は、Fig 44 (配列番号：78) を含めた、残基19から125のアミノ酸配列と比較した際に、(a) 少なくとも約80%のポジティブ、好ましくは少なくとも約85%のポジティブ、さらに好ましくは少なくとも約90%のポジティブ、最も好ましくは少なくとも約95%のポジティブをスコアするポリペプチドをコードするDNA、又は(b) (a) のDNAの補体を含んでなる単離された核酸分子に関する。

20

【0123】

その他の実施態様は、ハイブリダイゼーションプローブとしての使用が見出されうる配列をコードするPRO4430ポリペプチドの断片へ向けられている。そのような核酸断片は、約20から約80ヌクレオチドの長さ、好ましくは約20から約60ヌクレオチドの長さ、さらに好ましくは約20から約50ヌクレオチドの長さ、及び最も好ましくは約20から約40ヌクレオチドの長さである。

その他の実施態様では、本発明は、上記において定義された核酸配列の何れかによってコードされている単離されたPRO4430ポリペプチドを提供する。

30

特別な側面では、本発明は、ある実施態様において、Fig 44 (配列番号：78) の残基19から約125を含んでなるアミノ酸配列を包含する単離された天然配列PRO4430ポリペプチドを提供する。

その他の側面では、本発明は、Fig 44 (配列番号：78) を含めたアミノ酸残基19から約125の配列に対して、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含んでなる単離されたPRO4430ポリペプチドに関する。

【0124】

40

さらなる側面では、本発明は、Fig 44 (配列番号：78) の残基19から125のアミノ酸配列と比較した際に、少なくとも約80%のポジティブ、好ましくは少なくとも約85%のポジティブ、さらに好ましくは少なくとも約90%のポジティブ、最も好ましくは少なくとも約95%のポジティブをスコアするアミノ酸配列を含んでなる単離されたPRO4430ポリペプチドに関する。

さらなる他の側面では、本発明は、Fig 44 (配列番号：78) を含めたアミノ酸残基19から約125の配列を含んでなる単離されたPRO4430ポリペプチド、又は抗-PRO4430抗体の結合部位を提供するために十分な単離されたPRO4430ポリペプチド断片に関する。好ましくは、PRO4430断片は、天然PRO4430ポリペプチドの質的な生物活性を保持する。

50

さらにさらなる側面では、本発明は、(i)(a) Fig 4 4 (配列番号：78)を含めたアミノ酸残基約19から約125の配列を有するPRO 4 4 3 0ポリペプチドをコードするDNA分子、又は(b)(a)のDNA分子の補体と、試験DNA分子との緊縮性条件下でのハイブリダイゼーションにより製造されるポリペプチド、及び試験DNA分子が(a)又は(b)に対して少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有する場合に、(ii)試験DNA分子を含む宿主細胞をポリペプチドの発現に適した条件下で培養し、(iii)細胞培養からポリペプチドを回収することにより製造されるポリペプチドを提供する。

【0125】

23. PRO 4 4 9 9

cDNAクローン(DNA96889-2641)は、新規ポリペプチドをコードすると同定され、「PRO 4 4 9 9」と本出願において命名された。

一実施態様においては、本発明は、PRO 4 4 9 9ポリペプチドをコードするDNAを含んでなる単離された核酸分子を提供する。

一側面では、単離された核酸分子は、(a) Fig 4 6 (配列番号：80)を含めたアミノ酸残基1又は約31から約339の配列を有するPRO 4 4 9 9ポリペプチドをコードするDNA分子、又は(b)(a)のDNA分子の補体と、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、より好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するDNAを含む。

その他の側面では、本発明は、Fig 4 5 (配列番号：79)を含めた、約残基275と約1201の間の核酸の補体とハイブリダイゼーションするDNAを含んでなるPRO 4 4 9 9ポリペプチドをコードする単離された核酸分子に関する。好ましくは、ハイブリダイゼーションは、緊縮性ハイブリダイゼーション及び洗浄条件下で起こる。

さらなる側面では、本発明は、(a) ATCC寄託番号119-PTA (DNA96889-2641)のヒトタンパク質cDNAによってコードされているのと同じ成熟ポリペプチドをコードするDNA分子、又は(b)(a)の核酸分子の補体と、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するDNAを含んでなる単離された核酸分子に関する。好ましい実施態様では、この核酸は、ATCC寄託番号119-PTA (DNA96889-2641)のヒトタンパク質cDNAによってコードされているのと同じ成熟ポリペプチドをコードするDNAを含む。

【0126】

よりさらなる側面では、本発明は、(a) Fig 4 6 (配列番号：80)を含めたアミノ酸残基約31から約339の配列に対して、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するポリペプチドをコードするDNA、又は(a)のDNAの補体を含んでなる単離された核酸分子に関する。

さらなる側面では、本発明は、少なくとも約50ヌクレオチド、好ましくは少なくとも約100ヌクレオチドを有する単離された核酸分子で、試験DNA分子を(a) Fig 4 6 (配列番号：80)を含めたアミノ酸残基約31から約339の配列を有するPRO 4 4 9 9ポリペプチドをコードするDNA分子、又は(b)(a)のDNA分子の補体と、緊縮性条件下でハイブリダイゼーションすることにより製造されるもの、及びDNA分子が(a)又は(b)に対して少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有する場合に、試験DNA分子を単離することにより製造されるものに関する。

特定の側面では、本発明は、N末端シグナル配列及び/又は開始メチオニンを伴うか伴わない、PRO 4 4 9 9ポリペプチドをコードしているDNAを含んでなる単離核酸分子、及びその可溶性変異体(すなわち膜貫通ドメイン欠失又は不活性化)又はそのようなコード化核酸分子に相補的なものを提供する。シグナルペプチドは、Fig 4 6 (配列番号：8

10

20

30

40

50

0)の配列において1のアミノ酸位置から約30のアミノ酸位置まで伸展していると試験的に特定された。膜貫通ドメインはP R O 4 4 9 9アミノ酸配列において約171のアミノ酸位置から約190のアミノ酸位置まで伸展していると試験的に特定された(F i g 4 6、配列番号: 8 0)。

その他の側面では、本発明は、F i g 4 6 (配列番号: 8 0)を含めた、残基31から約339のアミノ酸配列と比較した際に、(a)少なくとも約80%のポジティブ、好ましくは少なくとも約85%のポジティブ、さらに好ましくは少なくとも約90%のポジティブ、最も好ましくは少なくとも約95%のポジティブをスコアするポリペプチドをコードするDNA、又は(b)(a)のDNAの補体を含んでなる単離された核酸分子に関する。

【0127】

その他の実施態様は、ハイブリダイゼーションプローブとしての使用が見出されうる配列をコードするP R O 4 4 9 9ポリペプチドの断片へ向けられている。そのような核酸断片は、約20から約80ヌクレオチドの長さ、好ましくは約20から約60ヌクレオチドの長さ、さらに好ましくは約20から約50ヌクレオチドの長さ、及び最も好ましくは約20から約40ヌクレオチドの長さである。

その他の実施態様では、本発明は、上記において定義された核酸配列の何れかによってコードされている単離されたP R O 4 4 9 9ポリペプチドを提供する。

特別な側面では、本発明は、ある実施態様において、F i g 4 6 (配列番号: 8 0)の残基31から約339を含んでなるアミノ酸配列を包含する単離された天然配列P R O 4 4 9 9ポリペプチドを提供する。

その他の側面では、本発明は、F i g 4 6 (配列番号: 8 0)を含めたアミノ酸残基31から約339の配列に対して、少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含んでなる単離されたP R O 4 4 9 9ポリペプチドに関する。

さらなる側面では、本発明は、F i g 4 6 (配列番号: 8 0)の残基31から339のアミノ酸配列と比較した際に、少なくとも約80%のポジティブ、好ましくは少なくとも約85%のポジティブ、さらに好ましくは少なくとも約90%のポジティブ、最も好ましくは少なくとも約95%のポジティブをスコアするアミノ酸配列を含んでなる単離されたP R O 4 4 9 9ポリペプチドに関する。

【0128】

さらなる他の側面では、本発明は、F i g 4 6 (配列番号: 8 0)を含めたアミノ酸残基31から約339の配列を含んでなる単離されたP R O 4 4 9 9ポリペプチド、又は抗-P R O 4 4 9 9抗体の結合部位を提供するために十分な単離されたP R O 4 4 9 9ポリペプチド断片に関する。好ましくは、P R O 4 4 9 9断片は、天然P R O 4 4 9 9ポリペプチドの質的な生物活性を保持する。

さらにさらなる側面では、本発明は、(i)(a)F i g 4 6 (配列番号: 8 0)を含めたアミノ酸残基約31から約339の配列を有するP R O 4 4 9 9ポリペプチドをコードするDNA分子、又は(b)(a)のDNA分子の補体と、試験DNA分子との緊縮性条件下でのハイブリダイゼーションにより製造されるポリペプチド、及び試験DNA分子が(a)又は(b)に対して少なくとも約80%の配列同一性、好ましくは少なくとも約85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有する場合に、(ii)試験DNA分子を含む宿主細胞をポリペプチドの発現に適した条件下で培養し、(iii)細胞培養からポリペプチドを回収することにより製造されるポリペプチドを提供する。

【0129】

24. 更なる実施態様

本発明の他の実施態様では、本発明はここに記載したポリペプチドの任意のものをコードするDNAを含んでなるベクターを提供する。そのようなベクターを含んでなる宿主細胞もまた提供される。例を挙げると、宿主細胞はCHO細胞、大腸菌、又は酵母でありうる。こ

10

20

30

40

50

ここに記載のポリペプチドの任意のものを生産するための方法が更に提供され、これは、所望のポリペプチドの発現に適した条件下で宿主細胞を培養し、細胞培養から所望のポリペプチドを回収することを含んでなる。

他の実施態様では、本発明は、異種性ポリペプチド又はアミノ酸配列に融合したここに記載のポリペプチドの任意のものを含んでなるキメラ分子を提供する。そのようなキメラ分子の例は、免疫グロブリンのFc領域又はエピトープタグ配列に融合したここに記載のポリペプチドの任意のものが含まれる。

他の実施態様では、本発明は上述の又は下記のポリペプチドの任意のものに特異的に結合する抗体を提供する。場合によっては、抗体はモノクローナル抗体、ヒト化抗体、抗体断片又は一本鎖抗体である。

さらに他の実施態様では、本発明は、ゲノム及びcDNAヌクレオチド配列を単離するために有用なオリゴヌクレオチドプローブ、又はこれをアンチセンスプローブとして提供し、ここでこれらプローブは上述の又は下記のヌクレオチド配列の任意のものから誘導されうる。

他の実施態様では、本発明はPROポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含んでなる単離された核酸分子を提供する。

【0130】

一態様では、単離された核酸分子は、(a)ここに開示された全長アミノ酸配列、ここに開示されたシグナルペプチドを欠くアミノ酸配列、又はシグナルペプチドを伴う又は伴わないここに開示した膜貫通タンパク質の細胞外ドメインを有するPROポリペプチドをコードするDNA分子、又は(b)(a)のDNA分子の補体に対して、少なくとも約80%の配列同一性、あるいは少なくとも約81%の配列同一性、あるいは少なくとも約82%の配列同一性、あるいは少なくとも約83%の配列同一性、あるいは少なくとも約84%の配列同一性、あるいは少なくとも約85%の配列同一性、あるいは少なくとも約86%の配列同一性、あるいは少なくとも約87%の配列同一性、あるいは少なくとも約88%の配列同一性、あるいは少なくとも約89%の配列同一性、あるいは少なくとも約90%の酸配列同一性、あるいは少なくとも約91%の配列同一性、あるいは少なくとも約92%の配列同一性、あるいは少なくとも約93%の配列同一性、あるいは少なくとも約94%の配列同一性、あるいは少なくとも約95%の配列同一性、あるいは少なくとも約96%の配列同一性、あるいは少なくとも約97%の配列同一性、あるいは少なくとも約98%の配列同一性及びあるいは少なくとも約99%の配列同一性を有しているヌクレオチド配列を含んでなる。

他の態様では、単離された核酸分子は、(a)ここに開示された全長PROポリペプチドcDNAのコード化配列、ここに開示されたシグナルペプチドを欠くPROポリペプチドcDNAのコード化配列、又はシグナルペプチドを伴う又は伴わないここに開示した膜貫通PROポリペプチドの細胞外ドメインのコード化配列、又は(b)(a)のDNA分子の補体に対して、少なくとも約80%の配列同一性、あるいは少なくとも約81%の配列同一性、あるいは少なくとも約82%の配列同一性、あるいは少なくとも約83%の配列同一性、あるいは少なくとも約84%の配列同一性、あるいは少なくとも約85%の配列同一性、あるいは少なくとも約86%の配列同一性、あるいは少なくとも約87%の配列同一性、あるいは少なくとも約88%の配列同一性、あるいは少なくとも約89%の配列同一性、あるいは少なくとも約90%の酸配列同一性、あるいは少なくとも約91%の配列同一性、あるいは少なくとも約92%の配列同一性、あるいは少なくとも約93%の配列同一性、あるいは少なくとも約94%の配列同一性、あるいは少なくとも約95%の配列同一性、あるいは少なくとも約96%の配列同一性、あるいは少なくとも約97%の配列同一性、あるいは少なくとも約98%の配列同一性、あるいは少なくとも約99%の配列同一性を有しているヌクレオチド配列を含んでなる。

【0131】

更なる態様では、本発明は、(a)ここに開示されたATTCに寄託されたヒトタンパク質cDNAの任意のものによりコードされる同じ成熟ポリペプチドをコードするDNA分子、又は(b)(a)のDNA分子の補体に対して、少なくとも約80%の配列同一性、あるいは少なくとも約81%の配列同一性、あるいは少なくとも約82%の配列同一性、あるいは少なくとも

約83%の配列同一性、あるいは少なくとも約84%の配列同一性、あるいは少なくとも約85%の配列同一性、あるいは少なくとも約86%の配列同一性、あるいは少なくとも約87%の配列同一性、あるいは少なくとも約88%の配列同一性、あるいは少なくとも約89%の配列同一性、あるいは少なくとも約90%の配列同一性、あるいは少なくとも約91%の配列同一性、あるいは少なくとも約92%の配列同一性、あるいは少なくとも約93%の配列同一性、あるいは少なくとも約94%の配列同一性、あるいは少なくとも約95%の配列同一性、あるいは少なくとも約96%の配列同一性、あるいは少なくとも約97%の配列同一性、あるいは少なくとも約98%の配列同一性及びあるいは少なくとも約99%の配列同一性を有しているヌクレオチド配列を含んでなる単離された核酸分子に関する。

本発明の他の態様は、膜貫通ドメイン欠損又は膜貫通ドメイン不活性化のPROポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含んでなる単離された核酸分子を提供し、またはそのようなコード化ヌクレオチド配列に相補的であり、ここでそのようなポリペプチドの膜貫通ドメインがここに開示される。従って、ここに記載されたPROポリペプチドの可溶性細胞外ドメインが考慮される。

【0132】

他の実施態様は、例えば、場合によっては抗-PRO抗体の結合部位を含んでなるポリペプチドをコードするPROポリペプチドのコード化断片のためのハイブリダイゼーションプローブ、又ははアンチセンスオリゴヌクレオチドプローブとしての利用を見出さるPROポリペプチドコード化配列断片或いはその補体に向けられている。そのような核酸断片は通常少なくとも約20のヌクレオチド長さ、あるいは少なくとも約30のヌクレオチド長さ、あるいは少なくとも約40のヌクレオチド長さ、あるいは少なくとも約50のヌクレオチド長さ、あるいは少なくとも約60のヌクレオチド長さ、あるいは少なくとも約70のヌクレオチド長さ、あるいは少なくとも約80のヌクレオチド長さ、あるいは少なくとも約90のヌクレオチド長さ、あるいは少なくとも約100のヌクレオチド長さ、あるいは少なくとも約110のヌクレオチド長さ、あるいは少なくとも約120のヌクレオチド長さ、あるいは少なくとも約130のヌクレオチド長さ、あるいは少なくとも約140のヌクレオチド長さ、あるいは少なくとも約150のヌクレオチド長さ、あるいは少なくとも約160のヌクレオチド長さ、あるいは少なくとも約170のヌクレオチド長さ、あるいは少なくとも約180のヌクレオチド長さ、あるいは少なくとも約190のヌクレオチド長さ、あるいは少なくとも約200のヌクレオチド長さ、あるいは少なくとも約250のヌクレオチド長さ、あるいは少なくとも約300のヌクレオチド長さ、あるいは少なくとも約350のヌクレオチド長さ、あるいは少なくとも約400のヌクレオチド長さ、あるいは少なくとも約450のヌクレオチド長さ、あるいは少なくとも約500のヌクレオチド長さ、あるいは少なくとも約600のヌクレオチド長さ、あるいは少なくとも約700のヌクレオチド長さ、あるいは少なくとも約800のヌクレオチド長さ、あるいは少なくとも約900のヌクレオチド長さ及びあるいは少なくとも約1000のヌクレオチド長さであり、ここで、「約」という用語は、その参照長さのプラス又はマイナス10%の参照ヌクレオチド配列長さを意味する。PROポリペプチドコード化ヌクレオチド配列の新規な断片は、多くのよく知られた配列アラインメントプログラムの任意のものを使用してPROポリペプチドコードヌクレオチド配列を他の既知のヌクレオチド配列にアラインメントさせ、どのPROポリペプチドコード化ヌクレオチド配列断片が新規であるかを決定することにより常套的に決定することができることに留意される。そのようなPROポリペプチドコード化ヌクレオチド配列の全てがここで考慮される。また考慮されるものは、これらのヌクレオチド分子断片によりコードされるPROポリペプチド断片、好ましくは抗-PRO抗体に対する結合部位を含んでなるPROポリペプチド断片である。

他の実施態様では、本発明は上記において特定した単離核酸配列の任意のものによりコードされる単離されたPROポリペプチドを提供する。

【0133】

ある側面では、本発明は、ここに開示された全長アミノ酸配列、ここに開示されたシグナルペプチドを欠く全長アミノ酸配列、又はシグナルペプチドを有する又は有しないのここに開示した膜貫通タンパク質の細胞外ドメインを有するPROポリペプチドに対して、少

10

20

30

40

50

なくとも約80%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約81%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約82%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約83%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約84%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約85%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約86%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約87%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約88%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約89%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約90%の酸アミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約91%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約92%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約93%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約94%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約95%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約96%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約97%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約98%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約99%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含んでなる、単離されたPROポリペプチドに関する。

10

更なる側面では、本発明は、ここに開示されたATTCに寄託されたヒトタンパク質cDNAの任意のものによりコードされるアミノ酸配列に対して、少なくとも約80%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約81%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約82%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約83%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約84%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約85%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約86%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約87%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約88%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約89%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約90%の酸アミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約91%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約92%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約93%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約94%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約95%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約96%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約97%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約98%のアミノ酸配列同一性及びあるいは少なくとも約99%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含んでなる単離されたPROポリペプチドに関する。

20

【0134】

さらなる態様では、本発明は、ここに開示された全長アミノ酸配列、ここに開示されたシグナルペプチドを欠くアミノ酸配列、又はシグナルペプチド有する又は有しないここに開示された膜貫通タンパク質の細胞外ドメイン、又はここに開示された全長アミノ酸配列の任意の特に定義された断片を有するPROポリペプチドのアミノ酸配列と比較したとき、少なくとも約80%のポジティブ、あるいは少なくとも約81%のポジティブ、あるいは少なくとも約82%のポジティブ、あるいは少なくとも約83%のポジティブ、あるいは少なくとも約84%のポジティブ、あるいは少なくとも約85%のポジティブ、あるいは少なくとも約86%のポジティブ、あるいは少なくとも約87%のポジティブ、あるいは少なくとも約88%のポジティブ、あるいは少なくとも約89%のポジティブ、あるいは少なくとも約90%のポジティブ、あるいは少なくとも約91%のポジティブ、あるいは少なくとも約92%のポジティブ、あるいは少なくとも約93%のポジティブ、あるいは少なくとも約94%のポジティブ、あるいは少なくとも約95%のポジティブ、あるいは少なくとも約96%のポジティブ、あるいは少なくとも約97%のポジティブ、あるいは少なくとも約98%のポジティブ、及びあるいは少なくとも約99%のポジティブのスコアを示すアミノ酸配列を含んでなる単離されたPROポリペプチドに関する。

30

40

特定の態様では、本発明は、N末端シグナル配列及び/又は開始メチオニンを持たない単離されたPROポリペプチドを提供し、それは上述したそのようなアミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列によりコードされる。これを生産する方法もまたここに記載され、ここで、これらの方法はPROポリペプチドの発現に適した条件下で適切なコード化核酸分子を含むベクターを含んでなる宿主細胞を培養し、細胞培地からPROポリペプチドを回収することを含んでなる。

【0135】

50

本発明の他の側面は、膜貫通ドメイン欠損或いは膜貫通ドメイン不活性化の単離された P R O ポリペプチドを提供する。これを生産する方法もまたここに記載され、ここで、これらの方法は P R O ポリペプチドの発現に適した条件下で適当なコード化核酸分子を含むベクターを含んでなる宿主細胞を培養し、細胞培地から P R O ポリペプチドを回収することを含んでなる。

さらに他の実施態様では、本発明は、ここで特定した天然 P R O ポリペプチドのアゴニスト及びアンタゴニストに関する。特別な実施態様では、アゴニスト又はアンタゴニストは、抗-P R O 抗体又は小分子である。

さらなる実施態様では、本発明は、P R O ポリペプチドを候補分子と接触させ、前記 P R O ポリペプチドによって媒介される生物学的活性を監視することを含んでなる、P R O ポリペプチドに対するアゴニスト又はアンタゴニストの同定方法に関する。

またさらなる実施態様では、本発明は、P R O ポリペプチド、又はここに記載のアゴニスト又はアンタゴニスト、又は抗-P R O 抗体を担体とともに含んでなる物質の組成物に関する。場合によっては、担体は製薬的に許容される担体である。

本発明の他の実施態様は、上述の P R O ポリペプチド、そのアゴニスト又はアンタゴニスト又は抗-P R O 抗体に応答性である症状の治療に有用な医薬の調製のための、P R O ポリペプチド、またはそのアゴニスト又はアンタゴニスト又は抗-P R O 抗体の使用に関する。

【 0 1 3 6 】

(好適な実施態様の詳細な説明)

I . 定義

ここで使用される際の「 P R O ポリペプチド」及び「 P R O 」又は「 U C P 」という用語は、直後に数値符号がある場合に種々のポリペプチドを指し、完全な符号 (例えば、 P R O / 数字) は、ここに記載する特定のポリペプチド配列を意味する。ここで使用される「 P R O / 数字ポリペプチド」及び「 P R O / 数字」であって、「数字」がここで使用される実際の数値符号として与えられる用語は、天然配列ポリペプチド及び変異体 (ここで更に詳細に定義する) を含む。ここに記載される P R O ポリペプチドは、ヒト組織型又は他の供給源といった種々の供給源から単離してもよく、組換え又は合成方法によって調製してもよい。

「天然配列 P R O ポリペプチド」は、天然由来の対応する P R O ポリペプチドと同一のアミノ酸配列を有するポリペプチドを含んでいる。このような天然配列 P R O ポリペプチドは、自然から単離することもできるし、組換え又は合成手段により生産することもできる。「天然配列 P R O ポリペプチド」という用語には、特に、特定の P R O ポリペプチドの自然に生じる切断又は分泌形態 (例えば、細胞外ドメイン配列)、自然に生じる変異形態 (例えば、選択的にスプライシングされた形態) 及びそのポリペプチドの自然に生じる対立遺伝子変異体が含まれる。本発明の種々の実施態様において、天然配列 P R O ポリペプチドは、添付の図面に示される全長アミノ酸配列を含む成熟又は全長天然配列ポリペプチドである。開始及び停止コドンは、図において太字又は下線で示した。しかし、添付の図面に開示した P R O ポリペプチドは、図面におけるアミノ酸 1 としてここに命名されるメチオニン残基で始まるように示されているが、図面におけるアミノ酸位置 1 の上流又は下流に位置する他のメチオニン残基を P R O ポリペプチドの開始アミノ酸残基として用いることも考えられるし可能でもある。

P R O ポリペプチド「細胞外ドメイン」又は「ECD」は、膜貫通及び細胞質ドメインを実質的に有しない P R O ポリペプチドの形態を意味する。通常、P R O ポリペプチドECDは、それらの膜貫通及び / 又は細胞質ドメインを 1 % 未満、好ましくはそのようなドメインを 0.5 % 未満しか持たない。本発明の P R O ポリペプチドについて同定された任意の膜貫通ドメインは、疎水性ドメインのその型を同定するために当該分野において常套的に使用される基準に従い同定されることが理解されるであろう。膜貫通ドメインの厳密な境界は変わり得るが、最初に同定されたドメインのいずれかの末端から約 5 アミノ酸を越えない可能性が高い。従って、P R O ポリペプチド細胞外ドメインは、場合によっては、実施例

又は明細書で同定されるように膜貫通ドメイン及び／又は細胞外ドメインの境界のいずれかの側から約5を越えないアミノ酸を含んでもよく、シグナルペプチドを伴う又は伴わない、それらのポリペプチド及びそれらをコードする核酸は、本発明で考慮される。

【0137】

ここに開示する種々のPROポリペプチドの「シグナルペプチド」の適切な位置は、添付の図面に示す。しかし、注記するように、シグナルペプチドのC-末端境界は変化しうるが、ここで最初に定義したようにシグナルペプチドC-末端境界のいずれかの側で約5アミノ酸未満である可能性が最も高く、シグナルペプチドのC-末端境界は、そのような型のアミノ酸配列成分を同定するのに常套的に使用される基準に従って同定しうる（例えば、Nielsenら, Prot. Eng. 10: 1-6 (1997)及びvon Heinjeら, Nucl. Acids. Res. 14: 46 83-4690 (1986)）。さらに、幾つかの場合には、分泌ポリペプチドからのシグナルペプチドの切断は完全に均一ではなく、一以上の分泌種をもたらすことも認められる。シグナルペプチドがここに定義されるシグナルペプチドのC-末端境界の何れかの側の約5アミノ酸未満内で切断されるこれらの成熟ポリペプチド、及びそれらをコードするポリヌクレオチドは、本発明で考慮される。

「PROポリペプチド変異体」とは、上記又は下記に定義されるように、ここに開示される全長天然配列PROポリペプチド、ここに開示されたシグナルペプチドを欠く全長天然配列PROポリペプチド配列、シグナルペプチド有無のここに開示されたPROの細胞外ドメイン又はここに開示された全長PROポリペプチドの他の断片と、少なくとも約80%のアミノ酸配列同一性を有する活性PROポリペプチドを意味する。このようなPROポリペプチド変異体には、例えば、全長天然アミノ酸配列のN-又はC-末端において一又は複数のアミノ酸残基が付加、もしくは欠失されたPROポリペプチドが含まれる。通常、PROポリペプチド変異体は、ここに開示される全長天然アミノ酸配列、ここに開示されたシグナルペプチドを欠く全長天然配列PROポリペプチド配列、シグナルペプチド有無のここに開示されたPROの細胞外ドメイン又はここに開示された全長PROポリペプチドの他の断片と、少なくとも約80%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約81%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約82%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約83%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約84%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約85%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約86%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約87%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約88%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約89%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約90%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約91%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約92%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約93%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約94%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約95%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約96%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約97%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約98%のアミノ酸配列同一性、そして、あるいは少なくとも約99%のアミノ酸配列同一性を有している。通常は、PRO変異体ポリペプチドは、少なくとも約10アミノ酸長、あるいは少なくとも約20アミノ酸長、あるいは少なくとも約30アミノ酸長、あるいは少なくとも約40アミノ酸長、あるいは少なくとも約50アミノ酸長、あるいは少なくとも約60アミノ酸長、あるいは少なくとも約70アミノ酸長、あるいは少なくとも約80アミノ酸長、あるいは少なくとも約90アミノ酸長、あるいは少なくとも約100アミノ酸長、あるいは少なくとも約150アミノ酸長、あるいは少なくとも約200アミノ酸長、あるいは少なくとも約300アミノ酸長、又はそれ以上である。

【0138】

ここに定義されるPROポリペプチドに対してここで同定されている「パーセント(%)アミノ酸配列同一性」は、配列を整列させ、最大のパーセント配列同一性を得るために必要ならば間隙を導入し、如何なる保存的置換も配列同一性の一部と考えないとした、PROポリペプチドのアミノ酸残基と同一である候補配列中のアミノ酸残基のパーセントとして定義される。パーセントアミノ酸配列同一性を決定する目的のためのアラインメントは、

当業者の技量の範囲にある種々の方法、例えばBLAST、BLAST-2、ALIGN又はMegaAlign(DNASTAR)ソフトウェアのような公に入手可能なコンピュータソフトウェアを使用することにより達成可能である。当業者であれば、比較される配列の全長に対して最大のアラインメントを達成するために必要な任意のアルゴリズムを含む、アラインメントを測定するための適切なパラメータを決定することができる。しかし、ここでの目的のためには、%アミノ酸配列同一性値は、配列比較コンピュータプログラムALIGN-2を用いて得られ、ALIGN-2プログラムのコンピュータソースコードは下記の表1に提供されている。ALIGN-2配列比較コンピュータプログラムはジェネンテック社によって作成され、下記の表1に示したソースコードは米国著作権事務所、Washington D.C., 20559へ使用者用書類とともに提出され、米国著作権登録番号TXU510087の下で登録されている。ALIGN-2はジェネンテック社、South San Francisco, Californiaから公に入手可能であり、また下記の表1に提供されているソースコードからコンパイルしてもよい。ALIGN-2プログラムは、UNIXオペレーティングシステム、好ましくはデジタルUNIX V4.0Dでの使用のためにコンパイルされる。全ての配列比較パラメータは、ALIGN-2プログラムによって設定され変動しない。

【0139】

アミノ酸配列比較にALIGN-2が用いられる状況では、与えられたアミノ酸配列Aの、与えられたアミノ酸配列Bとの、又はそれに対する%アミノ酸配列同一性（あるいは、与えられたアミノ酸配列Bと、又はそれに対して或る程度の%アミノ酸配列同一性を持つ又は含む与えられたアミノ酸配列Aと言うこともできる）は次のように計算される：

分率 X/Y の100倍

ここで、 X は配列アラインメントプログラムALIGN-2のA及びBのアラインメントによって同一であると一致したスコアのアミノ酸残基の数であり、 Y はBの全アミノ酸残基数である。アミノ酸配列Aの長さがアミノ酸配列Bの長さとは異なる場合、AのBに対する%アミノ酸配列同一性は、BのAに対する%アミノ酸配列同一性とは異なることは理解されるであろう。この方法を用いた%アミノ酸配列同一性の計算の例として、表2及び3は、「比較タンパク質」と称されるアミノ酸配列の「PRO」と称されるアミノ酸配列に対する%アミノ酸配列同一性の計算方法を示し、この時には「PRO」が対象となる仮想的PROポリペプチドのアミノ酸配列を表し、「比較タンパク質」が対象となる「比較」タンパク質が比較されているアミノ酸配列を表し、そして「X」、「Y」及び「Z」の各々が異なった仮想的アミノ酸残基を表す。

【0140】

特に断らない限り、ここで使用される全ての%アミノ酸配列同一性値は、ALIGN-2コンピュータプログラムを使用してすぐ前の段落に記載したようにして得られる。しかし、%アミノ酸配列同一性は、WU-BLAST-2コンピュータプログラム(Altschulら, Methods in Enzymology 266:460-480 (1996))を用いて以下に記載されているようにして得ることもまたできる。WU-BLAST-2検索パラメータの殆どはデフォルト値に設定される。デフォルト値に設定されないもの、すなわち調節できるパラメータは、次の値に設定される：オーバーラップスパン=1、オーバーラップフラクション=0.125、ワード閾値(T)=11、及びスコアリングマトリックス=BLOSUM62。WU-BLAST-2を用いる場合、%アミノ酸配列同一性値は、(a) WU-BLAST-2によって決定された、天然PROポリペプチドから誘導される配列を有する対象のPROポリペプチドのアミノ酸配列と対象の比較アミノ酸配列（すなわち、PRO変異体ポリペプチドであってもよい対象のPROポリペプチドが比較されている配列）の間の合致する同一のアミノ酸残基の数を、(b) 対象のPROポリペプチドのアミノ酸残基の全数により割ることにより決定される。例えば、「アミノ酸配列Bと少なくとも80%のアミノ酸配列同一性を有する又は有しているアミノ酸配列Aを含むポリペプチド」という記載において、アミノ酸配列Aは対象の比較アミノ酸配列であり、アミノ酸配列Bは対象のPROポリペプチドのアミノ酸配列である。

また、%アミノ酸配列同一性は、配列比較プログラムNCBI-BLAST2(Altschulら, Nucleic Acids Res. 25: 3389-3402 (1997))を用いて決定してもよい。NCBI-BLAST2配列比較プログラムは、<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>からダウンロードできる。NCBI-BLAST2は幾つ

かの検索パラメータを使用し、それら検索パラメータの全ては初期値に設定され、例えば、unmask = 可、鎖 = 全て、予測される発生 = 10、最小低複合長 = 15/5、マルチパス e - 値 = 0.01、マルチパスの定数 = 25、最終ギャップアラインメントのドロップオフ = 25、及びスコアリングマトリクス = BLOSUM62を含む。

アミノ酸配列比較にNCBI-BLAST2が用いられる状況では、与えられたアミノ酸配列 A の、与えられたアミノ酸配列 B との、又はそれに対する % アミノ酸配列同一性（あるいは、与えられたアミノ酸配列 B と、又はそれに対して或る程度の % アミノ酸配列同一性を持つ又は含む与えられたアミノ酸配列 A と言うこともできる）は次のように計算される：

分率 X / Y の 100 倍

ここで、 X は配列アラインメントプログラム NCBI-BLAST2 の A 及び B のアラインメントによって同一であると一致したスコアのアミノ酸残基の数であり、 Y は B の全アミノ酸残基数である。アミノ酸配列 A の長さがアミノ酸配列 B の長さとは異なる場合、A の B に対する % アミノ酸配列同一性は、B の A に対する % アミノ酸配列同一性とは異なることは理解されるであろう。

【0141】

「PRO 変異体ポリヌクレオチド」又は「PRO 変異体核酸配列」とは、下記に定義されるように、活性 PRO ポリペプチドをコードする核酸分子であり、ここに開示する全長天然配列 PRO ポリペプチド配列、ここに開示するシグナルペプチドを欠いた全長天然配列 PRO ポリペプチド配列、シグナルペプチド有無のここに開示する PRO ポリペプチドの細胞外ドメイン、又はここに開示する全長 PRO ポリペプチド配列の他の任意の断片をコードする核酸配列と少なくとも 80% の配列同一性を有する。通常は、PRO 変異体ポリペプチドヌクレオチドは、ここに開示する全長天然配列 PRO ポリペプチド配列、ここに開示するシグナルペプチドを欠いた全長天然配列 PRO ポリペプチド配列、シグナルペプチド伴う又は伴わないここに開示する PRO ポリペプチドの細胞外ドメイン、又はここに開示する全長 PRO ポリペプチドの他の任意の断片をコードする核酸配列と、少なくとも約 80% の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約 81% の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約 82% の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約 83% の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約 84% の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約 85% の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約 86% の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約 87% の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約 88% の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約 89% の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約 90% の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約 91% の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約 92% の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約 93% の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約 94% の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約 95% の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約 96% の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約 97% の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約 98% の核酸配列同一性、そして、あるいは少なくとも約 99% の核酸配列同一性を有している。変異体は、天然ヌクレオチド配列を含まない。

通常は、PRO 変異体ポリヌクレオチドは、少なくとも約 30 ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約 60 ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約 90 ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約 120 ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約 150 ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約 180 ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約 210 ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約 240 ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約 270 ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約 300 ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約 450 ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約 600 ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約 900 ヌクレオチド長、又はそれ以上である。

【0142】

ここで同定される PRO コード化核酸配列に対する「パーセント (%) 核酸配列同一性」は、配列を整列させ、最大のパーセント配列同一性を得るために必要ならば間隙を導入し、PRO 配列のヌクレオチドと同一である候補配列中のヌクレオチドのパーセントとして定義される。パーセント核酸配列同一性を決定する目的のためのアラインメントは、当業者の知る範囲にある種々の方法、例えば BLAST、BLAST-2、ALIGN 又は Megalign (DNASTAR) ソフ

10

20

30

40

50

トウェアのような公に入手可能なコンピュータソフトウェアを使用することにより達成可能である。しかし、ここでの目的のために、%核酸配列同一性の値はコンピュータプログラムALIGN-2を用いて計算され、ALIGN-2コンピュータプログラムのコンピューターソースコードは表1に提供されている。ALIGN-2配列比較コンピュータプログラムはジェネンテック社によって作成され、下記の表1に示したソースコードは米国著作権事務所、Washington D.C., 20559へ使用者用書類とともに提出され、米国著作権登録番号TXU510087の下で登録されている。ALIGN-2はジェネンテック社、South San Francisco, Californiaから公に入手可能であり、また下記の表1に提供されているソースコードからコンパイルしてもよい。ALIGN-2プログラムは、UNIXオペレーティングシステム、好ましくはデジタルUNIX V4.0Dでの使用のためにコンパイルされる。全ての配列比較パラメータは、ALIGN-2プログラムによって設定され変動しない。

10

【0143】

核酸配列比較にALIGN-2が用いられる状況では、与えられた核酸配列Cの、与えられた核酸配列Dとの、又はそれに対する%核酸配列同一性（あるいは、与えられた核酸配列Dと、又はそれに対して或る程度の%核酸配列同一性を持つ又は含む与えられた核酸配列Cとすることもできる）は次のように計算される：

分率W/Zの100倍

ここで、Wは配列アラインメントプログラムALIGN-2のC及びDのアラインメントによって同一であると一致したスコアのヌクレオチドの数であり、ZはDの全ヌクレオチド数である。核酸配列Cの長さが核酸配列Dの長さとは異なる場合、CのDに対する%核酸配列同一性は、DのCに対する%核酸配列同一性とは異なることは理解されるであろう。%核酸配列同一性の計算の例として、表4及び5は、「比較DNA」と称される核酸配列の「PRO-DNA」と称される核酸配列に対する%核酸配列同一性の計算方法を示し、この時には「PRO-DNA」が対象となる仮説的PROコード化核酸配列を表し、「比較DNA」が対象となる「PRO-DNA」核酸分子が比較されている核酸配列を表し、そして「N」、「L」及び「V」の各々が異なった仮説的アミノ酸残基を表す。

20

【0144】

特に断らない限り、ここで使用される全ての%核酸配列同一性値は、ALIGN-2コンピュータプログラムを使用してすぐ前の段落に記載したようにして得られる。しかし、%核酸配列同一性は、WU-BLAST-2コンピュータプログラム（Altschulら、Methods in Enzymology 266:460-480（1996））を用いて以下に記載されているようにして得ることもまたできる。WU-BLAST-2検索パラメータの殆どはデフォルト値に設定される。デフォルト値に設定されないもの、すなわち調節できるパラメータは、次の値に設定される：オーバーラップスパン=1、オーバーラップフラクション=0.125、ワード閾値（T）=11、及びスコアリングマトリックス=BLOSUM62。WU-BLAST-2を用いる場合、%核酸配列同一性値は、（a）WU-BLAST-2によって決定された、天然配列PROポリペプチドコード化核酸から誘導される配列を有する対象のPROポリペプチドコード化核酸分子と対象の比較核酸分子（すなわち、変異体PROポリヌクレオチドであってもよい対象のPROポリペプチド-コード化核酸分子が比較されている配列）の間の合致する同一のヌクレオチドの数を、（b）対象のPROポリペプチドコード化核酸分子のヌクレオチドの全数により割ることにより決定される。例えば、「核酸配列Bと少なくとも80%の核酸配列同一性を有する又は有している核酸配列Aを含む単離された核酸分子」という記載において、核酸配列Aは対象の比較核酸配列であり、核酸配列Bは対象のPROポリペプチドコード化核酸分子の核酸配列である。

30

40

また、%核酸配列同一性は、配列比較プログラムNCBI-BLAST2（Altschulら、Nucleic Acids Res. 25: 3389-3402（1997））を用いて決定してもよい。NCBI-BLAST2配列比較プログラムは、<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>からダウンロードできる。NCBI-BLAST2は幾つかの検索パラメータを使用し、それら検索パラメータの全ては初期値に設定され、例えば、unmask = 可、鎖 = 全て、予測される発生 = 10、最小低複合長 = 15/5、マルチパス e-値 = 0.01、マルチパスの定数 = 25、最終ギャップアラインメントのドロップオフ = 25、及びスコ

50

アリングマトリクス = BLOSUM62を含む。

【 0 1 4 5 】

核酸配列比較にNCBI-BLAST2が用いられる状況では、与えられた核酸配列 C の、与えられた核酸配列 D との、又はそれに対する % 核酸配列同一性（あるいは、与えられた核酸配列 D と、又はそれに対して或る程度の % 核酸配列同一性を持つ又は含む与えられた核酸配列 C と言うこともできる）は次のように計算される：

分率 W / Z の 1 0 0 倍

ここで、W は配列アラインメントプログラム NCBI-BLAST2 の C 及び D のアラインメントによって同一であると一致したスコアの核酸残基の数であり、Z は D の全核酸残基数である。核酸配列 C の長さが核酸配列 D の長さとは異なる場合、C の D に対する % 核酸配列同一性は、D の C に対する % 核酸配列同一性とは異なることは理解されるであろう。

他の実施態様では、PRO 変異体ポリペプチドヌクレオチドは、活性 PRO ポリペプチドをコードし、好ましくは緊縮性ハイブリダイゼーション及び洗浄条件下で、ここに開示する全長 PRO ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列にハイブリダイゼーションする核酸分子である。PRO 変異体ポリペプチドは、PRO 変異体ポリヌクレオチドにコードされるものであってもよい。

【 0 1 4 6 】

「陽性（ポジティブ）」という用語は、上記のように実施された配列比較の中で、比較された配列において同一ではないが類似の特性を有している残基（例えば、保存的置換の結果として、下記の表 1 参照）を含む。ここでの目的のために、陽性の % 値は、(a) 天然 PRO ポリペプチドから誘導された配列を有する対象とする PRO ポリペプチドのアミノ酸配列と、対象とする比較アミノ酸配列（即ち、PRO ポリペプチド配列が比較されるアミノ酸配列）との間の、WU-BLAST-2 の BLOSUM62 マトリクス内でポジティブな値が付けられたアミノ酸残基の数を、(b) 対象とする PRO ポリペプチドのアミノ酸残基の総数で除した商によって決定される。

特に断らない限り、陽性の % 値は、直上のパラグラフに記載したようにして計算される。WU-BLAST-2 コンピュータプログラムを用いて得られる。しかしながら、ALIGN-2 及び NCBI-BLAST2 について上記したように実施されるアミノ酸配列同一性には、同一のみならず類似した特性をもつ配列におけるアミノ酸残基を含む。対象とするアミノ酸残基に対して陽性とされたアミノ酸残基は、対象とするアミノ酸残基と同一であるか、又は対象とするアミノ酸残基の好ましい置換（下記の表 1 に定義）であるものである。

ALIGN-2 又は NCBI-BLAST2 を用いたアミノ酸配列比較では、与えられたアミノ酸配列 A の、与えられたアミノ酸配列 B との、又はそれに対する陽性の % 値（あるいは、与えられたアミノ酸配列 B と、又はそれに対して或る程度の % アミノ酸配列同一性を持つ又は含む与えられたアミノ酸配列 A と言うこともできる）は次のように計算される：

分率 X / Y の 1 0 0 倍

ここで、X は配列アラインメントプログラム ALIGN-2 又は NCBI-BLAST2 の A 及び B のアラインメントによって陽性であるとされたスコアのアミノ酸残基の数であり、Y は B の全アミノ酸残基数である。アミノ酸配列 A の長さがアミノ酸配列 B の長さとは等しくない場合、A の B に対する % 陽性は、B の A に対する % 陽性とは異なることが理解されるであろう。

【 0 1 4 7 】

「単離された」とは、ここで開示された種々のポリペプチドを記述するために使用するときには、その自然環境の成分から同定され分離され及び / 又は回収されたポリペプチドを意味する。その自然環境の汚染成分とは、そのポリペプチドの診断又は治療への使用を典型的には妨害する物質であり、酵素、ホルモン、及び他のタンパク質様又は非タンパク質様溶質が含まれる。好ましい実施態様において、ポリペプチドは、(1) スピニングカップシークエネーターを使用することにより、少なくとも 15 残基の N 末端あるいは内部アミノ酸配列を得るのに十分なほど、あるいは、(2) クーマシーブルーあるいは好ましくは銀染色を用いた非還元あるいは還元条件下での SDS-PAGE による均一性まで精製される。単離されたポリペプチドには、PRO ポリペプチドの自然環境の少なくとも 1 つの成分が存在しな

10

20

30

40

50

いため、組換え細胞内のインサイツのタンパク質が含まれる。しかしながら、通常は、単離されたポリペプチドは少なくとも1つの精製プロセスにより調製される。

「単離された」PROポリペプチドコード化核酸は、同定され、PROポリペプチドをコードする核酸の天然源に通常付随している少なくとも1つの汚染核酸分子から分離された核酸分子である。単離されたPROポリペプチドコード化核酸分子は、天然に見出される形態あるいは設定以外のものである。ゆえに、単離されたPROポリペプチドコード化核酸分子は、天然の細胞中に存在するPROポリペプチドコード化核酸分子とは区別される。しかし、単離されたPROポリペプチドコード化核酸分子は、例えば、核酸分子が天然細胞のものとは異なった染色体位置にあるPROポリペプチドを通常発現する細胞に含まれるPROポリペプチド核酸分子を含む。

10

「コントロール配列」という表現は、特定の宿主生物において作用可能に結合したコード配列を発現するために必要なDNA配列を指す。例えば原核生物に好適なコントロール配列は、プロモーター、場合によってはオペレータ配列、及びリボソーム結合部位を含む。真核生物の細胞は、プロモーター、ポリアデニル化シグナル及びエンハンサーを利用することが知られている。

【0148】

核酸は、他の核酸配列と機能的な関係にあるときに「作用可能に結合し」ている。例えば、プレ配列あるいは分泌リーダーのDNAは、ポリペプチドの分泌に参画するプレタンパク質として発現されているなら、そのポリペプチドのDNAに作用可能に結合している；プロモーター又はエンハンサーは、配列の転写に影響を及ぼすならば、コード配列に作用可能に結合している；又はリボソーム結合部位は、もしそれが翻訳を容易にするような位置にあるなら、コード配列と作用可能に結合している。一般的に、「作用可能に結合している」とは、結合したDNA配列が近接しており、分泌リーダーの場合には近接して読みフェーズにあることを意味する。しかし、エンハンサーは必ずしも近接している必要はない。結合は簡便な制限部位でのライゲーションにより達成される。そのような部位が存在しない場合は、従来手法に従って、合成オリゴヌクレオチドアダプターあるいはリンカーが使用される。

20

「抗体」という用語は最も広い意味において使用され、例えば、単一の抗-PROポリペプチドモノクローナル抗体(アゴニスト、アンタゴニスト、及び中和抗体を含む)、多エピトープ特異性を持つ抗-PRO抗体組成物、一本鎖抗-PRO抗体、及び抗-PRO抗体の断片を包含している(下記参照)。ここで使用される「モノクローナル抗体」という用語は、実質的に均一な抗体の集団、すなわち、構成する個々の抗体が、少量存在しうる自然に生じる可能性のある突然変異を除いて同一である集団から得られる抗体を称する。

30

【0149】

ハイブリダイゼーション反応の「緊縮性」は、当業者によって容易に決定され、一般的にプローブ長、洗浄温度、及び塩濃度に依存する経験的な計算である。一般に、プローブが長くなると適切なアニーリングのための温度が高くなり、プローブが短くなると温度は低くなる。ハイブリダイゼーションは、一般的に、相補的鎖がその融点に近いがそれより低い環境に存在する場合における変性DNAの再アニールする能力に依存する。プローブとハイブリダイゼーション可能な配列との間の所望の相同性の程度が高くなると、使用できる相対温度が高くなる。その結果、より高い相対温度は、反応条件をより緊縮性にするが、低い温度は緊縮性を低下させる。さらに、緊縮性は塩濃度に逆比例する。ハイブリダイゼーション反応の緊縮性の更なる詳細及び説明は、Ausubelら、Current Protocols in Molecular Biology, Wiley Interscience Publishers, (1995)を参照のこと。

40

ここで定義される「緊縮性条件」又は「高度の緊縮性条件」は、(1)洗浄のために低イオン強度及び高温、例えば、50℃において0.015Mの塩化ナトリウム/0.0015Mのクエン酸ナトリウム/0.1%のドデシル硫酸ナトリウムを用いるもの；(2)ハイブリダイゼーション中にホルムアミド等の変性剤、例えば、42℃において50%(v/v)ホルムアミドと0.1%ウシ血清アルブミン/0.1%フィコール/0.1%のポリビニルピロリドン/50mMのpH6.5のリン酸ナトリウムバッファー、及び750mMの塩化ナトリウム、75mMクエン酸ナトリウム

50

を用いるもの；(3)42における50%ホルムアミド、5×SSC(0.75MのNaCl、0.075Mのクエン酸ナトリウム)、50mMのリン酸ナトリウム(pH6.8)、0.1%のピロリン酸ナトリウム、5×デンハード液、超音波処理サケ精子DNA(50μg/ml)、0.1%SDS、及び10%のデキストラン硫酸と、42における0.2×SSC(塩化ナトリウム/クエン酸ナトリウム)中の洗浄及び55での50%ホルムアミド、次いで55におけるEDTAを含む0.1×SSCからなる高緊縮性洗浄を用いるものによって同定される。

「中程度の緊縮性条件」は、Sambrookら、Molecular Cloning: A Laboratory Manual (New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989に記載されているように同定され、上記の緊縮性より低い洗浄溶液及びハイブリダイゼーション条件(例えば、温度、イオン強度及び%SDS)の使用を含む。中程度の緊縮性条件は、20%ホルムアミド、5×SSC(150mMのNaCl、15mMのクエン酸三ナトリウム)、50mMリン酸ナトリウム(pH7.6)、5×デンハード液、10%デキストラン硫酸、及び20mg/mLの変性剪断サケ精子DNAを含む溶液中の37での終夜インキュベーション、次いで1×SSC中37-50でのフィルターの洗浄といった条件である。当業者であれば、プローブ長などの因子に適合させる必要に応じて、どのようにして温度、イオン強度等を調節するかを認識するであろう。

【0150】

「エピトープタグ」なる用語は、ここで用いられるときは、「タグポリペプチド」に融合したPROポリペプチド、又はそれらのドメイン配列を含んでなるキメラポリペプチドを指す。タグポリペプチドは、その抗体が産生され得るエピトープ、又は幾つかの他の試薬によって同定できるエピトープを提供するに十分な数の残基を有しているが、その長さは対象とするPROポリペプチドの活性を阻害しないよう十分に短い。また、タグポリペプチドは、好ましくは、抗体が他のエピトープと実質的に交差反応をしないようかなり独特である。適切なタグポリペプチドは、一般に、少なくとも6のアミノ酸残基、通常は約8～約50のアミノ酸残基(好ましくは約10～約20の残基)を有する。

ここで用いられる「イムノアドヘシン」なる用語は、異種タンパク質(「アドヘシン」)の結合特異性と免疫グロブリン定常ドメインとを結合した抗体様分子を指す。構造的には、イムノアドヘシンは、所望の結合特異性を持ち、抗体の抗原認識及び結合部位以外である(即ち「異種の」)アミノ酸配列と、免疫グロブリン定常ドメイン配列との融合物を含む。イムノアドヘシン分子のアドヘシン部分は、典型的には少なくともレセプター又はリガンドの結合部位を含む隣接アミノ酸配列である。イムノアドヘシンの免疫グロブリン定常ドメイン配列は、IgG-1、IgG-2、IgG-3又はIgG-4サブタイプ、IgA(IgA-1及びIgA-2を含む)、IgE、IgD又はIgMなどの任意の免疫グロブリンから得ることができる。

ここで意図している「活性な」及び「活性」とは、天然又は天然発生PROポリペプチドの生物学的及び/又は免疫学的活性を保持するPROの形態を意味し、「生物学的」活性とは、天然又は天然発生PROによって生ずる(阻害性又は刺激性の)生物学的機能であって、天然又は天然発生PROが有する抗原性エピトープに対して抗体を生成する能力を除くものを意味し、「免疫学的」活性とは、天然又は天然発生PROが有する抗原性エピトープに対して抗体を生成する能力を意味する。

「アンタゴニスト」なる用語は最も広い意味で用いられ、ここに開示した天然PROポリペプチドの生物学的活性を阻止、阻害、又は中和する任意の分子を指す。同様に「アゴニスト」なる用語は最も広い意味で用いられ、ここに開示した天然PROポリペプチドの生物学的活性を模倣する任意の分子を指す。好適なアゴニスト又はアンタゴニスト分子は特に、アゴニスト又はアンタゴニスト抗体又は抗体断片、天然PROポリペプチドの断片又はアミノ酸配列変異体、ペプチド、有機小分子、などを含む。PROポリペプチドのアゴニスト又はアンタゴニストの同定方法は、PROポリペプチドを候補アンタゴニスト又はアゴニストと接触させ、PROポリペプチドに通常付随する一又は複数の生物学的活性の変化を測定することを含む。

【0151】

ここで使用される「治療」とは、治癒的処置、予防的療法及び防止的療法の両方を意味し、患者は標的とする病理学的状態又はしっかんを防止又は低下(減少)させられる。治療

10

20

30

40

50

が必要なものと、既に疾患に罹っているもの、並びに疾患に罹りやすいもの又は疾患が防止されているものを含む。

「慢性」投与とは、急性様式とは異なり連続的な様式での薬剤を投与し、初期の治療効果（活性）を長時間に渡って維持することを意味する。「間欠」投与とは、中断無く連続的になされるのではなく、むしろ本質的に周期的になされる処理である。

治療の対象のための「哺乳動物」は、ヒト、家庭及び農業用動物、動物園、スポーツ、又はペット動物、例えばイヌ、ネコ、ウシ、ウマ、ヒツジ、ブタ、ウサギなどを含む哺乳類に分類される任意の動物を意味する。好ましくは、哺乳動物はヒトである。

一又は複数の治療薬と「組み合わせた」投与とは、同時（同時期）及び任意の順序での連続した投与を含む。

ここで用いられる「担体」は、製薬的に許容されうる担体、賦形剤、又は安定化剤を含み、用いられる用量及び濃度でそれらに暴露される細胞又は哺乳動物に対して非毒性である。生理学的に許容されうる担体は、水性pH緩衝溶液であることが多い。生理学的に許容されうる担体の例は、リン酸塩、クエン酸塩、及び他の有機酸塩のバッファー；アスコルビン酸を含む酸化防止剤；低分子量（約10残基未満）ポリペプチド；タンパク質、例えば血清アルブミン、ゼラチン、又は免疫グロブリン；疎水性ポリマー、例えばポリビニルピロリドン；アミノ酸、例えばグリシン、グルタミン、アスパラギン、アルギニン又はリシン；グルコース、マンノース又はデキストランを含む単糖類、二糖類、及び他の炭水化物；EDTA等のキレート剤；マンニトール又は祖ルビトール等の糖アルコール；ナトリウム等の塩形成対イオン；及び/又は非イオン性界面活性剤、例えばTWEEN(商品名)、ポリエチレングリコール(PEG)、及びPLURONICS(商品名)を含む。

【0152】

「抗体断片」は、無傷の抗体の一部、好ましくは無傷の抗体の抗原結合又は可変領域を含む。抗体断片の例は、Fab、Fab'、 $F(ab')_2$ 、及びFv断片；ダイアボディ(disbodies)；直鎖状抗体(Zapataら, Protein Eng. 8(10): 1057-1062 [1995])；一本鎖抗体分子；及び抗体断片から形成された多重特異性抗体を含む。

抗体のパパイン消化は、「Fab」断片と呼ばれる2つの同一の抗体結合断片を生成し、その各々は単一の抗原結合部位を持ち、残りは容易に結晶化する能力を反映して「Fc」断片と命名される。ペプシン処理は $F(ab')_2$ 断片を生じ、それは2つの抗原結合部位を持ち、抗原を交差結合することができる。

「Fv」は、完全な抗原認識及び結合部位を含む最小の抗体断片である。この領域は、密接に非共有結合した1本の重鎖と1本の軽鎖の可変領域の二量体からなる。この配置において各ドメインの3つのCDRが相互作用して V_H - V_L に量体の表面に抗原結合部位を決定する。正しくは、6つのCDRsが抗体にたいする抗原結合特異性を持つ。しかしながら、単一の可変ドメイン（又は抗原に特異的な3つのCDRのみを含んでなるFvの半分）でさえ、結合部位全体よりは低い親和性であるが、抗原を認識し結合する能力を持つ。

またFab断片は、軽鎖の定常ドメイン及び重鎖の第1の定常ドメイン(CH1)も含む。Fab断片は、抗体ヒンジ領域からの一又は複数のシステインを含む重鎖CH1ドメインのカルボキシ末端に幾つかの残基が付加されていることによりFab断片と相違する。ここで、Fab'-SHは、定常ドメインのシステイン残基が遊離のチオール基を持つFab'を表す。 $F(ab')_2$ 抗体断片は、最初はFab'断片の対として生成され、それらの間にヒンジシステインを有する。抗体断片の他の化学的結合も知られている。

任意の脊椎動物種からの抗体（免疫グロブリン）の「軽鎖」は、それらの定常ドメインのアミノ酸配列に基づいて、カッパ及びラムダと呼ばれる二つの明らかに異なる型の一方に分類される。

それらの重鎖の定常ドメインのアミノ酸配列に依存して、免疫グロブリンは異なるクラスに分類できる。免疫グロブリンの五つの主要なクラス：IgA、IgD、IgE、IgG及びIgMがあり、それらの幾つかは更にサブクラス（アイソタイプ）、例えばIgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA及びIgA2に分類される。

【0153】

「一本鎖Fv」又は「sFv」抗体断片は、抗体の V_H 及び V_L ドメインを含む抗体断片を含み、これらのドメインは単一のポリペプチド鎖に存在する。好ましくは、Fvポリペプチドは V_H 及び V_L ドメイン間にポリペプチドリinkerを更に含み、それはsFvが抗原結合に望まれる構造を形成するのを可能にする。scFvの概説については、The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenberg及びMoore編, Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994)のPluckthunを参照のこと。

用語「ダイアボディ(diabodies)」は、二つの抗原結合部位を持つ小型の抗体断片を指し、その断片は同じポリペプチド鎖(V_H - V_L)内で軽鎖可変ドメイン(V_L)に結合した重鎖可変ドメイン(V_H)を含む。同じ鎖の二つのドメイン間に対形成するには短すぎるリンカーを用いることにより、ドメインは強制的に他の鎖の相補的ドメインと対形成して二つの抗原結合部位を生成する。ダイアボディは、例えば、EP 404,097; WO 93/11161; 及びHollingerら, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90: 6444-6448 (1993)により十分に記載されている。

10

「単離された」抗体は、その自然環境の成分から同定され分離及び/又は回収されたものである。その自然環境の汚染成分とは、その抗体の診断又は治療への使用を妨害する物質であり、酵素、ホルモン、及び他のタンパク質様又は非タンパク質様溶質が含まれる。好ましい実施態様において、抗体は、(1)ローリ法(Lowry method)で測定した場合95%を超える抗体、最も好ましくは99重量%を超えるまで、(2)スピニングカップシェークエネーターを使用することにより、少なくとも15残基のN末端あるいは内部アミノ酸配列を得るのに十分なほど、あるいは、(3)クーマシーブルーあるいは好ましくは銀染色を用いた非還元あるいは還元条件下でのSDS-PAGEによる均一性まで精製される。単離された抗体には、抗体の自然環境の少なくとも1つの成分が存在しないため、組換え細胞内のインサイツの抗体が含まれる。しかしながら、通常は、単離された抗体は少なくとも1つの精製プロセスにより調製される。

20

【0154】

「標識」なる語は、ここで用いられる場合、抗体に直接又は間接的に抱合して「標識」抗体を生成する検出可能な化合物又は組成物を意味する。標識は、それ自身検出可能でもよく(例えば、放射性標識又は蛍光標識)、又は酵素標識の場合、検出可能な基質化合物又は組成物の化学変換を触媒してもよい。

「固相」とは、本発明の抗体がそれに付着することのできる非水性マトリクスを意味する。ここに意図する固相の例は、部分的又は全体的に、ガラス(例えば、孔制御ガラス)、多糖類(例えばアガロース)、ポリアクリルアミド、ポリスチレン、ポリビニルアルコール及びシリコンから形成されたものを含む。或る種の実施態様では、内容に応じて、固相はアッセイプレートのウェルを構成することができ; その他では精製カラム(例えばアフィニティークロマトグラフィーカラム)とすることもできる。また、この用語は、米国特許第4,275,149号に記載されたような、別個の粒子の不連続な固相も包含する。

30

「リポソーム」は、種々の型の脂質、リン脂質及び/又は界面活性剤からなる小型の小胞であり、哺乳動物への薬物(PROポリペプチド又はその抗体など)の輸送に有用である。リポソームの成分は、通常は生体膜の脂質配列に類似する二層形式に配列させる。

「小分子」とは、ここで、約500ダルトン未満の分子量を持つと定義される。

40

【0155】

表1

```

/*
 *
 * C-C increased from 12 to 15
 * Z is average of EQ
 * B is average of ND
 * match with stop is _M; stop-stop = 0; J (joker) match = 0
 */
#define _M      -8      /* value of a match with a stop */

int      _day[26][26] = {
/*   A B C D E F G H I J K L M N O P Q R S T U V W X Y Z */
/* A */      { 2, 0, -2, 0, 0, -4, 1, -1, -1, 0, -1, -2, -1, 0, _M, 1, 0, -2, 1, 1, 0, 0, -6, 0, -3, 0},
/* B */      { 0, 3, -4, 3, 2, -5, 0, 1, -2, 0, 0, -3, -2, 2, _M, -1, 1, 0, 0, 0, 0, -2, -5, 0, -3, 1},
/* C */      {-2, -4, 15, -5, -5, -4, -3, -3, -2, 0, -5, -6, -5, -4, _M, -3, -5, -4, 0, -2, 0, -2, -8, 0, 0, -5},
/* D */      { 0, 3, -5, 4, 3, -6, 1, 1, -2, 0, 0, -4, -3, 2, _M, -1, 2, -1, 0, 0, 0, -2, -7, 0, -4, 2},
/* E */      { 0, 2, -5, 3, 4, -5, 0, 1, -2, 0, 0, -3, -2, 1, _M, -1, 2, -1, 0, 0, 0, -2, -7, 0, -4, 3},
/* F */      {-4, -5, -4, -6, -5, 9, -5, -2, 1, 0, -5, 2, 0, -4, _M, -5, -5, -4, -3, -3, 0, -1, 0, 0, 7, -5},
/* G */      { 1, 0, -3, 1, 0, -5, 5, -2, -3, 0, -2, -4, -3, 0, _M, -1, -1, -3, 1, 0, 0, -1, -7, 0, -5, 0},
/* H */      {-1, 1, -3, 1, 1, -2, -2, 6, -2, 0, 0, -2, -2, 2, _M, 0, 3, 2, -1, -1, 0, -2, -3, 0, 0, 2},
/* I */      {-1, -2, -2, -2, 1, -3, -2, 5, 0, -2, 2, 2, -2, _M, -2, -2, -2, -1, 0, 0, 4, -5, 0, -1, -2},
/* J */      { 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0},
/* K */      {-1, 0, -5, 0, 0, -5, -2, 0, -2, 0, 5, -3, 0, 1, _M, -1, 1, 3, 0, 0, 0, -2, -3, 0, -4, 0},
/* L */      {-2, -3, -6, -4, -3, 2, -4, -2, 2, 0, -3, 6, 4, -3, _M, -3, -2, -3, -3, -1, 0, 2, -2, 0, -1, -2},
/* M */      {-1, -2, -5, -3, -2, 0, -3, -2, 2, 0, 0, 4, 6, -2, _M, -2, -1, 0, -2, -1, 0, 2, -4, 0, -2, -1},
/* N */      { 0, 2, -4, 2, 1, -4, 0, 2, -2, 0, 1, -3, -2, 2, _M, -1, 1, 0, 1, 0, 0, -2, -4, 0, -2, 1},
/* O */      {_M, _M, _M, _M, _M, _M, _M, _M, _M, _M, _M, _M, _M, _M, 0, _M, _M, _M, _M, _M, _M, _M, _M, _M, _M},
/* P */      { 1, -1, -3, -1, -1, -5, -1, 0, -2, 0, -1, -3, -2, -1, _M, 6, 0, 0, 1, 0, 0, -1, -6, 0, -5, 0},
/* Q */      { 0, 1, -5, 2, 2, -5, -1, 3, -2, 0, 1, -2, -1, 1, _M, 0, 4, 1, -1, -1, 0, -2, -5, 0, -4, 3},
/* R */      {-2, 0, -4, -1, -1, -4, -3, 2, -2, 0, 3, -3, 0, 0, _M, 0, 1, 6, 0, -1, 0, -2, 2, 0, -4, 0},
/* S */      { 1, 0, 0, 0, 0, -3, 1, -1, -1, 0, 0, -3, -2, 1, _M, 1, -1, 0, 2, 1, 0, -1, -2, 0, -3, 0},
/* T */      { 1, 0, -2, 0, 0, -3, 0, -1, 0, 0, 0, -1, -1, 0, _M, 0, -1, -1, 1, 3, 0, 0, -5, 0, -3, 0},
/* U */      { 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0},
/* V */      { 0, -2, -2, -2, -2, -1, -1, -2, 4, 0, -2, 2, 2, -2, _M, -1, -2, -2, -1, 0, 0, 4, -6, 0, -2, -2},
/* W */      {-6, -5, -8, -7, -7, 0, -7, -3, -5, 0, -3, -2, -4, -4, _M, -6, -5, 2, -2, -5, 0, -6, 17, 0, 0, -6},
/* X */      { 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0},
/* Y */      {-3, -3, 0, -4, -4, 7, -5, 0, -1, 0, -4, -1, -2, -2, _M, -5, -4, -4, -3, -3, 0, -2, 0, 0, 10, -4},
/* Z */      { 0, 1, -5, 2, 3, -5, 0, 2, -2, 0, 0, -2, -1, 1, _M, 0, 3, 0, 0, 0, 0, -2, -6, 0, -4, 4}
};

```

10

20

表1(続き)

```

/*
*/
#include <stdio.h>
#include <ctype.h>

#define MAXJMP      16      /* max jumps in a diag */
#define MAXGAP      24      /* don't continue to penalize gaps larger than this */
#define JMPS        1024    /* max jmps in an path */
#define MX          4       /* save if there's at least MX-1 bases since last jmp */

#define DMAT         3      /* value of matching bases */
#define DMIS         0      /* penalty for mismatched bases */
#define DINS0        8      /* penalty for a gap */
#define DINS1        1      /* penalty per base */
#define PINS0        8      /* penalty for a gap */
#define PINS1        4      /* penalty per residue */

struct jmp {
    short          n[MAXJMP]; /* size of jmp (neg for dely) */
    unsigned short x[MAXJMP]; /* base no. of jmp in seq x */
}; /* limits seq to 2^16 -1 */

struct diag {
    int            score;      /* score at last jmp */
    long           offset;     /* offset of prev block */
    short          jmp;        /* current jmp index */
    struct jmp     jp;         /* list of jmps */
};

struct path {
    int            spc;        /* number of leading spaces */
    short          n[JMPS];    /* size of jmp (gap) */
    int            x[JMPS];    /* loc of jmp (last elem before gap) */
};

char              *ofile;      /* output file name */
char              *namex[2];   /* seq names: getseqs() */
char              *prog;       /* prog name for err msgs */
char              *seqx[2];    /* seqs: getseqs() */
int               dmax;        /* best diag: nw() */
int               dmax0;       /* final diag */
int               dna;         /* set if dna: main() */
int               endgaps;     /* set if penalizing cnd gaps */
int               gapx, gapy;   /* total gaps in seqs */
int               len0, len1;   /* seq lens */
int               ngapx, ngapy; /* total size of gaps */
int               smax;        /* max score: nw() */
int               *xbm;        /* bitmap for matching */
long              offset;      /* current offset in jmp file */
struct diag       *dx;         /* holds diagonals */
struct path       pp[2];       /* holds path for seqs */

char              *calloc(), *malloc(), *index(), *strcpy();
char              *getseq(), *g_calloc();

```

表1(続き)

```

/* Needleman-Wunsch alignment program
*
* usage: progs file1 file2
* where file1 and file2 are two dna or two protein sequences.
* The sequences can be in upper- or lower-case and may contain ambiguity
* Any lines beginning with ';', '>' or '<' are ignored
* Max file length is 65535 (limited by unsigned short x in the jmp struct)
* A sequence with 1/3 or more of its elements ACGTU is assumed to be DNA
* Output is in the file "align.out"
*
* The program may create a tmp file in /tmp to hold info about traceback.
* Original version developed under BSD 4.3 on a vax 8650
*/
#include "nw.h"
#include "day.h"

static _dbval[26] = {
    1,14,2,13,0,0,4,11,0,0,12,0,3,15,0,0,0,5,6,8,8,7,9,0,10,0
};

static _pbval[26] = {
    1, 2|(1<<('D'-'A'))|(1<<('N'-'A')), 4, 8, 16, 32, 64,
    128, 256, 0xFFFFFFFF, 1<<10, 1<<11, 1<<12, 1<<13, 1<<14,
    1<<15, 1<<16, 1<<17, 1<<18, 1<<19, 1<<20, 1<<21, 1<<22,
    1<<23, 1<<24, 1<<25|(1<<('E'-'A'))|(1<<('Q'-'A'))
};

main(ac, av)
int ac;
char *av[];
{
    prog = av[0];
    if (ac != 3) {
        fprintf(stderr, "usage: %s file1 file2\n", prog);
        fprintf(stderr, "where file1 and file2 are two dna or two protein sequences.\n");
        fprintf(stderr, "The sequences can be in upper- or lower-case\n");
        fprintf(stderr, "Any lines beginning with ';' or '<' are ignored\n");
        fprintf(stderr, "Output is in the file \"align.out\"\n");
        exit(1);
    }
    namex[0] = av[1];
    namex[1] = av[2];
    seqx[0] = getseq(namex[0], &len0);
    seqx[1] = getseq(namex[1], &len1);
    xbm = (dna)? _dbval : _pbval;

    endgaps = 0; /* 1 to penalize endgaps */
    ofile = "align.out"; /* output file */

    nw(); /* fill in the matrix, get the possible jmps */
    readjmps(); /* get the actual jmps */
    print(); /* print stats, alignment */

    cleanup(0); /* unlink any tmp files */
}

```

10

20

main

30

40

表1(続き)

```

/* do the alignment, return best score: main()
 * dna: values in Fitch and Smith, PNAS, 80, 1382-1386, 1983
 * pro: PAM 250 values
 * When scores are equal, we prefer mismatches to any gap, prefer
 * a new gap to extending an ongoing gap, and prefer a gap in seqx
 * to a gap in seq y.
 */
nw()
{
    char      *px, *py;          /* seqs and ptrs */
    int        ndely, *dely;      /* keep track of dely */
    int        ndelx, delx;       /* keep track of delx */
    int        *tmp;             /* for swapping row0, row1 */
    int        mis;              /* score for each type */
    int        ins0, ins1;        /* insertion penalties */
    register   id;               /* diagonal index */
    register   ij;               /* jmp index */
    register   *col0, *col1;      /* score for curr, last row */
    register   xx, yy;           /* index into seqs */

    dx = (struct diag *)g_calloc("to get diags", len0+len1+1, sizeof(struct diag));

    ndely = (int *)g_calloc("to get ndely", len1+1, sizeof(int));
    dely = (int *)g_calloc("to get dely", len1+1, sizeof(int));
    col0 = (int *)g_calloc("to get col0", len1+1, sizeof(int));
    col1 = (int *)g_calloc("to get col1", len1+1, sizeof(int));
    ins0 = (dna)? DINS0 : PINS0;
    ins1 = (dna)? DINS1 : PINS1;

    smax = -10000;
    if (endgaps) {
        for (col0[0] = dely[0] = -ins0, yy = 1; yy <= len1; yy++) {
            col0[yy] = dely[yy] = col0[yy-1] - ins1;
            ndely[yy] = yy;
        }
        col0[0] = 0;          /* Waterman Bull Math Biol 84 */
    }
    else
        for (yy = 1; yy <= len1; yy++)
            dely[yy] = -ins0;

    /* fill in match matrix
     */
    for (px = seqx[0], xx = 1; xx <= len0; px++, xx++) {
        /* initialize first entry in col
         */
        if (endgaps) {
            if (xx == 1)
                col1[0] = delx = -(ins0+ins1);
            else
                col1[0] = delx = col0[0] - ins1;
            ndelx = xx;
        }
        else {
            col1[0] = 0;
            delx = -ins0;
            ndelx = 0;
        }
    }
}

```

表 1 (続き)

...nw

```

for (py = seqx[1], yy = 1; yy <= len1; py++, yy++) {
    mis = col0[yy-1];
    if (dna)
        mis += (xbm[*px-'A']&xbm[*py-'A'])? DMAT : DMIS;
    else
        mis += _day[*px-'A'][*py-'A'];

    /* update penalty for del in x seq;
     * favor new del over ongoing del
     * ignore MAXGAP if weighting endgaps
     */
    if (endgaps || ndely[yy] < MAXGAP) {
        if (col0[yy] - ins0 >= dely[yy]) {
            dely[yy] = col0[yy] - (ins0+ins1);
            ndely[yy] = 1;
        } else {
            dely[yy] -= ins1;
            ndely[yy]++;
        }
    } else {
        if (col0[yy] - (ins0+ins1) >= dely[yy]) {
            dely[yy] = col0[yy] - (ins0+ins1);
            ndely[yy] = 1;
        } else
            ndely[yy]++;
    }

    /* update penalty for del in y seq;
     * favor new del over ongoing del
     */
    if (endgaps || ndelx < MAXGAP) {
        if (col1[yy-1] - ins0 >= delx) {
            delx = col1[yy-1] - (ins0+ins1);
            ndelx = 1;
        } else {
            delx -= ins1;
            ndelx++;
        }
    } else {
        if (col1[yy-1] - (ins0+ins1) >= delx) {
            delx = col1[yy-1] - (ins0+ins1);
            ndelx = 1;
        } else
            ndelx++;
    }

    /* pick the maximum score; we're favoring
     * mis over any del and delx over dely
     */

```

10

20

30

表1(続き)

```

...nw
id = xx - yy + len1 - 1;
if (mis >= delx && mis >= dely[yy])
    coll[yy] = mis;
else if (delx >= dely[yy]) {
    coll[yy] = delx;
    ij = dx[id].ijmp;
    if (dx[id].jp.n[0] && (!dna || (ndelx >= MAXJMP
    && xx > dx[id].jp.x[ij]+MX) || mis > dx[id].score+DINSO)) {
        dx[id].ijmp++;
        if (++ij >= MAXJMP) {
            writejumps(id);
            ij = dx[id].ijmp = 0;
            dx[id].offset = offset;
            offset += sizeof(struct jmp) + sizeof(offset);
        }
        dx[id].jp.n[ij] = ndelx;
        dx[id].jp.x[ij] = xx;
        dx[id].score = delx;
    }
    else {
        coll[yy] = dely[yy];
        ij = dx[id].ijmp;
        if (dx[id].jp.n[0] && (!dna || (ndely[yy] >= MAXJMP
        && xx > dx[id].jp.x[ij]+MX) || mis > dx[id].score+DINSO)) {
            dx[id].ijmp++;
            if (++ij >= MAXJMP) {
                writejumps(id);
                ij = dx[id].ijmp = 0;
                dx[id].offset = offset;
                offset += sizeof(struct jmp) + sizeof(offset);
            }
            dx[id].jp.n[ij] = -ndely[yy];
            dx[id].jp.x[ij] = xx;
            dx[id].score = dely[yy];
        }
        if (xx == len0 && yy < len1) {
            /* last col
            */
            if (endgaps)
                coll[yy] -= ins0+ins1*(len1-yy);
            if (coll[yy] > smax) {
                smax = coll[yy];
                dmax = id;
            }
        }
    }
    if (endgaps && xx < len0)
        coll[yy-1] -= ins0+ins1*(len0-xx);
    if (coll[yy-1] > smax) {
        smax = coll[yy-1];
        dmax = id;
    }
    tmp = col0; col0 = coll; coll = tmp;
}
(void) free((char *)ndely);
(void) free((char *)dely);
(void) free((char *)col0);
(void) free((char *)coll);
}

```

表1(続き)

```

/*
 *
 * print() -- only routine visible outside this module
 *
 * static:
 * getmat() -- trace back best path, count matches: print()
 * pr_align() -- print alignment of described in array p[]: print()
 * dumpblock() -- dump a block of lines with numbers, stars: pr_align()
 * nums() -- put out a number line: dumpblock()
 * putline() -- put out a line (name, [num], seq, [num]): dumpblock()
 * stars() -- put a line of stars: dumpblock()
 * stripname() -- strip any path and prefix from a seqname
 */
10

#include "nw.h"

#define SPC 3
#define P_LINE 256 /* maximum output line */
#define P_SPC 3 /* space between name or num and seq */

extern _day[26][26];
int olen; /* set output line length */
FILE *fx; /* output file */

print() print
{
    int lx, ly, firstgap, lastgap; /* overlap */
    20

    if ((fx = fopen(ofile, "w")) == 0) {
        fprintf(stderr, "%s: can't write %s\n", prog, ofile);
        cleanup(1);
    }
    fprintf(fx, "<first sequence: %s (length = %d)\n", namex[0], len0);
    fprintf(fx, "<second sequence: %s (length = %d)\n", namex[1], len1);
    olen = 60;
    lx = len0;
    ly = len1;
    firstgap = lastgap = 0;
    if (dmax < len1 - 1) { /* leading gap in x */
        pp[0].spc = firstgap = len1 - dmax - 1;
        ly -= pp[0].spc;
    }
    30
    else if (dmax > len1 - 1) { /* leading gap in y */
        pp[1].spc = firstgap = dmax - (len1 - 1);
        lx -= pp[1].spc;
    }
    if (dmax0 < len0 - 1) { /* trailing gap in x */
        lastgap = len0 - dmax0 - 1;
        lx -= lastgap;
    }
    else if (dmax0 > len0 - 1) { /* trailing gap in y */
        lastgap = dmax0 - (len0 - 1);
        ly -= lastgap;
    }
    getmat(lx, ly, firstgap, lastgap);
    pr_align();
    40
}

```

表1(続き)

```

/*
 * trace back the best path, count matches
 */
static
getmat(lx, ly, firstgap, lastgap)
    int    lx, ly;          /* "core" (minus endgaps) */
    int    firstgap, lastgap; /* leading trailing overlap */
{
    int      nm, i0, i1, siz0, siz1;
    char     outx[32];
    double   pct;
    register n0, n1;
    register char *p0, *p1;

    /* get total matches, score
     */
    i0 = i1 = siz0 = siz1 = 0;
    p0 = seqx[0] + pp[1].spc;
    p1 = seqx[1] + pp[0].spc;
    n0 = pp[1].spc + 1;
    n1 = pp[0].spc + 1;

    nm = 0;
    while ( *p0 && *p1 ) {
        if (siz0) {
            p1++;
            n1++;
            siz0--;
        }
        else if (siz1) {
            p0++;
            n0++;
            siz1--;
        }
        else {
            if (xbm[*p0-'A'] & xbm[*p1-'A'])
                nm++;
            if (n0++ == pp[0].x[i0])
                siz0 = pp[0].n[i0++];
            if (n1++ == pp[1].x[i1])
                siz1 = pp[1].n[i1++];
            p0++;
            p1++;
        }
    }

    /* pct homology:
     * if penalizing endgaps, base is the shorter seq
     * else, knock off overhangs and take shorter core
     */
    if (endgaps)
        lx = (len0 < len1)? len0 : len1;
    else
        lx = (lx < ly)? lx : ly;
    pct = 100. * (double)nm / (double)lx;
    fprintf(fx, "\n");
    fprintf(fx, "< %d match%s in an overlap of %d: %.2f percent similarity\n",
        nm, (nm == 1)? "" : "es", lx, pct);

```

getmat

10

20

30

40

表1(続き)

```

fprintf(fx, "< gaps in first sequence: %d", gapx);
if (gapx) {
    (void) sprintf(outr, "(%d %s%s)",
        gapx, (dna)? "base":"residue", (ngapx == 1)? "" : "s");
    fprintf(fx, "%s", outr);

    fprintf(fx, ", gaps in second sequence: %d", gapy);
    if (gapy) {
        (void) sprintf(outr, "(%d %s%s)",
            gapy, (dna)? "base":"residue", (ngapy == 1)? "" : "s");
        fprintf(fx, "%s", outr);
    }
    if (dna)
        fprintf(fx,
            "\n< score: %d (match = %d, mismatch = %d, gap penalty = %d + %d per base)\n",
            smax, DMAT, DMIS, DINS0, DINS1);
    else
        fprintf(fx,
            "\n< score: %d (Dayhoff PAM 250 matrix, gap penalty = %d + %d per residue)\n",
            smax, PINS0, PINS1);
    if (endgaps)
        fprintf(fx,
            "< endgaps penalized. left endgap: %d %s%s, right endgap: %d %s%s\n",
            firstgap, (dna)? "base" : "residue", (firstgap == 1)? "" : "s",
            lastgap, (dna)? "base" : "residue", (lastgap == 1)? "" : "s");
    else
        fprintf(fx, "< endgaps not penalized\n");
}

static      nm;          /* matches in core -- for checking */
static      lmax;        /* lengths of stripped file names */
static      ij[2];       /* jmp index for a path */
static      nc[2];       /* number at start of current line */
static      ni[2];       /* current elem number -- for gapping */
static      siz[2];
static char *ps[2];      /* ptr to current element */
static char *po[2];      /* ptr to next output char slot */
static char out[2][P_LINE]; /* output line */
static char star[P_LINE]; /* set by stars() */

/*
 * print alignment of described in struct path pp[]
 */
static
pr_align()
{
    int      nn;          /* char count */
    int      more;
    register i;

    for (i = 0, lmax = 0; i < 2; i++) {
        nn = stripname(name[i]);
        if (nn > lmax)
            lmax = nn;

        nc[i] = 1;
        ni[i] = 1;
        siz[i] = ij[i] = 0;
        ps[i] = seqx[i];
        po[i] = out[i];
    }
}

```

...getmat

10

20

30

pr_align

40

表 1 (続き)

```

for (nn = nm = 0, more = 1; more;) {
    for (i = more = 0; i < 2; i++) {
        /*
         * do we have more of this sequence?
         */
        if (!*ps[i])
            continue;

        more++;

        if (pp[i].spc) { /* leading space */
            *po[i]++ = ' ';
            pp[i].spc--;
        }
        else if (siz[i]) { /* in a gap */
            *po[i]++ = '-';
            siz[i]--;
        }
        else { /* we're putting a seq element
            */
            *po[i] = *ps[i];
            if (islower(*ps[i]))
                *ps[i] = toupper(*ps[i]);
            po[i]++;
            ps[i]++;

            /*
             * are we at next gap for this seq?
             */
            if (ni[i] == pp[i].x[ij[i]]) {
                /*
                 * we need to merge all gaps
                 * at this location
                 */
                siz[i] = pp[i].n[ij[i]++];
                while (ni[i] == pp[i].x[ij[i]])
                    siz[i] += pp[i].n[ij[i]++];
            }
            ni[i]++;
        }
    }
    if (++nn == olen || !more && nm) {
        dumpblock();
        for (i = 0; i < 2; i++)
            po[i] = out[i];
        nm = 0;
    }
}

/*
 * dump a block of lines, including numbers, stars: pr_align()
 */
static
dumpblock()
{
    register i;

    for (i = 0; i < 2; i++)
        *po[i]-- = '\0';
}

```

...pr_align

10

20

30

dumpblock

40

表 1 (続き)

...dumpblock

```

(void) putc('\n', fx);
for (i = 0; i < 2; i++) {
    if (*out[i] && (*out[j] != ' ' || *(po[i]) != ' ')) {
        if (i == 0)
            nums(i);
        if (i == 0 && *out[1])
            stars();
        putline(i);
        if (i == 0 && *out[1])
            fprintf(fx, star);
        if (i == 1)
            nums(i);
    }
}
}

```

10

```

/*
 * put out a number line: dumpblock()
 */

```

static

nums(ix)

nums

```

{
    int ix; /* index in out[] holding seq line */

    char nline[P_LINE];
    register i, j;
    register char *pn, *px, *py;

    for (pn = nline, i = 0; i < lmax + P_SPC; i++, pn++)
        *pn = ' ';
    for (i = nc[ix], py = out[ix]; *py; py++, pn++) {
        if (*py == ' ' || *py == '-')
            *pn = ' ';
        else {
            if (i%10 == 0 || (i == 1 && nc[ix] != 1)) {
                j = (i < 0)? -i : i;
                for (px = pn; j /= 10, px--)
                    *px = j%10 + '0';
                if (i < 0)
                    *px = '-';
            }
            else
                *pn = ' ';
            i++;
        }
    }
    *pn = '\0';
    nc[ix] = i;
    for (pn = nline; *pn; pn++)
        (void) putc(*pn, fx);
    (void) putc('\n', fx);
}

```

20

30

```

/*
 * put out a line (name, [num], seq, [num]): dumpblock()
 */

```

static

putline(ix)

putline

```

{
    int ix;

```

40

表1(続き)

```

int          i;
register char *px;

for (px = namex[ix], i = 0; *px && *px != ':'; px++, i++)
    (void) putc(*px, fx);
for (; i < lmax+P_SPC; i++)
    (void) putc(' ', fx);

/* these count from 1:
 * nil[] is current element (from 1)
 * nc[] is number at start of current line
 */
for (px = out[ix]; *px; px++)
    (void) putc(*px&0x7F, fx);
(void) putc('\n', fx);
}

/*
 * put a line of stars (seqs always in out[0], out[1]): dumpblock()
 */
static
stars()
{
    int          i;
    register char *p0, *p1, cx, *px;

    if (!*out[0] || (*out[0] == ' ' && *(p0[0]) == ' ') ||
        !*out[1] || (*out[1] == ' ' && *(p0[1]) == ' '))
        return;
    px = star;
    for (i = lmax+P_SPC; i; i--)
        *px++ = ' ';

    for (p0 = out[0], p1 = out[1]; *p0 && *p1; p0++, p1++) {
        if (isalpha(*p0) && isalpha(*p1)) {
            if (xbm[*p0-'A']&xbm[*p1-'A']) {
                cx = '*';
                nm++;
            }
            else if (!dna && _day[*p0-'A'][*p1-'A'] > 0)
                cx = '.';
            else
                cx = ' ';
        }
        else
            cx = ' ';
        *px++ = cx;
    }
    *px++ = '\n';
    *px = '\0';
}

```

...putline

10

stars

20

30

表1(続き)

```
/*  
 * strip path or prefix from pn, return len: pr_align()  
 */  
static  
stripname(pn)  
{  
    char    *pn;    /* file name (may be path) */  
  
    register char    *px, *py;  
  
    py = 0;  
    for (px = pn; *px; px++)  
        if (*px == '/')  
            py = px + 1;  
  
    if (py)  
        (void) strcpy(pn, py);  
    return(strlen(pn));  
}
```

stripname

表 1 (続き)

```

/*
 * cleanup() -- cleanup any tmp file
 * getseq() -- read in seq, set dna, len, maxlen
 * g_calloc() -- calloc() with error checkin
 * readjumps() -- get the good jumps, from tmp file if necessary
 * writejumps() -- write a filled array of jumps to a tmp file: nw()
 */
#include "nw.h"
#include <sys/file.h>

char    *jname = "/tmp/homgXXXXXX";      /* tmp file for jumps */
FILE    *fj;

int      cleanup();                      /* cleanup tmp file */
long     lseek();

/*
 * remove any tmp file if we blow
 */
cleanup(i)
    int    i;
{
    if (fj)
        (void) unlink(jname);
    exit(i);
}

/*
 * read, return ptr to seq, set dna, len, maxlen
 * skip lines starting with ';', '<', or '>'
 * seq in upper or lower case
 */
char    *
getseq(file, len)
    char    *file;      /* file name */
    int     *len;       /* seq len */
{
    char      line[1024], *pseq;
    register char *px, *py;
    int       natgc, tlen;
    FILE      *fp;

    if ((fp = fopen(file, "r")) == 0) {
        fprintf(stderr, "%s: can't read %s\n", prog, file);
        exit(1);
    }
    tlen = natgc = 0;
    while (fgets(line, 1024, fp)) {
        if (*line == ';' || *line == '<' || *line == '>')
            continue;
        for (px = line; *px != '\n'; px++)
            if (isupper(*px) || islower(*px))
                tlen++;
    }
    if ((pseq = malloc((unsigned)(tlen+6))) == 0) {
        fprintf(stderr, "%s: malloc() failed to get %d bytes for %s\n", prog, tlen+6, file);
        exit(1);
    }
    pseq[0] = pseq[1] = pseq[2] = pseq[3] = '\0';

```

表1(続き)

```

py = pseq + 4;
*len = tlen;
rewind(fp);

while (fgets(line, 1024, fp)) {
    if (*line == ';' || *line == '<' || *line == '>')
        continue;
    for (px = line; *px != '\n'; px++) {
        if (isupper(*px))
            *py++ = *px;
        else if (islower(*px))
            *py++ = toupper(*px);
        if (index("ATGCU", *(py-1)))
            natgc++;
    }
    *py++ = '\0';
    *py = '\0';
    (void) fclose(fp);
    dna = natgc > (tlen/3);
    return(pseq+4);
}

char *
g_malloc(msg, nx, sz)
char *msg; /* program, calling routine */
int nx, sz; /* number and size of elements */
{
    char *px, *calloc();

    if ((px = calloc((unsigned)nx, (unsigned)sz)) == 0) {
        if (*msg) {
            fprintf(stderr, "%s: g_malloc() failed %s (n=%d, sz=%d)\n", prog, msg, nx, sz);
            exit(1);
        }
    }
    return(px);
}

/*
 * get final jmps from dx[] or tmp file, set pp[], reset dmax: main()
 */
readjmps()
{
    int fd = -1;
    int siz, i0, i1;
    register i, j, xx;

    if (fj) {
        (void) fclose(fj);
        if ((fd = open(jname, O_RDONLY, 0)) < 0) {
            fprintf(stderr, "%s: can't open() %s\n", prog, jname);
            cleanup(1);
        }
    }
    for (i = i0 = i1 = 0, dmax = 0, xx = len0; i++) {
        while (1) {
            for (j = dx[dmax].ijmp; j >= 0 && dx[dmax].jp.x[j] >= xx; j--)
                ;

```

...getseq

10

g_malloc

20

readjmps

30

40

表 1 (続き)

...readjumps

```

    if (j < 0 && dx[dmax].offset && fj) {
        (void) lseek(fd, dx[dmax].offset, 0);
        (void) read(fd, (char *)&dx[dmax].jp, sizeof(struct jmp));
        (void) read(fd, (char *)&dx[dmax].offset, sizeof(dx[umax].offset));
        dx[dmax].ijmp = MAXJMP-1;
    }
    else
        break;
}
if (i >= JMPS) {
    fprintf(stderr, "%s: too many gaps in alignment\n", prog);
    cleanup(1);
}
if (j >= 0) {
    siz = dx[dmax].jp.n[j];
    xx = dx[dmax].jp.x[j];
    dmax += siz;
    if (siz < 0) { /* gap in second seq */
        pp[1].n[i1] = -siz;
        xx += siz;
        /* id = xx - yy + len1 - 1
        */
        pp[1].x[i1] = xx - dmax + len1 - 1;
        gapy++;
        ngapy -= siz;
/* ignore MAXGAP when doing endgaps */
        siz = (-siz < MAXGAP || endgaps)? -siz : MAXGAP;
        i1++;
    }
    else if (siz > 0) { /* gap in first seq */
        pp[0].n[i0] = siz;
        pp[0].x[i0] = xx;
        gapx++;
        ngapx += siz;
/* ignore MAXGAP when doing endgaps */
        siz = (siz < MAXGAP || endgaps)? siz : MAXGAP;
        i0++;
    }
}
else
    break;
}

/* reverse the order of jumps
*/
for (j = 0, i0--; j < i0; j++, i0--) {
    i = pp[0].n[j]; pp[0].n[j] = pp[0].n[i0]; pp[0].n[i0] = i;
    i = pp[0].x[j]; pp[0].x[j] = pp[0].x[i0]; pp[0].x[i0] = i;
}
for (j = 0, i1--; j < i1; j++, i1--) {
    i = pp[1].n[j]; pp[1].n[j] = pp[1].n[i1]; pp[1].n[i1] = i;
    i = pp[1].x[j]; pp[1].x[j] = pp[1].x[i1]; pp[1].x[i1] = i;
}
if (fd >= 0)
    (void) close(fd);
if (fj) {
    (void) unlink(jname);
    fj = 0;
    offset = 0;
}
}

```

表1(続き)

```

/*
 * write a filled jmp struct offset of the prev one (if any): nw()
 */
writejumps(ix)
{
    int ix;
    char *mkttemp();

    if (!fj) {
        if (mkttemp(jname) < 0) {
            fprintf(stderr, "%s: can't mkttemp() %s\n", prog, jname);
            cleanup(1);
        }
        if ((fj = fopen(jname, "w")) == 0) {
            fprintf(stderr, "%s: can't write %s\n", prog, jname);
            exit(1);
        }
    }
    (void) fwrite((char *)&dx[ix].jp, sizeof(struct jmp), 1, fj);
    (void) fwrite((char *)&dx[ix].offset, sizeof(dx[ix].offset), 1, fj);
}

```

writejumps

10

【 0 1 5 6 】

表2

20

PRO	XXXXXXXXXXXXXXXXXX	(長さ = 15 アミノ酸)
比較タンパク質	XXXXXXXXYYYYYYY	(長さ = 12 アミノ酸)

% アミノ酸配列同一性 =

(ALIGN-2によって決定した二つのポリペプチド配列間で等しく一致するアミノ酸残基の数)
を(PROポリペプチドの全アミノ酸残基の数)で割る=

5 ÷ 15 = 33.3%

30

【 0 1 5 7 】

表3

PRO	XXXXXXXXXX	(長さ = 10 アミノ酸)
比較タンパク質	XXXXXXXXYYYYZZYZ	(長さ = 15 アミノ酸)

% アミノ酸配列同一性 =

40

(ALIGN-2によって決定した二つのポリペプチド配列間で等しく一致するアミノ酸残基の数)
を(PROポリペプチドの全アミノ酸残基の数)で割る=

5 ÷ 10 = 50%

【 0 1 5 8 】

表4

PRO-DNA	NNNNNNNNNNNNNN	(長さ = 14 ヌクレオチド)
比較DNA	NNNNNNLLLLLLLL	(長さ = 16 ヌクレオチド)

% 核酸配列同一性 =

(ALIGN-2によって決定した二つの核酸配列間で等しく一致するヌクレオチド残基数)を(PRO-DNA核酸配列の全ヌクレオチド数)で割る=

10

$$6 \div 14 = 42.9\%$$

【 0 1 5 9 】

表5

PRO-DNA	NNNNNNNNNNNN	(長さ = 12 ヌクレオチド)
比較DNA	NNNNLLLLVV	(長さ = 9 ヌクレオチド)

20

% 核酸配列同一性 =

(ALIGN-2によって決定した二つの核酸配列間で等しく一致するヌクレオチド残基数)を(PRO-DNA核酸配列の全ヌクレオチド数)で割る=

$$4 \div 12 = 33.3\%$$

【 0 1 6 0 】

II. 本発明の組成物と方法

30

A. 全長PROポリペプチド

本発明は、本出願でPROポリペプチドと命名されるポリペプチドをコードする新規に同定され単離された核酸配列を提供する。特に下記の実施例でさらに詳細に説明するように、種々のPROポリペプチドをコードするcDNAが同定され単離された。別々の発現ラウンドで生成されたタンパク質には異なるPRO番号が与えられるが、UNQ番号は全ての与えられたDNA及びコード化タンパク質に独特であり、変わることはないことを記しておく。しかしながら、単純化のために、本明細書において、ここに開示した全長天然核酸分子にコードされるタンパク質並びに上記のPROの定義に含まれるさらなる天然相同体及び変異体は、それらの起源又は調製形式に関わらず、「PRO/番号」で呼称する。

下記の実施例に開示するように、種々のcDNAクローンがATCCに寄託されている。これらのクローンの正確なヌクレオチド配列は、この分野で常套的な方法を用いて寄託されたクローンを配列決定することにより容易に決定することができる。予測されるアミノ酸配列は、ヌクレオチド配列から常套的技量を用いて決定できる。ここに記載したPROポリペプチド及びコード化核酸について、本出願人は、現時点で入手可能な配列情報と最も良く一致するリーディングフレームであると考えられるものを同定した。

40

【 0 1 6 1 】

1. 全長PRO1484ポリペプチド

WU-BLAST2配列アラインメントプログラムを用いて、全長天然配列PRO1484 (Fig 2 及び配列番号: 2 に示されている) が、マウス脂肪細胞補体タンパク質 (ACR3_MOUSE) の一部と或る程度のアミノ酸配列同一性を有することが見出された。従って、現在では

50

、本出願で開示される P R O 1 4 8 4 が新規に同定された脂肪細胞補体関連タンパク質相同体であり、このタンパク質の典型的な活性有を考えると考えられている。

2 . 全長 P R O 4 3 3 4 ポリペプチド

WU-BLAST2配列アラインメントプログラムを用いて、全長天然配列 P R O 4 3 3 4 (F i g 4 及び配列番号 : 9 に示されている) が、PC-1と或る程度のアミノ酸配列同一性を有することが見出された。従って、現在では、本出願で開示される P R O 4 3 3 4 が新規に同定されたPC-1ファミリーのメンバーであり、類似のメカニズムを有すると考えられている。

3 . 全長 P R O 1 1 2 2 ポリペプチド

本発明は、本出願において P R O 1 1 2 2 と称されるポリペプチドをコードする、新規に同定され単離されたヌクレオチド配列を提供する。特に、本出願人は、以下の実施例で更に詳細に開示するような、P R O 1 1 2 2 ポリペプチドをコードするcDNAを同定し単離した。BLAST及びFastA配列アラインメントコンピュータプログラムを用いて、本出願人は、全長天然配列 P R O 1 1 2 2 がCTLA-8と配列同一性を有していることを見出した。特に、アミノ酸配列は、IL-17と配列同一性を有する領域を示した。従って、現在では、本出願で開示される P R O 1 1 2 2 ポリペプチドは新規なサイトカインであり、それ故に炎症反応に關与しうると考えられている。

【 0 1 6 2 】

4 . 全長 P R O 1 8 8 9 ポリペプチド

WU-BLAST2配列アラインメントプログラムを用いて、全長天然配列 P R O 1 8 8 9 (F i g 8 及び配列番号 : 1 6 に示されている) が、ヒトE48抗原タンパク質 (HSE48ATGN_1) の一部と或る程度のアミノ酸配列同一性を有することが見出された。従って、現在では、本出願で開示される P R O 1 8 8 9 が新規に同定されたE48相同体であり、E48タンパク質の典型的な活性又は特性を有しうると考えられている。

5 . 全長 P R O 1 8 9 0 ポリペプチド

WU-BLAST2配列アラインメントプログラムを用いて、全長天然配列 P R O 1 8 9 0 (F i g 1 0 及び配列番号 : 1 8 に示されている) が、レイリントタンパク質 (layilin protein) (AF093673_1) の一部と或る程度のアミノ酸配列同一性を有することが見出された。

6 . 全長 P R O 1 8 8 7 ポリペプチド

WU-BLAST2配列アラインメントプログラムを用いて、全長天然配列 P R O 1 8 8 7 (F i g 1 2 及び配列番号 : 2 3 に示されている) が、「ESTM_MOUSE」というDayhoff databaseで同定されたマウス肝カルボキシエステラーゼ前駆体と或る程度のアミノ酸配列同一性を有することが見出された。従って、現在では、本出願で開示される P R O 1 8 8 7 が新規に同定されたカルボキシエステラーゼファミリーのメンバーであり、カルボキシエステラーゼの典型的な酵素活性を有しうると考えられている。

【 0 1 6 3 】

7 . 全長 P R O 1 7 8 5 ポリペプチド

WU-BLAST2配列アラインメントプログラムを用いて、全長天然配列 P R O 1 7 8 5 (F i g 1 4 及び配列番号 : 2 9 に示されている) が、グルタチオンペルオキシダーゼと或る程度のアミノ酸配列同一性を有することが見出された。従って、現在では、本出願で開示される P R O 1 7 8 5 が新規に同定されたペルオキシダーゼファミリーのメンバーであり、抗酸化活性を有しうると考えられている。抗酸化活性の制御は、癌及び老化の治療の対象である。

8 . 全長 P R O 4 3 5 3 ポリペプチド

WU-BLAST2配列アラインメントプログラムを用いて、全長天然配列 P R O 4 3 5 3 (F i g 1 6 及び配列番号 : 3 5 に示されている) が、セマホリンZと或る程度のアミノ酸配列同一性を有することが見出された。従って、現在では、本出願で開示される P R O 4 3 5 3 が新規に同定されたセマホリンZファミリーのメンバーであり、神経成長の阻害に關与していると考えられている。P R O 4 3 5 3 は、セマホリンZのモジュレーター、特に中枢神経再生を促進する阻害剤の同定のためのアッセイに使用が可能である。

10

20

30

40

50

9. 全長PRO4357ポリペプチド

WU-BLAST2配列アラインメントプログラムを用いて、全長天然配列PRO4357 (Fig 18 及び配列番号: 40 に示されている) が、受託番号P_W48804の289個のアミノ酸と或る程度のアミノ酸配列同一性を有することが見出された。しかし、PRO4357は、N-末端に、さらに213個のアミノ酸を有している。

【0164】

10. 全長PRO4405ポリペプチド

知られている限り、DNA84920-2614配列は、ここでPRO4405と命名される新規な因子をコードする。WU-BLAST-2配列アラインメントコンピュータプログラムを用いて、公知のタンパク質と限られた配列同一性を持つことが明らかになった。

10

11. 全長PRO4356ポリペプチド

WU-BLAST2配列アラインメントプログラムを用いて、全長天然配列PRO4356 (Fig 22 及び配列番号: 50 に示されている) が、転移関連GPI固着タンパク質と或る程度のアミノ酸配列同一性を有することが見出された。従って、現在では、本出願で開示されるPRO4356が新規に同定されたこのファミリーのメンバーであり、類似のメカニズムを有していると考えられている。

12. 全長PRO4352ポリペプチド

WU-BLAST2配列アラインメントプログラムを用いて、全長天然配列PRO4352 (Fig 24 及び配列番号: 52 に示されている) が、プロトカドヘリンpc3及びプロトカドヘリンpc4と或る程度のアミノ酸配列同一性を有することが見出された。従って、PRO4352が細胞接着に関与し、分化疾患、細胞接着、神経レセプター又は皮膚疾患に関する治療に使用できると考えられている。さらには、PRO4352は、これら疾患に対するアゴニスト及びアンタゴニストを同定するためのスクリーンへ使用することができる。

20

【0165】

13. 全長PRO4380ポリペプチド

知られている限り、DNA92234-2602配列は、ここでPRO4380と命名される新規な因子をコードする。WU-BLAST-2配列アラインメントコンピュータプログラムを用いて、公知のタンパク質と限られた配列同一性を持つことが明らかになった。

14. 全長PRO4354ポリペプチド

知られている限り、DNA92256-2596配列は、ここでPRO4354と命名される新規な因子をコードする。WU-BLAST-2配列アラインメントコンピュータプログラムを用いて、公知のタンパク質と限られた配列同一性を持つことが明らかになった。

30

15. 全長PRO4408ポリペプチド

知られている限り、DNA92274-2617配列は、ここでPRO4408と命名される新規な因子をコードする。WU-BLAST-2配列アラインメントコンピュータプログラムを用いて、公知のタンパク質と限られた配列同一性を持つことが明らかになった。

16. 全長PRO5737ポリペプチド

WU-BLAST2配列アラインメントプログラムを用いて、全長天然配列PRO5737 (Fig 32 及び配列番号: 63 に示されている) が、IL-1及びIL-1Raと或る程度のアミノ酸配列同一性を有することが見出された。従って、現在では、本出願で開示されるPRO5737が新規に同定されたこのファミリーのメンバーであり、類似のメカニズムを有していると考えられている。

40

【0166】

17. 全長PRO4425ポリペプチド

知られている限り、DNA93011-2637配列は、ここでPRO4425と命名される新規な因子をコードする。WU-BLAST-2配列アラインメントコンピュータプログラムを用いて、PRO4425は、同一ではないが、GenBankのタンパク質、受託番号HGS_RE295と相同性を示した。

18. 全長PRO5990ポリペプチド

ALIGN-2配列アラインメントプログラムを用いて、全長天然配列PRO5990 (Fig

50

36及び配列番号：67に示されている)が、セクレトグラニンII (Secretogranin II) (Dayhoff番号GEN14673)と或る程度のアミノ酸配列同一性を有することが見出された。従って、現在では、本出願で開示されるPRO5990が新規に同定されたセクレトグラニタンパク質ファミリーのメンバーであり、一つ又はそれ以上の生物学的及び/又は免疫学的活性、或いはそのタンパク質ファミリーに典型的な性質を有しうると考えられている。

19. 全長PRO6030ポリペプチド

DNA96850-2705クローンは、下記の実施例に記載のようにヒトライブラリーから単離された。知られている限り、DNA96850-2705配列は、ここでPRO6030と命名される新規な因子をコードする。ALIGN-2配列アラインメントコンピュータプログラムを用いて、任意の公知のタンパク質と顕著な配列同一性が無いということが明らかになった。

【0167】

20. 全長PRO4424ポリペプチド

知られている限り、DNA96857-2636配列は、ここでPRO4424と命名される新規な因子をコードする。WU-BLAST-2配列アラインメントコンピュータプログラムを用いて、PRO4424は、同一ではないが、GenBankのタンパク質、受託番号HGS_A135と相同性を示した。

21. 全長PRO4422ポリペプチド

WU-BLAST2配列アラインメントプログラムを用いて、全長天然配列PRO4422 (Fig 42及び配列番号：76に示されている)が、リゾチームgと或る程度のアミノ酸配列同一性を有することが見出された。従って、現在では、本出願で開示されるPRO4422が新規に同定されたこのファミリーのメンバーであり、リゾチーム活性を有しうると考えられている。

22. 全長PRO4430ポリペプチド

WU-BLAST2配列アラインメントプログラムを用いて、全長天然配列PRO4430 (Fig 44及び配列番号：78に示されている)が、GenBankのタンパク質、受託番号MMHC213_9と或る程度のアミノ酸配列同一性を有することが見出された。従って、現在では、本出願で開示されるPRO4430がGenBankタンパク質と関連し、少なくとも一つの類似のメカニズムを共有しうると考えられている。

23. 全長PRO4499ポリペプチド

知られている限り、DNA96889-2641配列は、ここでPRO4499と命名される新規な因子をコードする。WU-BLAST-2配列アラインメントコンピュータプログラムを用いて、公知のタンパク質と限られた配列同一性を持つことが明らかになった。

【0168】

B. PROポリペプチド変異体

ここに記載した全長天然配列PROポリペプチドに加えて、PRO変異体も調製できると考えられる。PRO変異体は、PROポリペプチドDNAに適当なヌクレオチド変化を導入することにより、あるいは所望のPROポリペプチドを合成することにより調製できる。当業者は、グリコシル化部位の数又は位置の変化あるいは膜固着特性の変化などのアミノ酸変化がPROポリペプチドの翻訳後プロセスを変えうることを理解するであろう。

天然全長配列PRO又はここに記載したPROポリペプチドの種々のドメインにおける変異は、例えば、米国特許第5,364,934号に記載されている保存的及び非保存的変異についての任意の技術及び指針を用いてなすことができる。変異は、結果として天然配列PROと比較してPROポリペプチドのアミノ酸配列が変化するPROポリペプチドをコードする一又は複数のコドンの置換、欠失又は挿入であってよい。場合によっては、変異は少なくとも1つのアミノ酸のPROポリペプチドの一又は複数のドメインの任意の他のアミノ酸による置換である。いずれのアミノ酸残基が所望の活性に悪影響を与えることなく挿入、置換又は欠失されるかの指針は、PROポリペプチドの配列を相同性の知られたタンパク質分子の配列と比較し、相同性の高い領域内でなされるアミノ酸配列変化を最小にする

10

20

30

40

50

ことによって見出される。アミノ酸置換は、一のアミノ酸の類似した構造及び／又は化学特性を持つ他のアミノ酸での置換、例えばロイシンのセリンでの置換、即ち保存的アミノ酸置換の結果とすることができる。挿入及び欠失は、場合によっては1から5のアミノ酸の範囲内とすることができる。許容される変異は、配列においてアミノ酸の挿入、欠失又は置換を系統的に作成し、得られた変異体を下記の実施例に記載するインビトロアッセイの任意のもので活性について試験することにより決定される。

【0169】

P R Oポリペプチド断片がここに提供される。このような断片は、例えば、全長天然タンパク質と比較した際に、N-末端又はC-末端で切断されてもよく、又は内部残基を欠いていてもよい。或る種の断片は、P R Oポリペプチドの所望の生物学的活性に必須ではない

10

Aミノ酸残基を欠いている。P R O断片は、多くの従来技術の任意のものによって調製してよい。所望のペプチド断片は化学合成してもよい。代替的方法是、酵素的消化、例えば特定のAミノ酸残基によって決定される部位のタンパク質を切断することが知られた酵素でタンパク質を処理することにより、あるいは適当な制限酵素でDNAを消化して所望の断片を単離することによるP R O断片の生成を含む。さらに他の好適な技術は、ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)により、所望のポリペプチド断片をコードするDNA断片を単離し増幅することを含む。DNA断片の所望の末端を決定するオリゴヌクレオチドは、PCRの5' 及び3' プライマーで用いられる。好ましくは、P R Oポリペプチド断片は、ここに開示した天然P R Oポリペプチドと少なくとも1つの生物学的及び／又は免疫学的活性を共有する。

20

特別の実施態様では、対象とする保存的置換を、好ましい置換を先頭にして表1に示す。このような置換が生物学的活性の変化をもたらす場合、表1に例示的置換と名前を付けた又は以下にアミノ酸分類でさらに記載するように、より置換的な変化が導入され生成物がスクリーニングされる。

【0170】

表6

元の残基	例示的置換	好ましい置換
Ala (A)	val; leu; ile	val
Arg (R)	lys; gln; asn	lys
Asn (N)	gln; his; lys; arg	gln
Asp (D)	glu	glu
Cys (C)	ser	ser
Gln (Q)	asn	asn
Glu (E)	asp	asp
Gly (G)	pro; ala	ala
His (H)	asn; gln; lys; arg	arg
Ile (I)	leu; val; met; ala; phe; norleucine	leu
Leu (L)	norleucine; ile; val; met; ala; phe	ile
Lys (K)	arg; gln; asn	arg
Met (M)	leu; phe; ile	leu
Phe (F)	leu; val; ile; ala; tyr	leu
Pro (P)	ala	ala
Ser (S)	thr	thr
Thr (T)	ser	ser
Trp (W)	tyr; phe	tyr
Tyr (Y)	trp; phe; thr; ser	phe
Val (V)	ile; leu; met; phe; ala; norleucine	leu

30

40

【0171】

P R Oポリペプチドの機能及び免疫学的同一性の置換的修飾は、(a)置換領域のポリペプチド骨格の構造、例えばシート又は螺旋配置、(b)標的部位の電荷又は疎水性、又は(c)側鎖の高を維持しながら、それらの効果において実質的に異なる置換基を選択する

50

ことにより達成される。天然発生残基は共通の側鎖特性に基づいてグループに分けることができる：

- (1) 疎水性：ノルロイシン, met, ala, val, leu, ile;
- (2) 中性の親水性：cys, ser, thr;
- (3) 酸性：asp, glu;
- (4) 塩基性：asn, gln, his, lys, arg;
- (5) 鎖配向に影響する残基：gly, pro; 及び
- (6) 芳香族：trp, tyr, phe。

非保存的置換は、これらの分類の一つのメンバーを他の分類に交換することを必要とするであろう。また、そのように置換された残基は、保存的置換部位、好ましくは残された（非保存）部位に導入されうる。

変異は、オリゴヌクレオチド媒介（部位特異的）突然変異誘発、アラニンスキャンニング、及びPCR突然変異誘発 [Carterら, Nucl. Acids Res., 13: 4331 (1986); Zollerら, Nucl. Acids Res., 10: 6487 (1987)]、カセット突然変異誘発 [Wellsら, Gene, 34: 315 (1985)]、制限的選択突然変異誘発 [Wellsら, Philos. Trans. R. Soc. London SerA, 317: 415 (1986)] 等のこの分野で知られた方法を用いてなすことができ、又は他の知られた技術をクローニングしたDNAに実施してPRO変異体DNAを作成することもできる。

また、隣接配列に沿って一又は複数のアミノ酸を同定するのにスキャンニングアミノ酸分析を用いることができる。好ましいスキャンニングアミノ酸は比較的小さく、中性のアミノ酸である。そのようなアミノ酸は、アラニン、グリシン、セリン、及びシステインを含む。アラニンは、ベータ炭素を越える側鎖を排除し変異体の主鎖構造を変化させにくいので、この群の中で典型的に好ましいスキャンニングアミノ酸である [Cunningham及びWells, Science, 244: 1081-1085 (1989)]。また、アラニンは最もありふれたアミノ酸であるため典型的には好ましい。さらに、それは埋もれた及び露出した位置の両方に見られることが多い [Creighton, The Proteins, (W.H. Freeman & Co., N.Y.); Chothia, J. Mol. Biol., 150: 1 (1976)]。アラニン置換が十分な量の変異体を生じない場合は、アイソテリック(isoteric)アミノ酸を用いることができる。

【 0 1 7 2 】

C . PROの修飾

PROポリペプチドの共有結合的修飾は本発明の範囲内に含まれる。共有結合的修飾の一種は、PROポリペプチドの標的とするアミノ酸残基を、PROポリペプチドの選択された側鎖又はN又はC末端残基と反応できる有機誘導体化試薬と反応させることである。二官能性試薬での誘導体化が、例えばPROを水不溶性支持体マトリクスあるいは抗-PRO抗体の精製方法又はその逆で用いるための表面に架橋させるのに有用である。通常用いられる架橋剤は、例えば、1,1-ビス（ジアゾアセチル）-2-フェニルエタン、グルタルアルデヒド、N-ヒドロキシスクシンイミドエステル、例えば4-アジドサリチル酸、3,3'-ジチオビス（スクシンイミジルプロピオネート）等のジスクシンイミジルエステルを含むホモ二官能性イミドエステル、ビス-N-マレイミド-1,8-オクタン等の二官能性マレイミド、及びメチル-3-[(p-アジドフェニル)-ジチオ]プロピオイミダート等の試薬を含む。

他の修飾は、グルタミル及びアスパラギン残基の各々対応するグルタミル及びアスパルチルへの脱アミノ化、プロリン及びリシンのヒドロキシル化、セリル又はトレオニル残基のヒドロキシル基のリン酸化、リシン、アルギニン、及びヒスチジン側鎖の α -アミノ基のメチル化 [T.E. Creighton, Proteins: Structure and Molecular Properties, W.H. Freeman & Co., San Francisco, pp.79-86 (1983)]、N末端アミンのアセチル化、及び任意のC末端カルボキシル基のアミド化を含む。

【 0 1 7 3 】

本発明の範囲内に含まれるPROポリペプチドの共有結合的修飾の他の型は、ポリペプチドの天然グリコシル化パターンの変更を含む。「天然グリコシル化パターンの変更」とは、ここで意図されるのは、天然配列PROに見られる1又は複数の炭水化物部分の欠失（存在するグリコシル化部位の除去又は化学的及び/又は酵素的手段によるグリコシル化の

削除のいずれかによる)、及び/又は天然配列PROに存在しない1又は複数のグリコシル化部位の付加を意味する。さらに、この文節は、存在する種々の炭水化物部分の性質及び特性の変化を含む、天然タンパク質のグリコシル化における定性的変化を含む。

PROポリペプチドへのグリコシル化部位の付加はアミノ酸配列の変更を伴ってもよい。この変更は、例えば、1又は複数のセリン又はトレオニン残基の天然配列PRO(O-結合グリコシル化部位)への付加、又は置換によってなされてもよい。PROアミノ酸配列は、場合によっては、DNAレベルでの変化、特に、PROポリペプチドをコードするDNAを予め選択された塩基において変異させ、所望のアミノ酸に翻訳されるコドンを生産させることを通して変更されてもよい。

【0174】

PROポリペプチド上に炭水化物部分の数を増加させる他の手段は、グリコシドのポリペプチドへの化学的又は酵素的結合による。このような方法は、この技術分野において、例えば、1987年9月11日に発行されたWO 87/05330、及びAplin及びWriston, CRC Crit. Rev. Biochem., pp. 259-306 (1981)に記載されている。

PROポリペプチド上に存在する炭水化物部分の除去は、化学的又は酵素的に、あるいはグリコシル化の標的として提示されたアミノ酸残基をコードするコドンの変異的置換によってなすことができる。化学的脱グリコシル化技術は、この分野で知られており、例えば、Hakimuddinら, Arch. Biochem. Biophys., 259:52 (1987)により、及びEdgeら, Anal. Biochem., 118: 131 (1981)により記載されている。ポリペプチド上の炭水化物部分の酵素的切断は、Thotakuraら, Meth. Enzymol. 138:350 (1987)に記載されているように、種々のエンド及びエキソグリコシダーゼを用いることにより達成される。

本発明のPROの共有結合的修飾の他の型は、PROポリペプチドの、種々の非タンパク質様ポリマー、例えばポリエチレングリコール、ポリプロピレングリコール、又はポリオキシアルキレンの一つへの、米国特許第4,640,835号;第4,496,689号;第4,301,144号;第4,670,417号;第4,791,192号又は第4,179,337号に記載された方法での結合を含む。

【0175】

また、本発明のPROポリペプチドは、他の異種ポリペプチド又はアミノ酸配列に融合したPROポリペプチドを含むキメラ分子を形成する方法で修飾してもよい。

一実施態様では、このようなキメラ分子は、抗タグ抗体が選択的に結合できるエピトープを提供するタグポリペプチドとPROポリペプチドとの融合を含む。エピトープタグは、一般的にはPROポリペプチドのアミノ又はカルボキシル末端に位置する。このようなPROポリペプチドのエピトープタグ形態の存在は、タグポリペプチドに対する抗体を用いて検出することができる。また、エピトープタグの提供は、抗タグ抗体又はエピトープタグに結合する他の型の親和性マトリクスを用いたアフィニティ精製によってPROポリペプチドを容易に精製できるようにする。種々のタグポリペプチド及びそれら各々の抗体はこの分野で良く知られている。例としては、ポリ-ヒスチジン(ポリ-his)又はポリ-ヒスチジン-グリシン(ポリ-his-gly)タグ;flu HAタグポリペプチド及びその抗体12CA5 [Fieldら, Mol. Cell. Biol., 8:2159-2165 (1988)];c-mycタグ及びそれに対する8F9、3C7、6E10、G4、B7及び9E10抗体 [Evanら, Molecular and Cellular Biology, 5:3610-3616 (1985)];及び単純ヘルペスウイルス糖タンパク質D(gD)タグ及びその抗体 [Paborskyら, Protein Engineering, 3(6):547-553 (1990)]を含む。他のタグポリペプチドは、フラッグペプチド [Hoppら, BioTechnology, 6:1204-1210 (1988)];KT3エピトープペプチド [Martinら, Science, 255:192-194 (1992)]; α -チューブリンエピトープペプチド [Skinnerら, J. Biol. Chem., 266:15163-15166 (1991)];及びT7遺伝子10タンパク質ペプチドタグ [Lutz-Freyermuthら, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87:6393-6397 (1990)]を含む。

それに換わる実施態様では、キメラ分子はPROの免疫グロブリン又は免疫グロブリンの特定領域との融合体を含んでもよい。キメラ分子の二価形態(「イムノアドヘシン」とも呼ばれる)については、そのような融合体はIgG分子のFc領域であり得る。Ig融合体は、好ましくはIg分子内の少なくとも1つの可変領域に換えてPROポリペプチドの可溶化(

10

20

30

40

50

膜貫通ドメイン欠失又は不活性化)形態を含む。特に好ましい実施態様では、免疫グロブリン融合体は、IgG分子のヒンジ、CH2及びCH3、又はヒンジ、CH1、CH2及びCH3領域を含む。免疫グロブリン融合体の製造については、1995年6月27日発行の米国特許第5,428,130号を参照のこと。

【0176】

D. PROの調製

以下の説明は、主として、PRO核酸を含むベクターで形質転換又は形質移入された細胞を培養することによりPROを生産する方法に関する。もちろん、当該分野においてよく知られている他の方法を用いてPROを調製することができると考えられる。例えば、PRO配列、又はその一部は、固相技術を用いた直接ペプチド合成によって生産してもよい [例えば、Stewartら、Solid-Phase Peptide Synthesis, W.H. Freeman Co., San Francisco, CA (1969); Merrifield, J. Am. Chem. Soc., 85:2149-2154 (1963)参照]。手動技術又は自動によるインピトロタンパク質合成を行ってもよい。自動合成は、例えば、アプライド・バイオシステムズ・ペプチド合成機 (Foster City, CA) を用いて、製造者の指示により実施してもよい。PROの種々の部分は、別々に化学的に合成され、化学的又は酵素的方法を用いて結合させて全長PROを生産してもよい。

【0177】

1. PROをコードするDNAの単離

PROをコードするDNAは、PROmRNAを保有してそれを検出可能なレベルで発現すると考えられる組織から調製されたcDNAライブラリから得ることができる。従って、ヒトPRO DNAは、実施例に記載されるように、ヒトの組織から調製されたcDNAライブラリから簡便に得ることができる。またPRO-コード化遺伝子は、ゲノムライブラリから又は公知の合成方法 (例えば、自動化核酸合成) により得ることもできる。ライブラリは、対象となる遺伝子あるいはその遺伝子によりコードされるタンパク質を同定するために設計されたプローブ (PROに対する抗体又は少なくとも約20-80塩基のオリゴヌクレオチド等) によってスクリーニングできる。選択されたプローブによるcDNA又はゲノムライブラリのスクリーニングは、例えばSambrookら、Molecular Cloning: A Laboratory Manual (New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989) に記載されている標準的な手順を使用して実施することができる。所望のPROポリペプチドをコードする遺伝子を単離する他の方法はPCR法を使用するものである [Sambrookら、上掲; Dieffenbachら、PCR Primer: A Laboratory Manual (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1995)]。

【0178】

下記の実施例には、cDNAライブラリのスクリーニング技術を記載している。プローブとして選択されたオリゴヌクレオチド配列は、十分な長さで、疑陽性が最小化されるよう十分に明瞭でなければならない。オリゴヌクレオチドは、スクリーニングされるライブラリ内のDNAとのハイブリダイゼーション時に検出可能であるように標識されていることが好ましい。標識化の方法は当該分野において良く知られており、³²P標識されたATPのような放射線標識、ビオチン化あるいは酵素標識の使用が含まれる。中程度の厳密性及び高度の厳密性を含むハイブリダイゼーション条件は、上掲のSambrookらに与えられている。このようなライブラリースクリーニング法において同定された配列は、Genbank等の公共データベース又は個人の配列データベースに寄託され公衆に利用可能とされている周知の配列と比較及びアラインメントすることができる。分子の決定された領域内又は全長に渡っての (アミノ酸又は核酸レベルのいずれかでの) 配列同一性は、この分野で知られた、そしてここに記載した方法を用いて決定することができる。

タンパク質コード化配列を有する核酸は、初めてここで開示された推定アミノ酸配列を使用し、また必要ならば、cDNAに逆転写されなかったmRNAの生成中間体及び先駆物質を検出する上掲のSambrook等に記述されているような従来のプライマー伸展法を使用し、選択されたcDNA又はゲノムライブラリをスクリーニングすることにより得られる。

【0179】

2. 宿主細胞の選択及び形質転換

宿主細胞を、ここに記載したP R O生産のための発現又はクローニングベクターで形質移入又は形質転換し、プロモーターを誘導し、形質転換体を選択し、又は所望の配列をコードする遺伝子を増幅するために適当に変性された常套の栄養培地で培養する。培養条件、例えば培地、温度、pH等々は、過度の実験をすることなく当業者が選ぶことができる。一般に、細胞培養の生産性を最大にするための原理、プロトコール、及び実用技術は、Mammalian Cell Biotechnology: a Practical Approach, M.Butler編 (IRL Press, 1991)及びSambrookら、上掲に見出すことができる。

原核生物細胞形質移入及び真核生物細胞形質移入の方法、例えば、CaCl₂、CaPO₄、リポソーム媒介及びエレクトロポレーションは当業者に知られている。用いられる宿主細胞に応じて、その細胞に対して適した標準的な方法を用いて形質転換はなされる。前掲のSambrook等に記載された塩化カルシウムを用いるカルシウム処理又はエレクトロポレーションが、一般的に原核生物に対して用いられる。アグロバクテリウム・トゥメファシエンスによる感染が、Shawら、Gene, 23:315 (1983)及び1989年6月29日公開のWO 89/05859に記載されているように、或る種の植物細胞の形質転換に用いられる。このような細胞壁のない哺乳動物の細胞に対しては、Graham及びvan der Eb, Virology, 52:456-457 (1978)のリン酸カルシウム沈降法が好ましい。哺乳動物細胞の宿主系形質転換の一般的な態様は米国特許第4,399,216号に記載されている。酵母菌中への形質転換は、典型的には、Van solingenら、J. Bact., 130:946 (1977)及びHsiaoら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 76:3829 (1979)の方法に従って実施される。しかしながら、DNAを細胞中に導入する他の方法、例えば、核マイクロインジェクション、エレクトロポレーション、無傷の細胞、又はポリカチオン、例えばポリブレン、ポリオルニチン等を用いる細菌プロトプラスト融合もまた用いることもできる。哺乳動物細胞を形質転換するための種々の技術については、Keownら、Methods in Enzymology, 185:527-537 (1990)及びMansourら、Nature, 336:348-352 (1988)を参照のこと。

【0180】

ここに記載のベクターにDNAをクローニングあるいは発現するために適切な宿主細胞は、原核生物、酵母菌、又は高等真核生物細胞である。適切な原核生物は、限定するものではないが、真正細菌、例えばグラム陰性又はグラム陽性生物体、例えば大腸菌のような腸内細菌科を含む。種々の大腸菌株が公衆に利用可能であり、例えば、大腸菌K12株MM294 (ATCC31,446) ; 大腸菌X1776 (ATCC31,537) ; 大腸菌株W3110 (ATCC27,325) 及びK5772 (ATCC53,635) である。他の好ましい原核動物宿主細胞は、大腸菌、例えば、E. coli、エンテロバクター、エルビニア(Erwinia)、クレブシエラ(Klebsiella)、プロテウス(Proteus)、サルモネラ、例えば、ネズミチフス菌、セラチア、例えば、セラチアマルセサンス(Serratia marcescens)、及び赤痢菌、並びに桿菌、例えばバシリスブチリス(B. subtilis)及びバシリリチェニフォルミス(B. licheniformis) (例えば、1989年4月12日発行のDD 266,710に記載されたバシリリチェニフォルミス41P)、シュードモナス、例えば緑膿菌及びストレプトマイセスなどの腸内細菌科を含む。これらの例は限定ではなく例示である。株W3110は、組換えDNA生産発現のための共通の宿主株であるので一つの特に好ましい宿主又は親宿主である。好ましくは、宿主細胞は最小量のタンパク質分解酵素を分泌する。例えば、株W3110は、細胞に外来のタンパク質をコードする遺伝子における遺伝子変異をするように修飾してもよく、そのような宿主の例としては、完全な遺伝子型tonAを有する大腸菌W3110株1A2 ; 完全な遺伝子型tonA ptr3を有する大腸菌W3110株9E4 ; 完全な遺伝子型tonA prt3 phoA E15 (argF-lac)169 degP ompTkanを有する大腸菌W3110株27C7 (ATCC 55,244) ; 完全な遺伝子型tonA ptr3 phoA E15 (argF-lac)169 degP ompT rbs7ilvGkanを有する大腸菌W3110株37D6 ; 非カナマイシン耐性degP欠失変異を持つ37D6株である大腸菌W3110株40B4 ; 及び1990年8月7日発行の米国特許第4,946,783号に開示された変異周辺質プロテアーゼを有する大腸菌株を含む。あるいは、クローニングのインビトロ法、例えばPCR又は他の核酸ポリメラーゼ反応が好ましい。

【0181】

10

20

30

40

50

原核生物に加えて、糸状菌又は酵母菌のような真核微生物は、P R Oポリペプチドコード化ベクターのための適切なクローニング又は発現宿主である。サッカロミセス・セレヴィシアは、通常用いられる下等真核生物宿主微生物である。他に、シゾサッカロミセスプロンプ(*Schizosaccharomyces pombe*) (Beach及びNurse, *Nature*, 290: 140 [1981]; 1985年5月2日発行のEP 139,383); クルベロミセスホスト(*Kluyveromyces hosts*) (米国特許第4,943,529号; Flierら, *Bio/Technology*, 9: 968-975 (1991))、例えばケーラクチス(*K. lactis*) (MW98-8C, CBS683, CBS4574; Louvencourtら, *J. Bacteriol.* 737 [1983])、ケーフラギリス(*K. fragilis*) (ATCC 12,424)、ケーブルガリクス(*K. bulgaricus*) (ATCC 16,045)、ケーウィケラミイ(*K. wickerhamii*) (ATCC 24,178)、ケーワルチイ(*K. waltii*) (ATCC 56,500)、ケードロソフィラルム(*K. drosophilum*) (ATCC 36,906; Van den Bergら, *Bio/Technology*, 8: 135 (1990))、ケーテモトレランス(*K. themotolerans*)及びケーマルキシアナス(*K. marxianus*); ヤロウィア(*Yarrowia*) (EP 402,226); ピッチャパストリス(*Pichia pastoris*) (EP 183,070; Sheekrishnaら, *J. Basic Microbiol.* 28: 265-278 [1988]); カンジダ; トリコデルマレーシア(*Trichoderma reesei*) (EP 244,234); アカパンカビ (Caseら, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 76: 5259-5263 [1979]); シュワニオマイセス(*Schwanniomyces*)、例えばシュワニオマイセスオクシデンタリス(*occidentalis*) (1990年10月31日発行のEP 394,538); 及び糸状真菌、例えば、ニューロスポラ、ペニシリウム、トリボクラジウム(*Trichocladium*) (1991年1月10日発行のWO 91/00357); 及びコウジ菌、例えば偽巢性コウジ菌 (Ballanceら, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 112: 284-289 [1983]; Tilburnら, *Gene*, 26: 205-221 [1983]; Yeltonら, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81: 1470-1474 [1984]) 及びクロカビ (Kelly及びHynes, *EMBO J.*, 4: 475-479 [1985]) が含まれる。ここで好ましいメチロトロピック(methylotrophic)酵母は、これらに限られないが、ハンセヌラ(*Hansenula*)、カンジダ、クロエケラ(*Kloeckera*)、ピチア(*Pichia*)、サッカロミセス、トルロプシス(*Torulopsis*)、及びロドトルラ(*Rhodotorula*)からなる属から選択されるメタノールで成長可能な酵母を含む。この酵母の分類の例示である特定の種のリストは、C. Anthony, *The Biochemistry of Methylotrophs*, 269 (1982)に記載されている。

【0182】

グリコシル化P R Oの発現に適切な宿主細胞は、多細胞生物から誘導される。無脊椎動物細胞の例としては、ショウジョウバエS2及びスボドスペラSf9等の昆虫細胞並びに植物細胞が含まれる。有用な哺乳動物宿主株化細胞の例は、チャイニーズハムスター卵巣(CHO)及びCOS細胞を含む。より詳細な例は、SV40によって形質転換されたサル腎臓CV1株(COS-7, ATCC CRL 1651); ヒト胚腎臓株(293又は懸濁培養での増殖のためにサブクローン化された293細胞, Grahamら, *J. Gen. Virol.*, 36:59 (1977)); チャイニーズハムスター卵巣細胞/DHFR(CHO, Urlaub及びChasin, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 77:4216 (1980)); マウスのセルトリ細胞(TM4, Mather, *Biol. Reprod.*, 23:243-251 (1980)) ヒト肺細胞(W138, ATCC CCL 75); ヒト肝細胞(Hep G2, HB 8065); 及びマウス乳房腫瘍細胞(MMT 060562, ATCC CCL51)を含む。適切な宿主細胞の選択は、この分野の技術常識内にある。

【0183】

3. 複製可能なベクターの選択及び使用

P R Oをコードする核酸(例えば、cDNA又はゲノムDNA)は、クローニング(DNAの増幅)又は発現のために複製可能なベクター内に挿入される。様々なベクターが公的に入手可能である。ベクターは、例えば、プラスミド、コスミド、ウイルス粒子、又はファージの形態とすることができる。適切な核酸配列が、種々の手法によってベクターに挿入される。一般に、DNAはこの分野で周知の技術を用いて適当な制限エンドヌクレアーゼ部位に挿入される。ベクター成分としては、一般に、これらに制限されるものではないが、一又は複数のシグナル配列、複製開始点、一又は複数のマーカー遺伝子、エンハンサーエレメント、プロモーター、及び転写終結配列を含む。これらの成分の一又は複数を含む適当なベクターの作成には、当業者に知られた標準的なライゲーション技術を用いる。

P R Oは直接的に組換え手法によって生産されるだけでなく、シグナル配列あるいは成熟タンパク質あるいはポリペプチドのN-末端に特異的切断部位を有する他のポリペプチドである異種性ポリペプチドとの融合ペプチドとしても生産される。一般に、シグナル配列はベクターの成分であるか、ベクターに挿入されるP R O-コード化DNAの一部である。シグナル配列は、例えばアルカリフォスファターゼ、ペニシリナーゼ、lppあるいは熱安定性エンテロトキシンIIリーダーの群から選択される原核生物シグナル配列であってよい。酵母の分泌に関しては、シグナル配列は、酵母インベルターゼリーダー、アルファ因子リーダー(酵母菌属(*Saccharomyces*)及びクレイペロマイシス(*Kluyveromyces*) α 因子リーダーを含み、後者は米国特許第5,010,182号に記載されている)、又は酸ホスホターゼリーダー、白体(*C.albicans*)グルコアミラーゼリーダー(1990年4月4日発行のEP362179)、又は1990年11月15日に公開されたWO 90/13646に記載されているシグナルであり得る。哺乳動物細胞の発現においては、哺乳動物シグナル配列は、同一あるいは関連ある種の分泌ポリペプチド由来のシグナル配列並びにウイルス分泌リーダーのようなタンパク質の直接分泌に使用してもよい。

【 0 1 8 4 】

発現及びクローニングベクターは共に一又は複数の選択された宿主細胞においてベクターの複製を可能にする核酸配列を含む。そのような配列は多くの細菌、酵母及びウイルスに対してよく知られている。プラスミドpBR322に由来する複製開始点は大部分のグラム陰性細菌に好適であり、2 μ プラスミド開始点は酵母に適しており、様々なウイルス開始点(SV40、ポリオーマ、アデノウイルス、VSV又はBPV)は哺乳動物細胞におけるクローニングベクターに有用である。

発現及びクローニングベクターは、典型的には、選べるマーカーとも称される選択遺伝子を含む。典型的な選択遺伝子は、(a)アンピシリン、ネオマイシン、メトトレキセートあるいはテトラサイクリンのような抗生物質あるいは他の毒素に耐性を与え、(b)栄養要求性欠陥を補い、又は(c)例えばバシリに対する遺伝子コードD-アラニンラセマーゼのような、複合培地から得られない重要な栄養素を供給するタンパク質をコードする。

哺乳動物細胞に適切な選べるマーカーの例は、DHFRあるいはチミジンキナーゼのように、P R O-コード化核酸を取り込むことのできる細胞成分を同定することのできるものである。野生型DHFRを用いた場合の好適な宿主細胞は、Urlaub らにより、Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77:4216 (1980)に記載されているようにして調製され増殖されたDHFR活性に欠陥のあるCHO株化細胞である。酵母菌中での使用に好適な選択遺伝子は酵母プラスミドYRp7に存在するtrp1遺伝子である[Stinchcombら, Nature, 282:39(1979); Kingmanら, Gene, 7:141(1979); Tschemperら, Gene, 10:157(1980)]。trp1遺伝子は、例えば、ATCC番号44076あるいはPEP4-1のようなトリプトファン内で成長する能力を欠く酵母菌の突然変異株に対する選択マーカーを提供する[Jones, Genetics, 85:12 (1977)]。

【 0 1 8 5 】

クローニングベクターは、通常、P R O-コード化核酸配列に作用可能に結合し、mRNA合成を制御するプロモーターを含む。種々の可能な宿主細胞により認識される好適なプロモーターが知られている。原核生物宿主での使用に好適なプロモーターは β -ラクタマーゼ及びラクトースプロモーター系[Cahngら, Nature, 275:615 (1978); Goeddelら, Nature, 281:544 (1979)]、アルカリフォスファターゼ、トリプトファン(trp)プロモーター系[Goeddel, Nucleic Acids Res., 8:4057 (1980); EP 36,776]、及びハイブリッドプロモーター、例えばtacプロモーター[deBoer ら, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 80:21-25 (1983)]を含む。細菌系で使用するプロモーターもまたP R OをコードするDNAと作用可能に結合したシャイン・ダルガーノ(S.D.)配列を有する。

酵母宿主と共に用いて好適なプロモーター配列の例としては、3-ホスホグリセラートキナーゼ[Hitzeman ら, J. Biol. Chem., 255:2073 (1980)]又は他の糖分解酵素[Hess ら, J. Adv. Enzyme Reg., 7:149 (1968); Holland, Biochemistry, 17:4900(1987)]、例えばエノラーゼ、グリセルアルデヒド-3-リン酸デヒドロゲナーゼ、ヘキソキナーゼ、ピルビン酸デカルボキシラーゼ、ホスホフルクトキナーゼ、グルコース-6-リン酸イソメ

ラーゼ、3-ホスホグリセレートムターゼ、ピルビン酸キナーゼ、トリオセリン酸イソメラーゼ、ホスホグルコースイソメラーゼ、及びグルコキナーゼが含まれる。

他の酵母プロモーターとしては、成長条件によって転写が制御される付加的効果を有する誘発的プロモーターであり、アルコールデヒドロゲナーゼ2、イソチトクロムC、酸フォスファターゼ、窒素代謝と関連する分解性酵素、メタロチオネイン、グリセルアルデヒド-3-リン酸デヒドロゲナーゼ、及びマルトース及びガラクトースの利用を支配する酵素のプロモーター領域がある。酵母菌での発現に好適に用いられるベクターとプロモーターはEP 73,657に更に記載されている。

【0186】

哺乳動物の宿主細胞におけるベクターからのPRO転写は、例えば、ポリオーマウィルス、伝染性上皮腫ウィルス(1989年7月5日公開のUK 2,211,504)、アデノウィルス(例えばアデノウィルス2)、ウシ乳頭腫ウィルス、トリ肉腫ウィルス、サイトメガロウィルス、レトロウィルス、B型肝炎ウィルス及びサルウィルス40(SV40)のようなウィルスのゲノムから得られるプロモーター、異種性哺乳動物プロモーター、例えばアクチンプロモーター又は免疫グロブリンプロモーター、及び熱衝撃プロモーターから得られるプロモーターによって、このようなプロモーターが宿主細胞系に適合し得る限り制御される。

より高等の真核生物による所望のPROをコードするDNAの転写は、ベクター中にエンハンサー配列を挿入することによって増強され得る。エンハンサーは、通常は約10から300塩基対で、プロモーターに作用してその転写を増強するDNAのシス作用要素である。哺乳動物遺伝子由来の多くのエンハンサー配列が現在知られている(グロビン、エラスターゼ、アルブミン、 α -フェトプロテイン及びインスリン)。しかしながら、典型的には、真核細胞ウィルス由来のエンハンサーが用いられるであろう。例としては、複製起点の後期側のSV40エンハンサー(100-270塩基対)、サイトメガロウィルス初期プロモーターエンハンサー、複製起点の後期側のポリオーマエンハンサー及びアデノウィルスエンハンサーが含まれる。エンハンサーは、PROコード化配列の5'又は3'位でベクター中にスプライシングされ得るが、好ましくはプロモーターから5'位に位置している。

また真核生物宿主細胞(酵母、真菌、昆虫、植物、動物、ヒト、又は他の多細胞生物由来の有核細胞)に用いられる発現ベクターは、転写の終結及びmRNAの安定化に必要な配列も含む。このような配列は、真核生物又はウィルスのDNA又はcDNAの通常は5'、時には3'の非翻訳領域から取得できる。これらの領域は、PROをコードするmRNAの非翻訳部分にポリアデニル化断片として転写されるヌクレオチドセグメントを含む。

組換え脊椎動物細胞培養でのPROの合成に適応化するのに適切な他の方法、ベクター及び宿主細胞は、Gethingら, Nature, 293:620-625 (1981); Manteiら, Nature, 281:40-46 (1979); EP 117,060; 及びEP 117,058に記載されている。

【0187】

4. 遺伝子増幅/発現の検出

遺伝子の増幅及び/又は発現は、ここで提供された配列に基づき、適切に標識されたプローブを用い、例えば、従来よりのサザンブロット法、mRNAの転写を定量化するノーザンブロット法[Thomas, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77:5201-5205 (1980)]、ドットブロット法(DNA分析)、又はインサイツハイブリダイゼーション法によって、直接的に試料中で測定することができる。あるいは、DNA二本鎖、RNA二本鎖及びDNA-RNAハイブリッド二本鎖又はDNA-タンパク二本鎖を含む、特異的二本鎖を認識することができる抗体を用いることもできる。次いで、抗体を標識し、アッセイを実施することができ、ここで二本鎖は表面に結合しており、その結果二本鎖の表面での形成の時点でその二本鎖に結合した抗体の存在を検出することができる。

あるいは、遺伝子の発現は、遺伝子産物の発現を直接的に定量する免疫学的な方法、例えば細胞又は組織切片の免疫組織化学的染色及び細胞培養又は体液のアッセイによって、測定することもできる。試料液の免疫組織化学的染色及び/又はアッセイに有用な抗体は、モノクローナルでもポリクローナルでもよく、任意の哺乳動物で調製することができる。簡便には、抗体は、天然配列PROポリペプチドに対して、又はここで提供されるDNA配

10

20

30

40

50

列をベースとした合成ペプチドに対して、又はPRO DNAに融合し特異的抗体エピートームをコードする外因性配列に対して調製され得る。

【0188】

5. ポリペプチドの精製

PROの形態は、培地又は宿主細胞の溶菌液から回収することができる。膜結合性であるならば、適切な洗浄液(例えばトリトン-X100)又は酵素的切断を用いて膜から引き離すことができる。PROの発現に用いられる細胞は、凍結融解サイクル、超音波処理、機械的破壊、又は細胞溶解剤などの種々の化学的又は物理的手段によって破壊することができる。

PROを、組換え細胞タンパク又はポリペプチドから精製することが望ましい。適切な精製手順の例である次の手順により精製される：すなわち、イオン交換カラムでの分画；エタノール沈殿；逆相HPLC；シリカ又はカチオン交換樹脂、例えばDEAEによるクロマトグラフィー；クロマトフォーカシング；SDS-PAGE；硫酸アンモニウム沈殿；例えばセファデックスG-75を用いるゲル濾過；IgGのような汚染物を除くプロテインAセファロースカラム；及びPROポリペプチドのエピータグ形態を結合させる金属キレート化カラムである。この分野で知られ、例えば、Deutcher, *Methodes in Enzymology*, 182 (1990)；Scopes, *Protein Purification: Principles and Practice*, Springer-Verlag, New York (1982)に記載された多くのタンパク質精製方法を用いることができる。選ばれる精製過程は、例えば、用いられる生産方法及び特に生産される特定のPROの性質に依存する。

【0189】

E. PROの用途

PROをコードする核酸配列(又はそれらの補体)は、ハイブリダイゼーションプローブとしての使用を含む分子生物学の分野において、染色体及び遺伝子マッピングにおいて、及びアンチセンスRNA及びDNAの生成において種々の用途を有している。また、PRO核酸も、ここに記載される組換え技術によるPROポリペプチドの調製に有用であろう。

全長天然配列PRO遺伝子又はその一部は、全長PRO cDNAの単離又はここに開示したPRO配列に対して所望の配列同一性を持つ更に他の遺伝子(例えば、PROの天然発生変異体又は他の種からのPROをコードするもの)の単離のためのcDNAライブラリ用のハイブリダイゼーションプローブとして使用できる。場合によっては、プローブの長さは約20～約50塩基である。ハイブリダイゼーションプローブは、少なくとも部分的に全長天然ヌクレオチド配列の新規な領域から誘導してもよく、それらの領域は、過度の実験をすることなく、天然配列PROのプロモーター、エンハンサー成分及びイントロンを含むゲノム配列から誘導され得る。例えば、スクリーニング法は、PROポリペプチド遺伝子のコード化領域を周知のDNA配列を用いて単離して約40塩基の選択されたプローブを合成することを含む。ハイブリダイゼーションプローブは、³²P又は³⁵S等の放射性ヌクレオチド、又はアビジン/ビオチン共役系を介してプローブに結合したアルカリフォスファターゼ等の酵素標識を含む種々の標識で標識されうる。本発明のPROポリペプチド遺伝子に相補的な配列を有する標識されたプローブは、ヒトcDNA、ゲノムDNA又はmRNAのライブラリーをスクリーニングし、そのライブラリーの何れのメンバーがプローブにハイブリダイゼーションするかを決定するのに使用できる。ハイブリダイゼーション技術は、以下の実施例において更に詳細に記載する。

【0190】

本出願で開示する任意のESTはプローブと同様に、ここに記載した方法で用いることができる。

PRO核酸の他の有用な断片は、標的PRO mRNA(センス)又はPRO DNA(アンチセンス)配列に結合できる一本鎖核酸配列(RNA又はDNAのいずれか)を含むアンチセンス又はセンスオリゴヌクレオチドを含む、アンチセンス又はセンスオリゴヌクレオチドは、本発明によると、PRO DNAのコード化領域の断片を含む。このような断片は、一般的には少なくとも約14ヌクレオチド、好ましくは約14から30ヌクレオチドを含む。与えられたタンパク質をコードするcDNA配列に基づく、アンチセンス又はセンスオリ

ゴヌクレオチドを制御する可能性は、例えば、Stein及びCohen (CancerRes. 48: 2659: 1988) 及び van der Krolら (BioTechniques 6: 958, 1988) に記載されている。

アンチセンス又はセンスオリゴヌクレオチドの標的核酸配列への結合は二重鎖の形成をもたらす、それは、二重鎖の分解の促進、転写又は翻訳の期外停止を含む幾つかの方法の一つ、又は他の方法により、標的配列の転写又は翻訳を阻止する。よって、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、P R Oタンパク質の発現を阻止するのに用いられる。アンチセンス又はセンスオリゴヌクレオチドは、修飾糖 - ホスホジエステル骨格 (又は他の糖結合、WO 91/06629に記載のもの等) を有するオリゴヌクレオチドをさらに含み、そのような糖結合は内因性ヌクレアーゼ耐性である。そのような耐性糖結合を持つオリゴヌクレオチドは、インビボで安定であるが (即ち、酵素分解に耐えうるが)、標的ヌクレオチド配列に結合できる配列特異性は保持している。

10

【0191】

センス又はアンチセンスオリゴヌクレオチドの他の例は、WO 90/10048に記載されているもののような、有機部分、及びオリゴヌクレオチドの標的核酸配列への親和性を向上させる他の部分、例えばポリ-(L-リジン)に共有結合したオリゴヌクレオチドを含む。さらにまた、エリプチシン等の挿入剤、アルキル化剤又は金属作体をセンス又はアンチセンスオリゴヌクレオチドに結合させ、アンチセンス又はセンスオリゴヌクレオチドの標的ヌクレオチド配列への結合特異性を改変してもよい。

アンチセンス又はセンスオリゴヌクレオチドは、例えば、CaPO₄-媒介DNA形質移入、エレクトロポレーションを含む任意の遺伝子転換方法により、又はエプスタイン-バーウイルスなどの遺伝子転換ベクターを用いることにより、標的核酸配列を含む細胞に導入される。好ましい方法では、アンチセンス又はセンスオリゴヌクレオチドは、適切なレトロウイルスベクターに挿入される。標的核酸配列を含む細胞は、インビボ又はエキソビボで組換えレトロウイルスベクターに接触させる。好適なレトロウイルスベクターは、これらに限られないが、マウスレトロウイルスM-MuLVから誘導されるもの、N2 (M-MuLVから誘導されたレトロウイルス)、又はDCT5A、DCT5B及びDCT5Cと命名されたダブルコピーベクター (WO 90/13641参照) を含む。

20

【0192】

また、センス又はアンチセンスオリゴヌクレオチドは、WO 91/04753に記載されているように、リガンド結合分子との複合体の形成により標的配列を含む細胞に導入してもよい。適切なリガンド結合分子は、これらに限られないが、細胞表面レセプター、成長因子、他のサイトカイン、又は細胞表面レセプターに結合する他のリガンドを含む。好ましくは、リガンド結合分子の複合体形成は、リガンド結合分子がその対応する分子又はレセプターに結合する、あるいはセンス又はアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその複合体の細胞への侵入を阻止する能力を実質的に阻害しない。

30

あるいは、センス又はアンチセンスオリゴヌクレオチドは、WO 90/10448に記載されたように、オリゴヌクレオチド - 脂質複合体の形成により標的核酸配列を含む細胞に導入してもよい。センス又はアンチセンスオリゴヌクレオチド - 脂質複合体は、好ましくは内因性リパーゼにより細胞内で分解される。

アンチセンスRNA又はDNA分子は一般に少なくとも約5塩基長、約10塩基長、約15塩基長、約20塩基長、約25塩基長、約30塩基長、約35塩基長、約40塩基長、約45塩基長、約50塩基長、約55塩基長、約60塩基長、約65塩基長、約70塩基長、約75塩基長、約80塩基長、約85塩基長、約90塩基長、約95塩基長、約100塩基長、あるいはそれ以上である。

40

【0193】

また、プローブは、PCR技術に用いて、密接に関連したP R Oコード化配列の同定のための配列のプールを作成することができる。

また、P R Oをコードするヌクレオチド配列は、そのP R Oをコードする遺伝子のマッピングのため、及び遺伝子疾患を持つ個体の遺伝子分析のためのハイブリダイゼーションプローブの作成にも用いることができる。ここに提供されるヌクレオチド配列は、インサイツハイブリダイゼーション、既知の染色体マーカーに対する結合分析、及びライブラリー

50

でのハイブリダイゼーションスクリーニング等の周知の技術を用いて、染色体及び染色体の特定領域にマッピングすることができる。

P R Oのコード化配列が他のタンパク質に結合するタンパク質をコードする場合（例えば、P R Oがレセプターである場合）、P R Oは、そのリガンドを同定するアッセイに用いることができる。このような方法により、レセプター/リガンド結合性相互作用の阻害剤を同定することができる。このような結合性相互作用に含まれるタンパク質も、ペプチド又は小分子阻害剤又は結合性相互作用のアゴニストのスクリーニングに用いることができる。また、レセプター P R Oは関連するリガンドの単離にも使用できる。スクリーニングアッセイは、天然 P R O又はP R Oのレセプターの生物学的活性に似たリード化合物の発見のために設計される。このようなスクリーニングアッセイは、化学的ライブラリーの高スループットスクリーニングにも用いられ、小分子候補薬剤の同定に特に適したものとす

10

【 0 1 9 4 】

また、P R O又はその任意の修飾型をコードする核酸は、トランスジェニック動物又は「ノックアウト」動物を産生するのに使用でき、これらは治療的に有用な試薬の開発やスクリーニングに有用である。トランスジェニック動物(例えばマウス又はラット)とは、出生前、例えば胚段階で、その動物又はその動物の祖先に導入された導入遺伝子を含む細胞を有する動物である。導入遺伝子とは、トランスジェニック動物が発生する細胞のゲノムに組み込まれたDNAである。一実施形態では、P R OをコードするcDNAは、確立された技術によりP R OをコードするゲノムDNAをクローン化するために使用することができ、ゲノム配列を、P R OをコードするDNAを発現する細胞を有するトランスジェニック動物を産生するために使用することができる。トランスジェニック動物、特にマウス又はラット等の特定の動物を産生する方法は当該分野において常套的になっており、例えば米国特許第4,736,866号や第4,870,009号に記述されている。典型的には、特定の細胞を組織特異的エンハンサーでのP R O導入遺伝子の導入の標的にする。胚段階で動物の生殖系列に導入されたP R Oコード化導入遺伝子のコピーを含むトランスジェニック動物はP R OをコードするDNAの増大した発現の影響を調べるために使用できる。このような動物は、例えばその過剰発現を伴う病理学的状態に対して保護をもたらすと思われる試薬のテスター動物として使用できる。本発明のこの態様においては、動物を試薬で治療し、導入遺伝子を有する未治療の動物に比べ病理学的状態の発症率が低ければ、病理学的状態に対する治療的処置の可能性が示される。

20

30

【 0 1 9 5 】

あるいは、P R Oの非ヒト相同体は、動物の胚性細胞に導入されたP R Oをコードする変更ゲノムDNAと、P R Oをコードする内在性遺伝子との間の相同的組換えによって、P R Oをコードする欠陥又は変更遺伝子を有するP R O「ノックアウト」動物を作成するために使用できる。例えば、P R OをコードするcDNAは、確立された技術に従い、P R OをコードするゲノムDNAのクローニングに使用できる。P R OをコードするゲノムDNAの一部を欠失したり、組み込みを監視するために使用する選択可能なマーカーをコードする遺伝子等の他の遺伝子で置換することができる。典型的には、ベクターは無変化のフランキングDNA(5' と3' 末端の両方)を数キロベース含む[例えば、相同的組換えベクターについてはThomas及びCapecchi, Cell, 51:503(1987)を参照のこと]。ベクターは胚性幹細胞に(例えばエレクトロポレーションによって)導入し、導入されたDNAが内在性DNAと相同的に組換えられた細胞が選択される[例えば、Liら, Cell, 69:915(1992)参照]。選択された細胞は次に動物(例えばマウス又はラット)の胚盤胞内に注入されて集合キメラを形成する[例えば、Bradley, Teratocarcinomas and Embryonic Stem Cells: A Practical Approach, E. J. Robertson, ed. (IRL, Oxford, 1987), pp. 113-152参照]。その後、キメラ性胚を適切な偽妊娠の雌性乳母に移植し、期間において「ノックアウト」動物をつくり出す。胚細胞に相同的に組換えられたDNAを有する子孫は標準的な技術により同定され、そ

40

50

れらを利用して動物の全細胞が相同的に組換えられたDNAを含む動物を繁殖させることができる。ノックアウト動物は、P R Oポリペプチドが不在であることによるある種の病理的状态及びその病理的状态の進行に対する防御能力によって特徴付けられる。

【 0 1 9 6 】

また、P R Oポリペプチドをコードする核酸は遺伝子治療にも使用できる。遺伝子治療用途においては、例えば欠陥遺伝子を置換するため、治療の有効量の遺伝子産物のインビボ合成を達成するために遺伝子が導入される。「遺伝子治療」とは、1回の処理により継続的効果が達成される従来の遺伝子治療と、治療的に有効なDNA又はmRNAの1回又は繰り返し投与を含む遺伝子治療薬の投与の両方を含む。アンチセンスRNA及びDNAは、ある種の遺伝子のインビボ発現を阻止する治療薬として用いることができる。短いアンチセンスオリゴヌクレオチドを、細胞膜による制限された取り込みに起因する低い細胞内濃度にもかかわらず、それが阻害剤として作用する細胞中に移入できることは既に示されている (Zamecnikら, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 83: 4143-4146 [1986])。オリゴヌクレオチドは、それらの負に荷電したリン酸ジエステル基を非荷電基で置換することによって取り込みを促進するように修飾してもよい。

生存可能な細胞に核酸を導入するための種々の技術が存在する。これらの技術は、核酸が細胞培養にインビトロで、あるいは意図する宿主の細胞においてインビボで移入されるかに応じて変わる。核酸を哺乳動物細胞にインビトロで移入するのに適した方法は、リボソーム、エレクトロポレーション、マイクロインジェクション、細胞融合、DEAE-デキストラン、リン酸カルシウム沈殿法などを含む。現在好ましいインビボ遺伝子移入技術は、ウイルス (典型的にはレトロウイルス) ベクターでの形質移入及びウイルス被覆タンパク質-リボソーム媒介形質移入である (Dzauら, Trends, in Biotechnology 11, 205-210(1993))。幾つかの状況では、核酸供給源を、細胞表面膜タンパク質又は標的細胞に特異的な抗体、標的細胞上のレセプターに対するリガンド等の標的細胞を標的化する薬剤とともに提供するのが望ましい。リボソームを用いる場合、エンドサイトーシスを伴って細胞表面膜タンパク質に結合するタンパク質、例えば、特定の細胞型向性のキャプシドタンパク質又はその断片、サイクルにおいて内部移行を受けるタンパク質に対する抗体、細胞内局在化を標的とし細胞内半減期を向上させるタンパク質が、標的化及び/又は取り込みの促進のために用いられる。レセプター媒介エンドサイトーシスは、例えば、Wuら, J. Biol. Chem. 262, 4429-4432 (1987); 及びWagnerら, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87, 3410-3414 (1990)によって記述されている。遺伝子作成及び遺伝子治療のプロトコールの概説については、Andersonら, Science 256, 808-813 (1992)を参照のこと。

【 0 1 9 7 】

ここに記載したP R Oポリペプチドは、タンパク質電気泳動目的の分子量マーカーとして用いてもよいし、単離された核酸配列は、これらマーカーの組み換え体による発現として使用してよい。

ここに記載したP R Oポリペプチド又はその断片をコードする核酸分子は染色体同定に有用である。この点において、実際の配列に基づく染色体マーキング試薬は殆ど利用可能ではないため、新規な染色体マーカーの同定の必要性が存在している。本発明の各P R O核酸分子は染色体マーカーとして使用できる。

また本発明のP R Oポリペプチド及び核酸分子は組織タイピングに使用でき、本発明のP R Oポリペプチドは一方の組織で他方に比較して異なる発現をする。P R O核酸分子は、PCR、ノーザン分析、サザン分析及びウェスタン分析のプローブ生成のための用途が見出されるであろう。

ここに記載したP R Oポリペプチドは治療薬として用いてもよい。本発明のP R Oポリペプチドは、製薬的に有用な組成物を調製するのに知られた方法に従って製剤され、それにより、このP R O生成物は製薬的に許容される担体媒体と混合される。治療用製剤は、凍結乾燥された製剤又は水性溶液の形態で、任意的な製薬上許容可能なキャリア、賦形剤又は安定剤と、所望の精製度を有する活性成分とを混合することにより (Remington's Pharmaceutical Sciences, 16th edition, A. Osol, Ed., [1980])、調製され保管される。許

10

20

30

40

50

容される担体、賦形剤又は安定剤は、用いる投与量及び濃度ではレシipientに対して無毒性であり、リン酸、クエン酸及び他の有機酸等の緩衝液；アスコルビン酸を含む抗酸化剤；低分子量(残基数10個未満)ポリペプチド；血清アルブミン、ゼラチン又は免疫グロブリン等のタンパク質；ポリビニルピロリドン等の親水性重合体；グリシン、グルタミン、アスパラギン、アルギニン又はリシン等のアミノ酸；グルコース、マンノース又はデキストリン等の単糖類、二糖類又は他の炭水化物、EDTA等のキレート剤、マンニトール又はソルビトール等の糖類、ナトリウム等の塩形成対イオン；及びノ又はTWEEN(商品名)、PLURONICS(商品名)又はポリエチレングリコール(PEG)等の非イオン性界面活性剤を含む。

【0198】

インビボ投与に使用される製剤は滅菌されていなくてはならない。これは、凍結乾燥及び再構成の前又は後に、滅菌フィルター膜を通す濾過により容易に達成される。

ここで、本発明の製薬組成物は一般に、無菌のアクセスポートを具備する容器、例えば、皮下注射針で貫通可能なストッパーを持つ静脈内バッグ又はバイアル内に配される。

投与経路は周知の方法、例えば、静脈内、腹膜内、脳内、筋肉内、眼内、動脈内又は病巣内経路での注射又は注入、局所投与、又は徐放系による。

本発明の製薬組成物の用量及び望ましい薬物濃度は、意図する特定の用途に応じて変化する。適切な用量又は投与経路の決定は、通常の内科医の技量の範囲内である。動物実験は、ヒト治療のための有効量の決定についての信頼できるガイダンスを提供する。有効量の種間スケールリングは、Toxicokinetics and New Drug Development, Yacobiら、編、Pergamon Press, New York 1989, pp. 42-96のMordenti, J. 及びChappell, W. 「The use of interspecies scaling in toxicokinetics」に記載された原理に従って実施できる。

P R Oポリペプチド又はそのアゴニスト又はアンタゴニストのインビボ投与が用いられる場合、正常な投与量は、投与経路に応じて、哺乳動物の体重当たり1日に約10ng/kgから100mg/kgまで、好ましくは約1µg/kg/日から10mg/kg/日である。特定の用量及び輸送方法の指針は文献に与えられている；例えば、米国特許第4,657,760号、第5,206,344号、又は第5,225,212号参照。異なる製剤が異なる治療用化合物及び異なる疾患に有効であること、例えば一つの器官又な組織を標的とする投与には他の器官又は組織とは異なる方式で輸送することは必要であることが予想される。

【0199】

P R Oポリペプチドの投与を必要とする任意の疾患又は疾病の治療に適した放出特性を持つ製剤でP R Oポリペプチドの持続放出が望まれる場合、P R Oポリペプチドのマイクロカプセル化が考えられる。持続放出のための組換えタンパク質のマイクロカプセル化は、ヒト成長ホルモン(rhGH)、インターフェロン-(rhIFN-)、インターロイキン-2、及びMNRgp120で成功裏に実施されている。Johnsonら, Nat. Med., 2: 795-799 (1996); Yasuda, Biomed. Ther., 27: 1221-1223 (1993); Horaら, Bio/Technology, 8: 755-758 (1990); Cleland, 「Design and Production of Single Immunization Vaccines Using polyacide polyglycolide Microsphere Systems」Vaccine Design: The Subunit and Adjuvant Approach, Powell 及び Newman編, (Plenum Press: New York, 1995), p. 439-462; WO 97/03692, WO 96/40072, WO 96/07399; 及び米国特許第5,564,010号。

これらのタンパク質の持続放出製剤は、ポリ-乳酸-コグリコール酸(PLGA)ポリマーを用い、その生体適合性及び広範囲の生分解特性に基づいて開発された。P L G Aの分解生成物である乳酸及びグリコール酸は、ヒト身体内で即座にクリアされる。さらに、このポリマーの分解性は、分子量及び組成に依存して数ヶ月から数年まで調節できる。Lewis, 「Controlled release of bioactive agents from lactide/glycolide polymer」: M. Chasin及び R. Langer (編), Biodegradable polymers as Drug Delivery Systems (Marcel Dekker: New York, 1990), pp. 1-41。

【0200】

本発明は、P R Oポリペプチドに類似する(アゴニスト)又はP R Oポリペプチドの効果を阻害する(アンタゴニスト)ものを同定するための化合物のスクリーニング方法も包含する。アンタゴニスト候補薬のスクリーニングアッセイは、ここに同定した遺伝子にコー

ドされるPROポリペプチドと結合又は複合体形成する化合物、又は他にコード化ポリペプチドの他の細胞性タンパク質との相互作用を阻害する化合物を同定するために設計される。このようなスクリーニングアッセイは、それを特に小分子候補薬の同定に適したものに、化学的ライブラリの高スループットスクリーニングに適用可能なアッセイを含む。

該アッセイは、タンパク質 - タンパク質結合アッセイ、生化学的スクリーニングアッセイ、イムノアッセイ、及び細胞ベースのアッセイで、この分野で知られたものを含む種々の方式で実施される。

アンタゴニストについての全てのアッセイは、それらが候補薬をここで同定された核酸にコードされるPROポリペプチドと、これら2つの成分が相互作用するのに十分な条件下及び時間で接触させることを必要とすることにおいて共通する。

【0201】

結合アッセイにおいて、相互作用は結合であり、形成された複合体は単離されるか、又は反応混合物中で検出される。特別な実施態様では、ここに同定された遺伝子にコードされるPROポリペプチド又は候補薬が、共有又は非共有結合により固相、例えばマイクロタイタープレートに固定化される。非共有結合は、一般的に固体表面をポリペプチドの溶液で被覆し乾燥させることにより達成される。あるいは、固定化されるPROポリペプチドに特異的な固定化抗体、例えばモノクローナル抗体を、それを固体表面に固着させるために用いることができる。アッセイは、固定化成分、例えば固着成分を含む被覆表面に、検出可能な標識で標識されていてもよい非固定化成分を添加することにより実施される。反応が完了したとき、未反応成分を例えば洗浄により除去し、固体表面に固着した複合体を検出する。最初の非固定化成分が検出可能な標識を有している場合、表面に固定化された標識の検出は複合体形成が起こったことを示す。最初の非固定化成分が標識を持たない場合は、複合体形成は、例えば、固定化された複合体に特異的に結合する標識抗体によって検出できる。

【0202】

候補化合物が相互作用するがここに同定した遺伝子にコードされる特定のPROポリペプチドに結合しない場合、そのポリペプチドとの相互作用は、タンパク質 - タンパク質相互作用を検出するために良く知られた方法によってアッセイすることができる。そのようなアッセイは、架橋、同時免疫沈降、及び勾配又はクロマトグラフィカラムを通す同時精製などの伝統的な手法を含む。さらに、タンパク質 - タンパク質相互作用は、Fields及び共同研究者ら [Fields及びSong, Nature(London) 340, 245-246 (1989); Chienら, Proc.Natl. Acad. Sci. USA 88, 9578-9582 (1991)] に記載された酵母菌ベースの遺伝子系を用いることにより、Chevray及びNathans [Proc.Natl. Acad. Sci. USA 89, 5789-5793 (1991)] に開示されている酵母菌ベースの系を用いて監視することができる。酵母菌GAL4などの多くの転写活性化剤は、2つの物理的に別個のモジュラードメインからなり、一方はDNA結合ドメインとして作用し、他方は転写活性化ドメインとして機能する。以前の文献に記載された酵母菌発現系（一般に「2-ハイブリッド系」と呼ばれる）は、この特性の長所を利用して、2つのハイブリッドタンパク質を用い、一方では標的タンパク質がGAL4のDNA結合ドメインに融合し、他方では、候補となる活性化タンパク質が活性化ドメインに融合している。GAL1-lacZリポーター遺伝子のGAL4活性化プロモーターの制御下での発現は、タンパク質 - タンパク質相互作用を介したGAL4活性の再構成に依存する。相互作用するポリペプチドを含むコロニーは、 β -ガラクトシダーゼに対する色素生産性物質で検出される。2-ハイブリッド技術を用いた2つの特定なタンパク質間のタンパク質 - タンパク質相互作用を同定するための完全なキット（MATCHMAKER(商品名)）は、Clontechから商業的に入手可能である。この系は、特定のタンパク質相互作用に含まれるタンパク質ドメインのマッピング、並びにこの相互作用にとって重要なアミノ酸残基の特定にも拡張することができる。

【0203】

ここで同定されたPROポリペプチドをコードする遺伝子と細胞内又は細胞外成分との相

10

20

30

40

50

相互作用を阻害する化合物は、次のように試験できる：通常は反応混合物は、遺伝子産物と細胞外又は細胞内成分を、それら2つの生成物が相互作用及び結合する条件下及び時間を含むように調製される。候補化合物が結合を阻害する能力を試験するために、反応は試験化合物の不存在及び存在下で実施される。さらに、プラシーボを第3の反応混合物に添加してポジティブ対照を提供してもよい。混合物中に存在する試験化合物と細胞内又は細胞外成分との結合（複合体形成）は上記のように監視される。試験化合物を含有する反応混合物ではなく対照反応における複合体の形成は、試験化合物が試験化合物とその結合パートナーとの相互作用を阻害することを示す。

アンタゴニストを検定するために、PROポリペプチドを特定の活性についてスクリーニングする化合物とともに添加してよく、PROポリペプチド存在下での対象とする活性を阻害する化合物の能力が化合物がPROポリペプチドのアンタゴニストであることを示す。あるいは、アンタゴニストは、PROポリペプチド及び膜結合PROポリペプチドレセプター又は組換えレセプターを持つ潜在的アンタゴニストを、競合的阻害アッセイに適した条件下で結合させることにより検出してもよい。PROポリペプチドは、放射活性等で標識でき、レセプターに結合したPROポリペプチドの数を潜在的アンタゴニストの有効性を決定するのに使用できる。レセプターをコードする遺伝子は、当業者に知られた多くの方法、例えばリガンドパンニング及びFACSソートにより同定できる。Coliganら、Current Protocols in Immun., 1(2): Chapter 5 (1991)。好ましくは、発現クローニングが用いられ、ポリアデニル化RNAがPROポリペプチドに反応性の細胞から調製され、このRNAから生成されたcDNAライブラリがプールに分配され、COS細胞又はPROポリペプチド反応性でない他の細胞の形質移入に使用される。スライドガラスで成長させた形質移入細胞を標識したPROポリペプチドに暴露する。PROポリペプチドは、ヨウ素化又は部位特異的タンパク質キナーゼの認識部位の包含を含む種々の手段で標識できる。固定及びインキュベーションの後、スライドにオートラジオグラフィ分析を施す。ポジティブプールを同定し、相互作用サブプール化及び再スクリーニングプロセスを用いてサブプールを調製して再形質移入し、結果的に推定レセプターをコードする単一のクローンを生成する。

【0204】

レセプター同定の代替的方法として、標識下PROポリペプチドをレセプター分子を発現する細胞膜又は抽出調製物に光親和性結合させることができる。架橋材料はPAGEに溶解させ、X線フィルムに暴露する。レセプターを含む標識複合体を励起し、ペプチド断片に分離し、タンパク質マイクロ配列決定を施すことができる。マイクロ配列決定から得たアミノ酸配列は、推定レセプターをコードする遺伝子を同定するcDNAライブラリをスクリーニングする分解性オリゴヌクレオチドプローブの組の設計に用いられる。

アンタゴニストの他の検定では、レセプターを発現する哺乳動物細胞又は膜調製物を、候補化合物の存在下で標識PROポリペプチドとともにインキュベートする。次いで、この相互作用を促進又は阻止する化合物の能力を測定する。

潜在的なアンタゴニストのより特別な例は、免疫グロブリンとPROポリペプチドとの融合体に結合するオリゴヌクレオチド、特に、限られないが、ポリペプチド-及びモノクローナル抗体及び抗体断片、一本鎖抗体、抗-イディオタイプ抗体、及びこれらの抗体又は断片のキメラ又はヒト化形態、並びにヒト抗体及び抗体断片を含む抗体を含んでいる。あるいは、潜在的アンタゴニストは、密接に関連したタンパク質、例えば、レセプターを認識するが効果を与えず、従ってPROポリペプチドの作用を競合的に阻害するPROポリペプチドの変異形態であってもよい。

【0205】

他の潜在的なPROポリペプチドアンタゴニストは、アンチセンス技術を用いて調製されたアンチセンスRNA又はDNA作成物であり、例えば、アンチセンスRNA又はDNAは、標的mRNAにハイブリダイゼーションしてタンパク質翻訳を妨害することによりmRNAの翻訳を直接阻止するように作用する。アンチセンス技術は、トリプルヘリックス形成又はアンチセンスDNA又はRNAを通して遺伝子発現を制御するのに使用でき、それらの方法はともに、ポリペプチドヌクレオチドのDNA又はRNAへの結合に基づく。例えば、ここでの成熟PROポリペ

プチドをコードするポリペプチドヌクレオチド配列の5'コード化部分は、約10から40塩基対長のアンチセンスRNAオリゴヌクレオチドの設計に使用される。DNAオリゴヌクレオチドは、転写に含まれる遺伝子の領域に相補的であるように設計され(トリプルヘリックス - Leeら, Nucl. Acid Res., 6: 3073 (1979); Cooneyら, Science, 241: 456 (1988); Dervanら, Science, 251: 1360 (1991)参照)、それによりP R Oポリペプチドの転写及び生成を防止する。アンチセンスRNAオリゴヌクレオチドはインビボでmRNAにハイブリダイゼーションをし、mRNA分子のP R Oポリペプチドへの翻訳を阻止する(アンチセンス - Okano, Neurochem., 56: 560 (1991); Oligodeoxynucleotides as Antisense Inhibitors of Gene Expression (SRS Press: Boca Raton, FL, 1988))。上記のオリゴヌクレオチドは、細胞に輸送され、アンチセンスRNA又はDNAをインビボで発現させて、P R Oポリペプチドの生産を阻害することもできる。アンチセンスDNAが用いられる場合、翻訳開始部位、例えば標的遺伝子ヌクレオチド配列の-10から+10位置の間から誘導されるオリゴデオキシリボヌクレオチドが好ましい。

10

潜在的アンタゴニストは、P R Oポリペプチドの活性部位、レセプター結合部位、又は成長因子又は他の関連結合部位に結合し、それによりP R Oポリペプチドの正常な生物学的活性を阻止する小分子を含む。小分子の例は、これらに限られないが、小型ペプチド又はペプチド様分子、好ましくは可溶性ペプチド、及び合成非ペプチド有機又は無機化合物を含む。

【0206】

リボザイムは、RNAの特異的切断を触媒できる酵素的RNA分子である。リボザイムは、相補的標的RNAへの配列特異的ハイブリダイゼーション、次いでヌクレオチド鎖切断の切断により作用する。潜在的RNA標的内の特異的リボザイム切断部位は、既知の技術で同定できる。更なる詳細は、例えば、Rossi, Current Biology 4: 469-471 (1994)及びPCT公報、番号WO 97/33551 (1997年9月18日公開)を参照。

20

転写阻害に用いられるトリプルヘリックス形成における核酸分子は一本鎖でデオキシヌクレオチドからなる。これらのオリゴヌクレオチドの基本組成は、フーグスチン塩基対則を介するトリプルヘリックス形成を促進するように設計され、それは一般に二重鎖の一方の鎖上のプリン又はピリミジンのサイズ変更可能な伸展を必要とする。さらなる詳細は、例えば、PCT公報、番号WO 97/33551, 上掲を参照。

これらの小分子は、上記で検討したスクリーニングアッセイの一又は複数の任意のものにより及び/又は当業者に良く知られた他の任意のスクリーニング技術により同定できる。また、ここに開示された分子の使用は、下記に開示及び記載されている陽性機能アッセイヒットに基づいてよい。

30

【0207】

F. 抗-P R O抗体

本発明は、さらに抗-P R O抗体を提供するものである。抗体の例としては、ポリクローナル、モノクローナル、ヒト化、二重特異性及びヘテロ抱合体抗体が含まれる。

1. ポリクローナル抗体

抗-P R O抗体はポリクローナル抗体を含む。ポリクローナル抗体の調製方法は当業者に知られている。哺乳動物においてポリクローナル抗体は、例えば免疫化剤、及び所望するのであればアジュバントを、一又は複数回注射することで発生させることができる。典型的には、免疫化剤及び/又はアジュバントを複数回皮下又は腹腔内注射により、哺乳動物に注射する。免疫化剤は、P R Oポリペプチド又はその融合タンパク質を含みうる。免疫化剤を免疫化された哺乳動物において免疫原性が知られているタンパク質に抱合させるのが有用である。このような免疫原タンパク質の例は、これらに限られないが、キーホールリンペットヘモシアニン、血清アルブミン、ウシサイログロブリン及び大豆トリプシンインヒビターが含まれる。使用され得るアジュバントの例には、フロイント完全アジュバント及びMPL-TDMアジュバント(モノホスホリル脂質A、合成トレハロースジコリノミコラート)が含まれる。免疫化プロトコールは、過度の実験なく当業者により選択されるであろう。

40

50

【 0 2 0 8 】

2 . モノクローナル抗体

あるいは、抗-PRO抗体はモノクローナル抗体であってもよい。モノクローナル抗体は、Kohler及びMilstein, Nature, 256:495 (1975)に記載されているようなハイブリドーマ法を使用することで調製することができる。ハイブリドーマ法では、マウス、ハムスター又は他の適切な宿主動物を典型的には免疫化剤により免疫化することで、免疫化剤に特異的に結合する抗体を生成するかあるいは生成可能なリンパ球を誘発する。また、リンパ球をインビトロで免疫化することもできる。

免疫化剤は、典型的には対象とするPROポリペプチド又はその融合タンパク質を含む。一般にヒト由来の細胞が望まれる場合には末梢血リンパ球(「PBLs」)が使用され、あるいは非ヒト哺乳動物源が望まれている場合は、脾臓細胞又はリンパ節細胞が使用される。次いで、ポリエチレングリコール等の適当な融合剤を用いてリンパ球を不死化株化細胞と融合させ、ハイブリドーマ細胞を形成する[Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, Academic Press, (1986) pp. 59-103]。不死化株化細胞は、通常は、形質転換した哺乳動物細胞、特に齧歯動物、ウシ、及びヒト由来の骨髄腫細胞である。通常、ラット又はマウスの骨髄腫株化細胞が使用される。ハイブリドーマ細胞は、好ましくは、未融合の不死化細胞の生存又は成長を阻害する一又は複数の物質を含有する適切な培地で培養される。例えば、親細胞が、酵素のヒポキサンチングアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ(HGPRT又はHPRT)を欠いていると、ハイブリドーマの培地は、典型的には、ヒポキサチン、アミノプチリン及びチミジンを含み(「HAT培地」)、この物質がHGPRT欠乏性細胞の増殖を阻止する。

好ましい不死化株化細胞は、効率的に融合し、選択された抗体生成細胞による安定した高レベルの抗体発現を支援し、HAT培地のような培地に対して感受性である。より好ましい不死化株化細胞はマウス骨髄腫株であり、これは例えばカリフォルニア州サンディエゴのSalk Institute Cell Distribution Centerやメリーランド州ロックビルのアメリカン・タイプ・カルチャー・コレクションより入手可能である。ヒトモノクローナル抗体を生成するためのヒト骨髄腫及びマウス-ヒト異種骨髄腫株化細胞も開示されている[Kozbor, J. Immunol., 133:3001 (1984)、Brodeurら, Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, Marcel Dekker, Inc., New York, (1987) pp. 51-63]。

次いでハイブリドーマ細胞が培養される培養培地を、PROに対するモノクローナル抗体の存在について検定する。好ましくは、ハイブリドーマ細胞によって生成されたモノクローナル抗体の結合特異性は免疫沈降又はラジオイムノアッセイ(RIA)や酵素結合免疫測定法(ELISA)等のインビトロ結合検定法によって測定する。このような技術及びアッセイは、当該分野において公知である。モノクローナル抗体の結合親和性は、例えばMunson及びPollard, Anal. Biochem., 107:220 (1980)によるスキャッチャード分析法によって測定することができる。

【 0 2 0 9 】

所望のハイブリドーマ細胞が同定された後、クローンを制限希釈プロセスによりサブクローニングし、標準的な方法で成長させることができる[Goding, 上掲]。この目的のための適当な培地には、例えば、ダルベッコの改変イーグル培地及びRPMI-1640培地が含まれる。あるいは、ハイブリドーマ細胞は哺乳動物においてインビボで腹水として成長させることもできる。

サブクローンによって分泌されたモノクローナル抗体は、例えばプロテインA-セファロース法、ヒドロキシルアパタイトクロマトグラフィー法、ゲル電気泳動法、透析法又はアフィニティークロマトグラフィー等の従来の免疫グロブリン精製方法によって培養培地又は腹水液から単離又は精製される。

また、モノクローナル抗体は、組換えDNA法、例えば米国特許第4,816,567号に記載された方法により作成することができる。本発明のモノクローナル抗体をコードするDNAは、常套的な方法を用いて(例えば、マウス抗体の重鎖及び軽鎖をコードする遺伝子に特異的に結合可能なオリゴヌクレオチドプローブを使用して)、容易に単離し配列決定することが

10

20

30

40

50

できる。本発明のハイブリドーマ細胞はそのようなDNAの好ましい供給源となる。ひとたび単離されたら、DNAは発現ベクター内に配することができ、これが宿主細胞、例えばサルCOS細胞、チャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞、あるいは免疫グロブリンタンパク質を生成等しない骨髓腫細胞内に形質移入され、組換え宿主細胞内でモノクローナル抗体の合成をすることができる。また、DNAは、例えば相同マウス配列に換えてヒト重鎖及び軽鎖定常ドメインのコード配列を置換することにより[米国特許第4,816,567号; Morrisonら, 上掲]、又は免疫グロブリンコード配列に非免疫グロブリンポリペプチドのコード配列の一部又は全部を共有結合することにより修飾することができる。このような非免疫グロブリンポリペプチドは、本発明の抗体の定常ドメインに置換でき、あるいは本発明の抗体の1つの抗原結合部位の可変ドメインに置換でき、キメラ性二価抗体を生成する。抗体は一価抗体であってもよい。一価抗体の調製方法は当該分野においてよく知られてる。例えば、一つの方法は免疫グロブリン軽鎖と修飾重鎖の組換え発現を含む。重鎖は一般的に、重鎖の架橋を防止するようにFc領域の任意の点で切断される。あるいは、関連するシステイン残基を他のアミノ酸残基で置換するか欠失させて架橋を防止する。一価抗体の調製にはインビトロ法がまた適している。抗体の消化による、その断片、特にFab断片の生成は、当該分野において知られている慣用的技術を使用して達成できる。

【0210】

3. ヒト及びヒト化抗体

本発明の抗-P R O抗体は、さらにヒト化抗体又はヒト抗体を含む。非ヒト(例えばマウス)抗体のヒト化形とは、キメラ免疫グロブリン、免疫グロブリン鎖あるいはその断片(例えばFv、Fab、Fab'、F(ab')₂あるいは抗体の他の抗原結合サブ配列)であって、非ヒト免疫グロブリンに由来する最小配列を含むものである。ヒト化抗体はレシピエントの相補性決定領域(CDR)の残基が、マウス、ラット又はウサギのような所望の特異性、親和性及び能力を有する非ヒト種(ドナー抗体)のCDRの残基によって置換されたヒト免疫グロブリン(レシピエント抗体)を含む。幾つかの例では、ヒト免疫グロブリンのFvフレームワーク残基は、対応する非ヒト残基によって置換されている。また、ヒト化抗体は、レシピエント抗体にも、移入されたCDRもしくはフレームワーク配列にも見出されない残基を含んでいてもよい。一般に、ヒト化抗体は、全てあるいはほとんど全てのCDR領域が非ヒト免疫グロブリンのものに対応し、全てあるいはほとんど全てのFR領域がヒト免疫グロブリンコンセンサス配列のものである、少なくとも1つ、典型的には2つの可変ドメインの実質的に全てを含む。ヒト化抗体は、最適には免疫グロブリン定常領域(Fc)、典型的にはヒトの免疫グロブリンの定常領域の少なくとも一部を含んでなる[Jonesら, Nature, 321:522-525 (1986); Riechmannら, Nature, 332:323-329 (1988); 及びPresta, Curr. Op Struct. Bio l., 2:593-596 (1992)]。

非ヒト抗体をヒト化する方法はこの分野でよく知られている。一般的に、ヒト化抗体には非ヒト由来の一又は複数のアミノ酸残基が導入される。これら非ヒトアミノ酸残基は、しばしば、典型的には「移入」可変ドメインから得られる「移入」残基と称される。ヒト化は基本的に齧歯動物のCDR又はCDR配列でヒト抗体の該当する配列を置換することによりウィンター(winter)及び共同研究者[Jonesら, Nature, 321:522-525 (1986); Riechmannら, Nature, 332:323-327 (1988); Verhoeyenら, Science, 239:1534-1536 (1988)]の方法に従って、齧歯類CDR又はCDR配列をヒト抗体の対応する配列に置換することにより実施される。よって、このような「ヒト化」抗体は、無傷のヒト可変ドメインより実質的に少ない分が非ヒト種由来の対応する配列で置換されたキメラ抗体(米国特許第4,816,567号)である。実際には、ヒト化抗体は典型的には幾つかのCDR残基及び場合によっては幾つかのFR残基が齧歯類抗体の類似する部位からの残基によって置換されたヒト抗体である。

また、ヒト抗体は、ファージ表示ライブラリ[Hoogenboom及びWinter, J. Mol. Biol., 227:381 (1992); Marksら, J. Mol. Biol., 222:581 (1991)]を含むこの分野で知られた種々の方法を用いて作成することもできる。また、Coleら及びBoernerらの方法も、ヒトモノクローナル抗体の調製に利用することができる[Coleら, Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, p.77(1985)及びBoernerら, J. Immunol., 147(1):86

10

20

30

40

50

-95(1991)]。同様に、ヒト抗体はヒト免疫グロブリン座位をトランスジェニック動物、例えば内在性免疫グロブリン遺伝子は部分的又は完全に不活性化されたマウスに導入することにより産生することができる。投与の際に、遺伝子再配列、組立、及び抗体レパートリーを含むあらゆる観点においてヒトに見られるものに非常に類似しているヒト抗体の生産が観察される。このアプローチは、例えば米国特許第5,545,807号；同第5,545,806号；同第5,569,825号；同第5,625,126号；同第5,633,425号；同第5,661,016号、及び次の科学文献：Marksら，Bio/Technology 10, 779-783 (1992)；Lonbergら，Nature 368 856-859 (1994)；Morrison, Nature 368, 812-13 (1994)；Fishwildら，Nature Biotechnology 14, 845-51 (1996)；Neuberger, Nature Biotechnology 14, 826 (1996)；Lonberg及びHuszar, Intern. Rev. Immunol. 13 65-93 (1995)に記載されている。

10

【 0 2 1 1 】

4 . 二重特異性抗体

二重特異性抗体は、少なくとも2つの異なる抗原に対して結合特異性を有するモノクローナル抗体、好ましくはヒトもしくはヒト化抗体である。本発明の場合において、結合特異性の一方はPROに対してであり、他方は任意の他の抗原、好ましくは細胞表面タンパク質又はレセプター又はレセプターサブユニットに対してである。

二重特異性抗体を作成する方法は当該技術分野において周知である。伝統的には、二重特異性抗体の組換え生産は、二つの重鎖が異なる特異性を持つ二つの免疫グロブリン重鎖／軽鎖対の同時発現に基づく[Milstein及びCuello, Nature, 305:537-539 (1983)]。免疫グロブリンの重鎖と軽鎖を無作為に取り揃えるため、これらハイブリドーマ(クアドローマ)は10種の異なる抗体分子の潜在的混合物を生成し、その内一種のみが正しい二重特異性構造を有する。正しい分子の精製は、アフィニティークロマトグラフィープロセスによって通常達成される。同様の手順が1993年5月13日公開のW093/08829、及びTrauneckerら，EMBO J., 10:3655-3656 (1991)に開示されている。

20

所望の結合特異性(抗体-抗原結合部位)を有する抗体可変ドメインを免疫グロブリン定常ドメイン配列に融合できる。融合は、好ましくは少なくともヒンジ部、CH2及びCH3領域の一部を含む免疫グロブリン重鎖定常ドメインとのものである。少なくとも一つの融合には軽鎖結合に必要な部位を含む第一の重鎖定常領域(CH1)が存在することが望ましい。免疫グロブリン重鎖融合をコードするDNA、及び望むのであれば免疫グロブリン軽鎖を、別々の発現ベクターに挿入し、適当な宿主生物に同時形質移入する。二重特異性抗体を作成するための更なる詳細については、例えばSureshら，Methods in Enzymology, 121:210(1986)を参照されたい。

30

【 0 2 1 2 】

WO 96/27011に記載された他の方法によれば、一对の抗体分子間の界面を操作して組換え細胞培養から回収される異種二量体の割合を最大にすることができる。好適な界面は抗体定常ドメインのCH3領域の少なくとも一部を含む。この方法では、第1抗体分子の界面からの一又は複数の小さいアミノ酸側鎖がより大きな側鎖(例えばチロシン又はトリプトファン)と置き換えられる。大きな側鎖と同じ又は類似のサイズの相補的「キャビティ」を、大きなアミノ酸側鎖を小さいもの(例えばアラニン又はスレオニン)と置き換えることにより第2の抗体分子の界面に作り出す。これにより、ホモダイマーのような不要の他の最終産物に対してヘテロダイマーの収量を増大させるメカニズムが提供される。

40

二重特異性抗体は、全長抗体又は抗体断片(例えば、F(ab')₂二重特異性抗体)として調製できる。抗体断片から二重特異性抗体を産生する技術もまた文献に記載されている。例えば、化学結合を使用して二重特異性抗体を調製することができる。Brennanら，Science, 229:81 (1985)は無傷の抗体をタンパク分解性に切断してF(ab')₂断片を産生する手順を記述している。これらの断片は、ジチオール錯体形成剤亜硫酸ナトリウムの存在下で還元して近接ジチオールを安定化させ、分子間ジスルフィド形成を防止する。産生されたFab'断片はついでチオニトロベンゾアート(TNB)誘導体に転換される。Fab'-TNB誘導体の一つをついでメルカプトエチルアミンでの還元によりFab'-チオールに再転換し、他のFab'-TNB誘導体の等モル量と混合して二重特異性抗体を形成する。作られた二重特異性抗体は

50

酵素の選択的固定化用の薬剤として使用することができる。

大腸菌からFab'フラグメントを直接回収でき、これは化学的に結合して二重特異性抗体を形成することができる。Shalabyら, J. Exp. Med., 175:217-225 (1992)は完全にヒト化された二重特異性抗体F(ab')₂分子の製造を記述している。各Fab'フラグメントは大腸菌から別個に分泌され、インビトロで定方向化学共役を受けて二重特異性抗体を形成する。このようにして形成された二重特異性抗体は、正常なヒトT細胞及びErbB2レセプターを過剰発現する細胞に結合可能で、ヒト乳房腫瘍標的に対するヒト細胞障害性リンパ球の細胞溶解活性の誘因となる。

【0213】

組換え細胞培養から直接的に二重特異性抗体断片を作成し分離する様々な方法もまた記述されている。例えば、二重特異性抗体はロイシンジッパーを使用して生産されている。Kostelnyら, J. Immunol. 148(5):1547-1553 (1992)。Fos及びJunタンパク質からのロイシンジッパーペプチドを遺伝子融合により二つの異なった抗体のFab'部分に結合させる。抗体ホモダイマーをヒンジ領域で還元してモノマーを形成し、ついで再酸化して抗体ヘテロダイマーを形成する。この方法はまた抗体ホモダイマーの生産に対して使用することができる。Hollingerら, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:6444-6448 (1993)により記述された「ダイアボディ」技術は二重特異性抗体断片を作成する別のメカニズムを提供した。断片は、同一鎖上の2つのドメイン間の対形成を可能にするには十分に短いリンカーにより軽鎖可変ドメイン(V_L)に重鎖可変ドメイン(V_H)を結合してなる。従って、一つの断片のV_H及びV_Lドメインは他の断片の相補的V_L及びV_Hドメインと強制的に対形成させられ、2つの抗原結合部位を形成する。単鎖Fv(sFv)ダイマーの使用により二重特異性抗体断片を製造する他の方策もまた報告されている。Gruberら, J. Immunol. 152:5368 (1994)を参照されたい。

二価より多い抗体も考えられる。例えば、三重特異性抗体を調製することができる。Tuttlら J. Immunol. 147:60(1991)。

例示的な二重特異性抗体は、ここに与えられたPROポリペプチドの2つの異なるエピートープに結合しうる。あるいは、抗-PROポリペプチドのアームは、特定のPROポリペプチド発現細胞に細胞防御メカニズムを集中させるように、T細胞レセプター分子(例えばCD2、CD3、CD28、又はB7)等の白血球上のトリガー分子又はFcγRI(CD64)、FcγRII(CD32)及びFcγRIII(CD16)等のIgG(FcγR)に対するFcレセプターに結合するアームと結合しうる。また、二重特異性抗体は特定のPROポリペプチドを発現する細胞に細胞毒性薬を局在化させるためにも使用されうる。これらの抗体はPRO結合アーム及び細胞毒性薬又は放射性キレート化剤、例えばEOTUBE、DPTA、DOTA、又はTETAと結合するアームを有する。興味の対象となる他の二重特異性抗体はPROポリペプチドに結合し、そしてさらに組織因子(TF)に結合する。

【0214】

5. ヘテロ抱合体抗体

ヘテロ抱合体抗体もまた本発明の範囲に入る。ヘテロ抱合体抗体は、2つの共有結合した抗体からなる。このような抗体は、例えば、免疫系細胞を不要な細胞に対してターゲティングさせるため[米国特許第4,676,980号]及びHIV感染の治療のために[WO 91/00360; WO 92/200373; EP 03089]提案されている。この抗体は、架橋剤に関連したものを含む合成タンパク化学における既知の方法を使用して、インビトロで調製することができると考えられる。例えば、ジスルフィド交換反応を使用するか又はチオエーテル結合を形成することにより、免疫毒素を作成することができる。この目的に対して好適な試薬の例には、イミノチオレート及びメチル-4-メルカプトブチリミデート、及び例えば米国特許第4,670,980号に開示されているものが含まれる。

6. エフェクター機能の加工

本発明の抗体をエフェクター機能について改変し、例えば癌治療における抗体の有効性を向上させるのが望ましい。例えば、システイン残基をFc領域に導入し、それにより、この領域に鎖間ジスルフィド結合を形成させるようにしてもよい。そのようにして生成された

10

20

30

40

50

同種二量体抗体は、向上した内部移行能力及び／又は増加した補体媒介細胞殺傷及び抗体-依存性細胞性細胞毒性 (ADCC) を有しうる。Caronら, J. Exp. Med. 176: 1191-1195 (1992) 及び Shopes, B. J. Immunol. 148: 2918-2922 (1992) 参照。向上した抗腫瘍活性を持つ同種二量体抗体はまた、Wolffら, Cancer research 53: 2560-2565 (1993) に記載されたような異種二官能性架橋を用いても調製しうる。あるいは、抗体は、2つのFc領域を有するように加工して、それにより補体溶解及びADCC能力を向上させることもできる。Stevensonら, Anti-Cancer Drug Design 3: 219-230 (1989) 参照。

【 0 2 1 5 】

7 . 免疫複合体

本発明はまた、化学治療薬、毒素 (例えば、細菌、真菌、植物又は動物由来の酵素活性毒素、又はその断片) などの細胞毒性薬、あるいは放射性同位体 (即ち、放射性抱合) に抱合された抗体を含む免疫複合体にも関する。

このような免疫複合体の生成に有用な化学治療薬は上記した。用いることのできる酵素活性毒素及びその断片は、ジフテリア A 鎖、ジフテリア毒素の非結合活性断片、(緑膿菌からの) 外毒素 A 鎖、リシン A 鎖、アブリン A 鎖、モデクシン (modeccin) A 鎖、アルファ-サルシン、アレウリテス・フォーディ (Aleurites fordii) タンパク質、ジアンチン (dianthin) タンパク質、フィトラカ・アメリカナ (Phytolacca americana) タンパク質 (PAPI、PAPII、及び PAP-S)、モモルディカ・チャランチア (momordica charantia) インヒビター、クルシン (curcin)、クロチン (crotin)、サパオナリア・オフィシナリス (sapaonaria officinalis) インヒビター、ゲロニン (gelonin)、ミトゲリン (mitogellin)、レストリクトシン (restricocin)、フェノマイシン (phenomycin)、エノマイシン (enomycin) 及びトリコセシン (tricothecene) を含む。様々な放射性ヌクレオチドが放射性抱合抗体の生成に利用可能である。例として、 ^{212}Bi 、 ^{131}I 、 ^{131}In 、 ^{90}Y 及び ^{186}Re を含む。

抗体及び細胞毒性薬の複合体は、種々の二官能性タンパク質カップリング剤、例えば、N-スクシンイミジル-3-(2-ピリジルジチオール) プロピオネート (SPDP)、イミノチオラン (IT)、イミドエステルの二官能性誘導体 (ジメチルアジピミデート HCL 等)、活性エステル (ジスクシンイミジルスベレート等)、アルデヒド (グルタルアルデヒド等)、ビス-アジド化合物 (ビス(p-アジドベンゾイル)ヘキサンジアミン等)、ビス-ジアゾニウム誘導体 (ビス-(p-ジアゾニウムベンゾイル)-エチレンジアミン等)、ジイソシアネート (トリエン2,6-ジイソシアネート等)、及びビス-活性フッ素化合物 (1,5-ジフルオロ-2,4-ジニトロベンゼン等) を用いて作成できる。例えば、リシン免疫毒素は、Vitettaら, Science 238: 1098 (1987) に記載されたように調製することができる。カーボン-14-標識1-イソチオシアナトベンジル-3-メチルジエチレントリアミン五酢酸 (MX-DTPA) は、放射性ヌクレオチドの抗体への抱合のためのキレート剤の例である。WO 94/11026 参照。

他の実施態様では、腫瘍の予備標的化で使用するために、抗体は「レセプター」(ストレプトアビジン等) に抱合されてもよく、抗体-レセプター複合体は患者に投与され、次いで清澄化剤を用いて未結合複合体を循環から除去し、次に細胞毒性薬 (例えば、放射性ヌクレオチド等) に抱合された「リガンド」(アビジン等) を投与する。

【 0 2 1 6 】

8 . 免疫リポソーム

また、ここに開示する抗体は、免疫リポソームとして調製してもよい。抗体を含むリポソームは、Epsteinら, Proc. Natl. acad. Sci. USA, 82: 3688 (1985); Hwangら, Proc. natl. Acad. Sci. USA, 77: 4030 (1980); 及び米国特許第4,485,045号及び第4,544,545号に記載されたような、この分野で知られた方法で調製される。向上した循環時間を持つリポソームは、米国特許第5,013,556号に開示されている。

特に有用なリポソームは、ホスファチジルコリン、コレステロール及びPEG-誘導ホスファチジルエタノールアミン (PEG-PE) を含む脂質組成物での逆相蒸発法によって生成される。リポソームは、所定サイズのフィルターを通して押し出され、所望の径を有するリポソームが生成される。本発明の抗体のFab'断片は、Martinら, J. Biol. Chem. 257: 286-288 (1982) に記載されているように、ジスルフィド交換反応を介してリポソームに抱

10

20

30

40

50

合され得る。化学治療薬（ドキソルピシン等）は、場合によってはリポソーム内に含まれる。Gabizonら, J. National Cancer Inst. 81(19) 1484 (1989)参照。

【 0 2 1 7 】

9 . 抗体の製薬組成物

ここで同定される P R Oポリペプチドに特異的に結合する抗体、並びに上記に開示したスクリーニングアッセイで同定された他の分子は、種々の疾患の治療のために、製薬組成物の形態で投与することができる。

P R Oポリペプチドが細胞内であり、全抗体が阻害剤として用いられる場合、内在化抗体が好ましい。しかし、リポフェクション又はリポソームも抗体、又は抗体断片を細胞に導入するのに使用できる。抗体断片が用いられる場合、標的タンパク質の結合ドメインに特異的に結合する最小阻害断片が好ましい。例えば、抗体の可変領域配列に基づいて、標的タンパク質配列に結合する能力を保持したペプチド分子が設計できる。このようなペプチドは、化学的に合成でき、又は組換えDNA技術によって生成できる。例えば、Marascoら, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90, 7889-7893 (1993)参照。

ここでの製剤は、治療すべき特定の徴候に必要な場合に 1 以上の活性化合物、好ましくは互いに悪影響を及ぼさない相補的活性を持つものも含んでよい。あるいは、又はそれに加えて、組成物は、細胞毒性薬、サイトカイン又は成長阻害剤を含んでもよい。これらの分子は、適切には、意図する目的に有効な量の組み合わせで存在する。

また、活性成分は、例えばコアセルベーション技術により又は界面重合により調製されたマイクロカプセル、例えば、各々ヒドロキシメチルセルロース又はゼラチン-マイクロカプセル及びポリ(メタクリル酸メチル)マイクロカプセル中、コロイド状薬物送達系(例えば、リポソーム、アルブミン小球、マイクロエマルジョン、ナノ粒子及びナノカプセル)中、又はマイクロエマルジョン中に包括されていてもよい。これらの技術は、上掲の Remington's Pharmaceutical Scienceに開示されている。

インピボ投与に使用される製剤は無菌でなければならない。これは、滅菌濾過膜を通した濾過により容易に達成される。

徐放性製剤を調製してもよい。徐放性製剤の好適な例は、抗体を含有する固体疎水性ポリマーの半透性マトリクスを含み、このマトリクスは成形された物品、例えばフィルム、又はマイクロカプセルの形状である。徐放性マトリクスの例は、ポリエステルヒドロゲル(例えば、ポリ(2-ヒドロキシエチル-メタクリレート)又はポリ(ビニルアルコール))、ポリラクチド(米国特許第3,773,919号)、L-グルタミン酸及びγ-エチル-L-グルタメート、非分解性エチレン-酢酸ビニル、LUPRON DEPOT(商品名)(乳酸-グリコール酸コポリマーと酢酸リユープロリドの注射可能な小球)などの分解性乳酸-グリコール酸コポリマー、ポリ-(D)-3-ヒドロキシブチル酸を含む。エチレン-酢酸ビニル及び乳酸-グリコール酸などのポリマーは分子を100日に渡って放出することができるが、ある種のヒドロゲルはより短時間でタンパク質を放出してしまう。カプセル化された抗体が身体内に長時間残ると、それらは37 の水分に露出されることにより変性又は凝集し、その結果、生物学的活性の低下及び起こりうる免疫原性の変化をもたらす。合理的な方法は、含まれる機構に依存する安定化について工夫することができる。例えば、凝集機構がチオ-ジスルフィド交換を通した分子間S-S結合形成であると発見された場合、安定化はスルフヒドリル残基の修飾、酸性溶液からの凍結乾燥、水分含有量の制御、適切な添加剤の付加、及び特異的ポリマーマトリクス組成物の開発によって達成されうる。

【 0 2 1 8 】

G . 抗-P R O抗体の用途

本発明の抗-P R O抗体は様々な有用性を有している。例えば、抗-P R O抗体は、P R Oの診断アッセイ、例えばその特定細胞、組織、又は血清での発現の検出に用いられる。競合的結合アッセイ、直接又は間接サンドウィッチアッセイ及び不均一又は均一相で行われる免疫沈降アッセイ[Zola, Monoclonal Antibodies: A Manual of Techniques, CRC Press, Inc. (1987) pp. 147-158]等のこの分野で知られた種々の診断アッセイ技術が使用される。診断アッセイで用いられる抗体は、検出可能な部位で標識される。検出可能な部

位は、直接又は間接に、検出可能なシグナルを発生しなければならない。例えば、検出可能な部位は、 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{32}P 、 ^{35}S 又は ^{125}I 等の放射性同位体、フルオレセインイソチオシアネート、ローダミン又はルシフェリン等の蛍光又は化学発光化合物、あるいはアルカリホスファターゼ、 β -ガラクトシダーゼ又はセイヨウワサビペルオキシダーゼ等の酵素であってよい。抗体に検出可能な部位を抱合させるためにこの分野で知られた任意の方法が用いられ、それにはHunterら *Nature*, 144:945 (1962) ; Davidら, *Biochemistry*, 13: 1014 (1974) ; Painら, *J. Immunol. Meth.*, 40:219 (1981) ; 及びNygren, *J. Histochem. and Cytochem.*, 30:407 (1982)に記載された方法が含まれる。

また、抗-P R O抗体は組換え細胞培養又は天然供給源からのP R Oのアフィニティー精製にも有用である。この方法においては、P R Oに対する抗体を、当該分野でよく知られている方法を使用して、セファデックス樹脂や濾紙のような適当な支持体に固定化する。次に、固定化された抗体を、精製するP R Oを含む試料と接触させた後、固定化された抗体に結合したP R O以外の試料中の物質を実質的に全て除去する適当な溶媒で支持体を洗浄する。最後に、P R Oを抗体から脱離させる他の適当な溶媒で支持体を洗浄する。以下の実施例は例示するためにのみ提供されるものであって、本発明の範囲を決して限定することを意図するものではない。

本明細書で引用した全ての特許及び参考文献の全体を、出典明示によりここに取り込む。

【0219】

(実施例)

実施例で言及されている全ての市販試薬は、特に示さない限りは製造者の使用説明に従い使用した。ATCC登録番号により以下の実施例及び明細書全体を通して特定されている細胞の供給源はアメリカン・タイプ・カルチャー・コレクション、マナサス、バージニアである。

【0220】

実施例1：新規なポリペプチド及びそれをコードするcDNAを同定するための細胞外ドメイン相同性スクリーニング

Swiss-Prot公的データベースからの約950の既知の分泌タンパク質からの細胞外ドメイン(ECD)配列(あれば、分泌シグナル配列を含む)を、ESTデータベースの検索に使用した。ESTデータベースは、公的データベース(例えば、Dayhoff、GenBank)及び企業のデータベース(例えば、LIFESEQ(商品名)、Incyte Pharmaceuticals、Palo Alto, CA)を含む。検索は、コンピュータプログラムBLAST又はBLAST-2(Altschulら, *Methods in Enzymology* 266: 460-480 (1996))を用いて、ECDタンパク質配列のEST配列の6フレーム翻訳との比較として実施した。既知のタンパク質をコードせず、BLASTスコア70(90の場合もある)又はそれ以上を持つ比較物は、プログラム「phrap」(Phil Green, University of Washington, Seattle, WA)で集団化してコンセンサスDNA配列に構築した。

この細胞外ドメイン相同性スクリーニングを用いて、phrapを用いて他の同定されたEST配列に対してコンセンサスDNA配列を構築した。さらに、得られたコンセンサスDNA配列を、しばしば(常にではない)BLAST又はBLAST-2及びphrapの繰り返しサイクルを用いて伸長し、コンセンサス配列を上で議論したEST配列の供給源を用いて可能な限り伸長させた。

上記のように得られたコンセンサス配列に基づいて、次いでオリゴヌクレオチドを合成し、PCRにより対象とする配列を含むcDNAライブラリを同定するため、及びP R Oポリペプチドの全長コード化配列のクローンを単離するプローブとして用いるために使用した。正方向及び逆方向PCRプライマーは一般的に20から30ヌクレオチドの範囲であり、しばしば約100-1000bp長のPCR産物を与えるために設計される。プローブ配列は、典型的に40-55bp長である。或る場合には、コンセンサス配列が約1-1.5kbpより大きいときに付加的なオリゴヌクレオチドが合成される。全長クローンについて幾つかのライブラリをスクリーニングするために、ライブラリからのDNAを、Ausubelら, *Current Protocols in Molecular Biology*, のように、PCRプライマー対でのPCRによりスクリーニングした。ポジティブライブラリを、次いで、プローブオリゴヌクレオチド及びプライマー対の一方を用いて対象とする遺伝子をコードするクローンの単離するのに使用した。

10

20

30

40

50

cDNAクローンの単離に用いたcDNAライブラリは、Invitrogen, San Diego, CAからのもの等の市販試薬を用いて標準的な方法によって作成した。cDNAは、NotI部位を含むオリゴdTでプライムし、平滑末端でSalIヘミキナーゼアダプターに結合させ、NotIで切断し、ゲル電気泳動でおよそのサイズ分類し、そして適切なクローニングベクター（pRKB又はpRKD等；pRK5BはSfiI部位を含まないpRK5Dの前駆体である；Holmesら, Science, 253: 1278-1280 (1991)参照）に、独特のXhoI及びNotI部位において、所定の方向でクローニングした。

【 0 2 2 1 】

実施例 2：アミラーゼスクリーニングによる c D N A クローンの単離

1．オリゴdTプライムcDNAライブラリの調製

mRNAを対象とするヒト組織からInvitrogen, San Diego, CAからの試薬及びプロトコールを用いて単離した（Fast Track 2）。このRNAを、Life Technologies, Gaithersburg, MD (Super Script Plasmid system)からの試薬及びプロトコールを用いるベクターpRK5DにおけるオリゴdTプライムしたcDNAの生成に使用した。この方法において、二本鎖cDNAは1000bpを越えるサイズ分類し、SalI/NotI結合cDNAをXhoI/NotI切断ベクターにクローニングした。pRK5Dを、sp6転写開始部位、それに続くSfiI制限酵素部位、さらにXhoI/NotI cDNAクローニング部位を持つベクターにクローニングした。

2．ランダムプライムcDNAライブラリの調製

一次cDNAクローンの5' 末端を好ましく表現するために二次cDNAライブラリを作成した。Sp6 RNAを（上記の）一次ライブラリから生成し、このRNAを、ベクターpSST-AMY.0におけるLife Technologies（上で参照したSuper Script Plasmid System）からの試薬及びプロ値コールを用いたランダムプライムしたcDNAライブラリの生成に使用した。この方法において、二本鎖cDNAを500-1000bpにサイズ分類し、平滑末端でNotIアダプターに結合させ、SfiI部位で切断し、そしてSfiI/NotI切断ベクターにクローニングした。pSST-AMY.0は、cDNAクローニング部位の前に酵母アルコールデヒドロゲナーゼプロモータ、及びクローニング部位の後にマウスアミラーゼ配列（分泌シグナルを持たない成熟配列）に次いでアルコールデヒドロゲナーゼ転写終結区を有するクローニングベクターである。即ち、アミラーゼ配列でフレームに融合するこのベクターにクローニングされたcDNAは、適当に形質移入された酵母コロニーからのアミラーゼの分泌を導くであろう。

【 0 2 2 2 】

3．形質転換及び検出

上記 2 パラグラフに記載したライブラリからのDNAを氷上で冷却し、それにエレクトロコンピテントDH10B細菌（Life Technoligies、20ml）を添加した。細菌及びベクターの混合物は、次いで製造者に推奨されているように電気穿孔した。次いで、SOC培地（Life Technologies、1ml）を添加し、この号物を37℃で30分間インキュベートした。形質転換体は、次いでアンピシリンを含む20標準150mmLBプレートに蒔き、16時間インキュベートした（37℃）。ポジティブコロニーをプレートから廃棄し、細菌ペレットから標準的な方法、例えばCsCl-勾配を用いてDNAを単離した。精製DNAは、次いで以下の酵母プロトコールにのせた。

酵母方法は3つの範疇に分けられる：（1）酵母のプラスミド/cDNA結合ベクターでの形質転換；（2）アミラーゼを分泌する酵母クローンの検出及び単離；及び（3）酵母コロニーから直接的な挿入物のPCR増幅及び配列決定及びさらなる分析のためのD N Aの精製。

用いた酵母菌株はHD56-5A（ATCC-90785）であった。この株は以下の遺伝子型：MATアルファ、ura3-52、leu2-3、leu2-112、his3-11、his3-15、MAL⁺、SUC⁺、GAL⁺を有する。好ましくは、不完全な翻訳後経路を持つ酵母変異体を用いることができるが、。このような変異体は、sec71、sec72、sec62に転位不全対立遺伝子を持つが、切断されたsec71が最も好ましい。あるいは、これらの遺伝子の正常な操作を阻害するアンタゴニスト（アンチセンスヌクレオチド及び/又はリガンドを含む）、この翻訳後経路に含まれる他のタンパク質（例えば、SEC61p、SEC72p、SEC62p、SEC63p、TDJ1p、SSA1p-4p）又はこれらのタンパク質の複合体形成も、アミラーゼ発現酵母と組み合わせ好ましく用いられる。

形質転換は、Gietzら, Nucl. Acid. Res., 20: 1425 (1992)に概略が記されたプロトコールに基づいて実施された。形質転換細胞は、次いで寒天からYEPD複合培地プロス(100ml)に播種し、30 で終夜成長させた。YEPDプロスは、Kaiserら, Methods in Yeast Genetics, Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, NY, p. 207 (1994)に記載されているように調製した。終夜培地は、次いで新鮮なYEPDプロス(500ml)中におよそ 2×10^6 細胞/ml(約 $OD_{600} = 0.1$)に希釈し、 1×10^7 細胞/ml(約 $OD_{600} = 0.4-0.5$)まで再成長させた。

次いで細胞を収穫し、5,000rpmで5分間のSorval GS3 ローターのGS3ローターボトルに移し、上清を捨て、次いで無菌水に再懸濁することにより形質転換のために調製し、そして50mlのファルコン管内で、Beckman GS-6KR遠心機において3,500rpmで再度遠心分離した。上清を捨て、細胞をLiAc/TE(10ml, 10mMのトリス-HCl, 1mMのEDTA pH7.5, 100mMの Li_2OOCCH_3)で続けて洗浄し、LiAc/TE(2.5ml)中に再懸濁させた。

【0223】

形質転換は、マイクロチューブ内で、調製した細胞(100 μ l)を新鮮な変性一本鎖サケ精子DNA(Lofstrand Labs, Gaithersburg, MD)及び形質転換DNA(1 μ g vol. <10 μ l)と混合することにより起こした。混合物はボルテックスにより簡単に混合し、次いで40%PEG/TE(600 μ l, 40%のポリエチレングリコール-4000, 10mMのトリス-HCl, 1mMのEDTA, 100mMの Li_2OOCCH_3 , pH 7.5)を添加した。この混合物を緩く攪拌し、30 で攪拌しながら30分間インキュベートした。次いで細胞に42 で15分間熱衝撃を与え、反応容器をマイクロチューブ内で12,000rpmで5-10秒間遠心分離し、デカント及びTE(500 μ l, 10mMのトリス-HCl, 1mMのEDTA pH 7.5)への再懸濁に次いで遠心分離した。

次いで、細胞をTE(1ml)中に希釈し、アリコート(200 μ l)を150mm成長プレート(VWR)に予め調製した選択培地に広げた。

あるいは、複数の少量反応ではなく、形質転換を1回の大規模反応で実施したが、しゃくの量はしかるべくスケールアップした。

用いた選択培地は、Kaiserら, Methods in Yeast Genetics, Cold Spring Harbor press, Cold Spring Harbor, NY, p. 208-210 (1994)に記載されているように調製したウラシルを欠く合成完全デキストロース寒天(SCD-Ura)であった。形質転換体は30 で2-3日成長させた。

アミラーゼを分泌するコロニーの検出は、選択成長培地における赤色デンプンの包含により実施した。Bielyら, Anal. Biochem., 172: 176-179 (1988)に記載された方法に従って、デンプンを赤色染料(反応性 Red-120, Sigma)に結合させた。結合したデンプンをSCD-Ura寒天プレートに最終濃度0.15%(w/v)で導入し、リン酸カリウムでpH7.0に緩衝した(最終濃度50-100mM)。

ポジティブコロニーを拾って新鮮な選択培地(150mmプレート)に画線し、良好に単離され同定可能な単一コロニーを得た。アミラーゼ分泌についてポジティブな良好に単離されたコロニーは、緩衝SCD-Ura寒天への赤色団分の直接導入により検出した。ポジティブコロニーは、デンプンを分解して、ポジティブコロニーの周囲に直接目視できる量を形成する能力により決定した。

【0224】

4. PCR増幅によるDNAの単離

ポジティブコロニーが単離された場合、その一部を楊枝で拾い、96ウェルプレートにおいて無菌水(30 μ l)に希釈した。この時点で、ポジティブコロニーは凍結して次の分析のために保存するか、即座に増幅するかのいずれかである。細胞のアリコート(5 μ l)を、0.5 μ lのKlentaq(Clontech, Palo Alto, CA); 4.0 μ lの10mM dNTP(Perkin Elmer-Cetus); 2.5 μ lのKentaqバッファー(Clontech); 0.25 μ lの正方向オリゴ1; 0.25 μ lの逆方向オリゴ2; 12.5 μ lの蒸留水を含有する25 μ l容量におけるPCR反応のテンプレートとして使用した。正方向オリゴヌクレオチド1の配列は:

5'-TGTAACACGACGCCAGTTAAATAGACCTGCAATTATTAATCT-3'(配列番号:3)

であった。

逆方向オリゴヌクレオチド 2 の配列は：

5' - CAGGAAACAGCTATGACCACCTGCACACCTGCAAATCCATT -3' (配列番号：4)

であった。

次いで、PCR は以下の通り実施した：

- | | | |
|-------------|------|----------|
| a. | 変性 | 92℃、5分間 |
| b. 次の3サイクル | 変性 | 92℃、30秒間 |
| | アニール | 59℃、30秒間 |
| | 伸長 | 72℃、60秒間 |
| c. 次の3サイクル | 変性 | 92℃、30秒間 |
| | アニール | 57℃、30秒間 |
| | 伸長 | 72℃、60秒間 |
| d. 次の25サイクル | 変性 | 92℃、30秒間 |
| | アニール | 55℃、30秒間 |
| | 伸長 | 72℃、60秒間 |
| e. | 保持 | 4℃ |

10

下線を施した領域は、各々ADHプロモーター領域及びアミラーゼ領域にアニールリングされ、挿入物が存在しない場合はベクターpSST-AMY.0からの307bp領域を増幅する。典型的には、これらのオリゴヌクレオチドの5'末端の最初の18ヌクレオチドは、配列プライマーのアニールリング部位を含んでいた。即ち、空のベクターからのPCR反応の全生成物は343bpであった。しかしながら、シグナル配列融合cDNAは、かなり長いヌクレオチド配列をも

20

たらしめた。PCRに続いて、反応のアリコート(5μl)を、上掲のSambrook等に記載されたように1%アガロースゲル中でトリス-ホウ酸塩-EDTA(TBE)緩衝系を用いたアガロースゲル電気泳動により試験した。400bpより大きな単一で強いPCR産物をもたらすクローンを、96 Qiaquick PCR 清浄化カラム(Quagen Inc., Charsworth, CA)での精製の後にDNA配列によりさらに分析した。

【0225】

実施例3：シグナルアルゴリズム分析を用いたcDNAクローンの単離

種々のポリペプチド-コード化核酸配列は、ジェネンテック、インク(South San Francisco, CA)によって開発された独自の配列発見アルゴリズムを、公的(例えば、GenBank)及び/又は個人的(LIFESEQ(登録商標)、Incyte Pharmaceuticals, Inc., Palo Alto, CA)データベースからのESTs並びに同データベースから集団化及び組み立てられたEST断片へ適用することにより同定した。シグナル配列アルゴリズムは、考慮している配列又は配列断片の5'-末端の第1の、場合によっては第2のメチオニンコドン(ATG)を取り囲むDNAヌクレオチドの文字に基づく分泌シグナルスコアを計算する。第1のATGに続くヌクレオチドは、停止コドンを持たない少なくとも35の不明瞭でないアミノ酸をコードしなければならない。第1のATGが必要なアミノ酸を有する場合、第2のものは試験しない。何れも要件を満たさない場合、候補配列にスコアをつけなかった。EST配列が真正のシグナル配列を含むか否かを決定するために、ATGコドンを取り囲むDNA及び対応するアミノ酸配列を、分泌シグナルに関連することが知られた7つのセンサー(評価パラメータ)の組を用いてスコアをつけた。このアルゴリズムの使用により、多くのポリペプチド-コード化核酸配列の同定がなされた。

30

40

【0226】

実施例4：ヒトPRO1484をコードするcDNAクローンの単離

上記実施例1に記載したように、phrapを用いて他のESTに対してコンセンサスDNA配列が構築された。このコンセンサス配列を、ここでDNA39616と命名する。DNA39616コンセンサス配列に基づいて、1)PCRにより対象とする配列を含むcDNAライブラリを同定するため、及び2)PRO1484の全長コード化配列のクローンを単離するプローブとして使用するために、オリゴヌクレオチドを合成した。

PCRプライマー(正及び逆方向)が合成された：

50

正方向 P C R プライマー (39616.f1) 5' -GCAACAATGGAGCCACTGGTCATG -3'

(配列番号 : 5)

逆方向 P C R プライマー (39616.r1) 5' -GCAAAGGTGGAGAAGCGTTGGTGG -3'

(配列番号 : 6)

さらに、合成オリゴヌクレオチドハイブリダイゼーションプローブが、下記のヌクレオチド配列を有するコンセンサス D N A 3 9 6 1 6 配列から構築された。

ハイブリダイゼーションプローブ (39616.p1)

5' -CCCACTTCAGCAATCAGAACAGTGGGATTATCTTTCAGCAGTGTGTTGAGACC -3'

(配列番号 : 7)

全長クローンの供給源について幾つかのライブラリをスクリーニングするために、ライブラリからのDNAを上記で同定したPCRプライマー対でPCR増幅した。次いで、ポジティブライブラリを、プローブオリゴヌクレオチド及びP C R プライマー対の一方を用いてP R O 1 4 8 4 遺伝子をコードするクローンを単離するのに使用した。cDNAライブラリー作成のためのRNAはヒト胎児腎臓組織から単離した。

上記のように単離したクローンのD N A 配列決定によって、P R O 1 4 8 4 (D N A 4 4 6 8 6 - 1 6 5 3 とここにおいて命名[F i g 1、配列番号 : 1] ; (U N Q 7 5 3)) の全長DNA配列及びP R O 1 4 8 4 の誘導タンパク質配列が得られた。

D N A 4 4 6 8 6 - 1 6 5 3 の全コード配列をF i g 1 (配列番号 : 1) に示す。クローンD N A 4 4 6 8 6 - 1 6 5 3 は、ヌクレオチド位置77-79の見かけの翻訳開始部位及びヌクレオチド位置815-817の停止コドンに伴うヌクレオチド位置77-79に単一のオープンリーディングフレームを含む(F i g 1)。予測されるポリペプチド前駆体は246アミノ酸長である(F i g 2)。F i g 2 に示されている全長P R O 1 4 8 4 タンパク質は、26,994 daltons見積もり分子量と約6.43のpIを有する。F i g 2 (配列番号 : 2) に示されている全長P R O 1 4 8 4 配列の分析は、次の存在を明らかにしている：約アミノ酸1から約アミノ酸22のシグナルペプチド、約アミノ酸137から約アミノ酸167のC1qドメイン及びF i g 2 に示されているようなC1qドメイン含有タンパク質に対して相同性を有する種々のアミノ酸ブロック。クローンD N A 4 4 6 8 6 - 1 6 5 3 は、1999年1月12日にATCCへ寄託され、ATCC寄託番号203581が与えられた。

F i g 2 (配列番号 : 2) に示した全長配列のWU-BLAST2配列アラインメント分析法を使用し、Dayhoffデータベース(バージョン35.45 SwissProt 35) の分析により、P R O 1 4 8 4 アミノ酸配列と以下のDayhoff配列：P_W09108, CA1A_HUMAN, C1QC_HUMAN, HUM C1QB2_1, COLE_LEPMA, MMU32107_1, CAS4_EPHMU, A57131, A41207及びCERL_RATとの間の顕著な相同性が明らかになった。

【 0 2 2 7 】

実施例 5 : ヒトP R O 4 3 3 4 をコードするcDNAクローンの単離

上記の実施例 3 に記載したシグナル配列アルゴリズムの使用は、IncyteデータベースからのESTクラスター配列の同定を可能にした。次いでこのESTクラスター配列を、公的データベース(例えば、GenBank) 及び独自に開発したEST DNAデータベース(LIFESeq(商品名)、Incyte Pharmaceuticals、Palo Alto, CA) を含む種々の発現配列タグ(EST) データベースと比較して、存在する相同性を同定した。相同体検索は、コンピュータプログラムBLAST又はBLAST2(Altschul及びGish, Methods in Enzymology 266: 460-480 (1996)) を用いて実施した。公知のタンパク質をコードせず、BLASTスコア70(90の場合もある) 又はそれ以上を持つ比較物は、プログラム「phrap」(Phil Green, University of Washington, Seattle, Washington) で集団化してコンセンサスDNA配列を構築した。そこから得られたコンセンサス配列を、ここでD N A 5 6 4 2 1 と命名する。

D N A 5 6 4 2 1 コンセンサス配列とIncyteのESTクローン番号3347532に含まれるEST配列との間の観察された配列相同性に鑑みて、Incyteクローンを購入し、cDNA挿入物を得て配列決定した。このcDNA挿入物の配列をF i g 3 に示し、ここでD N A 5 9 6 0 8 - 2 5 7 7 と命名する。

F i g 3 に示されている全長クローンは、ヌクレオチド位置83-85の見かけの翻訳開始部

10

20

30

40

50

位とヌクレオチド位置1404-1406の停止コドンに伴う単一のオープンリーディングフレームを含む (F i g 3 ; 配列番号 : 8) 。予測されるポリペプチド前駆体は (F i g 4 , 配列番号 : 9) 440アミノ酸長である。P R O 4 3 3 4 は、約50,211の計算上の分子量及び約8.29の p I を有する。

F i g 4 (配列番号 : 9) に示した全長配列のWU-BLAST-2配列アラインメント分析を用いたDayhoffデータベース (バージョン35.45 SwissProt 35) の分析により、P R O 4 3 3 4 アミノ酸配列及びここに具体化した以下のDayhoff配列 : AB020686_1, PC1_HUMAN, P_R79148, PC1_MOUSE, RNU78788_1, RATPDIB_1, P_W75859, AC005587_1, P_R86595及びPPD1_BOVINとの間の相同性を明らかにした。

クローン D N A 5 9 6 0 8 - 2 5 7 7 は、1999年3月23日にATCCへ寄託され、ATCC寄託番号203870を与えられた。

【 0 2 2 8 】

実施例 6 : ヒト P R O 1 1 2 2 をコードするcDNAクローンの単離

発現された配列タグ (EST) DNAデータベース (LIFESEQ (商品名) 、 Incyte Pharmaceuticals, Palo Alto, CA) を検索して、ESTを同定した。ESTは、ここにおいて D N A 4 9 6 6 5 とも呼ばれる Incyte1347523であった。D N A 4 9 6 6 5 に基づいて、: 1) 対象となる配列を含むcDNAライブラリーのPCRによる同定、及び2) P R O 1 1 2 2 の全長コード化配列のクローンを単離するためのプローブとして使用するために、オリゴヌクレオチドが合成された。

PCRプライマーの対 (正及び逆) を合成した :

正方向PCRプライマー 5'-ATCCACAGAAGCTGGCCTTCGCCG-3' (配列番号 : 12)

逆方向PCRプライマー 5'-GGGACGTGGATGAACTCGGTGTGG-3' (配列番号 : 13)

さらに、次の核酸配列から合成オリゴヌクレオチドハイブリダイゼーションプローブを作成した。

ハイブリダイゼーションプローブ

5'-TATCCACAGAAGCTGGCCTTCGCCGAGTGCCTGTGCAGAG-3' (配列番号 : 14)

全長クローンの供給源について幾つかのライブラリーをスクリーニングするために、ライブラリーからのDNAを上で同定したPCRプライマー対でPCR増幅した。次いで、ポジティブライブラリーを、プローブオリゴヌクレオチド及びPCRプライマー対の一方を用いて P R O 1 1 2 2 遺伝子をコードするクローンを単離するのに使用した。cDNAライブラリー作成

のためのRNAは、ヒト胎児腎臓組織 (LIB228) から単離した。上記のように単離したクローンのDNA配列は、P R O 1 1 2 2 の全長DNA配列 [ここで、D N A 6 2 3 7 7 - 1 3 8 1) と命名される] (配列番号 : 1 0) 及び P R O 1 1 2 2 の誘導タンパク質配列を与えた。

D N A 6 2 3 7 7 - 1 3 8 1 の全核酸配列を F i g 5 (配列番号 : 1 0) に示す。クローン D N A 6 2 3 7 7 - 1 3 8 1 は、単一のオープンリーディングフレームを含み、配列番号10のヌクレオチド位置50-52に見かけの翻訳開始部位を持ち、そしてヌクレオチド位置641-643の停止コドンで終端する (F i g 5) 。予測されるポリペプチド前駆体は197アミノ酸長である (F i g 6) 。F i g 6 に示した全長 P R O 1 1 2 2 タンパク質は、約21,765ダルトンの見積もり分子量及び約8.53のpIを有する。クローン D N A 6 2 3 7 7 - 1 3 8 1 は、1998年12月22日にATCCに寄託された。寄託されたクローンが真の核酸配列を有し、そしてここに提供されたその配列が既知のシーケンシング技術に基づいていることは理解されている。

全長 P R O 1 1 2 2 ポリペプチドのアミノ酸配列の分析は、それがCTLA_8及びIL-17類似性を有することを示唆し、それにより P R O 1 1 2 2 が新規なサイトカインとなりうることを示されている。より詳細には、Dayhoffデータベース (version 35.45 SwissProt 35) は、P R O 1 1 2 2 アミノ酸配列と以下のDayhoff配列、P-W13651, VG13_HSVSA, 及びCEF25D1_1との間の有意な相同性を明らかにした。

【 0 2 2 9 】

実施例 7 : ヒト P R O 1 8 8 9 をコードするcDNAクローンの単離

上記実施例 1 に記載したphrapを使用してコンセンサス配列が他のEST配列に対して構築された。このコンセンサス配列をここでDNA 49310と命名する。DNA 49310コンセンサス配列とIncyte ESTクローン番号2779436内に含まれるEST配列との間の観察された配列類似性を基にして、Incyte ESTクローン番号2779436を購入し、その挿入断片を得て、配列決定した。その挿入断片の配列をFig 7に示し、ここでDNA 77623 - 2524と命名する。

DNA 77623 - 2524の全ヌクレオチド配列はFig 7 (配列番号: 15) に示される。クローンDNA 77623 - 2524は、単一のオープンリーディングフレームを含み、ヌクレオチド位置39-41に見かけの翻訳開始部位を持ち、そしてヌクレオチド位置330-332の見かけの停止コドンで終端する (Fig 7)。予測されるポリペプチド前駆体は97アミノ酸長である (Fig 8)。Fig 8に示した全長PRO1889タンパク質は約10,160ダルトンの推定分子量及び約6.56のpIを有する。Fig 8 (配列番号: 16) に示す全長PRO1889配列の分析により次のものの存在が証明される: 約アミノ酸1から約アミノ酸20のシグナルペプチド、約アミノ酸6から約アミノ酸11及び約アミノ酸33から約アミノ酸38の潜在的なN - ミリスチル化部位及び約アミノ酸24から約アミノ酸34及び約アミノ酸78から約アミノ酸88の原核生物膜リポタンパク質付着部位。クローンDNA 77623 - 2524は1998年12月22日にATCCに寄託され、ATCC寄託番号203546が付与された。

Fig 8 (配列番号: 16) に示した全長配列のWU-BLAST2配列アラインメント分析法を使用しての、Dayhoffデータベース (バージョン35.45 SwissProt 35) の分析により、PRO1889アミノ酸配列と以下のDayhoff配列: HSE48ATGN_1, P_W06292, AB012293_1, THYB_MOUSE, P_R70984, CHKSCA2A_1, P_W61628, I48639, BMBUNGKP4_1及びUPAR_HUMANとの間の有意な相同性が証明された。

【0230】

実施例 8: ヒトPRO1890をコードするcDNAの単離

コンセンサスDNA配列が、実施例 1 に記載したようにBLAST及びプログラム「phrap」の繰り返しサイクルを用いて他のEST配列に対して構築された。このコンセンサス配列を、ここで「DNA 52162」と命名する。DNA 52162コンセンサス配列に基づいて、オリゴヌクレオチドが: 1) 対象となる配列を含んだcDNAライブラリーをPCRによって同定するため、及び2) PRO1890のための全長コード化配列のクローンを同定するためのプローブとして利用するために合成された。

PCRプライマー (正及び逆方向) が合成された:

正方向PCRプライマー (52162.f1)

5' -CACCAACCAACTGCCAATCCTGGC-3' (配列番号: 19)

逆方向PCRプライマー (52162.r1)

5' -ACCACATTCTGATGGGTGTCTCCTGG-3' (配列番号: 20)

さらには、合成オリゴヌクレオチドハイブリダイゼーションプローブは、以下のヌクレオチド配列を有するコンセンサスDNA 52162配列から構築された。

ハイブリダイゼーションプローブ (52162.p1)

5' -GGGTCCTACCTTTACCAGTGGAATGATGACAGGTGAACATGAAGCAC-3'

(配列番号: 21)

cDNAライブラリーの構築のためのRNAは、ヒト胎児腎組織から単離された。

上記に記載の単離されたクローンのDNAシーケンシングは、PRO1890 (ここにおいてDNA 79230 - 2525 [Fig 9, 配列番号: 17]; (UNQ872)) のための全長DNA配列及びPRO1890の誘導タンパク質配列を与えた。

DNA 79230 - 2525の全ヌクレオチド配列はFig 9 (配列番号: 17) に示される。クローンDNA 79230 - 2525は、単一のオープンリーディングフレームを含み、ヌクレオチド位置378 - 380に見かけの翻訳開始部位を持ち、そしてヌクレオチド位置1197-1199の見かけの停止コドンで終端する (Fig 9)。予測されるポリペプチド前駆体は273アミノ酸長である (Fig 10)。Fig 10に示した全長PRO1890タ

10

20

30

40

50

ンパク質は約30,431ダルトンの推定分子量及び約6.79のpIを有する。F i g 1 0 (配列番号: 1 8) に示す全長 P R O 1 8 9 0 配列の分析により次のものの存在が証明される: 約アミノ酸1から約アミノ酸21のシグナルペプチド、約アミノ酸214から約アミノ酸235の膜貫通ドメイン、約アミノ酸86から約アミノ酸89及び約アミノ酸255から約アミノ酸258の潜在的な N - グリコシル化部位、約アミノ酸266から約アミノ酸269の c A M P - 及び c G M P - 依存性プロテインキナーゼリン酸化部位及び約アミノ酸27から約アミノ酸32、約アミノ酸66から約アミノ酸71、約アミノ酸91から約アミノ酸96、約アミノ酸93から約アミノ酸98、約アミノ酸140から約アミノ酸145、及び約アミノ酸212から約アミノ酸217の潜在的な N - ミリスチル化部位。クローン D N A 7 9 2 3 0 - 2 5 2 5 は1998年12月22日にATCCに寄託され、ATCC寄託番号203549が付与された。

10

F i g 1 0 (配列番号: 1 8) に示した全長配列のWU-BLAST2配列アラインメント分析法を使用しての、Dayhoffデータベース(バージョン35.45 SwissProt 35)の分析により、P R O 1 8 9 0 アミノ酸配列と以下のDayhoff配列: AF093673_1, P_W44118, AB014609_1, AC005254_1, AF026547_1, LEC2_MEGRO, PGCV_HUMAN, GEN12667, P_R06331及びCELF52E1_9との間の有意な相同性が証明された。

【 0 2 3 1 】

実施例 9 : ヒト P R O 1 8 8 7 をコードするcDNAクローンの単離

コンセンサスDNA配列が、実施例 1 に記載したようにphrapを用いて他のEST配列に対して構築された。このコンセンサス配列を、ここで「D N A 4 3 0 4 1」と命名する。このコンセンサス配列に基づいて、オリゴヌクレオチドが: 1) 対象となる配列を含んだcDNAライブラリーをPCRによって同定するため、及び2) P R O 1 8 8 7 のための全長コード化配列のクローンを同定するためのプローブとして利用するために合成された。

20

PCRプライマー(正及び逆方向)が合成された:

正方向PCRプライマー: 5'-GCAAAGCTCTGCCTCCTTGGCC-3'(配列番号: 24);

及び

逆方向PCRプライマー: 5'-GGGTGGACTGTGCTCTAATGGACGC-3'(配列番号: 25)、及

び

5'-CGTGGCACTGGGTTGATC-3'(配列番号: 26)。

さらには、合成オリゴヌクレオチドハイブリダイゼーションプローブは、以下のヌクレオチド配列を有するコンセンサス D N A 4 3 0 4 1 配列から構築された。

30

ハイブリダイゼーションプローブ:

5'-GATGCAGTTCTGGTCAGAGACGCTCCCCAGCAAGATACAACAGTG-3'(配列番号: 27)

全長クローンの源のための幾つかのライブラリーをスクリーンするために、ライブラリーからのDNAは、上記に同定されたPCRプライマー対を伴うPCR増幅によってスクリーンされた。そして、陽性ライブラリーは、プローブオリゴヌクレオチド及びPCRプライマーのひとつを使用した P R O 1 8 8 7 遺伝子をコードするクローンを単離するために使用された。cDNAライブラリーの構築のためのRNAは、ヒト骨髄から単離された。

上記に記載されたような単離されたクローンのDNAシーケンシングは、ここにおいて「D N A 7 9 8 6 2 - 2 5 2 2」(F i g 1 1; 配列番号: 2 2)と命名された P R O 1 8 8 7 のための全長DNA配列及び P R O 1 8 8 7 の誘導タンパク質配列を与えた。

40

D N A 7 9 8 6 2 - 2 5 2 2 の全ヌクレオチド配列は F i g 1 1 (配列番号: 2 2) に示される。クローン D N A 7 9 8 6 2 - 2 5 2 2 は、単一のオープンリーディングフレームを含み、ヌクレオチド位置6-8に見かけの翻訳開始部位を持ち、そしてヌクレオチド位置1719-1721の見かけの停止コドンで終端する。予測されるポリペプチド前駆体は571アミノ酸長である。F i g 1 2 に示した全長 P R O 1 8 8 7 タンパク質は約62,282ダルトンの推定分子量及び約5.56のpIを有する。P R O 1 8 8 7 タンパク質の付加的特徴は、約アミノ酸1から約アミノ酸27のシグナルペプチド; 約アミノ酸226から約アミノ酸245の膜貫通ドメイン; 約アミノ酸105から約アミノ酸108の潜在的な N - グリコシル化部位; 約アミノ酸10-15、49-54、62-67、86-91、150-155、155-160、162-167、217-222、227-232、228-233、232-237、262-267、257-362、及び461-466の N - ミリスチル化部位; 約アミノ酸12-2

50

2の原核生物膜リポタンパク質脂質付着部位；及び約アミノ酸216-231のカルボキシエステラーゼB型セリン活性化部位、を含む。

Fig 12（配列番号：23）に示した全長配列のWU-BLAST2配列アラインメント分析法を使用しての、Dayhoffデータベース（バージョン35.45 SwissProt 35）の分析により、PRO1887アミノ酸配列とDayhoff配列ESTM_MOUSEの間に有意な相同性を明らかにした。相同性は、PRO1887アミノ酸配列と以下のDayhoff配列：D50579_1, I61085, EST1_HUMAN, GEN12405, P_W39078, GEN13248, P_R58980, A31800_1, 及びP_R45189との間にも見出された。

クローンDNA79862-2522は1998年12月22日にATCCに寄託され、ATCC寄託番号203550が付与された。

10

【0232】

実施例10：ヒトPRO1785をコードするcDNAクローンの単離

コンセンサスDNA配列が、実施例1に記載したようにphrapを用いて他のEST配列に対して構築された。このコンセンサス配列を、ここで「DNA35718」と命名する。このコンセンサス配列に基づいて、オリゴヌクレオチドが：1）対象となる配列を含んだcDNAライブラリーをPCRによって同定するため、及び2）PRO1785のための全長コード化配列のクローンを同定するためのプローブとして利用するために合成された。

PCRプライマー（正及び逆方向）が合成された：

正方向PCRプライマー：5'-ATCCTCCAACATGGAGCCTCTTGC-3'（配列番号：30）；正

方向PCRプライマー：5'-GTATCTTGTC AACCTGAGG-3'（配列番号：31）；及び

逆方向PCRプライマー：5'-TAACCAGAGCTGCTATGTCAGGCC-3'（配列番号：32）；

さらに、合成オリゴヌクレオチドハイブリダイゼーションプローブは、以下のヌクレオチド配列を有するコンセンサスDNA35718配列から構築された。

ハイブリダイゼーションプローブ：

5'-AGGCAAAGTTTCACTAGTTGTAAACGTGGCCAGTGACTGCCAACTCACAG-3'

（配列番号：33）

全長クローンの源のための幾つかのライブラリーをスクリーンするために、ライブラリーからのDNAは、上記に同定されたPCRプライマー対を伴うPCR増幅によってスクリーンされた。そして、陽性ライブラリーは、プローブオリゴヌクレオチド及びPCRプライマーのひとつを使用したPRO1785遺伝子をコードするクローンを単離するために使用された。

20

30

cDNAライブラリーの構築のためのRNAは、大動脈内皮細胞から単離された。上記に記載されたような単離されたクローンのDNAシーケンシングは、PRO1785のための全長DNA配列（ここにおいてDNA80136-2503と命名された[Fig 13、配列番号：28]）とPRO1785の誘導タンパク質配列を与えた。

PRO1785の全長コード化配列は、配列はFig 13（配列番号：28）に示される。クローンDNA80136-2503は、単一のオープンリーディングフレームを含み、配列番号：28のヌクレオチド位置2-4に見かけの翻訳開始部位を持ち、そしてヌクレオチド位置629-631に見かけの停止コドンで終端する。予測されるポリペプチド前駆体は209アミノ酸長である。配列番号29の約アミノ酸1から約アミノ酸31のシグナルペプチド、約アミノ酸18から約アミノ酸37の膜貫通ドメイン及び約アミノ酸104から約アミノ酸111の

40

グルタチオンペルオキシダーゼシグネチャーが存在する。クローンDNA80136-2503はATCCに寄託され、ATCC寄託番号203541を与えられた。Fig 14に示した全長PRO1785タンパク質は約23,909ダルトンの推定分子量及び約9.68のpIを有する。Fig 14（配列番号：29）に示した全長配列のWU-BLAST2配列アラインメント分析法を使用しての、Dayhoffデータベース（バージョン35.45 SwissProt 35）の分析により、PRO1785アミノ酸配列と以下のDayhoff配列：GSHC_SCHMA, P_R44988, AB012395_1, GSHH_HUMAN, AC004151_3, BTUE_ECOLI, GSHC_HUMAN, P_R89910, PWU88907_1, 及びD37916_1との間に配列同一性が見出された。

【0233】

実施例11：ヒトPRO4353をコードするcDNAクローンの単離

50

コンセンサスDNA配列が、実施例 1 に記載したようにBLAST及びプログラム「phrap」の繰り返しサイクルを用いて他のEST配列に関連して構築された。このコンセンサス配列を、ここで「DNA39482」と命名する。DNA39482コンセンサス配列に基づいて、オリゴヌクレオチドが：1) 対象となる配列を含んだcDNAライブラリーをPCRによって同定するため、及び2) PRO4353のための全長コード化配列のクローンを同定するためのプローブとして利用するために合成された。

PCRプライマー（正及び逆方向）が合成された：

正方向PCRプライマー：5'-GAGGACCTACCGCCGACAG-3'（配列番号：36）及び

逆方向PCRプライマー：5'-ATACACCCGAGTACTGCTGGCAG-3'（配列番号：37）

さらに、合成オリゴヌクレオチドハイブリダイゼーションプローブは、以下のヌクレオチド配列を有するコンセンサスDNA39482配列から構築された：

ハイブリダイゼーションプローブ：

5'-AGACAGGGCAGCGGCTGCTGAGCTTGGAGCTGGACGCAGCTT-3'（配列番号：38）

全長クローンの源のための幾つかのライブラリーをスクリーンするために、ライブラリーからのDNAは、上記に同定されたPCRプライマー対を伴うPCR増幅によってスクリーンされた。そして、陽性ライブラリーは、プローブオリゴヌクレオチド及びPCRプライマーのひとつを使用したPRO4353遺伝子をコードするクローンを単離するために使用された。cDNAライブラリーの構築のためのRNAは、大動脈内皮細胞から単離された。

上記に記載されたような単離されたクローンのDNAシーケンシングは、PRO4353のための全長DNA配列（ここにおいてDNA80145-2594と命名された[Fig 15、配列番号：34]）とPRO4353の誘導タンパク質配列を与えた。

PRO4353の全コード化配列はFig 15（配列番号：34）に示される。クローンDNA80145-2594は、単一のオープンリーディングフレームを含み、ヌクレオチド位置19-21に見かけの翻訳開始部位を持ち、そしてヌクレオチド位置2683-2685の見かけの停止コドンで終端する。予測されるポリペプチド前駆体は888アミノ酸長である。クローンDNA80145-2594はATCCに寄託され、ATCC寄託番号204-PTAが付与された。Fig 16に示した全長PRO4353タンパク質は約95,285ダルトンの推定分子量及び約8.89のpIを有する。

Fig 16（配列番号：34）に示した全長配列のWU-BLAST2配列アラインメント分析法を使用しての、Dayhoffデータベース（バージョン35.45 SwissProt 35）の分析は、PRO4353アミノ酸配列と以下のDayhoff配列（ここにおいて取り入れられた配列と文字）P_W19857, AB000776_1, P_W57260, JH0798, P_R71382, CEY54E5B_1, I48747, MUSC1_1, P_R71383及びP_W63748との間の相同性を明らかにした。

【0234】

実施例 12：ヒトPRO4357をコードしているcDNAクローンの単離

コンセンサスDNA配列が、実施例 1 に記載したようなphrapを用いて他のEST配列に関連して構築された。このコンセンサス配列を、ここで「DNA80115」と命名する。DNA80115コンセンサス配列に基づいて、オリゴヌクレオチドが：1) 対象となる配列を含んだcDNAライブラリーをPCRによって同定するため、及び2) PRO4357のための全長コード化配列のクローンを同定するためのプローブとして利用するために合成された。

PCRプライマー（正及び逆方向）が合成された：

正方向PCRプライマー：5'-GAAGGTGGAAATTAAATTCAGGGC-3'（配列番号：41）及び

逆方向PCRプライマー：5'-CGATAAGCTGCTACAGTGCCATCG-3'（配列番号：42）

さらに、合成オリゴヌクレオチドハイブリダイゼーションプローブは、以下のヌクレオチド配列を有するコンセンサスDNA80115配列から構築された：

ハイブリダイゼーションプローブ：

5'-GTGACTGTCTCTGCAAGATAGTGCAGCCTGGCTACGGGA-3'（配列番号：43）

全長クローンの源のための幾つかのライブラリーをスクリーンするために、ライブラリーからのDNAは、上記に同定されたPCRプライマー対を伴うPCR増幅によってスクリーンされ

10

20

30

40

50

た。そして、陽性ライブラリーは、プローブオリゴヌクレオチド及びPCRプライマーのひとつを使用した P R O 4 3 5 7 遺伝子をコードするクローンを単離するために使用された。cDNAライブラリーの構築のためのRNAは、大動脈内皮細胞から単離された。

上記に記載されたような単離されたクローンのDNAシーケンシングは、P R O 4 3 5 7 のための全長DNA配列と P R O 4 3 5 7 の誘導タンパク質配列を与えた。

P R O 4 3 5 7 の全コード化配列は F i g 1 7 (配列番号: 39) に示される。クローン D N A 8 4 9 1 7 - 2 5 9 7 は、単一のオープンリーディングフレームを含み、ヌクレオチド位置286-288に見かけの翻訳開始部位を持ち、そしてヌクレオチド位置1792-1794の見かけの停止コドンで終端する。予測されるポリペプチド前駆体は502アミノ酸長である。クローン D N A 8 4 9 1 7 - 2 5 9 7 はATCCに寄託され、ATCC寄託番号203863が付与された。F i g 1 8 に示した全長 P R O 4 3 5 7 タンパク質は約58,043ダルトンの推定分子量及び約7.94のpIを有する。

F i g 1 8 (配列番号: 40) に示した全長配列のWU-BLAST2配列アラインメント分析法を使用しての、Dayhoffデータベース(バージョン35.45 SwissProt 35)の分析は、P R O 4 3 5 3 アミノ酸配列と以下のDayhoff配列: P_W48804, AF003534_66, ATAC00466519, LPSA_BACNO, GELA_DICDI, EHU70560_1, AF089841_1, ABP2_HMAN, P_W19349及びA49551との間の相同性を明らかにした。

【0235】

実施例13: ヒト P R O 4 4 0 5 をコードするcDNAクローンの単離

コンセンサスDNA配列が、BLAST及びプログラム「phrap」の繰り返しサイクルを用いて他のEST配列に関連して構築された。このコンセンサス配列を、ここで「D N A 8 0 1 7 0」と命名する。D N A 8 0 1 7 0 コンセンサス配列に基づいて、オリゴヌクレオチドが: 1) 対象となる配列を含んだcDNAライブラリーをPCRによって同定するため、及び2) P R O 4 4 0 5 のための全長コード化配列のクローンを同定するためのプローブとして利用するために合成された。

PCRプライマー(正及び逆方向)が合成された:

正方向PCRプライマー: 5'-CGGGACTTTCGCTACCTGTTGC-3' (配列番号: 46) 及び

逆方向PCRプライマー: 5'-CATCATATTCCACAAAATGCTTTGGG-3' (配列番号: 47)

さらに、合成オリゴヌクレオチドハイブリダイゼーションプローブは、以下のヌクレオチド配列を有するコンセンサス配列から構築された:

ハイブリダイゼーションプローブ:

5'-CCTTCGGGGATTCTTCCCGGCTCCCGTTTCGTTCTCTG-3' (配列番号: 48)

全長クローンの源のための幾つかのライブラリーをスクリーンするために、ライブラリーからのDNAは、上記に同定されたPCRプライマー対を伴うPCR増幅によってスクリーンされた。そして、陽性ライブラリーは、プローブオリゴヌクレオチド及びPCRプライマーのひとつを使用した P R O 4 4 0 5 遺伝子をコードするクローンを単離するために使用された。cDNAライブラリーの構築のためのRNAは、ヒト胎児腎臓から単離された。

上記に記載されたような単離されたクローンのDNAシーケンシングは、P R O 4 4 0 5 のための全長DNA配列(ここにおいて D N A 8 4 9 2 0 - 2 6 1 4 と命名された [F i g 1 9、配列番号: 44]) と P R O 4 4 0 5 の誘導タンパク質配列を与えた。

P R O 4 4 0 5 の全コード化配列は F i g 1 9 (配列番号: 44) に示される。クローン D N A 8 4 9 2 0 - 2 6 1 4 は単一のオープンリーディングフレームを含み、ヌクレオチド位置79-81に見かけの翻訳開始部位を持ち、そしてヌクレオチド位置1009-1011の見かけの停止コドンで終端する。予測されるポリペプチド前駆体は310アミノ酸長である。クローン D N A 8 4 9 2 0 - 2 6 1 4 はATCCに寄託され、ATCC寄託番号203966が付与された。F i g 2 0 に示した全長 P R O 4 4 0 5 タンパク質は約33,875ダルトンの推定分子量及び約7.08のpIを有する。

F i g 2 0 (配列番号: 45) に示した全長配列のWU-BLAST2配列アラインメント分析法を使用しての、Dayhoffデータベース(バージョン35.45 SwissProt 35)の分析は、P R O 4 4 0 5 アミノ酸配列と以下のDayhoff配列(ここにおいて包含する配列と関連文): Y

10

20

30

40

50

A93_SCHPO, S62432, YJG_YEAST, AC004472_3, AB004539_7, S64782, CELC27A12_8, AF109219_1, AF086791_10, 及びP_W75859との間の相同性を明らかにした。

【 0 2 3 6 】

実施例 1 4 : ヒト P R O 4 3 5 6 をコードするcDNAの単離

コンセンサス配列が、上記実施例 1 に記載したようにphrapを使用して他のEST配列に関連して構築された。このコンセンサス配列をここで「D N A 8 0 2 0 0」と命名する。D N A 8 0 2 0 0 コンセンサス配列とMerck ESTクローン番号248287内に含まれるEST配列との間の観察された配列類似性を基にして、Merck ESTクローン番号248287を購入し、その挿入断片を得てシーケンシングをし、それによってD N A 8 6 5 7 6 - 2 5 9 5を提供した。

10

P R O 4 3 5 6 の全ヌクレオチド配列はF i g 2 1 (配列番号: 4 9) に示される。クローンD N A 8 6 5 7 6 - 2 5 9 5 は、単一のオープンリーディングフレームを含み、ヌクレオチド位置55-57に見かけの翻訳開始部位を持ち、そしてヌクレオチド位置808-810の見かけの停止コドンで終端する。予測されるポリペプチド前駆体は251アミノ酸長である。クローンD N A 8 6 5 7 6 - 2 5 9 4 はATCCに寄託され、ATCC寄託番号203868が付与された。F i g 2 2 に示した全長P R O 4 3 5 6 タンパク質は約26,935ダルトンの推定分子量及び約7.42のpIを有する。

F i g 2 2 (配列番号: 5 0) に示した全長配列のWU-BLAST2配列アラインメント分析法を使用しての、Dayhoffデータベース(バージョン35.45 SwissProt 35)の分析は、P R O 4 3 5 6 アミノ酸配列と以下のここに取り入れられたDayhoff配列: RNMAGPIAN_1, UPAR_BOVIN, S42152, AF007789_1, UPAR_RAT, UPAR_MOUSE, P_W31165, P_44423 及びP_W26359 との間の相同性が明らかした。

20

【 0 2 3 7 】

実施例 1 5 : ヒト P R O 4 3 5 2 をコードするcDNAクローンの単離

コンセンサスDNA配列が、実施例 1 に記載したようなphrapを用いて他のEST配列に関連して構築された。このコンセンサス配列を、ここで「D N A 8 3 3 9 7」と命名する。D N A 8 3 3 9 7 コンセンサス配列に基づいて、オリゴヌクレオチドが: 1) 対象となる配列を含んだcDNAライブラリーをPCRによって同定するため、及び2) P R O 4 3 5 2 のための全長コード化配列のクローンを同定するためのプローブとして利用するために合成された。

30

PCRプライマー(正及び逆方向)が合成された:

正方向PCRプライマー: 5'-CTGGGGAGTGTCTTGGCAGGTTc-3' (配列番号: 53) 及び逆方向PCRプライマー: 5'-CAGCATACAGGCTCTTTAGGGCACAC-3' (配列番号: 54)。

さらに、合成オリゴヌクレオチドハイブリダイゼーションプローブは、以下のヌクレオチド配列を有するコンセンサスD N A 8 3 3 9 7 配列から構築された:

ハイブリダイゼーションプローブ:

5'-CGGTGACTGAGGAAACAGAGAAAGGATCCTTTGTGGTCAATCTGGC-3' (配列番号: 55)

全長クローンの源のための幾つかのライブラリーをスクリーンするために、ライブラリーからのDNAは、上記に同定されたPCRプライマー対を伴うPCR増幅によってスクリーンされた。そして、陽性ライブラリーは、プローブオリゴヌクレオチド及びPCRプライマーのひとつを使用したP R O 4 3 5 2 遺伝子をコードするクローンを単離するために使用された。cDNAライブラリーの構築のためのRNAは、ヒト胎児脳から単離された。

40

上記に記載されたような単離されたクローンのDNAシーケンシングは、P R O 4 3 5 2 のための全長DNA配列(D N A 8 7 9 7 6 - 2 5 9 3 [F i g 2 3、配列番号: 5 1])とP R O 4 3 5 2 の誘導タンパク質配列を与えた。

P R O 4 3 5 2 の全コード化配列はF i g 2 3 (配列番号: 5 1) に示される。クローンD N A 8 7 9 7 6 - 2 5 9 3 は、ヌクレオチド位置179-181に見かけの翻訳開始部位を伴う単一のオープンリーディングフレームを含み、そして配列番号5 1 のヌクレオチド位置2579-2581の見かけの停止コドンで終端する。予測されるポリペプチド前駆体は800アミノ酸長である。クローンD N A 8 7 9 7 6 - 2 5 9 3 はATCCに寄託され、ATCC寄託番号2038

50

88が付与された。F i g 2 4 に示した全長 P R O 4 3 5 2 タンパク質は約87,621ダルトンの推定分子量及び約4.77のpIを有する。

F i g 2 4 (配列番号: 5 2) に示した全長配列のWU-BLAST2配列アラインメント分析法を使用しての、Dayhoffデータベース (バージョン35.45 SwissProt 35) の分析は、P R O 4 3 5 2 アミノ酸配列と以下のDayhoff配列: P_R86865, P_R86866, RATPCDH_1, AB011160_1, MMU88549_1, D86917_1, AB008179_1, P_R58907, HSHFATPRO_1, 及びAF031572_1との間の相同性を明らかにした。

【 0 2 3 8 】

実施例 1 6 : ヒト P R O 4 3 8 0 をコードするcDNAクローンの単離

上記の実施例 3 に記載したシグナル配列アルゴリズムの使用は、IncyteデータベースからのESTクラスター配列の同定を可能にした。次いでこのESTクラスター配列を、公的データベース (例えば、GenBank) 及び独自に開発したEST DNAデータベース (LIFESEQ(商品名)、Incyte Pharmaceuticals、Palo Alto, CA) を含む種々の発現配列タグ (EST) データベースと比較して、存在する相同性を同定した。相同体検索は、コンピュータプログラムBLAST又はBLAST2 (Altschul及びGish, Methods in Enzymology 266: 460-480 (1996)) を用いて実施した。公知のタンパク質をコードせず、BLASTスコア70 (90の場合もある) 又はそれ以上を持つ比較物は、プログラム「phrap」 (Phil Green, University of Washington, Seattle, Washington) で集団化してコンセンサスDNA配列を構築した。そこから得られたコンセンサス配列を、ここでDNA 7 9 1 3 2 と命名する。DNA 7 9 1 3 2 を鑑みて、DNA 9 2 2 3 4 - 2 6 0 2 が同定された。

F i g 2 5 に示された全長クローンは、単一のオープンリーディングフレームを含み、ヌクレオチド位置201-203に見かけの翻訳開始部位を持ち、そしてヌクレオチド位置1722-1724の停止コドンで終端する (F i g 2 5 ; 配列番号: 5 6) 。予測されるポリペプチド前駆体 (F i g 2 6、配列番号: 5 7) は507アミノ酸長である。全長 P R O 4 3 8 0 タンパク質は、約56,692の計算上の分子量及び約5.22のpIを有する。

F i g 2 6 (配列番号: 5 7) に示した全長配列のWU-BLAST-2配列アラインメント分析を用いたDayhoffデータベース (バージョン35.45 SwissProt 35) の分析は、P R O 4 3 8 0 アミノ酸配列と以下のDayhoff配列 (ここにおいて包含する配列と関連文) : CER11H6_1, S56299, D89150_1, G70870, S43914, LMO34616_5, LLU78036_1, AF055904_2, P_W79066 及びARGE_ECOLI との間の相同性を明らかにした。

クローンDNA 9 2 2 3 4 - 2 6 0 2 はATCCに寄託され、ATCC寄託番号203948が付与されている。

【 0 2 3 9 】

実施例 1 7 : ヒト P R O 4 3 5 4 をコードするcDNAクローンの単離

上記の実施例 3 に記載したシグナル配列アルゴリズムの使用は、ここにおいてDNA 1 0 1 9 5 と命名されたESTクラスター (92909) 配列の同定を可能にした。

次いでこのESTクラスター配列を、公的データベース (例えば、GenBank) 及び独自に開発したEST DNAデータベース (LIFESEQ(商品名)、Incyte Pharmaceuticals、Palo Alto, CA) を含む種々の発現配列タグ (EST) データベースと比較して、存在する相同性を同定した。相同体検索は、コンピュータプログラムBLAST又はBLAST2 (Altschulら, Methods in Enzymology 266: 460-480 (1996)) を用いて実施した。公知のタンパク質をコードせず、BLASTスコア70 (90の場合もある) 又はそれ以上を持つ比較物は、プログラム「phrap」 (Phil Green, University of Washington, Seattle, Washington) で集団化してコンセンサスDNA配列を構築した。そこから得られたコンセンサス配列を、ここでDNA 5 6 0 6 3 と命名する。DNA 5 6 0 6 3 を鑑みて、DNA 9 2 2 5 6 - 2 5 9 6 が同定された。

F i g 2 7 に示された全長クローンは、単一のオープンリーディングフレームを含み、ヌクレオチド位置108-110に見かけの翻訳開始部位を持ち、そしてヌクレオチド位置852-854の停止コドンで終端する (F i g 2 7 ; 配列番号: 5 8) 。予測されるポリペプチド前駆体 (F i g 2 8、配列番号: 5 9) は248アミノ酸長である。全長 P R O 4 3 5 4 タンパク質は、約28,310の計算上の分子量及び約4.63のpIを有する。

Fig 28 (配列番号: 59) に示した全長配列のWU-BLAST-2配列アラインメント分析を用いたDayhoffデータベース (バージョン35.45 SwissProt 35) の分析は、PRO4354 アミノ酸配列と以下のここにおいて取り入れられたDayhoff配列: HGS_RF300, CEVK04G1_1_2, CEC11H1_7, HSU80744_1, CEF09E8_2, RNAJ2967_1, DDIC01_1, AB020648_1, P_W33887及びA64319との間の相同性を明らかにした。

クローンDNA92256-2596は1999年3月30日にATCCに寄託され、ATCC寄託番号203891が付与されている。

【0240】

実施例18: ヒトPRO4408をコードするcDNAクローンの単離

上記の実施例3に記載したシグナル配列アルゴリズムの使用は、IncyteデータベースからのESTクラスター配列の同定を可能にした。次いでこのESTクラスター配列を、公的データベース (例えば、GenBank) 及び独自に開発したEST DNAデータベース (LIFESEQ (商品名)、Incyte Pharmaceuticals, Palo Alto, CA) を含む種々の発現配列タグ (EST) データベースと比較して、存在する相同性を同定した。相同体検索は、コンピュータプログラムBLAST又はBLAST2 (Altschulら, Methods in Enzymology 266: 460-480 (1996)) を用いて実施した。公知のタンパク質をコードせず、BLASTスコア70 (90の場合もある) 又はそれ以上を持つ比較物は、プログラム「phrap」 (Phil Green, University of Washington, Seattle, Washington) で集団化してコンセンサスDNA配列を構築した。そこから得られたコンセンサス配列を、ここでDNA79298と命名する。DNA79298を鑑みて、DNA92274-2617が同定された。

Fig 29に示された全長クローンは、単一のオープンリーディングフレームを含み、ヌクレオチド位置89-91に見かけの翻訳開始部位を持ち、そしてヌクレオチド位置758-760の停止コドンで終端する (Fig 29; 配列番号: 60)。予測されるポリペプチド前駆体 (Fig 30、配列番号: 61) は223アミノ酸長である。全長PRO4408タンパク質は、約25,402の計算上の分子量及び約8.14のpIを有する。

Fig 30 (配列番号: 61) に示した全長配列のWU-BLAST-2配列アラインメント分析を用いたDayhoffデータベース (バージョン35.45 SwissProt 35) の分析は、PRO4408 アミノ酸配列と以下のDayhoff配列: P_R27897, P_R49942, PBP_RAT, CELF40A3_3, D10NCVO, PC4214, OV16_ONCVO, P_R27718, GEN10789, 及びOBA5_DROMEとの間の相同性を明らかにした。

クローンDNA92274-2617はATCCに寄託され、ATCC寄託番号203971が付与されている。

【0241】

実施例19: ヒトPRO5737をコードするcDNAクローンの単離

発現配列タグ (EST) データベース (LIFESEQ (商品名)、Incyte Pharmaceuticals, Palo Alto, CA) をヒトインターロイキン-1レセプターアンタゴニスト (hIL-Ra) 配列で検索し、ここにおいて1433156と命名され、hIL-Ra既知タンパク質と相同性を示したEST配列が同定された。ESTクローン1433156はIncyte Pharmaceuticals (Palo Alto, CA) から購入され、そしてcDNA挿入物が得られて全体の配列が決められ、DNA92929-2543配列を与えた。

DNA92929-2534の全ヌクレオチド配列は、Fig 31 (配列番号: 62) に示され手いる。クローンDNA92929-2534は、単一のオープンリーディングフレームを含み、ヌクレオチド位置96-98に見かけの翻訳開始部位を持ち、そしてヌクレオチド位置498-500の停止コドンで終端する (Fig 31; 配列番号: 62)。予測されるポリペプチド前駆体 (hIL-1Ra2) は134アミノ酸長である。推定上のシグナル配列は、アミノ酸位置1-17から伸張する。クローンDNA92929-2534はATCCに寄託され、ATCC寄託番号203586が付与されている。Fig 32に示されている全長hIL-1ra2タンパク質は、約14,927の見積もり分子量及び約4.8のpIを有する。

全長配列のBLAST及びFastA配列アライメント分析 (ALIGN-2コンピュータープログラム) に基づいて、hIL-1Ra2 (Fig 32、配列番号: 63) はhIL-1R α β タンパク質に対して

10

20

30

40

50

有意なアミノ酸配列同一性を示した。hIL-1Ra2は、hIL-1R α β のスプライスバリエーションであると考えられている。

【 0 2 4 2 】

実施例 2 0 : ヒト P R O 4 4 2 5 のコードするcDNAクローンの単離

上記の実施例 3 に記載したシグナル配列アルゴリズムの使用は、IncyteデータベースからのESTクラスター配列の同定を可能にした。

次いでこのESTクラスター配列を、公的データベース（例えば、GenBank）及び独自に開発したEST DNAデータベース（LIFESEQ(商品名)、Incyte Pharmaceuticals、Palo Alto, CA）を含む種々の発現配列タグ（EST）データベースと比較して、存在する相同性を同定した。相同体検索は、コンピュータプログラムBLAST又はBLAST2（Altschulら、Methods in Enzymology 266: 460-480 (1996)）を用いて実施した。公知のタンパク質をコードせず、BLASTスコア70（90の場合もある）又はそれ以上を持つ比較物は、プログラム「phrap」（Phil Green, University of Washington, Seattle, Washington）で集団化してコンセンサスDNA配列を構築した。そこから得られたコンセンサス配列を、ここでD N A 8 1 0 9 9 と命名する。

D N A 8 1 0 9 9 配列とESTクローンno.AA448744に含まれるEST配列に認められる配列相同性に鑑み、ESTクローンAA448744はMerckより購入され、そのcDNA挿入部は得られて配列を決められた。このcDNA挿入部の配列は、F i g 3 3 に示され、ここにおいてD N A 9 3 0 1 1 - 2 6 3 7 と命名された。

F i g 3 3 に示された全長クローンは、単一のオープンリーディングフレームを含み、ヌクレオチド位置27-29に見かけの翻訳開始部位を持ち、そしてヌクレオチド位置435-437の停止コドンで終端する（F i g 3 3 ; 配列番号：64）。予測されるポリペプチド前駆体（F i g 3 4、配列番号：65）は136アミノ酸長である。全長P R O 4 4 2 5 タンパク質は、約15,577の計算上の分子量及び約8.88のpIを有する。

F i g 3 4（配列番号：65）に示した全長配列のWU-BLAST-2配列アラインメント分析を用いたDayhoffデータベース（バージョン35.45 SwissProt 35）の分析は、P R O 4 4 2 5 アミノ酸配列と以下のDayhoff配列：HGS_RE295, S44655, YOJ8_CAEEL, VBR1_CLVK, P_R39520, P_R65332, P_R39388, TGL4_HUMAN, YKAB_CAEEL, 及びS71105との間の相同性を明らかにした。

クローンD N A 9 3 0 1 1 - 2 6 3 7 はATCCに寄託され、ATCC寄託番号20-PTAが付与されている。

【 0 2 4 3 】

実施例 2 1 : ヒト P R O 5 9 9 0 をコードするcDNAクローンの単離

コンセンサスDNA配列が、実施例 1 に記載したようにphrapを用いて他のEST配列に関連して構築された。このコンセンサス配列を、ここでD N A 8 6 6 0 2 と命名する。D N A 8 6 6 0 2 コンセンサス配列に基づいて、オリゴヌクレオチドが：1）対象となる配列を含んだcDNAライブラリーをPCRによって同定するため、及び2）P R O 5 9 9 0 のための全長コード化配列のクローンを同定するためのプローブとして利用するために合成された。PCRプライマー（正及び逆方向）が合成された：

正方向PCRプライマー：5'-CGTCACAGGAAGTTCAGCACCC-3'（配列番号：68）及び

逆方向PCRプライマー：5'-GTCTTGGCTTCCTCCAGGTTTGG-3'（配列番号：69）。

さらに、合成オリゴヌクレオチドハイブリダイゼーションプローブは、以下のヌクレオチド配列を有するコンセンサスD N A 8 6 6 0 2 配列から構築された：

ハイブリダイゼーションプローブ：

5'-GGACAGCGCTCCCTCTACCTGGAGACTTGACTCCCGC-3'（配列番号：70）

cDNAライブラリーの構築のためのRNAは、ヒト胎児脳組織から単離された。

上記に記載されたような単離されたクローンのDNAシーケンシングは、P R O 5 9 9 0 ポリペプチドのための全長DNA配列（ここにおいてD N A 9 6 0 4 2 - 2 6 8 2 と命名された[F i g 3 5、配列番号：66]）とP R O 5 9 9 0 ポリペプチドの誘導タンパク質配列を与えた。

上記において同定された全長クローンは、単一のオープンリーディングフレームを含み、ヌクレオチド位置265-267に見かけの翻訳開始部位を持ち、そしてヌクレオチド位置1669-1671の見かけの停止コドンで終端する (F i g 3 5、配列番号： 6 6)。予測されるポリペプチド前駆体は468アミノ酸長で、約53,005ダルトンの推定分子量及び約4.98のpIを有する。 F i g 3 6 (配列番号： 6 7) に示された全長 P R O 5 9 9 0 配列の分析は、 F i g 3 6 に示されているような種々の重要なポリペプチドドメインの存在を証明し、これら重要なポリペプチドドメインへ与えられている位置は、上記に記載のようにおおよそである。クローン D N A 9 6 0 4 2 - 2 6 8 2 は、1999年7月20日にATCCへ寄託され、ATCC寄託番号382-PTAが付与された。

F i g 3 6 (配列番号： 6 7) に示した全長配列のALIGN-2配列アラインメント分析法を使用してのDayhoffデータベース (バージョン35.45 SwissProt 35) の分析は、 P R O 5 9 9 0 アミノ酸配列と以下のDayhoff配列： SG3_MOUSE; SG3_RAT; GEN14673; ENHMHCA1; MYS2_DICDI; NFU43192_1; US01_YEAST; A56577; PFLSA13_1; CELF12F3_3との間の配列同一性を明らかにした。

【 0 2 4 4 】

実施例 2 2 : ヒト P R O 6 0 3 0 をコードするcDNAの単離

上記の実施例 3 に記載したシグナル配列アルゴリズムの使用は、LIFESEQ (商品名) (Incyte Pharmaceuticals, Palo Alto, CA) Incyte) データベースからの、ここにおいてCLU20900と命名された、ESTクラスター配列の同定を可能にした。次いでこのESTクラスター配列を、公的データベース (例えば、GenBank) 及び独自に開発したEST DNAデータベース (LIFESEQ (商品名)、Incyte Pharmaceuticals, Palo Alto, CA) を含む種々の発現配列タグ (EST) データベースと比較し、存在する相同性を同定した。相同体検索は、コンピュータプログラムBLAST又はBLAST2 (Altschulら, Methods in Enzymology 266: 460-480 (1996)) を用いて実施した。公知のタンパク質をコードせず、BLASTスコア70 (90の場合もある) 又はそれ以上を持つ比較物は、プログラム「phrap」 (Phil Green, University of Washington, Seattle, Washington) で集団化してコンセンサスDNA配列を構築した。そこから得られたコンセンサス配列を、ここで D N A 8 1 2 2 9 と命名する。

D N A 8 1 2 2 9 配列とIncyte (Incyte Pharmaceuticals, Palo Alto, CA) Incyte) データベースからのno.4020130H1に包含されるEST配列に認められる配列相同性に鑑み、クローンno.4020130H1は購入され、そのcDNA挿入部は得られて配列を決められた。ここにおいて、cDNA挿入部が全長タンパク質をコードすることが見出された。ここにおいて、cDNA挿入部が全長タンパク質をコードしていることが見出された。このcDNA挿入部の配列は、 F i g 3 7 に示され、ここにおいて D N A 9 6 8 5 0 - 2 7 0 5 と命名された。

クローン D N A 9 6 8 5 0 - 2 7 0 5 は、単一のオープンリーディングフレームを含み、ヌクレオチド位置60-62に見かけの翻訳開始部位を持ち、そしてヌクレオチド位置1026-1028の停止コドンで終端する (F i g 3 7)。予測されるポリペプチド前駆体は、322アミノ酸長である (F i g 3 8)。 F i g 3 8 に示されている全長 P R O 6 0 3 0 タンパク質は、約34,793の見積もり分子量及び約6.34のpIを有する。 F i g 3 8 (配列番号： 7 2) に示された全長 P R O 6 0 3 0 配列の分析は、 F i g 3 8 に示されているような種々の重要なポリペプチドドメインの存在を証明し、これら重要なポリペプチドドメインへ与えられている位置は、上記に記載のようにおおよそである。クローン D N A 9 6 8 5 0 - 2 7 0 5 は、1999年8月3日にATCCへ寄託され、ATCC寄託番号479-PTAが付与された。

F i g 3 8 (配列番号： 7 2) に示した全長配列のALIGN-2配列アラインメント分析法を使用しての、Dayhoffデータベース (バージョン35.45 SwissProt 35) の分析は、 P R O 6 0 3 0 アミノ酸配列と以下のDayhoff配列： AF059571_1; I38346; AF035835_1; P_W83138; P_R54714; P_R65166; P_P93995; BGP1_HUMAN; P_W06873; A43165_1との間の配列同一性を明らかにした。

【 0 2 4 5 】

実施例 2 3 : ヒト P R O 4 4 2 4 をコードするcDNAクローンの単離

上記の実施例 3 に記載したシグナル配列アルゴリズムの使用は、Incyteデータベースか

10

20

30

40

50

らのESTクラスター配列の同定を可能にした。次いでこのESTクラスター配列を、公的データベース（例えば、GenBank）及び独自に開発したEST DNAデータベース（LIFESEQ(商品名)、Incyte Pharmaceuticals、Palo Alto, CA）を含む種々の発現配列タグ（EST）データベースと比較して、存在する相同性を同定した。相同体検索は、コンピュータプログラムBLAST又はBLAST2（Altschulら、Methods in Enzymology 266: 460-480 (1996)）を用いて実施した。公知のタンパク質をコードせず、BLASTスコア70（90の場合もある）又はそれ以上を持つ比較物は、プログラム「phrap」（Phil Green, University of Washington, Seattle, Washington）で集団化してコンセンサスDNA配列を構築した。そこから得られた伸張コンセンサス配列を、DNA80820と命名する。DNA80820を鑑みて、DNA96857-2636が同定され、配列が決められた。

10

Fig 39に示された全長クローンは、単一のオープンリーディングフレームを含み、ヌクレオチド位置52-54に見かけの翻訳開始部位を持ち、そしてヌクレオチド位置715-717の停止コドンで終端する（Fig 39；配列番号：73）。予測されるポリペプチド前駆体（Fig 40、配列番号：74）は221アミノ酸長である。全長PRO4424タンパク質は、約23,598の計算上の分子量及び約6.96のpIを有する。

Fig 40（配列番号：74）に示した全長配列のWU-BLAST-2配列アラインメント分析を用いたDayhoffデータベース（バージョン35.45 SwissProt 35）の分析は、PRO4424アミノ酸配列と以下のDayhoff配列：HGS_A135, JC5105, P_R88555, JC5106, P_R88556, CELR12E2_13, DMC34F3_8, ATG13D4_7, HGS_A204, S58331との間の相同性を明らかにした。

20

クローンDNA96857-2636はATCCへ寄託され、ATCC寄託番号17-PTAが付与されている。

【0246】

実施例24：ヒトPRO4422をコードするcDNAクローンの単離

上記の実施例3に記載したシグナル配列アルゴリズムの使用は、IncyteデータベースからのESTクラスター配列の同定が可能にした。次いでこのESTクラスター配列を、公的データベース（例えば、GenBank）及び独自に開発したEST DNAデータベース（LIFESEQ(商品名)、Incyte Pharmaceuticals、Palo Alto, CA）を含む種々の発現配列タグ（EST）データベースと比較して、存在する相同性を同定した。相同体検索は、コンピュータプログラムBLAST又はBLAST2（Altschul及びGish, Methods in Enzymology 266: 460-480 (1996)）を用いて実施した。公知のタンパク質をコードせず、BLASTスコア70（90の場合もある）又はそれ以上を持つ比較物は、プログラム「phrap」（Phil Green, University of Washington, Seattle, Washington）で集団化してコンセンサスDNA配列を構築した。そこから得られた伸張コンセンサス配列を、DNA80134と命名する。DNA80134を鑑みて、DNA96867-2620は、すべて同定され、配列が決められた。

30

Fig 39に示された全長クローンは、単一のオープンリーディングフレームを含み、ヌクレオチド位置318-320に見かけの翻訳開始部位を持ち、そしてヌクレオチド位置900-902の停止コドンで終端する（Fig 41；配列番号：75）。予測されるポリペプチド前駆体（Fig 42、配列番号：76）は194アミノ酸長である。全長PRO4422タンパク質は、約21,431の計算上の分子量及び約8.57のpIを有する。

40

Fig 42（配列番号：76）に示した全長配列のWU-BLAST-2配列アラインメント分析を用いたDayhoffデータベース（バージョン35.45 SwissProt 35）の分析は、PRO4422アミノ酸配列と以下のDayhoff配列：LYG_CHICK, LYG_CYGAT, LYG_ANSAN, LYG_STRCA, P_W69515, ATAC003680_7, ACCA_HAEIN, I64065, A70853及びAF074611_71との間の相同性を明らかにした。

クローンDNA96867-2620はATCCへ寄託され、ATCC寄託番号203972が付与されている。

【0247】

実施例25：ヒトPRO4430をコードするcDNAクローンの単離

上記の実施例3に記載したシグナル配列アルゴリズムの使用は、Incyteデータベースか

50

らのESTクラスター配列の同定が可能にした。次いでこのESTクラスター配列を、公的データベース（例えば、GenBank）及び独自に開発したEST DNAデータベース（LIFESEQ(商品名)、Incyte Pharmaceuticals、Palo Alto, CA）を含む種々の発現配列タグ（EST）データベースと比較して、存在する相同性を同定した。相同体検索は、コンピュータプログラムBLAST又はBLAST2（Altschul及びGish, Methods in Enzymology 266: 460-480 (1996)）を用いて実施した。公知のタンパク質をコードせず、BLASTスコア70（90の場合もある）又はそれ以上を持つ比較物は、プログラム「phrap」（Phil Green, University of Washington, Seattle, Washington）で集団化してコンセンサスDNA配列を構築した。そこから得られた伸張コンセンサス配列を、DNA 82380と命名する。DNA 82380を鑑みて、DNA 96878 - 2626は同定され、配列が決められた。

10

Fig 43に示された全長クローンは、単一のオープンリーディングフレームを含み、ヌクレオチド位置56-58に見かけの翻訳開始部位を持ち、そしてヌクレオチド位置431-433の停止コドンで終端する（Fig 43；配列番号：77）。予測されるポリペプチド前駆体（Fig 44、配列番号：78）は125アミノ酸長である。全長PRO4430タンパク質は、約13,821の計算上の分子量及び約8.6のpIを有する。

Fig 44（配列番号：78）に示した全長配列のWU-BLAST-2配列アラインメント分析を用いたDayhoffデータベース（バージョン35.45 SwissProt 35）の分析は、PRO4430アミノ酸配列と以下のDayhoff配列：MMHC213L3_9, A45835, D45835, UPAR_MOUSE, AF043498_1, P_W62066, LY6C_MOUSE, LY6A_MOUSE, P_R58710及びP_R86315との間の相同性を明らかにした。

20

クローンDNA 96878 - 2626はATCCへ寄託され、ATCC寄託番号23-PTAが付与されている。

【0248】

実施例26：ヒトPRO4499をコードするcDNAクローンの単離

上記の実施例3に記載したシグナル配列アルゴリズムの使用は、IncyteデータベースからのESTクラスター配列の同定が可能にした。次いでこのESTクラスター配列を、公的データベース（例えば、GenBank）及び独自に開発したEST DNAデータベース（LIFESEQ(商品名)、Incyte Pharmaceuticals、Palo Alto, CA）を含む種々の発現配列タグ（EST）データベースと比較して、存在する相同性を同定した。相同体検索は、コンピュータプログラムBLAST又はBLAST2（Altschul及びGish, Methods in Enzymology 266: 460-480 (1996)）を用いて実施した。公知のタンパク質をコードせず、BLASTスコア70（90の場合もある）又はそれ以上を持つ比較物は、プログラム「phrap」（Phil Green, University of Washington, Seattle, Washington）で集団化してコンセンサスDNA配列を構築した。そこから得られたコンセンサス配列を、DNA 81155と命名する。DNA 81155を鑑みて、DNA 96889 - 2641が同定され、配列が決められた。

30

Fig 45に示された全長クローンは、単一のオープンリーディングフレームを含み、ヌクレオチド位置185-187に見かけの翻訳開始部位を持ち、そしてヌクレオチド位置1202-1204の停止コドンで終端する（Fig 45；配列番号：79）。予測されるポリペプチド前駆体（Fig 46、配列番号：80）は339アミノ酸長である。全長PRO4499タンパク質は、約36,975の計算上の分子量及び約7.85のpIを有する。

40

Fig 46（配列番号：80）に示した全長配列のWU-BLAST-2配列アラインメント分析を用いたDayhoffデータベース（バージョン35.45 SwissProt 35）の分析は、PRO4430アミノ酸配列と以下のDayhoff配列：CEF38B7_4, D70575, AF073993_1, PNAPA_1, AF098967_1, AF007140_1, ROA3_HUMAN, E70969, CEY53C12B_5, 及びCEY53C12B_6との間の相同性を明らかにした。

クローンDNA 96889 - 2641はATCCへ寄託され、ATCC寄託番号119-PTAが付与されている。

【0249】

実施例27：ハイブリダイゼーションプローブとしてのPROの利用

以下の方法は、PROをコードする核酸配列のハイブリダイゼーションプローブとしての

50

使用を記載する。

ここに開示した全長又は成熟 P R O のコード配列を含むDNAは、ヒト組織cDNAライブラリー又はヒト組織ゲノムライブラリーにおける同種DNA (P R O の自然発生変異体などをコードしている) のスクリーニングのためのプローブとして用いられる。

いずれかのライブラリーDNAを含むフィルターのハイブリダイゼーション及び洗浄は、以下の高い緊縮条件で実施した。放射標識 P R O 誘導プローブのフィルターへのハイブリダイゼーションは、50%ホルムアルデヒド、5×SSC、0.1%SDS、0.1%ピロリン酸ナトリウム、50mMリン酸ナトリウム、pH6.8、2×デンハード溶液、及び10%デキストラン硫酸の溶液中で、42℃において20時間行った。フィルターの洗浄は、0.1×SSC及び0.1%SDSの水溶液中、42℃で行った。

10

次いで、全長天然配列をコードするDNAと所望の配列同一性を有するDNAは、この分野で知られた標準的な方法を用いて同定できる。

【 0 2 5 0 】

実施例 2 8 : 大腸菌における P R O の発現

この実施例は、大腸菌における組み換え発現による所望の P R O の非グリコシル化形態の調製を例示する。

P R O をコードするDNA配列は、選択されたPCRプライマーを用いて最初に増幅した。プライマーは、選択された発現ベクターの制限酵素部位に対応する制限酵素部位を持たなければならない。種々の発現ベクターを用いることができる。好適なベクターの例は、pBR322 (大腸菌から誘導されたもの ; Bolivarら, Gene, 2:95 (1977)を参照)であり、アンピシリン及びテトラサイクリン耐性についての遺伝子を含む。ベクターは、制限酵素で消化され、脱リン酸化される。PCR増幅した配列は、次いで、ベクターに結合させる。ベクターは、好ましくは抗生物質耐性遺伝子、trpプロモーター、ポリ-hisリーダー(最初の6つのSTIIコドン、ポリ-his配列、及びエンテロキナーゼ切断部位を含む)、P R O コード化領域、ラムダ転写終結区、及びargU遺伝子を含む。

20

ライゲーション混合物は、次いで、上掲のSambrook等に記載された方法を用いた選択した大腸菌株の形質転換に使用される。形質転換体は、それらのLBプレートで成長する能力により同定され、次いで抗生物質耐性クローンが選択される。プラスミドDNAが単離され、制限分析及びDNA配列分析で確認される。

選択されたクローンは、抗生物質を添加したLBブロスなどの液体培地で終夜成長させることができる。終夜培養は、続いて大規模培養の播種に用いられる。次に細胞を最適光学密度まで成長させ、その間に発現プロモーターが作動する。

30

更に数時間の培養の後、細胞を採集して遠心分離できる。遠心分離で得られた細胞ペレットは、この分野で知られた種々の試薬を用いて可溶化され、次いで可溶化 P R O タンパク質を金属キレート化カラムを用いてタンパク質を緊密に結合させる条件下で精製することができる。

【 0 2 5 1 】

以下の手法を用いて、大腸菌においてポリ-Hisタグ形態で P R O を発現させてもよい。P R O をコードするDNAを選択したPCRプライマーを用いて最初に増幅する。プライマーは、選択された発現ベクターの制限酵素部位に対応する制限酵素部位、及び効率的で信頼性のある翻訳開始、金属キレートカラムでの迅速な精製、及びエンテロキナーゼでのタンパク質分解的除去を与える他の有用な配列を含む。次いでPCR増幅された、ポリ-Hisタグ配列を発現ベクターに結合させ、それを株52 (W3110 fuhA(tonA) lon galE rpoHts(htpRts) c lpP(lacIq)) に基づく大腸菌宿主の形質転換に使用した。形質転換体は、最初に50mg/mlのカルベニシリンを含有するLB中、30℃で振盪しながら3-5のO.D.600に達するまで成長させた。ついで培養をCRAP培地 (3.57gの (NH₄)₂SO₄、0.71gのクエン酸ナトリウム・2H₂O、1.07gのKCl、5.36gのDifco酵母抽出物、500mL水中の5.36gのSheffield hycase SF、並びに110mMのMPOS、pH7.3、0.55% (w/v) のグルコース及び7 mMのMgSO₄の混合で調製) 中に50-100倍希釈し、30℃で振盪させながら約20-30時間成長させた。試料を取り出してSDS-PAGEにより発現を確認し、バルク培養を遠心分離して細胞をペレット化した。細胞ペレッ

40

50

トを精製及び再折りたたみまで凍結させた。

0.5から1Lの発酵（6-10gペレット）からの大腸菌ペーストを、7Mのグアニジン、20mMのトリス、pH8バッファー中で10容量（w/v）で再懸濁させた。固体硫酸ナトリウム及びテトラチオン酸ナトリウムを添加して最終濃度を各々0.1M及び0.02Mとし、溶液を4 で終夜撹拌した。このプロセスにより、亜硫酸によりブロックされた全てのシステイン残基を持つ変性タンパク質がもたらされた。溶液をBeckman Ultracentrifuge中で40,000rpmで30分間遠心分離した。上清を金属キレートカラムバッファー（6Mのグアニジン、20mMのトリス、pH 7.4）の3-5容量で希釈し、0.22ミクロンフィルターを通して濾過して透明化した。透明化抽出物を、金属キレートカラムバッファーで平衡化させた5mlのQiagen Ni-NTA金属キレートカラムに充填した。カラムを50mMのイミダゾール（Calbiochem, Utrol grade）を含む添加バッファー、pH7.4で洗浄した。タンパク質を250mMのイミダゾールを含有するバッファーで溶離した。所望のタンパク質を含有する画分をプールし、4 で保存した。タンパク質濃度は、そのアミノ酸配列に基づいて計算した吸光係数を用いて280nmにおけるその吸収により見積もった。

【0252】

試料を、20mMのトリス、pH8.6、0.3MのNaCl、2.5Mの尿素、5mMのシステイン、20mMのグリシン及び1mMのEDTAからなる新たに調製した再折りたたみバッファー中に徐々に希釈することによりタンパク質を再折りたたみさせた。リフォールディング容量は、最終的なタンパク質濃度が50~100マイクログラム/mlとなるように選択した。リフォールディング溶液を4 で12-36時間ゆっくり撹拌した。リフォールディング反応はTFAを最終濃度0.4%（約3のpH）で添加することにより停止させた。タンパク質をさらに精製する前に、溶液を0.22ミクロンフィルターを通して濾過し、アセトニトリルを最終濃度2-10%になるまで添加した。再折りたたみされたタンパク質を、Poros R1/H逆相カラムで、0.1%TFAの移動バッファーと10~80%のアセトニトリル勾配での溶離を用いてクロマトグラフにかけた。A280吸収を持つ画分のアリコートでSDSポリアクリルアミドゲルで分析し、相同な再折りたたみされたタンパク質を含有する画分をプールした。一般的に、殆どのタンパク質の正しく再折りたたみされた種は、これらの種が最もコンパクトであり、その疎水性内面が逆相樹脂との相互作用から遮蔽されているので、アセトニトリルの最低濃度で溶離される。凝集した種は通常、より高いアセトニトリル濃度で溶離される。タンパク質の誤って折りたたまれた形態を所望の形態から除くのに加えて、逆相プロセスは試料からエンドトキシンも除去する。

所望の折りたたまれたPROポリペプチドを含有する画分をプールし、溶液に向けた窒素の弱い気流を用いてアセトニトリルを除去した。タンパク質を、透析又は調製バッファーで平衡化したG25 Superfine（Pharmacia）樹脂でのゲル濾過及び滅菌濾過により、0.14Mの塩化ナトリウム及び4%のマンニトールを含む20mMのHepes、pH6.8に処方した。ここに開示した多くのPROポリペプチドが上記のようにして成功裏に発現された。

【0253】

実施例29：哺乳動物細胞でのPROの発現

この実施例は、哺乳動物細胞における組み換え発現による潜在的にグリコシル化した形態のPROの調製を例示する。

発現ベクターとしてベクターpRK5（1989年3月15日公開のEP 307,247参照）を用いた。場合によっては、PRO DNAを選択した制限酵素を持つpRK5に結合させ、上掲のSambrook等に記載されたようなライゲーション方法を用いてPRO DNAを挿入させる。得られたベクターは、pRK5-PROと呼ばれる。

一実施態様では、選択された宿主細胞は293細胞とすることができる。ヒト293細胞（ATCC CCL 1573）は、ウシ胎児血清及び場合によっては滋養成分及び/又は抗生物質を添加したDMEMなどの培地中で組織培養プレートにおいて成長させて集密化した。約10 μ gのpRK5-PRO DNAを約1 μ gのVARNA遺伝子コード化DNA [Thimmappayaら, Cell, 31:543 (1982)]と混合し、500 μ lの1mMトリス-HCl、0.1mM EDTA、0.227M CaCl₂に溶解させた。この混合物に、滴状の、500 μ lの50mM HEPES（pH7.35）、280mMのNaCl、1.5mMのNaPO₄を添加

し、25℃で10分間析出物を形成させた。析出物を懸濁し、293細胞に加えて37℃で約4時間定着させた。培地を吸引し、2mlのPBS中20%グリセロールを30秒間添加した。293細胞は、次いで無血清培地で洗浄し、新鮮な培地を添加し、細胞を約5日間インキュベートした。

形質移入の約24時間後、培地を除去し、培地（のみ）又は200 $\mu\text{Ci/ml}$ ^{35}S -システイン及び200 $\mu\text{Ci/ml}$ ^{35}S -メチオニンを含む培地で置換した。12時間のインキュベーションの後、条件培地を回収し、スピンフィルターで濃縮し、15%SDSゲルに添加した。処理したゲルを乾燥させ、PROポリペプチドの存在を現す選択された時間にわたってフィルムにさらした。形質転換した細胞を含む培地に、更なるインキュベーションを施し（無血清培地で）、培地を選択されたバイオアッセイで試験した。

これに換わる技術において、PROは、Somparyracら、Proc. Natl. Acad. Sci., 12:7575 (1981)に記載されたデキストラン硫酸法を用いて293細胞に一過的に導入される。293細胞は、スピナーフラスコ内で最大密度まで成長させ、700 μg のpRK5-PRO DNAを添加する。細胞は、まずスピナーフラスコから遠心分離によって濃縮し、PBSで洗浄した。DNA-デキストラン沈殿物を細胞ペレット上で4時間インキュベートした。細胞を20%グリセロールで90秒間処理し、組織培地で洗浄し、組織培地、5 $\mu\text{g/ml}$ ウシインシュリン及び0.1 $\mu\text{g/ml}$ ウシトランスフェリンを含むスピナーフラスコに再度導入した。約4日後に、条件培地を遠心分離して濾過し、細胞及び細胞片を除去した。次いで発現されたPROを含む試料を濃縮し、透析及び/又はカラムクロマトグラフィー等の選択した方法によって精製した。

【0254】

他の実施態様では、PROをCHO細胞で発現させることができる。pRK5-PROは、 CaPO_4 又はDEAE-デキストランなどの公知の試薬を用いてCHO細胞に形質移入することができる。上記したように、細胞培地をインキュベートし、培地を培養培地（のみ）又は ^{35}S -メチオニン等の放射性標識を含む培地に置換することができる。PROポリペプチドの存在を同定した後、培地を無血清培地に置換してもよい。好ましくは、培地を約6日間インキュベートし、次いで条件培地を収集する。次いで、発現されたPROを含む培地を濃縮して、任意の選択した方法によって精製することができる。

また、エピトープタグPROは、宿主CHO細胞において発現させてもよい。PROはpRK5ベクターからサブクローニングしてもよい。サブクローン挿入物は、PCRを施してバキュロウイルス発現ベクター中のポリ-hisタグ等の選択されたエピトープタグを持つ枠に融合できる。ポリ-hisタグPRO挿入物は、次いで、安定なクローンの選択のためのDHFR等の選択マーカーを含むSV40誘導ベクターにサブクローニングできる。最後に、CHO細胞をSV40誘導ベクターで（上記のように）形質移入した。発現を確認するために、上記のように標識化を行ってもよい。発現されたポリ-hisタグPROを含む培地は、次いで濃縮し、 Ni^{2+} -キレートアフィニティクロマトグラフィー等の選択された方法により精製できる。またPROは、一過性発現法によりCHO及び/又はCOS細胞で、他の安定な発現方法によりCHO細胞で発現させてもよい。

CHO細胞における安定な発現は以下の方法を用いて実施された。タンパク質は、それぞれのタンパク質の可溶化形態のコード化配列（例えば、細胞外ドメイン）がIgG1のヒンジ、CH2及びCH2ドメインを含む定常領域配列に融合したIgG作成物（イムノアドヘシン）、又はポリ-Hisタグ形態として発現された。

PCR増幅に続いて、対応するDNAを、Ausubelら、Current Protocols of Molecular Biology, Unit 3.16, John Wiley and Sons (1997)に記載されたような標準的技術を用いてCHO発現ベクターにサブクローニングした。CHO発現ベクターは、対象とするDNAの5'及び3'に適合する制限部位を有し、cDNAの便利なシャトル化ができるように作成される。ベクターは、Lucasら、Nucl. Acids res. 24: 9, 1774-1779 (1996)に記載されたようにCHO細胞での発現を用い、対象とするcDNA及びジヒドロフォレートレダクターゼ（DHFR）の発現の制御にSV40初期プロモーター/エンハンサーを用いる。DHFR発現は、形質移入に続くプラスミドの安定な維持のための選択を可能にする。

【 0 2 5 5 】

所望のプラスミドDNAの12マイクログラムを、市販の形質移入試薬Superfect(登録商標)(Qiagen), Dosper(登録商標)及びFugene(登録商標)(Boehringer Mannheim) 約一千万のCHO細胞に導入する。細胞は、上掲のLucasらに記載されているように成長させた。約 3×10^7 細胞を、下記のような更なる成長及び生産のためにアンプル中で凍結させた。

プラスミドDNAを含むアンプルを水槽に配して解凍し、ボルテックスにより混合した。内容物を10mLの媒質を含む遠心管にピペットして、1000rpmで5分間遠心分離した。上清を吸引して細胞を10mLの選択培地(0.2 μ m濾過PS20、5%の0.2 μ m透析濾過ウシ胎児血清を添加)中に懸濁させた。次いで細胞を90mLの選択培地を含む100mLスピナーに分ける。1-2日後、細胞を150mLの選択培地を満たした250mLスピナーに移し、37℃でインキュベートする。さらに2-3日後、250mL、500mL及び2000mLのスピナーを 3×10^5 細胞/mLで播種した。細胞培地を遠心分離により新鮮培地に交換し、生産培地に再懸濁させた。任意の適切なCHO培地を用いてもよいが、実際には1992年6月16日に発行された米国特許第5,122,469号に記載された生産培地を使用した。3Lの生産スピナーを 1.2×10^6 細胞/mLで播種した。0日目に、細胞数とpHを測定した。1日目に、スピナーをサンプルし、濾過空気での散布を実施した。2日目に、スピナーをサンプルし、温度を33℃に変え、500g/Lのグルコース及び0.6mLの10%消泡剤(例えば35%ポリジメチルシロキサンエマルジョン、Dow Corning 365 Medical Grade Emulsion)の30mLとした。生産を通して、pHは7.2近傍に調節し維持した。10日後、又は生存率が70%を下回るまで、細胞培地を遠心分離で回収して0.22 μ mフィルターを通して濾過した。濾過物は、4℃で貯蔵するか、即座に精製用カラムに充填した。

10

20

【 0 2 5 6 】

ポリ-Hisタグ作成物について、タンパク質はNi-NTAカラム(Qiagen)を用いて精製した。精製の前に、イミダゾールを条件培地に5mMの濃度まで添加した。条件培地を、0.3MのNaCl及び5mMイミダゾールを含む20mMのHepes, pH7.4バッファーで平衡化した6mLのNi-NTAカラムに4-5mL/分の流速で4℃においてポンプ供給した。充填後、カラムをさらに平衡バッファーで洗浄し、タンパク質を0.25Mイミダゾールを含む平衡バッファーで溶離した。高度に精製されたタンパク質は、続いて10mMのHepes、0.14MのNaCl及び4%のマニトールを含む貯蔵バッファー中で25mLのG25 Superfine(Pharmacia)を用いて脱塩し、-80℃で貯蔵した。

イムノアドヘシン(Fc含有)作成物を以下のようにして条件培地から精製した。条件培地を、20mMのリン酸ナトリウムバッファー, pH6.8で平衡化した5mLのプロテインAカラム(Pharmacia)に汲み上げた。充填後、カラムを平衡バッファーで強く洗浄した後、100mMのクエン酸, pH3.5で溶離した。溶離したタンパク質は、1mLの画分を275 μ Lの1Mトリスバッファー, pH9を含む管に回収することにより即座に中性化した。高度に精製されたタンパク質は、続いてポリ-Hisタグタンパク質について上記した貯蔵バッファー中で脱塩した。均一性はSDSポリアクリルアミドゲルで試験し、エドマン(Edman)分解によりN-末端アミノ酸配列決定した。

30

ここに開示したPROポリペプチドの多くが上記のようにして成功裏に発現された。

【 0 2 5 7 】

実施例30：酵母菌でのPROの発現

40

以下の方法は、酵母菌中でのPROの組換え発現を記載する。

第1に、ADH2/GAPDHプロモーターからのPROの細胞内生産又は分泌のための酵母菌発現ベクターを作成する。PROをコードするDNA及びプロモーターを選択したプラスミドの適当な制限酵素部位に挿入してPROの細胞内発現を指示する。分泌のために、PROをコードするDNAを選択したプラスミドに、ADH2/GAPDHプロモーターをコードするDNA、天然PROシグナルペプチド又は他の哺乳動物シグナルペプチド、又は、例えば酵母菌アルファ因子又はインペルターゼ分泌シグナル/リーダー配列、及び(必要ならば)PROの発現のためのリンカー配列とともにクローニングすることができる。

酵母菌株AB110等の酵母菌は、次いで上記の発現プラスミドで形質転換し、選択された発酵培地中で培養できる。形質転換した酵母菌上清は、10%トリクロロ酢酸での沈降及びSDS

50

-PAGEによる分離で分析し、次いでクマシーブルー染色でゲルの染色をすることができる。

続いて組換え P R O は、発酵培地から遠心分離により酵母菌細胞を除去し、次いで選択されたカートリッジフィルターを用いて培地を濃縮することによって単離及び精製できる。P R O を含む濃縮物は、選択されたカラムクロマトグラフィー樹脂を用いてさらに精製してもよい。

ここに開示した P R O ポリペプチドの多くが上記のようにして成功裏に発現された。

【 0 2 5 8 】

実施例 3 1 : パキユロウイルス感染昆虫細胞での P R O の発現

以下の方法は、パキユロウイルス感染昆虫細胞中における P R O の組換え発現を記載する

10

。 P R O コードする配列を、パキユロウイルス発現ベクターに含まれるエピトープタグの上流に融合させた。このようなエピトープタグは、ポリ-hisタグ及び免疫グロブリンタグ (IgG の Fc 領域など) を含む。 pVL1393 (Navogen) などの市販されているプラスミドから誘導されるプラスミドを含む種々のプラスミドを用いることができる。簡単には、 P R O 又は P R O コード化配列の所定部分、例えば膜貫通タンパク質の細胞外ドメインをコードする配列又はタンパク質が細胞外である場合の成熟タンパク質をコードする配列などが、5' 及び 3' 領域に相補的なプライマーでの PCR により増幅される。5' プライマーは、隣接する (選択された) 制限酵素部位を包含していてもよい。生産物は、次いで、選択された制限酵素で消化され、発現ベクターにサブクローニングされる。

20

組換えパキユロウイルスは、上記のプラスミド及び BaculoGold (商品名) ウイルス DNA (Pharmingen) を、Spodoptera frugiperda (「 Sf9 」) 細胞 (ATCC CRL 1711) 中にリポフェクション (GIBCO-BRL から市販) を用いて同時形質移入することにより作成される。28 で 4-5 日インキュベートした後、放出されたウイルスを回収し、更なる増幅に用いた。ウイルス感染及びタンパク質発現は、O'Reilley ら, Baculovirus expression vectors: A laboratory Manual, Oxford: Oxford University Press (1994) に記載されているように実施した。

次に、発現されたポリ-hisタグ P R O は、例えば Ni^{2+} - キレートアフィニティークロマトグラフィーにより次のように精製される。抽出は、Rupert ら, Nature, 362:175-179 (1993) に記載されているように、ウイルス感染した組み換え Sf9 細胞から調製した。簡単には、Sf9 細胞を洗浄し、超音波処理用バッファー (25mM の HEPES、pH7.9 ; 12.5mM の $MgCl_2$; 0.1mM EDTA ; 10% グリセロール ; 0.1% の NP-40 ; 0.4M の KCl) 中に再懸濁し、氷上で 2 回 20 秒間超音波処理した。超音波処理物を遠心分離で透明化し、上清を負荷バッファー (50mM リン酸塩、300mM の NaCl、10% グリセロール、pH7.8) で 50 倍希釈し、0.45 μ m フィルターで濾過した。 Ni^{2+} -NTA アガロースカラム (Qiagen から市販) を 5mL の総容積で調製し、25mL の水で洗浄し、25mL の負荷バッファーで平衡させた。濾過した細胞抽出物は、毎分 0.5mL でカラムに負荷した。カラムを、分画回収が始まる点である A_{280} のベースラインまで負荷バッファーで洗浄した。次に、カラムを、結合タンパク質を非特異的に溶離する二次洗浄バッファー (50mM リン酸塩 ; 300mM の NaCl、10% グリセロール、pH6.0) で洗浄した。 A_{280} のベースラインに再度到達した後、カラムを二次洗浄バッファー中で 0 から 500mM イミダゾール勾配で展開した。1mL の分画を回収し、SDS-PAGE 及び銀染色又はアルカリホスファターゼ (Qiagen) に複合した Ni^{2+} -NTA のウェスタンブロットで分析した。溶離した His10- タグ P R O を含む画分をプールして負荷バッファーで透析した。

30

40

あるいは、IgG タグ (又は Fc タグ) P R O の精製は、例えば、プロテイン A 又はプロテイン G カラムクロマトグラフィーを含む公知のクロマトグラフィー技術を用いて実施できる。

ここに開示した P R O ポリペプチドの多くが上記のようにして成功裏に発現された。

【 0 2 5 9 】

実施例 3 2 : P R O に結合する抗体の調製

この実施例は、P R O に特異的に結合できるモノクローナル抗体の調製を例示する。

50

モノクローナル抗体の生産のための技術は、この分野で知られており、例えば、上掲のGodingに記載されている。用いられ得る免疫原は、精製PRO、PROを含む融合タンパク質、細胞表面に組換えPROを発現する細胞を含む。免疫原の選択は、当業者が過度の実験をすることなく行うことができる。

Balb/c等のマウスを、完全フロイントアジュバントに乳化して皮下又は腹腔内に1-100マイクログラムで注入したPRO免疫原で免疫化する。あるいは、免疫原をMPL-TDMアジュバント(Ribi Immunochemical Research, Hamilton, MT)に乳化し、動物の後足蹠に注入してもよい。免疫化したマウスは、次いで10から12日後に、選択したアジュバント中に乳化した付加的免疫源で追加免疫する。その後、数週間、マウスをさらなる免疫化注射で追加免疫する。抗PRO抗体の検出のためのELISAアッセイで試験するために、レトロオービタル出血からの血清試料をマウスから周期的に採取してもよい。

10

適当な抗体力価が検出された後、抗体に「ポジティブ(陽性)」な動物に、PRO静脈内注射の最後の注入をすることができる。3から4日後、マウスを屠殺し、脾臓細胞を取り出した。次いで脾臓細胞を(35%ポリエチレングリコールを用いて)、ATCCから番号CRL1597で入手可能なP3X63AgU.1等の選択されたマウス骨髄腫株化細胞に融合させた。融合によりハイブリドーマ細胞が生成され、次いで、HAT(ヒポキサンチン、アミノプテリン、及びチミジン)培地を含む96ウェル組織培養プレートに蒔き、非融合細胞、骨髄腫ハイブリッド、及び脾臓細胞ハイブリッドの増殖を阻害した。

ハイブリドーマ細胞は、PROに対する反応性についてのELISAでスクリーニングされる。PROに対する所望のモノクローナル抗体を分泌する「ポジティブ(陽性)」ハイブリドーマ細胞の決定は、技術常識の範囲内である。

20

陽性ハイブリドーマ細胞を同系のBalb/cマウスに腹腔内注入し、抗PROモノクローナル抗体を含む腹水を生成させる。あるいは、ハイブリドーマ細胞を、組織培養フラスコ又はローラーボトルで成長させることもできる。腹水中に生成されたモノクローナル抗体の精製は、硫酸アンモニウム沈降、それに続くゲル排除クロマトグラフィーを用いて行うことができる。あるいは、抗体のプロテインA又はプロテインGへの親和性に基づくアフィニティクロマトグラフィーを用いることもできる。

【0260】

実施例33：特異的抗体を用いたPROポリペプチドの精製

天然又は組換えPROポリペプチドは、この分野の種々の標準的なタンパク質精製方法によって精製できる。例えば、プロ-PROポリペプチド、成熟ポリペプチド、又はプレ-PROポリペプチドは、対象とするPROポリペプチドに特異的な抗体を用いた免疫親和性クロマトグラフィーによって精製される。一般に、免疫親和性カラムは抗PROポリペプチド抗体を活性化クロマトグラフィー樹脂に共有結合させて作成される。

30

ポリクローナル免疫グロブリンは、硫酸アンモニウムでの沈殿又は固定化プロテインA(Pharmacia LKB Biotechnology, Piscataway, N.J.)での精製のいずれかにより免疫血清から調製される。同様に、モノクローナル抗体は、硫酸アンモニウム沈殿又は固定化プロテインAでのクロマトグラフィーによりマウス腹水液から調製される。部分的に精製された免疫グロブリンは、CnBr-活性化セファロース(商品名)(Pharmacia LKB Biotechnology)等のクロマトグラフィー樹脂に共有結合される。抗体が樹脂に結合され、樹脂がブロックされ、誘導体樹脂は製造者の指示に従って洗浄される。

40

このような免疫親和性カラムは、可溶化形態のPROポリペプチドを含有する細胞からの画分を調製することによるPROポリペプチドの精製において利用される。この調製物は、洗浄剤の添加又はこの分野で公知の方法により微分遠心分離を介して得られる全細胞又は細胞成分画分の可溶化により誘導される。あるいは、シグナル配列を含む可溶化PROポリペプチドは、細胞が成長する培地中に有用な量で分泌される。

可溶化PROポリペプチド含有調製物は、免疫親和性カラムを通され、カラムはPROポリペプチドの好ましい吸着をさせる条件下(例えば、洗浄剤存在下の高イオン強度バッファー)で洗浄される。次いで、カラムは、抗体/PROポリペプチド結合を分解する条件下(例えば、約2-3といった低pH、高濃度の尿素又はチオシアン酸イオン等のカオトロ-

50

ブ)で溶離され、PROポリペプチドが回収される。

【0261】

実施例34：薬剤スクリーニング

本発明は、PROポリペプチド又はその結合断片を種々の薬剤スクリーニング技術において使用することによる化合物のスクリーニングに特に有用である。そのような試験に用いられるPROポリペプチド又は断片は、溶液中の自由状態でも、固体支持体に固定されても、細胞表面に担持されていても、細胞内に位置していてもよい。薬剤スクリーニングの1つの方法は、PROポリペプチド又は断片を発現する組換え核酸で安定に形質移入される真核生物又は原核生物宿主細胞を利用する。薬剤は、そのような形質移入細胞に対して、競合的結合アッセイにおいてスクリーニングされる。そのような細胞は、生存可能又は固定化形態のいずれかにおいて、標準的な結合アッセイに使用できる。例えば、PROポリペプチド又は断片と試験される試薬の間での複合体の形成を測定してよい。あるいは、試験する試薬によって生ずるPROポリペプチドとその標的細胞との間の複合体形成における減少を試験することもできる。

しかして、本発明は、PROポリペプチド関連疾患又は障害に影響を与えうる薬剤又は任意の他の試薬のスクリーニング方法を提供する。これらの方法は、その試薬をPROポリペプチド又は断片に接触させ、(i)試薬とPROポリペプチド又は断片との間の複合体の存在について、又は(ii)PROポリペプチド又は断片と細胞との間の複合体の存在について検定することを含む。これらの競合結合アッセイでは、PROポリペプチド又は断片が典型的には標識される。適切なインキュベーションの後、自由なPROポリペプチド又は断片を結合形態のものから分離し、自由又は未複合の標識の量が、特定の試薬がPROポリペプチドに結合する又はPROポリペプチド/細胞複合体を阻害する能力の尺度となる。

薬剤スクリーニングのための他の技術は、ポリペプチドに対して適当な結合親和性を持つ化合物についての高スループットスクリーニングを提供し、1984年9月13日に公開されたW084/03564に詳細に記載されている。簡単に述べれば、多数の異なる小型ペプチド試験化合物が、プラスチックピン等の固体支持体又は幾つかの他の表面上で合成される。PROポリペプチドに適用すると、ペプチド試験化合物はPROポリペプチドと反応して洗浄される。結合したPROポリペプチドはこの分野で良く知られた方法により検出される。精製したPROポリペプチドは、上記の薬剤スクリーニング技術に使用するためにプレート上に直接被覆することもできる。さらに、非中和抗体は、ペプチドを捕捉し、それを固体支持体上に固定化するのに使用できる。

また、本発明は、PROポリペプチドに結合可能な中和抗体がPROポリペプチド又はその断片について試験化合物と特異的に競合する競合薬剤スクリーニングアッセイも考慮する。この方法において、抗体は、PROポリペプチドで、一又は複数の抗原決定基を持つ任意のペプチドの存在を検出するのに使用できる。

【0262】

実施例35：合理的薬剤設計

合理的薬剤設計の目的は、対象とする生物学的活性ポリペプチド(例えば、PROポリペプチド)又はそれらが相互作用する小分子、例えばアゴニスト、アンタゴニスト、又はインヒビターの構造的類似物を製造することである。これらの例の任意のものが、PROポリペプチドのより活性で安定な形態又はインビボでPROポリペプチドに機能を促進又は阻害する薬剤の創作に使用できる(参考、Hodgson, Bio/Technology, 9: 19-21 (1991))。

1つの方法において、PROポリペプチド、又はPROポリペプチド-インヒビター複合体の三次元構造が、x線結晶学により、コンピュータモデル化により、最も典型的には2つの方法の組み合わせにより決定される。分子の構造を解明し活性部位を決定するためには、PROポリペプチドの形状及び電荷の両方が確認されなければならない。数は少ないが、PROポリペプチドの構造に関する有用な情報が相同タンパク質の構造に基づいたモデル化によって得られることもある。両方の場合において、関連する構造情報は、類似P

R Oポリペプチド様分子の設計又は効果的なインヒビターの同定に使用される。合理的な薬剤設計の有用な例は、Braxton及びWells, Biochemistry, 31: 7796-7801 (1992)に示されているような向上した活性又は安定性を持つ分子、又はAthaudaら, J.Biochem., 113: 742-746 (1993)に示されているような天然ペプチドのインヒビター、アゴニスト、又はアンタゴニストとして作用する分子を含む。

また、上記のような機能アッセイによって選択された標的特異的な抗体を単離しその結晶構造を解明することもできる。この方法は、原理的には、それに続く薬剤設計が基礎をおくことのできるファーマコア(pharmacore)を生成する。機能的な薬理学的に活性な抗体に対する抗-イディオタイプ抗体(抗-ids)を生成することにより、タンパク質結晶学をバイパスすることができる。鏡像の鏡像として、抗-idsの結合部位は最初のレセプターの類似物であると予測できる。抗-idは、次いで、化学的又は生物学的に製造したペプチドのバンクからペプチドを同定及び単離するのに使用できる。単離されたペプチドは、ファーマコアとして機能するであろう。

本発明により、十分な量のPROポリペプチドがX線結晶学などの分析実験を実施するために入手可能である。さらに、ここに提供したPROポリペプチドアミノ酸配列の知識は、X線結晶学に換える、又はそれに加えるコンピュータモデル化技術で用いられる知識を提供する。

【0263】

実施例36：軟骨細胞再分化アッセイ(アッセイ110)

このアッセイは、本発明のあるペプチドが軟骨細胞の再分化を誘導し、それ故に例えば、スポーツ傷害及び関節炎などの種々の骨及び/又は軟骨組織疾患の治療に有用であると期待されることを示す。このアッセイは、以下のようにおこなわれる。ブタ軟骨細胞を、4-6ヶ月の年長雌ブタの中手指節関節の関節軟骨より一晩に渡るコラゲナーゼ消化によって単離する。そして、単離された細胞を、10%FBS及び4 µg/ml ゲンタマイシンを含むハムF-12へ25,000細胞/cm²の割合で接種する。培地は、3日ごとに換えられ、そして細胞を血清を含まない100 µlの同じ培地へ5,000細胞/ウェルとなるよう96ウェルプレートへ接種し、100 µlの試験PROポリペプチド、5nMスタウロsporin(正の対照)又は培地のみ(負の対照)を添加して最終容量を200 µl/ウェルとする。5日間に渡る37 °Cのインキュベーション後、各ウェルの写真を撮り、軟骨細胞の分化段階を測定する。軟骨細胞の再分化が負の対照よりも正の対照に似ている場合には、アッセイにおいて陽性の結果が生じたとした。以下の試験ポリペプチドがこのアッセイでポジティブであった：PRO1484、PRO1890、PRO1887、PRO4353、PRO4357、PRO4405、PRO5737、及びPRO5990。

【0264】

実施例37：骨格筋のグルコース又はFFA取り込みに影響を与えるポリペプチドの検出(アッセイ106)

このアッセイは、PROポリペプチドが骨格筋のグルコース又はFFA取り込みに影響を及ぼす能力を示すかどうかを決定するために設計されている。このアッセイにおいて陽性と評価されたPROポリペプチドは、例えば糖尿病又は高或いは低インシュリン血症を含む骨格筋によるグルコース取り込みの刺激又は阻害である疾患の治療上の処置にとって有用であると期待される。

96ウェルフォーマットにおいて、アッセイされるPROポリペプチドは初期ラット分化型骨格筋へ加えられ、そして一晩インキュベートされる。ついで、PROポリペプチド及び+/-インシュリンを含む新鮮な培地がウェルに加えられる。その後、試料培地は、骨格筋によるグルコース又はFFA取り込みを測定するために監視される。インシュリンは、骨格筋によるグルコース又はFFA取り込みを刺激し、PROポリペプチドを含まないインシュリンを含む培地を、陽性の基準コントロール及びスコーリング制限として使用する。試験されるPROポリペプチドがグルコース又はFFA取り込みを刺激或いは阻害した場合、インシュリンのコントロールより1.5倍より高い又は0.5倍より低いと、結果は陽性と記録される。

以下の試験 P R O ポリペプチドが、このアッセイにおいてグルコース及び / 又は FFA の取り込みの刺激剤又は阻害剤として陽性であった : P R O 1 4 8 4 、 P R O 1 1 2 2 、 P R O 1 8 8 9 、 P R O 4 3 5 7 、 及び P R O 4 3 8 0 。

【 0 2 6 5 】

実施例 3 8 : 初期ラット脂肪細胞によるグルコース又は FFA 取り込みに影響を与える P R O ポリペプチドの検出 (アッセイ 94)

このアッセイは、P R O ポリペプチドが脂肪細胞によるグルコース又は F F A 取り込みに影響を及ぼす能力を示すかどうかを決定するために設計されている。このアッセイにおいて陽性と評価された P R O ポリペプチドは、例えば肥満、糖尿病又は高或いは低インシュリン血症を含む脂肪細胞によるグルコース取り込みの刺激又は阻害である疾患の治療上の処置にとって有用であると期待される。

10

96 ウェルフォーマットにおいて、アッセイされる P R O ポリペプチドは初期ラット脂肪細胞へ加えられ、そして一晩インキュベートされる。4 及び 16 時間目に、グリセロール、グルコース及び F F A 取り込みのアッセイのための試料が取られる。16 時間のインキュベーション後、インシュリンを培地へ加え、4 時間のインキュベートをおこなう。この時、試料が取られて、グリセロール、グルコース及び F F A の取り込みが測定される。P R O ポリペプチドが無くインシュリンを含む培地を、陽性の基準コントロールとして使用する。試験される P R O ポリペプチドがグルコース又は FFA 取り込みを刺激或いは阻害した場合、インシュリンのコントロールより 1.5 倍より高い又は 0.5 倍より低いと、結果は陽性と記録される。

20

以下の P R O ポリペプチドが、このアッセイにおいてグルコース及び / 又は F F A の取り込みの刺激剤として陽性と評価された : P R O 1 8 9 0 、 P R O 1 7 8 5 、 及び P R O 4 4 2 2 。

以下の試験 P R O ポリペプチドが、このアッセイにおいてグルコース及び / 又は F F A の取り込みの阻害剤として陽性であった : P R O 4 3 3 4 、 P R O 4 4 2 5 、 P R O 4 4 2 4 、 及び P R O 4 4 3 0 。

【 0 2 6 6 】

実施例 3 9 : 膵臓 β 細胞前駆体分化の誘導 (アッセイ 89)

このアッセイは、本発明のあるペプチドが膵臓 β 細胞前駆体の分化を誘導し、それ故に糖尿病を含む哺乳類における種々のインシュリン欠乏状態の治療に有用であると期待されることを示す。このアッセイは、以下のようにおこなわれた。このアッセイは、マウス胎児膵臓細胞の一次培養を使用し、一次計測は、 β 細胞前駆体又は成熟 β 細胞のいずれかを示すマーカーの発現の変化である。マーカー発現は、実時間数量化 PCR (RTQ-PCR、real time quatitative PCR) によって測定される : 評価されるマーカーは、インシュリンである。膵臓は、E14 胚 (CD1 マウス) から解剖される。そして、膵臓は F12/DMEM 中のコラゲナーゼ / デスパーゼ (dispa se) で 37 、 40-60 分で消化される (コラゲナーゼ / デスパーゼ (dispa se) 、 1.37mg/ml、ベーリンガーマンハイム、#1097113)。次に、消化物を等量の 5% BSA によって中和し、細胞を一度、RPMI 1640 で洗浄する。第 1 日目、細胞を 12 ウェルの組織培養プレート (PBS 中の 20 μ l/ml のラミニン、ベーリンガーマンハイム、#124317 によって、前被覆された) へ接種する。1-2 の胚からの膵臓の細胞を一つのウェルに分布させる。この一次培養の為に培地は、14F/1640 である。第 2 日目には、培地を取り除き、RPMI/1640 によって付着細胞を洗浄する。試験されるタンパク質に加えて、2ml の最小培地を添加する。第 4 日目には、培地を取り除き、細胞より RNA を調製し、マーカー発現を実数時間数量化逆転写 PCR (real time quantitative RT-PRC) によって分析する。タンパク質は、関連する β 細胞マーカーの発現が未処理対照に比較して増加した場合、このアッセイにおいて活性があるものと考ええる。

30

40

14F/1640 (Gibco) は、以下のものを加えた RPMI 1640 :

グループ A 1:1000

グループ B 1:1000

組み換えヒトインシュリン 10 μ g/ml

50

アプロチニン(50 µg/ml) 1:2000 (ベーリンガーマンハイム#981532)

ウシ下垂体抽出物(BPE) 60 µg/ml

ゲンタマイシン100 ng/ml

グループ A : (10 ml PBS中)

トランスフェリン、100 mg(シグマ T2252)

上皮細胞成長因子、100 µg(BRL 100004)

トリヨードチロニン、 5×10^{-6} Mの10 µl(シグマ T5516)

エタノールアミン、 10^{-1} Mの100 µl(シグマ E0135)

ホスホエタノールアミン、 10^{-1} Mの100 µl(シグマ P0503)

セレンウム、4 µlの 10^{-1} Mの100 µl(Aesar #12574)

10

グループ C : (10 ml 100%エタノール中)

ヒドロコルチゾン、2 µl, 5×10^{-3} M(シグマ #H0135)

プロジェステロン、100 µl, 1×10^{-3} M(シグマ #P6149)

フォルスコリン、20 mMの500 µl(カルバイオケム #344270)

最小培地 :

RPMI1640プラストランスフェリン(10 µg/ml)、インシュリン(1 µg/ml)、ゲンタマイシン(100ng/ml)、アプロチニン(50 µg/ml)及びBPE(15 µg/ml)。

限定培地 :

RPMI1640プラストランスフェリン(10 µg/ml)、インシュリン(1 µg/ml)、ゲンタマイシン(100 ng/ml)及びアプロチニン(50 µg/ml)。

20

以下の試験ポリペプチドがこのアッセイでポジティブであった : PRO 4 3 5 6。

【 0 2 6 7 】

実施例 4 0 : 赤芽球細胞系における胎児ヘモグロビン誘発(アッセイ107)

このアッセイは、成人のヘモグロビンから赤芽球細胞系における胎児ヘモグロビンへの切替を誘発する、PROポリペプチドの能力をスクリーニングするのに有用である。このアッセイにおいて試験する分子がポジティブであると、種々のサラセミア等の、多様な哺乳類ヘモグロビン関連疾患を治療的に処置するのに有用であることが期待される。このアッセイは以下のようにして行われる。赤芽球細胞を標準的成長培地において、96ウェルフォーマットに1000細胞/ウェルで蒔く。0.2%又は2%の濃度でPROポリペプチドを成長培地に添加し、細胞を37 °Cで5日間インキュベートする。正の対照体として、細胞を100 µMのヘミンで処理し、負の対照体として、細胞を処理しない。5日後、細胞溶解物を調製し、ガンマグロブリンの発現について分析した(胎児用マーカー)。このアッセイにおいてポジティブとは、ガンマグロブリンレベルが負の対照体の少なくとも2倍であることである。

30

以下の試験ポリペプチドがこのアッセイでポジティブであった : PRO 4 3 5 2、PRO 4 3 5 4、PRO 4 4 0 8、PRO 6 0 3 0及びPRO 4 4 9 9。

【 0 2 6 8 】

実施例 4 1 : マウス腎メサングウム細胞増殖アッセイ(アッセイ92)

このアッセイは、本発明のあるペプチドが、哺乳類の腎メサングウム細胞の増殖を誘導するように作用し、それ故にバーガー病又はシェーンライン-ヘノーホ紫斑病、セリアック病、疱疹状皮膚炎又はクローン病に関連する他の腎障害のようなメサングウム細胞の機能低下と関連する腎疾患の治療に有用である。このアッセイは以下のようにおこなわれる。

40

1日目、マウス腎メサングウム細胞を、96ウェルプレート上の成長培地(ダルベッコの改変イーグル培地及びハムF12培地の3:1混合、95%ウシ胎児血清、5%14mM HEPES補充)にプレートし、一晩生育させる。2日目には、PROポリペプチドを無血清培地で二つの濃度(1%及び0.1%)に希釈し、細胞へ添加する。対照試料は無血清培地である。4日目には、20 µlのCell Titer 96 Aqueous one solution reagent(Progen)を各々のウェルへ添加し、比光分析反応を2時間に渡り継続させる。そして、吸光度を490nmで測定した。このアッセイにおける陽性は、少なくとも対照試料の示度よりも15%上の吸光度示度を与える全てのものである。

以下の試験ポリペプチドが、このアッセイでポジティブであった : PRO 4 3 8 0、PR

50

Ｏ４４０８及びＰＲＯ４４２５。

【０２６９】

次の材料をアメリカン・タイプ・カルチャー・コレクション，１２３０１パークローンドライブ，ロックビル，メリーランド，アメリカ合州国（ATCC）に寄託した：

【０２７０】

表７

材料	ATCC寄託番号	寄託日	
DNA44686-1653	203581	January 12, 1999	
DNA59608-2577	203870	March 23, 1999	
DNA62377-1381	203552	December 22, 1998	10
DNA77623-2524	203546	December 22, 1998	
DNA79230-2525	203549	December 22, 1998	
DNA79862-2522	203550	December 22, 1998	
DNA80136-2503	203541	December 15, 1998	
DNA80145-2594	204-PTA	June 8, 1999	
DNA84917-2597	203863	March 23, 1999	
DNA84920-2614	203966	April 27, 1999	
DNA86576-2595	203868	March 23, 1999	
DNA87976-2593	203888	March 30, 1999	
DNA92234-2602	203948	April 20, 1999	
DNA92256-2596	203891	March 30, 1999	
DNA92274-2617	203971	April 27, 1999	
DNA92929-2534	203586	January 12, 1999	
DNA93011-2637	20-PTA	May 4, 1999	20
DNA96042-2682	382-PTA	July 20, 1999	
DNA96850-2705	479-PTA	August 3, 1999	
DNA96857-2636	17-PTA	May 4, 1999	
DNA96867-2620	203972	April 27, 1999	
DNA96878-2626	23-PTA	May 4, 1999	
DNA96899-2641	119-PTA	May 25, 1999	

【０２７１】

この寄託は、特許手続き上の微生物の寄託の国際的承認に関するブダペスト条約及びその規則（ブダペスト条約）の規定に従って行われた。これは、寄託の日付から30年間、寄託の生存可能な培養が維持されることを保証するものである。寄託物はブダペスト条約の条項に従い、またジェネンテック社とATCCとの間の合意に従い、ATCCから入手することができ、これは、どれが最初であろうとも、関連した米国特許の発行時又は任意の米国又は外国特許出願の公開時に、寄託培養物の後代を永久かつ非制限的に入手可能とすることを保証し、米国特許法第122条及びそれに従う特許庁長官規則（特に参照番号8860G638の37CFR第1.14条を含む）に従って権利を有すると米国特許庁長官が決定した者に後代を入手可能とすることを保証するものである。

本出願の譲受人は、寄託した培養物が、適切な条件下で培養されていた場合に死亡もしくは損失又は破壊されたならば、材料は通知時に同一の他のもの即座に取り替えることに同意する。寄託物質の入手可能性は、特許法に従いあらゆる政府の権限下で認められた権利に違反して、本発明を実施するライセンスであるとみなされるものではない。

上記の文書による明細書は、当業者に本発明を実施できるようにするために十分であると考えられる。寄託した態様は、本発明のある側面の一つの説明として意図されており、機能的に等価なあらゆる作成物がこの発明の範囲内にあるため、寄託された作成物により、本発明の範囲が限定されるものではない。ここでの物質の寄託は、文書による説明が、そのベストモードを含む、本発明の任意の側面の実施を可能にするために不十分であることを認めるものではないし、それが表す特定の例証に対して請求の範囲を制限するものと解釈されるものでもない。実際、ここに示し記載したものに加えて、本発明を様々に改変することは、前記の記載から当業者にとっては明らかなものであり、添付の請求の範囲内に入るものである。

【図面の簡単な説明】

【Fig 1】 配列番号：１がここにおいて「DNA44686-1653」と命名され

10

20

30

40

50

たクローンである、天然配列 P R O 1 4 8 4 c D N A のヌクレオチド配列（配列番号：1）。

【 F i g 2 】 F i g 1 に示された配列番号：1 のコード化配列より誘導されたアミノ酸配列（配列番号：2）。

【 F i g 3 】 配列番号：8 がここにおいて「 D N A 5 9 6 0 8 - 2 5 7 7 」と命名されたクローンである、天然配列 P R O 4 3 3 4 c D N A のヌクレオチド配列（配列番号：8）。

【 F i g 4 】 F i g 3 に示された配列番号：8 のコード化配列より誘導されたアミノ酸配列（配列番号：9）。

【 F i g 5 】 配列番号：10 がここにおいて「 D N A 6 2 3 7 7 - 1 3 8 1 」と命名されたクローンである、天然配列 P R O 1 1 2 2 c D N A のヌクレオチド配列（配列番号：10）。

10

【 F i g 6 】 F i g 5 に示された配列番号：10 のコード化配列より誘導されたアミノ酸配列（配列番号：11）。

【 F i g 7 】 配列番号：15 がここにおいて「 D N A 7 7 6 2 3 - 2 5 2 4 」と命名されたクローンである、天然配列 P R O 1 8 8 9 c D N A のヌクレオチド配列（配列番号：15）。

【 F i g 8 】 F i g 7 に示された配列番号：15 のコード化配列より誘導されたアミノ酸配列（配列番号：16）。

【 F i g 9 】 配列番号：17 がここにおいて「 D N A 7 9 2 3 0 - 2 5 2 5 」と命名されたクローンである、天然配列 P R O 1 8 9 0 c D N A のヌクレオチド配列（配列番号：17）。

20

【 F i g 1 0 】 F i g 9 に示された配列番号：17 のコード化配列より誘導されたアミノ酸配列（配列番号：18）。

【 F i g 1 1 】 配列番号：22 がここにおいて「 D N A 7 9 8 6 2 - 2 5 2 2 」と命名されたクローンである、天然配列 P R O 1 8 8 7 c D N A のヌクレオチド配列（配列番号：22）。

【 F i g 1 2 】 F i g 1 1 に示された配列番号：22 のコード化配列より誘導されたアミノ酸配列（配列番号：23）。

【 F i g 1 3 】 配列番号：28 がここにおいて「 D N A 8 0 1 3 6 - 2 5 0 3 」と命名されたクローンである、天然配列 P R O 1 7 8 5 c D N A のヌクレオチド配列（配列番号：28）。

30

【 F i g 1 4 】 F i g 1 3 に示された配列番号：28 のコード化配列より誘導されたアミノ酸配列（配列番号：29）。

【 F i g 1 5 】 配列番号：34 がここにおいて「 D N A 8 0 1 4 5 - 2 5 9 4 」と命名されたクローンである、天然配列 P R O 4 3 5 3 c D N A のヌクレオチド配列（配列番号：34）。

【 F i g 1 6 】 F i g 1 5 に示された配列番号：34 のコード化配列より誘導されたアミノ酸配列（配列番号：35）。

【 F i g 1 7 】 配列番号：39 がここにおいて「 D N A 8 4 9 1 7 - 2 5 9 7 」と命名されたクローンである、天然配列 P R O 4 3 5 7 c D N A のヌクレオチド配列（配列番号：39）。

40

【 F i g 1 8 】 F i g 1 7 に示された配列番号：39 のコード化配列より誘導されたアミノ酸配列（配列番号：40）。

【 F i g 1 9 】 配列番号：44 がここにおいて「 D N A 8 4 9 2 0 - 2 6 1 4 」と命名されたクローンである、天然配列 P R O 4 4 0 5 c D N A のヌクレオチド配列（配列番号：44）。

【 F i g 2 0 】 F i g 1 9 に示された配列番号：44 のコード化配列より誘導されたアミノ酸配列（配列番号：45）。

【 F i g 2 1 】 配列番号：49 がここにおいて「 D N A 8 6 5 7 6 - 2 5 9 5 」と命名

50

されたクローンである、天然配列 P R O 4 3 5 6 c D N A のヌクレオチド配列（配列番号：49）。

【 F i g 2 2 】 F i g 2 1 に示された配列番号：49のコード化配列より誘導されたアミノ酸配列（配列番号：50）。

【 F i g 2 3 】 配列番号：51がここにおいて「D N A 8 7 9 7 6 - 2 5 9 3」と命名されたクローンである、天然配列 P R O 4 3 5 2 c D N A のヌクレオチド配列（配列番号：51）。

【 F i g 2 4 】 F i g 2 3 に示された配列番号：51のコード化配列より誘導されたアミノ酸配列（配列番号：52）。

【 F i g 2 5 】 配列番号：56がここにおいて「D N A 9 2 2 3 4 - 2 6 0 2」と命名されたクローンである、天然配列 P R O 4 3 8 0 c D N A のヌクレオチド配列（配列番号：56）。

【 F i g 2 6 】 F i g 2 5 に示された配列番号：56のコード化配列より誘導されたアミノ酸配列（配列番号：57）。

【 F i g 2 7 】 配列番号：58がここにおいて「D N A 9 2 2 5 6 - 2 5 9 6」と命名されたクローンである、天然配列 P R O 4 3 5 4 c D N A のヌクレオチド配列（配列番号：58）。

【 F i g 2 8 】 F i g 2 7 に示された配列番号：58のコード化配列より誘導されたアミノ酸配列（配列番号：59）。

【 F i g 2 9 】 配列番号：60がここにおいて「D N A 9 2 2 7 4 - 2 6 1 7」と命名されたクローンである、天然配列 P R O 4 4 0 8 c D N A のヌクレオチド配列（配列番号：60）。

【 F i g 3 0 】 F i g 2 9 に示された配列番号：60のコード化配列より誘導されたアミノ酸配列（配列番号：61）。

【 F i g 3 1 】 配列番号：62がここにおいて「D N A 9 2 9 2 9 - 2 5 3 4」と命名されたクローンである、天然配列 P R O 5 7 3 7 c D N A のヌクレオチド配列（配列番号：62）。

【 F i g 3 2 】 F i g 3 1 に示された配列番号：62のコード化配列より誘導されたアミノ酸配列（配列番号：63）。

【 F i g 3 3 】 配列番号：64がここにおいて「D N A 9 3 0 1 1 - 2 6 3 7」と命名されたクローンである、天然配列 P R O 4 4 2 5 c D N A のヌクレオチド配列（配列番号：64）。

【 F i g 3 4 】 F i g 3 3 に示された配列番号：64のコード化配列より誘導されたアミノ酸配列（配列番号：65）。

【 F i g 3 5 】 配列番号：66がここにおいて「D N A 9 6 0 4 2 - 2 6 8 2」と命名されたクローンである、天然配列 P R O 5 9 9 0 c D N A のヌクレオチド配列（配列番号：66）。

【 F i g 3 6 】 F i g 3 5 に示された配列番号：66のコード化配列より誘導されたアミノ酸配列（配列番号：67）。

【 F i g 3 7 】 配列番号：71がここにおいて「D N A 9 6 8 5 0 - 2 7 0 5」と命名されたクローンである、天然配列 P R O 6 0 3 0 c D N A のヌクレオチド配列（配列番号：71）。

【 F i g 3 8 】 F i g 3 7 に示された配列番号：71のコード化配列より誘導されたアミノ酸配列（配列番号：72）。

【 F i g 3 9 】 配列番号：73がここにおいて「D N A 9 6 8 5 7 - 2 6 3 6」と命名されたクローンである、天然配列 P R O 4 4 2 4 c D N A のヌクレオチド配列（配列番号：73）。

【 F i g 4 0 】 F i g 3 9 に示された配列番号：73のコード化配列より誘導されたアミノ酸配列（配列番号：74）。

【 F i g 4 1 】 配列番号：75がここにおいて「D N A 9 6 8 6 7 - 2 6 2 0」と命名

10

20

30

40

50

されたクローンである、天然配列 P R O 4 4 2 2 c D N A のヌクレオチド配列（配列番号：75）。

【 F i g 4 2 】 F i g 4 1 に示された配列番号：75のコード化配列より誘導されたアミノ酸配列（配列番号：76）。

【 F i g 4 3 】 配列番号：77がここにおいて「DNA96878-2626」と命名されたクローンである、天然配列 P R O 4 4 3 0 c D N A のヌクレオチド配列（配列番号：77）。

【 F i g 4 4 】 F i g 4 3 に示された配列番号：77のコード化配列より誘導されたアミノ酸配列（配列番号：78）。

【 F i g 4 5 】 配列番号：79がここにおいて「DNA96889-2641」と命名されたクローンである、天然配列 P R O 4 4 9 9 c D N A のヌクレオチド配列（配列番号：79）。

【 F i g 4 6 】 F i g 4 5 に示された配列番号：79のコード化配列より誘導されたアミノ酸配列（配列番号：80）。

10

【図1】

```
GGCATCTGCCCGAGGAGACCACGCTCTCGAGCTCTGCTGCTTCTCAGGGAGACTCTGAGG
CTCTGTTTGAGAACTCTCTTTGGAGGCAGCTCATCTATTGGCAACTGCTGGCTTTGTTTTTC
CTCCCTTTTGGCTGTGTCAAGATGAATACATGGAGTCTCCACAAACCGGAGGACTACCCCC
AGACTGCAGTAAGTGTGTGATGGAGACTACAGCTTTTCGAGGCTACCAAGGCCCTGGGGC
CACCGGGCCCTCTCGCATTCAGGAACCATGGAACCAATGGCAACATGGAGCCACTGGT
CATGAAGGAGCCAAAGGTGAGAAGGGGACAAAGGTGACCTGGGGCTCGAGGGGAGCGGG
GCAGCATGGCCCCAAAGGAGAGAGGGCTACCCGGGGATTCCACCAGAACTTCAGATTGCAT
TCATGGCTTCTCTGGCAACCCACTTCAGCAATCAGAACAGTGGGATTATCTTCAGCAGTGTT
GAGACCAACATTGGAACTTCTTTGATGTCATGACTGGTAGATTGGGGCCCCAGIATCAGG
TGTGTATTCTTCACCTTCAGCATGATGAAGCATGAGGATGTTGAGGAAGTGTATGTGTACC
TTATGCACAATGGCAACACAGCTTTCAGCATGTACAGCTATGAAATGAAGGGCAATCAGAT
ACATCCAGCAATCATGCTGTGCTGAAGCTAGCCAAAGGGGATGAGGTTTGGCTGCGAATGGG
CAATGGCGCTCTCCATGGGGACCAACGCTTCTCCACCTTTGCTGATTCCTGCTCTTTG
AAACTAAGTAAATATATGACTAGAATAGCTCCACTTTGGGGAAGACTTGTAGCTGAGCTGAT
TTGTTACGATCTGAGGAACATTAAAGTTGAGGGTTTTACATTGCTGTATTCAAAAAATTATT
GGTTGCAATGTTTTCACGCTACAGGTACACCAATAATGTTGCACAATTCAGGGGCTCAGAA
GAATCAACCACAAAATAGTCTTCTCAGATGACCTTGACTAATATACTCAGCATCTTTATCAC
TCTTTCTTGGCACTTAAAGATAATTCTCTCTGACGCGAGTTGGAAATATTTTTTTCTAT
CACAGAAGTCATTTGCAAGAATTTGACTACTCTGCTTTTAAATTAATACCAAGTTTTCAGG
AACCCTGAAGTTTAAAGTTCATTATCTTTATAACATTTGAGAGAATCGGATGTAGTGATA
TGACAGGGCTGGGGCAAGAACAGGGGCACTAGCTGCCTTATTAGCTAATTTAGTGCCTCCG
TGTTACGCTTAGCCTTTGACCTTTCTCTTTGATCCACAAAATACATTAACCTCTGAATTC
ACATACAATGCTATTTTAAAGTCAATAGATTTTAGCTATAAAGTGCTTGACCAGTAATGTGG
TTGTAATTTTGTGTATTTCCCCACATCGCCCCAAATTCGGATGTGGGGTCAGGAGGTTG
AGGTTCACTATTAAACAATGTCATAAATATCTCATAGAGGTACAGTGCCTAATAGATATTCAA
ATGTTGCATGTTGACCAAGGGGATTTATATCTGAAGAACATACACTATTAAATACCTT
AGAGAAAGATTTGACCTGGCTTTAGATAAACTGTGGCAAGAAAAATGTAATGAGCAATAT
ATGGAAATAAACACACCTTTGTTAAAGATAAAAAAAA
```

【図2】

```
></usr/seqdb2/sst/DNA/Dnaseqs.min/ss.DNA44686
><subunit 1 of 1, 246 aa, 1 stop
><MW: 26994, pI: 6.43, NX(S/T): 0
MLWRQLIYWQLLALFLPFLCQDEYMESPQTGGLPDCSKCHGDYSFRGYQGPFGPPGPP
GIPGNHGNNGNNGATGHEGAKGEKDKGLGPRGERGQHGPKGEKGYPIPELQIAFMASL
ATHFSNQNSGIISSVETNIGNFFDVMTRFGAPVSGVYFFTFMMKHEDVEEVYVLMHNG
NTVFMSI/SYEMKGKSDTSSNHAFLKLAGDEVWLRMCNGALHGDHQRSTFAGFLLFETK
```

タンパク質の重要な特徴

シグナルペプチド

アミノ酸 1-22

モチーフ名: Clqドメインシグネチャー

アミノ酸 137-167

Clqドメインタンパク質

アミノ酸 135-169, 202-221, 235-244, 57-91, 60-94, 54-88, 81-114, 78-111, 63-96, 51-84, 45-78, 48-81, 33-66, 66-99 and 42-75

【図 3】

GAGAGAATAGCTACAGATTCTCCATCCTCAGCTTTTGCAAGGCGACAGCTGTGCCAGCCGGG
CTCTGGCAGGCTCCTGGCAGCA**ATG**GCACTGAAGCTTGGGACCCCTCCTGTGCCCTTGCCCT
GGGCTTGGCCAGCCAGCCTCTGCCGCCGGAAGCTGCTGGTGTCTCTGCTGGATGGTTTTCT
GCTCAGACTACATCAGTGATGAGGCGCTGGAGTCATTGCTGGTTTCAAAGAGATTGTGAGC
AGGGAGTAAAGTGGATTACTTGACTCCAGACTTCCCTAGTCTCTCGTATCCCAATTATTA
TACCCATAATGACTGGCGCCATTGTGAAGTCCATCAGATGATCGGGAACATCATGTGGGACC
CCACCAACAAGTCCCTTTGACATTGGCGCTCAACAAGACAGCCJAATGCCCTCTCTGGTGG
AATGGATCAGAACCTCTGTGGGTCACTCTGACCAAGGCCAAAGGAAGCTCTACATGTACTA
CTGGCCAGGCTGTGAGGTGAGATTCTGGGTGTGAGCCACCTACTGCCTAGAATATAAAA
ATGTCCCAACGGATATCAATTTTGCCAATGCAGTCAGCGATGCTCTTGACTCCTTCAAGAGT
GGCCGGGCCGACCTGGCAGCCATATACCATGAGCGCATTGACGTGGAAGGCCACCACTACGG
GCCTGCATCTCCGACAGGAAAGATGCCCTCAAGGCTGTAGACACTGTCTGAAGTACATGA
CCAAGTGGATCCAGGAGCGGGCGCTGCAGGACCGCCTGAACGTCAATTATTTCTCGGATCAC
GGAATGACCGACATTTCTGGATGGACAAAGTGATTGAGCTGAATAAGTACATCAGCCTGAA
TGACCTGCAGCAAGTGAAGACCGCGGGCTGTGTGAGCCTTTGGCCGGCCCTGGGAAAC
ACTCTGAGATATATAACAACTGAGCACAGTGGAAACATGACTGTCTACGAGAAAGAACCC
ATCCCAAGCAGGTTCTATTACAAGAAAGGAAGTTTGTCTCTCCTTTGACTTTAGTGGCTGA
TGAAAGCTGGTTCATAACTGAGAATCAGAGATGCTTCCGTTTGGATGAACAGCACCAGCA
GGCGGGAAGGTTGGCAGCGCTGGATGGCAGCGCTACGACAAACAGCTCATGGACATGCGGGC
ATCTTCTGGCCTTGAGCCTGATTTCAAATCCAACCTTCAGAGCTGCTCCTATCAGGTCGGT
GGACGCTACAAATGTCTGCAATGTGGTGGGCATCACCCGCTGCCCAACAACGGATCCT
GGTCAGGGTGATGTGATGCTGAAGGCGCGCGGCACTGCCCGCCTGTCTGGCCAGC
CACTGTGCCCTGGCAGTATTCTCTCTCTGCTGCA**TA**CTGATCATATTGCTTGTCTC
AGAAAAAACACCATCAGCAAGTGGGCTCCAAAGCAGATGATTTTCATTTTATGTGTA
ATAATAGCTTCATTAAACAATCAAGACCATGACATTTGAAATACATTATCTTGGATAAT
TCTATACATAAAAGTTCTACTTGT7TAA

【図 5】

GCCAGGTGTGACAGGCGCTCCAAGCCAGCCTGCCCGCTGCCGCCAC**ATG**ACGCTCCTCC
CCGGCTCCTGTTCTGACCTGGCTGCACACATGCCTGGCCACCATGACCCCTCCTCAGG
GGGACACCCACAGTCACGGTACCCACACATGCTACTCGGCTGAGGAACCTGCCCTCGGGCA
GGCCCCCCCACACCTGCTGGCTCAGAGTGGCAAGTGGGGGACGGCTTTGCCTGTAGCCCTGG
TGTTCAAGCTGGAGGCGAGAACGACAGGGGGAGSCACGAGAGGCTCTCAGTACGACCCAG
TGCCCGGTGCTGCGGCCGAGGAGGTGTGGAGGCGACACCCACAGCGCTCCATCTCACC
CTGGAGATACCGTGTGGACACGGATGAGGACCGCTATCCACAGAAGCTGGCCTTCGCGAGT
GCCTGTGCAGAGCTGTATCGATGCACGGACGGGCGGAGACAGCTGCGCTCAACTCCGTG
CGGCTGCTCCAGAGCCTGTGCTGCTGCGGCCCGGCCCTGCTCCCGGACGGCTCGGGGCT
CCCCACACCTGGGGCTTTGGCTTCCACACAGATTATCCACAGCTCCCGCTCGGCTGCACCT
CGCTGCTGCCCGCTTCAGTCT**GA**CCCGCGAGCGCTGGGGCCCCAGATGGACACGCTGTGC
TCCCCAGAGGACCCCTTATTATGTGATTTATTTATTTATATGCTTCCCCAACACT
ACCTTTGGGCTCTGGGCATTCCCGGTGTCTGGAGGACAGCCCCCACTGTTCTCCTCATCTC
CAGCCTCAGTAGTGGGGGTAGAAGGAGCTCAGCACCTCTTCCAGCCCTTAAAGCTGCAGAA
AAGGTGTACACGGCTGCTGTACCTTGGCTCCCTGTCTGCTCCGCGCTTCCCTTACCCCTA
TCACTGGCCTCAGGCCCCGAGGCTGCTCTTCCCAACCTCTTGGAGTACCCCTGTTTCT
TAAACAATATTAAAGTGTACGTGATTATTAAACTGATGAACACATCCCCAAA

【図 4】

MAVKLGTLALLALGLAQPASARRKLLVFLDGFSDYISDEALESPLGFEIVSRGVKVDY
LTPDFPSLSYFNYYTLMTGRHCEVHQMIGNYMWDPPTNKSFDIGVNKDSLMPJMWNGSEPLW
VTLTKAKRKVYMYWPGCEVEILGVREPTYCLEYKNVPTDINFANAVSDALDSFKSGRADLAA
IYHERIDVEGHHYGPASPQRKDALKAVDTVLKYMTKWIERGLQDRNLNIIIESDHGMDIFW
MDKVIENLKYISLNDLQVQKDRGPVVSLLWPAPGXHSEIYNKLSVZEHMTVYEKEIAPSRFY
KKGKFSPLTLVADEGWFITENREMLPFWMNSTGRREGWQRGWHGYDNELMDMRGIFLAFGP
DFKSNF3AAPIRSVDVYVMCNVVGITPLPNNGSWSRVCMCLKGRAGTAPPVWPSCALALI
LLFLLA

タンパク質の重要な特徴

シグナルペプチド

アミノ酸 1-22

N-グリコシル化部位

アミノ酸 100-104, 118-122, 341-345, 404-408

N-ミリスチル化部位

アミノ酸 148-154, 365-371

アミド化部位

アミノ酸 343-347

【図 6】

MTLLPGLLFTLWLHTCLAHHPDLRHPHSHGTPHCYSAEELPLQAPPHLLARGAKWQAL
PVALVSSLEAAASHRGRHERPSATTQCPVLRPEEVLEADTHQRSISPWRVYRVDTEDEYFQKL
AFABECLRCGICDARTGRETAALNSVRLQLSLVLRRLRPRCSRDSGLPTPGAFAHTEFIHVP
VGCTCVLPRSV

重要な特徴

シグナルペプチド

アミノ酸 1-18

チロシンキナーゼリン酸化部位

アミノ酸 112-121

N-ミリスチル化部位

アミノ酸 32-38, 55-61, 133-139

ロイシンジッパーパターン

アミノ酸 3-25

IL-17に対して相同的な領域

アミノ酸 99-195

【図 7】

CGGCCAGGGCGCCGACAGCCGACCTACCAGGAGA**ATG**CAGCTCGGCAGCTGGCTCCTG
CTGGCCGCGCTCCTGAGCCTGCAGCTGGCTGCAGCCGAAGCCATATGTTGTCAACAGTGAC
GGGCTTCGGAGGGTGCTCCCATGGATCCAGATGCTGAGGGACTCCACCCACTGTGTACCA
CTGCCACCCCGGTCCTCAGCAACACCCAGGATTGCTCTGGTCACCAAGATGTGCCACATA
GGTGCGCCGATATCCCCAGCCTGGGCTCGGGCCCTACGTATCCATCGCTTGTCTGCCAGAC
CAGCCTCTGCAACCATGAC**TGA**CGGCTGCCCTCCCTCCAGGCCCGCCGAGCGCTCAGCCCCAC
AGCCCCACAGCCTGGCGCCAGGGCTCACGGCCGCCCTCCCTCGAGACTGGCCAGGCCACC
TCTCCCGGCTCTGAGCCACCGCTCCAGCACCGCTTGTCTAGGGAGTCTCGGTGGAGTC
TTGCTCAATCTGTCTGCCGTCCAAGCTGGGGCCCTCGTGCCTGCCGCCCTTCAGGTCCC
GACCTCCCAACAATAAATGTGATTGGATCGTGTGGTACAAAAA
AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

【図 16】

```
></usr/seqdb2/sst/DNA/Dnaseqs.min/ss.DNA80145
><subunit 1 of 1, 888 aa, 1 stop
><MW: 95285, pI: 8.89, NX(S/T): 8
MQTPRASPPRPALLLLLLGGAGHLFPEEPPLSVAPRDYLNHYPVFVSGSGPRLTPAEGA
DDLNIQRVLVRNRTLFIGDRONLYRVELEPPTSTELRYQRKLTWRNSPDSINVCRMKGQEG
ECRNFLTAVLLRDESTLFVCGSNAFNPVCANYSIDTLQPVGDNISGMARCPYDPKHANVALF
SDGMFLTATVTDFLAIDAVIYRSIGDRPLTRTVKHDSKWFKEPYFVHAEWEGSHVYFFFEI
AMEFNYLEKVVSVRVARVCNKDVGSPRVLEKQWTSFLKARLNCSPGDSHFYFNVLQAVTG
VVSLLGRRPVVLAVSTFSPNSIPGSAVCAFDTLQVAVFEGRFREQKSPESIWTVPVEDQVPR
PRPGCCAAPGMQYNASSALPDLLNFVKTHPLMDEAVPSLGHAPWILRTLMRHQLTRVAVDV
GAGPWGNQTVVFLGSEAGTVLKFVRPNASTSGTSLSVFLBEPFETYPDRCRPGSGGETGQ
RLLSLELDAASGGLLAAPRCVVRVVPVARCQQYSGCMKNCIGSQDPYCGWAPDGSCI FLSPG
TRAAFEQDVSGASTSLGSDCTGLLRASLSERDAGLVSVNLLVTSVVAFFVVGAVVSGFSVGW
FYGLRERRELARRKDKEAILAHGAGEAVLSVSRGLERRAQQSGGAGGGGGGGGAVPPEALLA
PLMQWGWAKATLLQCGPHDLDGLLPTTPQDTLPQKRLTFPHPHPHALGRANDHGHPLLEA
SASSLLLLAPARAPQEPQPPAPGPEPTPDGRLYAARPGRASHGDGFLPHASPDORRRVVSAPTG
FLDPASAADGLPRPWSPPPTGSLRRLPLGFHAPPAATLRTRHTFNSGEARPGDRRHGCHARFG
TDLAHLLEYGADRTAPPVP
```

タンパク質の重要な特徴

シグナルペプチド

アミノ酸 1-25

膜貫通ドメイン

アミノ酸 318-339, 598-617

N-グリコシル化部位

アミノ酸 74-78, 155-159, 167-171, 291-295, 386-390, 441-445,

462-466

グリコサミノグリカン付着部位

アミノ酸 51-55, 573-577

cAMP-及びcGMP-依存性プロテインキナーゼリン酸化部位

アミノ酸 102-106

N-ミリスチル化部位

アミノ酸 21-27, 50-56, 189-195, 333-339, 382-388, 448-454,

490-496, 491-497, 508-514, 509-515, 531-537, 558-564, 569-575,

574-580, 580-586, 610-616, 643-649, 663-669, 666-672, 667-673,

668-674, 669-675, 670-676, 686-674, 679-885

【図 18】

```
></usr/seqdb2/sst/DNA/Dnaseqs.min/ss.DNA84917
><subunit 1 of 1, 502 aa, 1 stop
><MW: 58043, pI: 7.94, NX(S/T): 2
MFGTLLLYCFPLATVPALAEETGGERQLSPKSEIWGPGKLDVVLPARYFYIQAQVDSGNKF
TSSPGEKVQFQVSAPEQFTRVGVQLDRKDGSPVVRMYASYKNLKVEIFQGGHVAKS
PYILKGPVYHENCDCPLQDSAANLREMNCPETIAQIQRLAHFPAVDPEKIAVEIPKRFGRQ
QSLCH'TLKDKNVYIKTHGEHVGFRIFMDAILLSLTRKVKMPDV3LFEVNLGDWPLEKKKSNS
NIHPIFSWCGSDTSDKQIVMPTYDLTDSVLETMGRVSLDMMSVQANTGPPWESKNSTAVWRG
DSRKRLELVKLSRKHPELIDAAPNTFFFKHDENLYGPIVKHISFFDFKHKYQINIDGT
AAYRLPYLLVGDVSVLKQDSIYYEHFYNELQPKHYI PVKSNLSLLEKLKWKARDHDEEAKK
ITAKAGQEFARNNIMGDDIFCYFYKLFQYANLQVSEPQIREGMRKRVPEQTEDDLFPCTCHRK
KTKDEL
```

タンパク質の重要な特徴

シグナルペプチド

アミノ酸 1-17

N-グリコシル化部位

アミノ酸 302-306, 414-418

cAMP-及びcGMP-依存性プロテインキナーゼリン酸化部位

アミノ酸 243-247, 495-499

チロシンキナーゼリン酸化部位

アミノ酸 341-348

N-ミリスチル化部位

アミノ酸 59-65, 118-124, 184-190, 258-264, 370-376, 439-445

小胞体標的配列

アミノ酸 499-504

【図 17】

```
AGCAACTCAAGTTCATCATTGTCTCTGAGAGAGAGGAGGACGCGGTTCTCGGCCGGGACAGC
AGAAGCCGACGGGGACCTCCACCTGGGCGCGCGGGGACGGGCTTTGATTGTCTGGGCTCG
CGGAGACCCGCGCGCTGCCCTGCAGCGCGGGCGGCAACCTTTGCAGTGGCGTTGGCTGTCT
CGATCGGCGCGGGGCTCCCTGCCGAAGGCTCGGCTGCTCTCTGTCACCTCTTACACTTCTTC
ATTTATCGGTGGATCATTTTCGAGAGTCCGCTCTGTAAAGTTTGGCACTTTGTACTTTTATT
GCTTCTTTCTGGCGACAGTTCACGACTCGCGGAGACCGGCGGAGAAAGGACAGCTGAGCCCG
GAGAAGAGCGAAATATGGGGACCCGGGCTAAAAGCAGACGTCGTCTTCCCGCCCGCTATT
CTATATTACGGCAGTGGATACATCAGGGAATAAATTCACATCTTCTCAGCGGAAAGGCTCT
TCCAGGTGAAAGTCTCAGCACGAGAGGACCAATTCATAGAGTTGGAGTCCAGGTTTAGAC
CGAAAGATGGGTCTCTCATAGTAAGATACAGAAATGTATGCAAGCTACAAAAATCTGAAGT
GGAAATTAATTTCCAAAGGCCAACATGTGGCCAAATCCCATATATTTTAAAGGGCCGGTTT
ACCATGAGAACTGTGACTGTCTCTGCAAGATAGTGCAGCCTGGCTACGGGAGATGAACTGC
CCTGAAACCATTTGCTCAGATTGAGAGAGATCTGGGCATTTTCCCTGCTGTGGATCCAGAAA
GATGTGAGTAGAAATCCCAAAAGATTGGACAGAGGACAGGCTATGTCTACTACACCTTAA
AGGATAACAAGGTTTATATCAAGACTCATGGTGAACATGTAGGTTTATAGAATTTTCATGGAT
GCCATACTACTTCTTTGACTAGAAAGGTGAAGATGCGAGATGTGGAGCTCTTTGTATAATTT
GGGAGACTGGCTTTGGAAAAAAGAAATCCAAATTCAAACATCCATCCGATCTTTTCTGGT
GTGGCTCCACAGATTCCAAGGATATCGTGATGCTACGTACGATTTGACTGATTCTGTCTG
GAACCATGGGCGGGTAAGTCTGGATATGATGTCCGTGCAAGTAA/CACGGGTCTCCCTG
GGAAAGCAAAAATTCCTGCGCTGTGGAGGGGCGAGACAGCCGCAAGAGAGACTCGAGC
TGGTTAAACTCAGTAGAAAAACCCAGAAGCTCATAGACGCTGCTTTCCACCAACTTTTCTTTC
TTTAAACAGCATGAAACCTGTATGGTCCCATTGTGAACATATTTTCATTTTGTATTCTT
CAAGCATAAGTATCAAAATAAATATCATGACCTGTAGCAGCTTATCGCTGCCATATTTTGC
TAGTTGGTGACAGTGTGTGCTGAAGCAGGATTCCA'TACTATAGAACATTTTACAATGAG
CTGACGCCCTGGAAACACTACATTTCCAGTTAAGAGCAACCTGAGCGATCTGCTAGAAAAAT
TAAATGGGGCGAAAGATCAGGATGAAGAGGCCAAAAGATAGCAAAAGCAGGACAAGAATTTG
CAAGAAATATCTCATGGCGATGACATATTTCTGTATTATTTTCAAACTTTTCCAGGAATAT
GCCAATTTACAAGTGAGTGAGCCCAAAATCCGAGAGGGCATGAAGAGGTAGAACACAGAC
TGAGGACGACCTCTTCCCTTGTAATTTGCCATAGGAAAAAGCAAAAGATGAACCTGATATG
CAAAATAACTTCTATAGAAATATGGTGCTGTGAAGACTTCTTTAACTAAAAAGAAATTT
TTTTTAAGTATTAAATCCATGGACAATAAAAACTGTGTGATTTGTTGACATATGAAGACA
CATTTCTACTTATGACAGTATTTCTCATGACTGTACTTTAAAGTACATTTTATAGATTTTATAA
TAAACCACCTTTATTTTAAAGGAAAAAAA
```

【図 19】

```
CCTGAGCGCGAAGCGGGCTGCAGCAGGGCGAGGCTCCAGGTGGSGTTCGTTCCGATCCA
CCTGAGCGTGTCCACAGTATGCGGCTCGGGCTCCGGGACTTTCCGTACTCTTTGCGTAGCGATCG
AGGTGCTAGGAGATCGCGTCTTCTTCCGGGATTCTTCCGGCTCCCGTTCGTTCTCTCCG
ACAGCGGAACACGGAGCGGAGCCCGCAGCGCCGCAACCTCGGCTGGAGGACAGTTCTTAAGT
GACCCAGCTGCCACCACTCTCTTCAAGTAAAGTTGTTATTTGTTCTGATAGATGCTTTGAGAG
ATGATTTTGTGTTTGGGTCAAAGGGTGTGAAATTTATGCCCTACACAACTTACCTTTGGGAA
AAAGGAGCATCTCACAGTTTGTGGCTGAAGCAAAAGCCACTACAGTTACTATGCCCTCGAAT
CAAGGATGATGACGGGGAGCCTTCTGGCTTGTGCGAGCTCATCAGGAACCTCAATCTCTC
CTGCACTGCTGGAAAGACAGTGTGATAGACAAGCAAAAGCAGCTGGAAAGAAATAGTCTTT
TATGGAGATGAAACCTGGGTTAAATTTATTTCCAAAGCATTTTGTGGAATATGATGGAACAAC
CTCATTTTTCGTGTGAGATTACACAGAGGTGGATAAATGTGACAGGCGATTGGATAAAG
TATTAAGAGAGGAGATTTGGACATATTAATCTCCACTACTCTGGGGGTGACACCATTTGGC
CACATTTACGGGCCCCAACAGCCCTGATTGGGCGAGAAGCTGAGCGAGATGGACAGCGCTGT
GATGAAGATCCACACCTCACTGCAAGTCGAAGAGAGAGAGAGCGCTTTACCCAAATTTGCTGG
TCTTTTGTGGTACCATGGCATGCTTGAACAGGAAGCTCAGCGGCTCTCTCCACAGGAGAG
CTGATACACTCTGATTTTAAATCAGTCTGCTTGAAGAAACCCGCTGATATTCGCACT
TCCAAAGCACTCCAAAGAGGATGTGGCTGCGACACTGGCCATGACACTTGGCTTACCGA
TCCAAAGACAGTGTAGGAGGCTCTTATTTCCAGTTGTGGAAGGAACCAATGAGAGAG
CAGTTGAGATTTTACATTTGAATACAGTGACGCTTAGTAACTGTTGCAAGAGAAATGTGCC
CTCATATGAAAAAGATCTGGGTTTGAAGCTTTAAATGTGCAAAAGATTGCATGGGAAT
GGATCAGACTGTACTTGGAGGAAAAAGCATTCAGAAGTCTTATTCACCTGGGCTCCAGGCT
CTCAGGCGAGTACCTGGATGCTCTGAAGACGTGAGCTTGTCCCTGAGTGCACAAAGTGCCCA
GTTCTCACCTGCTCCTGCTCAGCGTCCACAGGCACTGCACAGAAAGGCTGAGCTGGAAAT
CCCACTGTATCTCCTGGGTTTCTCTGCTCTTTATTTGGTGATCTCGTGGTTTCTTGGCCG
TTCACGTCATTGTGTGCACCTCAGCTGAAAGTTGCTGCTACTTCTGTGGCTCTCTGCGCTG
CGGCGAGGCTGCTTCTGCTTACGACACTGCTGTTGAACACTGCTGTGTCGACAGTGTCTG
CAGTCCCTGAGACGGGGCTCAGGGAAGGAGCTGAGGAGGCTTTATCCAGGCTCTGGG
TGTCGCGACAGGTTGTACATCTGCTGTGACGTCAGATGCTCAGTCTTGTGGAAGCT
AGGTTCTGCGACTGTATCAAGGTGATTGTAAGAGCTGGCGGTCACAGAGGAACACCC
CCGAGCTGAGGGGGTGTGTAATCGGACAGCTCCAGCAGAGGTGTGGAGCTGCAAGCTGA
GGGAAGAGAGACAATCGGCTGGACACTCAGGAGGTCAAAAGGAGACTTGGTGCACAC
TCATCCTGCCACCCAGAAATGCATCCTGCTCATCAGGTCAGATTTCTTTCCAAAGCGGA
CGTTTTCTGTTGAATTTCTAGTCTTGGCTCGGACACTTCAATCGTTAGCTGGGAGTG
GTGGTAGGCGAGTGAAGAGAGGCGGATGGTCACACTCAGATCCACAGAGCCAGGATCAAG
GGACCCACTGCACTGGCAGCAGGACTGTTGGGCCCCACCCCAACCTGACAGGCTCATC
CCCTCTTGGCTTGAGCCGTGAGAGGCCCTGTGCTGAGTGTCTGACCGAGACACTCAGAGCTT
GTATCATCAGGCGACAGGCTTCTCGGAGGAGGAGTGTGCTGCGACGCTTGCACCTCGGGC
CGACTCGGGCTCATGCTCTCTCTGCTATTGTAATTAGTACCTAGCTGCAACAGTATGTA
GTACCAAAAGAAATAAAGCGCAATAATTTGAGAAAAAAA
```

【図 20】

```
></usr/seqdb2/sst/DNA/Dnaseqs.min/ss.DNA84920
><subunit 1 of 1, 310 aa, 1 stop
><MW: 33875, pI: 7.08, NX(S/T): 2
MRLSGSTFATCCVAIEVLGIIVLGRFFPAPVRRSSARAEHGAEPPEPEPSAGASSNWTLLP
P_LFSKVVIVLIDALRDDVFVSGKGVKMPYTTYLVKRGASHSFVAEAKPPTVTMPRIKALMT
GSLPGFVDVIRNLSNPALLEDSVIRQAKAAGKRIVFYGDETWKLFPKHFVEYDGTTSFFVS
DYTEVDNNVTRHLDKVLKRGQWDILILHVLGLDHIHISGPNPLIGQKLSMDSVLMKIHT
SLQSKERETPLPNLLVLCGDHGMSETGSHGASSTEEVNTPLILISSAFERKPGDIRHPKHVQ
```

タンパク質の重要な特徴

シグナルペプチド

アミノ酸 1-34

膜貫通ドメイン

アミノ酸 58-76

N-グリコシル化部位

アミノ酸 56-60, 194-198

N-ミリスチル化部位

アミノ酸 6-12, 52-58, 100-106, 125-131, 233-239, 270-276, 275-281, 278-284

アミド化部位

アミノ酸 154-158

細胞付着配列

アミノ酸 205-208

【図 21】

```
AGCCAGGCAGACATCACAGCGGAGGAGCTGTCCCAGGTGGCCAGCTCAGCAATGCAAT
GGGGGTCCCAGAGTCATTCTGCTCTGCTCTTTGGGGCTGCGCTCTGCTCAGAGGTTCCC
AAGCCCTGCAGTGCTACAGCTTTGAGCACACCTACTTTGGCCCTTTTGACCTCAGGGCCATG
AAGCTGCCACGATCTCCTGTCTCATGAGTGCTTTGAGGCTATCTGTCTCTGGACACCGG
GTATCJCGCGCGCGGTGACCTGGTGCGGAAGGGCTGCTGGACCGJGCTCTTGGCGGCCAGA
CGCAATCGAACC CGGACGCGCTGCCCGCAGACTACTCGGTGTGCGCGGCTGCACAACTGAC
AAATGCAACGCCACCTCATGACTACTGACGCCCTCCCCAACCTGAGCAAGCACCCGACCC
GCCGACGCTCAGCGCGCGGAGTGCTACGCTGTATCGGGGTCCACCCAGGATGACTGCGCTA
TCGGCAGGTCCCGACGAGTCCAGTGTCCACGAGCACGACCGCTGCTTCCAGGGCAGTGGC
AGAATGACAGTTGGCAATTTCTCAGTCCCTGTGTACATCAGAACCTGCCACCGGCCCTCTGT
CACACCGAGGGGCACACACGCGCTGGACAGCCATCGACCTCCAGGGCTCTGCTGTGAGG
GGTACCTCTGCAACAGGAAATCCATGACCCAGCCCTTACCAGTGCTTTCAGCCACCCCTCT
CCCCGAGCACTACAGGTCTGGCCCTGTCTCTCCCACTGCTCTGCTGGTGGGCTCTCAGC
ATAGACCGCCCTCCAGGATGCTGGGGACAGGGCTCACACACTCATTCTTGCTGCTTCAGC
CCCTATCATACTAGCTACTGGAAAATGATGTTAAAGTAAGAATTGCAAAA
```

【図 22】

```
></usr/seqdb2/sst/DNA/Dnaseqs.min/ss.DNA86576
><subunit 1 of 1, 251 aa, 1 stop
><MW: 26935, pI: 7.42, NX(S/T): 2
MAMGVPRVILLCLFGAALCLTGSQALQCYSEHTYFGPFDLRAMKLPISISCPECHEFEALSL
DTGYRAPVTLVRIGKWTGPAGQQTQSNPDALPFDDSVVRGCTTDCKCAHLMTHDA_PNLQA
PDPPPTLSGAECYACIGVHQDDCAIGRSRRVQCHQDQTCFQSGRMVTGNFSVPVYIRTCNR
PSCCTEGTTSPTWTAIDLQGSCEGYLCNRKSMTPQFTTSASATTPPRALQVALLLVLLVGLSA
```

タンパク質の重要な特徴

シグナルペプチド

アミノ酸 1-19

膜貫通ドメイン

アミノ酸 233-251

N-グリコシル化部位

アミノ酸 120-124, 174-178

N-ミリスチル化部位

アミノ酸 15-21, 84-90

【図 23】

```
CCCACGCGTCCGGGACAGATGAACTTAAAGAGAAGCTTTAGCTGCCAAGATTGGGAAGG
GAAAGGACAAAAAAGACGCCCTGGGCTACACGCGTATGGTGCAGGCTTCTCTACTGCTTCT
TTTATGCTGGGAGCTGTGGCTGTAACTACCACTATGCAAGCTATAGCTGT
CAGAGAGTTGTGTTCCCAAGACAAAGCAAGCTCCTGTTCTTTTCTTTTGGGGAGTGT
CTTGCGCAGGTTCTGGGTTTGGAGCTTATTCGGTGACTGACGAACAGAGAAAGATCCTTT
CTGCTCAATCTGGCAAGGATCTCGGCACTAGCAGAGGGGAGCTGGCTGCAAGGGGAACAG
GCTGGTTCCGATSATACAAACAATACCTGCTCCTGGATTACATACCGGGAATTTGCTCA
CAATAGAGAACTGACCGAGAGAGCTGTGTGGCCCTAAAGAGCCCTGTATGCTGTATTTCT
CAATATTTAATGGATGATCCTTTTCAGATTTACCGGCTGAGCTGAGAGTCCAGGATATAAA
TGATCAGCGCCAGTATTTTCAGGACAAAGAACAGCTTTAAAATATCAGAAAAATCAGCTG
AAGGGACAGCATTTAGACTAGAAAGAGCACAGGATCCAGATGGAGGACTTAAACGTATCCAA
AACTACAGCATCAGCCCCAATCTTTTTTCCATATTAACATTAGTGGCGGTGATGAAGGCAT
GATATATCCAGAGCTAGTGTGGACAAAGCATGGATCGGGAGGAGCAGGAGAGCTCAGCT
TAAACCTCACAGCGCTGGATGGTGGCTCTCCATCCAGGCTCTGGGACCTCTACTGTACGCCAT
GTTGCTTGGAGCTCAATGACAATGCCCCACAGTTTGCCAGGCTCTGTATGAGAACCCAGGC
TCCAGAAAAAGCCCATTTGGGTTCTTATTGTTAAGGTATGGGCGAAGAGATGAGACTGTG
GAGTCAACCGGAGAGTATCTATTGATTTTTGATGCTCCAGAAATATTCGAAAGCACTTT
CAATCAATCCTTTTCTGGGAAATCTTTCTCAGAGAAITGCTTATTATGAGTTAGTAA
TTCTTCAAAATAAATATACAGCAATGAGCGGTGGAGGCTTTCTGCAAGATGTAGGGTTT
TAGTGGAGATTTGACACCAATGACAATCCCCCTGAATGATCATCATCTTTTCAAC
TCTGTTGCTGAGAAITCTCCTGAGACGCGGCTGGCTGTTTTAAGATTAAATGACAGAGACT
TGGAGAAAAATGGAAGATGTTTGTACATTCAAGAGAAATCTGCCATTCTACTAAACCTTT
CTGTGGAGAAATTTTACATCTCAATTACAGAAAGCGCGCTGGACAGAGAGATCAGAGCCGAG
TACAACATCACTATCACCGTCACTGACTTGGGGACACCAGGCTGAAAACCGAGCACAACT
AACGGTCTGGTCTCCGAGCTCAATGACAACGCCCGGCTTACCCAAACCTCTCTACACCC
TGTTCGTCGCGAGAGAAACAGGCCGCTGCAACATCGCGAGGCTCAGCGCCACAGACAGA
GACTCGGAGCCCAACGCCAGCTCACTGCTGCTGCGGCCCAAGACCCGACCTGCC
CTTGCTCTCTGCTTCTCCTCAACCGGCAACCGGCCACCTGTTCCGCTCAGGTCGCTGG
ACTACGAGGCTCGCAGGCTTTGAGTTCCGCTGGCGGCCACAGACCGCGGCTCCCCGGG
CTGAGCAGAGAGGCGCTGTGCGCTGCTGTGTGTGAGCAGCAACGACAACTCGCCCTTCTG
GCTGTACCGCTCGAGAACCGGCTCGCGCTCTGACCGAGCTGGTGCCCGGCGCGCGAGC
CGGGCTACCTGCTGACCAAGGTGGTGGCGGTGGACGGCAGCTCGGGCCAGAACGCTGGCTG
TCGTACCAGCTGCTCAAGGCCACGAGCGCCGGCTGTTCGGTGTGTGGCGCACAAATGGGGA
GGTGCGCACCGCGAGGCTGCTGAGCGAGCGCGCAGCAGCAAGCAGGCTCGTGGTGTCTG
TCAAGGACAATGGCGAGGCTCTCGCTCGGCGCAGCGCCACGCTGCACCTTGTCTCTGGTGGAC
GGCTTCTCCAGGCCCTACCTGCTCTCCCGAGGCGGCGCCCGGCGCAGGCGCAGGCGAGGC
CGACTTGTCTCAGCTCTACCTGGTGGTGGCTGGTGGCTGGGCTGGGCTCTCTCTCTCTCT
CGCTGGTGGTGGGAGGCTCCTTTTCCAGGCACTCGGTGGAGCTGAGGCGCGCTGAGACGCT
GTCCAGAGCTTACAGATGAGGTGTGTCTGAGCGAGGCGCGCGGAGCAGCTGAGTCAAGT
TCTTGAACACAGTATTTTCGATATTTACGACACAGGCGCTGGGAGGAGGCTGAAGAAAT
TCCACCTTCCGAAATAGCTTTTGATTTAATATTCAGTAAAGTCTGTTTTAGTTTTCATATAC
TTTTGGTGTGTATACATAGGCAATGTTTCTATTAGTTTACTTTTAAATCTCAAAATTTAAGTTAT
TATGCAACTTCAAGATATTTTCAAGTAGATATACCTCTGTGGTTTACAAATGTTTCATCAT
TTTTTGTGATTAATAACAATCGGGTTAATTTAATAGTATTTTTTCTAAATGATAGTGT
AAGGTTTTAATCTTTTCCAACTGCCAAGGAAATTAATTACTATATATCTCATTAAGAAAT
CTGAGGTTTTGATTCATTTTCAGAGCTTGCACTCTCATGATCTAATCACTTCTGCTCATAGTG
TACTTGCTCTATTAAAGAGGCAATCTCATTTTCCAACTCATTTCAACATTTATATATTT
CGTGTGTGAAACCAATGTCATTTATTTTCTACATCATGTATTTAAAGAAATATTTTCTAC
TACTATGCTCATGACAAATGAAACAAAGCATATTTGTGAGCAATCTGAAACATCAATATAT
CTTATGTTAATCTTTTGTCTGATGTATAAAACAGCACTATGCTTATAAATGAAATATTA
ATCTGCTGCTGAAATAGAAATAAAATAAACATTTTGAATGTGAAAAAATAAATAAATAA
```

【図 24】

```
></usr/seqdb2/sst/DNA/Dnaseqs.min/ss.DNA87976
><subunit 1 of 1, 800 aa, 1 stop
><MW: 87621, pI: 4.77, NX(S/T): 7
MAVRELCPFRQRQVLFELFLFWGVSLAGSGFRYSVTEETERKGSFVVNLAKDLGLAEGELAAR
GRVVSDDNKQYLLDLSHTGNLLTNEKLDREKLCGPKPCMLYFQILMDPDFQIYRAELRVR
DINDHAPVQDKETVLKISSENTAEGTAFRLERAQDPGGGLNGQNYTISPNSFFHINISGGD
EGMIYPELVLDKALDREGEELSLLTALDGGSPSRSGTSTVRIVVLVDNNAEQFPAQALYE
TQAPENSPIGFLIVKMAEDVDGSGVNAEVSYSFDFASSEMHTTFOIPNPFESGEIFRELLDYE
LVNSYKINIQMDGGSLARCRVIVEVLDTNDNPELIVSSFSNVAENSPEPLAVFKIND
RDSGENKMHVCYIQEWLPFLKPSVENFYIILITEGALDREITRAEYNTITVTDLGTPLRKT
HNITVLVSDVNDNAPATQTSYTLFVRENNSPALHIGSVSATDRDSGTNAQVYSLLPQDP
HLPLASLVSNADNGHLFALRSLDYELQAFEFVRVGTDRGSPALSRREALVRVILNDANS
PFVLYPLQNGSAFCTELVPRAEPGLVTKVAVVDGDSQONANLSYQLLKATEPGLFGVWAH
NGEVRTARLLSERDAAKHRLVVLKDNNGEPPRSATATLHLLVDFSQPYLPLEAFAFAQAQ
AEADLLTVYLVVALASVSSLFLLSVLLFVAVRLCRRSRAASVGRCSVPEGPFPHLVDRGA
ETLQSQYQYEVCLTGGPSTSEFKLPKVISIDQAGQPGRKGEENSTFRNSFGFNQ
```

タンパク質の重要な特徴

シグナルペプチド

アミノ酸 1-26

膜貫通ドメイン

アミノ酸 687-711

N-グリコシル化部位

アミノ酸 169-173, 181-185, 418-422, 436-440, 567-571, 788-792

グリコサミ/グリカン付着部位

アミノ酸 28-32

チロシンキナーゼリン酸化部位

アミノ酸 394-402, 578-585

N-ミリスチル化部位

アミノ酸 22-28, 27-33, 53-59, 82-88, 162-168, 184-190, 217-223, 324-330, 325-331, 471-477, 568-574, 759-765

アミド化部位

アミノ酸 781-785

アミノアルシールRNAシンターゼクラスIIシグネチャー1

アミノ酸 117-138

カドヘリン細胞外くり返しドメインシグネチャー

アミノ酸 121-132, 230-241, 335-346, 439-450, 549-560

【図 25】

GAATGAATACCTCCGAAGCCGCTTTGGTTCTCCAGATGTGAATAGCTCCACTATACCAGCCTC
GTCTTCCTTCGGGGGACACGCTGGGTCAGGGCAGAGAGATTTAATGTACCCCTCTTG
GGGCTTTACGGGACTCCCTCTGCCACATTTTTCAGAGGTGGGAAAGTTGCTAGAGGCTTC
AGAACTCCAGCCTA**AATGGAT**CCCAAACTCGGGAGAAATGGCTGCTCCCTGCTGCTGTGCTG
CTGCTGCTGTGGAGCGCGGCGATGTTCTCTCACCTCCCGCCCGCGGCTGTTAGAGAA
AGTCTTCCAGTACATTGACCTCCATCAGGATGAATTTGTGCAGACGCTGAAGGAGTGGGTGG
CCATCGAGAGCGACTCTGTCCAGCTGTGCTCGCTTCAGACAAGAGCTCTTCAGAAATGATG
GCCGTGGCTGCGGACACGCTGCAGCGCTCGGGGCGCGTGTGGCTCGGTGGAGCATGGGTCC
TCAGCAGCTGCCCGATGGTCAGAGTCTTCCAATACCTCCCGTCACTCGGCGAACTGGGGA
CGGATCCCAAGAAAGGACCGCTGTCTTACGGCACTTGGACGTGACGCTGCTGAACGG
GGCGATGGGTGGCTCACGGACCCCTATGTGCTGACGGAGGTAGACGGGAACTTTATGGACG
AGGAGCGACCGACACAAAGGCCCTGTCTGGCTTGGATCAATGCTGTGAGCGCTTCAGAG
CCCTGGAGCAAGATCTTCCCTGGAAATCAAAATCATCATTTAGGGGATGGAAGAGGCTGGC
TCTGTGCCCTGGAGGAACCTGTGGGAAAAGAAAGGACCGATTCTCTCTGCTGTGACTA
CATTTGAATTTAGATAACCTGTGGATCAGCCAAAGGAGCCAGCAATCACTTATGGAACCC
GGGGAAACAGCTACTTCTATGGTGGAGGTGAATGCAGAGACCAAGGATTTTCACTCAGGAACC
TTGGTGGCATCTTTCATGAACCAATGGCTGATCTGGTTGCTCTTCTCGGTAGCTGGTAGA
CTCGTCTGGTCATATCTGGTCCCTGGAATCTATGATGAAGTGGTTCCCTTCACAGAAGG
AAATAAATACATACAAAGCCATCCATCTAGACCTAGAAGAATACCGGAATAGCAGCCGGGT
GAGAAATTTCTGTTCCGATACCTAAGAGGAGGATTTAATGCACCTCTGAGGTAACCATCTCT
TCTTATTCTGGGATCGAGGCCCTTTCATGAGCGCTGGAACTAAACAGCTCATACCTGGCC
GAGTTATAGGAATTTTCAATCCCTCTAGTCCCTCACATGAATGTGTCTGCGGTGGAAAAA
CAGGTGACACGACATCTTGAAGATGTGTTCTCCAAAGAAATAGTTCCAAACAGATGGTTGT
TTCATGACTCTAGGACTACACCCGTGGATTGCAAAATATTGATGACACCCAGTATCTCGCAG
CAAAAGAGCGATCAGAACAGTGTGGAAACAGAACCAGATATGATCCGGGATGGATCCACC
ATTCCAATTGCCAAATGTTCCAGGAGATCGTCCACAGACGCGTGTGCTAATTCGCTGGG
AGCTGTTGATGATGGAGAACATTGCAGAAATGAGAAAAATCAACAGGTGGAACATACATAGAG
GACCAAAATATTGCTGCCTTTTTCTTAGAGATGGCCAGCTCCAT**TAA**TCACAAGAACCT
TCTAGTCTGATCTGATCCACTGACAGATTACCTCCCCACATCCCTAGACAGGGATGGAAT
GTAAATATCCAGAGAATTTGGGTCTAGTATAGTACATTTCCCTTCCATTTAAATGCTCTTG
GGATCTGGGATCAGTAATAAATATTTCAAAGCAGCAGATGTTGGAAATGGTTTGAAGTCCG
CCCACTGACACATCTCTCAAGTCAATAGCTGCTTGGAGCAACTGATTTCCCAAGTCCCTGT
GCAATGCCCCAGGATGGATCTCTTCAACCTTTTAGCATATCTCAACCTTGCAATTTGA
TTGGCATAATCACTCCGCTTTCCTTCTAGTGCTCAAGTGTCTGTCGACACATAATCATTC
ATCCAAATGATCGCTTTGCTTTACCACTCTTCTCTTTTATCTTATTATAAAATGTGGTTC
TCCACCACTGCTCCCAA

【図 26】

></usr/seqdb2/sst/DNA/Dnaseqs.min/ss.DNA92234
><subunit 1 of 1, 507 aa, 1 stop
><MW: 56692, pI: 5.22, NX(S/T): 3
MDPKLGRMAASLLAVLLLLLLERGMFSSPSPPPALLEKFQYIDLHQDEFVQTLKEWVAIESD
SVQPVPRFRQELFRMMAVAADTLQRLGARVASVDMGPQQLPDGQSLPIPPVILAELSGDPK
LTVCFYGHLDVQPADRGDGLWTDPPVLTVEVDGKLYGRGATDNKGFVLAWINAVSAFRALEQD
LPVNIKFIIEGMEEAGSVALEELVEKEKDRFFSGVDYIVISDNIWISQRKPAITYGTRGNSY
FMVEVKCRDQDFHSGTFGGILHEPMADLVALLGSLVDSSGHILVPGIYDEVVPLTEEEINTY
KAHLDLEEYRNSRVEKFLDTEELMLHLWRYPSLSIHGIEGAFDEPGTKVTPGRVIGK
FSIRLVPHMNVSAVEKQVTRHLEDVFSKRNSNMVWSMTLGLHPNIANDTQYLAALKRAI
RTVFGTEPDMIRDGSTIPAKMPQEI VHKSVVLIPLGAVDDGEHSQNEKINRWNYIEGTKLF
AAFFLEMAQLH

タンパク質の重要な特徴
シグナルペプチド
アミノ酸 1-26

膜貫通ドメイン
273-292

N-グリコシル化部位
アミノ酸 322-326, 382-386, 402-406

cAMP-及びcGMP-依存性プロテインキナーゼリン酸化部位
アミノ酸 400-404

N-ミリスチル化部位
アミノ酸 89-95, 119-125, 162-168, 197-203, 242-248, 263-269,
351-357

細胞付着配列
アミノ酸 140-143

ArgE / depE / AOY1 / CPG
アミノ酸 156-167

【図 27】

CTCGGCTGGATTTAAGGTTGCCGTAGCCGCTGGGAATTTAAGGGACCCACACTACCTTCC
CGAAGTTGAAGGCAAGCGGTGATTGTTTGTAGACGGCGCTTTGTCT**AT**GGGACCTGTGCGGTT
GGGAATATTGCTTTTCCTTTTTTTGGCGCTGCACGAGGCTTGGCGTGGGATGTTGAAGGAGG
AGGACGATGACACAGAACGCTTGCCCGAGCAAAATGCGAAGTGTGTAGCTGTGAGCAGACAG
CTACAGGCGGAATGAGTGCACCGGCTCGATCTCGAGAGGTGCTGGAGCTGGGGCAGGTGCT
GGATACAGGCAGAGGAGAGACAGCTGCCCTTACAGCGTTTCAGAGACAAAGGCTGGAAGAGG
CCTTAGAGAAATTTATGTGAGCGGATCCTGGACTATAGTGTTACAGCTGAGCGCAAGGGCTCA
CTGAGATATGCCAAGGGTCAGAGTCAGACCATGGCAACACTGAAAGGCCCTAGTGCAGAAAGG
GGTGAAGGTGGATCTGGGGATCCCTCTGGAGCTTTGGGATGAGCCAGCGTGGAGGTCAAT
ACCTCAAGAAAGCAGTGTGAGACCATGTTGGAGAGTTTGAAGACATTTGTTGGGAGACTGGTAC
TTCCACCATCAGGAGCAGCCCTACAAAAATTTCTCTGTGAAGGTGATGTGCTCCAGCTGC
TGAAACTGCATGTCTACAGGAACCTTGGACTGGAAGAGGATCAGAGTGGGGAAGAGAAAA
CAGAAAGGGAGGAAGAGCAGAGGAGGAGGAGGAAGAGGAGGAAGGAAGGGGGAGACAG
ATGACCAAGCAGGAAAGCCACCCCAAACTTGACCGAGAAGATCTT**GA**CCCTTGCTTTGAG
CCCCAGGAGGGGAAGGGATCATGGAGAGCCCTCAAGCCTGCACCTCTCCCTGCTCCACAG
CTTTCAGGGTGTGTTTATGAGTGACTCCACCCAAAGCTTGTAGCTGTTCTCTCCCATCTAAC
TCAGGCAAGATCTCGTGAACACGATGACATGGCTTCTGGGCTGGAGGTGGGGGTGGAGG
TCTGCTCTAGAGATGAATCTATCCAGCCCTTAAATTGGCAGGTGATGTGCTGACAGTA
CTGAAAGCTTTCTCTTTAACTGATCCACCCCAACCCAAAAGTCAGCAGTGGCACTGGAGC
TGTGGGCTTTGGGGAAGTCACTTAGCTCCTTAAGTCTGTTTATAGACCTTCCAAGGAAGA
GGCAGAGACGGACATTTCTGCGATCTATATACATTGCCTGATCCAGAGGCTACACACCA
GCAACCGTGAAGAGAATGGGACACTGGGTGATGGCTGGAGTTGCTGATAATTTAGGTGG
GATAGATCTTGGTCTACTTAACTCAATGTAACCCAGAGGCCACCATATAGTTTATAGGT
GCTCAACTTCTATATCGCTATTAACCTTTTTCTTTTTTCTA

【図 28】

></usr/seqdb2/sst/DNA/Dnaseqs.min/ss.DNA92256
><subunit 1 of 1, 248 aa, 1 stop
><MW: 28310, pI: 4.63, NX(S/T): 0
HGFVRLGILLFLFLAVHEAWAGMLKEEDDTERLPSKCEVKLLSTELQAEISRTGRSREVL
ELGQVLDTGKRKRHVPSVSETRLEALENLCEILDYSVHAEI.KGSLRYAKGQSQTMATLK
GLVQKGVKVDLGIPLLEWDEPSVEVTLKKQCETMLEEFEDIIGDWFYFHHQEQPLQNFCEG
HVLPAABTAQLQETWTGKEITDGEKEITEGEEQEEEEEEEEEGGSKMTKTGSHPKLDREDL

タンパク質の重要な特徴
シグナルペプチド
アミノ酸 1-21

cAMP-及びcGMP-依存性プロテインキナーゼリン酸化部位
アミノ酸 106-110

N-ミリスチル化部位
アミノ酸 115-121

アミド化部位
アミノ酸 70-74

【図 29】

AAGTACTTGTGTCCGGTGGTGGACTGGATTAGCTGCGGAGCCCTGGAAGCTGCCTGTCTCT
CTCCCTGTGCTTAAACAGAGGTGCC**AT**GGTGGACAATGAGGCTGCTCACAGCAGCATG
TTACTGGGTCTCATGATGATGGTCTGAGCAGCAGGATGAGAACGCCGCTGCCCCATGA
GGCCCTCTTGGACGAGGACACCTCTTTTGCCAGGGCTTTGAAGTTTCTATCCAGAGTTGG
GAGACATTGGCTGCAAGTGTGTTCTCTGATTGTAACAACCTACAGT CAGAAGATCACCTCTGG
ATGGAGCCGATAGTCAAGTTCGCGGGGCCGTGGACGGCGAACCTATATCTGGTGATGGT
GGATCCAGATGCCCTAGCAGAGCAGAACCCAGACAGAGATTCTGGAGCATTTGGCTGGTAA
CAGATATCAAGGGCGCCGACCTGAAGAAAGGGAAGATTTCAGGGCCAGAGTTATCAGCCTAC
CAGGCTCCCTCCCCACCGGCACACAGTGGCTTCCATGCTACCAAGTTCTTTGCTATCTTCA
GGAAGGAAAGTCATCTCTCTCTCCCAAGGAAAAAACTCGAGGCTCTTGGAAAAATGG
ACAGA1TTCTGAACCGCTTCCACCTGGCGAARCTGAAGCAAGCACCCAGTTTCATGACCCAG
AACTACAGGACTCACCAACCTCCAGGCTCCAGAGGAAGGGCCAGCGACCCAGACAAA
AACCAGGCAGAGA**TAG**CTGCTGCTAGATAGCCGGCTTTGCCATCCGGGCATGTGGCCACAC
TGCTCACCACCGACGATGTGGGTATGGAACCCCTCTGGATACAGAACCCTTCTTTTCCAA
ATTA

【図 3 0】

```
></usr/seqdb2/sst/DNA/Dnaseqs.min/ss.DNA92274
><subunit 1 of 1, 223 aa, 1 stop
><MW: 25402, pI: 8.14, NX(S/T): 1
MGWTMRLVTAALLGLMMVVTGDEDNSPCAHEALLDEDTLFCQGLEVFYFELNGICKVVP
DCNNYRQKITSWMEPIVKFPGAVDGATYILVMYDFDAPSRAEPPQRFWRHVLVTLKIGADLK
KGKIQGQELSAIQAPSPFAHSGFHRYPFFVYLQEGKVISLLPKENKTRGSKWMDRFLNRFHL
GEPEASTQFMNTQNYQDSPTLQAPRGRASEPKHKTRQR
```

タンパク質の重要な特徴

シグナルペプチド

アミノ酸 1-22

N-グリコシル化部位

アミノ酸 169-173

チロシンキナーゼリン酸化部位

アミノ酸 59-68

N-メリスチル化部位

アミノ酸 54-60, 83-89, 130-136

ホスファチジルエタノールアミンシグネチャー

アミノ酸 113-157

【図 3 1】

```
GTCGACCCACGCGTCCGAAGCTGCTGGAGCCACGATTAGTCCCTGGACTGTAGATAAAGA
CCCTTTCTTCCAGGTGCTGAGACAACCACACTATGAGAGGCACTCCAGGAGCGCTGATGG
TGGAGGAAGGGCCCTCTATCAATCAATCACTGTGCTGTTATCAGATGCAAGTATCCAGAGG
CTCTTGAGCAAGCGAGAGGGGATCCCATTTATTGGGAATCCAGAATCCAGAAATGTGTTG
TATTGTGAGAAGCTTGGAGAACAGCCACATTGCAGCTAAAGAGCAGAAGATCATGGATCT
GTATGGCCAAACCGAGCCCTGAAACCTTCCCTTTCTACCGTGCCAAAGACTGTAGGACCT
CCACCCCTTGAGTCTGTGGCCTTCCCGGACTGGTTCATTGCGCTCTCCAAGAGAGACAGCCC
ATCATTTCTGACTTCAGAACTTGGGAAGTCATACAACTGCCTTTGAATTAATATAAATGA
CTGAACTCAGCCTAGAGGTGGCAGCTTGGTCTTTGTCTTAAAGTTTCTGGTTCCCAATGTGT
TTTCGTCTACATTTTCTTAGTGCTATTTTCACGCTGGTGTGAGACAGGACCAAGGCTGCTG
TTATCATCTCATTTTATAATGAAGAAGAAGCAATTACTTCATAGCAACTGAAGAACAGGATG
TGGCCTCAGAAGCAGGAGAGCTGGTGGTATAAGGCTGCTCTCTCAAGCTGGTGTGTGTAG
GCCACAGGCATCTGCATGAGTGACTTTAAGACTCAAGACCAAACTGAGCTTTCTTTCTA
GGGTGGGTATGAAGATGCTTCAGAGCTCATGCGCTTACCACGATGGCATGACTAGCACA
GAGCTGATCTCTGTTCTGTTTGTCTTTATTCCTCTTGGGATGATATCATCCAGCTTTTAT
ATGTTGCCAATATACCTCATTTGTGTATAAGAACTTCTTAGCATTAAAGCACTTGTAAACA
AAAATAAATTTTGGGTGGGTATGAAGATGCTTCAGAGCTCATGCCGCTTACCACGATGGC
ATGACTAGCACAGAGCTGATCTCTGTTCTGTTTGTCTTTATTCCTCTTGGGATGATATCA
TCCAGCTTTTATATGTTGCAATATACCTCATTTGTGTATAAGAACTTCTTAGCATTAAAG
ACCTTGTAAACAAAATAAATTTTGTGTTAAGTTAAATCATTTTGTCTAATTGTAATGTG
TAATCTTAAAGTTAAATAAATTTTGTGATTTTATAATAATAAGCTAAACTGATATAAA
ATAAGAAAGAGTAAACTG
```

【図 3 2】

```
MRGTPGDADGGGRAVYQSITVAVITCKYPEALEQGRGDPYILGIQNPENMLYCEKVEQPTL
QLKEQKIMDLYQGPVVKPFLFYRKTGRTSTLESVAFPDWFIASSKRQDPILITSELGKSY
NTAFELIND
```

シグナル配列

アミノ酸 1-17

N-メリスチル化部位

アミノ酸 10-16

細胞付着配列

アミノ酸 36-39

【図 3 3】

```
GCGAGGCTGCACAGCGCCTGGCACCATGAGGACGCTGGGCTCTGCCCCTGCTGCTGCTG
CTCCTGGCGGGAGCCCGCGCGCGCGGCCACTCCCGGACCTGCTACTCCCGCATGCGGGC
CCTGAGCCAGGAGATCACCCGCGACTTCAACCTCTCGAGGTCTCGGAGCCTCGGAGCGAT
GTGTGAGATACCTGCCAGGCTGTACCTGGACATACCAATTAATCTGTGCTGGACAAGCTG
CGGGACTTTGTGGCCTCGCCCCGTGTGGAAAGTGGCCAGGTAGATTCCTTGAAGGACAA
AGCACGGAAGCTGTACACCATCATGAACCTGTTCTGCAGGAGAGATTGGTATTCCTGTTGG
ATGACTGCAATGCCTTGGAAATACCCAATCCAGTGACTACGGTCTCGCCAGATCGTCAGCGC
TAAAGGGAAGTGCAGCCAGAGAAGAAGACCCAGAGAACTAAAGTTATGTGAGCTACCCAGCT
TAATGGGOCAGAGCCATGACCTCACAGGTCTGTGTTAGTTGTATCTGAACTGTTATGTA
TCTCTCTACCTTCTGAAACAGGGCTGGTATTCTACCCAGGAACCTCCTTTGAGCATAGA
GTTAGCAACCATGCTTCTCATTCCCTTGACTCATGTCTTGCAGGATGGTATAGATACACAGC
ATGTTGATTTGGTCACTAAAAGAAAGAAAGGACTAACAGCTTCACTTTTATGAACAACATA
TTTTGAGAACATGCACAACTATGTTTTTTTACTGTTTAAATGAGTAAATGGTACTTTTA
TTCTTTCTTGATAGAACTGCTTACATTTAAACAAGCTTCTATTATGCTTTTCTTAACAC
AGACTTTTCTCACTGCTTTTCAATTTAAAGAAATTAATGCTCTTAAGATATATATTTIACG
TAGTGCTGACAGGACCCACTCTTTCATTGAAAGGTGATGAAATCAATAAAGAACTCTCTTC
ACATGGA
```

【図 3 4】

```
></usr/seqdb2/sst/DNA/Dnaseqs.min/ss.DNA93011
><subunit 1 of 1, 136 aa, 1 stop
><MW: 15577, pI: 8.88, NX(S/T): 0
MRTPGPLVLLLLLAGAPAAFTPPTCYSRMRALSQEIITRDFNLQVSEPEPCVRYLPRLY
LDIHNYCVLDKLRDFVASPPCKVQAQVDSLKDKARKLYTIMNSFCRRDLVFLLDONALEYP
IPVTVLPDRQR
```

タンパク質の重要な特徴

シグナルペプチド

アミノ酸 1-19

チロシンキナーゼリン酸化部位

アミノ酸 60-69

N-メリスチル化部位

アミノ酸 16-22

【図 3 5】

```
GTCTCCGCGTCACAGGAACCTCAGCACCCACAGGGCGGACAGCGCTCCCTCTACCTGGAGA
CTTGACTCCCGCGCGCCCCAACCTGCTTATCCCTTGACCGTGCAGTGTACAGAGATCTTGCA
GCCGCCAGTCCCGGCCCTCTCCGCCCCACACCCCTCCTGGCTCTTCTGCTTTTAC
TCCCTCTTTTTCATTTCATAACAAAAGCTACAGCTCCAGGAGCCAGCGCGGGCTGTGACCCA
AGCCAGCGCTGGAAGAATGGGGTTCTCCGGGACGGCACTTGGATTCTGGTGTATAGTCTCC
CGATTCAAGCTTTCCCAACCTGGAGGAAGCAAGACAAATCTCTACATAANTAGAGAATTA
AGTGCAAGAAAGACCTTGAATGAACAGATTGCTGAAGCAGAAAGAGACAAGATTAAAAAAC
TATATCTCCAGAAAACAAGCCAGGTGAGAGCAACTATTTCTTTGTTGATAACTTGAACCTGC
TAAGGCAATTAACAGAAAAGGAAAAAATTTGAGAAAGAAAGACAATCTATAAGAGCTCCCCA
CTTGATAATAAGTTGAATGTGGAAGATGTTGATTCAACCAAGAATCGAAACTGATCGATGA
TTATGACTCTACTAAGATGGATTGGATCAATAAATTTCAAGATGATCCAGATGGTCTTCATC
AACTAGACGGGACTCCTTTAACCGCTGAAGACATTGTCCTATAAAATCGCTGCCAGGATTTAT
GAAGAAAATGACAGAGCGCTGTTGACAAGATTGTTCTAAACTACTTAATCTCGGCTTAT
CACAGAAAGCCAAAGCACATACACTGGAAGATGAAGTAGCAGAGCTTTTACAAAAAATTAATCT
CAAAGGAAGCCAAACAATTTAGAGAGGATCCCAATAAGGCCACAAAGCTGGACTGAGATCAG
GCTGGAAAAATACCAGAGAAAGTGACTCCAATGGCAGCAATTCAGATGGTCTTGCTAAGGG
AGAAAAACGATGAACAGTATCTAACACATTAACTTGACAAATGGCTTGGAAAGGAGAACTA
AAACCTACAGTGAGACAACCTTTGAGGAATCCAATATTTCCCAATTTCTATGCGCTACTG
AAAAGTATTGATTGAGAAAAGAAAGCAAAAGAGAAAGAACTGATTACTATCATGAAAAC
ACTGATTGACTTTGTGAAGATGATGGTGAATATGGAACAATATCTCCAGAAGAGGTGTTT
CTACCTTGAAAACCTTGGATGAAATGATTGCTCTTCAGACCAAAAACAAGCTAGAAAAAAT
GCTACTGACAAATATAAGCAAGCTTTTCCAGCACCATCAGAGAGAGTCAATGAAGAAACAGA
CAGTACCAAGGAAGAAGCAGCTTAAGATGGAAGGAATATGGAAGCTTGAAGGATTCCACAA
AAGATGATAACTCCAACCCAGGAGGAAGACAGATGAACCCAAAGGAAAAACAGAAGCCTAT
TTGGAAGCCATCAGAAAAAATATTTGAATGGTTGAAGAAACATGACAAAAAGGGAATTAAGA
AGATTATGACCTTTCAAAGATGAGAGACTTCATCAATAAACAAAGCTGATGCTTATGTGGAGA
AAGGCATCCTTGACAAGGAAGAAGCCGAGGCCATCAAGCGCATTTATAGCAGCTCTAAAAA
TGGCAAAAGATCCAGGAGTCTTCAACTGTTTCAGAAAACATAATATAGCTTAAACACTTC
TAATCTGTGATTAAAAATTTTTGACCAAGGGTTATAGAAAGTCTGATTTACAGTAGT
TAACCTTTTACAAAGTGTTAAAAACATAGCTTTTCCCGTAAAAACTATCTGAAAGTAAAGT
GTATGTAGCTGAAAAAAGAAAAAAGAAAAA
```

【図 3 6】

MGFLGTGTWILVVLPIQAFPKPGSQKSLHNLRELSAERPLNEQIAEAEDKIKKTYPPEN
KPGQSNYSFVDNLNLLKAITEKEKIEKERQSIRSSPLDNKLNVEDVDSTKNRKLIDDYDSTK
SGLDHKEFQDDPDGLHQLDGTPLTAEDIVHKIAARIYEENDRAVFCKIVSKLNLGLITESQA
HTLEDEVAEVLQKLISKEANNYEEDPNKPTSWTENQAGKIPEKVTFMAAIQDGLAKGENDET
"SNTLLTLNGLERRTKTYSEDNFEELQYFPNFYALLKSIDSEK :AKEKETLITIMKTLIDFV
KMMVKYGTISP EEGSVYLENLD EMIALQTKNKLEKNATDNISKLFPAPEKSHEETDSTKEE
AAKMEKEYGSLKOSTKDDNSNPGGKTDEPKGKTEAYLEAIRKNIEWLKKHKKGKNKEDYDLS
KMRDFINKQADAYVEKGILDKEAEAIAKRIYSSL

N-グリコシル化部位

アミノ酸 68-71, 346-349, 350-353

カゼインキナーゼIIリン酸化部位

アミノ酸 70-73, 82-85, 97-100, 125-128, 147-150, 188-191, 217-
220, 265-268, 289-292, 305-308, 320-323, 326-329, 362-365, 368-
341, 369-372, 382-385, 386-389, 387-390

N-ミリスチル化部位

アミノ酸 143-148, 239-244

【図 3 7】

GTGTGCTCGGCGGCGCTCGGGGAGGGAGCCAGCAGCTAGGCGCTAGGCCCGGGCCACCATG
GCGTGCCTCCAGGCCCGCGCCCTCCGGCACACACTGCTGCTGCCAGCCCTTCTGAG
CTCAGGTGGGGGAGTTGGAGCCACAAATAGATGGTCAGAGCTGGCGCTGAGCGGGCACTTC
GGGAGATGAAGCCACGCGCTTACACTGCCGGGTGGCAGGGGGGCTGGCACCCACAGATTG
GCTTGGTATCTGGATGGACAGCTGCAGGAGGCCAGCACCTCAAGACTGCTGAGCGTGGGAG
GGAGGCGCTTCTCTGGAGGCCAGCAGCCTTCACTGTCACTGCCCATCGGGCCGACATGAGC
TCAACTGCTCTCTCGCAGGACCCAGAAAGTGGCGGATCAGGCAAAGCCCTCTTCACTCCTTAAT
GTGCATTCAGCCAGAGATTGCCAAGTGGCGCCCAAGTACAGGAGCTCAGGGCCCGAGG
CCTCTGCTGCTGCTGTTGGCCCTGGTGGTCCCAACCCCGGCGCAATGTCACTGGATCG
ACCCAGATGGGCCAGTCACTGTCAACACTCTGACTTCCCTGGTCTGATGGCAGCAACTAC
CCCTGGCTCACCAACACACGGTGCAGCTGCAGCTCCGACGCTGGCACACAACTCTCGGT
GGTGGCCACCAATGACGTGGGTGTCAACAGTGGTCTTCCAGCCCGCAGGCCCTCCCGGC
ACCCATCTCTGATATCAAGTGACTCCAACTTAAACTCAACAACCTGCGCTGCCACGG
GAGAACATGTCCCTCCCGTCCAACCTTCACTCAATGACCTCACTCCAGATTCCAGAGCAGT
GAAACACGACAGCGGCAGATGGCTCAGAACACACAGCCCGCCAGAGCTTCTGGACCCGGAGC
CGGGCGGCTCCTCACAGCCAAGGTTTCATCCGCTCCAGTGTGGGCTATATCTATCGA
GTGTCCAGCGTGAGCAGTGATGAGATCTGGCTCTGAGCCGAGGGCGAGACAGGAGTATCTC
TTGGCTCTGGACACCTCCCATTCCTCCAAGGATCCTCTACCTAGCTAGGTCAACAAGCT
GAAGAAGITATGCCACTGCCACTTTTGCTTGCCCTCCCTGGCTGGGGTGCCCTCCATGTCTATG
CAGCTGATGCATTTCACTGGGCTGTAAACCCGAGGGGACAGGTATCTTTGGCAAGGCTACC
ACTTGGAGCTAAGCCCTCATGCTGACTCAGGTGGGCGCTGAGTGTGAGTACTGGCCCTT
CCAGAGGAGCTCTTTGGCCAGGGCTTTCAGATGTCTATCCAGATCCCAAGTGTGCGATGGC
CTGCTGTATACCCACCCAGTACTCCACAGCACCTTGTACAGTAGGCAATGGGGCTGGCT
GTGTGGGGGACAGGAGGGCCCTGCATGGATTTCCTCTTCTTCTATGTCTATGAGCTTGT
GCTCAGGTAAATTTAGGACCTGCTAGCTGTGCAGAACCAATTGCGCTTTGCACAGAAA
CAACCCCTGACCCAGCGGTACCGGCCAAGCACAAACGTCTTTTGTCTGCACAGCTCTCTG
CCCTTCACTTCTTCTTCTGTCTCCACCTCTCTTGGGAATCTAGGTTACACGTTGGACC
TTCTCTACTACTTCACTGGGCACTAGACTTTTCTATTGGCTGTGCCATCGCCAGTATTAG
CACAAAGTTAGGGAGGAAGAGGCGAGGCGATGAGTCTAGTAGCACCCAGGACGGCTTGTAGCTA
TGCAATCAITTTCTACGGCGTTAGCACTTTAAGCACATCCCTAGGGGAGGGGTGAGTGAG
GGGCCCCAGGCGCTTTTGTGGCTTCCCAAGTTTGGCTTCTGGGATTCAGTGTGAGTCTC
CTGAGCTCTGGGGTGTATGGTTTCTCTCAGCATGTCTCTCCACACCGGGACCCAGCC
CTGACCAACCATAGGTGCCCTCATCAGCAGGAAGTGCCCTTCTCGAGGATGGTCCGCAC
GGACATAATTCAACAGTGTGAAGCTTTAGGGGAACATGAGAAAGAGGAGACCAATAC
CCAAAGTGACCTAAGACACTTTAAAAAGCAACATGTAATGATTGGAAATTAATATAGTA
CAGAAATATATTTTCCCTTGTGAGATCTCTTTTGTAAATGTTTTCATGTTACTGCTAGG
CGGCTGTGACGACACAGCAAGTTTAAATAACTTGACTGAATTCATTTAAAAAATAAAAA
AAAAAATAAAAAAATAAAAAAATAAAAAAATAAAAAAATAAAAAAATAAAAAAATAAAAA
AAAAAATAAAAAAATAAAAAAATAAAAAAATAAAAAAATAAAAAAATAAAAAAATAAAAA

【図 3 8】

MALPPGPAALRHTLLLLPALLSSGWGELEPQIDGQTAERALRENERHAFTCRVAGPGTPT
LAWYLDGQLQEASTSRLLSVGGEAFSGGTSTFTVTAHRAQHELNCSLQDPRSGRSANASVIL
NVQKPEIAQVQKGYQEAQGGELLVLFALVRANPPANVTWIDQDGPVTVNTSDFVLVDAQN
YFWLTNHTVOLQLRSLAHLNSVVATNDVGVTSASLPAPGPSRHPSLISSDSNNLKLNNVRLP
RENNSLPSNLQJNDLTPDSRAVKPADRQMAQNNRPELDDPEPGGLTSGQFIRPVLGYIY
RVSSVSSDEIWL

N-グリコシル化部位

アミノ酸 106-110, 119-123, 162-166, 175-179, 192-196, 205-209,
251-255, 280-284

グリコサミノグリカン付着部位

アミノ酸 23-27

カゼインキナーゼIIリン酸化部位

アミノ酸 36-40, 108-112, 164-168, 282-286, 316-320

N-ミリスチル化部位

アミノ酸 34-40, 89-95, 215-221, 292-298, 293-299

【図 3 9】

CGGGGACGGAAGCGGCCCTCGGCCCGAGGGCTGGAGCCGGGCCGGGCGCATGTGGAGCGC
GGGCCGCGGGGGCTGCCTGGCGGTGCTGTTGGGGCTGCTGCTGGCGCTGTAGTGCCGG
GCGGTGGTGGCCCAAGACCGGTGCGGAGCTGCTGACCTGCGGGTCTGGTGTGAAGCTGCTC
AATACGCACACCGCGTGGCGCTGCACTGCACGACATCAAAATACGGATCOGCGACGGCCA
GCAATCGGTGACCGGCTAGAGCGCTGCGAGCAGCCCAATAGCTACTGGCGATCCGCGGGC
GCTCGGAGGGCGGGTGCCCGCGCGGGTCCCGGTGCGCTCGCGGACGGCGGTGAGGCTCACG
CATGTGCTTACGGGCAAGAACCTGCACACGACCACTTCCGCTCGCGCTGTCCAACACCA
GGAGGTGAGTGCTTTGGGGAAGACGGCGAGGGCGACGACCTGGACCTATGGACAGTGCGCT
GCTCTGGACAGCACTGGAGCGTGAGGCTGCTGTGCGCTTCCAGCATGTGGGACCTCTGTG
TTCCTGTAGTACGGGTGAGCAGTATGGAAGCCCATCCGTGGGCGAGCATGAGGTCCACGG
CATGCCACGTGCCAACGACGACAAATACGTGGAAGGCCATGGAAGGCATCTTCATCAAGCCTA
GTGTGGAGCCCTCTGCAAGTACAGATGAACCTGAGTGTGTGGATGGATGGGTGGATGGAGG
GTGGCAGGTGGGGCTGTCGAGGGCCACTCTTGGCAGAGACTTTGGGTTTGTAGGGGTCTCTC
AAGTGCTTTGTGATTAAAGAATGTGGTCTATGAAA

【図 4 0】

></usr/seqdb2/sst/DNA/Dnaseqs.min/ss.DNA96857

><subunit 1 of 1, 221 aa, 1 stop

><MW: 23598, pI: 6.96, NX(S/T): 0

MWSAGRGGAAWVLLGLLLALLVPGGGAAKTGAELVTCGSVLKLNTHHRVRLHSHDIKYS
GGQQSVTVGEASDDANSYWRIRGGSEGGCPRGS PVRCGQAVRLTHVLTGKNLHTHHFSP
SNNQEVSAFGEDEGDDLDLWVRCSGQHWEREAAVRPQHVGTSVFLSVTGEQYGSPIRGQ
EVHGMP SANTHNTWKAMEGIFIKPSVEFSAGHDEL

タンパク質の重要な特徴

シグナルペプチド

アミノ酸 1-28

グリコサミノグリカン付着部位

アミノ酸 62-66

N-ミリスチル化部位

アミノ酸 16-22, 25-31, 27-33, 61-67, 71-77, 86-92, 87-93,
91-97, 190-196

小胞体標的配列

アミノ酸 218-223

【図 4 1】

GTGCTATGTTGCCAGGCTGGTCTTGAAGTGCTTGACCTCTTAAAGTTTGAACACAG
ACGTGAGCCACTCCACCCAGGCTAAAACITTCATCTTCTTTGGATGAGATGAACACTTTTAAC
AAGAGAACAGGACTCTATATAAATCGCTGTGGGCTCACCACCTCTAAGGAGGAGCACTGACT
GAAGACAGAAAATTGATGAACGTGAAGAAGACATGGTCCATTATGCTTTACAACTTACACA
GTGCTTTGGGAATCCAAAGTACTCAGTGGAGAGAGGTGTTTCAGGAGCCGTAGAGCCAGAT
CGTCATCAATGCTCTGCATTGTGGCTGCTGGGCTCCTTGCCCTGATGGACTTGTCTGAAA
GCAGCAACTGGGGATGCTATGGAACATCCAAAGCCTGGACACCTCGAGCATCTTGTGG
ATTGGAAGACGTCACGGCTGAACACTGTGGAGTCTGTGCTTCTGAAGGCTGGCTGAAAT
AGACATGCACATCTCCTGAAATATCAACCCATGATGCAAAACCATTTGGCCAAAAGTACTGCA
TGGATCCTGCCGTGATCGCTGGTGTCTTGTCCAGGAAGTCTCCCGGTGACAAAATCTGGTCA
AACATGGGCGATAGGACTAGCATGGTGCAGGACCTGGCTCTCAAGCTCCACATCCTGGAT
TAGTGAGTCTCAGGTTTCCAGACAACTGAAGTCTGACTACTAGAATCAAGAAATCCAGA
GGAGGTTTCCAACTGGACCCCTGACAGTACCTGAGAGGTGGACTCTGTGCTACAGTGGG
GGTCTGGCTATGTCTCGAAGCAGCCAGGACCTGAGCTGTGACTTCTGCAATGATGTCTTGC
ACGAGCCAACTACCTCAAGAGACATGGCTCTAAATCTCAGATGAAACCAAGACCATGAT
CACATATGCAGCTCAAATGTTACACAGATAAACTAGCCAAGGGCACCTGTAACCTGGGAAT
CTGAGTTTGACCTAAAAGTCATTAAAAATACATGAATCCCATTAATAAAAAAAAAA

【図 4 2】

```
></usr/seqdb2/sst/DNA/Dnaseqs.min/ss.DNA96867
><subunit 1 of 1, 194 aa, 1 stop
><MW: 21431, pI: 8.57, NX(S/T): 0
MSALWLLGLLALMDLSESSNWGCYGNQLSLDTPGASCGIGRRHLNLYCGVRASERLAEIDM
PYLLKYQPMQNTIGQKYCMOPAVIAGVLSRKSFGDKILVNMGDRTSMVQDPGSAFTSWISE
SQVSQTTTEVLTTTRIKEIQRFPFTPDQYLRGLGCLAYSOGAGYVRSSQDLSCDFCNDVLARA
KYLKRGHF
```

タンパク質の重要な特徴

シグナルペプチド
アミノ酸 1-19

N-ミリスチル化部位

アミノ酸 23-29, 26-32, 35-41, 45-51, 50-56, 76-82, 156-162

アミド化部位

アミノ酸 40-44

【図 4 5】

ACGGGCCGACAGCGGAGTGACGTAGGCTTGGCGCACGGATCCGTTGCGGCTGCAGCTCTGCA
GTCGGGCGGTTCTCTCGCGCGCGCCAGGGTAGCGGTGTAGCTGCGCAGCGTCGCGCGCGCT
ACCGCACCCAGGTTGCGGCCGTAGGCGCTGCGACGCCGCGCCATCTTCATCGAGCGCCAT
GGCCGCGACGCTGCGGGCGGGAGCGCGCGGGTACTGCTTGCTCCTCGGCTTGCAATTTGTTTC
TGCTGACCGCGGCCCTGCGCTGGGCTGGAAGCAGCCCTGACAGAAATGTTGTGCGGGATGTA
AAAGCTCTTACCTCCACTATGACCGCTATACCACTCCCGCAGGCTGGAATCCATCCACACA
GTTGAAATGTGTGGAGGCACAGCTGGTGTGATGTTCTTATACCCCAAAGCTACATACAGTGT
AGAACAAGGCTGGGATGGGTATGATGTACAGTGGGAATGTAAGACGGACTAGATATTGCA
TACAAATTTGGAATACTGTGGTGAGCTGTGAAGGCTATGAGTCTCTGAAGACCATGATGT
ACTAAGAGGTTCTGTGGCTTGGAGTATAATTTAGATTATACAGAACTTGGCTGCGAGAAAC
TGAAGGAGTCTGGAAGCAGCAGCGCTTGGCTCTTCTCTGATTATTATTATAAGTGGTCC
TCGGCGGAATTCCTGTAACTGAGTGGATTGATTACCATCGTGGTACTCCTTGGGATCGCCTT
TGTAAGTCTATAAGCTGTTCTGAGTGACGGGAGTATTCTCTCCACCGTACTCTGAGTATC
CTCCATTTTCCACCGCTTACAGAGATTACCAACTCAGCAGGACCTCCTCCCCAGGCTTT
AAGTCTGAGTTACAGGACCAAGATACTGGCCATGGTGCAACTCTGGTTTGGCAGTGC
TTTTACAGGACAAAGGATATGAAATTCAGGACAGGCTTCTGGACGCTTGGGAAGCTG
GTGGAATACTAGGATATTTGTTGGCAGCAATGAGCGGCAACACCTTCTCAGACTCGTGG
TACTACCGCTCTATCTCCCTCTACCTTGGCAGCTGGAATAGGCGTTACTCACCCCTTCA
TGGAGGCTCGGGCAGCTATTGGGTATGTTCAAATCAGACACGAAACCAAGAACTGCATCAG
GATATGGTGGTACCAGGAGACGATAAGTAGAAAGTTGGAGTCAAACTGGATGCAGAAAT
TTTGGATTTTTCATCACTTCTCTTTAGAAAAAAGTACTACCTGTAAACAAATTTGGAAAAAG
GGGATATTCAAAAGTTCTGTGGTGTATGTCCAGTGTAGCTTTTGTATTCTATTATTGAG
GCTAAAAGTTGATGTGTGACAAAAATCTATGTGTGATGTCAGTGAACATGCAGATGTA
TATTGCAGTTTGAAGGTGATCACTACTGTGGAATGCTAAAAATACATTAATTTCTAAAAAC
CTGTGATGCCCTAAGAAAGCATTAAGAAATGAAGGTGTGTACTAATAGAACTAAGTACAGAA
AATTTCAAGTTTAGGTGGTGTAGCTGATGAGTATTACCTCATAGAGCATATAATATTCTTA
TTTGGTATTATATTATTGATGTTTGTGCTTCTTCAACATTTAAATCAAGCTTTGGAGCTAA
TTATGCTAATTTGTGAGTCTGTACCTTTTGGAGCTGGAAGCTTTGAATCATTCAAGTGTG
GAGATGGCTTCTGGTAACTGAATATTACCTTCTGTAGGAAAAAGGTGGAATAAGCATCTA
GAAGGTTGTGTGAATGACTCTGTGCTGGCAAAATGCTTGAACCTCTATATTCTTCTGCT
TCATAGAGGTAAAGGTCAAATTTTTCACAAAAAGTCTTTTAATAACAAAGCATGCAGTTC
TCTGTGAAATCTCAAATATTGTTGTAATAGTCTGTTTCAATCTTAAAAAAGTACA

【図 4 3】

TTGAAAATCTACTCTATCAGCTGCTGTGGTTGCCACCATTTCTCAGGACCCCTCGCCATGAAAG
CCCTTATGCTGCTCACCCTGTCTGTTGCTGCTGCTGGGTCTCAGCTGACATTGCTGTGCTAC
TCCTGCTACAAAGTCCCTGTGCTGGGCTGTGTGGACCGGAGTCTTCCGCTGGAGCCAGG
ACAGCAATGCTTGACAACACATGCATACCTTGGTAAAGATGGGTTTTCTCAATCTGCGCT
GTGGCACACCAGAAGGCCCTGTGAGGAGGCTTCAACCAACCAACCGCAAGCTGGGCTGTG
ACATATAACACCACCTGCTGCAACAAAGGACAACTGCAACAGCGCAGGACCCCGGCCACTCC
AGCCCTGGGCGCTTGTCTTCTTACCTCCTTGGCTGGCCTTGGCTTCTGGCTGCTGCACAG
ACTCATTCCATTGGGTGCCCTCTCCACCTGCTTGGCTGAGCCTCTCTCCCTGTGTCT
CTGTATCCCCCTGGCTTTACAGAATCGTCTCTCCCTAGCTCCCATTCTTTAATTAACACTG
TTCGAGATGGTCTCCTCATCCTTCCACCTCACACCTTCACTCTCCTTTTCTGGGT
CCTTCCCACTTCTTCCAGGACCTCCATTGGCTCTAGAAGGCTCCCACTTTGCTCTCT
ATACTCTGCTGTCCCTACTTGAGGAGGATTGGGATCTGGGCTGAAATGGGCTTCTGTG
TTGTCCCGAGTGAAGGCTCCCAAGGACCTGATGACCTCACTGTACAGAGCTGACTCCCA
AACCAGGCTCCCATATGTACCCCATCCCCACTACCTCCTTTCCATTTTGTAGTAATAAA
TGCTGAGTCTGGAAAAA

【図 4 4】

```
></usr/seqdb2/sst/DNA/Dnaseqs.min/ss.DNA96878
><subunit 1 of 1, 125 aa, 1 stop
><MW: 13821, pI: 8.60, NX(S/T): 2
MKALMLLLSVLLCWVSADIRCHSCYKVPVLGCVDRQSCRLEPGQQCLTHAYLGMWVFSN
LRGCTPEEPQAEAFNQTNRLGLTYNTCCNKDNCNSAGRPRTALGLVFLTSLAGLWLLH
```

タンパク質の重要な特徴

シグナルペプチド
アミノ酸 1-18

N-グリコシル化部位

アミノ酸 77-81, 88-92

N-ミリスチル化部位

アミノ酸 84-90

Ly-6 / u-PAR ドメインタンパク質シグネチャー

アミノ酸 85-98

【図 4 6】

```
></usr/seqdb2/sst/DNA/Dnaseqs.min/ss.DNA96889
><subunit 1 of 1, 339 aa, 1 stop
><MW: 36975, pI: 7.85, NX(S/T): 1
MAAACGPGAAGYCLLLGLHLLTAGPALGWNDDRMMLLRDVKALTLHYDRYTSRRLLDPI
QLKCVGGTAGCDSYTPKVIQCNKGWDYDVQMECKTDLDIAYFKGTVVSCEGYESSEDQY
VLRGSCGLEYNLDYTELGQLKLESQKHGFPASFSDDYYKWSASDCNMSGILITIVVLLGIA
FVVYKFLSDGGYSPPPYSEYPPFHSRYQRFTNSAGPPPPGPKSEFTGPQNTGHGATSGFGS
AFTQQQGYENSQPGFWTLGDTGGILGYLFGSNRAATPFSDSWYYPSPYPPSGTWNRAYSPL
HGSGSYSVCSNSDKTRTASGYGGRTRR
```

シグナルペプチド

アミノ酸 1-30

膜貫通ドメイン

アミノ酸 171-190

N-グリコシル化部位

アミノ酸 172-176

グリコサミノグリカン付着部位

アミノ酸 244-248, 259-263, 331-335

チロシinkinaseゼリン酸化部位

アミノ酸 98-106

N-ミリスチル化部位

アミノ酸 68-74, 69-75, 131-137, 241-247, 247-253, 266-272, 270-276, 278-284, 312-318

フロントページの続き

(51) Int. Cl. F I
A 6 1 P 19/00 (2006.01) A 6 1 P 19/00

- (31)優先権主張番号 60/125,826
(32)優先日 平成11年3月24日(1999.3.24)
(33)優先権主張国 米国(US)
(31)優先権主張番号 60/127,035
(32)優先日 平成11年3月31日(1999.3.31)
(33)優先権主張国 米国(US)
(31)優先権主張番号 60/127,706
(32)優先日 平成11年4月5日(1999.4.5)
(33)優先権主張国 米国(US)
(31)優先権主張番号 60/130,359
(32)優先日 平成11年4月21日(1999.4.21)
(33)優先権主張国 米国(US)
(31)優先権主張番号 60/131,270
(32)優先日 平成11年4月27日(1999.4.27)
(33)優先権主張国 米国(US)
(31)優先権主張番号 60/131,272
(32)優先日 平成11年4月27日(1999.4.27)
(33)優先権主張国 米国(US)
(31)優先権主張番号 60/131,291
(32)優先日 平成11年4月27日(1999.4.27)
(33)優先権主張国 米国(US)
(31)優先権主張番号 60/132,371
(32)優先日 平成11年5月4日(1999.5.4)
(33)優先権主張国 米国(US)
(31)優先権主張番号 60/132,379
(32)優先日 平成11年5月4日(1999.5.4)
(33)優先権主張国 米国(US)
(31)優先権主張番号 60/132,383
(32)優先日 平成11年5月4日(1999.5.4)
(33)優先権主張国 米国(US)
(31)優先権主張番号 60/135,750
(32)優先日 平成11年5月25日(1999.5.25)
(33)優先権主張国 米国(US)
(31)優先権主張番号 60/138,166
(32)優先日 平成11年6月8日(1999.6.8)
(33)優先権主張国 米国(US)
(31)優先権主張番号 60/144,791
(32)優先日 平成11年7月20日(1999.7.20)
(33)優先権主張国 米国(US)
(31)優先権主張番号 60/146,970
(32)優先日 平成11年8月3日(1999.8.3)
(33)優先権主張国 米国(US)
(31)優先権主張番号 60/170,262
(32)優先日 平成11年12月9日(1999.12.9)
(33)優先権主張国 米国(US)

- (72)発明者 イートン, ダン, エル.
アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 9 0 1, サン ラファエル, ナイト ドライブ 7 5
- (72)発明者 ゴッダード, オードリー
アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 1 3 1, サン フランシスコ, コンゴ ストリート 1 1
1
- (72)発明者 ゴドウスキー, ボール, ジェー.
アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 1 0, バーリンゲーム, イーストン ドライブ 2 6 2
7
- (72)発明者 ガーニー, オースティン, エル.
アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 0 2, ベルモント, デビー レーン 1
- (72)発明者 パン, ジェームス
アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 4 0 4, フォスター シティ, バウンティ ドライブ
7 5 2 5 2 0 3号室
- (72)発明者 スチュワート, ティモシー, エー.
アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 1 1 4, サン フランシスコ, ダグラス ストリート 4
6 5
- (72)発明者 ワタナベ, コリン, ケー.
アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 5 5 6, モラガ, コーリス ドライブ 1 2 8
- (72)発明者 ウッド, ウィリアム, アイ.
アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 1 0, ヒルズバラ, サウスダウン コート 3 5
- (72)発明者 ツァン, ツェミン
アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 4 0 4, フォスター シティ, トーラス ドライブ 8
7 6

審査官 池上 文緒

(56)参考文献 特表2 0 0 2 - 5 4 1 8 4 7 (J P , A)

(58)調査した分野(Int.Cl. , D B名)

C12N15/00-15/90

PubMed

BIOSIS/WPI (DIALOG)

GenBank/EMBL/DBJ/GeneSeq

UniProt/GeneSeq