

(19)대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(51) Int. Cl.⁷

A61K 38/17
C07K 16/18
C12N 15/11
A61K 48/00

(45) 공고일자 2005년11월21일
(11) 등록번호 10-0529270
(24) 등록일자 2005년11월10일

(21) 출원번호	10-2001-7006818	(65) 공개번호	10-2001-0086070
(22) 출원일자	2001년05월31일	(43) 공개일자	2001년09월07일
번역문 제출일자	2001년05월31일		
(86) 국제출원번호	PCT/US1999/028313	(87) 국제공개번호	WO 2000/32221
국제출원일자	1999년11월30일	국제공개일자	2000년06월08일

(81) 지정국

국내특허 : 알바니아, 아르메니아, 오스트리아, 오스트레일리아, 아제르바이잔, 보스니아 헤르체고비나, 바르바도스, 불가리아, 브라질, 벨라루스, 캐나다, 스위스, 중국, 쿠바, 체코, 독일, 덴마크, 에스토니아, 스페인, 핀란드, 영국, 그루지야, 헝가리, 이스라엘, 아이슬랜드, 일본, 케냐, 키르기스스탄, 북한, 대한민국, 카자흐스탄, 세인트루시아, 스리랑카, 리베이라, 레소토, 리투아니아, 룩셈부르크, 라트비아, 몰도바, 마다가스카르, 마케도니아공화국, 몽고, 말라위, 멕시코, 노르웨이, 뉴질랜드, 슬로베니아, 슬로바키아, 타지키스탄, 투르크멘, 터키, 트리니다드토바고, 우크라이나, 우간다, 미국, 우즈베키스탄, 베트남, 폴란드, 포르투갈, 루마니아, 러시아, 수단, 스웨덴, 싱가포르, 아랍에미리트, 코스타리카, 도미니카, 모로코, 탄자니아, 남아프리카, 그라나다, 가나, 감비아, 크로아티아, 인도네시아, 인도, 시에라리온, 세르비아 앤 몬테네그로, 짐바브웨,

AP ARIPO특허 : 케냐, 레소토, 말라위, 수단, 스와질랜드, 우간다, 시에라리온, 가나, 감비아, 짐바브웨, 탄자니아,

EA 유라시아특허 : 아르메니아, 아제르바이잔, 벨라루스, 키르기스스탄, 카자흐스탄, 몰도바, 러시아, 타지키스탄, 투르크멘,

EP 유럽특허 : 오스트리아, 벨기에, 스위스, 독일, 덴마크, 스페인, 프랑스, 영국, 그리스, 아일랜드, 이탈리아, 룩셈부르크, 모나코, 네덜란드, 포르투갈, 스웨덴, 핀란드, 사이프러스,

OA OAPI특허 : 부르키나파소, 베닌, 중앙아프리카, 콩고, 코트디부아르, 카메룬, 가봉, 기니, 말리, 모리타니, 니제르, 세네갈, 차드, 토고, 기니 비사우,

(30) 우선권주장	60/112,850	1998년12월16일	미국(US)
	60/115,554	1999년01월12일	미국(US)
	60/123,957	1999년03월12일	미국(US)
	60/131,445	1999년04월28일	미국(US)
	60/134,287	1999년05월14일	미국(US)
	60/141,037	1999년06월23일	미국(US)
	60/144,758	1999년07월20일	미국(US)
	PCT/US99/20111	1999년09월01일	미국(US)
	60/162,506	1999년10월29일	미국(US)

(73) 특허권자 제넨테크, 인크.

미합중국 캘리포니아 (우편번호 94080-4990) 사우쓰샌프란시스코 디엔에이 웨이 1

(72) 발명자

애쉬케나지,아비,제이.
미국94402캘리포니아주샌마테오태리타운스트리트1456

베이커,케빈,피.
미국20878메릴랜드주다네스타운인디안런드라이브14006

페라라,나폴레온
미국94109캘리포니아주샌프란시스코#704패시픽애비뉴2090

저버,한스피터
미국94107캘리포니아주샌프란시스코#5테네시스트리트1121

힐란,케네쓰,제이.
미국94114캘리포니아주샌프란시스코세워드스트리트64

고다드,오드리
미국94131캘리포니아주샌프란시스코콩고스트리트110

고다우스키,폴,제이.
미국94010캘리포니아주벌링엄이스턴드라이브2627

거니,오스틴,엘.
미국94002캘리포니아주벨몬트테비레인1

클레인,로버트,디.
미국94301캘리포니아주팔로알토웹스터스트리트1044

쿠오,소피아,에스.
미국94131캘리포니아주샌프란시스코#3서레이스트리트59

파오니,니콜라스,에프.
미국94002캘리포니아주벨몬트테라스드라이브1756

스미스,빅토리아
미국94010캘리포니아주벌링엄드와이트로드19

와타나베,콜린,케이.
미국94556캘리포니아주모라가코어리스드라이브128

윌리엄스,피.,믹키
미국94019캘리포니아주해프문베이알토애비뉴509

우드,윌리엄,아이.
미국94010캘리포니아주힐스보로우사우쓰다운코트35

(74) 대리인

주성민
김영

심사관 : 이미정

(54) 혈관신생 및 심혈관형성의 촉진 또는 억제

원은 이 핵산 서열을 포함하는 벡터 및 숙주 세포, 이중 폴리펩티드 서열에 결합된 본 발명의 폴리펩티드를 포함하는 키메라 폴리펩티드 분자, 본 발명의 폴리펩티드에 결합하는 항체, 및 본 발명의 폴리펩티드를 제조하는 방법을 제공한다.

대표도

도 1

색인어

혈관신생, 심혈관형성, PRO 폴리펩티드

명세서

기술분야

본 발명은 혈관신생 및(또는) 심혈관형성의 촉진 또는 억제 효과가 필요한 포유동물에서 이러한 혈관신생 및(또는) 심혈관형성을 촉진하거나 억제하기에 유용한 조성물 및 방법에 관한 것이다. 이것은 중앙 질환 뿐만 아니라 심혈관 질환의 진단 및 치료를 포함한다.

배경기술

A. 심장 질환 및 인자

약 5백만명의 미국인이 심부전을 앓고 있고, 해마다 약 400,000명의 심부전 환자가 새로 발생한다. 심부전은 미국에서 65세 이상의 사람이 입원하는 가장 빈도가 높은 단일 원인이다. 급성 심근경색을 비롯한 급성 심장 질환의 관리에 있어서 최근의 진보된 연구 결과, 결국 만성 심부전으로 발전될 환자 집단이 팽창되고 있음을 알 수 있다. 1979년부터 1995년까지, 울혈성 심부전 (CHF)으로 인한 입원은 377,000명에서 872,000명으로 늘었고 CHF로 인한 사망은 116%만큼 증가되었다.

CHF는 좌심실 기능저하, 감소된 운동 내성, 손상된 삶의 질 및 매우 단축된 여명에 의해 특징지어지는 증후군이다. 심부전의 필수 조건은 심장이 체조직의 대사 요구를 충족시키기에 충분한 속도로 혈액을 펌프할 수 없다는 점 (달리 말하면 불충분한 심박출량)이다.

심부전 환자가 심박출량을 상승시키는 데 있어서, 혈관수축, 증가된 심박수, 증가된 심수축성 및 증가된 혈장량을 비롯하여 적어도 4가지 주요 보정 기작이 활성화된다. 이들 효과는 교감신경계 및 레닌-안지오텐신계에 의해 주로 매개된다 (Eichhorn, American Journal of Medicine, 104: 163-169 (1998)참조). 교감신경계의 증가된 출량은 혈관긴장도, 심박수 및 수축성을 증가시킨다. 안지오텐신 II는 1) 혈관 평활근 수축을 직접 자극시키고, 2) 알도스테린 및 항이노 호르몬 분비를 자극하여 혈장량의 팽창을 촉진시키고, 3) 교감-매개 혈관긴장도를 자극시키고, 4) 혈관확장 활성 및 나트륨이노 활성을 갖는 브라디키닌의 분해를 촉매시킴으로써 혈압을 상승시킨다 (Review by Brown and Vaughan, Circulation, 97: 1411-1420 (1998) 참조). 아래에 기재한 바와 같이, 안지오텐신 II는 근세포 괴사 (수축 기능을 손상시킴) 및 심장내섬유증 (확장 기능을 손상시키고, 몇 가지 경우에는 수축 기능을 손상시킴)을 촉진시킴으로써 심장에 대해 직접적으로 유해한 영향을 줄 수도 있다 (Weber, Circulation, 96: 4065-4082 (1998) 참조).

울혈성 심부전 (CHF)의 일관성 있는 특징은 심장비대, 즉 기계적 및 호르몬 자극에 의해 활성화되어 증가된 심박출량에 대한 수요에 심장이 적응할 수 있게 하는 심장의 확장이다 (Morgan and Baker. Circulation, 83: 13-25 (1991) 참조). 이 비대 반응은 고혈압, 대동맥협착증, 심근경색증, 심근병증, 판역류증 및 심장내단락과 같은 다양한 여러 가지 병리학적 상태 (이들은 모두 만성 혈액동력학적 과부하를 초래함)와 종종 관련되어 있다.

비대증은 일반적으로 중앙 형성을 수반하지 않으며 자연 성장과는 독립된 기간 또는 구조의 크기 증가로 정의된다. 심장의 비대증은 개별 세포 (근세포)의 질량의 증가, 또는 조직을 구성하는 세포 수의 증가 (과다형성), 또는 둘다의 증가로 인한 것이다. 배아 심장의 확장은 근세포 수의 증가 (이것은 생후 즉시까지만 지속됨)에 주로 달려 있는 반면, 생후 심근세포는 증식능을 상실한다. 개별 세포의 비대증을 통해 추가 성장이 일어난다.

성숙 근세포의 비대증은 개별 근섬유의 부하를 감소시켜 손상된 심장기능에 대한 단기 반응으로서 초기에는 유익하다. 그러나, 장기간 지속되는 심각한 부하로 인해 비대화된 세포가 퇴화되기 시작하고 결국 사멸한다 (Katz A.M. ed., *Physiology of the Heart* (New York: Raven Press, 1992) pp. 638-668). 심비대증은 심부전의 임상 과정에서 사망률 및 이환률에 대한 상당한 위험 인자이다 (Katz, *Trends Cardiovasc. Med.*, 5: 37-44 (1995)). 심비대증의 원인 및 병리학의 추가적인 세부사항은 예를 들어, 문헌 (*Heart Disease. A Textbook of Cardiovascular Medicine*, Braunwald, E. ed. (W.B. Saunders Co., 1998), Chapter 14, "Pathophysiology of Heart Failure")을 참조한다.

세포 수준에서, 심장은 근세포와 일반적으로 비근세포라고 불리는 주변 지지세포로 구성되어 있다. 비근세포는 주로 섬유아세포/중간엽세포이지만 내피세포 및 평활근세포도 포함한다. 실제로, 근세포가 대부분의 성숙 심근 덩어리를 구성하더라도 이들은 심장에 존재하는 총 세포수의 약 30%만을 차지한다. 호르몬 자극, 생리적인 자극, 혈액동력학적인 자극 및 병리적인 자극에 반응하여 성숙 심실 근세포는 비대 과정의 활성화를 통해 증가된 부하에 적응할 수 있다. 이 반응은 심방 나트륨이노 펩티드 (ANP)의 유전자를 비롯하여 동시다발적인 세포 분열 및 배아 유전자의 활성화 없이 근세포 크기의 증가 및 개별 심근세포의 수축성 단백질 함량의 증가에 의해 특징지어진다 (Chin et al., *FASEB J.*, 5: 3037-3046 (1991); Chien et al., *Annu. Rev. Physiol.*, 55: 77-95 (1993)). 세포의 매트릭스내 및 심근내 관상동맥 주변에 있는 간질 콜라겐의 축적과 관련된 근세포 크기의 증가라는 결과로서의 심근 질량의 증가는 인간에서 압력 부하에 의해 파생되는 좌심실 비대증에서 서술된 바 있다 (Caspari et al., *Cardiovasc. Res.*, 11: 554-558 (1997); Schwarz et al., *Am. J. Cardiol.*, 42: 895-903 (1978); Hess et al., *Circulation*, 63: 360-371 (1981); Pearlman et al., *Lab. Invest.*, 46: 158-164 (1982)).

또한, 비근세포를 지지하는 세포에 의해 생성되는 파라크린 인자가 심비대증의 발달에 부가적으로 관여하고, 다양한 비근세포로부터 유래한 비대 인자 (예를 들어, 백혈구 억제 인자 (LIF) 및 엔도텔린)이 확인되었다고 보고된 바 있다 (Metcalf, *Growth Factors*, 7: 169-173 (1992); Kurzrock et al., *Endocrine Reviews*, 12: 208-217 (1991); Inoue et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 86: 2863-2867 (1989); Yanagisawa and Masaki, *Trends Pharm. Sci.*, 10: 374-378 (1989); 미국 특허 제5,573,762호 (1996년 11월 12일 발행)). 심비대증의 잠재적인 매개체로 확인된 예시적인 추가 인자로는 카디오토로핀-1 (CT-1) (Pennica et al., *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 92: 1142-1146 (1995)), 카테콜아민, 아드레노코르티코스테로이드, 안지오텐신, 프로스타글란딘이 있다.

현재, 심비대증의 치료는 기저 심질환에 따라 다양하다. 카테콜아민, 아드레노코르티코스테로이드, 안지오텐신, 프로스타글란딘, LIF, 엔도텔린 (엔도텔린-1, -2 및 -3과 빅 엔도텔린을 포함함) 및 CT-1은 비대증의 잠재적인 매개체로 확인된 인자들이다. 예를 들어, 베타-아드레날린성 수용체 차단 약물 (베타-차단제, 예를 들어 프로프라놀롤, 티몰롤, 테르타롤롤, 카테올롤, 나돌올, 베타솔롤, 펜부톨올, 아세토부톨올, 아테놀올, 메토프롤올, 카베딜올 등) 및 베라파밀은 비대성 심근병증의 치료에 광범위하게 사용되어 왔다. 증상 (예: 가슴 통증) 및 운동 내성에 대한 베타-차단제의 유익한 효과는 주로 이완기의 결과적 연장 및 증가된 수동 심실 충만과 함께 심박수의 감소에 기인한다 (Thompson et al., *Br. Heart J.*, 44: 488-98 (1980); Harrison et al., *Circulation.*, 29: 84-98 (1964)). 베라파밀은 심실 충만을 향상시키고, 심근 허혈을 감소시킬 가능성이 있는 것으로 기재된 바 있다 (Bonow et al., *Circulation*, 72: 853-64 (1985)).

니페디핀 및 딜티아젠프도 비대성 심근병증의 치료에 종종 사용된 바 있다 (Lorell et al., *Circulation*, 65: 499-507 (1982); Betocchi et al., *Am. J. Cardio.*, 78: 451-457 (1996)). 그러나, 니페디핀은 그의 강력한 혈관확장성 때문에 특히 배출 장애가 있는 환자에게 해로울 수 있다. 디이소피라미드는 그의 수축력 감소성 때문에 증상을 완화시키는 데 사용된 바 있다 (Pollick, *N. Engl. J. Med.*, 307: 997-999 (1982)). 그러나, 많은 환자에서 초기 잇점이 시간에 따라 감소한다 (Wigle et al., *Circulation.* 92: 1680-1692 (1995)). 항고혈압 약물 치료법은 상승된 혈압과 관련된 심비대증에 유익한 효과가 있는 것으로 보고된 바 있다. 단독으로, 또는 조합으로 항고혈압 치료법에 사용된 약물의 예로는 칼슘 길항제, 예를 들어 니트렌디핀; 아드레날린성 수용체 차단제, 예를 들어 상기 기재된 것들; 퀴나프릴, 캅토프릴, 에날라프릴, 라미프릴, 벤아제프릴, 포시노프릴 및 리시노프릴과 같은 안지오텐신 전환 효소 (ACE); 이노제, 예를 들어 클로로티아지드, 히드로클로로티아지드, 히드로플루메타지드, 메틸클로로티아지드, 벤즈티아지드, 디클로로펜아미드, 아세트아졸아미드 및 인다파미드; 및 칼슘 채널 차단제, 예를 들어 딜티아젠프, 니페디핀, 베라파밀 및 니카르디핀이 있다.

예를 들어, 딜티아젠프 및 캅토프릴을 사용한 고혈압의 치료는 좌심실근 질량의 감소를 보였지만, 이완 기능의 도플러 지수는 정상화되지 않았다 (Szlachcic et al., *Am. J. Cardiol.*, 63: 198-201 (1998); Shahi et al., *Lancet*, 336: 458-461 (1990)). 이들 발견은 과량의 간질 콜라겐이 좌심실 비대증의 퇴행 후에 남아 있을 수 있는 것을 나타내는 것으로 해석되었다 (Rossi et al., *Am. Heart. J.*, 124: 700-709 (1992)). 상기 Rossi 등은 실험 래트의 압력 부하 심비대증에서 심근세포 비대증 및 간질 섬유증의 예방 및 퇴행에 대한 캅토프릴의 효과를 조사하였다.

심수축성을 직접 증가시키는 물질은 단기간에 심박출량을 향상시키기 때문에 심부전을 앓는 환자에 유익할 것으로 처음에는 생각되었다. 그러나, 디고시제닌을 제외한 모든 수축력 증가제는 심장작업 수행능력의 단기간 향상에도 불구하고 증가된 장기간 사망률을 초래하는 것으로 확인된 바 있다 (Massie, *Curr. Op. in Cardiology*, 12: 209-217 (1997); Reddy et al., *Curr. Opin. Cardiol.*, 12: 233-241 (1997)). 최근에 베타-아드레날린성 수용체 차단제는 심부전에 사용하도록 추천된 바 있다. 임상 시험으로부터 얻은 결과는 기록된 개선 환자 생존이 아직 증명되지 않았지만 사망률을 증가시키지 않고 심장기능의 향상을 달성할 수 있음을 제시하고 있다. 또한, CHF의 치료에 있어서 카디오토로핀-1 또는 그의 길항제, 또는 성장 호르몬 및(또는) 인슐린-유사 성장 인자-I의 용도에 관해서는 미국 특허 제5,935,924호, 제5,624,806호, 제5,610,134호 및 WO 95/28173를 참조한다. 또다른 치료 방법은 심장이식이지만, 이것은 공여자 심장의 이용가능성에 의해 제한된다.

엔도텔린은 돼지 동맥의 내피세포 배양 상등액으로부터 단리되어 구조학적으로 결정된, 21개의 아미노산을 포함하는 혈관수축 펩티드이다 (Yanagisawa et al., *Nature*, 332: 411-415 (1998)). 엔도텔린은 나중에 다양한 작용을 나타내는 것으로 밝혀졌고, 엔도텔린 길항제로서의 엔도텔린 항체는 심근경색증, 신부전 및 기타 질환의 치료에 효과적인 것으로 입증되었다. 엔도텔린은 생체내에 존재하고 혈관수축 작용을 나타내기 때문에, 순환계의 조절에 관여하는 내생 인자로 기대되고 있고 고혈압, 심근경색증과 같은 심혈관 질환, 및 급성 신부전과 같은 신장 질환과 관련되어 있을 수 있다. 엔도텔린 길항제는 예를 들어, 미국 특허 제5,773,414호; 일본 특허 공개 제3130299/1991호, 유럽 특허 제460,679호; 및 유럽 특허 제552,489호에 기재되어 있다. 엔도텔린 수용체 길항제를 확인하기 위한 신규 엔도텔린 B 수용체는 미국 특허 제5,773,223호에 기재되어 있다.

심부전에 대한 현재 치료법은 주로 캡토프릴 및 이노제와 같은 안지오텐신-전환 효소 (ACE) 억제제를 이용하는 것에 관한 것이다. 이들 약물은 혈액동력학적 프로필 및 운동 내성을 향상시키고 CHF를 앓는 환자의 이환률 및 사망률을 감소시킨다 (Kramer et al., *Circulation*, 67(4): 807-816 (1983); Captopril Multicenter Research Group, *J.A.C.C.*, 2(4): 755-763 (1983); The CONSENSUS Trial Study Group, *N. Engl. J. Med.*, 316(23): 1429-1435 (1987); The SOLVD Investigators, *N. Engl. J. Med.*, 325(5): 293-302 (1991)). 또한, 상기 약물은 고혈압, 좌심실 기능저하, 죽상경화성 혈관질환 및 당뇨병성 신병증을 치료하는 데 유용하다 (상기 Brown 및 Vaughan). 그러나, 입증된 효능에도 불구하고 ACE 억제제에 대한 반응은 제한되고 있다. 예를 들어, ACE 억제제는 심부전의 치료에 있어서 생존을 연장시키면서 말기 심부전을 향한 진행을 늦추는 듯하고, ACE 억제제에 대한 상당수의 환자가 기능성 클래스 III 심부전을 갖는다.

게다가, 기능성 및 운동 시간의 향상은 적을 뿐이고 사망률은 비록 감소되기는 하였지만 계속 높다 (CONSENSUS Trial Study Group, *N. Engl. J. Med.*, 316(23): 1429-1435 (1987); The SOLVD Investigators, *N. Engl. J. Med.*, 325(5): 293-302 (1991); Cohn et al., *N. Engl. J. Med.*, 325(5): 303-310 (1991); The Captopril-Digoxin Multicenter Research Group, *JAMA*, 259(4): 539-544 (1988)). 그러므로, ACE 억제제는 일관성 있게 60% 이상의 심부전 환자에서 증상을 완화시킬 수 없는 듯하고 약 15-20%까지만 심부전의 사망률을 감소시키는 듯하다. 추가적인 해로운 결과는 상기 Brown 및 Vaughan을 참조한다.

ACE 억제제에 대한 대안은 특정한 AT1 수용체 길항제에 의해 나타난다. 심혈관 질환 및 신장 질환의 치료에 있어서 이들 두 가지 방법의 효능을 비교하기 위해 임상 연구를 계획한다. 그러나, 동물 모델 데이터는 ACE/Ang II 경로가 심비대증에 분명히 관여하지만 이 역할에 작용하는 유일한 경로 또는 심지어 주요 경로도 아니라는 것을 제시한다. 마우스 유전 "닉아웃" 모델은 상기 경로의 개별 성분을 시험하기 위해 만들어졌다. Ang II에 대한 주요한 심장 수용체인 AT sub 1A가 유전적으로 결실된 상기 한 모델에서, 이들 마우스는 AngII가 실험적으로 주어지는 경우 비대증을 발전시키지 않는다 (Ang II에 의해 파생되는 비대증을 없애는 데 있어서 기초적인 성공 모델임을 확신시켜줌). 그러나, 대동맥이 이들 동물 (고혈압성 심장압축 모델)에서 수축되는 경우, 심장은 여전히 비대하게 된다. 이것은 이 수용체 (AT sub 1A)에 의존하지 않는 별도의 신호 경로가 고혈압에서 활성화된다는 것을 제시한다. ACE 억제제는 이들 경로를 억제할 수 없는 것으로 추측된다 (Harada et al., *Circulation*, 97: 1952-1959 (1998) 참조). 또한, 심비대증의 과정 및 기작과 관련된 수수께끼에 관해서는 문헌 (Homcy, *Circulation*, 97: 1890-1892 (1998))을 참조한다.

약 750,000명의 환자가 해마다 급성 심근경색증 (AMI)를 앓고, 대략 미국인의 모든 사망의 4분의 1이 AMI에 기인한 것이다. 최근에, 혈전용해제, 예를 들어 스트렙토키나제, 유로키나제 및 특히 플라스미노겐 활성화제 (t-PA)는 심근경색증을 앓는 환자의 생존을 상당히 증가시켰다. t-PA가 1.5시간 내지 4시간에 걸친 연속적인 정맥내 주입으로 투여된 경우, t-PA는 치료받은 환자의 69% 내지 90%에서 90분에 관을 개방시킨다 (Topol et al., *Am. J. Cardiol.*, 61, 723-728 (1988); Neuhaus et al., *J. Am. Coll. Cardiol.*, 12: 581-587 (1988); Neuhaus et al., *J. Am. Coll. Cardiol.*, 14: 1566-1569 (1989)). 가장 큰 개방은 고용량 또는 가속화된 투약 처방에서 보고된 바 있다 (Topol et al., *Am. J. Cardiol.*, 15: 922-924 (1990)). 또한, t-PA는 단회 볼루스로 투여될 수 있지만, 상대적으로 짧은 그의 반감기로 인해 주입 치료법이 보다 더

알맞다 (Tebbe et al., *Am. J. Cardiol.*, 64: 448-453 (1989)). t-PA, 구체적으로는 보다 긴 반감기와 보다 높은 피브리린 특이성을 갖도록 디자인된 TNK t-PA (T103N, N117Q, KHRR(296-299)AAAA t-PA 변이체, Keyt et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 91: 3670-3674 (1994))는 볼루스 투여에 특히 적당하다. 그러나, 이들 모든 진보에도 불구하고 환자 생존의 장기간 예후는 심비대의 관찰 및 치료를 포함하는, 환자의 경색 후 관찰 및 치료에 크게 달려 있다.

B. 성장 인자

보고된 바에 의하면 다양한 천연 발생 폴리펩티드는 내피세포의 증식을 유도한다. 이들 폴리펩티드 중에는 염기성 및 산성 섬유아세포 인자 (FGF) (Burgess and Maciag, *Annual Rev. Biochem.*, 58: 575 (1989)), 혈소판-유도 내피세포 성장 인자 (PD-ECGF) (Ishikawa et al., *Nature*, 338: 557 (1989)) 및 혈관 내피세포 성장 인자 (Leung et al., *Science*, 246: 1306 (1989); Ferrara and Henzel, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 161: 851 (1989); Tischer et al., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 165: 1198 (1989); EP 471, 754B (1996년 7월 31일 사정)가 있다.

인간 VEGF (hVEGF) cDNA로 형질감염된 세포를 포함하는 배지는 모세혈관 내피세포의 증식을 촉진한 반면, 대조군 세포는 촉진하지 못하였다 (Leung et al., *Science*, 246: 1306 (1989)). 여러 가지 추가 cDNA가 hVEGF의 121-, 189- 및 206-아미노산 동종체 (집합적으로 hVEGF-관련 단백질로도 불림)를 코딩하는 cDNA 라이브러리에서 확인되었다. 121-아미노산 단백질은 hVEGF에서 잔기 116과 159사이의 44개 아미노산의 결실에 의해 hVEGF와 상이하다. 189-아미노산 단백질은 hVEGF의 잔기 116에서 24개 아미노산이 삽입됨으로써 hVEGF와 상이하하며, 인간 혈관 투과성 인자 (hVPF)와 명백히 동일하다. 206-아미노산은 hVEGF의 잔기 116에서 41개 아미노산이 삽입됨으로써 hVEGF와 상이하다 (Houck et al., *Mol. Endocrin.*, 5: 1806 (1991); Ferrara et al., *J. Cell Biochem.*, 47: 211(1991); Ferrara et al., *Endocrine Reviews*, 13: 18(1992); Keck et al., *Science*, 146: 1309 (1989); Connolly et al., *J. Biol. Chem.*, 264: 20017 (1989); EP 370,989 (1990년 5월 30일 공개)).

선재하는 내피로부터 새로운 혈관의 형성을 수반하는 혈관신생은 다양한 질환의 발병기전에 관여하는 것으로 현재 잘 확립되어 있다. 이들은 고형 종양 및 전이, 죽상경화증, 수정체후부 섬유증, 혈관종, 만성 염증, 증식성 망막병증 예컨대, 당뇨병 망막병증과 같은 안내 신생혈관 증후군, 연령 관련 황반 퇴화증 (AMD), 신생혈관 녹내장, 이식된 각막 조직 및 기타 조직의 면역 거부, 류마티스성 관절염 및 건선을 포함한다 (Folkman et al., *J. Biol. Chem.*, 267: 10931-10934 (1992); Klagsbrun et al., *Annu. Rev. Physiol.*, 53: 217-239 (1991); and Garner A., "Vascular Diseases", In: *Pathobiology of Ocular Disease, A Dynamic Approach*, Garner A., Klintworth GK, eds., 제2판 (Marcel Dekker, NY, 1994), pp 1625-1710).

종양 성장의 경우, 혈관신생은 증식에서 종양으로 전이하는 데, 그리고 영양분을 성장하는 고형 종양에 공급하는 데 결정적인 것인 듯하다 (Folkman et al., *Nature*, 339: 58(1998)). 혈관신생은 정상 세포에 비해 종양 세포가 성장 잇점 및 증식 자율성을 획득하게 한다. 따라서, 종양 절편의 미세혈관 밀도와 유방암 뿐만 아니라 여러 가지 다른 암에 있어서의 환자 생존 사이에 관련성이 관찰된 바 있다 (Weidner et al., *N. Engl. J. Med.*, 324: 1-6 (1991); Horak et al., *Lancet*, 340: 1120-1124 (1992); Macciarini et al., *Lancet*, 340: 145-146 (1992)).

혈관신생의 양성 조절자의 검색 결과, aFGF, bFGF, TGF- α , TGF- β , HGF, TNF- α , 안지오팀닌, IL-8 등을 포함한 많은 후보가 확인되었다 (상기 Folkman et al., *J.B.C.*, 및 상기 Klagsbrun et al.). 지금까지 확인된 음성 조절자에는 트롬보스판딘 (Good et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 87: 6624-6628 (1990)), 프로락틴의 N-말단 단편 (16-킬로달톤) (Clapp et al., *Endocrinology*, 133: 1292-1299 (1993)), 안지오팀타틴 (O'Reily et al., *Cell*, 79: 315-328 (1994)) 및 엔도스타틴 (O'Reily et al., *Cell*, 88: 277-285 (1996))이 포함된다.

최근 몇 년간의 연구 결과, 혈관 내피세포 증식을 자극시키는 데 뿐만 아니라 혈관 투과성 및 혈관신생을 유도하는 데 있어서 VEGF의 핵심 역할이 확립되었다 (Ferrara et al., *Endocr. Rev.*, 18: 4-25 (1997)). 심지어 단일 VEGF 대립유전자의 손실이 배아에 치명적이라는 발견은 혈관계의 발달 및 분화에 있어서 이 인자가 하는 대체불가능한 역할을 암시한다. 게다가, VEGF는 종양 및 안내 질환과 관련된 혈관신생의 핵심 매개자로 보인다 (상기 Ferrara et al., *Endocr. Rev.*). VEGF의 mRNA는 조사한 인간 종양의 대다수에 의해 과발현된다 (Berkman et al., *J. Clin. Invest.*, 91: 153-159 (1993); Brown et al., *Human Pathol.*, 26: 86-91 (1995); Brown et al., *Cancer Res.*, 53: 4727-4735 (1993); Mattern et al., *Brit. J. Cancer*, 73: 931-934 (1996); Dvorak et al., *Am. J. Pathol.*, 146: 1029-1039 (1995)).

또한, 눈액의 VEGF의 농도 수준은 당뇨병 망막병증 및 기타 허혈-관련 망막병증을 앓는 환자 혈관의 활발한 증식의 존재와 밀접하게 관련되어 있다 (Aiello et al., N. Engl. J. Med., 331: 1480-1487 (1994)). 게다가, 최근 연구는 AMD에 걸린 환자의 맥락막의 신생혈관막에서 VEGF의 국소화를 입증하였다 (Lopez et al., Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 37: 855-868 (1996)).

항-VEGF 중성화 항체는 누드 마우스에서 다양한 인간 종양세포주의 성장을 억제하고 (Kim et al., Nature, 362: 841-844 (1993); Warren et al., J. Clin. Invest., 95: 1789-1797 (1995); Borgstrom et al., Cancer Res., 56: 4032-4039 (1996); Melnyk et al., Cancer Res., 56: 921-924 (1996)), 허혈성 망막 질환의 모델에서 안내 혈관신생을 억제하기도 한다 (Adamis et al., Arch. Ophthalmol., 114: 66-71 (1996)). 그러므로, 항-VEGF 모노클로날 항체 또는 VEGF 활성의 다른 억제제는 고형 종양 및 다양한 안내 혈관신생성 질환의 치료용 물질일 가능성이 있다. 이러한 항체는 예를 들어, 1998년 1월 14에 공개된 EP 817,648 및 1998년 4월 3일에 출원된 PCT/US 98/06724에 기재되어 있다.

일부 세포에 의해 발현되는 복합적인 유전자 세트를 신속히 유도할 수 있는, 형질전이 종양유전자를 비롯한 여러 가지 다른 성장 인자 및 미토겐 (mitogen)이 존재한다 (Lau and Nathans, Molecular Aspects of Cellular Regulation, 6: 152-202 (1991)). 즉시 조기-반응 유전자 또는 조기-반응 유전자라고 불리는 이들 유전자는 새로운 단백질 합성과는 별개로 성장 인자 및 미토겐과 접촉한 후 수분 내에 전사 활성화된다. 이들 즉시 조기-반응 유전자 군은 분화 및 증식, 재생, 및 창상 치유와 같은 복합적인 생물학적 과정의 조절에 필요한 세포외 분비 단백질을 코딩한다 (Ryseck et al., Cell Growth Differ., 2: 235-233 (1991)).

이 군에 속하는 매우 관련된 단백질에는 *cef10* (Simmons et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 86: 1178-1182 (1989)), 혈청 또는 혈소판-유도 성장 인자 (PDGF)에 의해 신속히 활성화되는 *cyt61* (O'Brien et al., Mol. Cell Biol., 10: 3569-3577 (1990)), 형질전이 성장 인자 베타 (TGF-β)에 의해 활성화된 후 인간 혈관 내피세포에 의해 고농도로 분비되어 PDGF-유사 생물학적 및 면역학적 활성을 나타내고 특정한 세포 표면 수용체에 대해 PDGF와 경쟁하는 인간 결합 조직 성장 인자 (CTGF) (Bradham et al., J. Cell. Biol., 114: 1285-1294 (1991)), *fisp-12* (Ryseck et al., Cell Growth Differ., 2: 235-233 (1991)), 인간 혈관 IBP-유사 성장 인자 (VIGF) (WO 96/17931), 및 골수아세포증-관련-바이러스-타입-1-유도 신모세포종에서 과발현되는 것으로 확인된, 성숙 신장 세포에서 정상적으로 억류되는 *nov*가 포함된다 (Jolot et al., Mol. Cell Biol., 12: 10-21 (1992)).

이들 즉시 조기 유전자의 발현은 성장 인자에 의해 일어나는 사건의 케이스케이드에서 '제3 메신저'로 작용한다. 또한, 상기 유전자는 세포 증식이 공통 사건인 분화 및 창상 치유와 같은 복합적인 생물학적 과정을 통합하고 조정하는 데 필요한 것으로 생각된다.

추가적인 미토겐으로서 인슐린-유사 성장 인자 결합 단백질 (IGFBP)은 인슐린-유사 성장 인자 (IGF)와의 결합체로 섬유아세포 및 평활근 세포 표면 수용체와 IGF의 결합 증가를 자극시키는 것으로 확인되었다 (Clmmons et al., J. Clin. Invest., 77: 1548 (1986)). 시험관내에서 다양한 IGF 작용에 대한 IGFBP의 억제 효과는 지방세포에 의한 글루코스 수송의 자극, 연골세포에 의한 술페이트 혼입, 및 섬유아세포의 티미드 혼입을 포함한다 (Zapf et al., J. Clin. Invest., 63: 1077 (1979)). 또한, 정상 세포에서 성장 인자-매개 미토겐 활성화에 대한 IGFBP의 억제 효과가 나타났다.

C. 추가 치료에 대한 필요성

많은 질환 및 장애에서 혈관 내피세포 성장 및 혈관신생의 역할 면에서, 이들 과정을 야기하는 한 가지 이상의 생물학적 효과를 감소 또는 억제시키는 방법이 있는 것이 바람직하다. 또한, 정상 및 질환 상태, 및 특히 암에서 병원성 폴리펩티드의 존재를 검정하는 방법이 있는 것이 바람직하다. 추가로, 특정한 측면에서, 심장 비대증의 치료를 위한 일반적으로 허용 가능한 치료법이 없기 때문에, 심근세포 비대증을 예방 또는 감소시킬 수 있는 인자의 확인은 병리생리학적 심장 성장을 억제하는 신규 치료법의 개발에 1차적으로 중요하다. 다양한 심혈관 질환 및 종양 질환을 위한 여러 가지 치료법이 있지만 추가적인 치료법이 필요하다.

<발명의 요약>

A. 실시양태

따라서, 본 발명은 포유동물의 혈관신생 및(또는) 심혈관형성을 촉진 또는 억제하는 조성물 및 방법에 관한 것이다. 본 발명은 일부 생물학적 활성의 촉진 및 억제를 시험하는 다양한 심혈관 검정에서 양성으로 시험된 단백질의 확인을 기초로 한

다. 따라서, 본 단백질은 혈관신생의 촉진 또는 억제, 혈관 내피세포 성장의 억제 또는 자극, 혈관 내피세포의 성장 또는 증식의 자극, 종양 성장의 억제, 혈관신생-의존성 조직 성장의 억제, 혈관신생-의존성 조직 성장의 자극, 심장 비대증의 억제 및 심장 비대증의 자극과 같은 효과가 필요한 질환의 치료 (예방을 포함함) 및 진단, 예를 들어 울혈성 심부전의 치료에 유용한 약물인 것으로 생각된다.

한 실시양태에서, 본 발명은 제약학적으로 허용가능한 담체와의 혼합물로 PRO 폴리펩티드를 포함하는 조성물을 제공한다. 한 측면에서, 상기 조성물은 치료 유효량의 상기 폴리펩티드를 포함한다. 또다른 측면에서, 상기 조성물은 추가 활성 성분, 즉 심혈관계 약제, 내피세포계 약제 또는 혈관형성제 또는 혈관신생 억제제, 바람직하게는 혈관형성제 또는 혈관신생 억제제를 포함한다. 바람직하게는, 상기 조성물은 멸균 상태이다. 상기 PRO 폴리펩티드는 저장 안정성을 연장시키기 위해 보존가능한 액상 제약 제제의 형태로 투여될 수 있다. 보존된 액상 제약 제제는 PRO 폴리펩티드의 다회 용량을 함유할 수 있으므로 반복 사용하기에 적당할 것이다.

추가 실시양태에서, 본 발명은 제약학적으로 허용가능한 담체와 치료 유효량의 PRO 폴리펩티드를 혼합하는 것을 포함하는, 심혈관 질환, 내피세포 질환 또는 혈관신생 질환의 치료에 유용한 상기 조성물을 제조하는 방법을 제공한다.

또다른 실시양태에서, 본 발명은 제약학적으로 허용가능한 담체와의 혼합물로 PRO 폴리펩티드의 아고니스트 또는 길항제를 포함하는 조성물을 제공한다. 한 측면에서, 상기 조성물은 치료 유효량의 아고니스트 또는 길항제를 포함한다. 또다른 측면에서, 상기 조성물은 추가 활성 성분, 즉 심혈관계 약제, 내피세포계 약제 또는 혈관형성제, 또는 혈관신생 억제제, 바람직하게는 혈관형성제 또는 혈관신생 억제제를 포함한다. 바람직하게는, 상기 조성물은 멸균 상태이다. 상기 PRO 폴리펩티드 아고니스트 또는 길항제는 저장 안정성을 연장시키기 위해 보존가능한 액상 제약 제제의 형태로 투여될 수 있다. 보존된 액상 제약 제제는 PRO 폴리펩티드 아고니스트 또는 길항제의 다회 용량을 함유할 수 있으므로 반복 사용하기에 적당할 것이다.

추가 실시양태에서, 본 발명은 제약학적으로 허용가능한 담체와 치료 유효량의 PRO 폴리펩티드 아고니스트 또는 길항제를 혼합하는 것을 포함하는, 심혈관 질환, 내피세포 질환 또는 혈관신생 질환의 치료에 유용한 상기 조성물을 제조하는 방법을 제공한다.

또다른 실시양태에서, 본 발명은 제약학적으로 허용가능한 담체와의 혼합물로 항-PRO 항체를 포함하는 조성물에 관한 것이다. 한 측면에서, 상기 조성물은 치료 유효량의 상기 항체를 포함한다. 또다른 측면에서, 상기 조성물은 추가 활성 성분, 즉 심혈관계 약제, 내피세포계 약제 또는 혈관형성제, 또는 혈관신생 억제제, 바람직하게는 혈관형성제 또는 혈관신생 억제제를 포함한다. 바람직하게는, 상기 조성물은 멸균 상태이다. 상기 조성물은 저장 안정성을 연장시키기 위해 보존가능한 액상 제약 제제의 형태로 투여될 수 있다. 보존된 액상 제약 제제는 항-PRO 항체의 다회 용량을 함유할 수 있으므로 반복 사용하기에 적당할 것이다. 바람직한 실시양태에서, 상기 항체는 모노클로날 항체, 항체 단편, 인간화된 항체 또는 단일쇄 항체이다.

추가 실시양태에서, 본 발명은 제약학적으로 허용가능한 담체와 치료 유효량의 항-PRO 항체를 혼합하는 것을 포함하는, 심혈관 질환, 내피세포 질환 또는 혈관신생 질환의 치료에 유용한 상기 조성물을 제조하는 방법을 제공한다.

추가 측면에서, 본 발명은

(a) PRO 폴리펩티드 또는 그의 아고니스트 또는 길항제를 포함하는 물질 조성물;

(b) 상기 조성물을 함유하는 용기; 및

(c) 심혈관 질환, 내피세포 질환 또는 혈관신생 질환의 치료에 있어서 상기 PRO 폴리펩티드, 또는 상기 PRO 폴리펩티드에 결합하는 항체일 수 있는 그의 아고니스트 또는 길항제의 용도를 언급하는, 상기 용기에 부착된 표지 또는 상기 용기에 포함된 포장 삽입물

을 포함하는 제품을 제공한다. 상기 조성물은 치료 유효량의 상기 PRO 폴리펩티드 또는 그의 아고니스트 또는 길항제를 포함할 수 있다.

또다른 실시양태에서, 본 발명은

(a) PRO 폴리펩티드에 의해 정상적으로 유도된 세포 반응을 유도하기에 적합한 조건 하에서 세포와 스크리닝할 시험 화합물을 접촉시키는 단계; 및

(b) 상기 시험 화합물이 효과적인 아고니스트인지를 결정하기 위해 상기 세포 반응의 유도를 확인하는 단계 (여기서, 상기 세포 반응의 유도는 상기 시험 화합물이 효과적인 아고니스트라는 표시임)

를 포함하는, PRO 폴리펩티드의 아고니스트를 확인하는 방법을 제공한다.

또다른 실시양태에서, 본 발명은

(a) PRO 폴리펩티드에 의한 세포 증식의 자극에 적당한 조건 하에서 세포와 스크리닝할 시험 화합물을 접촉시키는 단계; 및

(b) 상기 시험 화합물이 효과적인 길항제인지를 결정하기 위해 상기 세포의 증식을 측정하는 단계 (여기서, 세포 증식의 자극은 상기 시험 화합물이 효과적인 길항제라는 표시임)

를 포함하는, PRO 폴리펩티드의 길항제를 확인하는 방법을 제공한다.

또다른 실시양태에서, 본 발명은 시험 화합물과 폴리펩티드가 상호작용하기에 충분한 조건 하에서, 충분한 시간동안 시험 화합물을 PRO 폴리펩티드와 접촉시키는 단계, 및 상기 PRO 폴리펩티드의 활성이 억제되기를 확인하는 단계를 포함하는, PRO 폴리펩티드의 활성을 억제하는 화합물을 확인하는 방법을 제공한다. 바람직한 특정 측면에서, 상기 시험 화합물 또는 PRO 폴리펩티드는 고형 지지체 상에 부착되어 있다. 또다른 바람직한 측면에서, 부착되지 않은 성분은 탐지가능한 표지를 수반한다. 바람직한 측면에서, 본 방법은

(a) PRO 폴리펩티드에 의해 정상적으로 유도된 세포 반응을 유도하기에 적합한 조건 하에, PRO 폴리펩티드의 존재 하에서 세포와 스크리닝할 시험 화합물을 접촉시키는 단계; 및

(b) 상기 시험 화합물이 효과적인 아고니스트인지를 결정하기 위해 상기 세포 반응의 유도를 확인하는 단계

를 포함한다.

또다른 바람직한 측면에서, 본 방법은

a) PRO 폴리펩티드에 의한 세포 증식의 자극에 적당한 조건 하에, PRO 폴리펩티드의 존재 하에서 세포와 스크리닝할 시험 화합물을 접촉시키는 단계; 및

(b) 상기 시험 화합물이 효과적인 길항제인지를 결정하기 위해 상기 세포의 증식을 측정하는 단계

를 포함한다.

또다른 실시양태에서, 본 발명은 정상적으로 상기 폴리펩티드를 발현하는 세포에서 PRO 폴리펩티드의 발현을 억제하는 화합물을 확인하는 방법을 제공하는 것으로, 여기서 상기 방법은 시험 화합물과 세포를 접촉시키고, 상기 PRO 폴리펩티드의 발현이 억제되는지를 확인하는 것을 포함한다. 바람직한 측면에서, 이 방법은

(a) 상기 PRO 폴리펩티드의 발현을 허용하기에 적합한 조건 하에서 세포와 스크리닝할 시험 화합물을 접촉시키는 단계; 및

(b) 상기 폴리펩티드의 발현 억제를 확인하는 단계

를 포함한다.

추가 실시양태에서, 본 발명은 상기 방법에 의해 확인된 화합물과 같은, PRO 폴리펩티드의 발현을 억제하는 화합물을 제공한다.

본 발명의 또다른 측면은 임의로 상기 기재한 방법에 의해 확인될 수 있는 PRO 폴리펩티드의 아고니스트 또는 길항제에 관한 것이다.

상기 PRO 폴리펩티드의 한 가지 이상의 기능 또는 활성을 억제하는 PRO 폴리펩티드의 한 가지 유형의 길항제는 항체이다. 따라서, 또다른 측면에서, 본 발명은 PRO 폴리펩티드에 결합하는 단리된 항체를 제공한다. 바람직한 측면에서, 상기 항체는 바람직하게는 비인간 상보성-결정-영역 (CDR) 잔기 및 인간 골격-영역 (FR) 잔기를 갖는 모노클로날 항체이다. 상기 항체는 표지할 수 있고 고상 지지체 상에 부착시킬 수 있다. 추가 측면에서, 상기 항체는 항체 단편, 단일쇄 항체 또는 인간화된 항체이다. 바람직하게는, 상기 항체는 상기 폴리펩티드에 특이적으로 결합한다.

추가 측면에서, 본 발명은 PRO 폴리펩티드 핵산 서열에서 상기 돌연변이의 존재 또는 부재를 확인하는 것을 포함하는, PRO 폴리펩티드-코딩 핵산 서열에 있는 돌연변이와 관련된 질병 또는 이 질병에 대한 민감성을 진단하는 방법을 제공하는 것으로, 여기서 상기 돌연변이의 존재 또는 부재는 상기 질병의 존재 또는 상기 질병에 대한 민감성의 표시이다.

추가 측면에서, (a) 포유동물로부터 얻은 조직 세포의 시험 샘플 및 (b) 동일한 세포형의 공지된 정상 조직 세포의 대조군 샘플에서 PRO 폴리펩티드를 코딩하는 유전자의 발현도를 분석하는 것을 포함하는, 상기 포유동물의 심혈관 질환, 내피세포 질환 또는 혈관신생 질환을 진단하는 방법을 제공하는 것으로, 여기서 대조군 샘플과 비교할 때 시험 샘플의 보다 높은, 또는 보다 낮은 발현도는 상기 포유동물에서 심혈관 질환, 내피세포 질환 또는 혈관신생 질환의 존재를 표시한다. PRO 폴리펩티드를 코딩하는 유전자의 발현은 대조군 샘플과 비교할 때 시험 샘플에서 mRNA 또는 상기 폴리펩티드의 농도를 측정함으로써 임의로 달성될 수 있다.

추가 측면에서, 본 발명은 포유동물로부터 얻은 조직 세포의 시험 샘플에서 PRO 폴리펩티드의 존재 또는 부재를 검출하는 것을 포함하는, 상기 포유동물의 심혈관 질환, 내피세포 질환 또는 혈관신생 질환을 진단하는 방법을 제공하는 것으로, 여기서 상기 시험 샘플에서 상기 PRO 폴리펩티드의 존재 또는 부재는 상기 포유동물의 심혈관 질환, 내피세포 질환 또는 혈관신생 질환의 존재를 표시한다.

추가 실시양태에서, 본 발명은 (a) 항-PRO 항체를 포유동물로부터 얻은 조직 세포의 시험 샘플과 접촉시키는 단계, 및 (b) 시험 샘플에서 상기 항체와 상기 PRO 폴리펩티드 사이의 결합체 형성을 검출하는 단계를 포함하는, 포유동물의 심혈관 질환, 내피세포 질환 또는 혈관신생 질환을 진단하는 방법을 제공하는 것으로, 상기 결합체의 형성은 포유동물의 심혈관 질환, 내피세포 질환 또는 혈관신생 질환의 존재를 표시한다. 상기 검출은 정성적 또는 정량적일 수 있고, 동일한 세포형의 공지된 정상 조직 세포의 대조군 샘플의 결합체 형성을 관찰하면서 비교하여 수행한다. 상기 시험 샘플에서 형성된 많은 또는 적은 양의 결합체는 시험 조직 세포를 얻은 포유동물에서 심혈관 질환, 내피세포 질환 또는 혈관신생 질환의 존재를 표시한다. 바람직하게는, 상기 항체는 탐지가능한 표지를 수반한다. 결합체 형성은 예를 들어, 당분야에 공지된 광학 현미경, 유량 세포측정기 (flow cytometry), 플루오리메트리 (fluorimetry) 또는 다른 기술로 관찰할 수 있다. 상기 시험 샘플은 대개 심혈관 질환, 내피세포 질환 또는 혈관신생 질환에 걸린 것으로 의심되는 개체로부터 수득한다.

또다른 실시양태에서, 본 발명은 상기 PRO 폴리펩티드를 포함하는 것으로 의심되는 샘플을 항-PRO 항체에 노출시키고 상기 항체가 상기 샘플의 성분에 결합하는 것을 확인하는 단계를 포함하는, 샘플에서 PRO 폴리펩티드의 존재를 확인하는 방법을 제공한다. 특정 측면에서, 상기 샘플은 PRO 폴리펩티드를 함유하는 것으로 의심되는 세포를 포함하고, 상기 항체는 상기 세포에 결합한다. 바람직하게는, 상기 항체는 탐지가능하게 표지되어 있고(있거나) 고형 지지체에 결합되어 있다.

추가 측면에서, 본 발명은 적당한 포장안에 항-PRO 항체 및 담체를 포함하는, 심혈관 질환, 내피세포 질환 또는 혈관신생 질환용 진단 키트를 제공한다. 바람직하게는, 이러한 키트는 PRO 폴리펩티드의 존재를 검출하기 위해 상기 항체를 사용하기 위한 지시물을 추가로 포함한다. 바람직하게는, 상기 담체는 예를 들어, 완충용액이다. 바람직하게는, 심혈관 질환, 내피세포 질환 또는 혈관신생 질환은 암이다.

또다른 실시양태에서, 본 발명은 유효량의 PRO 폴리펩티드를 포유동물에게 투여하는 것을 포함하는, 포유동물의 심혈관 질환, 내피세포 질환 또는 혈관신생 질환을 치료하는 방법을 제공한다. 바람직하게는, 상기 질환은 심비대증, 창상 또는 화상과 같은 외상, 또는 암 유형이다. 추가 측면에서, 상기 포유동물은 혈관성형술, 또는 ACE 억제제 또는 화학요법제 (상기 심혈관 질환, 내피세포 질환 또는 혈관신생 질환이 암 유형인 경우)와 같은 심혈관 질환, 내피세포 질환 또는 혈관신생 질환을 치료하는 약물에 노출된다. 바람직하게는, 상기 포유동물은 인간, 바람직하게는 심비대증으로 발전할 위험이 있는 인간, 보다 바람직하게는 심근경색증을 앓는 인간이다.

또다른 바람직한 측면에서, 심비대증은 고농도 $PGF_{2\alpha}$ 의 존재에 의해 특징지어진다. 별법으로, 심비대증은 심근경색증에 의해 유도될 수 있는데, 여기서 바람직하게는 상기 PRO 폴리펩티드의 투여는 심근경색 후 48시간 내, 보다 바람직하게는 24시간 내에 개시된다.

또다른 바람직한 실시양태에서, 심혈관 질환, 내피세포 질환 또는 혈관신생 질환은 심비대증이고, 상기 PRO 폴리펩티드는 심혈관계 억제제, 내피세포계 억제제 또는 혈관형성제과 함께 투여한다. 이러한 목적을 위한 바람직한 심혈관계 억제제, 내피세포계 억제제 또는 혈관형성제는 항고혈압 약물, ACE 억제제, 엔도텔린 수용체 길항제 및 혈전용해제로 구성된 군에서 선택된다. 혈전용해제를 투여하면, 바람직하게는 PRO 폴리펩티드는 상기 투여 후 투여한다. 보다 바람직하게는, 혈전용해제는 재조합 인간 조직 플라스미노겐 활성화제이다.

또다른 바람직한 측면에서, 심혈관 질환, 내피세포 질환 또는 혈관신생 질환은 심비대증이고 급성 심근경색증의 치료를 위해 1차 혈관성형술 후 PRO 폴리펩티드를 투여하는데, 여기서 바람직하게는 상기 포유동물은 혈관성형술, 또는 심혈관계 억제제, 내피세포계 억제제 또는 혈관형성제에 추가로 노출한다.

또다른 바람직한 실시양태에서, 심혈관 질환, 내피세포 질환 또는 혈관신생 질환은 암이고, 상기 PRO 폴리펩티드는 화학요법제, 성장 억제제 또는 세포독성제와 함께 투여한다.

추가 실시양태에서, 본 발명은 유효량의 PRO 폴리펩티드 아고니스트를 포유동물에게 투여하는 것을 포함하는, 포유동물의 심혈관 질환, 내피세포 질환 또는 혈관신생 질환을 치료하는 방법에 관한 것이다. 바람직하게는, 심혈관 질환, 내피세포 질환 또는 혈관신생 질환은 심비대증, 외상, 암 또는 연령-관련 황반퇴화증이다. 또한, 포유동물은 인간이고 유효량의 혈관형성제 또는 혈관신생 억제제를 아고니스트와 함께 투여하는 것이 바람직하다.

추가 실시양태에서, 본 발명은 유효량의 PRO 폴리펩티드 길항제를 포유동물에게 투여하는 것을 포함하는, 포유동물의 심혈관 질환, 내피세포 질환 또는 혈관신생 질환을 치료하는 방법에 관한 것이다. 바람직하게는, 심혈관 질환, 내피세포 질환 또는 혈관신생 질환은 심비대증, 외상, 암 또는 연령-관련 황반퇴화증이다. 또한, 포유동물은 인간이고 유효량의 혈관형성제 또는 혈관신생 억제제를 길항제와 함께 투여하는 것이 바람직하다.

추가 실시양태에서, 본 발명은 유효량의 항-PRO 항체를 포유동물에게 투여하는 것을 포함하는, 포유동물의 심혈관 질환, 내피세포 질환 또는 혈관신생 질환을 치료하는 방법에 관한 것이다. 바람직하게는, 심혈관 질환, 내피세포 질환 또는 혈관신생 질환은 심비대증, 외상, 암 또는 연령-관련 황반퇴화증이다. 또한, 포유동물은 인간이고 유효량의 혈관형성제 또는 혈관신생 억제제를 상기 항체와 함께 투여하는 것이 바람직하다.

추가 실시양태에서, 본 발명은 (a) PRO 폴리펩티드, (b) PRO 폴리펩티드의 아고니스트 또는 (c) PRO 폴리펩티드의 길항제를 코딩하는 핵산 분자를 포유동물에게 투여하는 것을 포함하는, 심혈관 질환, 내피세포 질환 또는 혈관신생 질환을 앓는 포유동물을 치료하는 방법에 관한 것으로, 여기서 상기 아고니스트 또는 길항제는 항-PRO 항체이다. 바람직한 실시양태에서, 포유동물은 인간이다. 또다른 바람직한 실시양태에서, 상기 유전자는 생체의 유전자 치료법을 통해 투여한다. 바람직한 추가 실시양태에서, 상기 유전자는 벡터 내, 보다 바람직하게는 아데노바이러스 벡터, 아데노-관련 바이러스 벡터, 렌티바이러스 벡터 또는 레트로바이러스 벡터 내에 포함되어 있다.

또다른 측면에서, 본 발명은 본질적으로 프로모터, (a) PRO 폴리펩티드, (b) PRO 폴리펩티드의 아고니스트 폴리펩티드 또는 (c) PRO 폴리펩티드의 길항제를 코딩하는 핵산, 및 상기 폴리펩티드의 세포 분비용 신호 서열로 이루어진 레트로바이러스 벡터를 포함하는 재조합 레트로바이러스 입자를 제공하는 것으로, 여기서 상기 레트로바이러스 벡터는 레트로바이러스 구조 단백질과 결합되어 있다. 바람직하게는, 상기 신호 서열은 천연 PRO 폴리펩티드와 같은 포유동물로부터 유래한 것이다.

추가 실시양태에서, 본 발명은 레트로바이러스 구조 단백질을 발현하고, 본질적으로 프로모터, (a) PRO 폴리펩티드, (b) PRO 폴리펩티드의 아고니스트 폴리펩티드 또는 (c) PRO 폴리펩티드의 길항제를 코딩하는 핵산, 및 상기 폴리펩티드의 세포 분비용 신호 서열로 이루어진 레트로바이러스 벡터도 포함하는 핵산 구조물을 포함하는 생체의 생산 세포를 제공하는 것으로, 여기서 상기 생산 세포는 재조합 레트로바이러스 입자를 생산하기 위해 상기 구조 단백질과 결합되어 있는 레트로바이러스 벡터를 패키징한다.

또다른 실시양태에서, 본 발명은 (a) PRO 폴리펩티드, (b) PRO 폴리펩티드의 아고니스트 폴리펩티드 또는 (c) PRO 폴리펩티드의 길항제를 포유동물에게 투여하는 것을 포함하는, 포유동물의 내피세포 성장을 억제하는 방법을 제공하는 것으로, 여기서 상기 포유동물의 내피세포 성장은 억제되고 상기 아고니스트 또는 길항제는 항-PRO 항체일 수 있다. 바람직하게는, 상기 포유동물은 인간이고 상기 내피세포 성장은 종양 또는 망막질환과 관련되어 있다.

또다른 실시양태에서, 본 발명은 (a) PRO 폴리펩티드, (b) PRO 폴리펩티드의 아고니스트 폴리펩티드 또는 (c) PRO 폴리펩티드의 길항제를 포유동물에게 투여하는 것을 포함하는, 포유동물의 내피세포 성장을 자극하는 방법을 제공하는 것으로, 여기서 상기 포유동물의 내피세포 성장은 자극되고 상기 아고니스트 또는 길항제는 항-PRO 항체일 수 있다. 바람직하게는, 상기 포유동물은 인간이다.

또다른 실시양태에서, 본 발명은 (a) PRO 폴리펩티드, (b) PRO 폴리펩티드의 아고니스트 폴리펩티드 또는 (c) PRO 폴리펩티드의 길항제를 포유동물에게 투여하는 것을 포함하는, 포유동물의 심비대증을 억제하는 방법을 제공하는 것으로, 여기서 상기 포유동물의 심비대증은 억제되고 상기 아고니스트 또는 길항제는 항-PRO 항체일 수 있다. 바람직하게는, 상기 포유동물은 인간이고 상기 심비대증은 심근경색증에 의해 유도된다.

또다른 실시양태에서, 본 발명은 (a) PRO 폴리펩티드, (b) PRO 폴리펩티드의 아고니스트 폴리펩티드 또는 (c) PRO 폴리펩티드의 길항제를 포유동물에게 투여하는 것을 포함하는, 포유동물의 심비대증을 자극하는 방법을 제공하는 것으로, 여기서 상기 포유동물의 심비대증은 자극되고 상기 아고니스트 또는 길항제는 항-PRO 항체일 수 있다. 바람직하게는, 상기 포유동물은 울혈성 심부전을 앓는 인간이다.

또다른 실시양태에서, 본 발명은 치료 유효량의 항-PRO 항체를 포유동물에게 투여하는 것을 포함하는, 포유동물에서 PRO 폴리펩티드에 의해 유도된 혈관신생을 억제하는 방법을 제공한다. 바람직하게는, 상기 포유동물은 인간이고, 보다 바람직하게는 상기 포유동물은 종양 또는 망막질환을 앓는다.

또다른 실시양태에서, 본 발명은 치료 유효량의 PRO 폴리펩티드를 포유동물에게 투여하는 것을 포함하는, 포유동물에서 PRO 폴리펩티드에 의해 유도된 혈관신생을 자극하는 방법을 제공한다. 바람직하게는, 상기 포유동물은 인간이고, 보다 바람직하게는 혈관신생은 조직 재생 또는 창상 치유를 촉진할 것이다.

B. 추가 실시양태

본 발명의 다른 실시양태에서, 본 발명은 PRO 폴리펩티드를 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 단리된 핵산 분자를 제공한다.

한 측면에서, 상기 단리된 핵산 분자는 (a) 본원에 개시된 전장 아미노산 서열, 신호 펩티드가 없는 본원에 개시된 아미노산 서열, 신호 펩티드가 있거나 없는 본원에 개시된 막횡단 단백질의 세포의 도메인 또는 본원에 개시된 전장 아미노산 서열의 구체적으로 정의된 임의의 다른 단편을 갖는 PRO 폴리펩티드를 코딩하는 DNA 분자, 또는 (b) 상기 (a) DNA 분자의 상보체와 약 80% 이상의 서열 동일성, 바람직하게는 약 81% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 82% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 83% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 84% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 85% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 86% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 87% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 88% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 89% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 90% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 91% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 92% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 93% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 94% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 95% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 96% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 97% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 98% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 99% 이상의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

다른 측면에서, 상기 단리된 핵산 분자는 (a) 본원에 개시된 전장 PRO 폴리펩티드 cDNA의 코딩 서열, 신호 펩티드가 없는 본원에 개시된 PRO 폴리펩티드의 코딩 서열, 신호 펩티드가 있거나 없는 본원에 개시된 막횡단 PRO 폴리펩티드의 세포의 도메인의 코딩 서열 또는 본원에 개시된 전장 아미노산 서열의 구체적으로 정의된 임의의 다른 코딩 서열을 포함하는 DNA 분자, 또는 (b) 상기 (a) DNA 분자의 상보체와 약 80% 이상의 서열 동일성, 바람직하게는 약 81% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 82% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 83% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 84% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 85% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 86% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 87% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 88% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는

약 89% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 90% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 91% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 92% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 93% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 94% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 95% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 96% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 97% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 98% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 99% 이상의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

추가 측면에서, 본 발명은 (a) 본원에 개시된 ATCC에 기탁된 임의의 인간 단백질 cDNA에 의해 코딩되는 것과 동일한 성숙 폴리펩티드를 코딩하는 DNA 분자 또는 (b) 상기 (a) DNA 분자의 상보체와 약 80% 이상의 서열 동일성, 바람직하게는 약 81% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 82% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 83% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 84% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 85% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 86% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 87% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 88% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 89% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 90% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 91% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 92% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 93% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 94% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 95% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 96% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 97% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 98% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 99% 이상의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 단리된 핵산 분자에 관한 것이다.

또다른 측면에서, 본 발명은 막횡단 도메인이 결실되거나 막횡단 도메인이 불활성화된 PRO 폴리펩티드를 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하거나, 이러한 코딩 뉴클레오티드 서열에 상보적인 단리된 핵산 분자를 제공하는 것으로, 여기서 이러한 폴리펩티드의 막횡단 도메인(들)은 본원에 개시되어 있다. 그러므로, 본원에 기재된 PRO 폴리펩티드의 가용성 세포의 도메인도 포함된다.

또다른 실시양태는 임의로 항-PRO 항체에 대한 결합 부위를 포함하는 폴리펩티드를 코딩하는 PRO 폴리펩티드의 단편을 코딩하는 PRO 폴리펩티드 코딩 서열의 단편 또는 그의 상보체에 관한 것으로, 상기 단편 또는 그의 상보체는 혼성화 프로브 또는 안티센스 올리고뉴클레오티드 프로브로서 그 용도를 찾을 수 있다. 이러한 핵산 단편의 길이는 일반적으로 약 20개 이상의 뉴클레오티드, 바람직하게는 약 30개 이상의 뉴클레오티드, 보다 바람직하게는 약 40개 이상의 뉴클레오티드, 보다 바람직하게는 약 50개 이상의 뉴클레오티드, 보다 바람직하게는 약 60개 이상의 뉴클레오티드, 보다 바람직하게는 약 70개 이상의 뉴클레오티드, 보다 바람직하게는 약 80개 이상의 뉴클레오티드, 보다 바람직하게는 약 90개 이상의 뉴클레오티드, 보다 바람직하게는 약 100개 이상의 뉴클레오티드, 보다 바람직하게는 약 110개 이상의 뉴클레오티드, 보다 바람직하게는 약 120개 이상의 뉴클레오티드, 보다 바람직하게는 약 130개 이상의 뉴클레오티드, 보다 바람직하게는 약 140개 이상의 뉴클레오티드, 보다 바람직하게는 약 150개 이상의 뉴클레오티드, 보다 바람직하게는 약 160개 이상의 뉴클레오티드, 보다 바람직하게는 약 170개 이상의 뉴클레오티드, 보다 바람직하게는 약 180개 이상의 뉴클레오티드, 보다 바람직하게는 약 190개 이상의 뉴클레오티드, 보다 바람직하게는 약 200개 이상의 뉴클레오티드, 보다 바람직하게는 약 250개 이상의 뉴클레오티드, 보다 바람직하게는 약 300개 이상의 뉴클레오티드, 보다 바람직하게는 약 350개 이상의 뉴클레오티드, 보다 바람직하게는 약 400개 이상의 뉴클레오티드, 보다 바람직하게는 약 450개 이상의 뉴클레오티드, 보다 바람직하게는 약 500개 이상의 뉴클레오티드, 보다 바람직하게는 약 600개 이상의 뉴클레오티드, 보다 바람직하게는 약 700개 이상의 뉴클레오티드, 보다 바람직하게는 약 800개 이상의 뉴클레오티드, 보다 바람직하게는 약 900개 이상의 뉴클레오티드, 보다 바람직하게는 약 1000개 이상의 뉴클레오티드이고, 이 내용에서 용어 "약"은 상기 언급한 길이의 플러스 또는 마이너스 10%의 뉴클레오티드 서열 길이를 의미한다. 다수의 잘 공지된 임의의 서열 정렬 프로그램을 이용하여 다른 공지된 뉴클레오티드 서열과 PRO 폴리펩티드-코딩 뉴클레오티드 서열을 정렬하고 어떤 PRO 폴리펩티드-코딩 뉴클레오티드 서열 단편(들)이 신규한지를 결정하는 통상적인 방식으로 PRO 폴리펩티드-코딩 뉴클레오티드 서열의 신규 단편을 결정할 수 있다는 것을 알아야 한다. 본원에서는 이러한 PRO 폴리펩티드-코딩 뉴클레오티드 서열 모두를 고려한다. 또한, 이들 뉴클레오티드 분자 단편에 의해 코딩되는 PRO 폴리펩티드 단편, 바람직하게는 항-PRO 항체에 대한 결합 부위를 포함하는 PRO 폴리펩티드 단편도 고려한다.

또다른 실시양태에서, 본 발명은 상기에서 확인한 임의의 단리된 핵산 서열에 의해 코딩되는 단리된 PRO 폴리펩티드를 제공한다.

일부 측면에서, 본 발명은 본원에 개시된 전장 아미노산 서열, 신호 펩티드가 없는 본원에 개시된 아미노산 서열, 신호 펩티드가 없는 본원에 개시된 막횡단 단백질의 세포외 도메인 또는 본원에 개시된 전장 아미노산 서열의 구체적으로 정의된 임의의 단편을 갖는 PRO 폴리펩티드와 약 80% 이상의 서열 동일성, 바람직하게는 약 81% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 82% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 83% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 84% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 85% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 86% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 87% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 88% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 89% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 90% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 91% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 92% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 93% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 94% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 95% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 96% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 97% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 98% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 99% 이상의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

직하게는 약 87% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 88% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 89% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 90% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 91% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 92% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 93% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 94% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 95% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 96% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 97% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 98% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 99% 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 단리된 PRO 폴리펩티드에 관한 것이다.

추가 측면에서, 본 발명은 본원에 개시된 ATCC에 기탁된 임의의 인간 단백질 cDNA에 의해 코딩되는 아미노산 서열과 약 80% 이상의 서열 동일성, 바람직하게는 약 81% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 82% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 83% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 84% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 85% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 86% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 87% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 88% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 89% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 90% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 91% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 92% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 93% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 94% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 95% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 96% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 97% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 98% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 99% 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 단리된 PRO 폴리펩티드에 관한 것이다.

추가 측면에서, 본 발명은 본원에 개시된 전장 아미노산 서열, 신호 펩티드가 없는 본원에 개시된 아미노산 서열, 신호 펩티드가 없는 본원에 개시된 막횡단 단백질의 세포외 도메인 또는 본원에 개시된 전장 아미노산 서열의 구체적으로 정의된 임의의 단편을 갖는 PRO 폴리펩티드의 아미노산 서열과 비교할 때 약 80% 이상의 양성, 바람직하게는 약 81% 이상의 양성, 보다 바람직하게는 약 82% 이상의 양성, 보다 바람직하게는 약 83% 이상의 양성, 보다 바람직하게는 약 84% 이상의 양성, 보다 바람직하게는 약 85% 이상의 양성, 보다 바람직하게는 약 86% 이상의 양성, 보다 바람직하게는 약 87% 이상의 양성, 보다 바람직하게는 약 88% 이상의 양성, 보다 바람직하게는 약 89% 이상의 양성, 보다 바람직하게는 약 90% 이상의 양성, 보다 바람직하게는 약 91% 이상의 양성, 보다 바람직하게는 약 92% 이상의 양성, 보다 바람직하게는 약 93% 이상의 양성, 보다 바람직하게는 약 94% 이상의 양성, 보다 바람직하게는 약 95% 이상의 양성, 보다 바람직하게는 약 96% 이상의 양성, 보다 바람직하게는 약 97% 이상의 양성, 보다 바람직하게는 약 98% 이상의 양성, 보다 바람직하게는 약 99% 이상의 양성을 기록하는 아미노산 서열을 포함하는 단리된 PRO 폴리펩티드에 관한 것이다.

특정 측면에서, 본 발명은 N-말단 신호 서열 및(또는) 개시 메티오닌이 없으며 상기와 같은 아미노산 서열을 코딩하는 뉴클레오티드 서열에 의해 코딩되는 단리된 PRO 폴리펩티드를 제공한다. 동일한 것을 생산하는 방법은 본원에도 기재되어 있는데, 여기서 상기 방법은 PRO 폴리펩티드의 발현에 적당한 조건 하에서 적당한 코딩 핵산 분자를 포함하는 벡터를 포함하는 숙주 세포를 배양하고, 세포 배양물로부터 상기 PRO 폴리펩티드를 회수하는 것을 포함한다.

또다른 실시양태에서, 본 발명은 본원에 정의된 천연 PRO 폴리펩티드의 아고니스트 및 길항제에 관한 것이다. 구체적인 실시양태에서, 상기 아고니스트 또는 길항제는 항-PRO 항체 또는 소분자이다.

추가 실시양태에서, 본 발명은 PRO 폴리펩티드를 후보 분자와 접촉시키고 상기 PRO 폴리펩티드에 의해 매개되는 생물학적 활성을 관찰하는 것을 포함하는, PRO 폴리펩티드에 대한 아고니스트 또는 길항제를 확인하는 방법에 관한 것이다. 바람직하게는, PRO 폴리펩티드는 천연 PRO 폴리펩티드이다.

추가 실시양태에서, 본 발명은 담체와 함께 본원에 기재된 PRO 폴리펩티드, 또는 PRO 폴리펩티드의 아고니스트 또는 길항제, 또는 항-PRO 항체를 포함하는 물질 조성물에 관한 것이다.

본 발명의 또다른 실시양태는 PRO 폴리펩티드, 그의 아고니스트 또는 길항제, 또는 항-PRO 항체에 반응하는 질환의 치료에 유용한 약제를 제조하기 위한, 상기 기재한 PRO 폴리펩티드, 그의 아고니스트 또는 길항제, 또는 항-PRO 항체의 용도에 관한 것이다.

본 발명의 추가 실시양태에서, 본 발명은 본원에 기재한 임의의 폴리펩티드를 코딩하는 DNA를 포함하는 벡터를 제공한다. 이러한 벡터를 포함하는 숙주 세포도 제공한다. 예를 들어, 상기 숙주 세포는 CHO 세포, 대장균, 효모 또는 바칼로마이러스-감염된 곤충 세포일 수 있다. 본원에 기재한 임의의 폴리펩티드를 제조하는 방법도 추가로 제공하고, 상기 방법은 원하는 폴리펩티드의 발현에 적합한 조건 하에서 숙주 세포를 배양하고 이 세포 배양물로부터 원하는 폴리펩티드를 회수하는 것을 포함한다.

다른 실시양태에서, 본 발명은 이중 폴리펩티드 또는 아미노산에 결합된 본원에 기재한 임의의 폴리펩티드를 포함하는 키메라 분자를 제공한다. 이러한 키메라 분자의 예로는 이류노글로불린의 에피토프 태그 서열 또는 Fc 영역에 결합된 본원에 기재한 임의의 폴리펩티드를 포함한다.

또다른 실시양태에서, 본 발명은 상기 또는 하기 기재된 폴리펩티드에 특이적으로 결합하는 항체를 제공한다. 임의로는, 상기 항체는 모노클로날 항체, 인간화된 항체, 항체 단편 또는 단일쇄 항체이다.

다른 실시양태에서, 본 발명은 안티센스 프로브로서 게놈 서열 및 cDNA 뉴클레오티드 서열을 단리하기에 유용한 올리고뉴클레오티드 프로브를 제공하는 것으로, 여기서 상기 프로브는 상기 또는 하기 기재된 임의의 뉴클레오티드 서열로부터 유도할 수 있다.

도면의 간단한 설명

도 1은 천연 서열 PRO172 cDNA의 뉴클레오티드 서열 (서열 3)을 나타내는 것으로, 여기서 서열 3은 본원에서 "DNA35916-1161"로 지칭하는 클론이다.

도 2는 도 1에 나타낸 서열 3의 코딩 서열로부터 유도된 아미노산 서열 (서열 4)를 나타낸다.

도 3은 천연 서열 PRO178 cDNA의 뉴클레오티드 서열 (서열 8)을 나타내는 것으로, 여기서 서열 8은 본원에서 "DNA23339-1130"으로 지칭하는 클론이다.

도 4는 도 3에 나타낸 서열 8의 코딩 서열로부터 유도된 아미노산 서열 (서열 9)를 나타낸다.

도 5는 천연 서열 PRO179 cDNA의 뉴클레오티드 서열 (서열 13)을 나타내는 것으로, 여기서 서열 13은 본원에서 "DNA16451-1388"로 지칭하는 클론이다.

도 6은 도 5에 나타낸 서열 13의 코딩 서열로부터 유도된 아미노산 서열 (서열 14)를 나타낸다.

도 7은 천연 서열 PRO182 cDNA의 뉴클레오티드 서열 (서열 15)을 나타내는 것으로, 여기서 서열 15는 본원에서 "DNA27865-1091"로 지칭하는 클론이다.

도 8은 도 7에 나타낸 서열 15의 코딩 서열로부터 유도된 아미노산 서열 (서열 16)를 나타낸다.

도 9는 천연 서열 PRO187 cDNA의 뉴클레오티드 서열 (서열 20)을 나타내는 것으로, 여기서 서열 20은 본원에서 "DNA27864-1155"로 지칭하는 클론이다.

도 10은 도 9에 나타낸 서열 20의 코딩 서열로부터 유도된 아미노산 서열 (서열 21)를 나타낸다.

도 11은 천연 서열 PRO188 cDNA의 뉴클레오티드 서열 (서열 25)을 나타내는 것으로, 여기서 서열 25는 본원에서 "DNA28497-1130"으로 지칭하는 클론이다.

도 12는 도 11에 나타낸 서열 25의 코딩 서열로부터 유도된 아미노산 서열 (서열 26)를 나타낸다.

도 13은 천연 서열 PRO195 cDNA의 뉴클레오티드 서열 (서열 30)을 나타내는 것으로, 여기서 서열 30은 본원에서 "DNA26847-1395"로 지칭하는 클론이다.

도 14는 도 13에 나타낸 서열 30의 코딩 서열로부터 유도된 아미노산 서열 (서열 31)를 나타낸다.

도 15는 천연 서열 PRO212 cDNA의 뉴클레오티드 서열 (서열 35)을 나타내는 것으로, 여기서 서열 35는 본원에서 "DNA30942-1134"로 지칭하는 클론이다.

도 16은 도 15에 나타낸 서열 35의 코딩 서열로부터 유도된 아미노산 서열 (서열 36)를 나타낸다.

도 17은 천연 서열 PRO214 cDNA의 뉴클레오티드 서열 (서열 40)을 나타내는 것으로, 여기서 서열 40은 본원에서 "DNA32286-1191"로 지칭하는 클론이다.

도 18은 도 17에 나타낸 서열 40의 코딩 서열로부터 유도된 아미노산 서열 (서열 41)를 나타낸다.

도 19는 천연 서열 PRO217 cDNA의 뉴클레오티드 서열 (서열 45)을 나타내는 것으로, 여기서 서열 45는 본원에서 "DNA33094-1131"로 지칭하는 클론이다.

도 20은 도 19에 나타낸 서열 45의 코딩 서열로부터 유도된 아미노산 서열 (서열 46)를 나타낸다.

도 21은 천연 서열 PRO224 cDNA의 뉴클레오티드 서열 (서열 50)을 나타내는 것으로, 여기서 서열 50은 본원에서 "DNA33221-1133"으로 지칭하는 클론이다.

도 22는 도 21에 나타낸 서열 50의 코딩 서열로부터 유도된 아미노산 서열 (서열 51)를 나타낸다.

도 23은 천연 서열 PRO231 cDNA의 뉴클레오티드 서열 (서열 55)을 나타내는 것으로, 여기서 서열 55는 본원에서 "DNA34434-1139"로 지칭하는 클론이다.

도 24는 도 23에 나타낸 서열 55의 코딩 서열로부터 유도된 아미노산 서열 (서열 56)를 나타낸다.

도 25는 천연 서열 PRO235 cDNA의 뉴클레오티드 서열 (서열 61)을 나타내는 것으로, 여기서 서열 61은 본원에서 "DNA35558-1167"로 지칭하는 클론이다.

도 26은 도 25에 나타낸 서열 61의 코딩 서열로부터 유도된 아미노산 서열 (서열 62)를 나타낸다.

도 27은 천연 서열 PRO245 cDNA의 뉴클레오티드 서열 (서열 66)을 나타내는 것으로, 여기서 서열 66은 본원에서 "DNA35638-1141"로 지칭하는 클론이다.

도 28은 도 27에 나타낸 서열 66의 코딩 서열로부터 유도된 아미노산 서열 (서열 67)를 나타낸다.

도 29는 천연 서열 PRO261 cDNA의 뉴클레오티드 서열 (서열 71)을 나타내는 것으로, 여기서 서열 71은 본원에서 "DNA33473-1176"으로 지칭하는 클론이다.

도 30은 도 29에 나타낸 서열 71의 코딩 서열로부터 유도된 아미노산 서열 (서열 72)를 나타낸다.

도 31은 천연 서열 PRO269 cDNA의 뉴클레오티드 서열 (서열 76)을 나타내는 것으로, 여기서 서열 76은 본원에서 "DNA38260-1180"으로 지칭하는 클론이다.

도 32는 도 31에 나타낸 서열 76의 코딩 서열로부터 유도된 아미노산 서열 (서열 77)를 나타낸다.

도 33은 천연 서열 PRO287 cDNA의 뉴클레오티드 서열 (서열 84)을 나타내는 것으로, 여기서 서열 84는 본원에서 "DNA39969-1185"로 지칭하는 클론이다.

도 34는 도 33에 나타낸 서열 84의 코딩 서열로부터 유도된 아미노산 서열 (서열 85)를 나타낸다.

도 35는 천연 서열 PRO301 cDNA의 뉴클레오티드 서열 (서열 89)을 나타내는 것으로, 여기서 서열 89는 본원에서 "DNA240628-1216"으로 지칭하는 클론이다.

도 36은 도 35에 나타낸 서열 89의 코딩 서열로부터 유도된 아미노산 서열 (서열 90)를 나타낸다.

도 37은 천연 서열 PRO323 cDNA의 뉴클레오티드 서열 (서열 97)을 나타내는 것으로, 여기서 서열 97은 본원에서 "DNA35595-1228"로 지칭하는 클론이다.

도 38은 도 37에 나타낸 서열 97의 코딩 서열로부터 유도된 아미노산 서열 (서열 98)를 나타낸다.

도 39는 천연 서열 PRO331 cDNA의 뉴클레오티드 서열 (서열 106)을 나타내는 것으로, 여기서 서열 106은 본원에서 "DNA40981-1234"로 지칭하는 클론이다.

도 40은 도 39에 나타낸 서열 106의 코딩 서열로부터 유도된 아미노산 서열 (서열 107)를 나타낸다.

도 41은 천연 서열 PRO356 cDNA의 뉴클레오티드 서열 (서열 111)을 나타내는 것으로, 여기서 서열 111은 본원에서 "DNA47470-1130-P1"로 지칭하는 클론이다.

도 42는 도 41에 나타낸 서열 111의 코딩 서열로부터 유도된 아미노산 서열 (서열 112)를 나타낸다.

도 43은 천연 서열 PRO364 cDNA의 뉴클레오티드 서열 (서열 116)을 나타내는 것으로, 여기서 서열 116은 본원에서 "DNA47365-1206"으로 지칭하는 클론이다.

도 44는 도 43에 나타낸 서열 116의 코딩 서열로부터 유도된 아미노산 서열 (서열 117)를 나타낸다.

도 45는 천연 서열 PRO526 cDNA의 뉴클레오티드 서열 (서열 126)을 나타내는 것으로, 여기서 서열 126은 본원에서 "DNA44184-1319"로 지칭하는 클론이다.

도 46은 도 45에 나타낸 서열 126의 코딩 서열로부터 유도된 아미노산 서열 (서열 127)를 나타낸다.

도 47은 천연 서열 PRO538 cDNA의 뉴클레오티드 서열 (서열 131)을 나타내는 것으로, 여기서 서열 131은 본원에서 "DNA48613-1268"로 지칭하는 클론이다.

도 48은 도 47에 나타낸 서열 131의 코딩 서열로부터 유도된 아미노산 서열 (서열 132)를 나타낸다.

도 49는 천연 서열 PRO713 cDNA의 뉴클레오티드 서열 (서열 136)을 나타내는 것으로, 여기서 서열 136은 본원에서 "DNA29101-1122"로 지칭하는 클론이다.

도 50은 도 49에 나타낸 서열 136의 코딩 서열로부터 유도된 아미노산 서열 (서열 137)를 나타낸다.

도 51은 천연 서열 PRO719 cDNA의 뉴클레오티드 서열 (서열 142)을 나타내는 것으로, 여기서 서열 142는 본원에서 "DNA49646-1327"로 지칭하는 클론이다.

도 52는 도 51에 나타낸 서열 142의 코딩 서열로부터 유도된 아미노산 서열 (서열 143)를 나타낸다.

도 53은 천연 서열 PRO771 cDNA의 뉴클레오티드 서열 (서열 147)을 나타내는 것으로, 여기서 서열 147은 본원에서 "DNA49829-1346"으로 지칭하는 클론이다.

도 54는 도 53에 나타낸 서열 147의 코딩 서열로부터 유도된 아미노산 서열 (서열 148)를 나타낸다.

도 55는 천연 서열 PRO788 cDNA의 뉴클레오티드 서열 (서열 152)을 나타내는 것으로, 여기서 서열 152는 본원에서 "DNA56405-1357"로 지칭하는 클론이다.

도 56은 도 55에 나타낸 서열 152의 코딩 서열로부터 유도된 아미노산 서열 (서열 153)를 나타낸다.

도 57은 천연 서열 PRO792 cDNA의 뉴클레오티드 서열 (서열 154)을 나타내는 것으로, 여기서 서열 154는 본원에서 "DNA56352-1358"로 지칭하는 클론이다.

도 58은 도 57에 나타낸 서열 154의 코딩 서열로부터 유도된 아미노산 서열 (서열 155)를 나타낸다.

도 59는 천연 서열 PRO812 cDNA의 뉴클레오티드 서열 (서열 159)을 나타내는 것으로, 여기서 서열 159는 본원에서 "DNA59205-1421"으로 지칭하는 클론이다.

도 60은 도 59에 나타낸 서열 159의 코딩 서열로부터 유도된 아미노산 서열 (서열 160)를 나타낸다.

도 61은 천연 서열 PRO865 cDNA의 뉴클레오티드 서열 (서열 161)을 나타내는 것으로, 여기서 서열 161은 본원에서 "DNA53974-1401"로 지칭하는 클론이다.

도 62는 도 61에 나타낸 서열 161의 코딩 서열로부터 유도된 아미노산 서열 (서열 162)를 나타낸다.

도 63은 천연 서열 PRO1075 cDNA의 뉴클레오티드 서열 (서열 169)을 나타내는 것으로, 여기서 서열 169는 본원에서 "DNA57689-1385"로 지칭하는 클론이다.

도 64는 도 63에 나타낸 서열 169의 코딩 서열로부터 유도된 아미노산 서열 (서열 170)를 나타낸다.

도 65는 천연 서열 PRO1126 cDNA의 뉴클레오티드 서열 (서열 180)을 나타내는 것으로, 여기서 서열 180은 본원에서 "DNA60615-1483"으로 지칭하는 클론이다.

도 66은 도 65에 나타낸 서열 180의 코딩 서열로부터 유도된 아미노산 서열 (서열 181)를 나타낸다.

도 67은 천연 서열 PRO1130 cDNA의 뉴클레오티드 서열 (서열 182)을 나타내는 것으로, 여기서 서열 182는 본원에서 "DNA59814-1486"으로 지칭하는 클론이다.

도 68은 도 67에 나타낸 서열 182의 코딩 서열로부터 유도된 아미노산 서열 (서열 183)를 나타낸다.

도 69는 천연 서열 PRO1154 cDNA의 뉴클레오티드 서열 (서열 190)을 나타내는 것으로, 여기서 서열 190은 본원에서 "DNA59846-1503"으로 지칭하는 클론이다.

도 70은 도 69에 나타낸 서열 190의 코딩 서열로부터 유도된 아미노산 서열 (서열 191)를 나타낸다.

도 71은 천연 서열 PRO1244 cDNA의 뉴클레오티드 서열 (서열 192)을 나타내는 것으로, 여기서 서열 192는 본원에서 "DNA64883-1526"으로 지칭하는 클론이다.

도 72는 도 71에 나타낸 서열 192의 코딩 서열로부터 유도된 아미노산 서열 (서열 193)를 나타낸다.

도 73은 천연 서열 PRO1246 cDNA의 뉴클레오티드 서열 (서열 194)을 나타내는 것으로, 여기서 서열 194는 본원에서 "DNA64885-1529"으로 지칭하는 클론이다.

도 74는 도 73에 나타낸 서열 194의 코딩 서열로부터 유도된 아미노산 서열 (서열 195)를 나타낸다.

도 75는 천연 서열 PRO1274 cDNA의 뉴클레오티드 서열 (서열 196)을 나타내는 것으로, 여기서 서열 196은 본원에서 "DNA64889-1541"로 지칭하는 클론이다.

도 76은 도 75에 나타낸 서열 196의 코딩 서열로부터 유도된 아미노산 서열 (서열 197)를 나타낸다.

도 77은 천연 서열 PRO1286 cDNA의 뉴클레오티드 서열 (서열 198)을 나타내는 것으로, 여기서 서열 198은 본원에서 "DNA64903-1553"으로 지칭하는 클론이다.

도 78은 도 77에 나타낸 서열 198의 코딩 서열로부터 유도된 아미노산 서열 (서열 199)를 나타낸다.

도 79는 천연 서열 PRO1294 cDNA의 뉴클레오티드 서열 (서열 200)을 나타내는 것으로, 여기서 서열 200은 본원에서 "DNA64905-1558"으로 지칭하는 클론이다.

도 80은 도 79에 나타낸 서열 200의 코딩 서열로부터 유도된 아미노산 서열 (서열 201)를 나타낸다.

도 81은 천연 서열 PRO1303 cDNA의 뉴클레오티드 서열 (서열 202)을 나타내는 것으로, 여기서 서열 202는 본원에서 "DNA65409-1566"으로 지칭하는 클론이다.

도 82는 도 81에 나타낸 서열 202의 코딩 서열로부터 유도된 아미노산 서열 (서열 203)를 나타낸다.

도 83은 천연 서열 PRO1304 cDNA의 뉴클레오티드 서열 (서열 204)을 나타내는 것으로, 여기서 서열 204는 본원에서 "DNA65406-1567"로 지칭하는 클론이다.

도 84는 도 83에 나타낸 서열 204의 코딩 서열로부터 유도된 아미노산 서열 (서열 205)를 나타낸다.

도 85는 천연 서열 PRO1312 cDNA의 뉴클레오티드 서열 (서열 213)을 나타내는 것으로, 여기서 서열 213은 본원에서 "DNA61873-1574"로 지칭하는 클론이다.

도 86은 도 85에 나타낸 서열 213의 코딩 서열로부터 유도된 아미노산 서열 (서열 214)를 나타낸다.

도 87은 천연 서열 PRO1313 cDNA의 뉴클레오티드 서열 (서열 215)을 나타내는 것으로, 여기서 서열 215는 본원에서 "DNA64966-1575"로 지칭하는 클론이다.

도 88은 도 87에 나타낸 서열 215의 코딩 서열로부터 유도된 아미노산 서열 (서열 216)를 나타낸다.

도 89는 천연 서열 PRO1376 cDNA의 뉴클레오티드 서열 (서열 217)을 나타내는 것으로, 여기서 서열 217은 본원에서 "DNA67300-1605"로 지칭하는 클론이다.

도 90은 도 89에 나타낸 서열 217의 코딩 서열로부터 유도된 아미노산 서열 (서열 218)를 나타낸다.

도 91은 천연 서열 PRO1387 cDNA의 뉴클레오티드 서열 (서열 219)을 나타내는 것으로, 여기서 서열 219는 본원에서 "DNA68872-1620"으로 지칭하는 클론이다.

도 92는 도 91에 나타낸 서열 219의 코딩 서열로부터 유도된 아미노산 서열 (서열 220)를 나타낸다.

도 93은 천연 서열 PRO1561 cDNA의 뉴클레오티드 서열 (서열 221)을 나타내는 것으로, 여기서 서열 221은 본원에서 "DNA76538-1670"으로 지칭하는 클론이다.

도 94는 도 93에 나타낸 서열 221의 코딩 서열로부터 유도된 아미노산 서열 (서열 222)를 나타낸다.

도 95는 천연 서열 PRO216 cDNA의 뉴클레오티드 서열 (서열 226)을 나타내는 것으로, 여기서 서열 226은 본원에서 "DNA33087"로 지칭하는 클론이다.

도 96은 도 95에 나타낸 서열 226의 코딩 서열로부터 유도된 아미노산 서열 (서열 227)를 나타낸다.

발명의 상세한 설명

1. 정의

어구 "심혈관 질환, 내피세포 질환 및 혈관신생 질환", "심혈관 장애, 내피세포 장애 및 혈관신생 장애", "심혈관 질환, 내피세포 질환 또는 혈관신생 질환" 및 "심혈관 장애, 내피세포 장애 또는 혈관신생 장애"는 교환가능하게 사용되고 동맥, 모세혈관, 정맥 및(또는) 림프관과 같은 혈관 자체의 질병 뿐만 아니라 부분적으로는 당뇨병과 같은, 혈관에 영향을 미치는 전신 질환을 말한다. 이는 혈관신생 및(또는) 심혈관형성을 자극하는 징후, 및 혈관신생 및(또는) 심혈관형성을 억제하는 징후를 포함한다. 이러한 질병에는 예를 들어, 죽상경화증, 고혈압, 염증성 혈관염, 레이naud병 및 레이naud 증후군, 동맥류 및 동맥성 재발협착증과 같은 동맥 질환; 혈전성정맥염, 림프관염 및 림프부종과 같은 정맥 및 림프관 질환; 말초 혈관 질환, 혈관 종양 (예컨대, 혈관종 (모세혈관 및 해면), 사구 종양, 모세혈관확장증, 세균성 혈관종증, 혈관내피종, 혈관

육종, 혈관외피세포종, 카포시 육종, 림프관종 및 림프관육종)과 같은 암, 중앙 혈관신생, 창상, 화상, 기타 손상 조직과 같은 외상, 이식물 고착, 흉터형성, 허혈성 재관류 손상, 류마티스성 관절염, 뇌혈관 질환, 급성 신부전과 같은 신장 질환 및 골다공증과 같은 기타 혈관 질환이 포함된다. 상기 질병에는 협심증, 급성 심근경색증과 같은 심근경색증, 심비대증, 및 CHF와 같은 심부전도 포함된다.

본원에 사용된 "비대증"은 중앙 형성을 수반하지 않는 자연적인 성장과는 독립적으로 기관 또는 구조 질량의 증가로 정의한다. 기관 또는 조직의 비대증은 개별 세포의 질량 증가(진정한 의미의 비대증) 또는 상기 조직을 구성하는 세포 수의 증가, 또는 둘다에 기인한다. 심장과 같은 일부 기관은 생후 즉시 분열하는 능력을 상실한다. 따라서, "심비대증"은 세포 분열을 수반하지 않는, 근세포 크기 및 수축 단백질 함량의 증가에 의해 특징지어지는, 성인의 심장 질량의 증가로 정의된다. 비대증을 자극시키는 스트레스(예컨대, 심근경색증에서와 같이 증가된 전(前)하중, 증가된 후(後)하중, 근세포의 손실 또는 수축성 일차 우울증)의 특징은 반응성을 결정하는 데 결정적인 역할을 하는 듯하다. 심비대증의 초기 단계는 일반적으로 미토콘드리아 및 핵의 팽창 뿐만 아니라 근섬유 및 미토콘드리아의 크기 증가에 의해 형태학적으로 특징지어진다. 이 단계에서, 근세포는 정상세포보다 크지만 세포 조직화는 대부분 보존된다. 심비대증의 진행 단계에서, 미토콘드리아와 같은 특정 소기관의 크기 또는 수가 월등히 증가되어 있고, 새로운 수축 요소가 불규칙적인 방식으로 세포의 국소 구역에 첨가된다. 오랜동안 비대화된 세포는 인접한 근섬유를 대체하고 정상적인 Z-밴드 표시의 분해를 야기하는 고도의 소엽막이 있는 현저히 팽창된 핵을 비롯하여 세포 조직화에서 보다 분명한 붕괴를 보인다. 어구 "심비대증"은 근원적인 심질환과는 관계없이 심근의 다양한 구조적 손상도에 의해 특징지어지는, 이 질환의 모든 발전 단계를 포함하는 것으로 사용한다. 그러므로, 상기 용어는 고혈압, 대동맥 협착증, 또는 심근경색증의 발달에 수단이 되는 생리적인 상태도 포함한다.

"심부전"은 심장이 조직 대사의 요구에 필요한 속도로 혈액을 펌프하지 않는 심장 기능의 비정상성을 말한다. 심부전은 허혈성, 울혈성, 류마티스성 또는 특발성 형태를 포함한 다수의 인자에 의해 야기될 수 있다.

"울혈성 심부전"(CHF)은 심장이 산소를 포함한 혈액을 말초 조직에 전달하기에 적당한 심박 출력(일정 시간에 걸쳐 심장에 의해 펌프되는 혈액 부피)을 점차적으로 공급할 수 없는 진행성 병적 상태이다. CHF가 진행됨에 따라, 구조적 및 혈액동력학적 손상이 일어난다. 이들 손상은 다양한 증상을 나타내지만 한 가지 특징적인 증상은 심실 비대증이다. CHF는 많은 다양한 심장 질환의 공통적인 결과이다.

"심근경색증"은 종종 중복성 관상 혈전증이 있는 관상 동맥의 죽상경화증으로부터 일반적으로 발생한다. 심근경색증은 두 가지 주요 유형, 즉 심근괴사가 전체층의 심실벽을 수반하는 전층경색증, 및 괴사가 심실벽을 통해 심장의외막까지 내내 뻗어 있지 않고 심내막하층, 벽내심근층 또는 둘다를 수반하는 심내막하(비전층)경색증으로 나눌 수 있다. 심근경색증은 손상된 심장 구역 및 건강한 심장 구역에서 혈액동력학적 효과의 변화 및 구조의 변이 둘다를 초래하는 것으로 알려져 있다. 따라서, 예를 들어 심근경색증은 심장의 최대 심박 출력 및 줄증을 감소시킨다. 또한, 영향받지 않은 심장 구역에서 콜라겐 합성의 증가 뿐만 아니라 틈에서 일어나는 DNA 합성의 자극은 심근경색증과 관련되어 있다.

예를 들어, 증가된 총 말초저항으로 인한 지속성 고혈압에서 심장에 가해지는 증가된 스트레스 또는 피로의 결과로서 심비대증은 "고혈압"과 관련된지 오래되었다. 만성 압력 과부하의 결과로 비대하게 된 심실의 특징은 손상된 확장 수행능력이다 (Fouad et al., J. Am. Coll. Cardiol., 4: 1500-1506 (1984); Smith et al., J. Am. Coll. Cardiol., 5: 869-874 (1985)). 지속성 좌심실 이완은 정상 또는 최정상 수축 기능에도 불구하고 초기 필수 고혈압에서 관찰된 바 있다 (Hartford et al., Hypertension, 6: 329-338 (1984)). 그러나, 혈압 수준과 심비대증 사이에 밀접한 대응관계는 없다. 항고혈압 치료법에 대해 반응하는 좌심실 기능의 개선이 인간에서 보고되었더라도, 이노제(히드로클로로티아지드), β-차단제(프로프라놀올) 또는 칼슘 채널 차단제(딜티아젠펜)로 다양하게 치료받은 환자는 이노제의 향상 없이 좌심실 비대증의 역전을 나타낸 바 있다 (Inouye et al., Am. J. Cardiol., 53: 1583-7 (1984)).

심비대증과 관련된 또다른 복합성 심장 질환은 "비대증성 심근병증"이다. 이 질환은 형태적, 기능적 및 임상적 특징의 높은 다양성 (Maron et al., N. Engl. J. Med., 316: 780-789 (1987); Spirito et al., N. Engl. J. Med., 320: 749-755 (1989); Louie and Edwards, Prog. Cardiovasc. Dis., 36: 275-308 (1994); Wigle et al., Circulation, 92: 1680-1692 (1995)), 및 상기 질환이 모든 연령의 환자를 고생시킨다는 사실에 의해 강조되는 이질성 (Spirito et al., N. Engl. J. Med., 336: 775-785 (1997))에 의해 특징지어진다. 비대증성 심근병증의 원인 인자도 다양하고 거의 알려져 있지 않다. 일반적으로, 근질 단백질을 코딩하는 유전자의 돌연변이는 비대증성 심근병증과 관련되어 있다. 최근 데이터는 β-미요신 중쇄 돌연변이가 가족성 비대증성 심근병증 경우의 약 30 내지 40%의 원인일 수 있다고 제시한다 (Warkins et al., N. Engl. J. Med., 326: 1108-1114 (1992); Schwartz et al., Circulation, 91: 532-540 (1995); Marian and Roberts, Circulation, 92: 1336-1347 (1995); Thierfelder et al., Cell, 77: 701-712 (1994); Watkins et al., Nat. Gen., 11:

434-437 (1995)). β -미요신 중쇄 이외에 다른 위치의 유전자 돌연변이에는 심장 트로포닌 T, 알파 토포미요신, 심장 미요신 결합 단백질 C, 필수 미요신 경쇄 및 조절 미요신 경쇄가 포함된다 (Malik and Watkins, *Curr. Opin. Cardiol.*, 12: 295-302 (1997) 참조).

관상부 "대동맥 협착증"은 오름대동맥의 협착에 의해 특징지어지는 유전성 혈관 질환이지만, 폐동맥을 포함한 다른 동맥도 영향받을 수 있다. 치료받지 않은 대동맥 협착증은 심장내 혈압을 상승시키고, 이 심장내 혈압 상승은 심근비대증을 초래해서 결국 심부전 및 사망에 이르게 한다. 이 질환의 발병기작은 완전히 이해되지 않았지만, 내측평활근의 비대증과 아마도 증식증이 이 질환의 두드러진 특징이다. 엘라스틴 유전자의 분자 변이체가 대동맥 협착증의 발달 및 발병기작에 관여하는 것으로 보고된 바 있다 (1997년 7월 22일 발행된 미국 특허 제5,650,282호).

"관역류량"은 심장 판막 질환을 초래하는 심장 질환의 결과로 일어난다. 류마티스열과 같은 다양한 질환은 판막구와는 관계없는 수축 또는 당기기를 초래할 수 있지만, 다른 질병은 심내막염, 심내막 또는 방실구 내막의 염증 및 심장 수술을 초래할 수 있다. 판막 협착증의 협착 또는 판막의 결손 폐쇄와 같은 결함은 심장의 혈액 축적 또는 판막을 지나는 혈액의 역류를 초래한다. 지속성 판막 협착증 또는 지속성 판막 부전은 치료하지 않으면 심비대증 및 심근에 관련된 손상을 초래할 수 있는데, 이러한 손상은 결국 판막 교체를 필요로 한다.

본 발명은 심비대증이 동반될 수 있거나 동반될 수 없는 이들 모든 질환, 및 기타 심혈관 질환, 내피세포 질환 및 혈관신생 질환의 치료를 포함한다.

용어 "암", "암의" 및 "악성의"는 조절받지 않는 세포 성장이 전형적인 특징인 포유동물의 생리학적 상태를 말하거나 기술한다. 암의 예로는 선암종, 림프종, 모세포종, 흑색종, 육종 및 백혈병을 비롯한 암이 있으나, 여기에 제한되지 않는다. 이러한 암의 보다 구체적인 예로는 편평 세포암, 소세포 폐암, 비소세포 폐암, 위장암, 호지킨 림프종 및 비호지킨 림프종, 췌장암, 교모세포종, 자궁암, 난소암, 간암 (예컨대, 간암종 및 간세포암), 방광암, 유방암, 결장암, 결장직장암, 자궁내막암, 침샘암, 신장암 (예컨대, 신세포암 및 윌름스 종양), 기저세포암, 흑색종, 전립선암, 외음부암, 갑상선암, 고환암, 식도암 및 다양한 유형의 머리와 목 암이 있다. 본원에서 치료하기에 바람직한 암은 유방암, 결장암, 폐암, 흑색종, 난소암 및 상기에 기재한 혈관종양을 수반하는 다른 암이다.

본원에서 사용한 용어 "세포독성제"는 세포의 기능을 억제하거나 방해하여 세포를 파괴시키는 물질을 말한다. 이 용어는 방사성 동위원소 (예를 들어, ^{131}I , ^{125}I , ^{90}Y 및 ^{186}Re), 화학요법제, 및 세균, 진균, 식물 또는 동물 유래의 효소 활성 독소와 같은 독소 또는 그의 단편을 포함하는 것으로 한다.

"화학요법제"는 암의 치료에 유용한 화합물이다. 화학요법제의 예로는 알킬화제, 폴산 길항제, 핵산 대사의 항-대사물질, 항생제, 피리미딘 동족체, 5-플루오로우라실, 시스플라틴, 퓨린 뉴클레오시드, 아민, 아미노산, 트리아졸 뉴클레오시드 또는 코르티코스테로이드가 있다. 구체적인 예로는 아드리아마이신, 독소루비신, 5-플루오로우라실, 시토신 아라비노시드 ("Ara-C"), 시클로포스파미드, 티오테라, 부술판, 시톡신, 탁솔, 독소테레, 메토트렉세이트, 시스플라틴, 멜팔란, 빈블라스틴, 블레오마이신, 에토포사이드, 이포스파미드, 미토마이신 C, 미톡산트론, 빈크레이스틴, 빈오렐빈, 카르보플라틴, 테니포시드, 다우노마이신, 카르미노마이신, 아미노프테린, 닥티노마이신, 미토마이신, 에스페라미신 (미국 특허 제4,675,187호), 멜팔란 및 다른 관련 질소 겨자가 있다. 이 정의에는 종양에 대한 호르몬 작용을 조절하거나 억제하는 호르몬제, 예컨대 타모시펜 및 오나프리스톤도 포함된다.

본원에 사용된 "성장 억제제"는 시험관내 또는 생체내에서 세포, 예컨대 Wnt-과다발현 암세포의 성장을 억제하는 화합물 또는 조성물을 말한다. 따라서, 성장 억제제는 S기에서 종양세포의 비율을 상당히 감소시킨다. 성장 억제제의 예로는 세포 주기 진행 (S기 이외의 상태에서)을 차단하는 물질, 예컨대 G1-기 정체 및 M-기 정체를 유도하는 물질이 있다. 전형적인 M-기 차단제로는 빈카스 (빈크리스틴 및 빈블라스틴), 탁솔 및 토포 II 억제제 (예컨대, 독소루비신, 다우노루비신, 에토포사이드 및 블레오마이신)가 있다. G1을 정제하는 물질, 예컨대 타모시펜, 프레드니손, 다카르바진, 메클로로에타민, 시스플라틴, 메토트렉세이트, 5-플루오로우라실 및 아라-C와 같은 DNA 알킬화제는 S-기로도 누출된다. 자세한 정보는 문헌 (The Molecular Basis of Cancer, Mendelsohn and Israel, eds., Chapter 1, entitled "Cell cycle regulation, oncogenes, and antineoplastic drugs" by Murakami et al. (WB Saunders; Philadelphia, 1995), especially p.13)에서 찾을 수 있다. 추가적인 예로는 종양 괴사 인자 (TNF), 산성 또는 염기성 FGF 또는 간세포암 성장 인자 (FGF)의 혈관신생 활성을 억제 또는 중화할 수 있는 항체, 조직 인자, 단백질 C 또는 단백질 S (WO 91/01753, 1991년 2월 21일 공개)의 응고 활성을 억제하거나 중화할 수 있는 항체, 및 4D5 항체 (및 그의 기능적 등가물) (예를 들어, WO 92/22653)와 같이 HER2 수용체 (WO 89/06692)에 결합할 수 있는 항체가 있다.

"치료"는 심혈관 질환, 내피세포 질환 및 혈관신생 질환의 발달을 예방하거나 상기 질환의 병리학을 바꾸기 위한 의도로 수행된 조정이다. 치료의 개념은 가장 광범위한 의미로 사용되고, 구체적으로는 임의의 단계의 심혈관 질환, 내피세포 질환 및 혈관신생 질환의 방지(예방), 완화, 경감 및 치유를 포함한다. 따라서, "치료"는 치료적인 치료 및 예방 또는 방지 처치 둘다를 말하는 것으로, 이 때 목적은 심혈관 질환, 내피세포 질환 및 비대증과 같은 혈관신생 질환을 예방하거나 늦추는 것이다. 치료가 필요한 대상은 상기 질환에 걸리기 쉬운 대상 또는 상기 질환을 예방한 대상 뿐만 아니라 이미 상기 질환을 앓는 대상을 포함한다. 상기 질환은 특발성, 심장친화성 또는 근육친화성 원인을 비롯한 임의의 원인, 또는 심근경색증과 같은 허혈 또는 허혈성 발작으로부터 발생할 수 있다.

"만성" 투여는 항-비대증성 효과와 같은 초기 효과를 연장된 기간동안 유지하기 위해 급성 방식과는 반대인 연속 방식으로 약제(들)을 투여하는 것을 말한다.

치료 목적을 위한 "포유동물"은 인간, 가축 및 사육 동물, 동물원 동물, 스포츠 동물 및 애완 동물, 예컨대 개, 말, 고양이, 소, 양, 돼지 등을 포함한 포유동물로 분류된 임의의 동물을 말한다. 바람직하게는, 포유동물은 인간이다.

투여에 있어서 1종 이상의 추가 치료제와의 "조합으로"는 동시적인 투여 및 임의의 순서의 연속적인 투여를 포함한다.

여기 "심혈관계 약제, 내피세포계 약제 또는 혈관신생 약제"는 일반적으로 심혈관 질환, 내피세포 질환 및 혈관신생 질환을 치료하는 데 작용하는 임의의 약물을 말한다. 심혈관계 약제의 예로는 혈관 질환에 작용하는 혈압, 심박동수, 심수축성, 및 내피성 근육과 평활근을 조절하여 혈관 항상성을 촉진하는 것이 있다. 이들의 구체적인 예로는 안지오텐신-III, 수용체 길항제; 엔도텔린 수용체 길항제, 예컨대 BOSENTANTM 및 MOXONODINTM, 인터페론-감마 (INF- γ); 데스-아스파르테이트-안지오텐신 I; 혈전용해제, 예컨대 스트렙토키나제, 유로키나제, t-PA, 및 보다 긴 반감기 및 매우 높은 피브린 특이성을 갖도록 특이적으로 디자인된 t-PA, TNK t-PA (a T103N, N117Q, KHRR (296-299)AAAA t-PA 변이체, Keyt et al., Proc. Natl. Acad. Sci., USA 91, 3670-3674 (1994)); 디고시제닌 및 β -아드레날린성 수용체 차단제와 같은 수축촉진제 또는 고혈압제, 예컨대 프로프라놀올, 티몰올, 테르타롤올, 카르네올올, 나돌올, 베타솔올, 펜부톨올, 아세토부톨올, 아테놀올, 메토프롤올 및 카르베딜올; 안지오텐신 전환 효소 (ACE), 예컨대 퀴나프릴, 캅토프릴, 에날라프릴, 라미프릴, 벤아제프릴, 포시노프릴 및 리시노프릴; 이노제, 예컨대 클로로티아지드, 히드로클로로티아지드, 히드로플루메타지드, 메틸 클로로티아지드, 벤즈티아지드, 디클로로펜아미드, 아세타졸아미드 및 인다프아미드; 및 칼슘 채널 차단제, 예컨대 딜티아젠프, 니페디핀, 베라파밀, 니카르디핀이 있다. 이 유형의 한 가지 바람직한 카테고리는 혈압 상승, 대동맥 협착증 또는 심근경색증과 같은 심비대증의 발달에 수단이 되는 심비대증 또는 생리학적인 상태의 치료에 이용되는 치료제이다.

"혈관형성제" 및 "내피세포계 약제"는 혈관신생 및(또는) 내피세포 성장 또는, 적용가능하다면 혈관생성을 촉진하는 활성제이다. 이것은 성장 호르몬, 인슐린-유사 성장 인자-I (IGF-I), VEGF, VIGF, PDGF, 표피 성장 인자 (EGF), CTGF 및 그의 구성원, 및 TGF- α 와 TGF- β 와 같은 창상 치유를 가속화하는 인자를 포함한다.

"혈관신생 억제제"는 혈관신생 또는 혈관생성을 억제하거나 암세포의 성장을 억제 또는 방해하는 활성제이다. 예로는 VEGF에 대한 항체와 같은, 상기 정의한 혈관형성제에 대한 항체 또는 다른 길항제가 있다. 추가적으로 이들은 세포치료제, 예컨대 세포독성제, 화학요법제, 성장 억제제, 아포토시스제, 및 암으로 치료하는 다른 약제 (예컨대, 항-HER-2, 항-CD20, 다른 생물활성제 및 유기 화학제)를 포함한다.

제약학적 의미에서, 본 발명의 내용에서 PRO 폴리펩티드 또는 그의 아고니스트 또는 길항제, 또는 항-PRO 항체의 "치료 유효량"은 포유동물의 심혈관 질환, 내피세포 질환 또는 혈관신생 질환의 치료에 유효한 양이고 실험적으로 결정할 수 있다.

본원에 사용된 PRO 폴리펩티드 또는 그의 아고니스트 또는 길항제, 또는 항-PRO 항체의 "유효량"은 상기 목적을 수행하기에 유효한 양을 말하는데, 여기서 원하는 효과를 나타내는 양은 실험적으로 결정할 수 있다.

"PRO 폴리펩티드" 및 "PRO"란 본 명세서에 사용된 바와 같이 바로 뒤에 숫자가 붙어서 다양한 폴리펩티드를 의미하는데, 완전한 명칭(즉, PRO/숫자)은 본 명세서에 기재된 특정 폴리펩티드를 의미하는 용어이다. 본 명세서에 사용된 "PRO/숫자 폴리펩티드" 및 "PRO/숫자" (여기서 숫자 부분은 실제 수로 나타냄)는 천연 서열 폴리펩티드 및 폴리펩티드 변이체 (본 명세서에 추가로 정의됨)를 포함하는 용어이다. 본 명세서에 기재된 PRO 폴리펩티드는 인간 조직 또는 다른 출처와 같은 다양한 출처로부터 단리될 수 있거나 재조합 또는 합성에 의해 제조될 수 있다.

"천연 서열 PRO 폴리펩티드"는 자연으로부터 유도된 대응하는 PRO 폴리펩티드와 동일한 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 포함한다. 이러한 천연 서열 PRO 폴리펩티드는 자연으로부터 단리할 수 있거나 재조합 또는 합성 방법으로 제조할 수 있다. 용어 "천연 서열 PRO 폴리펩티드"는 구체적으로는 특정 PRO 폴리펩티드의 자연발생 말단 절단 (truncated) 또는 분비된 형태 (예를 들어 세포외 도메인 서열), 이러한 폴리펩티드의 자연발생 변이체 (달리 스프라이싱된 형태) 및 자연 발생 대립 변이체를 포함한다. 본 발명의 여러 실시양태에서, 본 명세서에서 기재된 천연 서열 PRO 폴리펩티드는 수반하는 도면에 나타낸 전장 아미노산 서열을 포함하는 성숙 또는 전장 천연 서열 폴리펩티드이다. 개시 및 중지 코돈은 도면에서 굵은 글씨 및 밑줄로 표시된다. 그러나, 본원에서 수반하는 도면에 개시된 PRO 폴리펩티드는 도면에서 아미노산 위치 1로 지칭하는 메티오닌 잔기로 시작하는 것으로 나타나 있지만, 도면에서 아미노산 위치 1로부터 위쪽 또는 아래쪽 부분에 위치한 다른 메티오닌 잔기가 PRO 폴리펩티드에 대한 출발 아미노산 잔기로 이용될 수 있다.

PRO 폴리펩티드 "세포외 도메인" 또는 "ECD"란 본질적으로 막횡단 또는 세포질 도메인이 없는 PRO 폴리펩티드의 형태를 의미한다. PRO 폴리펩티드 ECD는 통상 막횡단 및(또는) 세포질 도메인을 1% 미만으로 포함하며, 바람직하게는 상기도메인들을 0.5% 미만으로 포함한다. 본 발명의 PRO 폴리펩티드에서 확인된 모든 막횡단 도메인은 당업계에서 소수성 도메인 유형을 밝히는 데 통상적으로 사용되는 기준에 준거하여 확인된 것임을 이해해야 할 것이다. 막횡단 도메인의 정확한 경계선은 다를 수 있지만, 대부분은 본원에서 처음 확인된 도메인의 말단에서 5개 아미노산 범위 내에 존재한다. 따라서, PRO 폴리펩티드의 세포외 도메인은 경우에 따라 실시예 및 상세한 설명에서 확인된 막횡단 도메인/세포외 도메인의 각 경계면에서 약 5개 이하의 아미노산을 포함할 수 있고, 결합된 신호 펩티드가 있거나 없는 이러한 폴리펩티드, 및 이들을 코딩하는 핵산은 본 발명에 포함된다.

본원에 개시된 다양한 PRO 폴리펩티드의 "신호 펩티드"의 대략적인 위치는 수반하는 도면에 나타나 있다. 그러나, 신호 펩티드의 C-말단 경계는 다양할 수 있지만, 대부분은 본원에서 처음 확인된 신호 펩티드 C-말단의 각 경계면에서 아미노산은 약 5개 이하일 것을 알아야 하는데, 여기서 신호 펩티드의 C-말단 경계는 당업계에서 아미노산 서열 요소의 타입을 확인하는 데 통상적으로 이용되는 기준에 따라 확인될 수 있다 (예를 들어, Nielsen et al., Prot. Eng. 10: 1-6 (1997) 및 von Heinje et al., Nucl. Acids. Res. 14: 4683-4690 (1986)). 게다가, 일부 경우에는 분비 폴리펩티드의 신호 서열의 절단이 전체적으로 동일하지 않아 1종 이상의 분비 폴리펩티드를 생성시킨다는 것을 인지해야 한다. 본원에서 확인된 신호 펩티드의 C-말단의 각 경계면에 있는 약 5개 이하의 아미노산 범위 내에서 신호 펩티드가 절단된 이들 성숙 폴리펩티드, 및 이들을 코딩하는 폴리뉴클레오티드는 본 발명에 포함된다.

"PRO 폴리펩티드 변이체"는 본원에 개시된 전장 천연 서열 PRO 폴리펩티드 서열, 본원에 개시된 바와 같이 신호 펩티드가 없는 전장 천연 서열 PRO 폴리펩티드, 본원에 개시된 바와 같이 신호 펩티드가 있거나 없는 PRO 폴리펩티드의 세포외 도메인, 또는 본원에 개시된 전장 PRO 폴리펩티드 서열의 임의의 다른 단편과 약 80% 이상의 아미노산 서열 동일성을 갖는, 앞서 또는 뒤에 정의된 활성 PRO 폴리펩티드를 의미한다. 이러한 PRO 폴리펩티드 변이체로는 예를 들어 전장 천연 아미노산 서열의 N 말단 또는 C 말단에 하나 이상의 아미노산 잔기가 부가되거나 결실된 PRO 폴리펩티드 등이 있다. 통상, PRO 폴리펩티드 변이체는 본원에서 개시된 전장 천연 서열 PRO 폴리펩티드 서열, 본원에 개시된 바와 같이 신호 펩티드가 없는 전장 천연 서열 PRO 폴리펩티드, 본원에 개시된 바와 같이 신호 펩티드가 있거나 없는 PRO 폴리펩티드의 세포외 도메인, 또는 본원에 개시된 전장 PRO 폴리펩티드 서열의 임의의 다른 단편과의 아미노산 서열 동일성이 약 80% 이상, 바람직하게는 약 81% 이상, 더 바람직하게는 약 82% 이상, 더 바람직하게는 약 83% 이상, 더 바람직하게는 약 84% 이상, 더 바람직하게는 약 85% 이상, 더 바람직하게는 약 86% 이상, 더 바람직하게는 약 87% 이상, 더 바람직하게는 약 88% 이상, 더 바람직하게는 약 89% 이상, 더 바람직하게는 약 90% 이상, 더 바람직하게는 약 91% 이상, 더 바람직하게는 약 92% 이상, 더 바람직하게는 약 93% 이상, 더 바람직하게는 약 94% 이상, 더 바람직하게는 약 95% 이상, 더 바람직하게는 약 96% 이상, 더 바람직하게는 약 97% 이상, 더 바람직하게는 약 98% 이상, 가장 바람직하게는 약 99% 이상이다. 통상적으로, PRO 변이체 폴리펩티드는 그 길이가 약 10개 이상의 아미노산, 흔히 약 20개 이상의 아미노산, 더 흔히는 약 30개 이상의 아미노산, 더 흔히는 약 40개 이상의 아미노산, 더 흔히는 약 50개 이상의 아미노산, 더 흔히는 약 60개 이상의 아미노산, 더 흔히는 약 70개 이상의 아미노산, 더 흔히는 약 80개 이상의 아미노산, 더 흔히는 약 90개 이상의 아미노산, 더 흔히는 약 100개 이상의 아미노산, 더 흔히는 약 150개 이상의 아미노산, 더 흔히는 약 200개 이상의 아미노산, 더 흔히는 약 300개 이상의 아미노산 또는 그 이상이다.

아래에 나타낸 바와 같이, 표 1은 ALIGN-2 서열 비교 컴퓨터 프로그램의 완전한 원시 코드를 제공한다. 이 원시 코드는 ALIGN-2 서열 비교 컴퓨터 프로그램을 제공하는 UNIX 작동계 상에서 사용하기 위해 통상적으로 편집될 수 있다.

추가로, 표 2A-2D는 ALIGN-2 서열 비교 컴퓨터 프로그램을 이용하여 % 아미노산 서열 동일성 (표 2A-2B) 및 % 핵산 서열 동일성 (표 2C-2D)를 결정하기 위한 하기 기재된 방법을 사용하는 가설적인 실시예를 도시하며, 여기서, "PRO"는 관심있는 가정의 PRO 폴리펩티드의 아미노산 서열을 나타내고, "비교 단백질"은 관심있는 "PRO" 폴리펩티드를 비교할 폴리

펩티드의 아미노산 서열을 나타내며, "PRO-DNA"는 관심있는 가정의 PRO-코딩 핵산 서열을 나타내며, "비교 DNA"는 관심있는 "PRO-DNA" 핵산 분자를 비교할 핵산 분자의 뉴클레오티드 서열을 나타내며, "X", "Y" 및 "Z"는 각각 상이한 가정의 아미노산 잔기를 나타내며, "N", "L" 및 "V"는 각각 상이한 가정의 뉴클레오티드를 나타낸다.

<표 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 */ { 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, -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, -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, _M, 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, -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, 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, _M, 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, _M, 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}
};

```

```

/*
*/
#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 end 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();

```

```

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

```

main

```

/* 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;
        }
    }
}

```

nw

```

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

    /* update penalty for del in x seq;
    * favor new del over ongong 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 ongong 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
    */
}

```

...DW

...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) {
            writejmps(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) {
        writejmps(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);
}

```

```

/*
 *
 * 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
 */

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

    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;
    }
    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();
}

```

print

```

/*
 * 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 (x[bm]*p0-'A']&x[bm]*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

```

fprintf(fx, "< gaps in first sequence: %d", gapx);
if (gapx) {
    (void) sprintf(oux, "(%d %s%s)",
        ngapx, (dna)? "base": "residue", (ngapx == 1)? "": "s");
    fprintf(fx, "%s", oux);
}
fprintf(fx, ", gaps in second sequence: %d", gapy);
if (gapy) {
    (void) sprintf(oux, "(%d %s%s)",
        ngapy, (dna)? "base": "residue", (ngapy == 1)? "": "s");
    fprintf(fx, "%s", oux);
}
if (dna)
    fprintf(fx,
        "\n<score: %d (match = %d, mismatch = %d, gap penalty = %d + %d per base)\n",
        smax, DMAT, DMIS, DINSO, DINSI);
else
    fprintf(fx,
        "\n<score: %d (Dayhoff PAM 250 matrix, gap penalty = %d + %d per residue)\n",
        smax, PINSO, PINSI);
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

pr_align

```

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 (istlower(*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 && nn) {
        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

dumpblock

...dumpblock

```
(void)putc('\n', fx);
for (i = 0; i < 2; i++) {
    if (*out[i] && (*out[i] != ' ' || *(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);
    }
}
```

```
/*
 * 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);
}
```

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

static

putline(ix)

putline

```
int ix;
{
```

```

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:
 * ni[] 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 (xbrm[*p0-'A']&xbrm[*p1-'A']) {
cx = '*';
nm++;
}
else if (!dna && _day[*p0-'A'][*p1-'A'] > 0)
cx = '.';
else
cx = ' ';
}
else
cx = ' ';
*px++ = cx;
}
*px++ = '\n';
*px = '\0';
}

/*
 * 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));
}

```

...putline

stars

stripname

```

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

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

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

/*
 * remove any tmp file if we blow
 */
cleanup(i)                                cleanup
{
    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)                          getseq
{
    char *fjle; /* file name */
    int *flen; /* 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';
}

```

```

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_calloc(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_calloc() 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, dmax0 = dmax, xx = len0; i++) {
        while (1) {
            for (j = dx[dmax].ijmp; j >= 0 && dx[dmax].jp.x[j] >= xx; j--)

```

...getseq

g_calloc

readjmps

...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[dmax].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 || cndgaps)? -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;
}

```

Page 3 of nwsubr.c

writejumps

```

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

    if (!fj) {
        if (mktmp(jname) < 0) {
            fprintf(stderr, "%s: can't mktmp() %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);
}

```

PRO XXXXXXXXXXXXXXXX (길이 = 15 아미노산)
 비교 단백질 XXXXXYYYYYYY (길이 = 12 아미노산)

% 아미노산 서열 동일성 =

(ALIGN-2에 의해 결정된, 두 폴리펩티드 서열 사이에 동일하게 일치하는 아미노산 잔기의 수)를
 (PRO 폴리펩티드의 총 아미노산 잔기수로 나눔)

5를 15로 나눔 = 33.3%

<표 2B>

PRO XXXXXXXXXX (길이 = 10 아미노산)
 비교 단백질 XXXXXYYYYYYZZYZ (길이 = 15 아미노산)

% 아미노산 서열 동일성 =

(ALIGN-2에 의해 결정된, 두 폴리펩티드 서열 사이에 동일하게 일치하는 아미노산 잔기의 수)를
 (PRO 폴리펩티드의 총 아미노산 잔기수로 나눔)

5를 10으로 나눔 = 50%

<표 2C>

PRO-DNA NNNNNNNNNNNNNN (길이 = 14 뉴클레오티드)
 비교 DNA NNNNNLLLLLLLLLL (길이 = 16 뉴클레오티드)

% 핵산 서열 동일성 =

(ALIGN-2에 의해 결정된, 두 핵산 서열 사이에 동일하게 일치하는 뉴클레오티드의 수)를
 (PRO-DNA 핵산 서열의 총 뉴클레오티드 수)로 나눔

6을 14로 나눔 = 42.9%

<표 2D>

PRO-DNA NNNNNNNNNNNN (길이 = 12 뉴클레오티드)
 비교 DNA NNNLLLVV (길이 = 9 뉴클레오티드)

% 아미노산 서열 동일성 =

(ALIGN-2에 의해 결정된, 두 핵산 서열 사이에 동일하게 일치하는 뉴클레오티드의 수)를
 (PRO-DNA 핵산 서열의 총 뉴클레오티드 수)로 나눔

4를 12로 나눔 = 33.3%

본원에서 밝혀진 PRO 폴리펩티드 서열에 대한 "아미노산 서열 동일성 (%)"은 특정 PRO 폴리펩티드 서열과 후보 서열을 정렬하고, 필요한 경우 서열 동일성 퍼센트의 최대치를 얻기 위해 갭을 도입한 후 어떠한 보존적 치환도 서열 동일성의 일부로서 간주하지 않은 상태에서 특정 PRO 폴리펩티드 서열의 아미노산 잔기와 동일한, 후보 서열의 아미노산 잔기의 비율로서 정의된다. 아미노산 서열 동일성 (%)을 측정하기 위한 정렬은 당업계에 공지된 다양한 방법, 예를 들어 BLAST, BLAST-2, ALIGN 또는 Megalign (DNASTAR) 소프트웨어와 같은 쉽게 구할 수 있는 컴퓨터 소프트웨어를 사용하여 달성할 수 있다. 당업계의 숙련가는 비교되는 서열들의 전체 길이에 걸쳐 최대한으로 정렬시키기 위해 필요한 임의의 알고리즘을 비롯하여 정렬을 측정하기에 적합한 파라미터를 정할 수 있다. 그러나, 본원의 목적상 아미노산 서열 동일성 값(%)은 서열 비교 컴퓨터 프로그램 ALIGN-2를 이용하여 얻을 수도 있는데, 상기 ALIGN-2 프로그램에 대한 완전한 원시 코드는 도

248A-Q에 기재되어 있다. ALIGN-2 서열 비교 컴퓨터 프로그램은 제넨텍, 인크사가 개발하였으며, 도 248A-Q에 나타낸 원시 코드는 미국 저작권청 (20559 워싱턴 D.C.에 소재)의 사용자 문서로 보관되어 있는데, 상기 코드는 미국 저작권 등록 제TXU510087호 하에 등록되어 있다. ALIGN-2 프로그램은 제넨텍, 인크사 (캘리포니아주 사우스 샌 프란시스코 소재)를 통해 쉽게 구할 수 있거나, 표 1에 기재된 원시 코드로부터 편집될 수 있다. ALIGN-2 프로그램은 UNIX 작동계, 바람직하게는 디지털 UNIX V4.0D에서 편집되어 이용될 수 있다. 모든 서열 비교 파라미터는 ALIGN-2 프로그램으로 설정하고 다양하지 않다.

본원의 목적상 주어진 아미노산 서열 B에, B와, 또는 B에 대한 주어진 아미노산 서열 A의 아미노산 서열 동일성 (%) (주어진 아미노산 서열 B에, B와, 또는 B에 대한 일정한 아미노산 서열 동일성 (%)을 갖거나 포함하는 주어진 아미노산 서열 A로 달리 표현할 수 있음)은 하기와 같이 계산한다:

$$X/Y \times 100$$

여기서, X는 A와 B의 프로그램 정렬에서 서열 정렬 프로그램 ALIGN-2에 의해 동일하게 매치되는 것으로 기록되는 아미노산 잔기의 수이고, Y는 B에서 아미노산 잔기의 총 수이다. 아미노산 서열 A의 길이가 아미노산 서열 B의 길이와 같지 않는 경우, B에 대한 A의 아미노산 서열 동일성 (%)은 A에 대한 B의 아미노산 서열 동일성 (%)과 같지 않음을 인지해야 할 것이다. 이 방법을 이용한 아미노산 서열 동일성 계산의 예로서, 표 2A-2B는 "PRO"로 지칭하는 아미노산 서열에 대한 "비교 단백질"로 지칭하는 아미노산 서열의 아미노산 서열 동일성 (%)을 계산하는 방법을 나타낸다.

달리 구체적으로 언급하지 않는 한, 본원에 이용된 모든 아미노산 서열 동일성 값 (%)은 상기 기재된 바와 같이 ALIGN-2 컴퓨터 프로그램을 이용하여 얻는다. 그러나, 아미노산 서열 동일성 값 (%)은 서열 비교 프로그램 NCBI-BLAST2 (Altschul et al., Nucleic Acids Res., 25: 3389-3402 (1997))을 이용하여 얻을 수도 있다. 상기 NCBI-BLAST2 서열 비교 프로그램은 웹 사이트 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)로부터 다운로드 받을 수 있다. NCBI-BLAST2는 여러 가지 검색 파라미터를 이용하는데, 이러한 모든 검색 파라미터는 예를 들어, 언마스크 = 예, 가닥 = 모두, 기대 발생 = 10, 최소 저복합성 길이 = 15/5, 다중-통과 e-값 = 0.01, 다중-통과에 대한 상수 = 25, 최종 갭 정렬에 대한 드롭오프 = 25 및 점수 매트릭스 = BLOSUM62를 포함하는 디폴트값으로 설정된다.

NCBI-BLAST2가 아미노산 서열 비교에 사용되는 경우, 주어진 아미노산 서열 B에, B와, 또는 B에 대한 주어진 아미노산 서열 A의 아미노산 서열 동일성 (%) (주어진 아미노산 서열 B에, B와, 또는 B에 대한 일정한 아미노산 서열 동일성 (%)을 갖거나 포함하는 주어진 아미노산 서열 A로 달리 표현할 수 있음)은 하기와 같이 계산한다:

$$X/Y \times 100$$

여기서, X는 NCBI-BLAST2 프로그램 정렬에서 서열 정렬 프로그램 NCBI-BLAST2에 의해 동일하게 매치되는 것으로 기록되는 아미노산 잔기의 수이고, Y는 B에서 아미노산 잔기의 총 수이다. 아미노산 서열 A의 길이가 아미노산 서열 B의 길이와 같지 않는 경우, B에 대한 A의 아미노산 서열 동일성 (%)은 A에 대한 B의 아미노산 서열 동일성 (%)과 같지 않음을 인지해야 할 것이다.

아미노산 서열 동일성 값(%)은 WU-BLAST-2 컴퓨터 프로그램 (Altschul et al., Methods in Enzymology 266: 460-80 (1996))를 이용하여 결정할 수도 있다. WU-BLAST-2 검색 파라미터 대부분은 디폴트값으로 설정된다. 디폴트값으로 설정하지 않은 것들 즉, 조정가능한 파라미터는 다음 값으로 설정된다: 오버랩 스펠 = 1, 오버랩 분획 = 0.125, 워드 한계 (T) = 11, 및 점수 매트릭스 = BLOSUM62. 본원의 목적을 달성하기 위해 아미노산 서열 동일성 값(%)은, 천연 PRO 폴리펩티드로부터 유도된 서열을 갖는 원하는 PRO 폴리펩티드의 아미노산 서열과 비교되는 원하는 아미노산 서열 (즉, 원하는 PRO 폴리펩티드와 비교되는 서열로서 PRO 변이체 폴리펩티드일 수 있음)과의 사이에 매치되는 동일한 아미노산 잔기의 수를 WU-BLAST-2로 결정하여 얻고, 이를 원하는 PRO 폴리펩티드의 아미노산 총 잔기수로 나누어 결정한다. 예를 들어, 아미노산 서열 B와 80% 이상의 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열 A를 포함하는 폴리펩티드"라는 말에서, 아미노산 서열 A는 비교하는 원하는 아미노산 서열이고 아미노산 서열 B는 원하는 PRO 폴리펩티드의 아미노산 서열이다.

"PRO 변이체 폴리뉴클레오티드" 또는 "PRO 변이체 핵산 서열"은 아래 정의된 바와 같은 활성 PRO 폴리펩티드를 코딩하는 핵산 분자로서, 본원에 개시된 전장 천연 서열 PRO 폴리펩티드 서열, 본원에 개시된 바와 같이 신호 펩티드가 없는 전장 천연 서열 PRO 폴리펩티드 서열, 본원에 개시된 PRO 폴리펩티드의 세포의 도메인, 또는 본원에 개시된 전장 PRO 폴리펩티드 서열의 여타의 다른 단편 중 어느 하나를 코딩하는 핵산 서열과의 핵산 서열 동일성이 약 80% 이상인 핵산 분자이다. 보통 PRO 변이체 폴리뉴클레오티드는 본원에 개시된 전장 천연 서열 PRO 폴리펩티드 서열, 본원에 개시된 바와 같이

신호 펩티드가 없는 전장 천연 서열 PRO 폴리펩티드 서열, 본원에 개시된 PRO 폴리펩티드의 세포의 도메인, 또는 본원에 개시된 전장 PRO 폴리펩티드 서열의 여타의 다른 단편 중 어느 하나를 코딩하는 핵산 서열과의 핵산 서열 동일성이 약 80 % 이상, 바람직하게는 약 81 % 이상, 더 바람직하게는 약 82 % 이상, 더 바람직하게는 약 83 % 이상, 더 바람직하게는 약 84 % 이상, 더 바람직하게는 약 85 % 이상, 더 바람직하게는 약 86 % 이상, 더 바람직하게는 약 87 % 이상, 더 바람직하게는 약 88 % 이상, 더 바람직하게는 약 89 % 이상, 더 바람직하게는 약 90 % 이상, 더 바람직하게는 약 91 % 이상, 더 바람직하게는 약 92 % 이상, 더 바람직하게는 약 93 % 이상, 더 바람직하게는 약 94 % 이상, 더 바람직하게는 약 95 % 이상, 더 바람직하게는 약 96 % 이상, 더 바람직하게는 약 97 % 이상, 더 바람직하게는 약 98 % 이상, 가장 바람직하게는 약 99 % 이상일 것이다. 변이체들은 천연 뉴클레오티드 서열 전체를 포괄하지는 않는다.

보통 PRO 변이체 폴리뉴클레오티드는 그 길이가 약 30개 이상의 뉴클레오티드, 더 흔히는 약 60 개 이상의 뉴클레오티드, 더 흔히는 약 90 개 이상의 뉴클레오티드, 더 흔히는 약 120 개 이상의 뉴클레오티드, 더 흔히는 약 150 개 이상의 뉴클레오티드, 더 흔히는 약 180 개 이상의 뉴클레오티드, 더 흔히는 약 210 개 이상의 뉴클레오티드, 더 흔히는 약 240 개 이상의 뉴클레오티드, 더 흔히는 약 270 개 이상의 뉴클레오티드, 더 흔히는 약 300 개 이상의 뉴클레오티드, 더 흔히는 약 450 개 이상의 뉴클레오티드, 더 흔히는 약 600 개 이상의 뉴클레오티드, 더 흔히는 약 900 개 이상의 뉴클레오티드 또는 그 이상이다.

본원에서 확인된 PRO 코딩 핵산 서열과 관련하여 "핵산 서열 동일성 (%)"은 특정 PRO 핵산 서열과 후보 서열을 정렬시키고, 필요한 경우 서열 동일성의 최대치를 얻기 위해 갭을 도입한 후 특정 PRO 핵산 서열의 뉴클레오티드와 동일한, 후보 서열의 뉴클레오티드의 비율로서 정의된다. 핵산 서열 동일성 (%)을 측정하기 위한 정렬은 당업계에 공지된 다양한 방법, 예를 들어 BLAST, BLAST-2, ALIGN 또는 Megalign (DNASTAR) 소프트웨어와 같은 쉽게 구할 수 있는 컴퓨터 소프트웨어를 사용하여 달성할 수 있다. 당분야에 숙련된 자들은 비교되는 서열의 전장에 걸쳐 최대 정렬을 달성하는 데 필요한 임의의 알고리즘을 비롯하여 정렬을 측정하기 위한 적당한 파라미터를 결정할 수 있다. 그러나, 본원의 목적상 핵산 서열 동일성 값 (%)은 서열 비교 컴퓨터 프로그램 ALIGN-2를 이용하여 얻을 수도 있는데, 상기 ALIGN-2 프로그램에 대한 완전한 원시 코드는 하기 표 1에 기재되어 있다. ALIGN-2 서열 비교 컴퓨터 프로그램은 제넨텍, 인크사가 개발하였으며, 표 1에 나타난 원시 코드는 미국 저작권청 (20559 워싱턴 D.C.에 소재)의 사용자 문서로 보관되어 있는데, 상기 코드는 미국 저작권 등록 제TXU510087호 하에 등록되어 있다. ALIGN-2 프로그램은 제넨텍, 인크사 (캘리포니아주 사우스 샌 프란 시스코 소재)를 통해 쉽게 구할 수 있거나, 표 1에 기재된 원시 코드로부터 편집될 수 있다. ALIGN-2 프로그램은 UNIX 작동계, 바람직하게는 디지털 UNIX V4.0D에서 편집되어 이용될 수 있다. 모든 서열 비교 파라미터는 ALIGN-2 프로그램으로 설정하고 다양하지 않다.

본원의 목적상, 주어진 핵산 서열 D에, D와, 또는 D에 대한 주어진 핵산 서열 C의 핵산 서열 동일성 (%)(주어진 핵산 서열 D에, D와, 또는 D에 대한 일정한 핵산 서열 동일성 (%)을 갖거나 포함하는 주어진 핵산 서열 C로 달리 표현할 수 있음)은 하기와 같이 계산한다:

$$W/Z \times 100$$

여기서, W는 C와 D의 프로그램 정렬에서 서열 정렬 프로그램 ALIGN-2에 의해 동일하게 매치되는 것으로 기록되는 뉴클레오티드의 수이고, Z는 D에서 뉴클레오티드의 총 수이다. 핵산 서열 C의 길이가 핵산 서열 D의 길이와 같지 않는 경우, D에 대한 C의 핵산 서열 동일성 (%)은 C에 대한 D의 핵산 서열 동일성 (%)과 같지 않음을 인지해야 할 것이다. 핵산 서열 동일성 계산의 예로서, 표 2C-2D는 "PRO-DNA"로 지칭하는 핵산 서열에 대한 "비교 DNA"로 지칭하는 핵산 서열의 핵산 서열 동일성 (%)을 계산하는 방법을 나타낸다.

달리 구체적으로 명시하지 않는 한, 핵산 서열 동일성 (%)은 하기 기재된 서열 비교 프로그램 ALIGN-2를 이용하여 얻을 수 있다. 그러나, 핵산 서열 동일성 (%)은 하기 기재된 서열 비교 프로그램 NCBI-BLAST2를 이용하여 계산할 수도 있다 (Altschul et al., Nucleic Acids Res. 25: 3389-3402 (1997)). 상기 NCBI-BLAST2 서열 비교 프로그램은 웹 사이트 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)로부터 다운로드 받을 수 있다. NCBI-BLAST2는 여러 가지 검색 파라미터를 이용하는 데, 이러한 모든 검색 파라미터는 예를 들어, 언마스킹 = 예, 가닥 = 모두, 기대 발생 = 10, 최소 저복합성 길이 = 15/5, 다중-통과 e-값 = 0.01, 다중-통과에 대한 상수 = 25, 최종 갭 정렬에 대한 드롭오프 = 25 및 점수 매트릭스 = BLOSUM62를 포함하는 디폴트값으로 설정된다.

NCBI-BLAST2가 핵산 서열 비교에 사용되는 경우, 주어진 핵산 서열 D에, D와, 또는 D에 대한 주어진 핵산 서열 C의 핵산 서열 동일성 (%)(주어진 핵산 서열 D에, D와, 또는 D에 대한 일정한 핵산 서열 동일성 (%)을 갖거나 포함하는 주어진 핵산 서열 C로 달리 표현할 수 있음)은 하기와 같이 계산한다:

$$W/Z \times 100$$

여기서, W는 프로그램 정렬에서 서열 정렬 프로그램 NCBI-BLAST2에 의해 동일하게 매치되는 것으로 기록되는 뉴클레오타이드의 수이고, Z는 D에서 뉴클레오타이드의 총 수이다. 핵산 서열 C의 길이가 핵산 서열 D의 길이와 같지 않은 경우, D에 대한 C의 핵산 서열 동일성 (%)은 C에 대한 D의 핵산 서열 동일성 (%)과 같지 않음을 인지해야 할 것이다.

추가로, 핵산 서열 동일성 값(%)은 WU-BLAST-2 컴퓨터 프로그램 (Altschul et al., Methods in Enzymology 266: 460-80 (1996))를 이용하여 결정할 수도 있다. WU-BLAST-2 검색 파라미터 대부분은 디폴트값으로 설정된다. 디폴트값으로 설정하지 않은 것들 즉, 조정가능한 파라미터는 다음 값으로 설정된다: 오버랩 스펠 = 1, 오버랩 분획 = 0.125, 워드 한계 (T) = 11, 및 점수 매트릭스 = BLOSUM62. 본원의 목적을 달성하기 위해 핵산 서열 동일성 값(%)은, 천연 PRO 폴리펩티드로부터 유도된 서열을 갖는 원하는 PRO 폴리펩티드의 핵산 서열과 비교되는 원하는 핵산 서열 (즉, 원하는 PRO 폴리펩티드와 비교되는 서열로서 PRO 변이체 폴리펩티드일 수 있음)과의 사이에 매치되는 동일한 뉴클레오타이드 수를 WU-BLAST-2로 결정하여 얻고, 이를 원하는 PRO 폴리펩티드 코딩 핵산 분자의 총 뉴클레오타이드 수로 나누어 결정한다. 예를 들어, 핵산 서열 B와 80% 이상의 핵산 서열 동일성을 갖는 핵산 서열 A를 포함하는 폴리펩티드"라는 말에서, 핵산 서열 A는 비교하는 원하는 핵산 서열이고 핵산 서열 B는 원하는 PRO 폴리펩티드의 핵산 서열이다.

다른 실시양태에서 PRO 변이체 폴리뉴클레오타이드는 바람직하게는 엄격한 혼성화 및 세척 조건 하에서 도 2 (서열 4), 도 4 (서열 9), 도 6 (서열 14), 도 8 (서열 16), 도 10 (서열 21), 도 12 (서열 26), 도 14 (서열 31), 도 16 (서열 36), 도 18 (서열 41), 도 20 (서열 46), 도 22 (서열 51), 도 24 (서열 56), 도 26 (서열 62), 도 28 (서열 67), 도 30 (서열 72), 도 32 (서열 77), 도 34 (서열 85), 도 36 (서열 90), 도 38 (서열 98), 도 40 (서열 107), 도 42 (서열 112), 도 44 (서열 117), 도 46 (서열 127), 도 48 (서열 132), 도 50 (서열 137), 도 52 (서열 143), 도 54 (서열 148), 도 56 (서열 153), 도 58 (서열 155), 도 60 (서열 160), 도 62 (서열 162), 도 64 (서열 170), 도 66 (서열 181), 도 68 (서열 183), 도 70 (서열 191), 도 72 (서열 193), 도 74 (서열 195), 도 76 (서열 197), 도 78 (서열 199), 도 80 (서열 201), 도 82 (서열 203), 도 84 (서열 205), 도 86 (서열 214), 도 88 (서열 216), 도 90 (서열 218), 도 92 (서열 220), 도 94 (서열 222), 도 96 (서열 227) 각각에 나타난 전장 PRO 폴리펩티드를 코딩하는 뉴클레오타이드 서열에 혼성화할 수 있는 활성 PRO 폴리펩티드를 코딩하는 핵산 분자이다. PRO 변이체 폴리펩티드는 PRO 변이체 폴리뉴클레오타이드에 의해 코딩되는 것일 수 있다.

상기한 바와 같이 수행되는 서열 비교의 내용에서 "양성"이란 용어는 동일하지는 않으나 성질이 유사한 비교되는 서열의 아미노산 잔기를 의미한다. 원하는 아미노산 잔기에 대해 양성값을 기록하는 아미노산 잔기는 원하는 아미노산 잔기와 동일한 것이거나 원하는 아미노산 잔기의 바람직한 치환체 (하기 표 3에 정의된 바와 같음)이다.

본원의 목적상, 주어진 아미노산 서열 B에, B와, 또는 B에 대한 주어진 아미노산 서열 A의 양성값 (%) (주어진 아미노산 서열 B에, B와, 또는 B에 대한 일정한 양성값 (%)을 갖거나 포함하는 주어진 아미노산 서열 A로 달리 표현할 수 있음)은 하기와 같이 계산한다:

$$X/Y \times 100$$

여기서, X는 A와 B의 프로그램 정렬에서 서열 정렬 프로그램 ALIGN-2에 의해 상기에서 정의된 양성값을 기록하는 아미노산 잔기의 수이고, Y는 B에서 아미노산 잔기의 총 수이다. 아미노산 서열 A의 길이가 아미노산 서열 B의 길이와 같지 않은 경우, B에 대한 A의 양성값 (%)은 A에 대한 B의 양성값 (%)과 같지 않음을 인지해야 할 것이다.

본원에 개시된 다양한 폴리펩티드를 기술하기 위해 사용된 "단리된"은 폴리펩티드가 확인되고, 그 자연 환경 요소로부터 분리 및(또는) 회수되었음을 의미한다. 폴리펩티드의 자연 환경의 오염 요소는 이 폴리펩티드의 진단 또는 치료적 사용을 일반적으로 방해하는 물질로서, 효소, 호르몬 및 다른 단백질성 또는 비단백질성 용질 등이 있을 수 있다. 바람직한 실시양태에서, 폴리펩티드는 (1) 스피닝캡 서열분석기를 사용하여 N 말단 또는 내부 아미노산 서열의 15개 이상의 잔기를 얻기에 충분한 정도로 정제되거나, 또는 (2) 쿠마시 블루 또는 바람직하게는 은 염색을 사용하여 비환원 또는 환원 조건 하에 SDS-PAGE에서 하나의 밴드만 나타날 정도로 정제될 수 있다. PRO 폴리펩티드 자연 환경의 요소가 하나 이상 존재하지 않을 것이기 때문에 단리된 폴리펩티드는 재조합 세포 내에 존재하는 폴리펩티드를 포함한다. 그러나, 통상 단리된 폴리펩티드는 하나 이상의 정제 단계에 의해 얻어질 것이다.

PRO 폴리펩티드를 코딩하는 "단리된" 핵산 또는 항-PRO 항체를 코딩하는 "단리된" 핵산 분자란 PRO-코딩 핵산의 천연 출처 또는 항-PRO-코딩 핵산의 천연 출처에서 통상적으로 관련되는 하나 이상의 오염 핵산 분자로부터 확인 및 분리된 핵산 분자라는 의미이다. 바람직하게는, 단리된 핵산은 천연적으로 관련되어 있는 모든 성분과의 결합으로부터 자유로운

상태이다. 단리된 PRO-코딩 핵산 분자 또는 단리된 항-PRO-코딩 핵산 분자는 자연에서 발견되는 형태 또는 상태와는 다른 상태이다. 따라서, 단리된 핵산 분자는 천연 세포에 존재하는 PRO-코딩 핵산 분자 또는 항-PRO-코딩 핵산 분자와 구별된다. 그러나, 예를 들어, 상기 핵산 분자가 천연 세포와 상이한 염색체 위치에 존재하는 경우, PRO 폴리펩티드를 코딩하는 단리된 핵산 분자 또는 항-PRO 항체를 코딩하는 단리된 핵산 분자에는 통상적으로 PRO 폴리펩티드 또는 항-PRO 항체를 발현하는 세포에 함유된 PRO-핵산 분자 또는 항-PRO 핵산 분자가 포함된다.

용어 "조절 서열"이란 특정 숙주 유기체에서 작동가능하게 연결된 코딩 서열의 발현에 필요한 DNA 서열이다. 원핵생물에 적절한 조절 서열로는 예컨대 프로모터, 경우에 따라 오퍼레이터 서열, 및 리보솜 결합 부위를 들 수 있다. 진핵세포는 프로모터, 폴리아데닐화 신호 및 인핸서를 이용하는 것으로 알려져 있다.

핵산은 다른 핵산 서열과 기능적 관계로 배치될 때 "작동가능하게 연결"된다. 예를 들면, 전서열 또는 분비 리더 (leader)의 DNA는 해당 폴리펩티드가 분비되기 전의 형태인 전단백질로서 발현되는 경우 그 폴리펩티드의 DNA에 작동가능하게 연결되고, 프로모터 또는 인핸서는 폴리펩티드 서열의 전사에 영향을 끼치는 경우 코딩 서열에 작동가능하게 연결되며, 리보솜 결합 부위는 번역을 촉진하도록 배치될 때 코딩 서열에 작동가능하게 연결된다. 일반적으로 "작동가능하게 연결된"은 연결될 DNA 서열들이 인접하여 위치함을 의미하며, 분비 리더의 경우 인접하여 위치할 뿐만 아니라 동일한 리딩 프레임 내에 존재하는 것을 의미한다. 그러나 인핸서는 인접하여 위치할 필요가 없다. 연결은 편리한 제한 효소 부위에서 라이게이션에 의해 달성된다. 이러한 부위가 존재하지 않는 경우, 합성 올리고뉴클레오타이드 어댑터 또는 링커를 통상적인 관행에 따라 사용한다.

혼성화 반응의 "엄격도"는 당업자가 용이하게 결정할 수 있으며, 일반적으로 프로브 길이, 세척 온도, 염 농도에 따라 달라지는 실험적 계산값이다. 일반적으로 보다 긴 프로브일수록 적절한 어닐링에 보다 높은 온도를 필요로 하며, 보다 짧은 프로브일수록 보다 낮은 온도를 필요로 한다. 혼성화는 일반적으로 상보적 가닥이 자신들의 용융 온도보다 낮은 환경에 존재할 때 재어닐링되는 변성된 DNA의 능력에 따라 달라진다. 프로브와 혼성화가능한 서열 사이의 원하는 상동성의 정도가 높을수록, 사용할 수 있는 상대적인 온도가 높아진다. 따라서, 상대적 온도보다 높아질수록 반응 조건은 더욱 엄격해지는 반면, 상대적 온도가 낮을수록 반응조건은 덜 엄격해진다. 혼성화 반응의 엄격도와 관련한 더 자세한 정보 및 설명은 문헌 (Ausubel et al., Current Protocols in Molecular Biology, Wiley Interscience Publishers (1995))을 참조한다.

본원에서 정의되는 "엄격 조건" 또는 "엄격도가 높은 조건"이란 (1) 세척시 이온 세기가 낮고 온도가 높은 조건, 예를 들면 50 °C에서 0.015 M 염화나트륨/0.0015 M 시트르산나트륨/0.1 % 소듐 도데실 황페이트를 사용하는 조건, 또는 (2) 혼성화시에 포름아미드, 예를 들어 42 °C, 750 mM 염화나트륨, 75 mM 시트르산나트륨이 함유된 50 mM 인산나트륨 완충액 (pH 6.5)/0.1 % 소혈청 알부민/0.1 % 피콜/0.1 % 폴리비닐피롤리돈으로 제조한 50 % (부피/부피) 포름아미드와 같은 변성제를 사용하는 조건, (3) 50 % 포름아미드, 5 x SSC (0.75 M NaCl, 0.075 M 시트르산나트륨), 50 mM 인산나트륨 (pH 6.8), 0.1 % 피로인산 나트륨, 5 x Denhardt's 용액, 초음파처리된 연어 정자 DNA (50 µg/ml), 0.1 % SDS, 및 10 % 텍스트란 황페이트를 42 °C에서 사용하고, 42 °C에서 0.2 x SSC (염화나트륨/시트르산나트륨), 그리고 55 °C에서 50 % 포름아미드로 세척하며, 55 °C에서 EDTA가 함유된 0.1 x SSC를 이용한 고엄격 세척을 수행하는 것이다.

"중간정도의 엄격 조건"이란 문헌 (Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, New York: Cold Spring Harbor Press 1989)에 기재된 바와 같고, 상기한 것보다 엄격성이 낮은 혼성화 조건 (예를 들어 온도, 이온 세기 및 %SDS)의 이용을 말한다. 중간정도의 엄격 조건의 예는 20% 포름아미드, 5 x SSC (150 mM 염화나트륨, 15 mM 시트르산삼나트륨), 50 mM 인산나트륨 (pH 7.6), 5 x Denhardt 용액, 10% 텍스트란 황페이트 및 20 mg/ml의 잘린 연어 정액 변성 DNA를 포함하는 용액 중에서 37°C로 밤새 인큐베이션한 후 필터를 약 37 내지 50°C에서 1 x SSC로 세척하는 조건이다. 당업계의 숙련가는 프로브 길이 등과 같은 인자에 맞추기 위해 필요한 온도, 이온 세기 등을 조절하는 방법을 잘 알 것이다.

본원에 사용된 "에피토프 태그를 붙인"란 용어는 "태그 폴리펩티드"에 결합된 PRO 폴리펩티드를 포함하는 키메라 폴리펩티드를 지칭한다. "태그 폴리펩티드"가 만들어질 수 있을 정도의 에피토프를 제공하기에 충분한 잔기를 갖지만 결합되는 PRO 폴리펩티드의 활성을 방해하지 않을 정도로 충분히 짧다. 태그 폴리펩티드는 아주 독특해서 자신에 대한 항체가 다른 에피토프와는 실질적으로 가교반응하지 않는 것이 바람직하다. 적절한 태그 폴리펩티드는 일반적으로 6개 이상의 아미노산 잔기를 가지며, 통상 약 8 내지 50개의 아미노산 잔기를 갖는다 (바람직하게는 약 10 내지 20개의 잔기).

PRO 변이체의 내용에서 "활성의" 또는 "활성"은 천연 또는 자연발생 PRO 폴리펩티드의 생물학적 및(또는) 면역학적 활성을 보유하는 PRO 단백질의 형태(들)을 말한다.

본원에 개시된 스크리닝 검정법으로 확인할 수 있는 PRO 폴리펩티드에 대한 길항작용을 할 수 있는 분자(예컨대, 유기 또는 무기 소분자, 펩티드 등)의 내용에서 "생물학적 활성"이란 본원에서 확인한 PRO 폴리펩티드와 결합하거나 결합체를 형성할 수 있거나, 혹은 달리 말하면 다른 세포 단백질과 PRO 폴리펩티드의 상호작용을 방해하거나 아니면 PRO 폴리펩티드의 전사 또는 번역을 억제하는 분자의 능력을 말하는 데 사용된다. 특히, 바람직한 생물학적 활성은 동맥, 모세혈관, 정맥 및 (또는) 림프관의 질병 및 암 뿐만 아니라 당뇨병과 같은, 혈관에 영향을 미치는 전신 질환에 작용하는 심비대증성 활성을 포함한다.

용어 "길항제"는 가장 넓은 의미로 사용되며, 본원에 개시된 천연 PRO 폴리펩티드의 생물학적 활성, 예를 들어 적용가능하다면 분열촉진 활성 또는 혈관신생 활성을 부분적으로 또는 완전히 차단, 억제 또는 중화시키는 모든 분자를 통칭한다. PRO 폴리펩티드의 길항제는 세포 수용체와 PRO 폴리펩티드의 결합을 방해함으로써, PRO 폴리펩티드에 의해 활성화되는 세포를 무능력화시키거나 살해함으로써, 또는 세포 수용체와 PRO 폴리펩티드의 결합 후 혈관 내피세포 활성화를 방해함으로써 작용할 수 있다. PRO 폴리펩티드 길항제에 의한 조정의 이러한 모든 요점은 본 발명의 목적상 동일한 것으로 간주될 것이다. 상기 길항제는 PRO 폴리펩티드의 분열촉진 활성, 혈관신생 활성 또는 기타 생물학적 활성을 억제하므로, 예를 들어 종양 및 특히 고형 악성 종양, 류마티스성 관절염, 건선, 죽상경화증, 당뇨병 망막병증 및 기타 망막병증, 수정체후 섬유증식증, 연령-관련 황반 퇴화, 신생혈관 녹내장, 혈관중, 갑상선 과다증식증 (그레이브스병을 포함함), 각막 및 기타 조직 이식, 및 만성 염증을 포함하여 원하지 않는 과도한 혈관신생이 특징인 질병 또는 질환의 치료에 유용하다. 또한, 길항제는 원하지 않는 과도한 혈관 투과성이 특징인 질병 또는 질환, 예컨대 뇌종양과 관련된 부종, 악성과 관련된 복수, 메이그스 증후군, 폐 염증, 신증후군, 심낭유출 (예를 들어, 심낭염과 관련된 것) 및 흉막유출의 치료에 유용하다. 이와 비슷하게 용어 "아고니스트"도 가장 넓은 의미로 사용되며, 본원에 개시된 천연 PRO 폴리펩티드의 생물학적 활성을 흉내내는 모든 분자를 통칭한다. 적절한 아고니스트 또는 길항제 분자로는 구체적으로 아고니스트 또는 길항제의 항체 또는 항체의 단편, 천연 PRO 폴리펩티드의 단편 또는 아미노산 서열 변이체, 펩티드, 안티센스 올리고뉴클레오타이드, 작은 유기분자 등을 들 수 있다.

"소분자"는 약 500 달톤 미만의 분자량을 갖는 것으로 본원에서 정의한다.

본원에 사용된 용어 "PRO 폴리펩티드 수용체"란 PRO 폴리펩티드에 대한 세포 수용체, 통상적으로 혈관 내피세포 상에서 발견되는 세포-표면 수용체 뿐만 아니라 PRO 폴리펩티드에 결합하는 능력을 보유하는 그의 변이체를 말한다.

"항체" (Ab) 및 "이뮤노글로불린" (Ig)은 동일한 구조적 특징을 갖는 당단백질이다. 항체는 특정 항체에 대한 결합 특이성을 나타내지만, 이뮤노글로불린은 항체, 및 항원 특이성이 없는 기타 항체-유사 분자 둘다를 포함한다. 예를 들어, 후자 종류의 폴리펩티드는 림프계에 의해 낮은 농도로 생산되고 골수중에 의해 증가된 농도로 생산된다. 용어 "항체"는 가장 광범위한 의미로 사용되고, 구체적으로 온전한 모노클로날 항체, 폴리클로날 항체, 2종 이상의 온전한 항체로부터 형성된 다중특이적 항체 (예컨대, 이중특이적 항체), 및 항체 단편 (원하는 생물학적 활성을 나타내는 경우)을 포괄하지만, 여기에 제한되지 않는다.

"천연 항체" 및 "천연 이뮤노글로불린"은 대개 2개의 동일한 경쇄 (L) 및 2개의 동일한 중쇄 (H)로 구성된, 약 150,000 달톤의 헤테로테트라머 당단백질이다. 각 경쇄는 1개의 공유결합성 이황화 결합에 의해 중쇄에 결합되어 있지만, 이황화 결합의 수는 다양한 이뮤노글로불린 동종형의 중쇄 사이에 다양하다. 각 중쇄 및 경쇄는 규칙적으로 공간을 두고 떨어져 있는 쇠내 이황화 가교도 갖는다. 각 중쇄는 많은 불변 도메인 다음에 한 쪽 말단에 가변 도메인 (V_H)을 갖는다. 각 경쇄는 한 쪽 말단에 가변 도메인 (V_L)을 갖고 다른 쪽 말단에 불변 도메인을 갖는데, 경쇄의 불변 도메인은 중쇄의 제1 불변 도메인과 정렬되고, 경쇄 가변 도메인은 중쇄의 가변 도메인과 정렬된다. 특정 아미노산 잔기가 경쇄 가변 도메인과 중쇄 가변 도메인 사이에 접점을 형성하는 것으로 생각된다.

용어 "가변"이란 가변 도메인의 일부가 항체들 사이에 서열상 광범위하게 상이하여 특정 항원과 각 특정 항체의 결합, 및 특정 항원에 대한 각 특정 항체의 특이성에 사용된다. 그러나, 가변성은 항체의 가변 도메인 전체를 통해 골고루 분포되어 있지는 않다. 가변은 경쇄 및 중쇄 가변 도메인 둘다에서 상보성-결정 영역 (CDR) 또는 과가변 영역이라고 불리는 세 개의 절편에 집중되어 있다. 가변 도메인의 보다 높은 보존부는 골격 영역 (FR)이라고 불린다. 천연 중쇄 및 경쇄 각각의 가변 도메인은 β -시트 구조를 연결하는 루프를 형성하고, 몇몇 경우에는 β -시트 구조의 일부를 형성하는 3개의 CDR에 의해 연결된, β -시트 구조를 주로 취하는 4개의 FR 영역을 포함한다. 각 쇠의 CDR은 FR 영역에 의해 아주 근접하여 뭉쳐 있고, 다른 쇠의 CDR과 함께 항체의 항원-결합 부위의 형성에 기여한다 (Kabat et al., NIH Publ. No. 91:3242, Vol. 1, pages 647-669 (1991) 참조). 불변 도메인은 항체를 항원에 결합시키는 데 직접 관여하지 않지만, 항체-의존성 세포 독성에서 항체의 참여와 같은 다양한 이펙터 기능을 나타낸다.

"항체 단편"은 온전한 항체의 일부, 바람직하게는 온전한 항체의 항원 결합 영역 또는 가변 영역을 포함한다. 항체 단편의 예로는 Fab, Fab', F(ab')₂ 및 Fv 단편; 디아바디; 선형 항체 (Zapata et al., Protein Eng. 8 (10):1057-1062 (1995)); 단쇄 항체 분자; 및 항체 단편으로부터 형성된 다중특이성 항체 등이 있다.

항체를 파파인 (Papain) 분해하면 2개의 동일한 항원 결합 단편, 즉 단일 항원 결합 부위가 있는 각 "Fab" 단편, 및 쉽게 결정화되는 능력을 반영하여 이름 붙여진 나머지 "Fc" 단편이 생성된다. 펩신을 처리하면, 2개의 항원 결합 부위가 있으며 여전히 항원에 교차결합할 수 있는 F(ab')₂ 단편이 생성된다.

"Fv"는 완전한 항원 인식 및 항원 결합 부위를 포함하는 최소 항체 단편이다. 이 영역은 단단하게 비공유결합된 하나의 중쇄 가변 도메인과 하나의 경쇄 가변 도메인으로 이루어진 이량체로 구성된다. 이 구조에서는 각 가변 도메인의 CDR 3개가 상호작용하여 V_H-V_L 이량체의 표면에 항원 결합 부위를 형성한다. 결론적으로 보면, 6개의 CDR이 항체에 항원 결합 특이성을 부여한다. 그러나, 단일 가변 도메인 (또는 항원에 특이적인 단지 3개의 CDR만을 포함하는 Fv의 절반)조차도 전체 결합 부위보다 친화성은 낮지만 항원을 인식하여 항원에 결합하는 능력을 갖는다.

또한, Fab 단편은 경쇄의 불변 도메인 및 중쇄의 제1 불변 도메인(CH1)을 함유한다. Fab' 단편은 항체 힌지 (Hinge) 영역으로부터 유래한 하나 이상의 시스테인을 포함하는 중쇄 CH1 도메인의 카르복시 말단에 몇 개의 잔기가 첨가되었다는 점에서 Fab 단편과 상이하다. 본원에서 Fab'-SH는 불변 도메인의 시스테인 잔기(들)이 유리 티올기를 보유하는 Fab'를 지칭한다. F(ab')₂ 항체 단편은 본래 그들 사이에 힌지 시스테인이 있는 몇쌍의 Fab' 단편으로 생성되었다. 항체 단편의 다른 화학적 커플링도 공지되어 있다.

임의의 척추동물종으로부터 유래한 항체(이뮤노글로불린)의 "경쇄"는 그의 불변 도메인의 아미노산 서열을 기초로 하여 카파(κ) 및 람다(λ)로 불리는 2개의 명백하게 상이한 타입 중의 하나로 분류될 수 있다.

이뮤노글로불린은 그의 중쇄의 불변 도메인의 아미노산 서열에 따라 상이한 클래스로 분류될 수 있다. 이뮤노글로불린에는 IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM의 5개 주요 클래스가 있고, 이들 중 몇 개는 서브클래스(이소타입), 예를 들어 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA 및 IgA2로 더 분류될 수 있다. 다양한 이뮤노글로불린류에 상응하는 중쇄 불변 도메인은 각각 α, δ, ε, γ 및 μ이라 불린다. 다양한 이뮤노글로불린류의 서브유닛 구조 및 3차원적 구조는 잘 공지되어 있다.

본원에서 사용되는 용어 "모노클로날 항체"는 실질적으로 동종 항체들의 집단으로부터 얻은 항체를 말하는데, 다시 말해 한 집단을 이루는 개별 항체는 소량으로 존재할 수 있는 가능한 자연발생적 돌연변이를 제외하고 동일하다. 모노클로날 항체는 단일 항원성 부위에 대해 매우 특이적이다. 게다가, 전형적으로 다양한 결정인자 (에피토프)에 대한 다양한 항체를 포함하는 통상적인 (폴리클로날) 항체 집단과는 반대로 각 모노클로날 항체는 항원 상의 단일 결정인자에 대한 것이다. 이들의 특이성 이외에도, 모노클로날 항체는 다른 이뮤노글로불린에 의해 오염되지 않은 하이브리도마 배양에 의해 합성된다는 점에서 유리하다. 변형자 "모노클로날"은 실질적으로 동종 집단으로부터 수득한 항체의 특성을 나타내지만, 임의의 구체적 방법에 의한 항체의 생산을 요구하지는 않는다. 예를 들어, 본 발명에 따라 사용되는 모노클로날 항체는 문헌 (Kohler et al., Nature, 256: 459 (1975))에 처음 기재된 하이브리도마 방법으로 만들 수 있거나, 재조합 DNA 방법 (예를 들어, 미국 특허 제4,816,567호 참조)으로 만들 수 있다. "모노클로날 항체"는 예를 들어, 문헌 (Clackson et al., Nature, 352: 624-628 (1991) and Marks et al., J. Mol. Biol., 222: 581-597 (1991))에 기재된 기술을 이용하여 파지 항체 라이브러리로부터 단리할 수도 있다.

본원에서 모노클로날 항체는 구체적으로 중쇄 및(또는) 경쇄의 일부가 특정 종으로부터 유래한 항체 또는 특정 항체 부류 또는 하위 부류에 속하는 항체의 상응하는 서열과 동일 또는 상동성이 있지만, 상기 쇠의 나머지는 또다른 종으로부터 유래한 항체 또는 또다른 항체 부류 또는 하위 부류에 속하는 항체 뿐만 아니라 이러한 항체의 단편 (이들이 원하는 생물학적 활성을 나타냄)의 상응하는 서열과 동일하거나 상동성이 있는 "키메라" 항체 (이뮤노글로불린)를 포함한다 (미국 특허 제 4,816,567호; Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81: 6851-6855 (1984)).

비인간 (예를 들어, 무린) 항체의 "인간화된" 형태는 비인간 이뮤노글로불린으로부터 유도된 최소 서열을 포함하는 키메라 이뮤노글로불린, 이뮤노글로불린쇄, 또는 그의 단편 (예컨대, 항체의 Fv, Fab, Fab', F(ab')₂ 또는 다른 항원-결합 하위 서열)이다. 보통 인간화된 항체는 수령자의 CDR 잔기가 원하는 특이성, 친화도 및 수용력을 갖는 비인간종 (공여자 항체), 예컨대 마우스, 래트 또는 토끼의 CDR 잔기에 의해 대체되는 인간 이뮤노글로불린 (수령자 항체)이다. 몇몇 경우에서, 인간 이뮤노글로불린의 Fv FR 잔기는 상응하는 비인간 잔기로 대체된다. 게다가, 인간화된 항체는 수령자 항체 및 이입된

CDR 또는 골격 잔기 서열 둘다에서 발견되지 않는 잔기를 포함할 수 있다. 항체 수행능력을 개량하고 최대화하기 위해 이러한 변형을 한다. 일반적으로, 인간화된 항체는 실질적으로 1종 이상, 및 전형적으로는 2종의 가변 도메인으로 구성되어 있을 것이고, 여기서 상기 가변 도메인 내의 CDR 영역 모두 또는 실질적으로 모두는 비인간 이뮤노글로불린의 CDR 영역에 상응하고, FR 영역의 모두 또는 실질적으로 모두는 인간 이뮤노글로불린 서열의 FR 영역이다. 또한, 인간화된 항체는 바람직하게는 이뮤노글로불린 불변 영역 (Fc)의 적어도 일부, 전형적으로는 인간 이뮤노글로불린의 일부를 포함할 것이다. 더 상세한 것을 위해서는, 문헌 (Jones et al., Nature, 321: 522-525 (1986); Reichmann et al., Nature, 322: 323-329 (1988); 및 Presta, Curr. Op. Struc. Biol., 2: 593-596 (1992))을 참조한다. 인간화된 항체는 항체의 항원-결합 영역이 원하는 항원으로 마카크 원숭이를 면역화시켜 제조한 항체로부터 유도된 PRIMATIZED (상표명) 항체를 포함한다.

"단일쇄 Fv" 또는 "sFv" 항체 단편은 항체의 V_H 및 V_L 도메인을 포함하는데, 여기서 이들 도메인은 단일 폴리펩티드쇄에 존재한다. 바람직하게는, Fv 폴리펩티드는 V_H 와 V_L 도메인 사이에 폴리펩티드 링커를 추가로 포함하는데, 이 링커는 sFv가 항원 결합을 위한 원하는 구조를 형성하게 한다. sFv를 조사하기 위해서는, 문헌 (Pluckthun in The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, Vol. 113, Rosenbug and Moore, eds. (Springer-Verlag: New York, 1994), pp. 269-315)을 참조한다.

용어 "디아바디 (diabody)"는 동일한 폴리펩티드 사슬 (V_H - V_L) 내에 경쇄 가변 도메인(V_L)에 연결된 중쇄 가변 도메인(V_H)을 포함하는, 2개의 항원 결합 부위가 있는 작은 항체 단편을 말한다. 동일한 사슬에 있는 2개의 도메인을 페어링시키기에는 너무 짧은 링커를 사용함으로써, 도메인을 다른 사슬의 상보성 도메인과 강제로 페어링시켜 2개의 항원 결합 부위를 생성시킨다. 디아바디는 예를 들어 EP 404,097, WO93/11611 및 Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:6444-6448 (1993)에 보다 상세하게 기재되어 있다.

"단리된" 항체란 자신의 천연 환경의 요소로부터 확인 및 분리 및(또는) 회수된 항체이다. 그의 천연 환경의 오염 요소는 항체의 진단 또는 치료적 사용을 방해하는 물질로서, 효소, 호르몬 및 다른 단백질 또는 비단백성 용질을 포함할 수 있다. 바람직한 실시양태에서, 항체는 (1) 로우리(Lowry) 방법에 의해 측정시 95 중량% 초과, 가장 바람직하게는 99 중량% 초과,의 항체로, 또는 (2) 스피닝 컵(spinner cup) 서열분석기를 사용하여 N 말단 또는 내부 아미노산의 잔기 15개 이상을 수득하기에 충분한 정도로, 또는 (3) 쿠마시 블루, 또는 바람직하게는 은 염색을 사용하여 환원 또는 비환원 조건 하에 SDS-PAGE에 의해 하나의 밴드로 정제될 것이다. 단리된 항체는 그 항체의 천연 환경의 하나 이상의 성분이 존재하지 않을 것이기 때문에, 재조합 세포 내의 원위치에서의 항체를 포함한다. 그러나, 단리된 항체는 일반적으로 하나 이상의 정제 단계에 의해 정제될 것이다.

"표지 (label)"는 이 명세서에 사용될 때, 항체에 직간접적으로 접합되어 "표지된" 항체를 생성시키는 검출가능한 화합물 또는 조성물을 말한다. 표지는 그 자체로 (방사성동위원소 표지 또는 형광 표지) 검출될 수 있거나, 효소 표지인 경우에는 검출가능한 기질 화합물 또는 조성물의 화학적 변형을 촉매할 수 있다. 탐지가능한 표지로 작용할 수 있는 라디오뉴클리드는 예를 들어, I-131, I-123, I-125, Y-90, Re-188, At-211, Cu-67, Bi-212 및 Pd-109를 포함한다. 표지는 독소와 같은 탐지불가능한 것일 수도 있다.

"고상 (solid phase)"은 본 발명의 항체가 부착될 수 있는 비수성 매트릭스를 의미한다. 고상의 예는 부분적으로 또는 완전하게 형성된 유리 (예를 들어 세공 조절된 유리), 폴리사카라이드 (예를 들어 아가로스), 폴리아크릴아미드, 폴리스티렌, 폴리비닐 알콜 및 실리콘 등이 있다. 특정 실시양태에서, 내용에 따라 고상은 분석 플레이트의 웰을 포함할 수 있으며, 다른 실시양태에서 고상은 정제 컬럼 (예를 들어 친화 크로마토그래피 컬럼)이다. 이 용어는 또한 미국 특허 제4,275,149호에 기재된 것과 같은 별개 입자의 비연속적 고상도 포함한다.

"리포솜"은 약물 (예를 들어 PRO 폴리펩티드 또는 이에 대한 항체)을 포유동물에게 전달하는 데 유용한 여러 형태의 지질, 인지질 및(또는) 계면활성제로 이루어진 작은 베지클 (vesicle)이다. 리포솜의 성분들은 통상적으로 생체막의 지질 정렬과 유사하게 이중층 형태로 정렬된다.

본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "이뮤노어드헤신"은 이뮤노글로불린 불변 도메인의 이펙터 기능과 이중 단백질 (어드헤신)의 결합 특이성을 겸비한 항체 유사 분자를 지칭한다. 구조적으로 보면 이뮤노어드헤신은 항체의 항원 인식 및 결합 부위가 아닌, 원하는 결합 특이성을 갖는 아미노산 서열과 이뮤노글로불린 불변 도메인 서열의 결합체를 포함한다. 이뮤노어드헤신 분자의 어드헤신 부분은 전형적으로 적어도 수용체 또는 리간드의 결합 부위를 포함하는 인접 아미노산 서열이다. 이뮤노어드헤신 중 이뮤노글로불린 불변 도메인 서열은 IgG-1, IgG-2, IgG-3, IgG-4 서브타입, IgA (IgA-1 및 IgA-2 포함), IgE, IgD 또는 IgM과 같은 임의의 이뮤노글로불린으로부터 얻을 수 있다.

II. 본 발명의 조성물 및 방법

A. PRO 변이체

본원에서 설명되는 전장 천연 서열 PRO 폴리펩티드 외에, PRO 변이체를 제조할 수 있는 것으로 생각된다. PRO 변이체는 적합한 뉴클레오티드 변화를 PRO DNA에 도입하고(하거나) 목적 PRO 폴리펩티드를 합성하여 제조할 수 있다. 당업자라면 글리코실화 부위의 수 또는 위치의 변경 또는 멤브레인 앵커링 특성의 변화와 같은 아미노산 변화가 RPO의 번역후 프로세싱을 변경시킬 수 있다는 것을 이해할 것이다.

본원에서 설명되는 전장 천연 서열 PRO 또는 PRO의 여러 도메인에서의 변이는 예를 들어 미국 특허 제5,364,934호에 개시된 보존적 및 비보존적 돌연변이 기술 및 지침을 사용하여 제조할 수 있다. 변이는 천연 서열 PRO와 비교되는 것으로 PRO의 아미노산 서열이 변화된 PRO를 코딩하는 하나 이상의 코돈의 치환, 결실 또는 삽입일 수 있다. 임의로, 변이는 하나 이상의 PRO 도메인에서 하나 이상의 아미노산을 임의 다른 아미노산으로 치환함으로써 생성된다. 목적 활성에 유해한 효과를 주지 않으면서 삽입, 치환 또는 결실될 수 있는 아미노산 잔기는 PRO의 서열을 공지의 상동 단백질 분자의 서열과 비교하고 상동성이 높은 영역에서 생성된 아미노산 서열 변화의 수를 최소화함으로써 결정할 수 있다. 아미노산 치환은 하나의 아미노산을 유사한 구조 및(또는) 화학적 특성을 갖는 다른 아미노산으로 치환, 예를 들어 루이신의 세린으로의 치환, 즉 아미노산의 보존적 치환의 결과일 수 있다. 삽입 또는 결실은 임의로 약 1 내지 5개의 아미노산에서 발생할 수 있다. 허용되는 변이는 서열 내에 아미노산을 체계적으로 삽입, 결실 또는 치환시키고, 전장 또는 성숙 천연 서열에 의해 나타나는 생성된 변이체의 활성을 시험함으로써 정할 수 있다.

구체적인 실시태양에서, 목적물의 보존적 치환은 바람직한 치환이라는 표제로 표 3에 나타내었다. 이러한 치환에 의해 생물학적 활성이 변화하는 경우, 하기 표 3에서 치환예로서 명명되거나 아미노산 종류에 대해서 하기에서 보다 상세하게 설명된 보다 실질적인 변화를 도입하고 생성물을 스크리닝하였다.

<표 3>

원잔기	예시적 치환	바람직한 치환
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

PRO 폴리펩티드의 기능 또는 번역학적 동일성의 실질적인 변형은 (a) 치환 영역에서의 폴리펩티드 백본의 구조를, 예를 들어 시트 또는 나선 형태로서 유지하거나, (b) 표적 부위에서의 분자의 하전 또는 소수성을 유지하거나, 또는 (c) 대부분의 측쇄를 유지하는 그의 효과를 상당히 변경시키는 치환을 선택함으로써 수행된다. 자연 발생 잔기는 공통적인 측쇄 특성에 따라 다음과 같은 군으로 구분된다:

- (1) 소수성: norleucine, met, ala, val, leu, ile;
- (2) 중성 친수성: cys, ser, thr;

- (3) 산성: asp, glu;
- (4) 염기성: asn, gln, his, lys, arg;
- (5) 사슬 배향에 영향을 미치는 잔기: gly, pro; 및
- (6) 방향족: trp, tyr, phe.

비보존적 치환은 상기 한 종류의 구성 성분을 다른 종류의 것으로 교환시킬 것이다. 또한, 이렇게 치환되는 잔기는 보존적 치환 부위에 도입될 수 있거나 또는 보다 바람직하게는 나머지 (비보존) 부위에 도입될 수 있다.

변이는 올리고뉴클레오티드 매개 (위치 지정) 돌연변이 유발법, 알라닌 스캐닝법 및 PCR 돌연변이 유발법과 같은 당업계에 공지된 방법을 사용하여 제조할 수 있다. 위치 지정 돌연변이 유발법 [Carter et al., Nucl. Acids Res., 13:4331 (1986); Zoller et al., Nucl. Acids Res., 10:6487 (1987)], 카세트 돌연변이 유발법 [Wells et al., Gene, 34:315 (1985)], 제한 선택 돌연변이 유발법 [Wells et al., Philos. Trans. R. Soc. London SerA, 317:415 (1986)] 또는 다른 공지의 기술을 클로닝된 DNA에 실시하여 본 발명의 PRO 폴리펩티드 변이체 DNA를 제조할 수 있다.

또한, 스캐닝 아미노산 분석법을 사용하여 인접 서열을 따라 하나 이상의 아미노산을 확인할 수 있다. 바람직한 스캐닝 아미노산은 비교적 작은 중성 아미노산이다. 이러한 아미노산은 알라닌, 글리신, 세린 및 시스테인을 포함한다. 통상적으로, 알라닌은 베타-탄소 밖의 측쇄를 제거하고 변이체의 주쇄 배열을 변경시킬 가능성이 적기 때문에 바람직한 스캐닝 아미노산이다 [Cunningham and Wells, Science, 244: 1081-1085 (1989)]. 또한, 알라닌은 통상적으로 가장 흔한 아미노산이기 때문에 바람직하다. 또한, 알라닌은 과묵힌 위치 및 노출된 위치 모두에서 빈번하게 발견된다 [Creighton, The Proteins, (W.H. Freeman & Co., N.Y.); Chothia, J. Mol. Biol., 150:1 (1976)]. 알라닌 치환이 적당한 양의 변이체를 생성시키지 않으면, 동배체(isoteric) 아미노산을 사용할 수 있다.

B. PRO의 변형

PRO의 공유결합 변형은 본 발명의 범위에 포함된다. 공유결합 변형의 한 형태는 PRO의 선택된 측쇄 또는 N 말단 또는 C 말단 잔기와 반응할 수 있는 유기 유도체화제와 PRO 폴리펩티드의 표적 아미노산 잔기를 반응시키는 것을 포함한다. 이관능성 작용제를 사용한 유도체화는 예를 들어 항-PRO 폴리펩티드 항체 정제 방법에 사용하기 위한 수불용성 지지체 매트릭스 또는 표면에 PRO를 가교결합시키거나 그 반대로 가교결합시키는데 유용하다. 통상 사용되는 가교결합제는 예를 들어 1,1-비스(디아조아세틸)-2-페닐에탄, 글루타르알데히드, N-히드록시숙신이미드 에스테르, 예를 들어 4-아지도살리실산과의 에스테르, 3,3'-디티오비스(숙신이미딜프로피오네이트)와 같은 디숙신이미딜 에스테르를 포함하는 동종이관능성 이미도에스테르, 비스-N-말레이미도-1,8-옥탄과 같은 이관능성 말레이미드 및 메틸-3-[(p-아지도페닐)디티오]프로피오이미데이트와 같은 물질을 포함한다.

다른 변형은 글루타미닐 및 아스파라기닐 잔기의 각각 대응하는 글루타미닐 및 아스파르틸 잔기로의 탈아미드화, 프롤린 및 리신의 히드록실화, 세린 또는 트레오닌 잔기의 히드록실기의 인산화, 리신, 아르기닌 및 히스티딘 측쇄의 알파-아미노기의 메틸화 [T.E. Creighton, Proteins: Structure and Molecular Properties, W.H. Freeman & Co., San Francisco, pp. 79-86(1983)], N-말단 아민의 아세틸화 및 C-말단 카르복실기의 아미드화를 포함한다.

본 발명의 범위 내에 포함되는 PRO 폴리펩티드의 공유결합 변형의 다른 유형은 폴리펩티드의 천연 글리코실화 패턴의 변화를 포함한다. 본원에서 "천연 글리코실화 패턴의 변화"는 천연 서열 PRO에서 발견되는 하나 이상의 탄수화물 잔기의 결실(잠재적인 글리코실화 부위를 제거하거나 화학적 및(또는) 효소적 방법에 의해 글리코실화를 결실시킴으로써) 및(또는) 천연 서열 PRO에 존재하지 않는 하나 이상의 글리코실화 부위의 부가를 의미한다. 또한, 이 용어는 존재하는 다양한 탄수화물 잔기의 특성 및 비율의 변화를 비롯한 천연 단백질의 글리코실화에 있어 질적 변화를 포함한다.

PRO 폴리펩티드에 대한 글리코실화 부위의 부가는 아미노산 서열의 변화에 의해 달성될 수 있다. 변화는 예를 들어 천연 서열 PRO에 하나 이상의 세린 또는 트레오닌 잔기의 부가 또는 치환에 의해 이루어질 수 있다 (O-연결 글리코실화 부위의 경우). PRO 아미노산 서열은 특히 목적 아미노산으로 번역되는 코돈을 생성시키도록 PRO 폴리펩티드를 코딩하는 DNA를 미리 선택된 염기에서 돌연변이시킴으로써 DNA 수준에서의 변화를 통하여 임의로 변화시킬 수 있다.

PRO 폴리펩티드 상의 탄수화물 잔기의 수를 증가시키는 다른 수단은 글리코시드를 폴리펩티드에 화학적으로 또는 효소에 의해 커플링시키는 것이다. 이러한 방법은 예를 들어 1987년 9월 11일 공개된 WO 87/05330 및 문헌 [Aplin and Wriston, CRC Crit. Rev. Biochem., pp. 259-306 (1981)]에 기재되어 있다.

PRO 폴리펩티드에 존재하는 탄수화물 잔기의 제거는 화학적으로 또는 효소에 의해 또는 글리코실화 표적으로 기능하는 아미노산 잔기를 코딩하는 코돈의 돌연변이에 의한 치환에 의해 달성될 수 있다. 화학적 탈글리코실화 기술은 당업계에 공지되어 있고, 예를 들어 문헌 [Hakimuddin, et al., Arch. Biochem. Biophys., 259:52(1987) 및 Edge et al., Anal. Biochem., 118:131(1981)]에 기재되어 있다. 폴리펩티드 상의 탄수화물 잔기의 효소에 의한 절단은 다양한 엔도글리코시다제 및 엑소글리코시다제를 사용하여 달성할 수 있다 [Thotakura et al., Meth. Enzymol., 138:350(1987)].

PRO의 공유결합 변형의 다른 종류는 미국 특허 제4,640,835호, 동 제4,496,689호, 동 제4,301,144호, 동 제4,670,417호, 동 제4,791,192호 또는 동 제4,179,337호에 기재된 방식으로 다양한 비단백질성 중합체, 예를 들어 폴리에틸렌 글리콜(PEG), 폴리프로필렌 글리콜 또는 폴리옥시알킬렌 중의 하나에 PRO 폴리펩티드를 연결시키는 것을 포함한다.

또한, 본 발명의 PRO는 다른 이종 폴리펩티드 또는 아미노산 서열에 결합된 PRO를 포함하는 키메라 분자를 형성하는 방식으로 변형될 수 있다.

본 발명의 한 실시태양에서, 이러한 키메라 분자는 항-태그 항체가 선택적으로 결합할 수 있는 에피토프를 제공하는 태그 폴리펩티드와 PRO의 결합체를 포함한다. 에피토프 태그는 일반적으로 PRO의 아미노 또는 카르복실 말단에 위치한다. 상기 에피토프 태그를 갖는 형태의 PRO의 존재는 태그 폴리펩티드에 대한 항체를 사용하여 검출할 수 있다. 또한, 에피토프 태그를 도입하면 항-태그 항체 또는 에피토프 태그에 결합하는 다른 종류의 친화성 매트릭스를 사용한 친화성 정제에 의해 PRO를 용이하게 정제할 수 있다. 다양한 태그 폴리펩티드 및 이들 각각의 항체는 당업계에 공지되어 있다. 그 예로는 폴리-히스티딘(poly-his) 또는 폴리-히스티딘-글리신 (poly-his-gly) 태그, flu HA 태그 폴리펩티드 및 그의 항체 12CA5 [Field et al., Mol. Cell. Biol., 8:2159-2165 (1988)], c-myc 태그 및 이에 대한 8F9, 3C7, 6E10, G4, B7 및 9E10 항체 [Evan et al., Molecular and Cellular Biology, 5:3610-3636 (1985)], 및 단순포진 바이러스 당단백질 D (gD) 태그 및 그의 항체 [Paborsky et al., Protein Engineering, 3(6):547-553 (1990)]를 들 수 있다. 다른 태그 폴리펩티드는 Flag-펩티드 [Hopp et al., BioTechnology, 6:1204-1210 (1988)], KT3 에피토프 펩티드 [Martin et al., Science, 255:192-194 (1992)], 알파-튜불린 에피토프 펩티드 [Skinner et al., J. Biol. Chem., 266:15163-15166 (1991)] 및 T7 유전자 10 단백질 태그 [Lutz-Freyermuth et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87:6393-6397 (1990)]를 포함한다.

다른 한 실시태양에서, 키메라 분자는 PRO와 이뮤노글로불린 또는 이뮤노글로불린의 특정 영역의 결합체를 포함할 수 있다. 키메라 분자의 2가 형태("면역어드헤신"으로 언급하기도 함)의 경우, 결합체는 IgG 분자의 Fc 영역일 수 있다. 이 Ig 결합체는 바람직하게는 Ig 분자내 1개 이상의 가변성 영역의 부위를 PRO 폴리펩티드의 가용성(결실 또는 실활화된 막횡단 도메인) 형태로 치환한 것을 포함한다. 특히 바람직한 한 실시태양에서, 이뮤노글로불린 결합체는 IgG1 분자의 힌지, CH2 및 CH3, 또는 힌지, CH1, CH2 및 CH3 영역을 포함한다. 이뮤노글로불린 결합체를 생산하는 방법으로는, 1995년 6월 27일 간행된 미국 특허 제5,428,130호를 참조한다.

C. PRO 폴리펩티드의 제조

본 발명은 본원에서 PRO 폴리펩티드로 언급된 폴리펩티드를 코딩하는 새로이 확인되고 단리된 뉴클레오티드 서열에 관한 것이다. 특히, 하기 실시예에 보다 상세히 기재된 바와 같이, 각종 PRO 폴리펩티드를 코딩하는 cDNA를 확인하고 단리하였다. 별도의 발현 라운드에서 생산된 단백질의 PRO 숫자는 다를 수 있지만 UNQ 수는 임의의 주어진 DNA 및 코딩된 단백질 특유의 것이며, 변하지 않을 것이다. 그러나, 본원에서는 간단하게, DNA35916-1161, DNA23339-1130, DNA16451-1388, DNA27865-1091, DNA27864-1155, DNA28497-1130, DNA26847-1395, DNA30942-1134, DNA32286-1191, DNA33094-1131, DNA33221-1133, DNA34434-1139, DNA35558-1167, DNA35638-1141, DNA33473-1176, DNA38260-1180, DNA39969-1185, DNA40628-1216, DNA35595-1228, DNA40981-1234, DNA47470-1130-P1, DNA47365-1206, DNA44184-1319, DNA48613-1268, DNA29101-1122, DNA49646-1327, DNA49829-1346, DNA56405-1357, DNA56352-1358, DNA59205-1421, DNA53974-1401, DNA57689-1385, DNA60615-1483, DNA59814-1486, DNA59846-1503, DNA64883-1526, DNA64885-1529, DNA64889-1541, DNA64903-1553, DNA64905-1558, DNA65409-1566, DNA65406-1567, DNA61873-1574, DNA64966-1575, DNA67300-1605, DNA68872-1620에 의해 코딩된 단백질, 및 상기 정의에 포함된 PRO의 다른 천연 상동체 및 변이체를 이들의 출처 및 제조 방식과 상관없이 각각 "PRO"로 언급할 것이다.

이하에 설명되는 내용은 주로 PRO 핵산을 함유하는 벡터로 형질전환 또는 형질감염된 세포를 배양함으로써 PRO를 제조하는 방법에 관한 것이다. 물론, 당업계에 공지된 다른 방법을 사용하여 PRO를 제조할 수 있다. 예를 들어, PRO 서열 또는 그의 단편은 고상 기술을 사용하는 직접 펩티드 합성법에 의해 제조할 수 있다 [문헌 (Stewart et al., Solid -Phase Peptide Synthesis, W.H. Freeman Co., San Francisco, CA (1969); Merrifield, J. Am. Chem. Soc., 85:2149-2154 (1963))을 참조한다]. 시험관내 단백질 합성은 수동 방법 또는 자동 방법에 의해 수행될 수 있다. 자동 합성법은 예를 들어 어플라이드 바이오시스템즈 펩티드 합성기(Applied Biosystems Peptide Synthesizer)(미국 캘리포니아주 포스터시티 소재)를 제조사의 지시에 따라 사용하여 수행할 수 있다. PRO의 상이한 단편을 별도로 화학적으로 합성하고 화학적 또는 효소적 방법을 사용하여 조합함으로써 전장 PRO 폴리펩티드를 제조할 수 있다.

i. PRO 폴리펩티드를 코딩하는 DNA의 단리

PRO 폴리펩티드를 코딩하는 DNA는 PRO 폴리펩티드를 코딩하는 mRNA를 보유하여 그를 검출가능한 수준으로 발현할 것으로 생각되는 조직으로부터 제조한 cDNA 라이브러리로부터 획득할 수 있다. 따라서, 인간 PRO 폴리펩티드를 코딩하는 DNA는 실시예에서 설명되는 바와 같이 인체 조직으로부터 제조된 cDNA 라이브러리로부터 편리하게 획득할 수 있다. 또한, PRO 폴리펩티드를 코딩하는 유전자는 게놈 라이브러리로부터 획득하거나 또는 올리고뉴클레오티드 합성으로 획득할 수 있다.

라이브리리는 원하는 유전자 또는 이 유전자에 의해 코딩되는 단백질을 확인하기 위해 디자인된 프로브 (예를 들어, 목적하는 PRO 폴리펩티드에 대한 항체 또는 약 20 내지 80개 이상의 염기로 구성된 올리고뉴클레오티드)를 사용하여 스크리닝할 수 있다. 선택된 프로브를 사용한 cDNA 또는 게놈 라이브러리의 스크리닝은 예를 들어 문헌 [Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual (New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989)]에 기재된 바와 같은 표준 방법을 사용하여 수행할 수 있다. PRO 폴리펩티드를 코딩하는 유전자를 단리하는 다른 수단은 PCR 방법을 사용하는 것이다 [Sambrook et al., 상기 문헌; Dieffenbach et al., PCR Primer: A Laboratory Manual (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1995)].

하기 실시예는 cDNA 라이브러리를 스크리닝하는 기술을 설명한다. 프로브로서 선택된 올리고뉴클레오티드 서열은 가양성 결과를 최소화하기 위해서 충분한 길이를 갖고 충분히 분명한 서열이어야 한다. 올리고뉴클레오티드는 스크리닝되는 라이브러리에서 DNA에 혼성화시에 검출될 수 있도록 표지되는 것이 바람직하다. 표지 방법은 당업계에 공지되어 있고, ^{32}P -표지된 ATP와 같은 방사성 표지, 비오티닐화 또는 효소 표지의 사용을 포함한다. 중간정도 엄격성 및 높은 엄격성을 포함하는 혼성화 조건은 문헌 (Sambrook et al., 상기 문헌)에서 제공된다.

상기 라이브러리 스크리닝 방법에서 확인된 서열은 GenBank와 같은 공용 데이터베이스 또는 다른 독점 서열 데이터베이스에 기탁되고 입수될 수 있는 다른 공지의 서열과 비교하여 정렬시킬 수 있다. 분자의 한정된 영역 내 또는 전장 서열에 걸친 서열 동일성 (아미노산 또는 뉴클레오티드 수준에서)은 상동성을 측정하기 위해 다양한 알고리즘을 사용하는 컴퓨터 소프트웨어 프로그램, 예컨대 ALIGN, DNASTAR 및 INHERIT를 사용하여 서열 정렬을 통해 결정할 수 있다.

단백질 코딩 서열을 갖는 핵산은 먼저 본원에서 개시된 추정 아미노산 서열을 사용하고 필요하다면 전구체를 검출하기 위해 문헌 (Sambrook et al., 상기 문헌)에 기재된 통상의 프라이머 신장 방법을 사용하여, 선택된 cDNA 또는 게놈 라이브러리를 스크리닝하고, cDNA로 역전사되지 않은 mRNA의 중간체를 프로세싱함으로써 획득할 수 있다.

ii. 숙주 세포의 선별 및 형질전환

숙주 세포는 PRO 폴리펩티드 생산을 위해 본원에서 설명한 발현 또는 클로닝 벡터로 형질감염 또는 형질전환되고 프로모터 유도, 형질전환체 선택 또는 목적 서열을 코딩하는 유전자 증폭에 적합하게끔 개질된 통상의 영양 배지 중에서 배양된다. 당업자라면 불필요한 실험을 수행하지 않고서도 배지, 온도, pH 등과 같은 배양 조건을 선택할 수 있다. 일반적으로, 세포 배양물의 생산성을 최대화하기 위한 원칙, 프로토콜 및 실시되는 기술은 문헌 [Mammalian Cell Biotechnology: a Practical Approach, M. Butler, ed. (IRL Press, 1991) 및 Sambrook et al., 상기 문헌]에서 찾을 수 있다.

진핵세포 형질감염 방법 및 원핵세포 형질전환 방법, 예를 들어 CaCl_2 , CaPO_4 , 리포솜-매개 방법 및 일렉트로포레이션은 당업계의 숙련자에게 공지되어 있다. 사용되는 숙주 세포에 따라, 형질전환은 상기 세포에 적합한 표준 기술을 사용하여 수행된다. 문헌 (Sambrook et al., 상기 문헌)에 기재된 염화칼슘법을 이용하는 칼슘 처리, 또는 일렉트로포레이션은 일반적으로 원핵세포에 대해 사용된다. 아그로박테리움 투메파시엔스(Agrobacterium tumefaciens)를 사용한 감염은 문

헌 [Shaw et al., Gene, 23:315(1983) 및 1989년 6월 29일 공개된 WO 89/05859]에 기재된 바와 같이 특정 식물 세포의 형질전환에 사용된다. 상기 세포벽이 없는 포유동물 세포의 경우, 문헌 [Graham and van der Eb, Virology, 52:456-457 (1978)]의 인산칼슘 침전법을 사용할 수 있다. 포유동물 세포 숙주 시스템 형질감염의 일반적인 특징은 미국 특허 제 4,399,216호에 기재되어 있다. 효모 내로의 형질전환은 일반적으로 문헌 [Van Solingen et al., J. Bact., 130:949(1977) 및 Hsiao et al., Proc. Natl. Acad. Sci.(USA), 76:3829(1979)]의 방법에 따라 수행된다. 그러나, 세포 내로 DNA를 도입하는 다른 방법, 예를 들어 핵내 미세주입, 일렉트로포레이션, 원형 세포와 세균 원형질체 결합, 또는 다원양이온 (polycation), 예를 들어 폴리브렌, 폴리오르니틴도 사용할 수 있다. 포유동물 세포의 형질전환을 위한 여러 기술에 대해서는 문헌 [Keown et al., Methods in Enzymology, 185:527-537 (1990) 및 Mansour et al., Nature, 336:348-352 (1988)]을 참조한다.

본원에서 벡터 내의 DNA를 클로닝 또는 발현하기에 적합한 숙주 세포에는 원핵세포, 효모 또는 고등 진핵세포가 포함된다. 적합한 원핵세포는 진정세균, 예를 들어 그람 음성 또는 그람 양성 생물, 예를 들어 엔테로박테리아세아 (Enterobacteriaceae), 예를 들어 이. 콜라이를 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 다양한 이. 콜라이 균주, 예를 들어 이. 콜라이 K12 균주 MM294 (ATCC 31,446), 이. 콜라이 X1776 (ATCC 31,537), 이. 콜라이 균주 W3110 (ATCC 27,325) 및 K5 772 (ATCC 53,635)는 용이하게 입수할 수 있다. 다른 적합한 원핵생물 숙주 세포는 에셔리키아 (Eshcherichia), 예를 들어 이. 콜라이, 엔테로박터 (Enterobacter), 에르위니아 (Erwinia), 클렙시엘라 (Klebsiella), 프로테우스 (Proteus), 살모넬라 (Salmonella), 예를 들어 살모넬라 티피무리움 (typhimurium), 세라티아 (Serratia), 예를 들어 세라티아 마르세스칸스 (marcescans) 및 시겔라 (Shigella)와 같은 장내세균과 (Enterobacteriaceae), 및 바실러스 (Bacillus), 예를 들어 비. 서브틸리스 (subtilis) 및 비. 리체니포르미스 (licheniformis) (예를 들어, 1989년 4월 12일자로 공고된 DD 266,710 호에 기재된 비. 리체니포르미스 41P), 슈도모나스 (Pseudomonas), 예를 들어 피. 아에루기노사 (aeruginosa) 및 스트렙토마이세스 (Streptomyces)를 포함한다. 이러한 예는 단지 예시적인 것으로서 이에 제한되는 것은 아니다. 균주 W3110은 재조합 DNA 산물 발효에 공통적인 숙주 균주이기 때문에 특히 바람직한 숙주 또는 모 숙주이다. 바람직하게는, 숙주 세포는 최소량의 단백질 분해 효소를 분비한다. 예를 들어, 균주 W3110은 숙주의 내생 단백질을 코딩하는 유전자의 돌연변이를 초래하도록 변형될 수 있고, 이러한 숙주의 예는 완전한 유전자형 tonA를 갖는 이. 콜라이 W3110 균주 1A2, 완전한 유전자형 tonA ptr3을 갖는 이. 콜라이 W3110 균주 9E4, 완전한 유전자형 tonA ptr3 phoA E15 (argF-lac)169 degP ompT kan^r를 갖는 이. 콜라이 W3110 균주 27C7 (ATCC 55,244), 완전한 유전자형 tonA ptr3 phoA E15 (argF-lac)169 degP ompT rbs7 ilvG kan^r를 갖는 이. 콜라이 W3110 균주 37D6, 비-카나마이신 내성 degP 결실 돌연변이를 갖는 균주 37D6인 이. 콜라이 W3110 균주 40B4 및 1990년 8월 7일 공포된 미국 특허 제4,946,783호에 개시된 페리플라즈م 프로테아제 변이체를 갖는 이. 콜라이 균주를 포함한다. 별법으로, 시험관내 클로닝 방법, 예를 들어 PCR 또는 다른 핵산 폴리머라제 반응이 적합하다.

원핵세포 외에, 섬유상 진균 또는 효모와 같은 진핵 미생물이 PRO 폴리펩티드를 코딩하는 벡터의 클로닝 또는 발현 숙주로서 적합하다. 사카로마이세스 세레비지에 (Saccharomyces cerevisiae)가 일반적으로 사용되는 하등 진핵 숙주 미생물이다. 다른 미생물에는 시조사카로마이세스 폼베 (Schizosaccharomyces pombe) (Beach and Nurse, Nature, 290: 140 [1981]; 1985년 5월 2일 공고된 EP 139,383); 클루이베로마이세스 (Kluyveromyces) 숙주 (미국 특허 제4,943,529호; Fleer et al., Bio/Technology, 9:968-975 (1991)), 예를 들어 케이. 락티스 (lactis) (MW98-8C, CBS683, CBS4574; Louvencourt et al., J. Bacteriol., 737 [1983]), 케이. 프라길리스 (fragilis) (ATCC 12,424), 케이. 불가리쿠스 (bulgaricus) (ATCC 16,045), 케이. 위케라미 (wickeramii) (ATCC 24,178), 케이. 왈티이 (waltii) (ATCC 56,500), 케이. 드로소필라룸 (drosophilum) (ATCC 36,906; Van den Berg et al., Bio/Technology, 8:135(1990)), 케이. 테르모톨레란스 (thermotolerans) 및 케이. 막시아누스 (marxianus); 야로위아 (yarrowia) (EP 402,226); 피치아 파스토리스 (Pichia pastoris) (EP 183,070; Sreekrishna et al., J. Basic Microbiol., 28:265-278 [1988]); 칸디다 (Candida); 트리코데르마 레에시아 (Trichoderma reesia) (EP 244,234); 뉴로스포라 크라사 (Neurospora crassa; Case et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 76:5259-5263 [1979]); 시와니오마이세스 (Schwanniomyces), 예를 들어 시와니오마이세스 옥시덴탈리스 (occidentalis) (1990년 10월 31일 공고된 EP 394,538); 및 섬유상 진균, 예를 들어 뉴로스포라, 페니실리움 (Penicillium), 톨리포클라디움 (Tolypocladium) (1991년 1월 10일 공고된 WO 91/00357) 및 아스퍼길러스 (Aspergillus) 숙주, 예를 들어 에이. 니둘란스 (nidulans) (Ballance et al., Biochem. Biophys. Res. Commun., 112:284-289 [1983]; Tilburn et al., Gene, 26:205-221 [1983]; Yelton et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81: 1470-1474 [1984]) 및 에이. 니게르 (niger) (Kelly and Hynes, EMBO J., 4: 475-479 [1985])가 포함된다. 메틸 영양 요구성 효모가 적합하고, 한세놀라 (Hansenula), 칸디다 (Candida), 클로엑케라 (Kloeckera), 피치아, 사카로마이세스, 톨룰롭시스 (Torulopsis) 및 로도토룰라 (Rhodotorula)로 이루어지는 속으로부터 선택된, 메탄올 상에서 성장할 수 있는 효모를 포함하나 이에 한정되지 않는다. 이들 종류의 효모의 예인 구체적인 종의 목록은 문헌 [C. Anthony, The Biochemistry of Methylootrophs, 269 (1982)]에 기재되어 있다.

클리코실화된 PRO 폴리펩티드의 발현에 적합한 숙주 세포는 다세포 생물로부터 유래한다. 무척추동물 세포의 예에는 드로소필라 S2 및 스포도프테라 Sf9와 같은 곤충 세포 및 식물 세포가 포함된다. 유용한 포유동물 숙주 세포주의 예에는 차이나이즈 햄스터 난소 (CHO) 세포 및 COS 세포가 포함된다. 보다 구체적인 예에는 SV40에 의해 형질전환된 원숭이 신장 CV1 라인 (COS-7, ATCC CRL 1651), 인간 배아 신장 라인 (293 세포 또는 현탁 배양액 중의 성장을 위해 서브클로닝된 293 세포, Graham et al., J. Gen. Virol., 36:59(1997)), 차이나이즈 햄스터 난소 세포/-DHFR (CHO, Urlaub and Chasin, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77:4216 (1980)), 마우스 세르톨리 세포 (TM4, Mather, Biol. Reprod., 23:243-251 (1980)), 인간 폐 세포 (W138, ATCC CCL 75), 인간 간세포 (Hep G2, HB 8065) 및 마우스 유방 종양 (MMT 060562, ATCC CCL51)이 포함된다. 당업계의 숙련가라면 적합한 숙주 세포를 선택할 수 있다.

iii. 복제가능 벡터의 선별 및 사용

PRO 폴리펩티드를 코딩하는 핵산 (예를 들어, cDNA 또는 게놈 DNA)은 클로닝 (DNA의 증폭) 또는 발현을 위한 복제가능 벡터에 삽입할 수 있다. 다양한 벡터를 용이하게 구할 수 있다. 예를 들어, 벡터는 플라스미드, 코스미드, 바이러스 입자 또는 파지의 형태일 수 있다. 적합한 핵산 서열은 다양한 방법에 의해 벡터 내에 삽입될 수 있다. 일반적으로, 당업계에 공지된 기술을 사용하여 DNA를 적합한 제한 엔도뉴클레아제 부위(들) 내에 삽입한다. 벡터 성분은 일반적으로 신호 서열, 복제 기점, 하나 이상의 마커 유전자, 인핸서 성분, 프로모터 및 전사 종결 서열을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 상기 성분을 하나 이상 포함하는 적합한 벡터의 제조는 당업계의 숙련가에게 공지된 표준 라이게이션 기술을 사용한다.

PRO 폴리펩티드는 직접 재조합 방법에 의해 생산될 수 있을 뿐만 아니라 성숙 단백질 또는 폴리펩티드의 N-말단에서 특이적 절단 부위를 갖는 다른 폴리펩티드 또는 신호 서열일 수 있는 이중 폴리펩티드와의 결합 폴리펩티드로서 생산될 수 있다. 일반적으로, 신호 서열은 벡터의 성분일 수 있거나 또는 벡터 내로 삽입된 PRO 폴리펩티드를 코딩하는 DNA의 일부일 수 있다. 신호 서열은 예를 들어 알칼리 포스파타제, 페니실리나제, lpp 또는 열안정성 엔테로톡신 II 리더의 균으로부터 선택된 원핵생물 신호 서열일 수 있다. 효모 분비를 위해, 신호 서열은 예를 들어 효모 인버타제 리더, α 인자 리더 (사카로마이세스 및 클루이베로마이세스 α -인자 리더 (미국 특허 제5,010,182호)를 포함함) 또는 산 포스파타제 리더, 썬. 알비칸스 (*C. albicans*) 글루코아밀라제 리더 (1990년 4월 4일 공고된 EP 362,179) 또는 1990년 11월 15일 공개된 WO 90/13646에 기재된 신호 서열일 수 있다. 포유동물 세포 발현에서, 포유동물 신호 서열, 예를 들어 동일하거나 관련된 종의 분비 폴리펩티드로부터의 신호 서열 및 바이러스 분비 리더를 사용하여 단백질의 분비를 지시할 수 있다.

발현 및 클로닝 벡터 모두는 벡터가 선택된 1종 이상의 숙주 세포에서 복제할 수 있도록 만드는 핵산 서열을 함유한다. 이러한 서열은 다양한 세균, 효모 및 바이러스에 대해 공지되어 있다. 플라스미드 pBR322로부터의 복제 기점은 대부분의 그람 음성 세균에 적합하고, 2 μ 플라스미드 기점은 효모에 적합하고, 다양한 바이러스 기점 (SV40, 폴리오마, 아데노바이러스, VSV 또는 BPV)은 포유동물 세포에서 벡터를 클로닝하는데 유용하다.

발현 및 클로닝 벡터는 통상적으로 선택가능한 마커로도 불리우는 선택 유전자를 함유할 것이다. 대표적인 선택 유전자, 예를 들어 바실러스 (*Bacillus*)의 경우 D-알라닌 라세마제를 코딩하는 유전자는 (a) 항생제 또는 다른 독소, 예를 들어 암피실린, 네오마이신, 메토크세이트 또는 테트라사이클린에 내성을 부여하는 단백질, (b) 영양요구성 결함을 보완하는 단백질 또는 (c) 복합 배지로부터 이용할 수 없는 중요한 영양물질을 공급하는 단백질을 코딩한다.

포유동물 세포에 적합한 선택가능한 마커의 예는 PRO 폴리펩티드를 코딩하는 핵산을 수용할 수 있는 세포의 동정을 가능하게 하는 것, 예를 들어 DHFR 또는 티미딘 키나제이다. 야생형 DHFR이 이용될 경우, 적합한 숙주 세포는 DHFR 활성이 결여된 CHO 세포주이고, 문헌 [Urlaub et al, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77:4216 (1980)]에 기재된 바와 같이 제조 및 증식된다. 효모에 사용하는데 적합한 선택 유전자는 효모 플라스미드 YRp7에 존재하는 trp1 유전자이다 [Stinchcomb et al., Nature, 282:39 (1979); Kingsman et al., Gene, 7:141 (1979); Tschemper et al., Gene, 10:157 (1980)]. trp1 유전자는 트립토판으로의 성장능이 결여된 효모의 변이주 (예를 들어, ATCC 44076 또는 PEP4-1)에 대한 선택 마커를 제공한다 [Jones, Genetics, 85: 12 (1977)].

발현 및 클로닝 벡터는 일반적으로 mRNA 합성을 지시하는 PRO 폴리펩티드를 코딩하는 핵산 서열에 작동가능하게 연결된 프로모터를 함유한다. 다양한 잠재적인 숙주 세포에 의해 인식되는 프로모터는 공지되어 있다. 원핵생물 숙주에 사용하기에 적합한 프로모터에는 β -락타마제 및 락토스 프로모터 시스템 [Chang et al., Nature, 275:615 (1978); Goeddel et al., Nature, 281:544 (1979)], 알칼리 포스파타제, 트립토판 (trp) 프로모터 시스템 [Goeddel, Nucleic acid Res., 8:4057 (1980); EP 36,776], 및 하이브리드 프로모터, 예를 들어 tac 프로모터 [deBoer et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 80:21-25 (1983)]를 포함한다. 또한, 세균계에서 사용되는 프로모터는 PRO 폴리펩티드를 코딩하는 DNA에 작동가능하게 연결된 샤인-달가노 (S.D.) 서열을 함유할 것이다.

효모 숙주에 사용하기 적합한 프로모터 서열의 예는 3-포스포글리세레이트 키나제 [Hitzeman et al., J. Biol. Chem., 255:2073 (1980)] 또는 다른 당분해 효소 [Hess et al., J. Adv. Enzyme Reg., 7:149 (1968); Holland, Biochemistry, 17:4900 (1978)], 예를 들어 에놀라제, 글리세르알데히드-3-포스페이트 디히드로게나제, 헥소키나제, 피루베이트 디카르복실라제, 포스포프рук토키나제, 글루코스-6-포스페이트 이소머라제, 3-포스포글리세레이트 뮤타제, 피루베이트 키나제, 트리오스포스페이트 이소머라제, 포스포글루코스 이소머라제 및 글루코키나제에 대한 프로모터를 포함한다.

성장 조건에 의해 조절되는 전사의 추가의 이점을 갖는 유도가능한 프로모터인 다른 효모 프로모터는 알코올 디히드로게나제 2, 이소시토크롬 C, 산 포스파타제, 질소 대사에 관련된 분해 효소, 메탈로티오네인, 글리세르알데히드-3-포스페이트 디히드로게나제, 및 말토스 및 갈락토스 이용에 작용하는 효소에 대한 프로모터 영역이다. 효모 발현에 사용하기에 적합한 벡터 및 프로모터는 추가로 EP 제73,657호에 기재되어 있다.

포유동물 숙주 세포내의 벡터로부터의 PRO 핵산 전사는 바이러스, 예를 들어 폴리오마 바이러스, 계두 바이러스 (1989년 7월 5일 공고된 UK 2,211,504호), 아데노바이러스 (예를 들어, 아데노바이러스 2), 소 유두종 바이러스, 조류 육종 바이러스, 사이토메갈로바이러스, 레트로바이러스, B형 간염 바이러스 및 원숭이 바이러스 40 (SV40)의 계놈으로부터 얻어진 프로모터, 이중 포유동물 프로모터, 예를 들어 액틴 프로모터 또는 이뮤노글로불린 프로모터 및 열-충격 프로모터로부터 얻어진, 숙주 세포계에 적합성인 프로모터에 의해 조절된다.

고등 진핵세포에 의한 PRO 폴리펩티드를 코딩하는 DNA의 전사는 인헨서 서열을 벡터에 삽입함으로써 증가될 수 있다. 인헨서는 일반적으로 전사를 증가시키기 위해 프로모터에 대해 작용하는, 약 10 내지 300 bp의 DNA의 시스-액팅 성분이다. 많은 인헨서 서열은 포유동물 유전자 (글로빈, 엘라스타제, 알부민, α -페토단백질 및 인슐린)로부터 유래하는 것으로 알려져 있다. 그러나, 통상적으로 진핵세포 바이러스로부터 유래한 인헨서를 사용할 것이다. 그 예는 복제 기점의 뒷부분 상의 SV40 인헨서 (bp 100-270), 사이토메갈로바이러스 초기 프로모터 인헨서, 복제 기점의 뒷부분 상의 폴리오마 인헨서, 및 아데노바이러스 인헨서를 포함한다. 인헨서는 PRO 폴리펩티드를 코딩하는 서열에 5' 또는 3' 위치에서 벡터에 스플라이싱될 수 있지만, 프로모터로부터 5' 부위에 위치하는 것이 바람직하다.

또한, 진핵생물 숙주 세포 (효모, 진균, 곤충, 식물, 동물, 인간 또는 다른 다세포 생물로부터 유래한 다핵 세포)에 사용되는 발현 벡터는 전사 종결 및 mRNA 안정화에 필요한 서열을 포함할 수 있을 것이다. 그러한 서열은 통상적으로 진핵세포 또는 바이러스 DNA 또는 cDNA의 5' 및 때로는 3' 비번역 영역으로부터 확보된다. 이들 영역은 PRO 폴리펩티드를 코딩하는 mRNA의 비번역 부분에서 폴리아데닐화 단편으로서 전사되는 뉴클레오티드 단편을 포함한다.

재조합 척추동물 세포 배양에서 PRO 폴리펩티드의 합성에 적용하는 데 적합한 다른 방법, 벡터 및 숙주 세포는 문헌 [Gething et al., Nature, 293:620-625 (1981); Mantei et al., Nature, 281:40-46 (1979); EP 117,060 및 EP 117,058]에 기재되어 있다.

iv. 유전자 증폭/발현의 검출

유전자 증폭 및(또는) 발현은 예를 들어 통상의 서던 블로팅, mRNA의 전사를 정량하기 위한 노던 블로팅 [Thomas, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77:5201-5205 (1980)], 도트 블로팅 (DNA 분석) 또는 본원에서 제공된 서열을 기초로 하여 적절하게 표지된 프로브를 사용한 *in situ* 혼성화에 의해 시료에서 직접 측정할 수 있다. 별법으로, DNA 이중쇄, RNA 이중쇄 및 DNA-RNA 혼성 이중쇄 또는 DNA-단백질 이중쇄를 비롯한 특정 이중쇄를 인식할 수 있는 항체를 사용할 수 있다. 바꾸어 말하면, 항체를 표지하고, 상기 이중쇄를 표면에 결합시켜, 표면 상에 이중쇄가 형성될 때 이중쇄에 결합한 항체의 존재를 검출할 수 있는 분석을 수행할 수 있다.

별법으로, 유전자 발현은 세포 또는 조직 절편의 면역조직화학적 염색과 같은 면역학적 방법 및 유전자 산물의 발현을 직접 정량하기 위한 세포 배양액 또는 체액의 분석에 의해 측정할 수 있다. 면역조직화학적 염색 및(또는) 시료 유체의 분석에 유용한 항체는 모노클로날 또는 폴리클로날 항체일 수 있고, 임의 포유동물에서 제조할 수 있다. 편리하게는, 천연 PRO 폴리펩티드 또는 본원에서 제공되는 DNA 서열을 기초로 한 합성 펩티드, 또는 PRO 폴리펩티드를 코딩하는 DNA에 결합되고 특정 항체 에피토프를 코딩하는 외인성 서열에 대한 항체를 제조할 수 있다.

v. 폴리펩티드의 정제

PRO 폴리펩티드의 형태는 배양 배지 또는 숙주 세포 용균액으로부터 회수될 수 있다. 멤브레인에 결합하는 경우, 적합한 세제 용액(예를 들어 Triton-X 100)을 사용하거나 효소의 절단에 의해 멤브레인으로부터 방출될 수 있다. PRO 폴리펩티드의 발현에 사용된 세포는 동결-해동 사이클, 초음파 처리, 기계적 분쇄 또는 세포 용균제와 같은 다양한 물리적 또는 화학적 수단에 의해 분쇄시킬 수 있다.

재조합 세포 단백질 또는 폴리펩티드로부터 PRO 폴리펩티드를 정제하는 것이 바람직할 수 있다. 적합한 정제 방법의 예는 이온 교환 컬럼 상에서의 분획화, 에탄올 침전, 역상 HPLC, 실리카 또는 양이온 교환 수지, 예를 들어 DEAE 상에서의 크로마토그래피, 크로마토포커싱, SDS-PAGE, 황산암모늄 침전, 예를 들어 Sephadex G-75를 사용한 겔 여과, IgG와 같은 오염물질을 제거하기 위한 단백질 A 세파로스 컬럼 및 PRO 폴리펩티드의 에피토프 태그 형태를 결합시키기 위한 금속 킬레이팅 컬럼이다. 다양한 단백질 정제 방법을 사용할 수 있으며, 이러한 방법은 당업계에 공지되어 있으며, 예를 들어 문헌 [Deutscher, Methods in Enzymology, 182 (1990); Scopes, Protein Purification: Principles and Practice, Springer-Verlag, New York (1982)]에 기재되어 있다. 선택되는 정제 단계(들)은 예를 들어 사용되는 생산 방법 및 생산되는 특정 PRO 폴리펩티드의 특성에 따라 결정될 것이다.

D. PRO 폴리펩티드의 용도

i. 심혈관 활성화, 내피 활성화 및 혈관신생 활성화에 대한 검정

다양한 검정법을 이용하여 심혈관 활성화, 내피 활성화 및 혈관신생 활성화에 대해 본원의 폴리펩티드를 시험할 수 있다. 이러한 검정법은 하기 실시예에 기재된 것을 포함한다.

미국 특허 제5,773,414호에 개시된, 엔도텔린 길항제 활성화에 대한 시험용 검정법은 상기 폴리펩티드가 수용체 검정법에서 요오드화된 엔도텔린-1 결합을 억제하는 그의 능력에 대해 시험하는 래트 심장 심실 결합 검정법, 토끼 동맥 혈관 평활근 세포를 사용하여 방사선표지된 엔도텔린-1의 온전한 세포 결합에 대해 시험하는 엔도텔린 수용체 결합 검정법, 제2 메신저의 세포 내 농도를 측정하여 Rat-1 세포에서 기능 활성을 측정하는 이노시톨 포스페이트 축적 검정법, 수컷 뉴질랜드 토끼의 내피세포를 사용하는 시험관내 (단리된 혈관) 연구에서 배양된 혈관 평활근의 엔도텔린-자극된 아라키돈산 방출을 감소시키는 첨가 화합물의 능력을 측정하는 아라키돈산 방출 검정법, 및 스프라그-다우레이 래트를 사용한 생체내 연구를 포함한다.

조직 재생 활성화 검정법은 WO 95/16035 (뼈 연골, 힘줄); WO 95/05846 (신경, 신경세포); 및 WO 91/07491 (피부, 내피 세포)에 기재된 것을 포함하나 여기에 제한되지 않는다.

창상-치유 활성화 검정법은 예를 들어, 문헌 (Eaglstein and Mertz, J. Invest. Dermatol., 71: 382-384 (1978))에 의해 변형된, 문헌 (Winter, Epidermal Wound Healing, Maibach, HI and Rovee, DT, eds (Year Book Medical Publishers, Inc., Chicago), pp. 71-112)에 기재된 검정법을 포함한다.

엔도텔린 B₁ (ETB₁) 수용체 폴리펩티드에 결합하고 신호 전달 활성을 조절하는 PRO 폴리펩티드와 관련된 시험 화합물을 스크리닝하는 검정법은 엔도텔린 B₁ 수용체 폴리펩티드를 코딩하는 DNA로 형질전환된 숙주 세포를 제공하는 단계, 이 세포를 시험 후보물질에 노출시키는 단계, 및 예컨대 미국 특허 제5,773,223호에 기재된 바와 같이 엔도텔린 B₁ 수용체 신호 전달 활성을 측정하는 단계를 포함한다.

여러 가지 심비대증 검정법이 있다. 시험관내 검정법은 성숙 래트 심근세포의 퍼짐을 유도하는 것을 포함한다. 이 검정법에서, 본질적으로 문헌 (Piper et al., "Adult ventricular rat heart muscle cells" in Cell Culture Techniques in Heart and Vessel Research, H.M. Piper, ed. (Berlin:Springer-Verlag, 1990), pp. 36-60)에 상세히 기재된 방법의 변형에 따라 단일 (수컷 스프라그-다우레이) 래트로부터 심실 근세포를 단리한다. 이 방법은 성숙 심실 근세포의 단리를 허용하고 막대 모양의 표현형으로 이들 세포를 장기간 배양하는 것을 허용한다. 페닐레프린 및 프로스타글란딘 F_{2α}(PGF_{2α})는 이들 성숙 세포에서 퍼짐 반응을 유도하는 것으로 나타났다. 그 다음으로, 심비대증의 다양한 잠재적 억제제로 PGF_{2α} 또는 PGF_{2α} 동족체에 의해 유도된 근세포 퍼짐의 억제를 시험한다.

생체내 검정법의 한 예는 생체내에서 플루프로스테놀에 의해 유도된 심비대증을 억제에 대한 시험이다. 이 제약학적 모델은 플루프로스테놀 (PGF_{2α}의 아고니스트 동족체)의 피하 주사에 의해 래트에서 유도된 심비대증을 억제하는 PRO 폴리

펩티드의 능력을 시험한다. 심근경색증에 의해 유도된 병적 심비대증을 앓는 래트는 그들의 심근에서 임상적으로 추출 가능한 고농도의 PGF_{2α}를 갖는 것이 공지되어 있다 (Lai et al., Am. J. Physiol. (Heart Circ. Physiol.), 271:H2197-H2208 (1996)). 따라서, 생체내에서 심근 성장에 대한 플루프로스테놀의 효과를 억제할 수 있는 인자는 잠재적으로 심비대증의 치료에 유용하다. 심비대증에 대한 PRO 폴리펩티드의 효과는 PRO 폴리펩티드를 수용하지 않는 플루프로스테놀-처리 래트에 비례한 심장, 심실 및 좌심실의 중량(체중에 의해 표준화됨)을 측정하여 결정한다.

생체내 검정법의 또다른 예는 압력-과부하 심비대증 검정법이다. 생체내 시험을 위해, 시험 동물의 복부 대동맥의 수축으로 압력-과부하 심비대증을 유도하는 것이 보통이다. 전형적인 프로토콜에서, 래트(예컨대, 수컷 위스타 또는 스프라그-다우레이)를 마취 하에 처리하고, 각 래트의 복부 대동맥을 횡경막 바로 아래에서 좁힌다 (Beznak M., Can. J. Biochem. Physiol., 33: 985-94 (1995)). 대동맥을 절개 수술하여 노출시키고, 뚫바늘을 혈관 옆에 배치한다. 바늘 주위의 견사로 봉합하여 대동맥을 수축시키는데, 상기 견사는 즉시 제거되고 바늘의 직경까지 대동맥의 루멘(lumen)을 줄인다. 이 방법은 예를 들어, 문헌(Rossi et al., Am. Heart J., 124: 700-709 (1992) and O'Rourke and Reibel, P.S.E.M.B., 200: 95-100 (1992))에 기재되어 있다.

또다른 생체내 검정법에서, 실험적으로 유도된 심근경색증(MI) 다음의 심비대증에 대한 효과를 측정한다. 급성 MI는 래트에서 좌심장동맥 결찰로 유도하고 심전도 검사로 확인한다. 결보기 수술한 동물군도 대조 동물로서 준비한다. 초기 데이터는 심장 중량 대 체중 비율의 18% 증가로 입증된 MI를 앓는 동물군에 심비대증이 존재함을 나타낸다(상기 Lai et al.). 심비대증의 후보 차단제, 예컨대 PRO 폴리펩티드를 이용한 이들 동물의 치료는 시험된 후보물질의 치료 잠재력에 대한 가치 있는 정보를 제공한다. 스프라그-다우레이 래트를 이용한 심비대증 유도에 대한 이러한 검정 시험이 추가로 미국 특허 제5,773,415호에 개시되어 있다.

암에 대해서는, 잘 공지된 다양한 동물 모델을 사용하여 암의 발달 및 병리과정에 있어서 본원에서 확인한 유전자의 역할을 더 이해하고, 소분자 길항제와 같은 천연 PRO 폴리펩티드의 항체 및 다른 길항제를 비롯한 후보 치료제의 효능을 시험할 수 있다. 이러한 모델의 생체내 성질은 인간 환자에서 구체적인 반응을 예측할 수 있게 한다. 종양 및 암(예를 들어, 유방암, 결장암, 전립선암, 폐암 등)의 동물 모델에는 비재조합 동물 및 재조합(형질전환) 동물이 포함된다. 비재조합 동물에는 예를 들어, 설치류(예컨대, 뮤린 동물)가 포함된다. 이러한 모델은 표준 기술, 예를 들어 피하 주사, 꼬리 정맥 주사, 비장 이식, 복강내 이식, 신장 캡슐 하의 이식, 또는 오르토포 이식(예컨대, 결장 조직에 이식된 결장 암세포)을 이용하여 종양 세포를 유전적 동계의 마우스 내로 도입하여 만들 수 있다(예컨대, 1997년 9월 18일 공개된 PCT 공개 제WO97/33551호 참조). 종양학 연구에 가장 흔히 사용된 동물종은 아마도 면역결핍 마우스, 구체적으로는 누드 마우스이다. 흉선 저형성증 또는 무형성증을 앓는 누드 마우스가 인간 종양 이종이식을 위한 숙주로서 성공적으로 작용할 수 있었다는 관찰 때문에 누드 마우스가 이 목적에 많이 사용된다. 상염색체 열성 *nu* 유전자가 예를 들어, ASW, A/He, AKR, BALB/c, B10.LP, C17, C3H, C57BL, C57, CBA, DBA, DDD, I/st, NC, NFR, NFS, NFS/N, NZB, NZC, NZW, P, RIII 및 SJL을 포함한 누드 마우스의 많은 별개의 유사유전자형(congenic) 중 내로 도입하였다. 추가로, 누드 마우스 이외에 유전적 면역 결핍을 앓는 다양한 기타 동물을 육종하여 왔고 종양 이종이식의 수령자로서 이용하여 왔다. 보다 자세한 것을 위해서는 예를 들어, 문헌(The Nude Mouse in Oncology Research, E. Boven and B. Winograd, eds. (CRC Press, Inc., 1991))을 참조한다.

이러한 동물 내로 도입된 세포는 예컨대 상기 기재한 종양세포주, 예를 들어 B104-1-I 세포주(*neu* 원종양유전자로 형질감염된 안정한 NIH-3T3 세포주); *ras*-형질감염된 NIH-3T3 세포; Caco-2(ATCC HTB-37); 또는 적당하게 잘 분화된 등급 II 인간 결장 아데노암세포주인 HT-29(ATCC HTB-38)와 같은 공지된 종양(암) 세포주 또는 종양 및 암세포로부터 유래할 수 있다. 종양세포 또는 암세포 샘플은 액체 질소 중의 동결 및 저장을 수반하는 표준 조건을 이용하여 외과수술을 한 환자로부터 수득할 수 있다(Karmali et al., Br. J. Cancer, 48: 689-696 (1983)).

종양세포는 다양한 방법으로 누드 마우스와 같은 동물 내로 도입할 수 있다. 마우스의 피하(s.c.) 공간은 종양 이식에 매우 적합하다. 종양은 고휘 덩어리, 투관침의 사용에 의한 침생검 또는 세포 현탁액으로서 피하 이식할 수 있다. 고휘 덩어리 또는 투관침 이식을 위해, 적당한 크기의 종양 조직 단편을 피하 공간 내로 도입한다. 세포 현탁액은 원발성 종양세포주 또는 안정한 종양세포주로부터 새로 준비하고 피하 주사한다. 또한, 종양세포는 진피하 이식으로 주사할 수 있다. 이 위치에서, 접종물(inoculum)은 진피 결합 조직의 하부와 피하 조직 사이에 놓인다.

유방암의 동물 모델은 본질적으로 문헌(Drebin et al., Proc. Nat. Acad. Sci., USA, 83: 9129-9133 (1986))에 기재된 바와 같이 예를 들어, 래트 신경모세포종(이 세포로부터 *neu* 종양유전자를 처음 단리함) 또는 *neu*-형질전환된 NIH-3T3 세포를 누드 마우스에 이식하여 만들 수 있다.

유사하게, 결장암의 동물 모델은 결장암 세포를 동물, 예컨대 누드 마우스에서 계대(passage)하여 이들 동물 모델에서 종양이 나타나게하여 만들 수 있다. 누드 마우스에서 인간 결장암의 동소이식 모델은 예컨대 문헌 (Wang et al., *Cancer Research*, 54: 4726-4728 (1994) and Too et al., *Cancer Research*, 55: 681-684 (1995))에 기재되어 있다. 이 모델은 안티캔서사 (AntiCancer, Inc., San Diego, California)에 의해 판매되는 소위 "METAMOUSE" (상표명)를 기초로 한 것이다.

동물에서 발생하는 종양은 적출하여 시험관내에서 배양한다. 이어서, 시험관내 배양으로부터 수득한 세포를 동물에 계대할 수 있다. 이러한 종양은 다른 시험 또는 약물 스크리닝을 위한 표적으로 작용할 수 있다. 별법으로, 계대로부터 생성된 종양은 단리할 수 있고, 예비-계대 세포, 및 1회 이상의 계대 후 단리한 세포로부터 수득한 RNA는 원하는 유전자의 분별 발현에 대해 분석할 수 있다. 이러한 계대 기술은 임의의 공지된 종양세포주 또는 암세포주로 수행할 수 있다.

예를 들면, Meth A, CMS4, CMS5, CMS21 및 WEHI-164는 다양한 물질의 항-종양 활성을 연구하기 위한 매우 조절가능한 모델계를 제공하는 BALB/c 수컷 마우스 (DeLeo et al., *J. Exp. Med.*, 146: 720 (1997))의 화학적으로 유도된 섬유육종이다 (Palladino et al., *J. Immunol.*, 138: 4023-4032 (1987)). 간단하게, 종양세포는 시험관내에서 세포 배양으로 증식시킬 수 있다. 동물 내로 주사하기 전, 세포주를 세척하고 약 10×10^6 내지 10×10^7 세포/ml의 세포 농도로 완충용액에 현탁시킨다. 그 다음으로, 동물은 10 내지 100 μ l의 세포 현탁액으로 피하 감염시켜 1 내지 3주 후에 종양이 나타나게 한다.

추가로, 가장 철저히 연구된 실험 종양 중 하나인 마우스의 루이스 폐 (3LL) 암세포를 연구 종양 모델로서 사용할 수 있다. 이 종양 모델의 효능은 소세포성 폐암으로 진단받은 인간 환자의 치료에 있어서 유리한 효과와 관련되어 있다. 이 종양은 병에 걸린 마우스로부터 수득한 종양 단편 또는 배양 중인 세포의 주사시 정상 마우스 내로 도입할 수 있다 (Zupi et al., *Br. J. Cancer*, 41: suppl. 4, 30 (1998)). 종양이 심지어 단일 세포의 주사로부터 시작될 수 있으며 매우 높은 비율의 감염된 종양세포가 생존한다는 것을 나타내는 증거가 있다. 이 종양 모델에 대한 추가 정보를 위해서는 문헌 (Zacharski, *Haemostasis*, 16: 300-320 (1986))을 참조한다.

이식된 종양이 있는 동물 모델에서 시험 화합물의 효능을 측정하는 한 방법은 치료 전 및 후의 종양 크기를 측정하는 것이다. 통상적으로, 이식된 종양 크기는 2차원 또는 3차원의 슬라이드 캘리퍼 (caliper)로 측정한다. 2차원에 제한된 측정은 종양의 크기를 정확하게 반영하지 못하므로 대개 수확식을 사용하여 상응하는 부피로 전환한다. 그러나, 종양 크기의 측정은 매우 부정확하다. 약물 후보의 치료 효과는 치료-유도 성장 지연 및 특정 성장 지연으로 더 잘 표현할 수 있다. 종양 성장의 표현에 있어서 또다른 중요 변수는 종양 부피를 두배가 되게 하는 시간이다. 종양 성장의 계산 및 표현을 위한 컴퓨터 프로그램, 예컨대 문헌 (Rygaard and Spang-Thomsen, *Proc. 6th Int. Workshop on Immune-Deficient Animals*, Wu and Sheng eds. (Basel, 1989), p.301)에 의해 보고된 프로그램도 이용가능하다. 그러나, 치료 후 세포괴사 및 면역 반응은 실제로 적어도 초기에 종양 크기를 증가시킨다. 그러므로, 이들 변화는 형태 계측 방법 및 유량 세포측정 분석의 조합으로 조심스럽게 관찰할 필요가 있다. 또한, 재조합 (형질전환) 동물 모델은 형질전환 동물을 제조하는 표준 기술을 이용하여 본원에서 확인한 PRO 유전자의 코딩 일부를 원하는 동물의 게놈 내로 도입시켜 만들 수 있다. 형질전환 조작용 표적으로 작용할 수 있는 동물은 마우스, 래트, 토끼, 기니아 피그, 양, 염소, 돼지 및 기타 비인간 영장류, 예컨대 개코원숭이, 침팬지 및 원숭이를 포함하나, 여기에 제한되지 않는다. 형질전이유전자를 이러한 동물 내로 도입하는, 당업계에서 공지된 기술에는 전핵 미세주입 (미국 특허 제4,873,191호); 생식세포주 내로의 레트로바이러스-매개 유전자 전달 (예컨대, Van der Putten et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 82: 6148-615 (1985)); 배아 줄기 세포에 있어서 유전자 표적화 (gene targeting) (Thompson et al., *Cell*, 56: 313-321 (1989)); 배아의 일렉트로포레이션 (Lo, *Mol. Cell. Biol.*, 3: 1803-1814 (1983)); 및 정자-매개 유전자 전달 (Lavitrano et al., *Cell*, 57: 717-73 (1989))이 포함된다. 보다 자세한 것은 예를 들어, 미국 특허 제4,736,866호를 참조한다.

본 발명의 목적상, 형질전환 동물에는 일부 세포에만 형질전이유전자를 가지고 있는 동물 ("모자이크 동물")이 포함된다. 형질전이유전자는 단일 형질전이유전자 또는 콘카타머 (concatamer), 예컨대 머리-대-머리 또는 머리-대-꼬리 텐덤으로서 삽입할 수 있다. 예를 들어, 문헌 (Lasko et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89: 6232-636 (1992))의 기술에 따라 형질전이유전자를 특정 세포형 내로 선별적으로 도입하는 것도 가능하다. 형질전환 동물의 형질전이유전자 발현은 표준 기술로 관찰할 수 있다. 예를 들어, 형질전이유전자 삽입을 확인하는 데 서던 블롯 분석 또는 PCR 증폭을 사용할 수 있다. 이어서, 제자리 혼성화 (in situ hybridization), 노던 블롯 분석, PCR 또는 면역세포화학을 이용하여 mRNA 발현도를 조사할 수 있다. 추가로 동물을 종양 또는 암 발달의 징후에 대해 조사한다.

별법으로, PRO 폴리펩티드를 코딩하는 내인성 유전자와 동물의 배아세포 내로 도입된 것과 동일한 폴리펩티드를 코딩하는 변이 게놈 DNA 사이의 상동 재조합 결과로서 본원에서 확인한 PRO 폴리펩티드를 코딩하는 결손 또는 변이 유전자를 갖는 "넉아웃" 동물을 구축할 수 있다. 예를 들면, 확립된 기술에 따라 특정 PRO 폴리펩티드를 코딩하는 게놈 DNA를 클로닝하는 데 상기 PRO 폴리펩티드를 코딩하는 cDNA를 사용할 수 있다. 특정 PRO 폴리펩티드를 코딩하는 게놈 DNA의 일부는 결실할 수 있거나, 삽입을 관찰하는 데 사용할 수 있는 선별가능한 마커를 코딩하는 유전자와 같은 또다른 유전자로 대체할 수 있다. 전형적으로, 벡터는 (5' 및 3' 말단 둘다에서) 변이되지 않은 수백 킬로베이스의 플랭킹 DNA를 포함한다. 상동한 재조합 벡터의 설명에 대해서는 예컨대, 문헌 (Thomas and Capecchi, Cell, 51: 503 (1987))을 참조한다. 벡터를 (예를 들어, 일렉트로포레이션으로) 배아 줄기 세포주 내로 도입하고, 도입된 DNA가 내인성 DNA와 상동 재조합된 세포를 선별한다 (예를 들어, Li et al., Cell, 69: 915 (1992) 참조). 그 다음으로, 선별 세포를 동물 (예컨대, 마우스 또는 래트)의 포배 내에 주입하여 침전 키메라를 형성한다 (예컨대, Bradley, in Teratocarcinomas and Embryonic Stem Cells: A Practical Approach, E. J. Robertson, ed. (IRL: Oxford, 1987), pp. 113-152 참조). 그 다음, 키메라 배아를 적당한 가임신 암컷 양육 동물 내에 이식할 수 있고 이 배아로 인해 "넉아웃" 동물이라는 용어가 생겨났다. 표준 기술로 생식세포 내에 상동 재조합 DNA가 있는 새끼를 확인할 수 있고, 이 새끼를 사용하여 모든 세포가 상동 재조합 DNA를 함유하는 동물을 육종할 수 있다. 예를 들어, 넉아웃 동물의 특징은 일부 병적 상태에 대한 방어 능력 및 PRO 폴리펩티드의 부재로 인한 병적 상태의 발달일 수 있다.

자연발생 동물 종양의 치료에 있어서 본원에서 확인한 PRO 폴리펩티드에 특이적으로 결합하는 항체 및 기타 약물 후보 물질의 효능도 시험할 수 있다. 이러한 연구에 적당한 표적은 고양이 구강 편평 세포암 (SCC)이다. 고양이 구강 SCC는 이 종에서 보고된 구강암의 60% 이상을 차지하는 가장 흔한 고양이 구강 악성종양인 고침습 악성 종양이다. 이러한 저발생 전이가 단지 이 종양이 있는 고양이에 대한 짧은 생존 시간의 반영일 수 있다하더라도 상기 종양은 거의 다른 부위로 전이하지 않는다. 이들 종양은 주로 고양이 구강의 해부구조 때문에 통상적으로 외과수술로 치료되지 않는다. 현재, 이 종양에 대한 효과적인 치료법은 없다. 연구로 들어가기 전에, 각 고양이는 완전한 임상 조사 및 생검을 하고, 전산화 단층촬영술 (CT)로 스캐닝한다. 설하 구강 편평 세포 종양으로 진단받은 고양이는 연구에서 제외한다. 혀는 이러한 종양의 결과로 마비될 수 있고, 치료로 종양을 없앨 수 있다하더라도 동물은 스스로 먹을 수 없을 것이다. 각 고양이를 보다 장시간 동안 반복해서 치료한다. 종양의 사진을 치료 기간동안 매일 촬영한 후 각각을 재검토한다. 치료 후, 각 고양이를 또다른 CT 스캔한다. 그 후, CT 스캔 및 흉부 방사선상은 8주마다 평가한다. 비교군과 비교할 때 생존, 반응 및 독성의 차이점에 대해 데이터를 평가한다. 양성 반응은 종양 퇴행, 바람직하게는 삶의 질 향상 및(또는) 늘어난 수명의 증거를 요구할 수 있다.

추가로, 섬유육종, 선암종, 림프종, 연골종, 또는 개, 고양이 및 개코원숭이의 평활근육종과 같은 기타 자연발생적 동물 종양도 시험할 수 있다. 이들 중, 개 및 고양이의 유방 선암종은 그의 외관 및 행동이 사람의 유방 선암종과 매우 유사하기 때문에 바람직한 모델이다. 그러나, 이 모델의 용도는 동물에서 이러한 형태의 종양 발생이 드물기 때문에 제한된다.

당업계에 공지된 다른 시험관내 및 생체내 심혈관, 내피 및 혈관신생 시험도 본원에 적합하다.

ii. 조직 분포

본원에서 심혈관, 내피 및 혈관신생 검정법의 결과는 다른 연구, 예컨대 다양한 인간 조직에서 mRNA 발현을 측정하는 것으로 입증할 수 있다.

진술한 바와 같이, 다양한 조직에 있어서 유전자 증폭 및(또는) 유전자 발현은 본원에 제공된 서열을 기초로 한 적당한 표지 프로브를 사용하여 통상적인 서던 블롯팅, mRNA의 전사를 정량하기 위한 노던 블롯팅 (Thomas, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77: 5201-5205 (1980)), 닷 블롯팅 (DNA 분석) 또는 제자리 혼성화로 측정할 수 있다. 별법으로, DNA 듀플렉스, RNA 듀플렉스 및 DNA-RNA 하이브리드 듀플렉스를 포함한 특정 듀플렉스 또는 DNA-단백질 듀플렉스를 인식할 수 있는 항체를 사용할 수 있다.

별법으로, 다양한 조직의 유전자 발현은 면역학적 방법, 예컨대 조직 절편의 면역조직학적 염색 및 세포 배양 또는 체액의 검정으로 측정하여 유전자 생성물의 발현을 직접 정량할 수 있다. 면역조직학적 염색 및(또는) 샘플액의 검정에 유용한 항체는 모노클로날 또는 폴리클로날일 수 있고, 임의의 포유동물에서 제조할 수 있다. 편리하게는, 천연-서열 PRO 폴리펩티드 또는 본원에 제공된 DNA 서열을 기초로 한 합성 펩티드, 또는 특정 항체 에피토프를 코딩하며 PRO DNA에 결합된 외인성 서열에 대한 항체를 제조할 수 있다. 제자리 혼성화를 위한 항체 및 특별한 프로토콜을 만드는 일반 기술은 아래 본원에 제공된다.

iii. 항체 결합 연구

심혈관, 내피세포 및 혈관신생 연구의 결과는 항체 결합 연구로 더 입증할 수 있는데, 상기 항체 결합 연구에서 심혈관, 내피세포 및 혈관신생 검정법에서 사용된 내피세포 또는 다른 세포에 대한 PRO 폴리펩티드의 효과를 억제하는 항-PRO 항체의 능력을 시험한다. 예시적 항체에는 폴리클로날 항체, 모노클로날 항체, 인간화된 항체, 이중특이적 항체 및 헤테로컨쥬게이트 항체가 포함되고, 이 항체들의 제조는 하기에 기재할 것이다.

항체 결합 연구는 임의의 공지된 검정 방법, 예컨대 경쟁적 결합 검정법, 직간접 샌드위치 검정법 및 면역침전 검정법에서 수행할 수 있다 (Zola, Monoclonal Antibodies: A Manual of Techniques (CRC Press, Inc., 1987), pp. 147-158).

경쟁적 결합 검정법은 제한된 양의 항체와 결합하는 시험 샘플 분석물과 경쟁하는 표지된 표준물의 능력에 의존한다. 상기 시험 샘플에 있는 표적 단백질의 양은 항체에 결합하게 되는 표준물의 양과 반비례한다. 결합하게 되는 표준물의 양을 측정하기 쉽게 하기 위해, 바람직하게는 경쟁 전 또는 후에 항체를 불용화시켜서 상기 항체에 결합하는 표준물 및 분석물이 비결합 상태로 남은 표준물 및 분석물로부터 편리하게 분리할 수 있다.

샌드위치 검정법은 검출할 단백질의 상이한 면역성 일부 또는 에피토프에 각각 결합할 수 있는 두 항체의 용도를 포함한다. 샌드위치 검정법에서, 시험 샘플 분석물은 고형 지지체에 부착된 제1항체와 결합한 후, 제2 항체가 상기 분석물에 결합하여 불용성 3부 결합체를 형성한다 (예를 들면, 미국 특허 제4,376,110호 참조). 제2 항체는 그 자체가 검출가능한 잔기로 표지되거나 (직접 샌드위치 검정법), 검출가능한 잔기로 표지된 항-이뮤노글로불린 항체를 사용하여 측정할 수 있다 (간접 샌드위치 검정법). 예를 들면, 샌드위치 검정법의 한 유형은 검출가능한 잔기가 효소인 ELISA 검정법이다.

면역조직학을 위해, 조직 샘플은 신선한 것이거나 동결된 것일 수 있고, 혹은 파라핀에 함몰시켜 예를 들어, 포르말린과 같은 방부제로 고정시킬 수 있다.

iv. 세포-기재 종양 검정법

종양과 같은 심혈관, 내피세포 및 혈관신생 질환의 세포-기재 검정법 및 동물 모델은 본원의 심혈관, 내피성 및 혈관신생 검정법의 발견을 입증하는 데, 그리고 추가로 본원에서 확인한 유전자와 원하지 않는 심혈관계 세포, 내피세포 및 혈관신생 세포 성장의 발달 및 병리과정 사이의 관계를 이해하는 데 이용할 수 있다. 원하지 않는 심혈관계 세포, 내피세포 및 혈관신생 세포 성장, 예컨대 종양 세포의 발달 및 병리과정에 있어서 본원에서 확인한 유전자 생성물의 역할은 본원의 PRO 폴리펩티드에 의해 자극되거나 억제되는 것으로 확인된 세포 또는 세포주를 사용하여 시험할 수 있다. 이러한 세포에는 예를 들어, 하기 실시예에 기재한 것들이 포함된다.

다른 접근에서, 특정한 심혈관 질환, 내피세포 질환 및 혈관신생 질환과 연관되는 것으로 공지된 세포 유형의 세포를 본원의 cDNA로 형질감염시키고, 과도한 성장을 유도하거나 성장을 억제하는 이들 cDNA의 능력을 분석한다. 심혈관 질환, 내피세포 질환 및 혈관신생 질환이 암인 경우, 적당한 종양세포에는 예를 들어, B104-I-1 세포주 (*neu* 원종양유전자로 형질감염된 안정한 NIH-3T3 세포주) 및 *ras*-형질감염된 NIH-3T3 세포와 같은 안정한 종양 세포주가 포함되는데, 이 종양 세포주를 원하는 유전자로 형질감염시켜 종양 성장에 대해 관찰할 수 있다. 그다음으로, 이러한 형질감염된 세포주는 형질 전환된 세포의 성장에 대한 세포활동 억제 활성 또는 세포독성 활성을 발휘하거나, 항체-의존성 세포의 세포독성 (ADCC) 을 매개하여 종양세포 성장을 억제하는 폴리클로날 항체, 모노클로날 항체 또는 항체 조성물의 능력을 시험할 수 있다. 본원에서 확인한 유전자의 코딩 서열로 형질감염된 세포는 암과 같은 심혈관 질환, 내피세포 질환 및 혈관신생 질환의 치료용 약물 후보물질을 확인하는 데 사용할 수도 있다.

또한, 형질전환 동물 (상기 기재됨)의 종양으로부터 유래한 1차 배양물은 안정한 세포주가 바람직하더라도 본원의 세포-기재 검정법에 사용할 수 있다. 형질전환 동물로부터 연속 세포주를 유도하는 기술은 당업계에 잘 공지되어 있다 (예를 들어, Small et al., Mol. Cell. Biol., 5: 642-648 (1985) 참조).

v. 유전자 치료법

본원의 PRO 폴리펩티드, 폴리펩티딜 아고니스트 및 폴리펩티딜 길항제는 본 발명에 따라 상기 폴리펩티드를 발현시켜 사용할 수 있는데, 이것은 흔히 유전자 치료법이라 불린다.

환자 세포 내로 핵산 (임의로는 벡터에 포함되어 있음)을 도입하는 두 가지 방법, 즉 생체내 및 생체의 방법이 있다. 생체내 전달을 위해서는, 핵산은 대개 PRO 폴리펩티드가 필요한 부위, 즉 PRO 폴리펩티드의 합성 부위, 및 알려져 있다면 PRO 폴리펩티드의 생물학적 활성이 필요한 부위 (예, 창상)에서 환자 내로 직접 주사한다. 생체의 치료를 위해서는, 환자

의 세포를 적출하고, 핵산을 이들 단리된 세포 내로 도입한 다음, 형질전환된 세포를 환자에게 직접 투여하거나, 예를 들어 환자 내로 이식되는 다공성 막 내에 캡슐화시켜 환자에게 투여한다 (예컨대, 미국 특허 제4,892,538호 및 제5,283,187호 참조). 핵산을 생존가능한 세포 내로 도입하는 데 이용가능한 다양한 기술이 있다. 이 기술은 시험관내에서 핵산을 배양된 세포 내로 전달하는지 생체내에서 의도한 숙주의 세포 내로 전달하는지에 따라 다양하다. 시험관내에서 포유동물 세포 내로 핵산을 전달하기에 적당한 기술에는 리포솜의 사용, 일렉트로포레이션, 미세주입, 형질도입 (transduction), 세포 결합, DEAE-덱스트란, 칼슘 포스페이트 침전 방법 등이 포함된다. 형질도입은 세포 수용체와 복제-결합성 재조합 바이러스 (바람직하게는 레트로바이러스) 입자의 결합 후, 입자에 함유된 핵산을 세포 내로 도입하는 것을 포함한다. 유전자의 생체의 전달을 위해 통상적으로 사용되는 벡터는 레트로바이러스이다.

현재 바람직한 생체내 핵산 전달 기술에는 바이러스 벡터 또는 바이러스가 아닌 벡터 (예컨대, 아데노바이러스, 렌티바이러스, 헤르페스 심플렉스 I 바이러스 또는 아데노-관련 바이러스 (AAV)) 및 지질-기체 계 (유전자의 지질-매개 전달에 유용한 지질은 예를 들어, DOTMA, DOPE 및 DC-Chol임, 예컨대 Tonkinson et al., *Cancer Investigation*, 14 (1): 54-65 (1996) 참조)가 포함된다. 유전자 치료법에 사용하기에 가장 바람직한 벡터는 바이러스, 가장 바람직하게는 아데노바이러스, AAV, 렌티바이러스 또는 레트로바이러스이다. 레트로바이러스 벡터와 같은 바이러스 벡터에는 1종 이상의 전사 프로모터(인핸서) 또는 좌위-정의 요소(들), 또는 교대 스플리싱 (alternative splicing), 핵 RNA 유출 또는 메신저의 번역 후 수식과 같은 다른 방법으로 유전자 발현을 조절하는 기타 요소가 포함된다. 또한, PRO 폴리펩티드를 코딩하는 유전자의 존재 하에 전사되는 경우, 레트로바이러스 벡터와 같은 바이러스 벡터에는 상기 유전자에 작동가능하게 결합되어 번역 개시 서열로 작용하는 핵산 분자가 포함된다. 또한, 이러한 벡터 구축물에는 패키징 신호, 장말단 반복부 (LTR) 또는 그의 일부, 사용되는 바이러스에 적당한 음성 가닥 프라이머 결합 부위 (이것이 바이러스 벡터에 이미 존재하지 않는 경우)가 포함된다. 또한, 이러한 벡터에는 전형적으로 PRO 폴리펩티드를 포함하는 숙주 세포로부터의 상기 PRO 폴리펩티드 분비를 위한 신호 서열이 포함된다. 바람직하게는, 이 목적을 위한 신호 서열은 포유동물의 PRO 폴리펩티드용 신호 서열, 가장 바람직하게는 PRO 폴리펩티드용 천연 신호 서열이다. 임의로는, 상기 벡터 구축물에는 한 개 이상의 제한효소 부위 및 번역 종결 서열 뿐만 아니라 폴리아데닐화를 지시하는 신호도 포함될 수 있다. 예를 들면, 이러한 벡터에는 전형적으로 5'LTR, tRNA 결합 부위, 패키징 신호, 제2 가닥 DNA 합성 기점, 및 3'LTR 또는 그의 일부가 포함될 것이다. 양이온성 지질, 폴리라이신 및 텐드리머와 같은 바이러스가 아닌 기타 벡터를 사용할 수 있다.

몇몇 경우에서, 표적 세포를 목표로 삼는 물질, 예컨대 세포 표면막 단백질 또는 표적 세포에 대해 특이적인 항체, 표적 세포 위의 수용체에 대한 리간드 등을 핵산 공급원에 제공하는 것이 바람직하다. 리포솜이 사용되는 경우, 세포내이입 (endocytosis)과 관련된 세포 표면막 단백질에 결합하는 단백질은 예컨대, 캡시드 단백질 또는 특정한 세포 유형에 친화적인 그의 단편, 시클링 내재화를 겪는 단백질에 대한 항체, 및 세포내 위치결정을 목표로 삼고 세포내 반감기를 증가시키는 단백질을 표적화하고(거나) 용이하게 받아들여지게 하는 데 사용할 수 있다. 수용체-매개 세포내이입의 기술은 예를 들어, 문헌 (Wu et al., *J. Biol. Chem.*, 262: 4429-4432 (1987); and Wagner et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 87: 3410-3414 (1990))에 기재되어 있다. 현재 공지된 유전자 표시 (marking) 및 유전자 치료법 프로토콜의 검토를 위해서는 문헌 (Anderson et al., *Science*, 256: 808-813 (1992))을 참조한다. 또한, WO93/25673 및 본원에서 언급한 문헌들을 참조한다.

레트로바이러스 입자 및 구조 단백질을 만드는 데 적당한 유전자 치료법 및 방법은 예를 들어, 미국 특허 제5,681,746호에서 찾을 수 있다.

vi. 진단수단으로서의 유전자 용도

본 발명은 진단수단으로서 PRO 폴리펩티드를 코딩하는 유전자의 용도에 관한 것이기도 하다. PRO 폴리펩티드의 돌연변이 형태 검출은 PRO 폴리펩티드가 종양을 일으킬 수 있기 때문에 종양과 같은 심혈관 질환, 내피세포 질환 및 혈관신생 질환, 또는 이들 질환에 대한 감수성을 진단할 수 있게 할 것이다.

인간 PRO 폴리펩티드를 코딩하는 유전자의 돌연변이를 수반하는 개체는 다양한 기술로 DNA 수준에서 검출할 수 있다. 진단을 위한 핵산은 혈액, 소변, 침, 조직 생검 및 생검 물질과 같은 환자의 세포로부터 수득할 수 있다. 게놈 DNA는 검출에 직접 사용할 수 있고, 또는 분석 전에 PCR (Saiki et al., *Nature*, 324: 163-166 (1986))을 이용하여 효소적으로 증폭시킬 수 있다. 상기와 동일한 목적에 RNA 또는 cDNA를 사용할 수도 있다. 예로서, PRO 폴리펩티드를 코딩하는 핵산에 상보적인 PCR 프라이머를 사용하여 PRO 폴리펩티드 돌연변이를 확인 및 분석할 수 있다. 예컨대, 결실 및 삽입은 정상 유전형과 비교할 때 증폭된 생성물의 크기 변화로 검출할 수 있다. 점돌연변이는 PRO 폴리펩티드를 코딩하는 방사선표지된 RNA, 또는 별법으로 PRO 폴리펩티드를 코딩하는 방사선표지된 안티센스 DNA 서열에 증폭된 DNA를 혼성화시켜 확인할 수 있다. 완전히 일치하는 서열은 RNase A 절단 또는 융점의 차이에 의해 일치하지 않는 듀플렉스와 구별할 수 있다.

DNA 서열 차이를 기초로 한 유전자 시험은 변성제가 있거나 없이 겔에서 DNA 단편의 전기영동 이동의 변화를 검출하여 달성할 수 있다. 소규모 서열 결실 및 삽입은 고해상 전기영동으로 관찰할 수 있다. 다른 서열의 DNA 단편은 변성 포름아미딘 농도구배 겔 상에서 구별할 수 있는데, 여기서 다른 DNA 단편의 이동성은 이들의 특정 용점 또는 부분 용점에 따라 겔의 다른 위치에서 지연된다 (예컨대, Myers et al., Science, 230: 1242 (1985) 참조).

특정 위치에서 서열 변화는 예를 들어, RNase 및 S1 보호 방법 또는 화학적 절단 방법과 같은 뉴클리아제 보호 검정법에 의해 나타날 수도 있다 (Cotten et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 85: 4397-4401 (1985)).

따라서, 혼성화, RNase 보호, 화학적 절단, 직접 DNA 시퀀싱, 또는 제한효소의 사용, 예컨대 제한 단편 길이 다형성 (RFLP) 및 게놈 DNA의 서던 블롯팅과 같은 방법으로 특정 DNA 서열을 검출할 수 있다.

vii. PRO 폴리펩티드 농도를 검출하는 용도

통상적인 겔 전기영동 및 DNA 시퀀싱 이외에도 제자리 분석 (*in situ analysis*)으로 돌연변이를 검출할 수도 있다.

PRO 폴리펩티드를 코딩하는 핵산의 발현은 종양 형성과 관련된 혈관 질환 또는 혈관형성과 연결될 수 있다. PRO 폴리펩티드가 신호 서열을 갖고 mRNA가 내피세포에서 많이 발현되고 평활근세포에서 보다 적은 정도로 발현되는 경우, 이것은 PRO 폴리펩티드가 혈청에 존재함을 나타낸다. 따라서, 이 PRO 폴리펩티드의 바뀐 농도가 이러한 질병의 표시일 수 있기 때문에 항-PRO 폴리펩티드 항체는 종양 형성과 관련된 혈관 질환 또는 혈관형성을 진단하는 데 사용할 수 있다. PRO 폴리펩티드에 특이적인 항체를 고형 지지체에 부착시키고 표지된 PRO 폴리펩티드 및 숙주로부터 유래한 샘플을 상기 고형 지지체 상을 통과시킬 때, 상기 고형 지지체에 부착된 표지의 검출량이 샘플 중의 PRO 폴리펩티드의 양과 상관관계가 있는 경쟁적 검정법을 사용할 수 있다.

viii. 염색체 맵핑(Chromosome mapping)

본 발명의 서열은 염색체 확인에도 가치가 있다. 본 서열은 개별 인간 염색체 상의 특정 위치에 특이적으로 표적화되어 상기 특정 위치와 혼성화할 수 있다. 게다가, 현재 염색체 상의 특정 부위를 확인할 필요가 있다. 현재, 염색체상 위치를 표시하는 데 실제 서열 데이터 (반복부 다형성)를 기초로 한 소수의 염색체 표시 시약을 이용할 수 있다. 본 발명에 따라 DNA를 염색체에 맵핑하는 것은 상기 DNA 서열과 질병과 관련된 유전자를 서로 관련시키는 데 있어서 중요한 첫 단계이다.

간단하게, cDNA로부터 PCR 프라이머 (바람직하게는 15-25 bp)를 제조함으로써 염색체에 서열을 맵핑할 수 있다. 게놈 DNA에서 한 개 이상의 엑손에 걸쳐 있지 않은 프라이머를 신속히 선별하는 데 3'-비번역 영역에 대한 컴퓨터 분석을 이용해서 증폭 과정을 복잡하게 한다. 그 다음으로, 이들 프라이머는 개별 인간 염색체를 함유하는 체세포 하이브리드의 PCR 스크리닝에 사용한다. 상기 프라이머에 상응하는 인간 유전자를 함유하는 하이브리드만이 증폭된 단편을 제공할 것이다.

체세포 하이브리드의 PCR 맵핑은 특정 DNA를 특정 염색체에 할당하는 신속한 방법이다. 동일한 올리고뉴클레오티드 프라이머를 쓰는 본 발명을 이용하여, 유사한 방식으로 특정 염색체 또는 큰 게놈 클론 집단으로부터 수득한 단편 판넬로 서브로칼리제이션 (sublocalization)할 수 있다. 염색체에 맵핑하는 데 유사하게 사용할 수 있는 다른 맵핑 방법에는 제자리 혼성화, 표지된 유량-분류 염색체를 사용한 예비스크리닝, 및 염색체-특정 cDNA 라이브러리를 구축하는 혼성화에 의한 예비선별이 포함된다.

중기 염색체 스프레드로를 이용한 cDNA 클론의 형광 제자리 혼성화 (FISH)는 한 단계로 정확한 염색체 위치를 제공하는 데 이용할 수 있다. 이 기술은 500 또는 600 개의 염기 만큼 짧은 cDNA로 이용할 수 있지만, 2,000 bp보다 큰 클론은 단순 검출에 충분한 신호 강도로 유일한 염색체 위치에 결합할 가능성이 보다 높다. FISH는 PRO 폴리펩티드를 코딩하는 유전자가 유래한 클론의 사용을 필요로 하고, 이 클론은 길수록 더 좋다. 예를 들어, 2,000 bp는 좋고, 4,000 bp는 더 좋지만, 4,000 bp 이상은 시간과 좋은 결과의 적당한 비율을 얻는 데 필요한 것은 아닌 것 같다. 이 기술의 검토를 위해서는 문헌 (Verma et al., Human Chromosomes: a Manual of Basic Techniques (Pergamin Press, New York, 1988)을 참조한다.

일단 서열이 정확한 염색체 위치에 맵핑되면, 염색체 상에서 서열의 물리적 위치는 유전적 맵 데이터와 서로 관계되어 있을 수 있다. 이러한 데이터는 예를 들어, 문헌 (V. McKusick, Mendelian Inheritance in Man (존 홉킨스 유니버시티 웰치 메디칼 라이브러리로부터 온라인으로 이용가능함))에서 찾을 수 있다. 그 다음으로, 동일한 염색체 영역에 맵핑된 유전자와 질병 사이의 관계를 링크지 분석 (linkage analysis) (물리적으로 인접한 유전자의 공유전)을 통해 확인한다.

그 다음, 병에 걸린 개체와 병에 걸리지 않은 개체 사이의 cDNA 또는 게놈 서열의 차이점을 결정할 필요가 있다. 만약 돌연변이가 일부 또는 모든 병에 걸린 개체에서는 관찰되지만, 임의의 정상 개체에서는 관찰되지 않으면, 이 돌연변이는 질병의 원인일 수 있다.

물리적 맵핑 및 유전적 맵핑 기술의 현재 해상력으로 볼 때, 질병과 관련된 염색체 영역에 정확히 위치한 cDNA는 50 내지 500개 (이것은 맵핑 해상력이 1 메가 염기이고 20 kb 당 한 개의 유전자가 있다고 가정할 경우임)의 잠재적인 원인 유전자들 중 하나일 수 있다.

ix. 약물 후보물질에 대한 스크리닝 검정법

본 발명은 PRO 폴리펩티드를 흉내내거나 (아고니스트) PRO 폴리펩티드의 효과를 방해하는 (길항제) 폴리펩티드를 확인하기 위해 화합물을 스크리닝하는 방법을 포함한다. 길항제 약물 후보물질에 대한 스크리닝 검정법은 본원에서 확인한 유전자에 의해 코딩되는 PRO 폴리펩티드와 결합하거나 아니면 결합체를 형성하는 화합물, 또는 다른 세포 단백질과 코딩된 폴리펩티드의 상호작용을 방해하는 화합물을 확인하기 위해 디자인한다. 이러한 스크리닝 검정법은 소분자 약물 후보물질을 확인하기에 특히 적합하게 하는 화학적 라이브러리의 고처리량 스크리닝에 따른 검정법을 포함할 것이다.

상기 검정법은 단백질-단백질 결합 검정법, 생화학적 스크리닝 검정법, 면역검정법 및 세포-기재 검정법을 비롯하여 다양한 형식으로 수행할 수 있고, 이들의 특징은 당업계에 잘 규명되어 있다.

길항제에 대한 모든 검정법은 약물 후보물질이 본원에서 확인한 핵산에 의해 코딩된 PRO 폴리펩티드와 상호작용하기에 충분한 조건 하에서 충분한 시간 동안 이들 두 성분이 접촉하는 것을 요구한다는 점에서 공통된다.

결합 검정법에서, 상호작용은 결합이고, 형성된 결합체는 반응 혼합물에서 단리 또는 검출할 수 있다. 구체적인 실시양태에서, 본원에서 확인한 유전자에 의해 코딩되는 PRO 폴리펩티드 또는 약물 후보물질은 공유결합 또는 비공유결합 부착에 의해 고정, 예컨대 마이크로타이터 플레이트 상에 부착되어 있다. 비공유결합 부착은 일반적으로 고체 표면을 PRO 폴리펩티드 용액으로 코팅하고 건조하여 달성한다. 별법으로, 부착된 항체, 예를 들어 부착되어야 하는 PRO 폴리펩티드에 대해 특이적인 모노클로날 항체는 PRO 폴리펩티드를 고체 표면에 부착시키는 데 사용할 수 있다. 상기 검정은 검출가능한 표지로 표지될 수 있는 비부착된 성분을 부착된 성분, 예컨대 부착된 성분을 함유하는 코팅 표면에 첨가함으로써 수행한다. 반응이 완결될 때, 반응하지 않은 성분은 예를 들어 세척하여 제거하고, 고체 표면 상에 부착된 결합체를 검출한다. 본래 부착되지 않은 성분이 검출가능한 표지를 수반하는 경우, 표면 상에 부착된 표지의 검출은 결합체 형성이 일어났음을 나타낸다. 본래 부착되지 않은 성분이 표지를 수반하지 않는 경우, 결합체 형성은 예컨대, 부착된 결합체에 특이적으로 결합하는 표지된 항체를 사용하여 검출할 수 있다.

후보 화합물이 본원에서 확인한 유전자에 의해 코딩되는 특정 PRO 폴리펩티드와 상호작용하지만 결합하지 않는 경우, 상기 폴리펩티드와 후보 화합물의 상호작용은 단백질-단백질 상호작용을 검출하는 데 잘 공지된 방법으로 검정할 수 있다. 이러한 검정법에는 예를 들어, 교차-결합, 동시-면역침전, 및 농도구배 또는 크로마토그래픽 컬럼을 통한 동시-정제와 같은 전통적인 방법이 포함된다. 또한, 단백질-단백질 상호작용은 문헌 (Chevray and Nathans, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89: 5789-5793 (1991))에 개시된 바와 같이 필드와 공동-연구자들의 문헌 (Fields and Song, Nature (London), 340: 245-246 (1989); Chien et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 88: 9578-9582 (1991))에 기재된 효모-기재 유전체로 관찰할 수 있다. 효모 GAL4와 같은 많은 전사 활성화자는 두 개의 물리적으로 구별되는 조절 도메인으로 구성되어 있는데, 하나는 DNA-결합 도메인으로 작용하고 다른 하나는 전사-활성화 도메인으로 작용한다.

상기 문헌에 기재된 효모 발현계 (일반적으로 "투-하이브리드 시스템"으로 불림)는 이 특성을 이용하여 두 가지 하이브리드 단백질을 사용하는데, 한 개의 하이브리드 단백질에는 표적 단백질이 GAL-4의 DNA-결합 도메인에 결합되어 있고, 또다른 하이브리드 단백질에는 후보 활성화 단백질이 활성화 도메인에 결합되어 있다. GAL4-활성화 프로모터의 조절 하의 GAL1-*lacZ* 레포터 유전자의 발현은 단백질-단백질 상호작용을 통한 GAL4 활성화의 재구성에 달려 있다. 상호작용하는 폴리펩티드를 함유하는 클론은 β -갈락토시다제에 대한 정색 기질로 검출한다. 투-하이브리드 기술을 사용하여 특정 단백

질 사이의 단백질-단백질 상호작용을 확인하기 위한 완전한 키트 (MATCHMAKER(상표명))가 클론텍으로부터 시판된다. 이 키트는 이들 상호작용에 중요한 핀포인트 아미노산 잔기 뿐만 아니라 특정한 단백질 상호작용에 관여하는 단백질 도메인을 맵핑하는 데에도 사용할 수 있다.

본원에서 확인한 PRO 폴리펩티드를 코딩하는 유전자와 다른 세포내 또는 세포외 성분의 상호작용을 방해하는 화합물은 하기와 같이 시험할 수 있다. 통상적으로, 상기 유전자 생성물과 세포내 또는 세포외 성분을 함유한 반응 혼합물은 이들 두 생성물을 상호작용시키고 결합시키는 조건 하에서 충분한 시간 동안 제조한다. 결합을 억제하는 후보 화합물의 능력을 시험하기 위해, 반응은 시험 화합물의 존재 및 부재 하에 수행한다. 또한, 위약을 제3 반응 혼합물에 첨가하여 양성 대조군으로 사용할 수 있다. 상기 혼합물에 존재하는 시험 화합물과 세포내 또는 세포외 성분 사이의 결합(결합체 형성)은 상기에 기재한 바와 같이 관찰한다. 대조 반응물(들)에는 결합체가 형성되지만 시험 화합물을 함유하는 반응 혼합물에는 결합체가 형성되지 않는 것은 시험 화합물이 후보 화합물과 그의 반응 파트너의 상호작용을 방해한다는 것을 나타낸다.

만약 PRO 폴리펩티드가 코-마이토겐 ConA의 존재 하에 내피세포의 증식을 자극하는 능력을 갖는다면, 이 능력을 이용하는 스크리닝 방법의 한 예가 있다. 구체적으로는, 증식 검정법에서 인간 배꼽정맥 내피세포를 수득하여 96-웰 평판-바닥 배양 플레이트에서 배양하고 (Costar, Cambridge, MA), 세포 증식을 촉진하기에 적당한 반응 혼합물, 즉 Con-A를 함유한 혼합물 (Calbiochem, La Jolla, CA)로 보충한다. Con-A 및 스크리닝할 화합물을 첨가하고, 37°C에서 배양한 후 배양물을 통해 ³H-티미딘을 펄스로 넣고 유리 섬유 필터 (pH:; Cambridge Technology, Watertown, MA) 위에서 세포를 모았다. 액체 신틸레이션 카운터 (Beckman Instrument, Irvine, CA)를 사용하여 삼중 배양물의 평균 ³H-티미딘 삽입량 (cpm)을 계산한다. 상당한 ³H-티미딘 삽입은 내피세포 증식의 자극을 나타낸다.

길항제를 검정하기 위해, 상기 검정법을 수행하나, 이 검정법에서 PRO 폴리펩티드를 스크리닝할 화합물과 함께 첨가하고, PRO 폴리펩티드의 존재 하에서 ³(H)-티미딘 삽입을 억제하는 화합물의 능력은 상기 화합물이 PRO 폴리펩티드에 대한 길항제임을 나타낸다. 별법으로, 길항제는 경쟁적인 억제 검정법에 적당한 조건 하에서 PRO 폴리펩티드 및 잠재적인 길항제를 막결합 PRO 폴리펩티드 수용체 또는 재조합 수용체와 결합시켜 검출할 수 있다. 상기 PRO 폴리펩티드는 방사능과 같은 것으로 표지할 수 있어서 잠재적인 길항제의 효능을 측정하는 데 수용체에 결합된 PRO 폴리펩티드의 수를 사용할 수 있다. 수용체를 코딩하는 유전자는 당업계에 공지된 다수의 방법, 예컨대 리간드 패닝 및 FACS 분류로 확인할 수 있다 (Coligan et al., Current Protocols in Immun., 1(2): Chapter 5 (1991)). 바람직하게는, 발현 클로닝을 사용하여 폴리아데닐화된 RNA를 PRO 폴리펩티드에 반응하는 세포로부터 제조하고, RNA로부터 만들어진 cDNA 라이브러리를 집단으로 나누어 PRO 폴리펩티드에 반응하지 않는 COS 세포 또는 기타 세포를 형질감염시키는 데 사용한다. 유리 슬라이드 위에 자란 형질감염된 세포를 표지된 PRO 폴리펩티드에 노출시켰다. 부위-특이적 단백질 키나제에 대한 인식 부위의 요오드화 또는 포섭 (inclusion)을 비롯한 다양한 방법으로 표지할 수 있다. 고정 및 인큐베이션 후, 상기 슬라이드를 방사능 사진으로 분석한다. 양성 집단을 확인하고 하위집단을 준비한 후, 상호작용성 하위-집단화 (pooling) 및 재스크리닝 방법을 사용하여 다시 형질감염시켜서 결과적으로 잠재적인 수용체를 코딩하는 단일 클론을 얻는다.

수용체 확인을 위한 대안으로서, 표지된 PRO 폴리펩티드를 수용체 분자를 발현하는 세포막 또는 추출물과 광친화-결합시킬 수 있다. 가교된 물질을 PAGE로 해상하고 X-선 막에 노출시킨다. 수용체를 함유하는 표지된 결합체를 잘라내어 펩티드 단편으로 해상하고 단백질 미세-시퀀싱할 수 있다. 미세-시퀀싱으로부터 얻은 아미노산 서열은 잠재적인 수용체를 코딩하는 유전자를 확인하기 위해 cDNA 라이브러리를 스크리닝하는 데 쓰이는 축퇴 (degenerate) 올리고뉴클레오티드 프로브의 세트를 디자인하는 데 사용할 것이다.

길항제에 대한 또다른 검정법에서, 수용체를 발현하는 포유동물 세포 또는 막 준비물은 후보 화합물의 존재 하에서 표지된 PRO 폴리펩티드와 함께 인큐베이션할 것이다. 그 다음으로, 이 상호작용을 상승시키거나 차단하는 화합물의 능력을 측정할 것이다.

심혈관 질환, 내피세포 질환 및 혈관신생 질환의 치료에 유용한 조성물에는 표적 유전자 생성물의 발현 및(또는) 활성을 억제하는 항체, 작은 유기 및 무기 분자, 펩티드, 포스포펩티드, 안티센스 및 리보자임 분자, 3중-헬릭스 분자 등이 포함되나, 여기에 제한되지 않는다.

잠재적인 길항제의 보다 구체적인 예로는 PRO 폴리펩티드와 이뮤노글로불린 항체의 결합에 결합하는 올리고뉴클레오티드, 및 구체적으로는 인간 항체 및 항체 단편 뿐만 아니라, 폴리클로날 항체 및 모노클로날 항체, 및 항체 단편, 단쇄 항체,

항-이디오타입 항체, 및 이러한 항체 또는 단편의 키메라 또는 인간화된 항체를 포함한 항체가 있으나, 이에 제한되지 않는다. 별법으로, 잠재적인 길항제는 밀접하게 관련된 단백질, 예를 들어 수용체를 인식하나 효과를 나타내지 않아 PRO 폴리펩티드의 작용을 경쟁적으로 억제하는 PRO 폴리펩티드의 돌연변이 형태일 수 있다.

또다른 잠재적인 PRO 폴리펩티드 길항제 또는 아고니스트는 안티센스 기술을 이용하여 제조된 안티센스 RNA 또는 DNA 구축물인데, 여기서 안티센스 RNA 또는 DNA 분자는 예컨대, 표적 mRNA와 혼성화하여 단백질 번역을 방해함으로써 mRNA의 번역을 직접 차단하는 작용을 한다. 안티센스 기술은 3중-헬릭스 형성 또는 안티센스 DNA 또는 RNA를 통해 유전자 발현을 조절하는 데 사용할 수 있으며, 이들 방법 둘다는 DNA 또는 RNA와 폴리뉴클레오티드의 결합을 기초로 한다. 예를 들면, 본원에서 성숙 PRO 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열의 5' 코딩부는 길이가 약 10 내지 40 bp인 안티센스 RNA 올리고뉴클레오티드를 디자인하는 데 사용한다. DNA 올리고뉴클레오티드는 전사 (triple helix - Lee et al., Nucl. Acids Res., 6: 3073 (1979); Cooney et al., Science, 241: 456 (1988); Dervan et al., Science, 251: 1360 (1991) 참조)에 관여하는 유전자의 영역에 상보적이어서 PRO 폴리펩티드의 전사 및 생성을 방해하도록 디자인한다. 안티센스 RNA 올리고뉴클레오티드는 생체내에서 mRNA와 혼성화하여 PRO 폴리펩티드로의 mRNA 분자 번역을 차단한다 (안티센스-Okano, Neurochem., 56: 560 (1991); Oligodeoxynucleotides as Antisense Inhibitors of Gene Expression (CRC Press: Boca Raton, FL, 1988)). 상기 올리고뉴클레오티드는 안티센스 RNA 또는 DNA가 생체내에서 발현되어 PRO 폴리펩티드의 합성을 억제하도록 세포로 전달될 수도 있다. 안티센스 DNA를 사용하는 경우, 표적 유전자 뉴클레오티드 서열의 번역-개시 부위, 예컨대 약 -10과 +10 위치 사이의 표적 유전자 뉴클레오티드 서열로부터 유도한 올리고디옥시리보뉴클레오티드가 바람직하다.

안티센스 RNA 또는 DNA 분자의 길이는 일반적으로 약 5개 염기 이상, 약 10개 염기 이상, 약 15개 염기 이상, 약 20개 염기 이상, 약 25개 염기 이상, 약 30개 염기 이상, 약 35개 염기 이상, 약 40개 염기 이상, 약 45개 염기 이상, 약 50개 염기 이상, 약 55개 염기 이상, 약 60개 염기 이상, 약 65개 염기 이상, 약 70개 염기 이상, 약 75개 염기 이상, 약 80개 염기 이상, 약 85개 염기 이상, 약 90개 염기 이상, 약 95개 염기 이상, 약 100개 염기 이상, 또는 그 이상이다.

잠재적인 길항제에는 활성 부위, 수용체 결합 부위, 또는 PRO 폴리펩티드의 성장 인자나 다른 관련 결합 부위에 결합하는 소분자가 포함된다. 소분자의 예로는 작은 펩티드 또는 펩티드-유사 분자, 바람직하게는 가용성 펩티드, 및 합성 비펩티드 유기 또는 무기 화합물이 있으나, 이에 제한되지 않는다.

리보자임은 RNA의 특이적 절단을 촉매할 수 있는 효소적 RNA 분자이다. 리보자임은 상보적인 표적 RNA와의 서열 특이적 혼성화에 이은 핵산내부절단성 절단 (endonucleolytic cleavage)을 통해 작용한다.

잠재적인 RNA 표적 내의 특이적인 리보자임 절단 부위는 공지된 기술로 확인할 수 있다. 더 자세한 내용은 문헌 (Rossi, Current Biology, 4: 469-471 (1994), and PCT 공개 번호 제WO 97/33551 (1997년 9월 18일 공개됨))을 참조한다.

전사를 억제하는 데 사용되는 3중-헬릭스 형성의 핵산 분자는 단일 가닥이고 디옥시뉴클레오티드로 구성될 것이다. 이들 올리고뉴클레오티드의 염기 조성은 일반적으로 듀플렉스의 한 가닥 상에 퓨린 또는 피리미딘의 꽤 큰 스트레치를 필요로 하는 Hoogsteen 염기-짝짓기 규칙을 통해 3중-헬릭스 형성을 촉진하도록 디자인한다. 보다 자세한 내용은 문헌 (상기 PCT 공개 번호 제WO 97/33551)을 참조한다.

이들 소분자는 본원에서 상기에 논의한 1종 이상의 임의의 스크리닝 검정법 및 (또는) 당업자에 잘 공지된 임의의 다른 스크리닝 기술로 확인할 수 있다.

x. 치료받아야 하는 심혈관 질환, 내피세포 질환 및 혈관신생 질환의 형태

본원에서 기재한 심혈관, 내피성 및 혈관신생 검정법에서 활성을 나타내는 PRO 폴리펩티드, 그에 대한 아고니스트 또는 길항제, 및 (또는) 심혈관계에 위치한 것으로 확인된 그의 유전자 생성물은 당뇨병과 같이 혈관에 영향을 주는 전신질환을 포함하여 다양한 심혈관 질환, 내피세포 질환 및 혈관신생 질환의 치료 용도를 갖을 가능성이 있다. 이들의 치료 용도에는 동맥, 모세혈관, 정맥, 및 (또는) 림프관의 질병이 포함된다. 치료의 예로는 근육 소모병의 치료, 골다공증의 치료, 이식물 주위의 세포 성장을 자극하여 의도한 부위에 대한 이식물의 부착을 용이하게 하는 이식물 고정 보조, 조직 또는 혈청의 IGF 안정성 증가, 및 적용가능하다면 IGF 수용체에 대한 결합 증가 (IGF가 시험관내에서 인간 골수 적혈구 및 과립성 전구 세포 성장을 촉진하는 것으로 나타나기 때문임)가 있다.

PRO 폴리펩티드, 그에 대한 아고니스트 또는 길항제는 적혈구조혈 또는 과립구조혈을 자극하는 데; 조직, 예컨대 결합조직, 피부, 골, 연골, 근육, 폐 또는 신장의 재생장과 관계된 치료법과 관련된 창상 또는 조직 재생을 자극하는 데; 및 혈관신

생을 촉진하는 데; 내피세포의 이동을 자극하거나 억제하는 데; 및 혈관 평활근의 성장 및 내피세포 생성을 상승시키는 데 사용할 수도 있다. PRO 폴리펩티드 또는 길항제에 의해 매개되는 혈관신생의 증가는 허혈 조직, 및 관상 협착증을 수반하는 심장의 측부 관상 발달에 이롭다. 길항제는 이러한 폴리펩티드의 작용을 억제하는 데 사용하는데, 예를 들어 PRO 폴리펩티드가 창상 치유 또는 폐섬유증 과정동안 과도한 결합 조직의 생성을 촉진한다면 이러한 생성을 제한하는 데 사용한다. 이것은 급성 심근경색증 및 심부전의 치료를 포함할 것이다.

게다가, 본 발명은 치료 유효량의 PRO 폴리펩티드, 그에 대한 아고니스트 또는 길항제를 투여하여 근원적인 원인과 관계 없이 심비대증을 치료하는 것에 관한 것이다. 목적이 인간 환자의 치료라면, PRO 폴리펩티드는 재조합 인간 PRO 폴리펩티드(rhPRO 폴리펩티드)가 바람직하다. 심비대증의 치료는 임의의 다양한 단계에서 수행할 수 있는데, 상기 심비대증은 심근경색증, 고혈압, 비대증성 심근병증 및 관역류를 비롯한 다양한 병리적 상태로부터 발생할 수 있다. 치료는 근원적인 심장 질환과 관계 없이 심근의 구조적인 손상이 있거나 없는 심비대증의 모든 진행 단계까지 확장된다.

분자 자체, 또는 이 분자에 대한 항체와 반대로 작용하는, 임의의 특정 징후에 대한 그의 아고니스트를 사용할지 사용안할지를 결정하는 것은 본원의 분자가 심혈관형성, 내피세포 생성 또는 혈관신생을 촉진하는지, 아니면 이들 상태를 억제하는지에 주로 달려 있다. 예를 들어, 분자가 혈관신생을 촉진한다면, 그의 길항제는 혈관신생을 제한하거나 방해하는 것이 필요한 질환의 치료에 유용할 것이다. 이러한 질환의 예로는 혈관종과 같은 혈관 종양; 중앙 혈관신생; 당뇨병 망막병증 또는 미성숙 소아 망막병증, 또는 황반퇴행성 및 증식성 유리체망막병증과 관련된 망막, 맥락막, 각막의 혈관신생; 류마티스성 관절염; 크론병, 죽상경화증, 난소 과자극증후군, 건선, 혈관신생과 관련된 자궁내막증, 풍선 혈관성형술 후의 재발협착증, 예컨대 수술 후 형성된 켈로이드에서 나타난 반흔 조직의 과다형성, 심근경색증 후의 섬유증, 또는 폐섬유증과 관련된 섬유 손상이 있다.

그러나, 만약 상기 분자가 혈관신생을 억제한다면, 이 분자를 상기 질환의 치료용으로 직접 사용할 수 있을 것이다.

한편, 상기 분자가 혈관신생을 자극한다면, 말초 혈관 질환, 고혈압, 염증성 혈관염, 레이naud병 및 레이naud 증후군, 동맥류, 대동맥 재발협착증, 혈전성정맥염, 림프관염, 림프부종, 창상 치유 및 조직 회복, 허혈, 재관류 손상, 협심증, 급성 심근경색증과 같은 심근경색증, 만성 심장 질환, 울혈성 심부전과 같은 심부전 및 골다공증과 같이 혈관신생이 바람직한 질환을 위해 그 자체 (또는 그의 아고니스트)를 사용할 것이다.

그러나, 만약 상기 분자가 혈관신생을 억제한다면, 혈관신생이 바람직한 상기 질환의 치료용으로 상기 분자의 길항제를 사용할 것이다.

특정한 형태의 질환이 하기에 기재되어 있는데, 여기서 본원의 PRO 폴리펩티드 또는 그의 길항제는 혈관-관련 약물 표적화에 유용한 것으로서, 또는 하기 질환의 치료 또는 예방용 치료 표적으로서 작용가능하다. 죽상경화증은 동맥벽 내의 지질 축적, 평활근 세포의 증식 및 섬유 조직의 형성으로 인한 동맥의 내막 비후화 플라크의 축적에 의해 특징지어지는 질환이다. 상기 질환은 임의의 기관에 있는 대동맥, 중동맥 및 소동맥에 영향을 줄 수 있다. 내피세포 및 혈관 평활근 세포 기능의 변화는 이들 플라크의 축적 및 퇴행을 조절하는 데 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다.

고혈압은 전신 동맥, 폐동맥 또는 문맥계의 상승된 혈압에 의해 특징지어진다. 상승된 혈압은 손상된 내피세포 기능 및 (또는) 혈관 질환으로부터 초래되거나, 손상된 내피세포 기능 및(또는) 혈관 질환을 초래할 수 있다.

염증성 혈관염에는 거대 세포 동맥염, 타카야수 동맥염, 결절성 다발동맥염 (미세혈관병증 형태를 포함함), 가와사키병, 현미경 다발염, 베게너 육아종증, 및 다양한 감염-관련 혈관 질환 (헤노흐-쉐라인 자반증을 포함함)이 포함된다. 바뀐 내피세포 기능은 이들 질환에서 중요한 것으로 나타났다.

레이naud병 및 레이naud 증후군은 추위에 노출시 사지를 통해 순환의 비정상적인 간헐적 손상에 의해 특징지어진다. 바뀐 내피세포 기능은 이 질환에서 중요한 것으로 나타났다.

동맥류는 바뀐 내피세포 및(또는) 혈관 평활근 세포와 관련된 동맥계 또는 정맥계의 낭상형 또는 방추형 확장이다.

동맥 재발협착증(동맥벽의 재발협착증)은 내피세포 및 혈관 평활근세포의 기능 및 증식에 있어서 변화의 결과로서 혈관 성형술 후에 발생할 수 있다.

혈전성정맥염, 림프관염은 바뀐 내피세포 기능으로부터 초래할 수 있고(거나), 바뀐 내피세포 기능을 초래할 수 있는 정맥 및 림프관 각각의 염증성 질환이다. 유사하게, 림프부종은 내피세포 기능으로부터 발생하는 손상된 림프 혈관을 수반하는 질병이다.

양성 및 악성 혈관 종양 혹은 혈관계 세포 요소의 비정상적인 증식 및 성장에 의해 특징지어진다. 예컨대, 림프관종은 신생아에서 흔히 발생하는 종종 낭성의 선형성 림프관 기형인 림프계의 양성 종양이다. 양성 종양은 인접한 조직 내까지 성장하는 경향이 있다. 양성 종양은 대개 자궁 및 겨드랑 부위에서 발생한다. 이들은 사지의 연조직에서 발생할 수도 있다. 주요 증상은 부풀고 종종 그물모양 구조의 림프관, 및 결합조직에 의해 둘러싸인 림프구이다. 림프관종은 부적절하게 결합된 배아 림프관 또는 이들의 결핍에 의해 발생하는 것으로 생각된다. 손상된 국소 림프 배출이 그 결과이다 (Griener et al., Lymphology, 4: 140-144 (1971)).

본원의 PRO 폴리펩티드 또는 그에 대한 길항제의 또다른 용도는 종양이 성장하고(거나) 전이할 수 있게 하는 종양의 혈관형성을 수반하는 종양 혈관신생의 예방에 있다. 이 과정은 새로운 혈관의 성장에 달려 있다. 종양 혈관신생을 수반하는 신생물 및 관련 질환의 예로는 유방암, 폐암, 위암, 식도암, 결장직장암, 간암, 난소암, 난포막종, 남성배세포종, 자궁암, 자궁내막암, 자궁내막 증식증, 자궁내막증, 섬유육종, 용모막암종, 머리 및 목 암, 비강인두암, 후두암, 간모세포종, 카포시 육종, 흑색종, 피부암, 혈관종, 해면혈관종, 혈관모세포종, 췌장암, 망막모세포종, 성상세포종, 교모세포종, 슈반종, 뱀지교종, 수모세포종, 신경모세포종, 횡문근육종, 골육종, 평활근육종, 요도육종, 갑상선암, 윌름스종양, 신장세포암, 전립선암, 모반증과 관련된 비정상적 혈관 증식, 부종 (뇌종양과 관련된 것과 같은 것) 및 메이그스 증후군이 있다.

연령-관련 황반퇴화증 (AMD)은 나이가 든 집단에서 심각한 시각 손실의 주요 원인이다. AMD 삼출 형태의 특징은 맥락 혈관신생 및 망막 색소 상피세포 탈락이다. 맥락 혈관신생이 예후에 있어서 급격한 악화와 관련되어 있기 때문에, PRO 폴리펩티드 또는 그에 대한 길항제는 AMD의 심각도를 완화시키는 데 유용한 것으로 기대된다.

창상 치유 및 조직 회복과 같은 외상의 치유 역시 본원의 PRO 폴리펩티드 또는 그들의 길항제의 용도이다. 새로운 혈관의 형성 및 퇴행은 조직 치유 및 회복에 필수적이다. 이 카테고리에는 화상, 절개 및 궤양의 치료에 있어서 창상 치유 및 조직 회복 및 교체 뿐만 아니라 골, 연골, 힘줄, 인대 및(또는) 신경 조직 성장 또는 재생이 포함된다. 골이 정상적으로 형성되지 않는 환경 하에서 연골 및(또는) 골 성장을 유도하는 PRO 폴리펩티드 또는 그의 길항제는 인간 및 다른 동물에서 골 골절, 및 연골 손상 또는 결합의 치료에 적용된다. PRO 폴리펩티드 또는 그의 길항제를 사용하는 조제는 개방성 골절 뿐만 아니라 폐쇄성 골절 완화에 있어서 예방 용도를 갖고 인골 관절의 개선된 고정에 있어서도 용도를 갖는다. 골생성체에 의해 유도된 새로운 골 형성은 선천성 두개안면 결합, 외상에 의해 유도된 두개안면 결합, 또는 종양성 두개안면 결합 또는 절개에 의해 유도된 두개안면 결합의 회복에 기여하고, 미용 성형 수술에도 유용하다.

PRO 폴리펩티드 또는 그에 대한 길항제는 압력 궤양, 혈관 부족과 관련된 궤양, 수술 및 외상적 창상 등을 포함하나 여기에 제한되지 않는 비-치유 창상의 보다 향상된 또는 보다 빠른 폐쇄를 촉진하는 데 유용할 수도 있다.

PRO 폴리펩티드 또는 그에 대한 길항제는 기관 (예컨대, 췌장, 간, 장, 신장, 피부 또는 내피), 근육 (평활근, 골격근 또는 심근), 및 혈관 (혈관 내피 포함함) 조직과 같은 다른 조직의 생성 또는 재생, 또는 이러한 조직을 포함한 세포의 성장 촉진에 대한 활성을 나타낼 수도 있다. 원하는 효과의 일부는 섬유성 반흔형성의 억제 또는 조절에 의해 정상 조직이 재생하게 할 수 있는 것이다.

본원의 PRO 폴리펩티드 또는 그에 대한 길항제는 소화관 보호 또는 재생, 및 폐 또는 간 섬유증, 다양한 조직의 재관류 손상 및 전신적인 사이토카인 손상으로부터 발생하는 질병의 치료에 유용할 수도 있다. 또한, PRO 폴리펩티드 또는 그에 대한 길항제는 전구 조직 또는 전구 세포로부터 상기 조직의 분화를 촉진 또는 억제하는 데 유용할 수 있거나, 상기 조직의 성장을 억제하는 데 유용할 수 있다.

PRO 폴리펩티드 또는 그에 대한 길항제는 치주질환의 치료 및 다른 치아-회복 과정에 사용할 수도 있다. 이러한 약제는 골-형성 세포를 끌어당기거나, 골-형성 세포의 성장을 자극하거나, 골-형성 세포 전구체의 분화를 유도하는 환경을 제공할 수 있다. 본원의 PRO 폴리펩티드 또는 그에 대한 길항제는 골 및(또는) 연골 회복의 자극을 통해서, 또는 염증 과정에 의해 매개되는 조직 파괴 (콜라게나제 활성, 파골세포 활성 등)의 염증 또는 과정을 차단함으로써 골다공증 또는 골관절염의 치료에 유용할 수도 있는데, 이는 혈관이 골 교체 및 성장의 조절에 중요한 역할을 하기 때문이다. 본원의 PRO 폴리펩티드 또는 그에 대한 길항제에 기인할 수 있는 조직 재생 활성의 또다른 카테고리는 힘줄(인대) 형성이다. 이러한 조직이 정상적으로 형성되지 않은 환경에서 힘줄(인대)-유사 조직 또는 다른 조직 형성을 유도하는 단백질은 인간 및 다른 동물에서 힘줄 또는 인대 누액, 변형, 및 다른 힘줄 또는 인대 결합의 치유에 적용가능하다. 이러한 조제는 골 또는 다른 조직에 힘

줄 또는 인대를 고정하는 것을 개선하고 힘줄 또는 인대 조직의 결합을 회복하는 데 있어서 용도를 갖을 수 있을 뿐만 아니라 힘줄 또는 인대 조직의 손상을 예방하는 데 있어서 예방 용도를 갖을 수 있다. 본원의 PRO 폴리펩티드 또는 그에 대한 길항제의 조성물에 의해 유도된 새로운 힘줄(인대)-유사 조직 형성은 선천성 힘줄 또는 인대 결합, 외상에 의해 유도된 힘줄 또는 인대 결합, 또는 다른 유래의 기타 힘줄 또는 인대 결합에 기여하고, 힘줄 또는 인대의 부착 또는 회복을 위한 미용성형 수술에도 유용하다. 본원의 조성물은 힘줄 또는 인대 형성 세포를 끌어당기거나, 힘줄 또는 인대 형성 세포의 성장을 자극하거나, 힘줄 또는 인대 형성 세포의 전구체의 분화를 유도하거나, 조직 회복에 영향을 주기 위한 생체내 복구를 위해 생체외에서 힘줄(인대) 세포 또는 전구체의 성장을 유도하는 환경을 제공한다. 본원의 조성물은 건염, 수근관증후군 및 기타 힘줄 또는 인대 결합의 치료에 유용할 수도 있다. 상기 조성물은 당업계에 잘 공지된 담체로서 적당한 매트릭스 및(또는) 분포회체를 포함할 수도 있다.

PRO 폴리펩티드 또는 그의 길항제는 신경세포의 증식 및 신경조직과 뇌조직의 재생, 즉 기계적 및 외상적 질환 뿐만 아니라 신경세포 또는 신경조직의 퇴화, 사멸, 또는 외상을 수반하는 중추 및 말초 신경계 질환 및 신경병증의 치료에 유용할 수도 있다. 보다 구체적으로, PRO 폴리펩티드 또는 그의 길항제는 말초 신경 손상, 말초 신경병증 및 국소 신경병증과 같은 말초 신경계 질환, 및 알츠하이머병, 파킨슨병, 헌팅턴병, 근위축성측삭경화증 및 사이-드래거 증후군과 같은 중추 신경계 질환의 치료에 유용할 수 있다. 본 발명에 따라 치료가능한 추가 질환에는 기계적 및 외상적 질환, 예컨대 척수 질환, 머리 외상, 및 졸중과 같은 뇌혈관 질환이 포함된다. 화학치료법 또는 다른 의학적 치료법으로부터 발생한 말초 신경병증은 본원의 PRO 폴리펩티드 또는 그에 대한 길항제를 사용하여 치료할 수도 있다.

허혈-재관류 손상은 또다른 질환이다. 내피세포 기능저하는 허혈-재관류 손상 후에 일어나는 후유증의 개시 및 조절 둘다에 중요할 수 있다.

류마티스성 관절염은 또다른 질환이다. 맥관계를 통한 혈관 성장 및 염증세포의 표적화는 류마티스성 관절염 및 혈청반응-음성 형태의 관절염의 병리과정에 중요한 성분이다.

PRO 폴리펩티드 또는 그의 길항제는 질환의 진행을 예방하고, 무증상 환자의 사망을 비롯해 갑작스러운 사망을 피하기 위해 심비대증을 앓는 환자에게 예방 투여할 수도 있다. 광범성 좌심실 심비대증 (성인의 경우에는 35mm 이상의 최대 벽 두께, 또는 어린이의 경우에는 비교가능한 값)으로 진단받은 환자의 경우, 및 심장 상의 혈액동력학적 과부하가 상당히 강한 경우에는 이러한 예방 요법이 특히 확실하다.

PRO 폴리펩티드 또는 그의 길항제는 실질적으로 비대증성 심근병증으로 진단받은 일부 환자에서 발달하는 심방세동의 관리에 유용할 수도 있다.

추가 질환에는 협심증, 급성 심근경색증과 같은 심근경색증, 및 울혈성 심부전과 같은 심부전이 포함된다. 추가적인 비중양성 질환에는 건선, 당뇨병 증식 망막병증과 미숙아 망막병증을 포함한 기타 증식성 망막병증, 수정체후부 섬유증식증, 신생혈관 녹내장, 갑상선 과다증식증 (그레이브스병을 포함함), 각막 및 기타 조직 이식, 만성 염증, 폐 염증, 신증후군, 전자간증, 복수증, 심낭삼출증 (심낭과 관련된 것과 같은 것) 및 흉막삼출증이 포함된다.

상기의 관점에서, 내피세포 기능, 증식 및(또는) 형태를 바꾸거나 손상을 주는 것으로 나타난, 본원에 기재된 PRO 폴리펩티드, 그의 아고니스트 또는 길항제는 상기 기재된 다수의 질병 또는 모든 질병의 병인 및 발병기전에 중요한 역할을 하는 것 같으므로, 이들 과정을 증대시키거나 억제하기 위한 치료 표적으로서, 또는 이들 질환에서 혈관-관련 약물 표적화를 위한 치료 표적으로서 작용할 수 있다.

xi. 투여 프로토콜, 스케줄, 투여량 및 제제

본원의 분자 및 그에 대한 아고니스트와 길항제는 상기에 기재된 다양한 질환 및 장애의 예방제 및 치료제로서 제약학적으로 유용하다.

PRO 폴리펩티드 또는 아고니스트 또는 길항제의 치료 조성물은 동결건조된 제제 또는 수용액의 형태로 적당한 순도의 원하는 분자를 임의로 제약학적으로 허용가능한 담체, 부형제 또는 안정화제 (Remington's Pharmaceutical Science, 16th edition, Osol, A. ed. (1980))와 혼합하여 저장용으로 제조한다. 허용가능한 담체, 부형제 또는 안정화제는 사용되는 양 및 농도에서 수용자에게 무독성이고, 포스페이트, 시트레이트 및 기타 유기산과 같은 완충용액; 아스코르브산 및 메티오닌을 포함한 항산화제; 옥타데실디메틸벤질 암노늄 클로라이드와 같은 방부제; 헥사메트늄 클로라이드; 벤즈알코늄 클로라이드, 벤즈에토늄 클로라이드; 페놀, 부틸 또는 벤질 알코올; 메틸 또는 프로필 파라벤과 같은 알킬 파라벤; 카테콜; 레소르시놀; 시클로헥사놀; 3-펜타놀 및 m-크레졸; 저분자량 (약 10개 잔기 이하)의 폴리펩티드; 혈청 알부민, 젤라틴 또는 이

뮤노글로불린과 같은 단백질; 폴리비닐피롤리돈과 같은 친수성 중합체; 글리신, 글루타민, 아스파라진, 히스티딘, 아르기닌 또는 라이신과 같은 아미노산; 모노사카라이드, 디사카라이드, 및 글루코스, 만노스 및 텍스트린을 포함한 기타 탄수화물; EDTA와 같은 킬레이트화제; 슈크로스, 만니톨, 트레하로스 또는 소르비톨과 같은 당; 나트륨과 같은 염-형성 반대 이온; 금속 착화물 (예컨대, Zn-단백질 착화물); 및(또는) TWEEN (상표명), PLURONICS (상표명) 또는 폴리에틸렌 글리콜 (PEG)과 같은 비-이온성 계면활성제를 포함한다.

이러한 담체의 추가 예로는 이온 교환제, 알루미늄, 알루미늄 스테아레이트, 레시틴, 인간 혈청 알부민과 같은 혈청 단백질, 포스페이트와 같은 완충 물질, 글리신, 소르브산, 포타슘 소르베이트, 포화된 식물성 지방산의 부분 글리세라이드 혼합물, 물, 염 또는 전해질이 있고, 전해질의 예로는 프로타민 술페이트, 디소듐 히드로겐 포스페이트, 포타슘 히드로겐 포스페이트, 소듐 클로라이드, 아연염, 실리카 콜로이드, 마그네슘 트리실리케이트, 폴리비닐 피롤리돈, 셀룰로스-기재 물질 및 폴리에틸렌 글리콜이 있다. 국소 형태 또는 겔-기재 형태의 길항제용 담체로는 카르복시메틸셀룰로스 또는 메틸셀룰로스와 같은 폴리사카라이드, 폴리비닐피롤리돈, 폴리아크릴레이트, 폴리옥시에틸렌-폴리옥시프로필렌-블록 중합체, 폴리에틸렌 글리콜 및 나무 왁스 알콜이 있다. 모든 투여를 위해, 통상적인 데포 형태를 적당하게 사용한다. 이러한 형태로는 예를 들어, 마이크로캡슐, 나노-캡슐, 리포솜, 반창고, 흡입 형태, 비강 분무, 설하 정제 및 지속-방출 제제가 있다. PRO 폴리펩티드, 그의 아고니스트 또는 길항제는 전형적으로 약 0.1 mg/ml 내지 100 mg/ml의 농도의 상기 비히클로 제제화될 것이다.

다른 제제는 형성된 제품에 PRO 폴리펩티드 또는 그에 대한 길항제의 혼입을 포함한다. 이러한 제품은 내피 세포의 성장 및 신생혈관 형성을 조절하는데 사용될 수 있다. 또한, 중앙 침윤 및 전이도 상기 제품에 의해 조절될 수 있다.

생체내 투여에 사용되는 PRO 폴리펩티드 또는 길항제는 멸균되어야 한다. 이는 동결 건조 및 재구성 이전 또는 이후에 멸균 여과막을 통해 여과시킴으로써 용이하게 수행될 수 있다. 전신 투여되는 경우, 상기 PRO 폴리펩티드는 통상 동결 건조 형태로 또는 용액 중에 보관된다. 동결 건조된 형태인 경우, PRO 폴리펩티드 또는 그에 대한 길항제는 통상 사용시 적합한 희석제와의 재구성을 위해 다른 성분과 배합하여 제제화한다. PRO 폴리펩티드 또는 길항제의 액형 제제의 예에는 피하 주사를 위해 단일 투여 바이알에 충전된 멸균, 투명, 무색의 무방부제 용액제가 있다. 반복 사용에 적합한 방부 처리 제약 조성물은 주로 처방전 및 폴리펩티드 유형에 따라,

- a) PRO 폴리펩티드 또는 그에 대한 효능제 또는 길항제,
- b) 폴리펩티드 또는 기타 분자가 용액 중에서 최대 안정되도록 pH(바람직하게는 약 4 내지 8)를 유지할 수 있는 완충액,
- c) 교반에 의해 유도되는 응집 현상에 대해 폴리펩티드 또는 분자를 일차적으로 안정화시키는 세정제 및 계면활성제,
- d) 등장화제(isotonifier),
- e) 페놀, 벤질 알콜 및 벤즈에토늄 할라이드(예를 들면, 클로라이드)의 군으로부터 선택되는 방부제, 및
- f) 물을 함유할 수 있다.

사용되는 세정제가 비이온성인 경우, 세정제는 예를 들면, 폴리소르베이트(예를 들면, 폴리소르베이트(등록상표)(POLYSORBATE), 트윈(등록상표)(TWEEN) 20, 80 등) 또는 폴록사머(예를 들면, 폴록사머(등록상표)(POLOXAMER) 188)일 수 있다. 비이온성 계면활성제를 사용하면 폴리펩티드가 변성되지 않고 제제를 전단 표면에 노출시킬 수 있다. 또한, 이러한 계면활성제 함유 제제는 폐 투여용 에어로졸 장치 및 바늘없는 제트 주사기(needleless jet injector gun; EP 제257,956호 참조)에 사용될 수 있다.

등장화제는 PRO 폴리펩티드 또는 그에 대한 길항제의 용액 조성물이 등장성을 유지하도록 하기 위해 존재할 수 있으며, 그 예에는 글리세린, 에리트리톨, 아라비톨, 자일리톨, 소르비톨 및 만니톨 등의 3이 또는 그 이상의 알콜과 같은 다가 당 알콜이 있다. 이들 당 알콜은 단독으로 또는 배합된 상태로 사용될 수 있다. 별법으로, 염화나트륨 또는 기타 적합한 무기 염이 용액을 등장액으로 만들기 위해 사용될 수 있다.

완충액은 원하는 pH에 따라 아세테이트, 시트레이트, 숙시네이트 또는 포스페이트 완충액 등일 수 있다. 본 발명의 액형 제제 중 어떤 유형의 pH는 약 4 내지 8, 바람직하게는 대략 생리적 pH로 완충된다.

페놀, 벤질 알콜 및 벤즈에토늄 할라이드(예를 들면, 클로라이드) 등의 방부제는 사용가능한 공지된 항미생물제이다.

통상, 치료용 PRO 폴리펩티드 조성물은 정맥내 주사용 백이나 피하 주사 바늘에 의해 관통가능한 마개가 있는 바이알과 같이 멸균 투입구가 있는 용기 내에 존재한다. 바람직하게는 상기 제제가 정맥내(i.v.), 피하(s.c.) 또는 근육내(i.m.) 주사에 의해 반복 투여되거나, 또는 비강내 또는 폐 전달에 적합한 에어로졸 제제(EP 제257,956호 참조)로서 투여된다.

또한, PRO 폴리펩티드는 서방성 제제의 형태로 투여될 수 있다. 서방성 제제의 적합한 예에는 상기 단백질을 함유하는 고형 소수성 중합체의 반투과성 매트릭스가 포함되며, 상기 매트릭스는 필름 또는 마이크로캡슐과 같은 성형품의 형태이다. 서방성 매트릭스의 예에는 문헌 (Langer et al., J. Biomed. Mater. Res., 15: 167-277 (1981) 및 Langer, Chem. Tech., 12: 98-105 (1982))에 기재된 바와 같은 폴리에스테르, 히드로겔(예를 들면, 2-히드록시에틸-메타크릴레이트), 또는 폴리락티드(미국 특허 제3,773,919호 및 EP 제58,481호), L-글루탐산과 감마 에틸-L-글루타메이트의 공중합체 (Sidman et al., Biopolymers, 22: 547-556 (1983)), 비분해성 에틸렌-비닐 아세테이트(Langer et al., 상기 문헌), Lupron Depot(등록상표)(락트산-글리콜산 공중합체 및 루프롤리드 아세테이트로 이루어진 주입가능한 마이크로스피어)와 같은 분해성 락트산-글리콜산 공중합체, 및 폴리-D(-)-3-히드록시부티르산(EP 제133,988호)이 포함된다.

에틸렌-비닐 아세테이트 및 락트산-글리콜산과 같은 중합체는 100일 이상 동안 분자를 방출시키지만, 어떤 히드로겔은 보다 짧은 기간 동안 단백질을 방출시킨다. 캡슐화된 항체가 오래 동안 체내에 남아있는 경우, 이는 37 °C에서 습기에 노출된 결과, 변성 또는 응집되어 생물학적 활성이 감소되고 면역원성이 변화될 수 있다. 단백질의 안정화를 위해 관련된 메카니즘에 따라 합리적인 전략을 설계할 수 있다. 예를 들어, 응집 메카니즘이 티오-디설피드 상호교환을 통한 분자내 S-S 결합 형성인 것으로 밝혀진다면, 술폰히드릴 잔기의 변형, 산성 용액으로부터의 동결건조, 수분 함량 조절, 적절한 첨가제 사용 및 특이적인 중합체 매트릭스 조성물의 개발에 의해 안정화시킬 수 있다.

또한, 서방성 PRO 폴리펩티드 조성물에는 리포솜에 의해 포획된 PRO 폴리펩티드가 포함될 수 있다. PRO 폴리펩티드를 함유하는 리포솜은 문헌 (DE 제3,218,121호; Epstein et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82:3688 (1985); Hwang et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77:4030 (1980); EP 제52,322호; EP 제36,676호; EP 제88,046호; EP 제143,949호; EP 제142,641호; 일본 특허 출원 제83-118008호; 미국 특허 제4,485,045호; 미국 특허 제4,544,545호; 및 EP 제102,324호)에 그 자체로 공지된 방법에 의해 제조될 수 있다. 통상, 리포솜은 지질로서 약 30 몰%의 콜레스테롤을 함유하며, 최적의 치료를 위해 선택된 비율이 조정될 수 있는 작은 크기의(약 200 내지 800Å) 단일 적층형이다.

PRO 폴리펩티드 또는 그에 대한 길항제의 치료 유효량은 치료(예방 포함)될 병리적 증상, 투여 방법, 치료에 사용되는 화합물의 유형, 관련된 임의의 보조 치료법, 환자의 연령, 환자의 체중, 일반적인 의학 조건, 의학적 병력 등과 같은 인자에 따라 달라질 것이며, 그 결정은 전문 내과 의사가 능숙하게 할 것이다. 따라서, 치료자는 최대의 치료 효과를 얻기 위해 투여량을 적정하고 투여 경로를 변화시켜야 한다. PRO 폴리펩티드의 숙주 범위가 좁은 경우에는, 인간 환자의 치료를 위해 인간 PRO 폴리펩티드를 포함하는 제제가 바람직하며, 천연 서열의 인간 PRO 폴리펩티드를 포함하는 제제가 더욱 바람직하다. 임상학자는 투여량이 해당 증상의 치료에 대한 효과가 성취될 때까지 PRO 폴리펩티드를 투여할 것이다. 예를 들어, 치료 목적이 CHF의 치료인 경우에는 진행성 심장 비대증과 관련된 증상을 억제하는 정도로 투여할 것이다. 이 치료법의 진행은 심장 초음파 검사에 의해 용이하게 모니터링된다. 이와 유사하게, 비후성 심근병증을 앓고 있는 환자의 경우, PRO 폴리펩티드는 경험을 바탕으로 투여될 수 있다.

상기 지침에 따라, 효과적인 투여량은 통상 약 0.001 내지 약 1.0mg/kg이며, 더욱 바람직하게는 약 0.01 내지 1.0mg/kg, 가장 바람직하게는 약 0.01 내지 0.1mg/kg이다.

성인 고혈압 치료에 있어서 비경구적 사용을 위해, 체중 1kg당 주사용 PRO 폴리펩티드 약 0.01 내지 50mg, 바람직하게는 0.05 내지 20mg, 가장 바람직하게는 1 내지 20mg을 일일 1 내지 3회에 걸쳐 정맥내 주사로 투여하는 것이 유리하다. 경구 투여의 경우, 체중 1kg당 약 5mg 내지 1g, 바람직하게는 10 내지 100mg의 PRO 폴리펩티드 기재 분자가 일일 1 내지 3회 투여되는 것이 바람직하다. 내독소의 오염은, 예를 들면 단백질 1mg당 0.5ng 미만의 안전한 수준으로 최소화되어야 함을 알아야 한다. 게다가, 인간에 투여하는 경우에는 제제에 대한 멸균성, 발열성, 총체적 안전성 및 순도가 FDA 및 생물학적 표준에서 요구하는 정도에 부합하는 것이 바람직하다.

조직의 재생에 사용되는 PRO 폴리펩티드를 함유하는 제약 조성물의 투여 방식은, 형성되어야 할 조직의 중량, 손상 부위, 손상된 조직의 상태, 상처의 크기, 손상된 조직의 유형(예를 들어, 뼈), 환자의 연령, 성별 및 식이 요법, 감염의 심각성, 투여 시간 및 기타 임상적 인자와 같이 폴리펩티드의 작용을 변화시키는 다양한 인자를 고려하여 주치의가 결정할 것이다. 투여량은 재구성에 사용된 매트릭스의 유형 및 제약 조성물 중 다른 단백질의 포함 여부에 따라 달라질 수 있다. 예를 들

면, IGF-I과 같은 기타 공지된 성장 인자를 최종 조성물에 가하는 것도 투여량에 영향을 미칠 수 있다. 치료의 진행은 X-선, 조직형태학적 측정 및 테트라싸이클린 표지 등에 의해 조직과 뼈의 성장 및(또는) 회복을 주기적으로 측정함으로써 모니터링될 수 있다.

PRO 폴리펩티드 또는 효능제나 길항제의 투여는 정맥내, 근육내, 뇌내, 복강내, 뇌척수내, 피하, 안내, 동맥내, 활액내, 수막강내, 경구, 국소 또는 흡입 경로에 의한 주사 또는 관주, 또는 하기 기재되는 바와 같은 서방성 시스템 등의 공지된 방법에 따라 투여된다. 또한, PRO 폴리펩티드 또는 그의 길항제는 국소 및 전신 치료 효과를 나타내기 위해 종양 내부, 종양 주변, 손상부 내부 또는 손상부 주변 경로에 의해 투여될 수 있다. 예를 들면, 난소암 치료시 복강내 투여가 특히 유용할 것으로 기대된다.

펩티드 또는 소분자가 길항제 또는 효능제로 사용되는 경우, 이는 액체 또는 고체의 형태로 포유동물에 경구 또는 비경구적으로 투여되는 것이 바람직하다.

염을 형성하고 본원의 하기에 유용한 분자의 약리학상 허용되는 염의 예는 알칼리 금속염(예를 들면, 나트륨염, 칼륨염), 알칼리 토금속염(예를 들면, 칼슘염, 마그네슘염), 암모늄염, 유기 염기염(예를 들면, 피리딘염, 트리에틸아민염), 무기산염(예를 들면, 염산염, 황산염, 질산염), 및 유기산의 염(예를 들면, 아세트이트, 옥살레이트, p-톨루엔술포네이트)이 포함된다.

뼈, 연골, 건 또는 인대 재생에 유용한 본원의 조성물의 경우, 치료 방법에는 조성물을 이식편 또는 장치로서 국소적, 전신적 또는 국부적으로 투여하는 것이 포함된다. 투여되었을 때, 사용되는 치료 조성물은 발열원이 없고 생리적으로 허용가능한 형태여야 한다. 또한, 조성물은 바람직하게는 캡슐화되거나, 뼈, 연골 또는 조직 손상부에 전달하기 위한 접착질 형태로 주사될 수 있다. 국소 투여가 상처 치료 및 조직 복구에 적합할 수 있다. 바람직하게는 뼈 및(또는) 연골 형성을 위해, 단백질 함유 조성물을 뼈 및(또는) 연골 손상부에 전달할 수 있고, 발생중인 뼈 및 연골을 위한 구조를 제공하며, 바람직하게는 신체에 재흡수될 수 있는 매트릭스가 상기 조성물에 포함될 것이다. 그러한 매트릭스는 기타 이식 의학 분야에 현재 사용되고 있는 매트릭스의 형태일 수 있다.

매트릭스 재료의 선택은 생체 상용성, 생분해성, 기계적 특성, 외양 및 공유성에 기초를 둔다. 상기 조성물의 특정한 적용법은 적합한 제제화 방법을 한정할 것이다. 상기 조성물에 대한 효능있는 매트릭스는 생분해성이며, 화학적으로 칼슘 술페이트, 트리칼슘 포스페이트, 히드록시아파타이트, 폴리락트산, 폴리글리콜산 및 폴리안하이드라이드로 한정될 수 있다. 기타 효능있는 재료는 생분해성이며, 뼈 또는 콜라겐과 같이 생물학적으로 잘 한정된다. 추가의 매트릭스에는 순수한 단백질 또는 세포의 매트릭스 성분이 포함된다. 다른 효능있는 매트릭스는 비분해성이며, 소결된 히드록시아파타이트, 바이오글래스, 알루미네이트 또는 기타 세라믹과 같이 화학적으로 한정된다. 매트릭스에는 폴리락트산과 히드록시아파타이트 또는 콜라겐과 트리칼슘 포스페이트와 같은 임의의 상기 재료의 배합물이 포함될 수 있다. 바이오세라믹은 칼슘-알루미네이트-포스페이트와 같은 조성물 중에서 변화될 수 있으며, 입자 크기, 입자 모양 및 생분해성의 변화를 위해 가공될 수 있다.

구체적인 한 실시양태는 150 내지 800 μ m의 직경을 갖는 다공성 입자의 형태로 락트산과 글리콜산이 50:50(몰 중량)으로 이루어진 공중합체이다. 어떤 분야에서는 카르복시메틸 셀룰로스 또는 자가이식 응혈과 같은 격리체를 이용하여 폴리펩티드 조성물이 매트릭스로부터 분리되는 현상을 방지하는 것이 유용할 것이다.

적합한 격리체의 족은 메틸셀룰로스, 에틸셀룰로스, 히드록시에틸셀룰로스, 히드록시프로필셀룰로스, 히드록시프로필메틸셀룰로스 및 카르복시메틸셀룰로스를 포함하는 알킬셀룰로스(히드록시알킬셀룰로스 포함)와 같은 셀룰로스성 물질이며, 카르복시메틸셀룰로스(CMC)의 양이온염이 바람직하다. 다른 바람직한 격리체에는 히알루론산, 알긴산나트륨, 폴리(에틸렌 글리콜), 폴리옥시에틸렌 옥시드, 카르복시비닐 중합체 및 폴리(비닐 알콜)이 포함된다. 본원에 유용한 격리체의 양은 제제의 총 중량을 기준으로 0.5 내지 20 중량%, 바람직하게는 1 내지 10 중량%이며, 이는 폴리펩티드(또는 그의 길항제)가 중합체 매트릭스에서 제거되는 현상을 방지하고 조성물을 적절히 취급할 수 있게 하는 양이지만, 부모세대의 세포가 매트릭스를 침윤하지 않게 하여 폴리펩티드(또는 그의 길항제)가 부모세대 세포의 뼈 생성 작용을 보조하지 않도록 하는 양이다.

xii. 병용 치료법

해당 질환을 예방 또는 치료함에 있어서 PRO 폴리펩티드 또는 그의 효능제나 길항제의 효과는, 활성 성분을 그러한 목적에 효과적인 다른 제제와 순차적으로 또는 병행하여, 동일한 조성물 중에서 또는 별개의 조성물로서 투여함으로써 개선될 수 있다.

예를 들어, 심장 비대증 치료의 경우, PRO 폴리펩티드 치료법은 공지된 심장 근세포 비대증 인자의 억제제(예를 들면, 페닐에프린과 같은 α -아드레날린 효능제의 억제제; 보센탄(등록상표)(BOSENTAN) 및 목소노딘(등록상표)(MOXONODIN)과 같은 엔도텔린-1 억제제; CT-1에 대한 억제제(미국 특허 제5,679,543호); LIF에 대한 억제제; ACE 억제제; 데스-아스파테이트-안지오텐신 I 억제제(미국 특허 제5,773,415호) 및 안지오텐신 II 억제제)의 투여와 병행될 수 있다.

고혈압과 관련된 심장 비대증의 치료를 위해, PRO 폴리펩티드는 프로판올롤, 티몰롤, 테르탈올롤, 카르테올롤, 나돌롤, 베타솔롤, 펜부톨롤, 아세토부톨롤, 아테놀롤, 메토프롤롤 또는 카르베딜롤과 같은 β -아드레날린 수용체 차단제; 퀴나프릴, 카프토프릴, 에날라프릴, 라미프릴, 베나제프릴, 포시노프릴 또는 리시노프릴과 같은 ACE 억제제; 클로로티아지드, 히드로클로로티아지드, 히드로플루메타지드, 메틸클로티아지드, 벤즈티아지드, 디클로르펜아미드, 아세타졸아미드 또는 인다파미드와 같은 이뇨제; 및(또는) 딜티아젠펜, 니페디핀, 베라파밀 또는 니카르디핀과 같은 칼슘 채널 차단제와 함께 배합된 상태로 투여될 수 있다. 본원에서 일반명에 의해 확인된 치료제를 포함하는 제약 조성물은 상업적으로 시판되는 것이며, 투여량, 투여, 부작용, 금기사항 등에 대한 제조자의 지시에 따라 투여될 것이다(Physicians' Desk Reference (Medical Economics Data Production Co.: Montvale, N. J., 1997), 51판 참조).

비후성 심근병증의 치료에 있어서 병용 치료법을 위한 바람직한 후보에는 β -아드레날린 차단 약물(예를 들면, 프로판올롤, 티몰롤, 테르탈올롤, 카르테올롤, 나돌롤, 베타솔롤, 펜부톨롤, 아세토부톨롤, 아테놀롤, 메토프롤롤 또는 카르베딜롤), 베라파밀, 니페디핀 또는 딜티아젠펜이 있다. 혈압과 관련된 비대증의 치료는 딜티아젠펜, 니페디핀, 베라파밀 또는 니카르디핀과 같은 칼슘 채널 차단제; β -아드레날린 차단제; 클로로티아지드, 히드로클로로티아지드, 히드로플루메타지드, 메틸클로티아지드, 벤즈티아지드, 디클로르펜아미드, 아세타졸아미드 또는 인다파미드와 같은 이뇨제; 및(또는) 퀴나프릴, 카프토프릴, 에날라프릴, 라미프릴, 베나제프릴, 포시노프릴 또는 리시노프릴과 같은 ACE 억제제를 이용하는 고혈압 억제성 약물 치료법을 이용할 필요가 있다.

다른 징후의 경우, PRO 폴리펩티드 또는 그의 길항제는 뼈 및(또는) 연골 결합, 상처, 또는 해당 조직의 치료에 유익한 다른 제제와 배합될 수 있다. 이러한 제제에는 EGF, PDGF, TGF- α 또는 TGF- β , IGF, FGF, 및 CTGF와 같은 다양한 성장 인자가 포함된다.

또한, 암의 치료에 사용되는 PRO 폴리펩티드 또는 그의 길항제는 상기 기재된 바와 같은 세포 독성 제제, 화학치료제 또는 성장-억제제와 배합될 수 있다. 또한, 암 치료용 PRO 폴리펩티드 또는 그의 길항제는 방사선 조사 또는 방사성 물질의 투여를 포함하는 방사선 치료와 병행하여 또는 순차적으로 투여되는 것이 적합하다.

PRO 폴리펩티드 또는 그의 길항제와 배합된 상태로 투여되는 치료제의 유효량은 내과 의사 또는 수의사의 재량에 달려있다. 투여량 및 그 조성은 해당 증상이 최대치로 치료되도록 정해진다. 예를 들면, 고혈압 치료의 경우, 유효량은 이뇨제 또는 강심제의 용도, 및 고혈압 또는 저혈압, 신장 손상 등과 같은 증상을 고려하는 것이 이상적이다. 부가적으로, 투여량은 사용될 치료제의 유형 및 치료되는 환자와 같은 요인에 따라 달라질 것이다. 통상, 사용되는 양은 해당 치료제가 PRO 폴리펩티드 없이 투여되는 경우와 동일한 양일 것이다.

xiii. 제품

상기 기재된 질환의 진단 또는 치료에 유용한 PRO 폴리펩티드 또는 그의 길항제를 함유하는 키트와 같은 제품은 최소한 용기 및 라벨을 포함한다. 적합한 용기에는, 예를 들어 병, 바이알, 주사기 및 시험관이 포함된다. 용기는 유리 또는 플라스틱과 같은 다양한 재료로 형성될 수 있다. 이 용기에는 증상의 진단 또는 치료에 효과적인 조성물이 들어 있으며, 멸균 채취구(access port) (예를 들어, 이 용기는 정맥 주사용액 백(bag)이거나, 피하 주사기 바늘이 뚫을 수 있는 마개가 달린 바이알일 수 있음)가 있을 수 있다. 상기 조성물의 활성 성분은 PRO 폴리펩티드 또는 그에 대한 길항제이다. 용기 위에 있거나 용기에 부착되어 있는 라벨은 조성물이 선택된 증상의 진단 또는 치료에 사용된다는 것을 알려준다. 이 제품은 또한 인산염-완충 식염수, 링거액 및 텍스트로스 용액과 같은 약제학적으로 허용가능한 완충액을 포함하는 제2의 용기를 더 포함할 수 있다. 이 제품은 다른 완충액, 희석액, 필터, 바늘, 주사기, 및 사용 지침이 들어있는 패키지 삽입물을 포함하는, 상업적 관점 및 사용자 관점에서 바람직한 기타 재료를 추가로 포함할 수 있다. 또한, 이 제품은 상기 기재된 바와 같은 다른 활성 약제를 함유하는 제2 또는 제3의 용기를 포함할 수 있다.

E. 항체

본 발명에 따른 가장 잠재성있는 약물 후보 중 일부는 본원에서 확인된 유전자 산물의 생성을 억제하고(하거나) 유전자 산물의 활성을 감소시킬 수 있는 항체 및 항체 단편이다.

i. 폴리클로날 항체

폴리클로날 항체의 제조 방법은 당업자에게 공지되어 있다. 폴리클로날 항체는 예를 들어 면역화제 및 필요한 경우 보조제를 1회 이상 주사함으로써 포유동물에서 생성시킬 수 있다. 일반적으로, 면역화제 및(또는) 보조제는 피하 또는 복강내 수회 주사에 의해 포유동물에 주사될 것이다. 면역화제는 PRO 폴리펩티드 또는 그의 결합 단편을 포함할 수 있다. 면역처리되는 포유동물에서 면역원성인 것으로 공지된 단백질에 면역화제를 접합시키는 것이 유용할 수 있다. 상기 면역원성 단백질의 예로는 키홀 림프 헤모시아닌, 혈청 알부민, 소 티로글로불린 및 대두 트립신 저해제를 들 수 있다. 사용될 수 있는 보조제의 예는 프로이드 완전 보조제 및 MPL-TDM 보조제 (모노포스포릴 지질 A, 합성 트레할로스 디코리노미콜레이트)를 포함한다. 면역처리 방법은 불필요한 실험 없이도 당업계의 숙련가에 의해 선택될 수 있다.

ii. 모노클로날 항체

항-PRO 폴리펩티드 항체는 별법으로 모노클로날 항체일 수 있다. 모노클로날 항체는 문헌 (Kohler and Milstein, *Nature*, 256:495 (1975))에 기재된 바와 같은 하이브리도마 방법을 사용하여 제조할 수 있다. 하이브리도마 방법에서, 생쥐, 햄스터 또는 다른 적절한 숙주 동물을 통상적으로 면역화제로 면역처리되어 면역화제에 특이적으로 결합하는 항체를 생산하거나 생산할 수 있는 림프구를 유도한다. 별법으로, 림프구는 시험관내에서 면역처리될 수 있다.

면역화제는 일반적으로 PRO 폴리펩티드 또는 그의 결합 단백질을 포함할 것이다. 일반적으로, 인체 기원의 세포를 원하는 경우 말초 혈액 림프구 ("PBL")가 사용되나, 비인간 포유동물 공급원을 원하는 경우에는 비장 세포 또는 림프절 세포가 사용된다. 이어서, 폴리에틸렌 글리콜과 같은 적합한 결합제를 사용하여 림프구와 무한증식 세포주를 결합시켜 하이브리도마 세포를 형성시킨다 (Goding, *Monoclonal Antibodies: Principle and Practice*, Academic Press, (1986) pp. 59-103). 무한증식 세포주는 대체로 형질전환된 포유동물 세포, 특히 설치류, 소 및 인체 기원의 골수종 세포이다. 일반적으로, 쥐 또는 생쥐 골수종 세포주가 사용된다. 하이브리도마 세포는 바람직하게는 비결합된 무한증식 세포의 성장 또는 생존을 억제시키는 1종 이상의 물질을 함유하는 적합한 배양 배지에서 배양시킬 수 있다. 예를 들면, 모세포가 하이포잔틴 구아닌 포스포리보실 트랜스퍼라제 (HGPRT 또는 HPRT) 효소가 결핍된 경우, 하이브리도마용 배양 배지는 전형적으로 하이포잔틴, 아미노프테린 및 티미딘 ("HAT 배지")을 포함할 것이며, 이들 물질은 HGPRT-결핍 세포의 성장을 억제시킨다.

바람직한 무한증식 세포주는 효율적으로 결합하고, 선택된 항체-생산 세포에 의한 항체의 높은 수준의 안정한 생산을 지지하며, HAT 배지와 같은 배지에 감수성이 있는 것이다. 바람직한 무한증식 세포주는 예를 들어 솔크 인스티튜트 셀 디스트리뷰션 센터 (Salk Institute Cell Distribution Center, 미국 캘리포니아주 샌디에고) 및 아메리칸 타입 컬처 컬렉션 (American Type Culture Collection, 미국 버지니아주 마나사스)으로부터 입수가 가능한 쥐 골수종 세포주이다. 또한, 인간 골수종 세포주 및 생쥐-사람 헤테로골수종 세포주가 인간 모노클로날 항체의 생산에 대해 기술되었다 (Kozbor, *J. Immunol.*, 133: 3001 (1984); Brodeur et al, *Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications*, Marcel Dekker, Inc., New York, (1987) pp. 51-63).

하이브리도마 세포가 배양되는 배양 배지를 PRO에 대해 지시된 모노클로날 항체의 존재에 대해 분석하였다. 바람직하게는, 하이브리도마 세포에 의해 생산된 모노클로날 항체의 결합 특이성을 면역침강법에 의해, 또는 방사성면역분석법 (RIA) 또는 효소 결합 면역 흡수 분석법 (ELISA)과 같은 시험관내 결합 분석에 의해 측정하였다. 이러한 기술 및 분석은 당업계에 공지되어 있다. 모노클로날 항체의 결합 친화도는 예를 들어 스캐처드 (Scatchard) 분석 (Munson and Pollard, *Anal. Biochem.*, 107:220 (1980))에 의해 결정할 수 있다.

원하는 하이브리도마 세포를 확인한 후, 제한 희석 절차에 의해 클론을 서브클로닝시키고 표준 방법 (Goding, 상기문헌)으로 배양시켰다. 이러한 목적에 적합한 배양 배지는 예를 들면, 돌벨코스 변형 이글 배지 (Dulbecco's Modified Eagle's Medium) 또는 RPMI-1640 배지를 포함한다. 또한, 하이브리도마 세포는 동물에서 복수종양으로서 생체내 배양시킬 수 있다.

서브클론에 의해 분비된 모노클로날 항체는 예를 들면, 단백질 A-세파로스 (Sephrose), 히드록실아파티트 크로마토그래피, 젤 전기영동, 투석 또는 친화도 크로마토그래피와 같은 통상의 면역글로불린 정제 절차에 의해 배양 배지 또는 복수액으로부터 단리 및 정제시킬 수 있다.

또한, 모노클로날 항체는 미국 특허 제4,816,567호에 기재된 것과 같은 재조합 DNA 방법에 의해 제조할 수 있다. 본 발명의 모노클로날 항체를 코딩하는 DNA는 통상의 절차 (예를 들면, 쥐와 동물 항체의 중쇄 및 경쇄를 코딩하는 유전자에

특이적으로 결합할 수 있는 올리고뉴클레오타이드 프로브를 이용함으로써)를 이용하여 쉽게 단리하고 서열 분석할 수 있다. 본 발명의 하이브리도마 세포는 그러한 DNA의 바람직한 기원으로서 작용한다. 일단 단리되면, DNA는 발현 벡터 내로 넣을 수 있고, 이어서, 그렇지 않으면 면역글로불린 단백질을 생산하지 않는 원숭이 COS 세포, 차이니즈 햄스터 난소(CHO) 세포, 또는 골수종 세포와 같은 숙주 세포 내로 형질감염시켜 재조합 숙주 세포에서 모노클로날 항체를 합성시킬 수 있다. 또한, DNA는 예를 들어 상동성 쥐과 동물 서열 대신에 인간 중쇄 및 경쇄 불변 도메인에 대한 코딩 서열을 치환함으로써(미국 특허 제4,816,567호; Morrison et al., 상기 문헌), 또는 비-면역글로불린 폴리펩티드에 대한 코딩 서열의 전체 또는 일부를 면역글로불린 코딩 서열에 공유 결합시킴으로써 변형시킬 수 있다. 그러한 비면역글로불린 폴리펩티드는 본 발명의 항체의 불변 도메인에 대해 치환되거나, 본 발명의 항체의 한 항체-결합 부위의 가변 도메인에 대해 치환되어 키메라 이가(bivalent) 항체를 생성시킬 수 있다.

항체는 일가(monovalent) 항체일 수 있다. 일가 항체를 제조하는 방법은 당업계에 공지되어 있다. 예를 들어 한 방법은 면역글로불린 경쇄 및 변형 중쇄의 재조합 발현을 포함한다. 중쇄 가교결합을 방지하기 위해서 중쇄는 일반적으로 Fc 영역의 임의의 지점에서 말단이 절단된다. 별법으로, 관련 시스테인 잔기는 가교결합을 방지하기 위해서 다른 아미노산 잔기로 치환되거나 결실된다.

또한, 시험관내 방법도 일가 항체의 제조에 적합하다. 항체 단편, 특히 Fab 단편을 제조하기 위한 항체의 분해는 당업계에 통상적으로 알려진 기술을 사용하여 수행할 수 있다.

iii. 인간 항체 및 인간화된 항체

본 발명의 항-PRO 항체는 추가로 인간화된 항체 또는 인간 항체를 포함할 수 있다. 비인간(예를 들어, 쥐과 동물) 항체의 인간화 형태는 키메라 면역글로불린, 비인간 면역글로불린으로부터 유래한 최소 서열을 포함하는 면역글로불린 사슬 또는 그의 단편(예를 들어, Fv, Fab, Fab', F(ab')₂ 또는 항체의 다른 항원 결합 서열)이다. 인간화된 항체는, 수용체의 상보성 결정 영역(CDR)의 잔기를 원하는 특이성, 친화도 및 능력을 갖는 생쥐, 쥐 또는 토끼와 같은 비인간 종(공여 항체)의 CDR의 잔기로 치환시킨 인간 면역글로불린(수용 항체)을 포함한다. 몇몇 경우에, 인간 면역글로불린의 Fv 프레임워크 잔기는 대응하는 비인간 잔기로 치환된다. 또한, 인간화된 항체는 수용 항체 또는 도입되는 CDR 또는 프레임워크 서열에서 발견되지 않는 잔기를 포함할 수 있다. 일반적으로, 인간화된 항체는 하나 이상, 일반적으로 둘 이상의 가변 도메인을 실질적으로 모두 포함할 것이며, 여기서 모든 또는 실질적으로 모든 CDR 영역이 비인간 면역글로불린의 영역에 대응하고 모든 또는 실질적으로 모든 FR 영역이 인간 면역글로불린 컨센서스 서열의 영역에 대응한다. 또한, 인간화된 항체는 면역글로불린 불변 영역(Fc), 일반적으로 인간 면역글로불린의 불변 영역의 적어도 일부를 포함할 것이다(Jones et al., Nature, 321: 522-525 (1986); Riechmann et al., Nature, 332: 323-327 (1988); 및 Presta, Curr. Op. Struct. Biol. 2:593-596 (1992)).

비인간 항체의 인간화 방법은 당업계에 잘 알려져 있다. 일반적으로, 인간화된 항체는 비인간 기원으로부터의 그에 도입된 하나 이상의 아미노산 잔기를 갖는다. 이들 비인간 아미노산 잔기는 종종 "임포트(import)" 잔기로 부르며, 통상적으로 "임포트" 가변 도메인으로부터 얻어진다. 인간화는 인간 항체의 상응하는 서열 대신 설치류 CDR 또는 CDR 서열로 치환함으로써 본질적으로 윈터(Winter) 등의 방법(Jones et al., Nature, 321: 522-525 (1986); Riechmann et al., Nature, 332: 323-327 (1988); Verhoeyen et al., Science, 239: 1534-1536 (1988))에 따라 수행할 수 있다. 따라서, 그러한 "인간화" 항체는 실질적으로 보다 적은 무손상 인간 가변 도메인이 비인간 종 유래의 상응하는 서열에 의해 치환된 키메라 항체(미국 특허 제4,816,567호)이다. 실제, 인간화된 항체는 통상적으로 일부 CDR 잔기 및 가능하게는 일부 FR 잔기를 설치류 항체에서 유사한 부위로부터의 잔기로 치환시킨 인간 항체이다.

인간 항체는 과지 디스플레이 라이브러리를 포함하는 당업계에 공지된 여러 기술을 사용하여 제조할 수도 있다(Hoogenboom et al., J. Mol. Biol., 227: 381 (1991); Marks et al., J. Mol. Bio., 222: 581-597 (1991)). 또한, 코울 등 및 보에르너 등의 기술도 인간 모노클로날 항체의 제조에 사용할 수 있다(Cole et al., Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, p. 77 (1985) and Boerner et al., J. Immunol., 147(1):86-95 (1991)]. 마찬가지로, 유전자도입 동물, 예를 들어 생쥐에 인간 면역글로불린 유전자좌를 도입함으로써 인간 항체를 제조할 수 있는데, 여기서 내부 면역글로불린 유전자는 부분 또는 전체가 실활화된다. 항원투여 후에, 인간 항체 생산이 관찰되었는데, 이는 유전자 재배열, 어셈블리 및 항체 목록을 비롯한 모든 점에서 인간에서 관찰되는 항체와 매우 유사하였다. 상기 사항은 예를 들어 문헌(미국 특허 제5,545,807호, 동 제5,545,806호, 동 제5,569,825호, 동 제5,625,126호, 동 제5,633,425호, 동 제5,661,016호) 및 과학 간행물(Marks et al., Bio/Technology 10, 779-783 (1992); Lonberg et al., Nature 368, 856-

859 (1994), Morrison, Nature 368, 812-13 (1994); Fishwild et al., Nature Biotechnology 14, 845-51 (1996); Neuberger, Nature Biotechnology 14, 826 (1996); Lonberg and Huszar, Intern. Rev. Immunol. 13 65-93 (1995))에 기재되어 있다.

iv. 이중특이적 항체

이중특이적 항체는 2개 이상의 상이한 항원에 대해 결합 특이성을 갖는 모노클로날, 바람직하게는 인간 또는 인간화된 항체이다. 이 경우에, 결합 특이성 중의 하나는 PRO 폴리펩티드에 대한 것이고, 다른 하나는 임의 다른 항원, 바람직하게는 세포 표면 단백질 또는 수용체 또는 수용체 서브유닛에 대한 것이다.

이중특이적 항체를 제조하는 방법은 당업계에 공지되어 있다. 통상적으로, 이중 특이적 항체의 재조합 생산은 2개의 면역글로불린 중쇄-경쇄/경쇄-중쇄 쌍의 동시발현에 기초하며, 여기에서, 2개의 중쇄는 상이한 특이성을 갖는다 (Millstein and Cuello, Nature, 305: 537-539 (1983)). 면역글로불린 중쇄 및 경쇄의 무작위 분류로 인해, 이들 하이브리도마 (퀴드 로마)는 10개의 상이한 항체 분자의 가능한 혼합물을 생산하며, 이중 하나만이 정확한 이중특이적 구조를 갖는다. 정확한 분자의 정제는 일반적으로 친화도 크로마토그래피 단계로 수행된다. 유사한 절차가 WO 제93/08829호(1993년 5월 13일에 공개됨) 및 문헌(Traunecker et al., EMBO J., 10: 3655-3659 (1991))에 기재되어 있다.

원하는 결합 특이성을 갖는 항체의 가변 도메인(항체-항원 결합 부위)을 면역글로불린 불변 도메인 서열에 결합시킨다. 이 결합은 바람직하게는 힌지, 적어도 일부, CH2 및 CH3 영역을 포함하는 면역글로불린 중쇄 불변 도메인과의 결합이다. 경쇄 결합을 위해 필요한 부위를 포함하는 제1 중쇄 불변 영역 (CH1)이 결합체의 적어도 하나에 존재하는 것이 바람직하다. 면역글로불린 중쇄 결합체, 및 원한다면 면역글로불린 경쇄를 코딩하는 DNA를 별개의 발현 벡터에 삽입하고, 적당한 숙주 유기체로 공동 형질감염시킨다. 이중특이적 항체를 생산하기 위한 보다 상세한 내용은 예를 들면, 문헌(Suresh et al., Methods in Enzymology, 121: 210(1986))을 참조한다.

v. 이중 접합 항체

이중접합 항체는 2개의 공유결합된 항체로 구성된다. 이러한 항체는 예를 들어 면역계 세포를 원하지 않는 세포에 표적 화시키기 위해 (미국 특허 제4,676,980호), 및 HIV 감염의 치료를 위해 (WO 제91/00360호, 동 제92/200373호, 및 EP 제03089호) 제안되었다. 이중접합 항체는 가교결합제를 사용하는 방법을 포함하여 합성 단백질 화학에 공지된 방법을 이용하여 제조할 수 있는 것으로 생각된다. 예를 들어, 면역독소는 디설피드 교환 반응 또는 티오에테르 결합을 형성함으로써 제조할 수 있다. 상기 목적에 적합한 시약은 이미노티올레이트 및 메틸-4-메르캅토부티르이미데이트 및 미국 특허 제 4,676,980호에 개시된 시약을 포함한다.

vi. 효과기 기능 조작

효과기 기능에 대해 본 발명의 항체를 변형하여 예를 들어 암치료에 있어 항체의 효과를 증대하는 것이 바람직할 수 있다. 예를 들어, 시스테인 잔기를 Fc 영역에 도입하여 이 영역내 쇠간 디설피드 결합을 형성시킬 수 있다. 이와 같이 생성된 호모다имер 항체는 내부화 능력을 향상시키고(시키거나) 보체-매개 세포 사멸 및 항체-의존성 세포내 세포독성(ADCC)을 증대시킨다(문헌 (Caron et al., J. Exp Med., 176:1191-1195 (1992) 및 Shopes, J. Immunol., 148:2918-2922 (1992))을 참조한다). 또한, 문헌 (Wolff et al. Cancer Research, 53: 2560-2565 (1993))에 기재된 헤테로이관능성 가교를 사용하여 증대된 항-종양 활성을 지닌 호모다имер 항체를 제조할 수 있다. 또는, 이종의 Fc 영역을 갖는 항체를 조작하여 보체 용균성 및 ADCC 능력을 증대시킬 수 있다(문헌 (Stevenson et al., Anti-Cancer Drug Design, 3:219-230 (1989))을 참조한다).

vii. 면역복합체

또한, 본 발명은 세포독성 물질, 예를 들어 화학치료제, 독소(예를 들어, 효소적으로 활성인 박테리아, 진균, 식물 또는 동물성 독소, 또는 그의 단편) 또는 방사활성 동위원소(즉, 방사성복합체)와 결합된 항체를 포함하는 면역복합체에 관한 것이다.

상기 면역복합체의 생성에 유용한 화학치료제는 상기에 기재되어 있다. 사용될 수 있는 효소적으로 활성인 독소 및 그의 단편에는 디프테리아 A 쇠, 디프테리아 독소의 비결합 활성 단편, 외독소 A 쇠(슈도모나스 에루기노사(Pseudomonas aeruginosa) 유래), 리신 A 쇠, 아브린 A 쇠, 모데신 A 쇠, 알파-사르신, 알레우리테스 포르디(Aleurites fordii) 단백질, 디안틴 단백질, 피톨라카 아메리카나(Phytolaca americana) 단백질(PAPI, PAPII 및 PAP-S), 쓴 멜론(momordica

charantia) 저해제, 쿠르신, 크로틴, 사과오나리아 오피시날리스(sapaonaria officinalis) 억제제, 겔로닌, 미토켈린, 레스트릭토신, 페노마이신, 에노마이신, 및 트리코테세네스가 포함된다. 여러 방사성핵종을 방사복합체 항체의 제조에 이용할 수 있다. 예에는 ^{212}Bi , ^{131}I , ^{131}In , ^{90}Y 및 ^{186}Re 가 포함된다.

다양한 이관능성 단백질-연결 물질, 예를 들어 N-숙신이미딜-3-(2-피리딜디티올)프로피오네이트(SPDP), 이미노티올란(IT), 이미도에스테르의 이관능성 유도체(예를 들어, 디메틸 아디프이미데이트 HCL), 활성 에스테르(예를 들어, 디숙신이미딜 수베레이트), 알데히드(예를 들어, 글루타르알데히드), 비스-아지도 화합물(예를 들어, 비스(p-아지도벤조일)핵산디아민), 비스-디아조늄 유도체(예를 들어, 비스-(p-디아조늄벤조일)-에틸렌디아민), 디이소시아네이트(예를 들어, 툴리엔 2,6-디이소시아네이트), 및 비스-활성 플루오르 화합물(예를 들어, 1,5-디플루오로-2,4-디니트로벤젠)을 사용하여 항체와 세포독성 물질의 복합체를 만들 수 있다. 예를 들어, 문헌 (Vitetta et al., Science, 238:1098 (1987))에 기재된 바와 같이 리신 면역독소를 제조할 수 있다. 탄소-14-표지된 1-이소티오시아네이트벤질-3-메틸디에틸렌 트리아민펜타아세트산(MX-DTPA)은 방사성뉴클레오티드와 항체를 연결하는 전형적인 킬레이트제이다(WO 94/11026을 참조한다).

또다른 실시태양으로, 항체와 중앙 예비표적화에 이용되는 "수용체"(예를 들어, 스트렙타비딘)를 연결할 수 있는데, 여기서 항체-수용체 복합체를 투여 대상에게 투여한 다음, 킬레이트제를 사용하여 순환으로부터 결합하지 않은 복합체를 제거하고 세포독성 물질(예를 들어, 방사성뉴클레오티드)에 연결된 "리간드"(예를 들어, 아비딘)를 투여한다.

viii. 면역리포솜

본원에서 개시된 항체를 면역리포솜으로 제제화할 수도 있다. 이 항체를 포함하는 리포솜은 당업계에 공지된 방법, 예를 들어 문헌 (Epstein et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82:3688 (1985); Hwang et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77:4030 (1980); 및 미국 특허 제4,485,045호 및 동 제4,544,545호)에 기재된 방법으로 제조할 수 있다. 순환 시간이 증대된 리포솜은 문헌 (미국 특허 제5,013,556호)에 개시되어 있다.

특히 유용한 리포솜은 포스파티딜콜린, 콜레스테롤 및 PEG-유도체화 포스파티딜에탄올아민(PEG-PE)을 함유하는 지질 조성물을 사용하여 역상 증발법에 의해 생성할 수 있다. 정해진 공극 크기의 필터를 통해 리포솜을 밀어내어 소정의 직경을 갖는 리포솜을 수득하였다. 문헌 (Martin et al., J. Biol. Chem., 257:286-288 (1982))에 기재된 바와 같이 디솔피드-상호교환 반응을 통해 본 발명의 항체의 Fab' 단편을 리포솜에 연결할 수 있다. 화학요법제(예를 들어, 독소루비신(Doxorubicin))은 임의로 리포솜내에 포함된다(문헌 (Gabizon et al., J. National Cancer Inst., 81(19):1484 (1989))을 참조한다).

ix. 항체 제약 조성물

각종 질환을 치료하기 위해, 본원에서 확인된 PRO 폴리펩티드와 특이적으로 결합하는 항체 및 상기 기재된 스크리닝 분석에 의해 확인된 다른 분자를 상기 및 하기에 기재된 다양한 질환의 치료를 위해 제약 조성물 형태로 투여할 수 있다.

PRO 폴리펩티드가 세포내에 있고 항체 전부가 저해제로 사용되는 경우, 내부화 항체가 바람직하다. 그러나, 또한 리포క్ష션 또는 리포솜을 사용하여 항체 또는 항체 단편을 세포내에 전달할 수 있다. 항체 단편이 사용되는 경우, 표적 단백질의 결합 도메인에 특이적으로 결합하는 최소 저해성 단편이 바람직하다. 예를 들어, 항체의 가변-영역 서열을 토대로, 표적 단백질 서열과 결합하는 능력을 지닌 펩티드 분자를 설계할 수 있다. 이러한 펩티드는 화학적으로 합성하고(하거나) 재조합 DNA 기술에 의해 제조할 수 있다(예를 들어, 문헌 (Marasco et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:7889-7893 (1993))을 참조한다).

또한, 본원의 제형은 치료할 특정 증상에 있어 필요에 따라 1종 이상의 활성 화합물, 바람직하게는 서로 악영향을 주지 않는 상보적인 활성을 지닌 화합물을 포함할 수 있다. 별법으로, 또는 추가로, 이 조성물은 그의 기능을 증대시키는 물질, 예를 들어 세포독성 물질, 시토킨, 화학요법제, 또는 증식-억제제를 포함할 수 있다. 이러한 분자는 적합하게는 의도된 목적에 효과적인 양으로 배합된다.

활성 성분은 예를 들어 각각 콜로이드성 약물 전달 시스템 (예를 들어 리포솜, 알부민 마이크로스피어, 마이크로에멀전, 나노입자 및 나노캡슐) 또는 마크로에멀전 중에서 예를 들어 코아세르베이션(coacervation) 기술 또는 계면 중합, 예를 들어 히드록시메틸셀룰로스 또는 젤라틴-마이크로캡슐 및 폴리-(메틸메타크릴레이트) 마이크로캡슐에 의해 제조된 마이크로캡슐에 봉입될 수 있다. 상기 기술은 문헌 (Remington's Pharmaceutical Sciences, 상기 문헌)에 개시되어 있다.

체내 투여에 사용되는 제제는 멸균처리되어야 한다. 이것은 멸균 여과막을 통한 여과에 의해 용이하게 수행된다.

서방성 제제도 제조될 수 있다. 서방성 제제의 적합한 예는 항체를 함유하는 고체 소수성 중합체의 성형품, 예를 들어 필름 또는 마이크로캡슐 형태의 반투과성 매트릭스를 포함한다. 서방성 매트릭스의 예는 폴리에스테르, 히드로겔(예를 들어, 폴리(2-히드록시에틸-메타크릴레이트) 또는 폴리(비닐알콜)), 폴리락티드 (미국 특허 제3,773,919호), L-글루탐산과 γ 에틸-L-글루타메이트의 공중합체, 비분해성 에틸렌-비닐 아세테이트, 분해성 락트산-글리콜산 공중합체, 예를 들어 LUPRON DEPOT(등록상표)(락트산-글리콜산 공중합체 및 루프플라이드 아세테이트로 이루어진 주입가능한 마이크로스피어), 및 폴리-D-(-)-3-히드록시부티르산이 있다. 에틸렌-비닐 아세테이트 및 락트산-글리콜산과 같은 중합체는 100 일 이상 동안 분자를 방출시키지만, 어떤 히드로겔은 보다 짧은 기간 동안 단백질을 방출시킨다. 캡슐화된 항체가 오랫동안 체내에 남아있는 경우, 그는 37 °C에서 습기에 노출된 결과, 변성 또는 응집되어 생물 활성을 감소시키고 면역원성을 변화시킬 수 있다. 안정화를 위해 관련된 메커니즘에 따라 합리적인 전략을 설계할 수 있다. 예를 들어, 응집 메커니즘이 티오-디설피드 상호교환을 통한 분재내 S-S 결합 형성인 것으로 밝혀진다면, 술폰히드릴 잔기의 변형, 산성 용액으로부터의 동결건조, 수분 함량 조절, 적절한 첨가제 사용 및 특이적인 중합체 매트릭스 조성물의 개발에 의해 안정화를 달성할 수 있다.

x. 항체를 이용한 치료 방법

PRO 폴리펩티드에 대한 항체는 상기 언급한 바와 같은 다양한 심혈관계, 내피 및 신생혈관성 증상을 치료하는데 사용될 수 있다고 생각된다.

상기 항체는 볼루스로서의 정맥내 투여 또는 장기간의 연속 관주, 근육내, 복강내, 뇌척수내, 피하내, 관절내, 활액내, 수막강내, 경구, 국소 또는 흡입 경로에 의해 공지된 방법으로 포유동물, 바람직하게는 인간에게 투여될 수 있다. 항체의 정맥내 투여가 바람직하다.

다른 치료법이 본 발명의 항체 투여와 병행될 수 있다. 예를 들어, 항체가 암을 치료하는 경우에 상기 항체로 치료되는 환자는 방사선 치료를 병행하여 받을 수 있다. 별법으로, 또는 추가로, 환자에게 화학 요법 치료제를 투여할 수 있다. 이러한 화학 요법 치료제의 제조 및 투여 일정은 제조자의 지시를 따르거나 당업계 전문 숙련인에 의해 경험적으로 결정될 수 있다. 또한, 이러한 화학 요법 치료제의 제조 및 투여 일정은 문헌 (Chemotherapy Service Ed., M.C.Perry, Williams & Wilkins, Baltimore, MD, 1992)에 기재되어 있다. 화학 요법 치료제는 항체의 투여 전 또는 후에 투여되거나, 동시에 투여될 수 있다. 타목시펜 또는 에비스타(등록상표)(EVISTA)와 같은 항-에스트로겐 화합물 또는 오나프리스톤과 같은 항-프로게스테론 화합물(EP 제616812호 참조)에 대해 공지된 투여량의 상기 분자와 항체를 배합하여 투여할 수 있다.

또한, 항체가 암의 치료에 사용되는 경우, ErbB2, EGFR, ErbB3, ErbB4 또는 VEGF 수용체 중 하나 이상과 결합하는 항체와 같이 기타 종양 관련 항원에 대한 항체를 투여하는 것도 바람직하다. 또한, 이들은 상기 기재된 제제를 포함한다. 또한, 항체는 방사선 조사 또는 방사성 물질의 투여를 포함하는 방사선의학 치료와 병행하여 또는 순차적으로 투여되는 것이 적합하다. 별법으로, 또는 추가로, 본원에 개시된 동일하거나 2종 이상의 상이한 항원에 결합하는 2종 이상의 항체를 환자에 동시에 투여할 수 있다. 때로는, 환자에 1종 이상의 싸이토카인을 투여하는 것도 유익할 수 있다. 바람직한 실시양태에서, 본원의 항체를 성장 억제제와 동시에 투여할 수 있다. 예를 들어, 우선 성장 억제제를 투여한 후에 본 발명의 항체를 투여할 수 있다. 그러나, 동시 투여나 본 발명의 항체를 먼저 투여하는 것도 고려할 수 있다. 성장 억제제의 적합한 투여량은 현재 사용되는 투여량이며, 성장 억제제와 본원 항체의 복합 작용(상승)으로 인하여 투여량을 저하시킬 수 있다.

한 실시양태에서, 종양의 혈관 신생은 병용 치료시 공격받는다. 항-PRO 폴리펩티드 항체 및 기타 항체(예를 들면, 항-VEGF)는 종양의 괴사 또는 그의 전이 병소를 관찰하여 결정된 치료 유효량으로 종양을 앓고 있는 환자에 투여된다. 이 치료법은 추가로 유익한 효과가 관찰되지 않거나 임상 시험이 종양 또는 임의의 전이 병소를 나타내지 않을 때까지 지속된다. 이후에, TNF를 단독으로, 또는 알파-, 베타- 또는 감마-인터페론, 항-HER2 항체, 헤레굴린(herregulin), 항-헤레굴린 항체, D-인자, 인터루킨-1(IL-1), 인터루킨-2(IL-2), 과립구-대식세포 집락 자극 인자(GM-CSF), 또는 종양에서 미세혈관 응고를 촉진하는 제제(예를 들면, 항-단백질 C 항체, 항-단백질 S 항체 또는 C4b 결합 단백질; 1991년 2월 21일에 공개된 WO 제91/01753호 참조), 또는 열 또는 방사선과 병행하여 투여한다.

보조제는 그 효과가 다양하기 때문에, 종래의 방법으로 매트릭스 스크리닝에 의해 종양에서의 효과를 비교하는 것이 바람직하다. 항-PRO 폴리펩티드 항체 및 TNF의 투여는 원하는 임상 효과가 성취될 때까지 반복한다. 별법으로, 항-PRO 폴리펩티드 항체는 TNF 및 임의로 보조제와 함께 투여된다. 사지, 또는 대순환으로부터 분리될 수 있는 다른 위치에서 충실

성 종양이 발견되는 경우, 분리된 종양 또는 기관에 본원의 치료제를 투여한다. 다른 실시양태에서, 항-FGF 또는 항-PDGF 중화 항체와 같은 FGF 또는 PDGF 길항제를 항-PRO 폴리펩티드 항체와 함께 투여한다. 항-PRO 폴리펩티드 항체를 이용한 치료는 상처 치료 또는 원하는 신생혈관 형성시 증지할 수 있다.

심혈관 질환, 내피세포 질환 및 혈관신생 질환의 예방 또는 치료에 있어서, 본원 항체의 적합한 투여량은 상기 정의한 바와 같이 치료되는 질환의 유형, 심각성 및 질환의 진행 과정, 투여되는 항암제가 예방 목적인지 치료 목적인지, 이전의 치료법, 환자의 임상 병력 및 항체에 대한 반응, 및 재량 및 주치의에 따라 달라질 것이다. 이 항체는 일시에 또는 일련의 치료를 통해 환자에 적합하게 투여된다.

예를 들어, 질환의 유형 및 심각성에 따라, 약 1 μ g/kg 내지 15mg/kg(예를 들어, 0.1 내지 20mg/kg)의 항체가 1회 이상의 분리된 투여 또는 연속 관주에 의한 환자에의 투여에 대한 초기 후보 투여량이다. 통상적인 일일 투여량 또는 주간 투여량은 상기 언급한 인자에 따라 약 1 μ g/kg 내지 100mg/kg 또는 그 이상이다. 증상에 따라 며칠 이상에 걸친 반복 투여의 경우, 치료는 원하는 질환 징후가 억제될 때까지 반복 또는 지속된다. 그러나, 다른 투여량이 효과적일 수도 있다. 이 치료법의 진행은 종래의 기술 및 분석(예를 들면, 방사성 종양 영상화)에 의해 쉽게 모니터링될 수 있다.

xi. 항체로 제조된 제품

용기에 항체 및 라벨을 포함하는 제품이 제공된다. 이러한 제품은 상기 기재된 바와 같으며, 그 활성 성분은 항-PRO 항체이다.

xii. 항체를 이용한 종양의 진단 및 예후

특정 종양에서 과다 발현되는 성장 수용체와 같은 세포-표면 단백질은 약물 후보 또는 종양(예를 들어, 암) 치료에 대한 훌륭한 표적이지만, 항체가 사용되는 징후가 암인 경우에는 동일한 단백질을 PRO 폴리펩티드와 함께 사용하면 종양의 진단 및 예후에 있어서 부가적인 유용성이 있다. 예를 들면, PRO 폴리펩티드에 대해 유도된 항체는 종양의 진단 또는 예후에 사용될 수 있다.

예를 들어, 항체 단편을 포함하는 항체는 PRO 폴리펩티드를 코딩하는 유전자를 포함하는 유전자의 발현을 정성 또는 정량 검출하는데 사용할 수 있다. 항체는 형광 표지와 같이 검출 가능한 표지물이 부착되어 있는 것이 바람직하며, 항체의 결합은 광학현미경법, 유세포 분석법, 또는 당업계에서 공지된 다른 기술에 의해 모니터링될 수 있다. 이러한 결합 분석법은 본질적으로 상기 기재된 바와 같이 수행된다.

원래 위치에서(in situ) 마커 유전자 생성물에 대한 항체 결합의 검출은, 예를 들어 면역형광현미경법 또는 면역전자현미경법에 의해 수행될 수 있다. 이러한 목적을 위해, 환자로부터 조직학적 시료를 분리하여, 바람직하게는 상기 생물학적 샘플에 항체를 올려놓음으로써 표지된 항체를 반응시킨다. 또한, 이 절차는 조사된 조직에서 마커 유전자 생성물이 어떻게 분포하는지 결정하게 해준다. 원래 위치에서의 검출에 다양한 조직학적 방법을 쉽게 이용할 수 있음이 당업계 숙련자들에게 명백할 것이다.

하기 실시예는 단지 예시적인 목적으로 제공되며, 어떤 방식으로든 본 발명의 범위를 제한하려는 것은 아니다.

본 명세서에 인용된 모든 특허 및 문헌의 개시 내용은 그 전문이 본원에 참고문헌으로 포함된다.

실시예

실시예에서 언급한 시판 시약들은 달리 지시하지 않는 한 제조업자의 지시에 따라 사용하였다. 하기 실시예와 명세서 전반에서 ATCC 기탁 번호로 확인되는 세포들의 입수원은 아메리칸 타입 컬렉션(American Type Culture Collection, Manassas, VA)이다. 달리 언급되지 않는 한, 본 발명은 상기 기재된 문헌 및 문헌 (Sambrook et al., 상기 문헌; Ausubel et al., Current Protocols in Molecular Biology(Green Publishing Associates and Wiley Interscience, N.Y., 1989); Innis et al., PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications(Academic Press, Inc.: N.Y., 1990); Harlow et al., Antibodies: A Laboratory Manual(Cold Spring Harbor Press: Cold Spring Harbor, 1988); Gait, Oligonucleotide Synthesis(IRL Press: Oxford, 1984); Freshney, Animal Cell Culture, 1987; Coligan et al., Current Protocols in Immunology, 1991)에 기재된 바와 같은 재조합 DNA 기술의 표준 방법을 이용하였다.

실시예 1: 신규 폴리펩티드 및 이를 코딩하는 cDNA를 확인하기 위한 세포의 도메인 상동성 스크리닝

스위스-프롯(Swiss-Prot) 공개 데이터베이스로부터 약 950개의 공지된 분비형 단백질로부터의 세포의 도메인 (ECD) 서열 (존재하는 경우 분비 신호 서열 포함)을 사용하여 EST 데이터베이스를 검색하였다. EST 데이터베이스는 공개 데이터베이스 (예를 들면, 데이호프(Dayhoff), 진뱅크(GenBank))와 비공개 데이터베이스 (예를 들면, LIFESEQ™ (인사이트 파마슈티칼스(Incyte Pharmaceuticals, 캘리포니아주 팔로 알토))를 포함한다. 검색은 EST 서열의 6개 프레임 번역에 대한 ECD 단백질 서열의 비교로서 컴퓨터 프로그램 WU-BLAST-2 (Altschul et al., Methods in Enzymology 266: 460-480 (1996))를 이용하여 수행하였다. 공지된 단백질을 코딩하지 않는 70 (또는 몇몇 경우 90) 이상의 블라스트(Blast) 스코어를 갖는 비교물을 클러스터시키고, 프로그램 "프랩(phrap)" (Phil Green, University of Washington, 워싱턴주 시애틀)을 사용하여 컨센서스 DNA 서열로 어셈블리하였다.

본 세포의 도메인 상동성 스크린을 이용하여, 컨센서스 DNA 서열을 프랩을 사용하여 확인된 다른 EST 서열에 대해 어셈블리하였다. 또한, 수득한 컨센서스 DNA 서열을 종종 (항상은 아니지만) 가능한 한 상기 논의한 EST 서열원을 사용하여 컨센서스 서열을 가능한 길게 신장시키기 위해 BLAST 또는 BLAST-2와 프랩의 반복 사이클을 이용하였다.

이어서, 상기한 바와 같이 수득한 컨센서스 서열에 기준하여 올리고뉴클레오티드를 합성하여, PCR에 의해 관심있는 서열을 포함하는 cDNA 라이브러리를 확인하기 위해 사용하고 PRO 폴리펩티드에 대한 전장 코딩 서열의 클론을 단리시키기 위한 프로브로서 사용하였다. 전방향 및 역방향 PCR 프라이머는 일반적으로 20 내지 30개 뉴클레오티드 범위이고, 종종 약 100 내지 1000 bp 길이의 PCR 산물을 제공하기 위해 고안된다. 프로브 서열은 대개 40 내지 55 bp 길이다. 몇몇 경우, 컨센서스 서열이 약 1 내지 1.5 kbp보다 큰 경우 추가의 올리고뉴클레오티드가 합성된다. 전장 클론을 위한 몇몇 라이브러리를 스크리닝하기 위해, 이들 라이브러리로부터의 DNA를 PCR 프라이머 쌍을 사용하여 문헌 (Ausubel et al., Current Protocols in Molecular Biology)에 따라 PCR 증폭에 의해 스크리닝하였다. 이어서, 양성 라이브러리를 사용함으로써 프로브 올리고뉴클레오티드 및 프라이머 쌍들 중 하나를 이용하여 관심있는 유전자를 코딩하는 클론을 단리시켰다.

cDNA 클론을 단리시키기 위해 사용되는 cDNA 라이브러리는 인비트로젠(Invitrogen, 캘리포니아주 샌디에고)으로부터의 시약들과 같은 시판 시약을 사용하여 표준 방법으로 제작하였다. cDNA를 NotI 부위를 갖는 올리고 dT로 프라이밍시키고, SalI 헤미키나제화 어댑터에 평활 말단으로 연결시키고, NotI로 절단하고, 겔 전기영동에 의해 적절한 크기로 분류하고, 적당한 클로닝 벡터 (예를 들면, pRKB 또는 pRKD; pRK5B는 SfiI 부위를 포함하지 않는 pRK5D의 전구체임; 문헌 (Holmes et al., Science, 253: 1278-1280 (1991))을 참조한다)내의 유일한 XhoI 및 NotI 부위에 정해진 방향으로 클로닝하였다.

실시예 2: 아밀라제 스크리닝에 의한 cDNA 클론의 단리

1. 올리고 dT 프라이밍된 cDNA 라이브러리의 제조

인비트로젠 (캘리포니아주, 샌디에고)사의 시약 및 프로토콜 (Fast Track 2)을 사용하여 인간 조직으로부터 mRNA를 단리하였다. 미국 메릴랜드주 게터스버그 소재의 Life Technologies사의 시약 및 프로토콜 (Super Script Plasmid System)을 이용하여, 상기 RNA를 사용하여 벡터 pRK5D에 올리고 dT 프라이밍된 cDNA 라이브러리를 생성시켰다. 이 과정에서, 이중 가닥 cDNA의 크기를 1000 bp보다 크도록 선택하고, SalI/NotI 링커 부착 cDNA를 XhoI/NotI 절단 벡터에 클로닝하였다. pRK5D는 sp6 전사 개시 부위, SfiI 제한 효소 부위, XhoI/NotI cDNA 클로닝 부위를 순서대로 포함하는 클로닝 벡터이다.

2. 랜덤 프라이밍된 cDNA 라이브러리의 제조

1차 cDNA 클론의 5' 말단을 우선적으로 제공하기 위해 2차 cDNA 라이브러리를 생성시켰다. 1차 라이브러리 (상기한 바와 같음)로부터 Sp6 RNA를 생성시키고, 라이프 테크놀로지(Life Technologies)사의 시약 및 프로토콜 (Super Script Plasmid System, 상기한 바와 같음)을 이용하여 상기 RNA를 사용하여 랜덤 프라이밍된 cDNA 라이브러리를 생성시켰다. 이 과정에서, 이중가닥 cDNA를 500 내지 1000 bp의 크기로 만들고, NotI 어댑터에 평활한 상태로 연결시키고, SfiI로 절단하여 SfiI/NotI 절단 벡터에 클로닝하였다. pSST-AMY.0은 cDNA 클로닝 부위 및 생쥐 아밀라제 서열 (성숙 서열, 분비 신호 없음) 앞에 효모 알콜 탈수소효소 프로모터를 갖고 클로닝 부위 뒤에 효모 알콜 디히드로게나제 터미네이터를 갖는 클로닝 벡터이다. 따라서, 프레임내에 아밀라제 서열과 결합된, 상기 벡터 내에 클로닝된 cDNA는 적절하게 형질감염된 효모 콜로니로부터 아밀라제를 분비시킬 수 있다.

3. 형질전환 및 검출

상기 단락 2에 기재된 라이브러리로부터의 DNA를 빙상에서 냉각시켜 전기수용성(electrocompetent) DH10B 세균(Life Technologies) 20 ml을 첨가하였다. 세균 및 벡터 혼합물을 이어서 제조자의 권고대로 일렉트로포레이션시켰다. 이어서, SOC 배지(Life Technologies) 1 ml을 첨가하고 혼합물을 30분 동안 37°C에서 인큐베이션하였다. 그 후에, 형질전환체를 암피실린 함유 표준 150 mm LB 플레이트 20개에 플레이팅하고 16시간 동안(37°C)에서 인큐베이션하였다. 양성 콜로니를 플레이트로부터 분리하여 표준 프로토콜, 예를 들어 CsCl-구배법을 사용하여 DNA를 세균 펠렛으로부터 분리하였다. 정제된 DNA를 사용하여 다음과 같은 효모 프로토콜을 수행하였다.

효모 방법은 다음 세개의 카테고리로 분류된다: 1) 플라스미드/cDNA 조합 벡터를 사용한 효모의 형질전환, 2) 아밀라제를 분비하는 효모 클론의 검출 및 단리 및 3) 효모 콜로니로부터 삽입체의 직접 PCR 증폭 및 서열분석 및 추가의 분석을 위한 DNA의 정제.

사용된 효모는 HD56-5A (ATCC-90785)이었다. 이 균주는 MAT 알파, *ura3-52*, *leu2-3*, *leu2-112*, *his3-11*, *his3-15*, *MAL⁺*, *SUC⁺*, *GAL⁺*의 인자형을 갖는다. 바람직하게는, 번역 후 경로가 결여된 효모 변이체를 사용할 수 있다. 이러한 변이체는 *sec71*, *sec72*, *sec62*, 바람직하게는 말단이 잘린 *sec71*에서 전좌(translocation)로 인한 결핍 대립유전자를 가질 수 있다. 별법으로, 상기 유전자의 정상적인 작동을 방해하거나 상기 번역 후 경로에 관련된 다른 단백질(예를 들어 SEC61p, SEC72p, SEC62p, SEC63p, TDJ1p 또는 SSA1p-4p) 또는 이들 단백질의 복합체 형성을 방해하는 길항제(안티센스 뉴클레오티드 및(또는) 리간드 포함)를 사용하는 것이 바람직할 수 있다.

형질전환은 문헌(Gietz et al., Nucl. Acid. Res., 20:1425 (1992))에 개관된 프로토콜에 기초하여 수행하였다. 이어서, 형질전환된 세포를 아가로부터 YEPD 복합 배지 브로쓰 100 ml에 접종하고 30°C에서 밤새 배양하였다. YEPD 브로쓰를 문헌[Kaiser et al., Methods in Yeast Genetics, Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, NY, p. 207 (1994)]에 기재된 바와 같이 제조하였다. 밤새 배양한 배양액을 신선한 YEPD 브로쓰 500 ml로 약 2×10^6 세포/ml (약 $OD_{600} = 0.1$)로 희석하여 약 1×10^7 세포/ml (약 $OD_{600} = 0.4 - 0.5$)로 재배양하였다.

세포를 회수한 다음, 형질전환을 준비하였는데, Sorval GS3 로터의 GS3 로터 바틀로 옮겨서 5,000 rpm에서 5분 동안 원심분리하고, 상등액을 버리고, 멸균수로 재현탁시켜 Beckman GS-6KR 원심분리기에서 3,500 rpm으로 50 ml 팔콘 튜브에서 다시 원심분리하여었다. 상등액을 버리고, 세포를 LiAc/TE (10 ml, 10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA pH7.5, 100 mM Li_2OOCCH_3)로 세척하여 LiAc/TE (2.5 ml)에 재현탁시켰다.

마이크로 원심분리 튜브에서, 준비한 세포 100 μ l를 신선한 변성 단일 가닥 연어 고환 DNA (미국 메릴랜드주 게이터스버그 소재 Lofstrand Lab)와 형질전환 DNA 1 μ g (부피 < 10 μ l)와 혼합하여 형질전환을 수행하였다. 혼합물을 볼텍싱에 의해 잠깐 혼합한 후, 40% PEG/TE 600 μ l (40% 폴리에틸렌 글리콜-4000, 10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, 100 mM Li_2OOCCH_3 , pH 7.5)를 첨가하였다. 상기 혼합물을 부드럽게 혼합하고 30분 동안 교반하면서 30°C에서 인큐베이션하였다. 세포를 이어서 42°C에서 15분 동안 열 쇼크를 가하고, 반응 용기를 마이크로원심분리기에서 12,000 rpm에서 5 내지 10초 동안 원심분리하여 상등액을 버리고 TE 500 μ l (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA pH7.5)에 재현탁시킨 후 재원심분리하였다. 세포를 TE 1 ml로 희석하고 분취액 200 μ l를 150 mm 성장 플레이트 (VWR)에서 미리 제조한 선택 배지 상에 도말하였다.

별법으로, 작은 다수회의 반응 대신에, 시약량을 증가시키면서 1회의 대규모의 반응을 이용하여 형질전환을 수행하였다.

사용된 선택 배지는 문헌(Kaiser et al., Methods in Yeast Genetics, Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, NY, p. 208-210 (1994))에 기재된 바와 같이 제조된 우라실 결여된 합성 완전 텍스트로스 아가 (SCD-Ura)이었다. 형질전환체를 30°C에서 2 내지 3일 동안 배양하였다.

아밀라제를 분비하는 콜로니의 검출은 선택 성장 배지 중에 적색 전분을 포함시켜 수행하였다. 문헌(Biely et al., Anal. Biochem., 172:176-179 (1988))에 기재된 바와 같은 방법에 따라 전분을 적색 염료(반응성 Red-120, Sigma)와 결합시켰다. 결합된 전분을 최종 농도 0.15% (w/v)로 SCD-Ura 아가 플레이트에 첨가하고, 인산칼륨을 사용하여 pH 7.0으로 완충시켰다(최종 농도 50 내지 100 mM).

양성 콜로니를 선택하여 새로운 선택 배지 (150 mm 플레이트 상의)에 스트리킹하여 잘 단리되며 동정가능한 단일 콜로니를 수득하였다. 적색 전분을 완충된 SCD-Ura 아가에 직접 첨가하여 아밀라제 분비에 대해 양성인 잘 단리된 단일 콜로니를 검출하였다. 전분을 분해하여 직접 시각으로 확인할 수 있는 양성 콜로니 주위에 투명 원광(halo)을 생성시키는 능력에 의해 양성 콜로니를 결정하였다.

4. PCR 증폭에 의한 DNA의 단리

양성 콜로니를 단리할 때, 그 일부를 이쑤시개로 떼내어 96웰 플레이트 내의 멸균수 30 μ l 중에 희석하였다. 이때, 양성 콜로니를 동결시켜 후속 분석을 위해 보관하거나 즉시 증폭하였다. 0.5 μ l KlenTaq (미국 캘리포니아주 팔로 알토 소재의 Clontech), 10 mM dNTP 4.0 μ l (Perkin Elmer-Cetus), Kentaq 완충액 (Clontech) 2.5 μ l, 전방향 올리고뉴클레오티드 1 0.25 μ l, 역방향 올리고뉴클레오티드 2 0.25 μ l, 증류수 12.5 μ l를 포함하는 25 μ l 부피의 PCR 반응의 주형으로서 세포의 분취액 5 μ l를 사용하였다. 전방향 올리고뉴클레오티드 1의 서열은 다음과 같다:

5'-TGTA AACGACGGCCAGTTAAATAGACCTGCAATTATTAATCT-3' (서열 1)

역방향 올리고뉴클레오티드 2의 서열은 다음과 같다:

5'-CAGGAAACAGCTATGACCACCTGCACACCTGCAAATCCATT-3' (서열 2)

이어서, PCR을 다음과 같이 수행하였다.

- a. 92°C에서 5분 동안 변성시킴,
- b. 92°C에서 30초 동안 변성, 59°C에서 30초 동안 어닐링, 72°C에서 60초간 신장시키는 과정을 3회 실시,
- c. 92°C에서 30초 동안 변성, 57°C에서 30초 동안 어닐링, 72°C에서 60초간 신장시키는 과정을 3회 실시,
- d. 92°C에서 30초 동안 변성, 55°C에서 30초 동안 어닐링, 72°C에서 60초간 신장시키는 과정을 25회 실시,
- e. 4°C에서 유지시킴.

올리고뉴클레오티드의 밀출된 영역은 ADH 프로모터 영역 및 아밀라제 영역에 각각 어닐링되고, 삽입체가 존재하지 않을 경우 벡터 pSST-AMY.O으로부터 307 bp 영역을 증폭하였다. 통상적으로, 상기 올리고뉴클레오티드의 5' 말단의 처음 18개의 뉴클레오티드는 서열 분석 프라이머의 어닐링 부위를 포함하였다. 따라서, 공(empty) 벡터로부터 PCR 반응의 총 생성물은 343 bp이었다. 그러나, 신호 서열이 결합된 cDNA는 상당히 긴 뉴클레오티드 서열을 생성시켰다.

PCR 후에, 반응액의 분취액 5 μ l를 문헌 [Sambrook et al., 상기 문헌]에 기재된 Tris-Borate-EDTA (TBE) 완충 시스템을 사용하여 1% 아가로스 겔에서의 아가로스 겔 전기영동에 의해 조사하였다. 400 bp보다 큰 강력한 하나의 PCR 생성물을 생성시키는 클론을 96 Qiaquick PCR clean-up 컬럼 (미국 캘리포니아주 채스워쓰 소재의 Qiagen Inc.)로 정제한 후 DNA 서열 분석에 의해 추가로 분석하였다.

실시예 3: 신호 연산법 분석을 이용한 cDNA 클론의 단리

제넨테크, 인크(Genentech, Inc., South San Francisco, CA)사에서 개발한 비공개 신호 서열 검색 연산법을 사용하여, 공개(예를 들어, Genbank) 및(또는) 비공개(LIFESEQ(등록상표), Incyte Pharmaceuticals, Inc., Palo Alto, CA) 데이터 베이스로부터의 EST 및 밀집되고 조립된 EST 단편에서 다양한 폴리펩티드를 코딩하는 핵산 서열을 확인하였다. 신호 서열 연산법은 목적 서열 또는 서열 단편의 5'-말단에서 첫번째 및 임의로 두번째 메티오닌 코돈(ATG) 주변의 DNA 뉴클레오티드의 특성을 토대로 분비 신호 점수를 계산하였다. 첫번째 ATG 다음의 뉴클레오티드는 임의의 정지 코돈 없이 35개 이상의 분명한 아미노산을 코딩해야 한다. 첫번째 ATG는 소정의 아미노산을 갖는 경우, 두번째 ATG는 조사하지 않았다. 이 요건을 충족시키지 못하는 경우, 후보 서열의 점수는 계산하지 않았다. EST 서열이 분명한 신호 서열을 포함하는지를 결정하기 위해, 분비 신호와 관련된 것으로 알려진 7개의 센서(평가 파라메타) 한 세트를 사용하여 이 DNA 및 ATG 코돈 주변의 아미노산 서열의 점수를 매겼다. 이 연산법을 사용하여 많은 폴리펩티드-코딩 핵산 서열을 확인하였다.

실시예 4: 인간 PRO172를 코딩하는 cDNA 클론의 단리

상기 실시예 1에 기재된 프랩을 이용하여 델타-유사 동족체를 코딩하는 컨센서스 DNA 서열을 다른 EST 서열에 대해 어셈블리하였다. 이 컨센서스 서열은 본원에서 DNA28765라 지칭된다. DNA28765 서열을 기초로 하여, 1) 목적 서열을 함유하는 cDNA 라이브러리를 PCR에 의해 확인하고 2) PRO172 코딩 서열의 전장 클론을 단리하기 위한 프로브로서 사용하기 위해 올리고뉴클레오티드를 합성하였다.

PCR 프라이머 1쌍(전방향 및 역방향)을 합성하였다.

28765.f(OLI644) 5'-GGATCTCGAGAACAGCTACTCC-3' (서열 5)

28765.r(OLI645) 5'-TCGTCCACGTTGTCGTCACATG-3' (서열 6)

추가로, 다음 뉴클레오티드 서열을 갖는 합성 올리고뉴클레오티드 혼성화 프로브를 컨센서스 DNA28765 서열로부터 제조하였다.

28765.p(OLI643)혼성화 프로브:

5'-AAATCTGTGAATTGAGTGCCATGGACCTGTTGCGGACGGCCCTTGCTT-3' (서열 7)

전장 클론의 공급원에 대해 몇개의 라이브러리를 스크리닝하기 위해 상기 확인한 PCR 프라이머쌍으로의 PCR 증폭에 의해 라이브러리로부터 DNA를 스크리닝하였다. 프로브 올리고뉴클레오티드 및 PCR 프라이머 중의 하나를 사용하여 PRO172 유전자를 코딩하는 클론을 단리하기 위해 양성 라이브러리를 이용하였다. cDNA 라이브러리 제조용 RNA는 인간 태아 신장 조직으로부터 단리하였다.

상기한 바와 같이 단리한 클론의 DNA 서열 분석을 통하여 DNA35916-1161의 전장 DNA 서열[도 1, 서열 3] 및 이로부터 유도된 PRO172의 단백질 서열을 획득하였다.

DNA35916-1161의 전체 코딩 서열은 도 1 (서열 3)에 포함되어 있다. 클론 DNA35916-1161은 뉴클레오티드 위치 38 내지 40의 분명한 번역 개시 부위 및 뉴클레오티드 위치 2207 내지 2209의 분명한 정지 코돈을 갖는 단일 오픈 리딩 프레임 포함한다. 예상된 폴리펩티드 전구체는 723개의 아미노산으로 이루어진 길이를 갖는다. 도 2 (서열 4)에 나타난 전장 PRO172 서열의 분석은 그 위치가 대략 상기 기재된 바와 같은, 도 2에 나타난 중요한 폴리펩티드 도메인의 존재를 입증한다. 도 2에 나타난 전장 PRO172 폴리펩티드의 분석은 약 아미노산 1 내지 약 아미노산 21의 신호 펩티드; 약 아미노산 546 내지 약 아미노산 566의 막횡단 도메인; 약 아미노산 477 내지 약 아미노산 481의 N-글리코실화 부위; 약 아미노산 660 내지 약 아미노산 664의 cAMP- 및 cGMP-의존성 단백질 키나아제 인산화 부위; 약 아미노산 176 내지 약 아미노산 185 및 약 아미노산 252 내지 약 아미노산 261의 티로신 키나아제 인산화 부위; 약 아미노산 2 내지 약 아미노산 8, 약 아미노산 37 내지 약 아미노산 43, 약 아미노산 40 내지 약 아미노산 46, 약 아미노산 98 내지 약 아미노산 104, 약 아미노산 99 내지 약 아미노산 105, 약 아미노산 262 내지 약 아미노산 268, 약 아미노산 281 내지 약 아미노산 287, 약 아미노산 282 내지 약 아미노산 288, 약 아미노산 301 내지 약 아미노산 307, 약 아미노산 310 내지 약 아미노산 316, 약 아미노산 328 내지 약 아미노산 334, 약 아미노산 340 내지 약 아미노산 344, 약 아미노산 378 내지 약 아미노산 384, 약 아미노산 387 내지 약 아미노산 393, 약 아미노산 512 내지 약 아미노산 518, 약 아미노산 676 내지 약 아미노산 682, 약 아미노산 683 내지 약 아미노산 689 및 약 아미노산 695 내지 약 아미노산 701의 N-미리스토일화 부위; 약 아미노산 343 내지 약 아미노산 355, 약 아미노산 420 내지 약 아미노산 432 및 약 아미노산 458 내지 약 아미노산 470의 아스파라긴산 및 아스파라긴 히드록실화 부위; 약 아미노산 552 내지 약 아미노산 563의 원핵 세포막 지질단백질 지질 부착 부위; 및 약 아미노산 243 내지 약 아미노산 255, 약 아미노산 274 내지 약 아미노산 286, 약 아미노산 314 내지 약 아미노산 326, 약 아미노산 352 내지 약 아미노산 364, 약 아미노산 391 내지 약 아미노산 403, 약 아미노산 429 내지 약 아미노산 441, 약 아미노산 467 내지 약 아미노산 479 및 약 아미노산 505 내지 약 아미노산 517의 EGF-유사 도메인 시스테인 패턴 시그너처가 존재하는 것을 입증한다. 클론 DNA35916-1161을 1997년 10월 28일에 ATCC에 기탁하여 ATCC 기탁번호 제 209419호를 배정받았다.

도 2 (서열 4)에 나타난 전장 서열의 BLAST 및 FastA 서열 정렬 분석을 기초로, PRO172는 델타-1 생쥐 단백질과 89%의 서열 동일성을 나타내었다.

실시예 5: 인간 PRO178을 코딩하는 cDNA 클론의 단리

발현 서열 태그(EST) DNA 데이터베이스 (LIFESEQ(등록상표), Incyte Pharmaceuticals, Palo Alto, CA)를 검색하여, 인간 TIE 리간드 족에 상동성을 나타내는 EST를 찾아내었다.

이후에, cDNA 라이브러리 제조용 RNA는 인간 태아 폐 조직으로부터 단리하였다. 인간 PRO178을 코딩하는 cDNA 클론을 단리하기 위해 사용된 cDNA 라이브러리는, 인비트로젠(Invitrogen, San Diego, CA)과 같은 회사에서 상업적으로 시판하는 시약을 이용하여 표준 방법에 의해 제조하였다. Not I 부위를 함유하는 올리고 dT로 cDNA를 프라이밍시키고, Sal I 헤미키나아제화 어댑터에 평활 말단으로 결합시킨 후, Not I 으로 절단하고, 겔 전기영동에 의해 대략의 크기를 분류한 다음, 적합한 클로닝 벡터(예를 들면, pRKB 또는 pRKD; pRKB5는 Sfi I 부위가 없는 pRK5D의 전구체임; Homles et al., Science, 253:1278-1280 (1991) 참조)의 단일 Xho I 및 Not I 부위에 정해진 방향으로 클로닝하였다.

1) 목적 서열을 함유하는 cDNA 라이브러리를 PCR에 의해 확인하고 2) PRO178에 대한 전장 코딩 서열의 클론을 단리하는데 프로브로서 사용하기 위해, 상기 기재된 EST 서열 기재의 올리고뉴클레오티드 프로브를 합성하였다. 전방향 및 역방향 PCR 프라이머는 통상 뉴클레오티드 20 내지 30개 범위이며, 종종 약 100 내지 1000 bp 길이의 PCR 산물을 산출하도록 설계한다. 프로브 서열은 통상 40 내지 55 bp 길이이다. 전장 클론의 여러 라이브러리를 스크리닝하기 위해, 상기 문헌(Ausubel et al., Current Protocols in Molecular Biology)에 기재된 바와 같이 PCR 프라이머쌍을 사용하여 PCR 증폭에 의해 라이브러리로부터 DNA를 스크리닝하였다. 그 후에, 프로브 올리고뉴클레오티드 및 프라이머 쌍 중 하나를 사용하여 목적 유전자를 코딩하는 클론을 단리하는데 양성 라이브러리를 이용하였다.

사용된 올리고뉴클레오티드 프로브는 하기와 같다:

NL8.5-1:

5'-ACGTAGTTCCAGTATGGTGTGAGCAGCAACTGGA-3' (서열 10)

NL8.3-1:

5'-AGTCCAGCCTCCACCTCCAGTTGCT-3' (서열 11)

NL8.3-2:

5'-CCCCAGTCCTCCAGGAGAACCAGCA-3' (서열 12)

전장의 클론[DNA23339-1130]은 뉴클레오티드 위치 118 내지 120의 분명한 번역 개시 부위 및 뉴클레오티드 위치 1528 내지 1530의 정지 신호를 갖는 단일 오픈 리딩 프레임에 포함함을 확인하였다(도 3, 서열 8). 예상된 폴리펩티드 전구체는 470개의 아미노산으로 이루어진 길이를 갖고, 계산된 분자량은 51,694 달톤이며, 추정 pI는 약 8.86이다. 도 4(서열 9)에 나타낸 전장 PRO178 서열의 분석은 그 위치가 대략 상기 기재된 바와 같은, 도 4에 나타낸 중요한 폴리펩티드 도메인의 존재를 입증한다. 도 4에 나타낸 전장 PRO178 폴리펩티드의 분석은 약 아미노산 1 내지 약 아미노산 20의 신호 펩티드; 약 아미노산 58 내지 약 아미노산 62 및 약 아미노산 145 내지 약 아미노산 149의 N-글리코실화 부위; 약 아미노산 97 내지 약 아미노산 101의 cAMP- 및 cGMP-의존성 단백질 키나아제 인산화 부위; 약 아미노산 441 내지 약 아미노산 448의 티로신 키나아제 인산화 부위; 약 아미노산 16 내지 약 아미노산 22, 약 아미노산 23 내지 약 아미노산 29, 약 아미노산 87 내지 약 아미노산 93, 약 아미노산 108 내지 약 아미노산 114, 약 아미노산 121 내지 약 아미노산 127, 약 아미노산 125 내지 약 아미노산 131, 약 아미노산 129 내지 약 아미노산 135, 약 아미노산 187 내지 약 아미노산 93, 약 아미노산 293 내지 약 아미노산 299, 약 아미노산 353 내지 약 아미노산 359, 약 아미노산 378 내지 약 아미노산 384, 약 아미노산 445 내지 약 아미노산 451 및 약 아미노산 453 내지 약 아미노산 459의 N-미리스토일화 부위; 약 아미노산 340 내지 약 아미노산 343의 세포 부착 부위; 및 약 아미노산 418 내지 약 아미노산 431의 피브리노겐 베타 및 감마 사슬 C-말단 도메인 시그너처가 존재하는 것을 입증한다. 클론 DNA23339-1130을 1997년 9월 18일에 ATCC에 기탁하여 ATCC 기탁 번호 제 209282 호를 배정받았다.

도 4 (서열 9)에 나타낸 전장 서열의 BLAST 및 FastA 서열 정렬 분석을 기초로, PRO178(본원에서 NL8이라 지칭됨)은 TIE-2 수용체의 리간드 1 및 리간드 2와 23%의 서열 동일성을 나타내었다. TIE-2 수용체의 리간드 1 및 리간드 2는

PRO178에 각각 64% 및 40-43% 동일하였다. "TIE"라는 약어는 "티로신 키나아제 함유 Ig 및 EGF 상동성 도메인 (tyrosine kinase containing Ig and EGF homology domain)"을 나타내는 머리 글자이며, 수용체 티로신 키나아제의 새로운 족을 지칭하기 위해 만들어졌다.

실시예 6: 인간 PRO179를 코딩하는 cDNA 클론의 단리

BLAST 및 FastA 서열 정렬에 의해, 상기 실시예 2에 기재된 아밀라제 스크린에서 단리된 cDNA 서열이 다양한 안지오포이에틴(angiopoietin) 단백질을 코딩하는 뉴클레오티드 서열과 상동성이 있음을 확인하였다. 이 cDNA 서열을 본원에서 DNA10028 및(또는) DNA25250이라 지칭하였다. 서열 상동성을 기초로 하여 DNA10028 분자의 서열로부터 프로브를 제조하여, 상기 실시예 2의 첫번째 단락에 기재된 바와 같이 제조된 인간 태아 간 라이브러리(LIB6)를 스크린하기 위해 사용하였다. 클로닝 벡터는 pRK5B (pRK5B는 Sfi I 부위를 함유하지 않는 pRK5D의 전구체임; 문헌 (Holmes et al., Science, 253:1278-1280 (1991)) 참조)였으며, 절단된 cDNA의 크기는 2800bp 미만이었다.

전장 클론의 공급원에 대해 몇개의 라이브러리를 스크리닝하기 위해 상기 확인한 PCR 프라이머쌍으로의 PCR 증폭에 의해 라이브러리로부터 DNA를 스크리닝하였다. 프로브 올리고뉴클레오티드 및 PCR 프라이머 중의 하나를 사용하여 PRO179 유전자를 코딩하는 클론을 단리하기 위해 양성 라이브러리를 이용하였다.

전장의 클론[DNA16451-1388]은 뉴클레오티드 위치 37 내지 39의 분명한 번역 개시 부위 및 뉴클레오티드 위치 1417 내지 1419의 정지 신호를 갖는 단일 오픈 리딩 프레임에 포함함을 확인하였다(도 5, 서열 13). 예상된 폴리펩티드 전구체는 460개의 아미노산으로 이루어진 길이를 갖고, 계산된 분자량은 53,637 달톤이며, 추정 pI는 약 6.61이다. 도 6 (서열 14)에 나타낸 전장 PRO179 서열의 분석은 그 위치가 대략 상기 기재된 바와 같은, 도 6에 나타낸 중요한 폴리펩티드 도메인의 존재를 입증한다. 도 6에 나타낸 전장 PRO179 폴리펩티드의 분석은 약 아미노산 1 내지 약 아미노산 16의 신호 펩티드; 약 아미노산 23 내지 약 아미노산 27, 약 아미노산 115 내지 약 아미노산 119, 약 아미노산 296 내지 약 아미노산 300 및 약 아미노산 357 내지 약 아미노산 361의 N-글리코실화 부위; 약 아미노산 100 내지 약 아미노산 104 및 약 아미노산 204 내지 약 아미노산 208의 cAMP- 및 cGMP-의존성 단백질 키나아제 인산화 부위; 약 아미노산 342 내지 약 아미노산 351의 티로신 키나아제 인산화 부위; 약 아미노산 279 내지 약 아미노산 285, 약 아미노산 352 내지 약 아미노산 358 및 약 아미노산 367 내지 약 아미노산 373의 N-미리스토일화 부위; 및 약 아미노산 120 내지 약 아미노산 142 및 약 아미노산 127 내지 약 아미노산 149의 루이신 지퍼 패턴이 존재하는 것을 입증한다. 클론 DNA16451-1388을 1998년 4월 14일에 ATCC에 기탁하여 ATCC 기탁번호 제 209776 호를 배정받았다.

도 6 (서열 14)에 나타낸 전장의 PRO179 폴리펩티드의 분석은 상기 폴리펩티드가 안지오포이에틴 족의 단백질과 상당히 유사함을 제시하고, 따라서 PRO179는 안지오포이에틴 족의 신규한 단백질일 수 있다. 더욱 구체적으로, 데이호프 데이터베이스 (버전 35.45 SwissProt 35)의 분석은 PRO179 아미노산 서열과 데이호프 서열 AF004326_1, P_R94605, HSU83508_1, P_R94603, P_R94317, AF025818_1, HSY16132_1, P_R65760, 137391 및 HUMRSC192_1 사이의 상당한 상동성을 보여주었다.

실시예 7: 인간 PRO182를 코딩하는 cDNA 클론의 단리

인슐린 족의 단백질인 릴렉신(relaxin)의 핵산 서열을 이용하여 인사이트 인크(Incyte, Inc.)에서 입수가 가능한 발현 서열 태그(EST)의 인간 직장 cDNA 라이브러리(LIFESEQ(등록상표), Incyte Pharmaceuticals, Palo Alto, CA)에서 상동성 서열을 검색하였다. Incyte EST 제 INC2328985호 및 제INC778319호의 EST 2개를 획득하였는데, 각각은 릴렉신 핵산 서열 영역에 약 40%의 상동성이 있었으며, 인슐린-유사 폴리펩티드(ILP) 유전자 내의 서열을 대표한다.

cDNA 라이브러리는 클론테크(Clontech Laboratories, Inc. Palo Alto, CA, 카탈로그 번호 6537-1)에서 입수한 인간 자궁 mRNA로부터 제조하였다. 인사이트 인크로부터의 EST 서열(Incyte EST INC2328985 및 Incyte EST INC778319) 기재의 올리고뉴클레오티드를 이용하는 콜리니 혼성화에 의해, 상기 기재된 플라스미드 cDNA 라이브러리를 스크리닝하여 PRO182의 전장 핵산 서열을 획득하였다. 인간 PRO182를 코딩하는 cDNA 클론을 단리하기 위해 사용된 cDNA 라이브러리는, 인비트로젠(Invitrogen, San Diego, CA)과 같은 회사에서 상업적으로 시판하는 시약을 이용하여 표준 방법에 의해 제조하였다. Not I 부위를 함유하는 올리고 dT로 cDNA를 프라이밍시키고, Sal I 헤미키나아제화 어댑터에 평할 말단으로 결합시킨 후, Not I 으로 절단하고, 겔 전기영동에 의해 대략의 크기를 분류한 다음, 적합한 클로닝 벡터(예를 들면, pRKB 또는 pRKD; pRKB5는 Sfi I 부위가 없는 pRK5D의 전구체임; Homles et al., Science, 253:1278-1280 (1991) 참조)의 단일 Xho I 및 Not I 부위에 정해진 방향으로 클로닝하였다.

1) 목적 서열을 함유하는 cDNA 라이브러리를 PCR에 의해 확인하고 2) PRO182에 대한 전장 코딩 서열의 클론을 단리하는데 프로브로서 사용하기 위해, 상기 기재된 EST 서열 기재의 올리고뉴클레오티드 프로브를 합성하였다. 전방향 및 역방향 PCR 프라이머는 통상 뉴클레오티드 20 내지 30개 범위이며, 종종 약 100 내지 1000 bp 길이의 PCR 산물을 산출하도록 설계한다. 프로브 서열은 통상 40 내지 55 bp 길이이다. 전장 클론의 여러 라이브러리를 스크리닝하기 위해, 상기 문헌(Ausubel et al., Current Protocols in Molecular Biology)에 기재된 바와 같이 PCR 프라이머쌍을 사용하여 PCR 증폭에 의해 라이브러리로부터 DNA를 스크리닝하였다. 그 후에, 프로브 올리고뉴클레오티드 및 프라이머 쌍 중 하나를 사용하여 목적 유전자를 코딩하는 클론을 단리하는데 양성 라이브러리를 이용하였다.

사용된 올리고뉴클레오티드 프로브는 하기와 같다:

5'-CACATTCAGTCCTCAGCAAAATGAA-3' (서열 17)

5'-GAGAATAAAAACAGAGTGAAAATGGAGCCCTTCATTTTGC-3' (서열 18)

5'-CTCAGCTTGCTGAGCTTGAGGGA-3'(서열 19)

전장의 클론[DNA27865-1091]은 뉴클레오티드 위치 39 내지 41의 분명한 번역 개시 부위 및 뉴클레오티드 위치 444 내지 446의 정지 신호를 갖는 단일 오픈 리딩 프레임에 포함함을 확인하였다(도 7, 서열 15). 예상된 폴리펩티드 전구체는 135개의 아미노산으로 이루어진 길이를 갖고, 계산된 분자량은 15,319 달톤이며, 추정 pI는 약 7.39이다. 도 8 (서열 16)에 나타난 전장 PRO182 서열의 분석은 그 위치가 대략 상기 기재된 바와 같은, 도 8에 나타난 중요한 폴리펩티드 도메인의 존재를 입증한다. 도 8에 나타난 전장 PRO182 폴리펩티드의 분석은 약 아미노산 1 내지 약 아미노산 18의 신호 펩티드; 약 아미노산 107 내지 약 아미노산 111의 cAMP- 및 cGMP-의존성 단백질 키나아제 인산화 부위; 약 아미노산 3 내지 약 아미노산 9, 약 아미노산 52 내지 약 아미노산 58, 약 아미노산 96 내지 약 아미노산 102 및 약 아미노산 125 내지 약 아미노산 131의 N-메리스토일화 부위; 및 약 아미노산 121 내지 약 아미노산 136의 인슐린 족 시그너처가 존재하는 것을 입증한다. 클론 DNA27865-1091을 1997년 9월 23일에 ATCC에 기탁하여 ATCC 기탁번호 제 209296 호를 배정받았다.

도 8 (서열 16)에 나타난 전장 서열의 BLAST 및 FastA 서열 정렬 분석(ALIGN 컴퓨터 프로그램 이용)에 기초하여, PRO182 폴리펩티드는 상동성이 있었지만 임의의 다른 공지 폴리펩티드 분자와 상이했으며, 따라서 PRO182 폴리펩티드는 인슐린 족의 신규한 단백질일 수 있다.

실시예 8: 인간 PRO187을 코딩하는 cDNA 클론의 단리

발현 서열 태그(EST) DNA 데이터베이스 (LIFESEQ(등록상표), Incyte Pharmaceuticals, Palo Alto, CA)를 검색하여, 섬유아세포 성장인자(FGF-8)에 상동성을 나타내며 안드로겐-유도 성장인자로도 알려진 EST를 찾아내었다.

cDNA 라이브러리 제조용 RNA는 인간 태아 폐 조직으로부터 단리하였다. 인간 PRO187을 코딩하는 cDNA 클론을 단리하기 위해 사용된 cDNA 라이브러리는, 인비트로젠(Invitrogen, San Diego, CA)과 같은 회사에서 상업적으로 시판하는 시약을 이용하여 표준 방법에 의해 제조하였다. Not I 부위를 함유하는 올리고 dT로 cDNA를 프라이밍시키고, Sal I 헤미키나아제화 어댑터에 평활 말단으로 결합시킨 후, Not I 으로 절단하고, 겔 전기영동에 의해 대략의 크기를 분류한 다음, 적합한 클로닝 벡터(예를 들면, pRKB 또는 pRKD; pRKB5는 Sfi I 부위가 없는 pRK5D의 전구체임; Homles et al., Science, 253:1278-1280 (1991) 참조)의 단일 Xho I 및 Not I 부위에 정해진 방향으로 클로닝하였다.

1) 목적 서열을 함유하는 cDNA 라이브러리를 PCR에 의해 확인하고 2) PRO187에 대한 전장 코딩 서열의 클론을 단리하는데 프로브로서 사용하기 위해, 상기 기재된 EST 서열 기재의 올리고뉴클레오티드 프로브를 합성하였다. 전방향 및 역방향 PCR 프라이머는 통상 뉴클레오티드 20 내지 30개 범위이며, 종종 약 100 내지 1000 bp 길이의 PCR 산물을 산출하도록 설계한다. 프로브 서열은 통상 40 내지 55 bp 길이이다. 전장 클론의 여러 라이브러리를 스크리닝하기 위해, 상기 문헌(Ausubel et al., Current Protocols in Molecular Biology)에 기재된 바와 같이 PCR 프라이머쌍을 사용하여 PCR 증폭에 의해 라이브러리로부터 DNA를 스크리닝하였다. 그 후에, 프로브 올리고뉴클레오티드 및 프라이머 쌍 중 하나를 사용하여 목적 유전자를 코딩하는 클론을 단리하는데 양성 라이브러리를 이용하였다.

다양한 조직으로부터의 여러 라이브러리를 하기 올리고뉴클레오티드 프로브로 PCR 증폭하여 스크리닝하였다:

IN843193.f(OLI315)

5'-CAGTACGTGAGGGACCAGGGCGCCATGA-3' (서열 22)

IN843193.r(OLI317)

5'-CCGGTGACCTGCACGTGCTTGCCA-3' (서열 23)

이후에, 상기 올리고뉴클레오티드 중 하나와 하기 올리고뉴클레오티드 프로브를 사용하여 FGF-8 상동성 유전자를 코딩하는 클론을 단리하는데 양성 라이브러리를 이용하였다.

IN843193.p(OLI316)

5'-GCGGATCTGCCGCCTGCTCANCTGGTCGGTCATGGCGCCCT-3' (서열 24)

전장의 클론 [DNA27864-1155]은 뉴클레오티드 위치 26 내지 28의 분명한 번역 개시 부위 및 뉴클레오티드 위치 641 내지 643의 정지 신호를 갖는 단일 오픈 리딩 프레임에 포함함을 확인하였다(도 9, 서열 20). 예상된 폴리펩티드 전구체는 205개의 아미노산으로 이루어진 길이를 갖고, 계산된 분자량은 23,669 달톤이며, 추정 pI는 약 10.75이다. 도 10 (서열 21)에 나타난 전장 PRO187 서열의 분석은 그 위치가 대략 상기 기재된 바와 같은, 도 10에 나타난 중요한 폴리펩티드 도메인의 존재를 입증한다. 도 10에 나타난 전장 PRO187 폴리펩티드의 분석은 약 아미노산 1 내지 약 아미노산 22의 신호 펩티드; 약 아미노산 9 내지 약 아미노산 13 및 약 아미노산 126 내지 약 아미노산 130의 N-글리코실화 부위; 약 아미노산 60 내지 약 아미노산 64의 cAMP- 및 cGMP-의존성 단백질 키나아제 인산화 부위; 약 아미노산 39 내지 약 아미노산 48 및 약 아미노산 89 내지 약 아미노산 97의 티로신 키나아제 인산화 부위; 약 아미노산 69 내지 약 아미노산 75 및 약 아미노산 188 내지 약 아미노산 194의 N-미리스토일화 부위; 약 아미노산 58 내지 약 아미노산 62의 아미드화 부위; 및 약 아미노산 103 내지 약 아미노산 128의 HBGF/FGF 족 시그너처가 존재하는 것을 입증한다. 클론 DNA27864-1155를 1997년 10월 16일에 ATCC에 기탁하여 ATCC 기탁번호 제 209375 호를 배정받았다.

도 10 (서열 21)에 나타난 전장 서열의 BLAST 및 FastA 서열 정렬 분석(ALIGN 컴퓨터 프로그램 이용)에 기초하여, PRO187 폴리펩티드는 인간 섬유아세포 성장인자-8(안드로젠-유도 성장인자)와 74%의 서열 동일성을 나타내었다.

실시예 9: 인간 PRO188을 코딩하는 cDNA 클론의 단리

발현 서열 태그(EST) DNA 데이터베이스 (LIFESEQ(등록상표), Incyte Pharmaceuticals, Palo Alto, CA)를 검색하여, 인간 TIE 리간드 족에 상동성을 나타내는 EST를 찾아내었다.

cDNA 라이브러리 제조용 RNA는 인간 태아 폐 조직으로부터 단리하였다. 인간 PRO188을 코딩하는 cDNA 클론을 단리하기 위해 사용된 cDNA 라이브러리는, 인비트로젠(Invitrogen, San Diego, CA)과 같은 회사에서 상업적으로 시판하는 시약을 이용하여 표준 방법에 의해 제조하였다. Not I 부위를 함유하는 올리고 dT로 cDNA를 프라이밍시키고, Sal I 헤미키나아제화 어댑터에 평활 말단으로 결합시킨 후, Not I 으로 절단하고, 겔 전기영동에 의해 대략의 크기를 분류한 다음, 적합한 클로닝 벡터(예를 들면, pRKB 또는 pRKD; pRKB5는 Sfi I 부위가 없는 pRK5D의 전구체임; Homles et al., Science, 253:1278-1280 (1991) 참조)의 단일 Xho I 및 Not I 부위에 정해진 방향으로 클로닝하였다.

1) 목적 서열을 함유하는 cDNA 라이브러리를 PCR에 의해 확인하고 2) PRO188에 대한 전장 코딩 서열의 클론을 단리하는데 프로브로서 사용하기 위해, 상기 기재된 EST 서열 기재의 올리고뉴클레오티드 프로브를 합성하였다. 전방향 및 역방향 PCR 프라이머는 통상 뉴클레오티드 20 내지 30개 범위이며, 종종 약 100 내지 1000 bp 길이의 PCR 산물을 산출하도록 설계한다. 프로브 서열은 통상 40 내지 55 bp 길이이다. 전장 클론의 여러 라이브러리를 스크리닝하기 위해, 상기 문헌(Ausubel et al., Current Protocols in Molecular Biology)에 기재된 바와 같이 PCR 프라이머쌍을 사용하여 PCR 증폭에 의해 라이브러리로부터 DNA를 스크리닝하였다. 그 후에, 프로브 올리고뉴클레오티드 및 프라이머 쌍 중 하나를 사용하여 목적 유전자를 코딩하는 클론을 단리하는데 양성 라이브러리를 이용하였다.

사용된 올리고뉴클레오티드 프로브는 하기와 같다:

NL5.5-1

5'-CAGGTTATCCCAGAGATTTAATGCCACCA-3' (서열 27)

NL5.3-1

5'-TTGGTGGGAGAAGTTGCCAGATCAGGTGGTGGCA-3' (서열 28)

NL5.3-2

5'-TTCACACCATAACTGCATTGGTCCA-3' (서열 29)

전장의 클론[DNA28497-1130]은 뉴클레오티드 위치 449 내지 451의 분명한 번역 개시 부위 및 뉴클레오티드 위치 1922 내지 1924의 정지 신호를 갖는 단일 오픈 리딩 프레임에 포함함을 확인하였다(도 11, 서열 25). 예상된 폴리펩티드 전구체는 491개의 아미노산으로 이루어진 길이를 갖고, 계산된 분자량은 56,720 달톤이며, 추정 pI는 약 8.56이다. 도 12(서열 26)에 나타낸 전장 PRO188 서열의 분석은 그 위치가 대략 상기 기재된 바와 같은, 도 12에 나타낸 중요한 폴리펩티드 도메인의 존재를 입증한다. 도 12에 나타낸 전장 PRO188 폴리펩티드의 분석은 약 아미노산 1 내지 약 아미노산 23의 신호 펩티드; 약 아미노산 160 내지 약 아미노산 164 및 약 아미노산 188 내지 약 아미노산 192의 N-글리코실화 부위; 약 아미노산 120 내지 약 아미노산 124의 cAMP- 및 cGMP-의존성 단백질 키나아제 인산화 부위; 약 아미노산 173 내지 약 아미노산 180 및 약 아미노산 387 내지 약 아미노산 396의 티로신 키나아제 인산화 부위; 약 아미노산 70 내지 약 아미노산 76, 약 아미노산 110 내지 약 아미노산 116, 약 아미노산 232 내지 약 아미노산 238, 약 아미노산 343 내지 약 아미노산 349, 약 아미노산 400 내지 약 아미노산 406, 약 아미노산 467 내지 약 아미노산 473 및 약 아미노산 475 내지 약 아미노산 487의 N-미리스토일화 부위; 및 약 아미노산 440 내지 약 아미노산 453의 피브리노겐 베타 및 감마 사슬 C-말단 도메인 시그너처가 존재하는 것을 입증한다. 클론 DNA28497-1130을 1997년 9월 18일에 ATCC에 기탁하여 ATCC 기탁 번호 제 209279 호를 배정받았다.

도 12(서열 26)에 나타낸 전장 서열의 BLAST 및 FastA 서열 정렬 분석(ALIGN 컴퓨터 프로그램 이용)에 기초하여, PRO188(본원에서 NL5라 지칭됨)은 TIE-2 수용체의 리간드 1 및 리간드 2와 24%의 서열 동일성을 나타내었다. TIE-2 수용체의 리간드 1 및 리간드 2는 PRO188에 각각 64% 및 40-43% 동일하였다. "TIE"라는 약어는 "티로신 키나아제 함유 Ig 및 EGF 상동성 도메인(tyrosine kinase containing Ig and EGF homology domain)"을 나타내는 머리 글자이며, 수용체 티로신 키나아제의 새로운 족을 지칭하기 위해 만들어졌다.

실시예 10: 인간 PRO195를 코딩하는 cDNA 클론의 단리

상기 실시예 2에 기재된 아밀라제 스크린에서 단리된 cDNA 서열을 본원에서 DNA13199_ABI2라 지칭하였다. DNA13199_ABI2 서열을 공개 EST 데이터베이스(예를 들면, 진뱅크)를 포함하는 다양한 발현 서열 태그(EST)와 비교하여 상동성의 존재를 확인하였다. 검색은 컴퓨터 프로그램 BLAST 또는 BLAST2 (Altschul et al., Methods in Enzymology, 266:460-480 (1996))을 사용하여 수행하였다. 공지의 단백질을 코딩하지 않는, BLAST 스코어가 70 이상(일부 경우에 90)인 비교물을 수집하여 프로그램 "phrap" (Phil Green, University of Washington, Seattle, Washington)으로 정리하여 컨센서스 서열을 획득하였다. 본원에서는 이 컨센서스 서열을 DNA22778로 명명하였다.

DNA13199_ABI2 서열과 DNA22778 서열의 상동성을 기초로 하여 올리고뉴클레오티드 프로브를 제조하여, 상기 실시예 2의 첫번째 단락에 기재된 바와 같이 제조된 인간 태아 간 라이브러리(LIB6)를 스크린하기 위해 사용하였다. 클로닝 벡터는 pRK5B(pRK5B는 Sfi I 부위를 함유하지 않는 pRK5D의 전구체임; 문헌 (Holmes et al., Science, 253:1278-1280 (1991)) 참조)였으며, 절단된 cDNA의 크기는 2800bp 미만이었다.

PCR 프라이머(전방향 및 역방향)를 합성하였다:

전방향 PCR 프라이머(22778.f):

5'-ACAAGCTGAGCTGCTGTGACAG-3' (서열 32)

역방향 PCR 프라이머(22778.r):

5'-TGATTCTGGCAACCAAGATGGC-3' (서열 33)

추가로, 하기의 뉴클레오티드 서열을 갖는 합성 올리고뉴클레오티드 혼성화 프로브를 DNA22778 컨센서스 서열로부터 제조하였다:

혼성화 프로브(22778.p):

5'-ATGGCCTTGGCCGGAGGTTCTGGGGACCGCTTCGGCTGAAG-3' (서열 34)

전장 클론의 공급원에 대해 몇개의 라이브러리를 스크리닝하기 위해 상기 확인한 PCR 프라이머쌍으로의 PCR 증폭에 의해 라이브러리로부터 DNA를 스크리닝하였다. 프로브 올리고뉴클레오티드 및 PCR 프라이머 중의 하나를 사용하여 PRO195 유전자를 코딩하는 클론을 단리하기 위해 양성 라이브러리를 이용하였다.

전장의 클론 [DNA26847-1395]은 뉴클레오티드 위치 70 내지 72의 분명한 번역 개시 부위 및 뉴클레오티드 위치 1039 내지 1041의 정지 신호를 갖는 단일 오픈 리딩 프레임에 포함함을 확인하였다(도 13, 서열 30). 예상된 폴리펩티드 전구체는 323개의 아미노산으로 이루어진 길이를 갖고, 계산된 분자량은 36,223 달톤이며, 추정 pI는 약 5.06이다. 도 14 (서열 31)에 나타난 전장 PRO195 서열의 분석은 그 위치가 대략 상기 기재된 바와 같은, 도 14에 나타난 중요한 폴리펩티드 도메인의 존재를 입증한다. 도 14에 나타난 전장 PRO195 폴리펩티드의 분석은 약 아미노산 1 내지 약 아미노산 31의 신호 펩티드, 약 아미노산 242 내지 약 아미노산 262의 막횡단 도메인, 약 아미노산 90 내지 약 아미노산 94의 N-글리코실화 부위, 및 약 아미노산 28 내지 약 아미노산 34, 약 아미노산 29 내지 약 아미노산 35, 약 아미노산 31 내지 약 아미노산 37 및 약 아미노산 86 내지 약 아미노산 92의 N-미리스토일화 부위가 존재하는 것을 입증한다. 클론 DNA26847-1395를 1998년 4월 14일에 ATCC에 기탁하여 ATCC 기탁번호 제 209772 호를 배정받았다.

전장 PRO195 폴리펩티드(도 14, 서열 31)의 아미노산 서열 분석은 상기 폴리펩티드가 어떤 공지된 단백질과도 상당한 유사성을 나타내지 않음을 제시한다. 그러나, 데이호프 데이터베이스 (버전 35.45 SwissProt 35)의 분석은 PRO195 아미노산 서열과 데이호프 서열 P_P91380, AF035118_1, HUMTROPES_1, NUOD_SALTY 및 E70002 사이에 어느 정도의 상동성을 보여주었다.

실시예 11: 인간 PRO212를 코딩하는 cDNA 클론의 단리

상기 실시예 1에 기재된 phrap을 이용하여 다른 EST 서열(Genentech의 EST 비공개 서열 포함)에 대해 컨센서스 DNA 서열을 어셈블리하였다. 어셈블리된 컨센서스 서열을 기초로 1) 목적 서열을 함유하는 cDNA 라이브러리를 PCR에 의해 확인하고 2) PRO212에 대한 전장 코딩 서열의 클론을 단리하는데 프로브로서 사용하기 위해, 올리고뉴클레오티드를 합성하였다.

1쌍의 PCR 프라이머(전방향 및 역방향)를 합성하였다:

전방향 PCR 프라이머:

5'-CACGCTGGTTTCTGCTTGGAG-3' (서열 37)

역방향 PCR 프라이머:

5'-AGCTGGTGCACAGGGTGTCATG-3' (서열 38)

추가로, 하기의 뉴클레오티드 서열을 갖는 합성 올리고뉴클레오티드 혼성화 프로브를 컨센서스 서열로부터 제조하였다:

혼성화 프로브:

5'-CCCAGGCACCTTCTCAGCCAGCCAGCAGCTCCAGCTCAGAGCAGTGCCAGCCC-3' (서열 39)

전장 클론의 공급원에 대해 몇개의 라이브러리를 스크리닝하기 위해 상기 확인한 PCR 프라이머쌍으로의 PCR 증폭에 의해 라이브러리로부터 DNA를 스크리닝하였다. 프로브 올리고뉴클레오티드 및 PCR 프라이머 중의 하나를 사용하여 PRO212 유전자를 코딩하는 클론을 단리하기 위해 양성 라이브러리를 이용하였다. cDNA 라이브러리 제조용 RNA는 인간 태아 폐 조직으로부터 단리하였다.

상기 기재된 바와 같이 단리된 DNA의 서열 분석을 통해 DNA30942-1134[도 15, 서열 35]에 대한 전장의 DNA 서열 및 그로부터 유도된 PRO212 단백질 서열을 획득하였다.

DNA30942-1134의 전장 클론은 도 15(서열 35)에 포함되어 있다. 클론 DNA30942-1134는 뉴클레오티드 위치 101 내지 103의 분명한 번역 개시 부위 및 뉴클레오티드 위치 1001 내지 1003의 정지 신호를 갖는 단일 오픈 리딩 프레임에 포함하였다. 예상된 폴리펩티드 전구체는 300개의 아미노산으로 이루어진 길이를 갖는다. 도 16(서열 36)에 나타낸 전장 PRO212 서열의 분석은 그 위치가 대략 상기 기재된 바와 같은, 도 16에 나타낸 중요한 폴리펩티드 도메인의 존재를 입증한다. 도 16에 나타낸 전장 PRO212 폴리펩티드의 분석은 약 아미노산 1 내지 약 아미노산 23의 신호 펩티드; 약 아미노산 173 내지 약 아미노산 177의 N-글리코실화 부위; 약 아미노산 63 내지 약 아미노산 67, 약 아미노산 259 내지 약 아미노산 263의 cAMP- 및 cGMP-의존성 단백질 키나아제 인산화 부위; 약 아미노산 28 내지 약 아미노산 37의 티로신 키나아제 인산화 부위; 약 아미노산 156 내지 약 아미노산 162, 약 아미노산 178 내지 약 아미노산 184, 약 아미노산 207 내지 약 아미노산 213, 약 아미노산 266 내지 약 아미노산 272 및 약 아미노산 287 내지 약 아미노산 293의 N-미리스토일화 부위가 존재하는 것을 입증한다. 클론 DNA30942-1134를 1997년 9월 16일에 ATCC에 기탁하여 ATCC 기탁번호 제 209254 호를 배정받았다.

도 16(서열 36)에 나타낸 전장 서열의 BLAST 및 FastA 서열 정렬 분석에 기초하여, PRO212는 TNFR2에 약간의 아미노산 서열 동일성을 나타내었다(28.7%).

실시예 12: 인간 PRO214를 코딩하는 cDNA 클론의 단리

상기 실시예 1에 기재된 phrap을 이용하여 다른 EST 서열에 대해 EGF-유사 동족체를 코딩하는 컨센서스 DNA 서열을 어셈블리하였다. 본원에서 이 컨센서스 서열을 DNA28744라 명명하였다. 어셈블리된 DNA28744 컨센서스 서열을 기초로 1) 목적 서열을 함유하는 cDNA 라이브러리를 PCR에 의해 확인하고 2) PRO214에 대한 전장 코딩 서열의 클론을 단리하는데 프로브로서 사용하기 위해, 올리고뉴클레오티드를 합성하였다.

1쌍의 PCR 프라이머(전방향 및 역방향)를 합성하였다:

전방향 PCR 프라이머(OLI556):

5'-ATTCTGCGTGAACACTGAGGGC-3' (서열 42)

역방향 PCR 프라이머(OLI557):

5'-ATCTGCTTGTAGCCCTCGGCAC-3' (서열 43)

추가로, 하기의 뉴클레오티드 서열을 갖는 합성 올리고뉴클레오티드 혼성화 프로브를 DNA28744 컨센서스 서열로부터 제조하였다:

혼성화 프로브(OLI555):

5'-CCTGGCTATCAGCAGGTGGGCTCCAAGTGTCTCGATGTGGATGAGTGTGA-3' (서열 44)

전장 클론의 공급원에 대해 몇개의 라이브러리를 스크리닝하기 위해 상기 확인한 PCR 프라이머쌍으로의 PCR 증폭에 의해 라이브러리로부터 DNA를 스크리닝하였다. 프로브 올리고뉴클레오티드 및 PCR 프라이머 중의 하나를 사용하여 PRO214 유전자를 코딩하는 클론을 단리하기 위해 양성 라이브러리를 이용하였다. cDNA 라이브러리 제조용 RNA는 인간 태아 폐 조직으로부터 단리하였다.

상기 기재된 바와 같이 단리된 DNA의 서열 분석을 통해 DNA32286-1191[도 17, 서열 40]에 대한 전장의 DNA 서열 및 그로부터 유도된 PRO214 단백질 서열을 획득하였다.

DNA32286-1191의 전장 클론은 도 17(서열 40)에 포함되어 있다. 클론 DNA32286-1191는 뉴클레오티드 위치 103 내지 105의 분명한 번역 개시 부위 및 뉴클레오티드 위치 1363 내지 1365의 정지 신호를 갖는 단일 오픈 리딩 프레임에 포함하였다. 예상된 폴리펩티드 전구체는 420개의 아미노산으로 이루어진 길이를 갖는다. 도 18(서열 41)에 나타낸 전장

PRO214 서열의 분석은 그 위치가 대략 상기 기재된 바와 같은, 도 18에 나타난 중요한 폴리펩티드 도메인의 존재를 입증한다. 도 18에 나타난 전장 PRO214 폴리펩티드의 분석은 약 아미노산 1 내지 약 아미노산 29의 신호 펩티드; 약 아미노산 342 내지 약 아미노산 392의 막횡단 도메인; 약 아미노산 79 내지 약 아미노산 83 및 약 아미노산 205 내지 약 아미노산 209의 N-글리코실화 부위; 약 아미노산 290 내지 약 아미노산 294의 cAMP- 및 cGMP-의존성 단백질 키나아제 인산화 부위; 약 아미노산 321 내지 약 아미노산 333의 아스파라긴산 및 아스파라긴 히드록실화 부위; 및 약 아미노산 181 내지 약 아미노산 193의 EGF-유사 도메인 시스템인 페틴 시그너처가 존재하는 것을 입증한다. 클론 DNA32286-1191을 1997년 10월 16일에 ATCC에 기탁하여 ATCC 기탁번호 제 209385 호를 배정받았다.

도 18(서열 41)에 나타난 전장 서열의 BLAST 및 FastA 서열 정렬 분석에 기초하여, PRO214는 HT 단백질 및(또는) 피볼린에 대해 아미노산 서열 동일성을 나타내었다(각각 49% 및 38%).

실시에 13: 인간 PRO217을 코딩하는 cDNA 클론의 단리

상기 실시예 1에 기재된 phrap을 이용하여 다른 EST 서열에 대해 컨센서스 DNA 서열을 어셈블리하였다. 본원에서 이 컨센서스 서열을 DNA28760이라 명명하였다. 어셈블리된 DNA28760 컨센서스 서열을 기초로 1) 목적 서열을 함유하는 cDNA 라이브러리를 PCR에 의해 확인하고 2) PRO217에 대한 전장 코딩 서열의 클론을 단리하는데 프로브로서 사용하기 위해, 올리고뉴클레오티드를 합성하였다.

1쌍의 PCR 프라이머(전방향 및 역방향)를 합성하였다:

전방향 PCR 프라이머:

5'-AAAGACGCATCTGCGAGTGTCC-3' (서열 47)

역방향 PCR 프라이머:

5'-TGCTGATTTCACTGCTCTCCC-3' (서열 48)

추가로, 하기의 뉴클레오티드 서열을 갖는 합성 올리고뉴클레오티드 혼성화 프로브를 DNA28760 컨센서스 서열로부터 제조하였다:

혼성화 프로브:

5'-CCCACGATGTATGAATGGTGGACTTTGTGTGACTCCTGGTTTCTGCATC-3' (서열 49)

전장 클론의 공급원에 대해 몇개의 라이브러리를 스크리닝하기 위해 상기 확인한 PCR 프라이머쌍으로의 PCR 증폭에 의해 라이브러리로부터 DNA를 스크리닝하였다. 프로브 올리고뉴클레오티드 및 PCR 프라이머 중의 하나를 사용하여 PRO217 유전자를 코딩하는 클론을 단리하기 위해 양성 라이브러리를 이용하였다. cDNA 라이브러리 제조용 RNA는 인간 태아 폐 조직으로부터 단리하였다.

상기 기재된 바와 같이 단리된 DNA의 서열 분석을 통해 DNA33094-1131[도 19, 서열 45]에 대한 전장의 DNA 서열 및 그로부터 유도된 PRO217 단백질 서열을 수득하였다.

DNA33094-1131의 전장 클론은 도 19(서열 45)에 포함되어 있다. 클론 DNA33094-1131는 뉴클레오티드 위치 146 내지 148의 분명한 번역 개시 부위 및 뉴클레오티드 위치 1283 내지 1285의 정지 신호를 갖는 단일 오픈 리딩 프레임에 포함하였다. 예상된 폴리펩티드 전구체는 379개의 아미노산으로 이루어진 길이를 갖고, 분자량은 대략 41,528 달톤이며, 추정된 pI는 약 7.97이다. 도 20(서열 46)에 나타난 전장 PRO217 서열의 분석은 그 위치가 대략 상기 기재된 바와 같은, 도 20에 나타난 중요한 폴리펩티드 도메인의 존재를 입증한다. 도 20에 나타난 전장 PRO217 폴리펩티드의 분석은 약 아미노산 1 내지 약 아미노산 28의 신호 펩티드; 약 아미노산 88 내지 약 아미노산 92 및 약 아미노산 245 내지 약 아미노산 249의 N-글리코실화 부위; 약 아미노산 370 내지 약 아미노산 378의 티로신 키나아제 인산화 부위; 약 아미노산 184 내지 약 아미노산 190, 약 아미노산 185 내지 약 아미노산 191, 약 아미노산 189 내지 약 아미노산 195 및 약 아미노산 315 내지 약 아미노산 321의 N-미리스토일화 부위; 약 아미노산 285 내지 약 아미노산 293의 ATP/GTP-결합 부위 모티프 A (P-루프); 및 약 아미노산 198 내지 약 아미노산 210, 약 아미노산 230 내지 약 아미노산 242, 약 아미노산 262 내지 약 아미

노산 274, 약 아미노산 294 내지 약 아미노산 306 및 약 아미노산 326 내지 약 아미노산 338의 EGF-유사 도메인 시스템인 패턴 시그너처가 존재하는 것을 입증한다. 클론 DNA33094-1131을 1997년 9월 16일에 ATCC에 기탁하여 ATCC 기탁번호 제 209256 호를 배정받았다.

도 20(서열 46)에 나타난 전장 서열의 BLAST 및 FastA 서열 정렬 분석에 기초하여, PRO217는 신규 EGF-유사 동족체인 것 같다.

실시에 14: 인간 PRO224를 코딩하는 cDNA 클론의 단리

상기 실시예 1에 기재된 phrap을 이용하여 다른 EST 서열에 대해 컨센서스 DNA 서열을 어셈블리하였다. 본원에서 이 컨센서스 서열을 DNA30845라 명명하였다. 어셈블리된 DNA30845 컨센서스 서열을 기초로 1) 목적 서열을 함유하는 cDNA 라이브러리를 PCR에 의해 확인하고 2) PRO224에 대한 전장 코딩 서열의 클론을 단리하는데 프로브로서 사용하기 위해, 올리고뉴클레오티드를 합성하였다.

1쌍의 PCR 프라이머(전방향 및 역방향)를 합성하였다:

전방향 PCR 프라이머:

5'-AAGTTCCAGTGCCGCACCAGTGGC-3' (서열 52)

역방향 PCR 프라이머:

5'-TTGGTTCCACAGCCGAGCTCGTCG-3' (서열 53)

추가로, 하기의 뉴클레오티드 서열을 갖는 합성 올리고뉴클레오티드 혼성화 프로브를 DNA30845 컨센서스 서열로부터 제조하였다:

혼성화 프로브:

5'-GAGGAGGAGTGCAGGATTGAGCCATGTACCCAGAAAGGGCAATGCCACC-3' (서열 54)

전장 클론의 공급원에 대해 몇개의 라이브러리를 스크리닝하기 위해 상기 확인한 PCR 프라이머쌍으로의 PCR 증폭에 의해 라이브러리로부터 DNA를 스크리닝하였다. 프로브 올리고뉴클레오티드 및 PCR 프라이머 중의 하나를 사용하여 PRO224 유전자를 코딩하는 클론을 단리하기 위해 양성 라이브러리를 이용하였다. cDNA 라이브러리 제조용 RNA는 인간 태아 간 조직으로부터 단리하였다.

상기 기재된 바와 같이 단리된 DNA의 서열 분석을 통해 DNA33221-1133[도 21, 서열 50]에 대한 전장의 DNA 서열 및 그로부터 유도된 PRO224 단백질 서열을 획득하였다.

DNA33221-1133의 전장 클론은 도 21(서열 50)에 포함되어 있다. 클론 DNA33221-1133는 뉴클레오티드 위치 33 내지 35의 분명한 번역 개시 부위 및 뉴클레오티드 위치 879 내지 881의 정지 신호를 갖는 단일 오픈 리딩 프레임에 포함하였다. 예상된 폴리펩티드 전구체는 282개의 아미노산으로 이루어진 길이를 갖고, 분자량은 대략 28,991 달톤이며, 추정된 pI는 약 4.62이다. 도 22(서열 51)에 나타난 전장 PRO224 서열의 분석은 그 위치가 대략 상기 기재된 바와 같은, 도 22에 나타난 중요한 폴리펩티드 도메인의 존재를 입증한다. 도 22에 나타난 전장 PRO224 폴리펩티드의 분석은 약 아미노산 1 내지 약 아미노산 30의 신호 펩티드; 약 아미노산 231 내지 약 아미노산 248의 막횡단 도메인; 약 아미노산 126 내지 약 아미노산 130, 약 아미노산 195 내지 약 아미노산 199 및 약 아미노산 213 내지 약 아미노산 217의 N-글리코실화 부위; 약 아미노산 3 내지 약 아미노산 9, 약 아미노산 10 내지 약 아미노산 16, 약 아미노산 26 내지 약 아미노산 32 및 약 아미노산 30 내지 약 아미노산 36, 약 아미노산 112 내지 약 아미노산 118, 약 아미노산 166 내지 약 아미노산 172, 약 아미노산 212 내지 약 아미노산 218, 약 아미노산 224 내지 약 아미노산 230, 약 아미노산 230 내지 약 아미노산 236 및 약 아미노산 263 내지 약 아미노산 269의 N-미리스토일화 부위; 약 아미노산 44 내지 약 아미노산 55의 원핵 세포막 지질단백질 지질 부착 부위; 및 약 아미노산 17 내지 약 아미노산 39의 루이신 지퍼 패턴이 존재하는 것을 입증한다. 클론 DNA33221-1133을 1997년 9월 16일에 ATCC에 기탁하여 ATCC 기탁번호 제 209263 호를 배정받았다.

전장 PRO224 서열의 아미노산 서열 분석은 상기 폴리펩티드가 초저밀도 지질단백질 수용체, 아포지질단백질 E 수용체 및 닭 난모세포 수용체 P95와 상동성이 있음을 제시한다. 도 22(서열 51)에 나타난 전장 서열의 BLAST 및 FastA 서열 정렬 분석에 기초하여, PRO224는 상기 단백질들의 일부분에 대해 28% 내지 45%의 아미노산 동일성을 나타냈으며, 상기 단백질들과의 전체 동일성은 약 33%였다.

실시예 15: 인간 PRO231을 코딩하는 cDNA 클론의 단리

상기 실시예 1에 기재된 phrap을 이용하여 다른 EST 서열에 대해 컨센서스 DNA 서열을 어셈블리하였다. 본원에서 이 컨센서스 서열을 DNA30933이라 명명하였다. 어셈블리된 DNA30933 컨센서스 서열을 기초로 1) 목적 서열을 함유하는 cDNA 라이브러리를 PCR에 의해 확인하고 2) PRO231에 대한 전장 코딩 서열의 클론을 단리하는데 프로브로서 사용하기 위해, 올리고뉴클레오티드를 합성하였다.

1쌍의 PCR 프라이머(전방향 및 역방향)를 합성하였다:

전방향 PCR 프라이머1:

5'-CCAACTACCAAAGCTGCTGGAGCC-3' (서열 57)

전방향 PCR 프라이머2:

5'-GCAGCTCTATTACCACGGGAAGGA-3' (서열 58)

역방향 PCR 프라이머:

5'-TCCTTCCCGTGGTAATAGAGCTGC-3' (서열 59)

추가로, 하기의 뉴클레오티드 서열을 갖는 합성 올리고뉴클레오티드 혼성화 프로브를 DNA30933 컨센서스 서열로부터 제조하였다:

혼성화 프로브:

5'-GGCAGAGAACCAGAGGCCGGAGGAGACTGCCTCTTTACAGCCAGG-3' (서열 60)

전장 클론의 공급원에 대해 몇개의 라이브러리를 스크리닝하기 위해 상기 확인한 PCR 프라이머쌍으로의 PCR 증폭에 의해 라이브러리로부터 DNA를 스크리닝하였다. 프로브 올리고뉴클레오티드 및 PCR 프라이머 중의 하나를 사용하여 PRO231 유전자를 코딩하는 클론을 단리하기 위해 양성 라이브러리를 이용하였다. cDNA 라이브러리 제조용 RNA는 인간 태아 간 조직으로부터 단리하였다.

상기 기재된 바와 같이 단리된 DNA의 서열 분석을 통해 DNA34434-1139[도 23, 서열 55]에 대한 전장의 DNA 서열 및 그로부터 유도된 PRO231 단백질 서열을 획득하였다.

DNA34434-1139의 전장 클론은 도 23(서열 55)에 포함되어 있다. 클론 DNA34434-1139는 뉴클레오티드 위치 173 내지 175의 분명한 번역 개시 부위 및 뉴클레오티드 위치 1457 내지 1459의 정지 신호를 갖는 단일 오픈 리딩 프레임 포함하였다. 예상된 폴리펩티드 전구체는 428개의 아미노산으로 이루어진 길이를 갖고, 분자량은 대략 48,886 달톤이며, 추정된 pI는 약 6.39이다. 도 24 (서열 56)에 나타난 전장 PRO231 서열의 분석은 그 위치가 대략 상기 기재된 바와 같은, 도 24에 나타난 중요한 폴리펩티드 도메인의 존재를 입증한다. 도 24에 나타난 전장 PRO231 폴리펩티드의 분석은 약 아미노산 1 내지 약 아미노산 23의 신호 펩티드; 약 아미노산 218 내지 약 아미노산 222의 cAMP- 및 cGMP-의존성 단백질 키나아제 인산화 부위; 약 아미노산 280 내지 약 아미노산 288의 티로신 키나아제 인산화 부위; 약 아미노산 15 내지 약 아미노산 21, 약 아미노산 117 내지 약 아미노산 123, 약 아미노산 118 내지 약 아미노산 124, 약 아미노산 179 내지 약 아미노산 185, 약 아미노산 240 내지 약 아미노산 246 및 약 아미노산 387 내지 약 아미노산 393의 N-미리스토일화 부위; 약 아미노산 216 내지 약 아미노산 220의 아미드화 부위; 약 아미노산 10 내지 약 아미노산 32의 루이신 지퍼 패턴; 및 약 아미노산 50 내지 약 아미노산 65의 히스티딘 산 포스파타제 포스포히스티딘 시그너처가 존재하는 것을 입증한다. 클론 DNA34434-1139를 1997년 9월 16일에 ATCC에 기탁하여 ATCC 기탁번호 제 209252 호를 배정받았다.

전장 PRO231 서열의 아미노산 서열 분석은 상기 폴리펩티드가 인간 및 쥐의 프로스타트산 포스파타제 전구체 단백질과 각각 30% 및 31%의 아미노산 동일성이 있음을 제시한다.

실시에 16: 인간 PRO235를 코딩하는 cDNA 클론의 단리

상기 실시예 1에 기재된 phrap을 이용하여 다른 EST 서열에 대해 컨센서스 DNA 서열을 어셈블리하였다. 본원에서 이 컨센서스 서열을 DNA30927이라 명명하였다. 어셈블리된 DNA30927 컨센서스 서열을 기초로 1) 목적 서열을 함유하는 cDNA 라이브러리를 PCR에 의해 확인하고 2) PRO235에 대한 전장 코딩 서열의 클론을 단리하는데 프로브로서 사용하기 위해, 올리고뉴클레오티드를 합성하였다.

1쌍의 PCR 프라이머(전방향 및 역방향)를 합성하였다:

전방향 PCR 프라이머1:

5'-TGGAATACCGCCTCCTGCAG-3' (서열 63)

역방향 PCR 프라이머:

5'-CTTCTGCCCTTTGGAGAAGATGGC-3' (서열 64)

추가로, 하기의 뉴클레오티드 서열을 갖는 합성 올리고뉴클레오티드 혼성화 프로브를 DNA30927 컨센서스 서열로부터 제조하였다:

혼성화 프로브:

5'-GGACTCACTGGCCAGGCCTTCAATATCACCAGCCAGGACGAT-3' (서열 65)

전장 클론의 공급원에 대해 몇개의 라이브러리를 스크리닝하기 위해 상기 확인한 PCR 프라이머쌍으로의 PCR 증폭에 의해 라이브러리로부터 DNA를 스크리닝하였다. 프로브 올리고뉴클레오티드 및 PCR 프라이머 중의 하나를 사용하여 PRO235 유전자를 코딩하는 클론을 단리하기 위해 양성 라이브러리를 이용하였다. cDNA 라이브러리 제조용 RNA는 인간 태아 간 조직으로부터 단리하였다.

상기 기재된 바와 같이 단리된 DNA의 서열 분석을 통해 DNA35558-1167[도 25, 서열 61]에 대한 전장의 DNA 서열 및 그로부터 유도된 PRO235 단백질 서열을 획득하였다.

DNA35558-1167의 전장 클론은 도 25(서열 61)에 포함되어 있다. 클론 DNA35558-1167는 뉴클레오티드 위치 667 내지 669의 분명한 번역 개시 부위 및 뉴클레오티드 위치 2323 내지 2325의 정지 신호를 갖는 단일 오픈 리딩 프레임 포함하였다. 예상된 폴리펩티드 전구체는 552개의 아미노산으로 이루어진 길이를 갖고, 분자량은 대략 61,674 달톤이며, 추정된 pI는 약 6.95이다. 도 26(서열 62)에 나타낸 전장 PRO235 서열의 분석은 그 위치가 대략 상기 기재된 바와 같은, 도 26에 나타낸 중요한 폴리펩티드 도메인의 존재를 입증한다. 도 26에 나타낸 전장 PRO235 폴리펩티드의 분석은 약 아미노산 1 내지 약 아미노산 32의 신호 펩티드; 약 아미노산 71 내지 약 아미노산 86의 막횡단 도메인; 약 아미노산 130 내지 약 아미노산 134, 약 아미노산 145 내지 약 아미노산 149, 약 아미노산 217 내지 약 아미노산 221 및 약 아미노산 380 내지 약 아미노산 385의 N-글리코실화 부위; 약 아미노산 220 내지 약 아미노산 226, 약 아미노산 319 내지 약 아미노산 325, 약 아미노산 353 내지 약 아미노산 359, 약 아미노산 460 내지 약 아미노산 466 및 약 아미노산 503 내지 약 아미노산 509의 N-미리스토일화 부위가 존재하는 것을 입증한다. 클론 DNA35558-1167을 1997년 10월 16일에 ATCC에 기탁하여 ATCC 기탁번호 제 209374 호를 배정받았다.

도 26(서열 62)에 나타낸 전장 PRO235 서열의 아미노산 서열 분석은 상기 폴리펩티드의 일부분이 인간, 생쥐 및 제노푸스(Xenopus)의 플렉신 단백질과 상당한 상동성을 가짐을 제시하고, 따라서 PRO235는 신규 플렉신 단백질 일 것이다.

실시에 17: 인간 PRO245를 코딩하는 cDNA 클론의 단리

상기 실시예 1에 기재된 phrap을 이용하여 다른 EST 서열에 대해 컨센서스 DNA 서열을 어셈블리하였다. 본원에서 이 컨센서스 서열을 DNA30954라 명명하였다. 어셈블리된 DNA30954 컨센서스 서열을 기초로 1) 목적 서열을 함유하는 cDNA 라이브러리를 PCR에 의해 확인하고 2) PRO245에 대한 전장 코딩 서열의 클론을 단리하는데 프로브로서 사용하기 위해, 올리고뉴클레오티드를 합성하였다.

1쌍의 PCR 프라이머(전방향 및 역방향)를 합성하였다:

전방향 PCR 프라이머1:

5'-ATCGTTGTGAAGTTAGTGCCCC-3' (서열 68)

역방향 PCR 프라이머:

5'-ACCTGCGATATCCAACAGAATTG-3' (서열 69)

추가로, 하기의 뉴클레오티드 서열을 갖는 합성 올리고뉴클레오티드 혼성화 프로브를 DNA30954 컨센서스 서열로부터 제조하였다:

혼성화 프로브:

5'-GGAAGAGGATACAGTCACTCTGGAAGTATTAGTGGCTCCAGCAGTTCC-3' (서열 70)

전장 클론의 공급원에 대해 몇개의 라이브러리를 스크리닝하기 위해 상기 확인한 PCR 프라이머쌍으로의 PCR 증폭에 의해 라이브러리로부터 DNA를 스크리닝하였다. 프로브 올리고뉴클레오티드 및 PCR 프라이머 중의 하나를 사용하여 PRO245 유전자를 코딩하는 클론을 단리하기 위해 양성 라이브러리를 이용하였다. cDNA 라이브러리 제조용 RNA는 인간 태아 간 조직으로부터 단리하였다.

상기 기재된 바와 같이 단리된 DNA의 서열 분석을 통해 DNA35638-1141[도 27, 서열 66]에 대한 전장의 DNA 서열 및 그로부터 유도된 PRO245 단백질 서열을 획득하였다.

DNA35638-1141의 전장 클론은 도 27(서열 66)에 포함되어 있다. 클론 DNA35638-1141는 뉴클레오티드 위치 89 내지 91의 분명한 번역 개시 부위 및 뉴클레오티드 위치 1025 내지 1027의 정지 신호를 갖는 단일 오픈 리딩 프레임 포함하였다. 예상된 폴리펩티드 전구체는 312개의 아미노산으로 이루어진 길이를 갖고, 분자량은 대략 34,554 달톤이며, 추정된 pI는 약 9.39이다. 도 28 (서열 67)에 나타난 전장 PRO245 서열의 분석은 그 위치가 대략 상기 기재된 바와 같은, 도 28에 나타난 중요한 폴리펩티드 도메인의 존재를 입증한다. 도 28에 나타난 전장 PRO245 폴리펩티드의 분석은 약 아미노산 1 내지 약 아미노산 20의 신호 펩티드; 약 아미노산 237 내지 약 아미노산 258의 막횡단 도메인; 약 아미노산 98 내지 약 아미노산 102, 약 아미노산 187 내지 약 아미노산 191, 약 아미노산 236 내지 약 아미노산 240 및 약 아미노산 277 내지 약 아미노산 281의 N-글리코실화 부위; 약 아미노산 182 내지 약 아미노산 188, 약 아미노산 239 내지 약 아미노산 245, 약 아미노산 255 내지 약 아미노산 261, 약 아미노산 257 내지 약 아미노산 263 및 약 아미노산 305 내지 약 아미노산 311의 N-미리스토일화 부위; 및 약 아미노산 226 내지 약 아미노산 230의 아미드화 부위가 존재하는 것을 입증한다. 클론 DNA35638-1141을 1997년 9월 16일에 ATCC에 기탁하여 ATCC 기탁번호 제 209265 호를 배정받았다.

도 28(서열 67)에 나타난 전장 PRO245 서열의 아미노산 서열 분석은 상기 폴리펩티드의 일부분이 인간 c-myb 단백질과 60%의 아미노산 동일성을 가짐을 제시하고, 따라서 이는 막횡단 단백질 수용체 티로신 키나아제 족의 신규 구성원일 수 있다.

실시예 18: 인간 PRO261을 코딩하는 cDNA 클론의 단리

상기 실시예 1에 기재된 phrap을 이용하여 다른 EST 서열에 대해 컨센서스 DNA 서열을 어셈블리하였다. 본원에서 이 컨센서스 서열을 DNA30843이라 명명하였다. 어셈블리된 DNA30843 컨센서스 서열을 기초로 1) 목적 서열을 함유하는 cDNA 라이브러리를 PCR에 의해 확인하고 2) PRO261에 대한 전장 코딩 서열의 클론을 단리하는데 프로브로서 사용하기 위해, 올리고뉴클레오티드를 합성하였다.

1쌍의 PCR 프라이머(전방향 및 역방향)를 합성하였다:

전방향 PCR 프라이머1:

5'-AAAGGTGCGTACCCAGCTGTGCC-3' (서열 73)

역방향 PCR 프라이머:

5'-TCCAGTCGGCAGAAGCGGTTCTGG-3' (서열 74)

추가로, 하기의 뉴클레오티드 서열을 갖는 합성 올리고뉴클레오티드 혼성화 프로브를 DNA30843 컨센서스 서열로부터 제조하였다:

혼성화 프로브:

5'-CCTGGTGCTGGATGGCTGTGGCTGCTGCCGGGTATGTGCACGCGGCTGGG-3' (서열 75)

전장 클론의 공급원에 대해 몇개의 라이브러리를 스크리닝하기 위해 상기 확인한 PCR 프라이머쌍으로의 PCR 증폭에 의해 라이브러리로부터 DNA를 스크리닝하였다. 프로브 올리고뉴클레오티드 및 PCR 프라이머 중의 하나를 사용하여 PRO261 유전자를 코딩하는 클론을 단리하기 위해 양성 라이브러리를 이용하였다. cDNA 라이브러리 제조용 RNA는 인간 태아 간 조직으로부터 단리하였다.

상기 기재된 바와 같이 단리된 DNA의 서열 분석을 통해 DNA33473-1176[도 29, 서열 71]에 대한 전장의 DNA 서열 및 그로부터 유도된 PRO261 단백질 서열을 획득하였다.

DNA33473-1176의 전장 클론은 도 29(서열 71)에 포함되어 있다. 클론 DNA33473-1176는 뉴클레오티드 위치 10 내지 12의 분명한 번역 개시 부위 및 뉴클레오티드 위치 760 내지 762의 정지 신호를 갖는 단일 오픈 리딩 프레임에 포함하였다. 예상된 폴리펩티드 전구체는 250개의 아미노산으로 이루어진 길이를 갖고, 분자량은 대략 26,825 달톤이며, 추정된 pI는 약 8.36이다. 도 30(서열 72)에 나타난 전장 PRO261 서열의 분석은 그 위치가 대략 상기 기재된 바와 같은, 도 30에 나타난 중요한 폴리펩티드 도메인의 존재를 입증한다. 도 30에 나타난 전장 PRO261 폴리펩티드의 분석은 약 아미노산 1 내지 약 아미노산 23의 신호 펩티드; 약 아미노산 3 내지 약 아미노산 9, 약 아미노산 49 내지 약 아미노산 55, 약 아미노산 81 내지 약 아미노산 87, 약 아미노산 85 내지 약 아미노산 91, 약 아미노산 126 내지 약 아미노산 132, 약 아미노산 164 내지 약 아미노산 170, 약 아미노산 166 내지 약 아미노산 172, 약 아미노산 167 내지 약 아미노산 173, 약 아미노산 183 내지 약 아미노산 189 및 약 아미노산 209 내지 약 아미노산 215의 N-미리스토일화 부위; 약 아미노산 49 내지 약 아미노산 65의 인슐린-유사 성장 인자 결합 단백질 시그너처; 약 아미노산 107 내지 약 아미노산 124의 폰 빌레브란트(von Willebrand) C1 도메인; 약 아미노산 201 내지 약 아미노산 216의 트롬보스폰딘 1 상동성 블록; 및 약 아미노산 49 내지 약 아미노산 58의 IGF 결합 단백질 부위가 존재하는 것을 입증한다. 클론 DNA33473-1176을 1997년 10월 17일에 ATCC에 기탁하여 ATCC 기탁번호 제 209391 호를 배정받았다.

도 30(서열 72)에 나타난 전장 PRO261 서열의 아미노산 서열 분석은 상기 폴리펩티드의 일부분이 CTGF와 상동성이 있음을 제시하고, 따라서 PRO261은 신규 성장 인자일 수 있다.

실시예 19: 인간 PRO269를 코딩하는 cDNA 클론의 단리

상기 실시예 1에 기재된 phrap을 이용하여 다른 EST 서열에 대해 컨센서스 DNA 서열을 어셈블리하였다. 본원에서 이 컨센서스 서열을 DNA35705라 명명하였다. 어셈블리된 DNA35705 컨센서스 서열을 기초로 1) 목적 서열을 함유하는 cDNA 라이브러리를 PCR에 의해 확인하고 2) PRO269에 대한 전장 코딩 서열의 클론을 단리하는데 프로브로서 사용하기 위해, 올리고뉴클레오티드를 합성하였다.

PCR 프라이머(3개의 전방향 및 2개의 역방향)를 합성하였다:

전방향 PCR 프라이머 1:

5'-TGGAAGGAGATGCGATGCCACCTG-3' (서열 78)

전방향 PCR 프라이머 2:

5'-TGACCAGTGGGGAAGGACAG-3' (서열 79)

전방향 PCR 프라이머 3:

5'-ACAGAGCAGAGGGTGCCTTG-3' (서열 80)

역방향 PCR 프라이머 1:

5'-TCAGGGACAAGTGGTGTCTCTCCC-3' (서열 81)

역방향 PCR 프라이머 2:

5'-TCAGGGAAGGAGTGTGCAGTTCTG-3' (서열 82)

추가로, 하기의 뉴클레오티드 서열을 갖는 합성 올리고뉴클레오티드 혼성화 프로브를 DNA35705 컨센서스 서열로부터 제조하였다:

혼성화 프로브:

5'-ACAGCTCCCGATCTCAGTTACTTGCATCGCGACGAAATCGGCGCTCGCT-3' (서열 83)

전장 클론의 공급원에 대해 몇개의 라이브러리를 스크리닝하기 위해 상기 확인한 PCR 프라이머쌍으로의 PCR 증폭에 의해 라이브러리로부터 DNA를 스크리닝하였다. 프로브 올리고뉴클레오티드 및 PCR 프라이머 중의 하나를 사용하여 PRO269 유전자를 코딩하는 클론을 단리하기 위해 양성 라이브러리를 이용하였다. cDNA 라이브러리 제조용 RNA는 인간 태아 신장 조직으로부터 단리하였다.

상기 기재된 바와 같이 단리된 DNA의 서열 분석을 통해 DNA38260-1180[도 31, 서열 76]에 대한 전장의 DNA 서열 및 그로부터 유도된 PRO269 단백질 서열을 획득하였다.

DNA38260-1180의 전장 클론은 도 31(서열 76)에 포함되어 있다. 클론 DNA38260-1180는 뉴클레오티드 위치 314 내지 316의 분명한 번역 개시 부위 및 뉴클레오티드 위치 1784 내지 1786의 정지 신호를 갖는 단일 오픈 리딩 프레임에 포함하였다. 예상된 폴리펩티드 전구체는 490개의 아미노산으로 이루어진 길이를 갖고, 분자량은 대략 51,636 달톤이며, 추정된 pI는 약 6.29이다. 도 32 (서열 77)에 나타낸 전장 PRO269 서열의 분석은 그 위치가 대략 상기 기재된 바와 같은, 도 32에 나타낸 중요한 폴리펩티드 도메인의 존재를 입증한다. 도 32에 나타낸 전장 PRO269 폴리펩티드의 분석은 약 아미노산 1 내지 약 아미노산 16의 신호 펩티드; 약 아미노산 397 내지 약 아미노산 418의 막횡단 도메인; 약 아미노산 189 내지 약 아미노산 193 및 약 아미노산 381 내지 약 아미노산 385의 N-글리코실화 부위; 약 아미노산 289 내지 약 아미노산 293의 글리코사미노글리칸 부착 부위; 약 아미노산 98 내지 약 아미노산 102 및 약 아미노산 434 내지 약 아미노산 438의 cAMP- 및 cGMP-의존성 단백질 키나아제 인산화 부위; 약 아미노산 30 내지 약 아미노산 36, 약 아미노산 35 내지 약 아미노산 41, 약 아미노산 58 내지 약 아미노산 66, 약 아미노산 59 내지 약 아미노산 65, 약 아미노산 121 내지 약 아미노산 127, 약 아미노산 151 내지 약 아미노산 157, 약 아미노산 185 내지 약 아미노산 191, 약 아미노산 209 내지 약 아미노산 215, 약 아미노산 267 내지 약 아미노산 273, 약 아미노산 350 내지 약 아미노산 356, 약 아미노산 374 내지 약 아미노산 380, 약 아미노산 453 내지 약 아미노산 459, 약 아미노산 463 내지 약 아미노산 469 및 약 아미노산 477 내지 약 아미노산 483의 N-미리스토일화 부위; 및 약 아미노산 262 내지 약 아미노산 274의 아스파라긴산 및 아스파라긴 히드록실화 부위가 존재하는 것을 입증한다. 클론 DNA38260-1180을 1997년 10월 17일에 ATCC에 기탁하여 ATCC 기탁번호 제 209397 호를 배정받았다.

도 32(서열 77)에 나타낸 전장 PRO269 서열의 아미노산 서열 분석은 상기 폴리펩티드의 일부분이 인간 트로보모듈린 단백질과 상당한 상동성이 있음을 제시하고, 따라서 PRO269은 1개 이상의 트로보모듈린-유사 도메인을 가질 수 있다.

실시예 20: 인간 PRO287을 코딩하는 cDNA 클론의 단리

상기 실시예 1에 기재된 phrap을 이용하여 다른 EST 서열에 대해 컨센서스 DNA 서열을 어셈블리하였다. 본원에서 이 컨센서스 서열을 DNA28728이라 명명하였다. PRO287을 코딩하는 확장된 컨센서스 서열을 어셈블리하였고, 이는 1형 프로콜라겐 C-단백질 분해효소 인핸서 단백질 및 1형 프로콜라겐 C-단백질 분해효소 인핸서 단백질 전구체와 유사성을 나타내었다. 어셈블리된 DNA28728 컨센서스 서열을 기초로 1) 목적 서열을 함유하는 cDNA 라이브러리를 PCR에 의해 확인하고 2) PRO287에 대한 전장 코딩 서열의 클론을 단리하는데 프로브로서 사용하기 위해, 올리고뉴클레오티드를 합성하였다.

1쌍의 PCR 프라이머(전방향 및 역방향)를 합성하였다:

전방향 PCR 프라이머:

5'-CCGATTCATAGACCTCGAGAGT-3' (서열 86)

역방향 PCR 프라이머:

5'-GTCAAGGAGTCCTCCACAATAC-3' (서열87)

추가로, 하기의 뉴클레오티드 서열을 갖는 합성 올리고뉴클레오티드 혼성화 프로브를 DNA28728 컨센서스 서열로부터 제조하였다:

혼성화 프로브:

5'-GTGTACAATGGCCATGCCAATGGCCAGCGCATTGGCCGCTTCTGT-3' (서열 88)

전장 클론의 공급원에 대해 몇개의 라이브러리를 스크리닝하기 위해 상기 확인한 PCR 프라이머쌍으로의 PCR 증폭에 의해 라이브러리로부터 DNA를 스크리닝하였다. 프로브 올리고뉴클레오티드 및 PCR 프라이머 중의 하나를 사용하여 PRO287 유전자를 코딩하는 클론을 단리하기 위해 양성 라이브러리를 이용하였다. cDNA 라이브러리 제조용 RNA는 인간 태아 신장 조직으로부터 단리하였다.

상기 기재된 바와 같이 단리된 DNA의 서열 분석을 통해 DNA39969-1185[도 33, 서열 84]에 대한 전장의 DNA 서열 및 그로부터 유도된 PRO287 단백질 서열을 획득하였다.

DNA39969-1185의 전장 클론은 도 33(서열 84)에 포함되어 있다. 클론 DNA39969-1185는 뉴클레오티드 위치 307 내지 309의 분명한 번역 개시 부위 및 뉴클레오티드 위치 1552 내지 1554의 정지 신호를 갖는 단일 오픈 리딩 프레임 포함하였다. 예상된 폴리펩티드 전구체는 415개의 아미노산으로 이루어진 길이를 갖고, 분자량은 대략 45,716 달톤이며, 추정된 pI는 약 8.89이다. 도 34 (서열 85)에 나타난 전장 PRO287 서열의 분석은 그 위치가 대략 상기 기재된 바와 같은, 도 34에 나타난 중요한 폴리펩티드 도메인의 존재를 입증한다. 도 34에 나타난 전장 PRO287 폴리펩티드의 분석은 약 아미노산 1 내지 약 아미노산 23의 신호 펩티드; 약 아미노산 355 내지 약 아미노산 359의 N-글리코실화 부위; 약 아미노산 199 내지 약 아미노산 208의 티로신 키나아제 인산화 부위; 약 아미노산 34 내지 약 아미노산 40, 약 아미노산 35 내지 약 아미노산 41, 약 아미노산 100 내지 약 아미노산 106, 약 아미노산 113 내지 약 아미노산 119, 약 아미노산 218 내지 약 아미노산 224, 약 아미노산 289 내지 약 아미노산 295, 약 아미노산 305 내지 약 아미노산 311, 약 아미노산 309 내지 약 아미노산 315, 약 아미노산 320 내지 약 아미노산 326 및 약 아미노산 330 내지 약 아미노산 336의 N-미리스토일화 부위; 및 약 아미노산 149 내지 약 아미노산 152의 세포 부착 서열이 존재하는 것을 입증한다. 클론 DNA39969-1185를 1997년 10월 17일에 ATCC에 기탁하여 ATCC 기탁번호 제 209400 호를 배정받았다.

도 34(서열 85)에 나타난 전장 PRO287 서열의 아미노산 서열 분석은 상기 폴리펩티드의 일부분이 1개 이상의 프로콜라겐 C-단백질 분해효소 인핸서 단백질 전구체 또는 프로콜라겐 C-단백질 분해효소 인핸서 단백질-유사 도메인을 가짐을 제시한다. 전장 서열의 BLAST 및 FastA 서열 정렬 분석에 기초하여, PRO287은 프로콜라겐 C-단백질 분해효소 인핸서 단백질 전구체 또는 프로콜라겐 C-단백질 분해효소 인핸서 단백질과 아미노산 서열 동일성을 나타내었다(각각 47% 및 54%).

실시예 21: 인간 PRO301을 코딩하는 cDNA 클론의 단리

상기 실시예 1에 기재된 phrap을 이용하여 다른 EST 서열에 대해 컨센서스 DNA 서열을 어셈블리하였다. 본원에서 이 컨센서스 서열을 DNA35936이라 명명하였다. 어셈블리된 DNA35936 컨센서스 서열을 기초로 1) 목적 서열을 함유하는 cDNA 라이브러리를 PCR에 의해 확인하고 2) PRO301에 대한 전장 코딩 서열의 클론을 단리하는데 프로브로서 사용하기 위해, 올리고뉴클레오티드를 합성하였다.

PCR 프라이머(3개의 전방향 및 2개의 역방향)를 합성하였다:

전방향 PCR 프라이머 1:

5'-TCGCGGAGCTGTGTTCTGTTTCCC-3' (서열 91)

전방향 PCR 프라이머 2:

5'-ACACCTGGTTCAAAGATGGG-3' (서열 92)

전방향 PCR 프라이머 3:

5'-TTGCCTTACTCAGGTGCTAC-3' (서열 93)

역방향 PCR 프라이머 1:

5'-TAGGAAGAGTTGCTGAAGGCACGG-3' (서열 94)

역방향 PCR 프라이머 2:

5'-ACTCAGCAGTGGTAGGAAAG-3' (서열 95)

추가로, 하기의 뉴클레오티드 서열을 갖는 합성 올리고뉴클레오티드 혼성화 프로브를 DNA35936 컨센서스 서열로부터 제조하였다:

혼성화 프로브:

5'-TGATCGCGATGGGGACAAAGGCGCAAGCTCGAGAGGAAACTGTTGTGCCT-3' (서열 96)

전장 클론의 공급원에 대해 몇개의 라이브러리를 스크리닝하기 위해 상기 확인한 PCR 프라이머쌍으로의 PCR 증폭에 의해 라이브러리로부터 DNA를 스크리닝하였다. 프로브 올리고뉴클레오티드 및 PCR 프라이머 중의 하나를 사용하여 PRO301 유전자를 코딩하는 클론을 단리하기 위해 양성 라이브러리를 이용하였다. cDNA 라이브러리 제조용 RNA는 인간 태아 신장 조직으로부터 단리하였다.

상기 기재된 바와 같이 단리된 DNA의 서열 분석을 통해 DNA40628-1216[도 35, 서열 89]에 대한 전장의 DNA 서열 및 그로부터 유도된 PRO301 단백질 서열을 획득하였다.

DNA40628-1216의 전장 클론은 도 35(서열 89)에 포함되어 있다. 클론 DNA40628-1216는 뉴클레오티드 위치 52 내지 54의 분명한 번역 개시 부위 및 뉴클레오티드 위치 949 내지 951의 정지 신호를 갖는 단일 오픈 리딩 프레임 포함하였다. 예상된 폴리펩티드 전구체는 299개의 아미노산으로 이루어진 길이를 갖고, 분자량은 대략 32,583 달톤이며, 추정된 pI는 약 8.29가다. 도 36(서열 90)에 나타낸 전장 PRO301 서열의 분석은 그 위치가 대략 상기 기재된 바와 같은, 도 36에 나타낸 중요한 폴리펩티드 도메인의 존재를 입증한다. 도 36에 나타낸 전장 PRO301 폴리펩티드의 분석은 약 아미노산 1 내지 약 아미노산 27의 신호 펩티드; 약 아미노산 235 내지 약 아미노산 256의 막횡단 도메인; 약 아미노산 185 내지 약 아미노산 189의 N-글리코실화 부위; 약 아미노산 270 내지 약 아미노산 274의 cAMP- 및 cGMP-의존성 단백질 키나아제 인산화 부위; 약 아미노산 105 내지 약 아미노산 111, 약 아미노산 116 내지 약 아미노산 122, 약 아미노산 158 내지

약 아미노산 164, 약 아미노산 219 내지 약 아미노산 225, 약 아미노산 237 내지 약 아미노산 243 및 약 아미노산 256 내지 약 아미노산 262의 N-미리스토일화 부위가 존재하는 것을 입증한다. 클론 DNA40628-1216을 1997년 11월 7일에 ATCC에 기탁하여 ATCC 기탁번호 제 209432 호를 배정받았다.

도 36(서열 90)에 나타난 전장 PRO301 서열의 BLAST 및 FastA 서열 정렬 분석에 기초하여, PRO301은 A33 항원 전구체(30%), 및 콕사키에 및 아데노바이러스 수용체 단백질(29%)과 아미노산 서열 동일성을 나타내었다.

실시에 22: 인간 PRO323을 코딩하는 cDNA 클론의 단리

상기 실시예 1에 기재된 phrap을 이용하여 다른 EST 서열에 대해 컨센서스 DNA 서열을 어셈블리하였다. 본원에서 이 컨센서스 서열을 DNA30875라 명명하였다. 어셈블리된 DNA30875 컨센서스 서열을 기초로 1) 목적 서열을 함유하는 cDNA 라이브러리를 PCR에 의해 확인하고 2) PRO323에 대한 전장 코딩 서열의 클론을 단리하는데 프로브로서 사용하기 위해, 올리고뉴클레오티드를 합성하였다.

PCR 프라이머(2개의 전방향 및 1개의 역방향)를 합성하였다:

전방향 PCR 프라이머 1:

5'-AGTTCTGGTCAGCCTATGTGCC-3' (서열 99)

전방향 PCR 프라이머 2:

5'-CGTGATGGTGTCTTTGTCCATGGG-3' (서열 100)

역방향 PCR 프라이머 1:

5'-CTCCACCAATCCCGATGAACTTGG-3' (서열 101)

추가로, 하기의 뉴클레오티드 서열을 갖는 합성 올리고뉴클레오티드 혼성화 프로브를 DNA30875 컨센서스 서열로부터 제조하였다:

혼성화 프로브:

5'-GAGCAGATTGACCTCATACGCCGCATGTGTGCCTCCTATTCTGAGCTGGA-3' (서열 102)

전장 클론의 공급원에 대해 몇개의 라이브러리를 스크리닝하기 위해 상기 확인한 PCR 프라이머쌍으로의 PCR 증폭에 의해 라이브러리로부터 DNA를 스크리닝하였다. 프로브 올리고뉴클레오티드 및 PCR 프라이머 중의 하나를 사용하여 PRO323 유전자를 코딩하는 클론을 단리하기 위해 양성 라이브러리를 이용하였다. cDNA 라이브러리 제조용 RNA는 인간 태아 간 조직으로부터 단리하였다(LIB6).

상기 기재된 바와 같이 단리된 DNA의 서열 분석을 통해 DNA35595-1228[도 37, 서열 97]에 대한 전장의 DNA 서열 및 그로부터 유도된 PRO323 단백질 서열을 획득하였다. DNA35595 서열의 특성화에 사용하고 다른 cDNA 라이브러리를 스크리닝하기 위해, DNA35595 서열로부터 하기와 같은 부가의 프로브를 제조하였다.

전방향 PCR 프라이머:

5'-TGCTGCTGCTCCAGCCTGTAACC-3' (서열 103)

역방향 PCR 프라이머:

5'-CTGGCCGTAGCTGAAATTGCGC-3' (서열 104)

혼성화 프로브:

5'-ACTCAGTAGTCCCAGCACCCAGGGCCTGCAAGAGCAGGCACGG-3' (서열 105)

DNA35595-1228의 전장 클론은 도 37(서열 97)에 포함되어 있다. 클론 DNA35595-1228는 뉴클레오티드 위치 110 내지 112의 분명한 번역 개시 부위 및 뉴클레오티드 위치 1409 내지 1411의 정지 신호를 갖는 단일 오픈 리딩 프레임에 포함하였다. 예상된 폴리펩티드 전구체는 433개의 아미노산으로 이루어진 길이를 갖고, 분자량은 대략 47,787 달톤이며, 추정된 pI는 약 6.11이다. 도 38 (서열 98)에 나타낸 전장 PRO323 서열의 분석은 그 위치가 대략 상기 기재된 바와 같은, 도 38에 나타낸 중요한 폴리펩티드 도메인의 존재를 입증한다. 도 38에 나타낸 전장 PRO323 폴리펩티드의 분석은 약 아미노산 58 내지 약 아미노산 62, 약 아미노산 123 내지 약 아미노산 127, 약 아미노산 182 내지 약 아미노산 186 및 약 아미노산 273 내지 약 아미노산 277의 N-글리코실화 부위; 약 아미노산 72 내지 약 아미노산 78, 약 아미노산 133 내지 약 아미노산 139, 약 아미노산 234 내지 약 아미노산 240, 약 아미노산 264 내지 약 아미노산 270, 약 아미노산 334 내지 약 아미노산 340 및 약 아미노산 389 내지 약 아미노산 395의 N-미리스토일화 부위; 및 약 아미노산 134 내지 약 아미노산 157의 신장 디펩티다제 활성 부위가 존재하는 것을 입증한다. 클론 DNA35595-1228을 1997년 12월 10일에 ATCC에 기탁하여 ATCC 기탁번호 제 209528 호를 배정받았다.

도 38(서열 98)에 나타낸 전장 PRO323 서열의 아미노산 서열 분석은 상기 폴리펩티드의 일부분이 다양한 디펩티다제 단백질과 상당한 상동성이 있음을 제시하고, 따라서 PRO323은 신규 디펩티다제 단백질일 수 있다.

실시예 23: 인간 PRO331을 코딩하는 cDNA 클론의 단리

상기 실시예 1에 기재된 phrap을 이용하여 다른 EST 서열에 대해 컨센서스 DNA 서열을 어셈블리하였다. 본원에서 이 컨센서스 서열을 DNA30875라 명명하였다. 어셈블리된 DNA30875 컨센서스 서열을 기초로 1) 목적 서열을 함유하는 cDNA 라이브러리를 PCR에 의해 확인하고 2) PRO331에 대한 전장 코딩 서열의 클론을 단리하는데 프로브로서 사용하기 위해, 올리고뉴클레오티드를 합성하였다.

1쌍의 PCR 프라이머(전방향 및 역방향)를 합성하였다:

전방향 PCR 프라이머:

5'-GCCTTTGACAACCTTCAGTCACTAGTGG-3'(서열108)

역방향 PCR 프라이머:

5'-CCCCATGTGTCCATGACTGTTCCC-3' (서열 109)

추가로, 하기의 뉴클레오티드 서열을 갖는 합성 올리고뉴클레오티드 혼성화 프로브를 제조하였다:

혼성화 프로브:

5'-TACTGCCTCATGACCTCTTCACTCCCTTGCATCATCTTAGAGCGG-3' (서열 110)

전장 클론의 공급원에 대해 몇개의 라이브러리를 스크리닝하기 위해 상기 확인한 PCR 프라이머쌍으로의 PCR 증폭에 의해 라이브러리로부터 DNA를 스크리닝하였다. 프로브 올리고뉴클레오티드 및 PCR 프라이머 중의 하나를 사용하여 PRO331 유전자를 코딩하는 클론을 단리하기 위해 양성 라이브러리를 이용하였다. cDNA 라이브러리 제조용 RNA는 인간 태아 뇌 조직으로부터 단리하였다.

상기 기재된 바와 같이 단리된 DNA의 서열 분석을 통해 DNA40981-1234[도 39, 서열 106]에 대한 전장의 DNA 서열 및 그로부터 유도된 PRO331 단백질 서열을 획득하였다.

DNA40981-1234의 전장 클론은 도 39(서열 106)에 포함되어 있다. 클론 DNA40981-1234는 뉴클레오티드 위치 812 내지 814의 분명한 번역 개시 부위 및 뉴클레오티드 위치 2732 내지 2734의 정지 신호를 갖는 단일 오픈 리딩 프레임에 포함하였다. 예상된 폴리펩티드 전구체는 640개의 아미노산으로 이루어진 길이를 갖고, 분자량은 대략 71,950 달톤이며, 추정된 pI는 약 7.12이다. 도 40 (서열 107)에 나타낸 전장 PRO331 서열의 분석은 그 위치가 대략 상기 기재된 바와 같은, 도 40에 나타낸 중요한 폴리펩티드 도메인의 존재를 입증한다. 도 40에 나타낸 전장 PRO331 폴리펩티드의 분석은 약 아

미노산 1 내지 약 아미노산 44의 신호 펩티드; 약 아미노산 528 내지 약 아미노산 543의 막횡단 도메인; 약 아미노산 278 내지 약 아미노산 282, 약 아미노산 364 내지 약 아미노산 368, 약 아미노산 390 내지 약 아미노산 394, 약 아미노산 412 내지 약 아미노산 416, 약 아미노산 415 내지 약 아미노산 419, 약 아미노산 434 내지 약 아미노산 438, 약 아미노산 442 내지 약 아미노산 446, 약 아미노산 488 내지 약 아미노산 492 및 약 아미노산 606 내지 약 아미노산 610의 N-글리코실화 부위; 약 아미노산 183 내지 약 아미노산 187의 cAMP- 및 cGMP-의존성 단백질 키나아제 인산화 부위; 약 아미노산 40 내지 약 아미노산 46, 약 아미노산 73 내지 약 아미노산 79, 약 아미노산 118 내지 약 아미노산 124, 약 아미노산 191 내지 약 아미노산 197, 약 아미노산 228 내지 약 아미노산 234, 약 아미노산 237 내지 약 아미노산 243, 약 아미노산 391 내지 약 아미노산 397, 약 아미노산 422 내지 약 아미노산 428, 약 아미노산 433 내지 약 아미노산 439 및 약 아미노산 531 내지 약 아미노산 537의 N-미리스토일화 부위가 존재하는 것을 입증한다. 클론 DNA40981-1234를 1997년 11월 7일에 ATCC에 기탁하여 ATCC 기탁번호 제 209439 호를 배정받았다.

도 40(서열 107)에 나타낸 전장 PRO331 서열의 아미노산 서열 분석은 상기 폴리펩티드의 일부분이 LIG-1 단백질과 상당한 상동성이 있음을 제시하고, 따라서 PRO331은 신규 LIG-1 관련 단백질일 수 있다.

실시예 24: 인간 PRO356을 코딩하는 cDNA 클론의 단리

발현 서열 태그(EST) DNA 데이터베이스 (LIFESEQ(등록상표), Incyte Pharmaceuticals, Palo Alto, CA)를 검색하여, 인간 TIE 리간드 족에 상동성을 나타내는 EST(#2939340)를 찾아내었다. PRO356을 클로닝하기 위해, 클론테크, 인크(Clontech, Inc., Palo Alto, CA)에서 구입한 mRNA(카탈로그 번호 #6528-1)로부터 제조된 인간 태아 폐 라이브러리를 제조자의 지시에 따라 사용하였다.

인간 PRO356을 코딩하는 cDNA 클론을 단리하기 위해 사용된 cDNA 라이브러리는, 인비트로젠(Invitrogen, San Diego, CA)과 같은 회사에서 상업적으로 시판하는 시약을 이용하여 표준 방법에 의해 제조하였다. Not I 부위를 함유하는 올리고 dT로 cDNA를 프라이밍시키고, Sal I 헤미키나아제화 어댑터에 평활 말단으로 결합시킨 후, Not I 으로 절단하고, 겔 전기영동에 의해 대략의 크기를 분류한 다음, 적합한 클로닝 벡터(예를 들면, pRKB 또는 pRKD; pRKB5는 Sfi I 부위가 없는 pRK5D의 전구체임; Homles et al., Science, 253:1278-1280 (1991) 참조)의 단일 Xho I 및 Not I 부위에 정해진 방향으로 클로닝하였다.

1) 목적 서열을 함유하는 cDNA 라이브러리를 PCR에 의해 확인하고 2) PRO356에 대한 전장 코딩 서열의 클론을 단리하는데 프로브로서 사용하기 위해, 상기 기재된 EST 서열 기재의 올리고뉴클레오티드 프로브를 합성하였다. 전방향 및 역방향 PCR 프라이머는 통상 뉴클레오티드 20 내지 30개 범위이며, 종종 약 100 내지 1000 bp 길이의 PCR 산물을 산출하도록 설계한다. 프로브 서열은 통상 40 내지 55 bp 길이이다. 전장 클론의 여러 라이브러리를 스크리닝하기 위해, 상기 문헌(Ausubel et al., Current Protocols in Molecular Biology)에 기재된 바와 같이 PCR 프라이머쌍을 사용하여 PCR 증폭에 의해 라이브러리로부터 DNA를 스크리닝하였다. 그 후에, 프로브 올리고뉴클레오티드 및 프라이머 쌍 중 하나를 사용하여 목적 유전자를 코딩하는 클론을 단리하는데 양성 라이브러리를 이용하였다.

사용된 올리고뉴클레오티드 프로브는 하기와 같다:

5'-TTCAGCACCAAGGACAAGGACAATGACAAC-3' (서열 113)

5'-TGTGCACACTTGTCCAAGCAGTTGTCATTGTC-3' (서열 114)

5'-GTAGTACACTCCATTGAGGTTGG-3'(서열115)

cDNA 클론을 확인하고 그 전체를 서열 분석하였다. DNA47470-1130-P1의 전체 뉴클레오티드 서열은 도 41(서열 111)에 나타내었다. 클론 DNA47470-1130-P1은 뉴클레오티드 위치 215 내지 217의 분명한 번역 개시 부위 및 뉴클레오티드 위치 1253 내지 1255의 정지 코돈 갖는 단일 오픈 리딩 프레임 포함하였다(도 41, 서열 111). 예상된 폴리펩티드 전구체는 346개의 아미노산으로 이루어진 길이를 갖는다. 전장 PRO356 단백질은 도 42(서열 112)에 나타내었다.

도 42(서열 112)에 나타낸 전장 PRO356 서열의 분석은 그 위치가 대략 상기 기재된 바와 같은, 도 42에 나타낸 중요한 폴리펩티드 도메인의 존재를 보여준다. 도 42(서열 112)에 나타낸 전장 PRO356의 분석은 약 아미노산 1 내지 약 아미노산 26의 신호 펩티드; 약 아미노산 58 내지 약 아미노산 62, 약 아미노산 253 내지 약 아미노산 257 및 약 아미노산 267 내지 약 아미노산 271의 N-글리코실화 부위; 약 아미노산 167 내지 약 아미노산 171의 글리코사미노글리칸 부착 부위; 약 아미노산 176 내지 약 아미노산 180의 cAMP- 및 cGMP-의존성 단백질 키나아제 인산화 부위; 약 아미노산 168 내지

약 아미노산 174, 약 아미노산 196 내지 약 아미노산 202, 약 아미노산 241 내지 약 아미노산 247, 약 아미노산 252 내지 약 아미노산 258, 약 아미노산 256 내지 약 아미노산 262 및 약 아미노산 327 내지 약 아미노산 333의 N-미리스토일화 부위; 및 약 아미노산 199 내지 약 아미노산 202의 세포 부착 서열이 존재하는 것을 입증한다.

클론 DNA47470-1130-P1을 1997년 10월 28일에 ATCC에 기탁하여 ATCC 기탁번호 제 209422 호를 배정받았다. 기탁된 클론이 본원에 설명된 것에 비해 실제로 올바른 서열을 갖는 것을 이해된다.

도 42(서열 112)에 나타난 전장 서열의 ALIGN-2 서열 정렬 분석을 이용하는 데이호프 데이터베이스 (버전 35.45 SwissProt 35)의 분석은 PRO356 아미노산 서열과 TIE-2L1(32%) 및 TIE-2L2(34%) 사이에 아미노산 서열 동일성을 보여주었다. "TIE"라는 약어는 "티로신 키나아제 함유 Ig 및 EGF 상동성 도메인(tyrosine kinase containing Ig and EGF homology domain)"을 나타내는 머리 글자이며, 수용체 티로신 키나아제의 새로운 족을 지칭하기 위해 만들어졌다.

실시에 25: 인간 PRO364를 코딩하는 cDNA 클론의 단리

발현 서열 태그(EST) DNA 데이터베이스 (LIFESEQ(등록상표), Incyte Pharmaceuticals, Palo Alto, CA)를 검색하여, 종양 피사 인자 수용체(TNFR) 족 폴리펩티드의 구성원에 상동성을 나타내는 EST(Incyte EST 제3003460호)를 찾아내었다.

이후에, BLAST (Altshul et al., Methods in Enzymology 266:460-480 (1996)) 및 "phrap" (Phil Green, University of Washington, Seattle, Washington)의 반복 주기를 이용하여, Incyte EST 제3003460호 및 다른 EST 서열에 대해 컨센서스 DNA 서열을 어셈블리하였다. 이 컨센서스 서열은 본원에서 "<consen01>"이라 명명되었으며, 또한 DNA44825라 지칭되었다. DNA44825 및 "<consen01>" 컨센서스 서열을 기초로 1) 목적 서열을 함유하는 cDNA 라이브러리를 PCR에 의해 확인하고 2) PRO364에 대한 전장 코딩 서열의 클론을 단리하는데 프로브로서 사용하기 위해, 올리고뉴클레오티드 프로브를 합성하였다. 전방향 및 역방향 PCR 프라이머는 통상 뉴클레오티드 20 내지 30개 범위이며, 종종 약 100 내지 1000 bp 길이의 PCR 산물을 산출하도록 설계한다. 프로브 서열은 통상 40 내지 55 bp 길이이다. 전장 클론의 여러 라이브러리를 스크리닝하기 위해, 상기 문헌(Ausubel et al., Current Protocols in Molecular Biology)에 기재된 바와 같이 PCR 프라이머쌍을 사용하여 PCR 증폭에 의해 라이브러리로부터 DNA를 스크리닝하였다. 그 후에, 프로브 올리고뉴클레오티드 및 프라이머 쌍 중 하나를 사용하여 목적 유전자를 코딩하는 클론을 단리하는데 양성 라이브러리를 이용하였다.

사용된 올리고뉴클레오티드 서열은 하기와 같다:

전방향 PCR 프라이머 (44825.f1):

5'-CACAGCACGGGGCGATGGG-3' (서열 118)

전방향 PCR 프라이머 (44825.f2):

5'-GCTCTGCGTTCTGCTCTG-3'(서열119)

전방향 PCR 프라이머 (44825.GITR.f):

5'-GGCACAGCACGGGGCGATGGGCGCGTTT-3' (서열 120)

역방향 PCR 프라이머 (44825.r1):

5'-CTGGTCACTGCCACCTTCCTGCAC-3' (서열 121)

역방향 PCR 프라이머 (44825.r2):

5'-CGCTGACCCAGGCTGAG-3' (서열 122)

역방향 PCR 프라이머 (44825.GITR.r):

5'-GAAGGTCCCCGAGGCACAGTTCGATACA-3' (서열 123)

추가로, 하기의 뉴클레오티드 서열을 갖는 합성 올리고뉴클레오티드 혼성화 프로브를 DNA44825 컨센서스 서열로부터 제조하였다:

혼성화 프로브 (44825.p1):

5'-GAGGAGTGCTGTTCCGAGTGGGACTGCATGTGTGTCCAGC-3' (서열 124)

혼성화 프로브 (44825.GITR.p):

5'-AGCCTGGGTCAGCGCCCCACCGGGGTCCCGGGTGC GGCC-3' (서열 125)

전장 클론의 공급원에 대해 몇개의 라이브러리를 스크리닝하기 위해 상기 확인한 PCR 프라이머쌍으로의 PCR 증폭에 의해 라이브러리로부터 DNA를 스크리닝하였다. 프로브 올리고뉴클레오티드 및 PCR 프라이머 중의 하나를 사용하여 PRO364 유전자를 코딩하는 클론을 단리하기 위해 양성 라이브러리를 이용하였다.

cDNA 라이브러리 제조용 RNA는 인간 소장 조직으로부터 단리하였다(LIB231). cDNA 클론을 단리하기 위해 사용된 cDNA 라이브러리는, 인비트로젠(Invitrogen, San Diego, CA)과 같은 회사에서 상업적으로 시판하는 시약을 이용하여 표준 방법에 의해 제조하였다. Not I 부위를 함유하는 올리고 dT로 cDNA를 프라이밍시키고, Sal I 헤미키나아제화 어댑터에 평활 말단으로 결합시킨 후, Not I 으로 절단하고, 겔 전기영동에 의해 대략의 크기를 분류한 다음, 적합한 클로닝 벡터(예를 들면, pRKB 또는 pRKD; pRKB5는 Sfi I 부위가 없는 pRK5D의 전구체임; Homles et al., Science, 253:1278-1280 (1991) 참조)의 단일 Xho I 및 Not I 부위에 정해진 방향으로 클로닝하였다.

상기 기재된 바와 같이 단리된 클론의 DNA 서열 분석으로 PRO364에 대한 전장 DNA 서열[본원에서 DNA47365-1206이라 칭됨]을 획득하였다. DNA47365-1206의 전체 뉴클레오티드 서열을 도 43(서열 116)에 나타내었다. 클론 DNA47365-1206은 뉴클레오티드 위치 121 내지 123의 분명한 번역 개시 부위 및 뉴클레오티드 위치 844 내지 846의 정지 코돈 갖는 단일 오픈 리딩 프레임 포함하였다(도 43, 서열 116). 예상된 폴리펩티드 전구체는 241개의 아미노산으로 이루어진 길이를 갖고, 예상 분자량은 약 26,000 달톤이며, pI는 약 6.34이다. 전장 PRO364 단백질은 도 44(서열 117)에 나타내었다.

도 44(서열 117)에 나타낸 전장 PRO364 서열의 분석은 그 위치가 대략 상기 기재된 바와 같은, 도 44에 나타낸 중요한 폴리펩티드 도메인의 존재를 보여준다. 도 44(서열 117)에 나타낸 전장 PRO364의 분석은 약 아미노산 1 내지 약 아미노산 25의 신호 펩티드; 약 아미노산 163 내지 약 아미노산 183의 막횡단 도메인; 약 아미노산 146 내지 약 아미노산 150의 N-글리코실화 부위; 약 아미노산 5 내지 약 아미노산 11, 약 아미노산 8 내지 약 아미노산 14, 약 아미노산 25 내지 약 아미노산 31, 약 아미노산 30 내지 약 아미노산 36, 약 아미노산 33 내지 약 아미노산 39, 약 아미노산 118 내지 약 아미노산 124, 약 아미노산 122 내지 약 아미노산 128 및 약 아미노산 156 내지 약 아미노산 162의 N-미리스토일화 부위; 약 아미노산 166 내지 약 아미노산 177의 원핵 세포막 지질단백질 지질 부착 부위; 및 약 아미노산 171 내지 약 아미노산 193의 루이신 지퍼 패턴이 존재하는 것을 입증한다. 클론 DNA47365-1206을 1997년 11월 7일에 ATCC에 기탁하여 ATCC 기탁번호 제 209436 호를 배정받았다.

도 44(서열 117)에 나타낸 전장 PRO364 서열의 분석은 상기 폴리펩티드의 일부분이 종양 괴사 인자 수용체 족의 구성원과 상당한 상동성이 있음을 제시하고, 따라서 PRO364는 종양 괴사 인자 수용체 족의 신규 구성원일 수 있다.

전장 PRO364 폴리펩티드의 아미노산 서열 및 상기 아미노산 서열을 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 상세히 재검토하면, 문헌(Nocenti et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 94: 6216-6221 (1997))에 보고된 생쥐 GITR 단백질과 상동성이 있음을 입증할 수 있다. 따라서, PRO364는 상기 문헌에 보고된 생쥐 GITR 단백질에 대한 인간의 상응물일 수 있다.

실시예 26: 인간 PRO526을 코딩하는 cDNA 클론의 단리

상기 실시예 1에 기재된 phrap을 이용하여 다른 EST 서열에 대해 컨센서스 DNA 서열을 어셈블리하였다. 최초의 컨센서스 DNA 서열을 확인하여, 본원에서 DNA39626.init라 명명하였다. BLAST 및 phrap의 반복 주기를 이용하여, 상기 논의된 EST 서열의 공급원을 이용하여 최초의 컨센서스 DNA 서열을 가능한 길게 확장시켰다. 확장된 어셈블리 서열을 본

원에서 <consen01>이라 지칭하였다. 어셈블리된 <consen01> DNA 컨센서스 서열을 기초로 1) 목적 서열을 함유하는 cDNA 라이브러리를 PCR에 의해 확인하고 2) PRO526에 대한 전장 코딩 서열의 클론을 단리하는데 프로브로서 사용하기 위해, 올리고뉴클레오티드 프로브를 합성하였다.

1쌍의 PCR 프라이머(전방향 및 역방향)를 합성하였다:

전방향 PCR 프라이머:

5'-TGGCTGCCCTGCAGTACCTCTACC-3'(서열 128)

역방향 PCR 프라이머:

5'-CCCTGCAGGTCATTGGCAGCTAGG-3' (서열 129)

추가로, 하기의 뉴클레오티드 서열을 갖는 합성 올리고뉴클레오티드 혼성화 프로브를 <consen01> DNA 컨센서스 서열로부터 제조하였다:

혼성화 프로브:

5'-AGGCACTGCCTGATGACACCTTCCGCGACCTGGGCAACCTCACAC-3' (서열 130)

전장 클론의 공급원에 대해 몇개의 라이브러리를 스크리닝하기 위해 상기 확인한 PCR 프라이머쌍으로의 PCR 증폭에 의해 라이브러리로부터 DNA를 스크리닝하였다. 프로브 올리고뉴클레오티드 및 PCR 프라이머 중의 하나를 사용하여 PRO526 유전자를 코딩하는 클론을 단리하기 위해 양성 라이브러리를 이용하였다. cDNA 라이브러리 제조용 RNA는 인간 태아 간 조직으로부터 단리하였다(LIB228).

상기 기재된 바와 같이 단리된 클론의 DNA 서열 분석을 통해 DNA44184-1319[도 45, 서열 126]에 대한 전장의 DNA 서열 및 그로부터 유도된 PRO526 단백질 서열을 수득하였다.

DNA44184-1319의 전장 클론은 도 45(서열 126)에 포함되어 있다. 클론 DNA44184-1319는 뉴클레오티드 위치 514 내지 516의 분명한 번역 개시 부위 및 뉴클레오티드 위치 1933 내지 1935의 정지 신호를 갖는 단일 오픈 리딩 프레임에 포함하였다. 예상된 폴리펩티드 전구체는 473개의 아미노산으로 이루어진 길이를 갖고, 분자량은 대략 50,708 달톤이며, 추정된 pI는 약 9.28이다. 도 46(서열 127)에 나타낸 전장 PRO526 서열의 분석은 그 위치가 대략 상기 기재된 바와 같은 중요한 폴리펩티드 도메인의 존재를 입증한다. 도 46에 나타낸 전장 PRO526 폴리펩티드의 분석은 약 아미노산 1 내지 약 아미노산 26의 신호 펩티드; 약 아미노산 135 내지 약 아미노산 157의 루이신 지퍼 패턴; 약 아미노산 436 내지 약 아미노산 440의 글리코사미노글리칸 부착 부위; 약 아미노산 82 내지 약 아미노산 86, 약 아미노산 179 내지 약 아미노산 183, 약 아미노산 237 내지 약 아미노산 241, 약 아미노산 372 내지 약 아미노산 376 및 약 아미노산 423 내지 약 아미노산 427의 N-글리코실화 부위; 및 약 아미노산 411 내지 약 아미노산 427의 폰 빌레브란트 인자 유형 C 도메인이 존재하는 것을 입증한다. 클론 DNA44184-1319를 1998년 3월 26일에 ATCC에 기탁하여 ATCC 기탁번호 제 209704 호를 배정 받았다.

도 46(서열 127)에 나타낸 전장 PRO526 서열의 아미노산 서열 분석은 상기 폴리펩티드의 일부분이 ALS, SLIT, 카르복시펩티다제 및 혈소판 당단백질 V를 포함하는 루이신 반복 풍부 단백질과 상당한 상동성이 있음을 제시하고, 따라서 PRO526은 단백질-단백질 상호작용과 관련된 신규 단백질일 수 있다.

실시에 27: 인간 PRO538을 코딩하는 cDNA 클론의 단리

발현 서열 태그(EST) DNA 데이터베이스 (LIFESEQ(등록상표), Incyte Pharmaceuticals, Palo Alto, CA)를 검색하여, 쥐과 GFRa3("신경교 세포주 유도 신경 영양 인자 즉 수용체 알파")와 61%의 동일성이 있는 Incyte EST(INC3574209)를 찾아내었다. PRO538에 상응하는 전장의 cDNA를 클로닝하기 위해, cDNA 라이브러리의 패널을 하기 프라이머로 스크리닝하였다:

newa3.F:

5'-GCCTCTCGCAGCCGGAGACC-3' (서열 133)

newa3.R:

5'-CAGGTGGGATCAGCCTGGCAC-3' (서열 134)

문헌(Ausubel et al., Current Protocols in Molecular Biology (1995))에 따라 상기 PCR 프라이머 쌍을 이용하여 PCR 증폭에 의해 라이브러리로부터 DNA를 스크리닝하였다. 강력한 신호의 PCR 생성물을 모든 라이브러리에서 확인하고 분석하였다(태아 폐, 태아 신장 및 태반).

이 단백질을 코딩하는 cDNA 클론을 단리하기 위해, 인간 태아 폐-pRK5 벡터 라이브러리를 선택하여 newa3.R 프라이머를 이용하여 dug-/bung- 숙주 중에서 배양된 플라스미드 라이브러리로부터 단일 가닥 DNA를 확장시켜 양성 cDNA 클론의 양을 많게 하였다. cDNA 라이브러리 제조용 RNA는 인간 태아 폐 조직으로부터 단리하였다.

cDNA 클론을 단리하기 위해 사용된 cDNA 라이브러리는, 인비트로젠(Invitrogen, San Diego, CA)과 같은 회사에서 상업적으로 시판하는 시약을 이용하여 표준 방법에 의해 제조하였다. Not I 부위를 함유하는 올리고 dT로 cDNA를 프라이밍시키고, Sal I 헤미키나아제화 어댑터에 평활 말단으로 결합시킨 후, Not I 으로 절단하고, 겔 전기영동에 의해 대략의 크기를 분류한 다음, 적합한 클로닝 벡터(예를 들면, pRKB 또는 pRKD; pRKB5는 Sfi I 부위가 없는 pRK5D의 전구체임; Homles et al., Science, 253:1278-1280 (1991) 참조)의 단일 Xho I 및 Not I 부위에 정해진 방향으로 클로닝하였다. 양성 cDNA 클론의 양을 많게 하기 위해, 10x PCR 완충액(Perkin Elmer) 10 μ l, dNTP(20 mM) 1 μ l, 라이브러리 DNA 1 μ l(200 ng), 프라이머 1 μ l, 물 86.5 μ l 및 Amplitaq(Perkin Elmer, USA) 1 μ l를 함유하는 프라이머 확장 반응물을 고온 반응 시작후 가하였다. 반응물을 95 $^{\circ}$ C에서 1분 동안 변성시키고, 60 $^{\circ}$ C에서 1분 동안 어닐링시킨 후, 72 $^{\circ}$ C에서 15분 동안 확장시켰다. DNA를 페놀/클로로포름으로 추출하고, 에탄올로 침전시킨 후, 일렉트로포레이션에 의해 DH10B 숙주 세균에 형질전환시켰다. 전체 형질전환 혼합물을 10개의 플레이트에 플레이팅하여 콜로니가 형성되도록 하였다. 콜로니를 나일론 막에 옮겨 상기 Incyte EST로부터 유도된 올리고뉴클레오타이드 프로브로 스크리닝하였다.

newa3.프로브:

5'-TCTCGCAGCCGGAGACCCCTTCCCACAGAAAGCCGACTCA-3' (서열 135)

5개의 양성 콜로니를 찾아내었다. 콜로니 정제 및 2차 스크리닝을 통해 순수한 양성 콜로니를 수득하였다. 2개의 단리된 클론을 서열 분석하고, 본원에서 DNA48613 및 DNA48614(DNA48613이 달리 스프라이싱된 형태)라 지칭하였다.

DNA48613-1268의 전체 뉴클레오타이드 서열을 도 49(서열 131)에 나타내었다. 클론 DNA48613-1268은 뉴클레오타이드 위치 38 내지 40의 분명한 번역 개시 부위 및 뉴클레오타이드 위치 1238 내지 1240의 정지 코돈 갖는 단일 오픈 리딩 프레임 포함하였다(도 49, 서열 131). 예상된 폴리펩티드 전구체는 400개의 아미노산으로 이루어진 길이를 갖고, 예상 분자량은 약 44,511 달톤이며, pI는 약 8.15이다. 전장 PRO538 단백질은 도 48(서열 132)에 나타내었다.

도 48(서열 132)에 나타낸 전장 PRO538 서열의 분석은 그 위치가 대략 상기 기재된 바와 같은, 도 48에 나타낸 중요한 폴리펩티드 도메인의 존재를 입증한다. 전장 PRO538 폴리펩티드(도 48, 서열 132)의 분석은 약 아미노산 1 내지 약 아미노산 26의 신호 펩티드; 약 아미노산 95 내지 약 아미노산 99, 약 아미노산 148 내지 약 아미노산 152 및 약 아미노산 309 내지 약 아미노산 313의 N-글리코실화 부위; 약 아미노산 231 내지 약 아미노산 235의 cAMP- 및 cGMP-의존성 단백질 키나아제 인산화 부위; 약 아미노산 279 내지 약 아미노산 285 및 약 아미노산 294 내지 약 아미노산 300의 N-미리스토일화 부위; 및 약 아미노산 306 내지 약 아미노산 317 및 약 아미노산 379 내지 약 아미노산 390의 원핵 세포막 지질단백질 지질 부착 부위가 존재하는 것을 입증한다. 클론 DNA48613-1268을 1998년 4월 7일에 ATCC에 기탁하여 ATCC 기탁번호 제 209752 호를 배정받았다.

상기 논의된 바와 같이, DNA48613에 의해 코딩되는 단백질과 GFRa1 및 GFRa2의 서열 비교는 인간 단백질 PRO538이 GFRa 수용체 족의 새로운 구성원이며, 쥐과 GFRa3에 대한 인간 동족체임을 제시한다. 따라서, DNA48613-1268은 인간 GFRa3으로 지칭되는 단백질을 코딩하며, DNA48614는 그의 스플라이스 변형체를 코딩한다.

전장 PRO538 폴리펩티드(도 48, 서열 132에 나타냄)의 BLAST-2 및 FastA 서열 정렬 분석에 기초한 GFRa 족 구성원들 사이의 아미노산 서열 비교를 하기에 기재한다.

GFR α 족 구성원들 사이의 서열 동일성	
비교된 단백질	동일성 %
rGFR α 1 대 hGFR α 1	92%
rGFR α 2 대 hGFR α 2	94%
mGFR α 3 대 hGFR α 3	77%
hGFR α 3 대 hGFR α 1	34%
hGFR α 3 대 hGFR α 2	34%
hGFR α 1 대 hGFR α 2	48%

서열 비교로부터, 인간 GFR α 3은 GFR α 1 또는 GFR α 2에 비해 그의 설치류 동족체와의 연관성이 적은 것 같다. 또한, GFR α 1과 GFR α 2가 서로 연관된 것 보다 GFR α 1 및 GFR α 2에 대한 GFR α 3의 연관성이 적은 것 같다.

실시에 28: 인간 PRO713을 코딩하는 cDNA 클론의 단리

발현 서열 태그(EST) DNA 데이터베이스 (LIFESEQ(등록상표), Incyte Pharmaceuticals, Palo Alto, CA)를 검색하여, VEGF에 상동성을 나타내는 폴리펩티드를 코딩하는 EST(Incyte EST 제1302516호)를 찾아내었다. 상기 Incyte EST 제 1302516호 기재의 프로브를 사용하여 인간 신경교종 세포주인 G61로부터 유도된 cDNA 라이브러리를 스크리닝하였다. 특히, Incyte 클론 INC1302516을 사용하여 하기 4개의 프로브를 제조하였다.

5'-ACTTCTCAGTGTCCATAAGGG-3' (서열 138)

5'-GAACTAAAGAGAACCGATACCATTTTCTGGCCAGGTTGTC-3' (서열 139)

5'-CACCACAGCGTTTAACCAGG (서열 140)

5'-ACAACAGGCACAGTTCCCAC-3' (서열 141)

9개의 양성 반응체를 찾아내어 특성화하였다. 3개의 클론은 전체 코딩 영역을 함유하였으며, 서열이 동일하였다. 또한, 부분 클론도 태아 폐 라이브러리로부터 확인되었고, 코딩되는 아미노산 서열을 변화시키지 않는 뉴클레오티드 변화를 제외하고는 신경교종 세포주에서 유도된 것과 서열이 동일하였다.

상기 기재된 바와 같이 단리된 클론의 DNA 서열 분석으로 PRO713에 대한 전장 DNA 서열[본원에서 DNA29101-1122 라 칭됨]을 획득하였다. DNA29101-1122의 전체 뉴클레오티드 서열을 도 49(서열 136)에 나타내었다. 클론 DNA29101-1122는 뉴클레오티드 위치 285 내지 287의 분명한 번역 개시 부위 및 뉴클레오티드 위치 1320 내지 1322의 정지 코돈 갖는 단일 오픈 리딩 프레임 포함하였다(도 49, 서열 136). 예상된 폴리펩티드 전구체는 345개의 아미노산으로 이루어진 길이를 갖고, 예상 분자량은 약 39,029 달톤이며, pI는 약 6.06이다. 전장 PRO713 단백질은 도 50(서열 137)에 나타내었다.

도 50(서열 137)에 나타난 전장 PRO538 서열의 분석은 그 위치가 대략 상기 기재된 바와 같은, 도 50에 나타난 중요한 폴리펩티드 도메인의 존재를 입증한다. 전장 PRO713 폴리펩티드(도 50, 서열 137)의 분석은 약 아미노산 1 내지 약 아미노산 14의 신호 펩티드; 약 아미노산 25 내지 약 아미노산 29, 약 아미노산 55 내지 약 아미노산 59 및 약 아미노산 254 내지 약 아미노산 258의 N-글리코실화 부위; 약 아미노산 15 내지 약 아미노산 21, 약 아미노산 117 내지 약 아미노산 123, 약 아미노산 127 내지 약 아미노산 133, 약 아미노산 281 내지 약 아미노산 287, 약 아미노산 282 내지 약 아미노산 288 및 약 아미노산 319 내지 약 아미노산 325의 N-미리스토일화 부위; 및 약 아미노산 229 내지 약 아미노산 233의 아미드화 부위가 존재하는 것을 입증한다. 클론 DNA29101-1122를 1998년 3월 5일에 ATCC에 기탁하여 ATCC 기탁번호 제 209653 호를 배정받았다.

도 59(서열 137)에 나타난 전장 PRO713 서열의 분석은 상기 폴리펩티드가 신규 VEGF-관련 단백질(VEGF-E)임을 제시한다.

실시에 29: 인간 PRO719를 코딩하는 cDNA 클론의 단리

상기 실시예 1에 기재된 phrap을 이용하여 다른 EST 서열에 대해 컨센서스 DNA 서열을 어셈블리하였다. 본원에서 이 컨센서스 서열을 DNA44851이라 명명하였으며, 이는 또한 Incyte EST 클론 제179903호와 정확히 일치한다. 어셈블리된 DNA44851 컨센서스 서열을 기초로 1) 목적 서열을 함유하는 cDNA 라이브러리를 PCR에 의해 확인하고 2) PRO719에 대한 전장 코딩 서열의 클론을 단리하는데 프로브로서 사용하기 위해, 올리고뉴클레오티드를 합성하였다.

1쌍의 PCR 프라이머(전방향 및 역방향)를 합성하였다:

전방향 PCR 프라이머(44851.f1):

5'-GTGAGCATGAGCGAGCCGTCCAC-3' (서열 144)

역방향 PCR 프라이머(44851.r1):

5'-GCTATTACAACGGTTCTTGCGGCAGC-3' (서열 145)

추가로, 하기의 뉴클레오티드 서열을 갖는 합성 올리고뉴클레오티드 혼성화 프로브를 제조하였다:

혼성화 프로브(44851.p1):

5'-TTGACTCTCTGGTGAATCAGGACAAGCCGAGTTTTGCCTTCCAG-3' (서열 146)

전장 클론의 공급원에 대해 몇개의 라이브러리를 스크리닝하기 위해 상기 확인한 PCR 프라이머쌍으로의 PCR 증폭에 의해 라이브러리로부터 DNA를 스크리닝하였다. 프로브 올리고뉴클레오티드 및 PCR 프라이머 중의 하나를 사용하여 PRO719 유전자를 코딩하는 클론을 단리하기 위해 양성 라이브러리를 이용하였다. cDNA 라이브러리 제조용 RNA는 인간 태반 조직으로부터 단리하였다(LIB90).

상기 기재된 바와 같이 단리된 DNA의 서열 분석을 통해 DNA49646-1327[도 51, 서열 142]에 대한 전장의 DNA 서열 및 그로부터 유도된 PRO719 단백질 서열을 획득하였다.

DNA49646-1327의 전장 클론은 도 51(서열 142)에 포함되어 있다. 클론 DNA49646-1327는 뉴클레오티드 위치 223 내지 225의 분명한 번역 개시 부위 및 뉴클레오티드 위치 1285 내지 1287의 정지 신호를 갖는 단일 오픈 리딩 프레임에 포함하였다. 예상된 폴리펩티드 전구체는 354개의 아미노산으로 이루어진 길이를 갖고, 분자량은 대략 39,362 달톤이며, 추정된 pI는 약 8.35이다. 도 52(서열 143)에 나타난 전장 PRO719 서열의 분석은 그 위치가 대략 상기 기재된 바와 같은, 도 52에 나타난 중요한 폴리펩티드 도메인의 존재를 입증한다. 도 52에 나타난 전장 PRO719 폴리펩티드의 분석은 약 아미노산 1 내지 약 아미노산 16의 신호 펩티드; 약 아미노산 80 내지 약 아미노산 84 및 약 아미노산 136 내지 약 아미노산 140의 N-글리코실화 부위; 약 아미노산 206 내지 약 아미노산 210 및 약 아미노산 329 내지 약 아미노산 333의 cAMP- 및 cGMP-의존성 단백질 키나아제 인산화 부위; 약 아미노산 63 내지 약 아미노산 69, 약 아미노산 96 내지 약 아미노산 102, 약 아미노산 171 내지 약 아미노산 177, 약 아미노산 191 내지 약 아미노산 197, 약 아미노산 227 내지 약 아미노산 233, 약 아미노산 251 내지 약 아미노산 257, 약 아미노산 306 내지 약 아미노산 312 및 약 아미노산 346 내지 약 아미노산 352의 N-미리스토일화 부위; 및 약 아미노산 163 내지 약 아미노산 173의 리파아제, 세린 활성 부위가 존재하는 것을 입증한다. 클론 DNA49646-1327을 1998년 3월 26일에 ATCC에 기탁하여 ATCC 기탁번호 제 209705 호를 배정받았다.

전장 PRO719 폴리펩티드의 아미노산 서열 분석은 상기 폴리펩티드가 지질단백질 리파아제 H 단백질과 상당한 서열 유사성이 있음을 제시하며, 따라서 PRO719는 신규 지질단백질 리파아제 동족체일 수 있다. 더욱 구체적으로, 데이호프 데이타베이스 (버전 35.45 SwissProt 35)의 분석은 PRO719 아미노산 서열과 데이호프 서열 LIPL_HUMAN, LIPH_HUMAN, D83548_1, A24059_1, P_R30740, D88666_1, A43357, A46696, B43357 및 A49488 사이에 상당한 상동성을 보여주었다.

실시예 30: 인간 PRO771을 코딩하는 cDNA 클론의 단리

상기 실시예 1에 기재된 phrap을 이용하여 다른 EST 서열에 대해 컨센서스 DNA 서열을 어셈블리하였다. 이 컨센서스 서열을 본원에서 <consen01>이라 지칭하였다. <consen01> DNA 컨센서스 서열을 기초로 1) 목적 서열을 함유하는 cDNA 라이브러리를 PCR에 의해 확인하고 2) PRO771에 대한 전장 코딩 서열의 클론을 단리하는데 프로브로서 사용하기 위해, 올리고뉴클레오티드를 합성하였다.

1쌍의 PCR 프라이머(전방향 및 역방향)를 합성하였다:

전방향 PCR 프라이머:

5'-CAGCAATATTCAGAAGCGGCAAGGG-3' (서열 149)

역방향 PCR 프라이머:

5'-CATCATGGTCATCACCACCATCATCATC-3' (서열 150)

추가로, 하기의 뉴클레오티드 서열을 갖는 합성 올리고뉴클레오티드 혼성화 프로브를 <consen01> DNA 컨센서스 서열로부터 제조하였다:

혼성화 프로브:

5'-GGTTACTACAAGCCAACACAATGTCATGGCAGTGTTGGACAGTGCTGG-3' (서열 151)

전장 클론의 공급원에 대해 몇개의 라이브러리를 스크리닝하기 위해 상기 확인한 PCR 프라이머쌍으로의 PCR 증폭에 의해 라이브러리로부터 DNA를 스크리닝하였다. 프로브 올리고뉴클레오티드 및 PCR 프라이머 중의 하나를 사용하여 PRO771 유전자를 코딩하는 클론을 단리하기 위해 양성 라이브러리를 이용하였다. cDNA 라이브러리 제조용 RNA는 인간 태아 신장 조직으로부터 단리하였다(LIB28).

상기 기재된 바와 같이 단리된 클론의 DNA 서열 분석을 통해 DNA49829-1346[도 53, 서열 147]에 대한 전장의 DNA 서열 및 그로부터 유도된 PRO771 단백질 서열을 획득하였다.

DNA49829-1346의 전장 클론은 도 53(서열 147)에 포함되어 있다. 클론 DNA49829-1346는 뉴클레오티드 위치 134 내지 136의 분명한 번역 개시 부위 및 뉴클레오티드 위치 1442 내지 1444의 정지 신호를 갖는 단일 오픈 리딩 프레임에 포함하였다. 예상된 폴리펩티드 전구체는 436개의 아미노산으로 이루어진 길이를 갖고, 분자량은 대략 49,429 달톤이며, 추정된 pI는 약 4.80이다. 도 54(서열 148)에 나타난 전장 PRO771 서열의 분석은 그 위치가 대략 상기 기재된 바와 같은 중요한 폴리펩티드 도메인의 존재를 입증한다. 도 54에 나타난 전장 PRO771 폴리펩티드의 분석은 약 아미노산 1 내지 약 아미노산 16의 신호 펩티드; 약 아미노산 115 내지 약 아미노산 119의 cAMP- 및 cGMP-의존성 단백질 키나아제 인산화 부위; 약 아미노산 62 내지 약 아미노산 70의 티로신 키나아제 인산화 부위; 약 아미노산 357 내지 약 아미노산 363, 약 아미노산 371 내지 약 아미노산 377 및 약 아미노산 376 내지 약 아미노산 382의 N-미리스토일화 부위; 및 약 아미노산 246 내지 약 아미노산 268의 루이신 지퍼 패턴이 존재하는 것을 입증한다. 클론 DNA49829-1346을 1998년 4월 7일에 ATCC에 기탁하여 ATCC 기탁번호 제 209749 호를 배정받았다.

전장 PRO771 폴리펩티드의 아미노산 서열 분석은 상기 폴리펩티드의 일부분이 테스트칸 단백질과 상당한 서열 상동성이 있음을 제시하며, 따라서 PRO771는 신규 테스트칸 동족체일 수 있다.

실시예 31: 인간 PRO788을 코딩하는 cDNA 클론의 단리

상기 실시예 1에 기재된 phrap을 이용하여 다른 EST 서열에 대해 컨센서스 DNA 서열을 어셈블리하였다. 이 컨센서스 서열을 본원에서 "<consen01>"이라 명명하였다. 본원에 제공된 데이터를 기초로, ARS 및 E48 항원에 상동성을 나타내는 Incyte EST 2777282를 찾아내었다. 어셈블리된 "<consen01>" 서열 및 본원에 제공된 다른 데이터를 기초로, Incyte EST2777282를 획득하여 그 전체를 서열 분석함으로써 본원에서 DNA56405-1357(도 55, 서열 152)이라 지칭되는 PRO788에 대한 전장 DNA 서열 및 그로부터 유도된 PRO788에 대한 단백질 서열을 획득하였다.

DNA56405-1357의 전체 코딩 서열은 도 55(서열 152)에 포함되어 있다. 클론 DNA56405-1357는 뉴클레오티드 위치 84 내지 86의 분명한 번역 개시 부위 및 뉴클레오티드 위치 459 내지 461의 정지 신호를 갖는 단일 오픈 리딩 프레임에 포함하였다. 예상된 폴리펩티드 전구체는 125개의 아미노산으로 이루어진 길이를 갖고, 분자량은 대략 13,115 달톤이며, 추정된 pI는 약 5.90이다. 도 56(서열 153)에 나타낸 전장 PRO788 서열의 분석은 그 위치가 대략 상기 기재된 바와 같은 중요한 폴리펩티드 도메인의 존재를 입증한다. 도 56에 나타낸 전장 PRO788 폴리펩티드의 분석은 약 아미노산 1 내지 약 아미노산 17의 신호 펩티드; 약 아미노산 46 내지 약 아미노산 50의 N-글리코실화 부위; 약 아미노산 3 내지 약 아미노산 9, 약 아미노산 33 내지 약 아미노산 39 및 약 아미노산 84 내지 약 아미노산 90의 N-미리스토일화 부위; 및 약 아미노산 6 내지 약 아미노산 17의 원핵 세포막 지질단백질 지질 부착 부위가 존재하는 것을 입증한다. 클론 DNA56405-1357을 1998년 5월 6일에 ATCC에 기탁하여 ATCC 기탁번호 제 209849 호를 배정받았다.

실시에 32: 인간 PRO792를 코딩하는 cDNA 클론의 단리

상기 실시예 1에 기재된 phrap을 이용하여 다른 EST 서열에 대해 컨센서스 DNA 서열을 어셈블리하였다. 본원에서 이 컨센서스 서열을 DNA38106이라 명명하였으며, 이는 Incyte EST 클론 제1988930호와 정확히 일치한다. 어셈블리된 DNA38106 컨센서스 서열을 기초로 1) 목적 서열을 함유하는 cDNA 라이브러리를 PCR에 의해 확인하고 2) PRO792에 대한 전장 코딩 서열의 클론을 단리하는데 프로브로서 사용하기 위해, 올리고뉴클레오티드를 합성하였다.

1쌍의 PCR 프라이머(전방향 및 역방향)를 합성하였다:

전방향 PCR 프라이머(38016.f1):

5'-GCGAGAACTGTGTCATGATGCTGC-3' (서열 156)

역방향 PCR 프라이머(38016.r1):

5'-GTTTCTGAGACTCAGCAGCGGTGG-3' (서열 157)

추가로, 하기의 뉴클레오티드 서열을 갖는 합성 올리고뉴클레오티드 혼성화 프로브를 컨센서스 DNA38016으로부터 제조하였다:

혼성화 프로브(38016.p1):

5'-CACCGTGTGACAGCGAGAAGGACGGCTGGATCTGTGAGAAAAGGCACAAC-3' (서열 158)

전장 클론의 공급원에 대해 몇개의 라이브러리를 스크리닝하기 위해 상기 확인한 PCR 프라이머쌍으로의 PCR 증폭에 의해 라이브러리로부터 DNA를 스크리닝하였다. 프로브 올리고뉴클레오티드 및 PCR 프라이머 중의 하나를 사용하여 PRO792 유전자를 코딩하는 클론을 단리하기 위해 양성 라이브러리를 이용하였다. cDNA 라이브러리 제조용 RNA는 인간 골수 조직으로부터 단리하였다(LIB255).

상기 기재된 바와 같이 단리된 DNA의 서열 분석을 통해 DNA56352-1358[도 57, 서열 154]에 대한 전장의 DNA 서열 및 그로부터 유도된 PRO792 단백질 서열을 수득하였다.

DNA56352-1358의 전체 코딩 서열은 도 57(서열 154)에 포함되어 있다. 클론 DNA56352-1358는 뉴클레오티드 위치 67 내지 69의 분명한 번역 개시 부위 및 뉴클레오티드 위치 946 내지 948의 정지 신호를 갖는 단일 오픈 리딩 프레임에 포함하였다. 예상된 폴리펩티드 전구체는 293개의 아미노산으로 이루어진 길이를 갖고, 분자량은 대략 32,562 달톤이며, 추정된 pI는 약 6.53이다. 도 58(서열 155)에 나타낸 전장 PRO792 서열의 분석은 그 위치가 대략 상기 기재된 바와 같은 중요한 폴리펩티드 도메인의 존재를 입증한다. 도 58에 나타낸 전장 PRO792 폴리펩티드의 분석은 약 아미노산 1 내지 약 아미노산 46의 신호 펩티드; 약 아미노산 31 내지 약 아미노산 54의 가능한 II형 막횡단 도메인; 약 아미노산 73 내지 약 아미노산 77 및 약 아미노산 159 내지 약 아미노산 163의 N-글리코실화부위; 약 아미노산 18 내지 약 아미노산 24, 약 아미노산 133 내지 약 아미노산 139 및 약 아미노산 242 내지 약 아미노산 248의 N-미리스토일화 부위; 약 아미노산 264 내지 약 아미노산 288의 C-형 렉틴 도메인 시그너처; 및 약 아미노산 102 내지 약 아미노산 124의 루이신 지퍼 패턴이 존재하는 것을 입증한다. 클론 DNA56352-1358을 1998년 5월 6일에 ATCC에 기탁하여 ATCC 기탁번호 제 209846 호를 배정받았다.

전장 PRO792 폴리펩티드의 아미노산 서열 분석은 상기 폴리펩티드가 CD23 단백질과 상당한 서열 유사성이 있음을 제시하고, 따라서 PRO792는 신규 CD23 동족체일 수 있다. 더욱 구체적으로, 데이호프 데이터베이스 (버전 35.45 SwissProt 35)의 분석은 PRO792 아미노산 서열과 데이호프 서열 S34198, A07100-1, A05303_1, P_R41689, P_P82839, A10871_1, P_R12796, P_R47199, A46274 및 P_R32188 사이에 상당한 상동성을 보여주었다.

실시예 33: 인간 PRO812를 코딩하는 cDNA 클론의 단리

상기 실시예 3에 기재된 비공개 신호 서열 조사 연산법을 사용하여 DNA59205-1421을 찾아내었다. 상기 기재된 신호 서열 연산법을 이용하여 LIFESEQ(등록상표) 데이터베이스로부터 Incyte EST 클러스터 제170079호라 명명된 EST 클러스터 서열을 찾아내었다. 그 후에, 존재하는 상동성을 확인하기 위해, 이 EST 클러스터 서열을, 공개 EST 데이터베이스(예를 들어, 진뱅크) 및 비공개 EST 데이터베이스(LIFESEQ(등록상표), Incyte Pharmaceuticals, Palo Alto, CA)를 포함하는 다양한 발현 서열 태그(EST) 데이터베이스와 비교하여 상동성을 조사하였다. 상동성 검색은 컴퓨터 프로그램인 BLAST 또는 BLAST2(Altshul et al., Methods in Enzymology, 266:460-480 (1996))를 이용하여 수행하였다. 공지된 단백질을 코딩하지 않는 70 (또는 몇몇 경우 90) 이상의 블라스트(Blast) 스코어를 갖는 비교물을 클러스터시키고, 프로그램 "phrap" (Phil Green, University of Washington, Seattle, Washington)을 사용하여 컨센서스 DNA 서열로 어셈블리하였다. 이로부터 수득된 컨센서스 서열을 본원에서 DNA55721이라 지칭하였다.

DNA55721 서열과 Incyte EST 제388964호 사이의 서열 상동성을 고려하여, Incyte EST 클론 제388964호를 구입하고, cDNA 삽입체를 수득하여 서열 분석하였다. 이 cDNA 삽입체의 서열은 도 59(서열 159)에 나타내었고 본원에서 DNA59205-1421이라 지칭하였다.

DNA59205-1421의 전체 코딩 서열은 도 59(서열 159)에 포함되어 있다. 클론 DNA59205-1421은 뉴클레오티드 위치 55 내지 57의 분명한 번역 개시 부위 및 뉴클레오티드 위치 304 내지 306의 정지 신호를 갖는 단일 오픈 리딩 프레임 포함하였다(도 59). 예상된 폴리펩티드 전구체는 83개의 아미노산으로 이루어진 길이를 갖는다(도 60, 서열 160). 도 60에 나타난 전장 PRO812 단백질의 예상 분자량은 약 9,201 달톤이며, pI는 약 9.30이다. 도 60 (서열 160)에 나타난 전장 PRO812 서열의 분석은 그 위치가 대략 상기 기재된 바와 같은 중요한 폴리펩티드 도메인의 존재를 입증한다. 도 60에 나타난 전장 PRO812 폴리펩티드의 분석은 약 아미노산 1 내지 약 아미노산 15의 신호 펩티드; 약 아미노산 73 내지 약 아미노산 77의 cAMP- 및 cGMP-의존성 단백질 키나아제 인산화 부위가 존재하는 것을 입증한다. 클론 DNA59205-1421을 1998년 6월 23일에 ATCC에 기탁하여 ATCC 기탁번호 제 203009 호를 배정받았다.

도 60(서열 160)에 나타난 전장 서열의 WU-BLAST2 서열 정렬 분석을 이용하는 데이호프 데이터베이스 (버전 35.45 SwissProt 35)의 분석은 PRO812 아미노산 서열과 데이호프 서열 P_W35802, P_W35803, PSC1_RAT, S68231, GEN13917, PSC2_RAT, CC10_HUMAN, UTER_RABBIT, AF008595_1 및 A56413 사이에 상당한 상동성을 보여주었다.

실시예 34: 인간 PRO865를 코딩하는 cDNA 클론의 단리

상기 실시예 2에 기재된 아밀라제 스크린에서 단리된 cDNA 서열을 본원에서 DNA37642 또는 DNA37642.init라 지칭하였다. 그 후에, 이들 사이에 존재하는 상동성을 확인하기 위해, 공개 EST 데이터베이스(예를 들어, 진뱅크) 및 비공개 EST 데이터베이스(LIFESEQ(등록상표), Incyte Pharmaceuticals, Palo Alto, CA)를 포함하는 다양한 발현 서열 태그(EST) 데이터베이스와 상기 DNA37642를 비교하였다. 상동성 검색은 컴퓨터 프로그램인 BLAST 또는 BLAST2(Altshul et al., Methods in Enzymology, 266:460-480 (1996))를 이용하여 수행하였다. 공지된 단백질을 코딩하지 않는 70 (또는 몇몇 경우 90) 이상의 블라스트(Blast) 스코어를 갖는 비교물을 클러스터시키고, 프로그램 "phrap" (Phil Green, University of Washington, Seattle, Washington)을 사용하여 컨센서스 DNA 서열로 어셈블리하였다. 수득된 어셈블리 및 컨센서스 서열을 본원에서 DNA48615라 지칭하였다.

DNA48615 서열을 기초로 하여 올리고뉴클레오티드 프로브를 제조하고, 상기 실시예 2의 첫번째 단락에 기재된 바와 같이 제조된 인간 태아 신장(LIB227) 라이브러리를 스크린하기 위해 사용하였다. 클로닝 벡터는 pRK5B (pRK5B는 Sfi I 부위를 함유하지 않는 pRK5D의 전구체임; 문헌 (Holmes et al., Science, 253:1278-1280 (1991)) 참조)였으며, 절단된 cDNA의 크기는 2800bp 미만이었다.

PCR 프라이머(전방향 및 역방향)를 합성하였다:

전방향 PCR 프라이머 1(48615.f1):

5'-AAGCTGCCGGAGCTGCAATG-3' (서열 163)

전방향 PCR 프라이머 2(48615.f2):

5'TTGCTTCTTAATCCTGAGCGC-3' (서열 164)

전방향 PCR 프라이머 3(48615.f3):

5'-AAAGGAGGACTTTCGACTGC-3' (서열 165)

역방향 PCR 프라이머 1(48615.r1):

5'-AGAGATTCATCCACTGCTCCAAGTCG-3' (서열 166)

역방향 PCR 프라이머 2(48615.r2):

5'-TGTCCAGAAACAGGCACATATCAGC-3' (서열 167)

추가로, 하기의 뉴클레오티드 서열을 갖는 합성 올리고뉴클레오티드 혼성화 프로브를 컨센서스 DNA48615로부터 제조하였다:

혼성화 프로브(48615.p1):

5'-AGACAGCGGCACAGAGGTGCTTCTGCCAGGTTAGTGGTACTTGGATGAT-3' (서열 168)

전장 클론의 공급원에 대해 몇개의 라이브러리를 스크리닝하기 위해 상기 확인한 PCR 프라이머쌍으로의 PCR 증폭에 의해 라이브러리로부터 DNA를 스크리닝하였다. 프로브 올리고뉴클레오티드 및 PCR 프라이머 중의 하나를 사용하여 PRO815 유전자를 코딩하는 클론을 단리하기 위해 양성 라이브러리를 이용하였다.

전장 클론[DNA53974-1401]은 뉴클레오티드 위치 173 내지 175의 분명한 번역 개시 부위 및 뉴클레오티드 위치 1577 내지 1579의 정지 신호를 갖는 단일 오픈 리딩 프레임에 포함하였다(도 61, 서열 161). 예상된 폴리펩티드 전구체는 468 개의 아미노산으로 이루어진 길이를 갖고, 계산된 분자량은 약 54,393 달톤이며, 추정된 pI는 약 5.63이다. 도 62 (서열 162)에 나타낸 전장 PRO865 서열의 분석은 그 위치가 대략 상기 기재된 바와 같은, 도 62에 나타낸 중요한 폴리펩티드 도메인의 존재를 입증한다. 도 62에 나타낸 전장 PRO865 폴리펩티드의 분석은 약 아미노산 1 내지 약 아미노산 23의 신호 펩티드; 약 아미노산 280 내지 약 아미노산 284 및 약 아미노산 384 내지 약 아미노산 388의 N-글리코실화 부위; 약 아미노산 94 내지 약 아미노산 98의 아미드화 부위; 약 아미노산 20 내지 약 아미노산 24 및 약 아미노산 223 내지 약 아미노산 227의 글리코사미노글리칸 부착 부위; 약 아미노산 216 내지 약 아미노산 223의 아미노트랜스퍼라제 클래스-V 피리독실-포스페이트 부위; 및 약 아미노산 338 내지 약 아미노산 344의 인터루킨-7 단백질 부위가 존재하는 것을 입증한다. 클론 DNA53974-1401을 1998년 4월 14일에 ATCC에 기탁하여 ATCC 기탁번호 제 209774 호를 배정받았다.

전장 PRO865(도 62, 서열 162) 폴리펩티드의 아미노산 서열 분석은 상기 폴리펩티드가 어떤 공지된 단백질과도 상당한 유사성이 없음을 제시하였다. 그러나, 데이호프 데이터베이스 (버전 35.45 SwissProt 35)의 분석은 PRO865 아미노산 서열과 데이호프 서열 YMNO_YEAST, ATFCA4_43, S44168, P_W14549 및 RABTCRG4_1 사이에 어느정도의 상동성을 보여주었다.

실시예 35: 인간 PRO1075를 코딩하는 cDNA 클론의 단리

상기 실시예 1에 기재된 phrap을 이용하여 다른 EST 서열에 대해 컨센서스 DNA 서열을 어셈블리하였다. 본원에서 이 컨센서스 서열을 DNA34363이라 명명하였다. 컨센서스 어셈블리에 제넨테크의 비공개 EST를 사용하였다. 제넨테크의

EST는 본원에서 DNA13059 및 DNA19463이라 지칭된다. DNA34363 컨센서스 서열을 기초로 1) 목적 서열을 함유하는 cDNA 라이브러리를 PCR에 의해 확인하고 2) PRO1075에 대한 전장 코딩 서열의 클론을 단리하는데 프로브로서 사용하기 위해, 올리고뉴클레오티드를 합성하였다.

PCR 프라이머(전방향 및 역방향)를 합성하였다:

전방향 PCR 프라이머(34363.f1):

5'-TGAGAGGCCTCTCTGGAAGTTG-3' (서열 171)

전방향 PCR 프라이머(34363.f2):

5'-GTCAGCGATCAGTGAAAGC-3' (서열 172)

전방향 PCR 프라이머(34363.f3):

5'-CCAGAATGAAGTAGCTCGGC-3' (서열 173)

전방향 PCR 프라이머(34363.f4):

5'-CCGACTCAAAATGCATTGTC-3' (서열 174)

전방향 PCR 프라이머(34363.f5):

5'-CATTTGGCAGGAATTGTCC-3' (서열 175)

전방향 PCR 프라이머(34363.f6):

5'-GGTGCTATAGGCCAAGGG-3' (서열 176)

역방향 PCR 프라이머(34363.r1):

5'-CTGTATCTCTGGGCTATGTCAGAG-3' (서열 177)

역방향 PCR 프라이머(34363.r2):

5'-CTACATATAATGGCACATGTCAGCC-3' (서열 178)

추가로, 하기의 뉴클레오티드 서열을 갖는 합성 올리고뉴클레오티드 혼성화 프로브를 DNA34363으로부터 제조하였다:

혼성화 프로브(34363.p1):

5'-CGTCTTCCTATCCTTACCCGACCTCAGATGCTCCCTTCTGCTCCTG-3' (서열 179)

전장 클론의 공급원에 대해 몇개의 라이브러리를 스크리닝하기 위해 상기 확인한 PCR 프라이머쌍으로의 PCR 증폭에 의해 라이브러리로부터 DNA를 스크리닝하였다. 프로브 올리고뉴클레오티드 및 PCR 프라이머 중의 하나를 사용하여 PRO1075 유전자를 코딩하는 클론을 단리하기 위해 양성 라이브러리를 이용하였다. cDNA 라이브러리 제조용 RNA는 인간 피부 종양 조직으로부터 단리하였다(LIB324).

상기 기재된 바와 같이 단리된 DNA의 서열 분석을 통해 DNA57689-1385[도 63, 서열 169]에 대한 전장의 DNA 서열 및 그로부터 유도된 PRO1075 단백질 서열을 획득하였다.

DNA57689-1385의 전체 코딩 서열은 도 63(서열 169)에 포함되어 있다. 클론 DNA57689-1385는 뉴클레오티드 위치 137 내지 139의 분명한 번역 개시 부위 및 뉴클레오티드 위치 1255 내지 1357의 정지 신호를 갖는 단일 오픈 리딩 프레임

임을 포함하였다. 예상된 폴리펩티드 전구체는 406개의 아미노산으로 이루어진 길이를 갖고, 예상 분자량은 약 46,927 달톤이며, pI는 약 5.21이다. 도 64 (서열 170)에 나타난 전장 PRO1075 서열의 분석은 그 위치가 대략 상기 기재된 바와 같은 중요한 폴리펩티드 도메인의 존재를 입증한다. 도 64에 나타난 전장 PRO1075 폴리펩티드의 분석은 약 아미노산 1 내지 약 아미노산 29의 신호 펩티드; 약 아미노산 203 내지 약 아미노산 212의 티로신 키나아제 인산화 부위; 약 아미노산 225 내지 약 아미노산 231의 N-미리스토일화 부위; 및 약 아미노산 403 내지 약 아미노산 408의 소포체 표적 서열이 존재하는 것을 입증한다. 클론 DNA57689-1385를 1998년 5월 14일에 ATCC에 기탁하여 ATCC 기탁번호 제 209869 호를 배정받았다.

전장 PRO1075 폴리펩티드의 아미노산 서열 분석은 상기 폴리펩티드가 단백질 디설피드 이소머라제와 상당한 서열 유사성이 있음을 제시하며, 따라서 PRO1075는 신규 단백질 디설피드 이소머라제일 수 있다. 더욱 구체적으로, 데이호프 데이터베이스 (버전 35.45 SwissProt 35)의 분석은 PRO1075 아미노산 서열과 데이호프 서열 CELC30H7_2, CELC06A6_3, CELF42G8_3, S57942, ER72_CAEEL, CELC07A12_3, CEH06O01_4 및 P_R51696 사이에 상당한 상동성을 보여주었다.

실시예 36: 인간 PRO1126을 코딩하는 cDNA 클론의 단리

상기 실시예 3에 기재된 비공개 신호 서열 조사 연산법을 사용하여 DNA60615-1483을 찾아내었다. 상기 기재된 신호 서열 연산법을 이용하여 LIFESEQ(등록상표) 데이터베이스로부터 Incyte EST 클러스터 제121249호라 명명된 EST 클러스터 서열을 찾아내었다. 그 후에, 존재하는 상동성을 확인하기 위해, 이 EST 클러스터 서열을, 공개 EST 데이터베이스 (예를 들어, 진뱅크) 및 비공개 EST 데이터베이스(LIFESEQ(등록상표), Incyte Pharmaceuticals, Palo Alto, CA)를 포함하는 다양한 발현 서열 태그(EST) 데이터베이스와 비교하여 상동성을 조사하였다. 상동성 검색은 컴퓨터 프로그램인 BLAST 또는 BLAST2(Altshul et al., Methods in Enzymology, 266:460-480 (1996))를 이용하여 수행하였다. 공지된 단백질을 코딩하지 않는 70 (또는 몇몇 경우 90) 이상의 블라스트(Blast) 스코어를 갖는 비교물을 클러스터시키고, 프로그램 "phrap" (Phil Green, University of Washington, Seattle, Washington)을 사용하여 컨센서스 DNA 서열로 어셈블리하였다. 이로부터 수득된 컨센서스 서열을 본원에서 DNA56250이라 지칭하였다.

DNA56250 서열과 Incyte EST 제1437250호 사이의 서열 상동성을 고려하여, Incyte EST 클론 제1437250호를 구입하고, cDNA 삽입체를 수득하여 서열 분석하였다. 이 cDNA 삽입체의 서열은 도 65(서열 180)에 나타내었고 본원에서 DNA60615-1483이라 지칭하였다.

DNA60615-1483의 전체 코딩 서열은 도 65(서열 180)에 포함되어 있다. 클론 DNA60615-1483는 뉴클레오티드 위치 110 내지 112의 분명한 번역 개시 부위 및 뉴클레오티드 위치 1316 내지 1318의 정지 신호를 갖는 단일 오픈 리딩 프레임 포함하였다(도 65). 예상된 폴리펩티드 전구체는 402개의 아미노산으로 이루어진 길이를 갖는다(도 66, 서열 181). 도 66에 나타난 전장 PRO1126 단백질의 추정 분자량은 약 45,921 달톤이며, pI는 약 8.60이다. 도 66 (서열 181)에 나타난 전장 PRO1126 서열의 분석은 그 위치가 대략 상기 기재된 바와 같은 중요한 폴리펩티드 도메인의 존재를 입증한다. 도 66에 나타난 전장 PRO1126 폴리펩티드의 분석은 약 아미노산 1 내지 약 아미노산 25의 신호 펩티드; 약 아미노산 66 내지 약 아미노산 70, 약 아미노산 138 내지 약 아미노산 142 및 약 아미노산 183 내지 약 아미노산 187의 N-글리코실화 부위가 존재하는 것을 입증한다. 클론 DNA60615-1483을 1998년 6월 16일에 ATCC에 기탁하여 ATCC 기탁번호 제 209980 호를 배정받았다.

도 66(서열 181)에 나타난 전장 서열의 WU-BLAST2 서열 정렬 분석을 이용하는 데이호프 데이터베이스 (버전 35.45 SwissProt 35)의 분석은 PRO1126 아미노산 서열과 데이호프 서열 173636, NOMR_HUMAN, MMUSMYOC3_1, HS454G6_1, P_R98225, RNU78105_1, RNU72487_1, AF035301_1, CEELC48E7_4 및 CEF11C3_3 사이에 상당한 상동성을 보여주었다.

실시예 37: 인간 PRO1130을 코딩하는 cDNA 클론의 단리

상기 실시예 1에 기재된 phrap을 이용하여 다른 EST 서열에 대해 컨센서스 DNA 서열을 어셈블리하였다. 본원에서 이 컨센서스 서열을 DNA34360이라 명명하였다. DNA34360 컨센서스 서열을 기초로 1) 목적 서열을 함유하는 cDNA 라이브러리를 PCR에 의해 확인하고 2) PRO1130에 대한 전장 코딩 서열의 클론을 단리하는데 프로브로서 사용하기 위해, 올리고뉴클레오티드를 합성하였다.

PCR 프라이머(전방향 및 역방향)를 합성하였다:

전방향 PCR 프라이머(34360.f1):

5'-GCCATAGTCACGACATGGATG-3' (서열 184)

전방향 PCR 프라이머(34360.f2):

5'-GGATGGCCAGAGCTGCTG-3' (서열 185)

전방향 PCR 프라이머(34360.f3):

5'-AAAGTACAAGTGTGGCCTCATCAAGC-3' (서열 186)

역방향 PCR 프라이머(34360.r1):

5'-TCTGACTCCTAAGTCAGGCAGGAG-3' (서열 187)

역방향 PCR 프라이머(34360.r2):

5'-ATTCTCTCCACAGACAGCTGGTTC-3' (서열 188)

추가로, 하기의 뉴클레오티드 서열을 갖는 합성 올리고뉴클레오티드 혼성화 프로브를 DNA34360으로부터 제조하였다:

혼성화 프로브(34360.p1):

5'-GTACAAGTGTGGCCTCATCAAGCCCTGCCAGCCAACTACTTTGCG-3' (서열 189)

전장 클론의 공급원에 대해 몇개의 라이브러리를 스크리닝하기 위해 상기 확인한 PCR 프라이머쌍으로의 PCR 증폭에 의해 라이브러리로부터 DNA를 스크리닝하였다. 프로브 올리고뉴클레오티드 및 PCR 프라이머 중의 하나를 사용하여 PRO1130 유전자를 코딩하는 클론을 단리하기 위해 양성 라이브러리를 이용하였다. cDNA 라이브러리 제조용 RNA는 인간 대동맥 내피 세포 조직으로부터 단리하였다.

상기 기재된 바와 같이 단리된 DNA의 서열 분석을 통해 DNA59814-1486[도 67, 서열 182]에 대한 전장의 DNA 서열 및 그로부터 유도된 PRO1130 단백질 서열을 획득하였다.

DNA59814-1486의 전체 코딩 서열은 도 67(서열 182)에 포함되어 있다. 클론 DNA59814-1486는 뉴클레오티드 위치 312 내지 314의 분명한 번역 개시 부위 및 뉴클레오티드 위치 984 내지 986의 정지 신호를 갖는 단일 오픈 리딩 프레임에 포함하였다. 예상된 폴리펩티드 전구체는 224개의 아미노산으로 이루어진 길이를 갖고, 추정 분자량은 약 24,963 달톤이며, pI는 약 9.64이다. 도 68(서열 183)에 나타난 전장 PRO1130 서열의 분석은 그 위치가 대략 상기 기재된 바와 같은 중요한 폴리펩티드 도메인의 존재를 입증한다. 도 68에 나타난 전장 PRO1130 폴리펩티드의 분석은 약 아미노산 1 내지 약 아미노산 15의 신호 펩티드; 약 아미노산 184 내지 약 아미노산 192의 ATP/GTP-결합 부위 모티프 A(P-루프); 및 약 아미노산 107 내지 약 아미노산 111의 N-글리코실화 부위가 존재하는 것을 입증한다. 클론 DNA59814-1486을 1998년 10월 20일에 ATCC에 기탁하여 ATCC 기탁번호 제 203359 호를 배정받았다.

도 68(서열 183)에 나타난 전장 서열의 WU-BLAST2 서열 정렬 분석을 이용하는 데이호프 데이터베이스 (버전 35.45 SwissProt 35)의 분석은 PRO1130 아미노산 서열과 데이호프 서열 P_W06547, 216_HUMAN, D87120_1, MMU72677_1, LAU04889_1 및 D69319 사이에 상당한 상동성을 보여주었다.

실시예 38: 인간 PRO1154를 코딩하는 cDNA 클론의 단리

상기 실시예 3에 기재된 비공개 신호 서열 조사 연산법을 사용하여 DNA59846-1503을 찾아내었다. 상기 기재된 신호 서열 연산법을 이용하여 LIFESEQ(등록상표) 데이터베이스로부터 Incyte EST 클러스터 제121249호라 명명된 EST 클러스터 서열을 찾아내었다. 그 후에, 존재하는 상동성을 확인하기 위해, 이 EST 클러스터 서열을, 공개 EST 데이터베이스(예를 들어, 진뱅크) 및 비공개 EST 데이터베이스(LIFESEQ(등록상표), Incyte Pharmaceuticals, Palo Alto, CA)를 포함

하는 다양한 발현 서열 태그(EST) 데이터베이스와 비교하여 상동성을 조사하였다. 상동성 검색은 컴퓨터 프로그램인 BLAST 또는 BLAST2(Altschul et al., Methods in Enzymology, 266:460-480 (1996))를 이용하여 수행하였다. 공지된 단백질을 코딩하지 않는 70 (또는 몇몇 경우 90) 이상의 블라스트(Blast) 스코어를 갖는 비교물을 클러스터시키고, 프로그램 "phrap" (Phil Green, University of Washington, Seattle, Washington)을 사용하여 컨센서스 DNA 서열로 어셈블리 하였다. 이로부터 수득된 컨센서스 서열을 본원에서 DNA56250이라 지칭하였다.

본원에 제공된 발견을 고려하여, EST 2169375(미세혈관성 내피 세포 라이브러리로부터의 라이브러리 309-ENDCNOT03)를 포함하는 Incyte 클론을 구입하여 추가로 조사하고 서열 분석하였다. 이 cDNA 삽입체의 서열은 도 69(서열 190)에 나타내었고 본원에서 DNA59846-1503이라 지칭하였다.

DNA59846-1503의 전체 코딩 서열은 도 69(서열 190)에 포함되어 있다. 클론 DNA59846-1503는 뉴클레오티드 위치 86 내지 88의 분명한 번역 개시 부위 및 뉴클레오티드 위치 2909 내지 2911의 정지 신호를 갖는 단일 오픈 리딩 프레임에 포함하였다(도 69). 예상된 폴리펩티드 전구체는 941개의 아미노산으로 이루어진 길이를 갖는다(도 70, 서열 191). 도 70에 나타낸 전장 PRO1154 단백질의 추정 분자량은 약 107,144 달톤이며, pI는 약 6.26이다. 도 70(서열 191)에 나타낸 전장 PRO1154 서열의 분석은 그 위치가 대략 상기 기재된 바와 같은 중요한 폴리펩티드 도메인의 존재를 입증한다. 도 70에 나타낸 전장 PRO1154 폴리펩티드의 분석은 약 아미노산 1 내지 약 아미노산 34의 신호 펩티드; 약 아미노산 70 내지 약 아미노산 74, 약 아미노산 154 내지 약 아미노산 158, 약 아미노산 414 내지 약 아미노산 418, 약 아미노산 760 내지 약 아미노산 764 및 약 아미노산 901 내지 약 아미노산 905의 N-글리코실화 부위; 및 약 아미노산 350 내지 약 아미노산 360의 중성 아연 메탈로펩티타제, 아연-결합 영역 시그너처가 존재하는 것을 입증한다. 클론 DNA59846-1503을 1998년 6월 16일에 ATCC에 기탁하여 ATCC 기탁번호 제 209978 호를 배정받았다.

도 70(서열 191)에 나타낸 전장 서열의 WU-BLAST2 서열 정렬 분석을 이용하는 데이호프 데이터베이스 (버전 35.45 SwissProt 35)의 분석은 PRO1154 아미노산 서열과 데이호프 서열 ABO11097_1, AMPN_HUMAN, RNU76997_1, 159331, GEN14047, HSU62768_1, P_R51281, CET07F10_1, SSU66371_1 및 AMPRE_HUMAN 사이에 상당한 상동성을 보여주었다.

실시예 39: 인간 PRO1244를 코딩하는 cDNA 클론의 단리

상기 실시예 3에 기재된 비공개 신호 서열 조사 연산법을 사용하여 DNA64883-1526을 찾아내었다. 상기 기재된 신호 서열 연산법을 이용하여 LIFESEQ(등록상표) 데이터베이스로부터 Incyte EST 클러스터 제7874호라 명명된 EST 클러스터 서열을 찾아내었다. 그 후에, 존재하는 상동성을 확인하기 위해, 이 EST 클러스터 서열을, 공개 EST 데이터베이스(예를 들어, 진뱅크) 및 비공개 EST 데이터베이스(LIFESEQ(등록상표), Incyte Pharmaceuticals, Palo Alto, CA)를 포함하는 다양한 발현 서열 태그(EST) 데이터베이스와 비교하여 상동성을 조사하였다. 상동성 검색은 컴퓨터 프로그램인 BLAST 또는 BLAST2(Altschul et al., Methods in Enzymology, 266:460-480 (1996))를 이용하여 수행하였다. 공지된 단백질을 코딩하지 않는 70 (또는 몇몇 경우 90) 이상의 블라스트(Blast) 스코어를 갖는 비교물을 클러스터시키고, 프로그램 "phrap" (Phil Green, University of Washington, Seattle, Washington)을 사용하여 컨센서스 DNA 서열로 어셈블리 하였다. 이 어셈블리에는 EST 서열 "DNA18313", "DNA22812" 및 EST 제3202349호 가 포함된다. 이로부터 수득된 컨센서스 서열을 본원에서 DNA56011이라 지칭하였다.

DNA56011 서열과 Incyte EST 제3202349호 사이의 서열 상동성을 고려하여, Incyte EST 클론 제3202349호를 구입하고, cDNA 삽입체를 수득하여 서열 분석하였다. 이 cDNA 삽입체의 서열은 도 71(서열 192)에 나타내었고 본원에서 DNA64883-1526이라 지칭하였다.

DNA64883-1526의 전체 코딩 서열은 도 71(서열 192)에 포함되어 있다. 클론 DNA64883-1526는 뉴클레오티드 위치 9 내지 11의 분명한 번역 개시 부위 및 뉴클레오티드 위치 1014 내지 1016의 정지 신호를 갖는 단일 오픈 리딩 프레임에 포함하였다(도 71). 예상된 폴리펩티드 전구체는 941개의 아미노산으로 이루어진 길이를 갖는다(도 72, 서열 193). 도 72에 나타낸 전장 PRO1244 단백질의 추정 분자량은 약 38,037 달톤이며, pI는 약 9.87이다. 도 72(서열 193)에 나타낸 전장 PRO1244 서열의 분석은 그 위치가 대략 상기 기재된 바와 같은 중요한 폴리펩티드 도메인의 존재를 입증한다. 도 72에 나타낸 전장 PRO1244 폴리펩티드의 분석은 약 아미노산 1 내지 약 아미노산 29의 신호 펩티드; 약 아미노산 183 내지 약 아미노산 205, 약 아미노산 217 내지 약 아미노산 237, 약 아미노산 217 내지 약 아미노산 287 및 약 아미노산 301 내지 약 아미노산 321의 막횡단 도메인; 약 아미노산 71 내지 약 아미노산 75 및 약 아미노산 215 내지 약 아미노산 219의 N-글리코실화 부위; 및 약 아미노산 150 내지 약 아미노산 153의 세포 부착 서열이 존재하는 것을 입증한다. 클론 DNA64883-1526을 1998년 9월 9일에 ATCC에 기탁하여 ATCC 기탁번호 제 203253 호를 배정받았다.

도 72(서열 193)에 나타난 전장 서열의 WU-BLAST2 서열 정렬 분석을 이용하는 데이호프 데이터베이스 (버전 35.45 SwissProt 35)의 분석은 PRO1244 아미노산 서열과 데이호프 서열 AF008554_1, P_485334, G02297, HUMN33S11_1, HUMN33S10_1, YO13_CAEEL, GEN13255, S49758, E70107 및 ERP5_MEDSA 사이에 상당한 상동성을 보여주었다.

실시예 40: 인간 PRO1246을 코딩하는 cDNA 클론의 단리

상기 실시예 3에 기재된 비공개 신호 서열 조사 연산법을 사용하여 DNA64885-1529를 찾아내었다. 상기 기재된 신호 서열 연산법을 이용하여 LIFESEQ(등록상표) 데이터베이스로부터 Incyte EST 클러스터 제56853호라 명명된 EST 클러스터 서열을 찾아내었다. 그 후에, 존재하는 상동성을 확인하기 위해, 이 EST 클러스터 서열을, 공개 EST 데이터베이스 (예를 들어, 진뱅크) 및 비공개 EST 데이터베이스(LIFESEQ(등록상표), Incyte Pharmaceuticals, Palo Alto, CA)를 포함하는 다양한 발현 서열 태그(EST) 데이터베이스와 비교하여 상동성을 조사하였다. 상동성 검색은 컴퓨터 프로그램인 BLAST 또는 BLAST2(Altshul et al., Methods in Enzymology, 266:460-480 (1996))를 이용하여 수행하였다. 공지된 단백질을 코딩하지 않는 70 (또는 몇몇 경우 90) 이상의 블라스트(Blast) 스코어를 갖는 비교물을 클러스터시키고, 프로그램 "phrap" (Phil Green, University of Washington, Seattle, Washington)을 사용하여 컨센서스 DNA 서열로 어셈블리 하였다. 이로부터 수득된 컨센서스 서열을 본원에서 DNA56021이라 지칭하였다.

DNA56021 서열과 Incyte EST 제2481345호 사이의 서열 상동성을 고려하여, Incyte EST 클론 제2481345호를 구입하고, cDNA 삽입체를 수득하여 서열 분석하였다. 이 cDNA 삽입체의 서열은 도 73(서열 194)에 나타내었고 본원에서 DNA64885-1529라 지칭하였다.

DNA64885-1529의 전체 코딩 서열은 도 73(서열 194)에 포함되어 있다. 클론 DNA64885-1529는 뉴클레오티드 위치 119 내지 121의 분명한 번역 개시 부위 및 뉴클레오티드 위치 1727 내지 1729의 정지 신호를 갖는 단일 오픈 리딩 프레임 포함하였다(도 73). 예상된 폴리펩티드 전구체는 536개의 아미노산으로 이루어진 길이를 갖는다(도 74, 서열 195). 도 74에 나타난 전장 PRO1246 단백질의 추정 분자량은 약 61,450 달톤이며, pI는 약 9.17이다. 도 74 (서열 195)에 나타난 전장 PRO1246 서열의 분석은 그 위치가 대략 상기 기재된 바와 같은 중요한 폴리펩티드 도메인의 존재를 입증한다. 도 74에 나타난 전장 PRO1246 폴리펩티드의 분석은 약 아미노산 1 내지 약 아미노산 15의 신호 펩티드; 약 아미노산 108 내지 약 아미노산 112, 약 아미노산 166 내지 약 아미노산 170, 약 아미노산 193 내지 약 아미노산 197, 약 아미노산 262 내지 약 아미노산 266, 약 아미노산 375 내지 약 아미노산 379, 약 아미노산 413 내지 약 아미노산 417 및 약 아미노산 498 내지 약 아미노산 502의 N-글리코실화 부위; 및 약 아미노산 286 내지 약 아미노산 317, 약 아미노산 359 내지 약 아미노산 370 및 약 아미노산 78 내지 약 아미노산 98의 술파타제 단백질 상동성 블록이 존재하는 것을 입증한다. 클론 DNA64885-1529를 1998년 11월 3일에 ATCC에 기탁하여 ATCC 기탁번호 제 203457 호를 배정받았다.

도 74(서열 195)에 나타난 전장 서열의 WU-BLAST2 서열 정렬 분석을 이용하는 데이호프 데이터베이스 (버전 35.45 SwissProt 35)의 분석은 PRO1246 아미노산 서열과 데이호프 서열 P_R51355, CELK09C4-1, BCU44852_1, 1DS_HUMAN, G65169, E64903, ARSA_HUMAN, GL6S_HUMAN, HSARSF_1 및 GEN12648 사이에 상당한 상동성을 보여주었다.

실시예 41: 인간 PRO1274를 코딩하는 cDNA 클론의 단리

Incyte(LIFESEQ(등록상표), Incyte Pharmaceuticals, Palo Alto, CA)의 비공개 데이터베이스 및 진뱅크의 공개 데이터베이스에 대해 BLAST 분석하기 위해 신규 분비 분자인 DNA57700을 사용하였다. 상동성 검색은 컴퓨터 프로그램인 BLAST 또는 BLAST2(Altshul et al., Methods in Enzymology, 266:460-480 (1996))를 이용하여 수행하였다. 공지된 단백질을 코딩하지 않는 70 (또는 몇몇 경우 90) 이상의 블라스트(Blast) 스코어를 갖는 비교물을 클러스터시키고, 프로그램 "phrap" (Phil Green, University of Washington, Seattle, Washington)을 사용하여 컨센서스 DNA 서열로 어셈블리 하였다. 이로부터 수득된 컨센서스 서열을 본원에서 DNA59573이라 지칭하였다.

DNA59573 컨센서스 서열, 및 어셈블리에서 확인된 서열과의 관계를 기초로 하여, 어셈블리의 서열 중 하나를 포함하는 클론 중 하나(Incyte EST 클론 제2623992호)를 구입하고, cDNA 삽입체를 수득하여 서열 분석하였다. Incyte 클론 2623992는 상피성 가슴 각질세포의 RNA로부터 제조된 라이브러리에서 유래한 것이다. 이 cDNA 삽입체의 서열은 도 75(서열 196)에 나타내었고 본원에서 DNA64889-1541이라 지칭하였다.

DNA64889-1541의 전체 코딩 서열은 도 75(서열 196)에 포함되어 있다. 클론 DNA64889-1541는 뉴클레오티드 위치 24 내지 26의 분명한 번역 개시 부위 및 뉴클레오티드 위치 354 내지 356의 정지 신호를 갖는 단일 오픈 리딩 프레임에 포함하였다(도 75). 예상된 폴리펩티드 전구체는 110개의 아미노산으로 이루어진 길이를 갖는다(도 76, 서열 197). 도 76에 나타난 전장 PRO1274 단백질의 추정 분자량은 약 12,363 달톤이며, pI는 약 8.31이다. 도 76(서열 197)에 나타난 전장 PRO1274 서열의 분석은 그 위치가 대략 상기 기재된 바와 같은 중요한 폴리펩티드 도메인의 존재를 입증한다. 도 76에 나타난 전장 PRO1274 폴리펩티드의 분석은 약 아미노산 1 내지 약 아미노산 24의 신호 펩티드; 약 아미노산 71 내지 약 아미노산 75의 N-글리코실화 부위; 약 아미노산 76 내지 약 아미노산 96 및 약 아미노산 42 내지 약 아미노산 61의 인슐린 족 단백질 상동성 블록이 존재하는 것을 입증한다. 클론 DNA64889-1541을 1998년 9월 9일에 ATCC에 기탁하여 ATCC 기탁번호 제 203250 호를 배정받았다.

도 76(서열 197)에 나타난 전장 서열의 WU-BLAST2 서열 정렬 분석을 이용하는 데이호프 데이타베이스(버전 35.45 SwissProt 35)의 분석은 PRO1274 아미노산 서열과 데이호프 서열 CEW05B2_9, AFO16922_1(인슐린-유사 생장 인자 1), B48151, A53640, BTIGF2REC_1(인슐린-유사 생장 인자 2), HSNFIGEN12_1, TXA3RADMA(신경 독소 3), CXM1_CONGE, P_P61301, TXA4_RADMA(신경 독소 4) 사이에 서열 동일성을 보여주었다.

실시예 42: 인간 PRO1274를 코딩하는 cDNA 클론의 단리

상기 실시예 3에 기재된 비공개 신호 서열 조사 연산법을 사용하여 DNA64903-1553을 찾아내었다. 상기 기재된 신호 서열 연산법을 이용하여 LIFESEQ(등록상표) 데이타베이스로부터 Incyte EST 클러스터 제86809호라 명명된 EST 클러스터 서열을 찾아내었다. 그 후에, 존재하는 상동성을 확인하기 위해, 이 EST 클러스터 서열을, 공개 EST 데이타베이스(예를 들어, 진뱅크) 및 비공개 EST 데이타베이스(LIFESEQ(등록상표), Incyte Pharmaceuticals, Palo Alto, CA)를 포함하는 다양한 발현 서열 태그(EST) 데이타베이스와 비교하여 상동성을 조사하였다. 상동성 검색은 컴퓨터 프로그램인 BLAST 또는 BLAST2(Altshul et al., *Methods in Enzymology*, 266:460-480 (1996))를 이용하여 수행하였다. 공지된 단백질을 코딩하지 않는 70(또는 몇몇 경우 90) 이상의 블라스트(Blast) 스코어를 갖는 비교물을 클러스터시키고, 프로그램 "phrap" (Phil Green, University of Washington, Seattle, Washington)을 사용하여 컨센서스 DNA 서열로 어셈블리 하였다. 어셈블리시의 EST는 종양, 세포주 또는 질병 조직으로부터의 EST를 포함하였다. 질병에 걸린 결장 조직의 RNA로부터 제조된 cDNA 라이브러리에서 1개 이상의 EST를 수득하였다. 이로부터 수득된 컨센서스 서열을 본원에서 DNA58822라 지칭하였다.

DNA58822 서열과 Incyte EST 제1695434호 사이의 서열 상동성을 고려하여, Incyte EST 클론 제1695434호를 구입하고, cDNA 삽입체를 수득하여 서열 분석하였다. 이 cDNA 삽입체의 서열은 도 77(서열 198)에 나타내었고 본원에서 DNA64903-1553이라 지칭하였다.

DNA64903-1553의 전체 코딩 서열은 도 77(서열 198)에 포함되어 있다. 클론 DNA64903-1553는 뉴클레오티드 위치 93 내지 95의 분명한 번역 개시 부위 및 뉴클레오티드 위치 372 내지 374의 정지 신호를 갖는 단일 오픈 리딩 프레임에 포함하였다(도 77). 예상된 폴리펩티드 전구체는 93개의 아미노산으로 이루어진 길이를 갖는다(도 78, 서열 199). 도 78에 나타난 전장 PRO1274 단백질의 추정 분자량은 약 10,111 달톤이며, pI는 약 9.70이다. 도 78(서열 199)에 나타난 전장 PRO1274 서열의 분석은 그 위치가 대략 상기 기재된 바와 같은 중요한 폴리펩티드 도메인의 존재를 입증한다. 도 78에 나타난 전장 PRO1274 폴리펩티드의 분석은 약 아미노산 1 내지 약 아미노산 18의 신호 펩티드; 및 약 아미노산 15 내지 약 아미노산 21, 약 아미노산 17 내지 약 아미노산 23, 약 아미노산 19 내지 약 아미노산 25, 약 아미노산 83 내지 약 아미노산 89 및 약 아미노산 86 내지 약 아미노산 92의 N-미리스토일화 부위가 존재하는 것을 입증한다. 클론 DNA64903-1553을 1998년 9월 15일에 ATCC에 기탁하여 ATCC 기탁번호 제 203457 호를 배정받았다.

도 78(서열 199)에 나타난 전장 서열의 WU-BLAST2 서열 정렬 분석을 이용하는 데이호프 데이타베이스(버전 35.45 SwissProt 35)의 분석은 PRO1274 아미노산 서열과 데이호프 서열 SR5C_ARATH, CELC17H12_11, MCPD_ENTAE, JQ2283, INVO_LEMCA, P_R07309, ADEVBCAGN_4, AF020947_1, CELT23H2_1 및 MDH_STRAR 사이에 약간의 상동성을 보여주었다.

실시예 43: 인간 PRO1294를 코딩하는 cDNA 클론의 단리

상기 실시예 3에 기재된 비공개 신호 서열 조사 연산법을 사용하여 DNA64905-1558을 찾아내었다. 상기 기재된 신호 서열 연산법을 이용하여 LIFESEQ(등록상표) 데이타베이스로부터 Incyte EST 클러스터 제10559호라 명명된 EST 클러스터 서열을 찾아내었다. 그 후에, 존재하는 상동성을 확인하기 위해, 이 EST 클러스터 서열을, 공개 EST 데이타베이스

(예를 들어, 진뱅크) 및 비공개 EST 데이터베이스(LIFESEQ(등록상표), Incyte Pharmaceuticals, Palo Alto, CA)를 포함하는 다양한 발현 서열 태그(EST) 데이터베이스와 비교하여 상동성을 조사하였다. 상동성 검색은 컴퓨터 프로그램인 BLAST 또는 BLAST2(Altschul et al., Methods in Enzymology, 266:460-480 (1996))를 이용하여 수행하였다. 공지된 단백질을 코딩하지 않는 70 (또는 몇몇 경우 90) 이상의 블라스트(Blast) 스코어를 갖는 비교물을 클러스터시키고, 프로그램 "phrap" (Phil Green, University of Washington, Seattle, Washington)을 사용하여 컨센서스 DNA 서열로 어셈블리하였다. 이로부터 수득된 컨센서스 서열을 본원에서 DNA57203이라 지칭하였다.

DNA57203 서열과 Incyte EST 제3037763호 사이의 서열 상동성을 고려하여, Incyte EST 클론 제3037763호를 구입하고, cDNA 삽입체를 수득하여 서열 분석하였다. 이 cDNA 삽입체의 서열은 도 79(서열 200)에 나타내었고 본원에서 DNA64905-1558이라 지칭하였다.

DNA64905-1558의 전체 코딩 서열은 도 79(서열 200)에 포함되어 있다. 클론 DNA64905-1558는 뉴클레오티드 위치 110 내지 112의 분명한 번역 개시 부위 및 뉴클레오티드 위치 1328 내지 1330의 정지 신호를 갖는 단일 오픈 리딩 프레임 포함하였다(도 79). 예상된 폴리펩티드 전구체는 406개의 아미노산으로 이루어진 길이를 갖는다(도 80, 서열 201). 도 80에 나타낸 전장 PRO1294 단백질의 추정 분자량은 약 46,038 달톤이며, pI는 약 6.50이다. 도 80(서열 201)에 나타낸 전장 PRO1294 서열의 분석은 그 위치가 대략 상기 기재된 바와 같은 중요한 폴리펩티드 도메인의 존재를 입증한다. 도 80에 나타낸 전장 PRO1294 폴리펩티드의 분석은 약 아미노산 1 내지 약 아미노산 21의 신호 펩티드; 약 아미노산 77 내지 약 아미노산 181 및 약 아미노산 248 내지 약 아미노산 252의 N-글리코실화 부위; 약 아미노산 196 내지 약 아미노산 200의 a cAMP- 및 cGMP-의존성 단백질 키나아제 인산화 부위; 약 아미노산 89 내지 약 아미노산 97의 티로신 키나아제 인산화 부위; 약 아미노산 115 내지 약 아미노산 121, 약 아미노산 152 내지 약 아미노산 158 및 약 아미노산 370 내지 약 아미노산 376의 N-미리스토일화 부위; 및 약 아미노산 122 내지 약 아미노산 126의 아미드화 부위가 존재하는 것을 입증한다. 클론 DNA64905-1558을 1998년 9월 15일에 ATCC에 기탁하여 ATCC 기탁번호 제 203233 호를 배정받았다.

도 80(서열 201)에 나타낸 전장 서열의 WU-BLAST2 서열 정렬 분석을 이용하는 데이호프 데이터베이스 (버전 35.45 SwissProt 35)의 분석은 PRO1294 아미노산 서열과 데이호프 서열 173636, AF028740_1, AB006686S3_1, P_R9822, RNU78105_1, CELC48E7_4, CEF11C3_3, SCP1_MESAU, TPM3_HUMAN 및 CELK05B2_3 사이에 상당한 상동성을 보여주었다.

실시예 44: 인간 PRO1303을 코딩하는 cDNA 클론의 단리

상기 실시예 1에 기재된 phrap을 이용하여 다른 EST 서열에 대해 컨센서스 DNA 서열을 어셈블리하였다. 본원에서 이 컨센서스 서열을 DNA47347이라 명명하였다. DNA47347 컨센서스 서열, 및 상기 DNA47347이 유도된 어셈블리 내의 Incyte EST에 대한 상동체를 기초로 하여, Incyte 클론 1430305를 구입하여 그 전체를 서열 분석하였다. 이로써 PRO1303을 코딩하는 서열을 확인하였다.

DNA65409-1566의 전체 코딩 서열은 도 81(서열 202)에 포함되어 있다. 클론 DNA65409-1566는 뉴클레오티드 위치 121 내지 123의 분명한 번역 개시 부위 및 뉴클레오티드 위치 865 내지 867의 정지 신호를 갖는 단일 오픈 리딩 프레임 포함하였다. 예상된 폴리펩티드 전구체는 248개의 아미노산으로 이루어진 길이를 갖고, 추정 분자량은 약 26,734 달톤이며, pI는 약 7.90이다. 도 82(서열 203)에 나타낸 전장 PRO1303 서열의 분석은 그 위치가 대략 상기 기재된 바와 같은 중요한 폴리펩티드 도메인의 존재를 입증한다. 도 82에 나타낸 전장 PRO1303 폴리펩티드의 분석은 약 아미노산 1 내지 약 아미노산 17의 신호 펩티드; 약 아미노산 24 내지 약 아미노산 28 및 약 아미노산 163 내지 약 아미노산 167의 N-글리코실화 부위; 약 아미노산 58 내지 약 아미노산 64의 세린 프로테아제, 트립신 족, 히스티딘 활성 부위; 약 아미노산 47 내지 약 아미노산 64, 약 아미노산 196 내지 약 아미노산 207 및 약 아미노산 218 내지 약 아미노산 242의 세린 프로테아제, 트립신 족, 히스티딘 활성 도메인; 약 아미노산 194 내지 약 아미노산 207 및 약 아미노산 47 내지 약 아미노산 65의 크링글(kringle) 도메인 단백질 상동성 블록; 및 약 아미노산 220 내지 약 아미노산 248의 애플 도메인이 존재하는 것을 입증한다. 클론 DNA65409-1566을 1998년 9월 15일에 ATCC에 기탁하여 ATCC 기탁번호 제 203232 호를 배정받았다.

도 82(서열 203)에 나타낸 전장 서열의 WU-BLAST2 서열 정렬 분석을 이용하는 데이호프 데이터베이스 (버전 35.45 SwissProt 35)의 분석은 PRO1303 아미노산 서열과 데이호프 서열 AB009849_1, P_W08475, AF024605_1, A42048_1, TRY3_RAT, MMAE00066414, TRY1_RAT, MMAE000663_4, MMAE000665_2 및 MMAE00066412 사이에 서열 동일성을 보여주었다.

실시예 45: 인간 PRO1304를 코딩하는 cDNA 클론의 단리

상기 실시예 1에 기재된 phrap을 이용하여 다른 EST 서열에 대해 컨센서스 DNA 서열을 어셈블리하였다. 본원에서 이 컨센서스 서열을 DNA35745라 명명하였다. DNA35745 컨센서스 서열을 기초로 1) 목적 서열을 함유하는 cDNA 라이브러리를 PCR에 의해 확인하고 2) PRO1304에 대한 전장 코딩 서열의 클론을 단리하는데 프로브로서 사용하기 위해, 올리고뉴클레오티드를 합성하였다.

PCR 프라이머(전방향 및 역방향)를 합성하였다:

전방향 PCR 프라이머(35745.f1):

5'-GTGTTCTGCTGGAGCCGATGCC-3' (서열 206)

전방향 PCR 프라이머(35745.f2):

5'-GACATGGACAATGACAGG-3' (서열 207)

전방향 PCR 프라이머(35745.f3):

5'-CCTTTCAGGATGTAGGAG-3' (서열 208)

전방향 PCR 프라이머(35745.f4):

5'-GATGTCTGCCACCCAAG-3' (서열 209)

역방향 PCR 프라이머(35745.r1):

5'-GCATCCTGATATGACTTGTCACGTGGC-3' (서열 210)

역방향 PCR 프라이머(35745.r2):

5'-TACAAGAGGGAAGAGGAGTTGCAC-3' (서열 211)

추가로, 하기의 뉴클레오티드 서열을 갖는 합성 올리고뉴클레오티드 혼성화 프로브를 DNA35745로부터 제조하였다:

혼성화 프로브(35745.p1):

5'-GCCATTATGACGGCTACCTGGCTAAAGACGGCTCGAAATTCTACTGCAGCC-3' (서열 212)

전장 클론의 공급원에 대해 몇개의 라이브러리를 스크리닝하기 위해 상기 확인한 PCR 프라이머쌍으로의 PCR 증폭에 의해 라이브러리로부터 DNA를 스크리닝하였다. 프로브 올리고뉴클레오티드 및 PCR 프라이머 중의 하나를 사용하여 PRO1304 유전자를 코딩하는 클론을 단리하기 위해 양성 라이브러리를 이용하였다. cDNA 라이브러리 제조용 RNA는 인간 난소 조직으로부터 단리하였다.

상기 기재된 바와 같이 단리된 DNA의 서열 분석을 통해 DNA65406-1567[도 83, 서열 204]에 대한 전장의 DNA 서열 및 그로부터 유도된 PRO1304 단백질 서열을 획득하였다.

DNA65406-1567의 전체 코딩 서열은 도 83(서열 204)에 포함되어 있다. 클론 DNA65406-1567는 뉴클레오티드 위치 23 내지 25의 분명한 번역 개시 부위 및 뉴클레오티드 위치 689 내지 691의 정지 신호를 갖는 단일 오픈 리딩 프레임 포함하였다. 예상된 폴리펩티드 전구체는 222개의 아미노산으로 이루어진 길이를 갖고, 추정 분자량은 약 25,794 달톤이며, pI는 약 6.24가다. 도 84 (서열 205)에 나타난 전장 PRO1304 서열의 분석은 그 위치가 대략 상기 기재된 바와 같은 중요한 폴리펩티드 도메인의 존재를 입증한다. 도 84에 나타난 전장 PRO1304 폴리펩티드의 분석은 약 아미노산 219 내지 약 아미노산 224의 소포체 표적 서열; 약 아미노산 45 내지 약 아미노산 49의 N-글리코실화 부위; 약 아미노산 87 내지 약 아

미노산 124 및 약 아미노산 129 내지 약 아미노산 143의 FKBP-형 펩티딜-프롤릴 시스-트랜스 이소머라제 상동성 블록; 및 약 아미노산 202 내지 약 아미노산 215의 EF-핸드 칼슘-결합 도메인 단백질 상동성 블록이 존재하는 것을 입증한다. 클론 DNA65406-1567을 1998년 9월 15일에 ATCC에 기탁하여 ATCC 기탁번호 제 203219 호를 배정받았다.

도 84(서열 205)에 나타낸 전장 서열의 WU-BLAST2 서열 정렬 분석을 이용하는 데이호프 데이타베이스 (버전 35.45 SwissProt 35)의 분석은 PRO1304 아미노산 서열과 데이호프 서열 AF040252_1, PR28980, S71238, CELC05C8_1, VFU52045_1, S75144, FKB3_BOVIN, CELC50F2_6, CELB0511_12 및 P_R41781 사이에 상당한 상동성을 보여주었다.

또한, Incyte EST 클론 제2813577호의 삽입체를 단리하여 서열 분석함으로써 DNA65406-1567 서열을 획득하였다.

실시예 46: 인간 PRO1312를 코딩하는 cDNA 클론의 단리

효모 스크리닝을 이용하여 인간 태아 신장 cDNA 라이브러리로부터, 바람직하게는 1차 cDNA 클론의 5' 말단을 대표하는 DNA55773을 찾아내었다. DNA55773 서열을 기초로, PRO1312에 대한 전장 코딩 서열의 클론을 단리하는데 프로브로서 사용하기 위해 올리고뉴클레오티드를 합성하였다.

전장 클론[DNA61873-1574]이 뉴클레오티드 위치 7 내지 9의 분명한 번역 개시 부위 및 뉴클레오티드 위치 643 내지 645의 정지 신호를 갖는 단일 오픈 리딩 프레임에 포함됨을 확인하였다(도 85, 서열 213). 예상된 폴리펩티드 전구체는 212개의 아미노산으로 이루어진 길이를 갖고, 계산된 분자량은 약 24,024 달톤이며, pI는 약 6.26이다. 도 86 (서열 214)에 나타낸 전장 PRO1312 서열의 분석은 그 위치가 대략 상기 기재된 바와 같은 중요한 폴리펩티드 도메인의 존재를 입증한다. 도 86에 나타낸 전장 PRO1312 폴리펩티드의 분석은 약 아미노산 1 내지 약 아미노산 14의 신호 펩티드; 약 아미노산 141 내지 약 아미노산 160의 막횡단 도메인; 및 약 아미노산 76 내지 약 아미노산 80 및 약 아미노산 93 내지 약 아미노산 97의 N-글리코실화 부위가 존재하는 것을 입증한다. 클론 DNA61873-1574를 1998년 8월 18일에 ATCC에 기탁하여 ATCC 기탁번호 제 203132 호를 배정받았다.

도 86(서열 214)에 나타낸 전장 서열의 WU-BLAST2 서열 정렬 분석을 이용하는 데이호프 데이타베이스 (버전 35.45 SwissProt 35)의 분석은 PRO1312 아미노산 서열과 데이호프 서열 GCINTALPH_1, GIBMUCIA_1, P_R96298, AF001406_1, PVU88874_1, P_R85151, AF041409_1, CELC50F2_7, C45875 및 AB009510_21 사이에 약간의 상동성을 보여주었다.

실시예 47: 인간 PRO1313을 코딩하는 cDNA 클론의 단리

상기 실시예 1에 기재된 phrap을 이용하여 다른 EST 서열에 대해 컨센서스 DNA 서열을 어셈블리하였다. 본원에서 이 컨센서스 서열을 DNA64876이라 명명하였다. DNA64876 컨센서스 서열, 및 DNA57711이라 명명된 제넨테크의 비공개 EST 서열과의 서열 상동성 검색을 기초로, 머크/워싱턴대(Merck/Washington University) EST 서열(R80613이라 지칭됨)이 DNA64876 및 DNA57711과 상당한 상동성이 있음을 알아내었다. 따라서, 머크/워싱턴대 EST 클론 제R80613호를 구입하여 그 삽입체를 서열 분석함으로써 도 87(서열 215)에 나타낸 DNA64966-1575 서열 및 그로부터 유도된 PRO1313에 대한 단백질 서열을 획득하였다.

DNA64966-1575의 전체 코딩 서열은 도 87(서열 215)에 포함되어 있다. 클론DNA64966-1575는 뉴클레오티드 위치 115 내지 117의 분명한 번역 개시 부위 및 뉴클레오티드 위치 1036 내지 1038의 정지 신호를 갖는 단일 오픈 리딩 프레임을 포함하였다(도 87, 서열 215). 예상된 폴리펩티드 전구체는 307개의 아미노산으로 이루어진 길이를 갖고, 추정 분자량은 약 35,098 달톤이며, pI는 약 8.11이다. 도 88 (서열 216)에 나타낸 전장 PRO1313 서열의 분석은 그 위치가 대략 상기 기재된 바와 같은 중요한 폴리펩티드 도메인의 존재를 입증한다. 도 88에 나타낸 전장 PRO1313 폴리펩티드의 분석은 약 아미노산 106 내지 약 아미노산 121, 약 아미노산 136 내지 약 아미노산 152, 약 아미노산 172 내지 약 아미노산 188, 약 아미노산 230 내지 약 아미노산 245 및 약 아미노산 272 내지 약 아미노산 285의 막횡단 도메인; 약 아미노산 34 내지 약 아미노산 38, 약 아미노산 135 내지 약 아미노산 139 및 약 아미노산 203 내지 약 아미노산 207의 N-글리코실화 부위; 약 아미노산 59 내지 약 아미노산 67의 티로신 키나아제 인산화 부위; 약 아미노산 165 내지 약 아미노산 171, 약 아미노산 196 내지 약 아미노산 202, 약 아미노산 240 내지 약 아미노산 246 및 약 아미노산 247 내지 약 아미노산 253의 N-미리스토일화 부위; 및 약 아미노산 53 내지 약 아미노산 61의 ATP/GTP-결합 부위 모티프 A (P-루프)가 존재하는 것을 입증한다. 클론 DNA64966-1575를 1999년 1월 12일에 ATCC에 기탁하여 ATCC 기탁번호 제 203575 호를 배정받았다.

도 88(서열 216)에 나타난 전장 서열의 WU-BLAST2 서열 정렬 분석을 이용하는 데이호프 데이터베이스 (버전 35.45 SwissProt 35)의 분석은 PRO1313 아미노산 서열과 데이호프 서열 CELT27A1_3, CEF09C6_7, U93688_9, H64896, YDCX_ECOLI 및 RNU06101_1 사이에 상당한 상동성을 보여주었다.

실시예 48: 인간 PRO1376을 코딩하는 cDNA 클론의 단리

머크/위싱턴대 데이터베이스를 검색하여 고유번호 W39620(소아레스(Soares)의 부갑상선 중앙 단백질로 확인됨)으로 서의 서열을 찾아내었다. 이 서열을 다른 서열과 비교될 수 있는 데이터베이스에 넣어 다른 서열들과 정렬하였다.

상기 실시예 1에 기재된 phrap을 이용하여 다른 EST 서열에 대해 컨센서스 DNA 서열을 어셈블리하였다. 본원에서 이 컨센서스 서열을 DNA67221이라 명명하였다.

Merck W39620을 코딩하는 클론을 구입하여 그 전체를 서열 분석하였다. 상기 기재된 바와 같이 단리된 클론의 DNA 서열 분석을 통해 DNA67300-1605[도 89, 서열 217]에 대한 전장의 DNA 서열 및 그로부터 유도된 PRO1376 단백질 서열을 획득하였다.

DNA67300-1605의 전체 코딩 서열은 도 89(서열 217)에 포함되어 있다. 클론 DNA67300-1605는 뉴클레오티드 위치 107 내지 109의 분명한 번역 개시 부위 및 뉴클레오티드 위치 623 내지 625의 정지 신호를 갖는 단일 오픈 리딩 프레임에 포함하였다. 예상된 폴리펩티드 전구체는 172개의 아미노산으로 이루어진 길이를 갖고, 추정 분자량은 약 19,206 달톤이며, pI는 약 5.36이다. 도 90(서열 218)에 나타난 전장 PRO1376 서열의 분석은 그 위치가 대략 상기 기재된 바와 같은 중요한 폴리펩티드 도메인의 존재를 입증한다. 도 90에 나타난 전장 PRO1376 폴리펩티드의 분석은 약 아미노산 1 내지 약 아미노산 23의 신호 펩티드; 및 약 아미노산 58 내지 약 아미노산 75의 티오레독신 족 단백질 동족체 블록이 존재하는 것을 입증한다. 클론 DNA67300-1605를 1998년 8월 25일에 ATCC에 기탁하여 ATCC 기탁번호 제 203163 호를 배정받았다.

도 90(서열 218)에 나타난 전장 서열의 WU-BLAST2 서열 정렬 분석을 이용하는 데이호프 데이터베이스 (버전 35.45 SwissProt 35)의 분석은 PRO1376 아미노산 서열과 데이호프 서열 XAG_XENLA, AF025474_1, NP77_XENLA, D69100, S75124, ER60_SCHMA, H69466, A57254, AB002234_1 및 TATHIORDH_1 사이에 서열 동일성을 보여주었다.

실시예 49: 인간 PRO1387을 코딩하는 cDNA 클론의 단리

상기 실시예 3에 기재된 비공개 신호 서열 조사 연산법을 사용하여 DNA68872-1620을 찾아내었다. 상기 기재된 신호 서열 연산법을 이용하여 LIFESEQ(등록상표) 데이터베이스로부터 Incyte EST 클러스터 제10298호라 명명된 EST 클러스터 서열을 찾아내었다. 그 후에, 존재하는 상동성을 확인하기 위해, 이 EST 클러스터 서열을, 공개 EST 데이터베이스(예를 들어, 진뱅크) 및 비공개 EST 데이터베이스(LIFESEQ(등록상표), Incyte Pharmaceuticals, Palo Alto, CA)를 포함하는 다양한 발현 서열 태그(EST) 데이터베이스와 비교하여 상동성을 조사하였다. 상동성 검색은 컴퓨터 프로그램인 BLAST 또는 BLAST2(Altshul et al., Methods in Enzymology, 266:460-480 (1996))를 이용하여 수행하였다. 공지된 단백질을 코딩하지 않는 70 (또는 몇몇 경우 90) 이상의 블라스트(Blast) 스코어를 갖는 비교물을 클러스터시키고, 프로그램 "phrap" (Phil Green, University of Washington, Seattle, Washington)을 사용하여 컨센서스 DNA 서열로 어셈블리하였다. 이로부터 획득된 컨센서스 서열을 본원에서 DNA39516이라 지칭하였다.

DNA56259 서열과 Incyte EST 클론 제3507924호 사이의 서열 상동성을 고려하여, Incyte EST 클론 제3507924호를 구입하고, cDNA 삽입체를 획득하여 서열 분석하였다. 이 cDNA 삽입체의 서열은 도 91(서열 219)에 나타내었고 본원에서 DNA68872-1620이라 지칭하였다.

DNA68872-1620의 전체 코딩 서열은 도 91(서열 219)에 포함되어 있다. 클론 DNA68872-1620은 뉴클레오티드 위치 85 내지 87의 분명한 번역 개시 부위 및 뉴클레오티드 위치 1267 내지 1269의 정지 신호를 갖는 단일 오픈 리딩 프레임에 포함하였다(도 91). 예상된 폴리펩티드 전구체는 394개의 아미노산으로 이루어진 길이를 갖는다(도 92, 서열 220). 도 92에 나타난 전장 PRO1387 단백질의 추정 분자량은 약 44,339 달톤이며, pI는 약 7.10이다. 도 92(서열 220)에 나타난 전장 PRO1387 서열의 분석은 그 위치가 대략 상기 기재된 바와 같은 중요한 폴리펩티드 도메인의 존재를 입증한다. 도 92에 나타난 전장 PRO1387 폴리펩티드의 분석은 약 아미노산 1 내지 약 아미노산 19의 신호 펩티드; 약 아미노산 275 내지 약 아미노산 296의 막횡단 도메인; 약 아미노산 76 내지 약 아미노산 80, 약 아미노산 231 내지 약 아미노산 235, 약 아미

노산 302 내지 약 아미노산 306, 약 아미노산 307 내지 약 아미노산 311 및 약 아미노산 376 내지 약 아미노산 380의 N-클리코실화 부위; 및 약 아미노산 210 내지 약 아미노산 240 및 약 아미노산 92 내지 약 아미노산 122의 미엘린 P0 단백질 상동성 블록이 존재하는 것을 입증한다. 클론 DNA68872-1620을 1998년 8월 25일에 ATCC에 기탁하여 ATCC 기탁번호 제 203160 호를 배정받았다.

도 92(서열 220)에 나타낸 전장 서열의 WU-BLAST2 서열 정렬 분석을 이용하는 데이호프 데이터베이스 (버전 35.45 SwissProt 35)의 분석은 PRO1387 아미노산 서열과 데이호프 서열 P_W36955, MYPO_HETFR, HS46KDA_1, AF049498_1, MY00_HUMAN, AF030454_1, A53268, SHPTCRA_1, P_W14146 및 GENI2838 사이에 상당한 상동성을 보여주었다.

실시예 50: 인간 PRO1516을 코딩하는 cDNA 클론의 단리

상기 실시예 1에 기재된 phrap을 이용하여 다른 EST 서열에 대해 컨센서스 DNA 서열을 어셈블리하였다. 본원에서 이 컨센서스 서열을 DNA40630이라 명명하였다. DNA40630 컨센서스 서열을 기초로 1) 목적 서열을 함유하는 cDNA 라이브러리를 PCR에 의해 확인하고 2) PRO1516에 대한 전장 코딩 서열의 클론을 단리하는데 프로브로서 사용하기 위해, 올리고뉴클레오티드를 합성하였다.

PCR 프라이머(전방향 및 역방향)를 합성하였다:

전방향 PCR 프라이머(40630.f1):

5'-CTGCCTCCACTGCTCTGTGCTGGG-3' (서열 223)

역방향 PCR 프라이머(40630.r1):

5'-CAGAGCAGTGGATGTTCCCCTGGG-3' (서열 224)

추가로, 하기의 뉴클레오티드 서열을 갖는 합성 올리고뉴클레오티드 혼성화 프로브를 DNA40630으로부터 제조하였다:

혼성화 프로브(40630.p1):

5'-CTGAACAAGATGGTCAAGCAAGTGACTGGGAAAATGCCCATCCTC-3' (서열 225)

전장 클론의 공급원에 대해 몇개의 라이브러리를 스크리닝하기 위해 상기 확인한 PCR 프라이머쌍으로의 PCR 증폭에 의해 라이브러리로부터 DNA를 스크리닝하였다. 프로브 올리고뉴클레오티드 및 PCR 프라이머 중의 하나를 사용하여 PRO1516 유전자를 코딩하는 클론을 단리하기 위해 양성 라이브러리를 이용하였다. cDNA 라이브러리 제조용 RNA는 인간 유방 종양 조직으로부터 단리하였다.

상기 기재된 바와 같이 단리된 DNA의 서열 분석을 통해 DNA76538-1670[도 93, 서열 221]에 대한 전장의 DNA 서열 및 그로부터 유도된 PRO1516 단백질 서열을 획득하였다.

DNA76538-1670의 전체 코딩 서열은 도 93(서열 221)에 포함되어 있다. 클론 DNA76538-1670는 뉴클레오티드 위치 29 내지 31의 분명한 번역 개시 부위 및 뉴클레오티드 위치 377 내지 379의 정지 신호를 갖는 단일 오픈 리딩 프레임 포함하였다. 예상된 폴리펩티드 전구체는 116개의 아미노산으로 이루어진 길이를 갖고, 추정 분자량은 약 12,910 달톤이며, pI는 약 6.41이다. 도 94 (서열 222)에 나타낸 전장 PRO1516 서열의 분석은 그 위치가 대략 상기 기재된 바와 같은 중요한 폴리펩티드 도메인의 존재를 입증한다. 도 94에 나타낸 전장 PRO1516 폴리펩티드의 분석은 약 아미노산 1 내지 약 아미노산 17의 신호 펩티드; 약 아미노산 86 내지 약 아미노산 90의 N-클리코실화 부위; 약 아미노산 20 내지 약 아미노산 26 및 약 아미노산 45 내지 약 아미노산 51의 N-미리스토일화 부위; 및 약 아미노산 63 내지 약 아미노산 71의 포스포리파제 A2 히스티딘 활성 부위가 존재하는 것을 입증한다. 클론 DNA76538-1670을 1998년 10월 6일에 ATCC에 기탁하여 ATCC 기탁번호 제 203313 호를 배정받았다.

도 94(서열 222)에 나타낸 전장 서열의 WU-BLAST2 서열 정렬 분석을 이용하는 데이호프 데이터베이스 (버전 35.45 SwissProt 35)의 분석은 PRO1516 아미노산 서열과 데이호프 서열 : P_R63053, P_R25416, P_R63055, P_P93363, P_R63046, PA2A_VIPAA, P_W58476, GEN 13747, PA2X_HUMAN 및 PA2A_CRODU 사이에 상당한 상동성을 보여주었다.

상기 이외에, 서열 상동성 검색은 DNA40630 컨센서스 서열과 Incyte EST 클론 제1921092호 사이에 상당한 상동성을 보여주었다. 따라서, Incyte EST 클론 제1921092호를 구입하고 삽입체를 수득하여 서열 분석함으로써, 도 93(서열 221)에 나타낸 DNA76538-1670 서열을 수득하였다.

실시예 51: 인간 PRO216을 코딩하는 cDNA 클론의 단리

스위스-프로트(Swiss-Prot) 공개 데이터베이스로부터 약 950개의 공지된 분비형 단백질로부터의 세포외 도메인(ECD) 서열(존재하는 경우 분비 신호 서열 포함)을 사용하여 EST 데이터베이스를 검색하였다. EST 데이터베이스에는 공개 EST 데이터베이스(예를 들면, 진뱅크)와 비공개 데이터베이스(예를 들면, LIFESEQ(등록상표), Incyte Pharmaceuticals, Palo Alto, CA)를 포함한다. 검색은 EST 서열의 6개 프레임 번역에 대한 ECD 단백질 서열의 비교로서 컴퓨터 프로그램 BLAST 또는 BLAST2[Altschul et al., *Methods in Enzymology* 266: 460-480 (1996)]를 이용하여 수행하였다. 공지된 단백질을 코딩하지 않는 70 (또는 몇몇 경우 90) 이상의 블라스트(Blast) 스코어를 갖는 비교물을 클러스터시키고, 프로그램 "phrap" (Phil Green, University of Washington, Seattle, Washington)을 사용하여 컨센서스 DNA 서열로 어셈블리하였다.

DNA33087의 완전한 cDNA 서열은 고유번호 AB000114_1 및 AB009589_1(인간 오스테오모듈린(osteomodulin))로서 진뱅크에 게시되어 있다. 관련은 되어 있지만 아마도 상이한 단백질인 각막 케라틴 슬페이트는 문헌(Funderburgh et al., *J. Biol. Chem.*, 271: 31431-31436 (1996))에 게시되어 있다.

상기 기재된 phrap을 이용하여 다른 EST 서열에 대해 컨센서스 DNA 서열을 어셈블리하였다. 본원에서 이 컨센서스 서열을 DNA28754라 명명하였다. 어떤 경우에는 컨센서스 서열이, 상기 논의된 EST 서열의 공급원을 사용하여 가능한 길게 컨센서스 서열을 확장시키기 위해 BLAST 및 phrap의 반복 주기를 이용하여 확장된중간체 컨센서스 서열로부터 유도된다.

DNA28754 컨센서스 서열을 기초로 1) 목적 서열을 함유하는 cDNA 라이브러리를 PCR에 의해 확인하고 2) PRO216에 대한 전장 코딩 서열의 클론을 단리하는데 프로브로서 사용하기 위해, 올리고뉴클레오티드를 합성하였다. 전방향 및 역방향 PCR 프라이머는 통상 뉴클레오티드 20 내지 30개 범위이며, 종종 약 100 내지 1000 bp 길이의 PCR 산물을 산출하도록 설계한다. 프로브 서열은 통상 40 내지 55 bp 길이이다. 전장 클론의 여러 라이브러리를 스크리닝하기 위해, 상기 문헌(Ausubel et al., *Current Protocols in Molecular Biology*)에 기재된 바와 같이 PCR 프라이머쌍을 사용하여 PCR 증폭에 의해 라이브러리로부터 DNA를 스크리닝하였다. 그 후에, 프로브 올리고뉴클레오티드 및 프라이머 쌍 중 하나를 사용하여 목적 유전자를 코딩하는 클론을 단리하는데 양성 라이브러리를 이용하였다.

PCR 프라이머(전방향 및 역방향)를 합성하였다:

전방향 PCR 프라이머:

5'-TCACGATGATCCTGACAATGC-3' (서열 228)

역방향 PCR 프라이머:

5'-AATAATGAAGGTCAAAGTGCCCTT-3' (서열 229)

추가로, 하기의 뉴클레오티드 서열을 갖는 합성 올리고뉴클레오티드 혼성화 프로브를 DNA28754로부터 제조하였다:

혼성화 프로브:

5'-TGCTCCTTCTTGTCTGGGCTCTCATG-3' (서열 230)

cDNA 라이브러리 제조용 RNA는 인간 태아 신장 조직으로부터 단리하였다. cDNA 클론을 단리하기 위해 사용된 cDNA 라이브러리는, 인비트로젠(Invitrogen, San Diego, CA)과 같은 회사에서 상업적으로 시판하는 시약을 이용하여 표준 방법에 의해 제조하였다. Not I 부위를 함유하는 올리고 dT로 cDNA를 프라이밍시키고, Sal I 헤미키나아제화 어댑터에 평활 말단으로 결합시킨 후, Not I 으로 절단하고, 겔 전기영동에 의해 대략의 크기를 분류한 다음, 적합한 클로닝 벡터(예를 들면, pRKB 또는 pRKD; pRKB5는 Sfi I 부위가 없는 pRK5D의 전구체임; Homles et al., Science, 253:1278-1280 (1991) 참조)의 단일 Xho I 및 Not I 부위에 정해진 방향으로 클로닝하였다.

상기 기재된 바와 같이 단리된 클론의 DNA 서열 분석을 통해 전장 PRO216 폴리펩티드에 대한 전장 DNA 서열(본원에서 DNA33087이라 지칭됨[도 95, 서열 226]) 및 그로부터 유도된 PRO216 폴리펩티드에 대한 단백질 서열을 획득하였다.

상기 확인된 전장 클론은 뉴클레오티드 위치 268 내지 270의 분명한 번역 개시 부위 및 뉴클레오티드 위치 1531 내지 1533의 정지 신호를 갖는 단일 오픈 리딩 프레임(도 95, 서열 226)을 포함하였다. 예상된 폴리펩티드 전구체는 421개의 아미노산으로 이루어진 길이를 갖고, 계산된 분자량은 약 49,492 달톤이며, 추정된 pI는 약 5.51이다. 도 96(서열 227)에 나타낸 전장 PRO216 서열의 분석은 그 위치가 대략 상기 기재된 바와 같은 중요한 폴리펩티드 도메인의 존재를 입증한다. 전장 PRO216 서열(도 96, 서열 227)의 분석은 약 아미노산 113 내지 약 아미노산 117, 약 아미노산 121 내지 약 아미노산 125, 약 아미노산 187 내지 약 아미노산 191, 약 아미노산 242 내지 약 아미노산 246 및 약 아미노산 316 내지 약 아미노산 320의 N-결합 글리코실화 부위; 약 아미노산 268 내지 약 아미노산 275 및 약 아미노산 300 내지 약 아미노산 307의 티로신 키나아제 인산화 부위; 약 아미노산 230 내지 약 아미노산 236의 N-미리스토일화 부위; 및 약 아미노산 146 내지 약 아미노산 168 및 약 아미노산 217 내지 약 아미노산 239의 루이신 지퍼 패턴이 존재하는 것을 입증한다. 클론 DNA33087을 1997년 10월 16일에 ATCC에 기탁하여 ATCC 기탁번호 제 209381 호를 배정받았다.

이 클론은 아이. 오노(I. Ohno)가 1996년 12월 26일 진뱅크에 제출한 인간 오스테오모듈린(AB000114_1) 및 아이. 오노 등이 1997년 12월 5일 진뱅크에 제출한 인간 오스테오모듈린(AB009589_1)과 동일하다.

실시예 52: 신생 심장 비대증의 자극

이 분석법은 PRO 폴리펩티드가 신생 심장의 비대증을 자극하는 능력을 측정하기 위해 고안된 것이다. 1일된 할란 스프라그 돌리 쥐(Harlan Sprague Dawley rat)로부터 심근세포를 획득하였다. 1일째에 DMEM/F12+ 4% FCS로 미리 코팅된 96-웰 플레이트에 세포(7.5×10^4 /ml에서 $180 \mu\text{l}$, 혈청<0.1%, 새로이 단리함)를 가하였다. 2일째, 웰에 시험용 PRO 폴리펩티드를 함유하는 시험 샘플 $20 \mu\text{l}$ 를 직접 가하였다. 추가로 2일이 지난 후에 세포를 크리스탈 바이올렛으로 염색하고, 다음날 가시적으로 스코어를 부여하였다. 배양 조건은 중요하며 5% CO₂를 필요로 한다.

활성 기준: 페닐에프린 1 내지 $100 \mu\text{M}$, PGF-2 알파 0.1 내지 $1.0 \mu\text{M}$, 엔도텔린-1 1 내지 10nM, CT1(LIF) 1 내지 10nM. 이 분석 반응에 Ca 농도가 중요하기 때문에 PBS는 포함되어 있지 않다. 분석 매질에는 DMEM/F12(2.44g의 중탄산염 포함), $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ 트랜스페린, $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ 인슐린, $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ 아프로티닌, 2mmol/L 글루타민, 100U/ml 페니실린 G, $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ 스트렙토마이신이 포함되어 있다. 만니톨(4%)을 함유하는 단백질 완충액은 1/10(0.4%) 및 1/100(0.04%)에서 양성 신호(스코어 3.5)를 나타냈지만, 1/1000(0.004%)에서는 양성 신호를 나타내지 않았다. 따라서, 만니톨을 함유하는 시험 샘플 완충액은 시험하지 않았다. 2차 분석은 조건화된 배지에서 ELISA에 의해 세포로부터 ANP 농도(ng/ml)를 측정하는 것으로 이루어진다. ANP 메시지가 증가되면, 몇 시간 후에 세포로부터 PCR에 의해 이를 측정할 수 있다.

가시적으로 세포 크기를 관찰함으로써 결과를 평가하였다: 스코어가 3.5 이상인 것을 조건화된 배지에 대한 양성 반응으로 생각하고, 스코어가 3.0 이하인 것을 정제된 단백질에 대한 양성 반응으로 생각하였다.

정제된 PRO231, PRO526, PRO713, PRO792, PRO1246 및 PRO1312 폴리펩티드가 신생 심장 비대증을 자극하는지 관찰하고, 이 분석에서의 양성 스코어를 하기 표 4에 나타낸 바와 같이 양성 대조구와 비교하였다.

<표 4>

신생 심장 비대증의 자극

PRO 샘플	농도 (또는 희석)	스코어
PR0231	12.0 μM	3.375
PR0526	1%	3.50
PR0713	10.0nM	3.25
PR0713	10.0nM	3.25
PR0792	1%	4.50
PR01246	1%	3.25
PR01312	85.0nM	3.375

실시에 53: F2a에 의해 유도된 신생 비대증의 증대

이 분석법은 PRO 폴리펩티드가 신생 심장의 비대증을 자극하는 능력을 측정하기 위해 고안된 것이다. 1일된 할란 스프라그 돌리 쥐로부터 심근세포를 수득하였다. 1일째에 DMEM/F12+ 4% FCS로 미리 코팅된 96-웰 플레이트에 세포 (7.5×10^4 /ml에서 $180 \mu\text{l}$, 혈청<0.1%, 새로이 단리함)를 가하였다. 2일째에 시험용 PRO 폴리펩티드를 함유하는 시험 샘플($20 \mu\text{l}$ /웰)을 직접 가하였다. 2일째에 최종농도 10^{-6} M로 PGF($20 \mu\text{l}$ /웰)를 가하였다. 4일째에 세포를 크리스탈 바이올렛으로 염색하고, 5일째에 가지적으로 스코어를 부여하였다. 가지적 스코어는 세포의 크기를 기준으로 한다. 즉, 세포의 크기가 음성 대조구에 비해 증가되지 않으면 0.0의 스코어가 되고, 음성 대조구에 비해 소량 내지 적당히 증가되면 1.0의 스코어가 되며, 세포의 크기가 음성 대조구에 비해 매우 커지면 2.0의 스코어가 된다. 1.0 이상의 스코어를 양성으로 간주한다.

이 분석 반응에 Ca 농도가 중요하기 때문에 PBS는 포함되어 있지 않다. 플레이트는 DMEM/F12 + 4% FCS($200 \mu\text{l}$ /웰)로 코팅되어 있다. 분석용 배지에는 DMEM/F12(2.44g의 중탄산염 포함), $10 \mu\text{g/ml}$ 트렌스페린, $1 \mu\text{g/ml}$ 인슐린, $1 \mu\text{g/ml}$ 아프로티닌, 2mmol/L 글루타민, 100U/ml 페니실린 G, $100 \mu\text{g/ml}$ 스트렙토마이신이 포함되어 있다. 만니톨(4%)을 함유하는 단백질 완충액은 1/10(0.4%) 및 1/100(0.04%)에서 양성 신호(스코어 3.5)를 나타냈지만, 1/1000(0.004%)에서는 양성 신호를 나타내지 않았다. 따라서, 만니톨을 함유하는 시험 샘플 완충액은 시험하지 않았다.

정제된 PRO179, PRO182, PRO195 및 PRO224 폴리펩티드는 상기 방법으로 분석했을 때, 하기 표 5에 나타낸 바와 같이 양성 결과를 나타내었다.

<표 5>

F2a에 의해 유도된 신생 비대증의 증대		
PRO	농도	스코어
PR0179	0.01%	0.0
PR0179	0.10%	0.0
PR0179	1%	1.0
PR0182	0.01%	0.0
PR0182	0.10%	0.0
PR0182	1%	1.0
PR0195	0.01%	0.0
PR0195	0.1%	1.0
PR0195	1%	1.0
PR0224	0.01%	0.0
PR0224	0.10%	0.0
PR0224	1%	1.0

실시에 54: 성체 심장 비대증의 억제

이 분석법은 성체 심장 비대증을 억제하는 능력을 측정하기 위해 고안된 것이다. 심실의 근세포(250g)는 성체 할란 스프라그 돌리 쥐로부터 새로이 단리되어 2000/웰로 $180 \mu\text{l}$ 에 플레이팅되었다. 2일째, PRO 폴리펩티드를 함유하는 시험 샘플

(20 μ l)을 가하였다. 5일째, 세포를 고정시킨 후 염색하였다. 몇 시간 후에 세포로부터 PCR에 의해 ANP 메시지의 증가를 측정하였다. 결과를 세포 크기의 가시적 스코어로 나타내었다. 즉, 0은 억제되지 않은 것이고, -1은 조금 억제된 것이며, -2는 많이 억제된 것이다. 0 미만의 스코어를 양성으로 간주한다. 활성 기준은 양성 대조구로서 0.1mM에서의 페닐에프린(PE)에 상응하는 것이다. 2라는 스코어는 매우 반응성이 강한 것으로 간주된다. 분석용 배지에는 100nM의 인슐린, 0.2% BSA, 5mM 크레아틴, 2mM L-카르니틴, 5mM 타우린, 100U/ml 페니실린 G 및 100 μ g/ml 스트렙토마이신이 보충된, 글루타민이 없는 M199(변형), NaHCO₃, 페놀 레드가 포함되어 있다. 96-웰 플레이트에서 내부의 60개 웰만을 사용하였다. 이들 중에서 6개의 웰은 음성 및 양성(PE) 대조구를 위해 사용되었다. 최초에, 평행한 방향으로 정량 PCR을 수행하여 가시적 스코어 부여 시스템의 상대적인 민감도를 측정하였다. PRO269 및 PRO356은 상기 기재된 성체 심장 비대증의 억제 시험에서 양성 결과를 나타내었다.

실시에 55: 내피 세포 증식의 자극

이 분석법은 PRO 폴리펩티드의 부신 피질 모세혈관 내피세포(ACE)의 성장 자극 능력을 측정하기 위해 고안된 것이다.

소과의 부신 피질 모세혈관 내피 세포(ACE; 1차 배양으로부터 최대 12-14회 패시지)를 100 μ l에 500 세포/웰로 플레이팅하였다. 분석용 배지에는 포도당 농도가 낮은 DMEM, 10% 우태혈청, 2mM 글루타민 및 1X 페니실린/스트렙토마이신/펜지진이 포함되어 있다. 대조구 웰에는 (1)ACE 세포가 없는 것, (2) ACE 세포만 있는 것, (3) ACE 세포 + VEGF(5ng/ml) 및 (4) ACE 세포 + FGF(5ng/ml)가 포함된다. 이후에, 대조구 또는 시험 샘플(100 μ l 부피)를 웰에 가하였다(각각 1%, 0.1% 및 0.01%로 희석). 세포 배양액을 37 $^{\circ}$ C 및 5% CO₂에서 6 내지 7일 동안 배양하였다. 배양 후, 웰에서 배지를 제거하고, 세포를 1X PBS로 세척하였다. 이어서, 산 포스파타제 반응 혼합물(100 μ l: 0.1M 아세트산나트륨, pH 5.5, 0.1% 트리톤 X-100, 10mM p-니트로페닐 포스페이트)을 각 웰에 가하였다. 37 $^{\circ}$ C에서 2시간 동안 배양한 후, 1N NaOH 10 μ l를 가하여 반응을 멈추게 하였다. 405nm의 마이크로플레이트 판독기에서 광학 밀도(OD)를 측정하였다.

PRO 폴리펩티드의 활성은 (1)단지 세포만 있는 배경값, 및 (2) VEGF에 의한 최대 자극에 비해 증식이 몇 배 증가되었는지에 따라 계산하였다(산 포스파타제 활성에 의해 측정된 405nm에서의 OD). 최대 자극에 대한 활성 기준으로서 VEGF(3-10ng/ml) 및 FGF(1-5ng/ml)를 사용하였다. 관찰된 자극이 배경값에 비해 50% 이상인 경우에 분석의 결과를 "양성"으로 간주하였다. 1% 희석된 VEGF(5ng/ml) 대조구는 1.24배 자극하였으며, 1% 희석된 FGB(5ng/ml) 대조구는 1.46배 자극하였다.

하기 표 6에 나타난 바와 같이, PRO179, PRO212, PRO1075, PRO1154, PRO1244, PRO1286 및 PRO1303은 "양성"으로 분석되었다.

<표 6>

내피 세포 증식의 자극		
PRO	농도	자극 증가 배수
PRO179	0.01%	1.16
PRO179	0.10%	1.57
PRO179	1.0%	1.38
PRO212	0.01%	4.08
PRO212	0.10%	4.73
PRO212	1.0%	4.75
PRO1075	0.01%	4.21
PRO1075	0.10%	4.52
PRO1075	1.0%	3.39
PRO1154	0.0017nM	4.63
PRO1154	0.017nM	5.15
PRO1154	0.17nM	5.53
PRO1244	0.67nM	4.60
PRO1244	6.7nM	4.78
PRO1244	67.0nM	5.24
PRO1286	0.5nM	4.61
PRO1286	5.0nM	4.55

PR01303	0.38nM	4.29
PR01303	3.80nM	4.28
PR01303	38.0nM	3.74

실시에 56: 혈관 내피 성장 인자(VEGF) 자극된 내피 세포 성장 증식의 억제

VEGF 자극된 내피 세포의 증식을 억제하는 다양한 PRO 폴리펩티드의 능력을 시험하였다. 구체적으로, 소과의 부신 피질 모세혈관 내피 세포(ACE; 1차 배양으로부터 최대 12-14회 패시지)를 100 μ l에 500 세포/웰로 플레이팅하였다. 분석용 배지에는 포도당 농도가 낮은 DMEM, 10% 우태혈청, 2mM 글루타민 및 1X 페니실린/스트렙토마이신/펄리존이 포함되어 있다. 대조구 웰에는 (1)ACE 세포가 없는 것, (2) ACE 세포만 있는 것, (3) ACE 세포 + 5ng/ml FGF, (4) ACE 세포 + 3ng/ml VEGF, (5) ACE 세포 + 3ng/ml VEGF + 1ng/ml TGF-베타, 및 (6) ACE 세포 + 3ng/ml VEGF가 포함된다. 폴리-His 표지된 PRO 폴리펩티드 시험 샘플(100 μ l 부피)를 웰에 가하였다(각각 1%, 0.1% 및 0.01%로 희석). 세포 배양액을 37 $^{\circ}$ C 및 5% CO₂에서 6 내지 7일 동안 배양하였다. 배양 후, 웰에서 배지를 제거하고, 세포를 1X PBS로 세척하였다. 이어서, 산 포스파타제 반응 혼합물(100 μ l: 0.1M 아세트산나트륨, pH 5.5, 0.1% 트리톤 X-100, 10mM p-니트로페닐 포스페이트)을 각 웰에 가하였다. 37 $^{\circ}$ C에서 2시간 동안 배양한 후, 1N NaOH 10 μ l를 가하여 반응을 멈추게 하였다. 405nm의 마이크로플레이트 판독기에서 광학 밀도(OD)를 측정하였다.

시험 PRO 폴리펩티드의 활성은 자극되지 않은 세포에 대해 VEGF(3ng/ml) 자극된 증식(산 포스파타제 활성에 의해 측정된 405nm에서의 OD)의 억제 비율로서 계산하였다. TGF-베타는 VEGF 자극된 ACE 세포 증식을 70 내지 90% 차단하기 때문에, 1ng/ml에서의 활성 기준으로서 TGF-베타를 사용하였다. 하기 표 7에 나타난 바와 같은 결과는 암 치료시, 및 구체적으로는 종양의 신생혈관 형성 억제시 PRO 폴리펩티드가 유용함을 알게 해준다. 표 7에 기재된 숫자(상대적 억제)는 자극받지 않은 세포에 대해 VEGF 자극된 증식의 억제 비율을 계산하고, 상기 비율을 VEGF 자극된 ACE 세포 증식을 70 내지 90% 차단하는 것으로 알려진 TGF- β 1ng/ml에 의해 얻은 억제율로 나누어 측정된 것이다. PRO 폴리펩티드가 VEGF 자극된 내피 세포 성장을 30% 이상 억제(상대 억제율 30% 이상)시키면, 결과는 양성으로 간주된다.

VEGF 자극된 내피 세포 성장의 억제		
PRO 명칭	PRO 농도	상대 억제율(%)
PR0187	0.01%	91
PR0187	0.10%	82
PR0187	1.0%	44
PR0214	0.01%	48
PR0214	0.10%	91
PR0214	1.0%	94
PR0216	0.01%	96
PR0216	0.10%	81
PR0216	1.0%	31
PR0216	0.01%	104
PR0216	0.10%	93
PR0216	1.0%	50
PR0323	0.01%	59
PR0323	0.10%	93
PR0323	1.0%	91
PR0812	0.025nM	101
PR0812	0.25nM	101
PR0812	2.5nM	96
PR01246	0.007nM	90
PR01246	0.07nM	87
PR01246	0.70nM	60
PR01246	0.007nM	99
PR01246	0.07nM	94
PR01246	0.70nM	73

실시예 57: 내피 세포에서 c-fos의 유도

이 분석법은 PRO 폴리펩티드가 내피 세포에서 c-fos를 유도하는 능력이 있는지 측정하기 위해 고안된 것이다.

생장 배지(GHT가 없는 50% Ham's F12: 낮은 농도의 포도당, 및 글리신이 없는 50% DMEM: NaHCO₃, 1% 글루타민, 10mM HEPES, 10% PBS, 10ng/ml bFGF 포함)가 들어있는 96-웰 마이크로타이터 플레이트에 인간 정맥의 텃줄 정맥 내피 세포(HUVEC, Cell Systems)를 각 웰당 1×10⁴의 세포 밀도로 플레이팅하였다. 플레이팅한 다음날, 생장 배지를 제거하여 세포를 굽기고, 세포를 각 웰당 100μl의 시험 샘플 및 대조구(양성 대조구=생장 배지; 음성 대조구=단백질 32, 완충액=10mM HEPES, 140mM NaCl, 4%(w/v) 만니톨, pH 6.8)로 처리하였다. 5% CO₂ 중의 37°C에서 30분 동안 세포를 배양하였다. 샘플을 제거하고, 하기 기재된 이용되는 시약/완충액을 입수할 수 있는 bDNA 키트의 프로토콜(Chiron Diagnostics, 카탈로그 번호 6005-037)의 1부에 기재된 방법을 수행하였다.

간략히 설명하면, 시험에 필요한 TM 용해 완충액 및 프로브를 제조자에 의해 제공되는 정보를 기초로 계산하였다. 해당된 프로브의 적합한 양을 TM 용해 완충액에 가하였다. 캡처 혼성화 완충액(Capture Hybridization Buffer)을 상온으로 가온하였다. bDNA 스트립을 금속 스트립 홀더에 설치하고, 100μl의 캡처 혼성화 완충액을 필요한 각 b-DNA 웰에 가한 후 30분 이상 인큐베이션하였다. 세포가 있는 시험 플레이트를 인큐베이터에서 꺼낸 후, 진공 매니폴드를 이용하여 배지를 서서히 제거하였다. 프로브가 포함된 100μl의 용해 혼성화 완충액을 피펫으로 마이크로타이터 플레이트의 각 웰에 빠르게 옮겼다. 이어서, 플레이트를 55°C에서 15분 동안 인큐베이션하였다. 플레이트를 인큐베이터에서 꺼내 마이크로타이터 어댑터 헤드에 있는 볼텍스 혼합기에 놓고 #2로 설정하여 1분 동안 볼텍싱하였다. 80μl의 용해물을 분리하여 캡처 혼성화 완충액을 함유하는 bDNA 웰에 가한 후, 피펫을 이용하여 위 아래로 혼합하였다. 플레이트를 53°C에서 16시간 이상 인큐베이션하였다.

그 다음날, bDNA 키트 프로토콜의 2부에 기재된 방법을 수행하였다. 구체적으로, 플레이트를 인큐베이터에서 꺼내 벤치에 놓고 10분 동안 냉각시켰다. 필요한 첨가물의 부피는 제조자에 의해 제공되는 정보를 기초로 계산하였다. 앰플리파이어 농축물을 AL 혼성화 완충액으로 1:100 희석하여 앰플리파이어 워킹 용액(Amplifier Working Solution)을 제조하였다. 혼성화 혼합물을 플레이트로부터 제거하고 워시(Wash) A로 2회 세척하였다. 50μl의 앰플리파이어 워킹 용액을 각 웰에 가하고, 각 웰을 53°C에서 30분 동안 인큐베이션하였다. 이어서, 플레이트를 인큐베이터에서 꺼낸 후, 10분 동안 냉각시켰다. 표지 농축물(40pmole/마리)을 AL 혼성화 완충액으로 1:100 희석하여 표지 프로브 워킹 용액(Label Probe Working Solution)을 제조하였다. 10분간의 냉각기 이후에, 앰플리파이어 혼성화 혼합물을 제거하고, 플레이트를 워시 A로 2회 세척하였다. 50μl의 표지 프로브 워킹 용액을 각 웰에 가하고, 각 웰을 53°C에서 15분 동안 인큐베이션하였다. 10분 동안 냉각시킨 후, 기질(Substrate)을 상온으로 가온시켰다. 분석에 필요한 기질 각각의 ml에 3μl의 기질 증진제(Substrate Enhancer)를 가하고, 플레이트를 10분 동안 냉각시킨 후, 표지 혼성화 혼합물을 제거하고, 플레이트를 워시 A로 2회 및 워시 D로 3회 세척하였다. 증진제가 포함된 50μl의 기질 용액을 각 웰에 가하였다. 플레이트를 37°C에서 30분 동안 인큐베이션하고, 적합한 조도계에서 RLU를 판독하였다.

2회 측정하여 평균을 내었으며, 편차 상수를 측정하였다. 음성 대조구(상기 기재된 바와 같은 단백질 32/HEPES 완충액)의 값에 대해 증가된 배수의 활성 측정은 화학발광 단위(RLU)로 기입하였다. 그 결과는 하기 표 8에 기재되었으며, PRO 폴리펩티드가 음성 대조구에 비해 2배 이상의 값을 나타내는 경우 양성으로 간주한다. 음성 대조구는 1.00% 희석에서 1.00 RLU이고, 양성 대조구는 1.00% 희석에서 8.39 RLU이다.

<표 8a>

내피 세포에서 c-fos의 유도		
PRO 명칭	PRO 농도	RLU 값
PRO287	0.018nM	2.06
PRO287	0.18nM	1.89
PRO287	1.8nM	1.73
PRO287	0.18nM	1.64
PRO287	1.8nM	2.14
PRO538	0.2149nM	1.95

PR0538	2.149nM	2.15
PR0538	21.49nM	1.46
PR0538	0.2149nM	2.38
PR0538	2.149nM	2.42
PR0538	21.49nM	2.84
PR0713	0.022nM	1.95
PR0713	0.22nM	2.17
PR0713	2.2nM	2.13
PR0713	0.022nM	2.66
PR0713	0.22nM	2.52
PR0713	2.2nM	2.69
PR0788	0.29nM	1.23
PR0788	2.9nM	2.65
PR0788	29.0nM	0.93
PR0865	0.027nM	1.98
PR0865	0.27nM	3.09
PR0865	2.7nM	2.90
PR0865	0.027nM	2.88
PR0865	0.27nM	2.19
PR0865	2.7nM	2.64
PR01126	0.029nM	1.94
PR01126	0.29nM	2.33
PR01126	2.9nM	1.81
PR01130	0.6nM	1.89
PR01130	6.0nM	2.04
PR01130	60.0nM	2.06
PR01274	0.365nM	0.86
PR01274	3.65nM	1.14
PR01274	36.5nM	2.11

<표 8b>

내피 세포에서 c-fos의 유도		
PRO 명칭	PRO 농도	RLU 값
PR01274	0.365nM	2.04
PR01274	3.65nM	1.86
PR01274	36.5nM	2.41
PR01294	0.13nM	2.38
PR01294	1.3nM	2.23
PR01294	13.0nM	1.39
PR01294	0.13nM	2.78
PR01294	1.3nM	2.53
PR01294	13.0nM	1.39
PR01304	0.074nM	1.72
PR01304	0.74nM	2.08
PR01304	7.4nM	1.41
PR01304	0.074nM	2.66
PR01304	0.74nM	1.75
PR01304	7.4nM	1.45
PR01376	0.86nM	1.41
PR01376	8.6nM	2.20
PR01376	86.0nM	5.59
PR01376	0.86nM	1.43
PR01376	8.6nM	2.28

PR01376	86.0nM	1.49
PR01387	0.1nM	2.19
PR01387	1.0nM	1.81
PR01387	10.0nM	2.45

실시에 58: 인간 정맥 내피 세포 Ca 흐름 분석

이 분석법은 PRO 폴리펩티드가 인간 태줄 정맥 내피 세포(HUVEC, Cell Systems)에서 칼슘 흐름을 자극하는 능력이 있는지 보여주기 위해 고안된 것이다. Ca 흐름은 특정 리간드가 그의 수용체에 결합시 잘 나타나는 반응이다. 본 Ca 흐름 분석에서 양성 반응을 나타내는 시험 화합물은 특정 수용체에 결합하여 인간 내피 세포에서 생물학적 신호전달 경로를 활성화시킨다고 할 수 있다. 결국, 이는 세포 분열, 세포 증식의 억제, 내피 세포관 형성, 세포 이동 및 아팍토시스 등을 초래하게 된다.

생장 배지(글리신 없이 50:50%, 1% 글루타민, 10mM HEPES, 10% FBS, 10ng/ml bFGF)가 들어있는 96-웰 마이크로 타이터 뷰 플레이트-96(Packard Instrument Company Part#6005182)에 인간 정맥의 태줄 정맥 내피 세포(HUVEC, Cell Systems)를 각 웰당 2×10^4 의 세포 밀도로 플레이팅하였다. 플레이팅한 다음날, 세포를 완충액(HBSS + 10mM HEPES)으로 3회 세척하고, 각 웰당 100 μ l를 남겼다. 이어서, 각 웰당 100 μ l의 8 μ M Fluo-3 (2X)를 가하였다. 세포를 37 $^{\circ}$ C 및 5% CO₂에서 1.5시간 동안 배양하였다. 배양 후, 세포를 완충액(상기 기재됨)으로 3회 세척하고, 각 웰당 100 μ l를 남겼다. PRO 폴리펩티드의 시험 샘플을 5배 농도의 완충액이 들어있는 다른 96-웰 플레이트에 준비하였다. 양성 대조구는 50 μ M 이노마이신(5X)에 상응하며, 음성 대조구는 단백질 32에 상응한다. 세포 플레이트 및 샘플 플레이트를 FLIPR(Molecular Devices) 기계에서 구동시켰다. FLIPR 기계에 세포당 25 μ l의 시험 샘플을 가하고, 1분 동안 매초 단위로 판독한 후, 이후의 3분 동안 매 3초 단위로 판독하였다.

곡선의 기준선으로부터 최대 증가치까지의 형광 변화(Δ 변화)를 계산하고, 2회 계산치를 평균내었다. 형광 증가 비율을 모니터링하여, 1000을 초과하며 60초 내에 증가되는 Δ 변화를 양성으로 간주하였다. 하기의 표 9에서, 결과는 양성 대조구에 대한 값으로 표현되었다.

<표 9>

인간 정맥 내피 세포 Ca 흐름 분석		
PRO 명칭	PRO 농도	상대적 형광 Δ
PR0179	0.01%	1.0
PR0179	0.10%	1.0
PR0179	10.0%	3.0
PR0179	0.01%	1.0
PR0179	0.10%	1.0
PR0179	10.0%	3.0
PR0245	0.093nM	1.0
PR0245	0.93nM	1.0
PR0245	9.3nM	2.0
PR0771	0.075nM	1.0
PR0771	0.75nM	1.0
PR0771	7.5nM	2.0
PR01313	0.611nM	1.0
PR01313	6.11nM	1.0
PR01313	61.1nM	4.0
PR01313	0.611nM	1.0
PR01313	6.11nM	1.0
PR01313	61.1nM	3.0
PR01376	0.86nM	1.0
PR01376	8.6nM	1.0

PR01376	86.0nM	2.0
PR01376	0.86nM	1.0
PR01376	8.6nM	1.0
PR01376	86.0nM	2.0
PR01561	0.023nM	1.0
PR01561	0.23nM	1.0
PR01561	23.0nM	2.0

실시에 59: 내피 세포 아팍토시스의 유도

인간 정맥의 탯줄 정맥 내피 세포(HUVEC, Cell Systems)에서 PRO 폴리펩티드가 내피 세포에서 아팍토시스를 유도하는 능력을 시험하였다.

상기 세포를 10% 혈청(CSG-배지, Cell Systems)이 포함된 96-웰 마이크로타이터 플레이트(Amersham Life Science, 싸이토스타(cytostar)-T 섬광 마이크로플레이트, RPNQ160, 멸균, 조직 배양용 처리, 날개로 포장됨)에 각 웰당 2×10^4 의 세포 밀도로 총 $100 \mu\text{l}$ 에 플레이팅하였다. 2일째, PRO 폴리펩티드를 함유하는 시험 샘플을 3개의 희석액(1%, 0.33% 및 0.11%)으로 가하였다. 세포가 없는 웰을 블랭크로 사용하고, 세포만 있는 웰을 음성 대조구로 사용하였다. 양성 대조구로서 스타우로스포린 3X 원액 $50 \mu\text{l}$ 의 1:3 연속 희석액을 사용하였다. 안넥신(Annexin) V, 다수의 칼슘 및 지질 결합 단백질의 검출을 위해 96 웰 플레이트를 처리함으로써, PRO 폴리펩티드가 아팍토시스를 유도하는 능력을 측정하였다.

0.2ml의 안넥신 V-바이오틴 원액($100 \mu\text{g/ml}$)을 4.6ml의 2X Ca^{2+} 결합 완충액 및 2.5% BSA 중에 희석하였다(1:25 희석). $50 \mu\text{l}$ 의 희석된 안넥신 V-바이오틴 용액을 각 웰(대조구 제외)에 가하여 최종 농도가 $1.0 \mu\text{g/ml}$ 이 되게 하였다. 샘플을 안넥신-바이오틴과 함께 10 내지 15분 동안 인큐베이션한 후, 직접 ^{35}S -스트렙타비딘을 가하였다. ^{35}S -스트렙타비딘을 2X Ca^{2+} 결합 완충액 및 2.5% BSA로 희석하고, 모든 웰에 최종 농도가 $3 \times 10^4 \text{cpm/웰}$ 이 되도록 가하였다. 이어서, 플레이트를 밀봉하고 1000rpm에서 15분 동안 원심분리한 후, 레토 진탕기에 2시간 동안 놓아 두었다. 1450 마이크로베타 트리룩스(Micorbeta Trilux; Wallac)에서 분석을 수행하였다. 배경값을 초과하는 비율은 음성 대조구를 초과하는 분당 계수량의 비율을 나타낸다. 배경값보다 크거나 배경값의 30% 초과치와 동일한 비율을 양성으로 간주한다. PRO178, PRO179, PRO188, PRO217, PRO261, PRO301, PRO538 및 PRO719가 상기 기재된 분석에서 양성의 결과를 나타냈다(유도된 내피 세포 아팍토시스).

실시에 60: 내피 세포 아팍토시스의 유도 (ELISA)

96-웰 포맷을 이용하여, 100ng/ml의 VEGF, 0.1% BSA, 1X 페니실린/스트렙토마이신이 보충된 0% 혈청 배지 중의 인간 정맥의 탯줄 정맥 내피 세포(HUVEC, Cell Systems)에서 PRO 폴리펩티드가 내피 세포에서 아팍토시스를 유도하는 능력을 시험하였다. 사용된 96-웰 플레이트는 팔콘(Falcon, No.3072)에서 제조하였다. 96-웰 플레이트의 코팅은 PBS 용액 중의 0.2% 젤라틴 $100 \mu\text{l}$ 로 30분이 넘게 젤라틴화가 일어나도록 하여 제조하였다. 젤라틴 혼합물을 흡입 제거한 후에 10% 혈청 함유 배지 중 최종 농도 2×10^4 세포/ml의 HUVE 세포(웰당 $100 \mu\text{l}$ 부피)를 플레이팅하였다. 세포를 24시간 동안 배양한 후, 목적 PRO 폴리펩티드를 함유하는 시험 샘플을 가하였다.

100ng/ml의 VEGF, 0.1% BSA, 1X 페니실린/스트렙토마이신이 보충된 0% 혈청 배지(Cell Systems) $100 \mu\text{l}$ 를 모든 웰에 가하였다. PRO 폴리펩티드를 함유하는 시험 샘플을 3개의 희석액(1%, 0.33% 및 0.11%)으로 가하였다. 세포가 없는 웰을 블랭크로 사용하고, 세포만 있는 웰을 음성 대조구로 사용하였다. 양성 대조구로서 스타우로스포린 3X 원액 $50 \mu\text{l}$ 의 1:3 연속 희석액을 사용하였다. 세포를 24 내지 35시간 동안 배양한 후 ELISA를 수행하였다.

베링거 매뉴얼[Boehringer, 세포 사멸 검출 ELISA 플러스, 카탈로그 번호 1 920 685]에 따라 용액을 제조하여 아팍토시스의 정도를 측정하기 위해 ELISA를 이용하였다. 샘플 제조: 96 웰 플레이트를 1000rpm으로 10분 동안 원심분리(200g)하고, 빠르게 거꾸로 뒤집어 상층액을 제거한 후, 종이 타올위에 플레이트를 거꾸로 뒤집은 상태로 방치하여 남아있는 용액을 제거하였다. 각각의 웰에 $200 \mu\text{l}$ 의 1X 용해 완충액을 가하고, 진탕시키지 않으면서 상온에서 30분 동안 인큐베이션하였다. 플레이트를 1000rpm으로 10분 동안 원심분리하고, $20 \mu\text{l}$ 의 용해액(세포질 분획)을 스트렙타비딘 코팅된 MTP로 옮겼다. $80 \mu\text{l}$ 의 면역시약 혼합물을 각 웰의 $20 \mu\text{l}$ 용해액에 가하였다. MTP를 접착성 호일로 덮은 후, 회전 진탕기(200rpm)에 놓고 상온에서 2시간 동안 인큐베이션하였다. 2시간 후, 흡입으로 상층액을 제거하고, 각 웰당 $250 \mu\text{l}$ 의 1X

인큐베이션 완충액을 사용하여 웰을 3회 세정(흡입에 의해 제거)하였다. 기질 용액(100 μ l)을 각 웰에 가하고, 분광계를 통한 분석이 충분하도록 발색될 때까지(대략 10 내지 20분 후) 상온에서 250rpm의 회전 진탕기에서 인큐베이션하였다. 96 웰 판독기를 사용하여 492nm를 기준 파장으로 405nm에서 판독하였다. PIN32(대조구 완충액)에 대해 얻어진 값을 100%로 설정하였다. 130%를 초과하는 샘플을 아팍토시스 유도에 대한 양성 반응으로 간주하였다. PRO172 및 PRO235가 상기 기재된 ELISA 분석에 의해 측정된 바와 같이 양성으로 나타났다.

실시예 61: 내피 세포 아팍토시스의 검출 (FACS)

패시지가 10회를 넘지 않은 HUVE 세포를 이용하여 젤라틴화된 T175 플라스크 중 인간 정맥의 텃줄 정맥 내피 세포(HUVEC, Cell Systems)에서 PRO 폴리펩티드가 내피 세포에서 아팍토시스를 유도하는 능력을 시험하였다. 1일째, 세포를 분리[젤라틴화된 6cm 접시당 420,000개의 세포-(11 \times 10³세포/cm² 팔콘, Pharmacia)]하고, 혈청을 함유하는 배지(CS-C, Cell Systems)에서 밤새 또는 16시간 내지 24시간 동안 배양하였다.

2일째, 세포를 5ml PBS로 1회 세척하고, 3ml의 0% 혈청 배지를 VEGF (100ng/ml)와 함께 가한 후, 30 μ l의 PRO 시험 화합물(최종 희석 1%)을 가하였다. 세포, 배지 및 시험 PRO 화합물을 함유하는 혼합물을 48시간 동안 배양한 후 수확하였다.

이어서, 세포를 FACS로 분석하였다. 배지를 흡입 제거하고, 세포를 PBS로 1회 세척하였다. 5ml의 1X 트립신을 T-175 플라스크 중의 세포에 가한 후, 세포가 플레이트로부터 떨어질 때까지(약 5 내지 10분) 놓아 두었다. 5ml의 생장 배지를 가하여 트립신 처리를 멈추었다. 세포를 4 $^{\circ}$ C에서 1000rpm으로 5분 동안 원심분리하였다. 배지를 흡입 제거하고, 세포를 10ml의 10% 혈청 보충 배지(Cell Systems)에 재현탁한 후, 5 μ l의 안넥신-FITC(BioVision)을 가하고, 냉각된 튜브로 FACS를 수행하였다.

PRO331 및 PRO364가 상기 기재된 분석에서 양성 결과를 나타냈다.

실시예 62: 원래 위치에서의 혼성화

원래 위치에서의 혼성화는 세포 및 조직 표본 내의 핵산 서열을 검출하고 위치를 파악하게 하는 강력한 다용도 기술이다. 예를 들어, 유전자 발현 부위의 확인, 전사되는 조직의 분포, 바이러스 감염 확인 및 그 위치 파악, 특정 mRNA 합성에 따른 변화, 및 염색체 지도화를 돕는데 유용할 수 있다.

PCR-생성 ³³P-표지 리보프로브를 이용하여 문헌(Lu and Gillett, Cell Vision 1:169-176 (1994))의 최적 버전 프로토콜로 원래 위치에서의 혼성화를 수행하였다. 요컨대, 포르말린으로 고정되어 파라핀에 묻힌 인간 조직을 절단하고, 탈파라핀화한 후, 37 $^{\circ}$ C에서 15분 동안 단백질 분해효소 K(20g/ml)로 탈단백질화하고, 상기 문헌(Lu and Gillett)에 기재된 바와 같이 원래 위치에서의 혼성화로 추가 처리하였다. PCR 생성물로부터 [³³P]-UTP로 표지된 안티센스 리보프로브를 생성하고 55 $^{\circ}$ C에서 밤새 혼성화하였다. 상기 슬라이드를 코닥(Kodak) NTB2 핵 트랙 에멀전(nuclear track emulsion) 중에 담그고 4주 동안 노출시켰다.

³³P-리보프로브 합성

³³P-UTP(Amersham BF 1002, SA < 2000Ci/mmol) 6.0 μ l(125mCi)를 고속 진공기(speed vac)에서 건조시켰다. 건조된 ³³P-UTP를 포함하는 각 튜브에 하기 성분을 가하였다.

2.0 μ l 5x 전사 완충액

1.0 μ l DTT (100mM)

2.0 μ l NTP 혼합물 (2.5mM: 각각 10mM인 GTP, CTP 및 ATP 10 μ l + 10 μ l H₂O)

1.0 μ l UTP (50 μ M)

1.0 μ l RNAsin

1.0 μ l DNA 주형 (1 μ g)

1.0 μ l H₂O

1.0 μ l RNA 중합효소 (PCR 생성물의 경우에 통상 T3 = AS, T7 = S)

37°C에서 1시간 동안 상기 튜브를 인큐베이션하였다. RQ1 DNase 1.0 μ l를 가한 후에 37°C에서 15분 동안 인큐베이션하였다. TE(10mM Tris(pH 7.6) 및 1mM EDTA(pH 8.0)) 90 μ l를 가하고, 피펫으로 상기 혼합물을 DE81 페이퍼에 가하였다. 마이크로콘(Microcon)-50 초미세여과 유닛에 잔류 용액을 로딩하고 프로그램 10을 이용하여 6분 동안 회전시켰다. 제2 튜브 위에 여과 유닛을 거꾸로 올려놓고 프로그램 2를 이용하여 3분 동안 회전시켰다. 최종 회수하기 전에, TE 100 μ l를 가하였다. DE81 페이퍼 상에 최종 생성물 1 μ l를 피펫으로 가하고 6ml의 바이오플라워(Bioflour) II로 계수하였다.

TBE 및 요소 겔 상에 프로브를 전기영동하였다. 3 μ l의 로딩 완충액에 1 내지 3 μ l의 프로브 또는 5 μ l의 RNA Mrk III를 가하였다. 37°C 가열 블록(heat block)에서 3분 동안 가열한 후에, 즉시 겔을 얼음에 놓았다. 겔의 웰을 세척한 후, 샘플을 로딩하고 180 내지 250볼트에서 45분 동안 전기영동하였다. 사란(saran) 랩으로 겔을 싸고, 이를 -70°C 냉동고에서 1시간 내지 밤새의 시간 동안 신호 증강 스크린 상에서 XAR 필름에 노출시켰다.

³³P-혼성화

A. 동결 단편의 예비처리

냉동고로부터 슬라이드를 꺼내 알루미늄 트레이에 놓고 상온에서 5분 동안 해동시켰다. 응축 감소를 위해, 트레이를 55°C 배양기에 5분 동안 놓아 두었다. 발연 후드(fume hood) 내의 얼음 상 4% 파라포름알데히드 중에서 10분 동안 슬라이드를 고정시키고, 상온에서 0.5x SSC(25ml 20x SSC + 975ml SQ H₂O)로 5분 동안 세척하였다. 단백질 분해효소 K 0.5 μ g/ml로 37°C에서 10분 동안 탈단백질화 후에(예열된, RNase가 없는 RNase 완충액 250ml 중의 10mg/ml 원액 12.5 μ l), 상온에서 10분 동안 0.5x SSC로 단편을 세척하였다. 70%, 95%, 100% 에탄올 중에서 각각 2분 동안 단편을 탈수화하였다.

B. 파라핀에 묻힌 절편의 예비처리

슬라이드를 탈파라핀화하고 SQ H₂O 중에 놓고 상온에서 2x SSC로 5분씩 2회 세척하였다. 인간 배(embryo)의 경우 단백질분해효소 K(RNase가 없는 RNase 완충액 250ml 중의 10mg/ml 용액 500 μ l, 37°C, 15분) 20 μ l/ml 중에서, 또는 포르말린 조직의 경우 8x 단백질분해효소 K(RNase 완충액 250ml 중의 100 μ l, 37°C, 30분) 중에서 절편을 탈단백질화하였다. 그 후에, 상기 기재된 바와 같이 0.5x SSC로 세척하고 탈단백질화를 수행하였다.

C. 예비혼성화

박스(Box) 완충액(4x SSC, 50% 포름아미드)으로 포획된 여과지에 의해 구획이 나뉜 플라스틱 상자에 슬라이드를 놓았다. 50 μ l 혼성화 완충액(텍스트란 설페이트 3.75g + SQ H₂O 6ml)을 조직 시료에 넣고 볼텍싱 후, 뚜껑을 느슨하게 한 상태로 2분 동안 극초단파로 가열하였다. 얼음에서 냉각한 후에, 포름아미드 18.75ml, 20x SSC 3.75ml 및 SQ H₂O 9ml를 가하고 조직을 잘 볼텍싱한 후, 42°C에서 1내지 4시간 동안 인큐베이션하였다.

D. 혼성화

슬라이드 당 1.0 x 10⁶cpm의 프로브 및 tRNA(50mg/ml 원액) 1.0 μ l를 95°C에서 3분 동안 가열하였다. 얼음에서 상기 슬라이드를 냉각하고, 슬라이드 당 혼성화 완충액 48 μ l를 가하였다. 볼텍싱한 후에, 슬라이드 상의 예비혼성화 시료 50 μ l에 ³³P 혼합물 50 μ l를 가하였다. 55°C에서 밤새 이 슬라이드를 배양하였다.

E. 세척

상온에서 2x SSC, EDTA로 10분씩 2회 세척한 후에(20x SSC 400ml + 0.25M EDTA 16ml, 최종 부피=4L), 37°C에서 30분 동안 RNase A로 처리하였다(RNase 완충액 250ml 중 10mg/ml 농도의 RNase 500 μ l = 20 μ g/ml). 상온에서 2x SSC, EDTA로 10분씩 2회 슬라이드를 세척하였다. 엄격한 세척 조건은 하기와 같다: 55°C, 0.1x SSC 및 EDTA에서 2시간(20x SSC 20ml + EDTA 16ml, 최종 부피 = 4L).

F. 올리고뉴클레오티드

본원에 개시된 12개의 DNA 서열에 대해 원래 위치에서의 분석을 수행하였다. 이러한 분석에 사용된 올리고뉴클레오티드는 하기와 같다:

(1) DNA23339-1130 (PRO178)

p1: 5'-GGA TTC TAA TAC GAC TCA CTA TAG GGC CAC GGG CGC TGT GTG CTG GAG-3' (서열 231)

p2: 5'-CTA TGA AAT TAA CCC TCA CTA AAG GGA TGG TGG GGA CCG CAG GGT GAC-3' (서열 232)

p3: 5'-GGA TTC TAA TAC GAC TCA CTA TAG GGC CCG CCA CGA GGA GCT GTT ACG-3' (서열 233)

p4: 5'-CTA TGA AAT TAA CCC TCA CTA AAG GGA TGA CCT GCA GGC ATG GGA GAA-3' (서열 234)

p5: 5'-GGA TTC TAA TAC GAC TCA CTA TAG GGC GGC CGC CAC GAG GAG CTG TTA-3' (서열 235)

p6: 5'-CTA TGA AAT TAA CCC TCA CTA AAG GGA GGG GCT CTG GGG CTG GGT C-3' (서열 236)

(2) DNA28497-1130 (PRO188)

p1: 5'-GGA TTC TAA TAC GAC TCA CTA TAG GGC CAA CAC CAA GGG GCA AGA TG-3' (서열 237)

p2: 5'-CTA TGA AAT TAA CCC TCA CTA AAG GGA GGG CTT TTG GTG GGA GAA GTT-3' (서열 238)

(3) DNA30942-1134 (PRO212)

p1: 5'-GGA TTC TAA TAC GAC TCA CTA TAG GGC TCG CTG CTG TGC CTG GTG TTG-3' (서열 239)

p2: 5'-CTA TGA AAT TAA CCC TCA CTA AAG GGA CCG CTG CAG CCT CTT GAT GGA-3' (서열 240)

(4) DNA32286-1191 (PRO214)

p1: 5'-GGA TTC TAA TAC GAC TCA CTA TAG GGC CCC TCC TGC CTT CCC TGT CC-3' (서열 241)

p2: 5'-CTA TGA AAT TAA CCC TCA CTA AAG GGA GTG GTG GCC GCG ATT ATC TGC-3' (서열 242)

(5) DNA33094-1131 (PRO217)

p1: 5'-GGA TTC TAA TAC GAC TCA CTA TAG GGC TCA GAA AAG CGC AAC AGA GAA-3' (서열 243)

p2: 5'-CTA TGA AAT TAA CCC TCA CTA AAG GGA TGT CTT CCA TGC CAA CCT TC-3' (서열 244)

(6) DNA33221-1133 (PRO224)

p1: 5'-GGA TTC TAA TAC GAC TCA CTA TAG GGC GCA GCG ATG GCA GCG ATG AGG-3' (서열 245)

p2 : 5'-CTA TGA AAT TAA CCC TCA CTA AAG GGA CAG ACG GGG CAG CAG GGAGTG-3' (서열 246)

(7) DNA35638-1141 (PR0245)

p1: 5'-GGA TTC TAA TAC GAC TCA CTA TAG GGC GGG AAG ATG GCG AGG AGG AG-3' (서열 247)

p2: 5'-CTA TGA AAT TAA CCC TCA CTA AAG GGA CCA AGG CCA CAA ACG GAA ATC-3' (서열 248)

(8) DNA33473-1176 (PR0261)

p1 : 5'-GGA TTC TAA TAC GAC TCA CTA TAG GGC GCG AGG ACG GCG GCT TCA-3' (서열 249)

p2: 5'-CTA TGA AAT TAA CCC TCA CTA AAG GGA AGA GTC GCG GCC GCC CTT TTT-3' (서열 250)

(9) DNA40628-1216 (PR0301)

p1: 5'-GGA TTC TAA TAC GAC TCA CTA TAG GGC GAG TCC TTC GGC GGC TGT T-3' (서열 251)

p2: 5'-CTA TGA AAT TAA CCC TCA CTA AAG GGA CGG GTG CTT TTG GGA TTC GTA-3' (서열 252)

(10) DNA47365-1206 (PR0364)

p1: 5'-GGA TTC TAA TAC GAC TCA CTA TAG GGC AAC CCG AGC ATG GCA CAG CAC-3' (서열 253)

p2: 5'-CTA TGA AAT TAA CCC TCA CTA AAG GGA TCT CCC AGC CGC CCC TTC TC-3' (서열 254)

(11) DNA29101-1122 (PR0713)

p1: 5'-GGA TTC TAA TAC GAC TCA CTA TAG GGC GGC GGA ATC CAA CCT GAG TAG-3' (서열 255)

p2: 5'-CTA TGA AAT TAA CCC TCA CTA AAG GGA GCG GCT ATC CTC CTG TGC TC-3' (서열 256)

(12) DNA33087 (PRO216)

p1: 5'-GGA TTC TAA TAC GAC TCA CTA TAG GGC CCC GAG TGT TTT CCA AGA-3' (서열 257)

p2: 5'-CTA TGA AAT TAA CCC TCA CTA AAG GGA CAA GTT TAC TAG CCC ATC CAT-3' (서열 258)

p3: 5'-GGA TTC TAA TAC GAC TCA CTA TAG GGC TGG ATG GGC TAG TAA ACT TGA-3' (서열 259)

p4: 5'-CTA TGA AAT TAA CCC TCA CTA AAG GGA CCC TTC TGC TCC TTC TTG TT-3' (서열 260)

G. 결과

본원에 개시된 상기 12개의 DNA 서열에 대해 원래 위치에서의 분석을 수행하였다. 상기 분석으로부터의 결과는 하기와 같다:

(1) DNA23339-1130 (PRO178)

태아 하부 사지 중 골격근 및 뼈(원시성 골막) 사이의 연결 조직 경계면에서 독특한 발현 패턴이 관찰되었다. 또한, 발현은 혈관 조직 주변에서도 관찰되었으며, 따라서 신생혈관 형성과 연계될 가능성이 있다. 하부 사지의 발현과 유사한 발현 패턴이 체벽에서 관찰되었다. 도관의 평활근에서도 발현이 관찰되었다. 또한, 소장 및 위의 평활근/연결 조직의 고유판에서 발현이 관찰되었다. 인대 혈관 평활근도 양성이었다. 발생중인 사지, 장 및 체벽에서의 고도로 조직화된 발현 패턴은 이들 부위에 독특한 기능이 있음을 시사한다. 가능한 기능으로는 신생혈관 형성 및 분화가 포함될 수 있다.

태아 흉선의 골수 및 태아 뇌의 피질(피질 뉴런)에서 어느정도 증가된 발현이 나타난다. 하기의 태아 조직은 양성 결과가 나타나지 않았다: 척수, 갑상선, 부신, 간 및 태반.

조사된 모든 성인 조직에서는 음성이었다.

(2) DNA28497-1130 (PRO188)

태아 하부 사지 중, 골세포 및 발생중인 뼈의 골막/연골막의 내연골 형성 부위에서 높은 수준의 발현이 관찰되었다. 이 분포는 뼈 형성/분화에서의 기능을 시사한다. 갑상선 상피세포에서 약간 증가된 발현이 관찰되었다. 체벽에서는 골세포 및 발생중인 뼈의 골막/연골막에서 높은 수준의 발현이 관찰되었다. 이 분포는 뼈 형성/분화에서의 기능을 시사한다. 하기의 태아 조직은 양성 결과가 나타나지 않았다: 흉선, 기관, 뇌(대뇌 피질), 척수, 소장, 부신, 간, 위, 태반 및 인대.

성인 조직에서는 양성 유방 상피, 아포크린 화생 및 경화성 선종에서 발현이 관찰되었다. 또한, 침윤성 관상 유방암 세포에서 발현이 관찰되었다. 성인의 간, 심장 또는 간암에서는 발현이 관찰되지 않았다.

성인 피부의 편평 상피세포 및 성인 부신 피질에서 어느정도 발현이 나타난다. 태아 멀티블록(multiblock) 조직에는 간, 신장, 부신, 갑상선, 폐, 심장, 대혈관, 소장, 비장, 흉선, 췌장, 뇌, 척수, 체벽, 골반 및 하부 사지 조직이 포함된다. 성인 멀티블록 조직에는 간, 신장, 부신, 심근, 대동맥, 비장, 림프절, 췌장, 폐 및 피부 조직이 포함된다.

(3) DNA30942-1134 (PRO212)

<폐암, 종양 블록 및 유방암에서의 발현>

정상 침팬치 흉선의 단핵 식세포 뿐만 아니라, 조사된 위암 하나, 결직장암 하나, 유방암 5개 중 2개 및 폐암 4개 중 하나에서 발현이 관찰되었다. 골육종 및 분화가 덜된 지방육종의 악성 세포에 의해 발현이 관찰되었다. 고환 기형종 및 조사된 유방암 5개 중 1개의 악성 세포에서 어느정도 신호가 나타났다. 상기 폐암 중 하나에서는 폐 림프 조직내의 위쪽 내피 세정맥에서 분산된 신호가 나타났다.

조사된 태아 조직(E12-E16 주)에는 태반, 태줄 도관, 간, 신장, 부신, 갑상선, 폐, 심장, 대혈관, 식도, 위, 소장, 비장, 흉선, 췌장, 뇌, 눈, 척수, 체벽, 골반 및 하부 사지 조직이 포함된다. 조사된 성인 조직에는 간, 신장, 부신, 심근, 대동맥, 비장, 폐, 피부, 연골육종, 눈, 위, 위암, 결장, 결장암, 신장 세포암, 전립선, 방광 점막 및 담낭, 및 아세트아미노펜 유도 간 손상 및 간경화 조직이 포함된다. 조사된 붉은털 원숭이 조직에는 대뇌 피질(rm) 및 해마상용기(rm) 조직이 포함된다. 조사된 침팬치 조직에는 갑상선, 부갑상선, 난소, 신경, 혀, 흉선, 부신 위 점막 및 침샘 조직이 포함된다.

<폐 선암종 및 편평세포 암종에서의 발현>

8개의 선암종 및 7개의 편평세포 폐암종을 조사하였다. 액틴은 모든 종양에서 강한 양성 신호를 나타냈으며, 이는 모두가 원래 위치에서의 혼성화 분석에 적합함을 의미한다. 하기와 같은 6개의 종양에서 발현이 관찰되었다:

6727-95 편평세포 암종 - 신생성 상피 전체에서 강하게 발현됨

9558-95 편평세포 암종 - 신생성 상피 전체에서 발현됨

12235-95 선암종 - 원래 위치에서 및 침윤성 종양 세포 전체에서 발현됨

6545-95 및 4187-97 편평세포 암종 - 종양 스트로마의 세포 전체에서 발현되고, 종양 세포 전체에서는 발현되지 않음

12954-94 편평세포 암종 - 스트로마 세포 전체에서 어느정도 약하게 발현됨.

(4) DNA32286-1191 (PRO214)

태아 조직 중, 중간엽 전체에서 낮은 수준의 발현이 관찰되었다. 막 조직의 태반 스트로마 세포 및 갑상선에서 적당한 수준의 발현이 관찰되었다. 또한, 피질성 뉴런에서도 낮은 수준의 발현이 관찰되었다. 성인 조직은 모두 음성이었다.

조사된 태아 조직(E12-E16 주)에는 태반, 탯줄 도관, 간, 신장, 부신, 갑상선, 폐, 심장, 대혈관, 식도, 위, 소장, 비장, 흉선, 췌장, 뇌, 눈, 척수, 체벽, 골반 및 하부 사지 조직이 포함된다. 조사된 성인 조직에는 간, 신장, 부신, 심근, 대동맥, 비장, 림프절, 췌장, 폐 및 피부 조직이 포함된다.

(5) DNA33094-1131 (PR0217)

매우 독특한 발현 패턴이 하기와 같이 관찰되었다: 인간 배아에서는 GI관의 외부 평활근층, 호흡 연골, 기관지 상피, 조골 세포, 간, 생식선, 시신경 헤드 및 발생중인 진피에서 발현이 관찰되었다. 성체에서는 침팬치 허의 상피 정수리 (epidermal peg), 전립선의 기저 상피/근상피 세포 및 방광에서 발현이 관찰되었다. 또한, 성체 폐의 폐포 연결부(alveolar lining) 세포, 성기에서 발기성 조직과 병치된 중간엽 세포 및 대뇌 피질(아마도 신경교세포)에서 발현이 관찰되었다. 신장에서는 질병 조직의 갑상선화 신장 세관을 둘러싸는 세포에서만 발현이 관찰되었다.

조사된 태아 조직(E12-E16 주)에는 태반, 탯줄 도관, 간, 신장, 부신, 갑상선, 폐, 심장, 대혈관, 식도, 위, 소장, 비장, 흉선, 췌장, 뇌, 눈, 척수, 체벽, 골반 및 하부 사지 조직이 포함된다. 조사된 성인 조직에는 신장(정상 및 말기), 부신, 심근, 대동맥, 비장, 림프절, 담낭, 췌장, 폐, 피부, 눈(망막 포함), 전립선, 방광 및 간(정상, 간경화, 급성 간부전) 조직이 포함된다.

조사된 비인간 영장류 조직에는 침팬치 조직(침샘, 위, 갑상선, 부갑상선, 피부, 흉선, 난소, 림프절), 붉은털 원숭이 조직(대뇌 피질, 해마상용기, 소뇌, 성기)이 포함된다.

(6) DNA33221-1133 (PR0224)

발현은 태아 비장, 성인 비장, 태아 간, 성인 갑상선 및 성체 림프절(침팬치)의 혈관 내피로 한정되었다. 발생중인 척수 신경절에서 부가적인 발현 부위가 나타났다. 모든 다른 조직은 음성이었다.

조사된 인간 태아 조직(E12-E16 주)에는 태반, 탯줄 도관, 간, 신장, 부신, 갑상선, 폐, 심장, 대혈관, 식도, 위, 소장, 비장, 흉선, 췌장, 뇌, 눈, 척수, 체벽, 골반 및 하부 사지 조직이 포함된다. 조사된 성인 조직에는 신장(정상 및 말기), 부신, 심근, 대동맥, 비장, 림프절, 췌장, 폐, 피부, 눈(망막 포함), 방광 및 간(정상, 간경화, 급성 간부전) 조직이 포함된다. 조사된 비인간 영장류 조직에는 침팬치 조직(침샘, 위, 갑상선, 부갑상선, 피부, 흉선, 난소, 림프절), 붉은털 원숭이 조직(대뇌 피질, 해마상용기, 소뇌, 성기)이 포함된다.

(7) DNA35638-1141 (PR0245)

<성인 및 태아 조직에서의 발현 패턴>

태아의 일부와 탯줄을 연결하는 내피에서 발현이 관찰되었다. 발현은 이들 조직 블록으로 한정되었다. 또한, 태반의 중간 영양막 세포에서 발현이 관찰되었다. 모든 다른 조직에서는 음성이었다.

조사된 태아 조직(E12-E16 주)에는 태반, 탯줄 도관, 간, 신장, 부신, 갑상선, 폐, 심장, 대혈관, 식도, 위, 소장, 비장, 흉선, 췌장, 뇌, 눈, 척수, 체벽, 골반 및 하부 사지 조직이 포함된다. 조사된 성인 조직에는 간, 신장, 부신, 심근, 대동맥, 비장, 림프절, 췌장, 폐, 피부, 대뇌 피질(rm), 해마상용기(rm), 소뇌(rm), 성기, 눈, 방광, 위, 위암, 결장, 결장암, 갑상선(침팬치), 부갑상선(침팬치), 난소(침팬치) 및 연골육종, 아세트아미노펜 유도 간 손상 및 간경화 조직이 포함된다.

<염증 조직(건선, IBD, 염증 신장, 염증 폐, 간염(간 블록), 정상 편도선, 성인 및 침팬치 멀티블록)에서의 발현>

이 분자는 면역 자극성(MLR에서 T 림프구 증식 및 동시 자극을 향상시킴)으로 나타났고, 염증전 특성(생체내에서 호중구 침윤을 유도)이 있는 것으로 나타났다. 상기 기재된 바와 같이, 이 분자는 내아 혈관의 내피/혈관 내막 일부 및 태반에서 발현되지만, 다양한 성인의 정상 조직 또는 상기 조직의 혈관에서는 발현되지 않는 것으로 나타났다. 인간 염증 조직의 혈관에서 상기 분자의 발현을 비-염증 조직과 비교하여 평가하였다. 요약하면, 만성 염증을 앓고 있는 폐의 대혈관 내피/혈관 내막, 건선 피부의 표면 피부 혈관, 만성 경화성 신장염 시료의 세동맥, 및 편도선의 여포 주변 공동을 포함하는 모세혈관에서 발현이 관찰되었다.

정상 피부(인간 포피 시료), 정상 폐, 염증성 장(8개의 IBD 시료), 정상 장, 만성 염증성 간 또는 경화성 간, 성인 정상 심장 조직, 또는 부신에서는 발현이 관찰되지 않았다.

(8) DNA33473-1176 (PR0261)

<성인 및 태아 조직의 발현 패턴>

성인 정상 피부의 섬유아세포에서 강한 발현이 관찰되었다. 또한, 2가지 경화성 간의 활성화 간 섬유증 부위에서 강한 발현이 관찰되었다. 부가적으로, 부신 피질의 패시쿨라타(fasiculata) 세포에서 적당한 수준 발현이 관찰되었다. 발현의 부위는 세포외 매트릭스 형성/전환에서 상기 분자의 기능을 뒷받침 해준다.

<인간 유방암 및 정상 유방 조직, 및 폐암 조직에서의 발현>

조사된 2가지 유방 종양에서 약한 확산 신호가 나타났다. 양성 및 악성 상피 세포에서는 발현이 관찰되지 않았지만, 중간엽 세포(특히, 이영양성 골화를 포함하는 조직 복구 영역)에서 특이적 혼성화 신호가 관찰되었다. 신호는 동일한 세포 집단에 국한되는 것 같지만, 일부 영역(유방 종양 02)에서는 신호가 매우 강하게 나타났다. 대부분의 양성 반응 세포는 섬유아세포의 형태를 갖지만, 평활근 세포는 음성인 것 같다. 폐 종양 조직에서 나타나는 신호는 유방 종양에서 나타나는 것보다 더 약하지만, 이 부분은 유방 종양 슬라이드에 비해 복구가 덜된 것이었다. 정상 폐 및 신장 조직은 본질적으로 음성이었다.

요약하면, 본 연구는 조직 복구 및(또는) 콜라겐 축적과 관련된 중간엽 세포에서의 발현을 보여준다. 양성 염증성 조건(탈장) 때문에, 신호는 침윤성 유방암 세포 또는 파괴된 조직에 인접한 양성 섬유아세포-유사 세포에서 특히 강했다. 중요한 것은 양성 유골의 축적이 RNA의 강한 발현과 관련된 것처럼 보인다는 것이다.

<정상 인간 결장 및 결장암 조직에서의 발현>

종양 세포에서 양성 혼성화 신호를 나타내는 조직 단면은 없었다. 다양한 강도의 양성 신호는 섬유아세포 또는 평활근 분화의 중간엽 세포에서 관찰되었다. 이 종양 세포가 소위 데모플라스틱(demoplastic) 반응(콜라겐성 섬유증이 수반되는 섬유아세포 증식)을 도출한다면, 양성 신호의 섬유아세포는 침입성 종양 부근에서 관찰된다. 또한, 양성 섬유아세포는 조직 복구(과립화 조직 또는 육아종성 반응) 영역에서 나타났다. 양성 평활근 세포는 대부분 중간 크기의 동맥에 나타났다.

(9) DNA40628-1216 (PR0301)

<인간 염증 조직(건선, IBD, 염증 신장, 염증 폐, 간염, 정상 편도선, 성인 및 침팬치 멀티블록)에서의 발현>

주로 염증에 걸리고 정상 조직이 거의 없는 인간 조직 및 비인간 영장류 조직에서 발현을 평가하였다. 결장의 점막성 상피, 기관지의 대기도 상피, 경구 점막(혀), 편도선 점막, 태반 점막, 전립선 점막, 위샘 점막, 흉선 해설소체의 상피, 간세포, 담 상피, 및 태반 상피를 포함하는, 평가된 모든 상피성 구조에서 발현이 관찰되었다. 반응성 증식을 수반하는 편도선의 여포 배아 중심에서 상피성 구조 외부에서의 발현에 대한 흔적은 약하고 낮으며 모순된 발현이었다.

비인간 영장류(침팬치) 조직 중, 혀 상피의 표피에서 약하게 확산되는 발현이 관찰되었고, 해설소체의 흉선 상피에서 약한 발현이 관찰되었으며, 위샘 점막의 상피에서 약간의 확산된 발현이 관찰되었다.

인간 조직 중에서,

(1) 간(만성 담관염, 소엽 증식, 아세트아미노펜 독성을 포함하는 멀티블록)에서는, 간세포 및 담 상피에서 낮은 수준 내지 적당한 수준의 확산된 발현이 관찰되었다. 발현은 대부분 소엽 주변/문맥 주변의 간세포에서 두드러지게 나타났다. 만성 경화성 담관염에 걸린 간 단면의 담 상피에서 두드러지게 발현되었다.

(2) 표피의 건선 샘플에서 약한 발현이 관찰되었다.

(3) 만성 간질성 폐렴 또는 만성 기관지염에 걸린 폐에서는 대기도의 점막 상피에서 낮은 수준의 확산된 발현이 관찰되었고, 폐포 상피에서도 약하게 확산된 발현이 관찰되었다. 기관지/세기관지의 점막 및 샘의 상피에서는 발현이 관찰되지 않았다.

(4) 태반 상피 및 방광의 점막 상피에서 적당한 수준의 확산된 발현이 관찰되었다.

(5) 전립선 상피에서는 낮은 수준의 확산된 발현이 관찰되었다.

(6) 편도선 점막 및 음의 상피에서 높은 수준의 확산된 발현이 관찰되었고, 편도선 음을 연결하는 점막 세포에서 가장 강한 신호가 나타났다. 피질 여포의 배아 중심(B 림프구 영역)에서는 약하고 모순되며 확산된 발현이 관찰되었지만, B 림프구에서 림프 구조 또는 림프구 염증으로 평가된 어떤 조직에서도 발현은 관찰되지 않았다.

(7) 염증성 장 질환에 걸리고 용종/선종성 변화를 겪는 결장에서는, 점막 상피에서 낮은 수준의 발현이 관찰되었고, 용모 끝에서 가장 높은 수준의 발현이 관찰되었다. 용종에 걸린 1가지 시료 중, 용종의 이형성 상피에서 주변의 점막에 비해 증가된 발현이 관찰되지 않았다. 많은 단면에 존재하는 반응성 점막 림프 조직에서 명백한 발현은 없었다.

발현되지 않은 조직에는 심장, 말초 신경 및 근육(심근, 평활근)이 포함된다.

(10) DNA47365-1206 (PR0364)

척추체의 전면을 연결하는 태아의 근막에서 발현이 관찰되었다. 또한 태아의 망막에서도 발현되었다. 태아의 뉴런 전체에서 낮은 수준의 발현이 나타났다. 모든 다른 조직에서는 음성이었다.

(11) DNA29101-1122 (PR0713)

태아 조직: 발생중인 하부 사지 뼈의 연골성 원기 가장자리(즉, 외부 가장자리 둘레)에서 발현이 관찰되었고, 발생중인 건에서는 혈관 평활근 및 발생중인 골격근 근세포 및 근관을 둘러싸는 세포에서 발현이 관찰되었다. 또한, 뼈끝 성장판에서도 발현이 관찰되었다. 태아 림프절에서, 발생중인 림프절의 가장자리 동(洞)에서 발현이 나타났다. 발현은 이 영역에서 발견되는 피막하 상피 세포 또는 증식중인 흉선 세포가 존재하는 흉선 피질의 피막하 영역에서도 관찰되었다. 부가적으로, 하기의 조직에서 발현이 나타났다. 즉, 기관의 평활근에서 발현되었고, 대뇌 피질의 피질성 뉴런에서 집중적으로 발현되었으며, 소장 평활근에서 발현되었고, 갑상선 상피 전체에서 발현되었으며, 간의 관상관 세포에서 발현되었고, 위벽의 평활근에서 발현되었으며, 태아 피부 편평세포 상피의 기저층에서 발현되었고, 태반에서 장 세포의 영양아세포성 용모에서 발현되었으며, 태줄 도관의 동맥벽 및 정맥벽에서 발현되었다. 발현 패턴은 이 분자가 세포 분화/증식에 관련될 수 있음을 시사한다.

태아의 피장, 척수 또는 부신에서는 발현이 관찰되지 않았다.

하기 부위에서 높은 수준의 발현이 관찰되었다:

(1) 침팬치 난소 - 성숙한 여포의 과립막 세포, 포막 세포 전체에서는 약한 강도의 신호가 관찰됨;

(2) 침팬치 부갑상선 - 주세포 전체에서 높은 수준의 발현이 관찰됨;

(3) 인간 태아 고환 - 발생중인 관을 둘러싸는 스트로마 세포 전체에서 적당한 수준의 발현이 관찰됨;

(4) 인간 태아 폐 - 발생중인 기관세지에서 연골세포 전체에서 높은 수준의 발현이 관찰되고, 분지중인 기관지 상피 전체에서는 낮은 수준의 발현이 관찰됨.

신장 세포, 위암 조직 및 결장암 조직에서는 특이한 발현이 관찰되지 않았다.

조사된 태아 조직(E12-E16 주)에는 태반, 태줄 도관, 간, 신장, 부신, 갑상선, 폐, 심장, 대혈관, 식도, 위, 소장, 비장, 흉선, 췌장, 뇌, 눈, 척수, 체벽, 골반 및 하부 사지 조직이 포함된다. 조사된 성인 조직에는 간, 신장, 부신, 심근, 대동맥, 비장, 림프절, 췌장, 폐, 피부, 대뇌 피질(rm), 해마상용기(rm), 소뇌(rm), 성기, 눈, 방광, 위, 위암, 결장, 결장암 및 연골육종, 아세트아미노펜 유도 간 손상 및 간경화 조직이 포함된다.

(12) DNA33087 (PRO216)

모든 연골질 부위 및 새 뼈 형성 부위의 조골세포에서 강하고 특이적인 발현이 관찰되었다. 부가적인 발현 부위에는 발생 중인 폐동맥 및 대동맥의 대혈관이 포함된다. 그외의 모든 태아 조직에서는 음성이었다. 조사된 조직에는 태반, 탯줄 도관, 뇌, 척수, 눈, 시신경, 기관, 폐, 심장, 흉선, 간, 비장, 식도, 소장, 췌장, 부신, 갑상선, 척벽 및 허부 사지 조직이 포함된다.

조사된 성인 조직은 모두 음성이었으며, 여기에는 간, 신장, 부신, 심근, 대동맥, 비장, 림프절, 췌장, 폐 및 피부 조직이 포함된다. 멀티블록의 모든 성인 조직은 베타-액틴에 대해 양성이었다.

이 분자의 가능한 기능은 뼈 매트릭스 침착 및(또는) 조골세포 생장의 조절일 수 있다.

실시예 63: 혼성화 프로브로서 PRO 폴리펩티드의 용도

하기 방법은 PRO 폴리펩티드를 코딩하는 뉴클레오티드 서열의 혼성화 프로브로서의 용도를 기술한다.

전장 또는 성숙 PRO 폴리펩티드의 코딩 서열을 포함하는 DNA(각각 도 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93 및 95, 서열 3, 8, 13, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 61, 66, 71, 76, 84, 89, 97, 106, 111, 116, 126, 131, 136, 142, 147, 152, 154, 159, 161, 169, 180, 182, 190, 192, 194, 196, 198, 200, 202, 204, 213, 215, 217, 219, 221 및 226에 나타냄) 또는 그의 단편을 인간 조직 cDNA 라이브러리 또는 인간 조직 게놈 라이브러리에서 상동성 DNA (예를 들어, PRO의 자연 발생 변이체를 코딩하는 것)를 스크리닝하는데 프로브로서 사용할 수 있다.

이들 라이브러리 DNA를 포함하는 필터의 혼성화 및 세척을 하기 고엄격 조건 하에 수행하였다. 방사선 표지된 PRO 폴리펩티드 유도 프로브를 50% 포름아미드, 5×SSC, 0.1% SDS, 0.1% 피로인산나트륨, 50 mM 인산나트륨, pH 6.8, 2×덴하르트(Denhardt's) 용액 및 10% 텍스트란 술페이트 용액 중의 42°C에서 20시간 동안 혼성화시켰다. 필터를 0.1×SSC 및 0.1% SDS의 수용액 중의 42°C에서 세척하였다.

이어서, 전장 천연 서열을 코딩하는 DNA와 원하는 서열 동일성을 갖는 DNA를 당업계에 공지된 표준 방법으로 찾아내었다.

실시예 64: 대장균(*E. coli*)에서 PRO 폴리펩티드 코딩 핵산의 발현

본 실시예는 대장균(*E. coli*) 내의 재조합 발현에 의해 PRO 폴리펩티드의 비글리코실화된 형태를 제조하는 방법을 예시한다.

처음에 원하는 PRO187, PRO195, PRO224, PRO301, PRO364, PRO713, PRO788, PRO1274, PRO1286, PRO1303, PRO1319, PRO1313 및 PRO1376 (각각 서열 20, 30, 50, 89, 116, 136, 152, 196, 198, 202, 213, 215 및 217)를 코딩하는 DNA 서열을 선택된 PCR 프라이머를 사용하여 증폭시켰다. 프라이머는 선택된 발현 벡터 상의 제한 효소 부위에 해당하는 제한 효소 부위를 포함해야만 한다. 다양한 발현 벡터가 사용될 수 있다. 적합한 벡터의 예에는 앰피실린 및 테트라사이클린 내성 유전자를 포함하는 pBR322 (대장균(*E. coli*)에서 유래; Bolivar et al., Gene 2:95(1977) 참조)가 있다. 벡터를 제한 효소로 절단하고 탈인산화시켰다. 이어서, PCR 증폭된 서열을 벡터에 라이게이션하였다. 벡터는 바람직하게는 항생제 내성 유전자, trp 프로모터, 폴리-His 리더(처음 6개의 STII 코돈, 폴리-His 서열 및 엔테로키나제 절단 부위를 포함), PRO187, PRO195, PRO224, PRO301, PRO364, PRO713, PRO788, PRO1274, PRO1286, PRO1303, PRO1319, PRO1313 및 PRO1376 코딩 부위, 램다 전사 종결부 및 argU 유전자를 서열을 포함할 것이다.

이어서, 상기 문헌(Sambrook et al.)에 기재된 방법을 이용하여 선택된 대장균(*E. coli*) 균주를 형질전환시키는데 라이게이션 혼합물을 사용하였다. LB 평판 배지에서 성장할 수 있는 형질전환체를 확인하고 항생제 내성을 갖는 콜로니를 선택하였다. 플라스미드 DNA를 단리하여, 제한 분석법 및 DNA 서열 분석에 의해 확인하였다.

항생제가 포함된 LB 브로쓰와 같은 액체 배양 배지에서 선택된 클론을 밤새 배양하였다. 이 배양액을 더 큰 규모의 배양 접종에 사용하였다. 이어서, 세포를 원하는 광학 밀도까지 배양한 후, 발현 프로모터를 작동시켰다.

수시간 이상 동안 세포를 더 배양한 후에 원심분리로 세포를 회수하였다. 원심분리로 얻어진 세포 펠릿을 당업계에 공지된 여러가지 시약을 이용하여 용해시키고, 단백질이 강하게 결합하는 조건 하에서 금속 킬레이팅 컬럼을 이용하여 용해된 PRO187, PRO195, PRO224, PRO301, PRO364, PRO713, PRO788, PRO1274, PRO1286, PRO1303, PRO1319, PRO1313 및 PRO1376 폴리펩티드를 정제하였다.

실시예 65: 포유동물 세포에서 PRO 폴리펩티드 코딩 핵산의 발현

본 실시예는 포유동물 세포에서 재조합 발현에 의해 PRO 폴리펩티드의 가능한 글리코실화된 형태를 제조하는 방법을 예시한다.

pRK5 벡터(1989년 3월 15일 공개된 EP 제307,247호 참조)를 발현 벡터로 사용하였다. 임의로, 상기 문헌(Sambrook et al.)에 기재된 라이게이션 방법을 이용하여 PRO DNA를 선택된 제한 효소로 pRK5에 라이게이션시켜, PRO 폴리펩티드 코딩 DNA를 삽입하였다. 결과의 벡터를 pRK5-(PRO 코딩 DNA)라 명명하였다.

한 실시양태에서, 숙주 세포로서 293 세포를 선택할 수 있다. 인간 293 세포(ATCC CCL 1573)를 우태 혈청 및 임의로 영양소 및(또는) 항생제가 포함된 DMEM와 같은 배지에서 조직 배양 플레이트에 가득 차도록(confluent) 배양하였다. pRK5-(PRO 코딩 DNA) 약 10 μ g을 VA RNA 유전자를 코딩하는 DNA(Thimmappaya et al., Cell, 31: 543(1982)) 약 1 μ g과 혼합하여, 1 mM Tris-HCl, 0.1 mM EDTA 및 0.227 M CaCl₂ 500 μ l에 용해시켰다. 이 혼합물에 50 mM HEPES(pH 7.35), 280 mM NaCl, 1.5 mM NaPO₄ 500 μ l를 적가하여 25°C에서 10분간 침전물을 형성시켰다. 침전물을 현탁시키고 293 세포에 가하여 37°C에서 4시간 가량을 정치시켰다. 배지를 흡입 제거하고 PBS 중의 20% 글리세롤 2 ml를 30초 동안 가하였다. 이어서, 293세포를 무혈청 배지로 세척하고 새로운 배지를 가하여 5일간 세포를 배양하였다.

형질감염 약 24시간 후에 배지를 제거하고 배지(만으로) 또는 200 μ Ci/ml ³⁵S-시스테인 및 200 μ Ci/ml ³⁵S-메티오닌을 포함하는 배지로 교체하였다. 12시간 배양 후, 조건화된 배지를 수집하고 회전 필터에서 농축시켜 15% SDS 겔에 로딩하였다. 처리된 겔을 건조시키고 일정 기간동안 필름에 노출시켜 PRO 폴리펩티드의 존재를 확인하였다. 형질감염된 세포를 포함하는 배양액을 추가로 배양시키고(무혈청 배지에서), 이를 선택된 생물분석법으로 시험하였다.

별법으로, 문헌(Sompanyrac et al., Proc. Natl. Acad. Sci., 12:7575(1981))에 기재된 텍스트란 술페이트 방법을 이용하여 PRO 폴리펩티드 코딩 DNA를 293 세포에 일시적으로 도입시킬 수 있었다. 293 세포를 회전 플라스크에서 최대 밀도가 되도록 배양하고 pRK5-(PRO 코딩 DNA) 700 μ g을 가하였다. 세포를 우선 원심분리하여 회전 플라스크로부터 농축하고 PBS로 세척하였다. DNA-텍스트란 침전물을 세포 펠릿 상에서 4시간 동안 인큐베이션하였다. 세포를 20% 글리세롤로 90초간 처리하고 조직 배양 배지로 세척한 후, 조직 배양 배지, 5 μ g/ml 소의 인슐린 및 0.1 μ g/ml 소의 트랜스페린을 포함하는 회전 플라스크에 다시 넣었다. 약 4일 후에 조건화된 배지를 원심분리하고 여과시켜 세포와 과쇄물을 제거하였다. 발현된 PRO 폴리펩티드를 포함하는 샘플을 농축시키고, 투석 및(또는) 컬럼 크로마토그래피와 같은 선택된 방법으로 정제하였다.

다른 실시양태로, PRO 폴리펩티드를 코딩하는 유전자를 CHO 세포에 발현시킬 수 있다. pRK5-(PRO 코딩 DNA) 핵산은 공지된 시약, 예를 들어 CaPO₄ 또는 DEAE 텍스트란을 이용하여 CHO 세포에 형질감염시킬 수 있다. 상기 언급한 바와 같이, 세포를 배양하고 배지(만으로) 또는 ³⁵S-메티오닌과 같은 방사선 표지를 포함하는 배지로 배양액을 교체하였다. PRO 폴리펩티드의 존재를 확인한 후, 배양 배지를 무혈청 배지로 교체하였다. 바람직하게는 6일 가량 배양물을 배양한 후에 조건화된 배지를 회수한다. 발현된 PRO 폴리펩티드를 포함하는 배지를 농축시켜 선택된 방법으로 정제하였다.

또한, 에피토프 태그가 부착된 PRO 폴리펩티드를 CHO 숙주세포에서 발현시킬 수 있다. PRO 폴리펩티드 코딩 유전자는 pRK5 벡터로부터 서브클로닝될 수 있다. 서브클론의 삽입체는 PCR을 통해 폴리-His 태그와 같은 선택된 에피토프 태그를 갖는 형태로 번역 프레임에 맞게 배컬로바이러스 발현 벡터에 결합될 수 있다. 폴리-His 태그가 부착된 PRO 폴리펩티드 코딩 유전자의 삽입체는 안정한 클론의 선별을 위한 DHFR과 같은 선택 마커를 포함하는 SV40 유도 벡터로 서브클로닝될 수 있다. 최종적으로, CHO 세포는 (상기에서와 같이) SV40 유도 벡터로 형질감염될 수 있다. 발현을 확인하기 위해서 상기와 같은 방법으로 표지시킬 수 있다. 이어서, 폴리-His 태그가 부착되어 발현된 PRO 폴리펩티드를 포함하는 배양 배지를 농축시켜 Ni²⁺-킬레이트 친화 크로마토그래피와 같이 선택된 방법으로 정제할 수 있다.

PRO172, PRO178, PRO179, PRO182, PRO188, PRO212, PRO214, PRO216, PRO217, PRO224, PRO245, PRO261, PRO301, PRO356, PRO364, PRO713, PRO788, PRO792, PRO865, PRO1126, PRO1130, PRO1244, PRO1246, PRO1274, PRO1286, PRO1294, PRO1303, PRO1304, PRO1376 및 PRO 1387은 상기 기재된 방법에 의해 CHO 세포에서 안정하게 발현되었다. 또한, PRO172, PRO178, PRO182, PRO231, PRO245, PRO301, PRO356 및 PRO364는 일시적 절차에 의해 CHO 세포에서 발현되었다.

실시에 66: 효모에서 PRO 폴리펩티드 코딩 핵산의 발현

하기 방법은 효모에서 PRO 폴리펩티드 코딩 유전자의 재조합 발현을 기재하고 있다.

우선, ADH2/GAPDH 프로모터로부터 PRO 폴리펩티드의 세포내 생산 또는 분비를 위한 효모 발현 벡터를 제조하였다. PRO 폴리펩티드 코딩 DNA 및 프로모터를 PRO 폴리펩티드의 세포내 발현을 위해 선택된 플라스미드의 적합한 제한 효소 부위에 삽입하였다. 분비의 경우에는 PRO 폴리펩티드 코딩 DNA의 발현을 위해, ADH2/GAPDH 프로모터, 천연 PRO 폴리펩티드 신호 펩티드 및 다른 포유동물의 신호 펩티드(예를 들어, 효모 알파-인자 또는 인버타제 분비 신호/리더 서열), 및 링커 서열(필요한 경우)을 코딩하는 DNA와 함께 PRO 폴리펩티드 코딩 DNA를 선택된 플라스미드에 클로닝할 수 있다.

이어서, 효모 세포, 예를 들어 효모 균주 AB110을 상기 기재된 발현 플라스미드로 형질전환시키고 선택된 발효 배지에서 배양할 수 있다. 형질전환된 효모 상층액을 10% 트리클로로아세트산으로 침전시키고 SDS-PAGE로 분리한 후 겔을 쿠마시 블루로 염색하여 분석할 수 있다.

이후에, 원심분리에 의해 발효 배지로부터 효모 세포를 회수하고 선택된 카트리지 필터를 이용하여 배지를 농축시켜 재조합 PRO 폴리펩티드를 단리하고 정제할 수 있다. PRO 폴리펩티드를 함유하는 농축액을 선택된 컬럼 크로마토그래피 수지를 이용하여 추가로 정제할 수 있다.

실시에 67: 배칼로바이러스 감염 곤충 세포에서 PRO 폴리펩티드 코딩 핵산의 발현

다음 방법은 배칼로바이러스로 감염된 곤충 세포 내에서의 재조합 발현에 대하여 기재하고 있다.

PRO 폴리펩티드의 코딩 서열을 배칼로바이러스 발현 벡터에 포함된 에피토프 태그의 상류에 결합시켰다. 이러한 에피토프 태그에는 폴리-His 태그 및 면역글로블린 태그(IgG의 Fc 영역과 같이)가 포함된다. 시판되는 플라스미드, 예를 들어 pVL1393(Novagen)에서 유도된 플라스미드를 포함하는 다양한 플라스미드를 사용할 수 있다. 간략하게, PRO 폴리펩티드를 코딩하는 서열이나 PRO 폴리펩티드를 코딩하는 서열의 원하는 부분(예를 들어, 막횡단 단백질의 세포외 도메인, 또는 세포외 단백질의 경우에 성숙 단백질 코딩하는 서열)을 5' 및 3' 영역에 상보적인 프라이머를 이용하여 PCR로 증폭하였다. 5' 프라이머는 인접한(선택된) 제한 효소 부위를 포함할 수 있다. 이어서, 생성물을 선택된 제한 효소로 절단하여 발현 벡터에 서브클로닝하였다.

리포펙틴(GIBCO-BRL로부터 구입)을 이용하여, 상기 플라스미드 및 배칼로골드(상표명) (BaculoGold™) 바이러스 DNA (Pharming)를 스포도프테라 프루기페르다 ("Sf9") 세포 (ATCC CRL 1711)에 동시 형질감염시켜 재조합 배칼로바이러스를 생성하였다. 28°C에서 4 내지 5일 배양 후에, 방출된 바이러스를 회수하여 이후의 증폭에 사용한다. 바이러스 감염 및 단백질 발현은 문헌(O'Reilley et al., Baculovirus Expression vectors: A laboratory Manual, Oxford: Oxford University Press (1994))에 따라 수행하였다.

이어서, 폴리-His 태그가 부착되어 발현된 PRO 폴리펩티드는, 예를 들어 Ni²⁺-킬레이트 친화 크로마토그래피로 하기와 같이 정제될 수 있다. 문헌(Rupert et al., Nature, 362: 175-179(1993))에 따라 재조합 바이러스-감염된 Sf9 세포로부터 추출액을 제조한다. 간략하게, Sf9 세포를 세척하여 초음파 처리 완충액 (25 ml HEPES, pH 7.9; 12.5 mM MgCl₂; 0.1 mM EDTA; 10% 글리세롤; 0.1% NP-40; 0.4 M KCl)에 재현탁시키고 얼음에서 20초간 2회 초음파 처리하였다. 초음파 처리물을 원심분리로 투명하게 하고, 상층액을 로딩 완충액(50 mM 인산, 300 mM NaCl, 10% 글리세롤, pH 7.8)에 50배 희석하여 0.45 μm 필터로 여과시켰다. Ni²⁺-NTA 아가로스 컬럼(Qiagen으로부터 구입)을 5 ml 충전 부피로 제조하여 물 25 ml로 세척하고 로딩 완충액 25 ml로 평형화시켰다. 여과된 세포 추출물을 분당 0.5 ml로 컬럼에 로딩하였다. 로딩 완충액으로 A₂₈₀ 기준선까지 컬럼을 세척하고, 이 시점에서 분획을 회수하기 시작하였다. 다음으로, 2차 세척 완충액(50 mM

인산염; 300 mM NaCl, 10% 글리세롤, pH 6.0)으로 컬럼을 세척하여 비특이적으로 결합된 단백질을 용출시켰다. A₂₈₀이 기준선에 다시 도달하면, 컬럼을 2차 세척 완충액 중의 0 내지 500 mM 이미다졸 구배로 전개시켰다. 1 ml 분획을 회수하여 SDS-PAGE 및 은 염색하거나 알카리 포스파타제에 결합된 Ni²⁺-NTA(Qiagen)로 웨스턴 블롯팅하여 분석하였다. 용출된 His₁₀ 태그된 PRO 폴리펩티드를 포함하는 분획을 모아 로딩 완충액에 대해 투석하였다.

별법으로, IgG 태그된 (또는 Fc 태그된) PRO 폴리펩티드의 정제는 공지된 크로마토그래피 기술, 예를 들어 단백질 A 또는 단백질 G 컬럼 크로마토그래피를 이용하여 수행할 수 있다.

배칼로바이러스에 감염된 Sf9 곤충 세포에서 PRO187, PRO195, PRO224, PRO301, PRO364, PRO713, PRO788, PRO1274, PRO1286, PRO1303, PRO1319, PRO1313 및 PRO1376을 발현시켰다. 발현은 실제로 0.5 내지 2 L 규모로 수행되기는 했지만, 더 큰 제조 규모(예를 들어, 8 L)로 용이하게 규모를 키울 수 있다. 이들 단백질은, 단백질의 세포의 영역이 힝크, CH2 및 CH2 도메인을 포함하는 IgG1 불변 영역 서열에 결합된 IgG 구조체 (이뮤노어드헤신)로서 발현 및(또는) 폴리-His 태그가 부착된 형태로 발현되었다.

PCR 증폭 후에, 각각의 코딩 서열을 배칼로바이러스 발현 벡터(IgG 결합 단백질의 경우 pb.PH.IgG, 폴리-His 태그된 단백질의 경우 pb.PH.His.c)에 서브클로닝한 후, 리포펙틴(Gibco BRL)을 이용하여 이 벡터 및 배칼로골드(상표명) 배칼로바이러스 DNA(Pharmingen)를 105 스포도프테라 프루기페르다("Sf9") 세포(ATCC CRL 1711)에 동시 형질감염시켰다. pb.PH.IgG 및 pb.PH.His.c는 상업적으로 시판되는 pVL1393 배칼로바이러스 발현 벡터(Pharmingen)를 His 또는 Fc 태그 영역이 포함되도록 변형시킨 벡터이다. 10% FBS가 포함된 힝크(Hink's) TNM-FH 배지(Hyclone)에서 세포를 배양하였다. 세포를 28°C에서 5일 동안 배양하였다. 상층액을 회수하여, 감염 다중성(MOI)이 약 10이 되도록 10% FBS가 포함된 힝크 TNM-FH 배지에서 Sf9 세포를 감염시킴으로써 수행되는 1차 바이러스 증폭에 이를 사용하였다. 세포를 28°C에서 3일 동안 배양하였다. 상층액을 회수하고, 히스티딘 태그된 단백질의 경우 Ni²⁺-NTA 비드(QIAGEN) 또는 IgG 태그된 단백질의 경우 단백질-A 세파로스 CL-4B 비드(Pharmacia) 25 ml에 상층액 1 ml을 배지 결합시킨 후에 쿠마시 블루 염색에 의해 알려진 농도의 단백질 표준과 비교하는 SDS-PAGE 분석에 의해 배칼로바이러스 발현 벡터 내 구조물의 발현을 확인하였다.

1차 바이러스 증폭 상층액을 사용하여, ESF-921 배지(Expression Systems LLC)가 들어있는 회전 플라스크 중의 Sf9 세포 배양액(500 ml)을 MOI 약 0.1로 감염시켰다. 세포를 28°C에서 3일 동안 배양하였다. 상층액을 회수하여 여과하였다. 필요한 경우, 회전 플라스크 배양액의 발현이 확인될 때까지 배지 결합 및 SDS-PAGE 분석을 반복하였다.

형질감염된 세포로부터의 조건화된 배지(0.5 내지 3 L)를 원심분리에 의해 회수하여 세포를 제거한 후, 0.22 μm 필터로 여과하였다. 폴리-His 태그된 구조물의 경우, Ni²⁺-NTA 컬럼(Qiagen)을 이용하여 단백질을 정제하였다. 정제하기 전에 이미다졸을 5 mM 농도로 조건화된 배지에 가하였다. 0.3 M NaCl 및 5 mM 이미다졸을 포함하는 20 mM HEPES, pH 7.4 완충액으로 평형화된 Ni-NTA 컬럼 6 ml에 4°C에서 4 내지 5 ml/분의 유속으로 조건화된 배지를 주입하였다. 로딩 후에 컬럼을 추가의 평형 완충액으로 세척하고, 0.25 M 이미다졸을 포함하는 평형 완충액으로 단백질을 용출하였다. 이어서, 고도로 정제된 단백질을 25 ml의 G25 슈퍼파인(Pharmacia) 컬럼을 통해 10 mM HEPES, 0.14 M NaCl 및 4% 만니톨을 함유하는 저장 완충액(pH 6.8)중으로 염을 제거하고 -80°C에서 보관하였다.

조건화된 배지로부터 이뮤노어드헤신(Fc 포함) 구조물을 하기와 같이 정제하였다. 조건화된 배지를 20 mM 인산 나트륨 완충액(pH 6.8)으로 평형화된 단백질 A 컬럼(Pharmacia) 5 ml에 주입하였다. 로딩 후, 컬럼을 평형 완충액으로 세척하고 100 mM 시트르산(pH 3.5)으로 용출하였다. 용출된 단백질을 275 μl의 1 M Tris 완충액(pH 9)을 포함하는 튜브에 1 ml 분획으로 회수하여 즉시 중화시켰다. 이어서, 고도로 정제된 단백질을 폴리-His 태그된 단백질의 경우에 대해 상기 기재된 바와 같이 저장 완충액(pH 6.8) 중으로 염을 제거하였다. SDS 폴리아크릴아미드 젤(PAGE) 전기영동과 에드만 분해법으로 수행되는 N-말단 아미노산 서열 분석으로 단백질의 균일함을 확인하였다.

별법으로, 하이-5(high-5) 세포에 혼입시키는 변형된 배칼로바이러스 방법을 이용할 수 있다. 이 방법에서는 원하는 서열을 코딩하는 DNA를 Pfu(Stratagene)과 같은 적합한 시스템으로 증폭시키거나, 배칼로바이러스 발현 벡터에 포함된 에피토프 태그의 (5') 상류에 결합시켰다. 이러한 에피토프 태그에는 폴리-His 태그 및 면역글로불린 태그(예를 들어, IgG의 Fc 영역)가 포함된다. pIE1-1(Novagen)과 같이 상업적으로 시판되는 플라스미드에서 유도된 것을 포함하는 다양한 벡터가 사용될 수 있다. pIE1-1 및 pIE1-2 벡터는 안정하게 형질전환된 곤충 세포에서 배칼로바이러스 ie1 프로모터로부터 재조합 단백질이 구성적으로 발현되도록 고안된 것이다. 이 플라스미드는 단지 다중 클로닝 부위의 방향만 다르고, 비감염 곤충 세포에서 ie1-매개 유전자 발현에 중요한 것으로 알려진 모든 프로모터 서열 및 hr5 인핸서를 포함하고 있다. pIE1-

1 및 pIE1-2는 번역 개시 부위를 포함하기 때문에 결합 단백질의 제조에 사용될 수 있다. 간략하게, 원하는 서열 또는 원하는 서열의 부분(예를 들어, 막형 단백질의 세포외 도메인을 코딩하는 서열)을 5' 및 3' 영역에 상보적인 프라이머를 이용하여 PCR로 증폭하였다. 5' 프라이머는 인접한(선택된) 제한 효소 부위를 포함할 수 있다. 이어서, 생성물을 선택된 제한 효소로 절단하여 발현 벡터에 서브클로닝하였다. 예를 들어, pIE1-1의 유도체는 원하는 서열의(3') 하류에 인간 IgG의 Fc 영역(pb.PH.IgG) 또는 8개의 히스티딘(pb.PH.His) 태그를 포함할 수 있다.

하이-5 세포를 CO₂, 페니실린 및 스트렙토마이신이 없는 27°C의 조건하에서 50%가 채워지도록 배양하였다. 각각의 150 mm 플레이트에 사용하기 위해, 원하는 서열을 포함하는 pIE 기재의 벡터 30 μ g을 Ex-세포 배지(배지: Ex-Cell 401 + 1/100 L-Glu, JHR Biosciences #14401-78P, 주의: 이 배지는 빛에 민감함) 1 ml과 혼합하고, 별도의 튜브에 셀렉틴(CellFECTIN, Gibco BRL #10362-010) 100 μ l을 Ex-세포 배지 1 ml과 혼합(볼텍싱으로 혼합)하였다. 상기 2가지 용액을 혼합하여 상온에서 15분 동안 인큐베이션하였다. Ex-세포 배지 8 ml을 DNA와 셀렉틴의 혼합물 2 ml에 가하고, 이를 미리 Ex-세포 배지로 1회 세척된 하이-5 세포에 가하였다. 이어서, 플레이트를 어두운 상온에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. DNA와 셀렉틴의 혼합물을 흡입 제거하고, 세포를 Ex-세포 배지로 1회 세척하여 과량의 셀렉틴을 제거한 후, 신선한 Ex-세포 배지 30 ml을 가하고 세포를 28°C에서 3일 동안 배양하였다. 상층액을 회수하고, 히스티딘 태그된 단백질의 경우 Ni²⁺-NTA 비드(QIAGEN) 또는 IgG 태그된 단백질의 경우 단백질-A 세파로스 CL-4B 비드(Pharmacia) 25 ml에 상층액 1 ml을 배치 결합시킨 후에 쿠마시 블루 염색에 의해 알려진 농도의 단백질 표준과 비교하는 SDS-PAGE 분석에 의해 배칼로바이러스 발현 벡터 내 서열의 발현을 측정하였다.

형질감염된 세포로부터의 조건화된 배지(0.5 내지 3 L)를 원심분리에 의해 회수하여 세포를 제거한 후, 0.22 μ m 필터로 여과하였다. 폴리-His 태그된 구조물의 경우, Ni²⁺-NTA 컬럼(Qiagen)을 이용하여 단백질을 정제하였다. 정제하기 전에 이미다졸을 5 mM 농도로 조건화된 배지에 가하였다. 0.3 M NaCl 및 5 mM 이미다졸을 포함하는 20 mM Hepes, pH 7.4 완충액으로 평형화된 Ni-NTA 컬럼 6 ml에 4°C에서 4 내지 5 ml/분의 유속으로 조건화된 배지를 주입하였다. 로딩 후에 컬럼을 추가의 평형 완충액으로 세척하고, 0.25 M 이미다졸을 포함하는 평형 완충액으로 단백질을 용출하였다. 이어서, 고도로 정제된 단백질을 25 ml의 G25 슈퍼파인(Pharmacia) 컬럼을 통해 10 mM Hepes, 0.14 M NaCl 및 4% 만니톨을 함유하는 저장 완충액(pH 6.8)중으로 염을 제거하고 -80°C에서 보관하였다.

조건화된 배지로부터 이뮤노어드헤신(Fc 포함) 구조물을 하기와 같이 정제하였다. 조건화된 배지를 20 mM 인산 나트륨 완충액(pH 6.8)으로 평형화된 단백질 A 컬럼(Pharmacia) 5 ml에 주입하였다. 로딩 후, 컬럼을 평형 완충액으로 세척하고 100 mM 시트르산(pH 3.5)으로 용출하였다. 용출된 단백질을 275 μ l의 1 M Tris 완충액(pH 9)을 포함하는 튜브에 1 ml 분획으로 회수하여 즉시 중화시켰다. 이어서, 고도로 정제된 단백질을 폴리-His 태그된 단백질의 경우에 대해 상기 기재된 바와 같이 저장 완충액 중으로 염을 제거하였다. SDS 폴리아크릴아미드 겔, 에드만 분해법으로 수행되는 N-말단 아미노산 서열 분석, 및 원하거나 필요한 경우 기타 분석 방법으로 단백질의 균일함을 확인하였다.

하이-5 세포를 포함하는 상기 변형된 배칼로바이러스 방법에 의해 PRO172, PRO178, PRO179, PRO182, PRO187, PRO188, PRO212, PRO216, PRO217, PRO224, PRO231, PRO235, PRO269, PRO287, PRO301, PRO323, PRO331, PRO356, PRO364, PRO526, PRO538, PRO713, PRO771, PRO788, PRO792, PRO812, PRO865, PRO1075, PRO1154, PRO1244, PRO1286, PRO1304, PRO1312, PRO1376, PRO1387 및 PRO1561을 성공적으로 발현하였다.

실시예 68: PRO 폴리펩티드에 결합하는 항체의 제조

본 실시예는 PRO 폴리펩티드에 특이적으로 결합할 수 있는 모노클로날 항체를 제조하는 방법을 예시한다.

모노클로날 항체를 제조하는 기술은 당업계에 공지되어 있으며, 예를 들어 상기의 문헌(Goding)에 기재되어 있다. 이용될 수 있는 면역원에는 본 발명의 정제된 PRO 폴리펩티드를 포함하는 결합 단백질, 및 세포 표면에 PRO 폴리펩티드 코딩 유전자를 발현하는 세포가 포함된다. 당업계 숙련자는 불필요한 실험없이도 면역원을 선택할 수 있다.

생쥐, 예를 들어 Balb/c를 프로인트 완전 면역보강제에 유화된 PRO 폴리펩티드 면역원 1 내지 100 μ g을 피하 또는 복강 내 주사하여 면역화시켰다. 별법으로, 면역원을 MPL-TDM 면역보강제(Ribi Immunochemical Research, Hamilton, MT)에 유화시켜 동물의 뒷발바닥에 주사하여 면역화시켰다. 이어서, 면역화된 생쥐를 10 내지 12일 후에 선택된 면역보강제 내에 유화된 추가의 면역원으로 부스팅하였다. 그 이후, 수주 동안 생쥐를 추가 면역 주사로 부스팅할 수 있다. 역회전 출혈법(retro-orbital bleeding)으로 생쥐에서 혈청 샘플을 주기적으로 채취하여, ELISA 분석법을 시험하여 항-PRO 항체를 검출하였다.

적합한 항체 타이타가 검출되면, 항체에 대해 "양성"인 동물에게 PRO 폴리펩티드를 최종 정맥주사하였다. 3 내지 4일 후에 생쥐를 희생시켜 비장 세포를 회수하였다. 이어서, 비장 세포를 선택된 쥐의 골수종 세포주, 예를 들어 ATCC CRL 1597로부터 입수가 가능한 P3X63AgU.1과 결합시켰다(35% 폴리에틸렌 글리콜 이용). 결합체는 비 결합 세포, 골수종 하이브리드 및 비장세포 하이브리드의 증식을 억제하는 HAT 배지를 포함하는 96 웰 조직 배양 플레이트에 플레이팅될 수 있는 하이브리도마 세포를 생성하였다.

하이브리도마 세포를 PRO 폴리펩티드에 대한 반응성을 위한 ELISA로 스크리닝할 수 있다. PRO 폴리펩티드에 대한 목적하는 모노클로날 항체를 분비하는 "양성" 하이브리도마 세포를 결정하는 방법은 당업계의 숙련자에게 잘 알려져 있다.

양성 하이브리도마 세포는 동계의 Balb/c 생쥐가 항-PRO 모노클로날 항체를 포함하는 복수를 생산하도록 복강 내에 주사될 수 있다. 별법으로, 하이브리도마 세포는 조직 배양 플라스크 또는 롤러 병에서 배양될 수 있다. 복수 내에서 생성된 모노클로날 항체는 황산암모늄 침전에 이은 겔 배제 크로마토그래피를 이용하여 정제될 수 있다. 별법으로, 항체의 단백질 A 또는 단백질 G 결합을 기초로 하는 친화 크로마토그래피를 이용할 수도 있다.

물질의 기탁:

다음 물질들은 미국 버지니아주 20110-2209 마나사스 유니버시티 불바드 10801에 소재하는 아메리칸 타입 컬렉션(ATCC)에 기탁되었다.

물질 ATCC 기탁번호 기탁일

DNA35916-1161 209419 1997년 10월 28일

DNA23339-1130 209282 1997년 9월 18일

DNA16451-1388 209776 1998년 4월 14일

DNA27865-1091 209296 1997년 9월 23일

DNA27864-1155 209375 1997년 10월 16일

DNA28497-1130 209279 1997년 9월 18일

DNA26847-1395 209772 1998년 4월 14일

DNA30942-1134 209254 1997년 9월 16일

DNA32286-1191 209385 1997년 10월 16일

DNA33094-1131 209256 1997년 9월 16일

DNA33221-1133 209263 1997년 9월 16일

DNA34434-1139 209252 1998년 9월 16일

DNA35558-1167 209374 1997년 10월 16일

DNA35638-1141 209265 1997년 9월 16일

DNA33473-1176 209391 1997년 10월 17일

DNA38260-1180 209397 1997년 10월 17일

DNA39969-1185 209400 1997년 10월 17일
DNA40628-1216 209432 1997년 11월 7일
DNA35595-1228 209528 1997년 12월 10일
DNA40981-1234 209439 1997년 11월 7일
DNA47470-1130-P1 209422 1997년 10월 28일
DNA47365-1206 209436 1997년 11월 7일
DNA44184-1319 209704 1998년 3월 26일
DNA48613-1268 209752 1998년 4월 7일
DNA29101-1122 209653 1998년 3월 5일
DNA49646-1327 209705 1998년 3월 26일
DNA49829-1346 209749 1998년 4월 7일
DNA56405-1357 209849 1998년 5월 6일
DNA56352-1358 209846 1998년 5월 6일
DNA59205-1421 203009 1998년 6월 23일
DNA53974-1401 209774 1998년 4월 14일
DNA57689-1385 209869 1998년 5월 14일
DNA60615-1483 209980 1998년 6월 16일
DNA59814-1486 203359 1998년 10월 20일
DNA59846-1503 209978 1998년 6월 16일
DNA64883-1526 203253 1998년 9월 9일
DNA64885-1529 203457 1998년 11월 3일
DNA64889-1541 203250 1998년 9월 9일
DNA64903-1553 203223 1998년 9월 15일
DNA64905-1558 203233 1998년 9월 15일
DNA65409-1566 203232 1998년 9월 15일
DNA65406-1567 203219 1998년 9월 15일
DNA61873-1574 203132 1998년 8월 18일

DNA64966-1575 203575 1999년 1월 12일

DNA67300-1605 203163 1998년 8월 25일

DNA68872-1620 203160 1998년 8월 25일

DNA76538-1670 203313 1998년 10월 6일

DNA33087 203381 1997년 10월 16일

기탁은 특허 절차상 미생물 기탁의 국제적 승인에 관한 부다페스트 조약 및 그의 규칙(부다페스트 조약 (Budapest Treaty))의 규정하에 이루어졌다. 이는 기탁일로부터 30년 동안 기탁물의 생존 배양물의 유지를 보장한다. 기탁물은 부다페스트 조약의 협약 하에 ATCC로부터 제넨테크 인크와 ATCC 사이 협정에 따라 분양될 것이며, 이는 관련 미국 특허의 허여시 또는 미국 또는 외국 특허 출원의 공개시(이 중 먼저인 때) 공공에 대한 기탁물의 배양 프로제니의 영구적이고 비제한적인 분양을 보장하고, 미국 특허 및 상표청장에 의해 35 USC §122 및 그에 따른 미국 특허 및 상표청장의 규칙(37 CFR §1.14 포함, 특히 886 OG 638 참조)에 따라 권리가 있는 것으로 결정한 이에게 프로제니의 분양을 보장한다.

본 출원의 양수인은 적합한 조건하에서 배양시 기탁 물질의 배양물이 사멸하거나 손실되거나 파손된 경우, 이를 통지하면 물질을 다른 동일한 물질로 즉시 교체할 것임을 동의하였다. 기탁 물질의 분양은 각국 정부의 권한으로 그 특허법에 따라 승인된 권리에 위배하여 본 발명을 실시하도록 허가하는 것으로서 해석되어서는 안된다.

앞서 기술한 명세서는 당업계의 숙련인이 본 발명을 실시할 수 있도록 하기에 충분한 것으로 생각된다. 기탁된 실시양태가 본 발명의 특정 측면의 한 예시로서 의도되는 것이므로 본 발명은 기탁된 구조물의 범위에 제한되지 않고, 기능적으로 동등한 임의의 구조물은 본 발명의 범위 내에 있다. 본원에서 물질의 기탁은 본원에 포함된 기재 내용이 본 발명의 최선의 양식을 포함한 임의의 측면을 실시하기에 부적절하다는 것을 의미하지는 않으며, 특허 청구 범위의 범위를 명세서에서 나타내는 구체적인 설명에 제한하려는 것으로 해석되어서는 안된다. 실제로, 앞서의 상세한 설명으로부터 본원에 나타내고 기술된 것 이외에 본 발명의 다양한 변형이 당업계 숙련자에게는 명백하고, 이는 첨부된 특허 청구의 범위 내에 있을 것이다.

(57) 청구의 범위

청구항 1.

치료 유효량의 SEQ ID NO:216의 아미노산 서열로 이루어진 폴리펩티드(PRO1313 폴리펩티드) 및 제약학적으로 허용 가능한 담체와의 혼합물을 포함하는, 심혈관 질환, 내피세포 질환 또는 혈관신생 질환의 치료를 위한 제약학적 조성물.

청구항 2.

삭제

청구항 3.

SEQ ID NO:216의 아미노산 서열로 이루어진 폴리펩티드(PRO1313 폴리펩티드)에 특이적으로 결합하는 항체 및 제약학적으로 허용가능한 담체와의 혼합물을 포함하는, 심혈관 질환, 내피세포 질환 또는 혈관신생 질환의 치료를 위한 제약학적 조성물.

청구항 4.

삭제

청구항 5.

제1항에 있어서, 추가로 심혈관계 약제, 내피세포계 약제 또는 혈관형성제 또는 혈관신생 억제제를 포함하는 조성물.

청구항 6.

삭제

청구항 7.

삭제

청구항 8.

삭제

청구항 9.

삭제

청구항 10.

삭제

청구항 11.

(a) 세포와 스크리닝할 시험 화합물을 SEQ ID NO:216의 아미노산 서열로 이루어진 폴리펩티드(PRO1313 폴리펩티드)에 의해 정상적으로 유도되는 세포 반응의 유도에 적합한 생체의 조건 하에 접촉시키고;

(b) 시험 화합물이 효과적인 아고니스트인지를 결정하기 위해 상기 세포 반응의 유도 (이는 시험 화합물이 효과적인 아고니스트임을 표시함)를 확인하는 것을 포함하는, 상기 폴리펩티드의 아고니스트를 확인하는 방법.

청구항 12.

제11항에 있어서, 상기 PRO1313 폴리펩티드에 의해 정상적으로 유도되는 세포 반응이 세포 증식의 자극인 방법.

청구항 13.

시험 화합물을 SEQ ID NO:216의 아미노산 서열로 이루어진 폴리펩티드(PRO1313 폴리펩티드)와 그들이 상호작용할 수 있는 생체의 조건 하에서 충분한 시간동안 접촉시키고, 상기 폴리펩티드의 활성이 억제되는지를 확인하는 것을 포함하는, 상기 폴리펩티드의 활성을 억제하는 화합물의 확인 방법.

청구항 14.

(a) 세포와 스크리닝할 시험 화합물을 SEQ ID NO:216의 아미노산 서열로 이루어진 폴리펩티드(PRO1313 폴리펩티드)의 존재 하에 그에 의해 정상적으로 유도되는 세포 반응의 유도에 적합한 생체의 조건 하에서 접촉시키는 단계; 및

(b) 시험 화합물이 효과적인 길항제인지를 결정하기 위해 상기 세포 반응의 유도를 확인하는 단계를 포함하는, 상기 폴리펩티드의 활성을 억제하는 화합물의 확인 방법.

청구항 15.

제14항에 있어서, 상기 PRO1313 폴리펩티드에 의해 정상적으로 유도되는 세포 반응이 세포 증식의 자극인 방법.

청구항 16.

세포와 시험 화합물을 SEQ ID NO:216의 아미노산 서열로 이루어진 폴리펩티드(PRO1313 폴리펩티드)를 발현시키기에 적합한 생체의 조건 하에 접촉시키고, 상기 폴리펩티드의 발현이 억제되는지를 확인하는 것을 포함하는, 상기 폴리펩티드를 정상적으로 발현하는 세포에서 폴리펩티드의 발현을 억제하는 화합물의 확인 방법.

청구항 17.

삭제

청구항 18.

삭제

청구항 19.

삭제

청구항 20.

삭제

청구항 21.

SEQ ID NO:216의 아미노산 서열로 이루어진 폴리펩티드(PRO1313 폴리펩티드)에 결합하는 단리된 항체.

청구항 22.

제21항에 있어서, 모노클로날 항체인 항체.

청구항 23.

제21항에 있어서, 항체 단편이 Fab, Fab', F(ab')₂ 및 Fv 단편; 디아바디; 선형 항체; 및 단일쇄 항체 분자로 이루어진 군으로부터 선택되는 항체.

청구항 24.

제21항에 있어서, 단일쇄 항체인 항체.

청구항 25.

삭제

청구항 26.

(a) 사람을 제외한 포유동물로부터 수득한 조직 세포의 시험 샘플 및 (b) 동일한 세포 유형의 공지된 정상 조직세포의 대조 샘플에서 SEQ ID NO:216의 아미노산 서열로 이루어진 폴리펩티드(PRO1313 폴리펩티드)를 코딩하는 유전자의 발현도 (대조 샘플과 비교하여 상기 포유동물로부터 수득한 조직 세포의 시험 샘플에서의 보다 높은 발현 또는 보다 낮은 발현은 심혈관 질환, 내피세포 질환 또는 혈관신생 질환의 존재의 표시임)를 분석하는 것을 포함하는, 사람을 제외한 포유동물의 심혈관 질환, 내피세포 질환 또는 혈관신생 질환의 진단 방법.

청구항 27.

사람을 제외한 포유동물로부터 수득한 조직 세포의 시험 샘플에서 SEQ ID NO:216의 아미노산 서열로 이루어진 폴리펩티드(PRO1313 폴리펩티드)의 존재 또는 부재 (상기 시험 샘플에서 상기 폴리펩티드의 존재 또는 부재는 포유동물에서 심혈관 질환, 내피세포 질환 또는 혈관신생 질환의 존재의 표시임)를 검출하는 것을 포함하는, 사람을 제외한 포유동물의 심혈관 질환, 내피세포 질환 또는 혈관신생 질환의 진단 방법.

청구항 28.

(a) 사람을 제외한 포유동물로부터 수득한 조직 세포의 시험 샘플과 SEQ ID NO:216의 아미노산 서열로 이루어진 폴리펩티드(PRO1313 폴리펩티드)에 대한 항체를 접촉시키고, (b) 상기 항체와 시험 샘플 중 상기 PRO1313 폴리펩티드 사이의 결합체 형성을 검출하는 것 (상기 결합체의 형성은 심혈관 질환, 내피세포 질환 또는 혈관신생 질환의 존재의 표시임)을 포함하는, 사람을 제외한 포유동물의 심혈관 질환, 내피세포 질환 또는 혈관신생 질환을 진단하는 방법.

청구항 29.

SEQ ID NO:216의 아미노산 서열로 이루어진 폴리펩티드(PRO1313 폴리펩티드)를 함유하는 것으로 의심되는 사람을 제외한 포유동물로부터 수득한 샘플을 상기 PRO1313 폴리펩티드에 대한 항체와 접촉시키고, 상기 샘플의 성분과 상기 항체의 결합을 확인하는 것을 포함하는, 사람을 제외한 포유동물로부터 수득한 샘플에서 상기 PRO1313 폴리펩티드의 존재를 확인하는 방법.

청구항 30.

적당한 포장 내에 SEQ ID NO:216의 아미노산 서열로 이루어진 폴리펩티드(PRO1313 폴리펩티드)에 대한 항체 및 담체를 포함하는, 심혈관 질환, 내피세포 질환 또는 혈관신생 질환용 진단 키트.

청구항 31.

치료 유효량의 SEQ ID NO:216의 아미노산 서열로 이루어진 폴리펩티드(PRO1313 폴리펩티드)를 사람을 제외한 포유 동물에게 투여하는 것을 포함하는, 사람을 제외한 포유동물의 심혈관 질환, 내피세포 질환 또는 혈관신생 질환을 치료하는 방법.

청구항 32.

삭제

청구항 33.

제31항에 있어서, 상기 질환이 심근경색증인 방법.

청구항 34.

제31항에 있어서, 상기 질환이 심비대증, 외상, 암 또는 연령-관련 황반퇴화증인 방법.

청구항 35.

제34항에 있어서, 상기 심비대증이 고농도의 $PGF_{2\alpha}$ 의 존재가 특징인 방법.

청구항 36.

제31항에 있어서, 상기 PRO1313 폴리펩티드가 심혈관계 억제제, 내피세포계 억제제 또는 혈관형성제와 함께 투여되는 것인 방법.

청구항 37.

제34항에 있어서, 상기 PRO1313 폴리펩티드가 1차 혈관성형술 후에 투여되는 것인 방법.

청구항 38.

제31항에 있어서, 심혈관 질환, 내피세포 질환 또는 혈관신생 질환이 암인 방법.

청구항 39.

제38항에 있어서, 상기 PRO1313 폴리펩티드가 화학요법제, 성장 억제제 또는 세포독성제와의 조합으로 투여되는 것인 방법.

청구항 40.

삭제

청구항 41.

삭제

청구항 42.

SEQ ID NO:216의 아미노산 서열로 이루어진 폴리펩티드(PRO1313 폴리펩티드)를 코딩하는 핵산 분자를 사람을 제외한 포유동물에게 투여하는 것을 포함하는, 사람을 제외한 포유동물의 심혈관 질환, 내피세포 질환 또는 혈관신생 질환을 치료하는 방법.

청구항 43.

삭제

청구항 44.

삭제

청구항 45.

삭제

청구항 46.

제42항에 있어서, 상기 핵산 분자가 생체의 유전자 치료법을 통해 투여되는 것인 방법.

청구항 47.

본질적으로 (1) 프로모터, (2) SEQ ID NO:216의 아미노산 서열로 이루어진 폴리펩티드(PRO1313 폴리펩티드)를 코딩하는 핵산, 및 (3) 상기 폴리펩티드의 세포 분비용 신호 서열로 구성되고, 레트로바이러스 구조 단백질과 결합되어 있는 레트로바이러스 벡터를 포함하는 재조합 레트로바이러스 입자.

청구항 48.

레트로바이러스 구조 단백질을 발현하며, 본질적으로 (1) 프로모터, (2) SEQ ID NO:216의 아미노산 서열로 이루어진 폴리펩티드(PRO1313 폴리펩티드)를 코딩하는 핵산, 및 (3) 상기 폴리펩티드의 세포 분비용 신호 서열로 구성된 레트로바이러스 벡터를 포함하는 핵산 구축물을 포함하며, 구조 단백질과 결합되어 재조합 레트로바이러스 입자를 생산하도록 상기 레트로바이러스 벡터를 패키징하는 생체의 생산 세포.

청구항 49.

SEQ ID NO:216의 아미노산 서열로 이루어진 폴리펩티드(PRO1313 폴리펩티드)를 사람을 제외한 포유동물에게 투여하는 것을 포함하는, 사람을 제외한 포유동물에서 내피세포 성장을 억제하는 방법.

청구항 50.

삭제

청구항 51.

삭제

청구항 52.

삭제

청구항 53.

삭제

청구항 54.

삭제

청구항 55.

삭제

청구항 56.

삭제

청구항 57.

삭제

청구항 58.

삭제

청구항 59.

삭제

청구항 60.

SEQ ID NO:216의 아미노산 서열을 코딩하는 단리된 핵산.

청구항 61.

SEQ ID NO:215의 핵산 서열로 이루어진 단리된 핵산.

청구항 62.

SEQ ID NO:215의 핵산 서열의 전장 코딩 서열로 이루어진 단리된 핵산.

청구항 63.

ATCC 기탁 번호 제203575호로 기탁된 SEQ ID NO:215의 핵산 서열의 DNA의 전장 코딩 서열로 이루어진 단리된 핵산.

청구항 64.

제60항 내지 제63항 중 어느 한 항의 핵산을 포함하는 벡터.

청구항 65.

제64항에 있어서, 벡터로 형질전환된 숙주 세포에 의해 인식되는 조절 서열과 작동가능하게 결합된 벡터.

청구항 66.

제64항의 벡터를 포함하는 단리된 숙주 세포.

청구항 67.

제66항에 있어서, CHO 세포인 숙주 세포.

청구항 68.

제66항에 있어서, 대장균 (*E. coli*)인 숙주 세포.

청구항 69.

제66항에 있어서, 효모 세포인 숙주 세포.

청구항 70.

제66항에 있어서, 바콜로바이러스-감염된 곤충 세포인 숙주 세포.

청구항 71.

제66항의 숙주 세포를 SEQ ID NO:216의 아미노산 서열로 이루어진 폴리펩티드(PRO1313 폴리펩티드)의 발현에 적합한 조건 하에서 배양하고, 세포 배양물로부터 상기 폴리펩티드를 회수하는 것을 포함하는, 상기 폴리펩티드의 제조 방법.

청구항 72.

SEQ ID NO:216의 아미노산 서열로 이루어진 단리된 폴리펩티드.

청구항 73.

삭제

청구항 74.

ATCC 기탁 번호 제203575호로 기탁된 SEQ ID NO:215의 핵산 서열의 DNA의 전장 코딩 서열에 의해 코딩되는 아미노산 서열로 이루어진 단리된 폴리펩티드.

청구항 75.

제72항 또는 제74항의 폴리펩티드가 에피토프 태그 서열의 아미노산 서열 또는 이뮤노글로불린의 Fc 영역의 아미노산 서열에 결합된 것을 포함하는 키메라 분자.

청구항 76.

삭제

청구항 77.

삭제

청구항 78.

제72항 또는 제74항의 폴리펩티드에 특이적으로 결합하는 항체.

청구항 79.

제78항에 있어서, 모노클로날 항체, 인간화된 항체 또는 단일쇄 항체인 항체.

청구항 80.

(a) 결합된 신호 펩티드가 없는, SEQ ID NO:216의 아미노산 서열로 이루어진 폴리펩티드(PRO1313 폴리펩티드)를 코딩하는 단리된 핵산; 또는

(c) 결합된 신호 펩티드가 없는, SEQ ID NO:216의 122-135, 189-229 및 286-307 아미노산으로 이루어진 PRO1313 폴리펩티드의 세포의 도메인을 코딩하는 단리된 핵산.

청구항 81.

(a) 결합된 신호 펩티드가 없는, SEQ ID NO:216의 아미노산 서열로 이루어진 단리된 폴리펩티드(PRO1313 폴리펩티드); 또는

(c) 결합된 신호 펩티드가 없는, SEQ ID NO:216의 122-135, 189-229 및 286-307 아미노산으로 이루어진 PRO1313 폴리펩티드의 세포의 도메인.

도면

도면1

TGGGGCCCCCAGGCTCGCGCTGGAGCGAAGCAGCAATGGGCAGTCGGTGC CGCTGGCCCTGGCGGTCTC
GGCCTTGTCTGTGCTCAGGCTGGAGCTCTGGGGTGTTCGAACTGAAGCTGCAGGAGTTCGTCAACAAGAGGGGCT
GCTGGGGAACCGCAATTGCTGCCCGGGGGCGGGGGCCACCGCGTGCCTGCCGGACCTTCTTCCGCGTGTG
CCTCAAGCACTACCAGGCCAGCGTGTCCCCGAGCCCGCTGCACCTACGGCAGCGCGTCAACCCCGTGTGGG
CGTCGACTCCTTCACTGCTGCCGACGGCGGGGGCGCGACTCCGCTTCCAGCAACCCATCCGCTTCCCTTCGG
CTTCACTTGGCCGGCACCTTCTCTGTATTATTGAAGCTCTCCACACAGATTCTCCTGATGACCTCGCAACAGA
AAACCCAGAAAGACTCATCAGCCGCTGGCCACCCAGAGGCACCTGACGGTGGGCGAGGAGTGGTCCAGGACCT
GCACAGCAGCGGCCGACGACCTCAAGTACTCTTACCCTTCCGTGTGACGAACACTACTACGGAGAGGGCTG
CTCCGTTTTCTGCCGTCGCCGGGACGATGCCTTCCGCACTTCACTTGGGGAGCGTGGGGGAGAAAGTGTGCAA
CCCTGGCTGGAAAGGGCCCTACTGCACAGAGCCGATCTGCCTGCCCTGGATGTGATGAGCAGCATGGATTTGTGA
CAAACCGGGGAATGCAAGTGCAGAGTGGCTGGCAGGGCCGCTACTGTGACGAGTGTATCCGCTATCCAGGCTG
TCTCCATGGCACCTGCCAGCAGCCCTGGCAGTGCACCTGCCAGGAAGGCTGGGGGGCCCTTTCTGCAACAGGA
CCTGGACTACTGCACACCCATAAGCCCTGCAAGAATGGAGCCACCTGCACCAACACGGGCCAGGGGAGCTACAC
TTGCTCTTCCGGCCCTGGGTACACAGGTGCCACCTGCGAGCTGGGGATTGACGAGTGTGACCCCGCCCTGTAA
GAACGGAGGGAGTGCACGAGTCTCGAGAAGCAGTACTCCTGTACTTCCACCCCGCTTCTACGGGAAAATCTG
TGAATTGAGTGCATGACCTGTGGGACGGCCCTTGCCTTAACGGGGTTCGGTGTCTAGACAGCCCGTGGAGG
GTACAGCTGCCGCTGCCCGTGGGCTACTCCGCTTCAACTGTGAGAAGAAAATTGACTACTGCAGCTCTTACC
CTGTCTTAATGGTGCACAGTGTGTGGACCTCGGTGATGCCTACCTGTGCCCTGCCAGGCCGGCTTCTCGGGG
GCACCTGTGACGACAACGTGGACGACTGCGCCTCCTCCCGTGCACCAACGGGGCCACCTGCCGGGATGGCGTAA
CGACTTCTCTGCACCTGCCCGCTGGTACACGGGCAGGAACCTGCAGTGCCTCCGTCAGCAGGTGCAGGACGC
ACCTGCCCAATGGGGCCACCTGCCAGAGAGGGGCCACCGCTATGTGTGCGAGTGTGCCGAGGCTACGGGG
TCCCAACTGCCAGTCTCTGCTCCCGAGCTGCCCGGGCCAGCGGTGGGACTCACTGAGAAGCTAGAGGG
CCAGGGCGGGCCATTCCCTGGGTGGCGTGTGCGCGGGTTCATCCTTGTCTCATGCTGCTGGGTGTGC
CGCTGTGGTGTCTGCGTCCGGCTGAGGCTGCAGAAAGCACCAGCCCGCAGCCGCTGCCGGGGGAGACGGA
GACCATGAACAACCTGGCCAACTGCCAGCGTGAGAAGGACATCTCAGTCAGCATCATCGGGCCACGAGATCAA
GAACCCCAACAAGAAGGGCGACTTCCACGGGGACACAGCGCCGACAAAGAATGGCTTCAAGGCCCGTACCCAGC
GGTGGACTATAAAGCTCGTGCAGGACCTCAAGGGTGCAGACACCGCCGTCAGGGACGCGCACAGCAAGCGTGCAC
CAAGTGCAGCCCGAGGGCTCCTCAGGGGAGGAGAAGGGGACCCCGACCACTCAGGGGTGGAGAAGCATCTGA
AAGAAAAGGCCCGGACTCGGGCTGTCAACTTCAAAAAGACACCAAGTACCAAGTCCGCTCATATCCGAGGA
GAAGGATGAGTGCCTATAGCACTGAGGTGTAATAATGGAAGTGAAGTGGCAAGACTCCGCTTCTCTTAAATA
AGTAAATTTCAAGGATATATGCCCAACGAAATGCTGCTGAAGGAGGGAGGCGCTCCTGACTGCTGCTGAGAA
ACCGAGTTCAGACCCGAGCAGGTTCTCCTCCTGAGTCTCGACCCCTGCCAGCAGCTGTCGCGGCCCGCCCGCC
TGGGGCACTGCTTCCGCTGACCTCGCCGTTGCACATGGACAGTTGCTTAAAGAAATATATATTTAAATGGGT
GAACTGAATTACGATAAAGAAGTGCCTGCCTGAGTGTATATTTGGATTCTTATGAGCCAGTCTTTTCTTGA
ATTAGAAACACAACACTGCCTTTATGTCTTTTGTATACGAAGATGTGCTTTTCTAGATGGAAAAGATGTGT
GTTATTTTGGATTGTGAAAATATTTTTCATGATATCTGTAAGCTTGTAGTATTTTGTGATGTTGTTTTTA
TAATTTAAATTTTGGTAAATATGTACAAAGGCACTTCGGGTCTATGTGACTATATTTTGTATATAAATGTAT
TTATGAAATATGTGCAATGTATTTAGTATTTTACTGTTTTGTTAAAGAAATTCCTTTTAAATAATTT
TCCAAAATAAATTTTATGAATGACAAAAA AA
AAAAAAA

도면2

- 신호 서열 : 아미노산 1-21
- 막횡단 도메인 : 아미노산 546-566
- N-글리코실화 : 아미노산 477-481
- cAMP- 및 -cGMP- 의존성 단백질 키나제 인산화 부위 : 아미노산 660-664
- 티로신 키나제 인산화 부위 : 아미노산 176-185; 252-261
- N-미리스톨일화 부위 : 아미노산 2-8; 37-43; 40-46; 98-104; 99-105; 262-268; 281-287; 282-288; 301-307; 310-316; 328-334; 340-344; 378-384; 387-393; 512-518; 676-682; 683-689; 695-701
- 아스파르트산 및 아스파라긴 히드록실화 부위 : 아미노산 343-355; 420-432; 458-470
- 원핵 세포막 지단백질 지질 부착 부위 : 아미노산 552-563
- EGF-유사 도메인 시스테인 페턴 신호 : 아미노산 243-255; 274-286; 314-326; 352-364; 391-403; 429-441; 467-479; 505-517

MGRSICALAVLSALLCQVWSSGVFELKLEFVNKKGLLGNRNCCRRGAGPPPCACRTFFRVCLKHQASVSPPEP
PCTYGSVAVTAVLGVDSFSLPDGGGADSAFNSPIRFPFGFTWPGTFLSIIIEALHTDSDDLATENPERLISRATQ
RHLTVGEEWSQDLHSSGRDLDLKYRYRFVCDHEHYGEGCSVFCRPRDDAFGHFTCGERGERKVCNPGWKGYCTEPI
CLPFGDEQHGFCDKPGECKRVGWQGRYDCEIRYPGCLHGTCQQPWQCNCQEGWGLFCNQDLNYCTHHPCKN
GATCTNTQGGSYTCSRPGYTGATCELGIDCEDPSPCKNGGSCDLENSYSCTCPPGFYGI CELSAMTCADGPC
FNGGRCSDS PDGGYSRCRPFVGYSGFNCEKKIDYCSSS PCSNGAKVDLGDAYLCRCQAGFSGRHCDNDVDCASS
PCANGGTCRDBVNDFSCTCPPGYTGRNCSAPVSRCEHAPCHNGATCBERGHRVYCECARGYGGPNCQFLPELPP
GPAVVDLTKLEGGQGFPPWVAVCGVILVLMMLLGC AA VVVCVRLFLQKHPAPADPCRGETETMNLNLCQREK
DISVSIIGATQIKNTNKKADFHGDHSADKNGFKARYPAVDVNLVQDLKGDVAVRDAHSKRDTKCPQGSGBEK
GTPPTLRGGEASERKRPDSCGTSKDKTKYQSVYVISEKDECVIATEV

도면3

GGCTCAGAGGCCCTGACCCCTCGGCTCTTCTTGGACTTCTTGTGTGTTCTGTGAGCTTCGCTGGATTACAGG
GTCTTGGGCATCAGAGGTGAGAGGGTGGGAAGTCCCGCGCATGGGGAGCCCTGGCTGCGTACAGCTG
CTGCTCTCTGGGCGCGTCTGGGCGCGGGCGGGCGCCCGCTGCACCTACACCTTCGTGCTGCCCGGAG
AAGTTCACGGGCGCTGTGTGTGGAGCGGCCCGCATCCACGCGGGCGACGCCGAGGGCCCAACGCCAGCGAG
CTGGGCGGCTGCGCATGCGCGTGGGCGCCACGAGGAGCTGTACGCGAGCTGCAGAGGCTGGCGCGGCCGAC
GGCCCGTGGCCGCGAGGTGCGCGCTGCGCAAGGAGAGCCCGGCTGAGCGCGCGCTGGGCCAGTTGCGC
GCGCAGCTCAGCAGAGGCGGGCGCGGGCGGGCCCGGGGGCGATCTGGGGCGGAGCTTCCGCGCGCTG
GCGTGTCTGGGGAGCGGTCTCAACGCTCCCGAGGCTCAGCGCGAGCCCGGTTCCACAGCTGGAC
GTCAAGTTCGCGAGCTGGCGAGCTCGTCAACCAGCAGAGCAGTCTCATCGCCGCTGGAGCGCTGTGCCG
GGAGGCGCGGGCGGACGACAGGCTCTGCCGCCACCCACTGGTGCCTGTGTTCCGGTCCGCTTGTGGGT
AGCACCAGTGACACCAGTAGGATGCTGGACCCAGCCAGAGCCAGAGAGACCAGACCAGAGACAGCAGGAG
CCATGGCTTCTCCATGCCTGCAGTCACTTGGTCCCGCCACAGCTGTGGGCCGTCGAGGATTGTGCA
GAGGCCCGCAGGCGAGCATGAACAGAGTGGAGTGTATGAATGCGAGTGGGCCGTCAGTAGTGTCAATG
TGTGAGCAGCAACTGGAGGTGGAGGTGGACTGTGATCCAGCGAGGCAAGATGGTTCAGTCAACTTCTTCACT
ACCTGCGCAGCACTATAAGGCGGGCTTGGGCGGCCAGACCGAGAACTATGCTGGCTGGCCCTGAACCCGTGTATCAG
CTGACCCAGCTGGGGACCATGAGCTGCTGGTCTCTTGGAGACTGGGGGGCGGTGGAGCAGTGGCCACTAT
GATGGTCTTCTCCGGAACCCAGAGCGACCACTACCGCTGCGGCTTGGCCAGTACCATGGTGTATGCTGGAGAC
TCTCTTCTGGCACAATGACAAGCCCTTACGACCGTGGATAGGACCGAGACTCTATTTCTGGTAACTGTGCC
CTGTACCAAGCGGGAGGCTGGTGTACCATGCTGTGCCACTCAACCTCAACGGTGTGGCACCAGCGCGCC
CACTACCGAAGCCGTACAGGATGGTGTACTACTGGCTGAGTTCGTGGTGGGCAATATCTCTCAGGAAGGCC
CCATGTCTATTCGGCCCTGAAGCTGTGACTCTGTGTTCTCTGTCCCTAGGCCCTAGAGGACATTTGTCAGC
AGGAGCCCAAGTTGTTCTGGCCACACTTCTTGTGGCTCAGTGCCAATGTGTCACAGAACTTCCACTGTGG
ATCTGTGACCTGGGCGCTGAAATGGGACCCAGGAATCCCCCGCTCAATATCTTGGCCTCAGATGGCTCCCA
AGGTCAATCATATCTCGGTTGAGCTCATATCTTATAATAACACAAAGTAGCCAC

도면4

- 신호 서열 : 아미노산 1-20
- N-글리코실화 부위 : 아미노산 58-62; 145-149
- cAMP- 및 cGMP-의존성 단백질 키나제 인산화 부위 : 아미노산 97-101
- 티로신 키나제 인산화 부위 : 아미노산 441-448
- N-미리스토일화 부위 : 아미노산 16-22; 23-29; 87-93; 108-114; 121-127; 125-131; 129-135; 187-193; 293-299; 353-359; 378-384; 445-451; 453-459
- 세포 부착 서열 : 아미노산 340-343
- 피브리노겐 배타 및 감마 사슬 C-말단 도메인 신호 : 아미노산 418-431

MGKFWLRALQLLLLLGASWARAGAPRCTYTFVLPPOKFTGAVCWSPASTRATPEAANASELAALRMRVGRHEEL
LRELQRLAAADGAVAGEVRLRKRGLSARLQQLRAQLQHEAGFGAGPGADLGAEPAAALALLGERVLNASEA
QRAAARFHQLDVKFRELAQLVTQSSLIARLERLCPGGAGGQQQVLPPLVPPVPLVGLVGSSTDSRMLDPAPE
PQRDQTRQEQEPMASMPAGHPAVPTKPVGPWQDCAEARQAGHEQSGVYELRVGRHVSVWCEQOLEGGWTVIQ
RRDDGVSNNFTTQHYKAGFRPDGEYWLGLPEVYQLTSRGDHELLVLEDWGGRRGARHYDGFSLPEPESDHYRL
RLGOYHGDAGDGLSWHNDKPFSTVDRDRDSYSGNICALYQRGGWVYHCAHSNLSNGVWHHGHYRSRYQDGVYWA
FRGGAYSLRKAAMLIRPLKL

도면5

GCGGACGCGTGGGTGAAATTGAAAATCAAGATAAAAAATGTTTCACAATTAAGCTCCTCTTTTATTTGTTCTCTA
GTTATTTCTCCAGAAATGATCAAGACAATTCATCATTGATTTCTCTATCTCCAGAGCCAAAATCAAGATTGCT
ATGTTAGACGATGTAATAATTTAGCCAATGGCTCCCTCAGTTGGGACATGGTCTTAAAGACTTTGTCATAAG
ACGAAAGGCCAAAATTAATGACATATTTCAAAAATCAACATATTTGATCAGTCTTTTATGATCTATCGCTGCAA
ACCAGTGAATCAAGAAAGAAAAGAAAGAACTGAGAAGAACTACATATAAATCAAGTCAAAAATGAAGAGTA
AAGAAATATGTCACCTGAACTCAACTCAAACTTGAAGCCCTCCTAGAAAGAAAAATTTACTTCAACAAAAGTG
AAATATTTAGAAGGCAACTAACTAACTAAATTCAAAATCAACCTGAAACTCCAGAACCCAGAAAGTAACTTCA
CTTAAACTTTGTAGAAAAACAAGATAATAGCATCAAGACCTTCTCCAGACCGTGGAAAGCAATATAAAACAA
TTAAACCAACAGCATAGTCAAAATAAAGAAATAGAAAATCAGCTCAGAAGGACTAGTATTCAAGAACCCACAGAA
ATTTCTCTATCTTCCAAGCAAGAGCACCAAGAACTACTCCCTTCTTCAAGTTGAATGAAAATGAAGATGTA
CATGATGGCATCTCTGCTGAATGTACCACCAATTTATAACAGAGGTGAACATACAAGTGGCATGTATGCCATCAGA
CCCAGCAACTCTCAAGTTTTCTAGTCTACTGTGATGTTATATCAGGTAGTCCATGGACATTAATTCACATCGA
ATAGATGGATCACAAAATTTCAATGAAACGTGGGAGAACTACAAATATGGTTTTGGGAGGCTTGTATGGAGATTT
TGGTTGGGCTTAGAAGATATACTCCATAGTGAAGCAATCTAATATGTTTTACGAATTGAGTTGGAAGACTGG
AAGACACAAACATTAATTTGAATATCTTTTACTTGGGAAATCACGAAACCACTATACGCTACATCTAGTT
GCGATTACTGGCAATGTCCCAATGCAATCCCGAAAACAAGATTTGGTGTTTTCTACTTGGGATCACAAAGCA
AAAGGACACTTCAACTGTCCAGAGGGTTATTCAGGAGGCTGGTGGTGCATGATGAGTGTGGAGAAAACAACCTA
AATGGTAAATAAACAACCAAGAGCAAAAATCTAAGCCAGAGAGGAGAAAGGATTAATCTTGGAACTCAAAAT
GGAAGTTATACTCTATAAAATCAACCAAAATGTTGATCCATCCACAGATTGAGAAAGCTTTGAATGAACTGAG
GCAATTTAAAGGCATATTTAAACATTAACCTCATTTCAAGTTAATGTGGTCTAATAATCTGGTATAAATCTTAAG
AGAAAGCTTAGAATAAGATTTTTTATCTTAAAGTCACTGTCTATTAAAGATTAACATACAATCAATCAATPACC
TTAAAGAAATACCGTTTACATTTCTCAATCAAAAATCTTATAACTACTTTTAAATTTGTGATGTGGGAATC
AATTTTAGATGGTCAACATCTAGATTAATCAATAGGTGAACCTTATAAATAACTTTTCTAAATAAAAAATTTA
GAGACTTTTATTTAAAGGCATCATATGAGCTAATATCAAACTTCCAGTTTAAAAAACCTAGTACTCTTGTGTT
AAAACTTAAACTTGAATAAATACAGAGGACTGGTAATTTGACAGTTCTTAAATGTTGATGATTAATTTCAAAA
CTAAAAATCTGACGACAGATATGTTAAAAATCTGTAATAAATAAATTTTAAACTGATGCTTCAATTTGTGACAA
AAATAATTTGGAGTAAATGTTTGATATGATTTAATTTATGAAACCTAATGAAGCAGAAATTAATACTGATTA
TAAGTTCCGCTGCTTT

도면6

신호 서열 : 아미노산 1-16
 N-클리코실화 부위 : 아미노산 23-27;115-119; 296-300;357-361
 cAMP- 및 cGMP-의존성 단백질 키나제 인산화 부위 : 아미노산 100-104;204-208
 티로신 키나제 인산화 부위 : 아미노산 342-351
 N-미리스토일화 부위 : 아미노산 279-285;352-358; 367-373
 류신 지퍼 페틴 : 아미노산 120-142;127-149

MFTIKLLLFIVPLVISSRIDQNSSPDLSPEPKSRFAMLDVVKILANGLLQLGHGLKDFVHKTKGQINDIFQKL
 NIFDQSFYDLSLQTSSEIKKEEKELRRTTYKLVKNEEVKNMSLELNSKLESLEEKILLQKVKYLEQLTNLIQ
 NQPETPEHPVTSKTFVEKQDINSIKDLLQTVEDQYKQLNQHSQIKEIENQLRRTSIQEPTAISLSSKPRAPRT
 TPFFLQNEIRNVKHDGIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQVPHVYCDVLSGSPWTLIQHRIDGSGNFNETWE
 NYKYGFGRLDGFEWLGLEKIYSIVKQSNYVLRILELEDWKDNKHYIEYSFYLGNHETNYTLHLVAITGNVPNAIPE
 NKDLVFPSTWDHKAKGHFNCPEGYSGGWWHDECGENNINLNGKYNKPRAKSKPERRRGLSWKSNQGRLYSIKSTKML
 IHPDSESEFE

도면7

TATTTACCATATCAGATTCACATTCAGTCCTCAGCAAAATGAAGGGCTCCATTTTCACTCTGTTTTATCTCTG
 TCCTATTTGCCATCTCAGAAGTGCAGGAGCAAGGAGTCTGTGAGACTCTGTGGGCTAGAATACATACGGACAGTCA
 TCTATATCTGTGCTAGCTCCAGGTGGAGAAGGCATCTGGAGGGGATCCCTCAAGCTCAGCAAGCTGAGACAGGAA
 ACTCCTCCAGCTCCACATAAACGTCAGTCTTCTGAGGAAAATCCAGCGCAAAACCTCCGAAGTGGATGCCT
 CAGGGGAAGACCGTCTTTGGGGTGGACAGATGCCCACTGAAGAGCTTTGGAAGTCAAAGAAGCATTTCAGTGATGT
 CAAGACAAGATTACAAAATTTGTGTTGACTGATGGCTGTCCATGACTGATTTGAGTGTCTTTGCTAAGACA
 AGAGCAAAATACCAATGGGTGGCAGAGCTTTATCACATGTTAATTACAGTGTTTACTGCCTGGTAGAACACTA
 ATATTGTGTTATTAATAATGATGGCTTTGGGTAGGCAAACTCTTTTCTAAAAGGTATAGCTGAGCGGTTGAAA
 CCACAGTGATCTCTATTTTCTCCCTTTGCCAAGGTTAATGAAGTGTCTTTTCAAATTTACTAATGCTTTGAAA
 TTTCAAATGCTGCGCAAAATTGCAATAAAAATGCTATAAA

도면8

신호 서열 : 아미노산 1-18
 cAMP- 및 cGMP-의존성 단백질 키나제 인산화 부위 : 아미노산 107-111
 N-미리스토일화 부위 : 아미노산 3-9;52-58;96-102; 125-131
 인슐린 족 신호 : 아미노산 121-136

MKGSIFTLFLFVSVLFAISEVRSKESVRLCGLEYIRTVIYICASSRWRRLLEGIPQAQQAETGNSFQLPHKREFSE
 ENPAQNLPKVDASGEDRLWGGQMPTEELWKSkkHVSMSRQDLQTLCTDGCSTDLALC

도면9

CCCACGCGTCCGAACCTCTCCAGCGATGGAGCCGCCCGCTGCTGCCAACCTCACTCTGTGCTTACAGCTGCT
 GATTCTCTGCTCAAACTCAGTACGTAGGGACACAGGGCCATGACCGACCACTGAGCAGCGCGCAGATCCG
 CGAGTACCAACTCTACAGCAGGACAGTGGCAAGCACGTGACCGGGCGTCCGATCTCCGCCACCCGCGGA
 GSACGGCAACAAGTTTGCCAAAGCTCATAGTGGAGACGGACACGTTTGGCAGCCGGTTCGCATCAAAGGGCTGA
 GAGTGAGAAGTACATCTGTATGAACAAGAGGGGCAAGCTCATCGGGAAGCCAGCGGGAAGAGCAAAGACTGCGT
 GTTACCGGAGATCGTGTGGAGAACAATATACGGCTTCCAGAACGCCCGCACGAGGGCTGGTTTCATGGCCTT
 CACGCGGCAGGGCGGCCCGCCAGGCTTCCCGCAGCCGCGAGAACCAGCGGAGGGCCCACTTCATCAAGCGCCT
 CTACCAGGGCCAGCTGCCCTTCCCCAACCCAGCCGAGAAGCAGAAGCAGTTCGAGTTTGTGGGCTCCGCCCCAC
 CGCCGGACCAAGCGCACAGCGCGGCCCGCCAGCCCTCACGTAAGTCTGGGAGGACAGGGGGCAGCAGCCCTGGGCC
 GCCTCCCAACCCCTTCCCTTCAATCCAAGGACTGGGCTGGGGTGGCGGAGGGAGCCAGATCCCCGAGGGA
 GGACCTGAGGGCCGGAAGCATCCGAGCCCGAGCTGGGAAGGGGAGGGCGGTGCCCCAGGGGCGGCTGGCAC
 AGTCCCCCTTCCCGGACGGGTGGCAGGCCCTGGAGAGGAAGTGAAGTCAACCTGATCTCAGGCCACCGCCTC
 TGCCGGCTTCCAGCCGGGCTCTGAAGCCGCTGAAAGGTCAAGGACTGAAGGCTTGAAGGCTTGCAGACAAACCGTCTGGA
 GGTGGCTGTCTCAAAATCTGCTTCTCGGATCTCCCTCAGTCTGCCCCAGCCCAAACTCTCTGGCTAGAC
 TGTAGGAAGGGACTTTGTTGTTGTTGTTTTCAGGAAAAAGAAAGGGAGAGAGGAAAAATAGAGGGTTGTC
 CACTCTCACATTCACGACCCAGGCTGCACCCCACTCCAGCCCGGAATAAAACCATTTTCTCTG

도면10

신호 서열 :	아미노산 1-22
N-글리코실화 부위 :	아미노산 9-13;126-130
cAMP- 및 cGMP-의존성 단백질 키나제 인산화 부위 :	아미노산 60-64
티로신 키나제 인산화 부위 :	아미노산 39-48;89-97
N-미리스토일화 부위 :	아미노산 69-75;188-194
아미드화 부위 :	아미노산 58-62
HBGF/FGF 족 신호	아미노산 103-128

MGAARLLPNLTLCLQLLILCCQTVVVRDQGMATDQLSRRQIREYQLYSRTSGKHVQVTRRISATAEDGNKFAKLI
IVETDTPGSRVRIKGAESEKYICMNRGKLI GKPSGKSKDCVFTEIVLENNYTAQNARHEGWFMFAFTRQGRPRQ
ASRSRQNRQEAHFIKRLYQQQLPFPNHAEKQKQFEFVGSAPFTRTRKRTRRPQPLT

도면11

GCAGCTGGTTACTGCATTTCCATGTGGCAGACAGAGCAAAGCCACACGCTTCTCTGCTGGATTAAGACGG
CCCACAGACCAGAACTTCCACTATACTACTTAAAATTACATAGGTGGCTTGTCAAATTCAAATTGATTAGTATTGT
AAAAGGAAAAAGAAAGTTCTCTTACAGCTTGGATTCAACGGTCCAAAACAAAAATGCAGCTGCCATTAAGTCT
CAGATGAACAAACTTCTACACTGATTTTAAAATCAAGAATAAGGGCAGCAAGTTCTGGATTCACTGAATCAAC
AGACCAAAAAGCTGGCAATATAGCAACTATGAAGAGAAAAGCTACTAATAAAAATTAACCCAACCCATAGAAGAC
TTTTTTTTCTCTCTAAAACAACCTAAGTAAAGACTTAAATTTAAACACATCATTTTACACCTCATTTCAAAA
GAAGACTTTTACCTGGACCCCTAGGTGTGCTATTCTTCCFACTAGTGGACACTGGACATTCAGAGGTGGACAAT
CAAAAATAAAAAATAAACAGAGAAGATACCTCGTGCCACAGATGGTAAAGAGGAAGCAAAGAAATGTCATA
CACATTCCTGTACTCTGAACAAAGAATAACAGGGCCAATCTGTGTCAACCCAAAGGGCAAGATGCAAGTACCAT
TAAAGACATGATCACCAGGATGGACCTTGAAAACCTGAAGGATGTGCTCTCCAGGCAGAAAGCGGGAGATAGATG
TCTGCAACTGGTGGTGGATGTAGATGGAACATTTGTAATGAGGTAAGCTGTGAGAAAGGAAAGCCGTAACAT
GAACTCTCGTGTACTCAACTCTATATGCAATTTATCATGAGATTATCCGTAAGAGGGATAATTCACTGAACT
TTCCCAACTGGAAAACAAAATCCTCAATGTCCACACAGAAATGTTGAAGATGGCAACAGATAACAGGAACTAGA
GGTGAATACGCTTCTTACTGATCTTGTCAATAACCAATCTGTGATGATCACTTTGTTGGAAGAACAGTGTCT
GAGGATATTTCCCGACAAGACACCCATGTGTCTCCCCACTTGTCCAGGTGGTCCCAACATATTCCTAACAG
CCAACAGTATACTCCTGGTCTGTGGGAGGTAACGAGATTCAGAGGGATCCAGGTATCCAGAGATTAAATGCC
ACCACCTGATCTGGCAACTTCTCCCAAAAAGCCCTTCAAGATACCACCGTAACTTTCATCAATGAAGGACC
ATTCAAAGACTGTGCAAGCAAAGAAGCTGGGCATTCGGTCACTGGGATTTATATGATTAACCTGAAAACAG
CAATGGACCAATGCAGTTATGGTGTGAAAACAGTTTGGACCTGGGGTTGGACTGTTATTCAGAAAAGAACAGA
CGGCTCTGTCAACTTCTCAGAAATGGGAAAATTTAAGAAAGGGTTTGGAAACATTCAGCGAGAAATCTGGCT
TGGACTGGAAAATATCTATATGCTTAGCAATCAAGATAATTACAAGTTATGATTGAATTAGAAGACTGGAGTGA
TAAAAAAGTCTATGCAGAAATACAGCAGCTTTCGCTCGAACTGAAAGTGAATTCATAGACTGCGCCTGGGAAC
TTACCAGGAAAATGCAGGGGATTCATATGATGTGGCATAATGGTAAACAAATTCACCACACTGGACAGAGATAAGA
TATGTATGCAGGAACTGCGCCACTTTCATAAAGGAGGCTGGTGTACAAATGCTGTGCACATTTCAACTAAA
TGGAGTATGGTACAGAGGAGGCCATTACAGAAGCAAGCACCAAGATGGAATTTCTGGGCCGAAATACAGAGGCGG
GTCATACTCCTTAAGAGCAGTTTCAGATGATGATCAAGCCTATTGACTGAAGAGACACTCGCCAAATTAATGA
CACAGAACTTTGTACTTTTCAGCTCTTAAAAATGTAATGTTACATGTATATTACTTGGCACAATTTATTTCTAC
ACAGAAAGTTTTTAAAAATGAATTTTACCCTAACTATAAAGGGAACTATAAATGTAGTTTTCATCTGTCTCAAT
TACTGCAGAAAATTTATGTATCCCAACCTAGTTATTTAAAAATTTATGTTGACTAAAATACAAAGTTTGTCTT
TAAAAATGTAATATTTGCCACAATGTAAGCAAACTTTAGCTATATTTTAAATCATAAATAACATGTTCAAGATA
CTTAAACAATTTATTTAAAAATCTAAGATGTCTTAACTGTAGTAAAAAATATTTTTTAAATTTTCAAGCCAAATA
ATGCAATTTATTTTAAAAATACAGACAGAAAATTAGGGAGAACTTCTAGTTTGGCCAAATAGAAAATGTTCTT
CCATTGAATAAAGTTATTTCAAAATGAATTTGTGCTTTTACACGTAATGATTAATCTGAATTTCTTAATAATA
TATCCTATGCTGATTTTCCCAAACATGACCCATAGTATTAATACATATCATTTTTAAAAATAAAAAAACCC
AAAAATAATGCATGCATAATTTAAATGGTCAATTTATAAAGCAAACTCTATGAATGAATTTTTCAGTGTATCTT
CATATGATATGCTGAACACCAAAATCTCCAGAAATGCATTTATGTAGTTCATAAATCAGCAAAATATGGTATT
ACAAAATGCGAATATTTAGTGTGCTACAGATCGAATATAGTTCATATTTATTTACTTTTTTCTAATTT
ACTGATCTTACTACTACAAGAAAAAACCACCCATCTGCAATTCAAATCAGAAAGTTTGGACAGCTTTAC
AAGTATTAGTGCATGCTCAGAACAGGTGGACTAAAACAACTCAAGGAACTGTGGCTGTTTTCCCGATCTGA
GAATTCACAGCTCCAGAGCAGAAGCCACAGGGCATAAGCTAGTCCAACTGCTAATTTTCAAGTGTAT
GTAACGCTTAGTCTCACAGTGTCTTAACTCATCTTGAATCAACAACCTTACTAGTGACTTTCTGGAACAAT
TCCTTTAGGAAATACATATTTCACTGCTTAGAGGTGACCTTGCTTAATATATTTGTGAAGTAAAAATTTAAAGA
TAGCTCATGAACTTTTGTCTAAGCAAAAAGAAAACCTCGAATTTGAATGTGTGAGGCCAACTATGATGGGAAT
AGCTTAATGTGAAGATAATCATTTGGACAACCTCAAATCCATCAACATGACCAATGTTTTTCTCTGCCACATCTC
AAAAATAAACTTCTGGTGAACAAATTAACAAAATATCCAAACCTCAAAAAA

도면16

신호 서열 : 아미노산 1-23
 N-클리코실화 부위 : 아미노산 173-177
 cAMP- 및 cGMP-의존성 단백질 키나제 인산화 부위 : 아미노산 63-67;259-263
 티로신 키나제 인산화 부위 : 아미노산 28-37
 N-미리스토일화 부위 : 아미노산 156-162;178-184; 207-213;266-272;287-293

MRALEGGPLSLLCLVLPALLPVPVAVRVAETPTYPWRDAETGERLVCAQCPPTFVQRPCRDSPTTCGCPFP
 RHYTQFWNYLERCRYCNVLCGEREEERACHATHNRACRCRTGFFAHAGFCLHASCPPGAGVIAFPTPSQNTQC
 QFCFPSTFSASSSSSEQPQRNCTALGLALNVPSSSHDTLCTSTCTGFFLSTRVPGAECECAVIDFVAFODIS
 IKRLQRLQALEAPEGWGPTPRAGRAALQKLFRRRLTELLGAQDGLVLRLLQALRVARMPGLERSVRERFLPVH

도면17

CGGACGCGTGGGCGGACGCGTGGGCGGCCACGGCGCCCGGGGCTGGGGCGGTGCTTCTCCTTCTCCGTGGC
 CTACGAGGGTCCCAGCCTGGGTAAGATGGCCCCATGGCCCCGAAGGGCCTAGTCCCAGCTGTGCTTGGGGC
 CTCAGCCTCTTCTCAACTCCCAGGACTATCTGGCTCCAGCCCTCTCCACCTCCCAGTCTTCTCCCCGCC
 CAGCCCCATCCGTGTACACTGCCGGGACTGGTTGACAGCTTAAACAAGGGCCTGGAGAGAACCATCCGGGAC
 AACTTTGGAGGTGGAACACTGCCCTGGGAGGAAGAGAATTTGTCCAAATACAAAGACAGTGAGACCCGCTGGTA
 GAGTGTGTGAGGGTGTGTGCAGCAAGTTCAGACTTCGAGTGCCACCCTGCTGGAGCTGAGTGAGGAGCTGGTG
 GAGAGCTGGTGGTTTCAAGCAGCAGGAGGGCCCCGGACCTCTTCCAGTGGCTGTGCTCAGATTCCCTGAAAGTC
 TGCTGCCCGCAGGCACCTTCGGGCCCTCCTGCCTTCCCTGCTCCTGGGGGAACAGAGAGGGCCCTGGCGTGGTAC
 GGGCAGTGTGAAGGAGAAGGGACACGAGGGGGCAGCGGGCACTGTGACTGCCAAGCCGGCTACGGGGGTGAGGCC
 TGTGGCCAGTGTGGCCTTGGCTACTTTGAGGCAGAACGCAACGCCACCATCTGGTATGTTCCGGCTTGTGTTGGC
 CCCTGTGCCCGATGCTCAGGACCTGAGGAATCAAACCTGTTGCAATGCAAGAGGGCTGGGCCCTGCATCACCTC
 AAGTGTGTAGACATGATGAGTGTGGCAGAGGGGAGCCAACTGTGGAGCTGACCAATCTCTGCCTGAACACTGAG
 GGCTCCTATGAGTGGCCGAGACTGTGCCAAGGGCTGCCCTAGGCTGCATGGGGCAGGGCCAGGTGCTGTAAAGA
 TGTAGCCCTGGCTATCAGCAGGTGGCTCCAAGTGTCTCGATGTGGATGAGTGTGAGACAGAGGTGTGTCGGGA
 GAGAACAGCAGTGTGAAAAACCCGAGGGCGGTTATCGCTGCATCTGTGCCGAGGGCTACAAGCAGATGGAAGGC
 ATCTGTGTGAAGGAGCAGATCCCAGAGTCCAGCAGGCTTCTTCTCAGAGATGACAGAAAGACGAGTTGGTGGTCTG
 CAGCAGATGTTCTTTGGCATCATCTGTGCCTGGCCACGCTGGCTGCTAAGGGCGACTTGGTGTTCACCGCC
 ATCTTCAATTGGGGCTGTGGCGGCCATGACTGGCTACTGGTTGTGAGAGCGCAGTACCCTGTGCTGGAGGGCTTC
 ATCAAGGGCAGATAATCGCGGCCACCACTGTAGGACCTCCTCCACCCACGCTGCCCCAGAGCTTGGGCTGCC
 CTCTGTGTGACACTCAGGACAGCTTGGTTTATTTTGGAGTGGGGTAAGCACCCCTACTGCTTACAGAGCA
 GCCCAGGTAACCCAGGCCCGGGCAGCAAGGCCCTGGGGTAAAGTAGCCCTGAAGGTGGATACCATGAGCTCT
 TCACCTGGCGGGGACTGGCAGGCTTCACAATGTGTGAATTCAAAAGTTTTCCTTAATGGTGGCTGTAGAGCT
 TTGGCCCTGTAGGATTAGGTGGTCTCAGAGGGGTGGGGCCATCAGAGCTCCCTCTGCCAGTGTGATGCTG
 CCAGTTCCGTGTTGTGTTACACACATCCACACCCCATGACCCTTATTTATTCATCTCAGGAAATAAGAAA
 GGCTTGGAAAGTTAAAAA

도면18

신호 서열 : 아미노산 1-29
 막횡단 도메인 : 아미노산 342-392
 N-클리코실화 부위 : 아미노산 79-83;205-209
 cAMP- 및 cGMP-의존성 단백질 키나제 인산화 부위 : 아미노산 290-294
 아스파르트산 및 아스파르진 히드록 실화 부위 : 아미노산 321-333
 EGF-유사 도메인 시스테인 페턴 신호 : 아미노산 181-193

MAFWPFGKGLVPAVLWGLSLFLNLPPIWLPSPPPQSSPPPQHPCHTCRGLVDSFNKGLERTIRDNFVGGNTAW
 EENENLSKYKDSERLVEVLEGVCSKSDFECHRLLELSEELVESWVFKHQEAPDLFQWLCSDSLKLCPPAGTFGP
 SCLPCPGGTERPCGGYGQCEGEGTRGGSGHCDQAGYGGEEACGQCGLGYFEAERNASHLVCSACFGPCARCSPGPE
 ESNLQCKKGWALHHLKCVDIIDECGTEGANCGADQFCVNTGESSYECRDCAKACLGCMMGAGPGRCKKCSPPYQVVG
 SKCLDVDECETEVCPGENKQCENTEGGYRCICAEYKQMEGICVKEQIPESAGFFSEMTEDELVVLLQMPFGI I
 CALATLAARGDLVFTAIFIGAVAAMTYWLSERSDRVLEGFIKGR

도면19

CCAGGCCGGGAGGCGACGCGCCACGCGTCTAAACGGGAACAGCCCTGGCTGAGGGAGCTGCAGCGCAGCAGAGT
ATCTGACGGCCAGGTTGCGTAGGTGCGGCACGAGGAGTTTCCCGGCAGCGAGGAGTCTGAGCAGCAGTGGC
CCGGAGGAGCGCCTCCCTGCCCGCCGCTCTGGCTCTGGAGCATCCCTCCTGTGCTGCTGGCAGTCCGGGGCGGA
GGCCGGCCCGCCGAGGAGGAGCCTGTACCTATGGATCGATGCTCACCGGCAAGAGTACTCATAGGATTTGA
AGAAAGATATCCTGATGTTTCAGAGGGGAAAAATGGCACCTTTACACATGATTTAGAAAAGCGCAACAGAGAAT
GCCAGCTATTCCTGTCAATATCCATTCCATGAATTTACCTGGCAAGCTGCAGGGCAGGCAGAATACTTCTATGA
ATTCCTGTCCCTGGCTCCCTGGATAAAGGCATCATGGCAGATCCCAACCGTCAATGTCCCTCTGTGGGAACAGT
GCCTCACAGGCATCAGTTGTTCAAGTTGGTTTCCCATGCTTGGAAAAACAGGATGGGGTGGCAGCATTTGAAGT
GGATGTGATGTTATGAATCTGAAGGCAACACCATTCTCCAAACACCTCAAAATGCTATCTCTTTAAACATG
TCAACAAGCTGAGTGCCAGGGGGTCCGAAATGGAGGCTTTGTAATGAAAGACGCATCTGCCAGTGTCTTGA
TGGTTCCACGGACCTCACTGTGAGAAAGCCCTTTGTACCCACGATGTATGAATGGTGGACTTTGTGTACTCC
TGGTTTCTGCATCTGCCACCTGGATTCTATGGAGTGAACGTGACAAAGCAAACCTGCTCAACCACTGCTTTAA
TGGAGGGACCTGTTTACCCTGGAAAAATGATTTGCCCTCCAGGACTAGAGGGAGAGCAGTGTGAAATCAGCAA
ATGCCCAACACCTGTGCAAAATGGAGGTAAATGCATTGGTAAAAGCAAATGTAAGTGTCCAAAGGTTACCAGGG
AGACCTCTGTTCAAAGCCTGTCTGCGAGCCTGGCTGTGGTGACATGGAACCTGCCATGAACCCAAACAAATGCCA
ATGTCAAAGAGGTTGCGATGGAAGACCTGCAATAAAAGGTACGAAGCCAGCCTCATAATGCCTGAGGCCAGC
AGCGGCCAGCTCAGGCAGCACACGCTTCACTTAAAAGGCGAGGAGCGGGGATCCACCTGAATCCAATTA
CATCTGGTGAACCTCCGACATCTGAAACGTTTTAAGTTACACCAAGTTCATAGCCTTTGTTAACCTTTTATGTT
GAATGTTCAAATAATGTTTACACTTAAGAATACTGGCCTGAATTTTATAGCTTCATTATAAACTCACTGAGC
TGATATTTACTCTTCTTTAAGTTTTCTAAGTACGCTGTAGCATGATGGTATAGATTTTCTGTTTCAGTGT
TTGGGACAGATTTATATTTATGCAATGATCAGGTAAAATTTTCACTGTGTAGTTGGCAGATATTTTCAAAT
TACAATGCATTTATGGTGTCTGGGGCAGGGGAACATCAGAAAGGTTAAATGGGGCAAAATGCGTAAGTCACAA
GAATTTGGATGGTGCAGTTAATGTTGAAGTTACAGCATTTCAGATTTTATGTCAGATATTTAGATGTTTGTAC
ATTTTTAAAAATGCTCTTAATTTTTAACTCTCAATACAAATATTTTGACCTTACCATTATCCAGAGATTCA
GTATTAATAAAAAAAATTAACACTGTGGTAGTGGCATTAAAACAATATAATATTTCTAAACACAAATGAATAG
GGAATATAATGATGAACCTTTTGCATTTGGCTTGAAGCAATAAATAATTTGTAACAACAAACACAGCTCTTACCT
AATAAACATTTTATACTGTTGTATGTATAAAATAAAGGTGCTGCTTTAGTTTTTTGGAAAAAATAAAAAA
AAAAAAA

도면20

- 신호 서열 : 아미노산 1-28
- N-클리코실화 부위 : 아미노산 88-92; 245-249
- 티로신 키나제 인산화 부위 : 아미노산 370-378
- N-미리스토일화 부위 : 아미노산 184-190; 185-191; 189-195; 315-321
- ATP/GTP- 결합 부위 모티프 A (P-루프) : 아미노산 285-293
- EGF- 유사 도메인 시스테인 패턴 신호 : 아미노산 198-210; 230-242; 262-274; 294-306; 326-338

MARRSAPPAALWLWSILLCLLALRAEAGPPOEESLYLWIDAHQARVLI GFEEIILIVSEGMAPPFTHDFRKAQQ
RMPAIPVNTHSMNFTWQAAGQAEYFYEFLSLRSLDKGI MADPTVNVPLLGTVPHKASVVQVFPCLGKQDGVAAAF
EVDVIVMSEBNTILQTPQNAIFFKTCQQAECPPGGRNGGFCNERRICECPDGFHGPHEKALCTPRCMNGGLCV
TPGFICPPGFYGVNCDKANCSTTFCNGGTCFYPGKICPPGLEGEQCEISKCPQPCRNGGKCI GKSKCKSKGY
QGLDCKPVCPEPGCAHGTCHENPKCQCQEGWHGRHCNKRYEASLIHALRPAGAQLRQHTPSLKAERDDPPES
NYIW

도면21

CAGCGCTGGCCGGCCGCTGTGGGACAGCAGTGGAGCGGCGTTGGATGGCGAGGTTGGAGCGTGGCGAACAG
GGGCTCTGGCCCTGGCGCTGTGCTGTGCTCGGCCTCGGACTAGGCCTGGAGGCCCGCCGAGCCCGCTTTCCACC
CCGACCTCTGCCAGGCCGAGGCCCGCAGCTCAGGCTCGTGCCCAACCAAGTTCCAGTGCCGCAACCAAGTGGC
TTATGCGTGCCTTCACCTGGCGCTGCGACAGGGACTTGGACTGCAGCGATGGCAGCGATGAGGAGGAGTGCAGG
ATTGAGCCATGTACCAGAAAGGGCAATGCCACCGCCCTGGCCTCCCTGCCCCGTCAGTGCACCGCGCTCAGTGC
TGCTCTGGGGAACTGACAAGAACTGCGCAACTGCAAGCCGCTGGCCTGCTTAGCAGGCGAGCTCCGTTGCAAG
CTGAGCGATGACTGCATTCCACTCACGTGGCGCTGCGACGGCCACCCAGACTGTCCCGACTCCAGCGACGAGCTC
GGCTGTGGAACCAATGAGATCTCCCGAAAGGGGATGCCAACCATGGGGCCCCCTGTGACCTGGAGAGTGTGTC
ACCTCTCAGGAATGCCACAACCAAGGGCCCTGTGACCTGGAGAGTGTCCCTCTGTGCGGAATGCCACA
TCCTCTCTGCCGAGACCAGCTGGAAGCCCAACTGCCTATGGGGTTATGTCAGCTGTGCGGTGCTCAGTGCA
AGCCTGGTCAACCCACCTCTCTCTTTGTCTGGCTCCGAGCCAGGAGCGCTCCGCCACTGGGGTTACTG
TGGCCATGAAGGAGTCCCTGCTGTGTGAGAACAGAACCTCGCTGCCCTGAGGACAAAGCACTTGCACCCACT
GTCACCTAGCCCTGGCGTAGCCCGGACAGGAGGAGCAGTGTGATGCGGATGGGTACCCGGGCACACAGCCCTCA
GAGACCTGAGTTCTCTGGCCACGTGGAACCTCGAACCCGAGCTCTGCAGAGTGGCCCTGGAGATTGAGGGTCCC
TGGACTCTCCATGAGGATCCGGGGAGCTAGGATGGGAACTGCCACAGCCAGAATGAGGGCTGGCCCCAGT
GCAGCTCCAGGGGGTAGAACGGCCCTGTGCTTAAAGCACTCCCTGCTGCCCGTCTGAGGGTGGCGATTAAAGT
TGCTTC

도면22

신호 서열 :	아미노산 1-30
막횡단 도메인 :	아미노산 231-248
N-클리코실화 부위 :	아미노산 126-130;195-199; 213-217
N-미리스토일화 부위 :	아미노산 3-9;10-16;26-32; 30-36;112-118;166-172;212-218; 224-230;230-236;263-269
원핵 세포막 지단백질 지질 부착 부위 :	아미노산 44-55
류신 지퍼 패턴 :	아미노산 17-39

MSGGWMAQVGAWRTGALGLALLLLGLGLGLEAAASPLSTPTSAQAAGPSSGSCPPTKFQCRTSGLCVPLTWRCRDLDCSDGSDDEEERICIEPTQKQCQPPPPGLPCPCTGVSDCSGGTDKLRNCSRRLACLAGELRCTLSDDCIPLTW RCDGHPDCPDSSDELGCGTNEILPEGDATTMGPPVTLESVTSLRNATTMGPPVTLESVPSVGNATSSSAGDQSGS PTAYGVIAAAAVLSASLVTATLLLSWLRAQERLRPLGLLVAMKESILLSEKQTSLP

도면23

GGGTCTCCCTCAGGGCCGGGAGGCACAGCGTCCCTGCTTGTGTAAGGGCTGGATGTACGCATCCGCAGGTTCC CGCGGACTTGGGGGCGCCCGCTGAGCCCGGGCGCCCGAGAAGACTTGTGTTGCCTCCTGCAGCCTCAACCCGG AGGGCAGCGAGGGCCTACCACCATGATCACTGGTGTGTTTCAGCATGCGCTTGTGGACCCAGTGGGCGTCTGAC CTCGCTGGCGTACTGCCTGCACCAGCGGGCGGTGGCCCTGGCCGAGCTGCAGGAGGCCGATGGCCAGTGTCCGCT CGACCCGAGCCTGCTGAAGTTGAAAATGGTGCAGGTCGTGTTTCGACACGGGGCTCGGAGTCCCTCTCAAGCCGCT CCCGCTGGAGGAGCAGGTAGAGTGGAAACCCAGCTATTAGAGGTCCCACCCAAACTCAGTTTGATTACACAGT CACCAATCTAGCTGGTGGTCCGAAACCATATTCTCCTTACGACTCTCAATACCATGAGACCACCTGAAGGGGG CATGTTTGTCTGGGCGAGTACCAAGGTGGGCATGCAGCAAAATGTTTGCCTTGGGAGAGAGACTGAGGAAGAACTA TGTGGAAGACATTCCTTTCTTACCAACCTTCAACCCACAGGAGGCTTTATTTCGTTCCACTAACATTTTTCG GAATCTGGAGTCCACCCGTTGTTTGTCTGGCTGGGCTTTTCCAGTGTGAGAAAGAAAGGCCATCATCATCCACAC TGATGAAGCAGATTCAGAAGTCTTGATCCCAACTACCAAGCTGCTGGAGCTGAGGCGAGAGAACCAGAGGCCG GAGGCAGACTGCCTCTTACAGCCAGGAATCTCAGAGGATTTGAAAAGGTGAAGGACAGGATGGGCATTGACAG TAGTGATAAAGTGGACTTCTTCATCCTCCTGGACAACGTGGCTGCCGAGCAGGCACACAACCTCCCAAGCTGCC CATTGCTGAAAGATTTGCAGGATGATCGAACAGAGAGCTGTGGACACATCTTGTACATACTGCCCAAGGAAGA CAGGAAAGTCTTCAGATGGCAGTAGGCCCATTCCTCCACATCCTAGAGAGCAACCTGCTGAAAGCCATGGACTC TGCCACTGCCCCGACAAGATCAGAAAGCTGTATCTCTATGCGGCTCATGATGTGACCTTCATACCGCTCTTAAT GACCTGGGATTTTGGACCACAAATGGCCACCGTTGCTGTTGACCTGACCATGGAACTTTACCAGCCTGGA ATCTAAGGAGTGGTGTGTCAGCTCTATTACCACGGGAAGGAGCAGGTGCCGAGAGGTTGCCCTGATGGGCTCTG CCCGCTGGACATGTTCTGAAATGCCATGTAGTTTATACCTTAAGCCAGAAAATAACCATGCACCTGTCTCTCA AACTCAGGTGATGGAAGTGGAAATGAAGAGTAACTGATTTATAAAGCAGGATGTGTTGATTTAAAATAAAGT GCCTTTATACAATG

도면24

신호 서열 :	아미노산 1-23
cAMP- 및 cGMP- 의존성 단백질 키나제 인산화 부위 :	아미노산 218-222
티로신 키나제 인산화 부위 :	아미노산 280-288
N-미리스토일화 부위 :	아미노산 15-21;117-123; 118-124;179-185;240-246;387-393
아미드화 부위 :	아미노산 216-220
류신 지퍼 패턴 :	아미노산 10-32
히스티딘산 포스페타제 포스포히스티딘 신호 :	아미노산 50-65

MITGVFSMRLWTPVGLTSLAYCLHQRRVALAELQEADGQCPVDRSLKLMVQVFRHGARSPLKPLPLEEQVE WNPQLLEVPPQTQFDYTVNLAGGPKPYSPYDSQYHETTLKGGMFAGQLTKVGMQMFALGERLRKNYVEDIFFL SPTFNPQEVFIRSTNIFRNLESTRCLLAGLPQCQKEGFIIHTDEADSEVLVYPNYQSCWSLRQTRRRQTASLQ PGISEDLLKVKDRMGIDSSDRVDFIILLDNVAAEQAHNLPSCPMLKRFARMI EQRAVDTSLYILPKEDRESLQMA VGFPLHILESNNLKAMDSATAFPDKIRKLYLYAAHDVTFIPLMLTGLIFDHWKPPFAVDLTMELYQHLESKEWFVQ LYYHGKEQVPRGCPDGLCPDMFLNAMSVVYTLSPKHYHALCSQTVMEVGNEE

도면25

CGAGGGCTTTCCGGCTCCGGAATGGCACATGTGGAAATCCAGTCTTGTGGCTACAACATTTTCCCTTTCTT
AACAAAGTTCTAACAGCTGTCTAACAGCTAGTGATCAGGGGTTCTTCTGTGGAGAGAAAGGGCTGAGGGGAG
AGCAGGGCACTCTCACTCAGGGTGACAGCTCCTTGCCCTCTCTGTGGATAACAGAGCATGAGAAAGTGAAGAGAT
GCAGCCGAGTGAGGTGATGGAAGTCTAAAATAGGAAGGAAATTTGTGTGCAATATCAGACTCTGGGAGCAGTTGA
CCTGGAGAGCTGGGGGAGGGCTGCCTAACAGCTTTCAAAAACAGGAGCGACTTCCACTGGGCTGGGATAAG
ACGTGCCGGTAGGATAGGAAGACTGSGTTTGTCTTAATATCAAAATGACTGGCTGGGTGAACCTCAACAGCCT
TTTAACCTCTCTGGGAGATGAAAACGATGGCTTAAGGGCCAGAAATAGAGATGCTTCTAAAATAAAAATTTAA
AAAAGCAAGTATTTATAGCATAAAGGCTAGAGACCAAAATAGATAACAGGATTCCTGAACATTCCTAAGAGG
GAGAAAGTATGTTAAAAATAGAAAAACCAAAATGCAGAAGGAGGAGACTCACAGAGCTAAACCAGGATGGGGACC
CTGGGTCAAGGCCAGCCTCTTTGTCTCCCGGAAATATTTTGTCTGACCACTCTGCCTTGTGTTTGCAGAA
TCATGTGAGGGCCACCGGGGAAGGTGGAGCAGATGAGCACACACAGGAGCCGTCTCTCACCCGCGCCCTCTC
AGCATGGAACAGAGGAGCCCTGGCCCGGGCCCTGGAGGTGGACAGCCGCTCTGTGGTCTGTCTCAGTGGTC
TGGGTGTGTGGCCCCCAGCAGCCGGCATGCCTCAGTTCAGCACCTTCCACTCTGAGAATCGTGACTGGACC
TTCAACCACTTGACCGTCCACCAAGGGACGGGGCCGTCTATGTGGGGCCATCAACGGGTCTATAAGCTGACA
GGCAACCTGACCATCCAGTGGCTATAAGACAGGGCCAGAAAGGACAACAAGTCTCGTTACCCGCCCCCTCATC
GTGCAGCTTGCAGCGAAGTGCTCACCCACCAACATGTCAACAAGCTCATCATGACTCTTGAGAAC
CGCCTGCTGGCCTGTGGGAGCCTCTACCAGGGGTCTGCAAGCTGTGCGGTGGATGACCTTTCATCTGTGTG
GAGCCATCCACAGAAGGAGCACTACCTGTCCAGTGTCAACAAGACGGGACCATGTACGGGGTGTGTGCGC
TCTGAGGGTGAAGTGGCAAGCTTTCATCGGCACGGCTGTGGATGGGAAGCAGGATTACTTCCGACCTTGTCC
AGCCGGAAGCTGCCCGAGACCTGAGTCTCAGCCATGCTCGACTATGAGCTACACAGCGATTTTGTCTCCTCT
CTCATCAAGATCCCTTACAGACCCCTGGCCCTGGTCTCCACTTTGACATCTTACATCTACGGCTTTGTAGT
GGGGCTTTGTCTACTTTCTCAGCTGTCAGCCGAGACCCCTGAGGGTGTGGCCATCAACTCCGCTGGAGACTC
TTCTACACTCACGCATCGTGGGCTCTGCAAGGATGACCCCAAGTTCCACTCATAAGTGTCCCTGCCCCCTGCG
TGACCCCGGGCCGGGTGGAATACCGCTCCTGACGGTGTACTTACCTGGCCAAAGCCTGGGGACTCAGTGGCCAG
GCCTTCAATATCACAGCCAGGACGATGTACTCTTGGCATCTTCTCCAAGGGCAGAAGCAGTATCACACCCG
CCGATGACTCTGCCCTGTGTGCTTCCCTATCCGGGCCATCAACTGACAGATCAAGGAGCGCCTGACGTCCTGC
TACCAGGGCCAGGGCAACCTGGAGCTCAACTGGCTGCTGGGGAAGGACGTCCAGTGCACGAAGGGCCCTGTCCC
ATCGATGATAACTTCTGTGACTGGACATCAACCAGCCCTGGGAGGCTCAACTCCAGTGGAGGGCTGACCTGT
TACACCACAGCAGGACCGCATGACCTCTGTGGCTCCTACGTTTACAACGGCTACAGCGTGGTTTTTGTGGGG
ACTAAGAGTGGCAAGCTGAAAAGGTAAAGAGTCTATGAGTTGAGATGCTCCAATGCCATTCACTCTCAGCAAA
GAGTCCCTTTGGAGGTAGCTATTTGGTGGAGATTAAGTATAGGCAACTTTATTTTCTGGGGAAACAAGGTGA
AATGGGGAGGTAAGAAGGGGTTAATTTGTGACTTAGCTTCTAGCTACTTCCAGCCATCAGTCAATGGGTATG
TAAGGAATGCAAGCGTATTTCAATTTTCCCAACTTTAAGAAAAACTTTAAGAAAGGTACATCTGCAAAAAGCAA

도면26

- 신호 서열 : 아미노산 1-32
- 막횡단 도메인 : 아미노산 71-86
- N-글리코실화 부위 : 아미노산 130-134;145-149; 217-221;380-385
- N-미리스토일화 부위 : 아미노산 220-226;319-325; 353-359;460-466;503-509

MGTLGQASLFAPPNGYFWSHDHSAFCFAESCQPGKVEQMSTHRSLLTAAPLSMEQRQPWPRALEVDSRSVLL
SVVWVLLAPPAAAGMPQFSTFHSNRDWTFNHLTVHGGTGAVVVGAINRVYKLTGNLTIQVAHKTGPEEDNKSRY
PLIVQPCSEVLTLTNNVNKLLI IDYSENRLLAGSLYQGVCKLLRLDDFLVPEPSHKKEHYLSSVNKTGTMYG
IVRSEGEDKLFIGTAVDGKDYFPTLSSRLPRDPSSAMLDVELHSDVSSLIKIPSDTLALVSHFDIFYIYG
FASGGFFYFLTVQPETPEGVAINASAGDLFYTSRI VRLCKDDPKFHSYVSLPFGCTRAGVEYRLLQAAYLAKPGDS
LAQAFNITSQDDVLF AIFSKGKQYVHHPDSSALCAFPPIRA INLQ IKERLQSCYQEGNLELNLWLGKDVQCTKA
PVPIDNFCGLDINQPLGGSTPVEGLTLYTTSRDRMTSVASYVYNGYSVVFVGTGKSGKLLKVRVYEFRCNSAIHL
LSKESLLEGSYWRFNYRQLYFLGEBQR

도면27

CCCAGAAGTTCAAGGGCCCCGGCTCCTGCGCTCCTGCCCGGGACCCTCGACCTCCTCAGAGCAGCCGGCTG
CCGCCCCGGGAAGTGGCGAGGAGGAGCCGCCACCCTCCTCCTGTGTGTGCGCTACCTGGTGGTCCGCT
GGGCTATCATAAGCCATAGGGTTTCTGCCCCAAAAGACCAACAAGTAGTCAACAGCAGTAGAGTACCAAGAGGC
TATTTTAGCCTGCAAAACCCCAAGAAGACTGTTTCCCTCCAGATTAGAGTGGAAAGAACTGGGTCGGAGTGTCTC
CTTTGTCTACTATCAACAGACTCTTCAAGGTGATTTAAAATCGAGCTGAGATGATAGATTTCAATATCCGGAT
CAAAAATGTGACAAGAAGTATGCGGGGAAAATATCGTTGTGAAGTTAGTGCCCATCTGAGCAAGGCCAAAACCT
GGAAAGGATACAGTCACTCTGGAAGTATTAGTGGCTCCAGCAGTTCCATCATGTGGAAGTACCCTCTCTGCTCT
GAGTGGAACTGTGGTAGAGCTACGATGTCAGACAAAGAAAGGGAATCCAGCTCCTGAATACACATGGTTAAGGA
TGGCATCCGTTGTGAGAAAATCCAGACTTGGCTCCCAAAGCACCACAGCTCATAACAATGAATACAAAAAC
TGGAACTCTGCAATTAATACTGTTTCCAACTGGACACTGGAGAAATATTCCTGTGAAGCCCGCAATCTGTTGG
ATATCCAGGTGTCTGGGAAACGAATGCAAGTAGATGATCTCAACATAGTGGCATCATAGCAGCCGTAGTGTGT
GGCCTTAGTGATTTCCGTTTGTGGCTTGGTGTATGCTATGCTCAGAGGAAAGGCTACTTTTCAAAAAGAAACCTC
CTTCCAGAAGAGTAATTTCTCATCTAAAGCCACGACAATGAGTAAAAATGTGCAAGTGGCTCACGCTGTAATCCC
AGCACTTTGGAAGGCCCGGGGGGGGATCACAGGTCAGGAGTTCTAGACCAGTCTGGCCAAATATGGTGAACCC
CCATCTCTACTAAAATACAAAATTAGCTGGGCATGGTGGCATGTGCTGCGATTCCAGCTGTGGGAGACAGG
AGAACTCACTTGAACCCGGGAGGGAGGTTGCAAGTGGCTGAGATCACGCCACTGCAAGTCCAGCTCCAGCTTGAAC
AGCAAGATTCATCTCAAAAATAAAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATA
AATATAGCTTGATATTC

도면28

신호 서열 :	아미노산 1-20
막횡단 도메인 :	아미노산 237-258
N-클리코실화 부위 :	아미노산 98-102;187-191; 236-240;277-281
N-미리스토일화 부위 :	아미노산 182-188;239-245; 255-261;257-263;305-311
아미드화 :	아미노산 226-230

MARRSRHRLLLLLLRYLVVALGYHKAYGFSAPKDQQVVTAVEYQEAILLACKTPKKTIVSSRLEWKKLGRSVSFVYY
 QQLTQGDQFNRAEMIDFNIRIKNVTRSDAGKYRCEVSAPEQGNLEBDTTLVLEVLVAPVPSCEVPSSALSQTV
 VELRQCQDKEGNPAPEYTWFKDGIIRLLENPRLGQSSTNSSYTMNTKTGLTFQNTVSKLDTGEYSCEARNSVGYRRR
 PGKRMQVDDLNISGIIAAVVVVVALVISVCGLVGYAQRKGYFSKETSFKXSNSSSKATTMSENQWLTPVIALW
 KAAAGGSRGQEF

도면29

GCTGGGGACATGAGAGGCACACCGAAGACCACCTCCTGGCCTTCTCCCTCCTCTGCCTCCTCTCAAAGGTGCGT
 ACCCAGCTGTGCCCGACACCATGTACCTGCCCTGGCCACCTCCCCGATGCCCGCTGGGAGTACCCTCGGTGCTG
 GATGGCTGTGGCTGTGCCGGGTATGTGCACGGCGGCTGGGGGAGCCCTGCGACCAACTCCACGTCTGCGACGCC
 AGCCAGGGCCTGGTCTGCCAGCCCGGGCAGGACCCGGTGGCCGGGGCCCTGTGCCTCTTGGCAGAGGACGAC
 AGCAGCTGTGAGGTGAACGGCCGCTGTATCGGGAAGGGGAGACCTTCCAGCCCCACTGCAGCATCCGCTGCCGC
 TGCAGGACGGCGGCTTCACTGCGTGCCTGTGCAGCGAGGATGTGCGGCTGCCAGCTGGGACTGCCCCAC
 CCCAGGAGGTCGAGGTCCTGGGCAAGTGCCTGAGTGGGTGTGCGGCAAGGAGGGGACTGGGGACCCAG
 CCCCTCCAGCCCAAGGACCCAGTTTCTGGCCTTGTCTTCCCTGCCCTGGTGTCCCCTGCCAGAAATGG
 AGCACGGCTGGGACCCCTGCTCGACCACCTGTGGGCTGGGCATGGCCACCCGGGTGCCAACAGAACCGCTTC
 TGCCGACTGGAGACCCAGCGCCGCTGTGCCTGTCCAGGCCCTGCCACCTCCAGGGTCCGAGTCCACAAAAC
 AGTGCCTTCTAGAGCCCGGCTGGGAATGGGGACACGGTGTCCACCATCCCCAGCTGGTGGCCCTGTGCCTGGCC
 CTGGCTGATGGAAGATGGTCCGTGCCAGGCCCTTGCTGCAGGCAACACTTAGCTTGGTCCACCAATGCGAGA
 ACACCAATATTAACACGCTGCCGTGCTGTCTGGATCCCGAGGTATGGCAGAGGTGCAAGACCTAGTCCCCTTTC
 CTCTAACTCACTGCTAGGAGGCTGGCCAAGGTGTCCAGGGTCCCTTAGCCCACTCCCTGCCACACACAGCC
 TATATCAAACATGCACACGGGCGAGCTTCTCTCCGACTTCCCTGGGCAAGAGATGGGACAAGCAGTCCCTTAA
 TATTGAGGCTGCAGCAGGTGCTGGGCTGGACTGGCCATTTTCTGGGGGTAGGATGAAGAGAAGGCACACAGAGA
 TTCTGATCTCTGCTGCTTTTCTGGAGTTGTAAAATTGTTCTGAAATACAAGCCTATGCGTGA

도면30

신호 서열 :	아미노산 1-23
N-미리스토일화 부위 :	아미노산 3-9;49-55;81-87; 85-91;126-132;164-170;166-172; 167-173;183-189;209-215
인슐린-유사 성장 인자 결합 단백질 신호 :	아미노산 49-65
반 윌레브렌드 C1 도메인 :	아미노산 107-124
트롬보스판딘 1 상동 블록 :	아미노산 201-216
IGE 결합 단백질 부위 :	아미노산 49-58

MRGTPKTHLLAFSLLCLLSKVRTQLCPTPCTCPWPPPRCPPLGVPLVLDGCGCCRVCAARRLGEPCDQLHVCDASQG
 LVCQPGAGPGGRGALCLLAEDDSSCEVNGRLYREGETFQPHCSIRCRBEDGGFTCVPLCSEVRLPSSWDCPHRR
 VEVLGKCCPEWVCGQGGGLGTQPLPAQGPQFSLVSSLPVGPVPCPEWSTAWGPCSTTCGLGMATRVSNQNRFCRL
 ETQRRLCLSRPCPPSRGRSPQNSAF

도면31

AGTCGACTCGGTCGCCCTGTACCCGGCGCCAGCTGTGTTCCTGACCCCAAGTAACTCAGGGCTGCACCGGGCCTG
GCAGCGCTCCGCACACATTTCTGTGCGGGCCTAAGGAACTGTTGGCCGCTGGGCCCGGGGGGATTCTTGG
CAGTTGGGGGGTCCCGTGGGAGCGAGGGCGAGGGAAAGGAGGGGAAACCGGTTGGGGAAGCCAGCTGTAGAG
GGCGGTGACCGCGCTCCAGACACAGCTCTGCGTCTCGAGCGGGACAGATCCAAGTTGGGAGCAGCTCTGCGTGC
GGGGCCTCAGAGATGAGGCGGGCTCGCCCTGTGCCTCCTCTGGCAGGCGCTCTGGCCCCGGGGCGGGCGGG
CGAACCCCCACTGCCGACCGTGTGGCTGCTCGGCCCTCGGGGCTGCTACAGCCTGCAACCAGCTACCATGAA
GCGGCAGGGCGCCGAGGAGGCTGCATCCTGCGAGGTGGGGCGCTCAGCACCCGTGCGGGCGCGAGCTGCG
CGCTGTGCTCGCGCTCCGCGGGCAGGCCAGGGCCCGGAGGGGGCTCCAAGACCTGCTGTTCTGGGTGCACT
GGAGCGCAGGGCTTCCACTGCACCTGGAGAAGGACCTTTGCGGGGTTCTCCTGGCTGCTCCGACCCCGG
CGGTCTCGAAAGCGACAGCTGCAGTGGGTGGAGGAGCCCCAACGCTCCTGCACCCGCGGAGATGCGGGTACT
CAGGGCCACCGGTGGGGTGGAGCCCGCAGGCTGGAAGGAGATGCGATGCCACCTGCGCGCAACCGGTACTGTG
CAAGTACCAGTTTGGAGTCTTGTGTCCTGCGCCGCGCCCGGGGCGCCCTCTAACTGAGCTATCGCGCCCTT
CCGTCTGCACAGCGCCGCTCTGGACTTCAGTCCACCTGGGACCGAGGTGAGTGCCTCTCGCCGGGACAGCTCCC
GATCTCAGTTACTTGCATCGCGGACGAAATCGGCGCTCGCTGGGACAACTCTCGGGCGATGTGTTGTGTCCTG
CCCCGGGAGGTACCTCCGTGCTGGCAAATGCGCAGAGCTCCCTAACTGCTAGACGACTTGGGAGGCTTTGCGCTG
CGAATGTGCTACGGGCTTCGAGCTGGGGAAGGACGGCCGCTCTTGTGTGACCCAGTGGGGAAGGACAGCCAGCT
TGGGGGACCGGGGTGCCACAGGCGCCCGCGCCACTGCAACCGCCCGTGCAGAGAAATGGCCAAAT
CAGGGTGCAGGAGAGCTGGGAGAGACCCACTTGTCCCTGAACAAGACAATTCAGTAACATCTATTCCTGAGAT
TCCTCGATGGGGATCACAGAGCACGATGTCTACCCTTCAAATGTCCTTCAAGCCGAGTCAAAGGCCACTATCAC
CCCATCAGGGAGCGTATTCCAAGTTAATTTACGACTTCTCTGCCACTCCTCAGGCTTTGACTCCTCCTC
TGCCGTGGTCTTCAATTTGTGAGCACAGCAGTAGTAGTGTGGTATCTTGACCATGACAGTACTGGGGCTGT
CAAGCTCTGCTTTCACGAAAGCCCTCTCCAGCCAAGGAAGGAGTCTATGGGCCCGCGGGCTGGAGAGTGA
TCCTGAGCCCGCTGCTTTGGGCTCCAGTCTGCAATGCAACAATGGGGTGAAGTCCGGGACTGTGATCT
GCGGGACAGAGCAGAGGGTGCCTTGTGCGGAGTCCCTCTTGGCTCTAGTGTGATGCAAGGAAACAGGGGACA
TGGGCACTCCTGTGAACAGTTTTTCACTTTTGTGAAACGGGGAACCAAGGAACTTACTTGTGTAACGACAA
TTTCTGCAGAAATCCCCCTCCTAAATCCCTTTACTCCACTGAGGAGCTAAATCAGAACTGCACACTCCTTC
CCTGATGATAGAGGAAGTGAAGTGCCTTTAGGATGGTACTGAGGGGACCGGGTAGTGTGGGAGAGATATT
TTCTTATGTTTATTCGGAGAATTTGGAGAAGTGAATGAACTTTCAAGACATTTGAAACAAAATAGAACAATAT
AATTTACATTAATAATAATTTTACCAAAATGGAAGGAAATGTTCTATGTTTTCAGGCTAGGAGTATATTGG
TTCGAAATCCAGGGAATAATAATAATAATAATAAAGGATTGTTGAT

도면32

- 신호 서열 : 아미노산 1-16
- 막횡단 도메인 : 아미노산 397-418
- N-글리코실화 부위 : 아미노산 189-193;381-385
- 글리코사미노글리칸 부착 부위 : 아미노산 289-293
- cAMP- 및 cGMP- 의존성 단백질 키나제 인산화 부위 : 아미노산 98-102;434-438
- N-미리스토일화 부위 : 아미노산 30-36;35-41;58-64; 59-65;121-127;151-157;185-191; 209-215;267-273;350-356;374-380; 453-459;463-469;477-483
- 아스파르트산 및 아스파라긴 히드록실화 부위 : 아미노산 262-274

MRPAFALCLLWQALWPGPGGGEHPTADRAGCSASGACYSLHHATMKRQAAEEACILRGGALSTVRAGAE LRAVLA
LLRAGPFGGGSKDLLFWVALERRRSHCTLENEPLRGPFSWLSDDPGLES DTLQWVEEPQRSCTARRCAVLQATG
GVEPAGWKEMRCHLRANGYLKQYQFVLCPPAPRPGAASNLSYRAPFQLHSAALDFSPPGTEVSALCRGQLPI SVT
CIADEIGARWDLKSGDVLCPGPRYLKAGKCAELPNCLDDLGPFACCATGFELGKDGRCVTSGEGQPTLGGTG
VPTRRPPATATSVPQRTWPIRVDEKLGETPLVPEQDNSVTSIPEIPRWGSQSTMSLQMSLQAESKATITPSGS
VISKFNSTSSATPQAFDSSSAVVFI FVSTAVVVLVILMTVLGLVKLCPHESPSQPRKESMPPGLSDPEPA
ALGSSSAHCTNNGVVKVDCDLRDRAEALLAESPLGSSDA

도면33

CGGACGCGTGGGATTAGCAGTGGCCCTGGCTGCCAGAGCAGCTCCTCAGGGGAAACTAAGCGTCGAGTCAGAC
GGCACCATAATCGCCTTTAAAAGTGCCCTCCGCCCTGCCGCGCCGCGTATCCCCCGGCTACCTGGCCCGCCCGCGG
CGGTGCGCGCGTGAGAGGGAGCGCGCGGGCAGCCGAGCGCGGTGTGAGCCAGCGCTGCTGCCAGTGTGAGCGGC
GGTGTGAGCGCGGTGGGTGCGGAGGGGCGTGTGTGCCGCGCGCGCGCGTGGGGTGC AAACCCCGAGCGCTAC
GCTGCCATGAGGGGCGCAACGCCCTGGGCGCCACTCTGCTGCTGCTGGCTGCCCGCCACCCAGCTCTCGCGGGCAG
CAGTCCCCAGAGAGACCTGTTTTACATGTGGTGGCATTCTTACTGGAGAGCTGGATTTATGGCAGTGAAGGT
TTTCCTGGAGTGACCCTCCAAATAGCAAAATGTAAGTACTGGAAAAACACAGTTCGCGAAGGAAAAGTAGTCGTTCTC
AATTTCCGATTCCATAGACCTCGAGAGTGACAACTGTGCCGCTATGACTTTGTGGATGTGTACAATGGCCATGCC
AATGGCCAGCGCATTGGCCGCTTCTGTGGCACTTCCGGCCTGGAGCCCTTGTGTCCAGTGGCAACAGATGATG
GTGCAGATGATTTCTGATGCCAACACAGCTGGCAATGGCTTCATGGCCATGTTCTCCGCTGCTGAACCAAACGAA
AGAGGGGATCAGTATTGTGGAGACTCCTTGACAGACCTCCGCTCTTTAAAAACCCCAACTGGCCAGACCGG
GATTACCCCTGCAGGAGTCACTTGTGTGGCACATTGTAGCCCCAAAGAATCAGCTTATAGAATTAAGTTTGAG
AAGTTTGATGTGGAGCGAGATAACTACTGCCGATATGATTATGTGGCTGTGTTTAAAGGGGGGAAAGTCAACGAT
GCTAGAAGAATTTGAAAGTATTGTGGTATAGTCCACCTGCCCAATTTGTGTCTGAGAGAAATGAACCTCTTATT
CAGTTTTATCAGACTTAAGTTTAACTGCAGATGGGTTTATTGGTCACTACATATTCAGGCCAAAAAACTGCCT
ACAACTACAGAACAGCCTGTCCACCACATTCCTGTAAACCAGGGTTTAAAAACCCACCGTGGCCTTGTGTCAA
CAAAAGTGTAGACGGACGGGACTCTGGAGGGCAATTAATTGTTCAAGTGACTTTGTATTAGCCGGCACTGTTATC
ACAACCATCACTCGCGATGGGAGTTTGACGCCACAGTCTCGATCATCAACATCTACAAAGAGGGAAATTTGGCG
ATTACAGCAGCGGGCAAGAACATGAGTGCCAGGCTGACTGTCTGTGCAAGCAGTGCCTCTCCTCAGAAAGAGG
CTAAATTACATTTATTTAGGGCAAGTAGGTGAAGATGGGCGAGGCAAAATCATGCCAAACAGCTTTATCATGATG
TTCAAGACCAAGAATCAGAAGCTCCTGGATGCCTTAAAAAATAAGCAATGTAAACAGTGAACCTGTGCCATTTAA
GCTGTATTCTGCCATTGCCCTTTGAAAGATCTATGTCTCTCAGTAGAAAAAAAATACTTATAAAATACATATT
CTGAAAGAGGATTCGAAAGATGGGACTGCTTACATGATGGAGGTATGAGGCCCTCCGAGATAGCTGA
GGGAAAGTTCTTTGCCCTGTGTCAGAGGAGCAGCTATCTGATTGAAACCTGCCACTTAGTGGTGTATAGGAAGC
TAAAGTGTCAAGCCTTGACAGCTTGGAGCGTTTATTTATACATCTCTGTAAAAGGATATTTAGAAATTGAGTT
GTGTGAAGATGTCAAAAAAGATTTTAGAAGTGAATATTTATAGTGTATTTGTTTACCTTCAAGCCTTTGCC
CTGAGGTGTACAACTCTGCTTGGCTTTTCTAAATCAATGCTTAATAAAATATTTTAAAGGAAAAA

도면34

- 신호 서열 : 아미노산 1-23
- N-클리코실화 부위 : 아미노산 355-359
- 테로신 키나제 인산화 부위 : 아미노산 199-208
- N-미리스토일화 부위 : 아미노산 34-40; 35-41; 100-106;
113-119; 218-224; 289-295; 305-311;
309-315; 320-326; 330-336
- 세포 부착 서열: 아미노산 149-152

MRGANAWAPLCLLLAAATQLSRQSPERPVFTCGGILTGESGFVSEGFPPGVYPPNSKCTWKITVPEGKVVVLF
RFIDLESNLCRYDFVDVYNGHANGQRI GRFCGTFRPGALVSSGNKMMVQMI SDANTAGNGFMAMFSAAEENERG
DQYCGLLDRPSGSFKTPNWPDRDY PAGVTCVWHIVAPKNQLELKEKFDVERDNYCRYDYVAVFNGEVDNAR
RIGKYCGDSPAPIVSERNELLIQFLSDLSLTADGFIGHYIFRPKLPPTTEQPVTTFPVTTGLKPTVALCQQK
CRRRTGLEGNYSDFVLAGTVITTTITRDGSLHATVSIINIYKEGNLAIQQAGKNMSARLTVVCKQCPLLRRGLN
YIIMGVQGEDGRGKIMPNSFIMMFKTKNQKLLDALKNKQC

도면35

GCTGTTCCTCCAGGAGTCCCTTCGGCGGCTGTGTGTGTCAGTGGCCTGATCGCGAATGGGGACAAAGGCGCAAGTCGAG
 AGGAAACTGTTGTGCCTCTTCATATTGGCGATCCTGTGTGTGCTCCCTGGCATTGGGCAGTGTACAGTGCCTCT
 TCTGAACCTGAAAGTCAAGTTCCTGAGAATAATCCTGTGAAGTGTCTGTGCCTACCTCGGGCTTTCTCTCCC
 CGTGTGGAGTGGAAAGTTTGACCAAGGAGACACCACAGACTCGTTTGTCTATAATAACAAGATCACAGCTTCTAT
 GAGGACCGGGTACCTTCTTGCCAACTGGTATCACCTTCAAGTCCGTGACACGGGAAGACACTGGGACATACACT
 TGTATGGTCTCTGAGGAAGGCGGCAACAGCTATGGGGAGGTCAAGGTCAAGCTCATCGTCTGTGCCTCCATCC
 AAGCCTACAGTTAACATCCCTCCTCTGCCACCATGGGAACCGGGCAGTGTGACATGCTCAGAAACAAGATGGT
 TCCCCACCTTCTGAATACACCTGGTTCAAAGATGGGATAGTGTGCTTACGAAATCCCAAAGACCCCGTGCCTTC
 AGCAACTCTTCTATGTCTGAATCCCAACAGGAGAGCTGGTCTTTGATCCCTGTGACCTCTGTAICTGGA
 GAATACAGCTGTGAGGCACGGAATGGGTATGGGACCCCATGACTTCAAATGCTGTGCGCATGGAAGCTGTGGAG
 CGGAATGTGGGGTTCATCGTGGCAGCCGCTCTTGTAAACCTGATTCTCCTGGGAATCTTGGTTTTGGCATCTGG
 TTGCTATAGCCGAGGCCACTTTGACAGAAACAAGAAAGGGACTTCGAGTAAGAAAGGTGATTTACAGCCAGCCT
 AGTGCCCGAAGTGAAGGAGAATTCAAACAGACCTCGTCAATTCCTGGTGTGAGCCTGGTGGCTCACCGCTATCA
 TCTGCATTTGCCTTACTCAGGTGCTACCGGACTCTGGCCCCGTGATGTCTGTAGTTTACAGGATGCCTTATTTGT
 CTTCTACACCCACAGGGCCCCCTACTTCTTCGGATGTGTTTTAAATAAGTCAAGTATGTGCCCCATCTCCTT
 CATGCCCTCCCTCTTCTTACCCTGCTGAGTGGCCTGGAACTTGTTTAAAGTGTATTTCCCATTTCTTTG
 AGGGATCAGGAAGGAATCCTGGGTATGCCATTGACTTCCCTTCTAAGTAGACAGCAAAAATGGCGGGGTGCGAG
 GAATCTGCACTCAACTGCCACCTGGCTGGCAGGGATCTTGAATAGGTATCTTGAGCTTGGTCTTGGGCTCTT
 CCTTGTGACTGACGACAGGGCCAGCTGTCTAGAGCGGAAATAGAGGCTAGAGCGGCTGAAATGGTGTGTTG
 GTGATGACACTGGGGTCTTCCATCTCTGGGGCCACTCTCTCTGTCTTCCCATGGGAAGTGCCTGGGATCC
 CTGTGCCCTGCTCTCTGAATACAAGCTGACTGACATGACTGTGTCTGGAAAAATGGGAGCTCTTGTGTGGA
 GAGCATAGTAAATTTTACAGAACTTGAAGCCAAAGGATTTAAACCGCTGCTCTAAAGAAAGAAACTGGAG
 GCTGGGCGCAGTGGCTCACGCTCTAATCCAGAGGCTGAGGCAGGGCATCACCTGAGGTGGGAGTTCGGGAT
 CAGCCTGACCACATGGAGAAACCTACTGGAATACAAAGTATGCCAGGCATGGTGTGATGCCTGTAGTCC
 AGCTGCTCAGGAGCCTGGCAACAAGACAAAATCCAGCTCAAAAAAAAAAAAAAAAA

도면36

- 신호 서열 : 아미노산 1-27
- 막횡단 도메인 : 아미노산 235-256
- N-클리코실화 부위 : 아미노산 185-189
- cAMP- 및 cGMP- 의존성 단백질 키나제 인산화 부위 : 아미노산 270-274
- N-미리스토일화 부위 : 아미노산 105-111 ; 116-122 ; 158-164 ; 219-225 ; 237-243 ; 256-262

MGTKAQVERKLLCLFILAAILLCSLALGVSVTVHSSEPEVRI PENNPVKLS CAYS GFSS PRVIEWKFDQDGTTRLVCI
 NNKLTASYEDRVTFLEPTGITFKSVTREDTGYTCMVSEEGNSYGEVKVLLIVLPPSKPTVNI PSSATIGNRAV
 LTCSEQDGSPPSEYTWFKDGI VMPNPKSTRAPSNSSVYLNPTTGELVFDPLASDTGEYSCEARNGYGTPMSTN
 AVRMEAVERNVGVIVAALVLTLLILGILVFGIWFAYSRGHFDRTKKGTSKKVIYSQPSARSEGEFKQTS SFLV

도면37

GCTGAGTCTGCTGCTCCTGCTGCTGCTCCAGCCTGTAACCTGTGCCTACACCAAGCCAGGCCCCCCAGAGC
 CCTCACCCAGCTGGGCGCCCCAGAGCCACACCAATGCCGGCACCTACGCTCCCTCGACCACACTCAGTAGTCC
 CAGCACCCAGGGCCTGCAAGAGCAGGCACGGGCCCTGATGCGGACTTCCCGCTCGTGGACGGCCACAACGACCT
 GCCCTGGTCTTAAGGAGGTTTACCAGAAAGGGCTACAGGATGTTAACCTGCGCAATTTACAGTACGGCCAGAC
 CAGCCTGGACAGGCTTAGAGATGGCTCGTGGGCGCCAGTTCTGGTCAAGCTATGTCCATGCCAGACCCAGGA
 CCGGGATGCCCTGCGCCTCACCTGGAGCAGATTGACCTCATACGCCGATGTGTGCTCCTATTCTGAGCTGGA
 GCTTGTGACCTCGGCTAAAGCTCTGAACGACACTCAGAAATGGCCTGCCTCATCGGTGTAGAGGGTGGCCACT
 GCTGGACAATAGCCTCTCCATCTTACGTACTTCTACATGCTGGGAGTGGCTACCTGACGCTCACCCACACTG
 CAACACACCTGGGACAGAGCTCCGCTAAGGGCTCCACTCTTCTACAACAACATCAGCGGGCTGACTGACTT
 TGGTGAGAAGGTGGTGGCAGAAATGAACCGCCTGGGCATGATGGTAGACTTATCCCATGTCTCAGATGCTGTGGC
 ACGGCGGGCCCTGGAAGTGTACAGGCACCTGTGATCTTCTCCACTCGGCTGCCGGGGTGTGTGCAACAGTGC
 TCGAAATGTCTGATGACATCTGACGCTTCTGAAGAAGAACGGTGGCTCGTGTGTTTGTCCATGGG
 AGTAAATACAGTGCAACCCATCAGCCAATGTGTCCACTGTGGCAGATCACTTCGACCACATCAAGGCTGTCTATGG
 ATCCAAGTTCAATCGGGATTGGTGGAGATTATGATGGGGCCGGCAAAATCCCTCAGGGGCTGGAAGACGTTGCCAC
 ATACCCGGTCTGATAGAGGAGTTGCTGAGTCGTGGCTGGAGTGAAGAGCTTCAGGGTGTCTTCGTGGAAA
 CCTGCTCGGGTCTTACAGCAAGTGGAAAAGGTACAGGAAGAAAAAATGGCAAAGCCCTTGGAGGACAAGT
 CCGGGATGACAGCTGAGCAGTTCTGCACTCCGACCTCTCACGCTCTGCGTCAGAGACAGAGTCTGACTTCAGG
 CCAGGAACTCACTGAGATCCCATACACTGGACAGCCAAGTTACAGCCAAGTGGTCACTCAGAGTCTCCCC
 CCACATGGCCCCAGTCTTGCAGTTGTGGCCACTTCCCAGTCTTATCTGTGGCTCTGATGACCCAGTTAGTC
 CTGCCAGATGCTCACTGTAGCAAGCCACAGACACCCCAAAAGTTCCTCCTGTTGTGAGGCACAAAATATTTCTGTA
 AATAAATGTTTTGGACATAG

도면40

신호 서열 :	아미노산 1-44
막횡단 도메인 :	아미노산 528-543
N-글리코실화 부위 :	아미노산 278-282; 364-368; 390-394; 412-416; 415-419; 434-438; 442-446; 488-492; 606-610
cAMP- 및 cGMP-의존성 단백질 키나제 인산화 부위 :	아미노산 183-187
N-미리스토일화 부위 :	아미노산 40-46; 73-79; 118-124; 191-197; 228-234; 237-243; 391-397; 422-428; 433-439; 531-537

MLNKMTLHPQQIMIGPRFNRALFDPLLVVLLALQLLVVAGLVRAQTCPSVCSNSQFSKVICVRKNLREVPDGIS
 TNTRLNHLHENQIQI IKVNSFKHLRHLLEILQLSRNHIRTIEIGAFNGLANLNTLELFDNRLLTTPNGAFVYLSKL
 KELWLRNNPIESIPSYAFNRIPSLRRLDLGELKRLSYISEGAFEGLSNLYRLNLMCNLREIPNLPLIKLDELDEL
 LSGNHLSAIRPGSFQGLMHLQKLMIQSQTQVIERNAFDNLQSLVEINLAHNNTLLPHDLFTPLHHLERIHLLH
 NPWNCDILWLSWIKDMAPSNACCARCNTPPNLKGRYIGELDQNYFTCYAPVIVEPPADLNVTEGMAAELKC
 RASTSLTSVSWITPNGTVMTHGAYKVR IAVLSDGTLNFTNVTVQDTGMYTCMVSNSVGNNTASATLNVTAATTP
 FSYFSTVTVETMEPSQDEARITDNNVGPVVDWETNVVTSLSLTPQSTRSTEKFTFIPVTDINSGIPGDEVMKT
 TKIIIGCFVAITLMAAVMLVIFYKMRKQHHRQNHAPTRTVEI INVDEITGDTMESHLPMPAIEHEHLNHYNS
 YKSPFNHTTNTVNTINSIHSSVHEPLLRMNSKDNVQETQI

도면41

GAAAGCTATAGGCTACCCATT CAGCTCCCCTGT CAGAGACTCAAGCTTTGAGAAAGGCTAGCAAAGAGCAAGGAA
 AGAGAGAAAACAAAGTGGCGAGGCCCTCAGAGTGAAAGCGTAAGGTT CAGTCAGCCTGCTGCAGCTTTGCAG
 ACCTCAGCTGGGCATCTCCAGACTCCCCTGAAGGAAGAGCCTTCCTCACCCAAACCCACAAAAGATGCTGAAAA
 GCCTCTCTCAGCTGTGACCTGGCTCTGCATTTTCATCGTGGCCTTTGT CAGCCACCAGCGTGGCTGCAGAGCT
 CTCTAAGCACAAGACACCAGCACAGCCACAGCTCAAAGCGGCCAACTGCTGTGAGGAGGTGAAGGAGCTCAAGGC
 CCAAGTTGCCAACCTTAGCAGCCTGTGAGTGAAGTGAACAAGAAGCAGGAGAGGGGACTGGGT CAGCGTGGTCAT
 GCAGGTGATGGAGCTGGAGAGCAACAGCAAGCGCATGGAGTCCGGCTCACAGATGCTGAGAGCAAGTACTCCGA
 GATGAACAACAAAATTGACATCATGCAGCTGCAGGCAGCACAGACGGTCACTCAGACCTCCGCAGATGCCATCTA
 CGACTGCTCTTCCCTTACCAGAAGAAGTACCAGCATCTCTGGAGTGTATAAGCTTCCCTCCTGATGACTTCTGGG
 CAGCCCTGAAC TGGAGGTGTTCTGTGACATGGAGACTTCAGGCGGAGGCTGGACCATCATCCAGAGACGAAAAAG
 TGGCCTTGCTCCTTCTACCCGGGACTGGAAGCAGTACAAGCAGGGCTTTGGCAGCATCCGTGGGGACTTCTGGCT
 GGGGAACGAACACATCCACCGGCTCTCCAGACAGCCAAACCCGGCTGCGGTGAGAGATGGAGGACTGGGAGGGCAA
 CCTGCGCTACGCTGAGTATAGCCACTTTGTTTGGGCAATGAAC TCAACAGCTATCGCCTTCTCTGGGAACTA
 CACTGGCAATGTGGGGAACGACGCCCTCCAGTATCATAACACACAGCCTTCAGCACCAAGGACAAGGACAATGA
 CAACTGCTTGGACAAGTGTGACACAGCTCCGCAAAGGTGGCTACTGGTACAAC TGTGCACAGACTCCAACCTCAA
 TGGAGTGTACTACCGCTGGGTGAGCACAATAAGCACCTGGATGGCATCACCTGGTATGGCTGGCATGGATCTAC
 CTACTCCCTCAAACGGGTGGAGATGAAAATCCGCCAGAAAGACTTCAAGCCTTAAAGGAGGCTGCCGTGGAGCA
 CGGATACAGAAACTGAGACACGTTGGAGACTGGATGAGGGCAGATGAGGACAGGAAGAGAGTGTAGAAAGGGTAG
 GACTGAGAAACAGCCTATAATCTCCAAGAAAGAATAAGTCTCCAAGGAGCACAAAAAATCATATGTACCAAGG
 ATGTTACAGTAAACAGGATGAACTATTTAAACCCACTGGGTCCCTGCCACATCCCTTCAAGGTGGTAGACTGAGT
 GGGGTCTCTCTGCCAAGATCCCTGACATAGCAGTAGCTTGTCTTTCCACATGATTTGTCTGTGAAAGAAAATA
 ATTTTGAGATCGTTTATCTATTTCTCTACGGCTTAGGCTATGTGAGGGGAAAACACAAATCCCTTTGCTAAAA
 AGAACCATATATTTTGTATCTCAAAGGATAGGCCTTTGAGTGTGAGAGAAAGGAGTGAAGGAGGAGGTGGGAA
 ATGGTATTTCTATTTTAAATCCAGTGAATATCTTGTAGTCTACACATTTTAAACACAAAAATGTTTCG
 GCTGGAAGTACCCAGGCTGGACTTGGGGGAGGAACTCCAGGGCCTGCATCTGGCGATCAGACTCTGAGCAC
 TGCCCTTGTCTGCCCTTGGTATGTACAGCACTGAAAGGAATGAAGCACCAGCAGGAGGTGGACAGAGTCTCTCAT
 GGATGCCGGCACAAAAC TGCCTTAAATATTCATAGTAAATACAGGTATATCTATTTTATTTACTTTGTAAGAA
 ACAAGCTCAAGGAGCTTCTTTTAAATTTTGTCTGTAGSAAATGGTGAAGACTGAAGGTAGATGGTGTATAGT
 TAATAATAAATGCTGTAATAAGCATCTCACTTTGTAAAAATAAAAATTTGTGGTTTGTTTTAAACATTCACG
 TTTCTTTTCCCTCTACAATAAACACTTCAAATGTG

도면42

신호 서열 :	아미노산 1-26
N-글리코실화 부위 :	아미노산 58-62; 253-257; 267-271
글리코사아미노글리칸 부착 부위 :	아미노산 167-171
cAMP- 및 cGMP-의존성 단백질 키나제 인산화 부위 :	아미노산 176-180
N-미리스토일화 부위	아미노산 168-174; 196-202; 241-247; 252-258; 256-262; 327-333
세포 부착 서열 :	아미노산 199-202

MLKKPLSAVTWLCIFIVAFVSHPAWLQKLSKHKTPAQPLKAANCCEEVKELKAQVANLSSLLSELNKKQERDWSVVMQVMELESNSKRMSRLTDAESKYSEMNNQIDIMQLQAAQTVTQTSADAIYDCSSLYQKNYRISGVYKLPDFLGSPELEVFCDMETSGGGWTIIQRRKSGLVSFYRDWKYKQGFSGIRGDFWLGNEHLHRLSRQPTRLRVMEDWEGNLRVYAEYSHFVLGNELNSYRFLGNVYTGNGNDALQYHNNTAFSTKDKDNDNCLDKCAQLRKGGYWYNCCTDSNLNGVYYRIGEHNKHLDGITWYGWHGSTYSLKRVMKIRPEDFKP

도면43

CACGCACCTTCACCTGGGTCGGGATTCCTCAGGTCATGAACGGTCCCAGCCACCTCCGGGCAGGGCGGGTGAGGACGGGGACGGGGCGTGTCCAACCTGGCTGTGGGCTCTTGAACCCGAGCATTGGCACAGCACGGGGCGATGGGCGCGTTTCGGGCCCTGTGCGGCTGGCGCTGCTGTGCGCGCTCAGCCTGGGTACAGCGCCACCGGGGTCCCGGGTGCAGCCCTGTGGCGCCTCCTGCTTGGGACGGGAACGGACGCGCGCTGCTGCCGGGTTACACAGCAGCGCTGCTGCCCGCATACCCGGGCGAGGAGTGCTGTTCCGAGTGGGACTGCATGTGTGTCCAGCCTGAATCCACTCCGGAGACCCCTTGCAGCAGCTGCCCGCACCCCTTGTCCCGAGGCCAGGGGTACAGTCCCAGGGGAAATTAGTTTTGGCTTCAGTGTATCGACTGTGCCTCGGGACCTTCTCCGGGGCCACGAAGGCCACTGCAAACTTGGACAGACTGCACCAGTTCGGGTTTCTCACTGTGTTCCCTGGGAACAAGACCCACAACGCTGTGTGCTCCAGGGTCCCGCCGGCAAGCCGCTGAGCCGCTTGGGTGGCTGACCGTCTCTCTGCGCCGTGGCCGCTGCGTCTCTCTGACTCGGCCAGCTTGGACTGCACATCTGGCAGCTGAGGAGTCACTGTGTCAGTGTGCCCCGAGAGACCCAGCTGTGCTGGAGGTGCCCGCTGACCCGAGACGCCAGAGCTGCCAGTTCCCGAGGAAGAGCGGGCGAGCGATCCGCAGAGGAGAAGGGGCGGCTGGGAGACCTGTGGGTGGAGCTGCGCTCTCCGGGGCCACCGACCGCAGCCAGCCCTCCCGAGGAGCTCCCCAGGCCAGGGGCTCTGCGTTCTGCTCTGGGCCGGGCCCTGCTCCCTGGCAGCAGAAGTGGGTGACGAAGGTGCAAGTACCAGCGCCTGGACCATGCAGTTC

도면44

신호 서열 :	아미노산 1-25
막횡단 도메인 :	아미노산 163-183
N-글리코실화 부위 :	아미노산 146-150
N-미리스토일화 부위 :	아미노산 5-11; 8-14; 25-31; 30-36; 33-39; 118-124; 122-128; 156-162
원핵세포막 지단백질 지질 부착 부위 :	아미노산 166-177
류신 지퍼 페턴 :	아미노산 171-193

MAQHGMGAFRALCGLALLCALSLGQRPTGGPGCGPGRLLLGTGTDARCCRVHTTRCCRDYPGEECCSEWDCMCVQPEFHCDDPCCITCRHHPCCPPGQGVQSQKFSFGFQCIDCASGTFSGGHEGCHKPWTDCQFGELTVFPGNKTHNAVAVCPGSPPAEPLGWLTVVLLAVAAVLLLTSAQLGLHIWQLRSQCMWPRETQLLLEVPSTEDARSCQFPPEBERGERSAEEKRRLGDLWV

도면47

GCGAGGGGAGCGGGAGCCCGCGCTACAGCTCGCCATGGTGCGCCCTGAAACCCGACCGCTGCCGCCGT
 AGTCCCTGATGTTGCTGCTGCTGCTGCCGCCGTGCGCGCTGCTCAGCAGCCGGAGACCCCTTCCACAGAAAG
 CCGACTCATGAACAGCTGTCTCCAGGCCAGGAGGAAGTGCCAGGCTGATCCACCTGCAGTGTGCTACCACCA
 CCTGGATTCTTGCACTCTAGCATAAGCACCCCACTGCCCTCAGAGGAGCCTTCGGTCCCCTGCTGACTGCCTGGA
 GGCAGCACAGCAACTCAGGAAACAGCTCTCTGATAGGCTGCATGTGCCACCGGCATGAAGAACAGGTTGCCCTG
 CTTGGACATCTATTGACCGTTTACCGTGCCCGCAGCCTTGGTAACTATGAGCTGGATGTCTCCCCCTATGAAGA
 CACAGTGACCAGCAAACCCCTGGAAAATGAATCTCAGCAAACCTGAACATGCTCAAACCCAGACTCAGACCTCTGCCT
 CAAGTTTGCCATGCTGTACTCTCAATGACAAGTGTGACCGGCTGCCGAAGGCCTACGGGGAGGCGTGTCCGG
 GCCCCACTGCCAGCGCCACGTCTGCTCAGGCAGCTGCTCACTTCTTCGAGAAGGCCCGGAGCCCCACGCGCA
 GGGCCTGCTACTGTGCCCATGTGCCCCCAACGACCCGGGGCTGCGGGGAGCGCCGGCGAACACCATCGCCCCAA
 CTGCGCGCTGCCGCTGTGGCCCCAACCTGCCTGGAGCTGCGGGCCTCTGCTTCTCCGACCCGCTTTCAGATC
 ACGCCTGGTGGATTTCCAGACCCACTGCCATCCCATGGACATCTTAGGAACTTGTGCAACAGAGCAGTCCAGATG
 TCTACGAGCATACTGGGGCTGATGGGACTGCCATGACCCCAACTTGTGCAATGTCAACACCCAGTGTTC
 CTTAAGCTGCACCTGCCGAGGAGTGGCAACCTGCAGGAGGAGTGTGAAATGCTGGAAGGGTTCTTCTCCACAA
 CCCCTGCCTCAGGGAGGCCATGCAAGCTAAGATGCGTTTTCACAGCCAACCTCTTCTCCAGGACTGGCCACACCC
 TACCTTTGCTGTGATGGCACACAGAAATGAAAACCTGCTGTGAGGCCACAGCCCTGGGTGCCCTCTCTTTTCTC
 CTGCAGCCTTCCCTTGATTTCTGCTCCTGAGCCTATGGTAGCTGGACTTCCCAGGGCCCTTCTCCCTCCACCAC
 ACCCAGGTGGACTTGACGCCACAAGGGGTGAGGAAAAGGACAGCAGCAGGAAAGGAGGTGCAGTGCCGAGATGAGG
 GCACAGGAGAAGCTAAGGGTTATGACCTCCAGATCCTTACTGGTCCAGTCTCATTCCTCCACCCCATCTCCAC
 TTCTGATTTCATGCTGCCCTCCTTGGTGGCCACAATTTAGCCATGTTCATGTTGGTGACCAGCTCCACCAAGCC
 CCTTTCTGAGCCCTTCTCTTGTACTACCAGGATCACCAGAACTAATAAGTTAGCCTTTCTCTATTGATTCAG
 ATTAGGGTTAGGGTAGGAGGACTGGGTGTTCTGAGGCAGCTAGAAAGTCATTCTCCTTTGTGAAGAAGGCTCC
 TGCCCCCTCGTCTCCTCCTCTGAGTGGAGGATGGAAAACCTACTGCCTGCAGTCCCTGTCCCGGATCCTGCCGA
 ACATCTGGGCATCAGGAGCTGGAGCCTGTGGGCCTTGCTTTATTCCTATTATTGCTCTAAAGTCTCTCTGGGCTC
 TTGGATCATGATTAACCTTTGACTTAAG

도면48

- 신호 서열 : 아미노산 1-26
- N-글리코실화 부위 : 아미노산 95-99;148-152;309-313
- cAMP- 및 cGMP- 의존성 단백질 키나제 인산화 부위 : 아미노산 231-235
- N-미리스토일화 부위 : 아미노산 279-285;294-300
- 원핵세포막 지단백질 지질 부착 부위 : 아미노산 306-317;379-390

MVRPLNPRPLPPVVLMLLLLLPPSPPLPLAAGDPLPTE SRLMNSCLQARRKQADPTCSAAHYHLLDSCTSSISTPL
 PSEEPSVPADCLEAAQQLRNSSLIGCMCHRRMKNQVACLDIYWTVHRARSLGNYELDVS PYEDTVTSKPKMNL
 KLNMLKFDSDLCLKFAMLCTLNDKCDRLRKAYGEACSGPHCQRHVCLRQLLTFEKAABEPAQGLLLCPCAPNDR
 GCGERRRNTIAPNCALPPVAPNCLLRLRCLFSDPLCRSRLVDFQTHCHPMDILGTCAEQSRCLRAYLGLIGTAM
 TPNFVSNVNTSVALSCTCRGSGNLQECEMLEGFFSHNPCLTEAIAAKMRFHSQLFSDQWPHPTFAVMAHQENP
 AVRPQPWVPSLFSCTPLPLILLLSLW

도면51

GGACGAGGGCAGATCTCGTTCTGGGGCAAGCCGTTGACACTCGCTCCCTGCCACCGCCGGGCTCCGTGCCGCCA
AGTTTTTCATTTTCCACCTTCTCTGCTCCAGTCCCCAGCCCTGGCCGAGAGAAGGGTCTTACCCGCCGGGATT
GCTGGAAACACCAAGAGGTGGTTTTTGTTTTTTAAACTTCTGTCTTGGGAGGGGGTGTGGCGGGGAGCATTG
AGCAACTCCGTTCTCTGCTCTGTTTCTGGAGCCTCTGCTATTGCTTGTCTGGGGAGCCCGTACCTTTTGGT
CCAGAGGGGCGGCTGGAAGATAAGCTCCACAAACCCAAAGCTACACAGACTGAGGTCAAACCATCTGTGAGGTTT
AACCTCCGACCTCCAAGGACCCAGAGCATGAAGGATGCTACCTCTCCGTCGGCCACAGCCAGCCCTTAGAAGAC
TGCAGTTTCAACATGACAGCTAAACCTTTTTCATCATTACGGATGGACGATGAGCGGTATCTTTGAAAATGG
CTGCACAAACTCGTGTGACGCCCTGCACACAAGAGAGAAAGACGGCAATGTAGTTGTGGTTGACTGGCTCCCTTG
GCCCCACAGCTTACACGGATGCGGTCAATAATACCAGGGTGGTGGGACACAGCATTGCCAGGATGCTCGACTGG
CTGCAGGGAAGGACGATTTTCTCTCGGGAATGTCACCTTGATCGGTACAGCCTCGGAGCGACGTGGCCGGG
TATGCAAGGCAACTCGTGAAGGAACCGTGGCCGAATCACAGGTTTGGATCTGCGGGCCCATGTTTGAAGGG
GCCGACATCCACAAGAGGCTCTCTCCGGACGATGCAGATTTTGGGATGTCCTCCACACCTACACCGCTTCTTC
GGCTTGAGCATTTGATTCAGATGCTGTGGCCACATTGACATCTACCCCAATGGGGGTGACTTCCAGCCAGGC
TGTGGACTCAACGATGCTTGGGATCAATTGCATATGGAACAATCACAGAGGTGGTAAAAATGTGAGCATGAGCGA
GCCGCTCCACCTCTTGTGACTCTCTGTTGAATCAGGACAGCCGAGTTTTCCTTCCAGTGACATGATCCAAT
CGCTTCAAAAAGGGGATCTGTCTGAGCTGCCGCAAGAACCGTTGTAATAGCATTTGGCTACAATGCCAAGAAAAAT
AGGAACAAGAGGAACAGCAAAATGTACCTAAAAACCGGGCAGGCATGCTTTTCAGAGGTAACTTTCAGTCCCTG
GAGTGTCCCTGAGGAAGGCCCTTAATACCTCCTTCTTAATACCATGTGTCAGAGCAGGGCACATCTAGCCCGT
AGAAGTGGCCAGCACAAATCAATCAATCGTTGCAAAATCAGATTACACTGTGCATGTCTTAGGAAAGGGAATCTT
TACAAAATAAACAGTGTGGACCCCTAATAA
AAAAAAAAA

도면52

- 신호 서열 : 아미노산 1-16
- N-클리코실화 부위 : 아미노산 80-84;136-140
- cAMP- 및 cGMP-의존성 단백질 키나제 인산화 부위 : 아미노산 206-210;329-333
- N-미리스토일화 부위 : 아미노산 63-69;96-102;171-177; 191-197;227-233;251-257;306-312; 346-352
- 리파제, 세린 활성 부위 : 아미노산 163-173

MSNSVPLLCFWSLCYCFAGSPVFPFGEGRLEDKLHKPKATQTEVKPSVRFNLRITSKDPEHEGCLYLVGHSQPLE
DCSFNMTAKTFFI IHGWTMSGIFENWLHLIVSALHTREKDNVVDWPLAHQLYTDVNNTRVVGHSIARMLD
WLQEKDDFSLGNVHLIGYSLGAHVAGYAGNFVKGTVGRITGLDPAGPMFEGADIHKRLSPDDADFVDVLHXYTRS
FGLSIGIQMPVGHIDIYPNGGDFQPGCLNDVLGSIAYGTITEVVKCEHERAVHLFVDSLNVNQDKPSFAFQCTDS
NRFKKGICLSRKNRNCNSIGYNAKKMRNKRNSKMYLKTTRAGMPFRGNLQSLQEC

도면53

CGCCCGGGCGCAGGGAGCTGAGTGGACGGCTCGAGACGGCGGCGCGTGCAGCAGCTCCAGAAAAGCAGCGAGTTG
GCAGAGCAGGGCTGCATTCCAGCAGGAGCTGCGAGCAGAGTCTGGCTCAACAAGATTGCTCAAGGTGTGAGC
CGTACTGTGTGTGTGTCAGCCGCTTGTGTGACAGTCACTCTCGCAGCTGCCCGGGCGGTGGCTGCAGCCGGGG
GCGGTCCGAGCGGGTAATTTCTGGATGATAAAACAATGGCTCACCACAATCTCTCAGTATGACAAGGAAGTGG
ACAGTGAACAACAATCCGAGACGAAGTAGAGGATGATTAATTTCCGCACTTGGAGTCCAGGAAAACCTTCGATCA
GGCTTTAGATCCAGCTAAGGATCCAATGCTTAAAGATGAAATGTAGTCCGCATAAAGTATGCATTTGCTCAAGATTC
TCAGACTGCAGTCTGCATTAGTCCACGGAGGCTTACACACAGGATGAAAGAAGCAGGAGTAGACCATAGGCAGTG
GAGGGGTCCCATATATCCACCTGCAAGCAGTGCACAGTGGTCTATCCAGCCCTGTTTGTGGTTGAGTGGTCA
TACCTACTCTTTTCAGTGCAAACTAGAAATACAGGCATGTGTCTTAGGAAAACAGATCTCAGTCAAATGTGAAGG
ACATTTGCCATGCTTTCAGATAAGCCCAAGTCAAGCAGAAATGTTAAGAGAGCATGCAGTGACCTGGAGTT
CAGGGAAGTGGCAAAACAGATTGCGGGACTGGTTCAAGGCCCTTCATGAAAGTGGAAAGTCAAAAACAAGAAGACAAA
AACATTGCTGAGGCTGAGAGAAGCAGATTGATACCGCATCTTGCCAAATTTGCAAGGACTCACTTGGCTGGAT
GTTTAAACAGACTTGATACAAACTATGACTGCTATTTGGACCAGTCAGAGCTCAGAAGCATTTACCTTGATAAGAA
TGAACAGTGTACCAAGGCATTTCTCAATTTCTGTGACACATACAAGGACAGTTAATATCTAATAATGAGTGGTG
CTACTGCTCCAGAGACAGCAAGCCACCTTGCCAGACTGAGCTCAGCAATATTCAGAAGCGGCAAGGGGTAAA
GAAGCTCCTAGGACAGTATATCCCCCTGTGTGATGAAGATGGTTACTACAAGCCAAACAATGTATGGCAGTGT
TGGACAGTGCCTGGTGTGTGACAGATATGGAATGAAGTCAAGGATCCAGAAATAAATGGTGGTTGCAGATTGTC
TATAGATTTTGGAGATCTCCGGAGATTTGCTAGTGGCGATTTTCATGAATGGACTGATGATGAGGATGATGAAGA
CGATATATGAATGATGAAGATAAATGAAGATGATGATGAAGATGAAGGGGATGATGATGATGGTGGTGTGATGA
CCATGATGATACATTTGATTTGATGACAGTGAATCAATAAATTTACATTTCTAATATTTCAAAAATGATAG
CCTATTTAAAATATCTTCTCCCAATACAAAATGATTTCAAACCTCACATATATTTGTAATAATTTATTTGAA
AAATTTGAGCTAAAGTTATAGAACTTTATGTTTAAATAAAGAAATCATTTGCTTTGAGTTTTATATTTCTTACACA
AAAAGAAAATACATATGCACTGCTAGTGCAGACAAAATAAAGTTTTGAAAGTACTATAATAAATTTTTCACGAGA
ACAACCTTTGTAATCTTCCATAAGCAAAATGACAGCTAGTGTGGTGGTACATGTTAATTTTTTGAAGAT
AATTTCAAGTGAATTTAAAATAAATAAATTTTTAATGACCTGGGTCTAAGGATTTAGGAAAAATATGCATGCT
TTAATGCAATTTCAAAGTAGCATTTGCTAGACCTAGATGAGTCAGGATAACAGAGAGATACCACATGACTCCA
AAAAAAAAAAAAA

도면54

신호 서열 : 아미노산 1-16
 cAMP- 및 cGMP-의존성 단백질 키나제 인산화 부위 : 아미노산 115-119
 티로신 키나제 인산화 부위 : 아미노산 62-70
 N-미리스토일화 부위 : 아미노산 357-363; 371-377; 376-382
 류신 지퍼 패턴 : 아미노산 246-268

MLKVSAVLCVCAAAWCSQSLAAAAVAAAGGRSDGGNPLDDKQWLTTISQYDKEVGQWNKFRDEVEDDYFRTWSP
 GKPFDAQALDFAKDPCLMKCSRHKVCIQDSQTAVCISHRRLTHERMKEAGVDHRQWRGPILSTCKQCPVVYPSPV
 CGSDGHTYSFQCKLEYQACVVGKQISVKCEGHCPSPDKPTSTRNVKRACSDLEFREVANRLRDFWFKALHESGS
 QNKKTKTLRLPERSRFDTSILPICKDSLGMWPNRLDNYDLLDQSELRSIYLDKNEQCTKAFFNSCDTYKDSL
 SNNEWCYCFQRQDPPCQTELSNIQKRQGVKLLGQYIPLCDEDEGYKPTQCHGSVGGCWCVDRYGNEVMGSRIN
 GVADCAIDFEISGDFASGDFHEWTDDEDEDDIMNDEDEIEDDEDEGDDDDGGDDHDVYI

도면55

CCAGTCTGTCCGCACTTGGTGTCTGCTGTCCCGCCAGGCAAGCCTGGGGTGAGAGCACAGAGGAGTGGG
 CCGGGACCATGCGGGGACGCGGCTGGCGCTCCTGGCGCTGGTGTGGCTGCCTGCGGAGAGCTGGCGCCGGCCC
 TGCGCTGCTACGCTGTCCGGAGCCACAGGAGTGTGGACTGTGTCAACATCGCCACCTGCACCACCAAGAAA
 CCATGTGCAAGACCACTCTACTCCCGGAGATAGTGTACCCCTTCAGGGGACTCCACGGTGACCAAGTCCCT
 GTGCCAGCAAGTGTAAAGCCCTCGGATGTGGATGGCATCGGCCAGACCTGCCCGTGTCTGCTGCAATACTGAGC
 TGTGCAATGTAGACGGGGCGCCCGCTCTGAACAGCCTCCACTGCGGGGCCCTCACGCTCCTCCCACTCTTGAGCC
 TCCGACTGTAGAGTCCCGCCACCCCATGGCCCTATGCGGCCAGCCCGAATGCCTTGAAAGAGTGCCTCCCT
 GCACCAGGAAAAAAAAAAAAAAAA

도면56

신호 서열 : 아미노산 1-17
 N-글리코실화 부위 : 아미노산 46-50
 N-미리스토일화 부위 : 아미노산 3-9; 33-39; 84-90
 원핵세포막 지단백질 지질 부착 부위 : 아미노산 6-17

MRGTRLALLALVLAACGELAPALRCYVCPPTGVSDCVITATCTTNETMCKTTLYSREIVYFPQGDSTVTKSCAS
 KCPSPDVGIGQTLVSCCNTELNVGDGAPALNSLHCGALTLPLLSLRL

도면57

CGGACGCGTGGGCGGACGCGTGGGCGGACGCGTGGGCGGACGCGTGGGCTGGGTGCCTGCATCGCCATGGACACC
 ACCAGGTACAGCAAGTGGGGCGCAGCTCCGAGGAGGTCCCGGAGGGCCCTGGGGACGCTGGGTGCCTGGAGC
 AGGAGACCCCTCTTGGCCCTGGCTGTCTGGTCAACACAGTCCCTTGGGCTGTGATTCTGAGTATCCTATTG
 TCCAAAGCCTCCACGGAGCGCGCGCTGTGACGGCCACGACTGTGAGGACAAACGCCCTCGAAGCAGACG
 GCGCGCTGGGTGCCCTGAAGGAGGAGTGGGAGACTGCCACAGCTGCTGCTGGGGACGACGCGCAGCTGCAG
 ACCACGCGCGGAGCTTGGGGAGGCGCAGCCGAAGCTGATGGAGCAGGAGAGCCCTGCGGGAATCGCTGAG
 CGCGTGACCCAGGGCTGGCTGAAGCGGCAAGGGCCGTGAGGACGTCGCACTGAGCTGTTCCGGGCGCTGGAG
 GCCGTGAGGCTCCAGAACAACCTCTGCGAGCCGTGCCCCACGTCGTGGCTGCTCTCGAGGGCTCCTGCTACTTT
 TTCTCTGTGCCAAAGACGACGTGGGCGGCGCGCAGGATCACTGCGCAGATGCCAGCGCGCACTGGTGATCGTT
 GGGGGCTGGATGAGCAGGGCTTCCTCACTCGGAACAACGCGTGGCGGTGTTACTGGCTGGGCTGAGGGCTGTG
 CGCCATCTGGGCAAGGTCAGGGCTACCACTGGGTGGACGGAGTCTCTCTCAGCTTCCAGCACTGGAACAGGGA
 GAGCCCAATGACGCTTGGGGCGCGGAGAACTGTGTATGATGCTGCACACGGGGCTGTGGAAACGACGACCCGTG
 GACAGCGAGAAGGACGGCTGGATCTGTGAGAAAAGGCACAACCTGGAACCCCGCCAGTGCCTGGAGCCGCGCC
 CATGTGAGCATGTCTATCCTGGGGCTGCTCACTCCCTGGCTCCCTGGAGCTGATTGCCAAAGAGTTTTTTCT
 TCCTCATCCACCGCTGCTGAGTCTCAGAAACACTTGGCCCAACATAGCCCTGTCCAGCCAGTGCCTGGGCTGT
 GGACCTCCATGCGGACCTCATCTAACTCCACTCACGCAGACCAACCTAACCTCCACTAGCTCCAAAATCCCTG
 CTCCTGCGTCCCGTGATATGCTCCACTTCTCTCCCTAACCAAGGTTAGGTGACTGAGGACTGGAGCTGTTTGG
 TTTCTCGCATTTTTCCACCAAACTGGAAGCTGTTTTTGCAGCCTGAGGAAGCATCAATAAATATTGAGAAATGA
 AAAAA

도면58

신호 서열 :	아미노산 1-46
막형단 도메인 :	아미노산 31-54
N-글리코실화 부위 :	아미노산 73-77;159-163
N-미리스토일화 부위 :	아미노산 18-24;133-139;242-248
C-타입 렉틴 도메인 신호 :	아미노산 264-288
류신 지퍼 패턴 :	아미노산 102-124

MDTTRYSKWGGSSSEVPGGPWGRVHWSRRPLFLALAVLVTTVLWAVILSILLKASTERAALLDGHDLRLTNAS
 KQTAALGALKKEVGDCHSCCSGTQALQQTTRAEELGAEQAKLMEQESALRELRERVTQGLAEAGRGREDVRELF
 AL EAVRLQNNSCPEPTSWLSFEGSCYFFSVPKTTWAAAQDHCADASHLVIVGGLDEQGFLLRNRTRGRGYWGL
 RAVRHLGKVGQYQWVDGVSLSFSHWNQGEPNDAWGRENCVMMMLHTGLWNDAPCDSEKDGWICEKRHNC

도면59

GTGCAATCCAAATCACTCATTGTGAAAGCTGAGCTCACAGCCGAATAAGCCACCATGAGGCTGTGAGTGTGCTC
 CTGATGGTCTCGCTGGCCCTTTGCTGCTACCAGGCCATGCTCTTGTCTGCCAGCTGTGTGCTTCTGAGATCACA
 GTCTTCTTATTCTTAAGTGACGCTGCGGTAAACCTCCAAGTTGCCAAACTTAATCCACCTCCAGAAGCTCTTGCA
 GCCAAGTTGGAAGTGAAGCACTGCACCGATCAGATATCTTTAAGAAACGACTCTCATTTGAAAAAGTCTGGTGAA
 ATAGTTGAAAAAATGTGGTGTGACATGTAAAAATGCTCAACCTGGTTTCCAAGTCTTTCAACGACACCCCTGAT
 CTTCACTAAAAATGTAAAGGTTTCAACACGTTGCTTTAATAATCACTTGGCCCTGC

도면60

신호 패턴트 :	아미노산 1-15
cAMP- 및 cGMP-의존성 단백질 키나제 인산화 부위 :	아미노산 73-77

MRLSVCLLMVSLALCCYQAHALVCPAVASEITVFLFLSDAAVNLQVAKLNPPEALAAKLEVKHCTDQISFKKRL
 SLKKSWWW

도면61

GCGAGGTGGCGATCGCTGAGAGGCAGGAGGCCGAGGCGGGCCTGGGAGGCGGCCCGGAGGTGGGGCGCCGCTGG
 GGCCGGCCCGCACGGGCTTCATCTGAGGGCGCACGGCCCGCGACCGAGCGTGCGGACTGGCCCTCCAAGCGTGGG
 GCGACAAGCTGCCGGAGCTGCAATGGGCGCGGGCTGGGGATTCTTGTTTGGCCCTCTGGGCGCCGCTGGCTGCT
 CAGCTCGGGCCACGGAGAGGAGCAGCCCGGGAGACAGCGGCACAGAGGTGCTTCTGCCAGGTAGTGGTTACTT
 GGATGATTGTACCTGTGATGTTGAAACCATGATAGATTTAATAACTACAGGCTTTCCCAAGACTACAAAACT
 TCTTGAAAGTGACTACTTTAGGTATTACAAGTAAACCTGAAGAGGCGGTGCTCTTCTGGAATGACATCAGCCA
 GTGTGGAAGAAGGGACTGTGCTGTCAAACCATGTAATCTGATGAAGTTCCTGATGGAATTAATCTGCGAGCTA
 CAAGTATTCTGAAGAAGCAATAATCTCATTGAAGAAATGTGAACAAGCTGAACGACTGGAGCAGTGGATGAATC
 TCTGAGTGAAGAAACACAGAAGGCTGTCTTCAAGTGAAGCAAGCATGATGATTTCTCAGATAACTTCTGTGAAGC
 TGATGACATTCAGTCCCCGAAGCTGAATATGTAGATTTGCTTCTTAATCCTGAGCGCTACACTGGTTACAAGGG
 ACCAGATGCTTGGAAAAATGGAATGTCACTACGAAGAAAACCTGTTTAAAGCCACAGACAATTAAGAACCTTT
 AAATCCTTTGGCTTCTGGTCAAGGACAAAGTGAAGAGAACACTTTTACAGTTGGCTAGAAGGTCTCTGTGTAGA
 AAAAAAGACATTTACAGACTTATATCTGGCCCTACATGCAAGCATTAAATGTGCAATTTGAGTGAAGATATCTTT
 ACAAGAGACCTGGTTAGAAAAGAAATGGGGACACACATTACAGAAATTTCAACAGCGATTGATGGAATTTTGAC
 TGAAGGAGAAGGTCCAAGAAGGCTTAAGAACTTGTATTTTCTCTACTTAATAGAACTAAGGGCTTTATCCAAAGT
 GTTACCATTCTTCGAGCGCCAGATTTTCAACTCTTTACTGGAATAAAATTCAGGATGAGGAAAAACAAATGTT
 TTGTTTTAAATGTCTGTGGGGAAAGCTTCAGACTCAGGCTTTGGGCACTGCTCTGAAGATCTTATTTCTGA
 GAAATTTGATAGCAAAATAGCCAGAAAGTGGACCTAGTTATGAATTCATCTAACCCAGACAGAAATAGTATCATT
 ATTCAACGCATTTGGAAGAAATTTCTACAGTGTGAAAGAAATAGAAAACTTCAGGAACCTGTTACAGAATATTCA
 TTAAGAAAAACAAGCTGATATGTGCTGTTTCTGGACAATGGAGGCGAAAGAGTGAATTTCAATCAAAGGCATA
 ATAGCAATGACAGCTTAAAGCCAAACATTTATATAAAGTTGCTTTTGTAAAGGAGAAATATATGTTTTAAGTA
 AACACATTTTAAAAATGTGTTAAGTCTATGTATAATCTACTGTGAGTAAAAGTAACTTTAATAATGTGGT
 ACAAAATTTAAAGTTTAAATTTGAATAAAAGGAGGATTAATCAAATTAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
 AAAAAAAAAA

도면62

신호 펩티드 :	아미노산 1-23
N-글리코실화 부위 :	아미노산 280-284; 384-388
아미드화 부위 :	아미노산 94-98
글리코아미노글리칸 부착 부위 :	아미노산 20-24; 223-227
아미노트랜스퍼라제 클래스-V 피리독살-포스페이트 부위 :	아미노산 216-223
인터루킨-7 단백질 부위 :	아미노산 338-344

MGRGWGFLFGLLGA VVLLSSGH3EEQPETAQRFCFCQVSGYLD DCTCDVETIDRFNNYRLF PRLQKLLSESYFR
 YYKVNLRKPCPFWNDISQCGRFDCAVKPCQSDVDPDGIKSASYKYSEANNLIEECEQAERLGAVDESLESEETQK
 AVLQWTKHDDSSDNFCEADDIQSPEAEYVDLLNPERYTYGKGPDAWKIWNVIYEENCFKPQTIKRPLNPLASGQ
 GTSEENTFYSWLEGLCEKRAFIRLISGLHASINVHLSARYLLOETWLEKKWGHNI TEFQQRFDGILTEGEGP RR
 LKNLYFLYLIELRALSKVLPFFERPDFQLFTGNKIQDEENKMLLEILHEIKSFPLHFDENSFFAGDKKEAHLK
 EDFRLHFRNISRIMDCVGCFCRLWGLQTLQGLGTALKILFSEKLIANMPESGSPSYEFHLTRQEI VSLFNAFGRI
 STSVKELENFRNLLQNIH

도면63

GAGAGGACGAGGTGCCGCTGCCTGGAGAATCCTCCGCTGCCGTCGGCTCCCGGAGCCAGCCCTTTCCTAACC
 ACCCAACCTAGCCAGTCCAGCCGCGCAGCCCTGTCCCTGTACGGACCCAGCGTTACCATGCATCCTGCCGT
 CTTCCATCCTTACCCGACCTCAGATGCTCCCTTCTGCTCCTGGTAACTTGGGTTTTACTCCTGTAACTGA
 AATAACAAGTCTTGCTACAGAGAATATAGATGAAATTTTAAACAATGCTGATGTTGCTTTAGTAAATTTTATGC
 TGACTGGTGTGCTTTCAGTCAGATGTTGCATCCAATTTTTGAGGAAGCTCCGATGTCATTAAGGAAGAATTTCC
 AAATGAAAAATCAAGTAGTGTGGCCAGAGTTGATTTGATCAGCACTCTGACATAGCCAGAGATACAGGATAAG
 CAATAACCAACCTCAAAATGTTTCGTAATGGGATGATGATGAAGAGAATAACAGGGGTCAGCGATCAGTGAA
 AGCATTGGCAGATTACATCAGGCAACAAAAAGTGACCCCATTCAGAAATTCGGGACTTAGCAGAAATCACCAC
 TCTTGATCGCAGCAAAAGAAATATCATTTGATATTTTGAGCAAAAGGACTCGGACAACATATAGAGTTTTGAACG
 AGTAGCGAATATTTGCATGATGACTGTGCCCTTTCTTCTGCATTTGGGGATGTTTCAAAACCGGAAAGATATAG
 TGGCGACAACATAATCTACAAACCACAGGGCATTTCTGCTCCGGATATGGTGTACTTGGGAGCTATGACAAATTT
 TGATGTGACTTACAATTTGATCAAGATAAATGTGTCTCTTGTCCGAGAAATAACATTTGAAATGGAGAGGA
 ATTGACAGAAGAAGGACTGCCTTTCTCATACTCTTTCACATGAAGAAGATACAGAAAGTTTAGAAATATTTCCA
 GAATGAAGTAGCTCGGCAATTAATAAGTGAAAAAGGTACAATAAATTTTACATGCCGATTTGACAAATTTAG
 ACATCTCTTCTGACATACAGAAAACCTCAGCAGATTGCTCTGTAATCGCTATTGACAGCTTTAGGCATATGTA
 TGTGTTGGGAGACTTCAAGATGATTAATTTCTGGAAAACTAAGCAATTCGTATTTGACTTACATTTCTGGAAA
 ACTGCACAGAGAATTCATCATGGACTGACCCCACTGATACAGCCCCAGGAGAGCAAGCCCAAGATGTAGCAA
 CAGTCCACCTGAGAGCTCCTTCCAGAACTAGCACCCAGTGAATATAGGTATACTTATTGAGGGATCGAGATGAGCT
 TTTAAAACTTGAAGAAACAGTTTGAAGCCTTTCAACAGCAGCATCAACCTACGTGGTGGAAATAGTAAACCTATA
 TTTTCATAATCTATGTGATTTTATTTTGAATAAACAGAAAGAAATTTAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
 AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

도면64

신호 서열 :	아미노산 1-29
티로신 키나제 인산화 부위 :	아미노산 203-212
N-미리스토일화 부위 :	아미노산 225-231
소포체 표적 서열 :	아미노산 403-408

MHPAVFLSLPDLRCSLLLVTWVFTPVTEITSLATENIDEILNADVALVNFYADWCRFSQMLHPIFEEASDVI
 KEEFPNENQVVFARVDCDQHS DIAQRYRISKYPTLKLFRNGMMMKREYRGQRSVKALADYIRQQKSDPIQEI RDL
 AEITTLDRSKRNIIGYFEQKSDNYRVFERVANILHDDCAPLSAFDGVSKPERYSGDNI IYKPPGHSAPDMVYLG
 AMNFDVTYNWIQDKCVPLVREITFENGEELTEEGLPFLILFHMKEDTESLEIFQNEVARQLISEKGTINFLHAD
 CDKFRHPLLHIQKTPADCPVIAIDSRHMYVFGDFKVDLIPGKLGQVFDLHSGKLRHREFHHGPDPTDAPGEQA
 QDVASSPPESSFQKLAPSEYRYTLRDRDEL

도면65

GAGGATTTGCCACAGCAGCGGATAGAGCAGGAGACACCACCGGAGCCCTTGAGACATCCTTGAGAAGAGCCACA
GCATAAGAGACTGCCCTGCTTGGTGTTCAGGATGATGGTGGCCCTTCGAGGAGCTTCTGCATTGCTGGTTC
GTTCTTGCAGCTTTTCTGCCCCCGCCGAGTGTACCCAGGACCCAGCCATGGTGCATTACATCTACCAGCGCTT
TCGAGTCTTGGAGCAAGGGCTGGAAAAATGTACCCAAAGCAACGAGGGCATAACATTCAGAATTCCAGAGTTC
AAAAATATATCTGTCTATGCTGGGAAGATGTCAGACCTACACAAGTGAATACAAGAGTGCAGTGGGTAACCTGGC
ACTGAGAGTTGAACCTGCCAACCGGAGATTGACTACATACAATACCTTCGAGAGGCTGACGAGTGCATCGTATC
AGAGGACAAGACACTGGCAGAAATGTGCTCCAAGAGCTGAAGAAGAGAAAAAGATCCGGACTCTGCTGAATGC
AAGCTGTGACACATGCTGATGGGCATAAAGTCTTTGAAAATAGTGAAGAAGATGATGGACACACATGGCTCTTG
GATGAAGATGCTGTCTATAACTCTCCAAAGGTGACTTATTAATTGGATCCAGAAACAACACTGTTTGGGAATT
TGCAACATACGGGCAATTCATGGAGGATAACACCAAGCCAGCTCCCGGAAGCAAATCTTAACACTTTCCTGGCA
GGGAACAGGCCAAGTATCTACAAGGTTTCTATTTTTTCATAACCAAGCAACTCTAATGAGATAATCAAATA
TAACCTGCAGAAAGGACTGTGGAAGATCGAATGCTGCTCCAGGAGGGGTAGGCCGAGCATTTGGTTTACCAGCA
CTCCCTCAACTTACATTGACCTGGCTGTGGATGAGCATGGGCTCTGGGCCATCCACTCTGGCCAGGCACCCA
TAGCCATTTGGTTCTCACAAGATTGAGCCGGGCACACTGGGAGTGGAGCATTTCATGGGATACCCATGCAGAAG
CCAGGATGCTGAAGCCTCATCTCTTGTGTGGGTTCTCTATGTGGTCTACAGTACTGGGGCCAGGGCCCTCA
TCGCATCACCTGCATCTATGATCCACTGGGCATATCAGTGAAGGAGACTTGCCTCACTGTTCTTCCCAAGAG
ACCAAGAAGTCACTCCATGATCCATTACAACCCAGAGATAAGCAGCTCTATGCTGGAATGAAGGAAACAGAT
CATTTACAACCTCCAGACAAGAGAAAGCTGCTCTGAAGTAAATGATACAGTGTGAGAAAGAGCACTGTGGC
TTTGGCAGCTGTTTACAGGACAGTGGGCTATAGCCCTTACAATATAGTATCCCTTAATCACACACAGGAA
GAGTGTGTAGAAAGTGGAAATACGTATGCTCCTTTCCCAAGTGCATGCTTAGGTATCTTCCAGAGCTTAGA
TGAGAGCATATCATCAGGAAAGTTCAACAATGTCCATTAATCCCAACCTCCTGGCTCTCAAGGATGACCAC
ATTCGTATACAGCCTACTTCAAGCCTTTTGTTTTACTGCTCCCAAGCATTACTGTAACCTGCTCCATCTTCC
CCAAATTAGAGTTGTATGCCAGCCCTAATATTCAACACTGGCTTTTCTCTCCCTGGCCTTTGCTGAAGCTCT
TCCTCTTTTCAAATGTCTATGATATCTCCATTTTCACTGCCCAACTAAATACTATTAATATTTCTTCTT
TTCTTTTCTTTTTTGGAGCAAGGCTCACTATGTTGCCAGGCTGGTCTCAAACCTCCAGAGCTCAAGAGATC
CTCCAGCCTCAGCCTCCTAAGTACCTGGGATTAACAGGATGTCACCAACACCTGGCTTAAAACTATTTCTTA
TTGAGTTPAACCTTATTTCCCTAGCCCTGCTCTTCCACTAAGCTTGGTAGATGTAATAAAGTGAATA
TTAACATTTGAATATCGCTTCCAGGTGTGGAGTGTGTCACATCATGAATTCGTTTACCTTTTGTGAACA
TGACAAAGTCTTACAGCTGTCACTTAGAGTTAGGTGAGTAACACAATTACAAGTGAAGATACAGCTAGAA
AATACTACAATCCCATAGTTTTCCATGCCCAGGAAAGCATCAAATACGTATGTTGTTCACCTACTCTATA
GTCATGCGTTCATGTTTCCAGCCTAAAAATAATAGTCTGCTCCCTTAGCCAGTTTTCATGCTGCACAAGACCT
TTCAATAGGCTTTCAAATGATAATTCTCCAGAAAACAGTCTAAGGGTGAAGACCCCAACTCTAGCCTCTCT
TGCTGTGCTCTGTTCTCTCTTTCTGCTTTAAATTCAATAAAGTGACACTGAGCAAAAAAAAAAAAAA

도면66

신호 패턴드 : 아미노산 1-25
N-글리코실화 부위 : 아미노산 66-70;138-142;183-187

MMVALRGASALLVFLAFLPPQCTQDPAMVHYIYQFRVLEQGLEKCTQATRAYIQEFQEFKNSVMLGRQ
TYTSEYKSAVGNLALRVERAQR EIDYIQYLREADECI VSEDKTLAEMLLQEAEEKKIRITLLNASCDNMLMGIKS
LKIYKMMMDTHGSMWMDAVYNSPKVYLLIGSRNNTVWFANIRAFMEDNTKPA PRKQILTLWSQGTGQVIYKGF
FFHNQATSNEI IKYNLQKRIVEDRMLLPGGVGRALVYQHS PSTYIDLAVDEHGLWA IHSFGPTHSLVLTKEIPG
TLGVEHSWDTPCRSQDAEASFLLCGVLYVVVYSTGGQPHRITCIYDPLGTISEEDLPNLFPPKRRPRSHSMIHYNP
RDKQLYAWNENQIYKLTQKRLPLK

도면67

GTTGATGGCAAACCTCTCTCAAAGGAGGGGCGAGAGCCTGCCAGGGCAGGAGCAGCTGGCCACTGGCGGCCGCA
ACACTCCGTCTCACCTCTGGGCCCACTGCATCTAGAGGAGGGCGTCTGTGAGGCCTACCCCTCCAGCAACT
GGGAGGTGGGACTGTGAGAGCTGGCCAGGGTGGTGGTGCAGCTGGGTGAGGACCTACGGCACCTGCTGGACCA
CCTCGCCTTCTCCATCGAAGCAGGGAAGTGGGAGCCTCGAGCCCTCGGGTGGAAAGCTGACCCCAAGCCACCTTC
ACCTGGACAGGATGAGAGTGTGAGTGTGCTTCGCCCTCCTGGCCCTCATCTTGGCCATAGTCACGACATGGATGT
TTATTCGAAGCTACATGAGCTTACAGCATGAAAACCATCCGCTGCGCCAGCTGGCTGGCAGCCTCGCCCAAGG
AGATCCAGGTTAAAAAGTACAAGTGTGGCCTCATCAAGCCCTGCCAGCCAACTACTTTGCGTTTAAAACTGCA
GTGGGGCCGCCAACGTCGTGGGCCCTACTATGTGCTTTGAAGACCCGATGATCATGAGTCCCTGTAAAAACAATG
TGGGCAGAGGCCCTAAACATCGCCCTGGTGAATGGAACCAAGGAGCTGTGCTGGGACAGAAGGCATTTGACATGT
ACTCTGGAGATGTTATGCACCTAGTGAATTCCTTAAAGAAATTCGGGGGGTGCACCTGTTGCTGTTGGCCCTCCT
ACGACGATCCAGGGACAAAATGAACGATGAAAAGCAGGAACTCTTCTCTGACTTGGGAGTTCCTACGCAAAAC
AACTGGGCTTCGGGACAGCTGGGCTTTCATAGGAGCCAAAGACCTCAGGGGTAAAAAGCCCTTTGAGCAGTTCT
TAAAGAACAGCCAGACACAACAATAACGAGGATGGCCAGAGTGTGTTGAGATGGAGGGCTGCATGCCCCCGA
AGCCATTTAGGGTGGCTGTGGCTTCTCCTCAGCCAGGGGCTGAAGAAGCTTCCTGCTGACTTAGGAGTGCAGAG
CCCGGACGGGCTGAGGAGGAGGAGCAGGGGTGCTGCGTGAAGGTGCTGCAGGCTCTGCAGCTTGTGCTGCGG
CCTCTCCTCCTCGGAAACAGAACCTCCACAGCACATCTACCCGGAAGACCAGCCTCAGAGGGCTCTTCTGGA
ACCAGCTGCTGTGGAGAAATGGGGTCTTTCGTCAGGGACTGCTGACGGCTGGTCTGAGGAAGGACAAAACG
CCCAGACTTGAGCCCAATTAATTTTATTTTGTGGTTTTGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

도면68

신호 패턴드 : 아미노산 1-15
 ATP/GTP- 결합 부위 모티프 A (P- 루프) : 아미노산 184-192
 N-클리코실화 부위 : 아미노산 107-111

MRVSGVLRLLALIFAIVTTWMFIRSYMSFSMKTI RLRPLWLAASPTKEIQVKYKCGLIKPCPANYFAFKICSGAA
 NVVGPTMCFEDRMIMSPVKNVGRGLNIALVNGTTGAVLGQKAFDMYSGDVMHLVKFLKEIPGGALVLVASYDDP
 GTKMNDESRKLFSDLGSSYAKQLGFRDSWVFIGAKDLRGS PFPEQFLKNSPDTNKYEGWPELLEMEGCMPPKPF

도면69

GGGGGAGCTAGGCCGGCGGCGAGTGGTGGTGGCGGCGGCGCAAGGGTGAGGGCGGCCAGAACCCAGGTAGGTA
 GAGCAAGAAGATGCTGTTTCTGCCCTCAAATGGTCCCTTGAACCATGTCTACTTCTCCTCACTGTTGGC
 TCTCTTAACGTGTCCACTCCTTCATGGTGTGAGAGCACTGAAGCATCTCCAAAACGTAGTGATGGGACACCAT
 TCCTTGAATAAAAACGACTTCCTGAGTACGTATCCAGTTCATTATGATCTCTTGATCCATGCAAAACCTTAC
 CAGCGTGACCTTCTGGGGAACACGAAAGTAGAATACAGCCAGTCAAGCCACAGCACCATCATCTCATAG
 TCACCCCTGTCAGATATCTAGGCCACCTCAGGAAGGGAGCTGGAGAGAGGCTATCGGAAGAACCCTGCAGGT
 CCTGGAACACCCCTCAGGAGCAAAATGCACTGCTGGCTCCGAGCCCTCCTGTGCGGCTCCCGTACACAGT
 TGTCACTCACTATGCTGGCAATCTTCGAGACTTTCACCGGATTTTACAAAAGCCTTACAGAACCAAGGAAG
 GAACTGAGGATACTAGCATCAACACAATTTGAACCCACTGCAGCTAGAAATGGCCCTTCCCTGCTTTGATGAAC
 TGCCTTCAAAGCAAGTTTCTCAATCAAATTAGAAGAGAGCCAAAGGCACCTAGCCATCTCCAATATGCCATTGGT
 GAAATCTGTGACTGTGTGCTGAAGGACTCATAGAAGACCATTTGATGTCACTGTGAAGATGAGCACCTATCTGGT
 GGCTTCATCATTTGAGATTTGAGTCTGTGTCAGCAAGATAACCAAGAGTGGAGTCAAGGTTTCTGTTTATGCTGT
 GCCAGACAAGATAAATCAAGCAGATTATGCACTGGATGCTGCGGTGACTCTTCTAGAATTTTATGAGGATTATTT
 CAGCATACCGTATCCCTACCCAAACAAGATCTGCTGCTATTTCCGACTTTCAGTCTGGTGTATGGAAGAACTG
 GGCATCAACAATATAGAGAATCTGCTCTGTTGTTGATGCAGAAAAGTCTTCTGCATCAAGTAAGTGGCAT
 CACAGTGACTGTGGCCCATGAACTGGCCACCCAGTGGTTTGGGAACCTGGTCACTATGGAATGGTGGAAATGATCT
 TTGGCTAAATGAAGGATTTGCCAAATTTATGGAGTTTGTGTCTGTCACTGTGACCCATCTGAACTGAAAGTTGG
 AGATTTTCTTTGGCAAATGTTTGCAGCAATGGAGGTAGATGCTTTAAATCCTCACACCCCTGTGTCTACACC
 TGTGGAAAATCCTGCTCAGATCCGGGAGATGTTGATGATGTTTCTTATGATAAGGGAGCTTGTATTCTGAATAT
 GCTAAGGGAGTATCTTAGCGCTGACGCATTTAAAAGTGGTATTGTACAGTATCTCCAGAAAGCATAGCATATAAAA
 TACAAAAACGAGGACCTGTGGGATAGTATGGCAAGTATTTGCCCTACAGATGGTGTAAAAGGGATGGATGGCTT
 TTGCTTAGAAGTCAACATTCATCTTCATCTCACATTTGGCATCAGGAAGGGTGGATGTGAAAAACCATGATGAA
 CACTTGGACACTGCAGAGGGGTTTCCCTTAATAACCATCACAGTGAAGGGGAGGAATGTACACATGAAGCAAGA
 GCCTACATGAAGGGCTCTGACGGCGCCCGGACACTGGGTACCCTGTGGCATGTTCCATTGACATTCATCACCCAG
 CAAATCCAACATGGTCCATCGATTTTGTCTAAAAACAAAAACAGATGTGCTCATCCTCCAGAAAGGGTGGAAATG
 GATCAAATTTAATGTGGGCATGAATGGCTATFACATTTGTGATACAGAGGATGATGGATGGGACTCTTTGACTGG
 CCTTTTAAAAGGAACACACAGCAGTCAAGTAAATGATCGGGCAAGTCTCATTAAACAATGCATTTAGCTCGT
 CAGCATTTGGGAAGCTGTCCATTGAAAAGGCTTGGATTTATCCCTGTACTTGAACATGAAACTGAAATTTAGCC
 CGTGTTCAGGTTTGAATGAGCTGATTCCTATGATATAAGTTAATGGAGAAAAGAGATATGAATGAAGTGGAAAC
 TCAATTCAGGCTTCTCCTCATCAGGCTGCTAAGGGACCTCATTGATAAGCAGACATGGACAGACGAGGGCTCAGT
 CTGAGGCAAAATGCTGCGGAGTGAACACTACTCCTCGCCTGTGTGCACAACATACAGCCGTGCTACAGAGGGC
 AGAAGGCTATTTGAGAAAGTGGAGGAATCCAATGGAACCTGAGCCTGCTGTCGACGTGACCTTGGCAGTGT
 TGCTGTGGGGCCAGAGCACAAAGGCTGGGATTTTCTTTATAGTAAATATCAGTTTCTTTTGTCCAGTACTGA
 GAAAAGCCAAATGAATTTGCCCTTGCAGAACCCAAAATAAGGAAAAGCTTCAATGGCTACTAGATGAAAGCTT
 TAAGGGAGATAAAATAAAACCTCAGGAGTTTCCACAAATTTTACACTCATTTGGCAGGAACCCAGTAGGATACCC
 ACTGGCTGGCAATTTCTGAGGAAAACTGGAAACAACTTGTACAAAAGTTTGAACCTTGGCTCATCTTCCATAGC
 CCACATGGTAATGGGTACAACAAATCAATTTCTCACAAGAACAGGCTTGAAGAGGTAAAAGGATTTCTCAGCTC
 TTTGAAAGAAAATGGTTCTCAGCTCCGTTGTGTCCACAGACAATTTGAACCATTGAAGAAAACATCGTTGGAT
 GGATAAGAATTTTGAATAAATCAGAGTGTGGCTGCAAGTGAAGGCTTGAACGATATGTAATAAATTTCTCCCTTG
 CCGGTTCTGTTTATCTTAATCAACAACATTTGTTGAGTGTATTTTCAAACCTAGAGATGGCTGTTTTGGCTCC
 AACTGGAGATACTTTTTTCCCTTCAACTCATTTTTTGTACTATCCCTGTGAAAAGAATAGCTGTTAGTTTTTCATG
 AATGGGCTTTTTTCATGAATGGCTATCGCTACCATGTGTTTTGTTCACTCAGGCTGTGCCCTGCAACGTAAACC
 CAAGTGTGGGTTCCCTGCCACAGAAATAAAGTACCTTATTTCTTCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
 A

도면70

신호 웨버트 : 아미노산 1-34
 N-글리코실화 부위 : 아미노산 70-74;154-158;414-418;
 760-764;901-905
 중성 아연 메탈로웨버터제, 아연-결합 영역 신호 : 아미노산 350-360

MVFLPLKWSLATMSFLLSSLLALLTVSTPSWCQSTEASPKRSDGTPFPWNKIRLPEYVIPVHYDLLIHANLTLT
 FWGTTKVEITASQPTSTIILHSHLQISRATLRKAGERLSEEPQVLEHPPQEQIALLAPEPLLVGLPYTVVVIH
 YAGNLSSEPHGFYKSTYRTEGELRILASTQFEPTAARMAFPFCFDEPAFKASFSIKIRREPRHLAISNMPVKS
 TVAEGLEDHFDVTKMSTYLVAFIISDFESVSKITKSGVKSVYAVPDKINQADYALDAAVTLLEFYEDYF
 YPLPKQDLAAIPDFQSGAMENWGLTTYRESALLFDAEKSSASSKLGITVTVAHLELAHQWFGNLTWEMW
 EGFAPKFMFVSVVTHPELVKVDYFFGKCFDAMEVDALNSHPVSTVEVNFQIREMPDDVSYDKGACILNMLRE
 YLSADAFKSGIVQYLQKHSYKNTKNEDLWDSMASICPTDGVKMGDGFCSRSHSSSSSHWHQEGVDVKTMMNTWT
 LQRGFPLIITVVRGRNVHMKQEHYMKGSDGAPDTGYLWHVPLTFITSKSNMVHRFLKTKTDVLIILFEEVEWIKF
 NVGMNGYIVHYEDDGWDSLTLGLKGTHTAVSNDRASLINNAPQLVSIKLSIEKALDLSLYLKHETEIMPVFG
 GLNELIPMYKLMKRDMEVETQFKAFILRLRLDIDKQWTEDEGSVSEQMLRSELLLLACVHNYQPCVQRAEY
 FRKWKESNGLSLPVDVTLAVFAVGAQSTEGWDFLYSKYQFSLSSSTEKSIQEFALCRQNKELQWLLDESFKGD
 KIKTQEFQILPLIGRNPVGYPLAWQFLRKNWNKLVQKPELGSSSIAHMVMGTTNQFSTRTRLEEVKGFSSLKE
 NGSQRLCVQQTITETIENIGWMDKNFDKIRVWLQSEKLERM

도면71

GAGCGAACATGGCAGCGCGTGGCGGTTTTGGTGTGTCTCTGTGACCATGGTGGTGGCGCTGCTCATCGTTTGGC
 ACGTTCCCTCAGCCTCTGCCAAAGAAAGAGGAGATGGTGTATCTGAAAAGGTTAGTCAGCTGATGGAATGGA
 CTAACAAAGACCTGTAATAAGAATGAATGGAGACAAGTTCCTCGCCTTGTGAAAGCCCCACCGAGAAATTA
 CCGTTATCGTCACTGCTCTCAACTGCATAGACAGTGTGTCGTTTGCAGCAAGCTGATGAAGAATCC
 AGATCCTGGCAAACCTCTGGCGATACTCCAGTGCATTACCAACAGGATATTTTTTCCATGGTGGATTTGATG
 AAGGCTCTGATGATTTTCAGATGCTAAACATGAATTCAGCTCCAACCTTTCATCAACTTTCTGCAAAAGGGA
 CCACACGGGGTGATACATATGAGTTACAGGTGCGGGGTTTTTCAGCTGAGCAGATTGCCCGGTGGATCCCGACA
 GAACGTGATGCAATATAGAGTATTAGACACCCCAAAATATGCTGGTCCCTTATGTTGGGATTGCTTTTGGCTG
 TTATTGGTGGACTTGTGTATCTTCGAAGAAGTAATATGGAATTTCTCTTAAATAAACTGGATGGGCTTTGCGAG
 CTTTGTGTTTTGTGCTTGTATGACATCTGGTCAAATGTGGAACCATATAAGAGGACCACCATATGCCCATAGA
 ATCCCCACACGGGACATGTGAATATATCCATGGAAGCAGTCAAGCCAGTTTGTAGCTGAAACACACATGTTTC
 TTCTGTTTAAATGGTGGAGTACCTTAGGAATGGTCTTTTATGTGAAGCTGCTACCTCTGACATGGATATGGAA
 AGCGAAAGATAAATGTGTGTGGCTGGTATTGGACTTGTGTATATTTCTCAGTTGGATGCTCTCTATTTTTAGAT
 CTAATATCATGGCTACCCATACAGCTTTCTGATGAGTTAAAAGGTTCCAGAGATATATAGACACTGGAGTACT
 GGAATATGAAAACGAAAATCGTGTGTGTTGAAAAGAAGATGCAACTGTATATTTGATATACCTCTTTTTT
 TCAAAGTATTTAAATAGTTAATCATTTAACCAAGAAGATGTGTAGTGCCTTAAACAAGCAATCCTCTGCAAAAT
 CTGAGGTTATTTGAAAATAATTTCCCTTAACTTCTCTTCCAGTGAACCTTTATGGAACATTAATTTAGTACA
 ATTAAGTATATTTATAAAAATTTGAAAACCTACTACTTTGTTTTAGTTAGAACAAGCTCAAAACTACTTTAGTTAA
 CTGGTCACTGATTTTATATTGGCTTATCCAAAGATGGGAAAGTAAGTCTGACCGCTCCAGCCTGAGTGTATAGAGT
 GAGACTCTGCTCAAAAAAAGTATCTCTAAATACAGGATATAATTTCTGCTGAGTATGGTGTAACTACCTT
 GTATTTAGAAAGATTTAGATTCATTCATCTCTTAGTTTTCTTTAAGGTGACCCATCTGTGATAAAAATATA
 GCTTAGTGCTAAAATCAGTGTAACTTATACATGGCCTAAAATGTTTCTACAAATTAGAGTTTGTCACTTATCCA
 TTTGTACCTAAGAGAAAATAGGCTCAGTTAGAAAAGGACTCCCTGGCCAGGCGCAGTGAATACGCCTGTAATC
 TCAGCACTTTGGGAGGCCAAGGCAGGCAGATCACGAGTCCAGGAGTTCGAGACCATCTGGCCCAACATGGTGA
 CCCGCTCTACTAAAATATAAAAATTAGCTGGGTGGTGGCAGGAGCTGTAATCCAGCTACACAGGAGC
 TGAGGCACGAGAATCACTTGAACCTCAGGAGATGGAGGTTTCAGTGAGCCGAGATCACGCCACTGCCTCCAGCCT
 GGCAACAGAGCGAGACTCCATCTCAAAAAA

도면72

신호 웨버트 : 아미노산 1-29
 막형단 도메인 : 아미노산 183-205;217-237;
 217-287;301-321
 N-글리코실화 부위 : 아미노산 71-75;215-219
 세포 부착 서열 : 아미노산 150-153

MAARWRFWCVSVTMVVALIVCDVPSASARQKEMVLSEKVSQLEWNTNKRPIRIMNGDKFRRLVKAPPRNYSVI
 VMFTALQLHRQCVVCKQADEEFQILANSWRYSSAFTNRIFFAMVDFDEGSDVFLQMLNMSAPTFINFPKAGKPKR
 GDTYELQVRFSAEQIARINADRTDVNIRVIRPPNYAGPLMLGLLAVIIGLVYLRNENMEFLFNKGTGWAFAALC
 FVLAMTSGQMWNHIRGPPYAHKNPHTGHVNYIHGSSQAQFVAETHIVLLFNGGVTLGMVLLCEAATSDMDIGRKR
 IMCVAGIGLVVLFSSWMLSIFRSKYHGYPSFLMS

도면73

AAGCAACCAAACTGCAAGCTTTGGGAGTTGTTCCGCTGTCCCTGCCCTGCTCTGCTAGGGAGAGAACCAGAGAGG
AGGCGGCTGGCCCGGCGGAGGCTCTCAGAACCGCTACCGGCGATGCTACTGCTGTGGGTGTCGGTGGTCCGAGC
CTTGCCGCTGGCGGTACTGGCCCCGGAGCAGGGGAGCAGAGGGCGGAGAGCAGCCAAAGCGCCAATGTGGTGTCT
GGTCGTGAGCGACTCCTTCGATGGAAAGTTAAACATTTTCATCCAGGAAGTCAGGTAGTGAAACTTCCTTTTATCAA
CTTTATGAGACACGTGGGACTTCCTTTCTGAATGCCTACACAACTCTCCAATTTGTGGCCATCACGCGCAGC
AATGTGGAGTGGCCTTCTACTCACTTAACAGAACTTGGAAATAATTTAAGGGTCTAGATCCAAATTTATACAAAC
ATGGATGGATGTCATGGAGAGGCATGGCTACCGAACACAGAAATTTGGGAACTGGACTATACTTCAGGACATCA
CTCCATTAGTAATCGTGTGGAAGCGTGGACAAGAGATGTGCTTTCTTACTCAGACAAGAAGGCAGGCCCATGGT
TAATCTTATCCGTAACAGGACTAAAGTCAGAGTGTGGAAGGGGATGGCAGAAATACAGACAAAGCAGTAAACTG
GTTAAGAAAGGAAGCAATTAATTAACACTGAACCATTTGTATTTACTTGGGATTAATTTACACACCCCTTACC
TTCACCATCTCTGGAGAAAATTTGGATCTTCAACATTTACACATCTCTTTATTTGGCTTGAAAAAGTGTCTCA
TGATGCCATCAAAATCCCAAAGTGGTCACTTTGTCAGAAAATGCACCCCTGTAGATTACTCTTCTTATACAAA
AACTGCCTGGAAGATTTACAAAAAAGAAATTAAGAATATAGAGCATTTTATATGCTATGTGTGCTGAGAC
AGATGCCATGCTTGGTGAATATTTTGGCCCTTCAATTAGATCTTCTTACAGAAAATATTTGTCATATATCTC
CTCAGACCATGGAGAGCTGGCCATGGAAACATCGACAGTTTATAAAATGAGCATGTACGAGGCTAGTGCATGTT
TCCGCTTTTGTATGATGGACAGGAATTAAGCCGGCCTCAAGTATCAAATGTGGTTTCTCTTGGGATATTTA
CCCTACCATGCTTGATATTTGCTGAAATTCCTCTGCCTCAGAACCTGAGTGGATACTTTTGTGGCTTATCATC
AGAAAATTTAAGAATGAACATAAAGTCAAAAACCTGCATCCACCCCTGGATCTGAGTGAATCCATGGATGTAA
TGTAATGCTCCCTCCACTACATGCTTCAACTTAACCTGGAATATATAGCCTATTTCGATGGTGCATCAATAT
GCCTCAACTCTTTGATCTTTCTCGGATCCAGATGAATTAACAAATGTTGCTGTAATAATTTCCAGAAAATTACTTA
TTCTTTGGATCAGAAGCTTCATTCATTATAAACTACCCCTAAAGTTTCTGCTCTGCTCCACAGTATAATAAAGA
GCAGTTTATCAAGTGGAAACAAAGTATAGGACAGAAATTTCAAACGTTATAGCAAATCTTAGTGGCACCAGA
CTGGCAGAAGGAACCAAGGAAGTATGAAAATGCAATGATCAGTGGCTTAAAAACCATATGAATCCAAGAGCAGT
TTGAACAAAAGTTTAAAAATAGTGTCTAGAGATACATATAAATATATTAACAAGATCATAATATGATATTTTAA
ATGAACAGTTTTAATAATTACCAAGTTTGGCCGGGCACAGTGGCTCACACCTGTAATCCCAGGACTTTGGGAG
GCTGAGGAAAGCAGATCACAAAGTCAAGAGATTGAGACCATCCTGGCCAAACATGGTGAACCCCTGTCTACTAA
AAATACAAAATTAGCTGGGCGCGGTGTGCACACCTATAGTCTCAGCTACTCAGAGGCTGAGGCAGGAGGATCG
CTTGAACCCGGGAGGCAGCAGTTGAGTGGCTGAGATTGGCCACTGTACTCCAGCCTGGCAACAGAGTGGAG
TGTTGTCGAAAAAATAAAAAATAAAATAATAATAATAATTAACAAATTTTCATTATTTTGAAGAATGTAGTGTATTT
TAAGATAAAATGCCAATGATTAATAATACATATTTCAAAAATGTTATTTATTTAGGCTTTGTACAAATTTCT
AACAAATTTAGTGAAGTATCARLAGGATTTGAAGCAAACTGTAACAGTTATGTTCTTTAAATAATAGAGAATA
TAAATATTTGTAATAATATGTTTCAATAAAATAGTTGTATGTGAGCATTGTATGGTGAIAAAAAAAAAAAAAAAAA
AA

도면74

신호 패턴 : 아미노산 1-15
N-글리코실화 부위 : 아미노산 108-112;166-170; 193-197;262-266;375-379;413-417; 498-502
솔파타제 단백질 상동 블록 : 아미노산 286-316;359-370; 78-98

MLLLWVSVVAALALAVLAPGAGEQRRRAAKAPNVVLVSDSFDGRLTFHPGSQVVKLFFINFMKTRGTSFLNAYT
NSPICCPRAAMWSGLFTHLTESWNNFKGLDPNYTTWMDVMERHGVRTQKFGKLDYTSGHHSISNRVEAWTRDVA
FLLRQGRPMVNLIRNRTRKVRMERDQNTDKAVNWLKREAINYTEPFVIYGLNLPHYPSPSSGENFSGSTPFH
TSLYWLEKVSHDAIKIPKWSPLSEMHPVDYSSYTKNCTGRFTKKEIKNIRAFYAMCAETDAMLGEIILALHQL
DLLQKTIIVISSDHGELAMEHRQFYKMSMYEASAHVPLLMMGFGIKAGLQVSNVSLVDIYPTMLDIAGIPLPQN
LSGYSLLPLSSETFKNEHKVKNLHPPWILSEFHGCNVNASTYMLRTNHWKYIAYSDGASILPQLFDLSSDPDEL
T
NVAVKFEITYSYSLDQLHSIINYPKVSASVHQYNKEQFIKWQSIGQNSVNIANLRWHQDWQEKPRKYENAIQD
WLKTHMNPRAV

도면75

CTCCACTGCAACCACCCAGAGCCATGGCTCCCGAGGCTGCATCGTAGCTGTCTTTGCCATTTTCTGCATCTCCA
GGCTCTCTGCTCACACGGAGCCCCAGTGGCCCCATGACTCCTTACCTGATGCTGTGCCAGCCACACAAGAGAT
GTGGGACAAAGTTCTACGACCCCTGACGACTGTTGCTATGATGATGCCGTCGTCGCCCTTGGCCAGGACCCAGA
CGTGGGAAACTGCACCTTCAGAGTCTGCTTTGAGCAGTGTGTCGCCCTGGACCTTCATGGTGAAGCTGATAAAC
AGAAGTGGACTCAGCCCGGACCTCGGATGACAGGCTTTGTGCGAGTGTGAGCTAATGGAACATCAGGGGAACGA
TGACTCCTGGATTCCTTCTGCTGGTGGCCCTGGAGAAAGAGGCTGGTGTACCTGAGATCTGGGATGCTGAGTG
GCTGTTTGGGGGCCAGAGAAACACACTCAACTGCCACTTCACTTCTGTGACCTGTCTGAGGCCACCCCTGGCAG
CTGCCCTGAGGAGGCCACAGTCCCCCTCTAGAATCTGGACAGCATGAGATGCGTGTGATGGGGCCCCAG
GGACTCTGAACCTCTGATGACCCCTATGGCCAACATCAACCCGGCACCACCCCAAGGCTGGCTGGGGACCCCT
TCACCCCTCTGTGAGATTTCCATCATCTCAAGTCTCTTCTATCCAGGAGCAAGCACAGGATCATAATAAAT
TATGTACTTTATAAATGAAAA

도면76

신호 웨터드 : 아미노산 1-24
 N-글리코실화 부위 : 아미노산 71-75
 인슐린족 단백질 상동 블록 : 아미노산 76-96 ; 42-61

MAPRGCIVAVFAIFCISRLLC SHGAPVAPMTPYMLCQPHKRCGDKFYDPLQHCCYDDAVVPLARTQTCGNCTFR
 VCFEQCCPWFVMKLINQNCDSARTSDDRLCRSVS

도면77

CTAGCCTGCGCCAAGGGGTAGTGAGACCGCGCGGCAACAGCTTGGCGCTGCGGGAGCTCCCGTGGGCGTCCGC
 TGGCTGTGCAGGCGGCCATGGATTCCCTGCGGAAAATGCTGATCTCAGTCGCAATGCTGGGCGCAGGGGTGGCG
 TGGGCTACGCGCTCCGTTATCGTGACCCCGGAGAGCGGCGGAAGCAGGAAATGCTAAAGGAGATGCCACTGC
 AGGACCCAAGGAGCAGGAGGAGGCGGCCAGGACCCAGCAGCTATTGCTGGCCACTCTGCAGGAGGCAGCGACCA
 CGCAGGAGAACGTGGCTTGGAGGAAGAACTGGATGGTTGGCGGCGAAGGCGGCGCCAGCGGGACGTCACCGTAG
 ACCGGACTTGCCTCCGTGGGCGCCGACCTTGGCTTGGGCGCAGGAATCCGAGGCAGCCTTCTCTCGTGGGC
 CCAGCGGAGAGTCCGGACCGAGATACCATGCCAGGACTCTCCGGGTCTGTGAGCTGCCGTGGGTGAGCACGT
 TTCCCCCAAACCTGGACTGACTGCTTAAAGGTCCGCAAGGCGGGCCAGGGCCGAGACCGGAGTCCGGATGTGGT
 AACTGAAAGAACCAATAAAATCATGTTCTCCAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
 AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

도면78

신호 웨터드 : 아미노산 1-18
 N-미리스토일화 부위 : 아미노산 15-21; 17-23; 19-25;
 83-89; 86-92

MDSLRLKMLISVAMLGAGAGVGYALLVIVTPGERRKQEMLKEMPLQDPRSREEAARTQQLLLATLQEAATTQENVA
 WRKNWVMVGGEGGASGRSP

도면79

CAGGAGAGAAGGCACCGCCCCACCCCGCTCCAAAGCTAACCTCGGGCTTGAGGGGAAGAGGCTGACTGTACG
 TTCTTCTACTTGGCACCCTCTCCAGGCTGCCATGGGGCCAGCACCCCTCTCCTCATCTTGTTCCTTTTGTG
 ATGGTCGGGACCCCTCCAAGGACAGCAGCACCCTTGTGGAGTACATGGAACGCCGACTAGCTGCTTTAGAGGA
 ACGGCTGGCCAGTGCCAGGACAGAGTAGTCGGCATGCTGCTGAGCTGCGGGACTTCAAGAACAAAGATGCTGCC
 ACTGCTGGAGGTGGCAGAGAAGGAGCGGGAGGCACTCAGAACTGAGGCCGACACCATCTCCGGGAGAGTGGATCG
 TCTGGAGCGGGAGGTAGACTATCTGGAGACCCAGAACCAGCTTGCCTGTGTAGAGTTTGTATGAGAAGGTGAC
 TGGAGGCCCTGGGACCAAAGGCAAGGGAAGAAGGAATGAGAAGTACGATATGGTGACAGACTGTGGCTACACAAT
 CTCTCAAGTGAGATCAATGAAGATTCTGAAGCGATTGGTGGCCAGCTGGTCTATGGACCAAGGATCCACTGGG
 GCAAACAGAGAAGATCTACGTGTAGATGGGACACAGAATGACACAGCCTTTGTCTTCCCAAGGCTGCGTGACTT
 CACCCCTGCCATGGCTGCCCGAAAAGCTTCCCGAGTCCGGGTGCCCTTCCCTGGGTAGGCACAGGGCAGCTGGT
 ATATGGTGGCTTCTTTATTTTGTCTGGAGGCTTCCCTGGAAGACCTGGTGGAGGTGGTGAGATGGAGAACACTTT
 GCAGCTAATCAAATTCACCTGGCAAACCGAAGCTGGTGGACAGCTCAGTATTCACAGCAGAGGGGCTGATCCC
 CCCCTACGGCTTGACAGCAGACACCTACATCGACCTGGTAGCTGATGAGGAAGGTCTTTGGGCTGTCTATGCCAC
 CCGGGAGGATGACAGGCCTTGTGTCTGGCCAAAGTTAGATCCACAGACACTGGACACAGAGCAGCAGTGGGACAC
 ACCATGTCCCAGAGAGAATGCTGAGGCTGCCTTTGTATCTGTGGGACCCCTATGTCTGCTATAACACCCGCTCC
 TGCCAGTGGGCCCCGATCCAGTGTCTCCTTTGATGCCAGCGGCACCTGACCCCTGAACGGGCGAGCCTCCCTTA
 TTTTCCCGCAGATATGGTGGCCATGCCAGCCTCCGCTATAACCCCGAAGCCAGCTCTATGCCTGGGATGA
 TGGCTACCAGATTGTCTATAAGCTGGAGATGAGGAAGAAAGAGGAGGAGTTTCAAGGAGCTAGCCTTGTTTTTTG
 CATCTTTCTCACTCCATACATTTATATATATATCCCACTAAATTTCTGTCTCTCATTTCTCAAATGTGGGCCA
 GTTGTGGCTCAAATCCTCTATATTTTTAGCCAATGGCAATCAAATTTCTTTCAGCTCCTTTGTTTCATACGGAAC
 CCAGATCTGTAGTAACTTTTAGAGCCGGAAGAGTCAAACCCCTCAATGTTCCCTTCCTGCTCTCTCCGCCCATG
 TCAACAAATTTTCAGGCTAAGGATGCCCGAGACCCAGGGCTCTAACCTTGTATGCGGGCAGGCCAGGGAGCAGG
 AGCAGTGTCTTCCCTCAGAGTACTTGGGGAGGGAGAAATAGGAGGAGAGCTCCAGCTCTGTCTCTTCTTCT
 CACTCCTCCCTTCAGTGTCTGAGGAACAGGACTTCTCCACATGTTTTGTATTGCAACATTTTGCATTAAG
 GAAATCCACAAAAA AA
 AAAAAA

도면80

신호 펩티드 :	아미노산 1-21
N-글리코실화 부위 :	아미노산 177-181;248-252
cAMP- 및 cGMP-의존성 단백질 키나제 인산화 부위 :	아미노산 196-200
티로신 키나제 인산화 부위 :	아미노산 89-97
N-미리스토일화 부위 :	아미노산 115-121;152-158; 370-376
아미드화 부위 :	아미노산 122-126

MGPSTPLLILFLLSWSGPLQGGQHHLVEYMERRLAALAEERLAQCQDQSSRHAAELRDFKMKMLPLLEVAEKEREA
LRTEADTISGRVDRLEREVDYLETQNPALPCVEFDEKVTGGPGTKGKGRNRNEKYDMVTDCGYTISQVRSMKILKR
FGGPAGLWTKDPLGQTEKIYVLDGTQNDTAFVFPRLRDFTLAMAARKASRVVFPFPWVGTGLVYGGFLYFARRP
PGRPGGGGEMENTLQLIKFHLANRTVVDSSVFPAEGLIPPYGLTADTYIDLVADEEGLWAVYATREDDRHLCIAK
LDPQTLDTQQWDTPCPRENAEAAAFVICGTLVVYVNTRPASRARIQCSFDASGTLTPERAALPYFPRRYGAHSL
RYNPRERQLYAWDDGYQIVYKLEMRKKEEV

도면81

CAAGCAGGTCATCCCCTTGGTGACCTTCAAAGAGAAGCAGAGAGGGCAGAGGTGGGGGCACAGGAAAGGGTGA
CCTCTGAGATCCCCTTTCCCCAGACTTTGGAAGTGACCCACCAATGGGGCTCAGCATCTTTTGTCTCTGTGT
GTCTTGGGCTCAGCCAGGCAGCCACCCGAAGATTTCAATGGCACTGAGGTGGGGCTAACTCACAGCCGTGG
CAGGTGGGGCTGTTTGGGGCACCAGCCTGCCTGCGGGGTGTCTTATTGACCACAGGTGGGTCTCACAGCG
GCTCACTGCAGCGGCAGCAGGTACTGGGTGCGCCTGGGGGAACACAGCCTCAGCCAGCTCGACTGGACCGAGCAG
ATCCGGCACAGCGGCTTCTCTGTGACCCATCCCGGCTACCTGGGAGCCTCGACGAGCCACGAGCAGCAGCTCCGG
CTGCTGGGGCTGCGCCTGCCCCTCCCGGTAACCGAGCAGCTTCAACCCCTGCCCTGCCAATGACTGTGCAACC
GCTGGCAGCAGGTGCCACGCTCAGGCTGGGGCATCAACCAACCCACCGAAACCCATTCCCGGATCTGTCCAG
TGCCCTCAACCTCCATCGTCTCCCATGCCACCTGCCATGGTGTGTATCCCGGAGAATCACGAGCAACATGGTG
TGTGCAGGGCGGCTCCCGGGCAGGATGCCTGCCAGGGTGATTCTGGGGGGCCCCGGTGTGTGGGGGAGTCCCT
CAAGGTCTGGTGTCTGGGGGCTGTGGGGCCCTGTGGACAAGATGGCATCCCTGGAGTCTACACCTATATTGC
AAGTATGTGGACTGGATCCGGATGATCATGAGGAACAACCTGACCCTGTTTCCCTCCACTCCACCCCAACCCCTTAA
CTTGGGTACCCCTCTGGCCCTCAGAGCACCAATATCTCCTCCATCACTTCCCTAGCTCCACTCTTGTGGCCCTG
GGAACTTCTTGGAACTTTAACTCTGCCAGCCCTTCTAAGACCCACGAGCGGGGTGAGAGAAGTGTGCAATAGTC
TGGAAATAAATATAAATGAAGGAGGGGCAAAAAAAAAAAAAA

도면82

신호 펩티드 :	아미노산 1-17
N-글리코실화 부위 :	아미노산 24-28;163-167
세린 프로테아제, 트립신족, 히스티딘 활성 부위 :	아미노산 58-64
세린 프로테아제 트립신족, 히스티딘 단백질 상동 블록 :	아미노산 47-64;196-207;218-242
크렐글 도메인 단백질 상동 블록 :	아미노산 194-207;47-65
에플 도메인 단백질 상동 블록 :	아미노산 220-248

MGLSIFLLLCVLSQAATPKIFNGTECRNSQPWQVGLFEGTSLRCGGVLDHRVWLTAHCSGSRVWVRLGEH
SLSQLDWTEQIRHSGFSVTHPGYLGASTSHEHDLRLRLRPLRVVTSVQPLPLPNDCATAGTECHVSGWGITNH
PRNPFDDLQCLNLSIVSHATCHGVYPRITSNMVCAGGVPGQDACQGDGSGPLVCGGVLLQGLVSWGSVGPCCQD
GIPGVYTYICKYVDWIRMIMRNN

도면83

GAGCAGTGTCTGCTGGAGCCGATGCCAAAAACCATGCATTTCTTATTAGATTATTGTTTCTTTTATCTGTG
GGGCCTTTTACTGCTCAGAGACAAAAGAAAGAGGAGAGCCGAAAGTAGAAAATAGAAAGTTTGCATCGTCC
AGAAAACCTGCTTAAGACAAGCAAGAGGGAGACCTACTAAATGCCCATTTAGACGGCTACCTGGCTAAAGACGG
CTCGAAATTTACTGCGAGCCGGACACAAAATGAAGGCCACCCCAATGGTTTGTCTTGGTGTGGGCAAGTCAT
AAAAGGCCTAGACATGCTATGACAGATATGTGCCCTGGAGAAAAGCGAAAAGTAGTTATACCCCTTCAATTTGC
ATACGGAAGGAAGGCTATGCAGAAAGCAAGATTCCACCGGATGCTACATTGATTTTGGATTTGAGATTGAACTTTATGC
TGTGACCAAGGACCACGGAGCATTGAGACATTTAAACAAATAGACATGGACAATGACAGGCAGCTCTCTAAAGC
CGAGATAAACCTCTACTTGCAGAAAGGAAATTTGAAAAGATGAGAAGCCACGTGACAAAGTCATATCAGGATGCAGT
TTTAGAAGATATTTTAAAGAAGATGACCATGATGGTGTGGCTTCAATTTCTCCCAAGGAATACAATGTATACCA
ACACGATGAACTATAGCATATTTGATTTCTACTTTTTTTTTTTTAGCTATTTACTGTACTTTATGTATAAAACAA
AGTCACTTTCTCCAAGTTGATTTGCTATTTTTCCCTATGAGAAGATATTTGATCTCCCAATACATTGATT
TTGGTATAATAATGTGAGGCTGTTTTGCAACTTAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
AAAAAA

도면84

- 소포체 표적 서열 : 아미노산 219-224
- N-글리코실화 부위 : 아미노산 45-49
- FKBP-타입 펩티딜-프롤릴 시스-트랜스 이소머라제 상동 블록 : 아미노산 87-124;129-143
- EF-헨드 칼슘-결합 도메인 단백질 상동 블록 : 아미노산 202-215

MPKTMHFLFRFIVFFYLWGLFTAQRQKKEESTEEVKIEVLHRPENCSTKSKKDLLNAHYDGYLAKDGSKFYCSR
TQNEGHPKWVFLGVGVQVIKGLDIAMTDMCPGEKRKVVI PPSFAYGKEGYAEGKIPPDATLI FEIELYAVTKGPRS
IETFKQIDMNDRQLSKABINLYLQREFEKDEKPRDKSYQDAVLEDFKKNHDHGDGFI SPKEYNVVYQHDLE

도면85

GAAAGAAATGTTGTGGCTGCTTTTTTCTGGTGACTGCCATTCATGCTGAACTCTGTCAACCAGGTGCAGAAAAT
GCTTTTAAAGTGAGACTTAGTATCAGAACAGCTCTGGGAGATAAAGCATATGCCTGGGATACCAATGAAGAATAC
CTCTTCAAAGCGATGGTAGCTTTCTCCATGAGAAAAGTTCCCAACAGAGAAGCAACAGAAATTTCCCATGCTCCTA
CTTTGCAATGTAAACCCAGAGGGTATCATTCTGGTTTGTGGTTACAGACCCCTTCAAAAAATCACACCCCTTCTGTCT
GTTGAGGTGCAATCAGCCATAAGAATGAACAAGAACCGGATCAACAATGCCTTCTTTCTAAATGACCAAACTCTG
GAATTTTAAAAATCCCTTCCACACTGCACCACCCAATGGACCCATCTGTGCCATCTGGATTATATATTTGGT
GTGATATTTGCAATCATATAGTTGCAATTGCACACTACTGATTTTATCAGGGATCTGGCAACGTAGAAGAAAGAAC
AAAGAACCATCTGAAGTGATGACGCTGAAGATAAGTGTGAAAACATGATCACAAATGAAAATGGCATCCCTCT
GATCCCTGGACATGAAGGGGGCATATTAATGATGCCCTTCAAGACAGAGGATGAGAGGCTCACCCCTCTCTGAA
GGGCTGTGTTCTGCTTCCCAAGAAATTAACATTTGTTTCTGTGTGACTGCTGAGCATCTGAAAATACCAAGA
GCAGATCATATATTTGTTTCCACCTTCTCTTTGTAATAAATTTGAATGTGCTTGAAGTGAAAAGCAATCA
ATTATACCCACCAACCACTGAAATCATAAGCTATTACGACTCAAAATATTTCTAAAAATTTTCTGACAGTA
TAGTGTATAAATGTGGTCATGTGGTATTTGTAGTTATTTGATTTAAGCATTTTGTAGAAATAGATCAGGCATATGT
ATATATTTTCACTTCAAGACCTAAGGAAAAATAAATTTCCAGTGGAGAAATACATATAATATGGTGTAGAAA
TCATTGAAAATGGATCCCTTTTACGATCACTTATATCACTCTGTATGACTAAGTAAACAAAAGTGAAGTA
ATTATGTAAATGGATGGATAAAAATGGAATTAATCATATACAGGGTGAATTTTATCTGTATACACACCAACA
GTTGATTATATATTTCTGAATATCAGCCCTAATAGGACAATCTATTTGTTGACCATTTCTACAAATTTGTAAA
AGTCCAATCTGTCTAACTAATAAGTAATAATCATCTCTTTTTAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

도면86

- 신호 펩티드 : 아미노산 1-14
- 막형단 도메인 : 아미노산 141-160
- N-글리코실화 부위 : 아미노산 76-80;93-97

MLWLLFFLVTAIHAELCQPGAENAFKVRLSIRTAALGDKAYAWDTNNEYLFKAMVAFSMRKPVPNREATEISHVLLC
NVTQRVSFVFTDPSKNHTLPAVEVQSAIRMNKNRINNAFFLNDQTLFLKIPSTLAPPMDPSVPIWIIIFGVI
FCIIIVIAIALLLLSGIWQRRRKNKEPSEVDDAEDKCNEMITIEINGIPSDPLDMKGILMMPS

도면87

AAGACCCTCTCTTCGCTGTTTGAGAGTCTCTCGGCTCAAGGACCGGGAGGTAAGAGGTTTGGGACTGCCCGGC
 AACTCCAGGGTGTCTGGTCCACGACCTATCCTAGGCGCCATGGGTGTGATAGGTATACAGCTGGTTGTTACCATG
 GTGATGGCCAGTGTCTATGCAGAAGATTATACCTCACTATTCTCTGCTCGATGGCTACTCTGTAATGGCAGTTTG
 AGGTGGTATCAACATCCTACAGAAGAATAAGAAATCTTGCAAGGAAACAACAAAAGGGAAAACCAAAAA
 GATAGGAAATATAATGGTACATTGAAAGTAAGCCATTAAACCATTCCAAAGGATATTGACCTTCATCTAGAAACA
 AAGTCAGTTACAGAAGTGGACTTTAGCATTGCATTACTTTCCAGAATACCAAGTGGCTGGTGGATTTCACAGT
 GCTGCTACAGTTGTGTATCTAGTAACTGAAGTCTACTACAATTTATGAAGCCTACACAGGAATGAATATCAGC
 TTAGTCTGGTGCCTACTGTTTTGTCTTTGCAATCAAAGTCTATTTCATTAACACACTATTTAAAGTA
 GAAGATGGTGGTGAAGATCTGTTTGTGTACCTTTGGATTTTTTTCTTTGTCAAAGCAATGGCAGTGTGATT
 GTAACAGAAAAATATCTGGAATTTGACTTGAAACAGGGTTTACAAAATTTTCAGACAGTGCATGCAGTTTCTT
 GAAAAGCAAGGTTTAGAATCTCAGAGTCTGTTTCAAACCTTACTTTCAAATTTTTCTGGCTATTTCTGTTC
 TTCATTGGGGCTTTTTGACATTTCTGGATTACGACTGGCTCAAATGCATCTGGATGCCCTGAAATTTGGCAACA
 GAAAAAATACACAACTTTACTTCATATCAACTTCTTGGCACCTTATTATGGTTTTGCTCTGGGTAACCA
 ATCACCAAGACTACATTATGAACCCACCCTGGGCAAGAAAATTTCCCATCTGGAAGATGAAGATAATAGTAT
 CTAACCTACAAGGTTATCATTGGAATAAATGAAAGAACACATGTAATGCAACCAAGTGGAAATTAAGTCTTAATA
 AATGTTCTTTCTACTGCTTTGCTCATCAGAATTAATAAGAAATACTTGACTAGT

도면88

막힘단 도메인 : 아미노산 106-121;136-152;
 172-188; 230-245;272-285

N-글리코실화 부위 : 아미노산 34-38;135-139;203-207

티로신 키나제 인산화 부위 : 아미노산 59-67

N-미리스토일화 부위 : 아미노산 165-171;196-202;
 240-246;247-253

ATP/GTP- 결합 부위 모티프 A (P- 루프) 아미노산 53-61

MGVIGIQLVVTMVMASVMQKIIPHYSLARWLLCNGSLRWYQHPTEELRILAGKQKQKTKDRKYNHIESKPL
 TTPKIDIDLHLETKSVTEVDTLALHYFPPEYQWLVDFTVAATVVYLVTEVYVNFMKPTQEMNISLVWCLLVLSFAIK
 VLFSLTHYFKVEDGGERSVVCVTFGFFVFKAMAVLIVTENYLEFGLTGTFTNFSDSAMQFLEKQGLSQSPVSK
 LTFKFLAIFCSFIGAFITFPGLRLAQMHLDALNLATEKIQTLHLINFLAPLPMVLLWVKPI TKDYIMNPLGK
 EISPSGR

도면89

GAAAGTAGAGGTGTGTGCTGAGCGGCGCTCGGCGAACTGTGTGGACCGTCTGCTGGGACTCCGGCCCTCGCTCCG
 CTCAGCCCCGTGGCCCCGCGCACCTACTGCCATGGAGACGCGGCCTCGTCTCGGGGCCACCTGTTTGTGGGCTT
 CAGTTTCTGCTCCTCGTATCTCTTCTGATGGACATAATGGGCTTGGAAAGGTTTGGAGATCATATTCATTGG
 AGGACACTGGAAAGATGGGAAGAAAGAACAGCTGCCAGTGGACTGCCCTGATGGTATTATTCATAAATCTCTGG
 TGTGGAGCTTGCAAAGCTCTAAAGCCCAAATTTGCAGAATCTACGGAAATTCAGAACTCTCCATAATTTTGT
 ATGGTAAATCTTGGAGATGAAGAGAACCCAAAGATGAAGATTTAGCCCTGACGGGGTTATATTCACCAATC
 CTTTTCTGGATCCCAGTGGCAAGGTGCATCTGAAATCATCAATGAGAAATGGAAACCCAGCTACAAGTATTTT
 TATGTCAGTCCGAGCAAGTTGTTTCAGGGATGAAGGAAGCTCAGGAAAGGCTGACGGGTGATGCCCTTCAGAAAG
 AAACATCTTGAAGATGAATTTAAACATGAATGTGCCCCCTTTTCATCAGAGTTAGTGTTCGGAAGGAAAGCAG
 CAGGGAAGGAAATTTGAGGAATCATCTAGAACAATTAAGCCGACAGGAAACCTCATCTCTACCTACACTGGAA
 GGAGCGCTCTCACTGTGGAAGATTCTGCTAACAGAAAGTGTGCTGATGTTTGTGGATCCAGCGGAGAGTGGCA
 GACTTTCTTCTCTTTTCCCTCTCACCTAAATGTCAACTTGTTCATTGAATGTAAGAAATGAAACCTTCTGACAAAA

도면90

신호 펩티드 : 아미노산 1-23

티오리독신족 단백질 상동 블록 : 아미노산 58-75

METRPRLGATCLLGFSLLLVIVSSDGHNLGKGFBDHIHWRTLEDGKKEAAAAGLPLMVI IHKSWCACKALKPK
 FAESTEISELSHNFMVUNLEDEEPEKDEDFSPDGGYIPRILFLDPSGKVVHPEIINENGNPSYKYFYVSAEQVVQG
 MKEAQERLTGDAFRKKHLEDEL

도면91

CGGCTCGAGTGCAGCTGTGGGGAGATTTTCAGTGCATTGCCCTCCCTGGGTGCTCTTCATCTTGGATTGAAAGTT
GAGAGCAGCATGTTTTGCCCACTGAAACTCATCCTGCTGCCAGTGTACTGGATTATTCCTGGGCCTGAATGAC
TTGAATGTTTTCCCGCCTGAGCTAACAGTCCATGTGGGTGATTCAGCTCTGATGGGATGTGTTTTCCAGAGCACA
GAAGACAAATGTATATTCAAGATAGACTGGACTCTGTCAACAGGAGAGCACGCCAAGGACGAATATGTGTATAAC
TATTACTCCAATCTCAGTGTGCTTATGGGGCTTCCAGAACCCGCTACACTTGTAGGGGGACATCTTATGCAAT
GATGGCTCTCTCCTGCTCCAAGATGTGCAAGAGGCTGACCAGGGAACCTATATCTGTGAAATCCGCCTCAAAGGG
GAGAGCCAGGTGTTCAAGAAGGCGGTGACTGTCATGTGCTTCCAGAGGAGCCCAAAGAGCTCATGGTCCATGTG
GGTGGATTGATTAGATGGGATGTGTTTTCCAGAGCACAGAAGTAAACACGTGACCAAGGTAGAATGGATATTT
TCAGGACGGCGCCAAAGGAGGAGATTGTATTTTCGTTACTACCACAACTCAGGATGTCTGTGGAGTACTCCCG
AGCTGGGGCCACTTCCAGAATCGTGTGAACCTGGTGGGGGACATTTCCGCAATGACGGTCCCATCATGCTTCAA
GGAGTGAGGGAGTCAGATGGAGGAACTACACCTGCAGTATCCACCTAGGGAACCTGGTGTCAAGAAAACCATT
GTGCTGCATGTGAGCCCGAAGAGCCTCGAACACTGGTGACCCCGCAGCCCTGAGGCCTGTGCTTGGGTGGTAA
TCAGTTGGTGTATCATTGTGGGAATTGCTGTGCCACAATCCTGCTGCTCCCTGTCTGATATTGATCGTGAAGAA
GACCTGTGGAATAAGAGTTTCAGTGAATTTACAGTCTTGGTGAAGAACACGAGAAGACTAATCCAGAGATAAA
AGAAAAACCTGCCATTTGAAAGATGTGAAGGGGAGAAACACATTTACTCCCAATAATTGTACGGGAGGTGAT
CGAGGAAGAAGAACCAGTGAAAAATCAGAGGCCACCTACATGACCATGCACCCAGTTTGGCCTTCTCTGAGGTC
AGATCGGAACAACCTCACTTGAAAAAAGTCAGGTGGGGAAATGCCAAAAACAGCAAGCCTTTTGAAGAAATG
GAGAGTCCCTTCATCTCAGCAGCGGTGGAGACTCTCTCCTGTGTGTTCCTGGGCCACTTACCAGTGAATTTGAG
ACTCCCGCTCTCCAGCTGTCCTCTGCTCATTTGTTGGTCAATACACTGAAGATGGAGAATTGGAGCCTGGC
AGAGAGACTGGACAGCTCTGGAGGAACAGGCCTGCTGAGGGGAGGGGAGCATGGACTTGGCCTCTGAGTGGGAC
ACTGGCCCTGGGAACCAGGCTGAGCTGAGTGGCCTCAAACCCCGTTGGATCAGACCCTCTGTGGGCGGGTT
CTTAGTGGATGAGTTACTGGGAAGATCAGAGATAAAAACCAACCAATCAA

도면92

- 신호 패턴드 : 아미노산 1-19
- 막형단 도메인 : 아미노산 275-296
- N-글리코실화 부위 : 아미노산 76-80; 231-235; 302-306; 307-311; 376-380
- 미엘린 PO 단백질 상동 블록 : 아미노산 210-240; 92-122

MFCLPLKLLILLVLLDYSLGLNLDLNVSPPELTVHVGDSALMGCVFQSTEDKCIFFKIDWTLSPGEHAKDEYVLYYSS
NLSVPIGRFQNRVHLMGDI.LCNDGSLLLQDVQADQGTIYI CEIRLKGESQVFKKAVLVHLVPEEPKELMVHVGGL
IQMGCVFQSTEVKHVTKVEWIFSGRRAKEEIVFRYYHKLMSVEYSQSWGHFQNRVNLVGDIFRNDGSI MLQGVV
ESDGGNYTCSIHLGNLVFKKTI.VLHVSPPEPRTLVT.PAALRPLVLGGNQLVIIVGIVCATILLPVLILIVKKT
GNKSSVNSTVLVKNKTKTNEIKKPKCHFERCEGEKHIYSP.IIVREVEIEEPESEKSEATYMTMHPVWPSLRSDR
NNSLEKKSGGMPKTTQAF

도면93

TCTGCCTCCACTGCTCTGTGCTGGGATCATGGAACTTGCACTGCTGTGTGGGCTGGTGGTGTGATGGCTGGTGTGAT
TCCAATCCAGGGCGGGATCCTGAACCTGAACAAGATGGTCAAGCAAGTGACTGGGAAAATGCCCATCCTCTCCTA
CTGGCCCTACGGCTGTCACTGCGGACTAGGTGGCAGAGGCCAACCCAAAGATGCCACGGACTGGTGTGCCAGAC
CCATGACTGTGCTATGACCACCTGAAGACCCAGGGGTGCGGCATCTACAAGGACAAACAACAAAAGCAGCATAACA
TTGTATGGATTTATCTCAACGCTATTGTTTAAATGGCTGTGTTAATGTGATCTATCTGGAAAATGAGGACTCCGA
ATAAAAAGCTATTAFTWTTNAAA
AAA

도면94

- 신호 서열 : 아미노산 1-17
- N-글리코실화 부위 : 아미노산 86-90
- N-미리스토일화 부위 : 아미노산 20-26; 45-51
- 포스포리파제 A2 히스티딘 활성 부위 : 아미노산 63-71

MELALLCGLVVMAGVPIQGGILNLNKMKVQVTGKMPILSYWPYGCCHGLGGRGQPKDATDWCCTHDCCYDHLK
TQCGIYKDNKSSIHCMDSLQRVCLMAVFNVIIYLENEDSE

도면95

CACAAGCATCTTAATTTGAATCCACAAAGTTTCATGTAATGAAAAGAAATACATAATTTTAATTC AACCCGAGTG
 TTTTCCAAGAAGATTGTATTTGCTTAAATGCTACAGTAATCAAGAGACAGCCCTGCTGGACACAGAGTTACT
 GTGGATTTTTAAGAGACTCAGTTAAGAAATTTAGGAATTTCTGATTCATTTAAAGGATTTACAAATTCATCAACC
 CCTGAAAACATAAGCAAAATGAAACAGGAAAAAAAAAAGAGATGGGTTTTTTAAGTCCAATATATGTTATTTTC
 TTCTTTTTGGAGTCAAAGTACATTGCCAATATGAAACTTATCAGTGGGATGAAGACTATGACCAAGAGCCAGAT
 GATGATTACCAAACAGGATCCCATTTCGTCAAAATGTAGACTACGGAGTTCCTTTTCATCAGTATACCTTAGGC
 TGTGTCAGTGAATGCTTCTGTCCAACTAACTTCCATCATCAATGTAATCGATAATCGCAAACCAAGACTATC
 CCAAAATATCCGATGCACATTGCAACTCTACCTTCAGTTCAATGAAATGAGGCTGTGACTGCAAAATCAATTC
 ATCAATGCAACTCATCTTAAAGAAATTAACCTCAGCCACAACAAAATTAATCTCAAAGATGATTATGGTGTG
 TTTGCTAAGCTTCCAAATCTACTACAACCTTCATCTAGAGCATAATAATTTAGAAGAATTTCCATTTCCCTTCCT
 AAATCTCTGGAAGACTCCTTCTTGGTTACAAATCTCCAACTGCAGACAAATGCTATGGATGGGCTAGTA
 AACTTGACCATGCTTGATCTCTGTATAATATCTTCATGATTCCTGCTAAAAGCAAAAATTTTGCCAAAATG
 GAAAACTAATGCAGCTCAACCTCTGCAGTAACAGATTAGAATCAATGCCCTCCTGGTTTGCCTTCTCACTTATG
 TATCTGTCTTTAGAAAATAATCAATTTCTTCTATACCCGAAAATACCTTCGACAACTTCCAAAATTCATACT
 CTAAGAATGTCACACAACAACTACAAGACATCCCATATAATTTTTAATCTTCCCAACATGTAGAACTCAGT
 GTTGGACACAACAAATGAAAGCAAGCATTCTATATTTCCAAGAAATTTGGAACACCTATACCTACAAAATAATGAA
 ATAGAAAAGATGAATCTTACAGTGATGTGCTTCTATTGACCCACTACATTACCACCAATTAACATACATTCGT
 GTGGACAAAATAAACTAAAAGAACCAATAAGCTCATACATCTTCTTCTGCTTCCCTCATATACACACTATTTAT
 TATGGTGAACAACGAAAGCACTAATGGTCAAACAATACAACATAAGACACAAGTTTTCCAGGAGATTTCCAGATGAT
 GATGATGAAAGTGAAGATCACGATGATCCTGACAATGCTCATGAGAGCCAGAACAGAGGAGCAGAGGGGAC
 TTTGACCTTCATATATGAAAATCAAGAATAGCAAGAACTATATAGGATACACTTACGACTTCAAAAACCTA
 TACTTAATATAGTAAATCTAAGTAAACATGTATTACTCAAAGTAATATTTAGAATTATGTATTAGTAAATC
 CAGAATTGAATTTAAGTTGTTGGTGACATCTGCATCATTTTCATAGGATTAGAACTTACTCAAATAATGTAATC
 TTTAAAAATATAAATTAGAATGACAAGTGGGAATCATAAATTAACGTTAATGGTTTCTTATGCTCTTTTAAAT
 ATAGAAATATCATGTTAAAGAAAAAAAAAAAAA

도면96

N-글리코실화 부위 :	아미노산 113-117;121-125; 187-191;242-246;316-320
티로신 키나제 인산화 부위 :	아미노산 268-275;300-307
N-미리스토일화 부위 :	아미노산 230-236
류신 지퍼 패턴 :	아미노산 146-168;217-239

MGFLSPIYVIFFFGKVKHCQYETYQWDEYDQEPDDDYQTGFPPFRQNVYGVVPHQYTLGCVSECFPCPTNFPSS
 MYCDNRKLTIPNIPMHIIQLYLQFNEIEAVTANSFINATHLKEINLSHNKIKSQKIDYGVFAKLPNLLQLHLEH
 NNLEEFPPPLPKSLERLLLYNEISKLQTNAMDGLVNLTMLDLCYNYLHDSLLKDKIFAKMEKLMQLNLCNSRLE
 SMPPLPSSLMYLSLENNISSIPEKYFDKLPKHLTLRMSHNKLDIPYNI FNLPNIVELSVGHNKLKQAFYIPR
 NLEHLYLQNNIEIKMNLTVMCP SIDPLHYHHTYIRVDQNKLEPISYIIFCFPHIHTIYYGEQRSTNGQTIQL
 KTQVFRFPDDDESEDHDDPDNAHESPEQGAEGHFDLHYENQE

Sequence Listing

- <110> Genentech, Inc.
- Ashkenazi, Avi
- Baker, Kevin
- Ferrara, Napoleone
- Gerber, Hanspeter
- Hillan, Kenneth
- Goddard, Audrey
- Godowski, Paul
- Gurney, Austin
- Klein, Robert
- Kuo, Sophia
- Paoni, Nicholas
- Smith, Victoria
- Watanabe, Colin
- Williams, Mickey
- Wood, William

<120> PROMOTION OR INHIBITION OF ANGIOGENESIS AND CARDIOVASCULARIZATION

<130> P2835R1PCT

<140> PCT/US99/28313
 <141> 1999-11-30
 <150> PCT/US98/25108
 <151> 1998-12-01
 <150> US 60/112,850
 <151> 1998-12-16
 <150> US 60/115,554
 <151> 1999-01-12
 <150> PCT/US99/05028
 <151> 1999-03-08
 <150> US 60/123,957
 <151> 1999-03-12
 <150> US 60/131,445
 <151> 1999-04-28
 <150> US 60/134,287
 <151> 1999-05-14
 <150> PCT/US99/12252
 <151> 1999-06-02
 <150> US 60/141,037
 <151> 1999-06-23
 <150> US 60/144,758
 <151> 1999-07-20
 <150> US 60/145,698
 <151> 1999-07-26
 <150> PCT/US99/20111
 <151> 1999-09-01
 <150> PCT/US99/20594
 <151> 1999-09-08
 <150> PCT/US99/20944
 <151> 1999-09-13
 <150> PCT/US99/21090
 <151> 1999-09-15
 <150> PCT/US99/21547
 <151> 1999-09-15
 <150> PCT/US99/23089
 <151> 1999-10-05
 <150> US 60/162,506
 <151> 1999-10-29
 <160> 260
 <210> 1
 <211> 43
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 1
 tgtaaacga cggccagtta aatagacctg caattattaa tct 43
 <210> 2
 <211> 41
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 2

caggaaacag ctatgaccac ctgcacacct gcaaattccat t 41

<210> 3

<211> 2933

<212> DNA

<213> Homo Sapien

<400> 3

tgggggcccc ccaggctcgc gcgtggagcg aagcagcatg ggcagtcggt 50
 gcgcgctggc cctggcgggtg ctctcggcct tgctgtgtca ggtctggagc 100
 tctgggggtgt tcgaactgaa gctgcaggag ttcgtcaaca agaaggggct 150
 gctgggggaaac cgcaattgct gccgcggggg cgcggggcca ccgccgtgcg 200
 cctgccggac cttcttccgc gtgtgcctca agcactacca ggccagcgtg 250
 tcccccgagc cgccctgcac ctacggcagc gccgtcacc ccgtgctggg 300
 cgtcgactcc ttcagtctgc ccgacggcgg gggcgccgac tccgcgttca 350
 gcaaccccat ccgcttcccc ttcggttca cctggccggg caccttctct 400
 ctgattattg aagctctcca cacagattct cctgatgacc tcgcaacaga 450
 aaaccagaa agactcatca gccgcctggc caccagagg cacctgacgg 500
 tgggcgagga gtggtcccag gacctgcaca gcagcggccg cacggacctc 550
 aagtactcct accgcttcgt gtgtgacgaa cactactacg gagaggggctg 600
 ctccgttttc tgccgtcccc gggacgatgc cttcgccac ttcacctgtg 650
 gggagcgtgg ggagaaagtg tgcaaccctg gctggaaagg gccctactgc 700
 acagagccga tctgcctgcc tggatgtgat gagcagcatg gattttgtga 750
 caaacaggga gaatgcaagt gcagagtggg ctggcagggc cgggtactgtg 800
 acgagtgtat ccgctatcca ggctgtctcc atggcacctg ccagcagccc 850
 tggcagtgca actgccagga aggctggggg ggccttttct gcaaccagga 900
 cctgaactac tgcacacacc ataagccctg caagaatgga gccacctgca 950
 ccaacacggg ccaggggagc tacacttget cttgccggcc tgggtacaca 1000
 ggtgccacct gcgagctggg gattgacgag tgtgaccca gcccttghta 1050
 gaacggaggg agctgcacgg atctcgagaa cagctactcc tgtacctgcc 1100
 caccggcctt ctacggcaaa atctgtgaat tgagtgccat gacctgtgcg 1150
 gacggccctt gctttaacgg gggtcgggtg tcagacagcc ccgatggagg 1200
 gtacagctgc cgctgccccg tgggctactc cggcttcaac tgtgagaaga 1250
 aaattgacta ctgcagctct tcaccctgtt ctaatggtgc caagtgtgtg 1300
 gacctcggtg atgcctacct gtgccgctgc caggccggct tctcggggag 1350
 gcaactgtgac gacaacgtgg acgactgcgc ctctccccg tgcgccaacg 1400
 ggggcacctg ccgggatggc gtgaacgact tctcctgcac ctgcccgcct 1450
 ggctacacgg gcaggaactg cagtgcctcc gtcagcaggt gcgagcacgc 1500
 accctgccac aatggggcca cctgccacga gaggggccac cgctatgtgt 1550
 gcgagtgtgc ccgaggctac gggggtccca actgccagtt cctgctccc 1600
 gagctgcccc cgggcccagc ggtggtggac ctactgaga agctagaggg 1650
 ccaggcgggg ccattcccct ggggtggcct gtgcgcggg gtcacacctg 1700
 tcctcatgct gctgctgggc tgtgccgctg tgggtggtctg cgtccggctg 1750
 aggctgcaga agcaccggcc ccagccgac cctgccggg gggagacgga 1800
 gaccatgaac aacctggcca actgccagcg tgagaaggac atctcagtca 1850
 gcatcatcgg ggccacgcag atcaagaaca ccaacaagaa ggcggacttc 1900
 cacggggacc acagcggcca caagaatggc ttcaaggccc gctaccagc 1950
 ggtggactat aacctcgtgc aggacctcaa gggtgacgac accgccgtca 2000
 gggacgcgca cagcaagcgt gacaccaagt gccagcccca gggctcctca 2050
 ggggaggaga aggggacccc gaccacactc aggggtggag aagcatctga 2100
 aagaaaaagg ccgactcgg gctgttcaac ttcaaaagac accaagtacc 2150
 agtcggtgta cgtcatatcc gaggagaagg atgagtgcgt catagcaact 2200

gagggtgtaaa atggaagtga gatggcaaga ctcccgtttc tcttaaaata 2250
 agtaaaattc caagatata tgccccaacg aatgctgctg aagaggaggg 2300
 aggctcgtg gactgctgct gagaaaccga gttcagaccg agcaggttct 2350
 cctcctgagg tcctcgacgc ctgccgacag cctgtcgagg cccggccgcc 2400
 tgcggcactg ccttccgtga cgtcgccggt gcactatgga cagttgctct 2450
 taagagaata tatattttaa tgggtgaact gaattacgca taagaagcat 2500
 gcactgcctg agtgtatatt ttggattctt atgagccagt cttttcttga 2550
 attagaaaca caaacactgc ctttattgtc ctttttgata cgaagatgtg 2600
 ctttttctag atggaaaaga tgtgtgttat tttttggatt tgtaaaata 2650
 tttttcatga tatctgtaaa gcttgagtat tttgtgatgt tcgtttttta 2700
 taattttaa tttggtaaat atgtacaaag gcacttcggg tctatgtgac 2750
 tatatttttt tgtatataaa tgtatttatg gaatattgtg caaatgttat 2800
 ttgagttttt tactgttttg ttaatgaaga aattcctttt taaaatattt 2850
 ttcaaaaata aattttatga atgacaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2900
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaa 2933

<210> 4

<211> 723

<212> PRT

<213> Homo Sapien

<400> 4

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

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

Gly Phe Lys Ala Arg Tyr Pro Ala Val Asp Tyr Asn Leu Val Gln
 635 640 645
 Asp Leu Lys Gly Asp Asp Thr Ala Val Arg Asp Ala His Ser Lys
 650 655 660
 Arg Asp Thr Lys Cys Gln Pro Gln Gly Ser Ser Gly Glu Glu Lys
 665 670 675
 Gly Thr Pro Thr Thr Leu Arg Gly Gly Glu Ala Ser Glu Arg Lys
 680 685 690
 Arg Pro Asp Ser Gly Cys Ser Thr Ser Lys Asp Thr Lys Tyr Gln
 695 700 705
 Ser Val Tyr Val Ile Ser Glu Glu Lys Asp Glu Cys Val Ile Ala
 710 715 720
 Thr Glu Val
 723

<210> 5

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 5

ggatctcgag aacagctact cc 22

<210> 6

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 6

tcgtccacgt tgtcgtcaca tg 22

<210> 7

<211> 48

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 7

aaatctgtga attgagtgcc atggacctgt tgcggacggc ccttgctt 48

<210> 8

<211> 1780

<212> DNA

<213> Homo Sapien

<400> 8

ggctcagagg cccactgga cctcggctc ttcttggac ttcttgtgtg 50
 ttctgtgagc ttctgtgat tcagggtctt gggcatcaga ggtgagaggg 100
 tgggaaggtc cgccgcgatg gggaagccct ggctgcgtgc gctacagctg 150
 ctgctcctgc tgggcgcgctc gtgggcgcgg gcgggcgcc cgcgctgcac 200
 ctacacctc gtgctgccc cgcagaagtt cacgggcgct gtgtgctgga 250
 gcggccccgc atccacgcgg gcgacgccc aggcgcgcaa cgccagcgag 300
 ctggcggcgc tgcgcatgcg cgtcggccgc cacgaggagc tgttacgca 350
 gctgcagagg ctggcggcgg ccgacggcgc cgtggccggc gaggtgcgcg 400
 cgctgcgcaa ggagagccgc ggcctgagcg cgcgcctggg ccagttgcgc 450

gcgcagctgc agcacgaggc gggggcccggg gcggggcccgg gggcggatct 500
 gggggcggag cctgccgcgg cgctggcgct gctcggggag cgcgtgctca 550
 acgcgtccgc cgaggctcag cgcgcagccg cccggttcca ccagctggac 600
 gtcaagtcc gcgagctggc gcagctcgtc acccagcaga gcagtctcat 650
 cgcccgcctg gagcgcctgt gcccgggagg cgcgggcggg cagcagcagg 700
 tcctgccgcc acccccactg gtgcctgtgg ttccgggtccg tcttgtgggt 750
 agcaccagtg acaccagtag gatgctggac ccagccccag agccccagag 800
 agaccagacc cagagacagc aggagcccat ggcttctccc atgctgcag 850
 gtcaccctgc ggtccccacc aagcctgtgg gcccggtggca ggattgtgca 900
 gaggcccgcc aggcaggcca tgaacagagt ggagtgtatg aactgcgagt 950
 gggccgtcac gtagtgtcag tatggtgtga gcagcaactg gagggtggag 1000
 gctggactgt gatccagcgg aggcaagatg gttcagtcaa cttcttctact 1050
 acctggcagc actataaaggc gggctttggg cggccagacg gagaatactg 1100
 gctgggcctt gaaccctgtg atcagctgac cagccgtggg gaccatgagc 1150
 tgctggttct cctggaggac tggggggggc gtggagcacg tgcccactat 1200
 gatggcttct ccctggaacc cgagagcgcac cactaccgcc tgcggcttgg 1250
 ccagtaccat ggtgatgctg gagactctct ttccctggcac aatgacaagc 1300
 ccttcagcac cgtggatagg gaccgagact cctattctgg taactgtgcc 1350
 ctgtaccagc ggggaggctg gtggtaccat gcctgtgccc actccaacct 1400
 caacgggtgtg tggcaccacg gcggcacta ccgaagccgc taccaggatg 1450
 gtgtctactg ggctgagttt cgtggtgggg catattctct caggaaggcc 1500
 gccatgctca ttcggcccct gaagctgtga ctctgtgttc ctctgtcccc 1550
 taggcctag aggacattgg tcagcaggag cccaagttgt tctggccaca 1600
 cttctttgt ggctcagtgc caatgtgtcc cacagaactt cccactgtgg 1650
 atctgtgacc ctgggcgctg aaaatgggac ccaggaatcc cccccgtaa 1700
 tatcttgcc tcagatggct cccaaggtc attcatatct cggtttgagc 1750
 tcatatctta taataacaca aagtagccac 1780

<210> 9

<211> 470

<212> PRT

<213> Homo Sapien

<400> 9

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

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

<210> 10

<211> 34

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 10

acgtagttcc agtatggtgt gaggcagcaac tgga 34

```

<210> 11
<211> 26
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic Oligonucleotide Probe
<400> 11
  agtccagcct ccaccctcca gttgct 26
<210> 12
<211> 25
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic Oligonucleotide Probe
<400> 12
  cccagtcct ccaggagaac cagca 25
<210> 13
<211> 2042
<212> DNA
<213> Homo Sapien
<400> 13
  gcggacgcgt gggtgaaatt gaaaatcaag ataaaaatgt tcacaattaa 50
  gtccttctt tttattgttc ctctagttat ttcctccaga attgatcaag 100
  acaattcatc atttgattct ctatctccag agccaaaatc aagatttgct 150
  atgttagacy atgtaaaaat tttagccaat ggccctcctc agttgggaca 200
  tggctctaaa gactttgtcc ataagacgaa gggccaaatt aatgacatat 250
  ttcaaaaact caacatattt gatcagtctt tttatgatct atcgctgcaa 300
  accagtgaaa tcaaagaaga agaaaaggaa ctgagaagaa ctacatataa 350
  actacaagtc aaaaaatgaag aggtaaagaa tatgtcactt gaactcaact 400
  caaaacttga aagcctccta gaagaaaaaa ttctacttca acaaaaagtg 450
  aaatatttag aagagcaact aactaactta attcaaaatc aacctgaaac 500
  tccagaacac ccagaagtaa cttcacttaa aacttttgta gaaaaacaag 550
  ataatagcat caaagacctt ctccagaccg tggagacca atataaaca 600
  ttaaaccaac agcatagtca aataaaagaa atagaaaatc agctcagaag 650
  gactagtatt caagaacca cagaaatctt tctatcttcc aagccaagag 700
  caccaagaac tactcccttt cttcagttga atgaaataag aatgtaaaa 750
  catgatggca ttctgtctga atgtaccacc atttataaca gaggtgaaca 800
  tacaagtggc atgtatgcca tcagaccocag caactctcaa gtttttcatg 850
  tctactgtga tgttatatca ggtagtccat ggacattaat tcaacatcga 900
  atagatggat cacaaaactt caatgaaacg tgggagaact acaaatatgg 950
  ttttgggagc cttgatggag aattttggtt gggcctagag aagatatact 1000
  ccatagtgaa gcaatctaata tatgttttac gaattgagtt ggaagactgg 1050
  aaagacaaca aacattatat tgaatattct ttttacttgg gaaatcacga 1100
  aaccaactat acgctacatc tagttgcgat tactggcaat gtccccaatg 1150
  caatcccgga aaacaaaagat ttggtgtttt ctacttggga tcacaaagca 1200
  aaaggacact tcaactgtcc agagggttat tcaggaggct ggtggtggca 1250
  tgatgagtgt ggagaaaaca acctaaatgg taaatataac aaaccaagag 1300
  caaaatctaa gccagagagg agaagaggat tatcttggaa gtctcaaaat 1350
  ggaaggttat actctataaa atcaaccaa atgttgatcc atccaacaga 1400
  ttcagaaagc tttgaatgaa ctgaggcaat ttaaaggcat atttaacat 1450
  taactcatc caagttaatg tggctctaata atctggtata aatccttaag 1500
  agaaagcttg agaaatagat tttttttatc ttaaagtcac tgtctattta 1550
  
```

agattaaaca tacaatcaca taaccttaaa gaataccggt tacatttctc 1600
aatcaaaatt cttataatac tatttgtttt aaattttgtg atgtgggaat 1650
caattttaga tggtcacaat ctagattata atcaataggt gaacttatta 1700
aataactttt ctaaataaaa aatttagaga cttttatfff aaaaggcac 1750
atatgagcta atatcacaac tttcccagtt taaaaaacta gtactcttgt 1800
taaaactcta aacttgacta aatacagagg actggtaatt gtacagttct 1850
taaagtgtgt agtattaatt tcaaaactaa aaatcgctcag cacagagtat 1900
gtgtaaaaat ctgtaataca aattttttaa ctgatgcttc attttgctac 1950
aaaataattt ggagtaaatg tttgatatga tttatttatg aaacctaag 2000
aagcagaatt aaatactgta ttaaaataag ttcgctgtct tt 2042

<210> 14

<211> 460

<212> PRT

<213> Homo Sapien

<400> 14

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

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

<210> 15

<211> 715

<212> DNA

<213> Homo Sapien

<400> 15

```
tatttaccat atcagattca cattcagtc tccagcaaaat gaagggctcc 50
atthtcactc tgtttttatt ctctgtccta tttgccatct cagaagtgcg 100
gagcaaggag tctgtgagac tctgtgggct agaatacata cggacagtca 150
tctatatctg tgctagctcc aggtggagaa ggcattctgga ggggatccct 200
caagctcagc aagctgagac aggaaactcc ttccagctcc cacataaacg 250
tgagttttct gaggaaaatc cagcgcaaaa ccttccgaag gtggatgcct 300
caggggaaga ccgtctttgg ggtggacaga tgcccactga agagctttgg 350
aagtcaaaga agcattcagt gatgtcaaga caagatttac aaactttgtg 400
ttgcaactgat ggctgttcca tgactgattt gactgctctt tgctaagaca 450
agagcaaata cccaatgggt ggcagagctt tatcacatgt ttaattacag 500
tgttttactg cctggtagaa cactaatatt gtgttattaa aatgatggct 550
tttgggtagg caaaaacttct tttctaaaag gtatagctga gcggttgaaa 600
ccacagtgat ctctattttc tccctttgcc aagggtaatg aactgttctt 650
ttcaaattct actaatgctt tgaaatttca aatgctgcgc aaaattgcaa 700
taaaaatgct ataaa 715
```

<210> 16

<211> 135

<212> PRT

<213> Homo Sapien

<400> 16

Met Lys Gly Ser Ile Phe Thr Leu Phe Leu Phe Ser Val Leu Phe			
1	5	10	15

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

<210> 17

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 17

cacattcagt cctcagcaaa atgaa 25

<210> 18

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 18

gagaataaaa acagagtgaa aatggagccc ttcattttgc 40

<210> 19

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 19

ctcagcttgc tgagcttgag gga 23

<210> 20

<211> 1200

<212> DNA

<213> Homo Sapien

<400> 20

cccacgcgtc cgaacctctc cagcgatggg agccgcccgc ctgctgcca 50
acctcactct gtgcttacag ctgctgattc tctgctgtca aactcagtac 100
gtgagggacc agggcgccat gaccgaccag ctgagcaggc ggcagatccg 150
cgagtaccaa ctctacagca ggaccagtgg caagcacgtg caggtcaccg 200
ggcgtcgcac ctccgccacc gccgaggacg gcaacaagtt tgccaagctc 250
atagtggaga cggacacggt tggcagccgg gttcgcacatca aaggggctga 300
gagtgagaag tacatctgta tgaacaagag gggcaagctc atcgggaagc 350

ccagcgggaa gagcaaagac tgcgtgttca cggagatcgt gctggagaac 400
aactatacgg ccttccagaa cgcccggcac gagggctggt tcatggcctt 450
cacgcggcag gggcggccc gccaggcttc ccgcagccgc cagaaccagc 500
gcgaggccca cttcatcaag cgctctacc aaggccagct gcccttcccc 550
aaccacgccg agaagcagaa gcagttcgag tttgtgggct ccgccccac 600
ccgccggacc aagcgcacac ggcggcccca gccctcacg tagtctggga 650
ggcagggggc agcagcccct gggccgcctc cccaccctt tcccttctta 700
atccaaggac tgggctgggg tggcgggagg ggagccagat ccccgagggg 750
ggaccctgag ggcgcgaag catccgagcc cccagctggg aaggggcagg 800
ccggtgcccc aggggcggct ggcacagtgc ccccttccc gacgggtggc 850
aggccctgga gaggaactga gtgtcacct gatctcaggc caccagcctc 900
tgccggcctc ccagccgggc tcctgaagcc cgctgaaagg tcagcgactg 950
aaggccttgc agacaaccgt ctggaggtgg ctgtcctcaa aatctgcttc 1000
tcgatctcc ctcaagtctgc cccagcccc caaactcctc ctggctagac 1050
tgtaggaagg gacttttgtt tgtttgtttg tttcaggaaa aaagaaaggg 1100
agagagagga aaatagaggg ttgtccactc ctacattcc acgaccagg 1150
ctgcacccc accccaact cccagcccc gaataaaacc attttctgc 1200

<210> 21

<211> 205

<212> PRT

<213> Homo Sapien

<400> 21

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

<210> 22

<211> 28

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 22
 cagtacgtga gggaccaggg cgccatga 28
 <210> 23
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 23
 ccggtgacct gcacgtgctt gccca 24
 <210> 24
 <211> 41
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <220>
 <221> unsure
 <222> 21
 <223> unknown base
 <400> 24
 gcggatctgc gcctgctca nctggtcggg catggcgccc t 41
 <210> 25
 <211> 3355
 <212> DNA
 <213> Homo Sapien
 <400> 25
 gcagctgggt actgcatttc tccatgtggc agacagagca aagccacaac 50
 gctttctctg ctggattaaa gacggccccac agaccagaac ttccactata 100
 ctacttaaaa ttacataggt ggcttgtcaa attcaattga ttagtattgt 150
 aaaaggaaaa agaagttcct tcttacagct tggattcaac ggtccaaaac 200
 aaaaatgcag ctgccattaa agtctcagat gaacaaactt ctacactgat 250
 ttttaaaatc aagaataagg gcagcaagtt tctggattca ctgaatcaac 300
 agacacaaaa agctggcaat atagcaacta tgaagagaaa agctactaat 350
 aaaattaacc caacgcatag aagacttttt tttctcttct aaaaacaact 400
 aagtaaagac ttaaatttaa acacatcatt ttacaacctc atttcaaaat 450
 gaagactttt acctggaccc taggtgtgct attcttccta ctagtggaca 500
 ctggacattg cagaggtgga caattcaaaa ttaaaaaaat aaaccagaga 550
 agataccctc gtgccacaga tggtaaagag gaagcaaaga aatgtgcata 600
 cacattcctg gtacctgaac aaagaataac agggccaatc tgtgtcaaca 650
 ccaaggggca agatgcaagt accattaaag acatgatcac caggatggac 700
 cttgaaaacc tgaaggatgt gctctccagg cagaagcggg agatagatgt 750
 tctgcaactg gtggtggatg tagatggaaa cattgtgaat gaggtaaagc 800
 tgctgagaaa ggaaagccgt aacatgaact ctcgtgttac tcaactctat 850
 atgcaattat tacatgagat tatccgtaag agggataatt cacttgaact 900
 ttccaactg gaaaacaaaa tcctcaatgt caccacagaa atggtgaaga 950
 tggcaacaag atacagggaa ctagaggtga aatacgttc cttgactgat 1000
 cttgtcaata accaatctgt gatgatcact ttgttggag aacagtgctt 1050

gaggatattt tcccgacaag acacccatgt gtctccccc cttgtccagg 1100
 tgggtgccaca acatattcct aacagccaac agtatactcc tgggtctgctg 1150
 ggaggtaacg agattcagag ggatccagggt tatcccagag atttaatgcc 1200
 accacctgat ctggcaactt ctcccaccaa aagccctttc aagataccac 1250
 cggtaacttt catcaatgaa ggaccattca aagactgtca gcaagcaaaa 1300
 gaagctgggc attcgggtcag tgggatttat atgattaaac ctgaaaacag 1350
 caatggacca atgcagttat ggtgtgaaaa cagtttggac cctggggggtt 1400
 ggactgttat tcagaaaaga acagacggct ctgtcaactt cttcagaaat 1450
 tgggaaaatt ataagaaagg gtttggaaac attgacggag aatactggct 1500
 tggactggaa aatatctata tgcttagcaa tcaagataat tacaagtatt 1550
 tgattgaatt agaagactgg agtgataaaa aagtctatgc agaatacagc 1600
 agctttcgtc tggaaacctga aagtgaattc tatagactgc gcctgggaac 1650
 ttaccagggg aatgcagggg attctatgat gtggcataat ggtaaacaat 1700
 tcaccacact ggacagagat aaagatatgt atgcaggaaa ctgcgcccac 1750
 tttcataaag gaggctggtg gtacaatgcc tgtgcacatt ctaacctaaa 1800
 tggagtatgg tacagaggag gccattacag aagcaagcac caagatggaa 1850
 ttttctgggc cgaatacaga ggcggtcat actccttaag agcagttcag 1900
 atgatgatca agcctattga ctgaagagag acactcgcca atttaaatga 1950
 cacagaactt tgtacttttc agctcttaaa aatgtaaatag ttacatgtat 2000
 attacttggc acaatttatt tctacacaga aagtttttaa aatgaatttt 2050
 accgtaacta taaaagggaa cctataaatg tagtttcatc tgtcgtcaat 2100
 tactgcagaa aattatgtgt atccacaacc tagttatttt aaaaattatg 2150
 ttgactaaat acaaagtttg ttttctaaaa tgtaaataat tgccacaatg 2200
 taaagcaaat cttagctata ttttaaataca taaataacat gttcaagata 2250
 cttacaatt tatttaaaat ctaagattgc tctaactgtc agtgaaaaaa 2300
 atatttttta aatttcagcc aaataatgca ttttatttta taaaaataca 2350
 gacagaaaat tagggagaaa cttctagttt tgccaataga aatgtttctt 2400
 ccattgaata aaagttattt caaattgaat ttgtgccttt cacacgtaat 2450
 gattaaatct gaattcttaa taatatatcc tatgctgatt ttcccaaac 2500
 atgaccata gtattaaata catatcattt ttaaaaaata aaaaaaaccc 2550
 aaaaataatg catgcataat ttaaattggtc aatttataaa gacaaatcta 2600
 tgaatgaatt tttcagtggt atcttcatat gatatgctga acaccaaata 2650
 ctccagaaat gcattttatg tagttctaaa atcagcaaaa tatttggtatt 2700
 acaaaaatgc agaataattta gtgtgctaca gatctgaatt atagttctaa 2750
 tttattatta ctttttttct aatttactga tcttactact acaaagaaaa 2800
 aaaaacccaa cccatctgca attcaaataca gaaagtttgg acagctttac 2850
 aagtattagt gcatgctcag aacaggtggg actaaaaca actcaaggaa 2900
 ctggtggctg ttttcccgat actgagaatt caacagctcc agagcagaag 2950
 ccacaggggc atagcttagt ccaaactgct aatttcattt tacagtgtat 3000
 gtaacgctta gtctcacagt gtctttaaact catctttgca atcaacaact 3050
 ttactagtga ctttctggaa caatttcctt tcaggaatac atattcactg 3100
 cttagaggty accttgccctt aatataattg tgaagttaaa attttaaga 3150
 tagctcatga aacttttgct taagcaaaaa gaaaacctcg aattgaaatg 3200
 tgtgaggcaa actatgcatg ggaatagctt aatgtgaaga taatcatttg 3250
 gacaactcaa atccatcaac atgaccaatg tttttcatct gccacatctc 3300
 aaaataaaac ttctggtgaa acaaattaaa caaaatatcc aaacctcaa 3350
 aaaaa 3355

<210> 26
 <211> 491
 <212> PRT
 <213> Homo Sapien
 <400> 26

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

Glu Ser Glu Phe Tyr Arg Leu Arg Leu Gly Thr Tyr Gln Gly Asn
 395 400 405
 Ala Gly Asp Ser Met Met Trp His Asn Gly Lys Gln Phe Thr Thr
 410 415 420
 Leu Asp Arg Asp Lys Asp Met Tyr Ala Gly Asn Cys Ala His Phe
 425 430 435
 His Lys Gly Gly Trp Trp Tyr Asn Ala Cys Ala His Ser Asn Leu
 440 445 450
 Asn Gly Val Trp Tyr Arg Gly Gly His Tyr Arg Ser Lys His Gln
 455 460 465
 Asp Gly Ile Phe Trp Ala Glu Tyr Arg Gly Gly Ser Tyr Ser Leu
 470 475 480
 Arg Ala Val Gln Met Met Ile Lys Pro Ile Asp
 485 490 491

<210> 27

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 27

caggttatcc cagagattta atgccacca 29

<210> 28

<211> 34

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 28

ttggtgggag aagttgccag atcaggtggt ggca 34

<210> 29

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 29

ttcacacat aactgcattg gtcca 25

<210> 30

<211> 1174

<212> DNA

<213> Homo Sapien

<400> 30

cggacgcgtg ggggaaacc ttccgagaaa acagcaacaa gctgagctgc 50
 tgtgacagag gggacaaga tggcggcgcc gaaggggagc ctctgggtga 100
 ggaccaact ggggtccccg ccgctgctgc tgctgacat ggccttggcc 150
 ggaggttcgg ggaccgcttc ggctgaagca tttgactcgg tcttgggtga 200
 tacggcgtct tgccaccggg cctgtcagtt gacctacccc ttgcacacct 250
 accctaagga agaggagttg tacgcatgtc agagagggtg caggctgttt 300
 tcaattgtc agtttgtgga tgatggaatt gacttaaate gaactaaatt 350
 ggaatgtgaa tctgcatgta cagaagcata ttcccaatct gatgagcaat 400
 atgcttgcca tcttgggtgc cagaatcagc tgccattcgc tgaactgaga 450

caagaacaac ttatgtccct gatgccaaaa atgcacctac tctttcctct 500
aactctggtg aggtcattct ggagtgacat gatggactcc gcacagagct 550
tcataacctc ttcattggact ttttatcttc aagccgatga cggaaaaata 600
gttatatcc agtctaagcc agaaatccag tacgcaccac atttggagca 650
ggagcctaca aatttgagag aatcatctct aagcaaatg tcctatctgc 700
aatgagaaa ttcacaagcg cacaggaatt ttcttgaaga tggagaaagt 750
gatggctttt taagatgcct ctctcttaac tctgggtgga ttttaactac 800
aactcttgtc ctctcggatga tggattgct ttggatttgt tgtgcaactg 850
ttgctacagc tgtggagcag tatgttcct ctgagaagct gagtatctat 900
ggtgacttgg agtttatgaa tgaacaaaag ctaaacagat atccagcttc 950
ttctcttggt gttgttagat ctaaaactga agatcatgaa gaagcagggc 1000
ctctacctac aaaagtgaat cttgctcatt ctgaaattta agcatttttc 1050
ttttaaaga caagtgaat agacatctaa aattccactc ctcatagagc 1100
ttttaaagt gtttcattgg atataggcct taagaaatca ctataaatg 1150
caaataaagt tactcaaatc tgtg 1174

<210> 31

<211> 323

<212> PRT

<213> Homo Sapien

<400> 31

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

Ile Leu Thr Thr Thr Leu Val Leu Ser Val Met Val Leu Leu Trp
 245 250 255
 Ile Cys Cys Ala Thr Val Ala Thr Ala Val Glu Gln Tyr Val Pro
 260 265 270
 Ser Glu Lys Leu Ser Ile Tyr Gly Asp Leu Glu Phe Met Asn Glu
 275 280 285
 Gln Lys Leu Asn Arg Tyr Pro Ala Ser Ser Leu Val Val Val Arg
 290 295 300
 Ser Lys Thr Glu Asp His Glu Glu Ala Gly Pro Leu Pro Thr Lys
 305 310 315
 Val Asn Leu Ala His Ser Glu Ile
 320 323

<210> 32

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 32

acaagctgag ctgctgtgac ag 22

<210> 33

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 33

tgattctggc aaccaagatg gc 22

<210> 34

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 34

atggccttgg ccggagggtc ggggaccgct tcggctgaag 40

<210> 35

<211> 1114

<212> DNA

<213> Homo Sapien

<400> 35

tccgcaggcg gaccgggggc aaaggaggtg gcatgtcggc caggcacagc 50
 agggctcctgt gtccgcgctg agccgcgctc tccctgctcc agcaaggacc 100
 atgagggcgc tggaggggcc aggcctgtcg ctgctgtgcc tgggtgttggc 150
 gctgctgccc ctgctgccgg tgccggctgt acgcgagtg gcagaaacac 200
 ccacctacc ctggcgggac gcagagacag gggagcggct ggtgtgcgcc 250
 cagtgcccc caggcacctt tgtgcagcgg ccgtgccgcc gagacagccc 300
 cacgacgtgt ggcccgtgtc caccgcgcca ctacacgcag ttctggaact 350
 acctggagcg ctgccgctac tgcaacgtcc tctgcgggga gcgtgaggag 400
 gaggcacggg cttgccacgc caccacaac cgtgcctgcc gctgccgcac 450
 cggcttcttc gcgcacgctg gtttctgctt ggagcacgca tcgtgtccac 500
 ctggtgccgg cgtgattgcc ccgggcaccc ccagccagaa cacgcagtgc 550

cagccgtgcc cccagggcac cttctcagcc agcagctcca gctcagagca 600
 gtgccagccc caccgcaact gcacggccct gggcctggcc ctcaatgtgc 650
 caggctcttc ctcccatgac accctgtgca ccagctgcac tggcttcccc 700
 ctcagcacca gggtagcagg agctgaggag tgtgagcgtg ccgtcatcga 750
 ctttgtggct ttccaggaca tctccatcaa gaggctgcag cggctgctgc 800
 aggccctcga ggccccggag ggctggggtc cgacaccaag ggcggggccgc 850
 gcggccttgc agctgaagct gcgtcggcgg ctcacggagc tcctgggggc 900
 gcaggacggg gcgctgctgg tgcggctgct gcaggcgctg cgcgtggcca 950
 ggatgcccgg gctggagcgg agcgtccgtg agcgttctct ccctgtgcac 1000
 tgatcctggc cccctcttat ttattctaca tccttggcac cccacttgca 1050
 ctgaaagagg ctttttttta aatagaagaa atgaggtttc ttaaaaaaaaa 1100
 aaaaaaaaaa aaaa 1114

<210> 36

<211> 300

<212> PRT

<213> Homo Sapien

<400> 36

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

	260		265		270									
Ala	Leu	Leu	Val	Arg	Leu	Leu	Gln	Ala	Leu	Arg	Val	Ala	Arg	Met
	275		280		285									
Pro	Gly	Leu	Glu	Arg	Ser	Val	Arg	Glu	Arg	Phe	Leu	Pro	Val	His
	290		295		300									

<210> 37

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 37

cacgctgggtt tctgcttgga g 21

<210> 38

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 38

agctgggtgca caggggtgtca tg 22

<210> 39

<211> 53

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 39

cccaggcacc ttctcagcca gccagcagct ccagctcaga gcagtgccag 50
ccc 53

<210> 40

<211> 1838

<212> DNA

<213> Homo Sapien

<400> 40

cggacgcgtg ggcggacgcg tgggcggccc acggcgcccg cgggctgggg 50
cggtcgcttc ttcttctcc gtggcctacg agggctccca gcctgggtaa 100
agatggcccc atggcccccg aagggcctag tccagctgt gctctggggc 150
ctcagcctct tctcaacct cccaggacct atctggctcc agccctctcc 200
acctccccag tcttctcccc cgctcagcc ccacccgtgt catacctgcc 250
ggggactggt tgacagcttt aacaagggcc tggagagaac catccgggac 300
aactttggag gtgaaaacac tgcctgggag gaagagaatt tgtccaaata 350
caaagacagt gagaccgcc tggtagaggt gctggagggt gtgtgcagca 400
agtcagactt cgagtgccac cgctgctgg agctgagtga ggagctgggtg 450
gagagctggt ggtttcacia gcagcaggag gccccggacc tcttccagtg 500
gctgtgctca gattccctga agctctgctg ccccgaggc accttcgggc 550
cctcctgcct tcctgtcct gggggaacag agaggcctg cgggtggctac 600
gggcagtgtg aaggagaagg gacacgaggg ggcagcgggc actgtgactg 650
ccaagccggc tacgggggtg aggcctgtgg ccagtgtggc cttggctact 700
ttgaggcaga acgcaacgcc agccatctgg tatgttcggc ttgttttggc 750
ccctgtgccc gatgctcagg acctgaggaa tcaaactggt tgcaatgcaa 800
gaagggctgg gccctgcac acctcaagtg tgtagacatt gatgagtgtg 850

gcacagaggg agccaactgt ggagctgacc aattctgcgt gaacactgag 900
 ggctcctatg agtgccgaga ctgtgccaag gcctgcctag gctgcatggg 950
 ggcagggcca ggtcgctgta agaagtgtag ccctggctat cagcaggtgg 1000
 gctccaagtg tctcgatgtg gatgagtgtg agacagaggt gtgtccggga 1050
 gagaacaagc agtgtgaaaa caccgagggc ggttatcgct gcatctgtgc 1100
 cgagggctac aagcagatgg aaggcatctg tgtgaaggag cagatcccag 1150
 agtcagcagg cttcttctca gagatgacag aagacgagtt ggtgggtgctg 1200
 cagcagatgt tctttggcat catcatctgt gcactggcca cgctggctgc 1250
 taagggcgac ttgggtgttca ccgccatctt cattggggct gtggcgcca 1300
 tgactggcta ctggttgta gagcgcagt accgtgtgct ggagggcttc 1350
 atcaagggca gataatcgcg gccaccacct gtaggacct ctcccacca 1400
 cgctgcccc agagcttggg ctgccctcct gctggacact caggacagct 1450
 tggtttattt ttgagagtgg ggtaagcacc cctacctgcc ttacagagca 1500
 gcccaggtac ccaggcccgg gcagacaagg cccctggggg aaaaagtagc 1550
 cctgaagggtg gataccatga gctcttcacc tggcggggac tggcaggctt 1600
 cacaatgtgt gaatttcaaa agtttttct taatgggtggc tgctagagct 1650
 ttggccccctg cttaggatta ggtggctctc acaggggtgg ggccatcaca 1700
 gctcccctcct gccagctgca tgctgccagt tcctgttctg tgttcaccac 1750
 atccccacac cccattgcca cttatttatt catctcagga aataaagaaa 1800
 ggtcttgtaa agttaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1838

<210> 41

<211> 420

<212> PRT

<213> Homo Sapien

<400> 41

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

	200		205		210
Cys Ser Ala Cys Phe Gly Pro Cys Ala Arg Cys Ser Gly Pro Glu					
	215		220		225
Glu Ser Asn Cys Leu Gln Cys Lys Lys Gly Trp Ala Leu His His					
	230		235		240
Leu Lys Cys Val Asp Ile Asp Glu Cys Gly Thr Glu Gly Ala Asn					
	245		250		255
Cys Gly Ala Asp Gln Phe Cys Val Asn Thr Glu Gly Ser Tyr Glu					
	260		265		270
Cys Arg Asp Cys Ala Lys Ala Cys Leu Gly Cys Met Gly Ala Gly					
	275		280		285
Pro Gly Arg Cys Lys Lys Cys Ser Pro Gly Tyr Gln Gln Val Gly					
	290		295		300
Ser Lys Cys Leu Asp Val Asp Glu Cys Glu Thr Glu Val Cys Pro					
	305		310		315
Gly Glu Asn Lys Gln Cys Glu Asn Thr Glu Gly Gly Tyr Arg Cys					
	320		325		330
Ile Cys Ala Glu Gly Tyr Lys Gln Met Glu Gly Ile Cys Val Lys					
	335		340		345
Glu Gln Ile Pro Glu Ser Ala Gly Phe Phe Ser Glu Met Thr Glu					
	350		355		360
Asp Glu Leu Val Val Leu Gln Gln Met Phe Phe Gly Ile Ile Ile					
	365		370		375
Cys Ala Leu Ala Thr Leu Ala Ala Lys Gly Asp Leu Val Phe Thr					
	380		385		390
Ala Ile Phe Ile Gly Ala Val Ala Ala Met Thr Gly Tyr Trp Leu					
	395		400		405
Ser Glu Arg Ser Asp Arg Val Leu Glu Gly Phe Ile Lys Gly Arg					
	410		415		420

<210> 42

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 42

attctgctgt aacctgagg gc 22

<210> 43

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 43

atctgcttgt agccctcggc ac 22

<210> 44

<211> 50

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 44

```

cctggctatc agcaggtggg ctccaagtgt ctcgatgtgg atgagtgatga 50
<210> 45
<211> 2033
<212> DNA
<213> Homo Sapien
<400> 45
ccaggccggg aggcgacgcg cccagccgtc taaacgggaa cagccctggc 50
tgagggagct gcagcgcagc agagtatctg acggcgccag gttgcgtagg 100
tgccggcacga ggagttttcc cggcagcgag gaggtcctga gcagcatggc 150
ccggaggagc gccttccctg ccgccgcgct ctggctctgg agcatcctcc 200
tgtgcctgct ggcaactgcg ggcgaggccg ggccgcccga ggaggagagc 250
ctgtacctat ggatcgatgc tcaccaggca agagtactca taggatttga 300
agaagatata ctgattgttt cagaggggaa aatggcacct tttacacatg 350
atctcagaaa agcgcacacag agaatgccag ctattcctgt caatatccat 400
tccatgaatt ttacctggca agctgcaggg caggcagaat acttctatga 450
attcctgtcc ttgcgctccc tggataaagg catcatggca gatccaaccg 500
tcaatgtccc tctgctggga acagtgccct acaaggcatc agttgttcaa 550
gttggtttcc catgtccttg aaaacaggat ggggtggcag catttgaagt 600
ggatgtgatt gttatgaatt ctgaaggcaa caccattctc caaacacctc 650
aaaatgctat cttctttaa acatgtcaac aagctgagtg cccaggcggg 700
tgccgaaatg gagcttttg taatgaaaga cgcactctgc agtgtcctga 750
tggtttccac ggacctcact gtgagaaagc cctttgtacc ccacgatgta 800
tgaatggtgg actttgtgtg actcctgggt tctgcatctg cccacctgga 850
ttctatggag tgaactgtga caaagcaaac tgctcaacca cctgctttaa 900
tggagggacc tgtttctacc ctggaaaatg tatttgcctt ccaggactag 950
agggagagca gtgtgaaatc agcaaatgcc cacaaccctg tcgaaatgga 1000
ggtaaagtga ttggtaaaag caaatgtaag tgttccaaag gttaccaggg 1050
agacctctgt tcaaagcctg tctgcgagcc tggctgtggt gcacatggaa 1100
cctgccatga acccaacaaa tgccaatgtc aagaaggttg gcatggaaga 1150
cactgcaata aaaggtagca agccagcctc atacatgccc tgaggccagc 1200
aggcgcccag ctcaggcagc acacgcctc acttaaaaag gccgaggagc 1250
ggcgggatcc acctgaatcc aattacatct ggtgaactcc gacatctgaa 1300
acgttttaag ttacaccaag ttcatagcct ttgttaacct ttcatgtgtt 1350
gaatgttcaa ataagtgtca ttacacttaa gaatactggc ctgaatttta 1400
ttagcttcat tataaatcac tgagctgata tttactcttc cttttaagtt 1450
ttctaagtac gtctgtagca tgatggtata gattttcttg tttcagtgtc 1500
ttgggacaga ttttatatta tgtcaattga tcagggttaa attttcagtg 1550
tgtagttggc agatattttc aaaattacaa tgcatttatg gtgtctgggg 1600
gcaggggaac atcagaaagg ttaaattggg caaaaatgcg taagtcaaaa 1650
gaatttgat ggtgcagtta atggtgaagt tacagcattt cagattttat 1700
tgtcagatat ttagatgttt gttacatctt taaaaattgc tcttaatttt 1750
taaactctca atacaatata ttttgacctt accattatct cagagattca 1800
gtattaaaaa aaaaaaatt acactgtggt agtggcattt aaacaatata 1850
atatattcta aacacaatga aatagggaat ataatgtatg aactttttgc 1900
attggcttga agcaatataa tatattgtaa acaaacaca gctcttacct 1950
aataaacatt ttatactgtt tgtatgtata aaataaagg gctgctttag 2000
ttttttggaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaa 2033
<210> 46
<211> 379
<212> PRT
<213> Homo Sapien
<400> 46

```

Met Ala Arg Arg Ser Ala Phe Pro Ala Ala Ala Leu Trp Leu Trp
 1 5 10 15
 Ser Ile Leu Leu Cys Leu Leu Ala Leu Arg Ala Glu Ala Gly Pro
 20 25 30
 Pro Gln Glu Glu Ser Leu Tyr Leu Trp Ile Asp Ala His Gln Ala
 35 40 45
 Arg Val Leu Ile Gly Phe Glu Glu Asp Ile Leu Ile Val Ser Glu
 50 55 60
 Gly Lys Met Ala Pro Phe Thr His Asp Phe Arg Lys Ala Gln Gln
 65 70 75
 Arg Met Pro Ala Ile Pro Val Asn Ile His Ser Met Asn Phe Thr
 80 85 90
 Trp Gln Ala Ala Gly Gln Ala Glu Tyr Phe Tyr Glu Phe Leu Ser
 95 100 105
 Leu Arg Ser Leu Asp Lys Gly Ile Met Ala Asp Pro Thr Val Asn
 110 115 120
 Val Pro Leu Leu Gly Thr Val Pro His Lys Ala Ser Val Val Gln
 125 130 135
 Val Gly Phe Pro Cys Leu Gly Lys Gln Asp Gly Val Ala Ala Phe
 140 145 150
 Glu Val Asp Val Ile Val Met Asn Ser Glu Gly Asn Thr Ile Leu
 155 160 165
 Gln Thr Pro Gln Asn Ala Ile Phe Phe Lys Thr Cys Gln Gln Ala
 170 175 180
 Glu Cys Pro Gly Gly Cys Arg Asn Gly Gly Phe Cys Asn Glu Arg
 185 190 195
 Arg Ile Cys Glu Cys Pro Asp Gly Phe His Gly Pro His Cys Glu
 200 205 210
 Lys Ala Leu Cys Thr Pro Arg Cys Met Asn Gly Gly Leu Cys Val
 215 220 225
 Thr Pro Gly Phe Cys Ile Cys Pro Pro Gly Phe Tyr Gly Val Asn
 230 235 240
 Cys Asp Lys Ala Asn Cys Ser Thr Thr Cys Phe Asn Gly Gly Thr
 245 250 255
 Cys Phe Tyr Pro Gly Lys Cys Ile Cys Pro Pro Gly Leu Glu Gly
 260 265 270
 Glu Gln Cys Glu Ile Ser Lys Cys Pro Gln Pro Cys Arg Asn Gly
 275 280 285
 Gly Lys Cys Ile Gly Lys Ser Lys Cys Lys Cys Ser Lys Gly Tyr
 290 295 300
 Gln Gly Asp Leu Cys Ser Lys Pro Val Cys Glu Pro Gly Cys Gly
 305 310 315
 Ala His Gly Thr Cys His Glu Pro Asn Lys Cys Gln Cys Gln Glu
 320 325 330
 Gly Trp His Gly Arg His Cys Asn Lys Arg Tyr Glu Ala Ser Leu
 335 340 345
 Ile His Ala Leu Arg Pro Ala Gly Ala Gln Leu Arg Gln His Thr
 350 355 360
 Pro Ser Leu Lys Lys Ala Glu Glu Arg Arg Asp Pro Pro Glu Ser
 365 370 375
 Asn Tyr Ile Trp
 379

<210> 47
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 47
 aaagacgcat ctgcgagtgt cc 22
 <210> 48
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 48
 tgctgatttc aactgctct ccc 23
 <210> 49
 <211> 49
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 49
 cccacgatgt atgaatgggtg gactttgtgt gactcctggg ttctgcatc 49
 <210> 50
 <211> 1210
 <212> DNA
 <213> Homo Sapien
 <400> 50
 cagcgcgtgg ccggcggccg tgtggggaca gcatgagcgg cggttggatg 50
 gcgcaggttg gagcgtggcg aacaggggct ctgggcctgg cgctgctgct 100
 gctgctcggc ctcggactag gcctggaggc cgcgcgagc ccgctttcca 150
 ccccgacctc tgcccaggcc gcaggcccca gctcaggctc gtgcccacc 200
 accaagtcc agtgccgcac cagtggctta tgcggtcccc tcacctggcg 250
 ctgcgacagg gacttgact gcagcgatgg cagcgatgag gaggagtgca 300
 ggattgagcc atgtaccag aaagggcaat gccaccgcc ccctggcctc 350
 ccctgcccct gcaccggcgt cagtgactgc tctgggggaa ctgacaagaa 400
 actgcgcaac tgacagccgc tggcctgcct agcaggcgag ctccgttgca 450
 cgctgagcga tgactgcatt cactcacgt ggcgctgcga cggccacca 500
 gactgtcccg actccagcga cgagctcggc tgtggaacca atgagatcct 550
 cccggaaggg gatgccaaa ccatggggcc ccctgtgacc ctggagagtg 600
 tcacctctct caggaatgcc acaacctagg ggccccctgt gaccctggag 650
 agtgtcccct ctgtcgggaa tgccacatcc tcctctgccg gagaccagtc 700
 tggaagccca actgcctatg gggttattgc agctgctgcg gtgctcagtg 750
 caagcctggt caccgccacc ctccctcttt tgtcctggct ccgagcccag 800
 gagcgcctcc gccactggg gttactggtg gccatgaagg agtccctgct 850
 gctgtcagaa cagaagacct cgctgcctg aggacaagca cttgccacca 900
 ccgtcactca gccctggcg tagccggaca ggaggagagc agtgatgcgg 950
 atgggtacct gggcacacca gccctcagag acctgagttc ttctggccac 1000
 gtggaacctc gaaccggagc tcctgcagaa gtggccctgg agattgaggg 1050
 tccctggaca ctccctatgg agatccgggg agctaggatg gggaacctgc 1100
 cacagccaga actgagggggc tggccccagg cagctcccag ggggtagaac 1150

```

ggcctgtgc ttaagacact ccctgctgcc ccgtctgagg gtggcgatta 1200
aagttgcttc 1210
<210> 51
<211> 282
<212> PRT
<213> Homo Sapien
<400> 51
Met Ser Gly Gly Trp Met Ala Gln Val Gly Ala Trp Arg Thr Gly
 1          5          10          15
Ala Leu Gly Leu Ala Leu Leu Leu Leu Leu Gly Leu Gly Leu Gly
          20          25          30
Leu Glu Ala Ala Ala Ser Pro Leu Ser Thr Pro Thr Ser Ala Gln
          35          40          45
Ala Ala Gly Pro Ser Ser Gly Ser Cys Pro Pro Thr Lys Phe Gln
          50          55          60
Cys Arg Thr Ser Gly Leu Cys Val Pro Leu Thr Trp Arg Cys Asp
          65          70          75
Arg Asp Leu Asp Cys Ser Asp Gly Ser Asp Glu Glu Glu Cys Arg
          80          85          90
Ile Glu Pro Cys Thr Gln Lys Gly Gln Cys Pro Pro Pro Pro Gly
          95          100          105
Leu Pro Cys Pro Cys Thr Gly Val Ser Asp Cys Ser Gly Gly Thr
          110          115          120
Asp Lys Lys Leu Arg Asn Cys Ser Arg Leu Ala Cys Leu Ala Gly
          125          130          135
Glu Leu Arg Cys Thr Leu Ser Asp Asp Cys Ile Pro Leu Thr Trp
          140          145          150
Arg Cys Asp Gly His Pro Asp Cys Pro Asp Ser Ser Asp Glu Leu
          155          160          165
Gly Cys Gly Thr Asn Glu Ile Leu Pro Glu Gly Asp Ala Thr Thr
          170          175          180
Met Gly Pro Pro Val Thr Leu Glu Ser Val Thr Ser Leu Arg Asn
          185          190          195
Ala Thr Thr Met Gly Pro Pro Val Thr Leu Glu Ser Val Pro Ser
          200          205          210
Val Gly Asn Ala Thr Ser Ser Ser Ala Gly Asp Gln Ser Gly Ser
          215          220          225
Pro Thr Ala Tyr Gly Val Ile Ala Ala Ala Ala Val Leu Ser Ala
          230          235          240
Ser Leu Val Thr Ala Thr Leu Leu Leu Leu Ser Trp Leu Arg Ala
          245          250          255
Gln Glu Arg Leu Arg Pro Leu Gly Leu Leu Val Ala Met Lys Glu
          260          265          270
Ser Leu Leu Leu Ser Glu Gln Lys Thr Ser Leu Pro
          275          280          282
<210> 52
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic Oligonucleotide Probe
<400> 52

```

aagttccagt gccgcaccag tggc 24
 <210> 53
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 53
 ttggttccac agccgagctc gtcg 24
 <210> 54
 <211> 50
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 54
 gaggaggagt gcaggattga gccatgtacc cagaaagggc aatgcccacc 50
 <210> 55
 <211> 1514
 <212> DNA
 <213> Homo Sapien
 <400> 55
 ggggtctccc tcagggccgg gaggcacagc ggtccctgct tgctgaaggg 50
 ctggatgtac gcatccgcag gttcccgcgg acttgggggc gcccgctgag 100
 ccccgcgccc cgcagaagac ttgtgtttgc ctccctgcagc ctcaaccgg 150
 agggcagcga gggcctacca ccatgatcac tgggtgtgttc agcatgcgct 200
 tgtggacccc agtgggcgtc ctgacctcgc tggcgtactg cctgcaccag 250
 cggcgggtgg ccctggccga gctgcaggag gccgatggcc agtgtccggt 300
 cgaccgcagc ctgctgaagt tgaaaatggg gcaggctcgtg tttcgacacg 350
 gggctcggag tcctctcaag ccgctcccgc tggaggagca ggtagagtgg 400
 aacccccagc tattagaggt cccaccccaa actcagtttg attacacagt 450
 caccaatcta gctggtggtc cgaaacata ttctccttac gactctcaat 500
 accatgagac caccctgaag gggggcatgt ttgctgggca gctgaccaag 550
 gtgggcatgc agcaaatggt tgccttggga gagagactga ggaagaacta 600
 tgtggaagac attccctttc tttcaccaac cttcaaccga caggaggtct 650
 ttattcgttc cactaacatt tttcggaatc tggagtccac ccgttgtttg 700
 ctggctgggc ttttccagtg tcagaaagaa ggaccatca tcatccacac 750
 tgatgaagca gattcagaag tcttgatoc caactaccaa agctgctgga 800
 gcctgaggca gagaaccaga ggccggaggc agactgcctc tttacagcca 850
 ggaatctcag aggatttgaa aaaggtgaag gacaggatgg gcattgacag 900
 tagtgataaa gtggacttct tcatcctcct ggacaacgtg gctgccgagc 950
 aggacacaa cctcccaagc tgccccatgc tgaagagatt tgcacggatg 1000
 atcgaacaga gagctgtgga cacatccttg tacatactgc ccaaggaaga 1050
 cagggaaagt cttcagatgg cagtaggccc attcctccac atcctagaga 1100
 gcaacctgct gaaagccatg gactctgcca ctgccccga caagatcaga 1150
 aagctgtatc tctatgcggc tcatgatgtg accttcatac cgctcttaat 1200
 gaccctgggg atttttgacc acaaatggcc accgtttgct gttgacctga 1250
 ccatggaact ttaccagcac ctggaatcta aggagtgggt tgtgcagctc 1300
 tattaccagc ggaaggagca ggtgccgaga gggtgcccctg atgggctctg 1350
 cccgctggac atgttcttga atgccatgtc agtttatacc ttaagcccag 1400
 aaaaatacca tgcactctgc tctcaaactc aggtgatgga agttggaaat 1450
 gaagagtaac tgattataa aagcaggatg tgttgatgtt aaaataaagt 1500

```

gcctttatac aatg 1514
<210> 56
<211> 428
<212> PRT
<213> Homo Sapien
<400> 56
Met Ile Thr Gly Val Phe Ser Met Arg Leu Trp Thr Pro Val Gly
 1                    5                    10                    15
Val Leu Thr Ser Leu Ala Tyr Cys Leu His Gln Arg Arg Val Ala
                20                    25                    30
Leu Ala Glu Leu Gln Glu Ala Asp Gly Gln Cys Pro Val Asp Arg
                35                    40                    45
Ser Leu Leu Lys Leu Lys Met Val Gln Val Val Phe Arg His Gly
                50                    55                    60
Ala Arg Ser Pro Leu Lys Pro Leu Pro Leu Glu Glu Gln Val Glu
                65                    70                    75
Trp Asn Pro Gln Leu Leu Glu Val Pro Pro Gln Thr Gln Phe Asp
                80                    85                    90
Tyr Thr Val Thr Asn Leu Ala Gly Gly Pro Lys Pro Tyr Ser Pro
                95                    100                   105
Tyr Asp Ser Gln Tyr His Glu Thr Thr Leu Lys Gly Gly Met Phe
                110                   115                   120
Ala Gly Gln Leu Thr Lys Val Gly Met Gln Gln Met Phe Ala Leu
                125                   130                   135
Gly Glu Arg Leu Arg Lys Asn Tyr Val Glu Asp Ile Pro Phe Leu
                140                   145                   150
Ser Pro Thr Phe Asn Pro Gln Glu Val Phe Ile Arg Ser Thr Asn
                155                   160                   165
Ile Phe Arg Asn Leu Glu Ser Thr Arg Cys Leu Leu Ala Gly Leu
                170                   175                   180
Phe Gln Cys Gln Lys Glu Gly Pro Ile Ile Ile His Thr Asp Glu
                185                   190                   195
Ala Asp Ser Glu Val Leu Tyr Pro Asn Tyr Gln Ser Cys Trp Ser
                200                   205                   210
Leu Arg Gln Arg Thr Arg Gly Arg Arg Gln Thr Ala Ser Leu Gln
                215                   220                   225
Pro Gly Ile Ser Glu Asp Leu Lys Lys Val Lys Asp Arg Met Gly
                230                   235                   240
Ile Asp Ser Ser Asp Lys Val Asp Phe Phe Ile Leu Leu Asp Asn
                245                   250                   255
Val Ala Ala Glu Gln Ala His Asn Leu Pro Ser Cys Pro Met Leu
                260                   265                   270
Lys Arg Phe Ala Arg Met Ile Glu Gln Arg Ala Val Asp Thr Ser
                275                   280                   285
Leu Tyr Ile Leu Pro Lys Glu Asp Arg Glu Ser Leu Gln Met Ala
                290                   295                   300
Val Gly Pro Phe Leu His Ile Leu Glu Ser Asn Leu Leu Lys Ala
                305                   310                   315
Met Asp Ser Ala Thr Ala Pro Asp Lys Ile Arg Lys Leu Tyr Leu
                320                   325                   330
Tyr Ala Ala His Asp Val Thr Phe Ile Pro Leu Leu Met Thr Leu
                335                   340                   345

```

Gly Ile Phe Asp His Lys Trp Pro Pro Phe Ala Val Asp Leu Thr
 350 355 360
 Met Glu Leu Tyr Gln His Leu Glu Ser Lys Glu Trp Phe Val Gln
 365 370 375
 Leu Tyr Tyr His Gly Lys Glu Gln Val Pro Arg Gly Cys Pro Asp
 380 385 390
 Gly Leu Cys Pro Leu Asp Met Phe Leu Asn Ala Met Ser Val Tyr
 395 400 405
 Thr Leu Ser Pro Glu Lys Tyr His Ala Leu Cys Ser Gln Thr Gln
 410 415 420
 Val Met Glu Val Gly Asn Glu Glu
 425 428

<210> 57

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 57

ccaactacca aagctgctgg agcc 24

<210> 58

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 58

gcagctctat taccacggga agga 24

<210> 59

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 59

tccttcccgt ggtaatagag ctgc 24

<210> 60

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 60

ggcagagaac cagaggccgg aggagactgc ctctttacag ccagg 45

<210> 61

<211> 2477

<212> DNA

<213> Homo Sapien

<400> 61

cgagggcttt tccggctccg gaatggcaca tgtgggaatc ccagtcttgt 50

tggctacaac atttttccct ttcctaaca gttctaacag ctggttctaac 100

agctagtgat caggggttct tcttgctgga gaagaaaggg ctgagggcag 150

agcagggcac tctcactcag ggtgaccagc tccttgcctc tctgtggata 200
 acagagcatg agaaagtgaa gagatgcagc ggagtgaggt gatggaagtc 250
 taaaatagga aggaattttg tgtgcaatat cagactctgg gagcagttga 300
 cctggagagc ctgggggaggg gcctgcctaa caagctttca aaaaacagga 350
 gcgacttcca ctgggctggg ataagacgtg ccggtaggat agggaagact 400
 gggtttagtc ctaatatcaa attgactggc tgggtgaact tcaacagcct 450
 tttaacctct ctgggagatg aaaacgatgg cttaaggggc cagaaataga 500
 gatgctttgt aaaataaaaat tttaaaaaaa gcaagtattt tatagcataa 550
 aggctagaga ccaaaaataga taacaggatt ccctgaacat tcctaagagg 600
 gagaaagtat gttaaaaata gaaaaaccaa aatgcagaag gaggagactc 650
 acagagctaa accaggatgg ggaccctggg tcaggccagc ctctttgctc 700
 ctccccgaaa ttatttttgg tctgaccact ctgccttgtg ttttgcagaa 750
 tcatgtgagg gccaacccggg gaaggtggag cagatgagca cacacaggag 800
 ccgtctcctc accgcccggc ctctcagcat ggaacagagg cagccctggc 850
 cccgggcccct ggaggtggac agccgctctg tggctctgct ctcagtggtc 900
 tgggtgctgc tggcccccc agcagccggc atgcctcagt tcagcacctt 950
 ccactctgag aatcgtgact ggaccttcaa ccacttgacc gtccaccaag 1000
 ggacgggggc cgtctatgtg ggggccatca accgggtcta taagctgaca 1050
 ggcaacctga ccattccagg ggctcataag acagggccag aagaggacaa 1100
 caagtctcgt taccgcccc tcattcgtgca gcctgcagc gaagtgtctca 1150
 ccctcaccaa caatgtcaac aagctgtctca tcattgacta ctctgagaac 1200
 cgctgctgag cctgtgggag cctctaccag ggggtctgca agctgctgag 1250
 gctggatgac ctcttcatcc tgggtggagcc atcccacaag aaggagcact 1300
 acctgtccag tgtcaacaag acgggcacca tgtacggggg gattgtgctc 1350
 tctgaggggt aggatggcaa gctcttcatc ggacgggctg tggatgggaa 1400
 gcaggattac tccccagccc tgtccagccg gaagctgccc cgagaccctg 1450
 agtctcagc catgctcgac tatgagctac acagcgattt tgtctcctct 1500
 ctcatcaaga tcccttcaga caccctggcc ctgggtctccc actttgacat 1550
 cttctacatc tacggctttg ctagtggggg ctttgtctac tttctcactg 1600
 tccagcccga gacccttgag ggtgtggcca tcaactccgc tggagacctc 1650
 ttctacacct cacgcatcgt gggctctctg aaggatgacc ccaagttcca 1700
 ctcatcagtg tccctgcctt tcggctgcac ccgggcccgg gtggaatacc 1750
 gcctctgca ggctgcttac ctggccaagc ctggggactc actggcccag 1800
 gccttcaata tcaccagcca ggacgatgta ctctttgcca tcttctccaa 1850
 agggcagaag cagtatcacc acccgcccga tgactctgcc ctgtgtgcct 1900
 tccctatccg ggccatcaac ttgcagatca aggagcgcct gcagtctctc 1950
 taccagggcg agggcaacct ggagctcaac tggctgctgg ggaaggacgt 2000
 ccagtgcagc aaggcgcctg tccccatoga tgataacttc tgtggactgg 2050
 acatcaacca gcccctggga ggctcaactc cagtggaggg cctgaccctg 2100
 tacaccacca gcagggaccg catgacctct gtggcctcct acgtttacaa 2150
 cggctacagc gtggtttttg tggggactaa gagtggcaag ctgaaaaagg 2200
 taagagtcta tgagttcaga tgctccaatg ccattcacct cctcagcaaa 2250
 gagtccctct tggaaagttag ctattgggtg agatttaact ataggcaact 2300
 ttattttctt ggggaacaaa ggtgaaatgg ggaggtaaga aggggttaat 2350
 tttgtgactt agcttctagc tacttcctcc agccatcagt cattgggtat 2400
 gtaaggaatg caagcgtatt tcaatatatt ccaaaactta agaaaaaact 2450
 ttaagaaggt acatctgcaa aagcaaa 2477

<210> 62

<211> 552

<212> PRT

<213> Homo Sapien

<400> 62

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

Ala Ile Phe Ser Lys Gly Gln Lys Gln Tyr His His Pro Pro Asp
 395 400 405
 Asp Ser Ala Leu Cys Ala Phe Pro Ile Arg Ala Ile Asn Leu Gln
 410 415 420
 Ile Lys Glu Arg Leu Gln Ser Cys Tyr Gln Gly Glu Gly Asn Leu
 425 430 435
 Glu Leu Asn Trp Leu Leu Gly Lys Asp Val Gln Cys Thr Lys Ala
 440 445 450
 Pro Val Pro Ile Asp Asp Asn Phe Cys Gly Leu Asp Ile Asn Gln
 455 460 465
 Pro Leu Gly Gly Ser Thr Pro Val Glu Gly Leu Thr Leu Tyr Thr
 470 475 480
 Thr Ser Arg Asp Arg Met Thr Ser Val Ala Ser Tyr Val Tyr Asn
 485 490 495
 Gly Tyr Ser Val Val Phe Val Gly Thr Lys Ser Gly Lys Leu Lys
 500 505 510
 Lys Val Arg Val Tyr Glu Phe Arg Cys Ser Asn Ala Ile His Leu
 515 520 525
 Leu Ser Lys Glu Ser Leu Leu Glu Gly Ser Tyr Trp Trp Arg Phe
 530 535 540
 Asn Tyr Arg Gln Leu Tyr Phe Leu Gly Glu Gln Arg
 545 550 552

<210> 63

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 63

tggaataaccg cctcctgcag 20

<210> 64

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 64

cttctgccct ttggagaaga tggc 24

<210> 65

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 65

ggactcactg gccaggcct tcaatatacac cagccaggac gat 43

<210> 66

<211> 1295

<212> DNA

<213> Homo Sapien

<400> 66

cccagaagtt caagggccc cggcctcctg cgctcctgcc gccgggaccc 50

tcgacctcct cagagcagcc ggctgccgcc ccgggaagat ggcgaggagg 100
agccgccacc gcctcctcct gctgctgctg cgctacctgg tggtcgccct 150
gggctatcat aaggcctatg ggttttctgc cccaaaagac caacaagtag 200
tcacagcagt agagtaccaa gaggctatth tagcctgcaa aaccccaaag 250
aagactgttt cctccagatt agagtggaag aaactgggtc ggagtgtctc 300
ctttgtctac tatcaacaga ctcttcaagg tgattttaaa aatcgagctg 350
agatgataga tttcaatata cggatcaaaa atgtgacaag aagtgatgag 400
gggaaatata gttgtgaagt tagtgcccca tctgagcaag gccaaaacct 450
ggaagaggat acagtcactc tgggaagtatt agtggctcca gcagttccat 500
catgtgaagt accctcttct gctctgagtg gaactgtggt agagctacga 550
tgtcaagaca aagaaggaa tccagctcct gaatacacat ggtttaagga 600
tggcatccgt ttgctagaaa atcccagact tggctcccaa agcaccaaca 650
gctcatacac aatgaataca aaaactggaa ctctgcaatt taatactgtt 700
tccaaactgg aactgggaga atattcctgt gaagcccga attctgttgg 750
atatcgagg tgcctggga aacgaatgca agtagatgat ctcaacataa 800
gtggcatcat agcagccgta gtagttgtgg ccttagtgat ttccgtttgt 850
ggccttggtg tatgctatgc tcagaggaaa ggctactttt caaaagaaac 900
ctccttccag aagagtaatt cttcatctaa agccacgaca atgagtgaaa 950
atgtgcagtg gctcacgcct gtaatcccag cactttggaa ggccgcggcg 1000
ggcggatcac gaggtcagga gttctagacc agtctggcca atatggtgaa 1050
acccatctc tactaaaata caaaaattag ctgggcatgg tggcatgtgc 1100
ctgcagttcc agctgcttgg gagacaggag aatcacttga acccgggagg 1150
cggaggttgc agtgagctga gatcacgcca ctgcagtcca gcctgggtaa 1200
cagagcaaga ttccatctca aaaaataaaa taaataaata aataaatact 1250
ggtttttacc tgtagaattc ttacaataaaa tatagcttga tattc 1295

<210> 67

<211> 312

<212> PRT

<213> Homo Sapien

<400> 67

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

Tyr Thr Trp Phe Lys Asp Gly Ile Arg Leu Leu Glu Asn Pro Arg
 170 175 180
 Leu Gly Ser Gln Ser Thr Asn Ser Ser Tyr Thr Met Asn Thr Lys
 185 190 195
 Thr Gly Thr Leu Gln Phe Asn Thr Val Ser Lys Leu Asp Thr Gly
 200 205 210
 Glu Tyr Ser Cys Glu Ala Arg Asn Ser Val Gly Tyr Arg Arg Cys
 215 220 225
 Pro Gly Lys Arg Met Gln Val Asp Asp Leu Asn Ile Ser Gly Ile
 230 235 240
 Ile Ala Ala Val Val Val Val Ala Leu Val Ile Ser Val Cys Gly
 245 250 255
 Leu Gly Val Cys Tyr Ala Gln Arg Lys Gly Tyr Phe Ser Lys Glu
 260 265 270
 Thr Ser Phe Gln Lys Ser Asn Ser Ser Ser Lys Ala Thr Thr Met
 275 280 285
 Ser Glu Asn Val Gln Trp Leu Thr Pro Val Ile Pro Ala Leu Trp
 290 295 300
 Lys Ala Ala Ala Gly Gly Ser Arg Gly Gln Glu Phe
 305 310 312

<210> 68

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 68

atcgttgatga agttagtgcc cc 22

<210> 69

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 69

acctgcgata tccaacagaa ttg 23

<210> 70

<211> 48

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 70

ggaagaggat acagtcactc tggaagtatt agtggctcca gcagttcc 48

<210> 71

<211> 1266

<212> DNA

<213> Homo Sapien

<400> 71

gctggggaca tgagaggcac accgaagacc cacctcctgg ccttctccct 50
 cctctgcctc ctctcaaagg tgcgtacca gctgtgcccg acaccatgta 100
 cctgcccctg gccacctccc cgatgccgc tgggagtacc cctggtgctg 150

gatggctgtg gctgctgccg ggtatgtgca cggcggtgg gggagccctg 200
 cgaccaactc cacgtctgcg acgccagcca gggcctggtc tgccagcccg 250
 gggcaggacc cgttgccgg ggggccctgt gcctcttggc agaggacgac 300
 agcagctgtg aggtgaacgg ccgcctgtat cgggaagggg agaccttcca 350
 gccccactgc agcatccgct gccgctgcca ggacggcggc ttcacctgcg 400
 tgccgctgtg cagcgaggat gtgcggtgc ccagctggga ctgccccac 450
 cccaggaggg tcgaggtcct gggcaagtgc tgccctgagt ggggtgtgagg 500
 ccaaggaggg ggactgggga cccagcccct tccagcccaa ggaccccagt 550
 tttctggcct tgtctcttcc ctgccccctg gtgtcccctg cccagaatgg 600
 agcacggcct ggggaccctg ctcgaccacc tgtgggctgg gcatggccac 650
 ccgggtgtcc aaccagaacc gcttctgccc actggagacc cagcgccgcc 700
 tgtgcctgtc caggccctgc ccaccctcca ggggtgcgag tccacaaaac 750
 agtgccttct agagccgggc tgggaatggg gacacggtgt ccaccatccc 800
 cagctggtgg cctgtgcct gggcccctgg ctgatggaag atggtccgtg 850
 cccaggccct tggctgcagg caacacttta gcttgggtcc accatgcaga 900
 acaccaatat taacacgctg cctggtctgt ctggatcccg aggtatggca 950
 gaggtgcaag acctagtccc ctttctctta actcaactgc taggaggctg 1000
 gccaaagtgt ccagggtcct ctagcccact ccctgcctac acacacagcc 1050
 tatatcaaac atgcacacgg gcgagctttc tctccgactt cccctgggca 1100
 agagatggga caagcagtcc cttaatattg aggtgcagc aggtgctggg 1150
 ctggactggc catttttctg ggggtaggat gaagagaagg cacacagaga 1200
 ttctggatct cctgctgcct tttctggagt ttgtaaaatt gttcctgaat 1250
 acaagcctat gcgtga 1266

<210> 72

<211> 250

<212> PRT

<213> Homo Sapien

<400> 72

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

Phe Ser Gly Leu Val Ser Ser Leu Pro Pro Gly Val Pro Cys Pro
 185 190 195
 Glu Trp Ser Thr Ala Trp Gly Pro Cys Ser Thr Thr Cys Gly Leu
 200 205 210
 Gly Met Ala Thr Arg Val Ser Asn Gln Asn Arg Phe Cys Arg Leu
 215 220 225
 Glu Thr Gln Arg Arg Leu Cys Leu Ser Arg Pro Cys Pro Pro Ser
 230 235 240
 Arg Gly Arg Ser Pro Gln Asn Ser Ala Phe
 245 250

<210> 73

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 73

aaagtgctg acccagctgt gcc 23

<210> 74

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 74

tccagtcggc agaagcgggtt ctgg 24

<210> 75

<211> 51

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 75

cctggtgctg gatggctgtg gctgctgccc ggtatgtgca cggcggctgg 50
 g 51

<210> 76

<211> 2226

<212> DNA

<213> Homo Sapien

<400> 76

agtcgactgc gtcccctgta cccggcgcca gctgtgttcc tgaccccaga 50
 ataactcagg gctgcaccgg gcctggcagc gctccgcaca catttctgt 100
 cgcgccctaa gggaaactgt tggccgctgg gcccgcgggg ggattcttgg 150
 cagttggggg gtccgtcggg agcgagggcg gaggggaagg gagggggaac 200
 cgggttgggg aagccagctg tagagggcgg tgaccgcgct ccagacacag 250
 ctctgcgtcc tcgagcggga cagatccaag ttgggagcag ctctgcgtgc 300
 ggggcctcag agaatgaggc cggcgttcgc cctgtgcctc ctctggcagg 350
 cgctctggcc cgggcccggg ggcggcgaac accccactgc cgaccgtgct 400
 ggctgctcgg cctcgggggg ctgctacagc ctgcaccacg ctaccatgaa 450
 gcggcaggcg gccgaggagg cctgcatacct gcgaggtggg gcgctcagca 500
 ccgtgcgtgc gggcgccgag ctgcgcgctg tgctcgcgct cctgcgggca 550
 ggcccagggc ccggaggggg ctccaaagac ctgctgttct gggtcgcact 600

ggagcgcagg cgttcccact gcaccctgga gaacgagcct ttgcgggggtt 650
 tctcctggct gtccctccgac cccggcggtc tcgaaagcga cacgctgcag 700
 tgggtggagg agccccaacg ctctgcacc gcgcggagat gcgcgggtact 750
 ccaggccacc ggtgggggtcg agcccgcagg ctggaaggag atgcgatgcc 800
 acctgcgcgc caacggctac ctgtgcaagt accagtttga ggtcttgtgt 850
 cctgcgccgc gccccggggc cgcctctaac ttgagctatc gcgcgccctt 900
 ccagctgcac agcgcgcgctc tggacttcag tccacctggg accgaggtga 950
 gtgcgctctg ccggggacag ctcccgatct cagttacttg catcgcggac 1000
 gaaatcggcg ctgcgtggga caaactctcg ggcgatgtgt tgtgtccctg 1050
 ccccgggagg tacctccgtg ctggcaaatg cgcagagctc cctaactgcc 1100
 tagacgactt gggaggcttt gcctgcgaat gtgctacggg cttcgagctg 1150
 ggggaaggac gccgctcttg tgtgaccagt ggggaaggac agccgaccct 1200
 tggggggacc ggggtgccca ccaggcgcgc gccggccact gcaaccagcc 1250
 ccgtgccgca gagaacatgg ccaatcaggg tcgacgagaa gctgggagag 1300
 acaccacttg tccctgaaca agacaattca gtaacatcta ttcctgagat 1350
 tcctcgatgg ggatcacaga gcacgatgtc tacccttcaa atgtcccttc 1400
 aagccgagtc aaaggccact atcaccccat cagggagcgt gatttccaag 1450
 ttaattcta cgacttcctc tgccactcct caggctttcg actcctcctc 1500
 tgccgtggtc ttcataattg tgagcacagc agtagtagtg ttggtgatct 1550
 tgaccatgac agtactgggg cttgtcaagc tctgctttca cgaaagcccc 1600
 tcttcccagc caaggaagga gtctatgggc ccgcggggcc tggagagtga 1650
 tcctgagccc gctgctttgg gctccagttc tgcacattgc acaaacaatg 1700
 gggtgaaagt cggggactgt gatctgcggg acagagcaga ggggtgccttg 1750
 ctggcggagt cccctcttgg ctctagtgat gcatagggaa acaggggaca 1800
 tgggactcc tgtgaacagt ttttcacttt tgatgaaacg gggaaaccaag 1850
 aggaacttac ttgtgtaact gacaatttct gcagaaatcc cccttcctct 1900
 aaattccctt tactccactg aggagctaaa tcagaactgc aactccttc 1950
 cctgatgata gaggaagtgg aagtgccttt aggatggtga tactggggga 2000
 ccgggtagtg ctggggagag atattttctt atgtttattc ggagaatttg 2050
 gagaagtgat tgaacttttc aagacattgg aaacaaatag aacacaatat 2100
 aatttacatt aaaaaataat ttctaccaa atggaaagga aatgttctat 2150
 gttgttcagg ctaggagtat attggttcga aatcccaggg aaaaaataa 2200
 aaataaaaaa ttaaaggatt gttgat 2226

<210> 77

<211> 490

<212> PRT

<213> Homo Sapien

<400> 77

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

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

<210> 78
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 78
 tggaaggaga tgcgatgcca cctg 24
 <210> 79
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 79
 tgaccagtgg ggaaggacag 20
 <210> 80
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 80
 acagagcaga ggtgccttg 20
 <210> 81
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 81
 tcagggaaa gtggtgtctc tccc 24
 <210> 82
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 82
 tcagggaagg agtgtgcagt tctg 24
 <210> 83
 <211> 50
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 83
 acagctcccg atctcagtta cttgcatcgc ggacgaaatc ggcgctcgct 50
 <210> 84
 <211> 2026
 <212> DNA
 <213> Homo Sapien

<400> 84

```

cggacgcgtg ggattcagca gtggcctgtg gctgccagag cagctcctca 50
ggggaaacta agcgtcgagt cagacggcac cataatcgcc tttaaaagtg 100
cctccgccct gccggccgcg tatcccccg ctaactgggc cgccccgagg 150
cggtgccgcg gtgagagggg ggcgcggggc agccgagcgc cgggtgtgagc 200
cagcgtctgt gccagtgtga gcggcgggtg gaggcgggtg ggtgaggagg 250
ggcgtgtgtg ccggcgcgcg cgcctggggg tgcaaaccac gagcgtctac 300
gctgccatga ggggcgcgaa cgcctggggc ccaactctgc tgctgctggc 350
tgccgccacc cagctctcgc ggcagcagtc cccagagaga cctgttttca 400
catgtggtgg cattcttact ggagagtctg gatttattgg cagtgaaggt 450
tttctgggag tgtaccctcc aatagcaaa tgtacttgga aatcacagt 500
tcccgaagga aaagtagtgc ttctcaattt ccgattcata gacctcgaga 550
gtgacaacct gtgccgctat gactttgtgg atgtgtacaa tggccatgcc 600
aatggccagc gaattggccg cttctgtggc actttccggc ctggagccct 650
tgtgtccagt ggcaacaaga tgatggtgca gatgatttct gatgccaaca 700
cagctggcaa tggcttcatg gccatgttct ccgctgctga accaaacgaa 750
agaggggatc agtattgtgg aggactcctt gacagacctt ccggctcttt 800
taaaaccccc aactggccag accgggatta ccctgcagga gtcacttgtg 850
tgtggcacat tgtagcccca aagaatcagc ttatagaatt aaagtttgag 900
aagtttgatg tggagcgaga taactactgc cgatatgatt atgtggctgt 950
gtttaatggc ggggaagtca acgatgctag aagaattgga aagtattgtg 1000
gtgatagtcc acctgcgcca attgtgtctg agagaaatga acttcttatt 1050
cagtttttat cagacttaag tttactgca gatgggttta ttggtcacta 1100
catattcagg ccaaaaaaac tgcctacaac tacagaacag cctgtcacca 1150
ccacattccc tgtaaccacg ggtttaaaac ccaccgtggc cttgtgtcaa 1200
caaaagtgta gacggacggg gactctggag ggcaattatt gttcaagtga 1250
ctttgtatta gccggcactg ttatcacaac catcactcgc gatgggagtt 1300
tgcacgccac agtctcgatc atcaacatct acaaagaggg aaatttggcg 1350
attcagcagc cgggcaagaa catgagtgcc aggctgactg tcgtctgcaa 1400
gcagtgccct ctctcagaa gaggtctaaa ttacattatt atgggccaag 1450
taggtgaaga tgggcgaggc aaaatcatgc caaacagctt tatcatgatg 1500
ttcaagacca agaatcagaa gctcctggat gccttaaaaa ataagcaatg 1550
ttaacagtga actgtgtcca tttaaagctgt attctgcat tgcctttgaa 1600
agatctatgt tctctcagta gaaaaaaaaa tacttataaa attacatatt 1650
ctgaaagagg attccgaaag atgggactgg ttgactcttc acatgatgga 1700
ggatgagggc ctccgagata gctgagggaa gttctttgcc tgctgtcaga 1750
ggagcagcta tctgattgga aacctgccga cttagtgcgg tgataggaag 1800
ctaaaagtgt caagcgttga cagcttgga gcgtttattt atacatctct 1850
gtaaaaggat attttagaat tgagttgtgt gaagatgtca aaaaaagatt 1900
ttagaagtgc aatatttata gtgttatttg tttcaccttc aagcctttgc 1950
cctgaggtgt tacaatcttg tcttgcgttt tctaaatcaa tgcttaataa 2000
aatattttta aaggaaaaaa aaaaaa 2026

```

<210> 85

<211> 415

<212> PRT

<213> Homo Sapien

<400> 85

```

Met Arg Gly Ala Asn Ala Trp Ala Pro Leu Cys Leu Leu Leu Ala
 1           5           10           15
Ala Ala Thr Gln Leu Ser Arg Gln Gln Ser Pro Glu Arg Pro Val
           20           25           30
Phe Thr Cys Gly Gly Ile Leu Thr Gly Glu Ser Gly Phe Ile Gly

```

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

<210> 86

<211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 86
 ccgattcata gacctcgaga gt 22
 <210> 87
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 87
 gtcaaggagt cctccacaat ac 22
 <210> 88
 <211> 45
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 88
 gtgtacaatg gccatgcaa tggccagcgc attggccgct tctgt 45
 <210> 89
 <211> 1857
 <212> DNA
 <213> Homo Sapien
 <400> 89
 gtctgttccc aggagtcctt cggcggtctgt tgtgtcagtg gcctgatcgc 50
 gatggggaca aagggcgaag tcgagaggaa actgttgtgc ctcttcatat 100
 tggcgatcct gtgtgtctcc ctggcattgg gcagtgttac agtgcactct 150
 tctgaacctg aagtcagaat tcctgagaat aatcctgtga agttgtcctg 200
 tgccactcgc ggcttttctt ctccccgtgt ggagtggaag tttgaccaag 250
 gagacaccac cagactcgtt tgctataata acaagatcac agcttcctat 300
 gaggaccggg tgaccttctt gccaaactggt atcaccttca agtccgtgac 350
 acgggaagac actgggacat aacttgtat ggtctctgag gaaggcggca 400
 acagctatgg ggaggtaaac gtcaagctca tcgtgcttgt gcctccatcc 450
 aagcctacag ttaacatccc ctccctctgcc accattggga accgggcagt 500
 gctgacatgc tcagaacaag atggttcccc accttctgaa tacacctggt 550
 tcaaagatgg gatagtgat cctacgaatc caaaagcac ccgtgccttc 600
 agcaactctt cctatgtcct gaatcccaca acaggagagc tggctcttga 650
 tcccctgtca gcctctgata ctggagaata cagctgtgag gcacggaatg 700
 ggtatgggac acccatgact tcaaagtctg tgcgcatgga agctgtggag 750
 cggaatgtgg ggtcatcgt ggcagccgtc cttgtaacct tgattctcct 800
 gggaatcttg gtttttggca tctggtttgc ctatagccga ggccactttg 850
 acagaacaaa gaaagggact tcgagtaaga aggtgattta cagccagcct 900
 agtgcccga gtaaggaga attcaaacag acctcgtcat tcctgggtgtg 950
 agcctggctg gctcaccgcc tatcatctgc atttgcctta ctcaggtgct 1000
 accggactct ggcccctgat gtctgtagtt tcacaggatg ccttatttgt 1050
 cttctacacc ccacagggcc ccctacttct tcggatgtgt ttttaataat 1100
 gtcagctatg tgccccatcc tccttcatgc cctccctccc tttcctacca 1150
 ctgctgagtg gcctggaact tgtttaaagt gtttattccc catttctttg 1200

agggatcagg aaggaatcct gggatgcca ttgacttccc ttctaagtag 1250
 acagcaaaaa tggcgggggt cgcaggaatc tgcactcaac tgcccacctg 1300
 gctggcaggg atctttgaat aggtatcttg agcttgggtc tgggctcttt 1350
 ccttgtgtac tgacgaccag ggccagctgt tctagagcgg gaattagagg 1400
 ctagagcggc tgaaatgggt gtttgggtgat gacactgggg tccttccatc 1450
 tctggggccc actctcttct gtcttcccat gggagtgcc actgggatcc 1500
 ctctgccctg tcctcctgaa tacaagctga ctgacattga ctgtgtctgt 1550
 ggaaaatggg agctcttggt gtggagagca tagtaaattt tcagagaact 1600
 tgaagccaaa aggatttaaa accgctgctc taaagaaaag aaaactggag 1650
 gctgggcgca gtggctcacg cctgtaatcc cagaggctga ggcaggcgga 1700
 tcacctgagg tcgggagttc gggatcagcc tgaccaacat ggagaaaccc 1750
 tactggaaat acaaagttag ccaggcatgg tgggtcatgc ctgtagtccc 1800
 agctgctcag gagcctggca acaagagcaa aactccagct caaaaaaaaa 1850
 aaaaaa 1857

<210> 90

<211> 299

<212> PRT

<213> Homo Sapien

<400> 90

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

	245		250		255
Gly Ile Trp Phe	Ala Tyr Ser Arg Gly	His Phe Asp Arg Thr	Lys		
	260		265		270
Lys Gly Thr Ser	Ser Lys Lys Val Ile Tyr Ser	Gln Pro Ser Ala			
	275		280		285
Arg Ser Glu Gly	Glu Phe Lys Gln Thr Ser Ser	Phe Leu Val			
	290		295		299

<210> 91
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 91
 tcgcgagct gtgttctggt tccc 24

<210> 92
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 92
 acacctggtt caaagatggg 20

<210> 93
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 93
 ttgccttact cagtgctac 20

<210> 94
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 94
 taggaagagt tgctgaaggc acgg 24

<210> 95
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 95
 actcagcagt ggtaggaaag 20

<210> 96
 <211> 50
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 96

tgatcgcat ggggacaaag gcgcaagctc gagaggaaac tgttgtgcct 50

<210> 97

<211> 1520

<212> DNA

<213> Homo Sapien

<400> 97

gctgagtctg ctgctcctgc tgctgctgct ccagcctgta acctgtgcct 50
 acaccacgcc agggcccccc agagccctca ccacgctggg cgccccaga 100
 gccacacca tgccggggcac ctacgctccc tcgaccacac tcagtagtcc 150
 cagcaccagc ggcctgcaag agcaggcacg ggccctgatg cgggacttcc 200
 cgctcgtgga cggccacaac gacctgcccc tggtcctaag gcaggtttac 250
 cagaaagggc tacaggatgt taacctgcgc aatttcagct acggccagac 300
 cagcctggac aggcttagag atggcctcgt gggcgcccag ttctggtcag 350
 cctatgtgcc atgccagacc caggaccggg atgcccctgc cctcaccctg 400
 gagcagattg acctcatacg ccgcatgtgt gcctcctatt ctgagctgga 450
 gcttgtgacc tcggctaaaag ctctgaacga cactcagaaa ttggcctgcc 500
 tcatcgggtg agagggtggc cactcgtctg acaatagcct ctccatctta 550
 cgtaccttct acatgctggg agtgcgctac ctgacgctca cccacacctg 600
 caacacaccc tgggcagaga gctccgctaa gggcgtccac tccttctaca 650
 acaacatcag cgggctgact gactttggtg agaagggtggg ggcagaaatg 700
 aaccgcctgg gcatgatggg agacttatcc catgtctcag atgctgtggc 750
 acggcgggcc ctggaagtgt cacaggcacc tgtgatcttc tcccactcgg 800
 ctgcccgggg tgtgtgcaac agtgctcgga atgttctctga tgacatcctg 850
 cagcttctga agaagaacgg tggcgtctgt atgggtgtctt tgtccatggg 900
 agtaatacag tgcaaccat cagccaatgt gtccactgtg gcagatcact 950
 tcgaccacat caaggctgtc attggatcca agttcatcgg gattgggtgga 1000
 gattatgatg gggccggcaa attccctcag gggctggaag acgtgtccac 1050
 ataccggtc ctgatagagg agttgctgag tcgtggctgg agtgaggaag 1100
 agcttcaggg tgtccttcgt ggaaacctgc tgcgggtctt cagacaagtg 1150
 gaaaaggtac aggaagaaaa caaatggcaa agccccttgg aggacaagtt 1200
 cccggatgag cagctgagca gttcctgcca ctccgacctc tcacgtctgc 1250
 gtcagagaca gagtctgact tcaggccagg aactcactga gattcccata 1300
 cactggacag ccaagttacc agccaagtgg tcagtctcag agtcctcccc 1350
 ccacatggcc ccagtccttg cagttgtggc caccttccca gtccttattc 1400
 tgtggctctg atgaccagc tagtctgcc agatgtcact gtagcaagcc 1450
 acagacaccc cacaaagtgc ccctgtgtg caggcacaaa tatttctctga 1500
 aataaatggt ttggacatag 1520

<210> 98

<211> 433

<212> PRT

<213> Homo Sapien

<400> 98

Met Pro Gly Thr Tyr Ala Pro Ser Thr Thr Leu Ser Ser Pro Ser
 1 5 10 15
 Thr Gln Gly Leu Gln Glu Gln Ala Arg Ala Leu Met Arg Asp Phe
 20 25 30
 Pro Leu Val Asp Gly His Asn Asp Leu Pro Leu Val Leu Arg Gln
 35 40 45
 Val Tyr Gln Lys Gly Leu Gln Asp Val Asn Leu Arg Asn Phe Ser
 50 55 60

Tyr Gly Gln Thr Ser Leu Asp Arg Leu Arg Asp Gly Leu Val Gly
 65 70 75
 Ala Gln Phe Trp Ser Ala Tyr Val Pro Cys Gln Thr Gln Asp Arg
 80 85 90
 Asp Ala Leu Arg Leu Thr Leu Glu Gln Ile Asp Leu Ile Arg Arg
 95 100 105
 Met Cys Ala Ser Tyr Ser Glu Leu Glu Leu Val Thr Ser Ala Lys
 110 115 120
 Ala Leu Asn Asp Thr Gln Lys Leu Ala Cys Leu Ile Gly Val Glu
 125 130 135
 Gly Gly His Ser Leu Asp Asn Ser Leu Ser Ile Leu Arg Thr Phe
 140 145 150
 Tyr Met Leu Gly Val Arg Tyr Leu Thr Leu Thr His Thr Cys Asn
 155 160 165
 Thr Pro Trp Ala Glu Ser Ser Ala Lys Gly Val His Ser Phe Tyr
 170 175 180
 Asn Asn Ile Ser Gly Leu Thr Asp Phe Gly Glu Lys Val Val Ala
 185 190 195
 Glu Met Asn Arg Leu Gly Met Met Val Asp Leu Ser His Val Ser
 200 205 210
 Asp Ala Val Ala Arg Arg Ala Leu Glu Val Ser Gln Ala Pro Val
 215 220 225
 Ile Phe Ser His Ser Ala Ala Arg Gly Val Cys Asn Ser Ala Arg
 230 235 240
 Asn Val Pro Asp Asp Ile Leu Gln Leu Leu Lys Lys Asn Gly Gly
 245 250 255
 Val Val Met Val Ser Leu Ser Met Gly Val Ile Gln Cys Asn Pro
 260 265 270
 Ser Ala Asn Val Ser Thr Val Ala Asp His Phe Asp His Ile Lys
 275 280 285
 Ala Val Ile Gly Ser Lys Phe Ile Gly Ile Gly Gly Asp Tyr Asp
 290 295 300
 Gly Ala Gly Lys Phe Pro Gln Gly Leu Glu Asp Val Ser Thr Tyr
 305 310 315
 Pro Val Leu Ile Glu Glu Leu Leu Ser Arg Gly Trp Ser Glu Glu
 320 325 330
 Glu Leu Gln Gly Val Leu Arg Gly Asn Leu Leu Arg Val Phe Arg
 335 340 345
 Gln Val Glu Lys Val Gln Glu Glu Asn Lys Trp Gln Ser Pro Leu
 350 355 360
 Glu Asp Lys Phe Pro Asp Glu Gln Leu Ser Ser Ser Cys His Ser
 365 370 375
 Asp Leu Ser Arg Leu Arg Gln Arg Gln Ser Leu Thr Ser Gly Gln
 380 385 390
 Glu Leu Thr Glu Ile Pro Ile His Trp Thr Ala Lys Leu Pro Ala
 395 400 405
 Lys Trp Ser Val Ser Glu Ser Ser Pro His Met Ala Pro Val Leu
 410 415 420
 Ala Val Val Ala Thr Phe Pro Val Leu Ile Leu Trp Leu
 425 430 433

<210> 99

<211> 22

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 99
 agttctggtc agcctatgtg cc 22
 <210> 100
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 100
 cgtgatggtg tctttgtcca tggg 24
 <210> 101
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 101
 ctccaccaat cccgatgaac ttgg 24
 <210> 102
 <211> 50
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 102
 gagcagattg acctcatacg ccgcatgtgt gcctcctatt ctgagctgga 50
 <210> 103
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 103
 tgctgctgct ccagcctgta acc 23
 <210> 104
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide probe
 <400> 104
 ctggccgtag ctgaaattgc gc 22
 <210> 105
 <211> 43
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 105

actcagtagt cccagcacc c agggcctgca agagcaggca cgg 43

<210> 106

<211> 2906

<212> DNA

<213> Homo Sapien

<400> 106

```

ggggagagga attgaccatg taaaaggaga cttttttttt tgggtggtggt 50
ggctgttggg tgccttgcaa aaatgaagga tgcaggacgc agctttctcc 100
tggaaccgaa cgcaatggat aaactgattg tgcaagagag aaggaagaac 150
gaagcttttt cttgtgagcc ctggatctta acacaaatgt gtatatgtgc 200
acacagggag cattcaagaa tgaaataaac cagagttaga cccgcggggg 250
ttggtgtggt ctgacataaa taaataatct taaagcagct gttcccctcc 300
ccacccccaa aaaaaaggat gattggaaat gaagaaccga ggattcacia 350
agaaaaaagt atgttcattt ttctctataa aggagaaagt gagccaagga 400
gatatttttg gaatgaaaag tttggggctt ttttagtaaa gtaaagaact 450
ggtgtggtgg tgttttcctt tctttttgaa tttcccacia gaggagagga 500
aattaataat acatctgcaa agaaatttca gagaagaaaa gttgaccgcg 550
gcagattgag gcattgattg ggggagagaa accagcagag cacagttgga 600
tttgtgccta tgttgactaa aattgacgga taattgcagt tggatttttc 650
ttcatcaacc tccttttttt taaattttta ttctttttgg tatcaagatc 700
atgctgtttc tcttgttctt aaccacctgg atttccatct ggatgttgct 750
gtgatcagtc tgaatacaaa ctgtttgaat tccagaagga ccaacaccag 800
ataaattatg aatgttgaac aagatgacct tacatccaca gcagataatg 850
ataggtccta ggtttaacag ggccctatth gacccccctgc ttgtggtgct 900
gctggctctt caacttcttg tgggtggtggt tctggtgctgg gctcagacct 950
gcccttctgt gtgctcctgc agcaaccagt tcagcaaggt gatttgtggt 1000
cggaaaaacc tgcgtgaggt tccggatggc atctccacca acacacggct 1050
gctgaacctc catgagaacc aaatccagat catcaaagtg aacagcttca 1100
agcacttgag gcacttgcaa atcctacagt tgagttaggaa ccatatcaga 1150
accattgaaa ttggggcttt caatggtctg gcgaacctca aactctgga 1200
actctttgac aatcgtctta ctaccatccc gaatggagct tttgtatact 1250
tgtctaaact gaaggagctc tggttgcgaa acaaccccat tgaaagcatc 1300
ccttcttatg cttttaacag aattccttct ttgcgccgac tagacttagg 1350
ggaattgaaa agactttcat acatctcaga aggtgccttt gaaggtctgt 1400
ccaacttgag gtatttgaac cttgccatgt gcaaccttcg ggaaatccct 1450
aacctcacac cgctcataaaa actagatgag ctggatcttt ctgggaatca 1500
tttatctgcc atcaggcctg gctctttoca gggtttgatg caccttcaaa 1550
aactgtggat gatacagtcc cagattcaag tgattgaacg gaatgccttt 1600
gacaaccttc agtcaactag ggagatcaac ctggcacaca ataactaac 1650
attactgcct catgacctct tcaactccct gcacatctta gagcggatac 1700
atctacatca caacccttgg aactgtaact gtgacatact gtggctcagc 1750
tgggtgataa aagacatggc cccctcgaac acagcttggt gtgcccgggtg 1800
taacactcct cccaatctaa aggggaggta cattggagag ctcgaccaga 1850
attacttcac atgctatgct ccggtgattg tggagcccc tgcagacctc 1900
aatgtcactg aaggcatggc agctgagctg aaatgtcggg cctccacatc 1950
cctgacatct gtatcttggg ttactccaaa tggaacagtc atgacacatg 2000
gggcgtacaa agtgccgata gctgtgctca gtgatggtac gttaaatttc 2050
acaaatgtaa ctgtgcaaga tacaggcatg tacacatgta tgggtgagtaa 2100
ttccgttggg aataactactg cttcagccac cctgaatggt actgcagcaa 2150
ccactactcc tttctcttac ttttcaaccg tcacagtaga gactatggaa 2200
ccgtctcagg atgaggcacg gaccacagat aacaatgtgg gtcccactcc 2250

```

agtggtcgac tgggagacca ccaatgtgac cacctctctc acaccacaga 2300
 gcacaaggtc gacagagaaa accttcacca tcccagtgac tgatataaac 2350
 agtgggatcc caggaattga tgaggatcatg aagactacca aaatcatcat 2400
 tgggtgtttt gtggccatca cactcatggc tgcagtgatg ctgggtcattt 2450
 tctacaagat gaggaagcag caccatcggc aaaacatca cgccccaaca 2500
 aggactgttg aaattattaa tgtggatgat gagattacgg gagacacacc 2550
 catggaaaag cacctgcccc tgcttgctat cgagcatgag cacctaaatc 2600
 actataactc atacaaatct cccttcaacc acacaacaac agttaacaca 2650
 ataaattcaa tacacagttc agtgcgatgaa ccggtattga tccgaatgaa 2700
 ctctaaagac aatgtacaag agactcaaat ctaaaacatt tacagagtta 2750
 caaaaaacaa acaatcaaaa aaaagacag tttattaaaa atgacacaaa 2800
 tgactgggct aaatctactg tttcaaaaaa gtgtctttac aaaaaaacia 2850
 aaaagaaaag aaatttattt attaaaaatt ctattgtgat ctaaagcaga 2900
 caaaaa 2906

<210> 107

<211> 640

<212> PRT

<213> Homo Sapien

<400> 107

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

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

635

640

<210> 108

<211> 28

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 108

gcctttgaca accttcagtc actagtg 28

<210> 109

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 109

ccccatgtgt ccatgactgt tccc 24

<210> 110

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 110

tactgcctca tgacctcttc actcccttgc atcatcttag agcgg 45

<210> 111

<211> 2212

<212> DNA

<213> Homo Sapien

<400> 111

gaaagctata ggctacccat tcagctcccc tgtcagagac tcaagctttg 50
 agaaaggcta gcaaagagca aggaaagaga gaaaacaaca aagtggcgag 100
 gccctcagag tgaaaagcgta aggttcagtc agcctgctgc agctttgcag 150
 acctcagctg ggcatctcca gactcccctg aaggaagagc cttcctcacc 200
 caaaccaca aaagatgctg aaaaagcctc tctcagctgt gacctggctc 250
 tgcattttca tcgtggcctt tgtcagccac ccagcgtggc tgcagaagct 300
 ctctaagcac aagacaccag cacagccaca gctcaaagcg gccaaactgct 350
 gtgaggaggt gaaggagctc aaggcccaag ttgccaacct tagcagcctg 400
 ctgagtgaac tgaacaagaa gcaggagagg gactgggtca gcgtgggtcat 450
 gcaggtgatg gagctggaga gcaacagcaa gcgcatggag tcgcggtca 500
 cagatgctga gagcaagtac tccgagatga acaaccaa at tgacatcatg 550
 cagctgcagg cagcacagac ggtcactcag acctccgcag atgccatcta 600
 cgactgctct tccctctacc agaagaacta ccgcatctct ggagtgtata 650
 agcttcctcc tgatgacttc ctgggcagcc ctgaactgga ggtgttctgt 700
 gacatggaga cttcaggcgg aggtggacc atcatccaga gacgaaaag 750
 tggccttgtc tccttctacc gggactggaa gcagtacaag cagggctttg 800
 gcagcatccg tggggacttc tggctgggga acgaacacat ccaccggctc 850
 tccagacagc caaccggct gcgtgtagag atggaggact gggagggcaa 900
 cctgcgctac gctgagtata gccactttgt tttgggcaat gaactcaaca 950
 gctatcgctt cttcctgggg aactacactg gcaatgtggg gaacgacgcc 1000
 ctccagtatc ataacaacac agccttcagc accaaggaca aggacaatga 1050
 caactgcttg gacaagtgtg cacagctccg caaaggtggc tactggtaca 1100

actgctgcac agactccaac ctcaatggag tgtactaccg cctgggtgag 1150
 cacaataagc acctggatgg catcacctgg tatggctggc atggatctac 1200
 ctactccctc aaacgggtgg agatgaaaat cgcgccagaa gacttcaagc 1250
 cttaaaagga ggctgccgtg gagcacggat acagaaactg agacacgtgg 1300
 agactggatg agggcagatg aggacaggaa gagagtgtta gaaagggtag 1350
 gactgagaaa cagcctataa tctccaaaga aagaataagt ctccaaggag 1400
 cacaaaaaaa tcatatgtac caaggatggt acagtaaaca ggatgaacta 1450
 tttaaaccct ctgggtcctg ccacatcctt ctcaaggtgg tagactgagt 1500
 ggggtctctc tgcccaagat ccctgacata gcagtagctt gtcttttcca 1550
 catgatttgt ctgtgaaaga aaataatttt gagatcgttt tatctatttt 1600
 ctctacggct taggctatgt gagggcaaaa cacaaatccc tttgctaaaa 1650
 agaaccatat tattttgatt ctcaaaggat aggcctttga gtgttagaga 1700
 aaggagttaa ggaggcaggt gggaaatggg atttctattt ttaaattccag 1750
 tgaaattatc ttgagtctac acattatttt taaaacacaa aaattgttcg 1800
 gctggaactg acccaggctg gacttgccgg gaggaaactc cagggcactg 1850
 catctggcga tcagactctg agcactgcc ctgctcgcct tggatcatgta 1900
 cagcactgaa aggaatgaag caccagcagg aggtggacag agtctctcat 1950
 ggatgccggc acaaaaactgc cttaaaatat tcatagttaa tacaggtata 2000
 tctattttta tttactttgt aagaaacaag ctcaaggagc ttccttttaa 2050
 attttgtctg taggaaatgg ttgaaaactg aaggtagatg gtgttatagt 2100
 taataataaa tgctgtaaat aagcatctca ctttgtaaaa ataaaatatt 2150
 gtggttttgt tttaaacatt caacgtttct tttccttcta caataaacac 2200
 tttcaaatg tg 2212

<210> 112

<211> 346

<212> PRT

<213> Homo Sapien

<400> 112

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

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

Pro

346

<210> 113

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 113

ttcagcacca aggacaagga caatgacaac t 31

<210> 114

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 114

tgtgcacact tgtccaagca gttgtcattg tc 32

<210> 115

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 115

gtagtacact ccattgaggt tgg 23

<210> 116

<211> 1008

<212> DNA

<213> Homo Sapien

<400> 116

cacgcacttc acctgggtcg ggattctcag gtcataaacg gtcccagcca 50
 cctccgggca gggcggtgga ggacggggac ggggcgtgtc caactggctg 100
 tgggctcttg aaacccgagc atggcacagc acggggcgat gggcgcgttt 150
 cgggcctgt gcggcctggc gctgctgtgc gcgctcagcc tgggtcagcg 200
 ccccaccggg ggtcccgggt gcggccctgg gcgcctcctg cttgggacgg 250
 gaacggacgc gcgctgctgc cgggttcaca cgacgcgctg ctgccgcgat 300
 taccggggcg aggagtgctg ttccgagtgg gactgcatgt gtgtccagcc 350
 tgaattccac tgcggagacc cttgctgcac gacctgccgg caccaccctt 400
 gtccccagc ccagggggta cagtcccagg ggaaattcag ttttggcttc 450
 cagtgtatcg actgtgcctc ggggaccttc tccggggggc acgaaggcca 500
 ctgcaaacct tggacagact gcacccagtt cgggtttctc actgtgttcc 550
 ctgggaacaa gaccacaac gctgtgtgcg tcccagggtc cccgccggca 600
 gagccgcttg ggtggctgac cgtcgtctc ctggccgtgg ccgcctgcgt 650
 cctcctcctg acctcggccc agcttgact gcacatctgg cagctgagga 700
 gtcagtgcac gtggccccga gagaccagc tgctgctgga ggtgccgccg 750
 tcgaccgaag acgccagaag ctgccagttc cccgaggaag agcggggcga 800
 gcgatcggca gaggagaagg ggcggctggg agacctgtgg gtgtgagcct 850
 ggccgtcctc cggggccacc gaccgcagcc agcccctccc caggagctcc 900
 ccaggccgca ggggctctgc gttctgctct gggccggggc ctgctcccct 950
 ggcagcagaa gtgggtgacg gaaggtggca gtgaccagcg ccctggacca 1000
 tgcagttc 1008

<210> 117

<211> 241

<212> PRT

<213> Homo Sapien

<400> 117

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

	185		190		195
Cys Met Trp Pro	Arg Glu Thr Gln Leu	Leu Leu Glu Val	Pro Pro		
	200		205		210
Ser Thr Glu Asp	Ala Arg Ser Cys Gln	Phe Pro Glu Glu	Glu Arg		
	215		220		225
Gly Glu Arg Ser	Ala Glu Glu Lys Gly	Arg Leu Gly Asp	Leu Trp		
	230		235		240

Val

241

<210> 118

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 118

cacagcacgg ggcgatggg 19

<210> 119

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 119

gctctgcgtt ctgctctg 18

<210> 120

<211> 28

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 120

ggcacagcac ggggcgatgg ggcggttt 28

<210> 121

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 121

ctggtcactg ccaccttcct gcac 24

<210> 122

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 122

cgctgaccga ggctgag 17

<210> 123

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 123
 gaaggtcccc gaggcacagt cgataca 27
 <210> 124
 <211> 40
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 124
 gaggagtgct gttccgagtg ggactgcatg tgtgtccagc 40
 <210> 125
 <211> 40
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 125
 agcctgggtc agcgcaccac cgggggtccc ggggtgcggcc 40
 <210> 126
 <211> 2236
 <212> DNA
 <213> Homo Sapien
 <400> 126
 ggcgccggtg caccgggcgg gctgagcgcc tcttgcggcc cggcctgcgc 50
 gccccggccc gccgcgccgc ccacgcccc accccggccc gcgcccccta 100
 gccccgccc gggccccggc ccgcgcccgc gccaggtga gcgctccgcc 150
 cgccgcgagg ccccgccccg gcccgcccc gcccgcccc ggcggcggg 200
 ggaaccgggc ggattcctcg cgcgtcaaac cacctgatcc cataaaacat 250
 tcatcctccc ggcggcccgc gctgcgagcg ccccgccagt ccgcgccgcc 300
 gccgccctcg ccctgtgcgc cctgcgcgcc ctgcgcaccc gcggcccag 350
 ccagccaga gccgggcgga gcggagcgcg ccgagcctcg tcccgcggcc 400
 gggccggggc cgggccgtag cggcggcgcc tggatgcgga cccggccgcg 450
 gggagacggc gcgcccccc gaaacgactt tcagtcccc acgcgccccg 500
 cccaaccctc acgatgaaga gggcgctcgc tggagggagc cggctgctgg 550
 catgggtgct gtggctgcag gcctggcagg tggcagcccc atgccaggt 600
 gcctgcgtat gctacaatga gcccagggtg acgacaagct gccccagca 650
 gggcctgcag gctgtgcccg tgggcatccc tgctgccagc cagcgcattc 700
 tctgcacgg caaccgcatc tcgcatgtgc cagctgccag cttccgtgcc 750
 tgccgcaacc tcaccatcct gtggctgcac tcgaatgtgc tggcccgaat 800
 tgatgcggct gccttcaactg gcctggccct cctggagcag ctggacctca 850
 gcgataatgc acagctccgg tctgtggacc ctgccacatt ccacggcctg 900
 ggccgcctac acacgctgca cctggaccgc tgcggcctgc aggagctggg 950
 cccggggctg ttccgcggcc tggtgcctc gcagtacctc tacctgcagg 1000
 acaacgcgct gcaggcaactg cctgatgaca ccttccgca cctgggcaac 1050
 ctcacacacc tcttctgca cggcaaccgc atctccagcg tgcccagcgc 1100
 cgcttccgt gggctgcaca gcctcgaccg tctcctactg caccagaacc 1150
 gcgtggccca tgtgcacccg catgccttcc gtgaccttgg ccgcctcatg 1200
 aactctatc tgtttgcaa caatctatca gcgctgcca ctgaggccct 1250
 gccccctg cgtgccctgc agtacctgag gctcaacgac aaccctggg 1300

tgtgtgactg cggggcacgc cactctggg cctggctgca gaagttccgc 1350
 ggctcctcct ccgaggtgcc ctgcagcctc ccgcaacgcc tggctggccg 1400
 tgacctcaaa cgcctagctg ccaatgacct gcagggctgc gctgtggcca 1450
 ccggccctta ccatcccatac tggaccggca gggccaccga tgaggagccg 1500
 ctggggcttc ccaagtgctg ccagccagat gccgctgaca aggcctcagt 1550
 actggagcct ggaagaccag cttcggcagg caatgcgctg aaggacgcg 1600
 tgccgcccgg tgacagcccg ccgggcaacg gctctggccc acggcacatc 1650
 aatgactcac cctttgggac tctgcctggc tctgctgagc ccccgctcac 1700
 tgacgtgcgg cccgagggct ccgagccacc agggttcccc acctcgggcc 1750
 ctcgccggag gccaggtgt tcacgcaaga accgcaccgc cagccactgc 1800
 cgtctgggcc aggagggcag cgggggtggc gggactggtg actcagaagg 1850
 ctgaggtgcc ctaccagcc tcacctgcag cctcaccccc ctgggcctgg 1900
 cgctggtgct gtggacagtg cttgggccct gctgaccccc agcggacaca 1950
 agagcgtgct cagcagccag gtgtgtgtac atacggggtc tctctccacg 2000
 ccgccaagcc agccgggcgg ccgaccocgtg gggcaggcca ggccaggtcc 2050
 tccctgatgg acgctgccg ccgcccacc ccactctccac cccatcatgt 2100
 ttacagggtt cggcggcagc gtttgttcca gaacgcgcgc tcccaccag 2150
 atcgcggtat atagagatat gcattttatt ttacttgtgt aaaaatatcg 2200
 gacgacgtgg aataaagagc tcttttctta aaaaaa 2236

<210> 127

<211> 473

<212> PRT

<213> Homo Sapien

<400> 127

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

Gln Asn Arg Val Ala His Val His Pro His Ala Phe Arg Asp Leu
 215 220 225
 Gly Arg Leu Met Thr Leu Tyr Leu Phe Ala Asn Asn Leu Ser Ala
 230 235 240
 Leu Pro Thr Glu Ala Leu Ala Pro Leu Arg Ala Leu Gln Tyr Leu
 245 250 255
 Arg Leu Asn Asp Asn Pro Trp Val Cys Asp Cys Arg Ala Arg Pro
 260 265 270
 Leu Trp Ala Trp Leu Gln Lys Phe Arg Gly Ser Ser Ser Glu Val
 275 280 285
 Pro Cys Ser Leu Pro Gln Arg Leu Ala Gly Arg Asp Leu Lys Arg
 290 295 300
 Leu Ala Ala Asn Asp Leu Gln Gly Cys Ala Val Ala Thr Gly Pro
 305 310 315
 Tyr His Pro Ile Trp Thr Gly Arg Ala Thr Asp Glu Glu Pro Leu
 320 325 330
 Gly Leu Pro Lys Cys Cys Gln Pro Asp Ala Ala Asp Lys Ala Ser
 335 340 345
 Val Leu Glu Pro Gly Arg Pro Ala Ser Ala Gly Asn Ala Leu Lys
 350 355 360
 Gly Arg Val Pro Pro Gly Asp Ser Pro Pro Gly Asn Gly Ser Gly
 365 370 375
 Pro Arg His Ile Asn Asp Ser Pro Phe Gly Thr Leu Pro Gly Ser
 380 385 390
 Ala Glu Pro Pro Leu Thr Ala Val Arg Pro Glu Gly Ser Glu Pro
 395 400 405
 Pro Gly Phe Pro Thr Ser Gly Pro Arg Arg Arg Pro Gly Cys Ser
 410 415 420
 Arg Lys Asn Arg Thr Arg Ser His Cys Arg Leu Gly Gln Ala Gly
 425 430 435
 Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Asp Ser Glu Gly Ser Gly Ala Leu
 440 445 450
 Pro Ser Leu Thr Cys Ser Leu Thr Pro Leu Gly Leu Ala Leu Val
 455 460 465
 Leu Trp Thr Val Leu Gly Pro Cys
 470 473

<210> 128

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 128

tggtgcct gcagtacctc tacc 24

<210> 129

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 129

ccctgcaggt cattggcagc tagg 24

<210> 130
 <211> 45
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 130
 aggcactgcc tgatgacacc ttccgcgacc tgggcaacct cacac 45
 <210> 131
 <211> 1829
 <212> DNA
 <213> Homo Sapien
 <400> 131
 gcgaggggag cgcggagccc ggcgcctaca gctcgccatg gtgcgcccc 50
 tgaacccgcg accgctgccg cccgtagtcc tgatggtgct gctgctgctg 100
 ccgccgtcgc cgctgcctct cgcagccgga gacccccctc ccacagaaag 150
 ccgactcatg aacagctgtc tccaggccag gaggaagtgc caggctgatc 200
 ccacctgcag tgctgcctac caccacctgg attcctgcac ctctagcata 250
 agcaccaccac tgcctcaga ggagccttcg gtccctgctg actgcctgga 300
 ggcagcacag caactcagga acagctctct gataggctgc atgtgccacc 350
 ggcgcatgaa gaaccagggt gcctgcttgg acatctattg gaccgttcac 400
 cgtgcccgca gccttggtaa ctatgagctg gatgtctccc cctatgaaga 450
 cacagtgacc agcaaaccct ggaaaatgaa tctcagcaaa ctgaacatgc 500
 tcaaaccaga ctcagacctc tgcctcaagt ttgccatgct gtgtactctc 550
 aatgacaagt gtgaccggct gcgcaaggcc tacggggagg cgtgctccgg 600
 gccccactgc cagcgccacg tctgcctcag gcagctgctc actttcttcg 650
 agaaggcccg cgagcccac gcgcagggcc tgctactgtg cccatgtgcc 700
 cccaacgacc ggggtcgcgg ggagcgcgg cgcaacacca tcgcccccaa 750
 ctgcgcgctg ccgcctgtgg cccccaaactg cctggagctg cggcgcctct 800
 gcttctccga cccgctttgc agatcacgcc tgggtggattt ccagaccac 850
 tgccatcca tggacatcct aggaacttgt gcaacagagc agtccagatg 900
 tctacgagca tacctggggc tgattgggac tgccatgacc cccaactttg 950
 tcagcaatgt caacaccagt gttgccttaa gctgcacctg ccgaggcagt 1000
 ggcaacctgc aggaggagtg tgaatgctg gaagggttct tctcccacaa 1050
 ccctgcctc acggaggcca ttgcagctaa gatgcgtttt cacagccaac 1100
 tcttctcca ggactggcca caccctacct ttgctgtgat ggcacaccag 1150
 aatgaaaacc ctgctgtgag gccacagccc tgggtgcct ctcttttctc 1200
 ctgcacgctt cccttgattc tgctcctgag cctatggtag ctggacttcc 1250
 ccagggccct cttcccctcc accacacca ggtggacttg cagcccacaa 1300
 ggggtgagga aaggacagca gcaggaagga ggtgcagtgc gcagatgagg 1350
 gcacaggaga agctaagggt tatgacctcc agatccttac tgggtccagtc 1400
 ctattccct ccaccccatc tccacttctg attcatgctg cccctccttg 1450
 gtggccacaa ttagccatg tcatctggtg gtgaccagct ccaccaagcc 1500
 ctttctgag cccttctct tgactaccag gatcaccaga atctaataag 1550
 ttagcctttc tctattgcat tccagattag ggttagggta gggaggactg 1600
 ggtgttctga ggcagcctag aaagtcattc tcctttgtga agaaggctcc 1650
 tgccccctcg tctcctcctc tgagtggagg atggaaaact actgcctgca 1700
 ctgccctgtc cccggtacct gccgaacatc tgggcatcag gagctggagc 1750
 ctgtgggcct tgctttattc ctattattgt cctaaagtct ctctgggctc 1800
 ttgatcatg attaaacctt tgacttaag 1829
 <210> 132
 <211> 400

<212> PRT

<213> Homo Sapien

<400> 132

```

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

```

	365		370		375
Ala Val Arg Pro Gln Pro Trp Val Pro Ser Leu Phe Ser Cys Thr					
	380		385		390
Leu Pro Leu Ile Leu Leu Leu Ser Leu Trp					
	395		400		

<210> 133

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 133

gcctctcgca gccggagacc 20

<210> 134

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 134

caggtgggat cagcctggca c 21

<210> 135

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 135

tctcgagcc ggagaccccc ttccacaga aagccgactc a 41

<210> 136

<211> 2849

<212> DNA

<213> Homo Sapien

<220>

<221> unsure

<222> 2715

<223> unknown base

<400> 136

```

cggacgcgtg ggcggacgcg tgggcggacg cgtgggcgga cgcgtgggct 50
ggttcaggtc caggttttgc tttgatcctt ttcaaaaact ggagacacag 100
aagagggctc taggaaaaag ttttgatgg gattatgtgg aaactaccct 150
gcgattctct gctgccagag caggctcggc gcttccacc cagtgcagcc 200
ttcccctggc ggtggtgaaa gagactcggg agtcgctgct tccaaagtgc 250
ccgccgtgag tgagctctca cccagtcag ccaaagagc ctcttcgggc 300
ttctcctgct gacatctgcc ctggccggcc agagacaggg gactcaggcg 350
gaatccaacc tgagtagtaa attccagttt tccagcaaca aggaacagaa 400
cggagtacaa gatcctcagc atgagagaa tattactgtg tctactaatg 450
gaagtattca cagcccaagg tttcctcata cttatccaag aaatacggtc 500
ttggtatgga gattagtagc agtagaggaa aatgtatgga tacaacttac 550
gtttgatgaa agatttgggc ttgaagacc agaagatgac atatgcaagt 600
atgattttgt agaagttgag gaaccagtg atggaactat attagggcgc 650
tgggtggtt ctggtactgt accaggaaaa cagatttcta aaggaaatca 700

```

aattaggata agatttgtat ctgatgaata ttttccttct gaaccagggg 750
 tctgcatcca ctacaacatt gtcatgccac aattcacaga agctgtgagt 800
 ccttcagtgc taccoccttc agctttgcc aaggacctgc ttaataatgc 850
 tataactgcc ttttagtacct tggaagacct tattcgatat cttgaaccag 900
 agagatggca gttggactta gaagatctat ataggccaac ttggcaactt 950
 cttggcaagg cttttgtttt tggaagaaaa tccagagtgg tggatctgaa 1000
 ccttctaaca gaggaggtaa gattatacag ctgcacacct cgtaacttct 1050
 cagtgtccat aaggaagaa ctaaagagaa ccgataccat tttctggcca 1100
 ggttgtctcc tggttaaacg ctgtggtggg aactgtgcct gttgtctcca 1150
 caattgcaat gaatgtcaat gtgtcccaag caaagttact aaaaaatacc 1200
 acgaggtcct tcagttgaga ccaaagaccg gtgtcagggg attgcacaaa 1250
 tcaactaccg acgtggccct ggagcaccat gaggagtgtg actgtgtgtg 1300
 cagagggagc acaggaggat agccgcatca ccaccagcag ctcttgccca 1350
 gagctgtgca gtgcagtggc tgattctatt agagaacgta tgcgttatct 1400
 ccatccttaa tctcagttgt ttgcttcaag gacctttcat cttcaggatt 1450
 tacagtgcac tctgaaaagag gagacatcaa acagaattag gagttgtgca 1500
 acagctcttt tgagaggagg cctaaaggac aggagaaaag gtcttcaatc 1550
 gtggaagaa aattaaatgt tgtattaaat agatcaccag ctagtctcag 1600
 agttaccatg tacgtattcc actagctggg ttctgtatct cagttctttc 1650
 gatacggcct agggtaaatgt cagtacagga aaaaaactgt gcaagtgagc 1700
 acctgattcc gttgccttgc ttaactctaa agctccatgt cctgggccta 1750
 aaatcgtata aaatctggat tttttttttt ttttttgctc atattcacat 1800
 atgtaaacca gaacattcta tgtactacaa acctggtttt taaaaaggaa 1850
 ctatggtgct atgaattaa cttgtgtcat gctgatagga cagactggat 1900
 tttcatatt tcttattaa atttctgcca tttagaagaa gagaactaca 1950
 tcatggttt ggaagagata aacctgaaaa gaagagtggc cttatcttca 2000
 ctttatcgat aagtcagttt atttgtttca ttgtgtacat ttttatattc 2050
 tccttttgac attataactg ttggcctttc taatcttgtt aaatatactt 2100
 atttttacca aaggtattta atattctttt ttatgacaac ttagatcaac 2150
 tatttttagc ttggtaaatt tttctaaaca caattgttat agccagagga 2200
 acaaagatga tataaaatat tgttgctctg acaaaaatac atgtatttca 2250
 ttctcgtatg gtgctagagt tagattaatc tgcattttta aaaactgaat 2300
 tggaaatagaa ttggtaaagt gcaaagactt tttgaaaata attaaattat 2350
 catatcttcc attcctgtta ttggagatga aaataaaaag caacttatga 2400
 aagtagacat tcagatccag ccattactaa cctattcctt ttttggggaa 2450
 atctgagcct agctcagaaa aacataaagc accttgaaaa agacttggca 2500
 gcttcctgat aaagcgtgct gtgctgtgca gtaggaacac atcctattta 2550
 ttgtgatggt gtggttttat tatcttaaac tctgttccat acacttgtat 2600
 aaatacatgg atatttttat gtacagaagt atgtctctta accagttcac 2650
 ttattgtact ctggcaattht aaaagaaaat cagtaaaata ttttgcttgt 2700
 aaaatgctta atatngtgcc taggttatgt ggtgactatt tgaatcaaaa 2750
 atgtattgaa tcatcaaaata aaagaatgtg gctatthtgg ggagaaaatt 2800
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aggtttaggg ataacagggg aatgcgcc 2849

<210> 137

<211> 345

<212> PRT

<213> Homo Sapien

<400> 137

Met Ser Leu Phe Gly Leu Leu Leu Leu Thr Ser Ala Leu Ala Gly
 1 5 10 15
 Gln Arg Gln Gly Thr Gln Ala Glu Ser Asn Leu Ser Ser Lys Phe
 20 25 30

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

<210> 138

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 138

acttctcagt gtccataagg g 21

<210> 139

<211> 40

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 139
 gaactaaaga gaaccgatac cattttctgg ccaggttgtc 40
 <210> 140
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 140
 caccacagcg ttaaccagg 20
 <210> 141
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 141
 acaacaggca cagttcccac 20
 <210> 142
 <211> 1510
 <212> DNA
 <213> Homo Sapien
 <400> 142
 ggacgagggc agatctcggt ctggggcaag cagttgacac tcgctccctg 50
 ccaccgcccg ggctccgtgc cgccaagttt tcattttcca ccttctctgc 100
 ctccagtccc ccagcccctg gccgagagaa gggcttacc ggccgggatt 150
 gctgaaaca ccaagaggtg gttttgttt tttaaaactt ctgttcttg 200
 ggaggggtg tggcggggca gcatgagcaa ctccgttctt ctgctctgtt 250
 tctggagcct ctgctattgc tttgctgctg ggagccccgt accttttgg 300
 ccagagggac ggctggaaga taagctccac aaacccaaag ctacacagac 350
 tgaggtcaaa ccactctgta ggtttaacct ccgcacctcc aaggaccag 400
 agcatgaag atgctacctc tccgtcggcc acagccagcc cttagaagac 450
 tgcagtttca acatgacagc taaaaccttt ttcattcttc acggatggac 500
 gatgagcgg atctttgaaa actggctgca caaactcgtg tcagccctgc 550
 acacaagaga gaaagacgcc aatgtagttg tggttgactg gctccccctg 600
 gccaccagc tttacacgga tgcgggtcaat aataccaggg tgggtgggaca 650
 cagcattgcc aggatgctcg actggctgca ggagaaggac gatttttctc 700
 tcgggaatgt ccacttgatc ggctacagcc tcggagcgc cgtggccggg 750
 tatgcaggca acttcgtgaa aggaacggtg ggccgaatca caggtttgg 800
 tcctgccggg cccatgtttg aaggggcca catccacaag aggctctctc 850
 cggacgatgc agattttgtg gatgtcctcc acacctacac gcgttctctc 900
 ggcttgagca ttggtattca gatgcctgtg ggccacattg acatctacc 950
 caatgggggt gacttccagc caggctgtgg actcaacgat gtcttgggat 1000
 caattgcata tggacaatc acagaggtgg taaaatgtga gcatgagcga 1050
 gccgtccacc tctttgttga ctctctggtg aatcaggaca agccgagttt 1100
 tgccttccag tgcactgact ccaatcgctt caaaaagggg atctgtctga 1150
 gctgccgcaa gaaccgttgt aatagcattg gctacaatgc caagaaaatg 1200
 aggaacaaga ggaacagcaa aatgtacctt aaaaccggg caggcatgcc 1250

tttcagaggt aaccttcagt ccctggagtg tccctgagga aggcccttaa 1300
 tacctccttc ttaataccat gctgcagagc agggcacatc ctagcccagg 1350
 agaagtggcc agcacaatcc aatcaaatcg ttgcaaataca gattacactg 1400
 tgcattgtcct agggaaagga atctttacaa aataaacagt gtggaccctt 1450
 aataaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1500
 aaaaaaaaaa 1510

<210> 143

<211> 354

<212> PRT

<213> Homo Sapien

<400> 143

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

gtggaagtca aaacaagaag acaaaaacat tgctgaggcc tgagagaagc 850
 agattcgata ccagcatcct gccaatgtgc aaggactcac ttggctggat 900
 gtttaacaga cttgatacaa actatgacct gctattggac cagtcagagc 950
 tcagaagcat ttaccttgat aagaatgaac agtgtaccaa ggcattcttc 1000
 aattcttgtg acacatacaa ggacagttta atatctaata atgagtgggtg 1050
 ctactgcttc cagagacagc aagaccacc ttgccagact gagctcagca 1100
 atattcagaa gcggaagggt gtaaagaagc tcctaggaca gtatatcccc 1150
 ctgtgtgatg aagatggtta ctacaagcca acacaatgtc atggcagtgt 1200
 tggacagtgc tgggtgtgtg acagatatgg aatgaagtc atgggatcca 1250
 gaataaatgg tgttgcagat tgtgctatag attttgagat ctccggagat 1300
 tttgctagtg gcgattttca tgaatggact gatgatgagg atgatgaaga 1350
 cgatattatg aatgatgaag atgaaattga agatgatgat gaagatgaag 1400
 gggatgatga tgatgggtgt gatgaccatg atgtatacat ttgattgatg 1450
 acagttgaaa tcaataaatt ctacatttct aatatttaca aaaatgatag 1500
 cctattttaa attatcttct tccccataa caaatgatt ctaaacctca 1550
 catatatttt gtataattat ttgaaaaatt gcagctaaag ttatagaact 1600
 ttatgtttaa ataagaatca tttgctttga gtttttatat tccttacaca 1650
 aaaagaaat acatatgcag tctagtcaga caaataaag ttttgaagtg 1700
 ctactataat aaatttttca cgagaacaaa ctttgtaaat cttccataag 1750
 caaatgaca gctagtgtct gggatcgtac atgttaattt tttgaaagat 1800
 aattctaagt gaaattttaa ataaataaat ttttaatgac ctgggtctta 1850
 aggatttagg aaaaatatgc atgctttaat tgcatttcca aagtagcatc 1900
 ttgctagacc tagatgagtc aggataacag agagatacca catgactcca 1950
 aaaaaaaaaa aaaa 1964

<210> 148

<211> 436

<212> PRT

<213> Homo Sapien

<400> 148

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

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

Ile

436

<210> 149

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 149

cagcaatatt cagaagcggc aaggg 25

<210> 150

<211> 28

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 150

```

catcatggtc atcaccacca tcatcatc 28
<210> 151
<211> 48
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic Oligonucleotide Probe
<400> 151
ggttactaca agccaacaca atgtcatggc agtgttggac agtgctgg 48
<210> 152
<211> 550
<212> DNA
<213> Homo Sapien
<400> 152
ccagtctgtc gccacctcac ttggtgtctg ctgtccccgc caggcaagcc 50
tggggtgaga gcacagagga gtgggccggg accatgctgg ggacgcggct 100
ggcgctcctg gcgctggtgc tggctgcctg cggagagctg gcgcccggccc 150
tgcgctgcta cgtctgtccg gagcccacag gagtgtcggg ctgtgtcacc 200
atcgccacct gcaccaccaa cgaaaccatg tgcaagacca cactctactc 250
ccgggagata gtgtaccctt tccaggggga ctccacggtg accaagtctt 300
gtgccagcaa gtgtaagccc tccgatgtgg atggcatcgg ccagaccctg 350
cccgtgtcct gctgcaatac tgagctgtgc aatgtagacg gggcgcccgc 400
tctgaacagc ctccactgcg gggccctcac gctcctccca ctcttgagcc 450
tccgactgta gagtccccgc ccacccccat ggccctatgc ggcccagccc 500
cgaatgcctt gaagaagtgc cccctgcacc aggaaaaaaaa aaaaaaaaaa 550
<210> 153
<211> 125
<212> PRT
<213> Homo Sapien
<400> 153
Met Arg Gly Thr Arg Leu Ala Leu Leu Ala Leu Val Leu Ala Ala
 1           5           10           15
Cys Gly Glu Leu Ala Pro Ala Leu Arg Cys Tyr Val Cys Pro Glu
          20           25           30
Pro Thr Gly Val Ser Asp Cys Val Thr Ile Ala Thr Cys Thr Thr
          35           40           45
Asn Glu Thr Met Cys Lys Thr Thr Leu Tyr Ser Arg Glu Ile Val
          50           55           60
Tyr Pro Phe Gln Gly Asp Ser Thr Val Thr Lys Ser Cys Ala Ser
          65           70           75
Lys Cys Lys Pro Ser Asp Val Asp Gly Ile Gly Gln Thr Leu Pro
          80           85           90
Val Ser Cys Cys Asn Thr Glu Leu Cys Asn Val Asp Gly Ala Pro
          95           100          105
Ala Leu Asn Ser Leu His Cys Gly Ala Leu Thr Leu Leu Pro Leu
          110          115          120
Leu Ser Leu Arg Leu
          125
<210> 154
<211> 1355
<212> DNA
<213> Homo Sapien

```

<400> 154

```

cggacgcgtg ggcggacgcg tgggcggacg cgtggggcgga cgcgtgggct 50
gggtgcctgc atcgccatgg acaccaccag gtacagcaag tggggcgga 100
gctccgagga ggtccccgga gggccctggg gacgctgggt gactgggagc 150
aggagacccc tcttcttggc cctggctgtc ctggtcacca cagtcctttg 200
ggctgtgatt ctgagtatcc tattgtccaa ggccctccacg gagcgcgcgg 250
cgctgcttga cggccacgac ctgctgagga caaacgcctc gaagcagacg 300
gcggcgctgg gtgccctgaa ggaggaggtc ggagactgcc acagctgctg 350
ctcggggacg caggcgcagc tgcagaccac gcgcgcggag cttggggagg 400
cgcaggcga gctgatggag caggagagcg ccctgcggga actgctgag 450
cgcgtgacc aggcttggc tgaagccggc aggggcccgtg aggacgtccg 500
cactgagctg ttccggggcg tggaggccgt gaggctccag aacaactcct 550
gcgagccgtg ccccacgtcg tggctgtcct tcgagggctc ctgctacttt 600
ttctctgtgc caaagacgac gtgggcggcg gcgcaggatc actgcgcaga 650
tgccagcgcg cacctgttga tcgttggggg cctggatgag cagggcttcc 700
tactcggaa cacgcgtggc cgtggttact ggctgggctc gagggctgtg 750
cgccatctgg gcaaggttca gggctaccag tgggtggacg gactctctct 800
cagcttcagc cactggaacc agggagagcc caatgacgct tgggggcgcg 850
agaactgtgt catgatgctg cacacggggc tgtggaacga cgcaccgtgt 900
gacagcgaga aggacggctg gatctgtgag aaaaggcaca actgctgacc 950
ccgccagtg ccctggagcc gcgccattg cagcatgtcg tctctgggg 1000
gctgctcacc tccctggctc ctggagctga ttgccaaaga gtttttttct 1050
tcctcatcca ccgctgctga gtctcagaaa cacttggccc aacatagccc 1100
tgtccagccc agtgcctggg ctctgggacc tccatgccga cctcatccta 1150
actccactca cgcagaccca acctaacctc cactagctcc aaaatccctg 1200
ctctgctgc cccgtgatat gcctccactt ctctccctaa ccaaggttag 1250
gtgactgagg actggagctg tttggttttc tcgcattttc caccaaactg 1300
gaagctgttt ttgcagcctg aggaagcatc aataaatatt tgagaaatga 1350
aaaaa 1355

```

<210> 155

<211> 293

<212> PRT

<213> Homo Sapien

<400> 155

```

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

```

Glu Ala Gly Arg Gly Arg Glu Asp Val Arg Thr Glu Leu Phe Arg
 140 145 150
 Ala Leu Glu Ala Val Arg Leu Gln Asn Asn Ser Cys Glu Pro Cys
 155 160 165
 Pro Thr Ser Trp Leu Ser Phe Glu Gly Ser Cys Tyr Phe Phe Ser
 170 175 180
 Val Pro Lys Thr Thr Trp Ala Ala Ala Gln Asp His Cys Ala Asp
 185 190 195
 Ala Ser Ala His Leu Val Ile Val Gly Gly Leu Asp Glu Gln Gly
 200 205 210
 Phe Leu Thr Arg Asn Thr Arg Gly Arg Gly Tyr Trp Leu Gly Leu
 215 220 225
 Arg Ala Val Arg His Leu Gly Lys Val Gln Gly Tyr Gln Trp Val
 230 235 240
 Asp Gly Val Ser Leu Ser Phe Ser His Trp Asn Gln Gly Glu Pro
 245 250 255
 Asn Asp Ala Trp Gly Arg Glu Asn Cys Val Met Met Leu His Thr
 260 265 270
 Gly Leu Trp Asn Asp Ala Pro Cys Asp Ser Glu Lys Asp Gly Trp
 275 280 285
 Ile Cys Glu Lys Arg His Asn Cys
 290 293

<210> 156

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 156

gcgagaactg tgtcatgatg ctgc 24

<210> 157

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 157

gtttctgaga ctcagcagcg gtgg 24

<210> 158

<211> 50

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 158

caccgtgtga cagcgagaag gacggctgga tctgtgagaa aaggcacaac 50

<210> 159

<211> 434

<212> DNA

<213> Homo Sapien

<400> 159

gtcgaatcca aatcactcat tgtgaaagct gagctcacag ccgaataagc 50

caccatgagg ctgtcagtggt gtctcctgat ggtctcgctg gccctttgct 100
 gctaccaggc ccatgctctt gtctgcccag ctggttgcttc tgagatcaca 150
 gtcttcttat tcttaagtga cgctgcggtta aacctccaag ttgccaaact 200
 taatccacct ccagaagctc ttgcagccaa gttggaagtg aagcactgca 250
 ccgatcagat atcttttaag aaacgactct cattgaaaaa gtcctgggtg 300
 aaatagttaa aaaatgtggt gtgtgacatg taaaaatgct caacctgggt 350
 tccaaagtct ttcaacgaca cctgatctt cactaaaaat tgtaaagggt 400
 tcaacacggt gctttaataa atcacttgcc ctgc 434

<210> 160

<211> 83

<212> PRT

<213> Homo Sapien

<400> 160

Met Arg Leu Ser Val Cys Leu Leu Met Val Ser Leu Ala Leu Cys
 1 5 10 15
 Cys Tyr Gln Ala His Ala Leu Val Cys Pro Ala Val Ala Ser Glu
 20 25 30
 Ile Thr Val Phe Leu Phe Leu Ser Asp Ala Ala Val Asn Leu Gln
 35 40 45
 Val Ala Lys Leu Asn Pro Pro Pro Glu Ala Leu Ala Ala Lys Leu
 50 55 60
 Glu Val Lys His Cys Thr Asp Gln Ile Ser Phe Lys Lys Arg Leu
 65 70 75
 Ser Leu Lys Lys Ser Trp Trp Lys
 80 83

<210> 161

<211> 1885

<212> DNA

<213> Homo Sapien

<400> 161

gcgaggtggc gatcgctgag aggcaggagg gccgagggcg gcctgggagg 50
 cgccccggag gtggggcgcc gctggggccg gcccgcacgg gcttcatctg 100
 agggcgcacg gcccgcgacc gagcgtgagg actggcctcc caagcgtggg 150
 gcgacaagct gccggagctg caatgggccc cggctgggga ttcttggttg 200
 gcctcctggg cgccgtgtgg ctgctcagct cggggccacgg agaggagcag 250
 cccccggaga cagcggcaca gaggtgcttc tgccaggtta gtggttactt 300
 ggatgattgt acctgtgatg ttgaaacct tgatagattt aataactaca 350
 ggcttttccc aagactacaa aaacttcttg aaagtgacta ctttaggtat 400
 tacaaggtaa acctgaagag gccgtgtcct ttctggaatg acatcagcca 450
 gtgtggaaga agggactgtg ctgtcaaacc atgtcaatct gatgaagttc 500
 ctgatggaat taaatctgag agctacaagt attctgaaga agccaataat 550
 ctattgaag aatgtgaaca agctgaacga cttggagcag tggatgaatc 600
 tctgagttag gaaacacaga aggctgttct tcagtggacc aagcatgatg 650
 attcttcaga taacttctgt gaagctgatg acattcagtc ccctgaagct 700
 gaatatgtag atttgcttct taatcctgag cgctacactg gttacaaggg 750
 accagatgct tggaaaaatat ggaatgtcat ctacgaagaa aactgtttta 800
 agccacagac aattaaaga cctttaaatc ctttggtctt tgggtcaaggg 850
 acaagtgaag agaacacttt ttacagttgg ctagaaggtc tctgtgtaga 900
 aaaaagagca ttctacagac ttatatctgg cctacatgca agcattaatg 950
 tgcatattgag tgcaagatat cttttacaag agacctgggt agaaaagaaa 1000
 tggggacaca acattacaga atttcaacag cgatttgatg gaattttgac 1050
 tgaaggagaa ggtccaagaa ggcttaagaa cttgtatctt ctctacttaa 1100

tagaactaag ggctttatcc aaagtgttac cattcttcga ggcgccagat 1150
 tttcaactct ttactggaaa taaaattcag gatgaggaaa acaaaatggt 1200
 acttctggaa atacttcatg aaatcaagtc atttcctttg cattttgatg 1250
 agaattcatt ttttgctggg gataaaaaag aagcacacaa actaaaggag 1300
 gactttcgac tgcatttttag aaatatttca agaattatgg attgtgttgg 1350
 ttgttttaaa tgtcgtctgt ggggaaagct tcagactcag ggtttgggca 1400
 ctgctctgaa gatcttattt tctgagaaat tgatagcaaa tatgccagaa 1450
 agtggaccta gttatgaatt ccatctaacc agacaagaaa tagtatcatt 1500
 attcaacgca tttggaagaa tttctacaag tgtgaaagaa ttagaaaact 1550
 tcaggaactt gttacagaat attcattaaa gaaaacaagc tgatatgtgc 1600
 ctgtttctgg acaatggagg cgaagagtg gaatttcatt caaaggcata 1650
 atagcaatga cagtcttaag ccaaacattt tatataaagt tgcttttgta 1700
 aaggagaatt atattgtttt aagtaaacac attttttaaaa attgtgttaa 1750
 gtctatgtat aatactactg tgagtaaaag taatacttta ataatgtggt 1800
 acaaatttta aagttaata ttgaataaaa ggaggattat caaatataaa 1850
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 1885

<210> 162

<211> 468

<212> PRT

<213> Homo Sapien

<400> 162

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

	230		235		240
Cys Val Glu Lys Arg Ala Phe Tyr Arg Leu Ile Ser Gly Leu His					
	245		250		255
Ala Ser Ile Asn Val His Leu Ser Ala Arg Tyr Leu Leu Gln Glu					
	260		265		270
Thr Trp Leu Glu Lys Lys Trp Gly His Asn Ile Thr Glu Phe Gln					
	275		280		285
Gln Arg Phe Asp Gly Ile Leu Thr Glu Gly Glu Gly Pro Arg Arg					
	290		295		300
Leu Lys Asn Leu Tyr Phe Leu Tyr Leu Ile Glu Leu Arg Ala Leu					
	305		310		315
Ser Lys Val Leu Pro Phe Phe Glu Arg Pro Asp Phe Gln Leu Phe					
	320		325		330
Thr Gly Asn Lys Ile Gln Asp Glu Glu Asn Lys Met Leu Leu Leu					
	335		340		345
Glu Ile Leu His Glu Ile Lys Ser Phe Pro Leu His Phe Asp Glu					
	350		355		360
Asn Ser Phe Phe Ala Gly Asp Lys Lys Glu Ala His Lys Leu Lys					
	365		370		375
Glu Asp Phe Arg Leu His Phe Arg Asn Ile Ser Arg Ile Met Asp					
	380		385		390
Cys Val Gly Cys Phe Lys Cys Arg Leu Trp Gly Lys Leu Gln Thr					
	395		400		405
Gln Gly Leu Gly Thr Ala Leu Lys Ile Leu Phe Ser Glu Lys Leu					
	410		415		420
Ile Ala Asn Met Pro Glu Ser Gly Pro Ser Tyr Glu Phe His Leu					
	425		430		435
Thr Arg Gln Glu Ile Val Ser Leu Phe Asn Ala Phe Gly Arg Ile					
	440		445		450
Ser Thr Ser Val Lys Glu Leu Glu Asn Phe Arg Asn Leu Leu Gln					
	455		460		465
Asn Ile His					
	468				

<210> 163

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 163

aagctgccgg agctgcaatg 20

<210> 164

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 164

ttgcttctta atcctgagcg c 21

<210> 165

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 165
 aaaggaggac tttcgactgc 20
 <210> 166
 <211> 26
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 166
 agagattcat ccaactgctcc aagtcg 26
 <210> 167
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 167
 tgtccagaaa caggcacata tcagc 25
 <210> 168
 <211> 50
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 168
 agacagcggc acagaggtgc ttctgccagg ttagtggtta cttggatgat 50
 <210> 169
 <211> 1523
 <212> DNA
 <213> Homo Sapien
 <400> 169
 gagaggacga ggtgccgctg cctggagaat cctccgctgc cgtcggctcc 50
 cggagcccag ccctttccta acccaacca acctagccca gtcccagccg 100
 ccagcgcctg tccctgtcac ggacccagc gttaccatgc atcctgccgt 150
 cttcctatcc ttacccgacc tcagatgctc ctttctgctc ctggtaactt 200
 gggtttttac tctgttaaca actgaaataa caagtcttgc tacagagaat 250
 atagatgaaa ttttaaaca tgctgatggt gctttagtaa atttttatgc 300
 tgactgggtg cgtttcagtc agatggtgca tccaatttt gaggaagctt 350
 ccgatgtcat taaggaagaa tttccaaatg aaaatcaagt agtgtttgcc 400
 agagttgatt gtgatcagca ctctgacata gccagagat acaggataag 450
 caaatacca accctcaaat tgtttcgtaa tgggatgatg atgaagagag 500
 aatacagggg tcagcgatca gtgaaagcat tggcagatta catcaggcaa 550
 caaaaaagt accccattca agaaattcgg gacttagcag aaatcaccac 600
 tcttgatcgc agcaaaaagaa atatcattgg atattttgag caaaaggact 650
 cggacaacta tagagttttt gaacgagtag cgaatatttt gcatgatgac 700
 tgtgcctttc tttctgcatt tggggatggt tcaaaaaccgg aaagatatag 750
 tggcgacaac ataatctaca aaccaccagg gcattctgct ccggatatgg 800
 tgtacttggg agctatgaca aattttgatg tgacttaca ttggattcaa 850
 gataaatgtg ttctcttgt ccgagaaata acatgtgaaa atggagagga 900

attgacagaa gaaggactgc cttttctcat actctttcac atgaaagaag 950
 atacagaaag tttagaaata ttccagaatg aagtagctcg gcaattaata 1000
 agtgaaaaag gtacaataaa ctttttacat gccgattgtg acaaatttag 1050
 acatcctctt ctgcacatac agaaaactcc agcagattgt cctgtaatcg 1100
 ctattgacag ctttaggcat atgtatgtgt ttggagactt caaagatgta 1150
 ttaattcctg gaaaactcaa gcaattcgta tttgacttac attctggaaa 1200
 actgcacaga gaattccatc atggacctga cccaactgat acagccccag 1250
 gagagcaagc ccaagatgta gcaagcagtc cacctgagag ctccttccag 1300
 aaactagcac ccagtgaata taggtatact ctattgaggg atcgagatga 1350
 gctttaaaaa cttgaaaaac agtttgtaag cctttcaaca gcagcatcaa 1400
 cctacgtggt ggaaatagta aacctatatt ttcataattc tatgtgtatt 1450
 tttattttga ataaacagaa agaaatttaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1500
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaa 1523

<210> 170

<211> 406

<212> PRT

<213> Homo Sapien

<400> 170

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

Leu Thr Glu Glu Gly Leu Pro Phe Leu Ile Leu Phe His Met Lys
 260 265 270
 Glu Asp Thr Glu Ser Leu Glu Ile Phe Gln Asn Glu Val Ala Arg
 275 280 285
 Gln Leu Ile Ser Glu Lys Gly Thr Ile Asn Phe Leu His Ala Asp
 290 295 300
 Cys Asp Lys Phe Arg His Pro Leu Leu His Ile Gln Lys Thr Pro
 305 310 315
 Ala Asp Cys Pro Val Ile Ala Ile Asp Ser Phe Arg His Met Tyr
 320 325 330
 Val Phe Gly Asp Phe Lys Asp Val Leu Ile Pro Gly Lys Leu Lys
 335 340 345
 Gln Phe Val Phe Asp Leu His Ser Gly Lys Leu His Arg Glu Phe
 350 355 360
 His His Gly Pro Asp Pro Thr Asp Thr Ala Pro Gly Glu Gln Ala
 365 370 375
 Gln Asp Val Ala Ser Ser Pro Pro Glu Ser Ser Phe Gln Lys Leu
 380 385 390
 Ala Pro Ser Glu Tyr Arg Tyr Thr Leu Leu Arg Asp Arg Asp Glu
 395 400 405

Leu
 406

<210> 171

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 171

tgagaggcct ctctggaagt tg 22

<210> 172

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 172

gtcagcgatc agtgaaaagc 19

<210> 173

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 173

ccagaatgaa gtagctcggc 20

<210> 174

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 174
 ccgactcaaa atgcattgtc 20
 <210> 175
 <211> 19
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 175
 catttggcag gaattgtcc 19
 <210> 176
 <211> 18
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 176
 ggtgctatag gccaaagg 18
 <210> 177
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 177
 ctgtatctct gggctatgtc agag 24
 <210> 178
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 178
 ctacatataa tggcacatgt cagcc 25
 <210> 179
 <211> 46
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 179
 cgtcttccta tccttaccgc acctcagatg ctcccttctg ctctctg 46
 <210> 180
 <211> 2475
 <212> DNA
 <213> Homo Sapien
 <400> 180
 gaggatttgc cacagcagcg gatagagcag gagagcacca ccggagccct 50
 tgagacatcc ttgagaagag ccacagcata agagactgcc ctgcttgggtg 100
 ttttgcagga tgatgggtggc ccttcgagga gcttctgcat tgctggttct 150
 gttccttgc gcttttctgc ccccgcgcga gtgtaccag gaccagcca 200
 tgggtgcatta catctaccag cgctttcgag tcttggagca agggctggaa 250

aaatgtacc aagcaacgag ggcatacatt caagaattcc aagagttctc 300
 aaaaaatata tctgtcatgc tgggaagatg tcagacctac acaagtgagt 350
 acaagagtgc agtgggtaac ttggcactga gagttgaacg tgcccaacgg 400
 gagattgact acatacaata ccttcgagag gctgacgagt gcatcgtatc 450
 agaggacaag aacttgccag aaatggtgct ccaagaagct gaagaagaga 500
 aaaagatccg gactctgctg aatgcaagct gtgacaacat gctgatgggc 550
 ataaagtctt tgaaaatagt gaagaagatg atggacacac atggctcttg 600
 gatgaaagat gctgtctata actctccaaa ggtgtactta ttaattggat 650
 ccagaaacaa cactgtttgg gaatttgcaa acatacgggc attcatggag 700
 gataacacca agccagctcc ccggaagcaa atcctaacac tttcctggca 750
 gggaacaggc caagtgatct acaaaggttt tctatTTTTT cataaccaag 800
 caacttctaa tgagataatc aaatataacc tgcagaagag gactgtggaa 850
 gatcgaatgc tgctcccagg aggggtaggc cgagcattgg tttaccagca 900
 ctccccctca acttacattg acctggctgt ggatgagcat gggctctggg 950
 ccatccactc tgggccaggc acctatagcc atttggttct cacaagatt 1000
 gagccgggca cactgggagt ggagcattca tgggataccc catgcagaag 1050
 ccaggatgct gaagcctcat tcctcttggtg tggggttctc tatgtggtct 1100
 acagtactgg gggccagggc cctcatcgca tcacctgcat ctatgatcca 1150
 ctgggacta tcagtgagga ggacttgccc aacttgttct tccccagag 1200
 accaagaagt cactccatga tccattaca cccagagat aagcagctct 1250
 atgctgga tgaaggaaac cagatcattt acaaaactcca gacaaagaga 1300
 aagctgcctc tgaagtaatg cattacagct gtgagaaaga gcactgtggc 1350
 tttggcagct gttctacagg acagtgaggc tatagcccct tcacaatata 1400
 gtatccctct aatcacacac aggaagagtg tgtagaagtg gaaatacgta 1450
 tgctccttt cccaaatgtc actgccttag gtatcttcca agagcttaga 1500
 tgagagcata tcatcaggaa agtttcaaca atgtccatta ctccccaaa 1550
 cctcctggct ctcaaggatg accacattct gatacagcct acttcaagcc 1600
 ttttgTTTT ctgctcccca gcatttactg taactctgcc atcttcctc 1650
 ccacaattag agttgtatgc cagcccctaa tattcaccac tggcttttct 1700
 ctccccctggc ctttgctgaa gctcttccct ctttttcaaa tgtctattga 1750
 tattctccca ttttcaactgc ccaactaaaa tactattaat atttctttct 1800
 tttcttttct tttttttgag acaaggctct actatggtgc ccaggctggg 1850
 ctcaaactcc agagctcaag agatcctcct gcctcagcct cctaagtacc 1900
 tgggattaca ggcattgtgcc accacacctg gcttaaaata ctatttctta 1950
 ttgaggTTTA acctctattt cccctagccc tgtccttcca ctaagcttgg 2000
 tagatgtaat aataaagtga aaatattaac atttgaatat cgctttccag 2050
 gtgtgggagt tttgcacatc attgaattct cgtttcacct ttgtgaaaca 2100
 tgcacaagtc tttacagctg tcattctaga gtttaggtga gtaacacaat 2150
 taaaaagtga aagatacagc tagaaaatac taaaaatccc atagtTTTT 2200
 cattgcccc ggaagcatca aatacgtatg tttgttcacc tactcttata 2250
 gtcaatgcgt tcatcgtttc agcctaaaaa taatagtctg tcccttttagc 2300
 cagttttcat gtctgcacaa gacctttcaa taggcctttc aaatgataat 2350
 tcctccagaa aaccagtcta agggtgagga cccaactct agcctcctct 2400
 tgtcttgctg tcctctgTTT ctctctttct gctttaaatt caataaaagt 2450
 gacactgagc aaaaaaaaaa aaaaa 2475

<210> 181

<211> 402

<212> PRT

<213> Homo Sapien

<400> 181

Met Met Val Ala Leu Arg Gly Ala Ser Ala Leu Leu Val Leu Phe
 1 5 10 15

Leu Ala Ala Phe Leu Pro Pro Pro Gln Cys Thr Gln Asp Pro Ala
 20 25 30
 Met Val His Tyr Ile Tyr Gln Arg Phe Arg Val Leu Glu Gln Gly
 35 40 45
 Leu Glu Lys Cys Thr Gln Ala Thr Arg Ala Tyr Ile Gln Glu Phe
 50 55 60
 Gln Glu Phe Ser Lys Asn Ile Ser Val Met Leu Gly Arg Cys Gln
 65 70 75
 Thr Tyr Thr Ser Glu Tyr Lys Ser Ala Val Gly Asn Leu Ala Leu
 80 85 90
 Arg Val Glu Arg Ala Gln Arg Glu Ile Asp Tyr Ile Gln Tyr Leu
 95 100 105
 Arg Glu Ala Asp Glu Cys Ile Val Ser Glu Asp Lys Thr Leu Ala
 110 115 120
 Glu Met Leu Leu Gln Glu Ala Glu Glu Glu Lys Lys Ile Arg Thr
 125 130 135
 Leu Leu Asn Ala Ser Cys Asp Asn Met Leu Met Gly Ile Lys Ser
 140 145 150
 Leu Lys Ile Val Lys Lys Met Met Asp Thr His Gly Ser Trp Met
 155 160 165
 Lys Asp Ala Val Tyr Asn Ser Pro Lys Val Tyr Leu Leu Ile Gly
 170 175 180
 Ser Arg Asn Asn Thr Val Trp Glu Phe Ala Asn Ile Arg Ala Phe
 185 190 195
 Met Glu Asp Asn Thr Lys Pro Ala Pro Arg Lys Gln Ile Leu Thr
 200 205 210
 Leu Ser Trp Gln Gly Thr Gly Gln Val Ile Tyr Lys Gly Phe Leu
 215 220 225
 Phe Phe His Asn Gln Ala Thr Ser Asn Glu Ile Ile Lys Tyr Asn
 230 235 240
 Leu Gln Lys Arg Thr Val Glu Asp Arg Met Leu Leu Pro Gly Gly
 245 250 255
 Val Gly Arg Ala Leu Val Tyr Gln His Ser Pro Ser Thr Tyr Ile
 260 265 270
 Asp Leu Ala Val Asp Glu His Gly Leu Trp Ala Ile His Ser Gly
 275 280 285
 Pro Gly Thr His Ser His Leu Val Leu Thr Lys Ile Glu Pro Gly
 290 295 300
 Thr Leu Gly Val Glu His Ser Trp Asp Thr Pro Cys Arg Ser Gln
 305 310 315
 Asp Ala Glu Ala Ser Phe Leu Leu Cys Gly Val Leu Tyr Val Val
 320 325 330
 Tyr Ser Thr Gly Gly Gln Gly Pro His Arg Ile Thr Cys Ile Tyr
 335 340 345
 Asp Pro Leu Gly Thr Ile Ser Glu Glu Asp Leu Pro Asn Leu Phe
 350 355 360
 Phe Pro Lys Arg Pro Arg Ser His Ser Met Ile His Tyr Asn Pro
 365 370 375
 Arg Asp Lys Gln Leu Tyr Ala Trp Asn Glu Gly Asn Gln Ile Ile
 380 385 390
 Tyr Lys Leu Gln Thr Lys Arg Lys Leu Pro Leu Lys
 395 400 402

<210> 182

<211> 1337

<212> DNA

<213> Homo Sapien

<400> 182

```

gttgatggca aacttcctca aaggaggggc agagcctgcg cagggcagga 50
gcagctggcc cactggcggc ccgcaacact ccgtctcacc ctctgggccc 100
actgcatcta gaggagggcc gtctgtgagg ccaactaccc tccagcaact 150
gggaggtggg actgtcagaa gctggccccag ggtggtggtc agctgggtca 200
gggacctacg gcacctgctg gaccacctcg ccttctccat cgaagcaggg 250
aagtgggagc ctcgagccct cgggtggaag ctgaccccaa gccacccttc 300
acctggacag gatgagagtg tcaggtgtgc ttgcctcctt ggccctcatc 350
tttgccatag tcacgacatg gatgtttatt cgaagctaca tgagcttcag 400
catgaaaacc atccgtctgc cacgctggct ggcagcctcg cccaccaagg 450
agatccaggt taaaaagtac aagtgtggcc tcatcaagcc ctgcccagcc 500
aactactttg cgttttaaaat ctgcagtggg gccgccaacg tcgtgggccc 550
tactatgtgc tttgaagacc gcatgatcat gagtcctgtg aaaaacaatg 600
tgggcagagg cctaaacatc gccctgggtga atggaaccac gggagctgtg 650
ctgggacaga aggcatttga catgtactct ggagatgtta tgcacctagt 700
gaaattcctt aaagaaattc cggggggtgc actggtgctg gtggcctcct 750
acgacgatcc agggaccaaaa atgaacgatg aaagcaggaa actcttctct 800
gacttgggga gttcctacgc aaaacaactg ggcttccggg acagctgggt 850
cttcatagga gccaaagacc tcaggggtaa aagccccttt gagcagttct 900
taaagaacag cccagacaca aacaaatacg agggatggcc agagctgctg 950
gagatggagg gctgcatgcc cccgaagcca ttttaggggtg gctgtggctc 1000
ttcctcagcc aggggcctga agaagctcct gcctgactta ggagtcagag 1050
cccggcaggg gctgaggagg aggagcaggg ggtgctgcgt ggaaggtgct 1100
gcaggtcctt gcacgctgtg tcgcgcctct cctcctcgga aacagaacc 1150
tcccacagca catcctaccc ggaagaccag cctcagaggg tccttctgga 1200
accagctgtc tgtggagaga atgggggtgct ttcgtcaggg actgctgacg 1250
gctggtcctg aggaaggaca aactgcccag acttgagccc aattaaattt 1300
tatttttgct ggttttgaaa aaaaaaaaa aaaaaaa 1337

```

<210> 183

<211> 224

<212> PRT

<213> Homo Sapien

<400> 183

```

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

```

	110	115	120
Met Tyr Ser Gly Asp Val Met His Leu Val Lys Phe Leu Lys Glu			
	125	130	135
Ile Pro Gly Gly Ala Leu Val Leu Val Ala Ser Tyr Asp Asp Pro			
	140	145	150
Gly Thr Lys Met Asn Asp Glu Ser Arg Lys Leu Phe Ser Asp Leu			
	155	160	165
Gly Ser Ser Tyr Ala Lys Gln Leu Gly Phe Arg Asp Ser Trp Val			
	170	175	180
Phe Ile Gly Ala Lys Asp Leu Arg Gly Lys Ser Pro Phe Glu Gln			
	185	190	195
Phe Leu Lys Asn Ser Pro Asp Thr Asn Lys Tyr Glu Gly Trp Pro			
	200	205	210
Glu Leu Leu Glu Met Glu Gly Cys Met Pro Pro Lys Pro Phe			
	215	220	224

<210> 184

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 184

gccatagtca cgacatggat g 21

<210> 185

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 185

ggatggccag agctgctg 18

<210> 186

<211> 26

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 186

aaagtacaag tgtggcctca tcaagc 26

<210> 187

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 187

tctgactcct aagtcaggca ggag 24

<210> 188

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 188
 attctctcca cagacagctg gttc 24
 <210> 189
 <211> 46
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 189
 gtacaagtgt ggcctcatca agccctgccc agccaactac tttgcg 46
 <210> 190
 <211> 3225
 <212> DNA
 <213> Homo Sapien
 <400> 190
 gggggagcta ggccggcggc agtgggtggg gcgggcggcg aagggtgagg 50
 gcggccccag aaccccagggt aggtagagca agaagatggg gtttctgccc 100
 ctcaaatggt cccttgcaac catgtcattt ctactttcct cactgttggc 150
 tctcttaact gtgtccactc cttcatggg tccagagcact gaagcatctc 200
 caaacgtag tgatgggaca ccatttcctt ggaataaaat acgacttcct 250
 gagtacgtca tcccagttca ttatgatctc ttgatccatg caaaccttac 300
 cacgctgacc ttctggggaa ccacgaaagt agaaatcaca gccagtcagc 350
 ccaccagcac catcatcctg catagtcacc acctgcagat atctagggcc 400
 acctcagga agggagctgg agagaggcta tcggaagaac ccctgcagg 450
 cctggaacac cccctcagg agcaaatgc actgctggct cccgagcccc 500
 tccttgtcgg gctcccgtac acagttgtca ttcactatgc tggcaatctt 550
 tcggagactt tccacggatt ttacaaaagc acctacagaa ccaaggaagg 600
 ggaactgagg atactagcat caacacaatt tgaaccact gcagctagaa 650
 tggcctttcc ctgctttgat gaacctgcct tcaaagcaag tttctcaatc 700
 aaaattagaa gagagccaag gcacctagcc atctccaata tgccattggg 750
 gaaatctgtg actggtgctg aaggactcat agaagaccat tttgatgtca 800
 ctgtgaagat gagcacctat ctggtggcct tcatcatttc agatcttgag 850
 tctgtcagca agataaccaa gagtggagtc aaggtttctg tttatgctgt 900
 gccagacaag ataaatcaag cagattatgc actggatgct gcggtgactc 950
 ttctagaatt ttatgaggat tatttcagca taccgtatcc cctacccaaa 1000
 caagatcttg ctgctattcc cgactttcag tctggtgcta tggaaaactg 1050
 gggactgaca acatatagag aatctgctct gttgtttgat gcagaaaagt 1100
 cttctgcatc aagtaagcct ggcatcacag tgactgtggc ccatgaactg 1150
 gccaccagt ggtttgggaa cctggtcact atggaatggg ggaatgatct 1200
 ttggctaaat gaaggatttg ccaaatttat ggagtttgtg tctgtcagtg 1250
 tgacccatcc tgaactgaaa gttggagatt atttctttgg caaatgtttt 1300
 gagcfaatgg aggtagatgc tttaaattcc tcacaccctg tgtctacacc 1350
 tgtggaaaat cctgctcaga tccgggagat gtttgatgat gtttcttatg 1400
 ataagggagc ttgtattctg aatatgctaa gggagtatct tagcgctgac 1450
 gcatttaaaa gtgggtattgt acagtatctc cagaagcata gctataaaaa 1500
 tacaaaaaac gaggacctgt gggatagtat ggcaagtatt tgccctacag 1550
 atggtgtaaa agggatggat ggcttttgct ctagaagtca acattcatct 1600
 tcatcctcac attggcatca ggaaggggtg gatgtgaaaa ccatgatgaa 1650
 cacttggaca ctgcagaggg gttttcccct aataaccatc acagtgaggg 1700
 ggaggaatgt acacatgaag caagagcact acatgaaggg ctctgacggc 1750
 gccccggaca ctgggtacct gtggcatggt ccattgacat tcatcaccag 1800

caaatccaac atggtccatc gatttttgct aaaaacaaaa acagatgtgc 1850
 tcatcctccc agaagaggtg gaatggatca aatttaatgt gggcatgaat 1900
 ggctattaca ttgtgcatta cgaggatgat ggatgggact ctttgactgg 1950
 ctttttaaaa ggaacacaca cagcagtcag cagtaatgat cgggcaagtc 2000
 tcattaacaa tgcatttcag ctcgtcagca ttgggaagct gtccattgaa 2050
 aaggccttgg atttatccct gtacttgaaa catgaaactg aaattatgcc 2100
 cgtgtttcaa ggtttgaatg agctgattcc tatgtataag ttaatggaga 2150
 aaagagatat gaatgaagtg gaaactcaat tcaaggcctt cctcatcagg 2200
 ctgctaaggg acctcattga taagcagaca tggacagacg agggctcagt 2250
 ctcagagcaa atgctgcgga gtgaactact actcctcgcc tgtgtgcaca 2300
 actatcagcc gtgcgtacag agggcagaag gctatttcag aaagtggaag 2350
 gaatccaatg gaaacttgag cctgcctgtc gacgtgacct tggcagtgtt 2400
 tgctgtgggg gccagagca cagaaggctg ggattttctt tatagtaaat 2450
 atcagtttcc tttgtccagt actgagaaaa gccaaattga atttgccctc 2500
 tgcagaacct aaaataagga aaagcttcaa tggctactag atgaaagctt 2550
 taagggagat aaaataaaaa ctcaggagtt tccacaaatt cttacactca 2600
 ttggcaggaa cccagtagga taccactgg cctggcaatt tctgaggaaa 2650
 aactggaaca aacttgatca aaagtttgaa cttggctcat cttccatagc 2700
 ccacatggta atgggtacaa caaatcaatt ctccacaaga acacggcttg 2750
 aagaggtaaa aggattcttc agctctttga aagaaaatgg ttctcagctc 2800
 cgttgtgtcc aacagacaat tgaaccatt gaagaaaaca tcggttggat 2850
 ggataagaat tttgataaaa tcagagtgtg gctgcaaagt gaaaagcttg 2900
 aacgtatgta aaaattcctc cttgcccgg ttctgttat ctctaatac 2950
 caacattttg ttgagtgtat tttcaaacta gagatggctg ttttggctcc 3000
 aactggagat acttttttcc cttcaactca ttttttgact atccctgtga 3050
 aaagaatagc tgtagtgggt tcatgaatgg gctttttcat gaatgggcta 3100
 tcgctaccat gtgttttggt catcacaggt gttgccctgc aacgtaaacc 3150
 caagtgttgg gttccctgcc acagaagaat aaagtacctt attcttctca 3200
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 3225

<210> 191

<211> 941

<212> PRT

<213> Homo Sapien

<400> 191

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

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

Leu Gln Arg Gly Phe Pro Leu Ile Thr Ile Thr Val Arg Gly Arg
 530 535 540
 Asn Val His Met Lys Gln Glu His Tyr Met Lys Gly Ser Asp Gly
 545 550 555
 Ala Pro Asp Thr Gly Tyr Leu Trp His Val Pro Leu Thr Phe Ile
 560 565 570
 Thr Ser Lys Ser Asn Met Val His Arg Phe Leu Leu Lys Thr Lys
 575 580 585
 Thr Asp Val Leu Ile Leu Pro Glu Glu Val Glu Trp Ile Lys Phe
 590 595 600
 Asn Val Gly Met Asn Gly Tyr Tyr Ile Val His Tyr Glu Asp Asp
 605 610 615
 Gly Trp Asp Ser Leu Thr Gly Leu Leu Lys Gly Thr His Thr Ala
 620 625 630
 Val Ser Ser Asn Asp Arg Ala Ser Leu Ile Asn Asn Ala Phe Gln
 635 640 645
 Leu Val Ser Ile Gly Lys Leu Ser Ile Glu Lys Ala Leu Asp Leu
 650 655 660
 Ser Leu Tyr Leu Lys His Glu Thr Glu Ile Met Pro Val Phe Gln
 665 670 675
 Gly Leu Asn Glu Leu Ile Pro Met Tyr Lys Leu Met Glu Lys Arg
 680 685 690
 Asp Met Asn Glu Val Glu Thr Gln Phe Lys Ala Phe Leu Ile Arg
 695 700 705
 Leu Leu Arg Asp Leu Ile Asp Lys Gln Thr Trp Thr Asp Glu Gly
 710 715 720
 Ser Val Ser Glu Gln Met Leu Arg Ser Glu Leu Leu Leu Leu Ala
 725 730 735
 Cys Val His Asn Tyr Gln Pro Cys Val Gln Arg Ala Glu Gly Tyr
 740 745 750
 Phe Arg Lys Trp Lys Glu Ser Asn Gly Asn Leu Ser Leu Pro Val
 755 760 765
 Asp Val Thr Leu Ala Val Phe Ala Val Gly Ala Gln Ser Thr Glu
 770 775 780
 Gly Trp Asp Phe Leu Tyr Ser Lys Tyr Gln Phe Ser Leu Ser Ser
 785 790 795
 Thr Glu Lys Ser Gln Ile Glu Phe Ala Leu Cys Arg Thr Gln Asn
 800 805 810
 Lys Glu Lys Leu Gln Trp Leu Leu Asp Glu Ser Phe Lys Gly Asp
 815 820 825
 Lys Ile Lys Thr Gln Glu Phe Pro Gln Ile Leu Thr Leu Ile Gly
 830 835 840
 Arg Asn Pro Val Gly Tyr Pro Leu Ala Trp Gln Phe Leu Arg Lys
 845 850 855
 Asn Trp Asn Lys Leu Val Gln Lys Phe Glu Leu Gly Ser Ser Ser
 860 865 870
 Ile Ala His Met Val Met Gly Thr Thr Asn Gln Phe Ser Thr Arg
 875 880 885
 Thr Arg Leu Glu Glu Val Lys Gly Phe Phe Ser Ser Leu Lys Glu
 890 895 900
 Asn Gly Ser Gln Leu Arg Cys Val Gln Gln Thr Ile Glu Thr Ile
 905 910 915

Glu Glu Asn Ile Gly Trp Met Asp Lys Asn Phe Asp Lys Ile Arg
 920 925 930
 Val Trp Leu Gln Ser Glu Lys Leu Glu Arg Met
 935 940 941

<210> 192
 <211> 2213
 <212> DNA
 <213> Homo Sapien
 <400> 192

gagcgaacat ggcagcgcgt tggcggtttt ggtgtgtctc tgtgaccatg 50
 gtgggtggcg tgctcatcgt ttgcgacggt ccctcagcct ctgcccaaag 100
 aaagaaggag atgggtgttat ctgaaaagggt tagtcagctg atggaatgga 150
 ctaacaaaag acctgtaata agaatgaatg gagacaagtt ccgtcgcctt 200
 gtgaaagccc caccgagaaa ttactccggt atcgtcatgt tctactgctc 250
 ccaactgcat agacagtgtg tcgtttgcaa gcaagctgat gaagaattcc 300
 agatcctggc aaactcctgg cgatactcca gtgcattcac caacaggata 350
 ttttttgcca tgggtggattt tgatgaaggc tctgatgtat ttcagatgct 400
 aaacatgaat tcagctccaa ctttcatcaa ctttctgca aaagggaaac 450
 ccaaacgggg tgatacatat gagttacagg tgcgggggtt ttcagctgag 500
 cagattgccc ggtggatcgc cgacagaact gatgtcaata ttagagtgat 550
 tagaccccca aattatgctg gtccccttat gttgggattg cttttggctg 600
 ttattggtgg acttgtgtat cttcgaagaa gtaatatgga atttctctt 650
 aataaaactg gatgggcttt tgcagctttg tgttttgtgc ttgctatgac 700
 atctgggtcaa atgtggaacc atataagagg accaccatat gcccataaga 750
 atccccacac gggacatgtg aattatatcc atggaagcag tcaagcccag 800
 tttgtagctg aaacacacat tgttctctctg tttaatgggtg gagttacctt 850
 agaatgggtg cttttatgtg aagctgctac ctctgacatg gatattggaa 900
 agcgaagat aatgtgtgtg gctggatttg gacttgttgt attattcttc 950
 agttggatgc tctctatttt tagatctaaa tatcatggct acccatacag 1000
 ctttctgatg agttaaaaaag gtcccagaga tatatagaca ctggagtact 1050
 ggaaattgaa aaacgaaaat cgtgtgtgtt tgaaaagaag aatgcaactt 1100
 gtatattttg tattacctct ttttttcaag tgattttaat agttaatcat 1150
 ttaaccaaag aagatgtgta gtgccttaac aagcaatcct ctgtcaaaat 1200
 ctgaggtatt tgaaaataat tatcctctta accttctctt cccagtgaac 1250
 tttatggaac atttaattta gtacaattaa gtatattata aaaattgtaa 1300
 aactactact ttgttttagt tagaacaag ctcaaaacta ctttagttaa 1350
 cttgggtcatc tgattttata ttgccttacc caaagatggg gaaagtaagt 1400
 cctgaccagg tgttcccaca tatgcctggt acagataact acattaggaa 1450
 ttcattctta gcttcttcat ctttgtgtgg atgtgtatac tttacgcatc 1500
 tttccttttg agtagagaaa ttatgtgtgt catgtggtct tctgaaaatg 1550
 gaacaccatt cttcagagca cacgtctagc cctcagcaag acagttgttt 1600
 ctctcctcc ttgcatattt cctactgcgc tccagcctga gtgatagagt 1650
 gagactctgt ctcaaaaaaa agtatctcta aatacaggat tataatttct 1700
 gcttgagtat ggtgttaact acctgtatt tagaaagatt tcagattcat 1750
 tccatctcct tagttttctt ttaagggtgac ccatctgtga taaaaatata 1800
 gcttagtgct aaaatcagtg taacttatac atggcctaaa atgtttctac 1850
 aaattagagt ttgtcactta ttccatttgt acctaaagaga aaaataggct 1900
 cagttagaaa aggactccct ggccaggcgc agtgacttac gcctgtaatc 1950
 tcagcacttt gggaggccaa ggcaggcaga tcacgaggtc aggagttcga 2000
 gaccatcctg gccaacatgg tgaaaccccg tctctactaa aaatataaaa 2050
 attagctggg tgtggtggca ggagcctgta atcccagcta cacaggaggc 2100
 tgaggcacga gaatcacttg aactcaggag atggagggtt cagtgagccg 2150

```

agatcacgcc actgcactcc agcctggcaa cagagcgaga ctccatctca 2200
aaaaaaaaaa aaa 2213
<210> 193
<211> 335
<212> PRT
<213> Homo Sapien
<400> 193
Met Ala Ala Arg Trp Arg Phe Trp Cys Val Ser Val Thr Met Val
 1          5          10          15
Val Ala Leu Leu Ile Val Cys Asp Val Pro Ser Ala Ser Ala Gln
 20          25          30
Arg Lys Lys Glu Met Val Leu Ser Glu Lys Val Ser Gln Leu Met
 35          40          45
Glu Trp Thr Asn Lys Arg Pro Val Ile Arg Met Asn Gly Asp Lys
 50          55          60
Phe Arg Arg Leu Val Lys Ala Pro Pro Arg Asn Tyr Ser Val Ile
 65          70          75
Val Met Phe Thr Ala Leu Gln Leu His Arg Gln Cys Val Val Cys
 80          85          90
Lys Gln Ala Asp Glu Glu Phe Gln Ile Leu Ala Asn Ser Trp Arg
 95          100         105
Tyr Ser Ser Ala Phe Thr Asn Arg Ile Phe Phe Ala Met Val Asp
 110         115         120
Phe Asp Glu Gly Ser Asp Val Phe Gln Met Leu Asn Met Asn Ser
 125         130         135
Ala Pro Thr Phe Ile Asn Phe Pro Ala Lys Gly Lys Pro Lys Arg
 140         145         150
Gly Asp Thr Tyr Glu Leu Gln Val Arg Gly Phe Ser Ala Glu Gln
 155         160         165
Ile Ala Arg Trp Ile Ala Asp Arg Thr Asp Val Asn Ile Arg Val
 170         175         180
Ile Arg Pro Pro Asn Tyr Ala Gly Pro Leu Met Leu Gly Leu Leu
 185         190         195
Leu Ala Val Ile Gly Gly Leu Val Tyr Leu Arg Arg Ser Asn Met
 200         205         210
Glu Phe Leu Phe Asn Lys Thr Gly Trp Ala Phe Ala Ala Leu Cys
 215         220         225
Phe Val Leu Ala Met Thr Ser Gly Gln Met Trp Asn His Ile Arg
 230         235         240
Gly Pro Pro Tyr Ala His Lys Asn Pro His Thr Gly His Val Asn
 245         250         255
Tyr Ile His Gly Ser Ser Gln Ala Gln Phe Val Ala Glu Thr His
 260         265         270
Ile Val Leu Leu Phe Asn Gly Gly Val Thr Leu Gly Met Val Leu
 275         280         285
Leu Cys Glu Ala Ala Thr Ser Asp Met Asp Ile Gly Lys Arg Lys
 290         295         300
Ile Met Cys Val Ala Gly Ile Gly Leu Val Val Leu Phe Phe Ser
 305         310         315
Trp Met Leu Ser Ile Phe Arg Ser Lys Tyr His Gly Tyr Pro Tyr
 320         325         330
Ser Phe Leu Met Ser

```

<210> 194

<211> 2476

<212> DNA

<213> Homo Sapien

<400> 194

```

aagcaaccaa actgcaagct ttgggagttg ttcgctgtcc ctgccctgct 50
ctgctagggg gagaacgcc gagggaggcg gctggcccg cggcaggctc 100
tcagaaccgc taccggcgat gctactgctg tgggtgtcgg tggtcgcagc 150
cttggcgctg gcggtactgg cccccggagc aggggagcag aggcggagag 200
cagccaaagc gcccaatgtg gtgctggctg tgagcgactc cttcgatgga 250
aggttaacat ttcatccagg aagtcaggta gtgaaacttc cttttatcaa 300
ctttatgaag acacgtggga cttcctttct gaatgcctac acaaactctc 350
caatttgttg cccatcacgc gcagcaatgt ggagtggcct cttcactcac 400
ttaacagaat cttggaataa ttttaagggt ctagatccaa attatacaac 450
atggatggat gtcatggaga ggcatggcta ccgaacacag aaatttggga 500
aactggacta tacttcagga catcactcca ttagtaatcg tgtggaagcg 550
tggaacaagag atgttgcttt cttactcaga caagaaggca ggcccatggt 600
taatcttacc cgtaacagga ctaaagtcag agtgatggaa agggattggc 650
agaatacaga caaagcagta aactggttaa gaaaggaagc aattaattac 700
actgaacatc ttgttattta cttgggatta aatttaccac acccttacc 750
ttcaccatct tctggagaaa attttggatc ttcaacattt cacacatctc 800
tttattggct tgaaaaagtg tctcatgatg ccatcaaaat cccaaagtgg 850
tcaccttgtg cagaaatgca ccctgtagat tattactctt cttatacaaa 900
aaactgcact ggaagattta caaaaaaga aattaagaat attagagcat 950
tttattatgc tatgtgtgct gagacagatg ccatgcttgg tgaaattatt 1000
ttggcccttc atcaattaga tcttcttcag aaaactattg tcatatactc 1050
ctcagaccat ggagagctgg ccatggaaca tcgacagttt tataaaatga 1100
gcatgtacga ggctagtgca catgttccgc ttttgatgat gggaccagga 1150
attaaagccg gcctacaagt atcaaatgtg gtttctcttg tggatattta 1200
ccctaccatg cttgatattg ctggaattcc tctgcctcag aacctgagtg 1250
gatactcttt gttgccgtta tcatcagaaa catttaagaa tgaacataaa 1300
gtcaaaaacc tgcatccacc ctggattctg agtgaattcc atggatgtaa 1350
tgtgaatgcc tccacctaca tgcttogaac taaccactgg aaatatatag 1400
cctattcggg tggtgcatca atattgcctc aactctttga tctttcctcg 1450
gatccagatg aattaacaaa tgttgctgta aaatttccag aaattactta 1500
ttctttggat cagaagcttc attccattat aaactacct aaagtttctg 1550
cttctgtcca ccagtataat aaagagcagt ttatcaagtg gaaacaaagt 1600
ataggacaga attattcaaa cgttatagca aatcttaggt ggcaccaaga 1650
ctggcagaag gaaccaagga agtatgaaaa tgcaattgat cagtggctta 1700
aaaccctatg gaatccaaga gcagtttgaa caaaaagttt aaaaatagtg 1750
ttctagagat acatataaat atattacaag atcataatta tgtattttta 1800
atgaaacagt ttaataaatt accaagtttt ggccggggcac agtggctcac 1850
acctgtaac ccaggacttt gggaggctga ggaaagcaga tcacaaggtc 1900
aagagattga gaccatcctg gccaacatgg tgaaaccctg tctctactaa 1950
aaatacaaaa attagctggg cgcggtggtg cacacctata gtctcagcta 2000
ctcagaggct gaggcaggag gatcgcttga acccgggagg cagcagttgc 2050
agtgagctga gattgcgcca ctgtactcca gcctggcaac agagtgagac 2100
tgtgtcgcaa aaaaaataaa ataaaaaat aataattacc aatttttcat 2150
tattttgtaa gaatgtagtg tattttaaga taaaatgcca atgattataa 2200
aatcacatat tttcaaaaat gggtattatt taggcctttg tacaatttct 2250
aacaatttag tggaagtatc aaaaggattg aagcaatac tgtaacagtt 2300

```

atgttccttt aaataataga gaatataaaa tattgtaata atatgtatca 2350
 taaaatagtt gtatgtgagc atttgatggt gaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2400
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2450
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaa 2476

<210> 195

<211> 536

<212> PRT

<213> Homo Sapien

<400> 195

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

	320		325		330
Glu Ala Ser Ala His Val Pro Leu Leu Met Met Gly Pro Gly Ile					
	335		340		345
Lys Ala Gly Leu Gln Val Ser Asn Val Val Ser Leu Val Asp Ile					
	350		355		360
Tyr Pro Thr Met Leu Asp Ile Ala Gly Ile Pro Leu Pro Gln Asn					
	365		370		375
Leu Ser Gly Tyr Ser Leu Leu Pro Leu Ser Ser Glu Thr Phe Lys					
	380		385		390
Asn Glu His Lys Val Lys Asn Leu His Pro Pro Trp Ile Leu Ser					
	395		400		405
Glu Phe His Gly Cys Asn Val Asn Ala Ser Thr Tyr Met Leu Arg					
	410		415		420
Thr Asn His Trp Lys Tyr Ile Ala Tyr Ser Asp Gly Ala Ser Ile					
	425		430		435
Leu Pro Gln Leu Phe Asp Leu Ser Ser Asp Pro Asp Glu Leu Thr					
	440		445		450
Asn Val Ala Val Lys Phe Pro Glu Ile Thr Tyr Ser Leu Asp Gln					
	455		460		465
Lys Leu His Ser Ile Ile Asn Tyr Pro Lys Val Ser Ala Ser Val					
	470		475		480
His Gln Tyr Asn Lys Glu Gln Phe Ile Lys Trp Lys Gln Ser Ile					
	485		490		495
Gly Gln Asn Tyr Ser Asn Val Ile Ala Asn Leu Arg Trp His Gln					
	500		505		510
Asp Trp Gln Lys Glu Pro Arg Lys Tyr Glu Asn Ala Ile Asp Gln					
	515		520		525
Trp Leu Lys Thr His Met Asn Pro Arg Ala Val					
	530		535 536		

<210> 196

<211> 771

<212> DNA

<213> Homo Sapien

<400> 196

```

ctccactgca accaccaga gccatggctc cccgaggctg catcgtagct 50
gtctttgcca ttttctgcat ctccaggctc ctctgctcac acggagcccc 100
agtggcccc atgactcctt acctgatgct gtgccagcca cacaagagat 150
gtggggacaa gttctacgac cccctgcagc actggttgcta tgatgatgcc 200
gtcgtgccct tggccaggac ccagacgtgt ggaaactgca ccttcagagt 250
ctgctttgag cagtgctgcc cctggacctt catggtgaag ctgataaacc 300
agaactgcga ctccagccgg acctcggatg acaggctttg tcgcagtgtc 350
agctaattga acatcagggg aacgatgact cctggattct ccttcctggg 400
tgggcctgga gaaagaggct ggtgttacct gagatctggg atgctgagtg 450
gctgtttggg ggccagagaa acacacactc aactgcccac ttcattctgt 500
gacctgtctg aggcccacc tgcagctgcc ctgaggaggc ccacaggtcc 550
ccttctagaa ttctggacag catgagatgc gtgtgctgat gggggcccag 600
ggactctgaa ccctcctgat gaccctatg gccaacatca acccggcacc 650
acccaaggc tggctgggga acccttcacc cttctgtgag attttccatc 700
atctcaagtt ctcttctatc caggagcaaa gcacaggatc ataataaatt 750
tatgtacttt ataaatgaaa a 771

```

<210> 197

<211> 110

<212> PRT

<213> Homo Sapien

<400> 197

```

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

```

<210> 198

<211> 693

<212> DNA

<213> Homo Sapien

<400> 198

```

ctagcctgcg ccaaggggta gtgagaccgc gcggaacag cttgcggctg 50
cggggagctc ccgtggggcg tccgctggct gtgcaggcgg ccatggattc 100
cttgccgaaa atgctgatct cagtcgcaat gctgggcgca ggggctggcg 150
tgggctacgc gtcctcgtt atcgtgaccc cgggagagcg gcggaagcag 200
gaaatgctaa aggagatgcc actgcaggac ccaaggagca gggaggaggc 250
ggccaggacc cagcagctat tgctggccac tctgcaggag gcagcgacca 300
cgcaggagaa cgtggcctgg aggaagaact ggatggttgg cggcgaaggc 350
ggcgccagcg ggaggtcacc gtgagaccgg acttgccctc gtgggcgccg 400
gaccttggct tgggcgccag aatccgaggc agcctttctc cttcgtgggc 450
ccagcggaga gtccggaccg agataccatg ccaggactct ccggggtcct 500
gtgagctgcc gtcgggtgag cacgtttccc ccaaaccctg gactgactgc 550
ttaaagttcc gcaaggcggg ccagggccga gacgcgagtc ggatgtggtg 600
aactgaaaga accaataaaa tcatgttctt ccaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 650
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaa 693

```

<210> 199

<211> 93

<212> PRT

<213> Homo Sapien

<400> 199

```

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

```

65 70 75
 Trp Arg Lys Asn Trp Met Val Gly Gly Glu Gly Gly Ala Ser Gly
 80 85 90

Arg Ser Pro
 93

<210> 200

<211> 1883

<212> DNA

<213> Homo Sapien

<400> 200

```

caggagagaa ggcaccgccc ccaccccgcc tccaaagcta accctcgggc 50
ttgaggggaa gaggctgact gtacgttccct tctactctgg caccactctc 100
caggctgccca tggggcccag caccctctc ctcatcttgt tccttttgtc 150
atggtcggga ccctccaag gacagcagca ccaccttggt gagtacctgg 200
aacgccgact agctgcttta gaggaacggc tggcccagtg ccaggaccag 250
agtagtcggc atgctgctga gctgcgggac ttcaagaaca agatgctgcc 300
actgctggag gtggcagaga aggagcggga ggcactcaga actgaggccg 350
acaccatctc cgggagagtg gatcgtctgg agcgggaggt agactatctg 400
gagaccaga acccagctct gccctgtgta gagtttgatg agaaggtgac 450
tggaggccct gggaccaaag gcaagggaag aaggaatgag aagtacgata 500
tggtgacaga ctgtggctac acaatctctc aagtgagatc aatgaagatt 550
ctgaagcgat ttggtggccc agctggtcta tggaccaagg atccactggg 600
gcaaacagag aagatctacg tgtagatgg gacacagaat gacacagcct 650
ttgtcttccc aaggctgcgt gacttcaccc ttgccatggc tgcccggaaa 700
gcttcccag tccgggtgcc cttcccctgg gtaggcacag ggcagctggt 750
atatggtggc tttctttatt ttgctcggag gcctcctgga agacctggtg 800
gagtggtgta gatggagaac actttgcagc taatcaaatt ccacctggca 850
aaccgaacag tggtagacag ctcaagtatt ccagcagagg ggctgatccc 900
cccctacggc ttgacagcag acacctacat cgacctggta gctgatgagg 950
aaggtctttg ggctgtctat gccacccggg aggatgacag gcacttgtgt 1000
ctggccaagt tagatccaca gacactggac acagagcagc agtgggacac 1050
accatgtccc agagagaatg ctgaggctgc ctttgtcadc tgtgggacc 1100
tctatgtcgt ctataacacc cgtcctgcca gtccggccc cactccctta 1150
tcctttgatg ccagcggcac cctgacccct gaacgggcag cactccctta 1200
tttccccgc agatatggtg cccatgccag cctccgctat aacccccgag 1250
aacgccagct ctatgcctgg gatgatggct accagattgt ctataagctg 1300
gagatgagga agaaagagga ggaggtttga ggagctagcc ttgttttttg 1350
catctttctc actcccatac atttatatta tatcccact aaatttcttg 1400
ttcctcattc ttcaaagtgt ggccagttgt ggctcaaadc ctctatattt 1450
ttagccaatg gcaatcaaat tctttcagct cctttgtttc atacggaact 1500
ccagatcctg agtaatcctt ttagagcccg aagagtcaaa accctcaatg 1550
ttccctcctg ctctcctgcc ccatgtcaac aaatttcagg ctaaggatgc 1600
ccagaccca gggctctaac cttgtatgag ggcaggcca gggagcaggc 1650
agcagtgttc ttcccctcag agtgacttgg ggagggagaa ataggaggag 1700
acgtccagct ctgtcctctc ttccctcact ctcccttcag tgtcctgagg 1750
aacaggactt tctccacatt gttttgtatt gcaacatttt gcattaaaag 1800
gaaaatccac aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1850
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaa 1883
    
```

<210> 201

<211> 406

<212> PRT

<213> Homo Sapien

<400> 201

```

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

```

380 385 390
 Tyr Gln Ile Val Tyr Lys Leu Glu Met Arg Lys Lys Glu Glu Glu
 395 400 405

Val
 406

<210> 202
 <211> 1091
 <212> DNA
 <213> Homo Sapien
 <400> 202

```

caagcaggtc atccccttgg tgaccttcaa agagaagcag agagggcaga 50
ggtagggggc acagggaaag ggtgacctct gagattcccc ttttccccca 100
gactttggaa gtgacctacc atggggctca gcatcttttt gctcctgtgt 150
gttcttgggc tcagccaggc agccacaccg aagattttca atggcactga 200
gtgtgggctg aactcacagc cgtggcaggt ggggctgttt gagggcacca 250
gcctgcgctg cgggggtgtc cttattgacc acagggtgggt cctcacagcg 300
gctcactgca gcggcagcag gtactgggtg cgcttggggg aacacagcct 350
cagccagctc gactggaccg agcagatccg gcacagcggc ttctctgtga 400
ccatcccgg ctacctggga gcctcgacga gccacgagca cgacctccgg 450
ctgctgctgc tgcgctgcc cgtcccgta accagcagcg ttcaaccct 500
gcccctgccc aatgactgtg caaccgctgg caccgagtgc cagctctcag 550
gctggggcat caccaaccac ccacggaacc cattcccgga tctgctccag 600
tgcctcaacc tctccatcgt ctcccatgcc acctgccatg gtgtgtatcc 650
cgggagaatc acgagcaaca tgggtgtgtg agggggcgtc cgggggcagg 700
atgcttgcca ggtgattct gggggcccc tgggtgtgtg gggagtcctt 750
caaggtctgg tgtcctgggg gtctgtgggg cctgtggac aagatggcat 800
ccctggagtc tacacctata tttgcaagta tgtggactgg atccggatga 850
tcatgaggaa caactgacct gtttctcca cctccacccc cacccttaa 900
cttgggtacc cctctggccc tcagagcacc aatatctct ccatcacttc 950
ccctagctcc actcttgttg gcctgggaac ttcttggaac tttaactcct 1000
gccagccctt ctaagaccca cgagcggggg gagagaagtg tgcaatagtc 1050
tggaataaat ataaatgaag gaggggcaaa aaaaaaaaaa a 1091
    
```

<210> 203
 <211> 248
 <212> PRT
 <213> Homo Sapien
 <400> 203

```

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

	110		115		120
Thr Ser Ser Val	Gln Pro Leu Pro Leu	Pro Asn Asp Cys Ala Thr			
	125		130		135
Ala Gly Thr Glu Cys His Val Ser Gly Trp Gly Ile Thr Asn His					
	140		145		150
Pro Arg Asn Pro Phe Pro Asp Leu Leu Gln Cys Leu Asn Leu Ser					
	155		160		165
Ile Val Ser His Ala Thr Cys His Gly Val Tyr Pro Gly Arg Ile					
	170		175		180
Thr Ser Asn Met Val Cys Ala Gly Gly Val Pro Gly Gln Asp Ala					
	185		190		195
Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Gly Gly Val Leu					
	200		205		210
Gln Gly Leu Val Ser Trp Gly Ser Val Gly Pro Cys Gly Gln Asp					
	215		220		225
Gly Ile Pro Gly Val Tyr Thr Tyr Ile Cys Lys Tyr Val Asp Trp					
	230		235		240
Ile Arg Met Ile Met Arg Asn Asn					
	245		248		

<210> 204
 <211> 907
 <212> DNA
 <213> Homo Sapien
 <400> 204

```

gagcagtgtt ctgctggagc cgatgccaaa aaccatgcat ttcttattca 50
gattcattgt tttcttttat ctgtggggcc tttttactgc tcagagacaa 100
aagaaagagg agagcaccga agaagtgaaa atagaagttt tgcacgtcc 150
agaaaactgc tctaagacaa gcaagaaggg agacctacta aatgcccatt 200
atgacggcta cctggctaaa gacggctcga aattctactg cagccggaca 250
caaatgaag gccaccccaa atggtttggt cttggtggtg ggcaagtcac 300
aaaaggccta gacattgcta tgacagatat gtgccctgga gaaaagcgaa 350
aagtagttat acccccttca tttgcatacg gaaaggaagg ctatgcagaa 400
ggcaagattc caccggatgc tacattgatt tttgagattg aactttatgc 450
tgtgaccaaa ggaccacgga gcattgagac atttaaacia atagacatgg 500
acaatgacag gcagctctct aaagccgaga taaacctcta cttgcaaagg 550
gaatttgaaa aagatgagaa gccacgtgac aagtcatac aggatgcagt 600
tttagaagat atttttaaga agaatgacca tgatggtgat ggcttcattt 650
ctccaagga atacaatgta taccaacaag atgaactata gcataattgt 700
atttctactt ttttttttta gctatttact gtactttatg tataaaacia 750
agtcactttt ctccaagttg tatttgctat ttttccccta tgagaagata 800
tttgatctc cccaatacat tgattttggg ataataaatg tgaggctggt 850
tgcaaacctt aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 900
aaaaaaa 907
    
```

<210> 205
 <211> 222
 <212> PRT
 <213> Homo Sapien
 <400> 205

Met Pro Lys Thr Met His Phe Leu Phe Arg Phe Ile Val Phe Phe					
1	5	10	15		
Tyr Leu Trp Gly Leu Phe Thr Ala Gln Arg Gln Lys Lys Glu Glu					
	20	25	30		

Ser Thr Glu Glu Val Lys Ile Glu Val Leu His Arg Pro Glu Asn
 35 40 45
 Cys Ser Lys Thr Ser Lys Lys Gly Asp Leu Leu Asn Ala His Tyr
 50 55 60
 Asp Gly Tyr Leu Ala Lys Asp Gly Ser Lys Phe Tyr Cys Ser Arg
 65 70 75
 Thr Gln Asn Glu Gly His Pro Lys Trp Phe Val Leu Gly Val Gly
 80 85 90
 Gln Val Ile Lys Gly Leu Asp Ile Ala Met Thr Asp Met Cys Pro
 95 100 105
 Gly Glu Lys Arg Lys Val Val Ile Pro Pro Ser Phe Ala Tyr Gly
 110 115 120
 Lys Glu Gly Tyr Ala Glu Gly Lys Ile Pro Pro Asp Ala Thr Leu
 125 130 135
 Ile Phe Glu Ile Glu Leu Tyr Ala Val Thr Lys Gly Pro Arg Ser
 140 145 150
 Ile Glu Thr Phe Lys Gln Ile Asp Met Asp Asn Asp Arg Gln Leu
 155 160 165
 Ser Lys Ala Glu Ile Asn Leu Tyr Leu Gln Arg Glu Phe Glu Lys
 170 175 180
 Asp Glu Lys Pro Arg Asp Lys Ser Tyr Gln Asp Ala Val Leu Glu
 185 190 195
 Asp Ile Phe Lys Lys Asn Asp His Asp Gly Asp Gly Phe Ile Ser
 200 205 210
 Pro Lys Glu Tyr Asn Val Tyr Gln His Asp Glu Leu
 215 220 222

<210> 206

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 206

gtgttctgct ggagccgatg cc 22

<210> 207

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 207

gacatggaca atgacagg 18

<210> 208

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 208

cctttcagga tgtaggag 18

<210> 209

<211> 18

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 209
 gatgtctgcc accccaag 18
 <210> 210
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 210
 gcatcctgat atgacttgct acgtggc 27
 <210> 211
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 211
 tacaagaggg aagaggagtt gcac 24
 <210> 212
 <211> 52
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 212
 gccattatg acggctacct ggctaaagac ggctcgaaat tctactgcag 50
 cc 52
 <210> 213
 <211> 1346
 <212> DNA
 <213> Homo Sapien
 <400> 213
 gaaagaatgt tgtggctgct cttttttctg gtgactgcc a ttcattgctga 50
 actctgtcaa ccagggtgcag aaaatgcttt taaagtgaga cttagtatca 100
 gaacagctct gggagataaa gcatatgcct gggataccaa tgaagaatac 150
 ctcttcaaag cgatggtagc tttctccatg agaaaagttc ccaacagaga 200
 agcaacagaa atttcccatg tcctactttg caatgtaacc cagaggggat 250
 cattctgggt tgtggttaca gacccttcaa aaaatcacac ccttcctgct 300
 gttgaggtgc aatcagccat aagaatgaac aagaaccgga tcaacaatgc 350
 cttctttcta aatgaccaa ctctggaatt tttaaaaatc ccttcacac 400
 ttgaccacc catggacca tctgtgcca tctggattat tatatttggg 450
 gtgatatttt gcatcatcat agttgcaatt gcaactactga ttttatcagg 500
 gatctggcaa cgtagaagaa agaacaaaga accatctgaa gtggatgacg 550
 ctgaagataa gtgtgaaaac atgatcaca ttgaaaatgg catcccctct 600
 gatcccctgg acatgaaggg gggcatatta atgatgcct catgacagag 650
 gatgagaggc tcaaccctct ctgaagggt gttgttctgc ttcctcaaga 700
 aattaaacat ttgtttctgt gtgactgctg agcatcctga aataccaaga 750
 gcagatcata tattttgttt caccattctt cttttgtaat aaattttgaa 800

tgtgcttgaa agtgaaaagc aatcaattat acccaccaac accactgaaa 850
 tcataagcta ttcacgactc aaaatattct aaaatatttt tctgacagta 900
 tagtgtataa atgtggtcat gtgggtatttg tagttattga ttttaagcatt 950
 tttagaaaata agatcaggca tatgtatata ttttcacact tcaaagacct 1000
 aaggaaaaat aaattttcca gtggagaata catataatat ggtgtagaaa 1050
 tcattgaaaa tggatccttt ttgacgatca cttatatcac tctgtatatg 1100
 actaagtaaa caaaagtgag aagtaattat tgtaaattgga tggataaaaa 1150
 tgggaattact catatacagg gtggaatttt atcctgttat cacaccaaca 1200
 gttgattata tatttttctga atatcagccc ctaataggac aattctattt 1250
 gttgaccatt tctacaattt gtaaaagtcc aatctgtgct aacttaataa 1300
 agtaataatc atctcttttt aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaa 1346

<210> 214

<211> 212

<212> PRT

<213> Homo Sapien

<400> 214

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

Pro Ser

212

<210> 215

<211> 1181

<212> DNA

<213> Homo Sapien

<400> 215

aagaccctct ctttcgctgt ttgagagtct ctcggctcaa ggaccgggag 50

gtaagagggt tgggactgcc cgggcaactc caggggtgtct ggtccacgac 100
ctatcctagg cgccatgggt gtgataggta tacagctggt tgttaccatg 150
gtgatggcca gtgtcatgca gaagattata cctcactatt ctcttgctcg 200
atggctactc tgtaatggca gtttgagggtg gtatcaacat cctacagaag 250
aagaattaag aattcttgca gggaaacaac aaaaaggga aaccaaaaaa 300
gataggaat ataatggtca cattgaaagt aagccattaa ccattccaaa 350
ggatattgac cttcatctag aaacaaagtc agttacagaa gtggatactt 400
tagcattgca ttactttcca gaataccagt ggctgggtgga tttcacagtg 450
gctgctacag ttgtgtatct agtaactgaa gtctactaca attttatgaa 500
gcctacacag gaaatgaata tcagcttagt ctgggtgccta cttgttttgt 550
cttttgcaat caaagttcta ttttcattaa ctacacacta ttttaaagta 600
gaagatgggt gtgaaagatc tgtttggtgc acctttggat tttttttctt 650
tgtcaaagca atggcagtggt tgattgtaac agaaaattat ctggaatttg 700
gacttgaac agggtttaca aatttttcag acagtgcgat gcagtttctt 750
gaaaagcaag gtttagaatc tcagagtctt gtttcaaac ttactttcaa 800
atttttctct gctattttct gttcattcat tggggctttt ttgacatttc 850
ctggattacg actggctcaa atgcatctgg atgccctgaa tttggcaaca 900
gaaaaatta cacaaacttt acttcatatc aacttcttgg cacctttatt 950
tatggttttg ctctgggtaa aaccaatcac caaagactac attatgaacc 1000
caccactggg caaagaaatt tccccatctg gaagatgaag ataatagtat 1050
ctaactcaca aggttatcat tggaataaat gaaagaacac atgtaatgca 1100
accagctgga attaagtgct taataaatgt tcttttctact gctttgcctc 1150
atcagaatta aaatagaaat acttgactag t 1181

<210> 216

<211> 307

<212> PRT

<213> Homo Sapien

<400> 216

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

Lys Ala Met Ala Val Leu Ile Val Thr Glu Asn Tyr Leu Glu Phe
 185 190 195
 Gly Leu Glu Thr Gly Phe Thr Asn Phe Ser Asp Ser Ala Met Gln
 200 205 210
 Phe Leu Glu Lys Gln Gly Leu Glu Ser Gln Ser Pro Val Ser Lys
 215 220 225
 Leu Thr Phe Lys Phe Phe Leu Ala Ile Phe Cys Ser Phe Ile Gly
 230 235 240
 Ala Phe Leu Thr Phe Pro Gly Leu Arg Leu Ala Gln Met His Leu
 245 250 255
 Asp Ala Leu Asn Leu Ala Thr Glu Lys Ile Thr Gln Thr Leu Leu
 260 265 270
 His Ile Asn Phe Leu Ala Pro Leu Phe Met Val Leu Leu Trp Val
 275 280 285
 Lys Pro Ile Thr Lys Asp Tyr Ile Met Asn Pro Pro Leu Gly Lys
 290 295 300
 Glu Ile Ser Pro Ser Gly Arg
 305 307

<210> 217

<211> 904

<212> DNA

<213> Homo Sapien

<400> 217

gaagtagagg tgttgtgctg agcggcgctc ggogaactgt gtggaccgctc 50
 tgctgggact ccggccctgc gtccgctcag ccccggtggcc ccgcgcacct 100
 actgccatgg agacgcggcc tcgtctcggg gccacctggt tgctgggctt 150
 cagtttcctg ctccctcgtca tctcttctga tggacataat gggcttggaa 200
 agggttttgg agatcatatt cattggagga cactggaaga tgggaagaaa 250
 gaagcagctg ccagtggact gcccctgatg gtgattattc ataaatcctg 300
 gtgtggagct tgcaaagctc taaagcccaa atttgcagaa tctacggaaa 350
 tttcagaact ctcccataat tttgttatgg taaatcttga ggatgaagag 400
 gaacccaaag atgaagattht cagccctgac gggggttata ttccacgaat 450
 ctttttctg gatcccagtg gcaaggtgca tcctgaaatc atcaatgaga 500
 atggaaacc cagctacaag ttttttatg tcagtgccga gcaagttggt 550
 caggggatga aggaagctca ggaaaggctg acgggtgatg ccttcagaaa 600
 gaaacatctt gaagatgaat tgtaacatga atgtgccctt tctttcatca 650
 gagttagtgt tctggaagga aagcagcagg gaaggggaata ttgaggaatc 700
 atctagaaca attaagccga ccaggaaacc tcattcctac ctacactgga 750
 aggagcgctc tcaactgtgga agagttctgc taacagaagc tggctctgcat 800
 gtttgtggat ccagcggaga gtggcagact ttcttctcct tttccctctc 850
 acctaatgt caacttgta ttgaatgtaa agaataaac cttctgacac 900
 aaaa 904

<210> 218

<211> 172

<212> PRT

<213> Homo Sapien

<400> 218

Met Glu Thr Arg Pro Arg Leu Gly Ala Thr Cys Leu Leu Gly Phe
 1 5 10 15
 Ser Phe Leu Leu Leu Val Ile Ser Ser Asp Gly His Asn Gly Leu
 20 25 30
 Gly Lys Gly Phe Gly Asp His Ile His Trp Arg Thr Leu Glu Asp

	35	40	45
Gly Lys Lys Glu Ala Ala Ala Ser Gly Leu Pro Leu Met Val Ile			
	50	55	60
Ile His Lys Ser Trp Cys Gly Ala Cys Lys Ala Leu Lys Pro Lys			
	65	70	75
Phe Ala Glu Ser Thr Glu Ile Ser Glu Leu Ser His Asn Phe Val			
	80	85	90
Met Val Asn Leu Glu Asp Glu Glu Glu Pro Lys Asp Glu Asp Phe			
	95	100	105
Ser Pro Asp Gly Gly Tyr Ile Pro Arg Ile Leu Phe Leu Asp Pro			
	110	115	120
Ser Gly Lys Val His Pro Glu Ile Ile Asn Glu Asn Gly Asn Pro			
	125	130	135
Ser Tyr Lys Tyr Phe Tyr Val Ser Ala Glu Gln Val Val Gln Gly			
	140	145	150
Met Lys Glu Ala Gln Glu Arg Leu Thr Gly Asp Ala Phe Arg Lys			
	155	160	165
Lys His Leu Glu Asp Glu Leu			
	170	172	

<210> 219

<211> 1630

<212> DNA

<213> Homo Sapien

<400> 219

```

cggctcgagt gcagctgtgg ggagatttca gtgcattgcc tcccctgggt 50
gctcttcac ttggatttga aagttgagag cagcatgttt tgcccactga 100
aactcaccct gctgccagtg ttactggatt attccttggg cctgaatgac 150
ttgaatgttt ccccgctga gctaacagtc catgtgggtg attcagctct 200
gatgggatgt gttttccaga gcacagaaga caaatgtata ttcaagatag 250
actggactct gtcaccagga gagcacgcca aggacgaata tgtgctatac 300
tattactcca atctcagtgt gcctattggg cgcttccaga accgcgtaca 350
cttgatgggg gacatcttat gcaatgatgg ctctctcctg ctccaagatg 400
tgcaagaggc tgaccagggg acctatatct gtgaaatccg cctcaaaggg 450
gagagccagg tgttcaagaa ggcgggtggt ctgcatgtgc ttccagagga 500
gcccaaagag ctcatggtcc atgtgggtgg attgattcag atgggatgtg 550
ttttccagag cacagaagtg aaacacgtga ccaaggtaga atggatattt 600
tcaggacggc gcgcaaagga ggagattgta tttcgttact accacaaact 650
caggatgtct gtggagtact cccagagctg gggccacttc cagaatcgtg 700
tgaacctggt gggggacatt ttccgcaatg acggttccat catgcttcaa 750
ggagtgaggg agtcagatgg aggaaactac acctgcagta tccacctagg 800
gaacctggtg ttcaagaaaa ccattgtgct gcatgtcagc ccggaagagc 850
ctcgaacct ggtgaccccc gcagccctga ggcctctggt cttgggtggt 900
aatcagttgg tgatcattgt ggggaattgtc tgtgccacaa tcctgctgct 950
ccctgttctg atattgatcg tgaagaagac ctgtggaaat aagagttcag 1000
tgaattctac agtcttggtg aagaacacga agaagactaa tccagagata 1050
aaagaaaaac cctgccattt tgaaagatgt gaaggggaga aacacattta 1100
ctccccaata attgtacggg aggtgatcga ggaagaagaa ccaagtgaaa 1150
aatcagaggc cacctacatg accatgcacc cagtttggcc ttctctgagg 1200
tcagatcgga acaactcact tgaaaaaaag tcaggtgggg gaatgccaaa 1250
aacacagcaa gccttttgag aagaatggag agtcccttca tctcagcagc 1300
ggtggagact ctctcctgtg tgtgtcctgg gccactctac cagtgatattc 1350
agactcccgc tctccagct gtcctcctgt ctcatgttt ggtcaatata 1400

```

ctgaagatgg agaatttggga gcctggcaga gagactggac agctctggag 1450
 gaacaggcct gctgagggga ggggagcatg gacttggcct ctggagtggg 1500
 aactggccc tggaaccag gctgagctga gtggcctcaa accccccgtt 1550
 ggatcagacc ctctgtggg cagggttctt agtggatgag ttactgggaa 1600
 gaatcagaga taaaaaccaa cccaaatcaa 1630

<210> 220

<211> 394

<212> PRT

<213> Homo Sapien

<400> 220

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

Lys Lys Thr Asn Pro Glu Ile Lys Glu Lys Pro Cys His Phe Glu
 320 325 330
 Arg Cys Glu Gly Glu Lys His Ile Tyr Ser Pro Ile Ile Val Arg
 335 340 345
 Glu Val Ile Glu Glu Glu Glu Pro Ser Glu Lys Ser Glu Ala Thr
 350 355 360
 Tyr Met Thr Met His Pro Val Trp Pro Ser Leu Arg Ser Asp Arg
 365 370 375
 Asn Asn Ser Leu Glu Lys Lys Ser Gly Gly Gly Met Pro Lys Thr
 380 385 390
 Gln Gln Ala Phe
 394

<210> 221
 <211> 496
 <212> DNA
 <213> Homo Sapien
 <220>
 <221> unsure
 <222> 396
 <223> unknown base
 <400> 221

tctgcctcca ctgctctgtg ctgggatcat ggaacttgca ctgctgtgtg 50
 ggctggtggt gatggctggt gtgattccaa tccagggcgg gatcctgaac 100
 ctgaacaaga tggtaagca agtgactggg aaaatgcccc tcctctccta 150
 ctggccctac ggctgtcact gcggactagg tggcagaggc caacccaaag 200
 atgccacgga ctgggtgctgc cagacccatg actgctgcta tgaccacctg 250
 aagaccagg ggtgcggcat ctacaaggac aacaacaaaa gcagcatata 300
 ttgtatggat ttatctcaac gctattgttt aatggctgtg tttaatgtga 350
 tctatctgga aaatgaggac tccgaataaa aagctattac tawttnaaaa 400
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 450
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaa 496

<210> 222
 <211> 116
 <212> PRT
 <213> Homo Sapien
 <400> 222

Met Glu Leu Ala Leu Leu Cys Gly Leu Val Val Met Ala Gly Val
 1 5 10 15
 Ile Pro Ile Gln Gly Gly Ile Leu Asn Leu Asn Lys Met Val Lys
 20 25 30
 Gln Val Thr Gly Lys Met Pro Ile Leu Ser Tyr Trp Pro Tyr Gly
 35 40 45
 Cys His Cys Gly Leu Gly Gly Arg Gly Gln Pro Lys Asp Ala Thr
 50 55 60
 Asp Trp Cys Cys Gln Thr His Asp Cys Cys Tyr Asp His Leu Lys
 65 70 75
 Thr Gln Gly Cys Gly Ile Tyr Lys Asp Asn Asn Lys Ser Ser Ile
 80 85 90
 His Cys Met Asp Leu Ser Gln Arg Tyr Cys Leu Met Ala Val Phe
 95 100 105
 Asn Val Ile Tyr Leu Glu Asn Glu Asp Ser Glu
 110 115 116

<210> 223
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 223
 ctgcctccac tgctctgtgc tggg 24
 <210> 224
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 224
 cagagcagtg gatggtcccc tggg 24
 <210> 225
 <211> 45
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide probe
 <400> 225
 ctgaacaaga tggtaagca agtgactggg aaaatgccca tcctc 45
 <210> 226
 <211> 1835
 <212> DNA
 <213> Homo Sapien
 <400> 226
 cacaagcatc ttaatttgaa tccacaaagt ttcattgtaat gaaaagaaat 50
 acataatttt aattcaacc gagtggtttc caagaagatt gtatttgctt 100
 aaattgctac agtaattcaa gagacagccc tgtctggaca cagagttact 150
 gtggattttt aagagactca gttaaagaat ttaggaattt ctgattcatt 200
 taaaggattt acaaaattcat caaccctga aaactaaagc aaattgaaca 250
 ggaaaaaaaa aaagaagatg ggttttttaa gtccaatata tgttattttc 300
 ttcttttttg gagtcaaagt acattgcaa tatgaaactt atcagtggga 350
 tgaagactat gaccaagagc cagatgatga ttaccaaaaca ggattcccat 400
 ttcgtcaaaa tgtagactac ggagttcctt ttcattcagta tacttttaggc 450
 tgtgtcagtg aatgcttctg tccaactaac tttccatcat caatgtactg 500
 tgataatcgc aaactcaaga ctatcccaa tattccgatg cacattcagc 550
 aactctacct tcagttcaat gaaattgagg ctgtgactgc aaattcattc 600
 atcaatgcaa ctcatcttaa agaaattaac ctgagccaca acaaaattaa 650
 atctcaaaag attgattatg gtgtggttgc taagcttcca aatctactac 700
 aacttcatct agagcataat aatttagaag aatttccatt tcctcttctc 750
 aaatctctgg aaagactcct tcttggttac aatgaaatct ccaaactgca 800
 gacaaatgct atggatgggc tagtaaactt gaccatgctt gatctctgtt 850
 ataattatct tcatgattct ctgctaaaag acaaaatctt tgccaaaatg 900
 gaaaaactaa tgcagctcaa cctctgcagt aacagattag aatcaatgcc 950
 tcctggtttg ccttcttcac ttatgtatct gtcttttagaa aataattcaa 1000
 tttcttctat acccgaaaaa tacttcgaca aacttccaaa acttcatact 1050
 ctaagaatgt cacacaacaa actacaagac atcccatata atatttttaa 1100
 tcttcccaac attgtagaac tcagtgttgg acacaacaaa ttgaagcaag 1150

cattctatat tccaagaaat ttggaacacc tataacctaca aaataatgaa 1200
 atagaaaaga tgaatcttac agtgatgtgt ccttctattg acccactaca 1250
 ttaccacat ttaacataca ttcgtgtgga ccaaaataaa ctaaagaac 1300
 caataagctc atacatcttc ttctgcttcc ctcatataca cactatztat 1350
 tatgggtgaac aacgaagcac taatgggtcaa acaatacaac taaagacaca 1400
 agttttcagg agatttccag atgatgatga tgaaagtgaa gatcacgatg 1450
 atcctgacaa tgctcatgag agcccagaac aagaaggagc agaagggcac 1500
 ttgaccttc attattatga aaatcaagaa tagcaagaaa ctatataggt 1550
 atacacttac gacttcacaaa aacctatact taatatagta aatctaagta 1600
 aacatgtatt actcaaagta atatatattag aattatgtat tagtataaga 1650
 tcagaattga atttaagttg ttgggtgacat ctgcatcatt tcataggatt 1700
 agaacttact caaaaataatg taaatcttta aaaatataaa ttagaatgac 1750
 aagtgggaat cataaattaa acgttaatgg tttcttatgc tctttttaa 1800
 tatagaaata tcatgttaaa gaaaaaaaa aaaaa 1835

<210> 227

<211> 421

<212> PRT

<213> Homo Sapien

<400> 227

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

	245	250	255
Leu Pro Lys Leu His Thr Leu Arg Met Ser His Asn Lys Leu Gln			
	260	265	270
Asp Ile Pro Tyr Asn Ile Phe Asn Leu Pro Asn Ile Val Glu Leu			
	275	280	285
Ser Val Gly His Asn Lys Leu Lys Gln Ala Phe Tyr Ile Pro Arg			
	290	295	300
Asn Leu Glu His Leu Tyr Leu Gln Asn Asn Glu Ile Glu Lys Met			
	305	310	315
Asn Leu Thr Val Met Cys Pro Ser Ile Asp Pro Leu His Tyr His			
	320	325	330
His Leu Thr Tyr Ile Arg Val Asp Gln Asn Lys Leu Lys Glu Pro			
	335	340	345
Ile Ser Ser Tyr Ile Phe Phe Cys Phe Pro His Ile His Thr Ile			
	350	355	360
Tyr Tyr Gly Glu Gln Arg Ser Thr Asn Gly Gln Thr Ile Gln Leu			
	365	370	375
Lys Thr Gln Val Phe Arg Arg Phe Pro Asp Asp Asp Asp Glu Ser			
	380	385	390
Glu Asp His Asp Asp Pro Asp Asn Ala His Glu Ser Pro Glu Gln			
	395	400	405
Glu Gly Ala Glu Gly His Phe Asp Leu His Tyr Tyr Glu Asn Gln			
	410	415	420

Glu

421

<210> 228

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 228

tcacgatgat cctgacaatg c 21

<210> 229

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 229

aataatgaag gtcaaagtgc cctt 24

<210> 230

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide probe

<400> 230

tgctccttct tgttctgggc tctcatg 27

<210> 231

<211> 48

<212> DNA

<213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 231
 ggattctaatacgcactcactatagggccacgggcgctgtgtgctggag 48
 <210> 232
 <211> 48
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 232
 ctatgaaattaacctcactaaagggatggtggggaccgcagggtgac 48
 <210> 233
 <211> 48
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 233
 ggattctaatacgcactcactatagggcccgccacgaggagctgttacg 48
 <210> 234
 <211> 48
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 234
 ctatgaaattaacctcactaaagggatgacctgcaggcattggagaa 48
 <210> 235
 <211> 48
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 235
 ggattctaatacgcactcactatagggcggccgaccgaggagctgtta 48
 <210> 236
 <211> 46
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 236
 ctatgaaattaacctcactaaagggaggggctctgtggggctgggtc 46
 <210> 237
 <211> 47
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 237

ggattctaatacgcactcactatagggccaaaccaaggggcaagatg 47
 <210> 238
 <211> 48
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 238
 ctatgaaatt aaccctcact aaagggaggg cttttggtgg gagaagt 48
 <210> 239
 <211> 48
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 239
 ggattctaatacgcactcactatagggctcgctgctgtgcc tgggtgtg 48
 <210> 240
 <211> 48
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 240
 ctatgaaatt aaccctcact aaagggaccgctgcagcctc ttgatgga 48
 <210> 241
 <211> 47
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 241
 ggattctaatacgcactcactatagggcccc tctgccttc cctgtcc 47
 <210> 242
 <211> 48
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 242
 ctatgaaatt aaccctcact aaagggagtgtgggccgcga ttatctgc 48
 <210> 243
 <211> 48
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 243
 ggattctaatacgcactcactatagggctcagaaaagcgcaacagagaa 48
 <210> 244
 <211> 47
 <212> DNA

<213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 244
 ctatgaaatt aaccctcact aaagggatgt cttccatgcc aaccttc 47
 <210> 245
 <211> 48
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 245
 ggattctaatacgcactcact atagggcgca gcgatggcag cgatgagg 48
 <210> 246
 <211> 47
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 246
 ctagaaatta accctcacta aagggacaga cggggcagca gggagtg 47
 <210> 247
 <211> 47
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 247
 ggattctaatacgcactcact atagggcggg aagatggcga ggaggag 47
 <210> 248
 <211> 48
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 248
 ctatgaaatt aaccctcact aaagggacca aggccacaaa cggaaatc 48
 <210> 249
 <211> 45
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 249
 ggattctaatacgcactcact atagggcgcg aggacggcgg cttca 45
 <210> 250
 <211> 48
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 250

ctatgaaatt aaccctcact aaaggggaaga gtcgcggccg cccttttt 48
 <210> 251
 <211> 46
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 251
 ggattctaatacgcactcact atagggcgag tccttcggcg gctggt 46
 <210> 252
 <211> 48
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 252
 ctatgaaatt aaccctcact aaagggacgg gtgcttttgg gattcgta 48
 <210> 253
 <211> 48
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 253
 ggattctaatacgcactcact atagggcaac ccgagcatgg cacagcac 48
 <210> 254
 <211> 47
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 254
 ctatgaaatt aaccctcact aaagggatct ccagcgcgc ctttctc 47
 <210> 255
 <211> 48
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 255
 ggattctaatacgcactcact atagggcggc ggaatccaac ctgagtag 48
 <210> 256
 <211> 47
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 256
 ctatgaaatt aaccctcact aaagggagcg gctatcctcc tgtgctc 47
 <210> 257
 <211> 45
 <212> DNA

<213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 257
 ggattctaatacgcactcactatagggccccgagtggttttccaaga45
 <210> 258
 <211> 48
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 258
 ctatgaaattaacctcactaaagggacaa gtttactagc ccatccat48
 <210> 259
 <211> 48
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 259
 ggattctaatacgcactcactatagggctggatgggctagtaacttga48
 <210> 260
 <211> 47
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Oligonucleotide Probe
 <400> 260
 ctatgaaattaacctcactaaagggaccc ttctgctcct tcttggt47
 1