

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2005-514013

(P2005-514013A)

(43) 公表日 平成17年5月19日(2005.5.19)

(51) Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 Q 1/68	C 1 2 Q 1/68 Z N A A	2 G O 4 5
A 6 1 K 31/7088	A 6 1 K 31/7088	4 B O 2 4
A 6 1 K 38/00	A 6 1 K 39/395 D	4 B O 6 3
A 6 1 K 39/395	A 6 1 K 39/395 N	4 C O 8 4
A 6 1 K 45/00	A 6 1 K 45/00	4 C O 8 5
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 117 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2003-554124 (P2003-554124)	(71) 出願人	500287639
(86) (22) 出願日	平成14年12月19日 (2002.12.19)		ミレニアム・ファーマシューティカルズ・
(85) 翻訳文提出日	平成16年6月15日 (2004.6.15)		インコーポレイテッド
(86) 国際出願番号	PCT/US2002/041011		MILLENNIUM PHARMACE
(87) 国際公開番号	W02003/053364		UTICALS, INC.
(87) 国際公開日	平成15年7月3日 (2003.7.3)		アメリカ合衆国02139マサチューセッ
(31) 優先権主張番号	60/341, 953		ツ州ケンブリッジ、ランズタウン・ストリ
(32) 優先日	平成13年12月19日 (2001.12.19)		ート40番
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100078282
			弁理士 山本 秀策
		(74) 代理人	100062409
			弁理士 安村 高明
		(74) 代理人	100113413
			弁理士 森下 夏樹
最終頁に続く			

(54) 【発明の名称】 1465、1587、2146、2207、32838、336、および52908を使用して
疼痛および有痛性障害を処置する方法および組成物

(57) 【要約】

本発明は、疼痛または有痛性障害の診断および処置のための方法に関する。詳細には、本発明は、正常すなわち、有痛疾患でない状態でありそして/または疼痛に関する操作に
応答した1465遺伝子、1587遺伝子、2146遺伝子、2207遺伝子、32838遺伝子、336遺伝子または52908遺伝子の発現に対して、痛覚に関連する組織に
おけるそれらの示差的な発現を同定する。本発明は、種々の心臓血管疾患の診断的評価お
よび予後診断のため、およびそのような状態の素因を示す被験体の同定のための方法を記
載する。本発明はまた、疼痛または有痛性障害を調節し得る化合物を同定するための方法
を提供する。本発明はまた、疼痛および有痛性障害の処置としての、化合物の同定および
治療的使用のための方法を提供する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

疼痛障害を処置し得る化合物を同定するための方法であって、該化合物が 1 4 6 5 核酸、1 5 8 7 核酸、2 1 4 6 核酸、2 2 0 7 核酸、3 2 8 3 8 核酸、3 3 6 核酸もしくは 5 2 9 0 8 核酸の発現または 1 4 6 5 ポリペプチド、1 5 8 7 ポリペプチド、2 1 4 6 ポリペプチド、2 2 0 7 ポリペプチド、3 2 8 3 8 ポリペプチド、3 3 6 ポリペプチドもしくは 5 2 9 0 8 ポリペプチドの活性を調節する能力をアッセイし、それによって、疼痛障害を処置し得る化合物を同定する工程を包含する、方法。

【請求項 2】

疼痛シグナル伝達機構を調節し得る化合物を同定するための方法であって、以下：

10

a) 1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6 または 5 2 9 0 8 を発現する細胞を、試験化合物と接触させる工程；および

b) 該試験化合物が、1 4 6 5 核酸、1 5 8 7 核酸、2 1 4 6 核酸、2 2 0 7 核酸、3 2 8 3 8 核酸、3 3 6 核酸もしくは 5 2 9 0 8 核酸の発現または 1 4 6 5 ポリペプチド、1 5 8 7 ポリペプチド、2 1 4 6 ポリペプチド、2 2 0 7 ポリペプチド、3 2 8 3 8 ポリペプチド、3 3 6 ポリペプチドまたは 5 2 9 0 8 ポリペプチドの活性を調節する能力をアッセイし、それによって、疼痛シグナル伝達を調節し得る化合物を同定する工程、を包含する、方法。

【請求項 3】

細胞中の疼痛シグナル伝達を調節するための方法であって、細胞を 1 4 6 5 調節因子、1 5 8 7 調節因子、2 1 4 6 調節因子、2 2 0 7 調節因子、3 2 8 3 8 調節因子、3 3 6 調節因子または 5 2 9 0 8 調節因子と接触させ、それによって、該細胞中の疼痛シグナル伝達を調節する工程を包含する、方法。

20

【請求項 4】

前記細胞が、脳細胞、神経細胞、または脊髄もしくは脊髄神経節由来の細胞である、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 5】

前記 1 4 6 5 調節因子、1 5 8 7 調節因子、2 1 4 6 調節因子、2 2 0 7 調節因子、3 2 8 3 8 調節因子、3 3 6 調節因子または 5 2 9 0 8 調節因子が、有機低分子、ペプチド、抗体またはアンチセンス核酸分子である、請求項 3 に記載の方法。

30

【請求項 6】

前記 1 4 6 5 調節因子、1 5 8 7 調節因子、2 1 4 6 調節因子、2 2 0 7 調節因子、3 2 8 3 8 調節因子、3 3 6 調節因子または 5 2 9 0 8 調節因子が、1 4 6 5 ポリペプチド、1 5 8 7 ポリペプチド、2 1 4 6 ポリペプチド、2 2 0 7 ポリペプチド、3 2 8 3 8 ポリペプチド、3 3 6 ポリペプチドまたは 5 2 9 0 8 ポリペプチドの活性を調節し得る、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 7】

前記 1 4 6 5 調節因子、1 5 8 7 調節因子、2 1 4 6 調節因子、2 2 0 7 調節因子、3 2 8 3 8 調節因子、3 3 6 調節因子または 5 2 9 0 8 調節因子が、有機低分子、ペプチド、抗体またはアンチセンス核酸分子である、請求項 6 に記載の方法。

40

【請求項 8】

前記 1 4 6 5 調節因子、1 5 8 7 調節因子、2 1 4 6 調節因子、2 2 0 7 調節因子、3 2 8 3 8 調節因子、3 3 6 調節因子または 5 2 9 0 8 調節因子が、1 4 6 5 核酸、1 5 8 7 核酸、2 1 4 6 核酸、2 2 0 7 核酸、3 2 8 3 8 核酸、3 3 6 核酸または 5 2 9 0 8 核酸の発現を調節し得る、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 9】

1 4 6 5 ポリペプチド、1 5 8 7 ポリペプチド、2 1 4 6 ポリペプチド、2 2 0 7 ポリペプチド、3 2 8 3 8 ポリペプチド、3 3 6 ポリペプチドもしくは 5 2 9 0 8 ポリペプチドの異常な活性または 1 4 6 5 核酸、1 5 8 7 核酸、2 1 4 6 核酸、2 2 0 7 核酸、3 2 8 3 8 核酸、3 3 6 核酸もしくは 5 2 9 0 8 核酸の異常な発現によって特徴付けられる疼痛

50

障害を有する被験体を処置するための方法であって、1465調節因子、1587調節因子、2146調節因子、2207調節因子、32838調節因子、336調節因子または52908調節因子を該被験体に投与し、それによって、該疼痛障害を有する被験体を処置する工程を包含する、方法。

【請求項10】

前記疼痛障害が、炎症性疼痛、慢性疼痛、神経障害性疼痛、カウザルギー、線維素血症、癌性疼痛、片頭痛／頭痛、および組織疼痛を含む、請求項9に記載の方法。

【請求項11】

前記1465調節因子、1587調節因子、2146調節因子、2207調節因子、32838調節因子、336調節因子または52908調節因子が、薬学的に受容可能な処方物中で投与される、請求項9に記載の方法。 10

【請求項12】

前記1465調節因子、1587調節因子、2146調節因子、2207調節因子、32838調節因子、336調節因子または52908調節因子が、有機低分子、ペプチド、抗体またはアンチセンス核酸分子である、請求項9に記載の方法。

【請求項13】

前記1465調節因子、1587調節因子、2146調節因子、2207調節因子、32838調節因子、336調節因子または52908調節因子が、1465ポリペプチド、1587ポリペプチド、2146ポリペプチド、2207ポリペプチド、32838ポリペプチド、336ポリペプチドまたは52908ポリペプチドの活性を調節し得る、請求項9に記載の方法。 20

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本出願は、2001年12月19日に出願した米国仮特許出願第60/341,953号に対する優先権を主張する。上記の出願は、明らかに、本明細書中に参考として援用される。

【背景技術】

【0002】

疼痛の感覚は、2つの型（末梢疼痛および中枢疼痛）に分類され得る。末梢疼痛は、広範な3つの領域（侵害受容疼痛、炎症疼痛、および神経障害性疼痛）に分類され得る。侵害受容疼痛はまた、生理学的疼痛とも呼ばれる。この侵害受容疼痛は、動物界全体にわたる防御機構として作用する。炎症疼痛は、重篤な創傷から生じ、そして／または炎症浸潤物と関連している。この炎症疼痛は、非ステロイド性抗炎症薬（N A S A I D）様薬物、ステロイド類、およびアヘン剤によって十分に制御され得る。しかし、神経障害性疼痛の病因および管理は、十分には理解されていない。神経障害性疼痛は、感覚における固有の欠損から交感ニューロンにおける結果として生じると考えられている。神経障害性疼痛は、外傷に従属し得る。 30

【0003】

末梢疼痛は、2つの型の一次交感ニューロンのクラス（Aδ線維およびC線維）により媒介される。これらの線維の細胞体は、脊髄神経節内部に存在する。神経障害性疼痛の発生機構は十分には理解されていないが、いくつかの要因（すなわち、化学的環境の変化、感覚ニューロン発射の異所性発生および交感神経放電）が、有痛性刺激の知覚および伝達に影響することは、明らかである。神経障害性疼痛に関連する最も一般的な症候群のうちのいくつかは、小感覚線維の破壊（または、おそらく小線維対大線維比の変化）から生じる。なぜなら、この破壊は、外傷後状況において一般的であるからである。他の疼痛病因は、糖尿病性ニューロパシーに起因する小線維損傷、薬物誘導性損傷（化学療法薬物）、アルコール症、癌に起因する損傷、ならびに種々の遺伝性小線維ニューロパシーおよび遺伝性大線維ニューロパシーから生じる。本発明者らは、末梢神経系に由来する標的は、候補化合物が血液脳関門を通過する必要がなく、それらの標的は、中心的な副作用を誘導す 40 50

ることなく疼痛開始部位に対して作用し得るという点で、戦略的に有益でありうることを合理的に説明する。

【0004】

中心機構が疼痛の認識および調節に関与することは、長い間立証されてきた。中脳水道周囲灰白質(PAG)領域の電氣的刺激は、他の感覚的様相の欠損なしに無痛を生じる。PAGから発する下向性痛覚経路および大縫線核は、最初に侵害受容性求心性神経が終結する背面の脊髄領域に影響を与える。また、例えば延髄の巨大細胞核近傍(paragigantocellularis)のような領域の刺激は、無痛を生じる。最後に、アヘン剤レセプターは、オピオイドアルカロイドおよびオピオイドペプチドにより刺激された場合、無痛を媒介し、これらの部位は、PAG、視床核および皮質領域を含む脳内の重要な「痛覚中心」に位置する。痛覚の動物モデルからのこれらのCNS領域および脊髄視床路における遺伝子の同定は、痛覚調節の重要な標的を解明し得る。

10

【発明の開示】

【課題を解決するための手段】

【0005】

本発明は、痛みを経験しているかまたは疼痛性障害に罹患した被験体の診断および処置のための方法および組成物を提供する。好ましくは、被験体はヒト(例えば、本明細書で開示されている疼痛または疼痛関連疾患を有する患者)である。例えば、被験体は組織損傷(例えば、炎症、感染、虚血)から誘発される疼痛;筋骨格疾患に関連する疼痛(例えば、関節痛);歯痛;頭痛(例えば、片頭痛);手術に関連した疼痛;炎症に関する疼痛(例えば、過敏性腸症候群);または胸部疼痛を有する患者であり得る。被験体は、複合局部疼痛症候群(complex regional pain syndrome)(CRPS)、反射性交感神経性ジストロフィー(RSD)、カウザルギー、神経痛、中心性疼痛および感覚不全症候群、頸動脈圧痛、神経原性疼痛、難治性頸腕部疼痛症候群、筋膜疼痛症候群、頭蓋下顎疼痛機能不全症候群(cranio-mandibular pain dysfunction syndrome)、慢性特発性疼痛症候群、コステン疼痛機能不全、急性胸部疼痛症候群、婦人科疼痛症候群、膝蓋大腿疼痛症候群(patellofemoral pain syndrome)、前膝疼痛症候群、小児反復性腹痛、疝痛、腰痛症候群、神経因性疼痛、切断による幻肢痛、幻歯痛、または象徴不能痛を有する患者であり得る。被験体は、癌患者(例えば、脳の癌、骨の癌、または前立腺癌を有する患者)であり得る。他の実施形態において、被験体は、非ヒト動物(例えば、実験動物(例えば、慢性疼痛の関節炎ラットモデル、神経因性疼痛の慢性狭搾傷害(CCI)ラットモデル、またはフロイント完全アジュバント(FCA)の胸膜腔内注射による片側炎症痛のラットモデル))である。

20

30

【0006】

本明細書で使用される場合、「処置」は、疾患もしくは障害、疾患もしくは障害の症状または疾患もしくは障害に対する疾病素質を療養する、治癒、軽減、緩和、変化、治療、回復、改善するか、またはこれらに影響する目的で、患者(疾患もしくは障害、疾患もしくは障害の症状または疾患もしくは障害に対する疾病素質を有する)への治療薬の適用もしくは投与、またはその患者から単離した組織もしくは細胞株への治療薬の適用もしくは投与として定義される。治療薬としては、本明細書に記載される小分子、ペプチド、抗体、リボザイムおよびアンチセンスオリゴヌクレオチドが挙げられるが、これに限定されない。

40

本発明は、核酸分子およびタンパク質分子(下記)が、疼痛の動物モデル、ならびに疼痛に関連することが知られている末梢神経系組織および中枢神経系組織(例えば、後根神経節(DRG))において示差的に発現されるという発見に少なくとも一部基づく。本発明の方法に従って同定される、本発明の分子のモジュレーターを使用して、疼痛および有痛性状態を調節(例えば、阻害、処置または予防)し得る。

【0007】

本明細書中で使用される場合、「示差的発現」は、遺伝子の一時性発現パターンおよび

50

／または組織発現パターンにおける、定量的差異および定性的差異の両方を含む。従って、示差的に発現される遺伝子は、有痛性疾患状態に対して正常状態において（例えば、疼痛に対する動物モデルのような実験的疼痛モデル系において）活性化される発現または不活性化される発現を有し得る。正常状態 対 処置状態または制御状態 対 実験状態で発現が異なる程度は、標準的な特徴付け技術（例えば、定量的PCR、ノーザン分析、減算ハイブリダイゼーション）によって可視化されるのに十分な大きさのみを必要とする。示差的に発現される遺伝子の発現パターンは、予後評価もしくは診断評価の一部として使用され得るか、または疼痛および有痛性障害を処置するために有用な化合物を同定するための方法において使用され得る。さらに、疼痛に関与する示差的に発現される遺伝子は、標的遺伝子を表し得、その結果、標的遺伝子の発現レベルまたは標的遺伝子産物活性の調節は、有痛性疾患状態を改善するように作用し得る。標的遺伝子発現またはこの標的遺伝子産物の活性を調節する化合物は、疼痛または有痛性状態の処置において使用され得る。本明細書中に記載される遺伝子は、疼痛に関して示差的に発現され得、かつ／またはそれらの産物は、疼痛に重要な遺伝子産物と相互作用し得るが、この遺伝子はまた、さらなる細胞プロセスに重要な機構にも関与し得る。 10

【0008】

（本発明の分子）

本発明の分子としては、イオンチャネル（例えば、カリウムチャネル）、トランスポーター（例えば、アミノ酸トランスポーター）、レセプター（例えば、Gタンパク質共役レセプター）および酵素（例えば、キナーゼ）が挙げられるが、これらに限定されない。 20

【0009】

ナトリウムイオン、カリウムイオン、カルシウムイオンおよび塩化物イオンの伝導度を選択的に媒介する膜貫通型イオンチャネルタンパク質は、感覚神経の電気的活性を直接的に調節し、従って、侵害受容に重要である。特に、カリウムチャネルは、神経発射（neuronal firing）の頻度およびパターンの制御における主要因子（player）である。カリウムチャネルの発現およびピーク電流は、炎症および慢性疼痛の異なるモデルの後に調節されることが示されている。さらに、カルシウムイオンは、他のイオンチャネルの調節ならびにプロテインキナーゼおよび他の酵素の活性の制御を含む、重要な細胞内シグナル伝達の役割を果たす。構築された三次元構造および作用機序を有する細胞表面タンパク質として、イオンチャネルの孔形成（pore-forming）αサブユニットは、理想的な薬物標的を構成する。αサブユニットに加えて、これらのチャネルは、βサブユニットおよびチャネル活性を調節し、かつチャネルの薬理学的操作のための優れた標的である他の相互作用タンパク質から構成され得る。従って、イオンチャネルは、疼痛および有痛性の状態を処置するのに有用である。 30

【0010】

内因性の可溶性因子は、侵害受容神経の周辺末端上またはこれらの侵害受容器から入力を受ける中枢神経上のいずれかの特異的膜貫通型レセプターに結合することによって、痛覚を媒介する。これらの可溶性因子としては、セロトニン、ヒスタミン、ブラジキニン、タキキニン（物質PおよびニューロキニンA）、オピオイド、エイコサノイド（ロイコトリエン、プロスタグランジン、トロンボキサン）、プリン、興奮性アミノ酸および種々のタンパク質が挙げられるが、これらに限定されない。さらに、人における臨床試験を含む、成長する体の徴候は、IL-1、TNFα、およびニューロトロフィンファミリーのメンバーが、有痛性刺激の伝達におけるいくつかの段階に関与することを示す。水素イオン（プロトン）は、痘瘡様レセプターカルシウムチャネルまたはアミロライド感受性ナトリウムチャネルの活性化によって、炎症（およびまた酸味）に付随する疼痛を媒介し得る。さらに、多数の外因性の薬剤は、内因性の可溶性因子を模倣することによって疼痛を調節する。例えば、アヘン剤の乱用は、内因性のオピオイドのためのレセプターに結合することによって無痛覚効果を及ぼし、そしてカプサイシンは、痘瘡様レセプターに結合することによって痛覚を刺激する。これらの可溶性因子のためのレセプターは、チロシンキナーゼ活性（例えば、ニューロトロフィンレセプター）、細胞質内チロシンキナーゼの漸増（ 40 50

例えば、TNF α およびIL-1のためのサイトカインレセプター)、イオンチャネル開口、およびGタンパク質結合レセプターを含むいくつかのシグナル伝達機構にリンクされる。これらの細胞表面レセプターは、それらの膜貫通型配置に起因して理想的な薬物標的であり、目的は、疼痛機構の制御における重要な因子(player)であり得る既知のリガンドまたは代理のリガンドを有するGタンパク質結合レセプターを発見することである。

【0011】

プロテインキナーゼAおよびプロテインキナーゼCのような細胞内キナーゼは、感覚神経における疼痛の応答に関与している。同様に、シクロオキシゲナーゼおよびトロンボキサンシンターゼのような酵素は、プロスタグランジン、ロイコトリエンおよびトロンボキサンの生成に重要であると知られている。これらの特定の標的は、炎症性疼痛において、より重要であり得るが、長期間においてか、または神経障害性の疼痛においてのこの遺伝子ファミリーの役割は、重要である。

10

【0012】

(遺伝子ID1465)

ヒト1465配列(配列番号1)(GI:971256、Gタンパク質共役レセプターキナーゼGRK4としても公知)(これは、非翻訳領域を含めて約2113ヌクレオチド長である)は、終結コドンを含めて約1737ヌクレオチドの推定メチオニン開始コード配列を含む(配列番号1のコーディングとして示されるヌクレオチド、配列番号2)。このコード配列は、578アミノ酸のタンパク質(配列番号3)(GI:971257)をコードする。

20

【0013】

TaqMan(登録商標)分析によって評価したところ、1465は、脳および後根神経節(DRG)において発現された。それゆえ、これは、疼痛性障害に関与し、そして疼痛および有痛性障害の処置に関する治療を見出すための潜在的標的である。

【0014】

(遺伝子ID1587)

ヒト1587配列(配列番号4)(GI:297101)(セリン/トレオニンプロテインキナーゼPCITORE-3としても公知)(これは、非翻訳領域を含めて約1242ヌクレオチド長である)は、終結コドンを含めて約1143ヌクレオチドの推定メチオニン開始コード配列を含む(配列番号4のコーディングとして示されるヌクレオチド、配列番号5)。このコード配列は、380アミノ酸のタンパク質(配列番号6)(GI:297102)をコードする。

30

【0015】

TaqMan(登録商標)分析によって評価したところ、1587は、ヒトおよびラットの両方のTaqMan(登録商標)パネルにおいて、脳および脊髄のサンプル、ならびに心臓、DRGおよび腎臓の組織において、顕著な発現を示す。モルフィン実験は、脊髄の背面角(DH)において6時間および24時間に、ならびにDRGにおいて2日目および11日目に、1587における顕著な減少を実証した。動物の疼痛モデル系において、1587は、モルフィンおよびカブサイシン処置動物において顕著なダウンレギュレーションを示した。ISH実験は、脳およびDRGの組織サンプル、ならびに神経膠細胞の部分集団における1587の発現を確認した。それゆえ、1587は、疼痛応答に関与し、そして疼痛および有痛性障害の処置に関する治療を見出すための潜在的標的である。

40

【0016】

(遺伝子ID2146)

ヒト2146配列(配列番号7)(GI:988304)(プロテインチロシンキナーゼPYK2としても公知)(これは、非翻訳領域を含めて約4151ヌクレオチド長である)は、終結コドンを含めて約3030ヌクレオチドの推定メチオニン開始コード配列を含む(配列番号7のコーディングとして示されるヌクレオチド、配列番号8)。このコード配列は、1009アミノ酸のタンパク質(配列番号9)(GI:988305)をコー

50

ドする。

【0017】

TaqMan (登録商標) 分析によって評価したところ、2146 は、脳、DRG、脾臓および末梢血細胞において高レベルで発現された。サルおよびラットのサンプルについて行ったISH実験は、脊髄およびDRGにおける2146の発現を確認した。脊髄においては、2146は、最も表層の板(痛覚に關与する領域)においてのみ発現される。サルおよびラットのDRGサンプルにおいては、2146発現は、ニューロンの極めて制限された部分集団(主に、小さな直径の部分集団および中間の直径の部分集団)において観察される。それゆえ、2146は、疼痛障害に關与し、そして疼痛および有痛性障害の処置に關する治療を見出すための潜在的標的である。

10

【0018】

(遺伝子ID2207)

ヒト2207配列(配列番号10)(プロテインキナーゼとしても公知)(これは、非翻訳領域を含めて約6574ヌクレオチド長である)は、終結コドンを含めて、約6162ヌクレオチドの推定メチオニン開始コード配列を含む(配列番号10のコーディングとして示されるヌクレオチド、配列番号11)。このコード配列は、2053アミノ酸のタンパク質(配列番号12)をコードする。

【0019】

TaqMan (登録商標) 分析によって評価したところ、2207 mRNAは、脳、末梢血細胞およびDRGにおいて高度に発現され、そして脊髄においてより低いレベルで発現された。2207もまた、疼痛のカプサイシンモデルにおいてアップレギュレートされる。サルおよびラットのサンプルについて行ったISH実験は、脊髄およびDRGにおける2207の発現を確認した。脳において、最高レベルの発現は、感覚視床においてである。サルおよびラットのDRGサンプルにおいては、2207の発現は、疼痛プロセッシングに關与するニューロンを含めて全てのサイズのニューロンの部分集団に制限される。それゆえ、2207は、疼痛障害に關与し、そして疼痛および有痛性障害の処置に關する治療を見出すための潜在的標的である。

20

【0020】

(遺伝子ID32838)

ヒト32838配列(配列番号13)(GI:4539524)(NAAALDase IIとしても公知)(これは、非翻訳領域を含めて約3152ヌクレオチド長である)は、終結コドンを含めて約2223ヌクレオチドの推定メチオニン開始コード配列を含む(配列番号13のコーディングとして示されるヌクレオチド、配列番号14)。このコード配列は、740アミノ酸のタンパク質(配列番号15)(GI:4535925)をコードする。

30

【0021】

TaqMan (登録商標) 分析によって評価したところ、32838 mRNAは、脳皮質、下垂体および視床下部における発現に制限された。これはまた、モルフィンで処置された動物のDHにおいて6時間および24時間にて、アップレギュレートされた。それゆえ、32838は、疼痛障害に關与し、そして疼痛および有痛性障害の処置に關する治療を見出すための潜在的標的である。

40

【0022】

(遺伝子ID336)

ヒト336配列(配列番号16)(GI:2246432)(CCR6ケモカインレセプターCMKBR6としても公知)(これは、非翻訳領域を含めて約3693ヌクレオチド長である)は、終結コドンを含めて約1221ヌクレオチドの推定メチオニン開始コード配列を含む(配列番号16のコーディングとして示されるヌクレオチド、配列番号17)。このコード配列は、406アミノ酸のタンパク質(配列番号18)(GI:2251211)をコードする。

【0023】

50

TaqMan（登録商標）分析によって評価したところ、336 mRNAは、脳皮質において発現された。このことは、疼痛の痛覚における役割を示す。それゆえ、336は、疼痛および有痛性障害を処置する際に有用な治療を見出すための潜在的標的である。

【0024】

（遺伝子ID52908）

ヒト52908配列（配列番号19）（カリウムチャンネルとしても公知）（これは、非翻訳領域を含めて約3164ヌクレオチド長である）は、終結コドンを含めて約2877ヌクレオチドの推定メチオニン開始コード配列を含む（配列番号19のコーディングとして示されるヌクレオチド、配列番号20）。このコード配列は、958アミノ酸のタンパク質（配列番号21）をコードする。

10

【0025】

TaqMan（登録商標）分析によって評価したところ、52908 mRNA発現は、脳の皮質、視床下部、脊髄およびDRGに制限されていた。ISH実験は、DRGおよび脊髄における2207の発現を確認した。脊髄では、52908は、板I、板IIおよび板Vにおけるニューロンの部分集団において発現される。また、いくつかの発現は、中心管の周囲、板Xで観察される。高レベルの52908発現はまた、侵害受容DRGニューロンの部分集団において観察された。このニューロン集団は、小さな直径のニューロン集および中間の直径のニューロン集団に対応する。それゆえ、52908は、疼痛に関与し、そして疼痛および有痛性障害の処置に関する治療を見出すための潜在的標的である。

【0026】

20

本発明の種々の局面が、以下の節においてさらに詳細に記載される。

【0027】

（I. スクリーニングアッセイ）

本発明は、1465タンパク質、1587タンパク質、2146タンパク質、2207タンパク質、32838タンパク質、336タンパク質、もしくは52908タンパク質に結合するか、あるいは例えば、1465発現、1587発現、2146発現、2207発現、32838発現、336発現、もしくは52908発現、または1465活性、1587活性、2146活性、2207活性、32838活性、336活性、もしくは52908活性に対する刺激効果もしくは阻害効果を有するか、あるいは例えば、1465基質、1587基質、2146基質、2207基質、32838基質、336基質、もしくは52908基質の発現または活性に対する刺激効果もしくは阻害効果を有するモジュレーター、すなわち候補または試験化合物または因子（例えば、ペプチド、ペプチド模倣物、低分子（有機もしくは無機）または他の薬物）を同定するための方法（本明細書中で「スクリーニングアッセイ」ともいわれる）を提供する。本明細書中に記載されるアッセイを使用して同定された化合物は、疼痛および有痛性の状態を処置するために有用であり得る。

30

【0028】

これらのアッセイは、1465タンパク質、1587タンパク質、2146タンパク質、2207タンパク質、32838タンパク質、336タンパク質、もしくは52908タンパク質に結合する化合物、1465タンパク質、1587タンパク質、2146タンパク質、2207タンパク質、32838タンパク質、336タンパク質、もしくは52908タンパク質と相互作用する他の細胞内タンパク質または細胞外タンパク質に結合する化合物、および1465タンパク質、1587タンパク質、2146タンパク質、2207タンパク質、32838タンパク質、336タンパク質、もしくは52908タンパク質と他の細胞内タンパク質または細胞外タンパク質との相互作用を妨害する化合物を同定するために設計される。例えば、1465タンパク質、1587タンパク質、2146タンパク質、2207タンパク質、32838タンパク質、336タンパク質、もしくは52908タンパク質（これらは、膜貫通レセプター型タンパク質である）の場合、このような技術は、このようなレセプターに対するリガンドを同定し得る。1465タンパク質リガンド、1587タンパク質リガンド、2146タンパク質リガンド、2207タン

40

50

パク質リガンド、32838タンパク質リガンド、336タンパク質リガンド、もしくは52908タンパク質リガンド、または1465タンパク質基質、1587タンパク質基質、2146タンパク質基質、2207タンパク質基質、32838タンパク質基質、336タンパク質基質、もしくは52908タンパク質基質は、例えば、疼痛および有痛性状態を改善するために使用され得る。このような化合物としては、ペプチド、抗体、有機低分子化合物または無機低分子化合物が挙げられ得るが、これらに限定されない。このような化合物としては、他の細胞タンパク質も挙げられ得る。

【0029】

本明細書中に記載されるようなアッセイを介して同定された化合物は、例えば、疼痛および有痛性の状態を処置するために有用であり得る。有痛性の状態が、細胞または組織における全体的に低いレベルの1465遺伝子発現、1587遺伝子発現、2146遺伝子発現、2207遺伝子発現、32838遺伝子発現、336遺伝子発現、もしくは52908遺伝子発現、および/または1465タンパク質、1587タンパク質、2146タンパク質、2207タンパク質、32838タンパク質、336タンパク質、もしくは52908タンパク質から生じる場合、1465タンパク質、1587タンパク質、2146タンパク質、2207タンパク質、32838タンパク質、336タンパク質、もしくは52908タンパク質と相互作用する化合物としては、結合した1465タンパク質、1587タンパク質、2146タンパク質、2207タンパク質、32838タンパク質、336タンパク質、もしくは52908タンパク質の活性を強調または増幅する化合物が挙げられ得る。このような化合物は、1465タンパク質活性、1587タンパク質活性、2146タンパク質活性、2207タンパク質活性、32838タンパク質活性、336タンパク質活性、または52908タンパク質活性のレベルの有効な増加をもたらし、従って、症状を改善する。

10

20

【0030】

他の場合において、1465遺伝子、1587遺伝子、2146遺伝子、2207遺伝子、32838遺伝子、336遺伝子、または52908遺伝子内の変異は、疼痛を導く有害な効果を有する、異常な型または過剰量の1465タンパク質、1587タンパク質、2146タンパク質、2207タンパク質、32838タンパク質、336タンパク質、もしくは52908タンパク質を生じさせ得る。同様に、生理学的状態は、疼痛を導く1465遺伝子発現、1587遺伝子発現、2146遺伝子発現、2207遺伝子発現、32838遺伝子発現、336遺伝子発現、または52908遺伝子発現を過剰に増加させ得る。このような場合において、1465タンパク質、1587タンパク質、2146タンパク質、2207タンパク質、32838タンパク質、336タンパク質、もしくは52908タンパク質に結合する化合物は、1465タンパク質、1587タンパク質、2146タンパク質、2207タンパク質、32838タンパク質、336タンパク質、もしくは52908タンパク質の活性を阻害する化合物を同定し得る。この節に記載されるような技術により同定された化合物の有効性を試験するためのアッセイは、本明細書中に論じられる。

30

【0031】

1つの実施形態において、本発明は、1465タンパク質、1587タンパク質、2146タンパク質、2207タンパク質、32838タンパク質、336タンパク質、もしくは52908タンパク質または1465ポリペプチド、1587ポリペプチド、2146ポリペプチド、2207ポリペプチド、32838ポリペプチド、336ポリペプチド、または52908ポリペプチド、またはそれらの生物学的に活性な部分の基質である候補化合物または試験化合物をスクリーニングするためのアッセイを提供する。別の実施形態において、本発明は、1465タンパク質、1587タンパク質、2146タンパク質、2207タンパク質、32838タンパク質、336タンパク質、もしくは52908タンパク質または1465ポリペプチド、1587ポリペプチド、2146ポリペプチド、2207ポリペプチド、32838ポリペプチド、336ポリペプチド、もしくは52908ポリペプチド、またはそれらの生物学的に活性な部分に結合するかまたはその活性

40

50

を調節する候補化合物または試験化合物をスクリーニングするためのアッセイを提供する。本発明の試験化合物は、当該分野において公知のコンビナトリアルライブラリー法における多くのアプローチのいずれか（生物学的ライブラリー；空間的にアドレス可能な平行固相ライブラリーまたは液相ライブラリー；逆重畳を必要とする合成ライブラリー法；「1 ビーズ 1 化合物」ライブラリー法；およびアフィニティクロマトグラフィー選択を使用する合成ライブラリー法を含む）を使用して取得され得る。生物学的ライブラリーアプローチは、ペプチドライブラリーに限定されるが、他の 4 つのアプローチは、化合物のペプチドライブラリー、非ペプチドオリゴマーライブラリーまたは低分子ライブラリーに適用可能である（Lam、K. S. (1997) *Anticancer Drug Des.* 12:145）。

10

【0032】

分子ライブラリーの合成方法の例としては、例えば、以下において当該分野で見い出され得る：DeWittら(1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 90:6909；Erbら(1994) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91:11422；Zuckermannら(1994) *J. Med. Chem.* 37:2678；Choら(1993) *Science* 261:1303；Carrellら(1994) *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 33:2059；Carrellら(1994) *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 33:2061；およびGalloppら(1994) *J. Med. Chem.* 37:1233。

20

【0033】

化合物のライブラリーは、溶液中で（例えば、Houghten(1992) *Biotechniques* 13:412-421）、あるいはビーズ（Lam(1991) *Nature* 354:82-84）、チップ（Fodor(1993) *Nature* 364:555-556）、細菌（Ladner *USP* 5,223,409）、孢子（Ladner *USP* '409）、プラスミド（Cullら(1992) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:1865-1869）またはファージ（ScottおよびSmith(1990) *Science* 249:386-390）；（Devlin(1990) *Science* 249:404-406）；（Cwirllaら(1990) *Proc. Natl. Acad. Sci.* 87:6378-6382）；（Felici(1991) *J. Mol. Biol.* 222:301-310）；（Ladner 前出）上に提示され得る。

30

【0034】

1 つの実施形態において、アッセイは、細胞ベースのアッセイであり、1465 タンパク質、1587 タンパク質、2146 タンパク質、2207 タンパク質、32838 タンパク質、336 タンパク質、もしくは52908 タンパク質またはそれらの生物学的に活性な部分を発現する細胞は、試験化合物と接触され、そして1465 活性、1587 活性、2146 活性、2207 活性、32838 活性、336 活性、もしくは52908 活性を調節する試験化合物の能力が決定される。1465 活性、1587 活性、2146 活性、2207 活性、32838 活性、336 活性、もしくは52908 活性を調節する試験化合物の能力の決定は、例えば、細胞内カルシウム、IP₃、cAMP、またはジアシルグリセロールの濃度、細胞内タンパク質のリン酸化プロファイル、細胞増殖および/または遊走、例えば、無痛と関連する細胞表面接着分子または遺伝子の遺伝子発現、あるいは1465 調節転写因子、1587 調節転写因子、2146 調節転写因子、2207 調節転写因子、32838 調節転写因子、336 調節転写因子、もしくは52908 調節転写因子の活性をモニタリングすることによって、達成され得る。細胞は、哺乳動物起源の細胞（例えば、神経細胞）であり得る。1 つの実施形態において、レセプタードメインと相互作用する化合物は、リガンドとして機能する（すなわち、レセプターに結合し、シグナル伝達経路を調節する）能力についてスクリーニングされ得る。リガンドの同定、およびリガンド-レセプター複合体の活性の測定は、この相互作用のモジュレーター（例えば、ア

40

50

ンタゴニスト)の同定を導く。このようなモジュレーターは、疼痛および有痛性の状態の処置において有用であり得る。

【0035】

試験化合物が、基質に結合する1465、1587、2146、2207、32838、336、もしくは52908を調節するか、または1465、1587、2146、2207、32838、336、もしくは52908に結合する能力もまた決定され得る。試験化合物が、基質に結合する1465、1587、2146、2207、32838、336、もしくは52908を調節する能力の決定は、例えば、1465基質、1587基質、2146基質、2207基質、32838基質、336基質、もしくは52908基質を放射性同位体または酵素標識とカップリングさせることによって達成され得、その結果、基質の1465、1587、2146、2207、32838、336、もしくは52908への結合が、複合体中に標識された1465基質、1587基質、2146基質、2207基質、32838基質、336基質、もしくは52908基質を検出することによって、決定され得る。1465、1587、2146、2207、32838、336、および52908はまた、試験化合物が、複合体中の1465基質、1587基質、2146基質、2207基質、32838基質、336基質、または52908基質に結合する1465、1587、2146、2207、32838、336、および52908を調節する能力をモニターするために、放射性同位体または酵素標識とカップリングされ得る。試験化合物が1465、1587、2146、2207、32838、336、および52908に結合する能力を決定することは、例えば、化合物を放射性同位体または酵素標識とカップリングさせることによって達成され得、その結果、1465、1587、2146、2207、32838、336、および52908に対する化合物の結合が、複合体中の標識された1465化合物、1587化合物、2146化合物、2207化合物、32838化合物、336化合物、もしくは52908化合物を検出することによって決定され得る。例えば、化合物(例えば、1465、1587、2146、2207、32838、336、および52908のリガンドまたは基質)は、 ^{125}I 、 ^3S 、 ^{14}C 、または ^3H で、直接的または間接的のいずれかで標識され得、そしてこの放射性同位体が、放射線放射の直接的な計数によってか、またはシンチレーション計数によって検出され得る。化合物は、例えば、西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、またはルシフェラーゼで酵素的にさらに標識され得、そしてこの酵素標識は、適切な基質の産物への転換を決定することによって検出され得る。

【0036】

化合物(例えば、1465、1587、2146、2207、32838、336または52908のリガンドまたは基質)が、任意の相互作用体(interactant)の標識化を有さない1465、1587、2146、2207、32838、336または52908と相互作用する能力を、決定することもまた、本発明の範囲内である。例えば、微小生理機能測定器(microphysiometer)を使用して、化合物または1465、1587、2146、2207、32838、336または52908のいずれかの、標識化を有さない1465、1587、2146、2207、32838、336または52908と化合物との相互作用を検出し得る。McConnell, H. M. (1992) Science 257: 1906-1912。本明細書中で使用される場合、「微小生理機能測定器」(例えば、Cytosensor)は、光でアドレス可能な電位差測定センサー(LAPS)を使用して、細胞がその環境を酸性化する速度を測定する、分析装置である。この酸性化速度の変化は、化合物と1465、1587、2146、2207、32838、336または52908との間の相互作用の指標として使用され得る。

【0037】

別の実施形態において、アッセイは、1465、1587、2146、2207、32838、336または52908の標的分子(例えば、1465、1587、2146、2207、32838、336または52908の基質)を発現する細胞と試験化合物と

を接触させること、およびこの試験化合物の、1465、1587、2146、2207、32838、336または52908の標的分子の活性を調節する（例えば、刺激するかまたは阻害する）能力を決定することを包含する、細胞ベースのアッセイである。1465、1587、2146、2207、32838、336または52908の標的分子の活性を調節する試験化合物の能力を決定することは、例えば、1465、1587、2146、2207、32838、336または52908の標的分子に結合するか、または1465、1587、2146、2207、32838、336または52908の標的分子と相互作用する1465、1587、2146、2207、32838、336または52908のタンパク質の能力を決定することによって達成され得る。

【0038】

1465、1587、2146、2207、32838、336もしくは52908のタンパク質、またはそれらの生物学的に活性なフラグメントが、1465、1587、2146、2207、32838、336または52908の標的分子に結合するか、または相互作用する能力を決定することは、直接的な結合を決定するための上記の方法のうちの1つによって達成され得る。好ましい実施形態において、1465、1587、2146、2207、32838、336または52908のタンパク質の、1465、1587、2146、2207、32838、336もしくは52908の標的分子に結合するか、または1465、1587、2146、2207、32838、336もしくは52908の標的分子に相互作用する能力を決定することは、標的分子の活性を決定することによって達成され得る。例えば、標的分子の活性は、標的の細胞性の第2のメッセンジャー（すなわち、細胞内 Ca^{2+} 、ジアシルグリセロール、 IP_3 、cAMP）の誘導を検出すること、適切な基質に対する標的の触媒活性/酵素活性を検出すること、レポーター遺伝子（検出可能なマーカー（例えば、ルシフェラーゼ）をコードする核酸に作動可能に連結された標的調節エレメントを含む）の誘導を検出すること、あるいは標的調節型細胞内応答（例えば、遺伝子発現）を検出することによって決定され得る。

【0039】

なお別の実施形態において、本発明のアッセイは、1465、1587、2146、2207、32838、336もしくは52908のタンパク質またはその生物学的に活性な部分が、試験化合物と接触され、そして試験化合物の、1465、1587、2146、2207、32838、336もしくは52908のタンパク質またはその生物学的に活性な部分に結合する能力が決定される、無細胞アッセイである。本発明のアッセイにおいて使用されるための、1465、1587、2146、2207、32838、336または52908のタンパク質の好ましい生物学的に活性な部分は、非1465分子、非1587分子、非2146分子、非2207分子、非32838、336分子または非52908分子との相互作用に關与するフラグメント（例えば、高表面確率スコア（high surface probability score）を有するフラグメント）を含む。1465、1587、2146、2207、32838、336または52908のタンパク質への試験化合物の結合は、上記のように直接的にかまたは間接的にかのいずれかで決定され得る。好ましい実施形態において、このアッセイは、1465、1587、2146、2207、32838、336もしくは52908のタンパク質またはその生物学的に活性な部分と、1465、1587、2146、2207、32838、336または52908に結合しアッセイ混合物を形成する既知の化合物とを接触させること、このアッセイ混合物と試験化合物とを接触させること、および試験化合物が1465、1587、2146、2207、32838、336または52908のタンパク質と相互作用する能力を決定することを包含し、ここで、試験化合物が1465、1587、2146、2207、32838、336または52908のタンパク質と比較して、1465、1587、2146、2207、32838、336もしくは52908またはその生物学的に活性な部分に優先的に結合する能力を決定することを包含する。1465、1587、2146、2207、32838、336もしくは52908と既知の標的タンパク質との相

10

20

30

40

50

相互作用を調節する化合物は、1465、1587、2146、2207、32838、336または52908のタンパク質、特に変異1465タンパク質、変異1587タンパク質、変異2146タンパク質、変異2207タンパク質、変異32838、336タンパク質または変異52908タンパク質の活性を調節する際に有用であり得る。

【0040】

別の実施形態において、このアッセイは、1465、1587、2146、2207、32838、336もしくは52908のタンパク質またはその生物学的に活性な部分が、試験化合物と接触され、そしてこの試験化合物の、1465、1587、2146、2207、32838、336または52908のタンパク質の活性またはその生物学的活性を調節する（例えば、刺激するかまたは阻害する）能力が決定される、無細胞アッセイである。試験化合物が1465、1587、2146、2207、32838、336または52908のタンパク質の活性を調節する能力を決定することは、例えば、1465、1587、2146、2207、32838、336または52908のタンパク質が1465、1587、2146、2207、32838、336または52908の標的分子に結合する能力を決定することにより、直接的な結合を決定するための上記の方法のうちの1つにより達成され得る。1465、1587、2146、2207、32838、336または52908のタンパク質が1465、1587、2146、2207、32838、336または52908の標的分子に結合する能力を決定することはまた、real-time Biomolecular Interaction Analysis (BIA) (Sjolander, S. および Urbaniczky, C. (1991) Anal. Chem. 63: 2338-2345 ならびに Szabo (1995) Curr. Opin. Struct. Biol. 5: 699-705) のような技術を用いて達成され得る。本明細書中で使用される場合、「BIA」は、いずれの相互作用体（例えば、BIACore）も標識することなく、リアルタイムで生体特異的相互作用体を試験するための技術である。表面プラズモン共鳴 (SPR) の光学的現象 (optical phenomenon) の変化は、生物学的分子間のリアルタイム反応の指標として使用され得る。

【0041】

別の実施形態において、試験化合物が1465、1587、2146、2207、32838、336または52908のタンパク質の活性を調節する能力を決定することは、1465、1587、2146、2207、32838、336または52908のタンパク質が1465、1587、2146、2207、32838、336または52908の標的分子の下流エフェクターの活性をさらに調節する能力を決定することによって達成され得る。例えば、適切な標的についてのエフェクター分子の活性が決定され得るか、または適切な標的へのエフェクターの結合は、以前記載したように決定され得る。

【0042】

なお別の実施形態において、無細胞アッセイは、1465、1587、2146、2207、32838、336または52908のタンパク質またはその生物学的に活性な部分と、1465、1587、2146、2207、32838、336または52908のタンパク質と結合してアッセイ混合物を形成する既知の化合物とを接触させること、このアッセイ混合物と試験化合物とを接触させること、および試験化合物が1465、1587、2146、2207、32838、336または52908のタンパク質と相互作用する能力を決定することを包含し、ここで試験化合物が1465、1587、2146、2207、32838、336または52908のタンパク質と相互作用する能力を決定することは、1465、1587、2146、2207、32838、336または52908のタンパク質の、1465、1587、2146、2207、32838、336または52908の標的分子に優先的に結合するか、または1465、1587、2146、2207、32838、336または52908の標的分子の活性を調節する能力を決定することを包含する。

【0043】

本発明の上記のアッセイ方法の1つ以上の実施形態において、1465、1587、2146、2207、32838、336もしくは52908またはその標的分子のいずれかを固定して、そのタンパク質の一方または両方の非複合体化形態からの複合体化形態の分離を容易にし、そしてこのアッセイの自動化に適用させることが、望ましくあり得る。試験化合物の1465、1587、2146、2207、32838、336もしくは52908のタンパク質への結合、または候補化合物の存在下および非存在下での1465、1587、2146、2207、32838、336もしくは52908のタンパク質の標的分子との相互作用は、これらの反応物を収容するのに適切な任意の容器内で達成され得る。このような容器の例には、マイクロタイタープレート、試験管、および微小遠心管が挙げられる。1つの実施形態において、そのタンパク質の一方または両方をマトリックスに結合することを可能にするドメインを追加する融合タンパク質が、提供され得る。例えば、グルタチオン-S-トランスフェラーゼ/1465、1587、2146、2207、32838、336もしくは52908の融合タンパク質またはグルタチオン-S-トランスフェラーゼ/標的の融合タンパク質は、グルタチオンセファロースビーズ(Sigma Chemical, St. Louis, MO)またはグルタチオン誘導体化マイクロタイタープレート上に吸着され得、次いで、これらを、試験化合物と混ぜ合わせるか、あるいは試験化合物および非吸着の標的タンパク質または1465、1587、2146、2207、32838、336もしくは52908のタンパク質のいずれかと混ぜ合わせ、そしてこの混合物を、複合体形成を実施する条件下(例えば、塩およびpHに関する生理学的条件)でインキュベートする。インキュベーション後、ビーズまたはマイクロタイタープレートウェルを洗浄して、結合していないあらゆる成分を除去し、ビーズの場合にはマトリックスを固定し、例えば、上記のように、複合体を直接的または間接的のいずれかで決定する。あるいは、複合体をマトリックスから解離させ得、そして1465、1587、2146、2207、32838、336もしくは52908の結合レベルまたは1465、1587、2146、2207、32838、336もしくは52908の活性レベルを標準的な技術を使用して決定し得る。

【0044】

タンパク質をマトリックス上に固定するための他の技術はまた、本発明のスクリーニングアッセイにおいて使用され得る。例えば、1465、1587、2146、2207、32838、336もしくは52908のタンパク質または1465、1587、2146、2207、32838、336もしくは52908の標的分子のいずれかは、ビオチンとストレプトアビジンとの結合体化を使用して固定され得る。ビオチン化された1465、1587、2146、2207、32838、336もしくは52908のタンパク質または標的分子を、当該分野において公知の技術(例えば、ビオチン化キット、Pierce Chemicals, Rockford, IL)を使用して、ビオチン-NHS(N-ヒドロキシスクシンイミド)から調製し得、そしてストレプトアビジンでコーティングした96ウェルのプレート(Pierce Chemical)のウェル中に固定し得る。あるいは、1465、1587、2146、2207、32838、336もしくは52908のタンパク質または標的分子と反応性であるが、1465、1587、2146、2207、32838、336もしくは52908のタンパク質のその標的分子への結合を妨害しない抗体は、プレートのウェルに誘導体化され得、そして結合していない標的または1465、1587、2146、2207、32838、336もしくは52908のタンパク質が、抗体の結合体化によってウェル内にトラップされ得る。このような複合体を検出するための方法には、GST固定化複合体に関しての上記のものに加えて、1465、1587、2146、2207、32838、336もしくは52908のタンパク質または標的分子と反応性の抗体を使用する複合体の免疫検出、ならびに1465、1587、2146、2207、32838、336もしくは52908タンパク質または標的分子に関する酵素活性の検出に依存する酵素結合アッセイが挙げられる。

【0045】

別の実施形態において、1465、1587、2146、2207、32838、33

6 または 5 2 9 0 8 の発現の調節因子が、1 つの方法において同定される。その方法において、細胞が、候補化合物と接触させられ、そして細胞中の 1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6 または 5 2 9 0 8 の mRNA または 1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6 または 5 2 9 0 8 のタンパク質の発現が、測定される。候補化合物の存在下での 1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6 もしくは 5 2 9 0 8 の mRNA または 1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6 もしくは 5 2 9 0 8 のタンパク質の発現レベルが、候補化合物の非存在下での 1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6 もしくは 5 2 9 0 8 の mRNA または 1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6 もしくは 5 2 9 0 8 のタンパク質の発現レベルと比較される。その後、その候補化合物は、この比較に基づいて、1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6 または 5 2 9 0 8 の発現の調節因子として同定され得る。例えば、1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6 もしくは 5 2 9 0 8 の mRNA または 1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6 もしくは 5 2 9 0 8 のタンパク質の発現が、その候補化合物の非存在下よりもその存在下で多い（統計学的に有意に多い）場合、その候補化合物は、1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6 もしくは 5 2 9 0 8 の mRNA または 1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6 もしくは 5 2 9 0 8 のタンパク質の発現の刺激因子として同定される。あるいは、1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6 もしくは 5 2 9 0 8 の mRNA または 1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6 もしくは 5 2 9 0 8 のタンパク質の発現が、その候補化合物の非存在下よりもその存在下で少ない（統計学的に有意に少ない）場合、その候補化合物は、1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6 もしくは 5 2 9 0 8 の mRNA または 1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6 もしくは 5 2 9 0 8 のタンパク質の発現のインヒビターとして同定される。その細胞における 1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6 もしくは 5 2 9 0 8 の mRNA または 1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6 もしくは 5 2 9 0 8 のタンパク質の発現レベルは、1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6 もしくは 5 2 9 0 8 の mRNA または 1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6 もしくは 5 2 9 0 8 のタンパク質を検出するための本明細書中に記載される方法によって測定され得る。

【0046】

本発明のなお別の局面において、1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6 もしくは 5 2 9 0 8 のタンパク質は、ツーハイブリッドアッセイまたはスリーハイブリッドアッセイ（例えば、米国特許第 5, 283, 317 号；Zervos ら、(1993) Cell 72: 223~232；Madura ら (1993) J. Biol. Chem. 268: 12046~12054；Bartel ら (1993) Biotechniques 14: 920~924；Iwabuchi ら (1993) Oncogene 8: 1693~1696；および Brent WO94/10300 を参照のこと）において、1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6 もしくは 5 2 9 0 8 と結合または相互作用し、1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6 もしくは 5 2 9 0 8 の活性に関与する他のタンパク質（「1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6 もしくは 5 2 9 0 8 の結合タンパク質」または「1 4 6 5 - bp、1 5 8 7 - bp、2 1 4 6 - bp、2 2 0 7 - bp、3 2 8 3 8、3 3 6 - bp もしくは 5 2 9 0 8 - bp」）を同定するために「ベイト (bait) タンパク質」として使用され得る。そのような 1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6 もしくは 5 2 9 0 8 の結合タンパク質は、例えば、1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6 もしくは 5 2 9 0 8 の媒介性シグナル伝達経路の下流エレメントのような、1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6 もしくは 5 2 9 0 8 のタンパク質または 1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0

7、32838、336もしくは52908の標的によるシグナルの伝播に関与している可能性もある。あるいは、そのような1465、1587、2146、2207、32838、336もしくは52908の結合タンパク質は、1465、1587、2146、2207、32838、336もしくは52908のインヒビターである可能性がある。

【0047】

このツーハイブリッドシステムは、ほとんどの転写因子のモジュラーの性質に基づく。ほとんどの転写因子は、別個のDNA結合ドメインおよび活性化ドメインからなる。簡単に述べると、このアッセイは、2つの異なるDNA構築物を利用する。1つの構築物において、1465、1587、2146、2207、32838、336もしくは52908のタンパク質をコードする遺伝子が、既知の転写因子（例えば、GAL-4）のDNA結合ドメインをコードする遺伝子に融合される。他の構築物において、同定されていないタンパク質（「プレイ（prey）」または「サンプル」）をコードするDNA配列ライブラリー由来のDNA配列が、既知の転写因子の活性化ドメインをコードする遺伝子に融合される。「ベイト」タンパク質と「プレイ」タンパク質とがインビボで相互作用して1465、1587、2146、2207、32838、336もしくは52908の依存性複合体を形成し得る場合、その転写因子のDNA結合ドメインと活性化ドメインとは、近接する。このように近くにあることにより、その転写因子に応答性の転写調節部位に作動可能に連結したレポーター遺伝子（例えば、lacZ）の転写が可能になる。そのレポーター遺伝子の発現が検出され得、そしてその機能的な転写因子を含む細胞コロニーが、単離され得、そして1465、1587、2146、2207、32838、336もしくは52908のタンパク質と相互作用するタンパク質をコードするクローン遺伝子を得るために使用され得る。

10

20

【0048】

別の局面において、本発明は、本明細書中に記載されるアッセイのうちの2つ以上の組み合わせに関する。例えば、調節因子が、細胞ベースのアッセイまたは無細胞アッセイを用いて同定され得、そしてその因子が1465、1587、2146、2207、32838、336もしくは52908のタンパク質の活性を調節する能力が、例えば、動物（例えば、本明細書に記載される疼痛についての動物モデル）においてインビボで確認され得る。

【0049】

本発明は、さらに、上記のスクリーニングアッセイによって同定される新規因子に関する。従って、適切な動物モデルにおいて、本明細書中に記載されるように同定された因子をさらに使用することは、本明細書中に範囲内にある。例えば、本明細書中に記載されるように同定される因子（例えば、1465、1587、2146、2207、32838、336もしくは52908の調節因子、アンチセンス1465核酸分子、アンチセンス1587核酸分子、アンチセンス2146核酸分子、アンチセンス2207核酸分子、アンチセンス32838、336核酸分子もしくはアンチセンス52908核酸分子、1465、1587、2146、2207、32838、336もしくは52908の特異的抗体、または1465、1587、2146、2207、32838、336もしくは52908の結合パートナー）が、そのような因子を用いる処置の効力、毒性、または副作用を決定するために動物モデルにおいて使用され得る。あるいは、本明細書中に記載されるように同定される因子が、そのような因子の作用機構を決定するために動物モデルにおいて使用され得る。さらに、本発明は、本明細書中に記載されるような処置のために、上記のスクリーニングアッセイにより同定された新規な因子の使用に関する。

30

40

【0050】

これらの化合物（上記のアッセイ系において同定される化合物のような化合物が挙げられるが、それらに限定されない）のいずれもが、疼痛を軽減する能力について試験され得る。疼痛を軽減する能力を示す化合物の同定のための細胞ベースのアッセイおよび動物モデルベースのアッセイは、本明細書中に記載される。

【0051】

50

さらに、本明細書中で記載されるような、疼痛の動物ベースのモデルを使用して、疼痛および有痛性の状態を処置し得る化合物を同定し得る。このような動物モデルは、疼痛処置において有効であり得る薬物、薬品、治療および介入の同定のための試験基質として使用され得る。例えば、動物モデルは、曝露される動物において、疼痛のこのような改善を誘発するのに十分な濃度および時間で、疼痛を処置する能力を示すと推定される化合物に曝露され得る。この曝露に対する動物の応答は、処置の前後に疼痛の症状の逆転を評価することによってモニターされ得る。

【0052】

介入に関して、疼痛の任意の局面を逆転する（すなわち、無痛覚効果を有する）任意の処置は、ヒト疼痛の治療的介入のための候補とみなされるべきである。試験薬剤の投薬量は、用量応答曲線を導くことにより決定され得る。

10

【0053】

さらに、遺伝子発現パターンが、化合物が疼痛を改善する能力を評価するために利用され得る。例えば、1以上の遺伝子の発現パターンは、「遺伝子発現プロファイル」または「転写プロファイル」の一部を形成し得、次いで、これは、このような評価に用いられ得る。「遺伝子発現プロファイル」または「転写プロファイル」は、本明細書中で使用される場合、所定のセットの条件下で所定の組織型または細胞型について得られたmRNA発現のパターンを含む。遺伝子発現プロファイルは、例えば、差次的ディスプレイ手順、ノーザン分析および/またはRT-PCRを利用することにより、生成され得る。1つの実施形態において、1465、1587、2146、2207、32838、336もしくは52908の遺伝子配列は、このような遺伝子発現プロファイルの生成および確認のために、プローブおよび/またはPCRプライマーとして使用され得る。

20

【0054】

遺伝子発現プロファイルは、細胞ベースのモデル系および/または動物ベースのモデル系内で、既知の状態（心臓血管疾患あるいは正常状態のいずれか）について、特徴付けられ得る。続いて、これらの既知の遺伝子発現プロファイルは、このような遺伝子発現プロファイルの改変に対する試験化合物の効果を確認するために比較され得、そしてこのプロファイルを、より所望のプロファイルにより近くに似るようにされる。

【0055】

例えば、化合物の投与は、疼痛疾患のモデル系の遺伝子発現プロファイルを、コントロール系により近くへと似せ得る。あるいは、化合物の投与は、コントロール系の遺伝子発現プロファイルに、疼痛または有痛性の疾患状態の模倣を開始させ得る。このような化合物は、例えば、目的の化合物をさらに特徴付ける際に使用され得るか、またはさらなる動物モデルの作製に使用され得る。

30

【0056】

（II. 細胞ベースのモデル系および動物ベースのモデル系）

疼痛に対するモデルとして機能する細胞ベースの系および動物ベースの系が本明細書中に記載される。これらの系は、種々の適用において使用され得る。例えば、細胞ベースのモデル系および動物ベースのモデル系を使用して、心臓血管疾患に関連する示差的に発現される遺伝子（例えば、1465、1587、2146、2207、32838、336または52908）をさらに特徴付け得る。さらに、動物ベースのアッセイおよび細胞ベースのアッセイは、以下に記載されるように、疼痛を改善し得る化合物を同定するように設計されるスクリーニングストラテジーの一部として使用され得る。従って、動物ベースのモデルおよび細胞ベースのモデルを使用して、心臓血管疾患を処置する際に有効であり得る薬物、薬品、治療および介入を同定し得る。さらに、このような動物モデルは、動物被験体においてLD50およびED50を決定するために使用され得、そしてこのようなデータは、潜在的な疼痛処置のインビボ効力を決定するために使用され得る。

40

【0057】

（A. 動物ベースの系）

疼痛の動物ベースのモデル系としては、非組み換え動物および操作されたトランスジェ

50

ニック動物が挙げられ得るが、これらに限定されない。

【0058】

疼痛についての非組み換え動物モデルとしては、例えば、遺伝的モデルが挙げられ得る。

【0059】

さらに、疼痛を示す動物モデルは、例えば、当業者に周知のトランスジェニック動物を作製するための技術とともに、上記1465、1587、2146、2207、32838、336または52908の遺伝子配列を使用することによって、操作され得る。例えば、1465、1587、2146、2207、32838、336または52908の遺伝子配列は、目的の動物のゲノム内に導入され得、そして過剰発現され得るか、あるいは内因性の1465、1587、2146、2207、32838、336または52908の遺伝子配列が存在する場合、これらが、過剰発現され得るか、または1465、1587、2146、2207、32838、336または52908の遺伝子発現を過小発現するかもしくは不活化するために破壊されるかのいずれかであり得る。

10

【0060】

本発明の宿主細胞はまた、非ヒトトランスジェニック動物を作製するために使用され得る。例えば、1つの実施形態において、本発明の宿主細胞は、1465、1587、2146、2207、32838、336または52908のコード配列を導入した受精された卵母細胞または胚性幹細胞である。次いで、このような宿主細胞を使用して、内因性の1465、1587、2146、2207、32838、336または52908の配列が変更されたそれらのゲノム組換え動物または相同性組換え動物へ、外因性の1465、1587、2146、2207、32838、336または52908の配列が導入された非ヒトトランスジェニック動物を作製し得る。このような動物は、1465、1587、2146、2207、32838、336もしくは52908の機能および/または活性を研究するため、そして1465、1587、2146、2207、32838、336または52908の活性のモジュレータ - を同定するためおよび/または評価するために有用である。本明細書で使用される場合、「トランスジェニック動物」は、非ヒト動物であり、好ましくは、哺乳動物であり、より好ましくは、ラットまたはマウスのようなげっ歯類であり、この動物の細胞の1つ以上は、トランスジーンを含む。トランスジェニック動物の他の例としては、非ヒト霊長類、ヒツジ、イヌ、ウシ、ヤギ、ニワトリ、両生類などが挙げられる。トランスジーンは、トランスジェニック動物が発生し細胞のゲノムへ一体化され、そして成熟動物のゲノム中に残っている外因性DNAであり、それによって、トランスジェニック動物の1つ以上の細胞型または組織においてコードされた遺伝子産物の発現を指示する。本明細書で使用される場合、「相同性組換え動物」は、非ヒト動物、好ましくは、哺乳動物、より好ましくは、マウスであり、ここで、内因性の1465、1587、2146、2207、32838、336または52908の遺伝子は、動物の発生より前の、動物の細胞（例えば、動物の胚性細胞）へ導入された内因性遺伝子と外因性DNA分子との間での相同性組換えによって改変されている。

20

30

【0061】

本発明の方法において使用されるトランスジェニック動物は、例えば、マイクロインジェクション、レトロウイルス感染によって1465、1587、2146、2207、32838、336または52908コード核酸を受精した卵母細胞の雄の前核へ導入することにより、そして卵母細胞を偽妊娠雌育成動物において発生させることによって、作製され得る。1465、1587、2146、2207、32838、336または52908 cDNA配列は、非ヒト動物のゲノムへトランスジーンとして導入され得る。あるいは、ヒト1465、1587、2146、2207、32838、336または52908遺伝子の非ヒトアナログ（例えば、マウス1465、1587、2146、2207、32838、336または52908遺伝子またはラット1465、1587、2146、2207、32838、336または52908遺伝子）が、トランスジーンとして使用され得る。あるいは、1465、1587、2146、2207、32838、336

40

50

または5 2 9 0 8 遺伝子ホモログ（例えば、別の1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6または5 2 9 0 8 ファミリーメンバー）が、1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6または5 2 9 0 8 配列に対するハイブリダイゼーションに基づいて単離され得、そしてトランスジーンとして使用され得る。イントロン配列およびポリアデニル化シグナルはまた、トランスジーンに含まれ、トランスジーンの発現の効率を増加させ得る。組織特異的調節配列は、1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6または5 2 9 0 8 トランスジーンに作動可能に連結し、特定の細胞への1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6または5 2 9 0 8 タンパク質の発現を指示し得る。胚操作およびマイクロインジェクションを介しての、トランスジェニック動物、特に、マウスのような動物を作製するための方法は、当該分野において慣用的であり、例えば、米国特許第4,736,866号および同第4,870,009号（共にLederらによる）、同第4,873,191号（Wagnerらによる）およびHogan, B., Manipulating the Mouse Embryo, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1986)に記載されている。類似の方法が、他のトランスジェニック動物の生成ために使用される。トランスジェニック始祖動物は、その動物の組織または細胞中の1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6または5 2 9 0 8 mRNAの発現および/または、そのゲノムにおける1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6または5 2 9 0 8 トランスジーンが存在に基づいて同定され得る。次いで、トランスジェニック始祖動物を使用して、トランスジーンを保有するさらなる動物を育種し得る。さらに、1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6または5 2 9 0 8 タンパク質をコードするトランスジーンを保有するトランスジェニック動物は、さらに、他のトランスジーンを保有する他のトランスジェニック動物に対して育種され得る。

【0062】

相同性組換え動物を作製するために、欠失、付加または置換が導入された1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6または5 2 9 0 8 遺伝子の少なくとも一部を含むベクターを調製し、それによって、1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6または5 2 9 0 8 遺伝子を改変する（例えば、機能的に破壊する）。1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6または5 2 9 0 8 遺伝子は、ヒト遺伝子であり得るが、より好ましくは、ヒト1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6または5 2 9 0 8 遺伝子の非ヒトホモログであり得る。例えば、ラット1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6または5 2 9 0 8 遺伝子を使用して、相同性組換え核酸分子（例えば、マウスゲノム中の内因性1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6または5 2 9 0 8 遺伝子を改変するのに適したベクター）を構築し得る。好ましい実施形態において、相同性組換え核酸分子は、相同性組換えの際に、内因性1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6または5 2 9 0 8 遺伝子が、機能的に破壊される（すなわち、もはや機能的タンパク質をコードしない；「ノックアウト」ベクターともいわれる）ように設計される。あるいは、相同性組換え核酸分子は、相同性組換えの際に、内因性1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6または5 2 9 0 8 遺伝子が、変異されるか、またはそうでなければ、改変されるが、依然として機能的タンパク質をコードする（例えば、上流調節領域を改変し、それによって、内因性1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6または5 2 9 0 8 タンパク質の発現を改変し得る）ように設計され得る。相同性組換え核酸分子において、1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6または5 2 9 0 8 遺伝子の改変された部分は、1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6または5 2 9 0 8 遺伝子のさらなる核酸配列によって5'側および3'側に近接し、相同性組換え核酸分子によって保有される内因性1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6または5 2 9 0 8 遺伝子と細胞（例えば、胚性幹細胞）中の外因性1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3

2838、336または52908遺伝子との間で相同性組換えが生じることを可能にする。さらなる近接する1465、1587、2146、2207、32838、336または52908核酸配列は、内因性遺伝子を有する好結果の相同性組換えにとって十分な長さである。代表的に、数キロ塩基の近接DNA(5'末端と3'末端の両方)は、相同性組換え核酸分子に含まれる(例えば、相同性組換えベクターの記載についてのThomas, K. R. およびCapecechi, M. R. (1987) Cell 51:503を参照のこと)。相同性組換え核酸分子は、細胞(例えば、胚性幹細胞株)に(例えば、エレクトロポレーションによって)導入され、そして導入された1465、1587、2146、2207、32838、336または52908遺伝子が、内因性1465、1587、2146、2207、32838、336または52908遺伝子による相同的に組換えられている細胞が、選択される(例えば、Li, Eら(1992) Cell 69:915を参照のこと)。次いで、選択された細胞は、動物(例えば、マウス)の未分化胚芽細胞ヘインジェクションされ、凝集キメラを形成し得る(例えば、Bradley, A. Teratocarcinoma and Embryonic Stem Cells: A practical Approach, E. J. Robertson, 編(IRL, Oxford, 1987)113~152ページを参照のこと)。次いで、キメラ胚は、適切な偽妊娠雌育成動物へ移植され得、胚が妊娠期間に入る。生殖細胞において相同的に組換えられたDNAを有する子孫を使用して、動物の全細胞が、トランスジェーンの生殖伝達による相同的に組換えられたDNAを含む動物を繁殖させる。相同性組換え核酸分子(例えば、ベクター)または相同性組換え動物を構築する方法は、Bradley, A. (1991) Current Opinion in Biotechnology 2:823~829およびLe MouelllecらによるPCT国際公開番号:WO90/11354; SmithiesらによるWO91/01140; Zijls traらによるWO92/0968; ならびにBernsらによるWO93/04169においてさらに記載される。

【0063】

別の実施形態において、本発明の方法における使用のための、トランスジェーンの調節された発現を可能にする選択されたシステムを含むトランスジェニック非ヒト動物が、作製され得る。このようなシステムの1つの例は、バクテリオファージP1のcre/loxPリコンビナーゼシステムである。cre/loxPリコンビナーゼ系の記載については、例えば、Laksora(1992) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:6232~6236を参照のこと。リコンビナーゼ系の別の例は、Saccharomyces CerevisiaeのFLPリコンビナーゼ系である(O'Gormanら(1991) Science 251:1351~1355)。cre/loxPリコンビナーゼ系を使用して、トランスジェーンの発現を調節する場合、Creリコンビナーゼおよび選択されたタンパク質の両方をコードするトランスジェーンを含む動物が、必要である。このような動物は、例えば、2種のトランスジェニック動物をつがわせることによって、「二重」トランスジェニック動物の構築を介して提供され得、そのうちの1種は、選択されたタンパク質およびリコンビナーゼをコードするトランスジェーンを含む他のタンパク質を含む。

【0064】

本明細書に記載される非ヒトトランスジェニック動物のクローンはまた、Wilmut, Iら(1997) Nature 385:810~813およびPCT国際公開番号WO97/07668およびWO97/07669に記載の方法に従って作製され得る。簡単には、トランスジェニック動物由来の細胞(例えば、体細胞)が単離され、そして導入されて、成長サイクルから出て、そしてG₀期に入り得る。次いで、休止細胞は、例えば、休止細胞が単離される同じ種の動物由来の除核された卵母細胞に対して、電気パルスを通じて融合され得る。次いで、再構築された卵母細胞は、桑実胚または未分化胚芽細胞を発生するように培養され、次いで偽妊娠雌育成動物へ移送される。この雌育成動物が産む子孫は、細胞(例えば、体細胞)が単離される動物のクローンである。

10

20

30

40

50

【0065】

次いで、1465、1587、2146、2207、32838、336または52908 mRNAまたは1465、1587、2146、2207、32838、336または52908ペプチド(1465、1587、2146、2207、32838、336または52908エピトープに対して指向された抗体を用いて免疫細胞化学的に検出された)を、容易に検出可能なレベルで発現する1465、1587、2146、2207、32838、336または52908トランスジェニック動物をさらに評価して、特徴的な痛みを提示する動物を同定するべきである。

【0066】

(B. 細胞ベースの系)

1465、1587、2146、2207、32838、336または52908タンパク質をコードする1465、1587、2146、2207、32838、336または52908遺伝子配列を含み、発現し、さらに侵害知覚と関連する細胞表現型を示す細胞は、鎮痛性活性を示す化合物を同定するために使用され得る。このような細胞としては、非組換え単球細胞株(例えば、U937(ATC番号CRL-1593)、THP-1(ATC番号TIB-202)、およびP388D1(ATC番号TIB-63)); 内皮細胞(例えば、ヒト臍静脈内皮細胞(HUVEC)、ヒト微小血管内皮細胞(HMVEC)、およびウシ大動脈内皮細胞(BAEC)); ならびに一般的な哺乳動物細胞株(例えば、HeLa細胞およびCOS細胞(例えば、COS-7(ATC番号CRL-1651)))そして神経細胞株が挙げられ得る。さらに、このような細胞としては、組換えトランスジェニック細胞株が挙げられ得る。例えば、上記の本発明の疼痛動物モデルは、この障害についての細胞培養モデルとして使用され得る、侵害知覚に関連する1つ以上の細胞型を含む細胞株を作製するために使用され得る。本発明の疼痛モデルトランスジェニック動物由来の初代培養物が利用され得る一方で、継続的な細胞株の作製が好ましい。トランスジェニック動物から継続的な細胞株を導くために使用され得る技術の例については、Smallら、(1985)Mol. Cell Biol. 5: 642-648を参照のこと。

【0067】

あるいは、侵害知覚に関与することが既知である細胞型の細胞は、その細胞内の1465、1587、2146、2207、32838、336または52908遺伝子発現の量を増大または減少し得る配列を用いてトランスフェクトされ得る。例えば、1465、1587、2146、2207、32838、336または52908遺伝子配列は、目的の細胞のゲノムに導入され得、そしてこの細胞において過剰発現されるか、または内因性1465、1587、2146、2207、32838、336または52908遺伝子配列が存在する場合、そのような配列が過剰発現され得るか、代わりに1465、1587、2146、2207、32838、336または52908遺伝子発現を過小発現または不活性化するために破壊され得る。

【0068】

1465、1587、2146、2207、32838、336または52908遺伝子を過剰発現させるために、1465、1587、2146、2207、32838、336または52908遺伝子のコード部分は、目的の細胞型(例えば、内皮細胞)において遺伝子発現を駆動し得る調節配列に連結され得る。このような調節領域は、当業者に周知であり、過度な実験なくして、利用され得る。標的遺伝子を発現するための組換え法は、上記される。

【0069】

内因性1465、1587、2146、2207、32838、336または52908遺伝子配列の過小発現のために、このような配列は、目的の細胞型のゲノムに再び導入される場合に、内因性1465、1587、2146、2207、32838、336または52908対立遺伝子が不活性化されるように、単離および操作され得る。好ましくは、操作された1465、1587、2146、2207、32838、336または5

10

20

30

40

50

2908配列は、内因性1465、1587、2146、2207、32838、336または52908配列が、細胞ゲノムに操作された1465、1587、2146、2207、32838、336または52908配列を組み込む際に破壊されるように、遺伝子標的化を介して導入され得る。宿主細胞の1465、1587、2146、2207、32838、336または52908遺伝子を用いたトランスフェクションは、上記で議論される。

【0070】

化合物で処理されるかまたは1465、1587、2146、2207、32838、336または52908遺伝子でトランスフェクトされる細胞は、侵害知覚と関連する表現型について試験され得る。

10

【0071】

1465、1587、2146、2207、32838、336または52908核酸のトランスフェクションは、標準的な技術（本明細書中に記載され、例えば、Ausubel（1989）前出に記載される技術）を使用することにより達成され得る。トランスフェクトされた細胞は、組換え1465、1587、2146、2207、32838、336または52908遺伝子配列の存在について、1465、1587、2146、2207、32838、336または52908mRNAの発現および蓄積について、ならびに組換え1465、1587、2146、2207、32838、336または52908タンパク質産生の存在について評価されるべきである。1465、1587、2146、2207、32838、336または52908遺伝子発現の減少が所望される場合において、標準的な技術は、内因性1465、1587、2146、2207、32838、336または52908遺伝子発現における減少および/または1465、1587、2146、2207、32838、336または52908タンパク質産生における減少が達成されるか否かを実証するために、使用され得る。

20

【0072】

（III．予測医学）

本発明はまた、予測医学の分野に関する。この分野において、診断アッセイ、予後アッセイ、およびモニタリング臨床試験が、予後（予測）目的のために使用され、それによって個体を予防的に処置する。従って、本発明の1つの局面は、生物学的サンプル（例えば、血液、血清、細胞（例えば、内皮細胞）、組織（例えば、脈管組織））の状況において、1465、1587、2146、2207、32838、336または52908タンパク質および/または核酸の発現、ならびに1465、1587、2146、2207、32838、336または52908活性を決定し、それによって、個体が、素因に悩んでいるか、または疼痛を経験しているか否かを決定するための診断アッセイに関する。本発明はまた、個体が疼痛性の障害を発症する危険性があるか否かを決定するための、診断（または予測）アッセイを提供する。例えば、1465、1587、2146、2207、32838、336または52908遺伝子における変異が、生物学的サンプル中でアッセイされ得る。このようなアッセイは、予後目的または予測目的のために使用され得、それによって個体は、疼痛性の関連する障害の発症前に、予防的に処置される。

30

【0073】

本発明の別の局面は、臨床試験における、1465、1587、2146、2207、32838、336または52908の発現または活性に対する1465、1587、2146、2207、32838、336または52908モジュレーター（例えば、抗1465、1587、2146、2207、32838、336または52908抗体または1465、1587、2146、2207、32838、336または52908リボザイム）の影響のモニタリングに関する。

40

【0074】

これらおよび他の薬剤は、以下の節で、さらに詳細に記載される。

【0075】

（A．診断アッセイ）

50

患者が疾患に悩んでいるか否かを決定するために、被験体からの生物学的サンプルが獲得され得、そしてその生物学的サンプルは、生物学的サンプル中で、1465、1587、2146、2207、32838、336または52908タンパク質または1465、1587、2146、2207、32838、336または52908タンパク質をコードする核酸（例えば、mRNAまたはゲノムDNA）を検出し得る化合物または薬剤を接触され得る。1465、1587、2146、2207、32838、336または52908 mRNAまたはゲノムDNAを検出するのに好ましい薬剤は、1465、1587、2146、2207、32838、336または52908 mRNAまたはゲノムDNAにハイブリダイズし得る標識核酸プローブである。この核酸プローブは、例えば、配列番号1、4、7、10、13、16もしくは19に示される1465、1587、2146、2207、32838、336または52908核酸またはそれらの一部（例えば、少なくとも15、20、25、30、25、40、45、50、100、250または500ヌクレオチド長であり、ストリンジェントな条件下で、1465、1587、2146、2207、32838、336または52908 mRNAまたはゲノムDNAに特異的にハイブリダイズするのに十分なオリゴヌクレオチド）であり得る。本発明の診断アッセイにおいて使用するのに適切な他のプローブが、本明細書中に記載されている。

10

【0076】

サンプル中の1465、1587、2146、2207、32838、336または52908タンパク質を検出するのに好ましい薬剤は、1465、1587、2146、2207、32838、336または52908タンパク質に結合し得る抗体であり、好ましくは、検出可能な標識を有する抗体である。抗体は、ポリクローナル抗体であり得、より好ましくは、モノクローナル抗体であり得る。インタクトな抗体、またはそのフラグメント（例えば、FabまたはF(ab')₂）が、使用され得る。用語「標識された（labeled）」は、プローブまたは抗体に関して、検出可能な物質をプローブまたは抗体に連結（すなわち、物理的に連結）することによるプローブまたは抗体の直接的な標識、ならびに直接的に標識された別の試薬との反応性によるこのプローブまたは抗体の間接的な標識を包含することが意図される。間接的な標識の例としては、蛍光標識された二次抗体を使用する一次抗体の検出、および蛍光標識されたストレプトアビジンで検出されるように、ビオチンでDNAプローブの末端を標識する一次抗体の検出が挙げられる。

20

30

【0077】

用語「生物学的サンプル」は、被験体から単離された組織、細胞、および生物学的流体、ならびに被験体内に存在する組織、細胞、および流体を含むことが意図される。すなわち、本発明の検出方法を使用して、インビトロおよびインビボで、生物学的サンプル中の1465、1587、2146、2207、32838、336または52908 mRNA、タンパク質、またはゲノムDNAを検出し得る。例えば、1465、1587、2146、2207、32838、336または52908 mRNAを検出するためのインビトロ技術としては、ノーザンハイブリダイゼーションおよびインサイチュハイブリダイゼーションが挙げられる。1465、1587、2146、2207、32838、336または52908のタンパク質を検出するためのインビトロ技術としては、酵素結合イムノソルベント検定法（ELISA）、ウエスタンブロット、免疫沈降、および免疫蛍光検査法が挙げられる。1465、1587、2146、2207、32838、336または52908のゲノムDNAを検出するためのインビトロ技術としては、サザンハイブリダイゼーションが挙げられる。さらに、1465、1587、2146、2207、32838、336または52908のタンパク質を検出するためのインビボ技術としては、被験体への標識抗1465、1587、2146、2207、32838、336または52908抗体の導入が挙げられる。例えば、抗体は、被験体における存在および位置が、標準的な画像化技術によって検出され得る放射活性マーカを用いて、標識され得る。

40

【0078】

50

別の実施形態において、本方法はさらに、コントロール被験体からのコントロール生物学的サンプルを獲得する工程、コントロールサンプルと、1465、1587、2146、2207、32838、336または52908タンパク質、mRNA、またはゲノムDNAを検出し得る化合物または薬剤とを接触させる工程（その結果、1465、1587、2146、2207、32838、336または52908タンパク質、mRNA、または核酸の存在が、生物学的サンプルにおいて検出される）、およびコントロールサンプル中の1465、1587、2146、2207、32838、336または52908タンパク質、mRNA、またはゲノムDNAの存在と、試験サンプル中の1465、1587、2146、2207、32838、336または52908タンパク質、mRNA、またはゲノムDNAの存在とを比較する工程を包含する。

10

【0079】**（B．予後アッセイ）**

本発明はさらに、異常な1465、1587、2146、2207、32838、336または52908発現または活性に関連する疾患を有するかまたは発症する危険を有する被験体を同定するための方法に関する。

【0080】

本明細書中で使用される場合、用語「異常な」は、野生型の1465、1587、2146、2207、32838、336または52908の発現または活性から逸脱した、1465、1587、2146、2207、32838、336または52908の発現または活性を含む。異常な発現または活性としては、発現または活性の増加または減少、ならびに野生型の発現の発生的パターンまたは細胞下の発現のパターンに従わない、発現または活性が挙げられる。例えば、異常な1465、1587、2146、2207、32838、336または52908の発現または活性は、1465、1587、2146、2207、32838、336または52908遺伝子が、1465、1587、2146、2207、32838、336または52908遺伝子における変異によって過少発現または過剰発現される場合、ならびにこのような変異によって、非機能的1465、1587、2146、2207、32838、336または52908タンパク質または野生型の様式で機能しないタンパク質（例えば、1465、1587、2146、2207、32838、336または52908基質と相互作用しないタンパク質、または非1465、1587、2146、2207、32838、336または52908基質と相互作用するタンパク質）を生じる場合を含むことが意図される。

20

30

【0081】

本明細書中で記載されるアッセイ（例えば、上述の診断アッセイまたは後述のアッセイ）は、疾患を有するかまたはそれを発症する危険を有する被験体を同定するために使用され得る。生物学的サンプルは、被験体から得られ得、そして遺伝子変更の存在または非存在について試験され得る。例えば、このような遺伝的変更は、以下のうちの少なくとも1つの存在を特定することによって検出され得る：1）1465、1587、2146、2207、32838、336または52908遺伝子からの1つ以上のヌクレオチドの欠失、2）1465、1587、2146、2207、32838、336または52908遺伝子への1つ以上のヌクレオチドの付加、3）1465、1587、2146、2207、32838、336または52908遺伝子の1つ以上のヌクレオチドの置換、4）1465、1587、2146、2207、32838、336または52908遺伝子の染色体再配置、5）1465、1587、2146、2207、32838、336または52908遺伝子のメッセンジャーRNA転写のレベルの変更、6）1465、1587、2146、2207、32838、336または52908遺伝子の異常な改変（例えば、ゲノムDNAのメチル化パターン）、7）1465、1587、2146、2207、32838、336または52908遺伝子のメッセンジャーRNA転写の非野生型スプライシングパターンの存在、8）1465、1587、2146、2207、32838、336または52908タンパク質の非野生型レベル、9）1465、1587、2146、2207、32838、336または52908遺伝子の対立遺伝子損失、

40

50

および 10) 1465、1587、2146、2207、32838、336 または 52908 タンパク質の不適切な翻訳後改変。

【0082】

本明細書中に記載されるように、1465、1587、2146、2207、32838、336 または 52908 遺伝子における遺伝的変異を検出するために使用され得る当該分野において公知の多くのアッセイが、存在する。例えば、1465、1587、2146、2207、32838、336 または 52908 遺伝子における遺伝的変異は、ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) (例えば、米国特許第 4,683,195 号および同第 4,683,202 号を参照のこと) (例えば、アンカー PCR または RACE PCR)、あるいは、ライゲーション連鎖反応 (LCR) (例えば、Landegranら (1988) Science 241:1077-1080; および Nakazawaら (1994) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91:360-364 を参照のこと) におけるプローブ/プライマーを使用して検出され得、これらのうちの後者は、1465、1587、2146、2207、32838、336 または 52908 遺伝子における点変異を検出するために特に有用であり得る (Abravayaら (1995) Nucleic Acids Res. 23:675-682 を参照のこと)。この方法は、被験体から生物学的サンプルを収集する工程、このサンプルの細胞から核酸 (例えば、ゲノム、mRNA またはこれらの両方) を単離する工程、(存在するならば) 1465、1587、2146、2207、32838、336 または 52908 遺伝子のハイブリダイゼーションおよび増幅が生じるような条件下で、この核酸サンプルを、1465、1587、2146、2207、32838、336 または 52908 遺伝子に特異的にハイブリダイズする 1 つ以上のプライマーと接触させる工程、ならびに増幅産物の存在または非存在を検出するかあるいは増幅産物のサイズを検出しそしてコントロールサンプルと長さを比較する工程を包含する。PCR および/または LCR が、本明細書中に記載される変異を検出するために使用される任意の技術と組合わせて予備的増幅工程として使用するに好ましくあり得ることが、予測される。

【0083】

代替の増幅法としては以下が挙げられる: 自己維持的配列複製 (self sustained sequence replication) (Guatelli, J. C. ら (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:1874-1878)、転写増幅系 (Kwoh, D. Y. ら (1989) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:1173-1177)、Q-β レプリカーゼ (Lizardi, P. M. ら (1988) Bio-Technology 6:1197)、または他の核酸増幅法のいずれか、その後の当業者に周知の技術を使用する増幅分子の検出。これらの検出スキームは、このような分子が非常に少数で存在する場合に、核酸分子の検出に特に有用である。

【0084】

代替の実施形態において、生物学的サンプル由来の 1465、1587、2146、2207、32838、336 または 52908 遺伝子における変異は、制限酵素切断パターンにおける変更によって同定され得る。例えば、サンプルおよびコントロール DNA が、単離され、(必要に応じて) 増幅され、1 つ以上の制限エンドヌクレアーゼで消化され、そしてフラグメント長サイズが、ゲル電気泳動によって決定され、そして比較される。サンプルとコントロール DNA との間のフラグメント長サイズの差異は、サンプル DNA 中の変異を示す。さらに、配列特異的リボザイム (例えば、米国特許第 5,498,531 号) の使用は、リボザイム切断部位の発生または喪失によって、特異的変異の存在についてスコア付けするために使用され得る。

【0085】

他の実施形態において、1465、1587、2146、2207、32838、336 または 52908 における遺伝的変異は、生物学的サンプル由来の核酸およびコントロール核酸 (例えば、DNA または RNA) を、何百個または何千個のオリゴヌクレオチド

プローブを含む高密度アレイにハイブリダイズさせることによって同定され得る (Cronin, M. T. ら (1996) Human Mutation 7: 244 - 255; Kozal, M. J. ら (1996) Nature Medicine 2: 753 - 759)。例えば、1465、1587、2146、2207、32838、336または52908における遺伝的変異は、Cronin, M. T. ら (1996) (上述) に記載されるような光生成DNAプローブを含む2次元アレイにおいて同定され得る。簡単には、プローブの第1のハイブリダイゼーションアレイを使用して、連続的で重複するプローブの線状アレイを作製することによって、サンプルおよびコントロールにおけるDNAの長鎖を通して走査して配列間の塩基変化を同定し得る。この工程は、点変異の同定を可能にする。この工程の後、検出される全ての改変体または変異に相補的なより小さな特定化されたプローブアレイを使用することによって、特異的変異の特徴付けを可能にする第2のハイブリダイゼーションアレイが続く。各変異アレイは、パラレルプローブセット、野生型遺伝子に対するある相補体および変異遺伝子に対する他の相補体から構成される。

【0086】

なお別の実施形態において、当該分野において公知の種々の配列決定反応のいずれかを使用して、生物学的サンプル中の1465、1587、2146、2207、32838、336または52908遺伝子を直接的に配列決定し得、そして生物学的サンプル中の1465、1587、2146、2207、32838、336または52908の配列を、対応する野生型(コントロール)配列と比較することによって変異を検出し得る。配列決定反応の例としては、MaxamおよびGilbert (1977) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 74: 560またはSanger (1977) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 74: 5463によって開発された技術に基づく反応が挙げられる。種々の自動化配列決定手順のいずれかが、質量分析法による配列決定(例えば、PCT国際公開番号WO94/16101; Cohenら (1996) Adv. Chromatogr. 36: 127 - 162; およびGriffinら (1993) Appl. Biochem. Biotechnol. 38: 147 - 159を参照のこと)を含む診断アッセイ(Naeve, C. W. (1995) Biotechniques 19: 448 - 53)を行う場合に利用され得ることもまた、企図される。

【0087】

1465遺伝子、1587遺伝子、2146遺伝子、2207遺伝子、32838遺伝子、336遺伝子または52908遺伝子における変異を検出するための他の方法としては、切断剤からの保護がRNA/RNA異種二重鎖またはRNA/DNA異種二重鎖中でミスマッチした塩基を検出するために使用される方法が挙げられる(Myersら (1985) Science 230: 1242)。一般に、「ミスマッチ切断」の分野の技術は、野生型1465配列、1587配列、2146配列、2207配列、32838配列、336配列または52908配列を含む(標識された)RNAまたはDNAを、組織サンプルより得られた潜在変異RNAまたはDNAとハイブリダイズさせることによって形成される異種二重鎖を提供することによって開始する。二本鎖二重鎖は、コントロール鎖とサンプル鎖との間の塩基対ミスマッチに起因して存在するような二重鎖の一本鎖領域を切断する因子で処理される。例えば、ミスマッチ領域を酵素的に消化するために、RNA/DNA二重鎖はRNaseで処理され得、DNA/DNAハイブリッドはS1ヌクレアーゼで処理され得る。他の実施形態において、DNA/DNA二重鎖またはRNA/DNA二本鎖のいずれかが、ヒドロキシルアミンまたは四酸化オスミウムで処理され得、そして、ミスマッチ領域を消化するためにピペリジンで処理され得る。ミスマッチ領域の消化後、生じた物質が、変異部位を決定するために変性ポリアクリルアミドゲル上でサイズで分けられる。例えば、Cottonら (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85: 4397およびSaleebaら (1992) Methods Enzymol. 217: 286 - 295を参照のこと。好ましい実施形態において、コントロールDNAまたはRNAが、検出のために標識され得る。

【0088】

さらに別の実施形態において、ミスマッチ切断反応は、細胞のサンプルより得られた 1
 4 6 5 cDNA、1 5 8 7 cDNA、2 1 4 cDNA、2 2 0 7 cDNA、3 2
 8 3 8 cDNA、3 3 6 cDNAまたは5 2 9 0 8 cDNA中の点変異を検出およ
 びマッピングするために規定された系において二本鎖DNA中のミスマッチ塩基対を認識
 する1つ以上のタンパク質(「DNAミスマッチ修復」酵素と呼ばれる)を使用する。例
 えば、E. coliのmutY酵素は、G/AミスマッチでAを切断し、そしてHeLa
 細胞由来のチミジンDNAグリコシラーゼは、G/TミスマッチでTを切断する(Hsu
 ら(1994) Carcinogenesis 15:1657-1662)。例示的実
 施形態に従って、1 4 6 5 配列、1 5 8 7 配列、2 1 4 6 配列、2 2 0 7 配列、3 2 8 3
 8 配列、3 3 6 配列または5 2 9 0 8 配列(例えば、野生型の1 4 6 5 配列、1 5 8 7 配 10
 列、2 1 4 6 配列、2 2 0 7 配列、3 2 8 3 8 配列、3 3 6 配列または5 2 9 0 8 配列)
 に基づくプローブは、試験細胞からのcDNA産物または他のDNA産物にハイブリダイ
 ズされる。二重鎖は、DNAミスマッチ修復酵素で処理され、そして存在する場合、切断
 産物は、電気泳動的プロトコルなどから検出され得る。例えば、米国特許第5,459,
 039号を参照のこと。

【0089】

他の実施形態において、電気泳動的移動度の変更を使用して、1 4 6 5 遺伝子、1 5 8
 7 遺伝子、2 1 4 6 遺伝子、2 2 0 7 遺伝子、3 2 8 3 8 遺伝子、3 3 6 遺伝子または5
 2 9 0 8 遺伝子における変異を同定する。例えば、一本鎖コンフォーメーション多型(S
 SCP)を使用して、変異体核酸と野生型核酸との間の電気泳動的移動度の差異を検出し 20
 得る(Oritaら(1989) Proc. Natl. Acad. Sci. USA: 86
 : 2766; Cotton(1993) Mutat. Res. 285: 125-144お
 よびHayashi(1992) Genet. Anal. Tech. Appl. 9: 73
 - 79もまた参照のこと)。サンプルおよびコントロールの1 4 6 5 核酸、1 5 8 7 核酸
 、2 1 4 6 核酸、2 2 0 7 核酸、3 2 8 3 8 核酸、3 3 6 核酸または5 2 9 0 8 核酸の一
 本鎖DNAフラグメントは変性され、そして再生される。一本鎖核酸の二次構造は、配列
 に従って変化し、電気泳動的移動度において生じた変更は、単一の塩基変化の検出さえ可
 能にする。DNAフラグメントは、標識されたプローブで標識されても検出されてもよい
 。このアッセイの感度は、(DNAではなく)RNAを用いることにより増強され得、こ
 こで二次構造は、配列の変化により感受性である。好ましい実施形態において、目的の方 30
 法は、電気泳動的移動度の変化に基づいて二本鎖ヘテロ二重鎖分子を分離するためにヘテ
 ロ二重鎖分析を利用する(Keenら(1991) Trends Genet 7: 5)
 。

【0090】

なお別の実施形態において、変性剤の勾配を含有するポリアクリルアミドゲル中での変
 異体フラグメントまたは野生型フラグメントの移動は、変性勾配ゲル電気泳動(DGGE)
)(Myersら(1985) Nature 313: 495)を使用してアッセイされ
 る。DGGEが分析法として使用される場合、DNAは、例えば、PCRによって約40
 bpの高温融解GCリッチDNAのGCクランプを付加することにより完全には変性して
 いないことを確認するために改変される。さらなる実施形態において、温度勾配は、コン 40
 トロールDNAおよびサンプルDNAの移動度の差異を同定するための変性勾配の代わり
 に使用される(RosenbaumおよびReissner(1987) Biophys
 Chem 265: 12753)。

【0091】

点変異を検出するための他の技術の例としては、以下が挙げられるがこれらに限定され
 ない: 選択的オリゴヌクレオチドハイブリダイゼーション、選択的増幅、または選択的プ
 ライマー伸長。例えば、オリゴヌクレオチドプライマーが調製され得、ここで、公知の変
 異が中心におかれ、次いで、完全な一致が見出される場合にのみハイブリダイゼーション
 を可能にする条件下で標的DNAにハイブリダイズする(Saikiら(1986) Na
 ture 324: 163); Saikiら(1989) Proc. Natl. Acad 50

． S c i . U S A 86 : 6230)。このような対立遺伝子特異的オリゴヌクレオチドは、このオリゴヌクレオチドがハイブリダイズ膜に結合しそして標識標的DNAとハイブリダイズする場合に、PCR増幅標的DNAまたは多くの種々の変異にハイブリダイズされる。

【0092】

あるいは、選択的PCR増幅に依存する対立遺伝子特異的増幅技術は、本発明と組み合わせて使用され得る。増幅に特異的なプライマーとして使用されるオリゴヌクレオチドは、分子の中心に目的の変異を保有し得るか(その結果、増幅は、示差的ハイブリダイゼーションに依存する)(Gibbsら(1989)Nucleic Acids Res. 17:2437-2448)、または適切な条件下で、ミスマッチが、ポリメラーゼ伸長を防ぎ得るかもしくは低減し得る場合、一方のプライマーの3'末端で目的の変異を保有し得る(Prossner(1993)Tibtech 11:238)。さらに、切断ベース検出を作製するために、変異領域中に新規の制限部位を導入することが、好ましくあり得る(Gaspariniら(1992)Mol. Cell Probes 6:1)。特定の実施形態において、増幅のためにTaqリガーゼを使用して増幅が行われ得ることもまた、明らかである(Barany(1991)Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:189)。このような場合に、連結は、5'配列の3'末端で完全なミスマッチが存在する場合にのみ生じ、これにより、増幅の存在または非存在を探索することによって特定の部位で既知の変異の存在を検出し得る。

【0093】

さらに、本明細書中に記載される診断アッセイを使用して、疾患を効果的に処置するために、被験体が1465モジュレーター、1587モジュレーター、2146モジュレーター、2207モジュレーター、32838モジュレーター、336モジュレーターまたは52908モジュレーター(例えば、アゴニスト、アンタゴニスト、ペプチド模倣物、タンパク質、ペプチド、核酸または低分子)を投与され得るか否かを、決定し得る。

【0094】

(C. 臨床試験の間の効果のモニタリング)

本発明はさらに、1465モジュレーター、1587モジュレーター、2146モジュレーター、2207モジュレーター、32838モジュレーター、336モジュレーターまたは52908モジュレーター(例えば、本明細書中において同定された1465モジュレーター、1587モジュレーター、2146モジュレーター、2207モジュレーター、32838モジュレーター、336モジュレーターまたは52908モジュレーター)の、疾患の処置における有効性を決定するための方法を提供する。例えば、1465遺伝子、1587遺伝子、2146遺伝子、2207遺伝子、32838遺伝子、336遺伝子または52908遺伝子の発現増加、タンパク質レベル増加、あるいは1465活性、1587活性、2146活性、2207活性、32838活性、336活性または52908活性のアプレギュレートにおいて、1465モジュレーター、1587モジュレーター、2146モジュレーター、2207モジュレーター、32838モジュレーター、336モジュレーターまたは52908モジュレーターの有効性は、1465遺伝子、1587遺伝子、2146遺伝子、2207遺伝子、32838遺伝子、336遺伝子または52908遺伝子の発現減少、タンパク質レベル減少、あるいは1465活性、1587活性、2146活性、2207活性、32838活性、336活性または52908活性のダウンレギュレートを示す被験体の臨床試験においてモニタリングされ得る。あるいは、1465遺伝子、1587遺伝子、2146遺伝子、2207遺伝子、32838遺伝子、336遺伝子または52908遺伝子の発現減少、タンパク質レベル減少、あるいは1465活性、1587活性、2146活性、2207活性、32838活性、336活性または52908活性のダウンレギュレートにおける1465モジュレーター、1587モジュレーター、2146モジュレーター、2207モジュレーター、32838モジュレーター、336モジュレーターまたは52908モジュレーターの有効性は、1465遺伝子、1587遺伝子、2146遺伝子、2207遺伝子、32838遺伝子、

3 3 6 遺伝子または5 2 9 0 8 遺伝子の発現増加、タンパク質レベル増加、あるいは1 4 6 5 活性、1 5 8 7 活性、2 1 4 6 活性、2 2 0 7 活性、3 2 8 3 8 活性、3 3 6 活性または5 2 9 0 8 活性の増加を示す被験体の臨床試験においてモニタリングされ得る。このような臨床試験において、1 4 6 5 遺伝子、1 5 8 7 遺伝子、2 1 4 6 遺伝子、2 2 0 7 遺伝子、3 2 8 3 8 遺伝子、3 3 6 遺伝子または5 2 9 0 8 遺伝子、好ましくは、痛覚に關与する他の遺伝子の発現または活性が、「読み出し」すなわち特定の細胞の表現型のマーカーとして使用され得る。

【0 0 9 5】

例えば（限定のためではなく）、（例えば、本明細書中に記載されるようなスクリーニングアッセイにおいて同定される）1 4 6 5 活性、1 5 8 7 活性、2 1 4 6 活性、2 2 0 7 活性、3 2 8 3 8 活性、3 3 6 活性または5 2 9 0 8 活性を調節する因子での処置によって細胞において調節される、1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6 または5 2 9 0 8 を含む遺伝子が、同定され得る。よって、疼痛障害を罹患する被験体に対する1 4 6 5 活性、1 5 8 7 活性、2 1 4 6 活性、2 2 0 7 活性、3 2 8 3 8 活性、3 3 6 活性または5 2 9 0 8 活性を調節する因子の効果を（例えば、臨床試験において）研究するために、細胞が単離され得、そしてRNAが調製され得、1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6 または5 2 9 0 8、および疼痛障害に関連する他の遺伝子の発現レベルについて分析され得る。遺伝子発現レベル（例えば、遺伝子発現パターン）は、本明細書中に記載されるようなノザンブロット分析またはRT-PCRによって、あるいは本明細書中に記載される方法の1つによって生成されるタンパク質の量を測定することによって、または1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6 もしくは5 2 9 0 8、または他の遺伝子の活性レベルを測定することによって、定量され得る。この方法において、遺伝子発現パターンは、1 4 6 5 活性、1 5 8 7 活性、2 1 4 6 活性、2 2 0 7 活性、3 2 8 3 8 活性、3 3 6 活性または5 2 9 0 8 活性を調節する因子に対する細胞の生理学的応答を示すマーカーとして働き得る。この応答状態は、個体を1 4 6 5 活性、1 5 8 7 活性、2 1 4 6 活性、2 2 0 7 活性、3 2 8 3 8 活性、3 3 6 活性または5 2 9 0 8 活性を調節する因子で処置する前、およびその間の種々の時点で測定され得る。

【0 0 9 6】

好ましい実施形態において、本発明は、1 4 6 5 活性、1 5 8 7 活性、2 1 4 6 活性、2 2 0 7 活性、3 2 8 3 8 活性、3 3 6 活性または5 2 9 0 8 活性を調節する因子（例えば、アゴニスト、アンタゴニスト、ペプチド模倣物、タンパク質、ペプチド、核酸、または本明細書中に記載されるスクリーニングアッセイによって同定される低分子）での被験体の処置の有効性をモニタリングするための方法を提供し、以下の工程を包含する：（i）この因子の投与前に予め投与するサンプルを被験体から得る工程；（ii）この予め投与するサンプル中の1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6 または5 2 9 0 8 のタンパク質、mRNA、またはゲノムDNAの発現レベルを検出する工程；（iii）1つ以上の後に投与するサンプルを被験体から得る工程；（iv）これらの後に投与するサンプル中の1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6 または5 2 9 0 8 のタンパク質、mRNA、またはゲノムDNAの発現レベルまたは活性レベルを検出する工程；（v）予め投与するサンプル中の1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6 または5 2 9 0 8 のタンパク質、mRNA、またはゲノムDNAの発現レベルまたは活性レベルを、後に投与するサンプル中の1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6 または5 2 9 0 8 のタンパク質、mRNA、またはゲノムDNAの発現レベルまたは活性レベルと比較する工程；ならびに（vi）よって被験体に対する因子の投与を変更する工程。例えば、因子の投与増加は、1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6 または5 2 9 0 8 の発現または活性を、検出された（すなわち、因子の有効性を増加させる）レベルよりも高いレベルに増加することが、望ましくあり得る。あるいは、因子の投与減少は、1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6 または5 2 9 0 8 の発現または活性を、検出

された（すなわち、因子の有効性を減少させる）レベルよりも低いレベルに減少することが、望ましくあり得る。このような実施形態に従って、1465、1587、2146、2207、32838、336または52908の発現または活性は、観察可能な表現型応答の非存在下ですら、因子の有効性の指標として使用され得る。

【0097】

（IV．処置方法）

本発明は、被験体（例えば、疾患の危険性のある（または疾患を罹患しそうな）ヒト）を処置する予防法および治療法の両方を提供する。処置の予防法および治療法の両方の観点で、このような処置は、薬理ゲノム学（*pharmacogenomics*）の分野から得られる知識に基づいて、特異的に仕立てられ（*tailored*）得るかまたは改変され得る。本明細書中で使用される場合、「薬理ゲノム学」は、遺伝子配列決定、統計的遺伝学および遺伝子発現分析のようなゲノム技術の、臨床開発および市場での薬物への適用をいう。より詳細には、この用語は、患者の遺伝子がどのように薬物に対する患者の応答（例えば、患者の「薬物応答表現型」または「薬物応答遺伝子型」）を決定するのかについての研究をいう。

10

【0098】

従って、本発明の別の局面は、個々の薬物応答遺伝子型に従って、本発明の1465分子、1587分子、2146分子、2207分子、32838分子、336分子または52908分子、あるいは、1465モジュレーター、1587モジュレーター、2146モジュレーター、2207モジュレーター、32838モジュレーター、336モジュレーターまたは52908モジュレーターのいずれかを用いる被験体の予防処置または治療処置を仕立てるための方法を提供する。薬理ゲノム学によって、臨床医（*clinician*）または内科医（*physician*）は、この処置から最も利益を得る患者に対して予防処置または治療処置を標的化することが可能になり、そして毒性薬物関連副作用を被る患者の処置を避けることが可能になる。

20

【0099】

（A．予防法）

1つの局面において、本発明は、1465、1587、2146、2207、32838、336または52908の発現、あるいは1465、1587、2146、2207、32838、336または52908の活性を調節する因子を被験体に投与することによって、被験体において疾患を予防するための方法を提供する。心臓血管疾患（例えば、アテローム性動脈硬化症および/または血栓）の危険性のある被験体は、例えば、本明細書中に記載される診断アッセイまたは予防アッセイのいずれかまたはそれらの組み合わせによって、同定され得る。予防薬の投与は、異常な1465、1587、2146、2207、32838、336または52908の発現または活性に特徴的な症状の徴候の前に生じ得、その結果、疾患が、その進行において予防、あるいは遅延される。1465、1587、2146、2207、32838、336または52908の異常の型に依存して、例えば、1465、1587、2146、2207、32838、336または52908、1465、1587、2146、2207、32838、336または52908のアゴニスト剤、あるいは1465、1587、2146、2207、32838、336または52908のアンタゴニスト剤が、被験体の処置のために使用され得る。適切な因子は、本明細書中に記載されるスクリーニングアッセイに基づいて決定され得る。

30

40

【0100】

（B．治療法）

疼痛が改善され得る方法および組成物が、本明細書中に記載される。特定の疼痛障害が、過剰なレベルの遺伝子産物によってか、または異常な活性もしくは過剰な活性を示す遺伝子産物の存在によって、少なくとも部分的にもたらされる。それ自体、このような遺伝子産物のレベルおよび/または活性の減少は、疼痛の改善をもたらす。遺伝子発現レベルまたはタンパク質活性の減少のための技術は、以下に議論される。

【0101】

50

あるいは、特定の他の疼痛障害が、遺伝子発現レベルの非存在または減少によってかまたはタンパク質活性レベルの減少によって、少なくとも部分的にもたらされる。それ自体、このようなタンパク質の遺伝子発現および/または活性のレベルの増加は、疼痛の改善をもたらす。

【0102】

いくつかの場合において、疾患状態における遺伝子のアップレギュレートは、疾患状態に対応するその遺伝子産物についての保護的役割を反映する。このような遺伝子発現の増加、または遺伝子産物の活性の増加は、それが発揮する保護的効果を強化する。いくつかの疼痛状態は、このような保護的遺伝子の異常に低いレベルの活性から生じ得る。これらの場合においてもまた、遺伝子発現のレベルの増加および/またはこのような遺伝子産物の活性の増加は、疼痛の改善をもたらす。標的遺伝子発現レベルまたは標的遺伝子産物活性レベルを増加するための技術は、本明細書中に議論される。

10

【0103】

従って、本発明の別の局面は、治療目的で1465、1587、2146、2207、32838、336または52908の発現または活性を調節する方法に関する。よって、例示的实施形態において、本発明の調節方法は、細胞を、1465、1587、2146、2207、32838、336または52908、あるいは細胞（例えば、内皮細胞または卵巣細胞）に関連する1465、1587、2146、2207、32838、336または52908のタンパク質活性の1つ以上の活性を調節する因子と接触させる工程を、包含する。1465、1587、2146、2207、32838、336または52908のタンパク質活性を調節する因子は、本明細書中に記載されるような因子（例えば、核酸またはタンパク質、1465、1587、2146、2207、32838、336もしくは52908のタンパク質の天然に存在する標的分子（例えば、1465、1587、2146、2207、32838、336または52908のリガンドまたは基質）、1465、1587、2146、2207、32838、336または52908の抗体、1465、1587、2146、2207、32838、336または52908のアゴニストまたはアンタゴニスト、1465、1587、2146、2207、32838、336または52908のアゴニストまたはアンタゴニストのペプチド模倣物、あるいは、他の低分子）であり得る。1つの実施形態において、この因子は、1つ以上の1465、1587、2146、2207、32838、336または52908の活性を刺激する。このような刺激因子の例としては、活性な1465、1587、2146、2207、32838、336または52908のタンパク質、および細胞中に導入された1465、1587、2146、2207、32838、336または52908をコードする核酸分子が挙げられる。別の実施形態において、この因子は、1つ以上の1465、1587、2146、2207、32838、336または52908の活性を阻害する。このような阻害因子の例としては、アンチセンス1465核酸分子、アンチセンス1587核酸分子、アンチセンス2146核酸分子、アンチセンス2207核酸分子、アンチセンス32838核酸分子、アンチセンス336核酸分子またはアンチセンス52908核酸分子、抗1465抗体、抗1587抗体、抗2146抗体、抗2207抗体、抗32838抗体、抗336抗体または抗52908抗体、および1465、1587、2146、2207、32838、336または52908のインヒビターが挙げられる。これらの調節法は、（例えば、細胞を因子とともに培養することによって）インビトロで、あるいは（例えば、因子を被験体に投与することによって）インビボで行われ得る。それ自体、本発明は、1465、1587、2146、2207、32838、336または52908のタンパク質または核酸分子の、異常な発現もしくは活性または所望されない発現もしくは活性によって特徴付けられる疾患または障害に罹患した個体を処置する方法を提供する。1つの実施形態において、本発明は、因子（例えば、本明細書中に記載されるスクリーニングアッセイによって同定される因子）、あるいは1465、1587、2146、2207、32838、336または52908の発現または活性を調節する（例えば、アップレギュレートまたはダウンレギュレートする）因子の組み合わせを投

20

30

40

50

与する工程を包含する。別の実施形態において、本方法は、1465、1587、2146、2207、32838、336または52908の減少した発現もしくは活性、異常な発現もしくは活性または所望されない発現もしくは活性を補う治療薬として、1465、1587、2146、2207、32838、336または52908のタンパク質または核酸分子を投与する工程を包含する。

【0104】

1465、1587、2146、2207、32838、336または52908の活性の刺激は、1465、1587、2146、2207、32838、336または52908が異常にダウンレギュレートされる状況および/または1465、1587、2146、2207、32838、336または52908の増加した活性が有益な効果を有するようである状況において望ましい。同様に、1465、1587、2146、2207、32838、336または52908の活性の阻害は、1465、1587、2146、2207、32838、336または52908が異常にアップレギュレートされる状況および/または1465、1587、2146、2207、32838、336または52908の減少した活性が有益な効果を有するようである状況において望ましい。

【0105】

((i) 標的遺伝子の発現、合成、または活性を阻害するための方法)

上で考察されるように、心臓血管障害に関連する遺伝子は、遺伝子活性の増加したレベルを介してこのような障害を引き起こし得る。いくつかの場合において、このようなアップレギュレーションは、疾患状態に対して原因となるかまたは増悪させる影響を有し得る。種々の技術が、このような遺伝子および/またはタンパク質の発現、合成、または活性を阻害するために使用され得る。

【0106】

例えば、上記のアッセイを介して同定される化合物のような化合物(これらは、阻害性活性を示す)は、本発明に従って、疼痛を軽減するために使用され得る。このような分子としては、有機低分子、ペプチド、抗体などが挙げられ得るが、これらに限定されない。

【0107】

例えば、1465タンパク質、1587タンパク質、2146タンパク質、2207タンパク質、32838タンパク質、336タンパク質または52908タンパク質に対する内因性リガンドと競合する化合物が投与され得る。リガンド結合した1465タンパク質、1587タンパク質、2146タンパク質、2207タンパク質、32838タンパク質、336タンパク質または52908タンパク質の量の、生じる減少は、内皮細胞生理学を調節する。この目的のために特に有用であり得る化合物は、例えば、1465タンパク質、1587タンパク質、2146タンパク質、2207タンパク質、32838タンパク質、336タンパク質または52908タンパク質の可溶性タンパク質または可溶性ペプチド、例えば、1つ以上の細胞外ドメインを含むペプチド、またはその一部および/もしくはアナログ(例えば、Ig-テールド(tailed)融合タンパク質のような可溶性融合タンパク質を含む)が挙げられる(Ig-テールド融合タンパク質の産生の考察について、例えば、米国特許第5,116,964号を参照のこと)。あるいは、1465レセプター部位、1587レセプター部位、2146レセプター部位、2207レセプター部位、32838レセプター部位、336レセプター部位または52908レセプター部位に結合するが、タンパク質を活性化しない、リガンドアナログまたは抗体のような化合物(例えば、レセプター-リガンドアンタゴニスト)は、1465タンパク質活性、1587タンパク質活性、2146タンパク質活性、2207タンパク質活性、32838タンパク質活性、336タンパク質活性または52908タンパク質活性を阻害するのに有効であり得る。

【0108】

さらに、1465遺伝子、1587遺伝子、2146遺伝子、2207遺伝子、32838遺伝子、336遺伝子または52908遺伝子の発現を阻害するアンチセンス分子およびリボザイム分子もまた、本発明に従って、異常な1465遺伝子活性、1587遺伝

子活性、2 1 4 6 遺伝子活性、2 2 0 7 遺伝子活性、3 2 8 3 8 遺伝子活性、3 3 6 遺伝子活性または5 2 9 0 8 遺伝子活性を阻害するために使用され得る。なおさらに、3 重らせん分子は、異常な1 4 6 5 遺伝子活性、1 5 8 7 遺伝子活性、2 1 4 6 遺伝子活性、2 2 0 7 遺伝子活性、3 2 8 3 8 遺伝子活性、3 3 6 遺伝子活性または5 2 9 0 8 遺伝子活性を阻害する際に利用され得る。

【0 1 0 9】

本発明の方法に使用されるアンチセンス核酸分子は、代表的に、被験体に投与されるかまたはインサイチュで産生され、その結果、これらは、1 4 6 5 タンパク質、1 5 8 7 タンパク質、2 1 4 6 タンパク質、2 2 0 7 タンパク質、3 2 8 3 8 タンパク質、3 3 6 タンパク質または5 2 9 0 8 タンパク質をコードする細胞性mRNAおよび/またはゲノムDNAにハイブリダイズするかまたは結合して、それによって、例えば、転写および/または翻訳を阻害することによって、タンパク質の発現を阻害する。ハイブリダイゼーションは、安定な二重鎖を形成するための従来のヌクレオチド相補性によって、または、例えば、DNA二重鎖に結合するアンチセンス核酸分子の場合、二重らせんの主溝における特異的な相互作用を介してであり得る。本発明のアンチセンス核酸分子の投与経路の例としては、組織部位での直接的注射が挙げられる。あるいは、アンチセンス核酸分子を改変して、選択された細胞を標的化し、次いで、全身に投与し得る。例えば、全身投与に関して、アンチセンス分子は、例えば、細胞表面レセプターまたは抗原に結合するペプチドまたは抗体に、アンチセンス核酸分子を連結することによって、このアンチセンス分子が、選択された細胞表面上で発現されるレセプターまたは抗原に特異的に結合するように改変され得る。このアンチセンス核酸分子はまた、本明細書中で記載されるベクターを使用して、細胞に送達され得る。アンチセンス分子の十分な細胞内濃度を達成するために、アンチセンス核酸分子が、強力なpol IIプロモーターまたはpol IIIプロモーターの制御下に配置されるベクター構築物が、好ましい。

【0 1 1 0】

なお別の実施形態において、本発明の方法に使用されるアンチセンス核酸分子は、 α -アノマー核酸分子である。 α -アノマー核酸分子は、相補的RNAと特異的な二本鎖ハイブリッドを形成する。ここでは、通常の β -ユニットとは対照的に、鎖は互いに対して平行に走る(Gaultierら(1987)Nucleic Acids Res. 15: 6625-6641)。アンチセンス核酸分子はまた、2'-o-メチルリボヌクレオチド(Inoueら(1987)Nucleic Acids Res. 15: 6131-6148)またはキメラRNA-DNAアナログ(Inoueら(1987)FEBS Lett. 215: 327-330)を含み得る。

【0 1 1 1】

なお別の実施形態において、本発明の方法に使用されるアンチセンス核酸は、リボザイムである。リボザイムは、これらのリボザイムが相補的領域を有する、一本鎖核酸(例えば、mRNA)を切断し得るリボヌクレアーゼ活性を有する触媒性RNA分子である。従って、リボザイム(例えば、ハンマーヘッドリボザイム(HaselhoffおよびGerlach(1988)Nature 334: 585-591に記載される))は、1 4 6 5 mRNA転写物、1 5 8 7 mRNA転写物、2 1 4 6 mRNA転写物、2 2 0 7 mRNA転写物、3 2 8 3 8 mRNA転写物、3 3 6 mRNA転写物または5 2 9 0 8 mRNA転写物を触媒的に切断するために使用されて、それによって、1 4 6 5 mRNA、1 5 8 7 mRNA、2 1 4 mRNA、2 2 0 7 mRNA、3 2 8 3 8 mRNA、3 3 6 mRNAまたは5 2 9 0 8 mRNAの翻訳を阻害し得る。1 4 6 5 コード核酸、1 5 8 7 コード核酸、2 1 4 6 コード核酸、2 2 0 7 コード核酸、3 2 8 3 8 コード核酸、3 3 6 コード核酸または5 2 9 0 8 コード核酸に対して特異性を有するリボザイムは、本明細書中に開示される1 4 6 5 cDNA、1 5 8 7 cDNA、2 1 4 cDNA、2 2 0 7 cDNA、3 2 8 3 8 cDNA、3 3 6 cDNAまたは5 2 9 0 8 cDNA(すなわち、配列番号1または配列番号3)のヌクレオチド配列に基づいて設計され得る。例えば、Tetrahymena L-19 IVS RNAの誘導体は、活性部位のヌクレオ

チド配列が 1 4 6 5 コード m R N A、1 5 8 7 コード m R N A、2 1 4 コード m R N A、2 2 0 7 コード m R N A、3 2 8 3 8 コード m R N A、3 3 6 コード m R N A または 5 2 9 0 8 コード m R N A において切断されるべきヌクレオチド配列に対して相補的であるように構築され得る（例えば、C e c h ら、米国特許第 4, 9 8 7, 0 7 1 号；および C e c h ら、米国特許第 5, 1 1 6, 7 4 2 号を参照のこと）。あるいは、1 4 6 5 m R N A、1 5 8 7 m R N A、2 1 4 m R N A、2 2 0 7 m R N A、3 2 8 3 8 m R N A、3 3 6 m R N A または 5 2 9 0 8 m R N A を使用して、R N A 分子のプールから特異的なリボヌクレアーゼ活性を有する触媒性 R N A を選択し得る（例えば、B a r t e l, D. および S z o s t a k, J. W. (1993) S c i e n c e 2 6 1: 1 4 1 1 - 1 4 1 8 を参照のこと）。

10

【0112】

1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6 または 5 2 9 0 8 の遺伝子の発現はまた、標的細胞中で 1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6 または 5 2 9 0 8 の遺伝子の転写を阻害する三重ヘリックス構造を形成するために、1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6 または 5 2 9 0 8 の調節領域（例えば、1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6 または 5 2 9 0 8 のプロモーターおよび/またはエンハンサー）に相補的なヌクレオチド配列を標的化することによって阻害され得る（例えば、H e l e n e, C. ら (1991) A n t i c a n c e r D r u g D e s. 6 (6): 5 6 9 - 8 4; H e l e n e, C. ら (1992) A n n. N. Y. A c a d. S c i. 6 6 0: 2 7 - 3 6; および M a h e r, L. J. (1992) B i o a s s a y s 1 4 (12): 8 0 7 - 1 5 を参照のこと）。

20

【0113】

1 4 6 5 タンパク質、1 5 8 7 タンパク質、2 1 4 6 タンパク質、2 2 0 7 タンパク質、3 2 8 3 8 タンパク質、3 3 6 タンパク質または 5 2 9 0 8 タンパク質に特異的であり、かつその活性を妨害する抗体もまた、1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6 または 5 2 9 0 8 のタンパク質機能を調節または阻害するために使用され得る。このような抗体は、1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6 または 5 2 9 0 8 のタンパク質自体、あるいはこのタンパク質の一部に対応するペプチドに対して、本明細書中に記載される標準的技術を使用して作製され得る。このような抗体としては、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、F a b フラグメント、単鎖抗体、またはキメラ抗体が挙げられるが、これらに限定されない。

30

【0114】

標的遺伝子タンパク質が細胞内であり、かつ全抗体が使用される例において、内部移行 (i n t e r n a l i z i n g) 抗体が好ましくあり得る。リポフェクチンリポソームは、標的エピトープに結合する F a b 領域の抗体またはフラグメントを細胞に送達するために使用され得る。抗体のフラグメントが使用される場合、標的タンパク質の結合ドメインに結合する最小の阻害性フラグメントが、好ましい。例えば、標的遺伝子タンパク質に結合する抗体の可変領域のドメインに対応するアミノ酸配列を有するペプチドが使用され得る。このようなペプチドは、当該分野で周知の方法を使用して、化学的に合成され得るかまたは組換え D N A 技術を介して産生され得る（例えば、C r e i g h t o n (1983)、上記；および S a m b r o o k ら、(1989) 上記に記載される）。細胞内標的遺伝子エピトープに結合する単鎖中和抗体もまた、投与され得る。このような単鎖抗体は、例えば、M a r a s c o ら、(1993) P r o c. N a t l. A c a d. S c i. U S A 9 0: 7 8 8 9 - 7 8 9 3 に記載されるような技術を利用することにより、例えば、標的細胞集団内で単鎖抗体をコードするヌクレオチド配列を発現させることによって、投与され得る。

40

【0115】

いくつかの場合において、標的遺伝子タンパク質は、細胞外であるか、または膜貫通タンパク質（例えば、1 4 6 5 タンパク質、1 5 8 7 タンパク質、2 1 4 6 タンパク質、2

50

207タンパク質、32838タンパク質、336タンパク質、または52908タンパク質)である。1465タンパク質、1587タンパク質、2146タンパク質、2207タンパク質、32838タンパク質、336タンパク質、または52908タンパク質の1つ以上の細胞外ドメインに特異的な抗体、および例えば、その活性を妨害する抗体は、疼痛または痛有性障害を処置する際に特に有用である。このような抗体は、血流から直接標的ドメインに接近できるので、特に効率的である。ペプチド投与に適切である、以下に記載の投与技術のいずれかが、それらの作用部位に対する阻害性標的遺伝子抗体を有効に投与するために使用され得る。

【0116】

(ii) 標的遺伝子活性を回復または増強するための方法

10

疼痛を引き起こす遺伝子は、心臓血管疾患状態では過少発現され得る。あるいは、このような遺伝子のタンパク質産物の活性が減少され、疼痛の発生に至り得る。このような遺伝子発現のダウンレギュレーションまたはタンパク質活性の減少は、疾患状態に対する原因となる効果または悪化する効果を有し得る。

【0117】

いくつかの場合、疾患状態においてアップレギュレートされる遺伝子が、防御効果を発揮し得る。種々の技術は、疼痛状態に応答して防御効果を発揮する遺伝子および/またはタンパク質の発現、合成、または活性を増加させるために使用され得る。

【0118】

この節に記載されるのは、1465、1587、2146、2207、32838、336、または52908の活性のレベルが、疼痛が改善されるレベルに増大され得る方法である。1465、1587、2146、2207、32838、336、または52908の活性のレベルは、例えば、1465遺伝子、1587遺伝子、2146遺伝子、2207遺伝子、32838遺伝子、336遺伝子、または52908遺伝子の発現のレベルを増加させることにより、あるいは存在する活性な1465タンパク質、1587タンパク質、2146タンパク質、2207タンパク質、32838タンパク質、336タンパク質、もしくは52908タンパク質のレベルを増加させることにより増加され得る。

20

【0119】

例えば、1465タンパク質、1587タンパク質、2146タンパク質、2207タンパク質、32838タンパク質、336タンパク質、もしくは52908タンパク質は、疼痛を改善するのに十分なレベルで、このような症状を示す患者に投与され得る。以下に議論する技術のいずれかが、このような投与のために使用され得る。当業者は、以下に記載するような技術を利用して、1465タンパク質、1587タンパク質、2146タンパク質、2207タンパク質、32838タンパク質、336タンパク質、もしくは52908タンパク質の有効な無毒の投与の濃度をいかにしして決定するかを容易に理解する。

30

【0120】

さらに、1465タンパク質、1587タンパク質、2146タンパク質、2207タンパク質、32838タンパク質、336タンパク質、もしくは52908タンパク質をコードするRNA配列は、疼痛が緩和されるような1465タンパク質、1587タンパク質、2146タンパク質、2207タンパク質、32838タンパク質、336タンパク質、もしくは52908タンパク質のレベルを生じさせるのに十分な濃度で、疼痛を示す患者に直接投与され得る。例えば、リポソーム投与のような化合物の細胞内投与を達成する以下に議論した技術のいずれかが、このようなRNA分子の投与のために使用され得る。RNA分子は、例えば、本明細書中に記載のような組換え技術によって生成され得る。

40

【0121】

さらに、被験体は、遺伝子置換療法によって処置され得る。1465、1587、2146、2207、32838、336、または52908の機能を有する正常な1465タンパク質、1587タンパク質、2146タンパク質、2207タンパク質、3283

50

8 タンパク質、336 タンパク質、もしくは52908 タンパク質の産生を指向する1465 遺伝子、1587 遺伝子、2146 遺伝子、2207 遺伝子、32838 遺伝子、336 遺伝子、または52908 遺伝子、あるいはそれらの部分の1つ以上のコピーが、DNAを細胞に導入する他の粒子（例えば、リポソーム）に加えて、アデノウイルス、アデノ随伴ウイルス、およびレトロウイルスベクターを含むが、これらに限定されないベクターを用いて細胞に挿入され得る。さらに、上記の技術のような技術が、ヒト細胞への1465 遺伝子配列、1587 遺伝子配列、2146 遺伝子配列、2207 遺伝子配列、32838 遺伝子配列、336 遺伝子配列、もしくは52908 遺伝子配列の導入のために用いられ得る。

【0122】

10

1465 発現遺伝子配列、1587 発現遺伝子配列、2146 発現遺伝子配列、2207 発現遺伝子配列、32838 発現遺伝子配列、336 発現遺伝子配列、もしくは52908 発現遺伝子配列を含む細胞、好ましくは、自家細胞は、次いで疼痛の改善を可能にする位置で被験体に導入または再導入され得る。このような細胞置換技術は、例えば、遺伝子産物が分泌される場合、すなわち、細胞外遺伝子産物の場合、好ましいとされ得る。

【0123】

（C．薬学的組成物）

本発明の別の局面は、疾患を罹患する被験体を処置するための方法に関する。これらの方法は、1465、1587、2146、2207、32838、336、もしくは52908の発現または1465、1587、2146、2207、32838、336、もしくは52908の活性を調節する因子（例えば、本明細書中に記載されるスクリーニングアッセイによって同定される因子）、あるいはこのような因子の組み合わせを、被験体に投与する工程を包含する。別の実施形態において、本方法は、減少した1465、1587、2146、2207、32838、336もしくは52908の発現または減少した1465、1587、2146、2207、32838、336もしくは52908の活性、異常な1465、1587、2146、2207、32838、336もしくは52908の発現または異常な1465、1587、2146、2207、32838、336もしくは52908の活性、あるいは所望されない1465、1587、2146、2207、32838、336もしくは52908の発現または所望されない1465、1587、2146、2207、32838、336もしくは52908の活性、または52908の活性を補うための治療剤として、1465タンパク質、1587タンパク質、2146タンパク質、2207タンパク質、32838タンパク質、336タンパク質もしくは52908タンパク質または1465核酸分子、1587核酸分子、2146核酸分子、2207核酸分子、32838核酸分子、336核酸分子もしくは52908核酸分子を被験体に投与する工程を包含する。

【0124】

1465、1587、2146、2207、32838、336、または52908の活性の刺激は、1465、1587、2146、2207、32838、336、または52908が異常にダウンレギュレートされる状況、および/あるいは増加した1465、1587、2146、2207、32838、336、または52908の活性が有利な効果を有しそうである状況において、所望される。同様に、1465、1587、2146、2207、32838、336、または52908の活性の阻害は、1465、1587、2146、2207、32838、336、または52908が異常にアップレギュレートされる状況、および/あるいは減少した1465、1587、2146、2207、32838、336、または52908の活性が有利な効果を有しそうである状況において、所望される。

【0125】

1465、1587、2146、2207、32838、336、または52908の活性を調節する因子は、このような投与に適切な薬学的組成物を用いて被験体に投与され得る。このような組成物は、典型的には因子（例えば、核酸分子、タンパク質または抗体

50

）および薬学的に受容可能なキャリアを含む。本明細書中で使用される場合、用語「薬学的に受容可能なキャリア」は、薬剤投与に適合可能な溶媒、分散媒体、コーティング、抗菌剤および抗真菌剤、等張剤および吸収遅延剤などのいずれかおよび全てを含むことが意図される。このような媒体及び因子の、薬学的に活性な物質への使用は、当該分野において周知である。任意の慣用的な媒体または因子が活性化合物に適合し得ない場合を除いて、組成物におけるこれらの使用が意図される。補充される活性化合物はまた、組成物中に組み込まれ得る。

【0126】

本発明の治療法において使用される薬学的組成物は、その意図される投与経路に適合性であるように処方される。投与経路の例としては、非経口投与（例えば、静脈内投与、皮内投与、皮下投与）、経口投与（例えば、吸入投与）、経皮投与（局所投与）、経粘膜投与、および直腸投与が挙げられる。非経口適用、皮内適用または皮下適用に使用される溶液または懸濁液は、以下の成分を含み得る：滅菌希釈剤（例えば、注入水、生理食塩水溶液、不揮発性油、ポリエチレングリコール、グリセリン、プロピレングリコールまたは他の合成溶媒）；抗菌剤（例えば、ベンジルアルコールまたはメチルパラベン）；抗酸化剤（例えば、アスコルビン酸または重亜硫酸ナトリウム）；キレート剤（例えば、エチレンジアミン四酢酸）；緩衝液（例えば、酢酸、クエン酸またはリン酸）および張性の調整のための因子（例えば、塩化ナトリウムまたはデキストロース）。pHは、酸または塩基（例えば、塩酸または水酸化ナトリウム）で調整され得る。非経口調製物は、ガラス製またはプラスチック製のアンプル、ディスポーサブルシリンジまたは複数用量のバイアル中に封入され得る。

【0127】

注入可能な用途に適切な薬学的組成物としては、滅菌水溶液（水溶性）または滅菌水性分散物、および滅菌注入可能な溶液もしくは分散物の即時調製のための滅菌粉末が挙げられる。静脈内投与について、適切なキャリアとしては、生理学的生理食塩水、静菌水、Cremophor ELTM（BASF, Parsippany, NJ）またはリン酸緩衝化生理食塩水（PBS）が挙げられる。全ての場合において、組成物は滅菌されていなければならない、そして容易な注射可能性が存在する程度に流体であるべきである。組成物は、製造および保存の条件下で安定でなければならない、そして、細菌および真菌のような微生物の夾雑作用に対して保護されなければならない。キャリアは、例えば、水、エタノール、ポリオール（例えば、グリセロール、プロピレングリコール、および液体ポリエチレングリコールなど）、およびこれらの適切な混合物を含む、溶媒または分散媒体であり得る。適切な流動性が、例えば、コーティング（例えば、レシチン）の使用によって、分散物の場合に必要とされる粒子サイズの維持によって、および界面活性剤の使用によって、維持され得る。微生物の作用からの保護は、種々の抗菌剤および抗真菌剤（例えば、パラベン、クロロブタノール、フェノール、アスコルビン酸、チメロサルなど）によって達成され得る。多くの場合において、等張剤（例えば、糖）、ポリアルコール（例えば、マンニトール、ソルビトール）および塩化ナトリウムを組成物中に含むことが、好ましい。注入可能な組成物の延長された吸収は、吸収を遅延させる因子（例えば、モノステアリン酸アルミニウムおよびゼラチン）を組成物中に含ませることによってもたらされ得る。

【0128】

滅菌注入可能な溶液は、上記で列挙した成分の1つまたは組合わせとともに、1465、1587、2146、2207、32838、336、または52908の活性を調節する因子（例えば、1465タンパク質、1587タンパク質、2146タンパク質、2207タンパク質、32838タンパク質、336タンパク質、もしくは52908タンパク質のフラグメントまたは抗1465抗体、抗1587抗体、抗2146抗体、抗2207抗体、抗32838抗体、抗336抗体、もしくは抗52908抗体）を適切な溶媒中に必要とされる量で組み込み、必要ならば、続いて濾過滅菌することによって調製され得る。一般に、分散物は、基本分散媒体および上記で列挙された成分から必要とされる他の成分を含む滅菌ビヒクル中に活性化合物を組み込むことによって調製される。滅菌注入

可能な溶液の調製のための滅菌粉末の場合、好ましい調製方法は、真空乾燥および凍結乾燥であり、これにより、予め滅菌濾過したその溶液から活性成分および任意のさらなる所望の成分の粉末を得る。

【0129】

経口組成物は、一般的に、不活性希釈剤または食用キャリアを含む。これらは、ゼラチンカプセルに封入され得るか、または錠剤へ圧縮され得る。経口治療投与の目的のために、この活性化合物は、賦形剤とともに組み込まれ得、そして錠剤、トローチ剤、またはカプセル剤の形態で使用され得る。経口組成物はまた、マウスウォッシュ (mouth wash) としての使用のために流体キャリアを使用して調製され得、ここで、この流体キャリア中のこの化合物は、経口的に適用され、そして素早く動かされ (swish)、そして吐き出されるか、または飲み込まれる。薬学的に適合性の結合剤、および/またはアジュバント材料が、この組成物の一部として含まれ得る。錠剤、丸剤、カプセル剤、トローチ剤などは、以下のいずれかの成分または同様の性質を有する化合物を含み得る：結合剤 (例えば、微結晶セルロース、トラガカントガムまたはゼラチン)；賦形剤 (例えば、デンプンまたはラクトース)、崩壊剤 (例えば、アルギン酸、Primogel、またはコーンスターチ)；滑沢剤 (例えば、ステアリン酸マグネシウムまたはSterotes)；潤滑剤 (glidant) (例えば、コロイド状二酸化ケイ素)；甘味剤 (例えば、スクロースまたはサッカリン)；あるいは香味剤 (例えば、ペパーミント、サリチル酸メチル、またはオレンジフレーバー)。

10

【0130】

吸入による投与について、この化合物は、適切な噴霧剤 (例えば、二酸化炭素のような気体) を含む加圧容器またはディスペンサー、あるいは噴霧器から、エアロゾルスプレーの形態で送達される。

20

【0131】

全身的投与はまた、経粘膜手段または経皮手段により得る。経粘膜投与または経皮投与のための、浸透されるバリアに対して適切な浸透剤が、処方において使用される。このような浸透剤は、一般的に、当該分野で公知であり、そして、例えば、経粘膜投与としては、界面活性剤、胆汁酸塩、およびフシジン酸誘導体が挙げられる。経粘膜投与は、鼻スプレーまたは坐剤の使用を通じて達成され得る。経皮投与のために、この活性化合物は、当該分野で一般的に公知である軟膏 (ointment)、軟膏 (salve)、ゲル、またはクリーム剤へ処方される。

30

【0132】

1465、1587、2146、2207、32838、336、または52908の活性を調節する因子はまた、直腸送達のための坐剤の形態 (例えば、ココアバターおよび他のグリセリドのような従来の坐剤基剤と共に) または保持浣腸の形態で調製され得る。

【0133】

1つの実施形態において、1465、1587、2146、2207、32838、336、または52908の活性を調節する因子は、身体からの迅速な排出に対してこの化合物を保護するキャリアを用いて調製され (例えば、制御放出处方物)、これには、移植片およびマイクロカプセル化された送達系が挙げられる。エチレン酢酸ビニル、ポリ無水物、ポリグリコール酸、コラーゲン、ポリオルトエステル、およびポリ乳酸のような、生分解性、生体適合性ポリマーが使用され得る。このような処方物の調製のための方法は、当業者には明らかである。これらの材料はまた、Alza Corporation and Nova Pharmaceuticals, Inc. から商業的に入手可能である。リボソーム懸濁液 (ウイルス抗原に対するモノクローナル抗体を有する、感染させた細胞へ標的化されるリボソームを含む) がまた、薬学的に受容可能なキャリアとして使用され得る。これらは、例えば、米国特許第4,522,811号に記載されるような、当業者に公知の方法に従って調製され得る。

40

【0134】

投与の容易さおよび投薬の均一性のために、投薬単位形態で、経口組成物または非経口

50

組成物を処方することが、特に有益である。本明細書で使用される投薬単位形態は、処置される被験体のための単位投薬量として適切な、物理的に個々の単位をいい；各単位は、必要とされる薬学的キャリアと関連して、所望の治療的効果を生じるように計算された所定量の活性化化合物を含む。本発明の投薬単位形態についての詳細は、1465、1587、2146、2207、32838、336、または52908の活性を調節する因子の固有の特性、および達成される特定の治療効果、ならびに被験体の処置のためのこのような因子を調合する当該分野に固有の制限によって決定され、そしてこれらに直接依存する。

【0135】

このような因子の毒性および治療効率は、例えば、LD50（集団の50%に致死的な量）およびED50（集団の50%において治療的に有効な量）を決定するための、細胞培養または実験動物における標準的な薬学的手順によって決定され得る。毒性と治療効果との間での用量比は、治療指数であり、そしてこれは、LD50/ED50比として表され得る。大きな治療指数を示す因子が好ましい。毒性の副作用を示す因子が使用され得るが、治療は、感染していない細胞に対する可能性のある損傷を最少にし、それによって副作用が減少するように、患部組織の部位に対してそのような因子を標的化する送達システムを設計するように、行われるべきである。

10

【0136】

細胞培養アッセイおよび動物実験によって得られたデータは、ヒトでの使用のための投与量の範囲を処方する際に使用され得る。このような1465調節因子、1587調節因子、2146調節因子、2207調節因子、32838調節因子、336調節因子、もしくは52908調節因子の投与量は、好ましくは、わずかな毒性を有するかまたは毒性を全く有さないでED50を含む、循環している濃度の範囲内である。投与量は、使用される投与量形態および利用される投与の経路に依存して、この範囲内で変化し得る。本発明の治療方法において使用される任意の因子については、治療有効用量は、細胞培養アッセイから最初に概算され得る。用量は、細胞培養物中で決定されるような、IC50（すなわち、症状の最大の半分の抑制を達成する試験化合物の濃度）を含む、循環している血漿濃度の範囲を達成するように、動物モデルにおいて処方し得る。このような情報は、ヒトにおける有用な用量をより正確に決定するために使用され得る。血漿中でのレベルは、例えば、高速液体クロマトグラフィーによって測定され得る。

20

30

【0137】

本明細書中に規定されるように、タンパク質またはポリペプチドの治療有効量（すなわち、有効投薬量）は、体重1kg当たり約0.001~30mg、好ましくは体重1kg当たり約0.01~25mg、より好ましくは体重1kg当たり約0.1~20mg、およびさらにより好ましくは体重当たり約1~10mg/kg、2~9mg/kg、3~8mg/kg、4~7mg/kg、または5~6mg/kgの範囲である。疾患または障害の重篤度、事前の処置、被験体の一般的な健康状態および/もしくは年齢、ならびに他の疾患の存在を含むがこれらに限定されない特定の要因が、被験体を効果的に処置するために必要とされる投与量に影響を与え得ることが、当業者に明らかである。さらに、治療有効量のタンパク質、ポリペプチドまたは抗体での被験体の処置は、単回の処置を含み得るか、または好ましくは、一連の処置を含み得る。

40

【0138】

好ましい例においては、被験体は、体重当たり約0.1~20mg/kgの範囲の抗体、タンパク質またはポリペプチドを用いて、約1~10週間の間、好ましくは2~8週間の間、より好ましくは約3~7週間の間、およびさらにより好ましくは約4、5、または6週間の間、1週間に1回、処置される。処置のために使用される抗体、タンパク質またはポリペプチドの有効投与量が、特定の処置の経過にわたって増大し得るかまたは減少し得ることもまた、理解される。投与量の変化が生じ得、そして本明細書中に記載されているような診断アッセイの結果から明白となる。

【0139】

50

本発明は、発現または活性を調節する因子を含む。因子は、例えば、低分子であり得る。例えば、このような低分子としては、以下が挙げられるがこれらに限定されない：ペプチド、ペプチド模倣物、アミノ酸、アミノ酸アナログ、ポリヌクレオチド、ポリヌクレオチドアナログ、ヌクレオチド、ヌクレオチドアナログ、約 10,000 g / モル未満の分子量を有する有機化合物または無機化合物（すなわち、ヘテロ有機化合物および有機金属化合物を含む）、約 5,000 g / モル未満の分子量を有する有機化合物または無機化合物、約 1,000 g / モル未満の分子量を有する有機化合物または無機化合物、約 500 g / モル未満の分子量を有する有機化合物または無機化合物、ならびにこのような化合物の塩、エステル、および薬学的に受容可能な他の形態。低分子因子の適切な用量が当該分野の医師、獣医師または研究者の知識内の多くの要因に依存することが、理解される。低分子の用量は、例えば、処置される被験体またはサンプルの正体、サイズおよび状態に依存して、適用可能な場合、この組成物が投与される経路、およびこの低分子が有していることを開業医が所望する、本発明の核酸またはポリペプチドに対する効果にさらに依存して、変化する。

10

20

30

40

50

【0140】

代表的な用量は、被験体またはサンプル重量 1 kg あたり mg または μ g の量の低分子を含む（例えば、約 1 μ g / kg ~ 約 500 mg / kg、約 100 μ g / kg ~ 約 5 mg / kg、または約 1 μ g / kg ~ 約 50 mg / kg）。低分子の適切な用量は、調節されるべき発現または活性に対するこの低分子の効力に依存することがさらに理解される。このような適切な用量は、本明細書中で記載されるアッセイを使用して、決定され得る。これらの低分子の 1 つ以上が、本発明のポリペプチドまたは核酸の発現または活性を調節するために、動物（例えば、ヒト）に投与される場合、医師、獣医または研究者は、例えば、初めに比較的低い用量を処方し、続いて、適切な応答が得られるまで、この用量を増加し得る。さらに、任意の特定の動物被験体についての特定の用量レベルは、用いられる特定の化合物の活性、被験体の年齢、細胞増殖、身体全体の健康状態、性別および食餌、投与時間、投与経路、排泄速度、任意の薬物の組合せ、ならびに調節されるべき発現または活性の程度を含む種々の因子に依存することが、理解される。

【0141】

さらに、抗体（またはそのフラグメント）が、治療的部分（例えば、細胞毒、治療剤または放射性金属イオン）に結合され得る。細胞毒または細胞毒性剤としては、細胞に対して有害な任意の因子を含む。例としては、タキソール、サイトカラシン B、グラミシジン D、臭化エチジウム、エメチン、マイトマイシン、エトポシド、テノポシド、ビンクリスチン、ビンブラスチン、コルヒチン、ドキソルビシン、ダウノルビシン、ジヒドロキシアントラシンジオン、ミトキサントロン、ミトラマイシン、アクチノマイシン D、1 - デヒドロテストステロン、グルココルチコイド、プロカイン、テトラカイン、リドカイン、プロプラノロールおよびプロマイシン、ならびにそれらのアナログまたはホモログが挙げられる。治療剤としては、代謝拮抗剤（例えば、メトトレキサート、6 - メルカプトプリン、6 - チオグアニン、シタラビン、5 - フルオロウラシルデカルバジン）、アルキル化剤（例えば、メクロレタミン、チオエパクロランブシル、メルファラン、カルムスチン（BSNU）およびロムスチン（CCNU）、シクロソスファミド（cyclophosphamide）、ブスルファン、ジプロモマンニトール、ストレプトゾトシン、マイトマイシン C、ならびにシス - ジクロロジアミン白金（II）（DDP）シスプラチン）、アントラサイクリン（例えば、ダウノルビシン（以前は、ダウノマイシン）およびドキソルビシン）、抗生物質（例えば、ダクチノマイシン（以前は、アクチノマイシン）、ブレオマイシン、ミトラマイシンおよびアントラマイシン（AMC））、ならびに抗有糸分裂剤（例えば、ビンクリスチンおよびビンブラスチン）が挙げられるが、これらに限定されない。

【0142】

本発明の結合体は、所定の生物学的応答を調節するために使用され得、薬物部分は、古典的な化学療法剤に限定されると解釈されるべきではない。例えば、薬物部分は、所望の

生物学的活性を有するタンパク質またはポリペプチドであり得る。このようなタンパク質としては、例えば、毒素（例えば、アブリン、リシンA、プセウドモナス体外毒素またはジフテリア毒素；タンパク質（例えば、腫瘍壊死因子、 α インターフェロン、 β インターフェロン、神経成長因子、血小板由来増殖因子、組織プラスミノゲンアクチベータ；または生物学的応答調節因子（例えば、リンホカイン、インターロイキン-1（「IL-1」）、インターロイキン-2（「IL-2」）、インターロイキン-6（「IL-6」）、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子（「GM-CSF」）、顆粒球コロニー刺激因子（「G-CSF」）、または他の増殖因子が挙げられる。

【0143】

このような治療的部分を抗体に結合するための技術は、周知である。例えば、Arnoldら、"Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy", Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy, Reisfeldら（編）, pp. 243-56 (Alan R. Liss, Inc. 1985) ; Hellstromら、"Antibodies For Drug Delivery", Controlled Drug Delivery (第2版), Robinsonら（編）, pp. 623-53 (Marcel Dekker, Inc. 1987) ; Thorpe, "Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review", Monoclonal Antibodies '84: Biological And Clinical Applications, Pincheraら（編）, pp. 475-506 (1985) ; "Analysis, Results, And Future Prospective Of The Therapeutic Use Of Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy", Monoclonal Antibodies For Cancer Detection And Therapy, Baldwinら（編）, pp. 303-16 (Academic Press 1985), およびThorpeら、"The Preparative And Cytotoxic Properties Of Antibody-Toxin Conjugates", Immunol. Rev., 62: 119-58 (1982)を参照のこと。あるいは、抗体は、米国特許第4,676,980号 (Segal)により記載されるように、第2の抗体と結合して、抗体ヘテロ結合体を形成し得る。

【0144】

本発明の方法において使用される核酸分子は、ベクターに挿入され、遺伝子治療ベクターとして使用され得る。遺伝子治療ベクターは、例えば、静脈注射、局所投与（米国特許第5,328,470号を参照のこと）または定位注射（例えば、Chenら、(1994) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91: 3054-3057を参照のこと）によって、被験体に送達され得る。遺伝子治療ベクターの薬学的調製物は、受容可能な希釈剤中に遺伝子治療ベクターを含み得るか、または遺伝子送達ビヒクルが埋め込まれる徐放マトリクスを含み得る。あるいは、完全な遺伝子送達ベクターが組換え細胞（例えば、レトロウイルスベクター）からインタクトで産生され得る場合、薬学的調製物は、遺伝子送達系を産生する1つ以上の細胞を含み得る。

【0145】

(D. 薬理ゲノム学 (pharmacogenomics))

本発明の治療方法と共に、薬理ゲノム学（すなわち、被験体の遺伝子型とこの被験体の外来化合物または薬物に対する応答との間の関係の研究）が、考慮され得る。治療剤の代謝における差異は、薬理学的に活性な薬物の用量と血液濃度との間の関係を変更することにより、重篤な毒性または治療不良をもたらし得る。従って、医師または臨床医は、1465、1587、2146、2207、32838、336、または52908の活性を調節する薬剤を投与するか否かを決定する際、ならびに1465、1587、2146、

2207、32838、336、または52908の活性を調節する薬剤を用いる処置の投薬量および/または治療レジメンを変更する際に、関連の薬理ゲノム学研究において得られた知識を適用することを考慮し得る。

【0146】

薬理ゲノム学は、変更された薬物処置および罹患した個人における異常な作用に起因する薬物に対する応答における、臨床学的に有意な遺伝的変異を処置する。例えば、Eichelbaum, M.ら、(1996) Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. 23(10-11): 983-985およびLinder, M.W.ら、(1997) Clin. Chem. 43(2): 254-266を参照のこと。一般に、2つの型の薬理遺伝子学条件は、区別され得る。遺伝的条件は、薬物が身体に作用する様式を変更する(変更された薬物作用)単一因子として伝わったか、または遺伝的条件は、身体が薬物に作用する様式を変更する(変更された薬物代謝)単一因子として伝わった。これらの薬理遺伝子学条件は、稀な遺伝子欠損としてかまたは天然に存在する多型としてかの、いずれかとして生じ得る。例えば、グルコース-6-ホスフェートアミノペプチダーゼ欠損(G6PD)は、一般的な遺伝性酵素病であり、ここで、主な臨床学的合併症は、酸化薬剤(抗マラリア薬、スルホンアミド、鎮痛薬、ニトロフラン)の摂取およびソラマメの消費後の溶血である。

10

【0147】

「ゲノムワイドアソシエーション(genome-wide association)」として知られている、薬物応答を予測する遺伝子を同定するための、1つの薬理ゲノム学アプローチは、すでに知られているゲノム関連マーカー(例えば、「二座対立遺伝子」遺伝子マーカーマップ(これは、60,000~100,000の多型またはヒトゲノム上の可変性部位からなり、これらの各々が、2つの改変体を有する))からなるヒトゲノムの高解像度マップに、主に依存する。このような高解像度ゲノムマップは、特定の観察された薬物応答または副作用に関連したマーカーを同定するために、第II相/第III相の薬物試験に参加した統計学的に有意な数の患者の各々のゲノムのマップと比較され得る。あるいは、このような高解像度マップは、ヒトゲノムにおいて、数千万の公知の一塩基多型(SNP)の組み合わせから生じ得る。本明細書中で使用される場合、「SNP」は、DNAの伸長において、単一ヌクレオチド塩基において生じる一般的な変更である。例えば、SNPは、DNAの1000塩基毎に1回起き得る。SNPは、疾患プロセスに

20

30

【0148】

あるいは、「候補遺伝子アプローチ」と呼ばれる方法は、薬物応答を予測する遺伝子を同定するために用いられ得る。この方法に従って、薬物の標的をコードする遺伝子が既知である場合(例えば、本発明の方法において使用される1465タンパク質、1587タンパク質、2146タンパク質、2207タンパク質、32838タンパク質、336タンパク質もしくは52908タンパク質)、その遺伝子の全ての共通の改変体は、その集団においてかなり容易に同定され得、そして別の遺伝子バージョンに対して1つの遺伝子バージョンを有することが特定の薬物応答に関連するか否かが決定され得る。

40

【0149】

例示的な実施形態として、薬物代謝酵素の活性は、薬物作用の強度および持続時間の両方の主要な決定因子である。薬物代謝酵素(例えば、N-アセチルトランスフェラーゼ2(NAT2)ならびにシトクロムP450酵素のCYP2D6およびCYP2C19)の遺伝的多型の発見は、なぜ何人かの患者が推定される薬物効果を得られないか、または標準的かつ安全な用量の薬物を摂取した後に過大な薬物応答および重篤な毒性を示すかについての説明を提供した。これらの多型は、集団における2つの表現型である、代謝が速や

50

かな人 (EM) および代謝が遅い人 (PM) において現れる。PM の罹患率は、異なる集団の間で異なる。例えば、CYP2D6 をコードする遺伝子は、高度に多型性であり、いくつかの変異が、PM において同定されており、これらの全ては、機能的 CYP2D6 の非存在を生じる。CYP2D6 および CYP2C19 の代謝が乏しい人は、標準的な投薬量を投与された場合、かなり頻繁に、過大な薬物応答および副作用を経験する。代謝産物が、活性な治療的部分である場合、PM は、CYP2D6 形成代謝産物のモルヒネにより媒介されるコデインの鎮痛効果について証明されるように、治療的応答を示さない。他の極端な例は、標準的な投薬量に対して応答しない、いわゆる代謝が超迅速な人である。最近、超迅速な代謝の分子的根拠が、CYP2D6 遺伝子増幅に起因することが同定された。

10

【0150】

あるいは、「遺伝子発現プロファイリング」と呼ばれる方法が、薬物応答を予測する遺伝子を同定するために用いられ得る。例えば、薬物 (例えば、本発明の方法において使用される 1465 分子、1587 分子、2146 分子、2207 分子、32838 分子、336 分子もしくは 52908 分子または 1465 モジュレーター、1587 モジュレーター、2146 モジュレーター、2207 モジュレーター、32838 モジュレーター、336 モジュレーターもしくは 52908 モジュレーター) を投与された動物の遺伝子発現は、毒性に関連する遺伝子経路のスイッチがオンになるか否かの指標を与え得る。

【0151】

1 より多い上記薬理ゲノム学アプローチから生成される情報を使用して、被験体の予防的処置または治療的処置のための、適切な投薬量および処置レジメンを決定し得る。この知識は、投薬または薬物選択に適用される場合、有害反応または治療の失敗を回避し得、従って、1465 活性、1587 活性、2146 活性、2207 活性、32838 活性、336 活性もしくは 52908 活性を調節する薬剤で、心臓血管疾患 (例えば、アテローム性動脈硬化症) に罹患した被験体を処置するときの治療効果または予防効果を増強させ得る。

20

【0152】

(V. 本発明の方法において使用される組換え発現ベクターおよび宿主細胞)

本発明の方法 (例えば、本明細書中に記載されるスクリーニングアッセイ) は、ベクター、好ましくは発現ベクター (1465 タンパク質、1587 タンパク質、2146 タンパク質、2207 タンパク質、32838 タンパク質、336 タンパク質もしくは 52908 タンパク質 (またはそれらの部分) をコードする核酸を含む) の使用を含む。本明細書中で使用される場合、用語「ベクター」とは、連結されている別の核酸を輸送する能力を有する核酸分子をいう。ベクターの 1 つのタイプは、「プラスミド」であり、「プラスミド」とは、さらなる DNA セグメントが連結され得る環状二本鎖 DNA ループをいう。別のタイプのベクターは、ウイルスベクターであり、このウイルスベクターにおいて、さらなる DNA セグメントが、ウイルスゲノムに連結され得る。特定のベクター (例えば、細菌複製起源を有する細菌ベクターおよびエピソード哺乳動物ベクター) は、これらが導入される宿主細胞中で自律的に複製する能力を有する。他のベクター (例えば、非エピソード哺乳動物ベクター) が、宿主細胞に導入された場合に、この宿主細胞のゲノム中に組み込まれ、それによりこの宿主ゲノムと共に複製される。さらに、特定のベクターは、それらが作動可能に連結される遺伝子の発現を指向する能力を有する。このようなベクターは、本明細書中で、「発現ベクター」と称される。一般に、組換え DNA 技術において有用な発現ベクターは、しばしば、プラスミドの形態で存在する。本明細書において、「プラスミド」および「ベクター」は、プラスミドが最も一般的に使用される形態のベクターである場合、交換可能に使用され得る。しかし、本発明は、同等な機能を果たすこのような他の形態の発現ベクター (例えば、ウイルスベクター (例えば、複製欠損レトロウイルス、アデノウイルスおよびアデノ随伴ウイルス)) を含むことを意図する。

30

40

【0153】

本発明の方法で使用される組換え発現ベクターは、宿主細胞における核酸の発現に適切

50

な形態で、本発明の核酸を含む。この適切な形態とは、この組換え発現ベクターが、発現のために使用されるべき宿主細胞に基づいて選択される1つ以上の調節配列を含むことを意味し、この調節配列は、発現されるべき核酸配列に作動可能に連結される。組換え発現ベクターにおいて、「作動可能に連結される」は、目的のヌクレオチド配列が、（例えば、インビトロでの転写／翻訳系において、またはベクターが宿主細胞に導入されている場合は、宿主細胞において）このヌクレオチド配列の発現を可能にする様式で、調節配列に連結されていることを意味することを意図する。用語「調節配列」は、プロモーター、エンハンサー、および他の発現制御エレメント（例えば、ポリアデニル化シグナル）を含むことが意図される。このような調節配列は、例えば、Goeddel (1990) Methods Enzymol. 185: 3-7に記載される。調節配列は、多くのタイプの宿主細胞におけるヌクレオチド配列の構成的発現を指向する配列、および特定の宿主細胞のみにおけるヌクレオチド配列（例えば、組織特異的調節配列）の発現を指向する配列を含む。発現ベクターの設計は、形質転換される宿主細胞の選択、所望されるタンパク質の発現レベルなどのような因子に依存し得ることが、当業者に認識される。本発明の発現ベクターは、宿主細胞内に導入され得、これにより本明細書中に記載されるような核酸によってコードされるタンパク質またはポリペプチド（融合タンパク質または融合ポリペプチドを含む）（例えば、1465タンパク質、1587タンパク質、2146タンパク質、2207タンパク質、32838タンパク質、336タンパク質もしくは52908タンパク質の変異形態、融合タンパク質など）を産生し得る。

10

20

30

40

50

【0154】

本発明の方法において使用される組換え発現ベクターは、原核生物細胞または真核生物細胞における1465タンパク質、1587タンパク質、2146タンパク質、2207タンパク質、32838タンパク質、336タンパク質もしくは52908タンパク質の発現のために設計され得る。例えば、1465タンパク質、1587タンパク質、2146タンパク質、2207タンパク質、32838タンパク質、336タンパク質もしくは52908タンパク質は、E. coliのような細菌細胞、昆虫細胞（バキュロウイルス発現ベクターを使用して）、酵母細胞または哺乳動物細胞において発現され得る。適切な宿主細胞は、さらにGoeddel (1990)（前出）において議論される。あるいは、組換え発現ベクターは、例えば、T7プロモーター調節配列およびT7ポリメラーゼを使用して、インビトロで転写および翻訳され得る。

【0155】

原核生物におけるタンパク質発現は、融合タンパク質または非融合タンパク質のいずれかの発現を指向する構成的プロモーターまたは誘導性プロモーターを含むベクターを用いて、ほとんどE. coliにて行われる。融合ベクターは、多くのアミノ酸を、そこにコードされるタンパク質に、通常、組換えタンパク質のアミノ末端に付加する。このような融合ベクターは、典型的に以下の3つの目的を果たす：1) 組換えタンパク質の発現を増加させること；2) 組換えタンパク質の安定性を増加させること；および3) アフィニティ精製におけるリガンドとして作用させることによって組換えタンパク質の精製を補助すること。しばしば、融合発現ベクターにおいて、タンパク質分解性切断部位が、融合部分と組換えタンパク質との連結部に導入され、その融合部分からの組換えタンパク質の分離、続く融合タンパク質の精製を可能にする。このような酵素およびこれらの同族認識配列は、第Xa因子、トロンピン、およびエンテロキナーゼを含む。代表的な融合発現ベクターとしては、pGEX (Pharmacia Biotech Inc; Smith, D. B. および Johnson, K. S. (1988) Gene 67: 31-40)、pMAL (New England Biolabs, Beverly, MA) および pRIT5 (Pharmacia, Piscataway, NJ)（これらはそれぞれ、グルタチオン-S-トランスフェラーゼ (GST)、マルトース結合タンパク質、またはプロテインAを標的組換えタンパク質に融合する）が挙げられる。

【0156】

精製された融合タンパク質は、1465活性、1587活性、2146活性、2207

活性、32838活性、336活性もしくは52908活性のアクセイ（例えば、以下に詳細に記載される直接アクセイまたは競合アクセイ）において、または1465タンパク質、1587タンパク質、2146タンパク質、2207タンパク質、32838タンパク質、336タンパク質もしくは52908タンパク質に特異的な抗体を生成するために使用され得る。好ましい実施形態において、本発明のレトロウイルス発現ベクターにおいて発現される1465融合タンパク質、1587融合タンパク質、2146融合タンパク質、2207融合タンパク質、32838融合タンパク質、336融合タンパク質もしくは52908融合タンパク質を使用して、骨髓細胞を感染し続いて照射したレシピエントに移植し得る。次いで、被験体レシピエントの病理学は、十分な時間が経過した後（例えば、6週間）に試験される。

10

【0157】

別の実施形態において、本発明の核酸を、哺乳動物発現ベクターを使用して、哺乳動物細胞において発現させる。哺乳動物発現ベクターの例としては、pCDM8 (Seed, B. (1987) Nature 329: 840) および pMT2PC (Kaufmanら (1987) EMBO J. 6: 187-195) が挙げられる。哺乳動物細胞において使用される場合、この発現ベクターの制御機能は、しばしば、ウイルス調節エレメントによって提供される。例えば、一般的に使用されるプロモーターは、ポリオーマ、アデノウイルス2、サイトメガロウイルスおよびシミアンウイルス40由来である。原核生物細胞および真核生物細胞の両方に適切な他の発現系については、Sambrook, J. ら、Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 第2版、Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1989の第16章および第17章を参照のこと。

20

【0158】

別の実施形態において、組換え哺乳動物発現ベクターが、特定の細胞型において優先的に核酸の発現を指向し得る（例えば、組織特異的調節エレメントが核酸の発現に使用される）。

【0159】

本発明の方法は、アンチセンス方向で発現ベクターにクローニングされた本発明のDNA分子を含む、組換え発現ベクターをさらに使用し得る。すなわち、このDNA分子は、（このDNA分子の転写によって）1465 mRNA、1587 mRNA、2146 mRNA、2207 mRNA、32838 mRNA、336 mRNAもしくは52908 mRNAに対するアンチセンスであるRNA分子の発現を可能にする様式で、調節配列に作動可能に連結される。アンチセンス方向でクローニングされた核酸に作動可能に連結された調節配列が選択され得、この調節配列は、種々の細胞型においてアンチセンスRNA分子の連続した発現を指向し、例えば、アンチセンスRNAの構成的な発現、組織特異的な発現または細胞型特異的な発現を指向する、ウイルスプロモーターおよび/もしくはウイルスエンハンサー、または調節配列が選択され得る。アンチセンス発現ベクターは、アンチセンス核酸が高効率調節領域の制御下で産生される、組換えプラスミド、ファージミドまたは弱毒化ウイルスの形態であり得、その活性は、これらのベクターが導入される細胞型により決定され得る。アンチセンス遺伝子を使用する遺伝子発現の調節の考察については、Weintraub, H. ら、Antisense RNA as a molecular tool for genetic analysis, Reviews - Trends in Genetics, Vol. 1 (1) 1986を参照のこと。

30

40

【0160】

本発明の別の局面は、本発明の1465核酸分子、1587核酸分子、2146核酸分子、2207核酸分子、32838核酸分子、336核酸分子もしくは52908核酸分子（例えば、組換え発現ベクター内の1465核酸分子、1587核酸分子、2146核酸分子、2207核酸分子、32838核酸分子、336核酸分子もしくは52908核酸分子が宿主細胞ゲノムの特定の部位中に相同組換えされることを可能とする配列を含む

50

1 4 6 5 核酸分子、1 5 8 7 核酸分子、2 1 4 6 核酸分子、2 2 0 7 核酸分子、3 2 8 3 8 核酸分子、3 3 6 核酸分子もしくは5 2 9 0 8 核酸分子)が導入される宿主細胞の使用に関する。用語「宿主細胞」および「組換え宿主細胞」は、本明細書中で、交換可能に使用される。このような用語は、特定の被験体細胞をいうのみでなく、そのような細胞の子孫または潜在的な子孫もいうことが理解される。特定の改変は、変異または環境的影響のいずれかに起因して次の世代において存在し得るので、このような子孫は、実際、親の細胞と同一でなくてもよく、本明細書中で使用されるようなこの用語の範囲内になお含まれる。

【0161】

宿主細胞は、任意の原核生物細胞または真核生物細胞であり得る。例えば、1 4 6 5 タンパク質、1 5 8 7 タンパク質、2 1 4 6 タンパク質、2 2 0 7 タンパク質、3 2 8 3 8 タンパク質、3 3 6 タンパク質もしくは5 2 9 0 8 タンパク質は、細菌細胞(例えば、E. coli)、昆虫細胞、酵母細胞または哺乳動物細胞(例えば、チャイニーズハムスター卵巣細胞(CHO)またはCOS細胞)において発現され得る。他の適切な宿主細胞は、当業者に公知である。

【0162】

ベクターDNAは、従来の形質転換技術またはトランスフェクション技術を介して原核生物細胞または真核生物細胞に導入され得る。本明細書中で使用される場合、用語「形質転換」および「トランスフェクション」とは、外来性の核酸(例えば、DNA)を宿主細胞中に導入するための当該分野で認識される種々の技術をいうことを意図し、これらには、リン酸カルシウム共沈殿もしくは塩化カルシウム共沈殿、DEAEデキストラン媒介トランスフェクション、リポフェクション、またはエレクトロポレーションが挙げられる。宿主細胞を形質転換またはトランスフェクトするための適切な方法は、Sambrookら(Molecular Cloning: A Laboratory Manual、第2版、Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1989)、および他の実験説明書において見出され得る。

【0163】

培養物中の本発明の方法で使用される宿主細胞(例えば、原核生物宿主細胞または真核生物宿主細胞)を使用して、1 4 6 5 タンパク質、1 5 8 7 タンパク質、2 1 4 6 タンパク質、2 2 0 7 タンパク質、3 2 8 3 8 タンパク質、3 3 6 タンパク質もしくは5 2 9 0 8 タンパク質を産生(すなわち、発現)し得る。従って、本発明はさらに、本発明の宿主細胞を使用して1 4 6 5 タンパク質、1 5 8 7 タンパク質、2 1 4 6 タンパク質、2 2 0 7 タンパク質、3 2 8 3 8 タンパク質、3 3 6 タンパク質もしくは5 2 9 0 8 タンパク質を産生するための方法を提供する。1つの実施形態において、この方法は、1 4 6 5 タンパク質、1 5 8 7 タンパク質、2 1 4 6 タンパク質、2 2 0 7 タンパク質、3 2 8 3 8 タンパク質、3 3 6 タンパク質もしくは5 2 9 0 8 タンパク質が産生されるような適切な培地中で、本発明の宿主細胞(この中に、1 4 6 5 タンパク質、1 5 8 7 タンパク質、2 1 4 6 タンパク質、2 2 0 7 タンパク質、3 2 8 3 8 タンパク質、3 3 6 タンパク質もしくは5 2 9 0 8 タンパク質をコードする組換え発現ベクターが導入されている)を培養する工程を、包含する。別の実施形態において、この方法はさらに、培地または宿主細胞から1 4 6 5 タンパク質、1 5 8 7 タンパク質、2 1 4 6 タンパク質、2 2 0 7 タンパク質、3 2 8 3 8 タンパク質、3 3 6 タンパク質もしくは5 2 9 0 8 タンパク質を単離する工程を包含する。

【0164】

(VI. 本発明の方法において使用される単離された核酸分子)

本発明の方法は、1 4 6 5 タンパク質、1 5 8 7 タンパク質、2 1 4 6 タンパク質、2 2 0 7 タンパク質、3 2 8 3 8 タンパク質、3 3 6 タンパク質もしくは5 2 9 0 8 タンパク質をコードする単離された核酸分子またはその生物学的に活性な部分、ならびに1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6もしくは5 2 9 0 8をコードす

10

20

30

40

50

る核酸分子（例えば、1465 mRNA、1587 mRNA、2146 mRNA、2207 mRNA、32838 mRNA、336 mRNAもしくは52908 mRNA）を同定するためのハイブリダイゼーションプローブとして使用するのに十分な核酸フラグメント、および1465核酸分子、1587核酸分子、2146核酸分子、2207核酸分子、32838核酸分子、336核酸分子もしくは52908核酸分子の増幅または変異のためのPCRプライマーとして使用するためのフラグメントの使用を含む。本明細書中で使用される場合、用語「核酸分子」は、DNA分子（例えば、cDNAまたはゲノムDNA）およびRNA分子（例えばmRNA）、ならびにヌクレオチドアナログを使用して産生されるDNAまたはRNAのアナログを含むことを意図する。核酸分子は、一本鎖であっても二本鎖であってもよいが、好ましくは、二本鎖DNAである。

10

【0165】

本発明の方法において使用される核酸分子（例えば、配列番号1、配列番号4もしくは配列番号7のヌクレオチド配列を有する核酸分子、またはその部分）は、本明細書中で提供される標準的な分子生物学的技術および配列情報を使用して単離され得る。配列番号1、4、7、10、13、16または19の核酸配列の全てまたは一部をハイブリダイゼーションプローブとして使用して、1465核酸分子、1587核酸分子、2146核酸分子、2207核酸分子、32838核酸分子、336核酸分子もしくは52908核酸分子は、標準的なハイブリダイゼーション技術およびクローニング技術を使用して単離され得る（例えば、Sambrook, J., Fritsch, E. F., および Maniatis, T. Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 第2版、Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1989に記載されるようにして）。

20

【0166】

さらに、配列番号1、4、7、10、13、16または19の全てまたは一部を含む核酸分子が、配列番号1、4、7、10、13、16または19の配列に基づいて設計された合成オリゴヌクレオチドプライマーを使用して、ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）によって単離され得る。

【0167】

本発明の方法において使用される核酸は、cDNA、mRNA、あるいはゲノムDNAをテンプレートとして使用し、適切なオリゴヌクレオチドプライマーを、標準的なPCR増幅技術に従って使用して、増幅され得る。さらに、1465ヌクレオチド配列、1587ヌクレオチド配列、2146ヌクレオチド配列、2207ヌクレオチド配列、32838ヌクレオチド配列、336ヌクレオチド配列もしくは52908ヌクレオチド配列に対応するオリゴヌクレオチドは、標準的な合成技術によって、例えば、自動化DNA合成器を使用して、調製され得る。

30

【0168】

好ましい実施形態において、本発明の方法において使用される単離された核酸分子は、配列番号1、4、7、10、13、16または19で示されるヌクレオチド配列、配列番号1、4、7、10、13、16または19で示されるヌクレオチド配列の相補体、あるいはこれらのヌクレオチド配列のいずれかの一部、を含む。配列番号1、4、7、10、13、16または19で示される核酸配列に相補的な核酸分子は、配列番号1、4、7、10、13、16または19で示されるヌクレオチド配列に対して十分に相補的である核酸分子であり、その結果、この核酸分子は、配列番号1、4、7、10、13、16または19で示されるヌクレオチド配列にハイブリダイズし、それにより、安定な二重鎖を形成し得る。

40

【0169】

さらに別の好ましい実施形態において、本発明の方法において使用される単離された核酸分子は、配列番号1、4、7、10、13、16または19で示されるヌクレオチド配列の全長、あるいはこのヌクレオチド配列のいずれかの一部と、少なくとも約55%、6

50

0 %、65 %、70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %またはそれ以上同一であるヌクレオチド配列を含む。

【0170】

さらに、本発明の方法において使用される核酸分子は、配列番号1、4、7、10、13、16または19の核酸配列の一部のみを含み得る（例えば、プローブもしくはプライマーとして使用され得るフラグメント、または1465タンパク質、1587タンパク質、2146タンパク質、2207タンパク質、32838タンパク質、336タンパク質もしくは52908タンパク質の一部（例えば、1465タンパク質、1587タンパク質、2146タンパク質、2207タンパク質、32838タンパク質、336タンパク質もしくは52908タンパク質の生物学的に活性な部分）をコードするまたはフラグメント）。プローブ/プライマーは、代表的に、実質的に精製されたオリゴヌクレオチドを含む。このオリゴヌクレオチドは、代表的に、配列番号1、4、7、10、13、16または19のセンス配列、配列番号1、4、7、10、13、16または19のアンチセンス配列、あるいは配列番号1、4、7、10、13、16または19の天然に存在する対立遺伝子の改変体または変異体のうち、少なくとも約12個または15個、好ましくは、約20個または25個、より好ましくは約30個、約35個、約40個、約45個、約50個、約55個、約60個、約65個、または約75個の連続したヌクレオチドに、ストリンジェントな条件下でハイブリダイズするヌクレオチド配列の領域を含む。1つの実施形態において、本発明の方法において使用される核酸分子は、100より長く、100～200、200～300、300～400、400～500、500～600、600～700、700～800、800～900、900～1000、1000～1100、1100～1200、1200～1300、またはそれを超えるヌクレオチドの長さであり、かつ配列番号1、4、7、10、13、16または19の核酸分子に、ストリンジェントな条件下でハイブリダイズするヌクレオチド配列を含む。

【0171】

本明細書中で使用される場合、用語「ストリンジェントな条件下でハイブリダイズする」は、互いに対して有意に同一であるかまたは相同であるヌクレオチド配列が、互いに対してハイブリダイズしたまま残存するハイブリダイゼーションおよび洗浄の条件を記載することが意図される。好ましくは、この条件は、互いに対して、少なくとも約70 %、より好ましくは、少なくとも約80 %、さらにより好ましくは、少なくとも約85 %または90 %同一である配列が、互いに対してハイブリダイズしたまま残存する条件である。このようなストリンジェントな条件は、当業者に公知であり、そしてCurrent Protocols in Molecular Biology, Ausubelら編, John Wiley & Sons, Inc. (1995), 第2節, 第4節および第6節に見出され得る。さらなるストリンジェント条件は、Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Sambrookら, Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, NY (1989), 第7節, 第9節および第11節に見出され得る。好ましい、ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件の非制限例は、約65～70 における4×の塩化ナトリウム/クエン酸ナトリウム(SSC)中でのハイブリダイゼーション（または約42～50 における4×SSC+50 %ホルムアミド中でのハイブリダイゼーション）、続く約65～70 における1×SSCでの1回以上の洗浄を含む。好ましい、高度にストリンジェントなハイブリダイゼーション条件の非制限例は、約65～70 における1×SSC中でのハイブリダイゼーション（または約42～50 における1×SSC+50 %ホルムアミド中でのハイブリダイゼーション）、続く約65～70 における0.3×SSCでの1回以上の洗浄を含む。好ましい、低ストリンジェンシーハイブリダイゼーション条件の非制限例は、約50～60 における4×SSC中でのハイブリダイゼーション（あるいは、約40～45 における6×SSC+50 %ホルムアミド中でのハイブリダイゼーション）、続く約50～60 における2×SSCでの1回以上の洗浄を含む。上で引用した値（例えば、65～70 または42～50 ）に対する中間の範囲もまた、

本発明によって包含されることが意図される。SSPE (1×SSPEは、0.15M NaCl、10mM NaH₂PO₄、および1.25mM EDTA, pH7.4)を、ハイブリダイゼーションにおいて、SSC (1×SSCは、0.15M NaClおよび15mM クエン酸ナトリウム)および洗浄緩衝液に置き換え得；ハイブリダイゼーションの完了後に、洗浄を、それぞれ15分間実施する。50未満の塩基対長であると予測されるハイブリッドのためのハイブリダイゼーション温度は、ハイブリッドの融解温度(T_m)よりも5~10 低いはずであり、ここで、T_mは、以下の等式に従って決定される。18未満の塩基対長のハイブリッドに関しては、T_m() = 2(A + T塩基の数) + 4(G + C塩基の数)である。18塩基対長と49塩基対長との間のハイブリッドに関しては、T_m() = 81.5 + 16.6(log₁₀[Na⁺]) + 0.41(%G + C) - (600/N)であり、ここで、Nは、ハイブリッドにおける塩基の数であり、そして[Na⁺]は、ハイブリダイゼーション緩衝液におけるナトリウムイオンの濃度である(1×SSCについての[Na⁺] = 0.165M)。さらなる試薬が、ハイブリダイゼーション緩衝液および/または洗浄緩衝液に添加され、核酸分子の膜(例えば、ニトロセルロースまたはナイロン膜)への非特異的なハイブリダイゼーションを減少させ得ることもまた、当業者によって認識され得、これらの試薬としては、ブロッキング剤(例えば、BSAまたはサケ精子キャリアDNAまたはニシン精子キャリアDNA)、界面活性剤(例えば、SDS)、キレート剤(例えば、EDTA)、フィコール、PVPなどが挙げられるが、これらに限定されない。ナイロン膜を使用する場合、特に、ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件のさらに好ましい非制限実施形態は、約65 において0.25~0.5M NaH₂PO₄、7% SDSでのハイブリダイゼーション、続く、65 における0.02M NaH₂PO₄、1% SDSでの1回以上洗浄(または、代わりに0.2×SSC、1% SDS)である(例えば、ChurchおよびGilbert(1984)Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:1991-1995)を参照のこと)。

【0172】

好ましい実施形態において、プローブは、さらに、このプローブに結合される標識基を含み、例えば、この標識基は、放射線同位体、蛍光化合物、酵素、または酵素補因子であり得る。このようなプローブは、例えば、被験体由来の細胞サンプル中の1465コード核酸、1587コード核酸、2146コード核酸、2207コード核酸、32838コード核酸、336コード核酸もしくは52908コード核酸のレベルを測定すること(例えば、1465mRNAレベル、1587mRNAレベル、2146mRNAレベル、2207mRNAレベル、32838mRNAレベル、336mRNAレベルもしくは52908mRNAレベルを検出すること)、またはゲノム1465遺伝子、ゲノム1587遺伝子、ゲノム2146遺伝子、ゲノム2207遺伝子、ゲノム32838遺伝子、ゲノム336遺伝子もしくはゲノム52908遺伝子に変異または欠失しているか否かを決定することによって、1465タンパク質、1587タンパク質、2146タンパク質、2207タンパク質、32838タンパク質、336タンパク質もしくは52908タンパク質を誤発現する細胞または組織を同定するための診断用試験キットの一部として使用され得る。

【0173】

本発明の方法は、さらに、遺伝コードの縮重に起因して、配列番号1、4、7、10、13、16または19に示されるヌクレオチド配列とは異なる核酸分子の使用を含み、従って、配列番号1、4、7、10、13、16または19に示されるヌクレオチド配列によってコードされるタンパク質と同一の1465タンパク質、1587タンパク質、2146タンパク質、2207タンパク質、32838タンパク質、336タンパク質もしくは52908タンパク質をコードする。別の実施形態において、本発明の方法に含まれる単離された核酸分子は、配列番号3、6、9、12、15、18または21に示されるアミノ酸配列を有するタンパク質をコードするヌクレオチド配列を有する。

【0174】

10

20

30

40

50

本発明の方法はさらに、ヒト 1 4 6 5、ヒト 1 5 8 7、ヒト 2 1 4 6、ヒト 2 2 0 7、ヒト 3 2 8 3 8、ヒト 3 3 6 もしくはヒト 5 2 9 0 8 の対立遺伝子改変体（例えば、機能的または非機能的な対立遺伝子改変体）の使用を含む。機能的な対立遺伝子改変体は、1 4 6 5 活性、1 5 8 7 活性、2 1 4 6 活性、2 2 0 7 活性、3 2 8 3 8 活性、3 3 6 活性もしくは 5 2 9 0 8 活性を維持するヒト 1 4 6 5 タンパク質、1 5 8 7 タンパク質、2 1 4 6 タンパク質、2 2 0 7 タンパク質、3 2 8 3 8 タンパク質、3 3 6 タンパク質もしくは 5 2 9 0 8 タンパク質の、天然に存在するアミノ酸配列改変体である。機能的な対立遺伝子改変体は、代表的に、配列番号 3、6、9、1 2、1 5、1 8 または 2 1 の 1 個以上のアミノ酸の保存的置換のみ、あるいはタンパク質の非必須領域にある非必須残基の置換、欠失または挿入を含む。

10

【0 1 7 5】

非機能的な対立遺伝子改変体は、1 4 6 5 活性、1 5 8 7 活性、2 1 4 6 活性、2 2 0 7 活性、3 2 8 3 8 活性、3 3 6 活性もしくは 5 2 9 0 8 活性を有さないヒト 1 4 6 5 タンパク質、1 5 8 7 タンパク質、2 1 4 6 タンパク質、2 2 0 7 タンパク質、3 2 8 3 8 タンパク質、3 3 6 タンパク質もしくは 5 2 9 0 8 タンパク質の天然に存在するアミノ酸配列改変体である。非機能的な対立遺伝子改変体は、代表的に、配列番号 3、6、9、1 2、1 5、1 8 または 2 1 のアミノ酸配列の非保存的置換、欠失、もしくは挿入または成熟前切断、あるいはタンパク質の必須残基または必須領域の置換、挿入または欠失を含む。

【0 1 7 6】

20

本発明の方法は、さらに、ヒト 1 4 6 5 タンパク質、1 5 8 7 タンパク質、2 1 4 6 タンパク質、2 2 0 7 タンパク質、3 2 8 3 8 タンパク質、3 3 6 タンパク質もしくは 5 2 9 0 8 タンパク質の非ヒトオルソログを使用し得る。ヒト 1 4 6 5 タンパク質、1 5 8 7 タンパク質、2 1 4 6 タンパク質、2 2 0 7 タンパク質、3 2 8 3 8 タンパク質、3 3 6 タンパク質もしくは 5 2 9 0 8 タンパク質のオルソログは、非ヒト生物から単離され、そして同一の 1 4 6 5 活性、1 5 8 7 活性、2 1 4 6 活性、2 2 0 7 活性、3 2 8 3 8 活性、3 3 6 活性もしくは 5 2 9 0 8 活性を有するタンパク質である。

【0 1 7 7】

本発明の方法は、さらに、配列番号 1、配列番号 4、配列番号 7、配列番号 1 0、配列番号 1 3、配列番号 1 6 または配列番号 1 9 のヌクレオチド配列を含む核酸分子、あるいはその一部の使用を含み、ここで、変異が導入される。この変異は、「非必須」アミノ酸残基または「必須」アミノ酸残基におけるアミノ酸置換を導き得る。「非必須」アミノ酸残基は、生物学的活性を変更することなく、1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6 または 5 2 9 0 8 の野生型配列（例えば、配列番号 3、配列番号 6、配列番号 9、配列番号 1 2、配列番号 1 5、配列番号 1 8 または配列番号 2 1 の配列）から変更され得る残基であり、それに対して「必須」アミノ酸残基は、生物学的活性に必要とされる。例えば、本発明の 1 4 6 5 タンパク質、1 5 8 7 タンパク質、2 1 4 6 タンパク質、2 2 0 7 タンパク質、3 2 8 3 8 タンパク質、3 3 6 タンパク質または 5 2 9 0 8 タンパク質中で保存されるアミノ酸残基は、変更に対して影響を受けにくいようである。

30

【0 1 7 8】

40

変異は、標準的な技術（例えば、部位特異的変異および PCR 媒介変異）によって、配列番号 1、配列番号 4、配列番号 7、配列番号 1 0、配列番号 1 3、配列番号 1 6 または配列番号 1 9 に導入され得る。好ましくは、保存的なアミノ酸置換は、1 個以上の推定非必須アミノ酸残基から作製される。「保存的なアミノ酸置換」は、アミノ酸残基が類似の側鎖を有するアミノ酸残基で置換されるアミノ酸置換である。類似の側鎖を有するアミノ酸残基のファミリーは、当該分野で規定されている。これらのファミリーとしては、塩基性側鎖（例えば、リジン、アルギニン、ヒスチジン）、酸性側鎖（例えば、アスパラギン酸、グルタミン酸）、非荷電極性側鎖（例えば、アスパラギン、グルタミン、セリン、スレオニン、チロシン、システイン）、非極性側鎖（例えば、グリシン、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン、トリプトファン）

50

、β分枝側鎖（例えば、スレオニン、バリン、イソロイシン）、および芳香族側鎖（例えば、チロシン、フェニルアラニン、トリプトファン、ヒスチジン）を有するアミノ酸が挙げられる。従って、１４６５タンパク質、１５８７タンパク質、２１４６タンパク質、２２０７タンパク質、３２８３８タンパク質、３３６タンパク質または５２９０８タンパク質中の推定非必須アミノ酸残基は、好ましくは、同一側鎖ファミリー由来の別のアミノ酸残基で置換される。あるいは、別の実施形態において、変異は、例えば、飽和変異誘発によって、１４６５コード配列、１５８７コード配列、２１４６コード配列、２２０７コード配列、３２８３８コード配列、３３６コード配列または５２９０８コード配列の全てまたは一部に沿って無作為に導入され得、そして得られる変異体は、活性を保持する変異体を同定するために、１４６５、１５８７、２１４６、２２０７、３２８３８、３３６または５２９０８の生物学的活性についてスクリーニングされ得る。配列番号１、配列番号４、配列番号７、配列番号１０、配列番号１３、配列番号１６または配列番号１９の変異誘発の後、コードされるタンパク質は、組換え発現され得、そしてタンパク質の活性が、本明細書中に記載されるアッセイを使用して、決定され得る。

【０１７９】

本発明の別の局面は、配列番号１、配列番号４、配列番号７、配列番号１０、配列番号１３、配列番号１６または配列番号１９のヌクレオチド配列に対してアンチセンスである、単離された核酸分子の使用に関する。「アンチセンス」核酸は、タンパク質をコードする「センス」核酸に対して相補的である（例えば、二本鎖cDNA分子のコード鎖に対して相補的であるか、またはmRNA配列に対して相補的である）ヌクレオチド配列を含む。従って、アンチセンス核酸は、センス核酸に水素結合し得る。このアンチセンス核酸は、全１４６５コード鎖、全１５８７コード鎖、全２１４６コード鎖、全２２０７コード鎖、全３２８３８コード鎖、全３３６コード鎖または全５２９０８コード鎖、あるいはその一部のみに対して相補的であり得る。一つの実施形態において、アンチセンス核酸分子は、１４６５、１５８７、２１４６、２２０７、３２８３８、３３６または５２９０８をコードするヌクレオチド配列のコード鎖の「コード領域」に対してアンチセンスである。用語「コード領域」は、アミノ酸残基に翻訳されるコドンを含むヌクレオチド配列の領域をいう。別の実施形態において、アンチセンス核酸分子は、１４６５、１５８７、２１４６、２２０７、３２８３８、３３６または５２９０８をコードするヌクレオチド配列のコード鎖の「非コード領域」に対してアンチセンスである。用語「非コード領域」は、アミノ酸に翻訳されないコード領域に隣接する５'配列および３'配列をいう（５'非翻訳領域および３'非翻訳領域ともいう）。

【０１８０】

本明細書中で開示される１４６５、１５８７、２１４６、２２０７、３２８３８、３３６または５２９０８をコードするコード鎖配列を考慮すると、本発明のアンチセンス核酸は、WatsonおよびCrickの塩基対形成の法則に従って設計され得る。アンチセンス核酸分子は、１４６５、１５８７、２１４６、２２０７、３２８３８、３３６または５２９０８mRNAのコード領域全体に相補的であり得るが、より好ましくは、アンチセンス核酸分子は、１４６５、１５８７、２１４６、２２０７、３２８３８、３３６もしくは５２９０８mRNAのコード領域または非コード領域の一部にのみアンチセンスであるオリゴヌクレオチドである。例えば、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、１４６５、１５８７、２１４６、２２０７、３２８３８、３３６または５２９０８mRNAの翻訳開始部位の周辺の領域に相補的であり得る。アンチセンスオリゴヌクレオチドは、例えば、約５、１０、１５、２０、２５、３０、３５、４０、４５または５０ヌクレオチド長であり得る。本発明のアンチセンス核酸は、当該分野で公知の手順を使用して、化学合成および酵素的連結反応を使用して構築され得る。例えば、アンチセンス核酸（例えばアンチセンスオリゴヌクレオチド）は、天然に存在するヌクレオチドまたは、分子の生物学的安定性を高めるために、またはアンチセンス核酸とセンス核酸の間に形成される二重鎖の物理的安定性を高めるために設計された、多様に改変されたヌクレオチドを使用して化学的に合成され得る。例えば、ホスホロチオエート誘導体およびアクリジン置換ヌクレオチドが

使用され得る。アンチセンス核酸を生成するために使用され得る改変されたヌクレオチドの例としては、以下が挙げられる：5 - フルオロウラシル、5 - ブロモウラシル、5 - クロロウラシル、5 - ヨードウラシル、ヒポキサンチン、キサンチン、4 - アセチルシトシン、5 - (カルボキシヒドロキシメチル)ウラシル、5 - カルボキシメチルアミノメチル - 2 - チオウリジン、5 - カルボキシメチルアミノメチルウラシル、ジヒドロウラシル、 β - D - ガラクトシルキューオジン (β - D - galactosylqueosine)、イノシン、N6 - イソペンテニルアデニン、1 - メチルグアニン、1 - メチルイノシン、2, 2 - ジメチルグアニン、2 - メチルアデニン、2 - メチルグアニン、3 - メチルシトシン、5 - メチルシトシン、N6 - アデニン、7 - メチルグアニン、5 - メチルアミノメチルウラシル、5 - メトキシアミノメチル - 2 - チオウラシル、 β - D - マンノシルキューオシン、5' - メトキシカルボキシメチルウラシル、5 - メトキシウラシル、2 - メチルチオ - N6 - イソペンテニルアデニン、ウラシル - 5 - オキシ酢酸 (v)、ワイブトキシソシン (wybutoxosine)、シュードウラシル、キューオシン、2 - チオシトシン、5 - メチル - 2 - チオウラシル、2 - チオウラシル、4 - チオウラシル、5 - メチルウラシル、ウラシル - 5 - オキシ酢酸メチルエステル、ウラシル - 5 - オキシ酢酸 (v)、5 - メチル - 2 - チオウラシル、3 - (3 - アミノ - 3 - N - 2 - カルボキシプロピル)ウラシル、(acp3)w、および 2, 6 - ジアミノプリン。あるいは、アンチセンス核酸は、核酸がアンチセンスの方向にサブクローニングされた発現ベクター（すなわち、核酸が挿入された核酸から転写されたRNAは、目的の標的核酸に対してアンチセンス方向のRNAである）を使用して、生物学的に生成され得る。本発明の方法で使

10

20

【0181】

なお別の実施形態において、本発明の方法で使

30

【0182】

1465、1587、2146、2207、32838、336または52908核酸分子のPNAは、本明細書中で記載する治療的適用および診断的適用に使用され得る。例えば、PNAは、例えば、転写もしくは翻訳の停止を誘導することによってか、または複製を阻害することによって、遺伝子発現の配列特異的な調節のためのアンチセンス因子またはアンチ遺伝子 (antigene) 因子として使用され得る。1465、1587、2146、2207、32838、336または52908核酸分子のPNAはまた、他の酵素（例えばS1ヌクレアーゼ（前出のHyryp B.ら（1996）））と組み合せて使用される場合「人工制限酵素」として；またはDNA配列決定もしくはハイブリダイゼーションのためのプローブもしくはプライマーとして（前出のHyryp B.ら（1996）またはPerry-O'Keefeら（1996）；前出）、遺伝子における1塩基対変異の分析（例えば、PNA指向性のPCRクランピングによる）において；も使用され得る。

40

【0183】

50

別の実施形態において、親油性基もしくは他のヘルパー基をPNAに付着することによって、PNA-DNAキメラの形成によって、またはリポソームもしくは当該分野で公知の他の薬物送達技術の使用によって、1465、1587、2146、2207、32838、336または52908のPNAは改変され得る（例えば、それらの安定性または細胞取り込みを亢進するために）。例えば、PNAおよびDNAの有利な特性を組合わせ得る、1465、1587、2146、2207、32838、336または52908核酸分子のPNA-DNAキメラが作製され得る。このようなキメラは、DNA認識酵素（例えば、RNAseHおよびDNAポリメラーゼ）がDNA部分と相互作用することを可能にし、一方でPNA部分が高い結合親和性および結合特異性を提供する。PNA-DNAキメラは、塩基スタッキングに関して選択された適切な長さのリンカー、多数の核酸塩基間の結合および配向を使用して連結され得る（前出のHyrup B.ら（1996））。PNA-DNAキメラの合成は、前出のHyrup B.ら（1996）およびFinn P. J.ら（1996）Nucleic Acids Res. 24（17）：3357-63に記載されているように実施され得る。例えば、DNA鎖は、標準のホスホラミダイト結合化学を使用する固体支持体上で合成され得、そして改変されたヌクレオシドアナログ（例えば5' - （4 - メトキシトリチル）アミノ - 5' - デオキシ - チミジンホスホラミダイト）が、PNAとDNAの5'末端との間として使用され得る（Mag, M.ら（1989）Nucleic Acid Res. 17：5973-88）。次いで、PNAモノマーは、段階的な様式で結合され、5' PNAセグメントおよび3' DNAセグメントを有するキメラ分子を産生する（前出のFinn P. J.ら（1996））。あるいは、5' DNAセグメントおよび3' PNAセグメントを有するキメラ分子が合成され得る（Peterser, K. H.ら（1975）Bioorganic Med. Chem. Lett. 5：1119-11124）。

【0184】

他の実施形態において、本発明の方法に使用されるオリゴヌクレオチドは、ペプチドのような他の付加された基（例えば、インビボにおいて宿主細胞レセプターを標的化するための）、または細胞膜を横断する輸送を促進する因子（例えば、Lettingerら（1989）Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86：6553-6556；Lemaîtreら（1987）Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84：648-652；PCT公開番号W088/09810を参照のこと）、もしくは血液 - 脳関門を横断する輸送を促進する因子（例えば、PCT公開番号W089/10134を参照のこと）を含み得る。さらに、オリゴヌクレオチドは、ハイブリダイゼーションが引き金を引く切断因子（例えば、Krolら（1988）Bio-Techniques 6：958-976を参照のこと）または、インターカレート因子（例えば、Zon（1988）Pharm. Res. 5：539-549を参照のこと）を使用して改変され得る。この目的を達成するために、オリゴヌクレオチドは、別の分子（例えば、ペプチド、ハイブリダイゼーションが引き金を引く架橋因子、輸送因子、またはハイブリダイゼーションが引き金を引く切断因子）と結合体化され得る。

【0185】

（VII. 本発明の方法に使用される単離された1465、1587、2146、2207、32838、336または52908タンパク質および抗1465、1587、2146、2207、32838、336または52908抗体）

本発明の方法は、単離された1465、1587、2146、2207、32838、336または52908タンパク質およびそれらの生物学的活性部分、ならびに抗1465、1587、2146、2207、32838、336または52908抗体を産生させるための免疫原として使用されるのに適したポリペプチドフラグメントの使用を含む。1つの実施形態において、ネイティブの1465、1587、2146、2207、32838、336または52908タンパク質は、標準のタンパク質精製技術を使用した適切な精製スキームによって細胞供給源または組織供給源から単離され得る。別の実施形態において、1465、1587、2146、2207、32838、336または529

08 タンパク質は、組換えDNA技術によって産生される。組換え発現に代わり、1465、1587、2146、2207、32838、336もしくは52908タンパク質または1465、1587、2146、2207、32838、336もしくは52908ポリペプチドは、標準のペプチド合成技術を使用して化学的に合成され得る。

【0186】

本明細書中で使用される場合、1465、1587、2146、2207、32838、336または52908タンパク質の「生物学的活性部分」は、1465、1587、2146、2207、32838、336または52908活性を有する1465、1587、2146、2207、32838、336または52908タンパク質のフラグメントを含む。1465、1587、2146、2207、32838、336または52908タンパク質の生物学的活性部分は、1465、1587、2146、2207、32838、336または52908タンパク質のアミノ酸配列と十分に同一であるアミノ酸配列を含むペプチド、または1465、1587、2146、2207、32838、336もしくは52908タンパク質のアミノ酸配列由来のペプチド（例えば、配列番号3、6、9、12、15、18または21に示されるアミノ酸配列であって、全長1465、1587、2146、2207、32838、336または52908タンパク質よりは少ないアミノ酸を含みかつ、1465、1587、2146、2207、32838、336または52908タンパク質の活性を少なくとも1つ示すアミノ酸配列）を含む。代表的に、生物学的活性部分は、1465、1587、2146、2207、32838、336もしくは52908タンパク質の活性を少なくとも1つ有するドメインまたはモチーフ（例えば、アポトーシス活性の調節に関与していると考えられる1465、1587、2146、2207、32838、336または52908タンパク質のN末端領域）を含む。1465、1587、2146、2207、32838、336または52908タンパク質の生物学的活性部分は、例えば25、50、75、100、125、150、175、200、250、300またはそれより多くのアミノ酸長である、ポリペプチドであり得る。1465、1587、2146、2207、32838、336または52908タンパク質の生物学的活性部分は、1465、1587、2146、2207、32838、336または52908活性を調節する開発中の薬剤についての標的として使用され得る。

【0187】

好ましい実施形態において、本発明の方法に使用される1465、1587、2146、2207、32838、336または52908タンパク質は、配列番号3、6、9、12、15、18または21に示されるアミノ酸配列を有する。他の実施形態において、1465、1587、2146、2207、32838、336または52908タンパク質は配列番号3、6、9、12、15、18または21と実質的に同一であり、配列番号3、6、9、12、15、18または21のタンパク質の機能的な活性を保持するが、上記の小節Vで詳細に記載するように、天然の対立遺伝子バリエーションまたは変異誘発に起因して、アミノ酸配列において異なる。従って、別の実施形態において、本発明の方法に使用される1465、1587、2146、2207、32838、336または52908タンパク質は、少なくとも、約50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれより高い同一性を、配列番号3、6、9、12、15、18または21に対して有するアミノ酸配列を含むタンパク質である。

【0188】

2つのアミノ酸配列、または2つの核酸配列の同一性パーセントを決定するために、配列は最適な比較目的（例えば、最適な配列のために、ギャップが第一および第二のアミノ酸配列もしくは核酸配列の1つまたは両方に導入され得、そして非同一配列が比較目的について無視され得る）について整列される。好ましい実施形態において、比較目的のために整列された参照配列の長さは、参照配列の長さの、少なくとも30%であり、好ましくは少なくとも40%であり、より好ましくは少なくとも50%であり、なおより好ましく

は少なくとも60%であり、さらにより好ましくは少なくとも70%、80%、または90%である(例えば、500アミノ酸残基を有する配列番号3、6、9、12、15、18または21の1465、1587、2146、2207、32838、336または52908アミノ酸配列に対して第二の配列を整列する場合、少なくとも75、好ましくは少なくとも150、より好ましくは少なくとも225、なおより好ましくは少なくとも300、なおさらに好ましくは少なくとも400以上のアミノ酸残基が整列される)。次いで、対応するアミノ酸位置またはヌクレオチド位置にあるアミノ酸残基またはヌクレオチドが、比較される。第一配列における位置が、第二配列における対応する位置と同じアミノ酸残基またはヌクレオチドによって占められる場合、これらの分子は、従って、その位置において同一である(本明細書で使用される場合、アミノ酸または核酸「同一性」は、アミノ酸または核酸の「相同性」と同等である)。2つの配列間の同一性パーセントは、2つの配列の最適な整列のために導入が必要とされたギャップ数および各ギャップの長さを考慮した、それらの配列によって共有される同一位置の数の関数である。

10

【0189】

2つの配列間の配列の比較および同一性パーセントの決定は、数学的アルゴリズムを使用して達成され得る。好ましい実施形態において、2つのアミノ酸配列間の同一性パーセントは、ニードルマンおよびブンシュ(J. Mol. Biol. 48:444-453(1970))アルゴリズム(このアルゴリズムは、GCGソフトウェアパッケージのGAPプログラムに組み込まれている)を使用し、Blossum 62マトリックスまたはPAM250マトリックスのいずれかを使用し、ギャップウェイト(gap weight)は16、14、12、10、8、6または4であり、長さのウェイト(length weight)は1、2、3、4、5または6で決定される。なお別の好ましい実施形態において、2つのヌクレオチド配列間の同一性パーセントは、GCGソフトウェアパッケージのGAPプログラムを使用し、決定される。NWSgapdna.CMPマトリックスを使用し、ギャップウェイトは40、50、60、70または80であり、長さのウェイトは1、2、3、4、5または6で決定される。別の実施形態において、2つのアミノ酸配列間またはヌクレオチド配列間の同一性パーセントは、E. MeyersおよびW. Millerのアルゴリズム(Comput. Appl. Biosci. 4:11-17(1988)) (このアルゴリズムは、ALIGNプログラム(バージョン2.0または2.0U)に組み込まれている)を使用し、PAM120ウェイト残基表(weight residue table)、12のギャップ長ペナルティ(gap length penalty)および4のギャップペナルティ(gap penalty)を使用して決定される。

20

30

【0190】

本発明の方法はまた、1465、1587、2146、2207、32838、336もしくは52908キメラタンパク質または1465、1587、2146、2207、32838、336もしくは52908融合タンパク質を使用し得る。本明細書中に使用される場合、1465、1587、2146、2207、32838、336もしくは52908「キメラタンパク質」または1465、1587、2146、2207、32838、336もしくは52908「融合タンパク質」は、非1465、1587、2146、2207、32838、336または52908ポリペプチドに作動可能に連結された1465、1587、2146、2207、32838、336または52908ポリペプチドを含む。「1465、1587、2146、2207、32838、336または52908ポリペプチド」は、1465、1587、2146、2207、32838、336または52908分子に対応するアミノ酸配列を有するポリペプチドをいうのに対し、「非1465、1587、2146、2207、32838、336または52908ポリペプチド」は、1465、1587、2146、2207、32838、336または52908タンパク質と実質的に相同でないタンパク質(例えば、1465、1587、2146、2207、32838、336または52908タンパク質と異なるタンパク質、および、同じまたは異なる生物体由来のタンパク質)に対応するアミノ酸配列

40

50

を有するポリペプチドのことをいう。1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6 または 5 2 9 0 8 融合タンパク質において、1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6 または 5 2 9 0 8 ポリペプチドは、1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6 もしくは 5 2 9 0 8 タンパク質のすべてまたは一部に対応し得る。好ましい実施形態において、1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6 または 5 2 9 0 8 融合タンパク質は、1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6 または 5 2 9 0 8 タンパク質の少なくとも 1 つの生物学的活性部位を含む。別の好ましい実施形態において、1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6 または 5 2 9 0 8 融合タンパク質は、1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6 または 5 2 9 0 8 タンパク質の少なくとも 2 つの生物学的活性部位を含む。融合タンパク質において、用語「作動可能に連結される」は、1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6 または 5 2 9 0 8 ポリペプチドおよび非 1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6 または 5 2 9 0 8 ポリペプチドがお互いにインフレームで融合されるということを示すことが企図される。非 1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6 または 5 2 9 0 8 ポリペプチドは、1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6 または 5 2 9 0 8 ポリペプチドの N 末端または C 末端に融合され得る。

【0191】

例えば、1 つの実施形態において、融合タンパク質は、G S T - 1 4 6 5 融合タンパク質、G S T - 1 5 8 7 融合タンパク質、G S T - 2 1 4 6 融合タンパク質、G S T - 2 2 0 7 融合タンパク質、G S T - 3 2 8 3 8 融合タンパク質、G S T - 3 3 6 融合タンパク質または G S T - 5 2 9 0 8 融合タンパク質であり、ここで、1 4 6 5 配列、1 5 8 7 配列、2 1 4 6 配列、2 2 0 7 配列、3 2 8 3 8 配列、3 3 6 配列または 5 2 9 0 8 配列は、G S T 配列の C 末端に融合されている。そのような融合タンパク質は、組換え 5 7 7、組換え 2 0 7 3 9、または組換え 5 7 1 4 5 の精製を容易にし得る。

【0192】

別の実施形態において、この融合タンパク質は、その N 末端に異種シグナル配列を含む、1 4 6 5 タンパク質、1 5 8 7 タンパク質、2 1 4 6 タンパク質、2 2 0 7 タンパク質、3 2 8 3 8 タンパク質、3 3 6 タンパク質または 5 2 9 0 8 タンパク質である。特定の宿主細胞（例えば、哺乳動物宿主細胞）において、1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6 または 5 2 9 0 8 の発現および / または分泌は、異種シグナル配列の使用を通じて増加され得る。

【0193】

本発明の方法において用いられる 1 4 6 5 融合タンパク質、1 5 8 7 融合タンパク質、2 1 4 6 融合タンパク質、2 2 0 7 融合タンパク質、3 2 8 3 8 融合タンパク質、3 3 6 融合タンパク質、または 5 7 1 4 5 融合タンパク質は、薬学的組成物へと組み込まれ得、そしてインビボで被験体に投与され得る。1 4 6 5 融合タンパク質、1 5 8 7 融合タンパク質、2 1 4 6 融合タンパク質、2 2 0 7 融合タンパク質、3 2 8 3 8 融合タンパク質、3 3 6 融合タンパク質、または 5 7 1 4 5 融合タンパク質が、使用されて、5 7 7 基質、2 0 7 3 9 基質、または 5 7 1 4 5 基質のバイオアベイラビリティに影響し得る。1 4 6 5 融合タンパク質、1 5 8 7 融合タンパク質、2 1 4 6 融合タンパク質、2 2 0 7 融合タンパク質、3 2 8 3 8 融合タンパク質、3 3 6 融合タンパク質、または 5 7 1 4 5 融合タンパク質の使用は、例えば、(i) 1 4 6 5 タンパク質、1 5 8 7 タンパク質、2 1 4 6 タンパク質、2 2 0 7 タンパク質、3 2 8 3 8 タンパク質、3 3 6 タンパク質または 5 2 9 0 8 タンパク質をコードする遺伝子の異常な改変または変異、(i i) 5 7 7 遺伝子、2 0 7 3 9 遺伝子、または 5 7 1 4 5 遺伝子の誤調節 (m i s r e g u l a t i o n) ; および (i i i) 1 4 6 5 タンパク質、1 5 8 7 タンパク質、2 1 4 6 タンパク質、2 2 0 7 タンパク質、3 2 8 3 8 タンパク質、3 3 6 タンパク質または 5 2 9 0 8 タンパク質の異常な翻訳後修飾により引き起こされる障害の処置のために治療的に有用であり得る。

【0194】

さらに、本発明の方法において使用される1465融合タンパク質、1587融合タンパク質、2146融合タンパク質、2207融合タンパク質、32838融合タンパク質、336融合タンパク質、または57145融合タンパク質は、被験体において抗577抗体、抗20739抗体、または抗57145抗体を産生するため、577リガンド、20739リガンド、または57145リガンドを精製するため、およびスクリーニングアッセイにおいて、1465、1587、2146、2207、32838、336または52908と577基質、20739基質または57145基質との相互作用を阻害する分子を同定するための免疫原として用いられ得る。

【0195】

好ましくは、本発明の方法において用いられる1465キメラタンパク質もしくは1465融合タンパク質、1587キメラタンパク質もしくは1587融合タンパク質、2146キメラタンパク質もしくは2146融合タンパク質、2207キメラタンパク質もしくは2207融合タンパク質、32838キメラタンパク質もしくは32838融合タンパク質、336キメラタンパク質もしくは336融合タンパク質、または52908キメラタンパク質もしくは52908融合タンパク質は、標準的な組換えDNA技術により生成される。例えば、種々のポリペプチド配列をコードするDNAフラグメントは、慣用的な技術に従い、例えば、連結のための平滑末端または付着末端、適切な末端を提供するための制限酵素消化、適切であるように付着末端のはめ込み(filling in)、所望されない結合を回避するためのアルカリホスファターゼ処理、および酵素的連結を用いて、インフレイムで、互いに連結される。別の実施形態において、この融合遺伝子は、慣用的な技術(自動DNA合成器が挙げられる)により合成され得る。あるいは、遺伝子フラグメントのPCR増幅は、アンカープライマーを用いて実施され、このアンカープライマーは、2つの連続する遺伝子フラグメントの間に相補的な突出部を生じ、次いで、この遺伝子フラグメントが、アニーリングおよび再増幅されてキメラ遺伝子配列を作製し得る(例えば、Current Protocols in Molecular Biology、Ausubelら編、John Wiley & Sons:1992を参照のこと)。さらに、融合部分(例えば、GSTポリペプチド)を予めコードしている多くの発現ベクターが、市販されている。1465コード核酸、1587コード核酸、2146コード核酸、2207コード核酸、32838コード核酸、336コード核酸、または52908コード核酸は、そのような発現ベクターへとクローニングされ得、その結果、この融合部分は、1465タンパク質、1587タンパク質、2146タンパク質、2207タンパク質、32838タンパク質、336タンパク質または52908タンパク質にインフレイムで連結される。

【0196】

本発明はまた、1465のアゴニスト(模倣物)、1587のアゴニスト(模倣物)、2146のアゴニスト(模倣物)、2207のアゴニスト(模倣物)、32838のアゴニスト(模倣物)、336のアゴニスト(模倣物)、もしくは52908のアゴニスト(模倣物)または577のアンタゴニスト、20739のアンタゴニスト、もしくは57145のアンタゴニストのいずれかとして機能する、1465タンパク質、1587タンパク質、2146タンパク質、2207タンパク質、32838タンパク質、336タンパク質または52908タンパク質の改変体の使用に関する。1465タンパク質、1587タンパク質、2146タンパク質、2207タンパク質、32838タンパク質、336タンパク質または52908タンパク質の改変体は、変異誘発(例えば、1465タンパク質、1587タンパク質、2146タンパク質、2207タンパク質、32838タンパク質、336タンパク質または52908タンパク質の別個の点変異または短縮)により作製され得る。1465タンパク質、1587タンパク質、2146タンパク質、2207タンパク質、32838タンパク質、336タンパク質または52908タンパク質のアゴニストは、天然に存在する形態の1465タンパク質、1587タンパク質、2146タンパク質、2207タンパク質、32838タンパク質、336タンパク質また

は5 2 9 0 8タンパク質の生物学的活性と実質的に同一な活性か、またはそのサブセットを保持し得る。1 4 6 5タンパク質、1 5 8 7タンパク質、2 1 4 6タンパク質、2 2 0 7タンパク質、3 2 8 3 8タンパク質、3 3 6タンパク質または5 2 9 0 8タンパク質のアンタゴニストは、天然に存在する形態の1 4 6 5タンパク質、1 5 8 7タンパク質、2 1 4 6タンパク質、2 2 0 7タンパク質、3 2 8 3 8タンパク質、3 3 6タンパク質または5 2 9 0 8タンパク質の1つ以上の活性を、例えば、この1 4 6 5タンパク質、1 5 8 7タンパク質、2 1 4 6タンパク質、2 2 0 7タンパク質、3 2 8 3 8タンパク質、3 3 6タンパク質または5 2 9 0 8タンパク質の5 7 7媒介活性、2 0 7 3 9媒介活性、または5 7 1 4 5媒介活性を競合的に調節することによって阻害し得る。従って、特定の生物学的効果を、制限された機能の改変体で処理することにより誘発し得る。1つの実施形態において、このタンパク質の天然に存在する形態の生物学的活性のサブセットを有する改変体での被験体の処置は、天然に存在する形態の1 4 6 5タンパク質、1 5 8 7タンパク質、2 1 4 6タンパク質、2 2 0 7タンパク質、3 2 8 3 8タンパク質、3 3 6タンパク質または5 2 9 0 8タンパク質での処置と比較して、被験体においてより少ない副作用を有する。

10

【0 1 9 7】

1つの実施形態において、1 4 6 5アゴニスト（模倣物）、1 5 8 7アゴニスト（模倣物）、2 1 4 6アゴニスト（模倣物）、2 2 0 7アゴニスト（模倣物）、3 3 6アゴニスト（模倣物）、もしくは5 2 9 0 8アゴニスト（模倣物）または5 7 7アンタゴニスト、2 0 7 3 9アンタゴニスト、もしくは5 7 1 4 5アンタゴニストのいずれかとして機能する1 4 6 5タンパク質、1 5 8 7タンパク質、2 1 4 6タンパク質、2 2 0 7タンパク質、3 2 8 3 8タンパク質、3 3 6タンパク質または5 2 9 0 8タンパク質の改変体は、5 7 7タンパク質、2 0 7 3 9タンパク質、もしくは5 7 1 4 5タンパク質のアゴニスト活性または1 4 6 5タンパク質、1 5 8 7タンパク質、2 1 4 6タンパク質、2 2 0 7タンパク質、3 2 8 3 8タンパク質、3 3 6タンパク質または5 2 9 0 8タンパク質のアンタゴニスト活性について、1 4 6 5タンパク質、1 5 8 7タンパク質、2 1 4 6タンパク質、2 2 0 7タンパク質、3 2 8 3 8タンパク質、3 3 6タンパク質または5 2 9 0 8タンパク質の変異体（例えば、短縮型変異体）のコンビナトリアルライブラリーをスクリーニングすることによって同定され得る。1つの実施形態において、1 4 6 5改変体、1 5 8 7改変体、2 1 4 6改変体、2 2 0 7改変体、3 2 8 3 8改変体、3 3 6改変体、または5 2 9 0 8改変体の多様なライブラリーは、核酸レベルにおけるコンビナトリアル変異誘発によって生成され、そして多様な遺伝子ライブラリーによってコードされる。1 4 6 5改変体、1 5 8 7改変体、2 1 4 6改変体、2 2 0 7改変体、3 2 8 3 8改変体、3 3 6改変体、または5 2 9 0 8改変体の多様なライブラリーは、例えば、潜在的な1 4 6 5配列、1 5 8 7配列、2 1 4 6配列、2 2 0 7配列、3 2 8 3 8配列、3 3 6配列、または5 2 9 0 8配列の縮重セットが個々のポリペプチドとして、または代替的に、そこに1 4 6 5配列、1 5 8 7配列、2 1 4 6配列、2 2 0 7配列、3 2 8 3 8配列、3 3 6配列、もしくは5 2 9 0 8配列のセットを含む、より大きな融合タンパク質のセットとして（例えば、ファージディスプレイのために）発現可能であるように、遺伝子配列に合成オリゴヌクレオチドの混合物を酵素的に連結することによって産生され得る。縮重オリゴヌクレオチド配列から潜在的な1 4 6 5改変体、1 5 8 7改変体、2 1 4 6改変体、2 2 0 7改変体、3 2 8 3 8改変体、3 3 6改変体、または5 2 9 0 8改変体のライブラリーを産生するために使用し得る種々の方法が存在する。縮重遺伝子配列の化学合成は、自動化DNA合成機において実行され、次いで合成遺伝子は、適切な発現ベクターに連結され得る。遺伝子の縮重セットの使用は、1つの混合物において、潜在的な1 4 6 5配列、1 5 8 7配列、2 1 4 6配列、2 2 0 7配列、3 2 8 3 8配列、3 3 6配列、または5 2 9 0 8配列の所望のセットをコードする配列のすべての提供を可能にする。縮重オリゴヌクレオチドを合成するための方法は、当該分野で公知である（例えば、N a r a n g , S . A . (1 9 8 3) T e t r a h e d r o n 3 9 : 3 , I t a k u r a ら (1 9 8 4) A n n u . R e v . B i o c h e m . 5 3 : 3 2 3 ; I t a k u r a ら (1 9 8 4) S c i e n c

20

30

40

50

e 198:1056; Ikeř (1983) Nucleic Acid Res. 11:477を参照のこと)。

【0198】

さらに、1465タンパク質コード配列、1587タンパク質コード配列、2146タンパク質コード配列、2207タンパク質コード配列、32838タンパク質コード配列、336タンパク質コード配列または52908タンパク質コード配列のフラグメントのライブラリーは、1465タンパク質、1587タンパク質、2146タンパク質、2207タンパク質、32838タンパク質、336タンパク質または52908タンパク質の改変体のスクリーニングおよび引き続く選択のために1465フラグメント、1587フラグメント、2146フラグメント、2207フラグメント、32838フラグメント、336フラグメントまたは52908フラグメントの多様な集団を生成するために使用され得る。1つの実施形態において、コード配列フラグメントのライブラリーは、1465コード配列、1587コード配列、2146コード配列、2207コード配列、32838コード配列、336コード配列または52908コード配列の二本鎖PCRフラグメントを、ニックが1分子あたり約1つだけ生じる条件下でヌクレアーゼで処理すること、二本鎖DNAを変性させること、DNAを再生させて、異なるニックを有する生成物からセンス/アンチセンス対を含み得る二本鎖DNAを形成すること、S1ヌクレアーゼを用いる処理によって、再形成された二重鎖から一本鎖部分を除去すること、および得られるフラグメントライブラリーを発現ベクターに連結すること、によって生成され得る。この方法によって、1465タンパク質、1587タンパク質、2146タンパク質、2207タンパク質、32838タンパク質、336タンパク質または52908タンパク質の種々のサイズのN末端フラグメント、C末端フラグメントおよび内部フラグメントをコードする発現ライブラリーを誘導し得る。

【0199】

点変異または短縮化によって作製されるコンビナトリアルライブラリーの遺伝子産物をスクリーニングするため、および選択された特性を有する遺伝子産物についてcDNAライブラリーをスクリーニングするためのいくつかの技術が、当該分野で公知である。このような技術は、1465タンパク質、1587タンパク質、2146タンパク質、2207タンパク質、32838タンパク質、336タンパク質または52908タンパク質のコンビナトリアル変異誘発によって生成される遺伝子ライブラリーの迅速スクリーニングのために適合可能である。高スループット分析に従う、大きい遺伝子ライブラリーのスクリーニングのための最も広範に使用される技術は、代表的には、複製可能な発現ベクターへの遺伝子ライブラリーのクローニング、得られるベクターのライブラリーでの適切な細胞の形質転換、および所望の活性の検出が、遺伝子産物が検出された遺伝子をコードするベクターの単離を容易にする条件下でのコンビナトリアル遺伝子の発現を含む。帰納的アンサンブル変異誘発(recursive ensemble mutagenesis)(REM)は、ライブラリーにおける機能的変異体の頻度を高める新たな技術であり、1465改変体、1587改変体、2146改変体、2207改変体、32838改変体、336改変体、または52908改変体を同定するためにスクリーニングアッセイと組み合わせて使用され得る(ArkinおよびYourvan(1992)Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:7811-7815; Delgraveř(1993)Protein Engineering 6(3):327-331)。

【0200】

本発明の方法は、抗1465抗体、抗1587抗体、抗2146抗体、抗2207抗体、抗32838抗体、抗336抗体、または抗52908抗体の使用をさらに包含する。単離された1465タンパク質、1587タンパク質、2146タンパク質、2207タンパク質、32838タンパク質、336タンパク質、もしくは52908タンパク質、またはその一部分もしくはフラグメントは、ポリクローナル抗体調製およびモノクローナル抗体調製のための標準的な技術を使用して、1465、1587、2146、2207、32838、336または52908を結合する抗体を生成するための免疫原として使

用され得る。全長 1 4 6 5 タンパク質、全長 1 5 8 7 タンパク質、全長 2 1 4 6 タンパク質、全長 2 2 0 7 タンパク質、全長 3 2 8 3 8 タンパク質、全長 3 3 6 タンパク質、または全長 5 2 9 0 8 タンパク質が使用され得るか、あるいは代替的に、1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6 または 5 2 9 0 8 の抗原性ペプチドフラグメントは、免疫原として使用され得る。1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6 または 5 2 9 0 8 の抗原性ペプチドは、配列番号 3、配列番号 6、配列番号 9、配列番号 1 2、配列番号 1 5、配列番号 1 8 または配列番号 2 1 に示されるアミノ酸配列の少なくとも 8 アミノ酸残基を含み、そして 1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6 または 5 2 9 0 8 のエピトープを含み、その結果、そのペプチドに対して惹起された抗体は、1 4 6 5 タンパク質、1 5 8 7 タンパク質、2 1 4 6 タンパク質、2 2 0 7 タンパク質、3 2 8 3 8 タンパク質、3 3 6 タンパク質または 5 2 9 0 8 タンパク質との特異的な免疫複合体を形成する。好ましくは、抗原性ペプチドは、少なくとも 1 0 アミノ酸残基、より好ましくは、少なくとも 1 5 アミノ酸残基、なおより好ましくは、少なくとも 2 0 アミノ酸残基、そして最も好ましくは、少なくとも 3 0 アミノ酸残基を含む。

10

【0 2 0 1】

その抗原性ペプチドによって含まれる好ましいエピトープは、そのタンパク質の表面に位置する 1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6 または 5 2 9 0 8 の領域（例えば、親水性領域）ならびに高い抗原性を有する領域である。

【0 2 0 2】

代表的には、1 4 6 5 免疫原、1 5 8 7 免疫原、2 1 4 6 免疫原、2 2 0 7 免疫原、3 2 8 3 8 免疫原、3 3 6 免疫原、または 5 2 9 0 8 免疫原を使用して、適切な被験体（例えば、ウサギ、ヤギ、マウスまたは他の哺乳動物）に免疫原を免疫することにより抗体を調製する。適切な免疫原性調製物は、例えば、組換え発現された 1 4 6 5 タンパク質、1 5 8 7 タンパク質、2 1 4 6 タンパク質、2 2 0 7 タンパク質、3 2 8 3 8 タンパク質、3 3 6 タンパク質もしくは 5 2 9 0 8 タンパク質または化学合成された 1 4 6 5 ポリペプチド、1 5 8 7 ポリペプチド、2 1 4 6 ポリペプチド、2 2 0 7 ポリペプチド、3 2 8 3 8 ポリペプチド、3 3 6 ポリペプチドまたは 5 2 9 0 8 ポリペプチドを含み得る。この調製物は、アジュバント（例えば、フロイント完全アジュバントまたはフロイント不完全アジュバント、または同様な免疫刺激剤）をさらに含み得る。適切な被験体を免疫原性 1 4 6 5 調製物、免疫原性 1 5 8 7 調製物、免疫原性 2 1 4 6 調製物、免疫原性 2 2 0 7 調製物、免疫原性 3 2 8 3 8 調製物、免疫原性 3 3 6 調製物、または免疫原性 5 2 9 0 8 調製物で免疫することにより、ポリクローナル抗 1 4 6 5 抗体応答、ポリクローナル抗、1 5 8 7 抗体応答、ポリクローナル抗、2 1 4 6 抗体応答、ポリクローナル抗、2 2 0 7 抗体応答、ポリクローナル抗、3 2 8 3 8 抗体応答、ポリクローナル抗、3 3 6 抗体応答、またはポリクローナル抗 5 2 9 0 8 抗体応答が惹起される。

20

30

【0 2 0 3】

用語「抗体」とは、本明細書中で用いられる場合、免疫グロブリン分子および免疫グロブリン分子の免疫学的に活性な一部（すなわち、抗原（例えば、1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6 または 5 2 9 0 8）を特異的に結合する（この抗原と免疫反応する）抗原結合部位を含む分子）をいう。免疫グロブリン分子の免疫学的に活性な部分の例としては、酵素（例えば、ペプシン）で抗体を処理することにより生成され得る F (a b) フラグメントおよび F (a b ')₂ フラグメントが挙げられる。本発明は、1 4 6 5 分子、1 5 8 7 分子、2 1 4 6 分子、2 2 0 7 分子、3 2 8 3 8 分子、3 3 6 分子、または 5 2 9 0 8 分子を結合するポリクローナル抗体およびモノクローナル抗体を提供する。用語「モノクローナル抗体」または「モノクローナル抗体組成物」とは、本明細書中で使用される場合、1 4 6 5、1 5 8 7、2 1 4 6、2 2 0 7、3 2 8 3 8、3 3 6 または 5 2 9 0 8 の特定のエピトープと免疫反応し得る抗原結合部位の 1 種のみを含む抗体分子の集団をいう。従って、モノクローナル抗体組成物は、代表的には、これが免疫反応する特定の 1 4 6 5 タンパク質、1 5 8 7 タンパク質、2 1 4 6 タンパク質、2 2

40

50

07タンパク質、32838タンパク質、336タンパク質または52908タンパク質に対する単一の結合親和性を提示する。

【0204】

ポリクローナル抗1465抗体、ポリクローナル抗、1587抗体、ポリクローナル抗、2146抗体、ポリクローナル抗、2207抗体、ポリクローナル抗、32838抗体、ポリクローナル抗、336抗体、またはポリクローナル抗52908抗体は、適切な被験体に1465免疫原、1587免疫原、2146免疫原、2207免疫原、32838免疫原、336免疫原、または52908免疫原を免疫することにより、上記のように調製され得る。免疫した被験体における抗1465抗体力価、抗1587抗体力価、抗2146抗体力価、抗2207抗体力価、抗32838抗体力価、抗336抗体力価、または抗52908抗体力価は、標準的技術により（例えば、固定化した1465、1587、2146、2207、32838、336または52908を用いる酵素結合免疫吸着アッセイ（ELISA）を用いて）経時的にモニターされ得る。所望であれば、1465、1587、2146、2207、32838、336または52908に対する抗体分子は、哺乳動物から（例えば、血液から）単離され得、そしてさらに周知の技術（例えば、IgG画分を得るためのプロテインAクロマトグラフィー）により精製され得る。免疫後、適切な時間に、例えば、抗1465抗体力価、抗1587抗体力価、抗2146抗体力価、抗2207抗体力価、抗32838抗体力価、抗336抗体力価、または抗52908抗体力価が最も高いときに、抗体生成細胞を被験体から獲得し得、そしてこれを使用して、標準的技術（例えば、初めは、KohlerおよびMilstein（1975）Nature 256:495-497により記載されたハイブリドーマ技術（Brownら（1981）J. Immunol. 127:539-46; Brownら（1980）J. Biol. Chem. 255:4980-83; Yehら（1976）Proc. Natl. Acad. Sci. USA 76:2927-31; およびYehら（1982）Int. J. Cancer 29:269-75もまた参照のこと）、より最近のヒトB細胞ハイブリドーマ技術（Kozborら（1983）Immunol Today 4:72）、EBVハイブリドーマ技術（Coleら（1985）、Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, Inc., 77-96頁）またはトリオーマ（trioma）技術）によりモノクローナル抗体を調製し得る。モノクローナル抗体ハイブリドーマを生成するための技術は、周知である（一般には、Kenneth, R. H., Monoclonal Antibodies: A New Dimension In Biological Analyses, Plenum Publishing Corp., New York, New York（1980）; Lerner, E. A.（1981）Yale J. Biol. Med. 54:387-402; Gefter, M. L.ら（1977）Somatic Cell Genet. 3:231-36を参照のこと）。簡潔には、不死化細胞株（代表的には骨髓腫細胞）を、上記のように1465免疫原、1587免疫原、2146免疫原、2207免疫原、32838免疫原、336免疫原、または52908免疫原で免疫した哺乳動物由来のリンパ球（代表的には、脾臓細胞）と融合し、そして得られたハイブリドーマ細胞の培養上清をスクリーニングして、1465、1587、2146、2207、32838、336または52908を結合するモノクローナル抗体を生成するハイブリドーマを同定する。

【0205】

リンパ球と不死化細胞株とを融合するために使用される任意の多くの周知のプロトコルは、抗1465モノクローナル抗体、抗1587モノクローナル抗体、抗2146モノクローナル抗体、抗2207モノクローナル抗体、抗32838モノクローナル抗体、抗336モノクローナル抗体、または抗52908モノクローナル抗体を生成する目的で適用され得る（例えば、G. Galfreら（1977）Nature 266:55052; Gefterら（1977）上記; Lerner（1981）上記; およびKenneth（1980）、上記を参照のこと）。さらに、当業者は、このような方法の多くのバ

リエーションが存在し、これらは、やはり有用であることを理解する。代表的には、不死化細胞株（例えば、骨髓腫細胞株）はリンパ球と同じ哺乳動物種に由来する。例えば、マウスハイブリドーマは、本発明の免疫原性調製物で免疫したマウス由来のリンパ球と不死化マウス細胞株とを融合することにより作製され得る。好ましい不死化細胞株は、ヒポキサンチン、アミノプテリンおよびチミジンを含む培養培地（「HAT培地」）に感受性であるマウス骨髓腫細胞株である。任意の多くの骨髓腫細胞株は、標準的技術に従う融合パートナーとして使用され得る（例えば、P3-NS1/1-Ag4-1、P3-x63-Ag8.653またはSp2/O-Ag14骨髓腫株）。これらの骨髓腫株は、ATCCから入手可能である。代表的には、HAT感受性マウス骨髓腫細胞を、ポリエチレングリコール（「PEG」）を使用してマウス脾臓細胞に融合する。次いで、融合から得られたハイブリドーマ細胞を、HAT培地を用いて選択する（このことにより、融合していない細胞および生成性でない融合骨髓腫細胞は死ぬ（融合していない脾臓細胞は、形質転換していないので数日後に死ぬ））。本発明のモノクローナル抗体を生成するハイブリドーマ細胞は、1465、1587、2146、2207、32838、336または52908を結合する抗体について、ハイブリドーマ培養上清をスクリーニングすることにより（例えば、標準的ELISAアッセイを使用して）検出される。

【0206】

モノクローナル抗体分泌ハイブリドーマを調製するかわりに、モノクローナル抗1465抗体、モノクローナル抗1587抗体、モノクローナル抗2146抗体、モノクローナル抗2207抗体、モノクローナル抗32838抗体、モノクローナル抗336抗体、またはモノクローナル抗52908抗体を、組換えコンビナトリアル免疫グロブリンライブラリー（例えば、抗体ファージディスプレイライブラリー）を1465、1587、2146、2207、32838、336または52908を用いてスクリーニングすることにより同定および単離し得、それによって1465、1587、2146、2207、32838、336または52908を結合する免疫グロブリンライブラリーメンバーを単離し得る。ファージディスプレイライブラリーを生成し、そしてスクリーニングするためのキットは、市販されている（例えば、the Pharmacia Recombinant Phage Antibody System, カタログ番号27-9400-01; およびthe Stratagene SurfZAPTM Phage Display Kit, カタログ番号240612）。さらに、抗体ディスプレイライブラリーを生成し、そしてスクリーニングする際の使用に特になじみやすい方法および試薬の例は、例えば、Ladnerら、米国特許第5,223,409号; Kangら、PCT国際公開WO92/18619; Dowerら、PCT国際公開WO91/17271; Winterら、PCT国際公開WO92/20791; Marklandら、PCT国際公開WO92/15679; Breitlingら、PCT国際公開WO93/01288; McCaffertyら、PCT国際公開WO92/01047; Garrardら、PCT国際公開WO92/09690; Ladnerら、PCT国際公開WO90/02809; Fuchsら(1991) Bio/Technology 9:1370-1372; Hayら(1992) Hum. Antibod. Hybridomas 3:81-85; Huseら(1989) Science 246:1275-1281; Griffithsら(1993) EMBO J 12:725-734; Hawkinsら(1992) J. Mol. Biol. 226:889-896; Clarksonら(1991) Nature 352:624-628; Gramら(1992) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:3576-3580; Garrardら(1991) Bio/Technology 9:1373-1377; Hoogenboomら(1991) Nuc. Acid Res. 19:4133-4137; Barbassら(1991) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:7978-7982; およびMcCaffertyら(1990) Nature 348:552-554に見出され得る。

【0207】

さらに、ヒト部分および非ヒト部分の両方を含む組換え抗 1 4 6 5 抗体、抗 1 5 8 7 抗体、抗 2 1 4 6 抗体、抗 2 2 0 7 抗体、抗 3 2 8 3 8 抗体、抗 3 3 6 抗体、または抗 5 2 9 0 8 抗体（例えば、キメラおよびヒト化モノクローナル抗体）は、本発明の方法の範囲内であり、これは、標準的な組換え DNA 技術を用いて作製され得る。このようなキメラおよびヒト化モノクローナル抗体は、当該分野で公知の組換え DNA 技術により（例えば、Robinsonら、国際出願番号 PCT/US 86/02269；Akiraら、欧州特許出願第 184,187 号；Taniguchi, M., 欧州特許出願第 171,496 号；Morrisonら 欧州特許出願第 173,494 号；Neubergerら、PCT 国際公開 WO 86/01533；Cabilllyら、米国特許第 4,816,567 号；Cabilllyら、欧州特許出願第 125,023 号；Betterら (1988) Science 240:1041-1043；Liuら (1987) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84:3439-3443；Liuら (1987) J. Immunol. 139:3521-3526；Sunら (1987) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84:214-218；Nishimuraら (1987) Canc. Res. 47:999-1005；Woodら (1985) Nature 314:446-449；Shawら (1988) J. Natl. Cancer Inst. 80:1553-1559；Morrison, S. L. (1985) Science 229:1202-1207；Oiら (1986) BioTechniques 4:214；Winter 米国特許第 5,225,539 号；Jonesら (1986) Nature 321:552-525；Verhoeyanら (1988) Science 239:1534；および Beidlerら (1988) J. Immunol. 141:4053-4060 に記載される方法を使用して）生成され得る。

【0208】

抗 1 4 6 5 抗体、抗 1 5 8 7 抗体、抗 2 1 4 6 抗体、抗 2 2 0 7 抗体、抗 3 2 8 3 8 抗体、抗 3 3 6 抗体、または抗 5 2 9 0 8 抗体は、1 4 6 5 タンパク質、1 5 8 7 タンパク質、2 1 4 6 タンパク質、2 2 0 7 タンパク質、3 2 8 3 8 タンパク質、3 3 6 タンパク質または 5 2 9 0 8 タンパク質の発現の量およびパターンを評価するために、（例えば、細胞溶解物または細胞上清において）1 4 6 5 タンパク質、1 5 8 7 タンパク質、2 1 4 6 タンパク質、2 2 0 7 タンパク質、3 2 8 3 8 タンパク質、3 3 6 タンパク質または 5 2 9 0 8 タンパク質を検出するために使用され得る。抗 1 4 6 5 抗体、抗 1 5 8 7 抗体、抗 2 1 4 6 抗体、抗 2 2 0 7 抗体、抗 3 2 8 3 8 抗体、抗 3 3 6 抗体、または抗 5 2 9 0 8 抗体は、例えば、所定の処置レジメの効力を決定するために、臨床試験の手順の一部として、組織におけるタンパク質レベルをモニターするために診断的に使用され得る。検出は、抗体を検出可能な物質と結合させる（すなわち、物理的に連結させる）ことによって容易にされ得る。検出可能な物質の例としては、種々の酵素、補欠分子族、蛍光物質、発光物質、生体発光物質、および放射活性物質が挙げられる。適切な酵素の例には、西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、 β -ガラクトシダーゼ、またはアセチルコリンエステラーゼが挙げられ；適切な補欠分子族複合体の例には、ストレプトアビジン/ビオチンおよびアビジン/ビオチンが挙げられ；適切な蛍光物質の例には、ウンベリフェロン (umbelliferone)、フルオレセイン、フルオレセインイソチオシアネート、ローダミン、ジクロロトリアジニルアミンフルオレセイン、ダンシルクロライド、またはフィコエリトリンが挙げられ；発光物質の例には、ルミノールが挙げられ；生体発光物質の例には、ルシフェラーゼ、ルシフェリン、およびエクオリンが挙げられ；そして、適切な放射活性物質の例には、 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{35}S 、または ^3H が挙げられる。

【0209】

本発明はさらに、以下の実施例により例示される。以下の実施例は、限定すると解釈されない。本出願を通して引用される全ての参考文献、特許、および公開された特許出願の内容ならびに図および配列表は、本明細書中に参考として援用される。

【実施例】

【0210】

(実施例1: Taqman (登録商標) 分析を使用する組織分布)

この実施例は、TaqMan (登録商標) 手順を記載する。Taqman (登録商標) 手順は、mRNAを検出するための、定量的逆転写PCRベースのアプローチである。RT-PCR反応は、PCRの間にTaqMan (登録商標) プローブを切断するために、AmpliTaq GoldTM DNAポリメラーゼの5'ヌクレアーゼ活性を利用する。簡潔には、cDNAを、目的のサンプル(例えば、心臓、腎臓、肝臓、骨格筋、および種々の脈管)から生成して、PCR増幅のための出発物質として使用した。5'側および3'側の遺伝子特異的プライマーに加えて、遺伝子特異的オリゴヌクレオチドプローブ(これは、増幅される領域に相補的である)(すなわち、Taqman (登録商標) プローブ)を、この反応中に含めた。TaqMan (登録商標) プローブは、このプローブの5'末端に共有結合した蛍光レポーター色素(例えば、FAM(6-カルボキシフルオレセイン)、TET(6-カルボキシ-4,7,2',7'-テトラクロロフルオレセイン)、JOE(6-カルボキシ-4,5-ジクロロ-2,7-ジメトキシフルオレセイン)、またはVIC)を有し、かつこのプローブの3'末端にクエンチャー色素(TAMRA(6-カルボキシ-N,N,N',N'-テトラメチルローダミン)を有するオリゴヌクレオチドを含む。

10

【0211】

PCR反応の間に、プローブの切断は、レポーター色素およびクエンチャー色素を分離し、レポーターの蛍光の増大を生じる。PCR産物の蓄積は、レポーター色素の蛍光の増加をモニタリングすることによって直接検出される。プローブがインタクトである場合、レポーター色素がクエンチャー色素に近いことは、レポーター蛍光の抑制を生じる。PCRの間、目的の標的が存在する場合、このプローブは、順方向プライマー部位と逆方向プライマー部位との間に特異的にアニーリングする。AmpliTaq (登録商標) Gold DNAポリメラーゼの5'-3'ヌクレオチド分解(nucleolytic)活性は、プローブが標的にハイブリダイズする場合にのみ、レポーターとクエンチャーとの間でプローブを切断する。次いで、このプローブフラグメントは、標的から移動され、そして鎖の重合が続く。プローブの3'末端は、PCRの間のプローブの伸長を防止するためにブロックされる。このプロセスは、どのサイクルにおいても生じ、かつ産物の指数関数的蓄積を妨害しない。RNAを、トリゾール(trizol)法を用いて調製し、そしてDNaseで処理して、混入しているゲノムDNAを除去した。cDNAを、標準的な技術を使用して合成した。コントロール遺伝子の検出可能なPCR増幅を有さないサンプルにおいて生じた、逆転写酵素の非存在下でのモックcDNA合成は、ゲノムDNA混入物の効果的な除去を確認する。

20

30

【0212】

(等価物)

当業者は、慣用的実験に過ぎない実験を使用して、本明細書中に記載される本発明の特定の実施形態に対する多くの等価物を、認識するか、または確認し得る。このような等価物は、添付の特許請求の範囲によって包含されると意図される。

【配列表】

40

SEQUENCE LISTING

<110> Millennium Pharmaceuticals, Inc
 Silos-Santiago, Inmaculada
 Rosenfeld, Julie Beth

<120> METHODS AND COMPOSITIONS IN TREATING
 PAIN AND PAINFUL DISORDERS USING 1465, 1587, 2146, 2207,
 32838,336 and 52908

<130> MPI01-294P1RNWOM

<150> US 60/341,953

<151> 2001-12-19

<160> 21

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1

<211> 2113

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 1

```

gcagccgcgcg cggtcgggct gcccccctccc ctgcgcccca ccgctcccct gctgggtgagg 60
gcctgcgcag gcggcgccgg cggcgccctt ggtggcagtg gtggcgccgg agcagcctcc 120
cgggatcggtg tctggagctc gaggagaggg tagtgcccgg cgagctatgc acggggggcg 180
cggcgctctcc tctgttccg cctcctcagt ctctcgggtc tcgcagaatc cgcggcgccg 240
ggcgggcgcca ggacatggag ctcgagaaca tcgtggccaa ctgcgtgctg ctgaaagcgc 300
gtcaaggagg atattggcaaa aaaagtggtc gtagtaaaaa atggaaggag atactgacac 360
tgccctctgt cagccagtg cagtgcgtta gacattccat tgaaaaggat tatagcagtc 420
tttgtgacaa gcaaccgata ggaagacgtc tcttcaggca gttctgtgat accaaaccca 480
ctctaaagag gcacattgaa ttcttggatg cagtggcaga atatgaagtt gccgatgatg 540
aggaccgaag tgattgtgga ctgtcaatct tagatagatt ctccaatgat aagttggcag 600
ccccctttacc agaaataacct ccagatgttg tgacagaatg tagattggga ctgaaggagg 660
agaacccttc caaaaaagcc tttgaggaat gtactagagt tgcccataac tacctaagag 720
gggaaccatt tgaagaatac caagaaagct catatttttc tcagttttta caatggaaat 780
ggctggaaaag gcaacccgta acaagaaca catttagaca ttacagagtt ctaggaaaag 840
gcggtatttg agaggtttgc gcctgtcaag tgcgagccac agggaaaaatg tatgcctgca 900
aaaagctaca aaaaaaaaaga ataaagaaga ggaaagggtg agctatggct ctaaatgaga 960
aaagaattct ggagaaaagt caaagtagat tcgtagttag tttagcctac gcttatgaaa 1020
ccaaagatgc cttgtgcttg gtgtcacca ttatgaatgg aggggatttg aagtttcaca 1080
tttacaacct gggcaatccc ggctttgatg agcagagagc cgttttctat gctgcagagc 1140
tgtgttgccg cttggaagat ttacagaggg aaagaattgt atacagagac ttgaagcctg 1200
agaatattct ccttgatgat cgtggacaca tccggatttc agacctcggg ttggccacag 1260
agatcccaga aggcagaggg gttcgaggaa gagttggaac agtcggctac atggcacctg 1320
aagttgtcaa taatgaaaag tatacgttta gtcccgatg gtggggactt ggctgtctga 1380
tctatgaaat gattcaggga cattctccat tcaaaaaata caaagagaaa gtcaaatggg 1440
aggaggtcga tcaaaagaatc aagaatgata ccgaggagta ttctgagaag ttttcagagg 1500
atgccaaaatc tatctgcagg atgttactca ccaagaatcc aagcaagcgg ctgggctgca 1560
ggggcgaggg agcggctggg gtgaagcagc acccgtgtt caaggacatc aacttcagga 1620
ggctggaggc aaacatgctg gagccccctt tctgtctga tctcatgcc gtttactgta 1680
aggacgtcct gatatcgag cagttctcgg cggtgaaagg gatctacctg gacaccgcag 1740
atgaagactt ctatgctcgg tttgctaccg ggtgtgtctc catcccctgg cagaatgaga 1800
tgatcgaatc cgggtgtttc aaagacatca acaaaagtga aagtggaggaa gctttgccat 1860
tagatctaga caagaacata cataccccgg tttccagacc aaacagaggg ttcttctata 1920
gactcttcag aagagggggc tgccctgacca tggctcccag tgagaaggaa gtggaaccca 1980
agcaatgctg agcaccgccg tcgggaccac agagcagacc ctggcgccag gaaggagcat 2040
gtgttagcgt ctgctccac ctggaattgt aataaatata tctaaataaa acatgccttg 2100
ggagtgtaca gac                                     2113

```

10

20

30

40

<210> 2
 <211> 1737
 <212> DNA
 <213> Homo Sapiens

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)...(1737)

<400> 2

```

atg gag ctc gag aac atc gtg gcc aac tcg ctg ctg ctg aaa gcg cgt 48
Met Glu Leu Glu Asn Ile Val Ala Asn Ser Leu Leu Leu Lys Ala Arg
  1           5           10           15
caa gga gga tat ggc aaa aaa agt ggt cgt agt aaa aaa tgg aag gag 96
Gln Gly Gly Tyr Gly Lys Lys Ser Gly Arg Ser Lys Lys Trp Lys Glu
          20           25           30
ata ctg aca ctg cct cct gtc agc cag tgc agt gag ctt aga cat tcc 144
Ile Leu Thr Leu Pro Pro Val Ser Gln Cys Ser Glu Leu Arg His Ser
          35           40           45
att gaa aag gat tat agc agt ctt tgt gac aag caa ccg ata gga aga 192
Ile Glu Lys Asp Tyr Ser Ser Leu Cys Asp Lys Gln Pro Ile Gly Arg
          50           55           60
cgt ctc ttc agg cag ttc tgt gat acc aaa ccc act cta aag agg cac 240
Arg Leu Phe Arg Gln Phe Cys Asp Thr Lys Pro Thr Leu Lys Arg His
          65           70           75           80
att gaa ttc ttg gat gca gtg gca gaa tat gaa gtt gcc gat gat gag 288
Ile Glu Phe Leu Asp Ala Val Ala Glu Tyr Glu Val Ala Asp Asp Glu
          85           90           95
gac cga agt gat tgt gga ctg tca atc tta gat aga ttc ttc aat gat 336
Asp Arg Ser Asp Cys Gly Leu Ser Ile Leu Asp Arg Phe Phe Asn Asp
          100          105          110
aag ttg gca gcc cct tta cca gaa ata cct cca gat gtt gtg aca gaa 384
Lys Leu Ala Ala Pro Leu Pro Glu Ile Pro Pro Asp Val Val Thr Glu
          115          120          125
tgt aga ttg gga ctg aag gag gag aac cct tcc aaa aaa gcc ttt gag 432
Cys Arg Leu Gly Leu Lys Glu Glu Asn Pro Ser Lys Lys Ala Phe Glu
          130          135          140
gaa tgt act aga gtt gcc cat aac tac cta aga ggg gaa cca ttt gaa 480
Glu Cys Thr Arg Val Ala His Asn Tyr Leu Arg Gly Glu Pro Phe Glu
          145          150          155          160
gaa tac caa gaa agc tca tat ttt tct cag ttt tta caa tgg aaa tgg 528
Glu Tyr Gln Glu Ser Ser Tyr Phe Ser Gln Phe Leu Gln Trp Lys Trp
          165          170          175
ctg gaa agg caa ccc gta aca aag aac aca ttt aga cat tac aga gtt 576
Leu Glu Arg Gln Pro Val Thr Lys Asn Thr Phe Arg His Tyr Arg Val
          180          185          190
cta gga aaa ggc gga ttt gga gag gtt tgc gcc tgt caa gtg cga gcc 624
Leu Gly Lys Gly Gly Phe Gly Glu Val Cys Ala Cys Gln Val Arg Ala
          195          200          205

```

10

20

30

40

aca gga aaa atg tat gcc tgc aaa aag cta caa aaa aaa aga ata aag	672	
Thr Gly Lys Met Tyr Ala Cys Lys Lys Leu Gln Lys Lys Arg Ile Lys		
210 215 220		
aag agg aaa ggt gaa gct atg gct cta aat gag aaa aga att ctg gag	720	
Lys Arg Lys Gly Glu Ala Met Ala Leu Asn Glu Lys Arg Ile Leu Glu		
225 230 235 240		
aaa gtg caa agt aga ttc gta gtt agt tta gcc tac gct tat gaa acc	768	
Lys Val Gln Ser Arg Phe Val Val Ser Leu Ala Tyr Ala Tyr Glu Thr		
245 250 255		
aaa gat gcc ttg tgc ttg gtg ctc acc att atg aat gga ggg gat ttg	816	10
Lys Asp Ala Leu Cys Leu Val Leu Thr Ile Met Asn Gly Asp Leu		
260 265 270		
aag ttt cac att tac aac ctg ggc aat ccc ggc ttt gat gag cag aga	864	
Lys Phe His Ile Tyr Asn Leu Gly Asn Pro Gly Phe Asp Glu Gln Arg		
275 280 285		
gcc gtt ttc tat gct gca gag ctg tgt tgc ggc ttg gaa gat tta cag	912	
Ala Val Phe Tyr Ala Ala Glu Leu Cys Cys Gly Leu Glu Asp Leu Gln		
290 295 300		
agg gaa aga att gta tac aga gac ttg aag cct gag aat att ctc ctt	960	
Arg Glu Arg Ile Val Tyr Arg Asp Leu Lys Pro Glu Asn Ile Leu Leu		
305 310 315 320		
gat gat cgt gga cac atc cgg att tca gac ctc ggt ttg gcc aca gag	1008	20
Asp Asp Arg Gly His Ile Arg Ile Ser Asp Leu Gly Leu Ala Thr Glu		
325 330 335		
atc cca gaa gga cag agg gtt cga gga aga gtt gga aca gtc ggc tac	1056	
Ile Pro Glu Gly Gln Arg Val Arg Gly Arg Val Gly Thr Val Gly Tyr		
340 345 350		
atg gca cct gaa gtt gtc aat aat gaa aag tat acg ttt agt ccc gat	1104	
Met Ala Pro Glu Val Val Asn Asn Glu Lys Tyr Thr Phe Ser Pro Asp		
355 360 365		
tgg tgg gga ctt ggc tgt ctg atc tat gaa atg att cag gga cat tct	1152	
Trp Trp Gly Leu Gly Cys Leu Ile Tyr Glu Met Ile Gln Gly His Ser		
370 375 380		
cca ttc aaa aaa tac aaa gag aaa gtc aaa tgg gag gag gtc gat caa	1200	30
Pro Phe Lys Lys Tyr Lys Glu Lys Val Lys Trp Glu Glu Val Asp Gln		
385 390 395 400		
aga atc aag aat gat acc gag gag tat tct gag aag ttt tca gag gat	1248	
Arg Ile Lys Asn Asp Thr Glu Glu Tyr Ser Glu Lys Phe Ser Glu Asp		
405 410 415		
gcc aaa tct atc tgc agg atg tta ctc acc aag aat cca agc aag cgg	1296	
Ala Lys Ser Ile Cys Arg Met Leu Leu Thr Lys Asn Pro Ser Lys Arg		
420 425 430		
ctg ggc tgc agg ggc gag gga gcg gct ggg gtg aag cag cac ccc gtg	1344	
Leu Gly Cys Arg Gly Glu Gly Ala Ala Gly Val Lys Gln His Pro Val		
435 440 445		
ttc aag gac atc aac ttc agg agg ctg gag gca aac atg ctg gag ccc	1392	40

Phe Lys Asp Ile Asn Phe Arg Arg Leu Glu Ala Asn Met Leu Glu Pro
 450 455 460
 cct ttc tgt cct gat cct cat gcc gtt tac tgt aag gac gtc ctg gat 1440
 Pro Phe Cys Pro Asp Pro His Ala Val Tyr Cys Lys Asp Val Leu Asp
 465 470 475 480
 atc gag cag ttc tcg gcg gtg aaa ggg atc tac ctg gac acc gca gat 1488
 Ile Glu Gln Phe Ser Ala Val Lys Gly Ile Tyr Leu Asp Thr Ala Asp
 485 490 495
 gaa gac ttc tat gct cgg ttt gct acc ggg tgt gtc tcc atc ccc tgg 1536
 Glu Asp Phe Tyr Ala Arg Phe Ala Thr Gly Cys Val Ser Ile Pro Trp
 500 505 510
 cag aat gag atg atc gaa tcc ggg tgt ttc aaa gac atc aac aaa agt 1584
 Gln Asn Glu Met Ile Glu Ser Gly Cys Phe Lys Asp Ile Asn Lys Ser
 515 520 525
 gaa agt gag gaa gct ttg cca tta gat cta gac aag aac ata cat acc 1632
 Glu Ser Glu Glu Ala Leu Pro Leu Asp Leu Asp Lys Asn Ile His Thr
 530 535 540
 ccg gtt tcc aga cca aac aga ggc ttc ttc tat aga ctc ttc aga aga 1680
 Pro Val Ser Arg Pro Asn Arg Gly Phe Phe Tyr Arg Leu Phe Arg Arg
 545 550 555 560
 ggg ggc tgc ctg acc atg gtc ccc agt gag aag gaa gtg gaa ccc aag 1728
 Gly Gly Cys Leu Thr Met Val Pro Ser Glu Lys Glu Val Glu Pro Lys
 565 570 575
 caa tgc tga 1737
 Gln Cys *

10

20

<210> 3
 <211> 578
 <212> PRT
 <213> Homo Sapiens

<400> 3
 Met Glu Leu Glu Asn Ile Val Ala Asn Ser Leu Leu Leu Lys Ala Arg
 1 5 10 15
 Gln Gly Gly Tyr Gly Lys Lys Ser Gly Arg Ser Lys Lys Trp Lys Glu
 20 25 30
 Ile Leu Thr Leu Pro Pro Val Ser Gln Cys Ser Glu Leu Arg His Ser
 35 40 45
 Ile Glu Lys Asp Tyr Ser Ser Leu Cys Asp Lys Gln Pro Ile Gly Arg
 50 55 60
 Arg Leu Phe Arg Gln Phe Cys Asp Thr Lys Pro Thr Leu Lys Arg His
 65 70 75 80
 Ile Glu Phe Leu Asp Ala Val Ala Glu Tyr Glu Val Ala Asp Asp Glu
 85 90 95
 Asp Arg Ser Asp Cys Gly Leu Ser Ile Leu Asp Arg Phe Phe Asn Asp
 100 105 110
 Lys Leu Ala Ala Pro Leu Pro Glu Ile Pro Pro Asp Val Val Thr Glu
 115 120 125
 Cys Arg Leu Gly Leu Lys Glu Glu Asn Pro Ser Lys Lys Ala Phe Glu
 130 135 140
 Glu Cys Thr Arg Val Ala His Asn Tyr Leu Arg Gly Glu Pro Phe Glu
 145 150 155 160

30

40

```
<210> 4
<211> 1242
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 4
```

30

40

```

aagaggctct ctctgccc atgatatccgc ctgccccagg aattcctaca gaagctacag 60
atggagagcc cagatctgcc caagccgctc agcccgcatgt ccgcccgggc ctccctgtca 120
gacattggct ttgggaaact ggaaacatac gtgaaactgg acaaaactggg agagggcacc 180
tatgccacag tcttcaaagg ggcgagcaaa ctgacggaga accttgtggc cctgaaagag 240
atccggctgg agcacgagga gggagcgccc tgcactgcca tccgagaggt gtctctgctg 300
aagaacctga agcacgcaa tattgtgacc ctgcatgacc tcatccacac agatcgggtc 360
ctcaccttgg tgtttgagta cctggacagt gacctgaagc agtatctgga ccactgtggg 420
aacctcatga gcatgcacaa cgtcaagatt ttcattgttc agctgctccg gggcctcgcc 480
tactgtcaca cccgcaagat cctgcaccgg gacctgaagc ccagaacct gctcatcaac 540
gagagggggg agctgaagct ggccgacttt ggactggcca gggccaagtc agtgcccaca 600
aagacttact ccaatgaggt ggtgacctg tggtagaggc ccccgatgt gctgctggga 660
tccacagagt actccacccc cattgctatg tggggcgtgg gctgcatcca ctacgagatg 720
gccacagggg gggccctctt cccgggctcc acagtcaagg aggagctgca cctcatcttt 780
cgcctctctg ggacccccac agaagagacg tggcccggcg tgaccgcctt ctctgagttc 840
cgcacctaca gcttcccctg ctacctccc cagccgctca tcaaccacgc gccagggttg 900
gatacggatg gcattccact cctgagcagc ctgctcgtgt atgaatccaa gactcgcagt 960
tcagcagagg ctgcccctgag tcaactctac ttccggtctc tgggagagcg tgtgcaccag 1020
cttgaagaca ctgcctccat cttctcccct aaggagatcc agctccagaa ggaccagggc 1080
taccgaggtt tggccttcca gcagccagga cgagggaaga acaggcgcca gacatcttc 1140
tgagccacgc ccaccttgcg gtggccaagg gacaagagac cacatggagc acaaattcgg 1200
gtaggatgga gcctgtgtgg cctcggagg actgaacaac ga 1242

```

<210> 5

<211> 1125

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (1)...(1125)

<400> 5

```

atg gat atc cgc ctg ccc cag gaa ttc cta cag aag cta cag atg gag 48
Met Asp Ile Arg Leu Pro Gln Glu Phe Leu Gln Lys Leu Gln Met Glu
1 5 10 15

```

```

agc cca gat ctg ccc aag ccg ctc agc cgc atg tcc cgc cgg gcc tcc 96
Ser Pro Asp Leu Pro Lys Pro Leu Ser Arg Met Ser Arg Arg Ala Ser
20 25 30

```

```

ctg tca gac att ggc ttt ggg aaa ctg gaa aca tac gtg aaa ctg gac 144
Leu Ser Asp Ile Gly Phe Gly Lys Leu Glu Thr Tyr Val Lys Leu Asp
35 40 45

```

```

aaa ctg gga gag ggc acc tat gcc aca gtc ttc aaa ggg cgc agc aaa 192
Lys Leu Gly Glu Gly Thr Tyr Ala Thr Val Phe Lys Gly Arg Ser Lys
50 55 60

```

```

ctg acg gag aac ctt gtg gcc ctg aaa gag atc cgg ctg gag cac gag 240
Leu Thr Glu Asn Leu Val Ala Leu Lys Glu Ile Arg Leu Glu His Glu
65 70 75 80

```

```

gag gga gcg ccc tgc act gcc atc cga gag gtg tct ctg ctg aag aac 288
Glu Gly Ala Pro Cys Thr Ala Ile Arg Glu Val Ser Leu Leu Lys Asn
85 90 95

```

```

ctg aag cac gcc aat att gtg acc ctg cat gac ctc atc cac aca gat 336
Leu Lys His Ala Asn Ile Val Thr Leu His Asp Leu Ile His Thr Asp
100 105 110

```

```

cgg tcc ctc acc ctg gtg ttt gag tac ctg gac agt gac ctg aag cag 384
Arg Ser Leu Thr Leu Val Phe Glu Tyr Leu Asp Ser Asp Leu Lys Gln

```

10

20

30

40

115	120	125	
tat ctg gac cac tgt ggg aac ctc atg agc atg cac aac gtc aag att	432		
Tyr Leu Asp His Cys Gly Asn Leu Met Ser Met His Asn Val Lys Ile			
130	135	140	
ttc atg ttc cag ctg ctc cgg ggc ctc gcc tac tgt cac acc cgc aag	480		
Phe Met Phe Gln Leu Leu Arg Gly Leu Ala Tyr Cys His Thr Arg Lys			
145	150	155	160
atc ctg cac cgg gac ctg aag ccc cag aac ctg ctc atc aac gag agg	528		
Ile Leu His Arg Asp Leu Lys Pro Gln Asn Leu Leu Ile Asn Glu Arg			
	165	170	175
ggg gag ctg aag ctg gcc gac ttt gga ctg gcc agg gcc aag tca gtg	576		
Gly Glu Leu Lys Leu Ala Asp Phe Gly Leu Ala Arg Ala Lys Ser Val			
	180	185	190
ccc aca aag act tac tcc aat gag gtg gtg acc ctg tgg tac agg ccc	624		
Pro Thr Lys Thr Tyr Ser Asn Glu Val Val Thr Leu Trp Tyr Arg Pro			
	195	200	205
ccc gat gtg ctg ctg gga tcc aca gag tac tcc acc ccc att gct atg	672		
Pro Asp Val Leu Leu Gly Ser Thr Glu Tyr Ser Thr Pro Ile Ala Met			
	210	215	220
tgg ggc gtg ggc tgc atc cac tac gag atg gcc aca ggg agg ccc ctc	720		
Trp Gly Val Gly Cys Ile His Tyr Glu Met Ala Thr Gly Arg Pro Leu			
	225	230	235
ttc ccg ggc tcc aca gtc aag gag gag ctg cac ctc atc ttt cgc ctc	768		
Phe Pro Gly Ser Thr Val Lys Glu Glu Leu His Leu Ile Phe Arg Leu			
	245	250	255
ctc ggg acc ccc aca gaa gag acg tgg ccc ggc gtg acc gcc ttc tct	816		
Leu Gly Thr Pro Thr Glu Glu Thr Trp Pro Gly Val Thr Ala Phe Ser			
	260	265	270
gag ttc cgc acc tac agc ttc ccc tgc tac ctc ccg cag ccg ctc atc	864		
Glu Phe Arg Thr Tyr Ser Phe Pro Cys Tyr Leu Pro Gln Pro Leu Ile			
	275	280	285
aac cac gcg ccc agg ttg gat acg gat ggc atc cac ctc ctg agc agc	912		
Asn His Ala Pro Arg Leu Asp Thr Asp Gly Ile His Leu Leu Ser Ser			
	290	295	300
ctg ctc gtg tat gaa tcc aag agt cgc atg tca gca gag gct gcc ctg	960		
Leu Leu Val Tyr Glu Ser Lys Ser Arg Met Ser Ala Glu Ala Ala Leu			
	305	310	315
agt cac tcc tac ttc cgg tct ctg gga gag cgt gtg cac cag ctt gaa	1008		
Ser His Ser Tyr Phe Arg Ser Leu Gly Glu Arg Val His Gln Leu Glu			
	325	330	335
gac act gcc tcc atc ttc tcc ctg aag gag atc cag ctc cag aag gac	1056		
Asp Thr Ala Ser Ile Phe Ser Leu Lys Glu Ile Gln Leu Gln Lys Asp			
	340	345	350
cca ggc tac cga ggc ttg gcc ttc cag cag cca gga cga ggg aag aac	1104		
Pro Gly Tyr Arg Gly Leu Ala Phe Gln Gln Pro Gly Arg Gly Lys Asn			
	355	360	365

10

20

30

40

agg cgg cag agc atc ttc tga
 Arg Arg Gln Ser Ile Phe *
 370

1125

<210> 6
 <211> 374
 <212> PRT
 <213> Homo Sapiens

<400> 6
 Met Asp Ile Arg Leu Pro Gln Glu Phe Leu Gln Lys Leu Gln Met Glu
 1 5 10 15
 Ser Pro Asp Leu Pro Lys Pro Leu Ser Arg Met Ser Arg Arg Ala Ser
 20 25 30
 Leu Ser Asp Ile Gly Phe Gly Lys Leu Glu Thr Tyr Val Lys Leu Asp
 35 40 45
 Lys Leu Gly Glu Gly Thr Tyr Ala Thr Val Phe Lys Gly Arg Ser Lys
 50 55 60
 Leu Thr Glu Asn Leu Val Ala Leu Lys Glu Ile Arg Leu Glu His Glu
 65 70 75 80
 Glu Gly Ala Pro Cys Thr Ala Ile Arg Glu Val Ser Leu Leu Lys Asn
 85 90 95
 Leu Lys His Ala Asn Ile Val Thr Leu His Asp Leu Ile His Thr Asp
 100 105 110
 Arg Ser Leu Thr Leu Val Phe Glu Tyr Leu Asp Ser Asp Leu Lys Gln
 115 120 125
 Tyr Leu Asp His Cys Gly Asn Leu Met Ser Met His Asn Val Lys Ile
 130 135 140
 Phe Met Phe Gln Leu Leu Arg Gly Leu Ala Tyr Cys His Thr Arg Lys
 145 150 155 160
 Ile Leu His Arg Asp Leu Lys Pro Gln Asn Leu Leu Ile Asn Glu Arg
 165 170 175
 Gly Glu Leu Lys Leu Ala Asp Phe Gly Leu Ala Arg Ala Lys Ser Val
 180 185 190
 Pro Thr Lys Thr Tyr Ser Asn Glu Val Val Thr Leu Trp Tyr Arg Pro
 195 200 205
 Pro Asp Val Leu Leu Gly Ser Thr Glu Tyr Ser Thr Pro Ile Ala Met
 210 215 220
 Trp Gly Val Gly Cys Ile His Tyr Glu Met Ala Thr Gly Arg Pro Leu
 225 230 235 240
 Phe Pro Gly Ser Thr Val Lys Glu Glu Leu His Leu Ile Phe Arg Leu
 245 250 255
 Leu Gly Thr Pro Thr Glu Glu Thr Trp Pro Gly Val Thr Ala Phe Ser
 260 265 270
 Glu Phe Arg Thr Tyr Ser Phe Pro Cys Tyr Leu Pro Gln Pro Leu Ile
 275 280 285
 Asn His Ala Pro Arg Leu Asp Thr Asp Gly Ile His Leu Leu Ser Ser
 290 295 300
 Leu Leu Val Tyr Glu Ser Lys Ser Arg Met Ser Ala Glu Ala Ala Leu
 305 310 315 320
 Ser His Ser Tyr Phe Arg Ser Leu Gly Glu Arg Val His Gln Leu Glu
 325 330 335
 Asp Thr Ala Ser Ile Phe Ser Leu Lys Glu Ile Gln Leu Gln Lys Asp
 340 345 350
 Pro Gly Tyr Arg Gly Leu Ala Phe Gln Gln Pro Gly Arg Gly Lys Asn
 355 360 365
 Arg Arg Gln Ser Ile Phe
 370

10

20

30

40

<210> 7

<211> 4151
 <212> DNA
 <213> Homo Sapiens

<400> 7

```

cgcaacttca tagacggttg tgaagacaag ctagacggca gatgaaagt cttggcacag 60
agtgaacact tgataaacta tatggcagcc acagcctccg gagccgttgc acacctacct 120
gcccggccga cttacctgta cttgccgccg tcccggctca cctggcggtg cccgaggagt 180
agtcgctgga gtccgcgcct ccctgggact gcaatgtgcc gatcttagct gctgcctgag 240
aggatgtctg ggggtgtccga gcccctgagt cgagtaaagt tgggcacgtt acgccggcct 300
gaagggcctg gagagcccat ggtggtggta ccagtagatg tggaaaagga ggacgtgcgt 360
atcctcaagg tctgcttcta tagcaacagc ttcaatcctg ggaaaaactt caaactggtc 420
aaatgcactg tccagacgga gatccgggag atcatcacct ccatacctgct gagcgggcgg 480
atcggggcca acatccggtt ggctgagtgc tatgggctga ggctgaagca catgaagtcc 540
gatgagatcc actggctgca cccacagatg acagtgggtg aggtgcagga caagtatgag 600
tgtctgcacg tggaaagccga gtggaggtat gaccttcaaa tccgctactt gccagaagac 660
ttcatggaga gcttgaagga ggacaggacc acgctgctct atttttacca acagctccgg 720
aacgactaca tgcagcgcta cggcagcaag gtcagcgagg gcatggcctt gcagctgggc 780
tgccctggagc tcaggcgggtt cttcaaggat atgccccaca atgcacttga caagaagtcc 840
aactctgagc tctagaaaaa ggaagtgggg ctggacttgt ttttcccaaa gcagatgcag 900
gagaacttaa agcccaaaaca gttccggaag atgatccagc agaccttcca gcagtacgcc 960
tcgctcaggg aggaggagtg cgtcatgaag ttcttcaaca ctctcgccgg cttcgccaac 1020
atcgaccagg agacctaccg ctgtgaactc attcaaggat ggaacattac tgtggacctg 1080
gtcattggcc cttaaaggat ccgccagctg actagtccag acgcaaagcc cactgcctg 1140
gccgagtcca agcagatcag gtccatcagg tgcctcccgc tggaggaggg ccaggcagta 1200
cttcagctgg gcattgaagg tgccccccag gccttgtcca tcaaaacctc atccctagca 1260
gaggtgaga acatggctga cctcatagac ggctactgcc ggctgcaggg tgagcaccaa 1320
ggctctctca tcateccatc taggaaagat ggtgagaagc ggaacagcct gcccagatc 1380
cccattgctaa acctggaggc ccggcggtcc cactctcag agagctgcag catagagtca 1440
gacatctacg cagagattcc cgacgaaacc ctgcgaaggg ccggagggtc acagtatggc 1500
attgcccggt aagatgtggt cctgaatcgt attcttgggg aaggcctttt tggggagggtc 1560
tatgaagggt tctacacaaa tcataaaggg gagaaaatca atgtagctgt caagacctgc 1620
aagaaagact gcactctgga caacaaggag aagttcatga gcgaggcagt gatcatgaag 1680
aacctcgacc acccgacatc cgtgaagctg atcgccatca ttgaagagga gccacactgg 1740
atcatcatgg aattgtatcc ctatggggag ctggggccact acctggagcg gaacaagaac 1800
tccctgaagg tgcctaccct cgtgctgtac tcaactgcag attgctgtcc ggaacatcct ggtggcctcc 1860
cctgagtgtg tgaagctggg ggactttggt ctttcccggt acattgagga cgaggactat 1920
tacaaagcct ctgtgactcg tctccccatc aaatggatgt ccccagagtc cattaacttc 2040
cgacgcttca cgacagccag tgacgtcttg atgttcgccg tgtgcatgtg ggagatcctg 2100
agctttggga agcagccctt cttctggctg gagaacaagg atgtcatcgg ggtgctggag 2160
aaaggagacc ggtgcccaca gctgatctc tgtccaccgg tcttttatac cctcatgacc 2220
cgctgctggg actcagacc cagtgaaccg ccccgcttca ccgagctggt gtgcagcctc 2280
agtgaagctt atcagatgga gaaggacatt gccatggagc aagagaggaa tgctcgctac 2340
cgaaccccca aaatcttggg gccacagacc ttccaggaa cccaccccaa gccagccga 2400
cctaagtaca gacccctcc gcaaaccaac ctcttggtc caaagctgca gttccagggt 2460
cctgagggtc tgtgtgccag ctctcctacg ctaccagcc ctatggagta tccatctccc 2520
gttaactcac tgcacacccc acctctccac cggcacaatg tcttcaaacg ccacagcatg 2580
cgggaggagg acttcatcca acccagcagc cgagaagagg ccagcagct gtgggaggct 2640
gaaaagggtc aaatgcgga aatcctggac aaacagcaga agcagatggt ggaggactac 2700
cagtggctca ggcaggagga gaagtccctg gaccccatgg tttatatgaa tgataagtcc 2760
ccattgacgc cagagaagga ggtcggctac ctggagtcca cagggccccc acagaagccc 2820
ccgaggctgg gcgcacagtc catccagccc acagctaacc tggaccggac cgatgacctg 2880
gtgtacctca atgtcatgga gctggtgcgg gccgtgctgg agctcaagaa tgagctctgt 2940
cagctgcccc ccgaggggcta cgtggtggtg gtgaagaatg tggggctgac cctgcggaag 3000
ctcatcgga gcgtggatga tctctgcct tcttgcctg catcttcacg gacagagatc 3060
gagggcacc agaaactgct caacaaagac ctggcagagc tcatcaacaa gatgcggctg 3120
gcgcagcaga acgcctgac ctccctgagt gaggagtga agaggcagat gctgacggct 3180
tcacacaccc tggctgtgga cgccagaac ctgctcgacg ctgtggacca ggccaagggt 3240
ctggccaatc tggcccacc acctgcagag tgacggaggg tggggccacc tgctgcgtc 3300
ttcgccctg cctgccaatg ccttgcctg ccactttgca cgacgcctc tccccaccc 3360
gagaaggcca aggggagtca ccttcccttg cacttttga cgacgcctc tccccaccc 3420

```

10

20

30

40

```

tacccttggc tgtactgctc aggcctgcagc tggacagagg ggactctggg ctatggacac 3480
aggggtgacgg tgacaaagat ggctcagagg gggactgctg ctgcctggcc actgctccct 3540
aagccagcct ggcccatgca gggggctcct ggggggtggg aggtgtcaca tgggtgccct 3600
agcttttatat atggacatgg caggccgatt tgggaaccaa gctattcctt tccttcctc 3660
ttcgccctc agatgtccct tgatgcacag agaagctggg gaggagcttt gttttggggg 3720
tcaggcagcc agtgagatga gggatgggcc tggcattctt gtacagtgtg tattgaaatt 3780
tatttaaatgt gagtttggtc tggactgaca gcatgtgccc tctgaggga ggacctgggg 3840
cacagtccag gaacaagcta attgggagtc caggcacagg atgctgtgtt gtcaacaaac 3900
caagcatcag ggggaagaag cagagagatg cggccaagat aggaccttgg gccaaatccg 3960
ctctcttctt gccctcttt ctctttcttc ctttactttt ccttgctttt cctcttttc 4020
ttactctctc tctttctctc cccaaccccc attctcatct gcaccttct tttctcatgt 4080
gtttgcataa acattctttt aacttctttc tatttgactt gtggttgaat taaaattgtc 4140
ccatttgctt g 4151

```

<210> 8
 <211> 3030
 <212> DNA
 <213> Homo Sapiens

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)...(3030)

```

<400> 8
atg tct ggg gtg tcc gag ccc ctg agt cga gta aag ttg ggc acg tta 48
Met Ser Gly Val Ser Glu Pro Leu Ser Arg Val Lys Leu Gly Thr Leu
1 5 10 15

cgc cgg cct gaa ggc cct gga gag ccc atg gtg gtg gta cca gta gat 96
Arg Arg Pro Glu Gly Pro Gly Glu Pro Met Val Val Val Pro Val Asp
20 25 30

gtg gaa aag gag gac gtg cgt atc ctc aag gtc tgc ttc tat agc aac 144
Val Glu Lys Glu Asp Val Arg Ile Leu Lys Val Cys Phe Tyr Ser Asn
35 40 45

agc ttc aat cct ggg aaa aac ttc aaa ctg gtc aaa tgc act gtc cag 192
Ser Phe Asn Pro Gly Lys Asn Phe Lys Leu Val Lys Cys Thr Val Gln
50 55 60

acg gag atc cgg gag atc atc acc tcc atc ctg ctg agc ggg cgg atc 240
Thr Glu Ile Arg Glu Ile Ile Thr Ser Ile Leu Leu Ser Gly Arg Ile
65 70 75 80

ggg ccc aac atc cgg ttg gct gag tgc tat ggg ctg agg ctg aag cac 288
Gly Pro Asn Ile Arg Leu Ala Glu Cys Tyr Gly Leu Arg Leu Lys His
85 90 95

atg aag tcc gat gag atc cac tgg ctg cac cca cag atg aca gtg ggt 336
Met Lys Ser Asp Glu Ile His Trp Leu His Pro Gln Met Thr Val Gly
100 105 110

gag gtg cag gac aag tat gag tgt ctg cac gtg gaa gcc gag tgg agg 384
Glu Val Gln Asp Lys Tyr Glu Cys Leu His Val Glu Ala Glu Trp Arg
115 120 125

tat gac ctt caa atc cgc tac ttg cca gaa gac ttc atg gag agc ctg 432
Tyr Asp Leu Gln Ile Arg Tyr Leu Pro Glu Asp Phe Met Glu Ser Leu
130 135 140

aag gag gac agg acc acg ctg ctc tat ttt tac caa cag ctc cgg aac 480
Lys Glu Asp Arg Thr Thr Leu Leu Tyr Phe Tyr Gln Gln Leu Arg Asn

```

10

20

30

40

145	150	155	160	
gac tac atg cag cgc tac gcc agc aag gtc agc gag ggc atg gcc ctg				528
Asp Tyr Met Gln Arg Tyr Ala Ser Lys Val Ser Glu Gly Met Ala Leu	165	170	175	
cag ctg ggc tgc ctg gag ctc agg cgg ttc ttc aag gat atg ccc cac				576
Gln Leu Gly Cys Leu Glu Leu Arg Arg Phe Phe Lys Asp Met Pro His	180	185	190	
aat gca ctt gac aag aag tcc aac ttc gag ctc cta gaa aag gaa gtg				624
Asn Ala Leu Asp Lys Lys Ser Asn Phe Glu Leu Leu Glu Lys Glu Val	195	200	205	
ggg ctg gac ttg ttt ttc cca aag cag atg cag gag aac tta aag ccc				672
Gly Leu Asp Leu Phe Phe Pro Lys Gln Met Gln Glu Asn Leu Lys Pro	210	215	220	
aaa cag ttc cgg aag atg atc cag cag acc ttc cag cag tac gcc tcg				720
Lys Gln Phe Arg Lys Met Ile Gln Gln Thr Phe Gln Gln Tyr Ala Ser	225	230	235	240
ctc agg gag gag gag tgc gtc atg aag ttc ttc aac act ctc gcc ggc				768
Leu Arg Glu Glu Glu Cys Val Met Lys Phe Phe Asn Thr Leu Ala Gly	245	250	255	
ttc gcc aac atc gac cag gag acc tac cgc tgt gaa ctc att caa gga				816
Phe Ala Asn Ile Asp Gln Glu Thr Tyr Arg Cys Glu Leu Ile Gln Gly	260	265	270	
tgg aac att act gtg gac ctg gtc att ggc cct aaa ggg atc cgc cag				864
Trp Asn Ile Thr Val Asp Leu Val Ile Gly Pro Lys Gly Ile Arg Gln	275	280	285	
ctg act agt cag gac gca aag ccc acc tgc ctg gcc gag ttc aag cag				912
Leu Thr Ser Gln Asp Ala Lys Pro Thr Cys Leu Ala Glu Phe Lys Gln	290	295	300	
atc agg tcc atc agg tgc ctc ccg ctg gag gag ggc cag gca gta ctt				960
Ile Arg Ser Ile Arg Cys Leu Pro Leu Glu Glu Gly Gln Ala Val Leu	305	310	315	320
cag ctg ggc att gaa ggt gcc ccc cag gcc ttg tcc atc aaa acc tca				1008
Gln Leu Gly Ile Glu Gly Ala Pro Gln Ala Leu Ser Ile Lys Thr Ser	325	330	335	
tcc cta gca gag gct gag aac atg gct gac ctc ata gac ggc tac tgc				1056
Ser Leu Ala Glu Ala Glu Asn Met Ala Asp Leu Ile Asp Gly Tyr Cys	340	345	350	
cgg ctg cag ggt gag cac caa ggc tct ctc atc atc cat cct agg aaa				1104
Arg Leu Gln Gly Glu His Gln Gly Ser Leu Ile Ile His Pro Arg Lys	355	360	365	
gat ggt gag aag cgg aac agc ctg ccc cag atc ccc atg cta aac ctg				1152
Asp Gly Glu Lys Arg Asn Ser Leu Pro Gln Ile Pro Met Leu Asn Leu	370	375	380	
gag gcc cgg cgg tcc cac ctc tca gag agc tgc agc ata gag tca gac				1200
Glu Ala Arg Arg Ser His Leu Ser Glu Ser Cys Ser Ile Glu Ser Asp	385	390	395	400

10

20

30

40

atc tac gca gag att ccc gac gaa acc ctg cga agg ccc gga ggt cca 1248
 Ile Tyr Ala Glu Ile Pro Asp Glu Thr Leu Arg Arg Pro Gly Gly Pro
 405 410 415
 cag tat ggc att gcc cgt gaa gat gtg gtc ctg aat cgt att ctt ggg 1296
 Gln Tyr Gly Ile Ala Arg Glu Asp Val Val Leu Asn Arg Ile Leu Gly
 420 425 430
 gaa ggc ctt ttt ggg gag gtc tat gaa ggt gtc tac aca aat cat aaa 1344
 Glu Gly Leu Phe Gly Glu Val Tyr Glu Gly Val Tyr Thr Asn His Lys
 435 440 445
 ggg gag aaa atc aat gta gct gtc aag acc tgc aag aaa gac tgc act 1392
 Gly Glu Lys Ile Asn Val Ala Val Lys Thr Cys Lys Lys Asp Cys Thr
 450 455 460
 ctg gac aac aag gag aag ttc atg agc gag gca gtg atc atg aag aac 1440
 Leu Asp Asn Lys Glu Lys Phe Met Ser Glu Ala Val Ile Met Lys Asn
 465 470 475 480
 ctc gac cac ccg cac atc gtg aag ctg atc ggc atc att gaa gag gag 1488
 Leu Asp His Pro His Ile Val Lys Leu Ile Gly Ile Ile Glu Glu Glu
 485 490 495
 ccc acc tgg atc atc atg gaa ttg tat ccc tat ggg gag ctg ggc cac 1536
 Pro Thr Trp Ile Ile Met Glu Leu Tyr Pro Tyr Gly Glu Leu Gly His
 500 505 510
 tac ctg gag cgg aac aag aac tcc ctg aag gtg ctc acc ctc gtg ctg 1584
 Tyr Leu Glu Arg Asn Lys Asn Ser Leu Lys Val Leu Thr Leu Val Leu
 515 520 525
 tac tca ctg cag ata tgc aaa gcc atg gcc tac ctg gag agc atc aac 1632
 Tyr Ser Leu Gln Ile Cys Lys Ala Met Ala Tyr Leu Glu Ser Ile Asn
 530 535 540
 tgc gtg cac agg gac att gct gtc cgg aac atc ctg gtg gcc tcc cct 1680
 Cys Val His Arg Asp Ile Ala Val Arg Asn Ile Leu Val Ala Ser Pro
 545 550 555 560
 gag tgt gtg aag ctg ggg gac ttt ggt ctt tcc cgg tac att gag gac 1728
 Glu Cys Val Lys Leu Asp Phe Gly Leu Ser Arg Tyr Ile Glu Asp
 565 570 575
 gag gac tat tac aaa gcc tct gtg act cgt ctc ccc atc aaa tgg atg 1776
 Glu Asp Tyr Tyr Lys Ala Ser Val Thr Arg Leu Pro Ile Lys Trp Met
 580 585 590
 tcc cca gag tcc att aac ttc cga cgc ttc acg aca gcc agt gac gtc 1824
 Ser Pro Glu Ser Ile Asn Phe Arg Arg Phe Thr Thr Ala Ser Asp Val
 595 600 605
 tgg atg ttc gcc gtg tgc atg tgg gag atc ctg agc ttt ggg aag cag 1872
 Trp Met Phe Ala Val Cys Met Trp Glu Ile Leu Ser Phe Gly Lys Gln
 610 615 620
 ccc ttc ttc tgg ctg gag aac aag gat gtc atc ggg gtg ctg gag aaa 1920
 Pro Phe Phe Trp Leu Glu Asn Lys Asp Val Ile Gly Val Leu Glu Lys
 625 630 635 640
 gga gac cgg ctg ccc aag cct gat ctc tgt cca ccg gtc ctt tat acc 1968
 Gly Asp Arg Leu Pro Lys Pro Asp Leu Cys Pro Pro Val Leu Tyr Thr

10

20

30

40

645	650	655	
ctc atg acc cgc tgc tgg gac tac gac ccc agt gac cgg ccc cgc ttc	2016		
Leu Met Thr Arg Cys Trp Asp Tyr Asp Pro Ser Asp Arg Pro Arg Phe			
660 665 670			
acc gag ctg gtg tgc agc ctc agt gac gtt tat cag atg gag aag gac	2064		
Thr Glu Leu Val Cys Ser Leu Ser Asp Val Tyr Gln Met Glu Lys Asp			
675 680 685			
att gcc atg gag caa gag agg aat gct cgc tac cga acc ccc aaa atc	2112		
Ile Ala Met Glu Gln Glu Arg Asn Ala Arg Tyr Arg Thr Pro Lys Ile			
690 695 700			
ttg gag ccc aca gcc ttc cag gaa ccc cca ccc aag ccc agc cga cct	2160		
Leu Glu Pro Thr Ala Phe Gln Glu Pro Pro Pro Lys Pro Ser Arg Pro			
705 710 715 720			
aag tac aga ccc cct ccg caa acc aac ctc ctg gct cca aag ctg cag	2208		
Lys Tyr Arg Pro Pro Pro Gln Thr Asn Leu Leu Ala Pro Lys Leu Gln			
725 730 735			
ttc cag gtt cct gag ggt ctg tgt gcc agc tct cct acg ctc acc agc	2256		
Phe Gln Val Pro Glu Gly Leu Cys Ala Ser Ser Pro Thr Leu Thr Ser			
740 745 750			
cct atg gag tat cca tct ccc gtt aac tca ctg cac acc cca cct ctc	2304		
Pro Met Glu Tyr Pro Ser Pro Val Asn Ser Leu His Thr Pro Pro Leu			
755 760 765			
cac cgg cac aat gtc ttc aaa cgc cac agc atg cgg gag gag gac ttc	2352		
His Arg His Asn Val Phe Lys Arg His Ser Met Arg Glu Glu Asp Phe			
770 775 780			
atc caa ccc agc agc cga gaa gag gcc cag cag ctg tgg gag gct gaa	2400		
Ile Gln Pro Ser Ser Arg Glu Glu Ala Gln Gln Leu Trp Glu Ala Glu			
785 790 795 800			
aag gtc aaa atg cgg caa atc ctg gac aaa cag cag aag cag atg gtg	2448		
Lys Val Lys Met Arg Gln Ile Leu Asp Lys Gln Gln Lys Gln Met Val			
805 810 815			
gag gac tac cag tgg ctc agg cag gag gag aag tcc ctg gac ccc atg	2496		
Glu Asp Tyr Gln Trp Leu Arg Gln Glu Glu Lys Ser Leu Asp Pro Met			
820 825 830			
gtt tat atg aat gat aag tcc cca ttg acg cca gag aag gag gtc ggc	2544		
Val Tyr Met Asn Asp Lys Ser Pro Leu Thr Pro Glu Lys Glu Val Gly			
835 840 845			
tac ctg gag ttc aca ggg ccc cca cag aag ccc ccg agg ctg ggc gca	2592		
Tyr Leu Glu Phe Thr Gly Pro Pro Gln Lys Pro Pro Arg Leu Gly Ala			
850 855 860			
cag tcc atc cag ccc aca gct aac ctg gac cgg acc gat gac ctg gtg	2640		
Gln Ser Ile Gln Pro Thr Ala Asn Leu Asp Arg Thr Asp Asp Leu Val			
865 870 875 880			
tac ctc aat gtc atg gag ctg gtg cgg gcc gtg ctg gag ctc aag aat	2688		
Tyr Leu Asn Val Met Glu Leu Val Arg Ala Val Leu Glu Leu Lys Asn			
885 890 895			

10

20

30

40

gag ctc tgt cag ctg ccc ccc gag ggc tac gtg gtg gtg gtg aag aat 2736
 Glu Leu Cys Gln Leu Pro Pro Glu Gly Tyr Val Val Val Val Lys Asn
 900 905 910

gtg ggg ctg acc ctg cgg aag ctc atc ggg agc gtg gat gat ctc ctg 2784
 Val Gly Leu Thr Leu Arg Lys Leu Ile Gly Ser Val Asp Asp Leu Leu
 915 920 925

cct tcc ttg ccg tca tct tca cgg aca gag atc gag ggc acc cag aaa 2832
 Pro Ser Leu Pro Ser Ser Ser Arg Thr Glu Ile Glu Gly Thr Gln Lys
 930 935 940

ctg ctc aac aaa gac ctg gca gag ctc atc aac aag atg cgg ctg gcg 2880
 Leu Leu Asn Lys Asp Leu Ala Glu Leu Ile Asn Lys Met Arg Leu Ala
 945 950 955 960

10

cag cag aac gcc gtg acc tcc ctg agt gag gag tgc aag agg cag atg 2928
 Gln Gln Asn Ala Val Thr Ser Leu Ser Glu Glu Cys Lys Arg Gln Met
 965 970 975

ctg acg gct tca cac acc ctg gct gtg gac gcc aag aac ctg ctc gac 2976
 Leu Thr Ala Ser His Thr Leu Ala Val Asp Ala Lys Asn Leu Leu Asp
 980 985 990

gct gtg gac cag gcc aag gtt ctg gcc aat ctg gcc cac cca cct gca 3024
 Ala Val Asp Gln Ala Lys Val Leu Ala Asn Leu Ala His Pro Pro Ala
 995 1000 1005

gag tga 3030
 Glu *

20

<210> 9

<211> 1009

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 9

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

30

40

40

```

        675                680                685
Ile Ala Met Glu Gln Glu Arg Asn Ala Arg Tyr Arg Thr Pro Lys Ile
        690                695                700
Leu Glu Pro Thr Ala Phe Gln Glu Pro Pro Pro Lys Pro Ser Arg Pro
705                710                715                720
Lys Tyr Arg Pro Pro Gln Thr Asn Leu Leu Ala Pro Lys Leu Gln
        725                730                735
Phe Gln Val Pro Glu Gly Leu Cys Ala Ser Ser Pro Thr Leu Thr Ser
        740                745                750
Pro Met Glu Tyr Pro Ser Pro Val Asn Ser Leu His Thr Pro Pro Leu
        755                760                765
His Arg His Asn Val Phe Lys Arg His Ser Met Arg Glu Glu Asp Phe
        770                775                780
Ile Gln Pro Ser Ser Arg Glu Glu Ala Gln Gln Leu Trp Glu Ala Glu
785                790                795                800
Lys Val Lys Met Arg Gln Ile Leu Asp Lys Gln Gln Lys Gln Met Val
        805                810                815
Glu Asp Tyr Gln Trp Leu Arg Gln Glu Glu Lys Ser Leu Asp Pro Met
        820                825                830
Val Tyr Met Asn Asp Lys Ser Pro Leu Thr Pro Glu Lys Glu Val Gly
        835                840                845
Tyr Leu Glu Phe Thr Gly Pro Pro Gln Lys Pro Pro Arg Leu Gly Ala
        850                855                860
Gln Ser Ile Gln Pro Thr Ala Asn Leu Asp Arg Thr Asp Asp Leu Val
765                870                875                880
Tyr Leu Asn Val Met Glu Leu Val Arg Ala Val Leu Glu Leu Lys Asn
        885                890                895
Glu Leu Cys Gln Leu Pro Pro Glu Gly Tyr Val Val Val Val Lys Asn
        900                905                910
Val Gly Leu Thr Leu Arg Lys Leu Ile Gly Ser Val Asp Asp Leu Leu
        915                920                925
Pro Ser Leu Pro Ser Ser Ser Arg Thr Glu Ile Glu Gly Thr Gln Lys
        930                935                940
Leu Leu Asn Lys Asp Leu Ala Glu Leu Ile Asn Lys Met Arg Leu Ala
745                950                955                960
Gln Gln Asn Ala Val Thr Ser Leu Ser Glu Glu Cys Lys Arg Gln Met
        965                970                975
Leu Thr Ala Ser His Thr Leu Ala Val Asp Ala Lys Asn Leu Leu Asp
        980                985                990
Ala Val Asp Gln Ala Lys Val Leu Ala Asn Leu Ala His Pro Pro Ala
        995                1000                1005
Glu

```

10

20

```

<210> 10
<211> 6574
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

```

30

```

<400> 10
agagccgcca gtgggggagat gttgaagttc aaatatggag cgcggaatcc tttggatgct 60
gggtgctgctg aacccattgc cagccggggc tccaggtcga atctgttctt ccaggggaaa 120
ccacccttta tgactcaaca gcagatgtct cctctttccc gagaagggat attagatgcc 180
ctctttgttc tctttgaaga atgcagtcag cctgctctga tgaagattaa gcacgtgagc 240
aactttgtcc ggaagtattc cgacaccata gctgagttac aggagctcca gccttcggca 300
aaggacttcg aagtcagaag tctgttaggt tgtggtcact ttgctgaagt gcaggtggta 360
agagagaaag caaccgggga catctatgct atgaaagtga tgaagaagaa ggctttattg 420
gcccaggagc aggttttcatt ttttgaggaa gagcgggaaca tattatctcg aagcacaagc 480
ccgtggatcc cccaattaca gtatgccttt caggacaaaa atcaccttta tctgatggag 540
gaatatcagc ctggagggga cttgctgtca cttttgaata gatatgagga ccagttagat 600
gaaaacctga tacagtttta cctagctgag ctgatttttg ctgttcacag cgttcatctg 660

```

40

atgggatacg tgcacatgaga catcaagcct gagaacattc tcgttgaccg cacaggacac 720
 atcaagctgg tggatttttg atctgccgag aaaatgaatt caaacaagat ggtgaatgcc 780
 aaactccccg ttgggacccc agattacatg gctcctgaag tgctgactgt gatgaacggg 840
 gatggaaaag gcacctacgg cctggactgt gactggtggt cagtgggctg gattgcctat 900
 gagatgattt atgggagatc ccccttcgca gagggaaact ctgccagaac cttcaataac 960
 attatgaatt tccagcgggt tttgaaatct ccagatgacc ccaaagttag cagtgaactt 1020
 ctgatctga tccaagcgt gttgtgcggc cagaaagaga gactgaagtt tgaaggtctt 1080
 tgctgccatc cttctctctc taaaattgac tggacaaca ttcgtaactc tccctcccc 1140
 ttcgttccca cctccaagtc tgacgatgac acctccaatt ttgatgaacc agagaagaat 1200
 tcgtgggttt catcctctcc gtgccagctg agccctcag gcttctcggg tgaagaactg 1260
 ccgtttgttg ggttttcgta cagcaaggca ctggggattc ttggtagatc tgagtctgtt 1320
 gtgtcgggtc tggactcccc tgccaagact agctccatgg aaaagaaact tctcatcaa 1380
 agcaaagagc tacaagactc tcaggacaag tgtcacaaga tggagcagga aatgaccctg 1440
 ttacatcgga gagtgtcaga ggtggagggt gtgcttagtc agaaggaggt ggagctgaag 1500
 gcctctgaga ctccagagtc cctcctggag caggaccttg ctacctacat cacagaatgc 1560
 agtagcttaa agtcaagttt ggagcaagca cggatggagg tgtccagga ggatgacaaa 1620
 gcactgcagc tctccatga tatcagagag cagagccgga agctccaaga aatcaaagag 1680
 caggagtacc aggtccaagt ggaagaaatg aggttgatga tgaatcagtt ggaagaggat 1740
 cttgtctcag caagaagacg gagtgtatct tacgaatctg agctgagaga gtctcggctt 1800
 gctgtgaag aattcaagcg gaaagcgaca gaatgtcagc ataaactgtt gaaggtctaa 1860
 gatcaaggga agcctgaagt gggagaatat gcgaaactgg agaagatcaa tgctgagcag 1920
 cagctcaaaa ttcaggagct ccaagagaaa ctggagaagg ctgcaaaagg gcgagccgag 1980
 agggagctgg agaagctgca gaaccgagag gattctctctg aaggcatcag aaagaagctg 2040
 gtggaagctg aggaacgccc ccattctctg gagaacaagg taaagagact agagaccatg 2100
 gagcgtagag aaaacagact gaaggatgac atccagacaa aatcccaaca gatccagcag 2160
 atggctgata aaattctgga gctcgaagag aaacatcggg aggcccaagt ctacgcccag 2220
 cacctagaag tgcacctgaa acagaaagag cagcactatg aggaaaagat taaagtgttg 2280
 gacaatcaga taaagaaaga cctggctgac aaggagacac tggagaacat gatgcagaga 2340
 cagcaggagg aggcccatga attctcagcg aacagaagcg gatgatcaat 2400
 gctatggatt ccaagatcag atccctggaa cagaggattg tggaaactgtc tgaagccaat 2460
 aaacttgtag caaatagcag tctttttacc caaaggaaac tgaaggccca agaagagatg 2520
 atttctgaac tcaggcaaca gaaattttac ctggagacac aggtctggga gttggaggcc 2580
 cagaacggaa aactggagga gcagctggag aagatcagcc accaagacca cagtgaacag 2640
 aatcggctgc tggaaactga gacaaagatt cgagggtca gcttagagca cgaggagcag 2700
 aaactggagc tcaagcgcca gctcacagag ctacagctct cctgcagga gcgcgagtc 2760
 cagttgacag cctgcagggc tgcacgggag gccctggaga gccagcttcg ccaggcgaag 2820
 acagagctgg aagagaccac agcagaagct gaagaggaga tccaggcact cacggcacat 2880
 agagatgaaa tccagcgcaa atttgatgct ctctgttaaca gctgtactgt aatcacagac 2940
 ctggaggagc agctaaacca gctgaccgag gacaacgctg aactcaacaa ccaaaacttc 3000
 tacttgtcca aacaactcga tgaggcttct ggcgccaacg acgagattgt acaactgcga 3060
 agtgaagtgg accatctccg ccgggagatc acggaacgag agatgcagct taccagccag 3120
 aagcaaacga tggaggctct gaagaccacg tgcaccatgc tggaggaaca ggtcatggt 3180
 ttggaggccc taaacgatga gctgctagaa aaagagcggc agtgggaggc ctggaggagc 3240
 gtctcgggtg atgagaaatc ccagtttgag tgtcgggttc gagagctgca gagaatgctg 3300
 gacaccgaga aacagagcag ggcgagagcc gatcagcgga tcaccgagtc tcgccagggt 3360
 gtggagctgg cagtgaagga gcacaaggct gagattctctg ctctgcagca ggctctcaa 3420
 gagcagaagc tgaaggccga gacctctct gacaagctca atgacctgga gaagaagcat 3480
 gctatgcttg aaatgaatgc ccgaagctta cagcagaagc tggagactga acgagagctc 3540
 aaacagaggc ttctggaaga gcaagccaaa ttacagcagc agatggacct gcagaaaaat 3600
 cacatcttcc gtctgactca aggactgcaa gaagctctag atcgggctga tctactgaag 3660
 acagaaagaa gtgacttgga gtatcagctg gaaaacattc aggttctcta tctcatgaa 3720
 aagggtgaaa tggaaaggac tatctctcaa caaaccacac tcattgattt tctgcaagcc 3780
 aaaatggacc aacctgctaa aaagaaaaag ggtttattta gtgcacggaa agaggaccct 3840
 gctttaccca cacagggttc tctgcagtac aatgagctga agctggccct ggagaaggag 3900
 aaagctcgtc gtgcagagct agagggaagc ctccagaaga ccgcacatga gctccgggtc 3960
 gcccgaggag aagctgcccc ccgcaaagca acggaccacc cacaccatc cacgccagcc 4020
 acccgaggag agcagatcgc catgtccgcc atcgtgcggg cgcagagaca ccagcccagt 4080
 gccatgagcc tgctggcccc gccatccagc cgcagaaagg agtcttcaac tccagaggaa 4140
 tttagtcggc gtcttaagga acgcatgcac cacaatatc ctaccgatt caacgtagga 4200
 ctgaacatgc gagccacaaa gtgtgctgtg tgtctggata ccgtgcactt tggacgccc 4260
 gcatccaaat gtctcgaatg tcagggtgat tgtcacccca agtgcctcac gtgcttgcca 4320
 gccacctgag gcttgctgac tgaatatgcc acacacttca ccgaggcctt ctgccgtgac 4380

10

20

30

40

```

aaaatgaact ccccaggctt ccagaccaag gagcccagca gcagcttgca cctggaaggg 4440
tggatgaagg tgcccaggaa taacaaacga ggacagcaag gctgggacag gaagtacatt 4500
gtcctggagg gatcaaaagt cctcatttat gacaatgaag ccagagaagc tggacagagg 4560
ccggtggaag aatttgagct gtgccttccc gacggggatg tatctattca tggtgccgtt 4620
ggtgcttccg aactcgcaaa tacagccaaa gcagaaaaag cagaagctga tgctaaactg 4680
cttggaact cctgctgaa actggaaggt gatgaccgtc tagacatgaa ctgcacgctg 4740
cccttcagtg accaggtggt gttggtgggc accgaggaag ggctctacgc cctgaatgtc 4800
ttgaaaaact cctaacccta tgtcccagga attggagcag tcttccaaat ttatattatc 4860
aaggacctgg agaagctact catgatagca ggagaagagc gggcactgtg tcttgtggac 4920
gtgaagaaag tgaacagtc cctggcccag tcccacctgc ctgcccagcc cgacatctca 4980
cccaacattt ttgaagctgt caagggtgc cacttgtttg gggcaggcaa gattgagaac 5040
gggctctgca tctgtgcagc catgcccagc aaagtctgca ttctccgcta caacgaaaac 5100
ctcagcaaat actgcatccg gaaagagata gagacctcag agccctgcag ctgtatccac 5160
ttcaccaatt acagtatcct cattggaacc aataaattct acgaaatcga catgaagcag 5220
tacacgctcg aggaattcct ggataagaat gaccattcct tggcacctgc tgtgtttgcc 5280
gcctcttcca acagcttccc tgtctcaatc gtgcaggtga acagcgcagg gcagcgagag 5340
gagtacttgc tgtgtttcca cgaatttgga gtgttctgtg attcttacgg aagacgtagc 5400
cgcacagacg atctcaagtg gagtgcctta cctttggcct ttgcctacag agaaccctat 5460
ctgtttgtga ccacttcaa ctcaactgaa gtaattgaga tccaggcacg ctctcagca 5520
gggaacccctg ccgagcgta cctggacatc ccgaacccgc gctacctggg ccctgccatt 5580
tcctcaggag cgatttactt ggcgtctca taccaggata aattaagggt catttgctgc 5640
aagggaaacc tctgtaagga gtccggcact gaacaccacc ggggcccgtc caccctccgc 5700
agcagcccca acaagcgagg cccaccacg tacaacgagc acatcaccaa gcgcgtggcc 5760
tccagccctg ccgcgcccga aggccccagc caccgcgag agccaagcac accccaccgc 5820
taccgcgagg ggcggaccga gctgcgcagg gacaagtctc ctggccgccc cctggagcga 5880
gagaagtcce ccggccggat gctcagcacg cggagagagc ggtcccccgg gaggtgttt 5940
gaagacagca gcaggggccc gctgcctgcg ggagccgtga ggacccgct gtcccagggt 6000
aacaagggaa gagggcagag tgctcttcaa gttttcacgg ttaacactgt cacctattat 6060
gactggaata aaaagctgga caacctgccg gctaactggg cagtcctgag gatcatccag 6120
ctgaatggag aaatccggca gcaggttgaa aagtctgttc tgagaacaga ttattgtgta 6180
gcagagtcca tgtgacttct agacgtggtg acttaaaaaa tggccttaag gctgcagagc 6240
cagccacctc tgcctacaaa aagagtactt agtgcacatg actgtaagaa acaattgtaa 6300
aacctcatct agaaatcaga aagcttctaa ttcttataga aatgacacct ccctggagcc 6360
gagagacaat ctgttggtga ttttgaagga caggcaagac caacactgta tttagttcca 6420
tagccaggcc tcaacaggga caagtggctg gccttaaaaa cacacagatg actggaaatg 6480
atgtgtggcc tcagtcctctg tttccagaa ttttactggc aaaggagtta gcattcattt 6540
ttggcttaag aaaaatcgag aatgtaggtt taga 6574

```

```

<210> 11
<211> 6162
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

```

```

<220>
<221> CDS
<222> (1)...(6162)

```

```

<400> 11
atg ttg aag ttc aaa tat gga gcg cgg aat cct ttg gat gct ggt gct 48
Met Leu Lys Phe Lys Tyr Gly Ala Arg Asn Pro Leu Asp Ala Gly Ala
1 5 10 15

gct gaa ccc att gcc agc cgg gcc tcc agg ctg aat ctg ttc ttc cag 96
Ala Glu Pro Ile Ala Ser Arg Ala Ser Arg Leu Asn Leu Phe Phe Gln
20 25 30

ggg aaa cca ccc ttt atg act caa cag cag atg tct cct ctt tcc cga 144
Gly Lys Pro Pro Phe Met Thr Gln Gln Gln Met Ser Pro Leu Ser Arg
35 40 45

gaa ggg ata tta gat gcc ctc ttt gtt ctc ttt gaa gaa tgc agt cag 192
Glu Gly Ile Leu Asp Ala Leu Phe Val Leu Phe Glu Glu Cys Ser Gln

```

10

20

30

40

50	55	60	
cct gct ctg atg aag att aag cac gtg agc aac ttt gtc cgg aag tat	240		
Pro Ala Leu Met Lys Ile Lys His Val Ser Asn Phe Val Arg Lys Tyr			
65 70 75 80			
tcc gac acc ata gct gag tta cag gag ctc cag cct tcg gca aag gac	288		
Ser Asp Thr Ile Ala Glu Leu Gln Glu Leu Gln Pro Ser Ala Lys Asp			
85 90 95			
ttc gaa gtc aga agt ctt gta ggt tgt ggt cac ttt gct gaa gtg cag	336		
Phe Glu Val Arg Ser Leu Val Gly Cys Gly His Phe Ala Glu Val Gln			
100 105 110			
gtg gta aga gag aaa gca acc ggg gac atc tat gct atg aaa gtg atg	384		
Val Val Arg Glu Lys Ala Thr Gly Asp Ile Tyr Ala Met Lys Val Met			
115 120 125			
aag aag aag gct tta ttg gcc cag gag cag gtt tca ttt ttt gag gaa	432		
Lys Lys Lys Ala Leu Leu Ala Gln Glu Gln Val Ser Phe Phe Glu Glu			
130 135 140			
gag cgg aac ata tta tct cga agc aca agc ccg tgg atc ccc caa tta	480		
Glu Arg Asn Ile Leu Leu Arg Ser Thr Ser Pro Trp Ile Pro Gln Leu			
145 150 155 160			
cag tat gcc ttt cag gac aaa aat cac ctt tat ctg atg gag gaa tat	528		
Gln Tyr Ala Phe Gln Asp Lys Asn His Leu Tyr Leu Met Glu Glu Tyr			
165 170 175			
cag cct gga ggg gac ttg ctg tca ctt ttg aat aga tat gag gac cag	576		
Gln Pro Gly Gly Asp Leu Leu Ser Leu Leu Asn Arg Tyr Glu Asp Gln			
180 185 190			
tta gat gaa aac ctg ata cag ttt tac cta gct gag ctg att ttg gct	624		
Leu Asp Glu Asn Leu Ile Gln Phe Tyr Leu Ala Glu Leu Ile Leu Ala			
195 200 205			
gtt cac agc gtt cat ctg atg gga tac gtg cat cga gac atc aag cct	672		
Val His Ser Val His Leu Met Gly Tyr Val His Arg Asp Ile Lys Pro			
210 215 220			
gag aac att ctc gtt gac cgc aca gga cac atc aag ctg gtg gat ttt	720		
Glu Asn Ile Leu Val Asp Arg Thr Gly His Ile Lys Leu Val Asp Phe			
225 230 235 240			
gga tct gcc gcg aaa atg aat tca aac aag atg gtg aat gcc aaa ctc	768		
Gly Ser Ala Ala Lys Met Asn Ser Asn Lys Met Val Asn Ala Lys Leu			
245 250 255			
ccg att ggg acc cca gat tac atg gct cct gaa gtg ctg act gtg atg	816		
Pro Ile Gly Thr Pro Asp Tyr Met Ala Pro Glu Val Leu Thr Val Met			
260 265 270			
aac ggg gat gga aaa ggc acc tac ggc ctg gac tgt gac tgg tgg tca	864		
Asn Gly Asp Gly Lys Gly Thr Tyr Gly Leu Asp Cys Asp Trp Trp Ser			
275 280 285			
gtg ggc gtg att gcc tat gag atg att tat ggg aga tcc ccc ttc gca	912		
Val Gly Val Ile Ala Tyr Glu Met Ile Tyr Gly Arg Ser Pro Phe Ala			
290 295 300			

10

20

30

40

gag gga acc tct gcc aga acc ttc aat aac att atg aat ttc cag cgg 960
 Glu Gly Thr Ser Ala Arg Thr Phe Asn Asn Ile Met Asn Phe Gln Arg
 305 310 315 320

ttt ttg aaa ttt cca gat gac ccc aaa gtg agc agt gac ttt ctt gat 1008
 Phe Leu Lys Phe Pro Asp Asp Pro Lys Val Ser Ser Asp Phe Leu Asp
 325 330 335

ctg att caa agc ttg ttg tgc ggc cag aaa gag aga ctg aag ttt gaa 1056
 Leu Ile Gln Ser Leu Leu Cys Gly Gln Lys Glu Arg Leu Lys Phe Glu
 340 345 350

ggt ctt tgc tgc cat cct ttc ttc tct aaa att gac tgg aac aac att 1104
 Gly Leu Cys Cys His Pro Phe Phe Ser Lys Ile Asp Trp Asn Asn Ile
 355 360 365

cgt aac tct cct ccc ccc ttc gtt ccc acc ctc aag tct gac gat gac 1152
 Arg Asn Ser Pro Pro Pro Phe Val Pro Thr Leu Lys Ser Asp Asp Asp
 370 375 380

acc tcc aat ttt gat gaa cca gag aag aat tgc tgg gtt tca tcc tct 1200
 Thr Ser Asn Phe Asp Glu Pro Glu Lys Asn Ser Trp Val Ser Ser Ser
 385 390 395 400

ccg tgc cag ctg agc ccc tca ggc ttc tgc ggt gaa gaa ctg ccg ttt 1248
 Pro Cys Gln Leu Ser Pro Ser Gly Phe Ser Gly Glu Glu Leu Pro Phe
 405 410 415

gtg ggg ttt tgc tac agc aag gca ctg ggg att ctt ggt aga tct gag 1296
 Val Gly Phe Ser Tyr Ser Lys Ala Leu Gly Ile Leu Gly Arg Ser Glu
 420 425 430

tct gtt gtg tgc ggt ctg gac tcc cct gcc aag act agc tcc atg gaa 1344
 Ser Val Val Ser Gly Leu Asp Ser Pro Ala Lys Thr Ser Ser Met Glu
 435 440 445

aag aaa ctt ctc atc aaa agc aaa gag cta caa gac tct cag gac aag 1392
 Lys Lys Leu Leu Ile Lys Ser Lys Glu Leu Gln Asp Ser Gln Asp Lys
 450 455 460

tgt cac aag atg gag cag gaa atg acc cgg tta cat cgg aga gtg tca 1440
 Cys His Lys Met Glu Gln Glu Met Thr Arg Leu His Arg Arg Val Ser
 465 470 475 480

gag gtg gag gct gtg ctt agt cag aag gag gtg gag ctg aag gcc tct 1488
 Glu Val Glu Ala Val Leu Ser Gln Lys Glu Val Glu Leu Lys Ala Ser
 485 490 495

gag act cag aga tcc ctc ctg gag cag gac ctt gct acc tac atc aca 1536
 Glu Thr Gln Arg Ser Leu Leu Glu Gln Asp Leu Ala Thr Tyr Ile Thr
 500 505 510

gaa tgc agt agc tta aag cga agt ttg gag caa gca cgg atg gag gtg 1584
 Glu Cys Ser Ser Leu Lys Arg Ser Leu Glu Gln Ala Arg Met Glu Val
 515 520 525

tcc cag gag gat gac aaa gca ctg cag ctt ctc cat gat atc aga gag 1632
 Ser Gln Glu Asp Asp Lys Ala Leu Gln Leu Leu His Asp Ile Arg Glu
 530 535 540

cag agc cgg aag ctc caa gaa atc aaa gag cag gag tac cag gct caa 1680
 Gln Ser Arg Lys Leu Gln Glu Ile Lys Glu Gln Glu Tyr Gln Ala Gln

10

20

30

40

545	550	555	560	
gtg gaa gaa atg agg ttg atg atg aat cag ttg gaa gag gat ctt gtc				1728
Val Glu Glu Met Arg Leu Met Met Asn Gln Leu Glu Glu Asp Leu Val				
	565	570	575	
tca gca aga aga cgg agt gat ctc tac gaa tct gag ctg aga gag tct				1776
Ser Ala Arg Arg Arg Ser Asp Leu Tyr Glu Ser Glu Leu Arg Glu Ser				
	580	585	590	
cgg ctt gct gct gaa gaa ttc aag cgg aaa gcg aca gaa tgt cag cat				1824
Arg Leu Ala Ala Glu Glu Phe Lys Arg Lys Ala Thr Glu Cys Gln His				
	595	600	605	
aaa ctg ttg aag gct aag gat caa ggg aag cct gaa gtg gga gaa tat				1872
Lys Leu Leu Lys Ala Lys Asp Gln Gly Lys Pro Glu Val Gly Glu Tyr				
	610	615	620	
gcg aaa ctg gag aag atc aat gct gag cag cag ctc aaa att cag gag				1920
Ala Lys Leu Glu Lys Ile Asn Ala Glu Gln Gln Leu Lys Ile Gln Glu				
	625	630	635	640
ctc caa gag aaa ctg gag aag gct gca aag gag cga gcc gag agg gag				1968
Leu Gln Glu Lys Leu Glu Lys Ala Ala Lys Glu Arg Ala Glu Arg Glu				
	645	650	655	
ctg gag aag ctg cag aac cga gag gat tct tct gaa ggc atc aga aag				2016
Leu Glu Lys Leu Gln Asn Arg Glu Asp Ser Ser Glu Gly Ile Arg Lys				
	660	665	670	
aag ctg gtg gaa gct gag gaa cgc cgc cat tct ctg gag aac aag gta				2064
Lys Leu Val Glu Ala Glu Glu Arg Arg His Ser Leu Glu Asn Lys Val				
	675	680	685	
aag aga cta gag acc atg gag cgt aga gaa aac aga ctg aag gat gac				2112
Lys Arg Leu Glu Thr Met Glu Arg Arg Glu Asn Arg Leu Lys Asp Asp				
	690	695	700	
atc cag aca aaa tcc caa cag atc cag cag atg gct gat aaa att ctg				2160
Ile Gln Thr Lys Ser Gln Gln Ile Gln Gln Met Ala Asp Lys Ile Leu				
	705	710	715	720
gag ctc gaa gag aaa cat cgg gag gcc caa gtc tca gcc cag cac cta				2208
Glu Leu Glu Glu Lys His Arg Glu Ala Gln Val Ser Ala Gln His Leu				
	725	730	735	
gaa gtg cac ctg aaa cag aaa gag cag cac tat gag gaa aag att aaa				2256
Glu Val His Leu Lys Gln Lys Glu Gln His Tyr Glu Glu Lys Ile Lys				
	740	745	750	
gtg ttg gac aat cag ata aag aaa gac ctg gct gac aag gag aca ctg				2304
Val Leu Asp Asn Gln Ile Lys Lys Asp Leu Ala Asp Lys Glu Thr Leu				
	755	760	765	
gag aac atg atg cag aga cac gag gag gag gcc cat gag aag ggc aaa				2352
Glu Asn Met Met Gln Arg His Glu Glu Glu Ala His Glu Lys Gly Lys				
	770	775	780	
att ctc agc gaa cag aag gcg atg atc aat gct atg gat tcc aag atc				2400
Ile Leu Ser Glu Gln Lys Ala Met Ile Asn Ala Met Asp Ser Lys Ile				
	785	790	795	800

10

20

30

40

aga tcc ctg gaa cag agg att gtg gaa ctg tct gaa gcc aat aaa ctt 2448
 Arg Ser Leu Glu Gln Arg Ile Val Glu Leu Ser Glu Ala Asn Lys Leu
 805 810 815

gca gca aat agc agt ctt ttt acc caa agg aac atg aag gcc caa gaa 2496
 Ala Ala Asn Ser Ser Leu Phe Thr Gln Arg Asn Met Lys Ala Gln Glu
 820 825 830

gag atg att tct gaa ctc agg caa cag aaa ttt tac ctg gag aca cag 2544
 Glu Met Ile Ser Glu Leu Arg Gln Lys Phe Tyr Leu Glu Thr Gln
 835 840 845

gct ggg aag ttg gag gcc cag aac cga aaa ctg gag gag cag ctg gag 2592
 Ala Gly Lys Leu Glu Ala Gln Asn Arg Lys Leu Glu Glu Gln Leu Glu
 850 855 860

aag atc agc cac caa gac cac agt gac aag aat cgg ctg ctg gaa ctg 2640
 Lys Ile Ser His Gln Asp His Ser Asp Lys Asn Arg Leu Leu Glu Leu
 865 870 875 880

gag aca aga ttg cgg gag gtc agt cta gag cac gag gag cag aaa ctg 2688
 Glu Thr Arg Leu Arg Glu Val Ser Leu Glu His Glu Glu Gln Lys Leu
 885 890 895

gag ctc aag cgc cag ctc aca gag cta cag ctc tcc ctg cag gag cgc 2736
 Glu Leu Lys Arg Gln Leu Thr Glu Leu Gln Leu Ser Leu Gln Glu Arg
 900 905 910

gag tca cag ttg aca gcc ctg cag gct gca cgg gcg gcc ctg gag agc 2784
 Glu Ser Gln Leu Thr Ala Leu Gln Ala Ala Arg Ala Ala Leu Glu Ser
 915 920 925

cag ctt cgc cag gcg aag aca gag ctg gaa gag acc aca gca gaa gct 2832
 Gln Leu Arg Gln Ala Lys Thr Glu Leu Glu Glu Thr Thr Ala Glu Ala
 930 935 940

gaa gag gag atc cag gca ctc acg gca cat aga gat gaa atc cag cgc 2880
 Glu Glu Glu Ile Gln Ala Leu Thr Ala His Arg Asp Glu Ile Gln Arg
 945 950 955 960

aaa ttt gat gct ctt cgt aac agc tgt act gta atc aca gac ctg gag 2928
 Lys Phe Asp Ala Leu Arg Asn Ser Cys Thr Val Ile Thr Asp Leu Glu
 965 970 975

gag cag cta aac cag ctg acc gag gac aac gct gaa ctc aac aac caa 2976
 Glu Gln Leu Asn Gln Leu Thr Glu Asp Asn Ala Glu Leu Asn Asn Gln
 980 985 990

aac ttc tac ttg tcc aaa caa ctc gat gag gct tct ggc gcc aac gac 3024
 Asn Phe Tyr Leu Ser Lys Gln Leu Asp Glu Ala Ser Gly Ala Asn Asp
 995 1000 1005

gag att gta caa ctg cga agt gaa gtg gac cat ctc cgc cgg gag atc 3072
 Glu Ile Val Gln Leu Arg Ser Glu Val Asp His Leu Arg Arg Glu Ile
 1010 1015 1020

acg gaa cga gag atg cag ctt acc agc cag aag caa acg atg gag gct 3120
 Thr Glu Arg Glu Met Gln Leu Thr Ser Gln Lys Gln Thr Met Glu Ala
 1025 1030 1035 1040

ctg aag acc acg tgc acc atg ctg gag gaa cag gtc atg gat ttg gag 3168
 Leu Lys Thr Thr Cys Thr Met Leu Glu Glu Gln Val Met Asp Leu Glu

10

20

30

40

	1045	1050	1055	
gcc cta aac gat gag ctg cta gaa aaa gag cgg cag tgg gag gcc tgg				3216
Ala Leu Asn Asp Glu Leu Leu Glu Lys Glu Arg Gln Trp Glu Ala Trp				
	1060	1065	1070	
agg agc gtc ctg ggt gat gag aaa tcc cag ttt gag tgt cgg gtt cga				3264
Arg Ser Val Leu Gly Asp Glu Lys Ser Gln Phe Glu Cys Arg Val Arg				
	1075	1080	1085	
gag ctg cag aga atg ctg gac acc gag aaa cag agc agg gcg aga gcc				3312
Glu Leu Gln Arg Met Leu Asp Thr Glu Lys Gln Ser Arg Ala Arg Ala				
	1090	1095	1100	
gat cag cgg atc acc gag tct cgc cag gtg gtg gag ctg gca gtg aag				3360
Asp Gln Arg Ile Thr Glu Ser Arg Gln Val Val Glu Leu Ala Val Lys				
	1105	1110	1115	1120
gag cac aag gct gag att ctc gct ctg cag cag gct ctc aaa gag cag				3408
Glu His Lys Ala Glu Ile Leu Ala Leu Gln Gln Ala Leu Lys Glu Gln				
	1125	1130	1135	
aag ctg aag gcc gag agc ctc tct gac aag ctc aat gac ctg gag aag				3456
Lys Leu Lys Ala Glu Ser Leu Ser Asp Lys Leu Asn Asp Leu Glu Lys				
	1140	1145	1150	
aag cat gct atg ctt gaa atg aat gcc cga agc tta cag cag aag ctg				3504
Lys His Ala Met Leu Glu Met Asn Ala Arg Ser Leu Gln Gln Lys Leu				
	1155	1160	1165	
gag act gaa cga gag ctc aaa cag agg ctt ctg gaa gag caa gcc aaa				3552
Glu Thr Glu Arg Glu Leu Lys Gln Arg Leu Leu Glu Glu Gln Ala Lys				
	1170	1175	1180	
tta cag cag cag atg gac ctg cag aaa aat cac att ttc cgt ctg act				3600
Leu Gln Gln Gln Met Asp Leu Gln Lys Asn His Ile Phe Arg Leu Thr				
	1185	1190	1195	1200
caa gga ctg caa gaa gct cta gat cgg gct gat cta ctg aag aca gaa				3648
Gln Gly Leu Gln Glu Ala Leu Asp Arg Ala Asp Leu Leu Lys Thr Glu				
	1205	1210	1215	
aga agt gac ttg gag tat cag ctg gaa aac att cag gtt ctc tat tct				3696
Arg Ser Asp Leu Glu Tyr Gln Leu Glu Asn Ile Gln Val Leu Tyr Ser				
	1220	1225	1230	
cat gaa aag gtg aaa atg gaa ggc act att tct caa caa acc aaa ctc				3744
His Glu Lys Val Lys Met Glu Gly Thr Ile Ser Gln Gln Thr Lys Leu				
	1235	1240	1245	
att gat ttt ctg caa gcc aaa atg gac caa cct gct aaa aag aaa aag				3792
Ile Asp Phe Leu Gln Ala Lys Met Asp Gln Pro Ala Lys Lys Lys Lys				
	1250	1255	1260	
ggt tta ttt agt cga cgg aaa gag gac cct gct tta ccc aca cag gtt				3840
Gly Leu Phe Ser Arg Arg Lys Glu Asp Pro Ala Leu Pro Thr Gln Val				
	1265	1270	1275	1280
cct ctg cag tac aat gag ctg aag ctg gcc ctg gag aag gag aaa gct				3888
Pro Leu Gln Tyr Asn Glu Leu Lys Leu Ala Leu Glu Lys Glu Lys Ala				
	1285	1290	1295	

10

20

30

40

cgc tgt gca gag cta gag gaa gcc ctt cag aag acc cgc atc gag ctc	3936	
Arg Cys Ala Glu Leu Glu Glu Ala Leu Gln Lys Thr Arg Ile Glu Leu		
1300 1305 1310		
cgg tcc gcc cgg gag gaa gct gcc cac cgc aaa gca acg gac cac cca	3984	
Arg Ser Ala Arg Glu Glu Ala Ala His Arg Lys Ala Thr Asp His Pro		
1315 1320 1325		
cac cca tcc acg cca gcc acc ggc agg cag cag atc gcc atg tcc gcc	4032	
His Pro Ser Thr Pro Ala Thr Ala Arg Gln Gln Ile Ala Met Ser Ala		
1330 1335 1340		
atc gtg cgg tcc cca gag cac cag ccc agt gcc atg agc ctg ctg gcc	4080	
Ile Val Arg Ser Pro Glu His Gln Pro Ser Ala Met Ser Leu Leu Ala		
1345 1350 1355 1360		10
ccg cca tcc agc cgc aga aag gag tct tca act cca gag gaa ttt agt	4128	
Pro Pro Ser Ser Arg Arg Lys Glu Ser Ser Thr Pro Glu Glu Phe Ser		
1365 1370 1375		
cgg cgt ctt aag gaa cgc atg cac cac aat att cct cac cga ttc aac	4176	
Arg Arg Leu Lys Glu Arg Met His His Asn Ile Pro His Arg Phe Asn		
1380 1385 1390		
gta gga ctg aac atg cga gcc aca aag tgt gct gtg tgt ctg gat acc	4224	
Val Gly Leu Asn Met Arg Ala Thr Lys Cys Ala Val Cys Leu Asp Thr		
1395 1400 1405		
gtg cac ttt gga cgc cag gca tcc aaa tgt ctc gaa tgt cag gtg atg	4272	
Val His Phe Gly Arg Gln Ala Ser Lys Cys Leu Glu Cys Gln Val Met		
1410 1415 1420		20
tgt cac ccc aag tgc tcc acg tgc ttg cca gcc acc tgc ggc ttg cct	4320	
Cys His Pro Lys Cys Ser Thr Cys Leu Pro Ala Thr Cys Gly Leu Pro		
1425 1430 1435 1440		
gct gaa tat gcc aca cac ttc acc gag gcc ttc tgc cgt gac aaa atg	4368	
Ala Glu Tyr Ala Thr His Phe Thr Glu Ala Phe Cys Arg Asp Lys Met		
1445 1450 1455		
aac tcc cca ggt ctc cag acc aag gag ccc agc agc agc ttg cac ctg	4416	
Asn Ser Pro Gly Leu Gln Thr Lys Glu Pro Ser Ser Ser Leu His Leu		
1460 1465 1470		
gaa ggg tgg atg aag gtg ccc agg aat aac aaa cga gga cag caa ggc	4464	
Glu Gly Trp Met Lys Val Pro Arg Asn Asn Lys Arg Gly Gln Gln Gly		
1475 1480 1485		30
tgg gac agg aag tac att gtc ctg gag gga tca aaa gtc ctc att tat	4512	
Trp Asp Arg Lys Tyr Ile Val Leu Glu Gly Ser Lys Val Leu Ile Tyr		
1490 1495 1500		
gac aat gaa gcc aga gaa gct gga cag agg ccg gtg gaa gaa ttt gag	4560	
Asp Asn Glu Ala Arg Glu Ala Gly Gln Arg Pro Val Glu Glu Phe Glu		
1505 1510 1515 1520		
ctg tgc ctt ccc gac ggg gat gta tct att cat ggt gcc gtt ggt gct	4608	
Leu Cys Leu Pro Asp Gly Asp Val Ser Ile His Gly Ala Val Gly Ala		
1525 1530 1535		
tcc gaa ctc gca aat aca gcc aaa gca gaa aaa gca gaa gct gat gct	4656	
Ser Glu Leu Ala Asn Thr Ala Lys Ala Glu Lys Ala Glu Ala Asp Ala		
		40

1540	1545	1550	
aaa ctg ctt gga aac tcc ctg ctg aaa ctg gaa ggt gat gac cgt cta Lys Leu Leu Gly Asn Ser Leu Leu Lys Leu Glu Gly Asp Asp Arg Leu 1555 1560 1565			4704
gac atg aac tgc acg ctg ccc ttc agt gac cag gtg gtg ttg gtg ggc Asp Met Asn Cys Thr Leu Pro Phe Ser Asp Gln Val Val Leu Val Gly 1570 1575 1580			4752
acc gag gaa ggg ctc tac gcc ctg aat gtc ttg aaa aac tcc cta acc Thr Glu Glu Gly Leu Tyr Ala Leu Asn Val Leu Lys Asn Ser Leu Thr 1585 1590 1595 1600			4800
cat gtc cca gga att gga gca gtc ttc caa att tat att atc aag gac His Val Pro Gly Ile Gly Ala Val Phe Gln Ile Tyr Ile Ile Lys Asp 1605 1610 1615			4848
ctg gag aag cta ctc atg ata gca gga gaa gag cgg gca ctg tgt ctt Leu Glu Lys Leu Leu Met Ile Ala Gly Glu Glu Arg Ala Leu Cys Leu 1620 1625 1630			4896
gtg gac gtg aag aaa gtg aaa cag tcc ctg gcc cag tcc cac ctg cct Val Asp Val Lys Lys Val Lys Gln Ser Leu Ala Gln Ser His Leu Pro 1635 1640 1645			4944
gcc cag ccc gac atc tca ccc aac att ttt gaa gct gtc aag ggc tgc Ala Gln Pro Asp Ile Ser Pro Asn Ile Phe Glu Ala Val Lys Gly Cys 1650 1655 1660			4992
cac ttg ttt ggg gca ggc aag att gag aac ggg ctc tgc atc tgt gca His Leu Phe Gly Ala Gly Lys Ile Glu Asn Gly Leu Cys Ile Cys Ala 1665 1670 1675 1680			5040
gcc atg ccc agc aaa gtc gtc att ctc cgc tac aac gaa aac ctc agc Ala Met Pro Ser Lys Val Val Ile Leu Arg Tyr Asn Glu Asn Leu Ser 1685 1690 1695			5088
aaa tac tgc atc cgg aaa gag ata gag acc tca gag ccc tgc agc tgt Lys Tyr Cys Ile Arg Lys Glu Ile Glu Thr Ser Glu Pro Cys Ser Cys 1700 1705 1710			5136
atc cac ttc acc aat tac agt atc ctc att gga acc aat aaa ttc tac Ile His Phe Thr Asn Tyr Ser Ile Leu Ile Gly Thr Asn Lys Phe Tyr 1715 1720 1725			5184
gaa atc gac atg aag cag tac acg ctc gag gaa ttc ctg gat aag aat Glu Ile Asp Met Lys Gln Tyr Thr Leu Glu Glu Phe Leu Asp Lys Asn 1730 1735 1740			5232
gac cat tcc ttg gca cct gct gtg ttt gcc gcc tct tcc aac agc ttc Asp His Ser Leu Ala Pro Ala Val Phe Ala Ala Ser Ser Asn Ser Phe 1745 1750 1755 1760			5280
cct gtc tca atc gtg cag gtg aac agc gca ggg cag cga gag gag tac Pro Val Ser Ile Val Gln Val Asn Ser Ala Gly Gln Arg Glu Glu Tyr 1765 1770 1775			5328
ttg ctg tgt ttc cac gaa ttt gga gtg ttc gtg gat tct tac gga aga Leu Leu Cys Phe His Glu Phe Gly Val Phe Val Asp Ser Tyr Gly Arg 1780 1785 1790			5376

10

20

30

40

cgt agc cgc aca gac gat ctc aag tgg agt cgc tta cct ttg gcc ttt 5424
 Arg Ser Arg Thr Asp Asp Leu Lys Trp Ser Arg Leu Pro Leu Ala Phe
 1795 1800 1805

gcc tac aga gaa ccc tat ctg ttt gtg acc cac ttc aac tca ctc gaa 5472
 Ala Tyr Arg Glu Pro Tyr Leu Phe Val Thr His Phe Asn Ser Leu Glu
 1810 1815 1820

gta att gag atc cag gca cgc tcc tca gca ggg acc cct gcc cga gcg 5520
 Val Ile Glu Ile Gln Ala Arg Ser Ser Ala Gly Thr Pro Ala Arg Ala
 1825 1830 1835 1840

tac ctg gac atc ccg aac ccg cgc tac ctg ggc cct gcc att tcc tca 5568
 Tyr Leu Asp Ile Pro Asn Pro Arg Tyr Leu Gly Pro Ala Ile Ser Ser
 1845 1850 1855

gga gcg att tac ttg gcg tcc tca tac cag gat aaa tta agg gtc att 5616
 Gly Ala Ile Tyr Leu Ala Ser Ser Tyr Gln Asp Lys Leu Arg Val Ile
 1860 1865 1870

tgc tgc aag gga aac ctc gtg aag gag tcc ggc act gaa cac cac cgg 5664
 Cys Cys Lys Gly Asn Leu Val Lys Glu Ser Gly Thr Glu His His Arg
 1875 1880 1885

ggc ccg tcc acc tcc cgc agc agc ccc aac aag cga ggc cca ccc acg 5712
 Gly Pro Ser Thr Ser Arg Ser Ser Pro Asn Lys Arg Gly Pro Pro Thr
 1890 1895 1900

tac aac gag cac atc acc aag cgc gtg gcc tcc agc cca gcg ccg ccc 5760
 Tyr Asn Glu His Ile Thr Lys Arg Val Ala Ser Ser Pro Ala Pro Pro
 1905 1910 1915 1920

gaa ggc ccc agc cac ccg cga gag cca agc aca ccc cac cgc tac cgc 5808
 Glu Gly Pro Ser His Pro Arg Glu Pro Ser Thr Pro His Arg Tyr Arg
 1925 1930 1935

gag ggg cgg acc gag ctg cgc agg gac aag tct cct ggc cgc ccc ctg 5856
 Glu Gly Arg Thr Glu Leu Arg Arg Asp Lys Ser Pro Gly Arg Pro Leu
 1940 1945 1950

gag cga gag aag tcc ccc ggc cgg atg ctc agc acg cgg aga gag cgg 5904
 Glu Arg Glu Lys Ser Pro Gly Arg Met Leu Ser Thr Arg Arg Glu Arg
 1955 1960 1965

tcc ccc ggg agg ctg ttt gaa gac agc agc agg ggc cgg ctg cct gcg 5952
 Ser Pro Gly Arg Leu Phe Glu Asp Ser Ser Arg Gly Arg Leu Pro Ala
 1970 1975 1980

gga gcc gtg agg acc ccg ctg tcc cag gtg aac aag gga aga ggg cag 6000
 Gly Ala Val Arg Thr Pro Leu Ser Gln Val Asn Lys Gly Arg Gly Gln
 1985 1990 1995 2000

agt gcc tct caa gtt ttc acg gtt aac act gtc acc tat tat gac tgg 6048
 Ser Ala Ser Gln Val Phe Thr Val Asn Thr Val Thr Tyr Tyr Asp Trp
 2005 2010 2015

aat aaa aag ctg gac aac ctg cca gct aac tgg tca gtc ctg agg atc 6096
 Asn Lys Lys Leu Asp Asn Leu Pro Ala Asn Trp Ser Val Leu Arg Ile
 2020 2025 2030

atc cag ctg aat gga gaa atc cgg cag cag gtt gaa aag tct gtt ctg 6144
 Ile Gln Leu Asn Gly Glu Ile Arg Gln Gln Val Glu Lys Ser Val Leu

10

20

30

40

2035	2040	2045	
aga aca gat tat tgc tga			6162
Arg Thr Asp Tyr Cys *			
2050			
<210> 12			
<211> 2053			
<212> PRT			
<213> Homo Sapiens			
<400> 12			
Met Leu Lys Phe Lys Tyr Gly Ala Arg Asn Pro Leu Asp Ala Gly Ala			10
1 5 10 15			
Ala Glu Pro Ile Ala Ser Arg Ala Ser Arg Leu Asn Leu Phe Phe Gln			
20 25 30			
Gly Lys Pro Pro Phe Met Thr Gln Gln Gln Met Ser Pro Leu Ser Arg			
35 40 45			
Glu Gly Ile Leu Asp Ala Leu Phe Val Leu Phe Glu Glu Cys Ser Gln			
50 55 60			
Pro Ala Leu Met Lys Ile Lys His Val Ser Asn Phe Val Arg Lys Tyr			
65 70 75 80			
Ser Asp Thr Ile Ala Glu Leu Gln Glu Leu Gln Pro Ser Ala Lys Asp			
85 90 95			
Phe Glu Val Arg Ser Leu Val Gly Cys Gly His Phe Ala Glu Val Gln			
100 105 110			
Val Val Arg Glu Lys Ala Thr Gly Asp Ile Tyr Ala Met Lys Val Met			
115 120 125			
Lys Lys Lys Ala Leu Leu Ala Gln Glu Gln Val Ser Phe Phe Glu Glu			20
130 135 140			
Glu Arg Asn Ile Leu Ser Arg Ser Thr Ser Pro Trp Ile Pro Gln Leu			
145 150 155 160			
Gln Tyr Ala Phe Gln Asp Lys Asn His Leu Tyr Leu Met Glu Glu Tyr			
165 170 175			
Gln Pro Gly Gly Asp Leu Leu Ser Leu Leu Asn Arg Tyr Glu Asp Gln			
180 185 190			
Leu Asp Glu Asn Leu Ile Gln Phe Tyr Leu Ala Glu Leu Ile Leu Ala			
195 200 205			
Val His Ser Val His Leu Met Gly Tyr Val His Arg Asp Ile Lys Pro			
210 215 220			
Glu Asn Ile Leu Val Asp Arg Thr Gly His Ile Lys Leu Val Asp Phe			
225 230 235 240			
Gly Ser Ala Ala Lys Met Asn Ser Asn Lys Met Val Asn Ala Lys Leu			
245 250 255			
Pro Ile Gly Thr Pro Asp Tyr Met Ala Pro Glu Val Leu Thr Val Met			30
260 265 270			
Asn Gly Asp Gly Lys Gly Thr Tyr Gly Leu Asp Cys Asp Trp Trp Ser			
275 280 285			
Val Gly Val Ile Ala Tyr Glu Met Ile Tyr Gly Arg Ser Pro Phe Ala			
290 295 300			
Glu Gly Thr Ser Ala Arg Thr Phe Asn Asn Ile Met Asn Phe Gln Arg			
305 310 315 320			
Phe Leu Lys Phe Pro Asp Asp Pro Lys Val Ser Ser Asp Phe Leu Asp			
325 330 335			
Leu Ile Gln Ser Leu Leu Cys Gly Gln Lys Glu Arg Leu Lys Phe Glu			
340 345 350			
Gly Leu Cys Cys His Pro Phe Phe Ser Lys Ile Asp Trp Asn Asn Ile			
355 360 365			
Arg Asn Ser Pro Pro Pro Phe Val Pro Thr Leu Lys Ser Asp Asp Asp			
370 375 380			40
Thr Ser Asn Phe Asp Glu Pro Glu Lys Asn Ser Trp Val Ser Ser Ser			

385 390 395 400
 Pro Cys Gln Leu Ser Pro Ser Gly Phe Ser Gly Glu Glu Leu Pro Phe
 405 410 415
 Val Gly Phe Ser Tyr Ser Lys Ala Leu Gly Ile Leu Gly Arg Ser Glu
 420 425 430
 Ser Val Val Ser Gly Leu Asp Ser Pro Ala Lys Thr Ser Ser Met Glu
 435 440 445
 Lys Lys Leu Leu Ile Lys Ser Lys Glu Leu Gln Asp Ser Gln Asp Lys
 450 455 460
 Cys His Lys Met Glu Gln Glu Met Thr Arg Leu His Arg Arg Val Ser
 465 470 475 480
 Glu Val Glu Ala Val Leu Ser Gln Lys Glu Val Glu Leu Lys Ala Ser
 485 490 495
 Glu Thr Gln Arg Ser Leu Leu Glu Gln Asp Leu Ala Thr Tyr Ile Thr
 500 505 510
 Glu Cys Ser Ser Leu Lys Arg Ser Leu Glu Gln Ala Arg Met Glu Val
 515 520 525
 Ser Gln Glu Asp Asp Lys Ala Leu Gln Leu Leu His Asp Ile Arg Glu
 530 535 540
 Gln Ser Arg Lys Leu Gln Glu Ile Lys Glu Gln Glu Tyr Gln Ala Gln
 545 550 555 560
 Val Glu Glu Met Arg Leu Met Met Asn Gln Leu Glu Glu Asp Leu Val
 565 570 575
 Ser Ala Arg Arg Arg Ser Asp Leu Tyr Glu Ser Glu Leu Arg Glu Ser
 580 585 590
 Arg Leu Ala Ala Glu Glu Phe Lys Arg Lys Ala Thr Glu Cys Gln His
 595 600 605
 Lys Leu Leu Lys Ala Lys Asp Gln Gly Lys Pro Glu Val Gly Glu Tyr
 610 615 620
 Ala Lys Leu Glu Lys Ile Asn Ala Glu Gln Gln Leu Lys Ile Gln Glu
 625 630 635 640
 Leu Gln Glu Lys Leu Glu Lys Ala Ala Lys Glu Arg Ala Glu Arg Glu
 645 650 655
 Leu Glu Lys Leu Gln Asn Arg Glu Asp Ser Ser Glu Gly Ile Arg Lys
 660 665 670
 Lys Leu Val Glu Ala Glu Glu Arg Arg His Ser Leu Glu Asn Lys Val
 675 680 685
 Lys Arg Leu Glu Thr Met Glu Arg Arg Glu Asn Arg Leu Lys Asp Asp
 690 695 700
 Ile Gln Thr Lys Ser Gln Gln Ile Gln Gln Met Ala Asp Lys Ile Leu
 705 710 715 720
 Glu Leu Glu Glu Lys His Arg Glu Ala Gln Val Ser Ala Gln His Leu
 725 730 735
 Glu Val His Leu Lys Gln Lys Glu Gln His Tyr Glu Glu Lys Ile Lys
 740 745 750
 Val Leu Asp Asn Gln Ile Lys Lys Asp Leu Ala Asp Lys Glu Thr Leu
 755 760 765
 Glu Asn Met Met Gln Arg His Glu Glu Glu Ala His Glu Lys Gly Lys
 770 775 780
 Ile Leu Ser Glu Gln Lys Ala Met Ile Asn Ala Met Asp Ser Lys Ile
 785 790 795 800
 Arg Ser Leu Glu Gln Arg Ile Val Glu Leu Ser Glu Ala Asn Lys Leu
 805 810 815
 Ala Ala Asn Ser Ser Leu Phe Thr Gln Arg Asn Met Lys Ala Gln Glu
 820 825 830
 Glu Met Ile Ser Glu Leu Arg Gln Gln Lys Phe Tyr Leu Glu Thr Gln
 835 840 845
 Ala Gly Lys Leu Glu Ala Gln Asn Arg Lys Leu Glu Glu Gln Leu Glu
 850 855 860
 Lys Ile Ser His Gln Asp His Ser Asp Lys Asn Arg Leu Leu Glu Leu
 865 870 875 880
 Glu Thr Arg Leu Arg Glu Val Ser Leu Glu His Glu Glu Gln Lys Leu

10

20

30

40

					885					890					895	
Glu	Leu	Lys	Arg	Gln	Leu	Thr	Glu	Leu	Gln	Leu	Ser	Leu	Gln	Glu	Arg	
			900						905				910			
Glu	Ser	Gln	Leu	Thr	Ala	Leu	Gln	Ala	Ala	Arg	Ala	Ala	Leu	Glu	Ser	
			915					920				925				
Gln	Leu	Arg	Gln	Ala	Lys	Thr	Glu	Leu	Glu	Glu	Thr	Thr	Ala	Glu	Ala	
			930					935				940				
Glu	Glu	Glu	Ile	Gln	Ala	Leu	Thr	Ala	His	Arg	Asp	Glu	Ile	Gln	Arg	
945					950					955					960	
Lys	Phe	Asp	Ala	Leu	Arg	Asn	Ser	Cys	Thr	Val	Ile	Thr	Asp	Leu	Glu	
				965					970						975	
Glu	Gln	Leu	Asn	Gln	Leu	Thr	Glu	Asp	Asn	Ala	Glu	Leu	Asn	Asn	Gln	
			980					985					990			
Asn	Phe	Tyr	Leu	Ser	Lys	Gln	Leu	Asp	Glu	Ala	Ser	Gly	Ala	Asn	Asp	
			995					1000				1005				
Glu	Ile	Val	Gln	Leu	Arg	Ser	Glu	Val	Asp	His	Leu	Arg	Arg	Glu	Ile	
	1010						1015					1020				
Thr	Glu	Arg	Glu	Met	Gln	Leu	Thr	Ser	Gln	Lys	Gln	Thr	Met	Glu	Ala	
1025					1030					1035					1040	
Leu	Lys	Thr	Thr	Cys	Thr	Met	Leu	Glu	Glu	Gln	Val	Met	Asp	Leu	Glu	
				1045					1050						1055	
Ala	Leu	Asn	Asp	Glu	Leu	Leu	Glu	Lys	Glu	Arg	Gln	Trp	Glu	Ala	Trp	
			1060					1065						1070		
Arg	Ser	Val	Leu	Gly	Asp	Glu	Lys	Ser	Gln	Phe	Glu	Cys	Arg	Val	Arg	
			1075					1080				1085				
Glu	Leu	Gln	Arg	Met	Leu	Asp	Thr	Glu	Lys	Gln	Ser	Arg	Ala	Arg	Ala	
	1090					1095					1100					
Asp	Gln	Arg	Ile	Thr	Glu	Ser	Arg	Gln	Val	Val	Glu	Leu	Ala	Val	Lys	
1105					1110					1115					1120	
Glu	His	Lys	Ala	Glu	Ile	Leu	Ala	Leu	Gln	Gln	Ala	Leu	Lys	Glu	Gln	
				1125					1130						1135	
Lys	Leu	Lys	Ala	Glu	Ser	Leu	Ser	Asp	Lys	Leu	Asn	Asp	Leu	Glu	Lys	
			1140					1145					1150			
Lys	His	Ala	Met	Leu	Glu	Met	Asn	Ala	Arg	Ser	Leu	Gln	Gln	Lys	Leu	
			1155					1160				1165				
Glu	Thr	Glu	Arg	Glu	Leu	Lys	Gln	Arg	Leu	Leu	Glu	Glu	Gln	Ala	Lys	
	1170					1175						1180				
Leu	Gln	Gln	Gln	Met	Asp	Leu	Gln	Lys	Asn	His	Ile	Phe	Arg	Leu	Thr	
1185					1190					1195					1200	
Gln	Gly	Leu	Gln	Glu	Ala	Leu	Asp	Arg	Ala	Asp	Leu	Leu	Lys	Thr	Glu	
			1205					1210							1215	
Arg	Ser	Asp	Leu	Glu												

1380	1385	1390
Val Gly Leu Asn Met Arg Ala Thr Lys Cys Ala Val Cys Leu Asp Thr		
1395	1400	1405
Val His Phe Gly Arg Gln Ala Ser Lys Cys Leu Glu Cys Gln Val Met		
1410	1415	1420
Cys His Pro Lys Cys Ser Thr Cys Leu Pro Ala Thr Cys Gly Leu Pro		
1425	1430	1435
Ala Glu Tyr Ala Thr His Phe Thr Glu Ala Phe Cys Arg Asp Lys Met		
1445	1450	1455
Asn Ser Pro Gly Leu Gln Thr Lys Glu Pro Ser Ser Ser Leu His Leu		
1460	1465	1470
Glu Gly Trp Met Lys Val Pro Arg Asn Asn Lys Arg Gly Gln Gln Gly		
1475	1480	1485
Trp Asp Arg Lys Tyr Ile Val Leu Glu Gly Ser Lys Val Leu Ile Tyr		
1490	1495	1500
Asp Asn Glu Ala Arg Glu Ala Gly Gln Arg Pro Val Glu Glu Phe Glu		
1505	1510	1515
Leu Cys Leu Pro Asp Gly Asp Val Ser Ile His Gly Ala Val Gly Ala		
1525	1530	1535
Ser Glu Leu Ala Asn Thr Ala Lys Ala Glu Lys Ala Glu Ala Asp Ala		
1540	1545	1550
Lys Leu Leu Gly Asn Ser Leu Leu Lys Leu Glu Gly Asp Asp Arg Leu		
1555	1560	1565
Asp Met Asn Cys Thr Leu Pro Phe Ser Asp Gln Val Val Leu Val Gly		
1570	1575	1580
Thr Glu Glu Gly Leu Tyr Ala Leu Asn Val Leu Lys Asn Ser Leu Thr		
1585	1590	1595
His Val Pro Gly Ile Gly Ala Val Phe Gln Ile Tyr Ile Ile Lys Asp		
1605	1610	1615
Leu Glu Lys Leu Leu Met Ile Ala Gly Glu Glu Arg Ala Leu Cys Leu		
1620	1625	1630
Val Asp Val Lys Lys Val Lys Gln Ser Leu Ala Gln Ser His Leu Pro		
1635	1640	1645
Ala Gln Pro Asp Ile Ser Pro Asn Ile Phe Glu Ala Val Lys Gly Cys		
1650	1655	1660
His Leu Phe Gly Ala Gly Lys Ile Glu Asn Gly Leu Cys Ile Cys Ala		
1665	1670	1675
Ala Met Pro Ser Lys Val Val Ile Leu Arg Tyr Asn Glu Asn Leu Ser		
1685	1690	1695
Lys Tyr Cys Ile Arg Lys Glu Ile Glu Thr Ser Glu Pro Cys Ser Cys		
1700	1705	1710
Ile His Phe Thr Asn Tyr Ser Ile Leu Ile Gly Thr Asn Lys Phe Tyr		
1715	1720	1725
Glu Ile Asp Met Lys Gln Tyr Thr Leu Glu Glu Phe Leu Asp Lys Asn		
1730	1735	1740
Asp His Ser Leu Ala Pro Ala Val Phe Ala Ala Ser Ser Asn Ser Phe		
1745	1750	1755
Pro Val Ser Ile Val Gln Val Asn Ser Ala Gly Gln Arg Glu Glu Tyr		
1765	1770	1775
Leu Leu Cys Phe His Glu Phe Gly Val Phe Val Asp Ser Tyr Gly Arg		
1780	1785	1790
Arg Ser Arg Thr Asp Asp Leu Lys Trp Ser Arg Leu Pro Leu Ala Phe		
1795	1800	1805
Ala Tyr Arg Glu Pro Tyr Leu Phe Val Thr His Phe Asn Ser Leu Glu		
1810	1815	1820
Val Ile Glu Ile Gln Ala Arg Ser Ser Ala Gly Thr Pro Ala Arg Ala		
1825	1830	1835
Tyr Leu Asp Ile Pro Asn Pro Arg Tyr Leu Gly Pro Ala Ile Ser Ser		
1845	1850	1855
Gly Ala Ile Tyr Leu Ala Ser Ser Tyr Gln Asp Lys Leu Arg Val Ile		
1860	1865	1870
Cys Cys Lys Gly Asn Leu Val Lys Glu Ser Gly Thr Glu His His Arg		

10

20

30

40

1875 1880 1885
 Gly Pro Ser Thr Ser Arg Ser Ser Pro Asn Lys Arg Gly Pro Pro Thr
 1890 1895 1900
 Tyr Asn Glu His Ile Thr Lys Arg Val Ala Ser Ser Pro Ala Pro Pro
 1905 1910 1915 1920
 Glu Gly Pro Ser His Pro Arg Glu Pro Ser Thr Pro His Arg Tyr Arg
 1925 1930 1935
 Glu Gly Arg Thr Glu Leu Arg Arg Asp Lys Ser Pro Gly Arg Pro Leu
 1940 1945 1950
 Glu Arg Glu Lys Ser Pro Gly Arg Met Leu Ser Thr Arg Arg Glu Arg
 1955 1960 1965
 Ser Pro Gly Arg Leu Phe Glu Asp Ser Ser Arg Gly Arg Leu Pro Ala
 1970 1975 1980
 Gly Ala Val Arg Thr Pro Leu Ser Gln Val Asn Lys Gly Arg Gly Gln
 1985 1990 1995 2000
 Ser Ala Ser Gln Val Phe Thr Val Asn Thr Val Thr Tyr Tyr Asp Trp
 2005 2010 2015
 Asn Lys Lys Leu Asp Asn Leu Pro Ala Asn Trp Ser Val Leu Arg Ile
 2020 2025 2030
 Ile Gln Leu Asn Gly Glu Ile Arg Gln Gln Val Glu Lys Ser Val Leu
 2035 2040 2045
 Arg Thr Asp Tyr Cys
 2050

<210> 13
 <211> 3152
 <212> DNA
 <213> Homo Sapiens

<400> 13
 gctcgcgaat gtagcaggcg ccccaagctc ggctctcaag aagccatggc ggaatccagg 60
 ggccgtctgt accttttgat gtgcttggct gctgcgctgg catctttcct gatgggattt 120
 atgggtgggt gggtttattaa gcctctcaaa gaaacaacca cttctgtgcg ctatcatcaa 180
 agtatacggg ggaactgggt atcogaaatg aaagctgaaa acatcaaatc atttcttcgt 240
 tctttttacaa agcttccctca tctggcagga acagaacaaa atttcttgct tgccaagaaa 300
 atccaaaccc agtggaagaa atttggaacta gattcagcca agttgggtca ttatgatgtc 360
 ctcttatctt accccaatga gacaaatgcc aactatatat cgattgtgga tgaacatgaa 420
 actgagattt tcaaaacatc ataccttgaa ccaccaccag atggctatga gaattgttaca 480
 aatattgtgc caccatataa tgctttctca gcccgaaggca tgccagaggg agatcttgta 540
 tatgtgaact atgctcgac tgagacttt ttcaaaactag aaagagagat gggcatcaac 600
 tgtactggga agattgttat tgcaagatat ggaataatct tcagaggaaa taaagttaaa 660
 aatgccatgt tagcaggagc cataggaatc atcttgtaact cagatccagc tgactacttt 720
 gctcctgagg tacagccata tcccaaagga tggaatcttc ctggaactgc agcccagaga 780
 ggaaatgtgt taaatttgaa tgggtgctggt gaccactca ctccaggcta tccagcaaaa 840
 gaatacactt tcagacttga tgttgaagaa ggagtgggaa tccccgaat acctgtacat 900
 ccattggat ataattgatgc agaaatatta ttacgctact tgggaggaat tgctccacca 960
 gataagagtt ggaaggggagc ccttaattgtg agttatagta tcggacctgg ctttacaggg 1020
 agtgattctt tcaggaaggt tagaatgcat gtttataaca tcaataaaaat tacaaggatt 1080
 tacaatgtag ttggaactat cagaggatct gtggaacctg acaggtatgt tattctggga 1140
 ggtcaccggg actcctgggt atttggagct attgacccaa ccagtggggt tgctgttttg 1200
 caagaaattg cccggagtgt tggaaaactg atgagtaaaag gctggagacc tagaagaact 1260
 atcatttttg ccagctggga tgcagaagaa tttggacttc tgggttccac agaattgggt 1320
 gaggagaatg tcaaaatact ccaggagaga agcattgctt atatcaactc ggattcatct 1380
 atagaaggca attatactct cagagttgac tgtactcccc ttctttacca attagtgtat 1440
 aaactggacaa aagagatccc cagccctgat gatgggtttg agagtaaatc actgtatgaa 1500
 agctggttgg aaaaagacct ttcacctgaa aataaaaatt tgccatagaat caataagctg 1560
 ggatctggaa gtgactttga agcttatttt cagagacttg gaattgcttc aggcagagcc 1620
 cgttacacta agaataagaa aacagataag tacagcagct acccagtgtg ccacacaatt 1680
 tatgagacat ttgaattggt agagaaattt tatgacccca catttaaaaa acaactttct 1740
 gtggctcaat tacgaggagc actggtatat gagcttgtgg attctaaaat cattcctttt 1800
 aatattcaag actatgcaga agctttgaaa aactatgcag caagtatcta taatctatct 1860

10

20

30

40

```

aagaaacatg atcaacaatt aacagaccat ggagtatcat ttgactcctt attttctgct 1920
gtgaaaaact tctcagagcg tgcttcagat ttccataaac gacttataca agttgatctt 1980
aacaatccca ttgcagttag aatgatgaat gaccaactga tgctcctgga aagagcattc 2040
atcgatcctc ttgggtttacc aggaaagctg ttctataggg acatcatatt tgctccaagt 2100
agccacaaca aatatgctgg agaatacattt cctggaatct atgatgctat ctttgatatt 2160
gaaaataaag ccaactctcg tttggcctgg aaagaagtaa agaaacatat ttctattgca 2220
gctttttaca ttcaagcagc agcaggaact ctgaaagaag tattatagaa ggtctcaagt 2280
ggctagccat taaaggtggt gctaaaagtc tgaggataaa attcaccttt ctgataactt 2340
atgaagccag ggtgtttctaa actcttttca tgtcatgttt tgattatagg ctttgggtctt 2400
ttcatctgca aagcctttttt tttttttgct ctttaaaagt taataattat attagcaaag 2460
tgttaatcta atgaagtaaa aaactcctgt gtggcagaaa gtaaaagaaa attccctaaa 2520
ttatagcaag gaacatgaat tctcagacat tgtgagtgtg ggaatgtaaa atggtaaaaat 2580
cacttttgaa aacagtttgg cagtttctta taaagttaaa catacacttt tacttttagga 2640
ctccagaatt ccacttctag ttattttattc aagagaagga aaaacaatga tcacagcaat 2700
acttgatgca atgttcattg caacttaaaa gcgtaaaaac cccaaatgtc catccacaga 2760
cgaatgtata aactgtggtg tccattacac aatagactac ttactactca gcaataaaaa 2820
tgaagtaact ttcaataaat gcaatattat tggcagacat tgttgaagga aaaaagccag 2880
acaaacaact acataaaaata tgtttctatt tagatgaagt ggcaactaa tctgtagtgt 2940
taaaaattag attagtgtt gctggggcca agtggcaggt tggggaggat ggctgcaaag 3000
aagtatgagg aaactttctc caatagatga gaattttccg tatcttgatc tgagtggcaa 3060
attgtaact taaaatatat ataaaattta ttgaaagaaa attaagcctc aataaacgtg 3120
attataaaaa aaaaaaaaaa aaggcgcgcc gc 3152

```

<210> 14
 <211> 2223
 <212> DNA
 <213> Homo Sapiens

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)...(2223)

```

<400> 14
atg gcg gaa tcc agg ggc cgt ctg tac ctt tgg atg tgc ttg gct gct 48
Met Ala Glu Ser Arg Gly Arg Leu Tyr Leu Trp Met Cys Leu Ala Ala
1 5 10 15

gcg ctg gca tct ttc ctg atg gga ttt atg gtg ggc tgg ttt att aag 96
Ala Leu Ala Ser Phe Leu Met Gly Phe Met Val Gly Trp Phe Ile Lys
20 25 30

cct ctc aaa gaa aca acc act tct gtg cgc tat cat caa agt ata cgg 144
Pro Leu Lys Glu Thr Thr Thr Ser Val Arg Tyr His Gln Ser Ile Arg
35 40 45

tgg aaa ctg gta tcc gaa atg aaa gct gaa aac atc aaa tca ttt ctt 192
Trp Lys Leu Val Ser Glu Met Lys Ala Glu Asn Ile Lys Ser Phe Leu
50 55 60

cgt tct ttt aca aag ctt cct cat ctg gca gga aca gaa caa aat ttc 240
Arg Ser Phe Thr Lys Leu Pro His Leu Ala Gly Thr Glu Gln Asn Phe
65 70 75 80

ttg ctt gcc aag aaa atc caa acc cag tgg aag aaa ttt gga cta gat 288
Leu Leu Ala Lys Lys Ile Gln Thr Gln Trp Lys Lys Phe Gly Leu Asp
85 90 95

tca gcc aag ttg gtt cat tat gat gtc ctc tta tct tac ccc aat gag 336
Ser Ala Lys Leu Val His Tyr Asp Val Leu Leu Ser Tyr Pro Asn Glu
100 105 110

aca aat gcc aac tat ata tcg att gtg gat gaa cat gaa act gag att 384

```

10

20

30

40

Thr	Asn	Ala	Asn	Tyr	Ile	Ser	Ile	Val	Asp	Glu	His	Glu	Thr	Glu	Ile		
	115						120					125					
ttc	aaa	aca	tca	tac	ctt	gaa	cca	cca	cca	gat	ggc	tat	gag	aat	gtt	432	
Phe	Lys	Thr	Ser	Tyr	Leu	Glu	Pro	Pro	Pro	Asp	Gly	Tyr	Glu	Asn	Val		
	130					135					140						
aca	aat	att	gtg	cca	cca	tat	aat	gct	ttc	tca	gcc	caa	ggc	atg	cca	480	
Thr	Asn	Ile	Val	Pro	Pro	Tyr	Asn	Ala	Phe	Ser	Ala	Gln	Gly	Met	Pro		
145					150				155					160			
gag	gga	gat	ctt	gta	tat	gtg	aac	tat	gct	cgc	act	gaa	gac	ttt	ttc	528	
Glu	Gly	Asp	Leu	Val	Tyr	Val	Asn	Tyr	Ala	Arg	Thr	Glu	Asp	Phe	Phe		
			165						170					175			
aaa	cta	gaa	aga	gag	atg	ggc	atc	aac	tgt	act	ggg	aag	att	gtt	att	576	
Lys	Leu	Glu	Arg	Glu	Met	Gly	Ile	Asn	Cys	Thr	Gly	Lys	Ile	Val	Ile		
		180					185					190					
gca	aga	tat	gga	aaa	atc	ttc	aga	gga	aat	aaa	gtt	aaa	aat	gcc	atg	624	
Ala	Arg	Tyr	Gly	Lys	Ile	Phe	Arg	Gly	Asn	Lys	Val	Lys	Asn	Ala	Met		
	195					200					205						
tta	gca	gga	gcc	ata	gga	atc	atc	ttg	tac	tca	gat	cca	gct	gac	tac	672	
Leu	Ala	Gly	Ala	Ile	Gly	Ile	Ile	Leu	Tyr	Ser	Asp	Pro	Ala	Asp	Tyr		
	210					215					220						
ttt	gct	cct	gag	gta	cag	cca	tat	ccc	aaa	gga	tgg	aat	ctt	cct	gga	720	
Phe	Ala	Pro	Glu	Val	Gln	Pro	Tyr	Pro	Lys	Gly	Trp	Asn	Leu	Pro	Gly		
225				230					235					240			
act	gca	gcc	cag	aga	gga	aat	gtg	tta	aat	ttg	aat	ggg	gct	ggg	gac	768	
Thr	Ala	Ala	Gln	Arg	Gly	Asn	Val	Leu	Asn	Leu	Asn	Gly	Ala	Gly	Asp		
			245					250						255			
cca	ctc	act	cca	ggc	tat	cca	gca	aaa	gaa	tac	act	ttc	aga	ctt	gat	816	
Pro	Leu	Thr	Pro	Gly	Tyr	Pro	Ala	Lys	Glu	Tyr	Thr	Phe	Arg	Leu	Asp		
			260					265					270				
gtt	gaa	gaa	gga	gtg	gga	atc	ccc	cga	ata	cct	gta	cat	ccc	att	gga	864	
Val	Glu	Glu	Gly	Val	Gly	Ile	Pro	Arg	Ile	Pro	Val	His	Pro	Ile	Gly		
	275					280						285					
tat	aat	gat	gca	gaa	ata	tta	tta	cgc	tac	ttg	gga	gga	att	gct	cca	912	
Tyr	Asn	Asp	Ala	Glu	Ile	Leu	Leu	Arg	Tyr	Leu	Gly	Gly	Ile	Ala	Pro		
	290					295					300						
cca	gat	aag	agt	ttg	aag	gga	gcc	ctt	aat	gtg	agt	tat	agt	atc	gga	960	
Pro	Asp	Lys	Ser	Trp	Lys	Gly	Ala	Leu	Asn	Val	Ser	Tyr	Ser	Ile	Gly		
305					310				315					320			
cct	ggc	ttt	aca	ggg	agt	gat	tct	ttc	agg	aag	gtt	aga	atg	cat	gtt	1008	
Pro	Gly	Phe	Thr	Gly	Ser	Asp	Ser	Phe	Arg	Lys	Val	Arg	Met	His	Val		
			325					330						335			
tat	aac	atc	aat	aaa	att	aca	agg	att	tac	aat	gta	gtt	gga	act	atc	1056	
Tyr	Asn	Ile	Asn	Lys	Ile	Thr	Arg	Ile	Tyr	Asn	Val	Val	Gly	Thr	Ile		
		340					345						350				
aga	gga	tct	gtg	gaa	cct	gac	agg	tat	gtt	att	ctg	gga	ggg	cac	cgg	1104	
Arg	Gly	Ser	Val	Glu	Pro	Asp	Arg	Tyr	Val	Ile	Leu	Gly	Gly	His	Arg		
	355					360						365					

10

20

30

40

gac tcc tgg gta ttt gga gct att gac cca acc agt ggg gtt gct gtt	1152	
Asp Ser Trp Val Phe Gly Ala Ile Asp Pro Thr Ser Gly Val Ala Val		
370 375 380		
ttg caa gaa att gcc cgg agt ttt gga aaa ctg atg agt aaa ggc tgg	1200	
Leu Gln Glu Ile Ala Arg Ser Phe Gly Lys Leu Met Ser Lys Gly Trp		
385 390 395 400		
aga cct aga aga act atc att ttt gcc agc tgg gat gca gaa gaa ttt	1248	
Arg Pro Arg Arg Thr Ile Ile Phe Ala Ser Trp Asp Ala Glu Glu Phe		
405 410 415		
gga ctt ctg ggt tcc aca gaa tgg gct gag gag aat gtc aaa ata ctc	1296	10
Gly Leu Leu Ser Thr Glu Trp Glu Glu Asn Val Lys Ile Leu		
420 425 430		
cag gag aga agc att gct tat atc aac tcg gat tca tct ata gaa ggc	1344	
Gln Glu Arg Ser Ile Ala Tyr Ile Asn Ser Asp Ser Ser Ile Glu Gly		
435 440 445		
aat tat act ctc aga gtt gac tgt act ccc ctt ctt tac caa tta gtg	1392	
Asn Tyr Thr Leu Arg Val Asp Cys Thr Pro Leu Leu Tyr Gln Leu Val		
450 455 460		
tat aaa ctg aca aaa gag atc ccc agc cct gat gat ggg ttt gag agt	1440	
Tyr Lys Leu Thr Lys Glu Ile Pro Ser Pro Asp Asp Gly Phe Glu Ser		
465 470 475 480		
aaa tca ctg tat gaa agc tgg ttg gaa aaa gac cct tca cct gaa aat	1488	20
Lys Ser Leu Tyr Glu Ser Trp Leu Glu Lys Asp Pro Ser Pro Glu Asn		
485 490 495		
aaa aat ttg cct aga atc aat aag ctg gga tct gga agt gac ttt gaa	1536	
Lys Asn Leu Pro Arg Ile Asn Lys Leu Gly Ser Gly Ser Asp Phe Glu		
500 505 510		
gct tat ttt cag aga ctt gga att gct tca ggc aga gcc cgt tac act	1584	
Ala Tyr Phe Gln Arg Leu Gly Ile Ala Ser Gly Arg Ala Arg Tyr Thr		
515 520 525		
aag aat aag aaa aca gat aag tac agc agc tac cca gtg tac cac aca	1632	
Lys Asn Lys Lys Thr Asp Lys Tyr Ser Ser Tyr Pro Val Tyr His Thr		
530 535 540		
att tat gag aca ttt gaa ttg gta gag aaa ttt tat gac ccc aca ttt	1680	30
Ile Tyr Glu Thr Phe Glu Leu Val Glu Lys Phe Tyr Asp Pro Thr Phe		
545 550 555 560		
aaa aaa caa ctt tct gtg gct caa tta cga gga gca ctg gta tat gag	1728	
Lys Lys Gln Leu Ser Val Ala Gln Leu Arg Gly Ala Leu Val Tyr Glu		
565 570 575		
ctt gtg gat tct aaa atc att cct ttt aat att caa gac tat gca gaa	1776	
Leu Val Asp Ser Lys Ile Ile Pro Phe Asn Ile Gln Asp Tyr Ala Glu		
580 585 590		
gct ttg aaa aac tat gca gca agt atc tat aat cta tct aag aaa cat	1824	
Ala Leu Lys Asn Tyr Ala Ala Ser Ile Tyr Asn Leu Ser Lys Lys His		
595 600 605		
gat caa caa tta aca gac cat gga gta tca ttt gac tcc tta ttt tct	1872	40

Asp Gln Gln Leu Thr Asp His Gly Val Ser Phe Asp Ser Leu Phe Ser
 610 615 620
 gct gtg aaa aac ttc tca gag gct gct tca gat ttt cat aaa cga ctt 1920
 Ala Val Lys Asn Phe Ser Glu Ala Ala Ser Asp Phe His Lys Arg Leu
 625 630 635 640
 ata caa gtt gat ctt aac aat ccc att gca gtg aga atg atg aat gac 1968
 Ile Gln Val Asp Leu Asn Asn Pro Ile Ala Val Arg Met Met Asn Asp
 645 650 655
 caa ctg atg ctc ctg gaa aga gca ttc atc gat cct ctt ggt tta cca 2016
 Gln Leu Met Leu Leu Glu Arg Ala Phe Ile Asp Pro Leu Gly Leu Pro
 660 665 670
 gga aag ctg ttc tat agg cac atc ata ttt gct cca agt agc cac aac 2064
 Gly Lys Leu Phe Tyr Arg His Ile Ile Phe Ala Pro Ser Ser His Asn
 675 680 685
 aaa tat gct gga gaa tca ttt cct gga atc tat gat gct atc ttt gat 2112
 Lys Tyr Ala Gly Glu Ser Phe Pro Gly Ile Tyr Asp Ala Ile Phe Asp
 690 695 700
 att gaa aat aaa gcc aac tct cgt ttg gcc tgg aaa gaa gta aag aaa 2160
 Ile Glu Asn Lys Ala Asn Ser Arg Leu Ala Trp Lys Glu Val Lys Lys
 705 710 715 720
 cat att tct att gca gct ttt aca att caa gca gca gca gga act ctg 2208
 His Ile Ser Ile Ala Ala Phe Thr Ile Gln Ala Ala Ala Gly Thr Leu
 725 730 735
 aaa gaa gta tta tag 2223
 Lys Glu Val Leu *
 740

10

20

<210> 15
 <211> 740
 <212> PRT
 <213> Homo Sapiens

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

30

40

Glu Gly Asp Leu Val Tyr Val Asn Tyr Ala Arg Thr Glu Asp Phe Phe
 165 170 175
 Lys Leu Glu Arg Glu Met Gly Ile Asn Cys Thr Gly Lys Ile Val Ile
 180 185 190
 Ala Arg Tyr Gly Lys Ile Phe Arg Gly Asn Lys Val Lys Asn Ala Met
 195 200 205
 Leu Ala Gly Ala Ile Gly Ile Ile Leu Tyr Ser Asp Pro Ala Asp Tyr
 210 215 220
 Phe Ala Pro Glu Val Gln Pro Tyr Pro Lys Gly Trp Asn Leu Pro Gly
 225 230 235 240
 Thr Ala Ala Gln Arg Gly Asn Val Leu Asn Leu Asn Gly Ala Gly Asp
 245 250 255
 Pro Leu Thr Pro Gly Tyr Pro Ala Lys Glu Tyr Thr Phe Arg Leu Asp
 260 265 270
 Val Glu Glu Gly Val Gly Ile Pro Arg Ile Pro Val His Pro Ile Gly
 275 280 285
 Tyr Asn Asp Ala Glu Ile Leu Leu Arg Tyr Leu Gly Gly Ile Ala Pro
 290 295 300
 Pro Asp Lys Ser Trp Lys Gly Ala Leu Asn Val Ser Tyr Ser Ile Gly
 305 310 315 320
 Pro Gly Phe Thr Gly Ser Asp Ser Phe Arg Lys Val Arg Met His Val
 325 330 335
 Tyr Asn Ile Asn Lys Ile Thr Arg Ile Tyr Asn Val Val Gly Thr Ile
 340 345 350
 Arg Gly Ser Val Glu Pro Asp Arg Tyr Val Ile Leu Gly Gly His Arg
 355 360 365
 Asp Ser Trp Val Phe Gly Ala Ile Asp Pro Thr Ser Gly Val Ala Val
 370 375 380
 Leu Gln Glu Ile Ala Arg Ser Phe Gly Lys Leu Met Ser Lys Gly Trp
 385 390 395 400
 Arg Pro Arg Arg Thr Ile Ile Phe Ala Ser Trp Asp Ala Glu Glu Phe
 405 410 415
 Gly Leu Leu Gly Ser Thr Glu Trp Ala Glu Glu Asn Val Lys Ile Leu
 420 425 430
 Gln Glu Arg Ser Ile Ala Tyr Ile Asn Ser Asp Ser Ser Ile Glu Gly
 435 440 445
 Asn Tyr Thr Leu Arg Val Asp Cys Thr Pro Leu Leu Tyr Gln Leu Val
 450 455 460
 Tyr Lys Leu Thr Lys Glu Ile Pro Ser Pro Asp Asp Gly Phe Glu Ser
 465 470 475 480
 Lys Ser Leu Tyr Glu Ser Trp Leu Glu Lys Asp Pro Ser Pro Glu Asn
 485 490 495
 Lys Asn Leu Pro Arg Ile Asn Lys Leu Gly Ser Gly Ser Asp Phe Glu
 500 505 510
 Ala Tyr Phe Gln Arg Leu Gly Ile Ala Ser Gly Arg Ala Arg Tyr Thr
 515 520 525
 Lys Asn Lys Lys Thr Asp Lys Tyr Ser Ser Tyr Pro Val Tyr His Thr
 530 535 540
 Ile Tyr Glu Thr Phe Glu Leu Val Glu Lys Phe Tyr Asp Pro Thr Phe
 545 550 555 560
 Lys Lys Gln Leu Ser Val Ala Gln Leu Arg Gly Ala Leu Val Tyr Glu
 565 570 575
 Leu Val Asp Ser Lys Ile Ile Pro Phe Asn Ile Gln Asp Tyr Ala Glu
 580 585 590
 Ala Leu Lys Asn Tyr Ala Ala Ser Ile Tyr Asn Leu Ser Lys Lys His
 595 600 605
 Asp Gln Gln Leu Thr Asp His Gly Val Ser Phe Asp Ser Leu Phe Ser
 610 615 620
 Ala Val Lys Asn Phe Ser Glu Ala Ala Ser Asp Phe His Lys Arg Leu
 625 630 635 640
 Ile Gln Val Asp Leu Asn Asn Pro Ile Ala Val Arg Met Met Asn Asp
 645 650 655

10

20

30

40

Gln Leu Met Leu Leu Glu Arg Ala Phe Ile Asp Pro Leu Gly Leu Pro
 660 665 670
 Gly Lys Leu Phe Tyr Arg His Ile Ile Phe Ala Pro Ser Ser His Asn
 675 680 685
 Lys Tyr Ala Gly Glu Ser Phe Pro Gly Ile Tyr Asp Ala Ile Phe Asp
 690 695 700
 Ile Glu Asn Lys Ala Asn Ser Arg Leu Ala Trp Lys Glu Val Lys Lys
 705 710 715 720
 His Ile Ser Ile Ala Ala Phe Thr Ile Gln Ala Ala Ala Gly Thr Leu
 725 730 735
 Lys Glu Val Leu
 740

<210> 16
 <211> 3693
 <212> DNA
 <213> Homo Sapiens

<400> 16
 aactgtagtg cattttgcct tctttccttc ttagagtcac ctctactttc ctgctaccgc 60
 tgctgtgag ctgaaggggc tgaaccatac actccttttt ctacaaccag cttgcatttt 120
 ttctgcccac aatgagcggg gtaagathtt tatttttggc aaggggtata atttgggttc 180
 actgtggcta cttgaacact acactgcagc taactctatc ttgttttctc ttccaggaat 240
 caatgaattt cagcgatgtt ttcgactcca gtgaagatta ttttgtgtca gtcaataact 300
 catattactc agttgattct gagatgttac tgtgtctctt gcaggaggtc aggcagttct 360
 ccaggctatt tgtaccgatt gcctactcct tgatctgtgt ctttggcctc ctggggaata 420
 ttctgggtgt gatcaccttt gctttttata agaagggcag gtctatgaca gacgtctatc 480
 tcttgaacat ggccattgca gacatcctct ttgttcttac tctccattc tgggcagtg 540
 gtcattgccac tgggtcggtg gttttcagca atgccacgtg caagttgcta aaaggcatct 600
 atgccatcaa ctttaactgc gggatgctgc tctgactttg cattagcatg gaccgggtaca 660
 tcgccattgt acaggcgact aagtcattcc ggctccgac cagaacacta ccgcgcagca 720
 aaatcatctg ccttgttgtg tgggggctgt cagtcacatc ctccagctca acttttgtct 780
 tcaacaaaaa atacaacacc caaggcagcg atgtctgtga acccaagtac cagactgtct 840
 cggagcccat caggtggaag ctgctgatgt tggggcttga gctactcttt ggtttcttta 900
 tccctttgat gttcatgata ttttgttaca cgttcattgt caaaaccttg gtgcaagctc 960
 agaattctaa aaggcacaaa gccatccgtg taatcatagc tgtgggtgctt gtgtttcttg 1020
 cttgtcagat tctcataaac atggctctgc ttgtgacggc tgcaaatttg ggtaaaatga 1080
 accgatcctg ccagagcgaa aagctaattg gctatacgaa aactgtcaca gaagtccttg 1140
 ctttctctga ctgctgcctg aacctgtgct tctacgcttt tattgggcag aagttcagaa 1200
 actactttct gaagatcttg aaggacctgt ggtgtgtgag aaggaagtac aagtcctcag 1260
 gcttctctctg tgcggggagg tactcagaaa acatttctcg gcagaccagt gagaccgcag 1320
 ataacgacaa tgcgtcgctc ttcactatgt gatagaaagc tgagtctccc taaggcatgt 1380
 gtgaaacata ctcatagatg ttatgcaaaa aaaagtctat ggccagggtat gcatggaaaa 1440
 tgtgggaatt aagcaaaatc aagcaagcct ctctcctgcg ggacttaacg tgctcatggg 1500
 ctgtgtgata tcttcagggt ggggtgggtct ctgataggta gcattttcca gacttttgca 1560
 aggaatgttt ttagctctca ggttatatat ccgcctggca tttcacaaaa cagccttttg 1620
 gaaatgctga attaaagtga attgttgaca aatgtaaaaa ttttcagaaa tattcatgaa 1680
 ggggtcacag atcacagtgt cttttgggtta cagcacaaaa tgatggcagt ggtttgaaaa 1740
 actaaaacag aaaaaaaaaa ggaagccaac acatcactca ttttaggcaa atgtttaaac 1800
 atttttatct atcagaatgt ttattgttgc tggttataag cagcaggatt ggccggctag 1860
 tgtttcctct catttccctt tgatacagtc aacaagcctg accctgtaaa atggagggtg 1920
 aaagacaagc tcaagtgttc acaacctgga agtgcttcgg aaagaagggg acaatggcag 1980
 aacagggtgt ggtgacaatt gtcaccaatt ggataaaagca gctcagggtg tagtgggcca 2040
 ttaggaaact gtcggtttgc tttgatttcc ctgggagctg tctctgtctg tgagtgtctc 2100
 ttgtctaaac gtccattaag ctgagagtgc tatgaagaca ggaactagaa taatcttgct 2160
 cacagctgtg ctctgagtgc cttagcggagt tccagcaaac aaaatggact caagagagat 2220
 ttgattaatg aatcgtaatg aagttggggt ttattgtaca gtttaaaatg ttagatgttt 2280
 ttaatttttt aataaaatg aatacttttt ttttttttta aagaaagcaa ctttactgag 2340
 acaatgtaga aagaagtttt gttccgtttc tttaatgtgg ttgaagagca atgtgtggct 2400
 gaagactttt gttatgagga gctgcagatt agctagggga cagctggaat tatgtctggc 2460
 tctgataatt attttaaagg ggtctgaaat ttgtgatgga atcagatttt aacagctctc 2520

10

20

30

40

```

ttcaatgaca tagaaagttc atggaactca tgttttttaa gggctatgta aatatatgaa 2580
cattagaaaa atagcaactt gtgttacaaa aatacaaaaca catgttagga aggtactgtc 2640
atgggctagg catggtggct cacacctgta atcccagcat tttgggaagc taagatgggt 2700
ggatcacttg aggtcaggag tttgagacca gcctggccaa catggcgaaa cccctctcta 2760
ctaaaaatac aaaaatttgc caggcgtggt ggcgggtgcc tgtaatccca gctacttggg 2820
aggctgaggg aagagaatcg cttgaaccca ggaggcagag gttgcagtga gccgagatcg 2880
tgccattgca ctccagcctg ggtgacaaag cgagactcca tctcaaaaaa aaaaaaaaaa 2940
aaaaaaggaa agaactgtca tgtaaacata cgcacatggt taaacctgac aatggtgtta 3000
tttgaaactt tataattgtc ttgtaagctt taactatata tctcttttaa atgcaaaata 3060
atgtcttaag attcaaagtc tgtattttta aagcatggct ttggctttgc aaaataaaaa 3120
atgtgttttg tacatgaagt aggaatcgta tttcagcttc aagggttcaga ttgagggggc 3180
cactgttttg agaggatggt attcaggctt tctcatgtcc ttcaaactcg tttagcgtttg 3240
actctagaaa tcaaagcaaa ggagtgggta cccagacact tcttttggtg tgatcaatgc 3300
gctgatgtga tctatgaaga tgattcatgc ttgaaaaacta gcacagaaac atcttgctta 3360
tttgccaaag ctgggagatg agcttctctg cataatttaa atgttcagat aaatgaagct 3420
gacttattta agcaataacc ttttaaacat ttttagctaag atgtataaaa atgtttccaa 3480
aatataccac atactttatt tcttctttaa tgtagtacat taggttacat catttttctt 3540
gctgtcttgg gcatacaaac aggtgccatg gtaacctgac actctcagga gacattaaga 3600
tagaaggggc tgttcttcag tggttcccat tgattctccc catatctttt tgctctcagg 3660
ctctggccgt ctcttctctg gccttaactg tgtt 3693

```

```

<210> 17
<211> 1221
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

```

```

<220>
<221> CDS
<222> (1)...(1221)

```

```

<400> 17
atg agc ggg gta aga ttt tta ttt ttg gca agg ggt ata att tgg gtt 48
Met Ser Gly Val Arg Phe Leu Phe Leu Ala Arg Gly Ile Ile Trp Val
1 5 10 15

cac tgt ggc tac ttg aac act aca ctg cag cta act cta tct ttg ttt 96
His Cys Gly Tyr Leu Asn Thr Thr Leu Gln Leu Thr Leu Ser Leu Phe
20 25 30

cct ttc cag gaa tca atg aat ttc agc gat gtt ttc gac tcc agt gaa 144
Pro Phe Gln Glu Ser Met Asn Phe Ser Asp Val Phe Asp Ser Ser Glu
35 40 45

gat tat ttt gtg tca gtc aat act tca tat tac tca gtt gat tct gag 192
Asp Tyr Phe Val Ser Val Asn Thr Ser Tyr Tyr Ser Val Asp Ser Glu
50 55 60

atg tta ctg tgc tcc ttg cag gag gtc agg cag ttc tcc agg cta ttt 240
Met Leu Leu Cys Ser Leu Gln Glu Val Arg Gln Phe Ser Arg Leu Phe
65 70 75 80

gta ccg att gcc tac tcc ttg atc tgt gtc ttt ggc ctc ctg ggg aat 288
Val Pro Ile Ala Tyr Ser Leu Ile Cys Val Phe Gly Leu Leu Gly Asn
85 90 95

att ctg gtg gtg atc acc ttt gct ttt tat aag aag gcc agg tct atg 336
Ile Leu Val Val Ile Thr Phe Ala Phe Tyr Lys Lys Ala Arg Ser Met
100 105 110

aca gac gtc tat ctc ttg aac atg gcc att gca gac atc ctc ttt gtt 384
Thr Asp Val Tyr Leu Leu Asn Met Ala Ile Ala Asp Ile Leu Phe Val
115 120 125

```

10

20

30

40

ctt act ctc cca ttc tgg gca gtg agt cat gcc act ggt gcg tgg gtt	432	
Leu Thr Leu Pro Phe Trp Ala Val Ser His Ala Thr Gly Ala Trp Val		
130 135 140		
ttc agc aat gcc acg tgc aag ttg cta aaa ggc atc tat gcc atc aac	480	
Phe Ser Asn Ala Thr Cys Lys Leu Leu Lys Gly Ile Tyr Ala Ile Asn		
145 150 155 160		
ttt aac tgc ggg atg ctg ctc ctg act tgc att agc atg gac cgg tac	528	
Phe Asn Cys Gly Met Leu Leu Leu Thr Cys Ile Ser Met Asp Arg Tyr		
165 170 175		
atc gcc att gta cag gcg act aag tca ttc cgg ctc cga tcc aga aca	576	10
Ile Ala Ile Val Gln Ala Thr Lys Ser Phe Arg Leu Arg Ser Arg Thr		
180 185 190		
cta ccg cgc agc aaa atc atc tgc ctt gtt gtg tgg ggg ctg tca gtc	624	
Leu Pro Arg Ser Lys Ile Ile Cys Leu Val Val Trp Gly Leu Ser Val		
195 200 205		
atc atc tcc agc tca act ttt gtc ttc aac caa aaa tac aac acc caa	672	
Ile Ile Ser Ser Ser Thr Phe Val Phe Asn Gln Lys Tyr Asn Thr Gln		
210 215 220		
ggc agc gat gtc tgt gaa ccc aag tac cag act gtc tcg gag ccc atc	720	
Gly Ser Asp Val Cys Glu Pro Lys Tyr Gln Thr Val Ser Glu Pro Ile		
225 230 235 240		
agg tgg aag ctg ctg atg ttg ggg ctt gag cta ctc ttt ggt ttc ttt	768	20
Arg Trp Lys Leu Leu Met Leu Gly Leu Glu Leu Leu Phe Gly Phe Phe		
245 250 255		
atc cct ttg atg ttc atg ata ttt tgt tac acg ttc att gtc aaa acc	816	
Ile Pro Leu Met Phe Met Ile Phe Cys Tyr Thr Phe Ile Val Lys Thr		
260 265 270		
ttg gtg caa gct cag aat tct aaa agg cac aaa gcc atc cgt gta atc	864	
Leu Val Gln Ala Gln Asn Ser Lys Arg His Lys Ala Ile Arg Val Ile		
275 280 285		
ata gct gtg gtg ctt gtg ttt ctg gct tgt cag att cct cat aac atg	912	
Ile Ala Val Val Leu Val Phe Leu Ala Cys Gln Ile Pro His Asn Met		
290 295 300		
gtc ctg ctt gtg acg gct gca aat ttg ggt aaa atg aac cga tcc tgc	960	30
Val Leu Leu Val Thr Ala Ala Asn Leu Gly Lys Met Asn Arg Ser Cys		
305 310 315 320		
cag agc gaa aag cta att ggc tat acg aaa act gtc aca gaa gtc ctg	1008	
Gln Ser Glu Lys Leu Ile Gly Tyr Thr Lys Thr Val Thr Glu Val Leu		
325 330 335		
gct ttc ctg cac tgc tgc ctg aac cct gtg ctc tac gct ttt att ggg	1056	
Ala Phe Leu His Cys Cys Leu Asn Pro Val Leu Tyr Ala Phe Ile Gly		
340 345 350		
cag aag ttc aga aac tac ttt ctg aag atc ttg aag gac ctg tgg tgt	1104	
Gln Lys Phe Arg Asn Tyr Phe Leu Lys Ile Leu Lys Asp Leu Trp Cys		
355 360 365		
gtg aga agg aag tac aag tcc tca ggc ttc tcc tgt gcc ggg agg tac	1152	40

Val Arg Arg Lys Tyr Lys Ser Ser Gly Phe Ser Cys Ala Gly Arg Tyr
 370 375 380

tca gaa aac att tct cgg cag acc agt gag acc gca gat aac gac aat 1200
 Ser Glu Asn Ile Ser Arg Gln Thr Ser Glu Thr Ala Asp Asn Asp Asn
 385 390 395 400

gcg tcg tcc ttc act atg tga 1221
 Ala Ser Ser Phe Thr Met *
 405

<210> 18
 <211> 406
 <212> PRT
 <213> Homo Sapiens

10

<400> 18
 Met Ser Gly Val Arg Phe Leu Phe Leu Ala Arg Gly Ile Ile Trp Val
 1 5 10 15
 His Cys Gly Tyr Leu Asn Thr Thr Leu Gln Leu Thr Leu Ser Leu Phe
 20 25 30
 Pro Phe Gln Glu Ser Met Asn Phe Ser Asp Val Phe Asp Ser Ser Glu
 35 40 45
 Asp Tyr Phe Val Ser Val Asn Thr Ser Tyr Tyr Ser Val Asp Ser Glu
 50 55 60
 Met Leu Leu Cys Ser Leu Gln Glu Val Arg Gln Phe Ser Arg Leu Phe
 65 70 75 80
 Val Pro Ile Ala Tyr Ser Leu Ile Cys Val Phe Gly Leu Leu Gly Asn
 85 90 95
 Ile Leu Val Val Ile Thr Phe Ala Phe Tyr Lys Lys Ala Arg Ser Met
 100 105 110
 Thr Asp Val Tyr Leu Leu Asn Met Ala Ile Ala Asp Ile Leu Phe Val
 115 120 125
 Leu Thr Leu Pro Phe Trp Ala Val Ser His Ala Thr Gly Ala Trp Val
 130 135 140
 Phe Ser Asn Ala Thr Cys Lys Leu Leu Lys Gly Ile Tyr Ala Ile Asn
 145 150 155 160
 Phe Asn Cys Gly Met Leu Leu Leu Thr Cys Ile Ser Met Asp Arg Tyr
 165 170 175
 Ile Ala Ile Val Gln Ala Thr Lys Ser Phe Arg Leu Arg Ser Arg Thr
 180 185 190
 Leu Pro Arg Ser Lys Ile Ile Cys Leu Val Val Trp Gly Leu Ser Val
 195 200 205
 Ile Ile Ser Ser Ser Thr Phe Val Phe Asn Gln Lys Tyr Asn Thr Gln
 210 215 220
 Gly Ser Asp Val Cys Glu Pro Lys Tyr Gln Thr Val Ser Glu Pro Ile
 225 230 235 240
 Arg Trp Lys Leu Leu Met Leu Gly Leu Glu Leu Leu Phe Gly Phe Phe
 245 250 255
 Ile Pro Leu Met Phe Met Ile Phe Cys Tyr Thr Phe Ile Val Lys Thr
 260 265 270
 Leu Val Gln Ala Gln Asn Ser Lys Arg His Lys Ala Ile Arg Val Ile
 275 280 285
 Ile Ala Val Val Leu Val Phe Leu Ala Cys Gln Ile Pro His Asn Met
 290 295 300
 Val Leu Leu Val Thr Ala Ala Asn Leu Gly Lys Met Asn Arg Ser Cys
 305 310 315 320
 Gln Ser Glu Lys Leu Ile Gly Tyr Thr Lys Thr Val Thr Glu Val Leu
 325 330 335
 Ala Phe Leu His Cys Cys Leu Asn Pro Val Leu Tyr Ala Phe Ile Gly
 340 345 350

20

30

40

Gln Lys Phe Arg Asn Tyr Phe Leu Lys Ile Leu Lys Asp Leu Trp Cys
 355 360 365
 Val Arg Arg Lys Tyr Lys Ser Ser Gly Phe Ser Cys Ala Gly Arg Tyr
 370 375 380
 Ser Glu Asn Ile Ser Arg Gln Thr Ser Glu Thr Ala Asp Asn Asp Asn
 385 390 395 400
 Ala Ser Ser Phe Thr Met
 405

<210> 19
 <211> 3164
 <212> DNA
 <213> Homo Sapiens

<400> 19
 atgccgggtcc gcagggggcca cgtcgetccc caaaacactt acctggacac catcatccgc 60
 aagttcgagg gccaaagtcc gaagttcctg attgccaatg ctccagatgga gaactgcgcc 120
 atcatttact gcaacgacgg cttctgcgaa ctcttcgggt actcccgagt ggaggtgatg 180
 cagcaaccct gcacctgcga cttcttcaca ggccccaaca caccaagcag cgcctgtctc 240
 cgcctagcgc aggcctgtct gggggctgag gaggcgcaagg tggacatcct ctactaccgc 300
 aaggatgcct ccagcttccg ctgcctggta gatgtggtgc ccgtgaagaa caggagcggg 360
 gctgtcatca tgttcattct caacttcgag gacctggccc agctcctggc caagtgcagc 420
 agccgcagct tgtcccagcg cctgttgtcc cagagcttcc tgggctccga gggtctctat 480
 ggcagggcag gccagaccga gccagggaca agtacaggac catcagccag 540
 atccccagct tcacgctcaa cttcgtggag ttcaacttgg agaagcaccg ctccagctcc 600
 accacggaga ttgagatcat cgcgcgccat aaggtggtgg agcggacaca gaacgtcact 660
 gagaaggtca cccaggtcct gtccctgggc ggggatgtgc tgccggagta caagctgcag 720
 gcgcggcgca tccaccgctg gaccatcctg cactacagcc ccttcaaggc cgtgtgggac 780
 tggctcatcc tgtctgtggt catctacacg gctgtcttca cgcctactc agcgccttc 840
 ctgctcagcg accaggacga atcacggcgt ggggcctgca gctatacctg cagtccctc 900
 actgtggtgg atctcatcgt ggacatcatg ttctgtctgg acatcgtcat caacttccgc 960
 accacctatg tcaacaccaa tgatgaggtg gtcagccacc cccgccgat cgcgtccac 1020
 tacttcaagg gctgggttct cattgacatg gtggccgcca tccctttcga cctcctgatc 1080
 ttccgcactg gctccgatga gaccacaacc ctgattgggc tattgaagac agcggggctg 1140
 ctgcggctgg tgcgctagc acggaagctg gaccgctact ctgagtatgg ggcggctgtg 1200
 ctcttcttgc tcatgtgcac cttcgcgctc atagcgact ggctggcctg catctgggtac 1260
 gccatcgga atgtggagcg gccctacctc gaacacaaga tcggctggct ggacagcctg 1320
 ggtgtgcagc ttggcaagcg ctacaacggc agcgaccag cctcggggcc ctcggtgcag 1380
 gacaagtatg tcacagccct ctacttcacc ttacagcagc tcaccagcgt gggcttcggc 1440
 aatgtctcgc ccaacaccaa ctccgagaag gtcttctcca tctgctcat gctcatcggc 1500
 tccctgatgt acgccagcat cttcgggaac gtgtccgga tcatccagcg cctgtactcg 1560
 ggcaccgcgc gctaccacac gcagatgctg cgtgtcaagg agttcatccg cttccaccag 1620
 atccccaacc cactgcgcca gcgcctggag gaggatttcc agcacgcctg gtctacacc 1680
 aatggcattg acatgaacgc ggtgctgaag ggcttcccg agtgccctga ggcgtgacatc 1740
 tgccctgcacc tgcaccgcgc actgctgcag cactgccag ctttcagcgg cgcgggcaag 1800
 ggctgcctgc gcgcgctagc cgtcaagttc aagaccacc acgcgccgc tggggacacg 1860
 ctggtgcacc tcggcgacgt gctctccacc ctctacttca tctcccgagg ctccatcgag 1920
 atcctgcgcg acgacgtggt cgtggccatc ctaggaaaga atgacatctt tggggaaacc 1980
 gtcagcctcc atgcccagcc aggcaggtcc agtgacagc tgccgggtct gacctactgc 2040
 gacctgcaca agatccagcg ggcagatctg ctggaggtgc tggacatgta cccggccttt 2100
 gcggagagct tctggagtaa gctggaggtc accttcaacc tgcgggacgc agccgggggt 2160
 ctccactcat cccccgcaca ggctcctggc agccaagacc accaaggttt cttctctcagt 2220
 gacaaccagt cagatgcagc cctccctctg agcatctcag atgcatctgg cctctggcct 2280
 gagctactgc aggaaatgcc cccaaggcac agccccaaa gccctcagga agaccagat 2340
 tgctggcctc tgaagctggg ctcaggcta gacagctcc aggcagat gaacaggctg 2400
 gagtcccgcg tgtcctcaga cctcagcgc atcttgcagc tctccagaa gccatgcc 2460
 cagggccacg ccagctacat tctggaagcc cctgcctcca atgacctggc cttgggttct 2520
 atagcctcgg agacgacgag tccagggccc aggtgcccc agggctttct gctcctgca 2580
 cagaccccaa gctatggaga cttggatgac tgtagtccaa agcacaggaa ctctccccc 2640
 aggatgcctc acctggctgt ggcaacggac aaaactctgg caccatctc agaacaggaa 2700
 cagcctgagg ggctctggcc acccctagcc tcacctctac atccctgga agtacaagga 2760

10

20

30

40

```

ctcatctgtg gtccttgcctt ctcctccctc cctgaacacc ttggctctgt tcccaagcag 2820
ctggacttcc agagacatgg ctcagatcct ggatttgcag ggagttgggg ccactgaact 2880
ccaagataaa gacaccatga ggggactgaa ggtgggcaag gggatttctt ttagctgggc 2940
atggtggcgg gcgcctgtaa tcccagctac tcaggaggct gaagcaagag aatcacttga 3000
accctaaggg cagagggttc agtgagccga gatagtgccg ctgcactaca gcccgggcga 3060
cagagtgaga ctccatctca aaaataaaat aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3120
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 3164

```

```

<210> 20
<211> 2877
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

```

```

<220>
<221> CDS
<222> (1)...(2877)

```

10

```

<400> 20
atg ccg gtc cgc agg ggc cac gtc gct ccc caa aac act tac ctg gac 48
Met Pro Val Arg Arg Gly His Val Ala Pro Gln Asn Thr Tyr Leu Asp
1 5 10 15

acc atc atc cgc aag ttc gag ggc caa agt cgg aag ttc ctg att gcc 96
Thr Ile Ile Arg Lys Phe Glu Gly Gln Ser Arg Lys Phe Leu Ile Ala
20 25 30

aat gct cag atg gag aac tgc gcc atc att tac tgc aac gac gcc ttc 144
Asn Ala Gln Met Glu Asn Cys Ala Ile Ile Tyr Cys Asn Asp Gly Phe
35 40 45

tgc gaa ctc ttc ggc tac tcc cga gtg gag gtg atg cag caa ccc tgc 192
Cys Glu Leu Phe Gly Tyr Ser Arg Val Glu Val Met Gln Gln Pro Cys
50 55 60

acc tgc gac ttc ctc aca ggc ccc aac aca cca agc agc gcc gtg tcc 240
Thr Cys Asp Phe Leu Thr Gly Pro Asn Thr Pro Ser Ser Ala Val Ser
65 70 75 80

cgc cta gcg cag gcc ctg ctg ggg gct gag gag tgc aag gtg gac atc 288
Arg Leu Ala Gln Ala Leu Leu Gly Ala Glu Glu Cys Lys Val Asp Ile
85 90 95

ctc tac tac cgc aag gat gcc tcc agc ttc cgc tgc ctg gta gat gtg 336
Leu Tyr Tyr Arg Lys Asp Ala Ser Ser Phe Arg Cys Leu Val Asp Val
100 105 110

gtg ccc gtg aag aac gag gac ggg gct gtc atc atg ttc att ctc aac 384
Val Pro Val Lys Asn Glu Asp Gly Ala Val Ile Met Phe Ile Leu Asn
115 120 125

ttc gag gac ctg gcc cag ctc ctg gcc aag tgc agc agc cgc agc ttg 432
Phe Glu Asp Leu Ala Gln Leu Leu Ala Lys Cys Ser Ser Arg Ser Leu
130 135 140

tcc cag cgc ctg ttg tcc cag agc ttc ctg ggc tcc gag ggc tct cat 480
Ser Gln Arg Leu Leu Ser Gln Ser Phe Leu Gly Ser Glu Gly Ser His
145 150 155 160

ggc agg cca ggc gga cca ggg cca ggc aca ggc agg ggc aag tac agg 528
Gly Arg Pro Gly Gly Pro Gly Pro Gly Thr Gly Arg Gly Lys Tyr Arg
165 170 175

```

20

30

40

acc atc agc cag atc cca cag ttc acg ctc aac ttc gtg gag ttc aac	576
Thr Ile Ser Gln Ile Pro Gln Phe Thr Leu Asn Phe Val Glu Phe Asn	
180 185 190	
ttg gag aag cac cgc tcc agc tcc acc acg gag att gag atc atc gcg	624
Leu Glu Lys His Arg Ser Ser Thr Thr Glu Ile Glu Ile Ile Ala	
195 200 205	
ccc cat aag gtg gtg gag cgg aca cag aac gtc act gag aag gtc acc	672
Pro His Lys Val Val Glu Arg Thr Gln Asn Val Thr Glu Lys Val Thr	
210 215 220	
cag gtc ctg tcc ctg ggc gcg gat gtg ctg ccg gag tac aag ctg cag	720
Gln Val Leu Ser Leu Gly Ala Asp Val Leu Pro Glu Tyr Lys Leu Gln	
225 230 235 240	
gcg ccg cgc atc cac cgc tgg acc atc ctg cac tac agc ccc ttc aag	768
Ala Pro Arg Ile His Arg Trp Thr Ile Leu His Tyr Ser Pro Phe Lys	
245 250 255	
gcc gtg tgg gac tgg ctc atc ctg ctg ctg gtc atc tac acg gct gtc	816
Ala Val Trp Asp Trp Leu Ile Leu Leu Val Ile Tyr Thr Ala Val	
260 265 270	
ttc acg ccc tac tca gcc gcc ttc ctg ctc agc gac cag gac gaa tca	864
Phe Thr Pro Tyr Ser Ala Ala Phe Leu Leu Ser Asp Gln Asp Glu Ser	
275 280 285	
cgg cgt ggg gcc tgc agc tat acc tgc agt ccc ctc act gtg gtg gat	912
Arg Arg Gly Ala Cys Ser Tyr Thr Cys Ser Pro Leu Thr Val Val Asp	
290 295 300	
ctc atc gtg gac atc atg ttc gtc gtg gac atc gtc atc aac ttc cgc	960
Leu Ile Val Asp Ile Met Phe Val Val Asp Ile Val Ile Asn Phe Arg	
305 310 315 320	
acc acc tat gtc aac acc aat gat gag gtg gtc agc cac ccc cgc cgc	1008
Thr Thr Tyr Val Asn Thr Asn Asp Glu Val Val Ser His Pro Arg Arg	
325 330 335	
atc gcc gtc cac tac ttc aag ggc tgg ttc ctc att gac atg gtg gcc	1056
Ile Ala Val His Tyr Phe Lys Gly Trp Phe Leu Ile Asp Met Val Ala	
340 345 350	
gcc atc cct ttc gac ctc ctg atc ttc cgc act ggc tcc gat gag acc	1104
Ala Ile Pro Phe Asp Leu Leu Ile Phe Arg Thr Gly Ser Asp Glu Thr	
355 360 365	
aca acc ctg att ggg cta ttg aag aca gcg cgg ctg ctg cgg ctg gtg	1152
Thr Thr Leu Ile Gly Leu Leu Lys Thr Ala Arg Leu Leu Arg Leu Val	
370 375 380	
cgc gta gca cgg aag ctg gac cgc tac tct gag tat ggg gcg gct gtg	1200
Arg Val Ala Arg Lys Leu Asp Arg Tyr Ser Glu Tyr Gly Ala Ala Val	
385 390 395 400	
ctc ttc ttg ctc atg tgc acc ttc gcg ctc ata gcg cac tgg ctg gcc	1248
Leu Phe Leu Leu Met Cys Thr Phe Ala Leu Ile Ala His Trp Leu Ala	
405 410 415	
tgc atc tgg tac gcc atc ggc aat gtg gag cgg ccc tac cta gaa cac	1296

10

20

30

40

Cys	Ile	Trp	Tyr	Ala	Ile	Gly	Asn	Val	Glu	Arg	Pro	Tyr	Leu	Glu	His		
			420					425					430				
aag	atc	ggc	tgg	ctg	gac	agc	ctg	ggc	gtg	cag	ctt	ggc	aag	cgc	tac	1344	
Lys	Ile	Gly	Trp	Leu	Asp	Ser	Leu	Gly	Val	Gln	Leu	Gly	Lys	Arg	Tyr		
		435					440					445					
aac	ggc	agc	gac	cca	gcc	tgc	ggc	ccc	tgc	gtg	cag	gac	aag	tat	gtc	1392	
Asn	Gly	Ser	Asp	Pro	Ala	Ser	Gly	Pro	Ser	Val	Gln	Asp	Lys	Tyr	Val		
		450				455					460						
aca	gcc	ctc	tac	ttc	acc	ttc	agc	agc	ctc	acc	agc	gtg	ggc	ttc	ggc	1440	
Thr	Ala	Leu	Tyr	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Leu	Thr	Ser	Val	Gly	Phe	Gly		
		465			470					475				480			
aat	gtc	tgc	ccc	aac	acc	aac	tcc	gag	aag	gtc	ttc	tcc	atc	tgc	gtc	1488	
Asn	Val	Ser	Pro	Asn	Thr	Asn	Ser	Glu	Lys	Val	Phe	Ser	Ile	Cys	Val		
			485					490						495			
atg	ctc	atc	ggc	tcc	ctg	atg	tac	gcc	agc	atc	ttc	ggg	aac	gtg	tcc	1536	
Met	Leu	Ile	Gly	Ser	Leu	Met	Tyr	Ala	Ser	Ile	Phe	Gly	Asn	Val	Ser		
			500					505					510				
gcg	atc	atc	cag	cgc	ctg	tac	tgc	ggc	acc	gcg	cgc	tac	cac	acg	cag	1584	
Ala	Ile	Ile	Gln	Arg	Leu	Tyr	Ser	Gly	Thr	Ala	Arg	Tyr	His	Thr	Gln		
		515					520					525					
atg	ctg	cgt	gtc	aag	gag	ttc	atc	cgc	ttc	cac	cag	atc	ccc	aac	cca	1632	
Met	Leu	Arg	Val	Lys	Glu	Phe	Ile	Arg	Phe	His	Gln	Ile	Pro	Asn	Pro		
		530				535					540						
ctg	cgc	cag	cgc	ctg	gag	gag	tat	ttc	cag	cac	gcc	tgg	tcc	tac	acc	1680	
Leu	Arg	Gln	Arg	Leu	Glu	Tyr	Phe	Gln	His	Ala	Trp	Ser	Tyr	Thr			
		545			550				555					560			
aat	ggc	att	gac	atg	aac	gcg	gtg	ctg	aag	ggc	ttc	ccc	gag	tgc	ctg	1728	
Asn	Gly	Ile	Asp	Met	Asn	Ala	Val	Leu	Lys	Gly	Phe	Pro	Glu	Cys	Leu		
			565					570						575			
cag	gct	gac	atc	tgc	ctg	cac	ctg	cac	cgc	gca	ctg	ctg	cag	cac	tgc	1776	
Gln	Ala	Asp	Ile	Cys	Leu	His	Leu	His	Arg	Ala	Leu	Leu	Gln	His	Cys		
			580					585					590				
cca	gct	ttc	agc	ggc	gcc	ggc	aag	ggc	tgc	ctg	cgc	gcg	cta	gcc	gtc	1824	
Pro	Ala	Phe	Ser	Gly	Ala	Gly	Lys	Gly	Cys	Leu	Arg	Ala	Leu	Ala	Val		
		595				600					605						
aag	ttc	aag	acc	acc	cac	gcg	ccg	cct	ggg	gac	acg	ctg	gtg	cac	ctc	1872	
Lys	Phe	Lys	Thr	Thr	His	Ala	Pro	Pro	Gly	Asp	Thr	Leu	Val	His	Leu		
		610				615					620						
ggc	gac	gtg	ctc	tcc	acc	ctc	tac	ttc	atc	tcc	cga	ggc	tcc	atc	gag	1920	
Gly	Asp	Val	Leu	Ser	Thr	Leu	Tyr	Phe	Ile	Ser	Arg	Gly	Ser	Ile	Glu		
		625			630					635				640			
atc	ctg	cgc	gac	gac	gtg	gtc	gtg	gcc	atc	cta	gga	aag	aat	gac	atc	1968	
Ile	Leu	Arg	Asp	Asp	Val	Val	Val	Ala	Ile	Leu	Gly	Lys	Asn	Asp	Ile		
			645					650						655			
ttt	ggg	gaa	ccc	gtc	agc	ctc	cat	gcc	cag	cca	ggc	aag	tcc	agt	gca	2016	
Phe	Gly	Glu	Pro	Val	Ser	Leu	His	Ala	Gln	Pro	Gly	Lys	Ser	Ser	Ala		
			660					665					670				

10

20

30

40

gac gtg cgg gct ctg acc tac tgc gac ctg cac aag atc cag cgg gca	2064
Asp Val Arg Ala Leu Thr Tyr Cys Asp Leu His Lys Ile Gln Arg Ala	
675 680 685	
gat ctg ctg gag gtg ctg gac atg tac ccg gcc ttt gcg gag agc ttc	2112
Asp Leu Leu Glu Val Leu Asp Met Tyr Pro Ala Phe Ala Glu Ser Phe	
690 695 700	
tgg agt aag ctg gag gtc acc ttc aac ctg cgg gac gca gcc ggg ggt	2160
Trp Ser Lys Leu Glu Val Thr Phe Asn Leu Arg Asp Ala Ala Gly Gly	
705 710 715 720	
ctc cac tca tcc ccc cga cag gct cct ggc agc caa gac cac caa ggt	2208
Leu His Ser Ser Pro Arg Gln Ala Pro Gly Ser Gln Asp His Gln Gly	
725 730 735	
ttc ttt ctc agt gac aac cag tca gat gca gcc cct ccc ctg agc atc	2256
Phe Phe Leu Ser Asp Asn Gln Ser Asp Ala Ala Pro Pro Leu Ser Ile	
740 745 750	
tca gat gca tct ggc ctc tgg cct gag cta ctg cag gaa atg ccc cca	2304
Ser Asp Ala Ser Gly Leu Trp Pro Glu Leu Leu Gln Glu Met Pro Pro	
755 760 765	
agg cac agc ccc caa agc cct cag gaa gac cca gat tgc tgg cct ctg	2352
Arg His Ser Pro Gln Ser Pro Gln Glu Asp Pro Asp Cys Trp Pro Leu	
770 775 780	
aag ctg ggc tcc agg cta gag cag ctc cag gcc cag atg aac agg ctg	2400
Lys Leu Gly Ser Arg Leu Glu Gln Leu Gln Ala Gln Met Asn Arg Leu	
785 790 795 800	
gag tcc cgc gtg tcc tca gac ctc agc cgc atc ttg cag ctc ctc cag	2448
Glu Ser Arg Val Ser Ser Asp Leu Ser Arg Ile Leu Gln Leu Leu Gln	
805 810 815	
aag ccc atg ccc cag ggc cac gcc agc tac att ctg gaa gcc cct gcc	2496
Lys Pro Met Pro Gln Gly His Ala Ser Tyr Ile Leu Glu Ala Pro Ala	
820 825 830	
tcc aat gac ctg gcc ttg gtt cct ata gcc tgc gag acg acg agt cca	2544
Ser Asn Asp Leu Ala Leu Val Pro Ile Ala Ser Glu Thr Thr Ser Pro	
835 840 845	
ggg ccc agg ctg ccc cag ggc ttt ctg cct cct gca cag acc cca agc	2592
Gly Pro Arg Leu Pro Gln Gly Phe Leu Pro Pro Ala Gln Thr Pro Ser	
850 855 860	
tat gga gac ttg gat gac tgt agt cca aag cac agg aac tcc tcc ccc	2640
Tyr Gly Asp Leu Asp Asp Cys Ser Pro Lys His Arg Asn Ser Ser Pro	
865 870 875 880	
agg atg cct cac ctg gct gtg gca acg gac aaa act ctg gca cca tcc	2688
Arg Met Pro His Leu Ala Val Ala Thr Asp Lys Thr Leu Ala Pro Ser	
885 890 895	
tca gaa cag gaa cag cct gag ggg ctc tgg cca ccc cta gcc tca cct	2736
Ser Glu Gln Glu Gln Pro Glu Gly Leu Trp Pro Pro Leu Ala Ser Pro	
900 905 910	

10

20

30

40

```

cta cat ccc ctg gaa gta caa gga ctc atc tgt ggt ccc tgc ttc tcc 2784
Leu His Pro Leu Glu Val Gln Gly Leu Ile Cys Gly Pro Cys Phe Ser
      915                920                925

tcc ctc cct gaa cac ctt ggc tct gtt ccc aag cag ctg gac ttc cag 2832
Ser Leu Pro Glu His Leu Gly Ser Val Pro Lys Gln Leu Asp Phe Gln
      930                935                940

aga cat ggc tca gat cct gga ttt gca ggg agt tgg ggc cac tga 2877
Arg His Gly Ser Asp Pro Gly Phe Ala Gly Ser Trp Gly His *
      945                950                955

```

```

<210> 21
<211> 958
<212> PRT
<213> Homo Sapiens

```

10

```

<400> 21
Met Pro Val Arg Arg Gly His Val Ala Pro Gln Asn Thr Tyr Leu Asp
 1      5      10
Thr Ile Ile Arg Lys Phe Glu Gly Gln Ser Arg Lys Phe Leu Ile Ala
 20      25      30
Asn Ala Gln Met Glu Asn Cys Ala Ile Ile Tyr Cys Asn Asp Gly Phe
 35      40      45
Cys Glu Leu Phe Gly Tyr Ser Arg Val Glu Val Met Gln Gln Pro Cys
 50      55      60
Thr Cys Asp Phe Leu Thr Gly Pro Asn Thr Pro Ser Ser Ala Val Ser
 65      70      75      80
Arg Leu Ala Gln Ala Leu Leu Gly Ala Glu Glu Cys Lys Val Asp Ile
 85      90      95
Leu Tyr Tyr Arg Lys Asp Ala Ser Ser Phe Arg Cys Leu Val Asp Val
100      105      110
Val Pro Val Lys Asn Glu Asp Gly Ala Val Ile Met Phe Ile Leu Asn
115      120      125
Phe Glu Asp Leu Ala Gln Leu Leu Ala Lys Cys Ser Ser Arg Ser Leu
130      135      140
Ser Gln Arg Leu Leu Ser Gln Ser Phe Leu Gly Ser Glu Gly Ser His
145      150      155      160
Gly Arg Pro Gly Gly Pro Gly Pro Gly Thr Gly Arg Gly Lys Tyr Arg
165      170      175
Thr Ile Ser Gln Ile Pro Gln Phe Thr Leu Asn Phe Val Glu Phe Asn
180      185      190
Leu Glu Lys His Arg Ser Ser Ser Thr Thr Glu Ile Glu Ile Ile Ala
195      200      205
Pro His Lys Val Val Glu Arg Thr Gln Asn Val Thr Glu Lys Val Thr
210      215      220
Gln Val Leu Ser Leu Gly Ala Asp Val Leu Pro Glu Tyr Lys Leu Gln
225      230      235      240
Ala Pro Arg Ile His Arg Trp Thr Ile Leu His Tyr Ser Pro Phe Lys
245      250      255
Ala Val Trp Asp Trp Leu Ile Leu Leu Leu Val Ile Tyr Thr Ala Val
260      265      270
Phe Thr Pro Tyr Ser Ala Ala Phe Leu Leu Ser Asp Gln Asp Glu Ser
275      280      285
Arg Arg Gly Ala Cys Ser Tyr Thr Cys Ser Pro Leu Thr Val Val Asp
290      295      300
Leu Ile Val Asp Ile Met Phe Val Val Asp Ile Val Ile Asn Phe Arg
305      310      315      320
Thr Thr Tyr Val Asn Thr Asn Asp Glu Val Val Ser His Pro Arg Arg
325      330      335

```

20

30

40

Ile Ala Val His Tyr Phe Lys Gly Trp Phe Leu Ile Asp Met Val Ala
 340 345 350
 Ala Ile Pro Phe Asp Leu Leu Ile Phe Arg Thr Gly Ser Asp Glu Thr
 355 360 365
 Thr Thr Leu Ile Gly Leu Leu Lys Thr Ala Arg Leu Leu Arg Leu Val
 370 375 380
 Arg Val Ala Arg Lys Leu Asp Arg Tyr Ser Glu Tyr Gly Ala Ala Val
 385 390 395 400
 Leu Phe Leu Leu Met Cys Thr Phe Ala Leu Ile Ala His Trp Leu Ala
 405 410 415
 Cys Ile Trp Tyr Ala Ile Gly Asn Val Glu Arg Pro Tyr Leu Glu His
 420 425 430
 Lys Ile Gly Trp Leu Asp Ser Leu Gly Val Gln Leu Gly Lys Arg Tyr
 435 440 445
 Asn Gly Ser Asp Pro Ala Ser Gly Pro Ser Val Gln Asp Lys Tyr Val
 450 455 460
 Thr Ala Leu Tyr Phe Thr Phe Ser Ser Leu Thr Ser Val Gly Phe Gly
 465 470 475 480
 Asn Val Ser Pro Asn Thr Asn Ser Glu Lys Val Phe Ser Ile Cys Val
 485 490 495
 Met Leu Ile Gly Ser Leu Met Tyr Ala Ser Ile Phe Gly Asn Val Ser
 500 505 510
 Ala Ile Ile Gln Arg Leu Tyr Ser Gly Thr Ala Arg Tyr His Thr Gln
 515 520 525
 Met Leu Arg Val Lys Glu Phe Ile Arg Phe His Gln Ile Pro Asn Pro
 530 535 540
 Leu Arg Gln Arg Leu Glu Glu Tyr Phe Gln His Ala Trp Ser Tyr Thr
 545 550 555 560
 Asn Gly Ile Asp Met Asn Ala Val Leu Lys Gly Phe Pro Glu Cys Leu
 565 570 575
 Gln Ala Asp Ile Cys Leu His Leu His Arg Ala Leu Leu Gln His Cys
 580 585 590
 Pro Ala Phe Ser Gly Ala Gly Lys Gly Cys Leu Arg Ala Leu Ala Val
 595 600 605
 Lys Phe Lys Thr Thr His Ala Pro Pro Gly Asp Thr Leu Val His Leu
 610 615 620
 Gly Asp Val Leu Ser Thr Leu Tyr Phe Ile Ser Arg Gly Ser Ile Glu
 625 630 635 640
 Ile Leu Arg Asp Asp Val Val Val Ala Ile Leu Gly Lys Asn Asp Ile
 645 650 655
 Phe Gly Glu Pro Val Ser Leu His Ala Gln Pro Gly Lys Ser Ser Ala
 660 665 670
 Asp Val Arg Ala Leu Thr Tyr Cys Asp Leu His Lys Ile Gln Arg Ala
 675 680 685
 Asp Leu Leu Glu Val Leu Asp Met Tyr Pro Ala Phe Ala Glu Ser Phe
 690 695 700
 Trp Ser Lys Leu Glu Val Thr Phe Asn Leu Arg Asp Ala Ala Gly Gly
 705 710 715 720
 Leu His Ser Ser Pro Arg Gln Ala Pro Gly Ser Gln Asp His Gln Gly
 725 730 735
 Phe Phe Leu Ser Asp Asn Gln Ser Asp Ala Ala Pro Pro Leu Ser Ile
 740 745 750
 Ser Asp Ala Ser Gly Leu Trp Pro Glu Leu Leu Gln Glu Met Pro Pro
 755 760 765
 Arg His Ser Pro Gln Ser Pro Gln Glu Asp Pro Asp Cys Trp Pro Leu
 770 775 780
 Lys Leu Gly Ser Arg Leu Glu Gln Leu Gln Ala Gln Met Asn Arg Leu
 785 790 795 800
 Glu Ser Arg Val Ser Ser Asp Leu Ser Arg Ile Leu Gln Leu Leu Gln
 805 810 815
 Lys Pro Met Pro Gln Gly His Ala Ser Tyr Ile Leu Glu Ala Pro Ala
 820 825 830

10

20

30

40

Ser Asn Asp Leu Ala Leu Val Pro Ile Ala Ser Glu Thr Thr Ser Pro
 835 840 845
 Gly Pro Arg Leu Pro Gln Gly Phe Leu Pro Pro Ala Gln Thr Pro Ser
 850 855 860
 Tyr Gly Asp Leu Asp Asp Cys Ser Pro Lys His Arg Asn Ser Ser Pro
 865 870 875 880
 Arg Met Pro His Leu Ala Val Ala Thr Asp Lys Thr Leu Ala Pro Ser
 885 890 895
 Ser Glu Gln Glu Gln Pro Glu Gly Leu Trp Pro Pro Leu Ala Ser Pro
 900 905 910
 Leu His Pro Leu Glu Val Gln Gly Leu Ile Cys Gly Pro Cys Phe Ser
 915 920 925

 Ser Leu Pro Glu His Leu Gly Ser Val Pro Lys Gln Leu Asp Phe Gln
 930 935 940
 Arg His Gly Ser Asp Pro Gly Phe Ala Gly Ser Trp Gly His
 945 950 955

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US02/41011										
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER												
IPC(7) : G01N 33/53, 33/567 US CL : 435/7.1, 7.2 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC												
B. FIELDS SEARCHED												
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) U.S. : 435/7.1, 7.2												
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched												
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)												
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT												
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.										
A	SALLESE et al. G protein coupled receptor kinase GRK4. Molecular analysis of the four isoforms and ultrastructural localization in spermatozoa and germinal cells. J. Biol. Chem. 11 April 1997, Vol. 272, No. 15, pages 10188-10195.	1, 2, 4										
A	MEYERSON et al. A family of human cdc2-related protein kinases. EMBO J. 1992, Vol. 11, No. 8, pages 2909-2917.	1, 2, 4										
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.												
* Special categories of cited documents: <table border="0"> <tr> <td>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</td> <td>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</td> </tr> <tr> <td>"E" earlier application or patent published on or after the international filing date</td> <td>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</td> </tr> <tr> <td>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</td> <td>"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art</td> </tr> <tr> <td>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</td> <td>"&" document member of the same patent family</td> </tr> <tr> <td>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</td> <td></td> </tr> </table>			"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention	"E" earlier application or patent published on or after the international filing date	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone	"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art	"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&" document member of the same patent family	"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention											
"E" earlier application or patent published on or after the international filing date	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone											
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art											
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&" document member of the same patent family											
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed												
Date of the actual completion of the international search 20 May 2004 (20.05.2004)		Date of mailing of the international search report 25 JUN 2004										
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US Commissioner for Patents P.O. Box 1450 Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. (703)872-9306		Authorized officer Robert Landsman <i>J. Roberts for</i> Telephone No. (571) 272-1600										

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US02/41011

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

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

1. ☐ Claim Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claim Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claim Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of Item 2 of first sheet)This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:
Please See Continuation Sheet

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

Remark on Protest

☐
☐

The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.

No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

PCT/US02/41011

BOX II. OBSERVATIONS WHERE UNITY OF INVENTION IS LACKING

I-VII. Claims 1, 2 and 4, drawn to a method of identifying a compound capable of treating a pain disorder, or modulating a signaling mechanism. The first Group is drawn to the invention "1465."

VIII-XIV. Claims 3, 5-8, drawn to a method of modulating a pain signaling mechanism in a cell.

XV-XXI. Claims 9-13, drawn to a method of treating a subject. The inventions listed as Groups I-XXI do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

In Groups I-XXI, the sequences drawn to "1465," "1587," "2146," "2207," "32838," "336" and "52908" are independent and distinct from each other. Each sequence encodes a distinct protein, or encoding nucleic acid, many of these proteins which are in separate classes. 1465 is a G protein-coupled kinase, 1587 is a serine/threonine kinase, 2146 is a tyrosine kinase, 2207 is a protein kinase, 32838 is a NAALADase II, 336 is a chemokine receptor and 52908 is a potassium channel. The special technical feature of Groups I-VII is a method of screening ligands. The special technical feature of Groups VIII-XIV is a method of modulating pain signaling. The special technical feature of Groups XV-XXI is a method of treating a patient. The special technical feature of each Group is not the same as that of any other Group.

フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 K 48/00	A 6 1 K 48/00	4 C 0 8 6
A 6 1 P 1/02	A 6 1 P 1/02	
A 6 1 P 1/12	A 6 1 P 1/12	
A 6 1 P 7/00	A 6 1 P 7/00	
A 6 1 P 9/10	A 6 1 P 9/10	
A 6 1 P 19/00	A 6 1 P 19/00	
A 6 1 P 21/00	A 6 1 P 21/00	
A 6 1 P 25/02	A 6 1 P 25/02	
A 6 1 P 25/04	A 6 1 P 25/04	
A 6 1 P 25/06	A 6 1 P 25/06	
A 6 1 P 29/00	A 6 1 P 29/00	
A 6 1 P 29/02	A 6 1 P 29/02	
A 6 1 P 31/00	A 6 1 P 31/00	
A 6 1 P 35/00	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 43/00	A 6 1 P 43/00	1 0 5
C 1 2 N 15/09	C 1 2 Q 1/02	
C 1 2 Q 1/02	C 1 2 Q 1/34	
C 1 2 Q 1/34	C 1 2 Q 1/48	Z
C 1 2 Q 1/48	G 0 1 N 33/15	Z
G 0 1 N 33/15	G 0 1 N 33/50	Z
G 0 1 N 33/50	A 6 1 K 37/02	
	C 1 2 N 15/00	A

(81)指定国 AP(GH,GM,KE,LS,MW,MZ,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT, BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,IE,IT,LU,MC,NL,PT,SE,SI,SK,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ, GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ,EC,EE, ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KP,KR,KZ,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LV,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,M Z,NO,NZ,OM,PH,PL,PT,RO,RU,SC,SD,SE,SG,SK,SL,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,YU,ZA,ZM,ZW

(72)発明者 シロス - サン - ティアゴ , インマクラダ

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 2 0 1 4 , デル マー , デ マヨ ロード 2 1 2 3

(72)発明者 ローゼンフェルド , ジュリー ベス

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 0 6 7 , シャーロン , レッド フォックス ラン
9

F ターム(参考) 2G045 AA34 AA35 DA13 DA36 FB02 FB03
4B024 AA01 AA11 BA10 BA11 BA63 CA04 CA05 CA06 CA09 DA02
EA04 FA02 FA10 GA11 GA18 HA08 HA12 HA14
4B063 QA01 QA18 QQ20 QQ22 QQ27 QQ30 QQ42 QQ79 QR08 QR32
QR33 QR42 QR48 QR55 QR58 QR59 QR66 QR69 QR77 QR82
QS12 QS24 QS25 QS28 QS34 QS36 QX02
4C084 AA02 AA03 AA13 AA17 BA44 MA13 MA16 MA17 MA23 MA24
MA31 MA34 MA35 MA37 MA52 MA55 MA56 MA57 MA59 MA60
MA63 MA66 NA14 ZA082 ZA362 ZA512 ZA672 ZA732 ZA942 ZA962
ZB112 ZB212 ZB262 ZB322
4C085 AA13 AA14 AA19 BB11 BB41 CC22 CC23 EE01 GG01 GG08
GG10
4C086 AA01 AA02 EA16 MA01 MA04 NA14 ZA08 ZA36 ZA51 ZA67

ZA73 ZA94 ZA96 ZB11 ZB21 ZB26 ZB32